

201231055B

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

遺伝子修復異常症（Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群）の
実態調査、早期診断法の確立に関する研究

平成 23 ～ 24 年度 総合研究報告書

研究代表者 金子 英雄

平成 25 (2013) 年 3 月

目 次

I. 総合研究報告	1
遺伝子修復異常症（Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群）の実態調査、早期診断法の確立に関する研究 研究代表者 金子英雄（国立病院機構長良医療センター 臨床研究部長）	
II. 分担研究報告	
1. Bloom 症候群の全国調査の解析	27
研究分担者 金子英雄（国立病院機構長良医療センター 臨床研究部長） 谷内江昭宏（金沢大学医薬保健研究域医学系小児科 教授） 田内久道（愛媛大学医学部 准教授） 加藤善一郎（岐阜大学大学院医学系研究科小児病態学 臨床教授）	
2. Bloom 症候群の診断指針の作製	31
研究分担者 金子英雄（国立病院機構長良医療センター 臨床研究部長） 内田 靖（国立病院機構長良医療センター小児科成育診療部長）	
3. 本邦 Bloom 症候群における BLM 遺伝子変異の解析	34
研究分担者 金子英雄（国立病院機構長良医療センター 臨床研究部長） 深尾敏幸（岐阜大学大学院連合創薬医療情報研究科／ 大学院医学系研究科 小児病態学 教授）	
4. Bloom 症候群の迅速診断法の確立	37
研究分担者 清河信敬（独立行政法人 国立成育医療研究センター研究所 小児血液・腫瘍研究部 部長）	
5. Bloom 症候群と Ataxia telangiectasia における T 細胞多様性の障害	41
研究分担者 谷内江昭宏（金沢大学医薬保健研究域医学系小児科 教授）	
6. Bloom 症候群に合併した血液腫瘍に対する化学療法の検討	44
研究分担者 金子英雄（国立病院機構長良医療センター 臨床研究部長） 谷内江昭宏（金沢大学医薬保健研究域医学系小児科 教授） 田内久道（愛媛大学医学部 准教授）	

7. Rothmund-Thomson 症候群の全国調査の解析	46
研究分担者 金子 英雄 (国立病院機構長良医療センター 臨床研究部長)	
山崎 直也 (国立がん研究センター 皮膚科 科長)	
8. Rothmund-Thomson 症候群の診断指針の作製、並びに Rothmund-Thomson 症候群類似の表現型を呈した疾患の病態解析	48
研究分担者 滝田 順子 (東京大学医学部附属病院 無菌治療部 講師)	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	55
IV. 研究成果の刊行物・別刷	69

I. 厚生労働科学研究費補助金総合研究報告書

遺伝子修復異常症（Bloom症候群、Rothmund-Thomson症候群、
RAPADILINO症候群、Baller-Gerold症候群）の実態調査、
早期診断法の確立に関する研究

研究代表者 金子英雄
（国立病院機構長良医療センター 臨床研究部長）

遺伝子修復異常症(Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群)の実態調査、早期診断法の確立に関する研究

研究代表者 金子 英雄

国立病院機構長良医療センター臨床研究部長

「遺伝子修復異常症(Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群)の実態調査、早期診断法の確立に関する研究班」において1) 全国アンケート調査による患者数の把握を行い Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群の症例把握、実態を明らかにした。2) Bloom 症候群の免疫能では、血清 IgM の低下が特徴的であった。3) Bloom 症候群の BLM 遺伝子変異に本邦で頻度の多い遺伝子変異が存在することを明らかにした。4) Rothmund-Thomson 症候群は、全国調査で 10 症例を確認した。特徴的な皮疹が診断の決め手になっていた。RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群は、それぞれ 1 症例、2 症例が報告されたが RECQL4 遺伝子の解析はなされていなかった。5) Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群の診断指針を作製した。6) Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群のホームページを立ち上げた。以上の研究を通じて本研究班の目的である本症候群の実態調査、早期診断法の確立という目標を達成することができた。

分担者研究者

深尾 敏幸	岐阜大学大学院連合創薬医療 情報研究科医療情報学 教授
谷内江 昭宏	金沢大学医薬保健研究域医学系 小児科 教授
清河 信敬	国立成育医療センター研究所 小児血液・腫瘍研究部 部長
内田 靖	独立行政法人国立病院機構 長良医療センター 部長
滝田 順子	東京大学医学部附属病院無菌 治療部 講師
山崎 直也	国立がん研究センター 皮膚腫瘍科 科長
田内 久道	愛媛大学医学部附属病院 小児科 准教授
加藤 善一郎	岐阜大学医学部附属病院 小児科 准教授
研究協力者	
近藤 直実	岐阜大学大学院医学系研究科 小児病態学 教授
松井 永子	岐阜大学医学部附属病院 小児科 講師

寺本 貴英	岐阜大学医学部附属院 小児科 講師
折居 建治	岐阜大学医学部附属院 NICU 准教授
大西 秀典	岐阜大学医学部附属病院 小児科 助教

A. 研究目的

Bloom 症候群は、生下時からの小柄な体型、日光過敏性紅斑、免疫不全を特徴とする常染色体劣性の遺伝病である。さらに際立った特徴は、高率に癌腫が合併することである。国外での報告では、20 歳代までに約 1/3 の Bloom 症候群がなんらかの癌腫を発症している。また、複数の癌腫を合併することもしられており、早期に診断して、定期的にフォローすることが重要である。一方、Rothmund-Thomson 症候群は、小柄な体型、

日光過敏性紅斑、多形皮膚萎縮症を特徴とする常染色体劣性の遺伝病である。同様に高率に癌腫(特に、骨肉腫、皮膚扁平上皮癌等)を合併する。RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群は Rothmund-Thomson 症候群の類縁疾患である。RAPADILINO 症候群は、以下の特徴を有するとされる。橈骨欠損・低形成(radial hypoplasia/aplasia)、膝蓋骨低形成(patella hypoplasia)、口蓋の低形成、口蓋裂(cleft palate)、慢性の下痢(diarrhea)、関節の脱臼(dislocated joints)、小柄な体型(little size)、四肢の奇形(limb malformation)、細長い鼻(nose slender)、正常な知能(normal intelligence)、多形皮膚萎縮は認められないとされている。一方、Baller-Gerold 症候群は、頭蓋骨早期融合と橈骨欠損・低形成を特徴とすると報告されている。

