

Canada, Poster

●Koki Ueda, Akihide Yoshimi, Masahiro Nakagawa, Satoshi Nishikawa, Keiki Kumano, and Mineo Kurokawa. EZH2 targeting as a therapeutic strategy against MLL fusion leukemia stem cell Keystone Symposia Stem Cell Regulation in Homeostasis and Disease (B7), February 24-March 1, 2013, Fairmont Banff Springs, Banff, Alberta, Canada, Poster

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

## 家族性血小板異常症に関する診断基準(暫定)

1. 患者本人に血小板減少症もしくは急性白血病・骨髄異形成症候群などの造血器悪性腫瘍(\*1)がみられる。
2. 家系内に血小板減少症もしくは急性白血病・骨髄異形成症候群などの造血器悪性腫瘍患者がみられる。この場合、遺伝形式が常染色体優性遺伝で矛盾しない。
3. 患者本人の血液細胞より RUNX1(AML1)遺伝子の変異が検出される。
4. 患者本人の非血液細胞に血液細胞と同一の RUNX1 変異が検出される。
5. 患者本人と同一の RUNX1 変異が家族内に検出される。

\*1 急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、悪性リンパ腫、骨髄異形成症候群等の報告がある。

1. および 2. によって家族性血小板異常症を疑い、3. により RUNX1 遺伝子変異を同定する。さらに 4. または 5. により診断を確定する。

## II. 分担研究報告書

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

家族性血小板異常症に関する調査研究

研究分担者：鈴木憲史（日本赤十字社医療センター 血液内科部長）

研究要旨 家族性血小板異常症（FPD）の新家系を探し出し、原因遺伝子（RUNX1）変異の有無を検討し、急性白血病への移行を早期発見することと、予防法の検討。当院での血小板減少症 185 症例の詳細な家族調査で 5 家系に白血病の家族内発生を見出した。24 年度は実際に遺伝子検査などの詳細を検討した。

A. 研究目的

家族性血小板異常症の家系を調査する。

1 家系は親子 2 代にわたって難治性血小板減少症があり、従兄弟が急性骨髄性白血病の RUNX1（AML1）関連を疑わせる家族の調査。また、新たな 3 家系に家族性血小板異常症を認め、いわゆる特発性血小板減少性紫斑病（IRP）の中に潜む遺伝子異常を検討し、発病予防法の検討を実施する。

B. 研究方法

当院での血小板減少症 185 症例の詳細な家族調査で 5 家系の家族性血小板減少症患者および家族（計 7 名）に IC 後血液と口腔粘膜の検体をいただき、遺伝子解析を実施した。

（倫理面への配慮）

必要に応じて遺伝相談も実施する予定であったが、5 人とも納得してくれた。

C. 研究結果

①家系：従兄弟が白血病で死亡した 55 歳女性で、7 年来 3-7 万の血小板減少症例の子供 2 人と母親の検討および、②家系：叔母が白血病で死亡し

た 44 歳の女性で 9 年来の血小板減少あり。本人および子供の RUNX1 遺伝子変異は認めなかったが、その他の遺伝子変異について包括的に検討中である。残り、3 家系も同様であり現在検討中である。

D. 考察

血小板減少症の約 2% に家族性が認められ親族に白血病発症がある。いわゆる特発性血小板減少性紫斑病（ITP）の中に、RUNX1 遺伝子変異症例およびその他の遺伝子異常が含まれている可能性がある。

E. 結論

詳細な遺伝子検索により、家族性血小板異常症の状況を把握するとともに、ITP の多様性を検討し対策を立てる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) S Yoshizawa, JH Ohyashiki, M Ohyashiki, T Umezu, K Suzuki, A Inagaki, S Iida and K Ohyashiki. Down regulated plasma miR-92a levels have clinical impact on multiple myeloma

and related disorders. Blood Cancer Journal 2: e53, 2012.

- 2) K Suzuki. Diagnosis and treatment of multiple myeloma and AL amyloidosis with focus on improvement of renal lesion. Clin Exp Nephrol. 16:659-671, 2012
- 3) K Suzuki. Discovery research on the effects of giving continuity to the administration of bortezomib in maintenance therapy to target of relapsed and refractory multiple myeloma. J New Rem Clin 61:1259-1269, 2012.
- 4) K Suzuki. Current therapeutic strategy for multiple myeloma. Japanese J Clin Oncol 2013 (in press)

2. 学会発表  
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得  
該当なし

2. 実用新案登録  
該当なし

3. その他

家族性血小板異常症に関する調査研究

研究分担者 白杵憲祐 NTT 東日本関東病院血液内科部長

研究要旨

家族性血小板異常症(FPD)の臨床像の詳細を明らかにするために、前年度に解析したFPDの疑われた1症例と1家系（2症例）では、RUNX1遺伝子変異を認めなかったが、造血器腫瘍の家族歴のあるリンパ性白血病の1症例でRUNX1の遺伝子変異を認めた。そこで、造血器腫瘍の家族歴のある症例も含めた新たな6例のRUNX1遺伝子を解析したが、遺伝子変異を認めなかった。

A. 研究目的

家族性血小板異常症(FPD)は常染色体優性遺伝形式をとり、高率に急性骨髄性白血病(AML)や骨髄異形成症候群(MDS)などを発症する疾患である。これまでに20家系が報告されている極めて稀な疾患で、その臨床像の詳細は明らかにされていない。そこで、FPDの臨床像を明らかにするために、過去の診療例や現在診療中の症例から疑わしい症例を見つけだし、遺伝子解析によって確定診断し、臨床データを蓄積することを目的とする。

