

201231078B

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

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

平成 23 年度～24 年度 総合研究報告書

研究代表者 小島 勢二

平成 25 (2013) 年 4 月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

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

平成 23 年度～24 年度 総合研究報告書

研究代表者 小島 勢二

平成 25 (2013) 年 4 月

目 次

I. 総括研究報告書		
先天性角化不全症の効果的診断法の確立と治療ガイドラインの作成に関する研究 (研究総括、中央診断、データ管理) ……………	1	
名古屋大学大学院医学系研究科 小児科学		小島 勢二
II. 分担研究報告書		
血球テロメア長測定、遺伝子変異検査 ……………	14	
名古屋大学大学院医学系研究科 成長発達医学		高橋 義行
小児領域における診断・治療ガイドラインの策定 ……………	16	
弘前大学大学院医学研究科 小児科学		伊藤 悦朗
小児期造血障害疾患登録による先天性角化不全症疫学データベース構築……………	20	
東邦大学医療センター大森病院 輸血部		小原 明
骨髄生検の病理診断 ……………	22	
名古屋第一赤十字病院 病理部		伊藤 雅文
不全型先天性角化不全症の新規診断法の開発 ……………	25	
日本医科大学 血液内科		山口 博樹
遺伝性疾患と間質性肺炎に関する研究 ……………	30	
名古屋大学大学院医学系研究科 呼吸器内科学		長谷川 好規
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 ……………	31	
名古屋大学大学院医学系研究科 皮膚病態学分野		秋山 真志
先天性骨髄不全症の除外に有用な骨髄不全の病態診断法の確立 ……………	34	
金沢大学医薬保健研究域医学系 細胞移植学		中尾 眞二
治療ガイドラインの検討及び立案 ……………	38	
日本大学医学部 小児科		谷ヶ崎 博
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 ……………	39	
九州大学大学院医学研究院 周産期・小児医療学		大賀 正一

造血幹細胞移植プロトコールの立案	42
東海大学医学部基盤診療学系 再生医療科学	矢部 普正
先天性角化不全症における免疫異常に関する研究	48
富山大学附属病院 小児血液	金兼 弘和
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	50
IV. 研究成果の刊行物・別冊	53

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総合研究報告書
（平成 23 年度～24 年度）

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

研究代表者 小島勢二 名古屋大学大学院医学系研究科 小児科学 教授

研究要旨

日本小児血液学会と協力して、先天性角化不全症（DKC）の中央診断システムを確立したが、3年間に中央診断した700例のうちで本症と診断された本症は3例のみであった。不全型DKCのスクリーニングとして、再生不良性貧血（AA）と診断された192例のリンパ球テロメア長を測定したところ、18例（9.4%）において-3SD以上の著明なテロメア長の短縮がみられた。18例について7種類のテロメア関連遺伝子の変異の有無について検討したが、遺伝子変異は検出されなかった。一方、DKCと臨床的に診断された21例について遺伝子検索をおこなったところ、11例については既知の遺伝子変異が同定された。DKC1変異を4例、TERT変異を2例、TERC変異を1例、TINF2変異が4例である。そこで、既知の原因遺伝子の変異が検出されなかった16例について、次世代シーケンサーによる全エクソンシーケンスをおこなったところ、サンガー法では原因遺伝子が同定されなかった5例において既知の原因遺伝子が同定された。次世代シーケンサーによる診断は、臨床上也も有用であると考えられた。また、新規原因遺伝子の候補を抽出しており、現在機能解析中である。

研究分担者

高橋 義行	名古屋大学大学院医学研究科 成長発達医学 准教授
伊藤 悦朗	弘前大学大学院医学研究科 小児科学 教授
小原 明	東邦大学医療センター大森病院 輸血部 教授
伊藤 雅文	名古屋第一赤十字病院 病理部 部長
山口 博樹	日本医科大学 血液内科 講師
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
秋山 真志	名古屋大学大学院医学系研究科 皮膚病態学 教授
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
谷ヶ崎 博	日本大学医学部 小児科学 助教
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
矢部 普正	東海大学医学部基盤診療学系 再生医療科学 准教授
金兼 弘和	富山大学附属病院 小児血液 講師

A. 研究目的

典型的な先天性角化不全症（Dyskeratosis congenita, DKC）は爪の萎縮、口腔内白斑、皮膚色素沈着を3徴とする先天性骨髄不全症候群である。DKC患者ではこれらの古典的症状を併せ持つ典型例以外にも、多彩な全身症状がみられる症例から血球減少のみの症例まで種々の臨床像を示すため、その臨床診断は困難である。低身長、小脳低形成、小頭症、網膜症などをともない独立した疾患と考えられてきた Hoyeraal-Hreidarsson 症候群やRevesz 症候群において、DKC と同じ遺伝子変異がみられることから、これらの疾患はDKCの極型と考えられている。また、特発性再生不良性貧血の一部に、身体的特徴はみられないものの、同一の遺伝子変異がみられる不全型が発見されており、びまん性肺疾患からも、DKCと同一の遺伝子異常が発見されたことから“Telomere disease”として新しい疾患概念が提唱されている。このようにDKCは、臨床像が多岐にわたり不全型の診断には遺伝子診断が必須である。本研究班では、1) 日本小児血液学会疾患登録事業、2) 日本小児血液学会中央診断事業により本症のわが国における発症頻度をあきらかにすることを第1の課題とした。

DKC の確定診断には責任遺伝子の検索が必要であるが、不全型 DKC を診断するのにすべての再生不良性貧血患者に遺伝子検索をおこなうのは現実的ではない。われわれは、Flow・FISH 法を用いて、血球テロメア長を測定することで不全型を含めたDKC のスクリーニングに有用であることを見いだしている。血球テロメア長の測定法には、Flow・FISH 法のほかに Southern blotting 法や、Real time PCR 法がある。Real time PCR 法はより少量の検体でテロメア長の測定が可能であるので、本法が、他の方法と同様に DKC や不全型 DC 患者をスクリーニングすることが可能であるかを検討する。