病因遺伝子はDNAの複製・修復に関与するDNAヘリカーゼであるBLM遺伝子とRECQL4遺伝子である。これらは同様な症状を示す場合もあり、診断に苦慮する場合も少なくない。本研究班では、Bloom症候群とRothmund-Thomson症候群の本邦における実態調査と診断指針の作製を目標とした。Bloom症候群とRothmund-Thomson症候群の全国調査の解析を行い、さらに病態の解析を進めた。また、RAPADILINO症候群、Baller-Gerold症候群の全国調査を行った。これらの解析を通じて、RAPADILINO症候群、Baller-Gerold症候群の本邦の実態を明らかにした。

B. 研究方法

一次アンケートは、今までに当該施設において Bloom 症候群または Rothmund-Thomson 症候群、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群の確定例また

は、疑い例を診療したことがあるかについて、質問した。送付先は、全国の小児科専門医研修施設 515 病院、皮膚科専門医研修施設 500 病院、がん診療拠点病院 377 病院に対して、アンケート調査を行った。一次調査で診療経験ありの回答を得た施設に二次調査票を送付し、詳細な検討を行った。

Bloom 症候群における免疫不全の病態を明らかにするため、末梢血の T 細胞の機能解析を行った。T 細胞分化異常を伴うことが明らかな他の原発性免疫不全症候群についても、TCR 構造解析を施行し、このような解析の意義を確認すると同時に、方法の妥当性を検討した。対象として Ataxia-telangiectasia、X-SCID、Omenn 症候群、DiGeorge 症候群と Bloom 症候群を用いた。TCR 構造解析は、1) フローサイトメトリー法を駆使した TCR V β 鎖の多様性解析と、2) spectratyping 法による CDR3 サイズ分布解析を用いた。

Bloom 症候群の、簡易スクリーニング法を確立するために、BLM のタンパクの発現をフローサイトメトリーにて解析した。細胞の培養条件を変えて、発現の変化について検討した。フローサイトメトリーによる特異抗体を用いた BLM 蛋白の検出法として、入手可能な市販の Bloom 蛋白に対する抗体、1) ウサギ抗 BLM ポリクローナル抗体 (Cell Signaling Technology 社)、2) 同 (Abcam 社)、3) ヤギ抗 BLM ポリクローナル抗体 (Abcam 社)、4) マウス抗 BLM モノクローナル抗体 (クローン BFL-103、Abcam 社)、5) マウス抗 BLM モノクローナル抗体 (クローン BFL-103、SantaCruz 社)、6) マウス抗 BLM モノクローナル抗体 (クローン 4i317、

SantaCruz 社)、6 種類を検討に用いた。健康人および Bloom 症候群患者末梢血について、全血法、間接法による免疫蛍光染色を行い、フローサイトメトリーで反応性を解析した。Bloom 蛋白は細胞内に存在する酵素であるため、抗体の反応に先立って、白血球の細胞膜透過処理を IntraPrep (ベックマンコールター社) 試薬で行った。2 次抗体として PE 標識抗体を用いた。

(倫理面への配慮)

臨床情報を収集する場合は、連結可能匿名化する。一次調査、二次調査に関しては、「Bloom 症候群とその類縁疾患の実態調査、早期診断法の確立に関する研究」、遺伝子変異解析に関しては、「先天性免疫不全症の原因遺伝子同定および病態形成機序の解明」として、倫理委員会の承認を既に得ている。十分なインフォームドコンセントを行ったのち、書面にて署名を得て行った。

C. 研究結果

1) Bloom 症候群の全国調査

Bloom 症候群の全国調査を解析した。9 例中 5 例が死亡していた。9 例中 6 例に B 細胞系のリンパ腫が認められた。MDS が 3 例に認められた。9 例中 5 例に糖尿病が合併していた。

IgM の低値 (50mg/dl 以下) が 8 症例中 7 例に認められ、Bloom 症候群に特徴的な免疫不全の表現型と考えられた。易感染の程度としては、中耳炎の記載はあったが、その程度は、強くなかった。

本邦 Bloom 症候群における、BLM 遺伝子変異の解析をおこなった。8 症例のうち、3 症例が homozygous に 631delCAA を有してい

た。1 症例は heterozygous にミスセンス変異を有していた。2 症例が、1 つの allele の BLM 遺伝子変異のみ同定できた。16alleles のうち 9alleles で、631delCAA が認められ、本邦 BLM 遺伝子変異における common な変異と考えられた。

2) Bloom 症候群の症例解析

成長障害のため 1 歳 4 ヶ月時に受診した Bloom 症候群の男児を 28 歳まで経過観察を行うことができた。経過中十二指腸悪性リンパ腫 (B 細胞性) に罹患したが手術と化学療法により治癒した。また、日光過敏症、軽度の精神発達遅滞、低身長とやせが認められた。

他の症例では Bloom 症候群に合併した急性骨髄性白血病に、臍帯血を用いた造血幹細胞移植を施行した症例を経験した。3 回目の臍帯血移植により、生着が得られたが移植後 208 日から、肺炎が急激に悪化し ARDS となり、移植後 213 日で呼吸不全のため死亡した。Bloom 症候群のがん治療は、症例ごとに対応されており、症例の集積が必要と考えられた。

Bloom 症候群の特徴に、高率な癌腫の合併がある。しかし、その治療法は個々の症例ごとに異なっている。今回、全国調査により Bloom 症候群に血液腫瘍を合併した 3 症例についてプロトコルを検討した。Bloom 症候群の抗がん剤に対する感受性を考量して、通常施行されているプロトコルより抗がん剤の量や投与回数が減量されていた。今後、さらに症例の集積が続け、分子標的療法などの、より効果的な化学療法のプロトコルについて検討することが必要である。

