

- Sakamoto T, Obara N, Kurita N, Sakata-Yanagimoto M, Nishikii H, Yokoyama Y, Suzukawa K, Hasegawa Y, Chiba S. Effectiveness and safety of rabbit anti-thymocyte globulin in Japanese patients with aplastic anemia. *Int J Hematol.* 2013; 98(319-322)
 - Sakamoto K, Nakasone H, Tsurumi S, Sasaki K, Mitani K, Kida M, Hangaishi A, Usuki K, Kobayashi A, Sato K, Karasawa-Yamaguchi M, Izutsu K, Okoshi Y, Chiba S, Kanda Y. Prednisone versus high-dose dexamethasone for untreated primary immune thrombocytopenia. A retrospective study of the Japan Hematology & Oncology Clinical Study Group. *J Thromb Thrombolysis.* 2013; [Epub ahead of print]
 - Kon A, Shih LY, Minamino M, Sanada M, Shiraishi Y, Nagata Y, Yoshida K, Okuno Y, Bando M, Nakato R, Ishikawa S, Sato-Otsubo A, Nagae G, Nishimoto A, Haferlach C, Nowak D, Sato Y, Alpermann T, Nagasaki M, Shimamura T, Tanaka H, Chiba K, Yamamoto R, Yamaguchi T, Otsu M, Obara N, Sakata-Yanagimoto M, Nakamaki T, Ishiyama K, Nolte F, Hofmann WK, Miyawaki S, Chiba S, Mori H, Nakauchi H, Koefler HP, Aburatani H, Haferlach T, Shirahige K, Miyano S, Ogawa S. Recurrent mutations in multiple components of the cohesin complex in myeloid neoplasms. *Nat Genet.* 2013; 45(1232-1237)
 - 山本正樹, 西村純一, 細川晃平, 杉盛千春, 米村雄士, 小原直, 中村嘉彦, 野地秀義, 七島勉, 安藤潔, 二宮治彦, 千葉滋, 川口辰哉, 中尾眞二, 金倉謙. OPTIMA 試験 高精度フローサイトメトリー法による GPI アンカー膜蛋白欠損血球の検出. *Cytometry Research.* 2013 ; 23(23-28)
 - 坂田(柳元)麻実子, 千葉滋. 造血器腫瘍におけるシトシンのヒドロキシメチル化修飾異常. *臨床血液.* 2013 ; 54(423-430)
 - 千葉滋. 骨髄異形成症候群のゲノム異常と病態. *臨床血液.* 2013 ; 54(1687-1696)
2. 学会発表
- Hidekazu Nishikii, Kenji Matsushita, Yosuke Kanazawa, Terumasa Umemoto, Yu Matsuzaki, Takayasu Kato, Mamiko Sakata-Yanagimoto, Masayuki Yamato, Shigeru Chiba. TPO/cMpl-dependent differentiation pathway for megakaryocytes at the proximity of hematopoietic stem cells. The 11th Stem Cell Research Symposium, 2013/5/17-18, Tokyo
 - Ayana Kon, Masashi Sanada, Masashi Minamino, Masashige Bando, Ryuichiro Nakato, Aiko Sato-Otsubo, Yuichi Shiraishi, Kenichi Yoshida, Yasunobu Nagata, Ryo Yamamoto, Tomoyuki Yamaguchi, Makoto Otsu, H. Phillip Koefler, Lee-Yung Shih, Shigeru Chiba, Torsten Haferlach, Satoru Miyano, Hiromitsu Nakauchi, Katsuhiko Shirahige, Seishi Ogawa. Functional Analysis of Cohesin Mutations in Myeloid Neoplasms. 18th Congress of EHA, 2013/6/13-16, Stockholm, Sweden
 - Shigeru Chiba. Hematopoietic stem cells and megakaryopoiesis - how close, how distant? 9th Annual Meeting of Korean Society for Stem Cell Research, 2013/8/29-30, Seoul, Korea
 - 千葉滋. 骨髄異形成症候群のゲノム異常と病態. 第75回日本血液学会学術集会, 2013/10/11-13, 札幌
- 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