最近、米国 NIH グループから、血球テロメア長は再生不良性貧血患者において、免疫抑制療法への反応性の予測はできなかったが、再発や骨髄異形成症候群を含むクローン性疾患への移行や長期予後の予測に有用であると報告され、血球テロメア長の測定はDKC のみならず再生不良性貧血においても注目され

ている。再生不良性貧血患者において、血球テロメア長を測定し、免疫抑制療法の反応予測因子になりうるか、また、予後との関連について検討する。

DKCの因遺伝子としては、7種類の原因遺伝子が知られているが、実際、DKCと診断された症例で遺伝子変異が検出されるのは、40%にすぎない。身体的特徴からDKCと診断された症例で、既知の遺伝子が検出できない症例の検体を対象に次世代シーケンサーを用いて、新規原因遺伝子の探索をおこなう。

本疾患の治療ガイドラインの策定にあたっては、安全でかつ効果的な造血幹細胞移植方法の確立が必須である。本症に対する移植症例数はけっして多くはないが、海外からの文献検索や国内の移植経験をもとに、最適な前治療法やGVHD予防法を考案し、本症の治療ガイドラインを提言し、わが国での移植症例を集積し、ガイドラインの適切性を検討する。

B. 研究方法

日本小児血液学会会員が所属する施設を対象にした全例登録（疾患登録事業）は、前年診断症例を対象に Web 登録され、およそ診断から1年経過した段階で二次調査を実施する。また、小児造血不全症を対象に、末梢血や骨髄塗抹標本を名古屋大学と聖路加国際病院で、骨髄生検標本は分担研究者である伊藤(雅)が所属する名古屋第1赤十字病院で中央診断をおこなう。名古屋大学では Flow・FISH 法による血球テロメア長のスクリーニングをおこない、さらに DKC の疑い症例に対しては7種のテロメア関連遺伝子(DKC1、TERC、TERT、NHP2、NOP10、TINF2、TCAB1)の変異の有無を直接シーケンシング法で検討する。テロメア長の測定は、蛍光色素でラベルされたテロメアリピートに結合するPNAプローベをもちいて末梢血リンパ球とハイブリダイズさせる。この蛍光強度をフローサイトメトリーによって定量することでテロメア長の測定をおこなう。遺伝子解析に関しては、末梢血リンパ球からDNAを抽出し、各遺伝子に特異的なプライマーを作成し遺伝子断片を増幅後、ABI3100を用いて、コード領域全長の塩基配列を決定する。骨髄異形成症候群を含む造血不全症患者の血清 TPO 値を

ELISA 法で測定し、各疾患における TPO 値を比較検討する。また、稀少小児遺伝性血液疾患の迅速な原因究明及び診断・治療法の開発に関する研究班と連携して次世代シーケンサーを用いた新規原因遺伝子の探索をおこなう。次世代シーケンサーによる候補遺伝子の検索は、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 を用いて全エクソンシーケンスを行う。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。

平成 23 年度に出版した“特発性造血障害疾患の診療の参照ガイド”では DKC 症例に対する同種骨髄移植の前治療として、フルダラビンを基本とした骨髄非破壊的前処置を推奨したが、移植症例のアンケート調査をおこない、推奨した前処置の、安全性と有効性について検証する。

(倫理面への配慮)

小児血液学会としておこなう疾患登録事業は、疫学研究倫理指針に準拠した臨床研究として、すでに学会倫理審査委員会で承認されている。調査にあたっては、個人情報を守秘を厳守し、データの取り扱いに注意する。中央診断事業についても、患者検体の匿名化を図る。患者検体をもちいた研究の実施にあたっては、各研究施設での倫理委員会の承認を得るほか、検体の採取にあたっては、患者および家族から事前に十分な説明をおこない、文書による同意を得る。ヒト遺伝子研究に該当する場合は、ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針に従う。なお、本研究はすでに名古屋大学医学部・日本医科大学倫理委員会で承認済みである。

C. 研究結果

日本小児血液学会による先行研究(1988-2004 年症例)で、17 年間に登録された 1,337 例の造血不全症から 6 例(0.45%) (95%CI 0.42-0.47%)の DKC 症例が登録されている。これと比較して 2006 年から 11 年の 6 年間に診断された DKC 症例は 7 例(1.31%) (95%CI 0.34-2.27%)と増加がみられた。一

方、2009 年 2 月から 2012 年 6 月までに、700 例の中央診断がおこなわれ、総計 60 例の先天性骨髄不全症候群が診断された。そのうち DKC は 3 例のみであった。また、2011 年 3 月 1 日から 2013 年 1 月 31 日まで間に中央診断で造血不全症と診断された 192 例のテロメア長を Flow-FISH 法で測定したところ、18 例(9.4%)において-3SD を超える著明な短縮を認めた。これらの症例はいずれも DKC に特徴的な臨床徴候は示さなかった。16 例において 7 種の遺伝子検査を行ったが、既知のテロメア関連遺伝子の異常を認めなかった。このうち 1 例は Diamond-Blackfan 貧血の症例であった。また、別の 1 例は小頭症を伴う多発奇形のある乳児症例で、何らかの先天性骨髄不全症が疑われた。これらの患者を対象にテロメア関連遺伝子のシーケンスを行ったが、変異は認めなかった。

また、これまでに、DKC と臨床的に診断された 21 例について遺伝子検索をおこなったところ、11 例については既知の遺伝子変異が同定された。DKC1 変異を 4 例、TERT 変異を 2 例、TERC 変異を 1 例、TINF2 変異が 4 例である。そこで、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 および不全型 DKC 症例 16 例を対象に次世代シーケンサーによる全エクソンのシーケンスをおこなった。5 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、全エクソン解析では、DKC1(2 例)、TINF2(2 例)、TERT(1 例)の変異が検出された。また、RECQL4、ATM、BLM など早老症や遺伝子修復に関連する既知の常染色体劣性遺伝性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。

日本小児血液学会のおこなう中央診断では、小児期造血不全症を骨髄病理組織所見に基づき、再生不良性貧血、Refractory cytopenia of childhood(RCC) の 2 群に分けている。血球テロメア長の短縮が、骨髄異形性症候群や急性骨髄性白血病への移行の予測因子となりうるかを検討するために、血球テロメア長と病理組織像との関連について検討をおこなった。AA におけるテロメア長の平均値は-1.1SD(-3.4~