3) Bloom症候群のBLMタンパクの発現

Bloom 症候群の簡易スクリーニング法として、フローサイトメトリーによる BLM 蛋白検出法の確立を試みた Bloom 患者由来細胞株を用いた検討によって、最も特異性の高いマウス単クローン性抗 BLM 抗体を選定した。フローサイトメトリーによる BLM 蛋白検出は、Bloom 症候群診断の簡易スクリーニング法としての応用が期待される。一方、フローサイトメトリーによる sister chromatid exchange (SCE) 検出法について検討し、thymidine の analog である 5-ethynyl-2'-deoxyuridine (EdU) と Propidium iodide を組み合わせて、細胞の増殖に伴って新たに合成された娘 DNA 鎖と染色体全体を同時にラベルし、フローサイトメトリー解析を行なった結果、個々の染色体の EdU の取り込みを検出することが可能であることが示された。今後さらに検討を進め、SCE 検出法への応用を目指す。

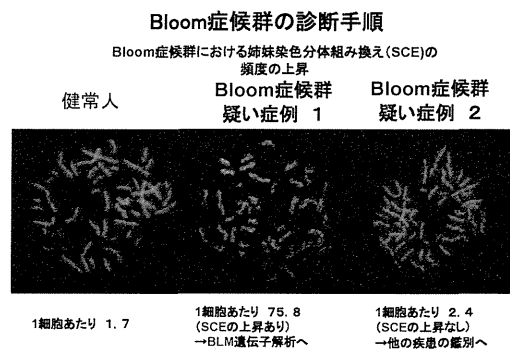
4) Bloom 症候群の免疫能の解析

Bloom 症候群においては、進行性の T 細胞機能障害が存在する可能性が示唆されるが、その実態はよくわかっていない。同様な DNA 修復機序の障害を特徴とする遺伝性疾患である Ataxia telangiectasia (AT) との比較を行うことにより、Bloom 症候群に特徴的な T 細胞分化障害を明らかにすることを目的とした。ほぼ同年齢 (20 歳前後) の AT 2 例と、Bloom 症候群 2 例を対象として、末梢血 T 細胞亜群分布ならびに TCR 多様性を解析した。AT 症例では thymic extract を反映する CD45RO 陰性ナイーブ T 細胞の著明な減少を認めた、一方 Bloom 症候群ではナイーブ T 細胞は比較的保持さ

れており、加齢に伴う減少も認めなかった。T 細胞多様性の低下も AT に比べ Bloom 症候群では軽度に留まった。以上の結果は、Bloom 症候群における T 細胞機能異常が限定的であることを示唆した。

5) Bloom 症候群の診断指針の作成

Bloom 症候群は、発癌が生命予後を左右する。早期に診断し、定期的にフォローすることが重要と考えられる。そこで、Bloom 症候群の診断指針の作製を試みた。姉妹染色分体組み換えの頻度の増加が、Bloom 症候群に特異的であり、増加が認められた場合は暫定症例とした。確定診断は遺伝子検索を行うこととした。健常人、Bloom 症候群患者、Bloom 症候群疑い症例の姉妹染色分体組み換えを示す (図)。Bloom 症候群では健常人の約 15~40 倍の姉妹染色分体組み換えの頻度の上昇が認められたが、疑い症例は、健常人とほぼ同等だった。姉妹染色分体組み換えの頻度の上昇は、Bloom 症候群であることを強く示唆すると考えられた。また、全国調査から、大部分の症例で小柄な体型、血清 IgM の低下 (50mg/dl 以下) が認められたことから、Bloom 症候群には、重要な所見と考えられた。以上をもとに、Bloom 症候群の診断指針を作製した。



6) Bloom 症候群の分子病態・構造解析研究

遺伝子型-表現系相関解析について、大腸菌システムを用いた発現系の確立を行い、ヘリカーゼドメイン等を精製し、構造機能相関解析を行うことを目的とした。大腸菌システムにおける発現・精製は可能となっているが、立体構造解析までには至っておらず、今後、さらにシステムの改良が必要と考えられた。これまで関連が指摘されていない変異・多型についても、そのリスクが考慮される必要があり、遺伝子変異をもつヒトキャリアを含めた医療の確立において、BLM タンパクにおける変異の影響について、さらなる機能・構造解析が必要である。

7) Rothmund-Thomson 症候群の全国調査

Rothmund-Thomson 症候群の二次調査を集計した。10 例中 8 例が男性であった。小柄な体型が 7 例に認められた。生下時の体重の記載がある 2 例は、いずれも低出生体重児であった。多形皮膚萎縮症が 7 例に認められ、診断の根拠とされている場合が多かった。発癌に関して 10 症例中 2 例に骨肉腫が認められた。RECQL4 遺伝子検査は 10 例中 4 症例で施行されていた。これらの症例では RECQL4 遺伝子変異は認められなかった。

8) RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群の全国調査

Rothmund-Thomson 症候群の類縁疾患として、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群が知られている。しかし、本邦での実態は不明であった。本研究班で二つの症候群の全国

調査を行った。RPADILINO 症候群 1 例、Baller-Gerold 症候群 2 例の報告があった。橈骨欠損、母指欠損などの臨床症状から診断がなされていた。RECQL4 遺伝子検索はされていなかった。臨床症状に加えて RECQL4 遺伝子検査等により診断の精度を高める必要がある。これらの疾患は RECQL4 異常症として、Rothmund-Thomson 症候群も含めて 3 疾患を包括して整理が可能であると考えられた。また、Rothmund-Thomson 症候群の発症分子機構を解明するために多重がん、精神運動発達遅滞、低身長、骨異常、先天性白内障を併発し、Rothmund-Thomson 症候群類似の表現型を呈した症例の網羅的遺伝子解析を施行した。

9) Rothmund-Thomson 症候、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群診断指針の作成

Rothmund-Thomson 症候群に関して、これまでに確定診断法は確立されていない。Wang と Plon らは、乳児期に発症する難治性非典型的湿疹に加えて、毛髪異常、低身長、骨格異常、白内障、爪の異常、角化症のいずれか 2 つが見られれば、Rothmund-Thomson 症候群疑いと定義している。この提唱を参考に以下の Rothmund-Thomson 症候群診断指針(案)を作成した。

多形皮膚萎縮症(前駆症状は難治性非典型的湿疹)に加えて、典型的臨床症状が 2 つ以上みられれば、RTS 疑いとする。さらに家族歴あり、なしに分類し、ありの場合、RECQL4 遺伝子検査を行う。また家族歴なしの場合、皮膚生検による多形皮膚萎縮所見の確認、もしくは皮膚線維芽細胞、リンパ球の FISH 解析による染色体異常の確認を行い、いずれかの異常所見が得られれば RECQL4 遺伝子検査を行う。遺伝子検査で異常