B. 研究方法

前年度に当科の診療録を検索してFPDの疑われる症例として見いだされた1症例と1家系（2症例）では、RUNX1遺伝子変異を認めなかったが、造血器腫瘍の家族歴のあるリンパ性白血病の1症例でRUNX1の遺伝子変異を認めた。そこで、造血器腫瘍の家族歴のある症例も含めた新たな6例において、文書で同意を得た後に血液検体と口腔粘膜検体を用いて、遺伝子解析を行なった。

C. 研究結果

症例1：61歳で原発性中枢神経リンパ腫と診断されて、その後は7年間、治療によって寛解と再発を繰り返している1例である。母親が白血病という家族歴がある。血球および口腔粘膜の検体を東京大学に送り、遺伝子解析を行なった。その結果、RUNX1の遺伝子変異を認めなかった。

症例2：68歳で再生不良性貧血（中等度、正常核型）と診断されて、その後は2年間、無治療で経過観察されているが、最近、末梢血のFISH検査でmonosomy 7を10%程度認めてMDSへの移行の可能性がある1例である。35年前に弟が悪性リンパ腫で死亡したという家族歴がある。血球および口腔粘膜の検体を東京大学に送り、遺伝子解析を行なった。その結果、RUNX1の遺伝子変異を認めなかった。

症例3：58歳でMDS RAEB-IIと診断されたばかりの1例である。父親がMDSからの急性骨髄性白血病であったという家族歴がある。血球および口腔粘膜の検体を東京大学に送り、遺伝子解析を行なった。その結果、RUNX1の遺伝子変異を認めなかった。

症例4：60歳で急性骨髄性白血病と診断されたばかりの1例である。父親と母方従兄弟（1歳で死亡）が白血病であったという家族歴がある。血球および口腔粘膜の検体を東京大学に送り、遺伝子解析を行なった。その結果、RUNX1の遺伝子変異を認めなかった。

症例5：69歳で偶然発見された血小板減少症で、約半年間、無治療で経過観察されている。妹も血小板減少症であるという家族性血小板減少症の1症例である。血球および口腔粘膜の検体を東京大学に送り、遺伝子解析を行なった。その結果、RUNX1の遺伝子変異を認めなかった。

症例6：15歳で検診で発見された再生不良性貧血で、無治療で40年間、経過観察されている。父方従兄弟が再生不良性貧血で死亡したという家族歴がある。血球および口腔粘膜の検体を東京大学に送り、遺伝子解析を行なった。その結果、RUNX1の遺伝子変異を認めなかった。

#### D. 考察

あらたに本年度に解析した6症例ではRUNX1遺伝子の変異は検出されなかった。結局、これまでに、10症例を解析して、1症例でRUNX1遺伝子変異を認めた。

#### E. 結論

家族性血小板減少症の2家系3症例、ITPからAMLに移行した1症例、家族性再生不良性貧血1家系1症例、家族歴のある造血器悪性腫瘍の5症例の総計10例で解析し、急性骨髄性白血病の家族歴のある有毛細胞白血病の72歳男性例で末梢血および口腔粘膜細胞由来のDNAの解析でRUNX1変異を認めた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Usuki K, Tojo A, Maeda Y, Kobayashi Y, Matsuda A, Ohyashiki K, Nakaseko C, Kawaguchi T, Tanaka H, Miyamura K, Miyazaki Y, Okamoto S, Oritani K, Okada M, Usui N, Nagai T, Amagasaki T, Wanajo A, Naoe

T. Efficacy and safety of nilotinib in Japanese patients with imatinib-resistant or -intolerant Ph+ CML or relapsed/refractory Ph+ ALL: a 36-month analysis of a phase I and II study *Int J Hematol.* 95:409–419, 2012.

Shirasugi Y, Ando K, Miyazaki K, Tomiyama Y, Iwato K, Okamoto S, Kurokawa M, Kirito K, Hashino S, Ninomiya H, Mori S, Yonemura Y, Usuki K, Wei H, Lizambri R. An open-label extension study evaluating the safety and efficacy of romiplostim for up to 3.5 years in thrombocytopenic Japanese patients with immune thrombocytopenic purpura (ITP). *Int J Hematol.* 95:652–659, 2012.

Kako S, Nakasone H, Endo H, Sakamoto K, Ashizawa M, Sato M, Terasako K, Kikuchi M, Kimura S, Okuda S, Yamazaki R, Oshima K, Tanihara A, Nishida J, Usuki K, Kanda Y. Clinical course of patients with aplastic anemia or myelodysplastic syndrome associated with persistent neutropenia. *Hematol Oncol.* 30(2): 82-88, 2012.

Takahashi N, Kyo T, Maeda Y, Sugihara T, Usuki K, Kawaguchi T, Usui N, Okamoto S, Ohe Y, Ohtake S, Kitamura K, Yamamoto M, Teshima H, Motoji T, Tamaki T, Sawada K, Ohyashiki K. Discontinuation of imatinib in Japanese patients with chronic myeloid leukemia. *Haematologica.* 97(6): 903-906, 2012.

Oshima K, Takahashi W, Asano-Mori Y, Izutsu K, Takahashi T, Arai Y, Nakagawa Y, Usuki K, Kurokawa M, Suzuki K, Mitani K, Kanda Y. Intensive chemotherapy for elderly patients with acute myelogenous leukemia: a propensity score analysis by the Japan Hematology and Oncology Clinical Study Group (J-HOCS). *Ann Hematol.* 91(10):1533-9, 2012.

