

害疾患は総計 535 例で、そのうち特発性再不貧は毎年 50-56 例とほぼ一定した症例数であった。

b. Dyskeratosis congenita ; DC 症例は 6 年間で 7 例登録された(表)。2011 年診断症例はいなかった。

D. 考察

小児血液学会疾患登録事業は2006年に開始され、さらに2009年2月から実施している形態中央診断により、診断精度が向上している。また本研究班発足後、毎年小児血液学会総会でDCはシンポジウムで取り上げられ、造血不全、血液症状を呈するDCが小児血液科医師に認知され、診断の手引き、遺伝子診断の体制が整い、診断のアプローチが普及しており、正確な診断が行われた可能性が高い。

本研究班の対象疾患である DC に対しては、2007 年に疾患登録事業とほぼ同じ施設を対象に実施した先行研究 (1988-2004 年症例) で、17 年間 1,337 例の造血障害から 6 例(0.45%) (95%CI 0.42-0.47%)の DC 症例が登録されているが、これと比較して 6 年

表

Diagnosis / Year	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Hospitals (registered/member)	184 / 223	204 / 231	212 / 235	213 / 236	216 / 239	201 / 239
(%)	83%	88%	90%	90%	90%	84%
Idiopathic AA	58	62	68	68	55	56
Hepatitis AA	5	8	11	7	13	5
AA / PNH	2	1	1	0	1	0
Fanconi Anemia	5	4	6	1	4	2
Diamond-Blackfan anemia	9	6	9	10	5	8
Idiopathic PRCA	1	4	5	8	5	7
Severe Cong. Neutropenia	1	2	4	3	5	4
Cyclic Neutropenia	1	2	5	5	2	3
Schwachman-Diamond	0	1	1	2	0	0
Dyskeratosis congenita	2	0	1	3	1	0

As of June 2012

間に診断された 7 例 (1.31%) (95%CI 0.34-2.27%) という症例頻度は先行研究よりも多い。一方、2011 年診断症例がいなかった事は、有意差の範囲であり、特別に少なくない。

E. 結論

今回の疾患登録調査で2006から2011年に診断されて登録された 535 例の造血障害症例から、新規診断 DC 症例が 7 例報告され、2011 年は診断症例はいなかった。

F. 研究発表

なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

分担研究項目：骨髄生検の病理診断

研究分担者 伊藤 雅文（名古屋第一赤十字病院病理部 部長）

研究要旨： 先天性角化不全症（DKC）は、原因遺伝子として6種類のテロメア関連遺伝子が同定されている。リンパ球のテロメア長が短縮した症例から、DKCに見られる身体的特徴を持たないがTINF2遺伝子の変異を持つ症例が見出された。DKCとテロメア長短縮との関連が示唆される。本研究では、小児造血障害症候群病理中央診断症例を用い、テロメア長短縮が見られた症例の病理組織学的特徴について検討した。テロメア長は再生不良性貧血やMDS（RCC, RCMD, RAEB）で正常症例に比べ短縮する傾向が見られ、特に短縮が強い群ではRCCやRCMDのMDS群に多く見られた。短縮症例にDKC症例も含まれたが、RCCの形態を呈し、その他のRCCとの病理組織学的な違いは明らかではなかった。

A. 研究目的

再生不良性貧血、MDS、先天性造血障害はその多くが汎血球減少を主体とする臨床病態が類似し、また骨髄病理像は極めて近似し、鑑別診断は従来多くの場合困難であった。小児造血障害症候群症例の病理診断が中央化され、一定の組織像における特徴により、再生不良性貧血およびRCC、RCMDの鑑別診断が可能となった。先天性造血障害症候群は極めて多彩な疾患からなり、臨床的特徴により診断される場合が多い。先天性角化不全症（DKC）は、汎血球減少を示す先天造血障害症候群の一亜型で、皮膚、爪、口腔粘膜の特徴的臨床像から疑われる。原因遺伝子として6種類のテロメア関連遺伝子が同定されていることから、テロメア長短縮が想定され、テロメア長短縮が見られた中央診断症例の遺伝子解析から、身体的特徴を伴わないがDKC関連遺伝子の変異が見出された。

本研究では、リンパ球テロメア長の短縮が明瞭な症例について、その骨髄病理組織像の検討を行い、テロメア長短縮と骨髄病理像の関連について

明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

名古屋大学小児科で行われた、リンパ球のテロメア長測定結果を検討し、-2.0SD以下の短縮を呈した症例を抽出した。骨髄生検、クロット標本を用いた病理組織学的検討、p53、CD42b、胎仔型ヘモグロビン（HbF）、CD34などの免疫染色を再検討した。

（倫理面への配慮）

日本小児血液学会としての登録事業の一環で、疫学研究倫理指針に準拠した臨床研究である。匿名化、個人情報守秘を厳守し、データの取り扱いに注意する。

C. 研究結果

2009年から2012年までに中央診断に病理標本が提出された721例のうち、リンパ球のテロメア長が測定された症例で、-2.0SD以下の短縮は35例で見られた。これら症例は、再生不良性貧血4例、RCC14例（1例のDKC、1例のファンconi

貧血、1例の肝炎後造血障害を含む)、RCMD 12例、RAEB,AML4例、その他1例であった。

DKC症例とその他のRCCの比較では、病理組織学的特徴は見られなかった。

テロメア長が $-2.0SD$ 以内であった群と、 $-2.0SD$ であった群との比較では、病理組織学的特徴は明らかではなかった。

D. 考察

DKCはテロメア関連遺伝子の異常が知られており、先天性造血障害症候群におけるテロメア長短縮の意義を検討した。再生不良性貧血や、RCC、RCMDなどのMDSでは、いずれも正常群と比較し短縮傾向が見られたが、坂口らの検討では、テロメア長は再生不良性貧血とRCCの間では明らかな相関はなく、またRCCとRCMDの間でも同様であった。特に短縮が明瞭な症例についての検討では、よりRCCやRCMDの例が多く、すでに芽球の増加を呈する症例も見られた。診断時のテロメア短縮は、免疫抑制療法の反応性に対する予測因子とはならないが、clonal evolution 発生のリスクについては有意な予測因子となったと報告されており、この結果は同一の事象を示していると考えられる。

DKC症例とのそれら症例の比較検討では、DKC症例が少ないこともあり、明瞭な特徴は見出されなかった。

E. 結論

DKCは造血障害を呈することから、先天性造血障害症候群から抽出される可能性が高い。テロメア長の検討はそのスクリーニングには一定の有用性を示すが、DKCの病理組織学的特徴は明らかにできなかった。テロメア長短縮は再生不良性貧血やMDSに共通してみられる傾向があり、特に強い短縮ではRCCやRCMD、あるいはすでに芽球の増加を呈する例に見られ、小児造血不全のメカニズムを考える上ではさらに検討が必要と考えられる。

F. 研究発表

なし。

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

分担研究項目：不全型先天性角化不全症の新規診断法の開発

研究分担者 山口 博樹（日本医科大学血液内科 講師）

研究要旨： 先天性角化不全症(DKC)におけるテロメア関連遺伝子変異は診断に重要である。次世代シーケンサーによる遺伝子変異検索は、正確で効率的にDKCの既知の原因遺伝子変異を同定することができた。また新規遺伝子変異の探索では、ロスモンド・トムソン症候群、毛細血管拡張性運動失調症、Bloom症候群の原因遺伝子であるRECQL4、ATM、BLMのヘテロ変異が高率に認められ、DKCの病態への関与が考えら