がみられない場合でも暫定診断とし、確定診断例と同様に定期検査による悪性腫瘍のスクリーニングを行うことを推奨する。また暫定診断例に関して、同意が得られたものに関しては新たな候補遺伝子の解析を進める。

Rothmund-Thomson 症候群の診断指針に従い診断された症例のなかで、頭蓋骨早期融合、狭頭、短頭症を有するものを Baller-Gerold 症候群、多形皮膚萎縮等の皮膚症状がないものを RAPADILINO 症候群とした。しかし、これらの3つの症候群は、RECQL4 の障害により発症する一群と、別の病因により発症するものも含まれている。今後、RECQL4 遺伝子異常を示す疾患群とそれ以外のものを、区別して考える必要がある。

D. 考 察

本研究班の目的は、Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群とその類縁疾患である RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群の本邦における、実態を明らかにし、診断指針の作成を行うことである。Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群の生命予後を左右するのは、悪性腫瘍の合併である。本診断指針を一般の小児科医、皮膚科医、内科医等に、広く知ってもらうことで、早期に診断される症例が増え、生命予後の改善につながることを期待される。今後、さらに研究を発展させ4疾患についての基礎的検討、臨床情報を加味して診断指針を改良する予定である。

E. 結 論

平成 23、24 年度難治性疾患克服研究事業、研究奨励分野の「遺伝子修復異常症(Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群、

RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群)の実態調査、早期診断法の確立に関する研究」班にて、1) 全国アンケート調査による患者数の把握を行い Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群の症例把握、実態を明らかにした。2) Bloom 症候群の免疫能では、血清 IgM の低下が特徴的であった。3) Bloom 症候群の BLM 遺伝子変異に本邦で頻度の多い遺伝子変異が存在することを明らかにした。4) Rothmund-Thomson 症候群は、全国調査で 10 症例を確認した。特徴的な皮疹が診断の決め手になっていた。RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群は、それぞれ 1 症例、2 症例が報告されたが RECQL4 遺伝子の解析はなされていなかった。5) Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群の診断指針を作製した。6) Bloom 症候群、Rothmund-Thomson 症候群、RAPADILINO 症候群、Baller-Gerold 症候群のホームページを立ち上げた。以上の研究を通じて本研究班の目的である本症候群の実態調査、早期診断法の確立という目標を達成することができた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kaneko H, Fukao T, Kasahara K, Yamada T, Kondo N. Augmented cell death with Bloom syndrome helicase deficiency. *Mol Med Report.* 2011;4: 607-9.
2. Morita H, Kaneko H, Ohnishi H, Kato Z, Kubota K, Yamamoto T, Matsui E, Teramoto T, Fukao T,

- Kasahara K, Kondo N. Structural property of soybean protein P34 and specific IgE response to recombinant P34 in patients with soybean allergy. *Int J Mol Med*. 2011 [Epub ahead of print]
3. Ohnishi H, Miyata R, Suzuki T, Nose T, Kubota K, Kato Z, Kaneko H, Kondo N. A rapid screening method to detect autosomal-dominant ectodermal dysplasia with immune deficiency syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 2011 [Epub ahead of print]
 4. Funato M, Fukao T, Sasai H, Hori T, Terazawa D, Kubota K, Ozeki M, Orii K, Kaneko H, Kondo N. Successful treatment of pediatric immune thrombocytopenic purpura associated with ulcerative colitis. *Pediatr Int*. 2011 Oct;53(5):771-3.
 5. Funato M, Kaneko H, Kubota K, Ozeki M, Kanda K, Orii K, Kato Z, Fukao T, Kondo N. Pediatric acute lymphoblastic leukemia mimicking Henoch-Schönlein purpura. *Pediatr Int*. 2011 Oct;53(5):766-8.
 6. Funato M, Kaneko H, Ohkusu K, Sasai H, Kubota K, Ohnishi H, Kato Z, Fukao T, Kondo N. Refractory chronic pleurisy caused by *Helicobacter equorum*-like bacterium in a patient with X-linked agammaglobulinemia. *J Clin Microbiol*. 2011 Sep;49(9):3432-5. Epub 2011 Jun 15.
 7. An Y, Ohnishi H, Matsui E, Funato M, Kato Z, Teramoto T, Kaneko H, Kimura T, Kubota K, Kasahara K, Kondo N. Genetic variations in MyD88 adaptor-like are associated with atopic dermatitis. *Int J Mol Med*. 2011 Jun;27(6):795-801.
 8. Morita H, Kaneko H, Ohnishi H, Kato Z, Kondo N. Antigen-specific immune response to endotoxin-free recombinant P34. *Allergy*. 2011 Jul;66(7):985-6.
 9. Ohnishi H, Teramoto T, Iwata H, Kato Z, Kimura T, Kubota K, Nishikomori R, Kaneko H, Seishima M, Kondo N: Characterization of NLRP3 Variants in Japanese Cryopyrin-Associated Periodic Syndrome Patients. *J Clin Immunol* in press
 10. Fukao T, Sass JO, Kursula P, Thimm E, Wendel U, Ficicioglu C, Monastiri K, Guffon N, Varic I, Zobot M-T, Kondo N. Clinical and molecular characterization of five patients with Succinyl-CoA:3-ketoacid CoA transferase (SCOT) deficiency *Biochimica Biophysica Acta Molecular Basis of Disease*