Usuki K, Kurosawa S, Uchida N, Yakushiji K, Waki F, Matsuishi E, Kagawa K, Furukawa T, Maeda Y, Shimoyama M, Ago H, Yamano Y, Yano S, Fujishima N, Takamatsu Y, Eto T, Hidaka M, Matsuoka H, Fukuda T. Comparison of Autologous Hematopoietic Cell

Transplantation and Chemotherapy as Postremission Treatment in Non-M3 Acute Myeloid Leukemia in First Complete Remission. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 12 (6): 444-51, 2012.

Yanada M, Kurosawa S, Yamaguchi T, Uchida N, Miyawaki S, Kanamori H, Usuki K, Kobayashi T, Watanabe M, Nagafuji K, Yano S, Nawa Y, Tomiyama J, Tashiro H, Nakamura Y, Fujisawa S, Kimura F, Emi N, Miura I, Fukuda T. Effect of related donor availability on outcome of AML in the context of related and unrelated hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2012 doi: 10.1038/bmt.2012.159. [Epub ahead of print]

Ueda Y, Mizutani C, Nannya Y, Kurokawa M, Kobayashi S, Takeuchi J, Tamura H, Ogata K, Dan K, Shibayama H, Kanakura Y, Niimi K, Sasaki K, Watanabe M, Emi N, Teramura M, Motoji T, Kida M, Usuki K, Takada S, Sakura T, Ito Y, Ohyashiki K, Ogawa H, Suzuki T, Ozawa K, Imai K, Kasai M, Hata T, Miyazaki Y, Morita Y, Kanamaru A, Matsuda A, Tohyama K, Koga D, Tamaki H, Mitani K, Naoe T, Sugiyama H, Takaku F. Clinical evaluation of WT1 mRNA expression levels in peripheral blood and bone marrow in patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Lymphoma.* 2012 Nov 26. [Epub ahead of print]

半下石明、臼杵憲祐、緩和ケア、In: 多発性骨髄腫治療マニュアル、編集：木崎昌弘、南江堂、東京、pp271-278, 2012.

臼杵憲祐、白血球減少症、薬局増刊号、病氣と薬パーフェクト BOOK2012、南山堂、横田千津子、池田宇一、大越教夫編集、薬局 63 (4); 1180-1186 (676-682), 2012.

臼杵憲祐、貧血、In: 診療ガイドライン UP-TO-DATE [2012-2013]、メディカルビュー社、編集：門脇孝、小室一成、宮地良樹、pp668-680, 2012.

臼杵憲祐、急性白血病治療時の顆粒球コロニー刺激因子の使い方、最新医学別冊「新

しい診断と治療のABC 36 急性白血病(改訂第2版)」第4章 管理・治療 最新医学社、大阪、p206-216、2012.

森岡健彦、杉元理子、高岡賢輔、伊藤歩、木田理子、半下石明、臼杵憲祐、Imatinib の血中濃度上昇時に間質性肺炎を発症した Ph 陽性急性リンパ性白血病の 1 例、症例ノート、血液フロンティア、2011, 21(12); 1794-1979

臼杵憲祐、MDS に対する支持療法、特集「MDS をめぐる最近の進歩—治癒を目指して」、血液内科、2012, 65(3); 376-382

臼杵憲祐、骨髄不全症に対する G-CSF の適応と至適投与、EBM 血液疾患の治療 2013-2014、金倉讓、木崎昌弘、鈴木律朗、神田善伸編集、中外医学社、東京、2012、p474-483.

臼杵憲祐、再生不良性貧血の重症度別治療方針、第 74 回日本血液学会学術集会 教育講演 EL-3 BMF-3 骨髄不全症候群、臨床血液 2012, 53(10) ; 1500-1508

森岡健彦、半下石明、猪原千春、齋賀真言、木田理子、臼杵憲祐、骨髄異形成症候群のアザシチジン治療における奏効因子の解析、老年者造血器疾患研究会会誌、2012, 21; 34-36.

臼杵憲祐、MDS に対する支持療法、血液内科、2012, 65 (3) ; 376-382.

臼杵憲祐、妊娠と再生不良性貧血、血液内科、2012, 65(6); 754-758.

臼杵憲祐、千葉滋、宮崎泰司、鈴木隆浩、座談会：骨髄異形成症候群診療の現状と展望、Trends in Hematological Malignancies、2012, 4(3); 132-139.

臼杵憲祐、異食症、In: 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ「血液症候群 第2版—



その他の血液疾患を含めて一 I 巻」、日本臨床、東京、2013、pp130-133

臼杵憲祐、Plummer-Vinson 症候群、In: 別冊日本臨床 新領域別症候群シリーズ「血液症候群 第2版—その他の血液疾患を含めて一 I 巻」、日本臨床、東京、2013、pp127-129

臼杵憲祐、高齢者における慢性骨髄性白血病の病態と治療、Geriatric Medicine 老年医学、2013、51;165-169

宮本鋼、小林一彦、臼杵憲祐、田近賢二、宮腰重三郎、高齢者血液疾患診療の問題点 Geriatric Medicine 老年医学、2013、51;193-203

臼杵憲祐、ビタミン B12, in 臨床検査ガイド 2013-2014、Medical Practice 編集委員会、文光堂、東京、p291-293, 2013.