A. 研究目的

先天性角化不全症(Dyskeratosis congenita: DKC)は網状色素沈着、爪の萎縮、舌の粘膜白斑症などといった特徴的身体的所見を伴う先天性の骨髄不全症(Bone marrow failure: BMF)である。10歳前後までに約80%以上の症例にこれらの特徴的身体的所見が付随しBMFを発症する。また約8%の症例に皮膚、上咽頭、消化管の扁平上皮癌や腺癌などの悪性腫瘍や、急性白血病などの造血器腫瘍の発症が認められる。遺伝型式はX連鎖劣性遺伝が35%、常染色体優性遺伝が5%、常染色体劣性遺伝が数%に認められるが、残りの約60%近くが型式不明である。DKCの約60%の症例において原因遺伝子が同定され、テロメラーゼ複合体を構成する遺伝子群である、*DKC1*、*telomerase RNA component (TERC)*、*telomerase reverse transcriptase (TERT)*などや、Shelterin複合体を構成する蛋白である *TRF-interacting nuclear protein (TINF2)*に変異が認められている。テロメラーゼ複合体は細胞分裂によるテロメアの短縮化に対しテロメアの複製、安定の役割をもち、Shelterin複合体はテロメアの先端部位の特異的な構造形成や保護などを行っている。DKCはこれらの遺伝子の変異によりテロメアが短縮化し、その結果造血幹細胞などの増殖能に障害が起き上記の症候が形成されると考えられている。

これまでに我々はDKCの原因遺伝子である上述のテロメア制御遺伝子の変異が、一部の再生不良性貧血(aplastic anemia: AA)や骨髄異形成症候群(myelodysplastic syndrome: MDS)に認められ、特徴的身体的所見を伴わず緩徐に発症する不全型DKCの存在が明らかにした(Lancet 2003;362:1628, Blood 2003;102:916, N Engl J Med. 2005 352: 1413)。不全型DKCは臨床的にAAやMDSと診断され、効果が得られない免疫抑制療法(immunosuppressive therapy: IST)が行われることがある。以上よりBMFの臨床診断において不全型DKCを鑑別することは重要である。

現在のところDKCや不全型DKCの診断基準は定まっておらず、臨床的には上述の特徴的身体的所見を伴うBMF、テロメア長の短縮、テロメア関連遺伝子の変異の同定によって診断を下している。しかしテロメア関連遺伝子の変異の同定に関しては原因遺伝子だけでも6種類存在し、その変異も一塩基変異から大欠失変異や片アレル欠失まで多彩で従来のサンガー法による変異のスクリーニングは効率的ではない。また約40%の症例は原因遺伝子が同定されていないことも問題である。

近年次世代高速シーケンサーが登場し、これまでのサンガー法による直接塩基決定法よりより早く効率的に塩基配列の決定が可能となった。本研究は大

欠失変異や片アレル欠失に関しては SNP アレイ解析で、一塩基変異に関しては次世代シーケンサーを応用し、効率的に原因遺伝子の変異が同定できるかを検討することを目的としている。また原因遺伝子が同定されていない症例に関しては、全 exon シーケンスを行い、新規原因遺伝子を同定することを目標としている。

B. 研究方法

研究対象は、特徴的身体的所見を伴う DKC 症例、もしくはテロメア長の短縮が認められた不全型 DKC 症例。目標症例数は 20 症例。

既知の遺伝子変異のスクリーニングは、*DKC1*、*TERC*、*TERT*、*NOP10*、*NHP2*、*TINF2* を対象に遺伝子解析を行う。大欠失変異や片アレル欠失のスクリーニングは、東京大学医学部附属病院・キャンサーボードの SNP アレイ解析を用いて行う。一塩基変異などのスクリーニングは、日本医科大学生命科学センターの ABI Ion PGM™ シーケンサーもしくは、従来の direct sequence 法にて行う。

新規遺伝子変異の探索は、上記のスクリーニングにおいて変異が同定出来なかった症例に関して、東京大学医学部附属病院・キャンサーボードの次世代シーケンサー Illumina 社 GAI, GAIx, HiSeq2000 を用いて全 exon シーケンスを行う。新規遺伝子が同定された場合は、そのバリデーションや機能解析を日本医科大学生命科学センターにて行う。

倫理面への配慮として、本研究は当施設遺伝子倫理審査委員会において承認が得られており以下の配慮を予定している。生命倫理上の配慮に関しては、患者、及び健康ボランティアの人権、利益の保護について文書にて十分説明をしたうえで同意を得る。また研究への協力に同意した後であってもその同意を取り消すことができること、更に本研究への同意が得られない場合においても今後の治療などにはなんら不利益を被らないことを説明する。個人情報漏洩に対する取り組みとして研究組織とは別に個人情報管理者をおき連結可能匿名化をはかったうえで解析をおこなう。同意が撤回された場合は、検体、診療情報、遺伝情報はすべて匿名化されたまま焼却によ

り破棄する。得られた結果は学会や論文として発表するが個人情報が出ることはない。遺伝子結果の開示を研究対象者が要求する場合は、倫理的問題を考慮し遺伝子カウンセリングを施行し、結果の告知は臨床遺伝専門医(遺伝カウンセラー)により行う。

C. 研究結果

1. 既知の遺伝子変異の次世代高速シーケンサーを用いたスクリーニング

2012 年 12 月現在、既知の原因遺伝子に変異を認めず、テロメア長の短縮が確認された DKC 症例、不全型 DKC 症例 16 症例を集積した。

その中で表 1 に示す様に、5 症例においては、サンガー法による直接塩基決定法では原因遺伝子が同定できなかったが、次世代高速シーケンサーによって既知の原因遺伝子の変異を同定することが出来た。

表 1 次世代高速シーケンサーによって同定された既知の遺伝子変異

Pt No.	Gene	Mutation type	Mutation
299	<i>TINF2</i>	nonsynonymous SNV	c.G845A:p.R282H
300	<i>TINF2</i>	frameshift insertion	c.824_825insA:p.T275fs
301	<i>DKC1</i>	nonsynonymous SNV	c.T1193C:p.L398P
303	<i>DKC1</i>	nonsynonymous SNV	c.C91A:p.Q31K
385	<i>TERT</i>	nonsynonymous SNV	c.C1895G:p.P632R

2. 次世代高速シーケンサーを用いた新規遺伝子変異の探索

既知の遺伝子変異がサンガー法や次世代高速シーケンサーにて同定されなかった症例に関して現在新規の遺伝子変異の探索を行っている。現時点では表 2 に示す様な新規遺伝子変異の候補が抽出されている。