PNH 造血障害の分子病態の解明～NKG2D 免疫の意義の確立～

研究協力者：中熊秀喜（和歌山県立医科大学血液内科・教授）

研究要旨

PNH 患者の主死因である造血障害の発生に免疫機序の関与が想定されている。我々は特発性造血障害を共有する PNH および再生不良性貧血の患者の一部に ULBP や MICA/B などの NKG2D リガンドが血球膜に病的発現することを報告してきた。これらの血球は *in vitro* で自己リンパ球による傷害を受けることから、この NKG2D 免疫と特発性造血障害との関連を追究している。これらのリガンドは造血障害患者の血球膜発現に加えて血中増加も認められる。そこで本研究で多症例における血中増加の確認と免疫調節の可能性を求めて *in vitro* でのリンパ球膜 NKG2D 発現抑制効果を検討した。

A. 研究目的

日本に比較的多い特発性造血障害は厚生労働省指定の血液難病の再生不良性貧血 (AA) に加えて、骨髄異形成症候群 (MDS) や PNH の患者でも共通に見られる。我々は PNH 患者の造血障害の発生機序を追究し NKG2D 免疫の関与を提唱している。本研究はこの免疫を誘発する NKG2D リガンドの血球膜および血中における病的発現を解析して造血障害との関連を裏付け、早期診断や新しい治療法の開発につなげることを目的とする。

B. 研究方法

PNH と AA と MDS など特発性造血障害を呈する骨髄不全症候群 (BFS) 患者の随時採血による血球膜および血中の NKG2D リガンド (特に MICA) の発現を、それぞれフローサイトメトリーと ELISA で測定するとともに、遊離リガンドによるリンパ球膜 NKG2D 受容体発現への影響を *in vitro* で調べた。

(倫理面への配慮) 本研究は学内倫理審査委員会の承認および参加者の同意 (インフォームドコンセント) を得て実施した。

C. 研究結果

これまで PNH 14 例、AA 39 例、MDS (RA) 14 例の合計 67 例の解析を試みた。MICA の血球膜発現 (赤○) はそれぞれにおいて 7、17、3 例 (全体で、

40%) に検出され、健常人 16 例にはなかった。また血中遊離体 (顆粒球数補正、血小板数補正でも同様の傾向) はそれぞれ 11、17、7 例 (全体で、52%) において健常人より多く検出された (図 1)。興味あることに、これらの血中 MICA 増加症例ではそうでない症例に比較して血小板が有意に多い傾向が認められ、血中 MICA 増加と造血障害との間に負の関係が示唆された (図 2)。予備実験の *in vitro* 共培養では可溶性 MICA によりリンパ球膜 NKG2D 受容体発現が抑制され、図 2 の所見を支持していた。

図 1

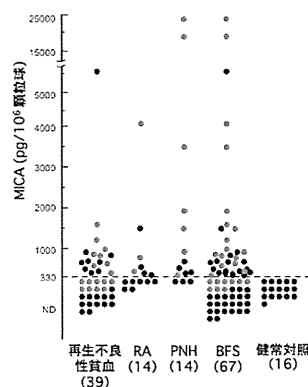
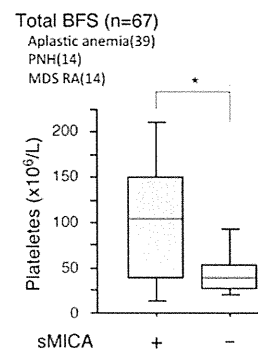


図 2



D. 考察

MICA (NKG2D リガンド) の血球膜発現は健常人にな

く特発性造血障害患者のみに検出され、これらの病的発現血球が自己リンパ球による傷害をうけるという既報告 (Hanaoka, *Blood* 2006) を考慮すると、NKG2D 免疫の造血障害への関与を支持する。また、血中遊離体の病的増加、その増加と血小板数との相関、そして予備実験ながら *in vitro* での可溶性リガンドによる NKG2D 発現抑制効果などは NKG2D 免疫と造血障害との関係を支持し、かつその調節による新しい造血障害治療法の開発を予測させる。しかし、この研究は症例数が十分でなく、また随時採血試料のみの解析であり、病期や治療に伴う造血障害の程度との相関を見ておらず、病初期や診断時などの無治療時、そして前方視的治療経過解析などを要する。また血球膜発現と血中発現亢進の関連も調べる必要がある。さらに治療法の開発を考えると *in vivo* での NKG2D 免疫調節も確かめる必要がある。