## 2. 学会発表

高岡賢輔、半下石明、伊藤歩、森岡健彦、木田理子、臼杵憲祐、アザシチジン単回投与で3ヶ月後に血球が正常化した骨髄異形成症候群の1例、第167日本血液学会例会、平成24年3月3日、東京、東京医科歯科大学。

伊藤歩、半下石明、高岡賢輔、森岡健彦、木田理子、臼杵憲祐、急性骨髄性白血病に移行した著明な末梢血赤芽球増加症の症例、A case of peripheral erythroblastosis followed with acute myeloid leukemia. 平成24年第34回日本造血細胞移植学会総会、大阪2012年2月24-25日

Takehiko Morioka, Akira Hangaishi, Kensuke Takaoka, Ayumu Ito, Michiko Kida, Kensuke Usuki

Factor associated with treatment response to 5-azacitidine in patients with myelodysplastic syndromes. The 3rd JSH International Symposium 2012 in Kawagoe, May 26-27, 2012

森岡健彦、半下石明、猪原千春、齋賀真言、木田理子、臼杵憲祐、骨髄異形成症候群のアザシチジン治療における奏効因子の解析、第45回老年者造血器疾患研究会、平成24年6月9日、新宿住友ビル

齋賀真言、半下石明、猪原千春、森岡健彦、木田理子、臼杵憲祐、齋賀真言、半下石明、猪原千春、森岡健彦、木田理子、臼杵憲祐、第168日本血液学会例会、平成24年7月28日、東京、東京慈恵会医科大学。

水野秀明、半下石明、齋賀真言、猪原千春、森岡健彦、木田理子、臼杵憲祐、LDHが正常値を示した自己免疫性溶血性貧血の2例、第591回日本内科学会関東地方会、平成24年10月13日、東京、日内科会館

Akira Hangaishi, Maokoto Saika, Takehiko Morioka, Michiko Kida, Kensuke Usuki. Analysis of NT-proBNP in PNH patients : A single-institution study. 第74回日本血液学会学術集会、平成24年10月19-21日、京都

川端浩、石川隆之、松田晃、通山薫、在家裕司、波多智子、鈴木隆浩、荒関かやの、臼杵憲祐、小沢敬也、黒川峰夫、高折晃史、再生不良性貧血と骨髄異形成症候群との鑑別が困難な特発性血球減少症の臨床像、第74回日本血液学会学術集会、平成24年10月19-21日、京都

Masamitsu Yanada, Saiko Kurosawa, Takahiro Yamaguchi, Naoyuki Uchida, Shuici Miyawaki, Heiwa Kanamori, Kensuke Usuki, Takeshi Kobayashi, Masato Watanabe, Nobuhiko Emi, Ikuo Miura, Takahiro Fukuda. Effect of related donor availability on outcome of AML in the context of related and unrelated HCT. 第74回日本血液学会学術集会、平成24年10月19-21日、京都

Hideyoshi Noji, Kensuke Usuki, Mikiko Otsuka, Hajime Horiuchi, Toshiyuki Yamamoto, Hiroshi, Takahashi, Yasuchika Takeishi, Tsutomu

Shichishima. Erythema annulare centrifugum in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria.

第 74 回日本血液学会学術集会、平成 24 年 10 月 19-21 日、京都

Takahiro Todoroki, Yamacuchi Hiroki, Kensuke Usuki, Kenji Tajika, Seiji Gomi, Ikuko Omori, Yuko Sato, Kunihito Arai, Tomoaki Kitano, Yoshio Mitamura, Fumiko Kosaka, Takeshi Ryotokuji, Tsuneaki Jirakawa, Satoshi Wakita, Koiti Inokuchi, Kazuo Dan. The clinical features and prognostic impact of de novo acute myeloid leukemia with MLL-PLD. 第 74 回日本血液学会学術集会、平成 24 年 10 月 19-21 日、京都

Yuko Sato, Hiroki Yamaguchi, Kensuke Usuki, Kenji Tajika, Seiji Gomi, Ikuko Omori, Takahiro Todoroki, Kunihito Arai, Tomoaki Kitano, Yoshio Mitamura, Fumiko Kosaka, Takeshi Ryotokuji, Tsuneaki Hirakawa, Satoshi Wakita, Koiti Inokuchi, Kazuo Dan. The clinical features and prognostic impact of de novo acute myeloid leukemia with RAS mutation. 第 74 回日本血液学会学術集会、平成 24 年 10 月 19-21 日、京都

齊賀真言、半下石明、森岡健彦、木田理子、白杵憲祐低リスク MDS 患者における血清エリスロポエチン濃度の検討、第 74 回日本血液学会学術集会、平成 24 年 10 月 19-21 日、京都

Misato Kikuchi, Hideki Nakasone, Kana Sakamoto, Koji Kawamura, Yuko Ishihara, Masahiro Ashizawa, Tomohito Machishima, Shun-ichi Kimura, Shinichi Kako, Junji Nishida, Michiko Kida, Akira Hangaishi, Kensuke Usuki, Naohiro Sekiguchi, Satoshi Noto, Yoshinobu Kanda. Reduced dose (2/3) R-CHOP chemotherapy for elderly patients with non-Hodgkin lymphoma. 第 74 回日本血液学会学術集会、平成 24 年 10 月 19-21 日、京都

Mashiro Okabe, Hiroki Yamaguchi, Kensuke Usuki, Yutaka Kobayashi, Jyunya Kuroda, Shinya Kimura, Kenji Tajika, Seiji Gomi, Ikuko