- 1812:619-24, 2011
11. Macdonald MJ, Longacre MJ, Stoker SW, Kendrick MA, Thonpho A, Brown LJ, Hasan NM, Jitrapakdee S, Fukao T, Hanson MS, Fernandez LA, Odorico J. Differences between human and rodent pancreatic islets: low pyruvate carboxylase, ATP citrate lyase and pyruvate carboxylation; high glucose-stimulated acetoacetate in human pancreatic islets. *J Biol Chem.* 286:18383-18396, 2011
 12. Fukao T, Maruyama S, Ohura T, Hasegawa Y, Toyoshima M, Haapalainen AM, Kuwada N, Imamura M, Yuasa I, Wierenga RK, Yamaguchi S, Kondo N. Three Japanese patients with beta-ketothiolase deficiency who share a mutation, c.431A>C (H144P) in ACAT1: subtle abnormality in urinary organic acid analysis and blood acylcarnitine analysis using tandem mass spectrometry. *JIMD Reports* in press
 13. Okubo J, Takita J, Chen Y, Oki K, Nishimura R, Kato M, Sanada M, Hiwatari M, Hayashi Y, Igarashi T, Ogawa S: Aberrant activation of ALK kinase by a novel truncated form ALK protein in neuroblastoma. *Oncogene.* 2012 Jan 16. doi: 10.1038/onc.2011.616. [Epub ahead of print]
 14. Shiba N, Park MJ, Taki T, Takita J, Hiwatari M, Kanazawa T, Sotomatsu M, Ishii E, Arakawa H, Ogawa S, Hayashi Y: CBL mutations in infant acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol.* 156: 672-674, 2012
 15. Miura K, Sekine T, Takamizawa M, Terashima H, Furuya A, Koh K, Takita J, Ida K, Igarashi T: Early occurrence of nephrotic syndrome associated with cord blood stem cell transplantation. *Clin Exp Nephrol.* Oct 12. 2011 [Epub ahead of print]
 16. Takita J, Chen Y, Okubo J, Sanada M, Adachi M, Ohki K, Nishimura R, Hanada R, Igarashi T, Hayashi Y and Ogawa S: Aberrations of NEGR1 on 1p31 and MYEOV on 11q13 in neuroblastoma. *Cancer Science.* 102:1645-1650, 2011
 17. Shiba N, Taki T, Park MJ, Nagasawa M, Kanazawa T, Takita J, Ohnishi H, Sotomatsu M, Arakawa H, Hayashi Y: CBL mutation in childhood therapy-related leukemia. *Leukemia.* 25: 1356-1358, 2011
 18. Oki K, Takita J, Hiwatari M, Nishimura R, Sanada M, Okubo J,

- Adachi M, Sotomatsu M, Kikuchi A, Igarashi T, Hayashi Y, Ogawa S: IDH1 and IDH2 mutations are rare in pediatric myeloid malignancies. *Leukemia*. 25:382-384, 2011
19. Ogawa S, Takita J, Sanada M, Hayashi Y: Oncogenic mutations of ALK in neuroblastoma. *Cancer Sci*. 102:302-308, 2011
20. Yoshida K, Sanada M, Kato M, Kawahata R, Matsubara A, Takita J, Shih LY, Mori H, Koeffler HP, Ogawa S: A nonsense mutation of IDH1 in myelodysplastic syndromes and related disorders. *Leukemia*. 25:184-186, 2011
21. Takahashi K, Oka A, Mizuguchi M, Saitoh M, Takita J, Sato A, Mimaki M, Kato M, Ogawa S, Igarashi T: Interstitial deletion of 13q14.13-q32.3 presenting with Arima syndrome and bilateral retinoblastoma. *Brain Dev*. 33:353-356, 2011
22. Wada T, Nishimura K, Kuroda M, Asai E, Vu QV, Toma T, et al. A case of acute encephalopathy with hemophagocytic lymphohistiocytosis and clonal T-cell expansion. *Brain Dev* in press.
23. Yang X, Wada T, Imadome KI, Nishida N, Mukai T, Fujiwara M, et al. Characterization of Epstein-Barr virus (EBV)-infected cells in EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in two patients with X-linked lymphoproliferative syndrome type 1 and type 2. *Herpesviridae* in press.
24. Uchida Y, Morita H, Adachi S, Asano T, Taga T, Kondo N: Bacterial meningitis of neonate due to *Lactococcus lactis*. *Pediatr Int* 53, 119-120 (2011)
25. Ogasawara N, Katagiri YU, Kiyokawa N, Kaneko T, Sato B, Nakajima H, Miyagawa Y, Kushi Y, Ishida H, Kiso M, Okita H, Sato T, Fujimoto J. Accelerated biosynthesis of neolacto-series glycosphingolipids in differentiated mouse embryonal carcinoma F9 cells detected by using dodecyl N-acetylglucosaminide as a saccharide primer. *J Biochem*. 2011 Mar;149(3):321-30. Epub 2010 Dec 8.
26. Ohta H, Iwamoto S, Kiyokawa N, Tsurusawa M, Deguchi T, Takase K, Fujimoto J, Horibe K, Komada Y. Flow cytometric analysis of de novo acute myeloid leukemia in childhood: report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Int J Hematol*. 2011 Jan;93(1):135-7.

27. Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Kikuchi A, Koh K, Kiyokawa N, Fukushima T, Ishida Y, Saito T, Hanada R, Tsuchida M; The Tokyo Children's Cancer Study Group. The utility of performing the initial lumbar puncture on day 8 in remission induction therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia: TCCSG L99-15 study. *Pediatr Blood Cancer*. (in press)
28. Katagiri YU, Sato B, Yamatoya K, Taki T, Goto-Inoue N, Setou M, Okita H, Fujimoto J, Ito C, Toshimori K, Kiyokawa N. GalNAc β 1,3-linked paragloboside carries the epitope of a sperm maturation-related glycoprotein that is recognized by the monoclonal antibody MC121. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011 Mar 18;406(3):326-31. Epub 2011 Feb 17.
29. Sato B, Katagiri YU, Miyado K, Okino N, Ito M, Akutsu H, Okita H, Umezawa A, Fujimoto J, Toshimori K, Kiyokawa N. Lipid rafts enriched in monosialylGb5Cer carrying the stage-specific embryonic antigen-4 epitope are involved in development of mouse preimplantation embryos at cleavage stage. *BMC Dev Biol*. 2011 Apr 14;11:22.
30. Iwamoto S, Deguchi T, Ohta H, Kiyokawa N, Tsurusawa M, Yamada T, Takase K, Fujimoto J, Hanada R, Hori H, Horibe K, Komada Y. Flow cytometric analysis of de novo acute lymphoblastic leukemia in childhood: report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. *Int J Hematol*. 2011 Aug;94(2):185-92.
31. Inukai T, Kiyokawa N, Campana D, Coustan-Smith E, Kikuchi A, Kobayashi A, Takahashi H, Koh K, Manabe A, Kumagai M, Ikuta K, Hayashi Y, Tsuchida M, Sugita K, Ohara A. Clinical significance of early T-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: Results of the Tokyo Children's Cancer Study Group Study L99-15 *Br J Hematol*. (in press)
2. 学会発表
1. Kaneko H, Ohnishi H, Morita H, Yamamoto T, Kubota K, Teramoto T, Kato Z, Matsui E, Kato H, Nakano T, Kondo N. Development of enzymatically digested peptides for immunomodulation therapy in patients with cow's milk allergy. 16th Asia Pacific Association of Pediatric Allergy, Respiratory and Immunology Oct 28~30, 2011 Fukuoka, Japan
2. Kaneko H, Ohnishi H, Funato M, Kondo N Pathogenesis and clinical feature of primary antibody deficiencies The 7th Congress of Asian Society for Pediatric Research April 30 ~ May 3, 2011 Denver, Colorado, USA
3. 金子英雄、深尾敏幸、谷内江昭宏、清河信敬、滝田順子、内田靖、近藤直実: Bloom 症候群の実態調査と診断指針の策定の試み 日本免疫不全症研究会 (第 4 回)