+1.6)、RCCにおけるテロメア長の平均値は-1.3SD(-4.1~+0.8)で差がみられなかった (p = 0.82)。また、-2SD以下の短縮を示す症例の割合も再生不良性貧血で11/47、RCCで11/42と同様に差がなかった (p = 0.76)。

本研究班では、DKCの移植前治療として全身あるいは胸腹部照射 (TBI/TAI) 3Gy、フルダラビン (Flu) 25 mg/m²を4日間、Cyclophosphamide 750 mg/m²を4日間、ウサギ抗胸腺細胞グロブリン (ATG) 1.25 mg/kgを4日間で行い、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) の併用を推奨している。これまで、6例がこの前治療法で、代替ドナーから移植されているが、全例で造血能の回復が得られ、生存中である。

D. 考察

わが国におけるDKCに関する疫学情報は十分でない。日本小児血液学会では、1998年から小児期造血不全性疾患の疾患登録をおこなっている。先行研究の調査対象期間 (1988年から2004年) に1,337例の骨髄不全症があり、DKC症例は6例(0.45%)であった。一方、2006年から2011年に登録された535例の骨髄不全症から、新規DKC患者が7例報告された。これは先行研究から外挿された頻度よりも有意に多く、本研究班の活動により造血不全症状を呈するDKCが小児科医に認知され、潜在する症例が見いだされた可能性が高い。

米国NIHから特発性再生不良性貧血と診断される群の中に身体的特徴をしめさないDKCが潜んでいることが報告されている。これまで、わが国の96例の小児、107例の成人再生不良性貧血患者のTERT、TERC、TINF2遺伝子の変異をスクリーニングしたところ、それぞれ、2例のTERT遺伝子変異、2例のTINF2変異が同定されている。しかし、すべての再生不良性貧血患者に遺伝子変異の検索をおこなうのは現実的ではない。そこで、DKC患者の血球テロメア長をスクリーニングすることで、不全型のDKC患者を抽出することが可能かを検討した。しかし、

-3SD以上の著明な短縮がみられた18例から、サンガー法で既知の遺伝子異常が同定された症例はみられず、目的は達成できなかった。しかし、臨床的にDKCと診断される患者の半数近くは原因遺伝子が不明であり、このような症例で既知のテロメア関連遺伝子異常がないからと言って完全に潜在性DKCは否定できないと考えられる。そこで、テロメア長が-3SDを超える症例や既知の原因遺伝子を認めず臨床的にDKCと診断された16例を対象に、次世代シーケンサーを用いて、全エクソーム解析をおこなったところ、5例において、サンガー法では同定できなかった既知の原因遺伝子が検出可能であった。DKCのように、原因遺伝子の種類が多く、変異も一塩基変異から大欠失変異や片アリル欠失まで多彩な疾患の遺伝子診断には、次世代シーケンサーによる診断が、今後は臨床現場でも用いられるようになると思われる

新規遺伝子探索に関しては、現在探索中ではあるが、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。

米国 NIH からの報告では、治療前のテロメア長が相対的に短縮している再生不良性貧血症例では、テロメア長が保たれている例に比べて骨髄異形成症候群に移行するリスクが高く、予後が悪いことが示されている。今回、骨髄異形成症候群の範疇に属する refractory cytopenia of childhood(RCC)と再生不

良性貧血患者とのリンパ球テロメア長を比較したが、両群間で差はみられなかった。一方、免疫抑制療法の不応例は反応例と比較してリンパ球テロメア長の短縮傾向がみられており、現在、多数例により確認中である。

本症に対する治療ガイドラインの策定も本研究班の目的のひとつである。DKC に対する非血縁ドナーからの移植成績は従来極めて不良であったが、研究班班員が所属する施設で移植された 6 例は、移植後造血能の回復がみられ順調な経過である。6 例は、フルダラビンを含む骨髄非破壊的前治療法で移植されていた。これらの知見をもとに、DKC に対する“診療ガイド”を策定した。本研究班が策定した DKC に対する“診療ガイド”にしたがい、他施設で非血縁者間移植をおこなった症例は、造血能の回復が得られ順調に経過している。しかし、DKC の移植後長期生存例には、肺線維症などの晩期合併症が知られており、今後も注意深い、経過観察が必要であろう。

E. 結論

本研究班の大きな成果として 1) DKC のわが国における発症頻度を明らかにした点、2) 血球テロメア長によるスクリーニング、遺伝子検査による前方視的診断法の確立、3) 代替ドナーからの同種移植法の確立、があげられる。さらに、エクソーム解析によって発見された新規候補遺伝子を現在解析中であり、国際的にも高い評価を得る可能性が期待される。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Yoshida N, Hirabayashi S, Watanabe S, Zaike Y, Tsuchida M, Yoshimi A, Masunaga A, Otsuka Y, Ito M, Kojima S, Nakahata T, Manabe A. [Prognosis of 75 patients with juvenile myelomonocytic leukemia:

prospective study by MDS committee in the Japanese Society of Pediatric Hematology]. Rinsho Ketsueki. 2011 Dec;52(12):1853-8. Japanese.

- 2) Hama A, Yoshimi A, Sakaguchi H, Doisaki S, Muramatsu H, Shimada A, Takahashi Y, Nozawa K, Ito M, Tsuchida M, Manabe A, Ohara A, Kojima S. Bone marrow findings of childhood aplastic anemia: analyses of 140 cases by central reviewers. Rinsho Ketsueki. 2011 Aug;52(8):653-8.
- 3) Ito Y, Kawabe S, Kojima S, Nakamura F, Nishiyama Y, Kaneko K, Kiuchi T, Ando H, Kimura H. Identification of Epstein-Barr virus-infected CD27+ memory B cells in patients after transplantation. J Gen Virol. 2011 Nov;92(Pt 11):2590-5.
- 4) Watanabe N, Takahashi Y, Matsumoto K, Horikoshi Y, Hama A, Muramatsu H, Yoshida N, Yagasaki H, Kudo K, Horibe K, Kato K, Kojima S. Total body irradiation and melphalan as a conditioning regimen for children with hematological malignancies undergoing transplantation with stem cells from HLA-identical related donors. Pediatr Transplant. Pediatr Transplant. 2011 Sep;15(6):642-9.
- 5) Yagasaki H, Kojima S, Yabe H, Kato K, Kigasawa H, Sakamaki H, Tsuchida M, Kato S, Kawase T, Morishima Y, Kodera Y. Acceptable HLA-mismatching in unrelated donor bone marrow transplantation for patients with acquired severe aplastic anemia. Blood. 2011 Sep 15;118(11):3186-3190.
- 6) Kojima S, Nakao S, Young N, Bacigalupo A, Gerard G, Hirano N, Maciejewski J, Deeg J, Marsh J, Zhang FK, Lee JW, Ozawa K. The Third Consensus Conference on the