Omori, Yuko Sato, Takahiro Todoroki, Kunihito Arai, Tomoaki Kitano, Yoshio Mitamura, Fumiko Kosaka, Koiti Inokuchi, Kazuo Dan. Analysis of JAK2/MPL mutations and clinical features among Myeloproliferative Neoplasms in Japan. 第 74 回日本血液学会学術集会、平成 24 年 10 月 19-21 日、京都

白杵憲祐、教育講演 骨髓不全症候群 再生不良性貧血の重症度別治療方針、第 74 回日本血液学会学術集会、平成 24 年 10 月 19-21 日、京都

Nichiko Kida, Takehiko Morioka, Akira Hangaishi, Kensuke Usuki, CMV reactivation following rabbit ATG treatment in patients with severe aplastic anemia. 第 74 回日本血液学会学術集会、平成 24 年 10 月 19-21 日、京都

Makoto Saika, Michiko Kida, Kensuke Usuki. Factors associated with treatment response to 5-Azacitidine with myelodysplastic syndromes. Takeniko Morioka, Akira Hangaishi, Chiharu Ihara, 第 74 回日本血液学会学術集会、平成 24 年 10 月 19-21 日、京都

Sumiko Kobayashi, Jin Takeuchi, Yasunori Ueda, Mineo Kurokawa, Hideto Tamura, Kiyoyuki Ogata, Kazuo Dam, Hirohiko Shibayama, Rika Kihara, Nobuhiko Emi, Toshiko Motoji, Koh Sasaki, Kensuke Usuki, Hiroyasu Ogawa, Toru Sakura, Kazuma Ohyashiki, Keiya Ozawa, Kiyotoshi Imai, Yasushi Miyazaki, Yasuyoshi Morita, Akira Matsuda, Kaoru Tohyama, Keiji Kakumoto, Daisuke Koga, Hiroya Tamaki, Kinuko Mitani, Tomoki Naoe, Haruo Sugiyama, Fumimaro Takaku. The usefulness of WT1 mRNA expression levels as a monitoring marker of MDS progression. 第 74 回日本血液学会学術集会、平成 24 年 10 月 19-21 日、京都

Takeshi Ryotokuji, Hiroki Yamaguchi, Kenauke Usuki, Kenji Tajika, Seiji Gomi, Ikuko Omori, Yuko Sato, Takahiro Todoroki, Kunihito Arai, Tomoaki Kitano, Yoshi Mitamura, Fumiko Kosaka, Tsuneaki Hirakawa, Satoshi Wakita,

Koichi Inokuchi, Kazuo Dan. The clinical features of DNMT3A gene mutation in Japanese patients with de novo AML. 第74回日本血液学会学術集会、平成24年10月19-21日、京都

Kensuke Usuki, Nozomi Yusa, Akira Hangaishi, Rieko Sekine, Kenshi Suzuki, Shinya Kimura, Arinobu Tojo Sustained Molecular Response with Maintenance Dose of Interferon Alfa after Imatinib Discontinuation in Patients with Chronic Myeloid Leukemia. The 54th Annual Meeting American Society of Hematology, 2012年12月8-11日、Atlanta, USA

木田理子、齋賀真言、森岡健彦、猪原千春、半下石明、白杵憲祐、当科における成人重症再生不良性貧血に対する造血幹細胞移植、Hematopoietic cell transplantation for adult severe aplastic anemia in our hospital、第53回日本造血細胞移植学会総会、2013年3月7日-9日、金沢

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし

家族性血小板異常症に関する調査研究

研究分担者：高橋強志（三井記念病院血液内科・部長）

研究要旨 2012年に三井記念病院において血小板減少の診断がついた新患および再来患者において家族歴を調査した。家族性血小板異常症が疑われる家系を見出すことはできなかった。

A. 研究目的

家族性の血小板異常症は、常染色体優性遺伝の形式をとり、高率に骨髄異形成症候群や白血病の発症を伴うことが知られている。1999年に、RUNX1 遺伝子の変異が原因として報告され、その後日本も含め世界中で約 20 家系の報告がなされている。しかし、その臨床病態、発症頻度などまだ不明な点が多く、診断基準も定まっていない。本研究班においては、この家族性血小板異常症に関する調査研究を行い、その実態を明らかにしていく。

B. 研究方法

2012年1月から12月までの、三井記念病院受診患者（新患、再来）において、血小板減少症の患者について評価した。得られた患者について紙カルテ、電子カルテ、検査データにて病態を評価し、二次性の血小板減少症でない患者を抽出し、血小板減少症や骨髄異形成症候群、白血病の家族歴について評価を行った。血小板減少や骨髄異形成症候群、白血病の家族歴が確認できた患者は頬粘膜および血液検体を東京大学へ送付し遺伝子変異を検索した。

（倫理面への配慮）

当院での倫理委員会の承認のもと、検体提供患者に対し説明書・同意書を用いて説明し、同意を得た。

C. 研究結果

2012年、血液内科は105名の新患、および3544名の再来患者数であった。このうち薬剤性、膠原病、がんの骨髄転移、脾機能亢進症、再生不良性貧血を除いた患者で、血小板減少症あるいは急性白血病の家族歴があった症例は2例であった。このうち1例は母親が急性骨髄性白血病であった症例であり、他の1例は祖母が急性骨髄性白血病、叔父が血小板減少症であった。これらより検体を得て東京大学にて検索を行ったが RUNX1 を含む遺伝子異常は認められなかった。

D. 考察

今回、当院での2012年の期間において、家族歴のある2例の性血小板減少症患者において疾患遺伝子変異は見いだせなかった。今後、全ゲノムシーケンスなどによるさらなる解析で、血小板減少を主体とする新たな疾患概念の確立を望む。