2011年1月22日 福岡

4. 金子英雄、内田靖、大西秀典、深尾敏幸、谷内江昭宏、清河信敬、滝田順子、山崎直也、田内久道、近藤直実 本邦における Bloom 症候群の実態調査 第49回日本小児アレルギー学会 大阪 2012年9月
5. 富田理, 三春晶嗣, 飯島一智, 小林健一郎, 大喜多肇, 金子英雄, 清河信敬. Bloom 症候群簡易スクリーニング法としての末梢血白血球 Bloom 蛋白検出の試み. 第22回日本サイトメトリー学会学術集会, 大阪, 6月29日-30日, 2012.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
特になし

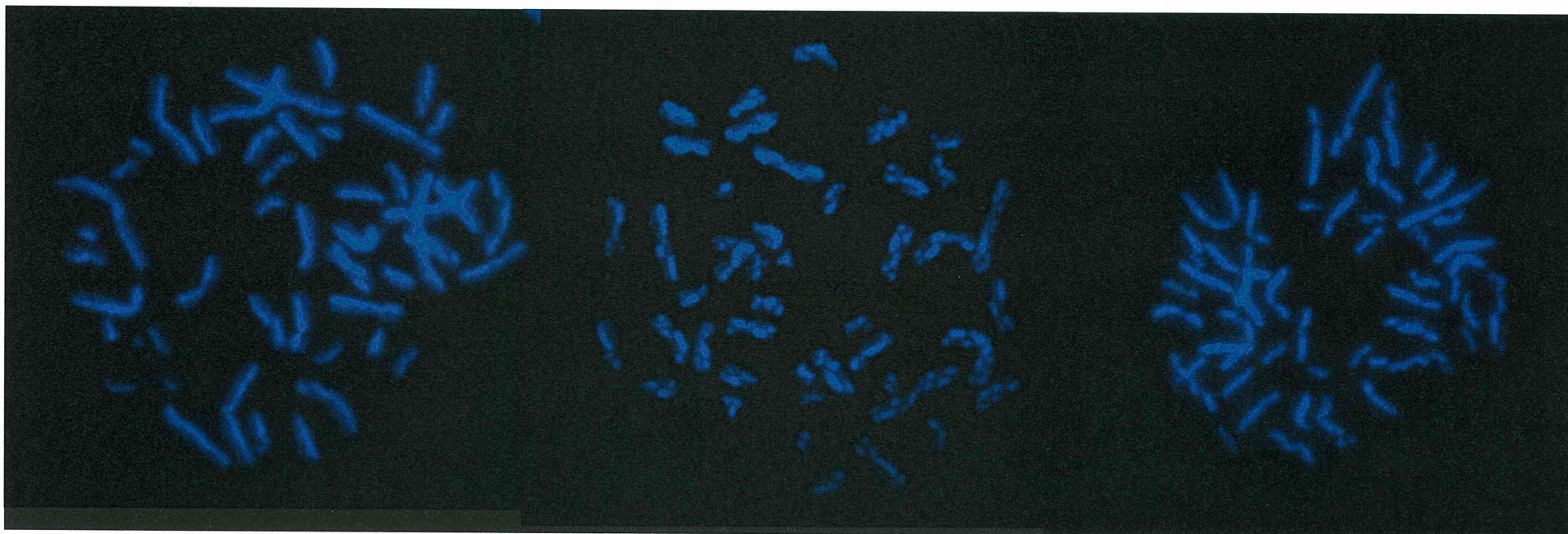
Bloom症候群の診断法の確立1

Bloom症候群における姉妹染色分体組み換え(SCE)の
頻度の上昇

健常人

Bloom症候群
疑い症例 1

Bloom症候群
疑い症例 2



1細胞あたり 1.7

1細胞あたり 75.8
(SCEの上昇あり)
→BLM遺伝子解析へ

1細胞あたり 2.4
(SCEの上昇なし)
→他の疾患の鑑別へ

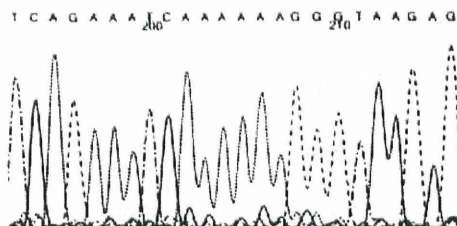
図2

Bloom症候群の診断法の確立2

BLM遺伝子変異の検出

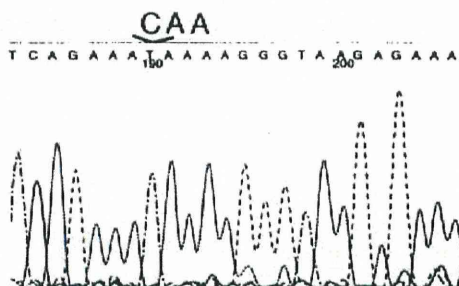
保因者の簡易診断法

健常人

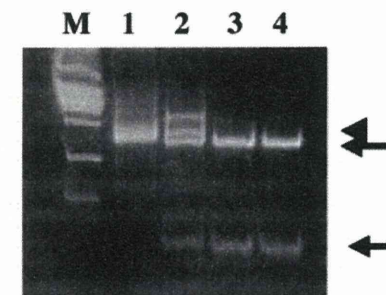
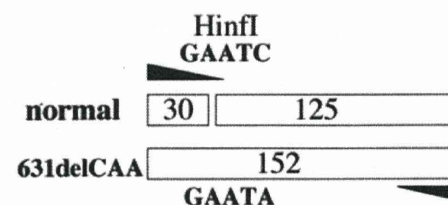