表 2 次世代高速シーケンサーによって抽出された新規遺伝子変異候補

Pt No.	Gene	Mutation type	Mutation
378	<i>RECQL4</i>	nonsynonymous SNV	c.G3313C:p.G1105R
379	<i>HSPBP1</i>	nonsynonymous SNV	c.C92G:p.S31C
379	<i>HSPBP1</i>	nonsynonymous SNV	c.T91G:p.S31A
380	<i>TP53BP1</i>	nonsynonymous SNV	c.C2591G:p.T864R
384	<i>ATM</i>	nonsynonymous SNV	c.G3778A:p.V1260M
384	<i>BLM</i>	nonsynonymous SNV	c.G3385C:p.G1129R
385	<i>RECQL4</i>	nonsynonymous SNV	c.G1405A:p.V469M
386	<i>BLM</i>	nonsynonymous SNV	c.G2148C:p.L716F
386	<i>TP53BP2</i>	nonsynonymous SNV	c.A1375G:p.K459E
390	<i>RECQL4</i>	nonsynonymous SNV	c.C1394T:p.T465M
391	<i>RECQL4</i>	nonsynonymous SNV	c.C215T:p.A72V

D. 考察

次世代高速シーケンサーによる遺伝子変異検索は、従来のサンガー法による直接塩基決定法と比較してより正確で効率的に既知の遺伝子変異を同定することができた。DKCのように原因遺伝子が多く、変異も一塩基変異から大欠失変異や片アレル欠失まで多彩である疾患において、臨床上遺伝子診断をする場合に、次世代高速シーケンサーによるターゲットシーケンスは有用であると考えられる。

新規遺伝子探索に関しては、現在探索中ではあるが、表2に示すように早老症の一つとして考えられているロスモンド・トムソン症候群の原因遺伝子である *RECQL4* のヘテロ変異が高率(4/11(36.3%))に抽出された。ロスモンド・トムソン症候群は常染色体劣性遺伝疾患であるので *RECQL4* のヘテロ変異が DKC の病態にどのように関与しているのかは不明である。また症例 384 の様に常染色体劣性遺伝疾患である毛細血管拡張性運動失調症の原因遺伝子である *ATM* と毛細血管拡張性運動失調症様疾患である Bloom 症候群の原因遺伝子である *BLM* のヘテロ変異を同時に認める症例があった。*ATM* と *BLM* は遺伝子修復に関与する遺伝子群であり、これらのヘテロ変異の共存がどのように DKC の病態に関与しているのかは不明だが、次世代高速シーケンサーで網羅的遺伝子変異探索をすることによって、既知の常染色体劣性遺伝疾患のヘテロ遺伝子変異の組み合わせによる新たな病態が明らかになるのかもしれない。

E. 結論

次世代高速シーケンサーによる遺伝子変異検索は、正確で効率的に DKC の既知の原因遺伝子変異を同定することができた。また *RECQL4*、*ATM*、*BLM* といった常染色体劣性遺伝疾患のヘテロ変異が高率に認められ、DKC の病態への関与が考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

山口博樹、檀 和夫. 骨髄不全症候群におけるテロメア制御異常. 血液フロンティア. 2012; 22(6): 941-952.

2. 学会発表

山口博樹、檀 和夫. 先天性造血障害の病態解明の進歩. 日本小児血液がん学会学術集会. 2012年12月. 横浜

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

分担研究項目：遺伝性疾患と間質性肺炎に関する研究

研究分担者 長谷川好規（名古屋大学大学院医学系研究科呼吸器内科学 教授）

研究協力者 橋本 直純（名古屋大学大学院医学系研究科呼吸器内科学 助教）

研究要旨： 先天性角化不全症(DKC)の一表現型としての肺線維症が予後に大きな影響を与える。DKCの責任遺伝子と同一遺伝子異常が家族性特発性肺線維症で同定され、テロメア遺伝子の異常が提唱されている。本分担研究では、我が国における家族性特発性肺線維症におけるテロメア遺伝子変異の役割を解析することと非家族性の特発性肺線維症におけるテロメア遺伝子変異の関わりについて検討することである。

A. 研究目的

本分担研究では、我が国における家族性特発性肺線維症におけるテロメア遺伝子変異の役割を解析することと非家族性の特発性肺線維症におけるテロメア遺伝子変異の関わりについて検討することである。

B. 研究方法

「特発性肺線維症急性増悪及び薬剤性肺障害に関与する日本人特異的遺伝素因に関する研究」（萩原班）ならびに「原因不明で遺伝的素因が関与すると考えられる呼吸器疾患の遺伝子解析研究」（名古屋大学）に関する研究課題と本研究班の研究課題の共同研究体制の構築を進めた。実験動物を用いた肺の線維化における低酸素状態の影響について研究を実施した。

C. 研究結果・考察

厚労省萩原班との血液サンプルの共同利用の道が可能となった。しかし、間質性肺炎に関する遺伝的素因を研究するために保存されていた患者血液のBリンパ球が直接利用できると考えていたが、リンパ球不死化(EBウイルス)の影響が懸念されるため、直接の解析に入ることが出来なかった。今後、リンパ球不死化の影響を検討しながら、間質性肺炎患者のテロメア遺伝子変異の解析のための条件を検討し

たい。また、動物実験では、肺上皮細胞機能のひとつとされるサーファクタント D 蛋白(SP-D)は急性低酸素において産生を亢進し、遷延化低酸素でEMT現象と一致してSP-D抑制を示した。

D. 結論

厚労省萩原班との血液サンプルの共同利用の道が可能となった。肺線維化モデルでは遷延する低酸素がEMTの誘導とSP-Dの産生を抑制し、肺に傷害的に作用することが示された。

E. 研究発表

論文発表

Sakamoto K, Hashimoto N, Kondoh Y, et al. Differential modulation of surfactant protein D under acute and persistent hypoxia in acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2012; 303 (L43-L53).

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

分担研究項目：皮膚科領域における疫学調査、診断治療ガイドラインの策定
研究分担者 秋山 真志（名古屋大学大学院医学系研究科皮膚病態学分野 教授）

研究要旨： 先天性角化不全症（DC）の皮膚科領域を中心とした全国疫学調査の基礎となる情報を確立するために、平成22年度、23年度から引き続き国内外の文献調査を施行し、皮膚科領域におけるDC診療の問題点を明らかにした。さらに、本年度は、昨年度から引き続き、本邦での皮膚科領域も含めたDC診療の実態把握のための全国疫学調査を開始した。具体的には、本研究で行ってきたDC全国疫学調査に、全国の大学病院皮膚科、基幹病院皮膚科を含めた。この疫学調査の結果に基づき、皮膚症状に対する治療指針を作成する基礎となるデータを集積しつつある。

A. 研究目的

先天性角化不全症の主たる症状は皮膚科領域で診療されるものが多い。そこで、本研究の目的は、先天性角化不全症（DC）の皮膚科領域における患者数、診療実態を明らかにし、実態に即した診断基準、治療指針を作成することである。本年度は、そのための全国疫学調査の基礎となる情報を確立するために、平成22年度、23年度から継続して国内外の文献調査を施行し、皮膚科領域におけるDC診療の問題点を明らかにすることを目的として研究を行った。さらに本邦での皮膚科領域も含めたDC診療の実態把握のための全国疫学調査を行ってきた。具体的には、本研究で行うDC全国疫学調査に、全国の大学病院皮膚科、基幹病院皮膚科を含めて調査を開始した。