- treatment of aplastic anemia. *Int J Hematol*. 2011 Jun;93(6):832-7.
- 7) Nishio N, Takahashi Y, Tanaka M, Xu Y, Yoshida N, Sakaguchi H, Doisaki S, Hama A, Muramatsu H, Shimada A, Kojima S. Aberrant phosphorylation of STAT5 by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in infant cytomegalovirus infection mimicking juvenile myelomonocytic leukemia. *Leuk Res*. 2011 Sep;35(9):1261-4.
 - 8) Muramatsu H, Takahashi Y, Shimoyama Y, Doisaki S, Nishio N, Ito Y, Hama A, Shimada A, Yagasaki H, Ito M, Kojima S. CD20-negative Epstein-Barr virus-associated post-transplant lymphoproliferative disease refractory to rituximab in a patient with severe aplastic anemia. *Int J Hematol*. 2011 Jun;93(6):779-81.
 - 9) Watanabe N, Matsumoto K, Kojima S, Kato K. Invasive Fungal Infections in Pediatric Patients With Hematologic Malignancies Receiving Oral Amphotericin B Solution and Early Intravenous Administration of Fluconazole. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2011 May;33(4):270-5.
 - 10) Kamio T, Ito E, Ohara A, Kosaka Y, Tsuchida M, Yagasaki H, Mugishima H, Yabe H, Morimoto A, Ohga S, Muramatsu H, Hama A, Kaneko T, Nagasawa M, Kikuta A, Osugi Y, Bessho F, Nakahata T, Tsukimoto I, Kojima S; Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. Relapse of aplastic anemia in children after immunosuppressive therapy: a report from the Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. *Haematologica*. 2011 Jun;96(6):814-9.
 - 11) Takamatsu H, Yagasaki H, Takahashi Y, Hama A, Saikawa Y, Yachie A, Koizumi S, Kojima S, Nakao S. Aplastic anemia successfully treated with rituximab: The possible role of aplastic anemia-associated autoantibodies as a marker for response. *Eur J Haematol*. 2011 Jun;86(6):541-545.
 - 12) Ozono S, Inada H, Nakagawa S, Ueda K, Matsumura H, Kojima S, Koga H, Hashimoto T, Oshima K, Matsuishi T. Juvenile myelomonocytic leukemia characterized by cutaneous lesion containing Langerhans cell histiocytosis-like cells. *Int J Hematol*. 2011 Mar;93(3):389-93.
 - 13) Yoshida N, Yagasaki H, Hama A, Takahashi Y, Kosaka Y, Kobayashi R, Yabe H, Kaneko T, Tsuchida M, Ohara A, Nakahata T, Kojima S. Predicting response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anemia. *Haematologica*. 2011 May;96(5):771-4.
 - 14) Muramatsu H, Takahashi Y, Sakaguchi H, Shimada A, Nishio N, Hama A, Doisaki S, Yagasaki H, Matsumoto K, Kato K, Kojima S. Excellent outcomes of children with CML treated with imatinib mesylate compared to that in pre-imatinib era. *Int J Hematol*. 2011 Feb;93(2):186-91.
 - 15) 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 Mar;15(2):161-6.
 - 16) Takagi M, Shinoda K, Piao J, Mitsuiki N, Takagi M, Matsuda K, Muramatsu H, Doisaki S, Nagasawa M, Morio T, Kasahara Y, Koike K, Kojima S, Takao A, Mizutani S. Autoimmune lymphoproliferative syndrome-like disease with somatic KRAS mutation. *Blood*. 2011 Mar 10;117(10):2887-90.