Bloom症候群
疑い症例1
SCEの上昇

Bloom症候群
暫定症例



変異あり
Bloom症候群確定症例
保因者の検索



- レーン
- M: マーカー
 - 1: 確定症例 Bloom症候群 mutant band(152bp)のみ
 - 2: 確定症例の母 normalとmutant bands
Bloom症候群 保因者
 - 3: 健常人1 normal bandsのみ
 - 4: 健常人2 normal bandsのみ

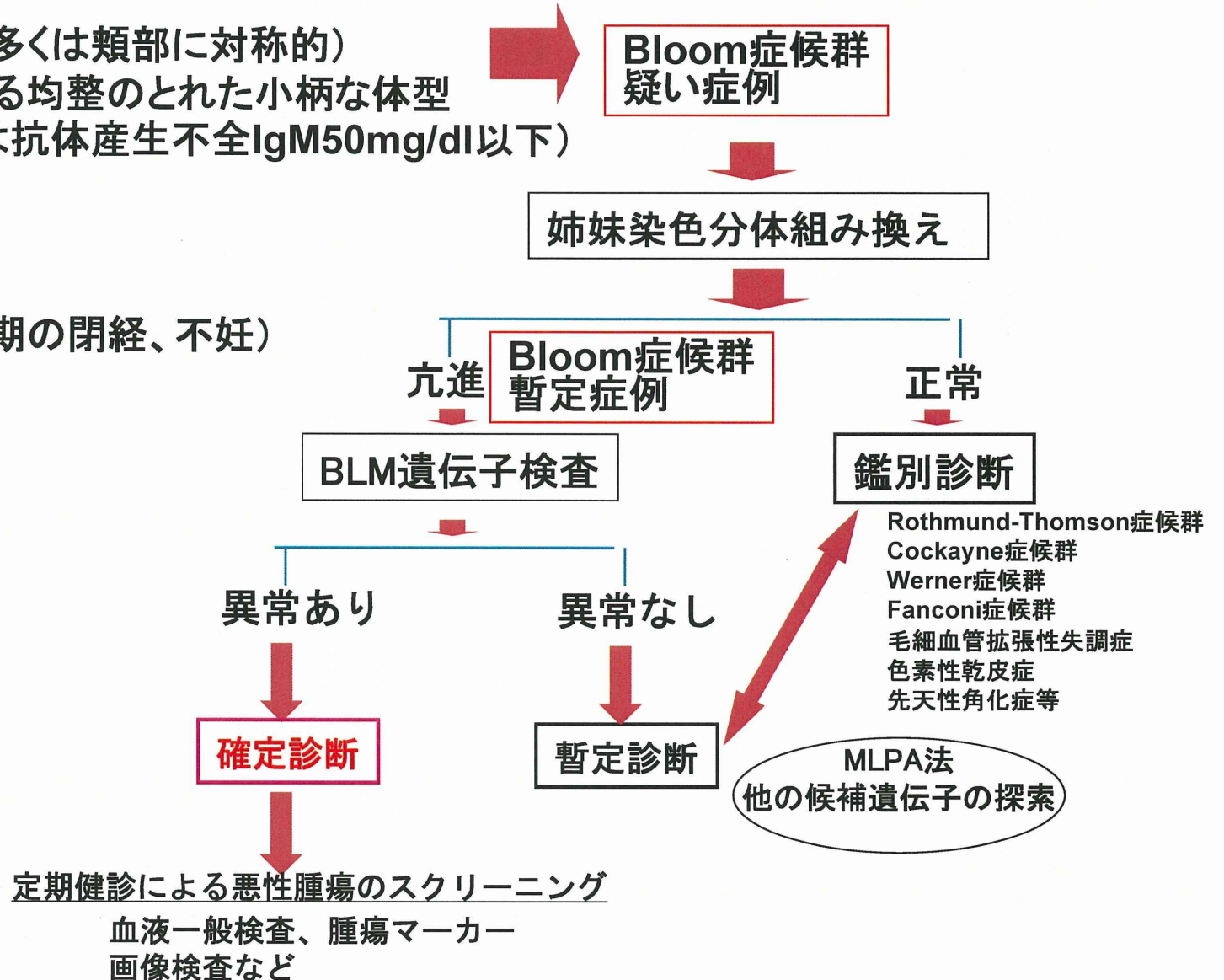
Bloom症候群診断指針

臨床症状

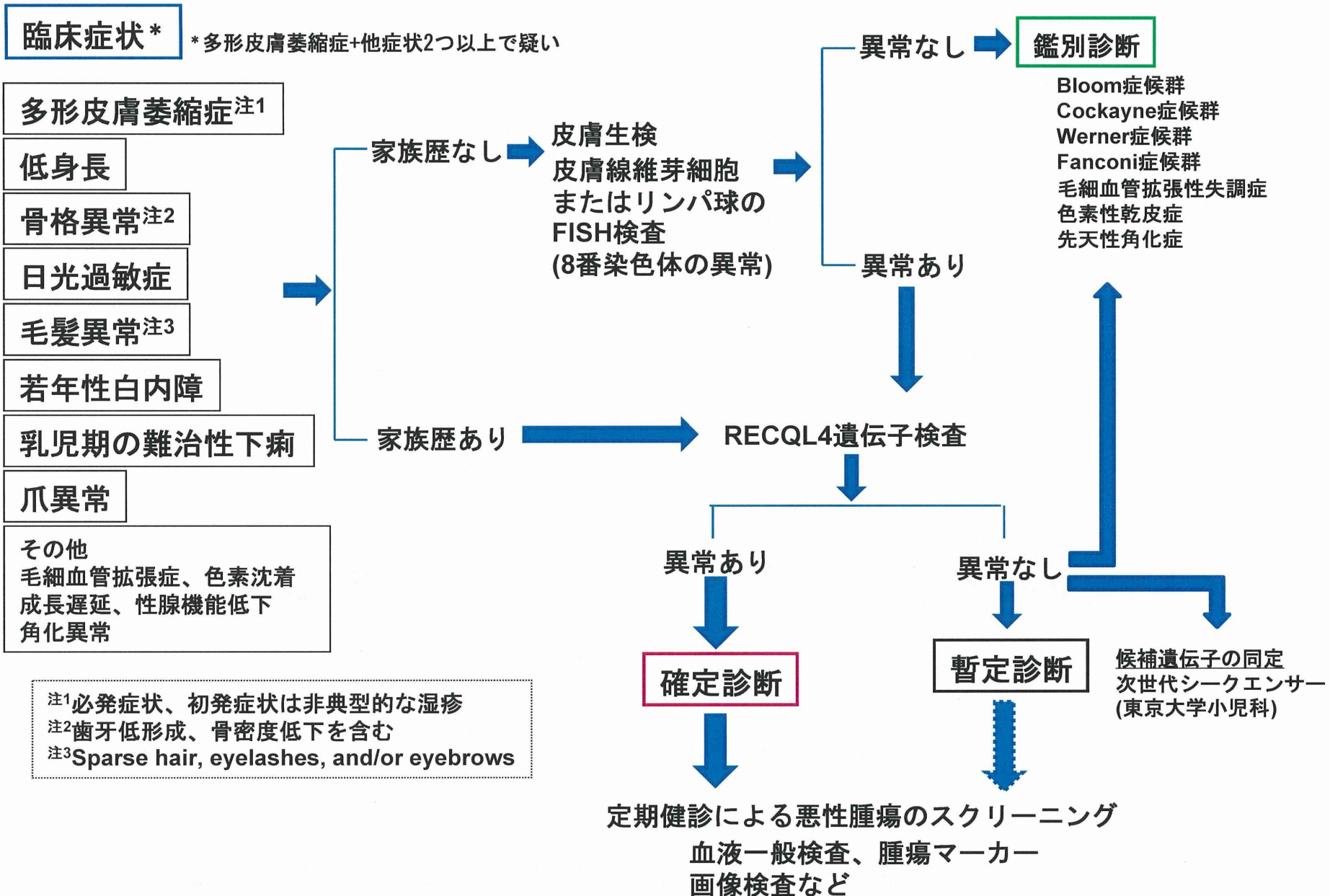
- ・日光過敏性紅斑(多くは頬部に対称的)