E. 結論

当院における2012年の症例検討で家族性血小板異常症症例を同定することはできなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表

無し

2. 学会発表

無し

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

該当無し。

2. 実用新案登録

該当無し

3. その他

該当無し

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患等克服研究事業）  
分担研究報告書

家族性血小板減少症 - 責任遺伝子 Runx1 の変異解析

研究分担者：小松則夫（順天堂大学医学部内科学血液学講座・教授）

研究要旨

T-リンパ芽球性白血病／リンパ腫を発症した常染色体優性遺伝を呈する家族性血小板減少症の症例を経験した。原因遺伝子のひとつである RUNX1 遺伝子の全エキソン領域全てにおいて塩基配列決定したが、遺伝子変異は認められなかった。責任遺伝子として RUNX1 の他に MYH9、FLJ14813 が知られており、これらの遺伝子異常の可能性について追加解析が必要である。

A. 研究目的

家族性血小板減少症は造血発生において重要な機能を果たしている転写因子 RUNX1 の変異により発症するとされる、極めて稀な常染色体優性遺伝性の血小板減少症である。同疾患が疑われる患者試料（N=1）を用いて RUNX1 遺伝子変異解析を行ったので報告する。

症例は 35 歳女性

B. 研究方法

(1) 症例

既往歴：以前より血小板減少を指摘（5 万/ $\mu$ l 前後）

家族歴：父親と弟が血小板減少を指摘されている。

現病歴：平成 23 年 2 月より疼痛を伴わない右頸部リンパ節腫脹を自覚し、4 月より左頸部リンパ節腫脹も認めたことから悪性リンパ腫が疑われ当科外来を受診。同部よりリンパ節生検を施行。TdT、CD2/3/5/7、TCR- $\gamma\delta$  陽性細胞の増殖およびサザンブロット法にて TCR-J $\gamma$  の遺伝子再構成を認めた。また両鎖骨・腋窩・鼠径部リンパ節腫脹および骨髄への腫瘍細胞の浸

潤を認めた。以上の結果から T-リンパ芽球性白血病／リンパ腫（T-LBL）と診断した。Hyper-CVAD/HD-MA 療法を計 4 コース施行し、現在まで寛解を維持している。

(2) 材料

患者由来ゲノム DNA

(3) 方法

RUNX1 遺伝子全エキソン領域を含む 9 項目（1-6、7a、7b および 8）について配列解読を行った。方法は定法に従った。概要は以下の通り：ゲノム DNA（7.5ng/項目）の解析対象領域を増幅するために 9 対のプライマーを用意し、当該領域を PCR 法によって増幅した。得られた増幅産物を精製し（QIAGEN、QIAquick PCR Purification kit）、シーケンス解析を行った（オペロンバイオテクノロジー株式会社）

（倫理面への配慮）

本研究に用いる患者由来の細胞の収集、ゲノム DNA の抽出および遺伝子解析に関しては、順天堂大学医学部の倫理委員会の承認を得てい

る。

### C. 研究結果

RUNX1 遺伝子全エキソン領域全てにおいて、遺伝子変異は認められなかった。

(ABI 波形データ、および FASTA ファイルは別途添付)

### D. 考察

家族性血小板減少症は常染色体優性遺伝形式をとる遺伝性の血小板異常症であり、高率に白血病や骨髄異形成症候群の発症を伴う。本疾患における RUNX1 の変異が 1999 年に発見され、その後散発的に罹患者が報告されているが（これまで全世界で 30 家系程度）、診断基準や発症頻度などは明らかになっていない。RUNX1 変異は複数の機能ドメインにわたって認められており、RUNX1 が成体造血において巨核球の成熟に必須の遺伝子であることから、RUNX1 機能の欠失が発症と関わると考えられている。最近では 2012 年 12 月米国血液学会総会にて、慶應義塾大学中島准教授らのグループが RUNX1 遺伝子変異を持つ家族性血小板異常症家系から iPS 細胞を樹立し、同細胞が血球細胞分化能（特に巨核球への分化）を喪失していることを確認した報告が新しい。

今回解析を行った症例は家族性血小板減少症が疑われたが、RUNX1 遺伝子全エキソン領域において変異は認められなかった。本疾患の原因解明に向けて、以下 3 つの側面から考察する。第一に、RUNX1 mRNA の発現が消失している可能性が考えられる。RUNX1 遺伝子プロモーター/エンハンサー領域の不活性化（変異、エピジェネティック修飾）によって RUNX1 mRNA の発現が抑えられているかもしれない。この場合、RUNX1 mRNA 量を測定することによって検証できる。第二に、RUNX1 シグナルの上流・下流因子、または RUNX1 結合因子の異常によって、RUNX1 シグナル伝達が阻害されている可能性がある。RUNX1 は血小板系列

特異的に発現する PF4 遺伝子のプロモーターに結合し、ETS-1、FLI-1 と協調的に PF4 を活性化する。RUNX1 の他に巨核球の分化・成熟に関与する転写因子として、GATA1、FN-E2、Fli-1 が知られている。中でも GATA1 は巨核球分化に重要であり、白血病関連疾患において遺伝子変異が認められる頻度が高い。これらの経路上の遺伝子が機能を欠損しているかもしれない。第三に、RUNX1 機能欠損以外の発症メカニズムが存在する可能性がある。常染色体優性遺伝の家族性血小板減少症における責任遺伝子として MYH9、FLJ14813 が知られており、同遺伝子の異常が疑われる。もしこれらの遺伝子にも異常が認められなければ、全エキソーム解析、遺伝子発現プロファイル解析、miRNA 解析によって真の原因を追究しなければならない。全エキソーム解析によって、新たな原因遺伝子が見出される可能性がある。患者と健常者の骨髄細胞の遺伝子発現プロファイルを比較することによって、mRNA 発現が消失している遺伝子を見出すことができるかもしれない。これらを踏まえ、追加解析が必要であると考えられる。