- 17) Pulsipher MA, Young NS, Tolar J, Risitano AM, Deeg HJ, Anderlini P, Calado R, Kojima S, Eapen M, Harris R, Scheinberg P, Savage S, Maciejewski JP, Tiu RV, Difronzo N, Horowitz MM, Antin JH. Optimization of Therapy for Severe Aplastic Anemia Based on Clinical, Biological and Treatment Response Parameters: Conclusions of an International Working Group on Severe Aplastic Anemia Convened by the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network, March 2010. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011 Mar;17(3):291-9.
- 18) Ismael O, Shimada A, Hama A, Takahashi Y, Sato Y, Hayakawa M, Tsuchiya H, Tainaka T, Ono Y, Kaneko K, Ando H, Sato K, Kojima S. Congenital pancreatoblastoma associated with β -catenin mutation. *Pediatr Blood Cancer*. 2012 May;58(5):827.
- 19) Sakaguchi H, Takahashi Y, Watanabe N, Doisaki S, Muramatsu H, Hama A, Shimada A, Yagasaki H, Kudo K, Kojima S. Incidence, clinical features, and risk factors of idiopathic pneumonia syndrome following hematopoietic stem cell transplantation in children. *Pediatr Blood Cancer*. 2012 May;58(5):780-4.
- 20) Ismael O, Shimada A, Hama A, Sakaguchi H, Doisaki S, Muramatsu H, Yoshida N, Ito M, Takahashi Y, Akita N, Sunami S, Ohtsuka Y, Asada Y, Fujisaki H, Kojima S. Mutations profile of polycythemia vera and essential thrombocythemia among Japanese children. *Pediatr Blood Cancer*. 2012 Sep;59(3):530-5.
- 21) Kimura H, Ito Y, Kawabe S, Gotoh K, Takahashi Y, Kojima S, Naoe T, Esaki S, Kikura A, Sawada A, Kawa K, Ohshima K, Nakamura S. Epstein-Barr virus (EBV)-associated T/NK lymphoproliferative diseases in non-immunocompromised hosts: prospective analysis of 108 cases. *Blood*. 2012 Jan 19;119(3):673-86.
- 22) Hama A, Muramatsu H, Makishima H, Sugimoto Y, Szpurka H, Jasek M, O'Keefe C, Takahashi Y, Sakaguchi H, Doisaki S, Shimada A, Watanabe N, Kato K, Kiyoi H, Naoe T, Kojima S, Maciejewski JP. Molecular lesions in childhood and adult acute megakaryoblastic leukaemia. *Br J Haematol*. 2012 Feb;156(3):316-25.
- 23) Kuramitsu M, Sato-Otsubo A, Morio T, Takagi M, Toki T, Terui K, Wang R, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Kitoh T, Goi K, Kudo K, Matsubayashi T, Mizue N, Ozeki M, Masumi A, Momose H, Takizawa K, Mizukami T, Yamaguchi K, Ogawa S, Ito E, Hamaguchi I. Extensive gene deletions in Japanese patients with Diamond-Blackfan anemia. *Blood*. 2012 Mar 8;119(10):2376-84.
- 24) Matsuda K, Yoshida N, Miura S, Nakazawa Y, Sakashita K, Hyakuna N, Saito M, Kato F, Ogawa A, Watanabe A, Sotomatsu M, Kobayashi C, Ito T, Ishida F, Manabe A, Kojima S, Koike K. Long-term haematological improvement after non-intensive or no chemotherapy in juvenile myelomonocytic leukaemia and poor correlation with adult myelodysplasia spliceosome-related mutations. *Br J Haematol*. 2012 Jun;157(5):647-50.
- 25) Yoshida N, Doisaki S, Kojima S. Current Management of Juvenile Myelomonocytic Leukemia and the Impact of RAS Mutations. *Paediatr Drugs*. 2012 Jun 1;14(3):157-63.
- 26) Asai D, Osone S, Imamura T, Sakaguchi H, Nishio N, Kuroda H, Kojima S, Hosoi H. Allo-SCT in a patient with CRMCC with aplastic anemia using a reduced intensity conditioning regimen. *Bone Marrow Transplant*. 2012 Aug;47(8):1126-7.

- 27) Kawabata H, Doisaki S, Okamoto A, Uchiyama T, Sakamoto S, Hama A, Hosoda K, Fujikura J, Kanno H, Fujii H, Tomosugi N, Nakao K, Kojima S, Takaori-Kondo A. A case of congenital dyserythropoietic anemia type 1 in a Japanese adult with a CDAN1 gene mutation and an inappropriately low serum hepcidin-25 level. *Intern Med.* 2012;51(8):917-20.
- 28) Kojima S. Treatment of acquired aplastic anemia in children. *Hematology.* 2012 Apr;17 Suppl 1:S11-4.
- 29) Shimada A, Takahashi Y, Muramatsu H, Hama A, Ismael O, Narita A, Sakaguchi H, Doisaki S, Nishio N, Tanaka M, Yoshida N, Matsumoto K, Kato K, Watanabe N, Kojima S. Excellent outcome of allogeneic bone marrow transplantation for Fanconi anemia using fludarabine-based reduced-intensity conditioning regimen. *Int J Hematol.* 2012 Jun;95(6):675-9.
- 30) Jerez A, Sugimoto Y, Makishima H, Verma A, Jankowska AM, Przychodzen B, Visconte V, Tiu RV, O'Keefe CL, Mohamedali AM, Kulasekararaj AG, Pellagatti A, McGraw K, Muramatsu H, Moliterno AR, Sekeres MA, McDevitt MA, Kojima S, List A, Boultonwood J, Mufti GJ, Maciejewski JP. Loss of heterozygosity in 7q myeloid disorders: clinical associations and genomic pathogenesis. *Blood.* 2012 Jun 21;119(25):6109-17.
- 31) Yang W, Zhang P, Hama A, Ito M, Kojima S, Zhu X. Diagnosis of acquired bone marrow failure syndrome during childhood using the 2008 World Health Organization classification system. *Int J Hematol.* 2012 Jul;96(1):34-8.
- 32) Ismael O, Shimada A, Hama A, Elshazley M, Muramatsu H, Goto A, Sakaguchi H, Tanaka M, Takahashi Y, Yinyan X, Fukuda M, Miyajima Y, Yamashita Y, Horibe K, Hanada R, Ito M, Kojima S. De novo childhood myelodysplastic / myeloproliferative disease with unique molecular characteristics. *Br J Haematol.* 2012 Jul;158(1):129-37.
- 33) Wang X, Muramatsu H, Sakaguchi H, Xu Y, Narita A, Tsumura Y, Doisaki S, Tanaka M, Ismael O, Shimada A, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Mutation in the THPO gene is not associated with aplastic anaemia in Japanese children. *Br J Haematol.* 2012 Aug;158(4):553-5.
- 34) Doisaki S, Muramatsu H, Shimada A, Takahashi Y, Mori-Ezaki M, Sato M, Kawaguchi H, Kinoshita A, Sotomatsu M, Hayashi Y, Furukawa-Hibi Y, Yamada K, Hoshino H, Kiyoi H, Yoshida N, Sakaguchi H, Narita A, Wang X, Ismael O, Xu Y, Nishio N, Tanaka M, Hama A, Koike K, Kojima S. Somatic mosaicism for oncogenic NRAS mutations in juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood.* 2012 Aug 16;120(7):1485-8.
- 35) Sakaguchi H, Nakanishi K, Kojima S. Inherited bone marrow failure syndromes in 2012. *Int J Hematol.* 2013 Jan;97(1):20-9.
- 36) 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 KI, Ohga S, Kojima S; on behalf of the Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. Rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine as first-line therapy for children with acquired aplastic anemia. *Blood.* 2013 Jan 31;121(5):862-863.