B. 研究方法

先天性角化不全症（DC）の皮膚科領域を含めた全国疫学調査の基礎となる情報を確立するために、前年度から継続して国内外の文献調査を施行し、皮膚科領域におけるDC診療の問題点を明らかにした。これまでの文献調査の結果、本邦での皮膚科領域でのDC診療の実態についての情報は非常に限られたものであることが明らかになったことから、全国の

皮膚科関連基幹診療施設に、新たに、DC診療状況のアンケート調査を準備し、上記文献調査の結果に基づき、皮膚症状に対する治療指針を作成する基礎となるデータを集積しつつある。

（倫理面への配慮）

本研究は、ヒト遺伝子解析結果等の情報を含むため、倫理的配慮と研究対象者に対する十分なインフォームドコンセントの下、施行した。

C. 研究結果

本年度の研究において、先天性角化不全症（DC）の皮膚科領域における国内外の文献調査を前年度に引き続き施行し、皮膚科領域でのDC診療の問題点を明らかにした。さらに、前年度に引き続き、本邦での皮膚科領域でのDC診療の実態把握のための全国疫学調査に着手した。

それらの研究の結果として、先天性角化不全症（DC）の皮膚科領域における国内外の文献調査により得られたデータから、皮膚科領域でのDC診療の問題点が、いっそう明らかになった。

それらの問題点は以下である。

- 1) 疾患名が統一されていない。
- 2) 診断基準が不明確である。
- 3) 疾患としての認知度が低い。

本年度の研究において、今後の課題として残された点は、以下である。

- 1) 本邦での皮膚科領域での DC 症例を十分数収集し、DC 診療の実態を明らかにする。
 - 2) 本邦における皮膚科領域での DC 症例の病因遺伝子変異検索を行う施設のネットワークを構築する。
- 以上の2点については、現状での収集症例が少ないことから、得られた情報は非常に限られたものであり、十分な診療実態の把握、さらに、そのさきの遺伝子診断ネットワークの構築は、達成されなかった。

D. 考察

前年度から引き続いて施行した、今回の文献調査等の結果から、本邦での皮膚科領域も含めた DC 診療の実態把握のためには、全国の皮膚科基幹診療施設に対する疫学調査を施行する必要があることが、さらに明らかになった。

皮膚症状に対する治療指針を作成するためには、本邦での皮膚科領域も含めた DC 診療の実態把握のための全国疫学調査を行う必要性が明白となった。

具体的方法としては、本研究で行う DC 全国疫学調査に、全国の大学病院皮膚科、基幹病院皮膚科を含めることが重要と考えられる。現在、平成 22 年度、23 年度からの上記疫学調査の結果に基づき、皮膚症状に対する治療指針を作成する基礎となるデータを集積しつつある。

前年度からの情報収集、本年度の研究、調査の結果を詳細に検討すると、皮膚科領域での DC の遺伝子診断についても、しっかりとした体制を構築する必要性が浮き彫りとなった。DC の病因遺伝子変異検索を施行可能な皮膚科以外の施設との連携システムを強化し、皮膚科領域での DC 患者につき、病因遺伝子変異検索を可能とするような施策が希求される。

E. 結論

全国疫学調査の基礎となる情報を確立することを目的として、平成 22 年度、23 年度から引き続き、先天性角化不全症 (DC) の皮膚科領域も含めた国内外の文献調査を施行し、皮膚科領域における DC 診療の問題点を明らかにした。さらに、本年度は、本

邦での皮膚科領域を主体とした DC 診療の実態把握のための全国疫学調査に着手した。この全国疫学調査の結果に基づき、皮膚症状を含めた DC の主要症状に対する診断基準、治療指針を作成する基礎となるデータが集積されると予想される。

F. 研究発表

論文発表

- 1) Takeichi T, Sugiura K, Matsuda K, Kono M, Akiyama M. Novel *ABCA12* splice site deletion mutation and *ABCA12* mRNA analysis of pulled hair samples in harlequin ichthyosis. *J Dermatol Sci* (in press)
- 2) Natsuga K, Shinkuma S, Kanda M, Suzuki Y, Chosa N, Narita Y, Setoyama M, Nishie W, Akiyama M, Shimizu H. Possible modifier effects of keratin 17 gene mutation on keratitis-ichthyosis-deafness syndrome. *Br J Dermatol* 166: 903-5, 2012.
- 3) Sasaki K, Akiyama M, Yanagi T, Sakai K, Miyamura Y, Sato M, Shimizu H. CYP4F22 is highly expressed at the site and onset of keratinization during human skin development. *J Dermatol Sci* 65: 156-8, 2012.
- 4) Sugiura K, Takeichi T, Kono M, Ogawa Y, Shimoyama Y, Muro Y, Akiyama M. A novel IL36RN/IL1F5 homozygous nonsense mutation, p.Arg10X, in a Japanese patient with adult-onset generalized pustular psoriasis. *Br J Dermatol* 167: 699-701, 2012.
- 5) Umemoto H, Akiyama M, Domon T, Nomura T, Shinkuma S, Ito K, Asaka T, Sawamura D, Uitto J, Uo M, Kitagawa Y and Shimizu H. Type VII collagen deficiency causes defective tooth enamel formation due to poor differentiation of ameloblasts. *Am J Pathol* 181: 1659-1671, 2012.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

分担研究項目：骨髄不全の病態診断における血漿トロンボポエチン測定の意義

研究分担者 中尾 眞二（金沢大学医薬保健研究域医学系細胞移植学 教授）

研究要旨： 骨髄不全の病態を診断するための簡便なマーカーを同定するため、血小板数が 10 万/ μ L 未満の骨髄異形成症候群（MDS）患者を対象として、血漿トロンボポエチン（TPO）値と、PNH 型血球の増加の有無、免疫抑制療法に対する反応性、クロナリティの有無、予後などとの関係を検討した。TPO が高値を示す再生不良性貧血患者と、TPO 値が例外なく低い進行期 MDS（RAEB）患者の TPO 値から、両者を鑑別する TPO の域値を 320pg/mL と定め、低リスク MDS を TPO \geq 320pg/mL の TPO^{high} 群と TPO < 320pg/mL の TPO^{low} 群に分けて比較したところ、TPO^{high} 群患者はすべての PNH 型血球陽性例を含む予後良好の多クローン性骨髄不全であり、免疫抑制療法に対する反応性も良好であることが明らかになった。したがって、血小板減少を伴う骨髄不全患者をみた場合には血漿 TPO 値を測定し、そのレベルに応じて治療方針を決めることが重要と考えられた。

A. 研究目的

骨髄不全には、骨髄異形成症候群（myelodysplastic syndrome; MDS）のような異常造血幹細胞によるクローン性造血障害（前白血病状態）と、再生不良性貧血（aplastic anemia; AA）や発作性夜間血色素尿症（paroxysmal nocturnal hemoglobinurais; PNH）のように、造血幹細胞に対する免疫学的攻撃によって発症する良性骨髄不全の二種類がある。しかし、MDS の診断は、各血球系統に 10% 以上の形態異常を認めるという医師の主観的判断に基づいているため、その中には一定の割合で良性の骨髄不全が含まれている。このような疑似 MDS を真の MDS と鑑別するための良いマーカーはまだ確立されていない。我々は、PNH 形質の血球（PNH 型血球）の存在が骨髄不全における免疫病態のマーカーとして有用であることを報告してきたが、これが陰性であっても免疫病態を否定できる訳ではない。これまでの報告から、血漿トロンボポエチン