### E. 結論

T-リンパ芽球性白血病／リンパ腫を発症した常染色体優性遺伝を呈する家族性血小板減少症の症例を経験した。原因遺伝子のひとつである RUNX1 遺伝子の全エキソン領域全てにおいて塩基配列決定したが、遺伝子変異は認められなかった。

### F. 研究発表

1. 論文発表  
なし
2. 学会発表  
なし

### G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得  
該当なし

2. 実用新案登録  
該当なし

3. その他  
該当なし



## RUNX1 点変異を有する家族性血小板異常症 FPD からの白血病化機序の解明

研究分担者：原田 浩徳（広島大学原爆放射線医科学研究所血液・腫瘍内科 講師）

### 研究要旨

FPD/AML の責任遺伝子異常である *RUNX1* 変異は、先天的な片アレル変異だけでは MDS/AML 発症には至らず、数十年を要する。この間に生じる付加的遺伝子異常の 1 つとして *BMI1* 高発現を同定し、*ARF/INK4A* 発現抑制機序を介して白血病化に至ることを解明した。

### A. 研究目的

*RUNX1* 点突然変異は、高率に白血病に移行する家族性血小板異常症 FPD/AML の責任遺伝子として同定され、AML の最未分化型 M0、de novo MDS や放射線・治療関連の MDS および AML など、様々な骨髄系造血器腫瘍に認められることが明らかになっている。しかし FPD/AML 患者では、全ての血球が先天的に *RUNX1* 点変異を有しているにもかかわらず、MDS/AML 発症は成年以降であることが多いことから、白血病化には他の遺伝子異常の積み重ねが必要と考えられる。そこで、*RUNX1* 変異による骨髄系造血腫瘍の発症メカニズムを明らかにするため、*RUNX1* 変異体導入ヒト造血幹細胞およびマウスモデルの解析を行った。

### B. 研究方法

FPD/AML を含む様々な骨髄系造血器腫瘍患者から得られた検体を用い、*RUNX1* 変異や各種遺伝子発現を解析した。レトロウイルスベクターを用いて *RUNX1* 変異体をヒト臍帯血由来 CD34 陽性細胞に組み込み、

単独あるいは *BMI1* との共発現による生物学的影響を検討した。またマウス BMT モデルを用いて生体内での影響を解析した。

### （倫理面への配慮）

広島大学医学部倫理委員会承認済みであり、同委員会の定めるヒトゲノム遺伝子解析研究の指針に従って実施した。検体提供者にはインフォームドコンセントを行い、個人情報保護のため個々の試料情報は連結可能匿名化とした。動物実験は研究協力機関において承認を得た上で、指針に従って実施した。

### C. 研究結果

*RUNX1* 変異体 D171N をヒト CD34 陽性細胞に導入すると、分化が阻害されて自己再生能が亢進し、腫瘍細胞様となるが、増殖能を欠いており、G1 arrest の状態であった。*RUNX1* 変異患者では *BMI1* が高発現であることから、両者を共発現させると、増殖能の亢進が認められた。マウス BMT モデルでは、D171N 変異体と *BMI1* 高発現の

協調により白血病発症が確認できた。RUNX1 変異と BMI1 高発現を併せ持つ患者およびマウスモデルでは、*ARF/INK4A* の発現低下が認められ、さらに BMI1 ノックダウンにより増殖能の低下が認められた。しかし、RUNX1 変異と BMI1 高発現を併せ持つ細胞を NOG マウスに導入しても生着しなかった。

#### D. 考察

RUNX1 変異体は造血幹細胞の分化を阻害する作用を有しているが、片アレルの *RUNX1* 変異だけでは MDS/AML を発症しないことから、エピジェネティックな機序による変異体発現の抑制や付加的遺伝子異常の必要性が想定される。RAS 経路などの付加遺伝子異常などにより *BMI1* が高発現となることが、MDS/AML 発症機序の一つと考えられ、*BMI1* 高発現による増殖能亢進機序が明らかになった。しかし、NOG マウスには生着しなかったことから、生体内での白血病化にはさらに付加的因子が必要と考えられた。

#### E. 結論

RUNX1 変異と BMI1 の協調により MDS/AML を発症することを示した。これは *RUNX1* 変異を有する FPD 患者が白血病化する機序の一つと考えられる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- Harada H, Harada Y: Molecular mechanisms that produce radiation-induced or therapy-related MDS/AML by RUNX1/AML1 point mutations. A New Challenge of Radiation Health Risk Management. Nakashima M,

Takamura N, Suzuki K, Yamashita S eds. Nagasaki Newspaper Publish pp151-160, 2012.

- Matsuda A, Taniwaki M, Jinnai I, Harada H, Watanabe M, Suzuki K, Yanagita S, Suzuki T, Yoshida Y, Kimura A, Tsudo M, Tohyama K, Takatoku M, Ozawa K: Morphologic analysis in myelodysplastic syndromes with del(5q) treated with lenalidomide. A Japanese multiinstitutional study. *Leuk Res.* 36(5):575-580,2012.