2. 学会発表

海外

- 1) Hama A, Muramatsu H, Ito M, Tsuchida M, Sakaguchi H, Doisaki S, Tanaka M, Shimada A, Takahashi Y, Kobayashi R, Ito E, Yabe H, Ohga S, Ohara A, Kojima S. Comparison of clinical outcome between children with aplastic anemia and refractory cytopenia of childhood who received immunosuppressive therapy with antithymocyte globulin and cyclosporine. 53th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Dec. 11, 2011. San Diego, USA.
- 2) Muramatsu H, Yabe H, Kobayashi R, Kikuchi A, Kudo K, Kawa K, Kato K, Suzui R, Takahashi Y, Inagaki J, Inoue M, Kojima S. Allogeneic bone marrow transplantation from HLA mismatched family donors in children with aplastic anemia. 53th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Dec. 12, 2011. San Diego, USA.
- 3) Kudo K, Kobayashi R, Kosaka Y, Tsuchida M, Mugishima H, Ohara A, Yagasaki H, Yabe H, Morimoto A, Takahashi Y, Phga S, Nakahata T, Kojima S. Antithymocyte Globulin (ATG), Cyclosporine (CyA), and Danazol versus ATG and CyA as treatment for children with aplastic anemia: Result of matched-pair analysis. 53th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Dec. 11, 2011. San Diego, USA.
- 4) Hasegawa D, Chen XJ, Hirabayashi S, Ishida Y, Watanabe S, Zaike Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Nakahata T, Manabe A. Clinical characteristics and treatment outcome of refractory cytopenia of childhood (RCC): A prospective registration through the Japanese Society of Pediatric Hematology. 53th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Dec. 11, 2011. San Diego, USA.
- 5) Yoshida N, Kikuchi A, Kobayashi R, Yabe H, Kosaka Y, Muramatsu H, Takahashi Y, Kato K, Suzuki R, Ohara A, Kojima S. Outcomes in children with severe aplastic anemia receiving bone marrow transplantation from an HLA-matched family donor or intensive immunosuppressive therapy as first-line treatment. 53th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Dec. 12, 2011. San Diego, USA.
- 6) Kojima S. Treatment of Acquired Aplastic Anemia in Children. 34th International Society of Hematology. Apr. 28, 2012. Cancun, Mexico.
- 7) Kojima S. Treatment of Acquired Aplastic Anemia in Children. Asia Pacific Transplant and Hematology Forum 2012. May. 12, 2012. Taipei, Taiwan.
- 8) Kojima S. Therapeutic Advances in Treatment of Aplastic Anemia. 2nd Annual Updates on Breakthrough in Hematology. Sep. 1, 2012. Bangkok, Thailand.
- 9) Kojima S. Asian Experience in Treatment of Aplastic Anemia. Aplastic Anemia Advisory Board Meeting. Oct. 4, 2012. Cambridge, USA.
- 10) Kojima S. Unrelated donor transplant vs Immunosuppressive therapy in patients with severe aplastic anemia. 17th Meeting of the APBMT Group. Oct. 27, 2012. Hyderabad, India.
- 11) Sakaguchi H, Muramatsu H, Wang X, Narita A, Doiaski S, Yoshida N, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Manabe A, Kojima S. Clinical significance of aberrant DNA methylation in juvenile myelomonocytic leukemia. 6th International Symposium on

- MDS and Bone Marrow Failure Syndromes in Childhood. Nov. 7, 2012. Prague, Czech Republic.
- 12) Sakaguchi H, Hama A, Wang X, Narita A, Doiasaki S, Muramatsu H, Nakanishi K, Takahashi Y, Tsuchida M, Kobayashi R, Ito E, Yabe H, Ohga S, Ohara A, Hasegawa D, Manabe A, Ito M, Kojima S. Lymphocyte Telomere Length in Pediatric Aplastic Anemia, Refractory Cytopenia of Childhood, and Refractory Cytopenia with Multi-lineage Dysplasia. 6th International Symposium on MDS and Bone Marrow Failure Syndromes in Childhood. Nov. 7, 2012. Prague, Czech Republic.
 - 13) Hama A, Manabe A, Ito M, Hasegawa D, Nozawa K, Kawashima N, Narita A, Sakaguchi H, Doiasaki S, Muramatsu H, Nakanishi K, Takahashi Y, Ohara A, Kojima S. A comparison of clinical and laboratory findings among aplastic anemia, RCC and RCMD in 219 cases registered to the central review system. 6th International Symposium on MDS and Bone Marrow Failure Syndromes in Childhood. Nov. 7, 2012. Prague, Czech Republic.
 - 14) Muramatsu H, Doiasaki S, Shimada A, Takahashi Y, Ezaki M, Sato M, Kawaguchi H, Kinoshita A, Sotomatsu M, Hayashi Y, Furukawa Y, Yamada K, Hoshino H, Kiyoi H, Yoshida N, Sakaguchi H, Sakaguchi H, Narita A, Wang X, Ismael O, Xu Y, Nishio N, Tanaka M, Hama A, Koike K, Kojima S. Somatic mosaicism for oncogenic NRAS mutations in juvenile myelomonocytic leukemia. Nov. 7, 2012. Prague, Czech Republic.
 - 15) Muramatsu H, Sakaguchi H, Koike K, Sanada M, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Makishima H, Wang X, Xu Y, Doiasaki S, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Yoshida N, Maciejewski JP, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Comprehensive genetic analysis by deep sequencing in juvenile myelomonocytic leukemia. Nov. 7, 2012. Prague, Czech Republic.
 - 16) Hama A, Takahashi Y, Yoshida N, Ito M, Kawashima N, Narita A, Sakaguchi H, Doiasaki S, Muramatsu H, Nakanishi K, Matsumoto K, Kato K, Kojima S. Risk factors for Donor-Type aplasia after bone marrow transplant in children with acquired bone marrow failure syndrome. 6th International Symposium on MDS and Bone Marrow Failure Syndromes in Childhood. Nov. 8, 2012. Prague, Czech Republic.
 - 17) Kojima S. Diagnosis and treatment of aplastic anemia in children. Asian aplastic anemia expert meeting. Dec. 9, 2012. Atlanta, USA.
 - 18) Muramatsu H, Okuno Y, Sakaguchi H, Yoshida K, Shiraishi Y, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Makishima H, Wang X, Xu Y, Doiasaki S, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Yoshida N, Maciejewski J.P, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Whole exome analysis reveals spectrum of gene mutations in juvenile myelomonocytic leukemia. Dec. 9, 2012. Atlanta, USA.
 - 19) Takahashi Y, Ohara A, Kobayashi R, Yabe H, Kikuchi A, Yagasaki H, Morimoto A, Watanabe K, Ito E, Kudo K, Fukuda A, Sakamoto S, Kasahara M, Nakazawa A, Kojima S. Expression of human leukocyte antigen B61 is associated with idiopathic aplastic anemia, hepatitis-associated Aplastic Anemia and Fulminant Hepatic Failure in Children. Dec. 10, 2012. Atlanta, USA.
 - 20) Hama A, Takahashi Y, Yoshida N, Ito M,