（TPO）値が AA 患者では高値となり、refractory anemia with excess of blasts (RAEB) のような進行期 MDS 患者では低値となることが示されてきた。白血病に移行するリスクの低い疑似 MDS 患者では、AA と同様に血漿 TPO 値が高い可能性がある。

B. 研究方法

血小板数 15 万/ μ L 以上の健常者 50 人と、AA (47 人)、MDS (120 人)、特発性血小板減少性紫斑病（idiopathic thrombocytopenic purpura; ITP、24 人）を含む血小板減少 (<10 万/ μ L) 患者 191 人の血漿 TPO 値を ELISA 法により測定した。PNH 型血球の測定は高精度のフローサイトメトリー、造血クロナリティの評価はヒトアンドロジェンレセプターアッセイ（HUMARA）を用いて行った。

（倫理面への配慮）

研究計画「骨髄不全の病態診断における血漿トロンボポエチン測定の意義」については本学の医学倫

理審査委員会の審査を受け、承認を得た。また、患者からの採血は文書による同意を得た上で行った。

C. 研究結果

TPO 値は健常者では 54.5 ± 21.1 pg/mL であり、AA 患者で 1254.6 ± 551.1 pg/mL と高く、ITP 患者 (63.5 ± 8.7 pg/mL) と RAEB 患者 (44.7 ± 85.2 pg/mL) では低値であった。ROC 解析の結果から、良性骨髄不全と相関する TPO 320pg/mL 以上を TPO 高値 (TPO^{high})、非良性骨髄不全と相関する TPO 320pg/mL 未満を TPO 低値 (TPO^{low}) と定義とした。白血病に移行するリスクの低い MDS 亜群における TPO^{high} 患者の割合は refractory cytopenia with unilineage dysplasia (RCUD) で 40.5%、refractory cytopenia with multilineage dysplasia (RCMD) で 32.5%、MDS-unclassified (MDS-U) で 77.3% であった。PNH 型血球陽性患者の占める割合は TPO^{high} 群 (45.8%) が TPO^{low} 群 (0%) より有意に高かった ($P = 0.003$)。

8 人の低リスク MDS 患者を対象として HUMARA によりクローン性造血の有無を評価したところ、TPO^{low} の 4 人でクローン性造血が確認されたが、TPO^{high} の 4 人ではいずれも陰性であった。また、MDS の予後予測システムである International Prognostic Scoring System スコアが 1 以下の予後良好患者が占める割合は TPO^{high} 患者群 (100.0%) が TPO^{low} 群 (65.5%) より有意に高かった ($P < 0.001$)。

TPO^{high} 患者のうち 45 人が、抗胸腺細胞グロブリン (ATG) + シクロスポリン (CsA) もしくは CsA 単剤による免疫抑制療法を受けた。各々に対する反応率は TPO^{high} 群で 81.2%、85.3% であったのに対して、CsA 単剤療法を受けた TPO^{low} 群 7 人中改善したのは 1 人のみであった ($P = 0.002$)。MDS 亜群全体における 5 年生存率は RCUD 53.6%、RCMD 50.8%、MDS-U 53.1%、RAEB 37.4%、低リスク MDS 亜群の 5 年無増悪生存期間は RCUD 60.9%、RCMD 60.6%、MDS-U 71.4% であった。各亜群における無病生存期間を TPO^{high} 群と TPO^{low} 群間で比

較したところ RCUD で 94.1% vs 60.6% ($P = 0.03$)、RCMD で 100.0% vs 44.4% ($P = 0.006$) であり、TPO^{high} 群で無病生存期間が有意に長かった。多変量解析では、TPO^{low} と、男性であることが 5 年生存率を低下させる有意な因子であった。

D. 考察

進行期の MDS において血漿 TPO 値が低い原因として、芽球が TPO レセプターを高発現している可能性が挙げられる。しかし、抗 TPO レセプター抗体を用いたわれわれの検討では、RAEB 症例の芽球における TPO レセプターの高発現は確認できなかった。進行期の MDS では、一部の骨からの穿刺や生検検体では評価できない TPO レセプター高発現芽球が増えている可能性がある。

骨髄不全の免疫病態を診断する上で PNH 型血球の増加が重要であることをわれわれは従来から指摘してきた。今回の検討において、PNH 型血球陽性例は全てが TPO^{high} 群に包含されることが明らかになった。TPO は凍結血漿があれば測定できるため、新鮮な血液検体を用いなければ測定できない PNH 型血球検査に比べて、簡便に行えるというメリットもある。今後血小板減少を伴う骨髄不全をみた場合には、速やかに血漿 TPO 値を測定し、高値であれば、発症後早期から免疫抑制療法の効果をみることを勧められる。

E. 結論

血小板減少を伴う低リスク MDS 患者では、血漿 TPO 値の測定が、免疫抑制療法が奏効しやすい予後良好群の鑑別に有用であることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hosokawa K, Katagiri T, Sugimori N, Ishiyama K, Sasaki Y, Seiki Y, Sato-Otsubo A, Sanada M, Ogawa S, Nakao S. Favorable outcome of patients who have 13q deletion: a suggestion for revision of the WHO 'MDS-U'

designation. *Haematologica*. 2012;97:1845-9.

- 2) Katagiri T, Kawamoto H, Nakakuki T, Ishiyama K, Okada-Hatakeyama M, Ohtake S, Seiki Y, Hosokawa K, Nakao S. Individual hematopoietic stem cells in human bone marrow of patients with aplastic anemia or myelodysplastic syndrome stably give rise to limited cell lineages. *Stem cells*. 2013(in press).
- 3) Seiki Y, Sasaki Y, Hosokawa K, Saito C, Sugimori N, Yamazaki H, Takami A, Nakao S. Increased plasma thrombopoietin levels in patients with myelodysplastic syndrome: a reliable marker for a benign subset of bone marrow failure. *Haematologica*. 2013(in press).