- ・生下時からみられる均整のとれた小柄な体型
- ・免疫不全症(多くは抗体産生不全IgM50mg/dl以下)
- ・発癌の既往

参考症状

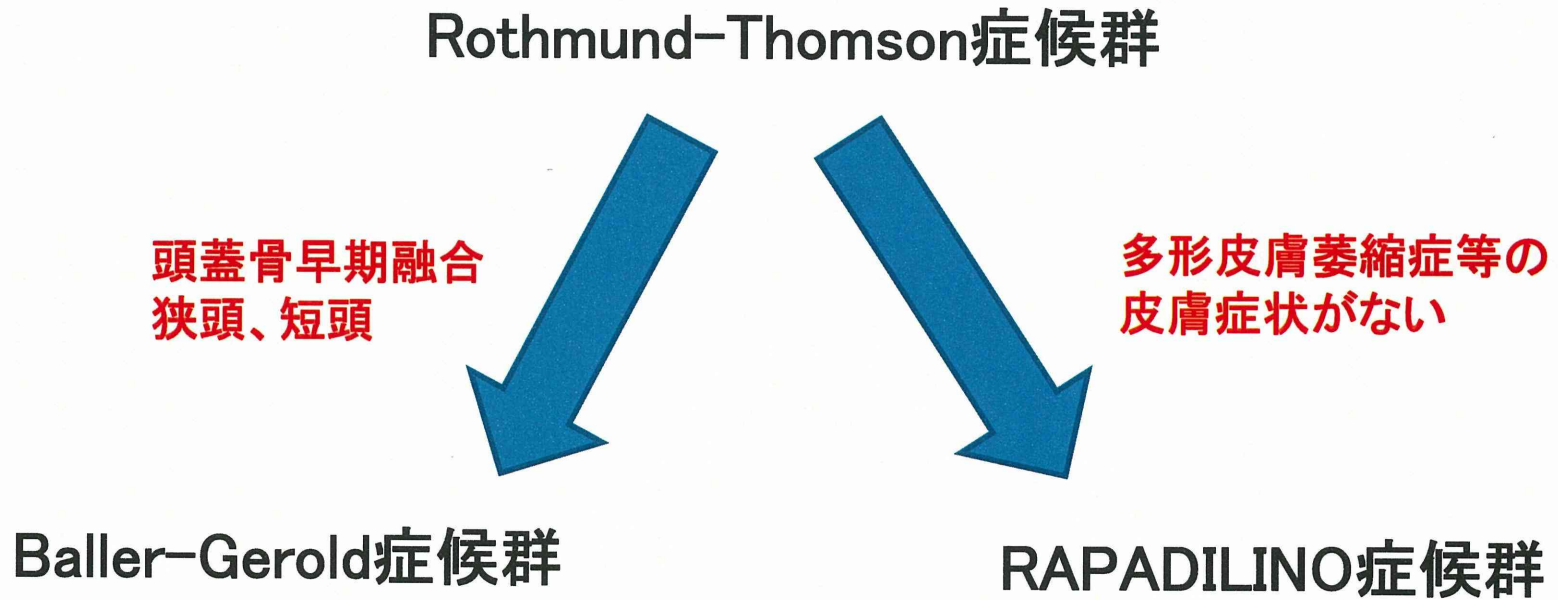
- ・鳥様顔貌
- ・性腺機能低下(早期の閉経、不妊)
- ・糖尿病



Rothmund-Thomson症候群診断指針



Rothmund-Thomson, RAPADILINO, Baller-Gerold症候群診断指針



これらの3つの症候群は、RecQL4の障害により発症する一群と、別の病因により発症するものも含まれている。RecQL4遺伝子異常を示す疾患群を区別せずに1つの疾患単位としてとらえる方がわかりやすいとも考えられる。