Narita A, Sakaguchi H, Doiaski S, Muramatsu H, Nakanishi K, Matsumoto K, Kato K, Kojima S. Risk factors for Donor-Type aplasia after bone marrow transplant in children with acquired bone marrow failure syndrome. Dec. 10, 2012. Atlanta, USA.

- 21) Kojima S. Upfront Transplant Strategies in Aplastic Anemia. BTG2013. Feb. 23, 2013. Hong Kong, China.

国内

- 1) Hama A, Manabe A, Nozawa K, Sakaguchi H, Doiaski S, Muramatsu H, Shimada A, Takahashi Y, Ohara A, Ito M, and Kojima S. Central Review of the Morphology in Childhood Aplastic Anemia and Myelodysplastic Syndrome. 第73回日本血液学会学術集会. 2011年10月14-16日. 名古屋.
- 2) Hasegawa D, Chen XJ, Hirabayashi S, Watanabe S, Zaike Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Ishida Y, Nakahata T, Manabe A. Refractory Cytopenia of Childhood (RCC): A prospective study using a central review by the JSPH. 第73回日本血液学会学術集会. 2011年10月14-16日. 名古屋.
- 3) Ohba R, Furuyama K, Mnabe A, Ito E, Kojima S, Ozawa K, Harigae H. Charateristics of sideroblastic anemia in Japan – from the analysisi of multicenter study. 第73回日本血液学会学術集会. 2011年10月14-16日. 名古屋.
- 4) Shimada A, Goto A, Xu Y, Sakaguchi H, Doisaki S, Muramatsu H, Hama A, Takahashi Y, Noda Y, Kojima S, Ito M. Frequent TP42 mutation in pediatric refractory cytopenia of childhood but rare in aplastic anemia. 第73回日本血液学会学術集会. 2011年10月14-16日. 名古屋.
- 5) Yoshida N, Kikuchi A, Kobayashi R, Yabe H, Kosaka Y, Muramatsu H, Takahashi Y, Kato K, Suzuki R, Ohara A, Kojima S. First line treatment for aplastic anemia in children: transplantation vs. immunosuppressive therapy. 第73回日本血液学会学術集会. 2011年10月14-16日. 名古屋.
- 6) Muramatsu H, Yabe H, Kobayashi R, Kikuchi A, Kudo K, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Takahashi Y, Inagaki J, Inoue M, Kojima S. Allogeneic stem cell transplantation from HLA-mismatched family donors in children with AA. 第73回日本血液学会学術集会. 2011年10月14-16日. 名古屋.
- 7) Olfat M.M. Ismael, Shimada A, Hama A, Sakaguchi H, Doisaki S, Muramatsu H, Yoshida N, Takahashi Y, Kojima S. Mutation profile of childhood Polycythaemia Vera and Essential Thrombocytosis. 第73回日本血液学会学術集会. 2011年10月14-16日. 名古屋.
- 8) Doisaki S, Muramatsu H, Mori M, Sato M, Kawaguchi H, Kinoshita A, Hibi Y, Yamada K, Hoshino H, Kiyoi H, Yoshida N, Sakaguchi H, Hama A, Shimada A, Takahashi Y, Kojima S. Somatic mosaicism for oncogenic G12D NRAS mutation associated with juvenile myelomonocytic leukemia. 第73回日本血液学会学術集会. 2011年10月14-16日. 名古屋.
- 9) Sakaguchi H, Muramatsu H, Doisaki S, Yoshida N, Hama A, Shimada A, Takahashi Y, Atsushi Manabe, Kojima S. Aberrant Dna methylation in juvenile myelomonocytic leukemia. 第73回日本血液学会学術集会. 2011年10月14-16日. 名古屋.
- 10) Bustos I, Takahashi Y, Sakaguchi H, Doisaki S, Muramatsu H, Shimada A, Hama A, Kojima S. Immune reconstitution after unmanipulated HLA haploidentical with antithymoglobulin. 第73回日本血液学会学術集会. 2011年10月14-16日. 名古屋.
- 11) 坂口大俊、小島勢二. 造血不全における血球テロメア長の測定. 第53回日本小児血液・がん学会学術集会. 2011年11月25-27日. 前橋.
- 12) 伊藤悦朗、照井君典、土岐力、小島勢二、小原明、大賀正一、森尾友宏、浜口功、倉光球、菅野仁、小川誠司、佐藤亜以子. 先天性赤芽球癆