2. 学会発表

Clinical significance of plasma thrombopoietin levels in the management of bone marrow failure. Saito C, Hosokawa K, Maruyama H, Seiki Y, Katagiri T, Yamazaki H, Nakao S. 第74回日本血液学会学術総会 2012年10月19日 京都.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

分担研究項目：治療ガイドラインの検討及び立案

研究分担者 谷ヶ崎 博（日本大学医学部小児科 助教）

研究要旨： 先天性角化不全症に対する代替ドナーからの造血幹細胞移植の成績は骨髄非破壊的前処置の導入により、有望な成績が得られている。本疾患では成人期に肺線維症や肝線維症を合併することが知られている。このため、移植後の長期的な観察が不可欠であり、症例の蓄積と長期的研究の体制整備を進める必要がある。

A. 研究目的

先天性角化不全症の治療ガイドラインの立案を行う。

B. 研究方法

先天性角化不全症に対する移植法を比較検討し、最適な移植時期、移植ドナーソース及び移植レジメンを決定する。

（倫理面への配慮）

本研究は診療録を用いての後方視的研究であり、患者に新たな侵襲を加えたり、負担を強いるものではない。また、個人情報の保護のため、連結可能匿名化を行った後に予後情報を得よう配慮した。

C. 研究結果

汎血球減少を示す先天性角化不全症に対して骨髄破壊的移植法を行った症例では、わが国だけでなく海外においても移植後合併症が高率にみられている。近年、遺伝性骨髄不全症候群では骨髄非破壊的移植法が試みられるようになり、本疾患においても有望な成績が報告されている。名古屋大学においても3例の先天性角化不全症患者に骨髄非破壊的移植法を用いて代替ドナーから造血幹細胞移植を行い、短期的には良好な移植成績が得られているが、長期的な予後については未だ不明である。

D. 考察

先天性角化不全症患者は肺や肝臓の合併症の頻度が高いことを考慮すると、高用量の全身放射線照射やブズルファンなどの前処置薬の使用は回避することが望ましい。本前処置を受けた場合の長期的な安全性と有効性の評価が不可欠であり、今後長期間の経過観察体制を整備することが必要である。

E. 結論

本疾患に特徴的な晚期合併症を回避するためには、最適な骨髄非破壊的前処置の確立が必要である。さらに長期フォローの体制整備も併せて必要である。

F. 研究発表

論文発表

Nishio N, Takahashi Y, Ohashi H, Doisaki S, Muramatsu H, Hama A, Shimada A, Yagasaki H, Kojima S. Reduced-intensity conditioning for alternative donor hematopoietic stem cell transplantation in patients with dyskeratosis congenita. *Pediatr Transplant.* 2011; 15(2): 161-166.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）
分担研究報告書

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

分担研究項目：表現型（造血不全と免疫不全）に基づいた診断法に関する研究
研究分担者 大賀 正一（九州大学大学院医学研究院周産期・小児医療学 教授）

研究要旨： 先天性角化不全症（Dyskeratosis congenita: DKC）の極型である Hoyeraal-Hreidarsson 症候群（HHS）を疑った汎血球減少症の患児に末梢血のテロメア長短縮を確認して、確定診断し造血細胞移植を行った。患児の DKC/HHS 既知原因遺伝子の翻訳領域に変異がなかったため、この家系のエクソーム解析を施行中である。皮膚硬化とテロメア異常を呈する早老症 Hutchinson-Gilford Progeria 症候群（HGPS）患児の末梢血単核球を用いてテロメア長を検討した。患児には健常両親と同様にテロメア長短縮が確認されず、皮膚線維芽細胞を用いたテロメア長を解析しなければ DKC と HGPS を発症早期に鑑別できないことを明らかにした。

A. 研究目的

DKC は皮膚の網状色素沈着、爪の萎縮、粘膜白斑、血球減少を伴う遺伝性造血不全症である。この極型である HHS は、免疫不全と造血不全が乳児期から進行する致死性疾患で、現在同種造血細胞移植以外に根治療法はない。DKC/HHS は、テロメラーゼ複合体構成遺伝子群の異常によるテロメア病であるが、早期診断が難しく適切なスクリーニング法もない。患者の表現型と遺伝子型から、早期診断法を検討する。

B. 研究方法

DKC/HHS を疑う患児の免疫不全と造血不全に関する解析、末梢血単核球を用いたテロメア長の測定（Flow-FISH 法 名古屋大小児科 小島勢二教授）、および遺伝子解析から、その鑑別法について検討した。

（倫理面への配慮）

倫理委員会の審査をうけ同意書を取得し、遺伝子解析結果を含めた個人情報の守秘を厳守して本研究を進めている。

C. 研究結果

貧血、小頭症と小脳低形成、舌白斑および発達遅滞の2歳男児がニューモシスチス肺炎をおこした。汎血球減少が進行し免疫不全による易感染性がみられ、相対テロメア長が6.5と短いことからHHSと診断した。非血縁臍帯血移植を行い感染のため治療に難渋した。*DKC1*, *TERC*, *TERT*, *NOP10*, *NHP2*, *TINF2*, および *TCAB1* 遺伝子に変異は同定されず、エクソーム解析を施行中であるが原因遺伝子はまだ確定していない。一方、再生不良性貧血と皮膚硬化を呈した50歳女性のテロメア長は正常でDKC関連疾患が否定できた。

脳梗塞を呈した早老症の9歳男児は、新生児期に異常なく、乳児期早期から皮膚硬化が出現した。末梢血単核球のテロメア長は両親と同様年齢相当で異常はなかったが、単核球由来のDNAを用いて *Lamin* 遺伝子の exon11 に G608G (GGT>GGC) ヘテロ変異を同定した。以上より、Hutchinson-Gilford Progeria 症候群 (HGPS) と診断した。患者由来の皮膚線維芽細胞ではテロメア長は短縮するが、この変異を有する末梢血単核球を Flow-FISH 法で解析してもテロメア長の短縮は確認できなかった。患児はむしろ血小板

数が高く脳梗塞を繰り返して、抗血栓療法を必要とした。

症候群の1. 第5回日本免疫不全症研究会
2012.1.21 東京

D. 考察

DKC (Zinsser-Cole-Engman症候群) /HHSの原因遺伝子は、まだ全て見つかってはいない。造血不全と免疫不全を合併する小児の皮膚粘膜異常に注意し、適切な検体を用いたテロメア長測定によるスクリーニングが必要である。

E. 結論

テロメア長は同一個体でも組織毎に異なる疾患があるため、診断法の適応と限界を臨床現場で考慮する必要がある。テロメア長測定からDKCスクリーニングを確立し、表現型と遺伝子型の関係を細やかに解析することが、免疫と造血の発生に関わる共通の分子基盤を解明し新規治療に結びつくと期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Narazaki R, Makimura M, Sanefuji M, Fukamachi S, Akiyoshi H, So H, Yamamura K, Doisaki S, Kojima S, Ihara K, Hara T, Ohga S: Bilateral stenosis of carotid siphon in Hutchinson-Gilford progeria syndrome. Brain Dev 2012 (in press)
- 2) Takahashi Y, Muramatsu H, Sakata N, Hyakuna N, Hamamoto K, Kobayashi R, Ito E, Yagasaki H, Ohara A, Kikuchi A, Morimoto A, Yabe H, Kudo K, Watanabe K, Ohga S, Kojima S: Rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine as first-line therapy for children with acquired aplastic anemia. Blood 2012 (in press)
- 3) 大賀正一: 特集/小児診療のピットフォール 貧血. 臨床と研究 89巻5号 582-587, 2012

2. 学会発表

土居岳彦、瀧本智仁、白石暁、石村匡崇、高田英俊、原寿郎、大賀正一: Hoyeraal-Hreidarsson

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

分担研究項目：造血幹細胞移植プロトコールの立案
研究分担者 矢部 普正（東海大学医学部再生医療科学 准教授）

研究要旨： 先天性角化不全症に対する移植前処置として、放射線胸腹部照射、フルダラビン、シクロフォスファミド、ウサギ抗胸腺細胞グロブリンを用いた方法を開発したが、移植施設に関わらず安定した成績が得られるかを検証した。本疾患の移植経験の無い移植専門病院で、本前処置を用いた非血縁骨髄移植を施行し、無事に移植が成功した。また長期生存例においてアルコール接種による原疾患の増悪を認め、生活指導の重要性を確認した。