- Oki T, Kitaura J, Watanabe-Okochi N, Nishimura K, Maehara A, Uchida T, Komeno Y, Nakahara F, Harada Y, Sonoki T, Harada H, Kitamura T: Aberrant expression of RasGRP1 cooperates with gain-of-function NOTCH1 mutations in T-cell leukemogenesis. *Leukemia* 26(5):1038-1045,2012.

- Nitta H, Harada Y, Hyodo H, Kimura A, Harada H: Expansion of CD8<sup>+</sup>/perforin<sup>+</sup> T-cells predicts response to ciclosporin A therapy in patients with erythroid hypoplasia/aplasia. *Br J Haematol* 157(5):641-645,2012.

- Imagawa J, Tanaka H, Matsumoto K, Morita K, Harada Y, Harada H: A sharp fluctuation in peripheral blood cells shortly after dasatinib administration. *Int J Hematol* 96(2):194-199,2012.

- Harada Y, Inoue D, Ding Y, Imagawa J, Doki N, Matsui H, Yahata T, Matsushita H, Ando K, Sashida G, Iwama A, Kitamura T, Harada H: RUNX1/AML1 mutant collaborates with BMI1 overexpression in the development of

human and murine myelodysplastic syndromes. Blood (in press), 2013.

syndromes (MDS) / acute myeloid leukemia (AML) in a mouse BMT model. The 54th ASH Annual Meeting and Exposition, 2012.12.8-11, Atlanta, GA, USA

## 2. 学会発表

● Harada H, Harada Y: Molecular mechanisms of myelodysplastic syndromes by RUNX1/AML1 mutations. The 3rd JSH International Symposium 2012 in Kawagoe, 2012.5.26-27, Kawagoe, Japan

● 原田浩徳：放射線関連MDS・白血病の発症機序におけるRUNX1/AML1変異の役割「放射線障害と血液疾患」。第52回日本リンパ網内系学会総会，2012.6.14-16，福島

●Harada H, Harada Y, Inoue D, Kitamura T: RUNX1/AML1 mutants collaborate with BMI1 in the development of myelodysplastic syndromes. ISEH 41st Annual Scientific Meeting, 2012.8.23-26, Amsterdam, Netherland

●Harada H, Harada Y, Inoue D, Kitamura T: RUNX1/AML1 mutants collaborate with BMI1 in the development of myelodysplastic syndromes. The 71st Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 2012.9.19-21, Sapporo, Japan

●Harada H, Inoue D, Ding Y, Imagawa J, Harada Y, Kitamura T: RUNX1/AML1 mutants collaborate with BMI1 in the development of myelodysplastic syndromes. The 74th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, 2012.10.19-21, Kyoto, Japan

●Harada H, Inoue D, Doki N, Ding Y, Harada Y, Kitamura T: RUNX1/AML1 mutants collaborate with BMI1 in the development of myelodysplastic

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

平成 24 年度厚生労働省科学研究費補助金(難治性克服疾患研究事業)  
分担研究報告書

家族性血小板異常症に関する調査研究

研究分担者: 齋藤明子 独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター  
臨床研究企画部 臨床疫学研究室 室長

研究要旨

家族性血小板異常症(familial platelet disorder, FPD)は血小板減少と出血傾向を伴い、高率に白血病に移行する難治性遺伝性疾患である。希少疾患で診断基準も存在せず、認知度も低かったことから、これまでその実態(頻度、病態、経過、予後など)は明らかにされてこなかった。一方で、1999 年に白血病関連遺伝子 RUNX1(AML1)の変異がこの疾患家系において報告され、白血病においても RUNX1 の変異が高頻度に見られることから、当該疾患の頻度は予想より高い可能性が指摘されている。本調査研究の目的は、疾患の発生数の把握と、その家族歴も含めた患者背景、臨床経過の推移(短期的・長期的)などの疫学的な実態把握に加え、RUNX1 の点突然変異や微小染色体欠失を始めとする遺伝子変異の検索を行うなど遺伝子診断の意義と、その生物学的機能を明らかにすることである。当研究室は、このような希少疾患による疾患の発生動向を確認する為の疫学的調査の方法論、データ管理方法論についての研究を担当している。

A. 研究目的

家族性血小板異常症 (familial platelet disorder, FPD)は血小板減少と出血傾向を伴い、患者の生活の質を著しく低下させるのみならず、高率に白血病を発症することにより、生命予後にも重大な影響を与える難治性遺伝性疾患である。希少疾患であり、診断基準が存在せず、認知度も低かったことから、これまでその実態(頻度、病態、経過、予後)などが全く不明であった。1999 年に白血病関連遺伝子 RUNX1(AML1)の変異がこの疾患家系において報告され、病因につながる事が示唆された。さらに、当該研究グループ 研、診断基準の提唱に役立つと考えられる。更に、これらの知見を基に、標準的治療法確立や予後解明を目的とした各種研究計画の立

究代表者施設より、RUNX1 の機能欠失がマウスにおいて巨核球の成熟障害による血小板減少をもたらすことが報告され、遺伝子変異が哺乳類で直接 FPD の病態と関与することが示された。その後少数ではあるが、徐々に報告数も増えてきている。RUNX1 の変異が白血病において高頻度に見られることから、この疾患の頻度は予想より高い可能性がある。当調査研究に基づく全国の網羅的な調査により、より正確な有病率を把握すること、及び臨床的・基礎的な検討を行い、遺伝子診断の意義や、生物学的機能の解明など試みる。このようにして得られた知見により案へ繋げられれば、将来の患者の生命予後の改善が期待でき、社会的貢献を果たすと考えられる。