- (Diamond-Blackfan 貧血) の効果的診断法の確立に関する研究. 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2011 年 11 月 25-27 日. 前橋.
- 13) 嶋田明、Olfat Ismael、濱麻人、坂口大俊、土居崎小夜子、村松秀城、高橋義行、福田実、宮島雄二、堀部敬三、小島勢二. 小児 CMML は稀で、JMML とは異なった遺伝子変異がみられる. 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2011 年 11 月 25-27 日. 前橋.
- 14) 後藤綾、嶋田明、徐銀燕、坂口大俊、土居崎小夜子、村松秀城、濱麻人、高橋義行、野田幸弘、伊藤雅文、小島勢二. 小児不応性血球減少症における TP53 遺伝子変異. 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2011 年 11 月 25-27 日. 前橋.
- 15) 濱麻人、村松秀城、伊藤雅文、土田昌宏、坂口大俊、土居崎小夜子、田中真己人、嶋田明、高橋義行、小林良二、伊藤悦朗、矢部普正、大賀正一、小原明、小島勢二. 小児再生不良性貧血の骨髓像：117 例のセントラルレビューによる検討. 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2011 年 11 月 25-27 日. 前橋.
- 16) Olfat Ismael、嶋田明、徐銀燕、坂口大俊、土居崎小夜子、村松秀城、濱麻人、高橋義行、吉田奈央、秋田直洋、角南勝介、大塚欣也、浅田洋二、藤崎弘之、小島勢二. 小児真性多血症と本態性血小板血症の遺伝子変異プロファイル. 第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2011 年 11 月 25-27 日. 前橋.
- 17) Takahashi Y, Ohara A, Kobayashi R, Yabe H, Kikuchi A, Yagasaki H, Morimoto A, Watanabe K, Ohga S, Ito E, Kudo K, Fukuda A, Sakamoto S, Kasahara M, Nakazawa A, Kojima S. HLA-B*61 is associated with idiopathic AA, hepatitis associated AA and fulminant hepatic failure in children. 第 74 回日本血液学会学術集会. 2012 年 10 月 19 日. 京都.
- 18) Hama A, Ito M, Hasegawa D, Nozawa K, Narita A, Sakaguchi H, Doiaski S, Muramatsu H, Takahashi Y, Ohara A, Manabe A, Kojima S. Characteristics of bone marrow findings in children with post-hepatitis bone marrow failure. 第 74 回日本血液学会学術集会. 2012 年 10 月 19 日. 京都.
- 19) Sakaguchi H, Hama A, Muramatsu H, Narita A, Doiaski S, Takahashi Y, Tsuchida M, Kobayashi R, Ito E, Yabe H, Ohga S, Ohara A, Hasegawa D, Manabe A, Ito M, Kojima S. Telomere Length of Lymphocyte in Pediatric Aplastic Anemia and Refractory Cytopenia of Childhood. 第 74 回日本血液学会学術集会. 2012 年 10 月 19 日. 京都.
- 20) Shimada A, Olfat A, Xu Y, Goto A, Nagai T, Narita A, Sakaguchi H, Doiaski S, Muramatsu H, Hama A, Takahashi Y, Yamada Y, Hayashi Y, Kojima S. JAK2 V617F mutation in pediatric myeloproliferative neoplasm. 第 74 回日本血液学会学術集会. 2012 年 10 月 20 日. 京都.
- 21) Wang X, Muramatsu H, Sakaguchi H, Xu Y, Narita A, Tsumura Y, Doiaski S, Tanaka M, Ismael O, Shimada A, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Mutation in the c-MPL gene is not associated with aplastic anemia in Japanese children. 第 74 回日本血液学会学術集会. 2012 年 10 月 20 日. 京都.
- 22) 土居崎小夜子、成田 敦、坂口大俊、村松秀城、濱 麻人、中西康詞、高橋義行、小島勢二、神谷尚宏、真部 淳、多賀 崇. Congenital dyserythropoietic anemia における遺伝子診断. 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2012 年 11 月 30 日. 横浜.
- 23) 濱 麻人. 小児再生不良性貧血、RCC および RCMD の臨床、検査所見の比較: 中央診断登録例 219 例の検討. 第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2012 年 12 月 2 日. 横浜.
- 24) 小島勢二. 全エクソン解析による先天性骨髄不全症候群に対する新規原因遺伝子の探索.

第 54 回日本小児血液・がん学会学術集会. 2012
年 12 月 2 日. 横浜.

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし。

Ⅱ. 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

－ 総合研究報告書 － 分担研究報告書

先天性角化不全症の効果的診断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：血球テロメア長測定、遺伝子変異検査

研究分担者 高橋 義行（名古屋大学大学院医学系研究科成長発達医学 准教授）

研究要旨： 典型的な先天性角化不全症（Dyskeratosis congenita, DC）は皮膚、爪、口腔粘膜に特徴的な所見がみられる先天性骨髄不全症候群である。特発性骨髄不全症候群や特発性肺線維症の一部に同一の遺伝子変異がみられることから、本症の不全型が潜んでいることが判明した。本症の原因遺伝子としてはこれまで7種のテロメア関連遺伝子が同定されているが、不全型の多くは、診断に至らず特発性骨髄不全症候群や特発性肺線維症として治療されているものと思われる。本症には特発性骨髄不全症候群の第1選択薬である免疫抑制療法の効果はみられないため、適切な診断がなされることは患者にとって重要である。適切な診断のため末梢血のリンパ球テロメア長をFlow FISH法でスクリーニングし、テロメア長の短縮がある検体について、既知の7種類のテロメア関連原因遺伝子について変異の有無を検討する。この診断法の確立について分担研究を行った。

A. 研究目的

Dyskeratosis congenita(DC)の患者細胞はテロメア長が短縮しており、これはテロメラゼ複合体を形成する遺伝子の異常に起因する。近年、特発性再生不良性貧血(Aplastic Anemia; AA)患者の中に、身体的特徴を有さない潜在的なDC(不全型DC)患者が存在する事が判明した。フローサイトメトリーによる血球リンパ球のテロメア長の測定がDC患者のスクリーニングに有効であるか検討するとともに、DCおよびDCが疑われる患者における責任遺伝子の同定を試みた。

B. 研究方法

2011年3月1日から2013年1月31日までの間に、当院および他院にてAAと診断された患者192例について、診断時に採取した末梢血を用いてテロメア長を測定した。健常人と比較して-3SD

以上の著明な短縮を認めた場合、テロメア関連遺伝子の変異解析(TERC, TERT, DKC1, TINF2, NOP10, NHP2, TCAB1)を行った。

また、当院および他院にて、DCが疑われる患者から採取した末梢血を用いてテロメア長を測定し、テロメア関連遺伝子の変異解析を行った。

(倫理面への配慮)

患者検体は連結可能匿名化を行い、検査において患者を特定できないようにした。また、テロメア長測定およびテロメア関連遺伝子検査に際しては、当院倫理審査委員会にて承認を受けた研究計画書、患者説明書および同意書を用いて、患者もしくはその親権者から書面にて同意を得た。

C. 研究結果

AAと診断された192例のテロメア長を測定したところ、168例が年齢・テロメア長標準直線を下