A. 研究目的

我々は先天性角化不全症（DKC）に対する造血細胞移植において、放射線胸腹部照射（TAI）、フルダラビン（Flu）、シクロフォスファミド（CY）、ウサギ抗胸腺細胞グロブリン（ATG）による移植前処置は有用であることを示してきたが、プロトコールとして運用する上で、DKCの移植経験がない移植専門病院においても移植の成功が再現されなくてはならない。移植適応のDKC症例を有する施設に協力を呼びかけて本前処置のfeasibilityを検証し、同時に既移植例の長期フォローアップによる生活の質（QOL）の検討を行った。

B. 研究方法

症例のリクルートは本疾患について当該病院からの、移植相談の機会に行われた。すなわち、診断の確実なDKCで、重症以上の再生不良性貧血を呈した症例で、適切なドナーが得られた場合に、家族が地元施設での移植を希望すれば本研究班で進行している移植プロトコールを提供して忠実に移植するというものである。移植経過中に予期せぬ合併症が起こった場合には、サイトビジットを含めたサポートを行うこととした。

移植プロトコールの中核となる前処置は、肺遮蔽 TAI 3Gy、Flu 25 mg/m²を4日間、CY 750 mg/m²

を4日間、ATG 1.25 mg/kgを4日間の併用とし、GVHD 予防は短期メソトレキセート（MTX; 15 mg/m², +1 day, 10 mg/m², +3, +6, +11 day）とタクロリムス（FK506; 0.03 mg/kg/day 持続点滴）の併用で行った。

（倫理面への配慮）

移植についてのインフォームドコンセントはヘルシンキ宣言に基づいて行い、文書での同意を得た。

C. 研究結果

研究協力病院において、5歳、男児の重症再生不良性貧血合併のDKC症例に対し、非血縁ドナーから本前処置を用いて同種骨髄移植が行われた。前処置関連毒性は軽度で、移植細胞数は 2.2×10^8 /kgとやや少なめであったが、生着は順調でGVHDも軽度にとどまり、その他の合併症も問題なく、無事に退院した。

移植後10年を経過した長期生存例において、蛋白尿、低蛋白血症、浮腫、高血圧、咳嗽を伴う肺水腫を認めた。DKCの自然経過による血管内皮障害としては症状の進行が早く、精査しながらあらためて生活状況の調査を行った。すると、本例は昨年成人し、飲酒の習慣が始まり、体調の変化が現れたことが判明した。ステロイドと利尿剤の投与で、諸症状は改善し、生活習慣の改善を図った。

D. 考察

本疾患は極めて稀であるために、国内での移植報告例は日本造血細胞移植学会全国登録でも10例に至っていない。つまり、ほとんどの移植施設では、本疾患の移植経験はない。今までの移植例はほとんどが本研究班の名古屋大学附属病院か東海大学附属病院で治療され、今後、本プロトコルを用いて安全に移植施設の拡大が図れるかが問題であった。今回、1例ではあるが、ドナーが非血縁者であるという条件で、本プロトコルにより無事に移植が成功した意義は大きい。

DKCの移植後長期生存例には、肺線維症や血管内皮障害に基づく様々な症状が現れることが知られており、長期QOLの維持は大きな課題である。今まで、長期QOLの維持には移植前処置の選択と、慢性GVHDの制御が最も重要であろうと推論していたが、今回飲酒という生活習慣が大きく影響することが判明した。発癌のリスクの高い疾患であり、禁煙は当然であるが、今後様々な生活習慣に目を配り、パピローマウイルスワクチンによる発癌予防も視野に入れる必要がある。

E. 結論

DKCに対するHLA一致同胞以外の代替ドナー移植において、肺遮蔽TAI 3Gy、Flu 25 mg/m²を4日間、CY 750 mg/m²を4日間、ATG 1.25 mg/kgを4日間の前処置は、施設を問わずに優れた成績が期待できる。GVHD予防に短期メソトレキセート(MTX; 15 mg/m², +1 day, 10 mg/m², +3, +6, +11 day)とタクロリムス(FK506; 0.03 mg/kg/day 持続点滴)の併用を行うことで、造血幹細胞移植プロトコルの骨格が確立された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Hatanaka K, Fuji S, Ikegame K, Kato R, Wake A, Hidaka M, Ito T, Inoue M, Nagatoshi Y, Takami A, Uike N, Sakamaki H, Yabe H, Morishima Y, Suzuki R, Atsuta Y,

Fukuda T. Low incidences of acute and chronic graft-versus-host disease after unrelated bone marrow transplantation with low-dose anti-T lymphocyte globulin. *Int J Hematol.* 2012 Dec;96(6):773-80. doi: 10.1007/s12185-012-1209-4. Epub 2012 Nov 7.

2) Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, Sakai N, Takakura H, Sawada T, Tanaka T, Otomo T, Ohashi T, Ishige-Wada M, Yabe H, Ohura T, Suzuki N, Kato K, Adachi S, Kobayashi R, Mugishima H, Kato S. Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: A nationwide survey in Japan. *Mol Genet Metab.* 2012 Sep 7. pii: S1096-7192(12)00342-3. doi: 10.1016/j.ymgme.2012.09.004. [Epub ahead of print]

3) Kobayashi R, Fujita N, Mitsui T, Iwasaki F, Suzumiya J, Kuroda H, Nishimura R, Sasahara Y, Takeshita Y, Kato K, Okumura H, Sakamaki H, Yabe H, Kawa K, Kato K, Suzuki R. Stem cell transplantation for paediatric patients with non-anaplastic peripheral T-cell lymphoma in Japan. *Br J Haematol.* 2012 Oct;159(1):88-93. doi: 10.1111/bjh.12001. Epub 2012 Aug 9.

4) Yabe M, Masukawa A, Kato S, Yabe H, Nakamura N, Matsushita H. Systemic mastocytosis associated with t(8;21) acute myeloid leukemia in a child: Detection of the D816A mutation of KIT. *Pediatr Blood Cancer.* 2012 Dec 15;59(7):1313-6. doi: 10.1002/pbc.24250. Epub 2012 Jul 27.

5) Fuji S, Nakamura F, Hatanaka K, Taniguchi S, Sato M, Mori S, Sakamaki H, Yabe H, Miyamoto T, Kanamori H, Ueda Y, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Atsuta Y, Tamaki T,

Kanda Y. Peripheral blood as a preferable source of stem cells for salvage transplantation in patients with graft failure after cord blood transplantation: a retrospective analysis of the registry data of the Japanese Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2012 Sep;18(9):1407-14.

- 6) Shoji T, Bando T, Fujinaga T, Chen F, Kohno M, Yabe M, Yabe H, Date H. Posterior reversible encephalopathy syndrome due to immunosuppressant after living-donor lobar lung transplantation: report of a case. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 2012 Apr 28. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

国内学会

【シンポジウム】

- 1) Yabe H. Stem cell transplantation for bone marrow failure syndrome in children. The 54th Annual Meeting of the Japanese Society of Pediatric Hematology and Oncology. December 2012 Yokohama, Japan.
- 2) 矢部普正 造血細胞移植におけるチーム医療 第54回日本小児血液・がん学会学術集会 2012年12月 横浜

【一般口演】

- 1) M Takata, A Hira, N Suzuki, A Niwa, T Nakahata, H Yabe, M Yabe. ファンconi貧血経路とアルデヒド代謝の遺伝的相互作用解析 第35回日本分子生物学会年会 2012年12月 福岡
- 2) H Yabe, M Yabe, T Morimoto, T Shimizu, T Koike, K Otsubo, A Fukumura, S Kato. Viral monitoring using real-time PCR and virus-specific cellular immunity after stem cell grafting. 第74回日本血液学会学術集会 2012年10月 京都

- 3) M Takata, A Hira, H Yabe, K Matsuo, M Yabe. ファンconi貧血経路とアルデヒド代謝の遺伝的相互作用解析 第71回日本がん学会学術総会 2012年9月 札幌
- 4) A Hira, H Yabe, K Matsuo, M Takata, M Yabe. アルデヒドデヒドロゲナーゼ (ALDH2) 遺伝子型による日本人ファンconi貧血患者の骨髄不全促進効果 第71回日本がん学会学術総会 2012年9月 札幌

【班会議その他口演】

- 1) 矢部普正、矢部みはる 移植後にドナータイプの造血不全を呈した再生不良性貧血に対する治療の試み 特発性造血障害に関する調査研究班 平成24年度第1回合同班会議総会 2012年7月
- 2) 矢部普正 Treatment of donor-type bone marrow failure after allogeneic SCT. 第19回小児再生不良性貧血治療研究会 2012年6月 名古屋

国際学会

- 1) Hira A, Yabe H, Matsuo K, Takata M and Yabe M. Variant ALDH2 is associated with accelerated progression of bone marrow failure in Japanese Fanconi Anemia patients. 24th Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. September, 2012, Denver, USA.
- 2) Yabe M, Takahashi Y, Inagaki J, Koh K, Endo M, Kawa K, Kato K, Sakamaki H, Atsuta Y, Yabe H. Hematopoietic stem cell transplantation for Fanconi Anemia patients in Japan: An analysis of the registry data. 24th Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium. September, 2012, Denver, USA.
- 3) H. Yabe, M Nagasawa, H Yagasaki, K Horibe, D Tomizawa, A Kikuta, Y Cho, H Goto, M Yabe. Stem Cell Transplantation Committee

of Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG), Isehara, Japan. Recombinant human soluble thrombomodulin is effective in the treatment of early complications after hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents. 38th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. April 2012, Geneva, Switzerland.

- 4) M Yabe, H Yabe, T Shimizu, T Morimoto, T Koike, H Takakura, K Ohtsubo, A Fukumura, T Morimoto, H Yoshida, Y Ohtsuka, M Shiomi, S Kato. A fludarabine-based conditioning for alternative donor haematopoietic stem cell transplantation in inherited bone marrow failure syndrome. 38th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. April 2012, Geneva, Switzerland.
- 5) H. Yabe, M Nagasawa, H Yagasaki, K Horibe, D Tomizawa, A Kikuta, Y Cho, H Goto, M Yabe. Stem Cell Transplantation Committee of Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG), Isehara, Japan. Recombinant human thrombomodulin is effective in the treatment of early complications after hematopoietic stem cell transplantation in children and adolescents. 23th Annual Meeting of the International BFM Study Group. April 2012, Santiago Chile.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

先天性角化不全症の効果的診断方法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究

分担研究項目：テロメア長の短縮を伴った Diamond-Blackfan 貧血の 1 例における網羅的遺伝子解析
研究分担者 金兼 弘和（富山大学附属病院小児科 講師）

研究要旨： Diamond-Blackfan 貧血は原因不明の先天性赤芽球癆であり、さまざまな先天奇形を伴う。その原因は未だ不明のものも多いが、*RPS19* 遺伝子をはじめとするリボソーム関連遺伝子とされる。約半数はプレドニゾロンに反応するが、根治療法は造血幹細胞移植である。当科にて血縁者間同種骨髄移植を行った Diamond-Blackfan 貧血の患者から移植前に樹立されたリンパ芽球様細胞株についてテロメア長の測定を行ったところ、正常対照に比べて短縮を認めた。既知の先天性角化不全症の原因遺伝子を調べたが、変異がなかったため、whole exome sequencing による網羅的遺伝子解析を行った。

A. 研究目的

Diamond-Blackfan 貧血 (DBA) は原因不明の先天性赤芽球癆であり、顔面・頭部、上肢・手、泌尿器などにさまざまな先天奇形を伴うことが多い。その原因として *ribosome19S (RPS19)* 遺伝子を始めとするリボソーム関連遺伝子が同定されているが、未だ原因不明も数多く存在する。治療は半数以上がプレドニゾロンに反応するが、プレドニゾロン依存性や輸血依存性で治療に難渋することが多い。根治療法は造血幹細胞移植である。一方、先天性角化不全症 (DKC) は多形皮膚・粘膜萎縮、萎縮爪、白斑症および骨髄不全を伴う稀な先天性疾患であり、その原因は *DKC1* を初めとするテロメア関連遺伝子であり、ほぼ全例でテロメア長の短縮を伴う。今回当科で血縁者間同種骨髄移植を行った Diamond-Blackfan 貧血の患者から移植前に樹立したリンパ芽球様細胞株 (LCL) を用いて原因検索を行った。

B. 研究方法

症例は現在 14 歳男児である。在胎 40 週、新生児仮死で出生し、胎便吸引症候群、新生児遷延性肺高血圧症のため NICU に入院歴あり。その際に翼状頸、リンパ浮腫、欠指・合指症、虹彩癒着、角膜混濁などの多

発奇形を指摘された。14 か月時に不機嫌、多呼吸・呻吟、全身の強直を認め、緊急入院となった。入院時、白血球数、血小板数は正常であったが、Hb 2.2g/dl と重度の貧血を認めた。骨髄検査で M/E 比は 15.3 であり、赤芽球系細胞はほとんど認められず、DBA と診断した。以後ステロイド、シクロスポリン内服にて、ほとんど輸血の必要なく経過観察していた。7 歳頃より 1-2 か月に 1 回の頻度で輸血を要するようになったため、8 歳時に患者家族から同意を得て、HLA 一致同胞から同種骨髄移植を行った。前処置は BU 8mg+TAI 3Gy+Flu+CY+ATG で行い、GVHD 予防は CyA+mPSL で行った。移植後 11 日で生着を認め、グレード II の急性 GVHD を認めたのみで、移植後 54 日に退院した。

患者家族の同意を得て移植前に患者末梢血から単核球さらに E-細胞を分離し、EB ウイルスでトランスフォームし不死化した LCL を樹立し、-80℃で保存した。

保存されていた LCL を用いてアレイ CGH、リボソーム関連遺伝子解析、テロメア関連遺伝子、Flow-FISH 法によるテロメア長、whole exome sequencing (WES) による解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究はヒト検体を用いて解析を行うものであり、