E. 結論

NKG2D 免疫の特発性造血障害への関与が支持され、また NKG2D リガンドによる造血障害免疫の調節の可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表
「該当なし」
2. 学会発表
「該当なし」

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」

鉄芽球性貧血の発症機序と治療法に関する研究

研究協力者 氏名 張替秀郎（所属 東北大学大学院医学系研究科 役職 教授）

研究要旨

今回、日本における鉄芽球性貧血の病態を明らかにする目的で、遺伝子解析を行った。その結果、遺伝性鉄芽球性貧血では、赤血球系細胞におけるヘム合成系の初発遺伝子である *ALAS2* 遺伝子の変異が最も多く認められた。細胞実験において、本疾患に対する新たな治療法として ALA の投与が有効である可能性が示唆された。

A. 研究目的

鉄芽球性貧血の発症機序を明らかにし、新たな治療法を開発する。

B. 研究方法

遺伝子解析研究について所属施設の倫理委員会の承認を得る。主治医に患者本人もしくは保護者への説明・同意の取得がなされた上で、遺伝子解析を行う。

C. 研究結果

遺伝性鉄芽球性貧血では、19 例中 8 例で *ALAS2* 遺伝子の変異が認められた。*ALAS2* 遺伝子以外の既知の鉄芽球性貧血の原因遺伝子の変異はこのほかには認められなかった。*ALAS2* が合成する ALA を赤血球細胞株に投与したところ、ミトコンドリアフェリチンの低下、ヘモグロビン合成の促進が認められた。

D. 考察

これまでの報告通り、本邦においても遺伝性鉄芽球性貧血では *ALAS2* 遺伝子変異が高頻度で認められることが明らかとなった。In vitro で示された

本疾患に対する ALA の有効性については今後 in vivo で確認する必要がある。

E. 結論

ALAS2 変異による鉄芽球性貧血には ALA が有効である可能性が示唆される。

F. 研究発表

1. 論文発表

Fujiwara T, Harigae H. Pathophysiology and genetic mutations in congenital sideroblastic anemia. *Pediatr Int. in press*

2. 学会発表

Effect of 5-aminolevulinic acid (ALA) on erythroid cells.

岡本浩二、他 第75回 日本血液学会総会

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

不応性貧血における細胞形態学的異形成の系統と血球減少の系統との関係についての検討

研究協力者：松田 晃（埼玉医科大学国際医療センター造血器腫瘍科・教授）

研究要旨

5q-症候群を除く FAB 分類の Refractory anemia 100 例を対象とし、細胞形態学的異形成の系統と血球減少の系統との関係を検討した。好中球数は DysG10%以上の症例と DysG10%未満の症例に有意差を認めなかった ($p=0.83$)。血小板数は、DysMgk10%以上の症例が DysMgk10%未満の症例よりも高い傾向 ($p=0.08$) にあり、DysMgk40%以上の症例は DysMgk40%未満の症例よりも有意に高値であった ($p=0.02$)。微小巨核球 (mMgk) 10%以上の症例は mMgk10%未満の症例よりも有意に血小板数が高値であった ($p=0.004$)。赤芽球系では、全例に DysE10%以上を認めた。血球減少の系統と形態学的異形成の系統とは一致しなかった。

A. 研究目的

骨髄異形成症候群 (MDS) の WHO 分類ブルーブックの Refractory cytopenia with unilineage dysplasia の章には、「多くの場合、“赤芽球の異形成と貧血”といった様に形態異常を示す系統と血球減少の系統とが一致する」と記載されている。しかし、5q-症候群では巨核球に明瞭な形態異常があるが、血小板数の低下は通常はない。最近、異形成を認める系統と血球減少の系統に明瞭な関係はないと報告された。しかし、その報告では芽球増多例も含まれているため、異形成と血球減少の関係を検討するには適していない。そこで、5q-症候群を除く FAB 分類の Refractory anemia (FAB-RA) に限定して血球形態異常と血球減少との関係を検討した。

B. 研究方法

日独共同研究で作成され、固定化された既報の data set (Leukemia 2007) を用いた。未治療原発性 FAB-RA から、WHO 分類の 5q-症候群例、異形成評価が不能であった fibrosis 例を除外した 100 例を対象とした。

異形成の評価は、WHO 分類第 3 版を用いて行った。巨核球数 25 個、赤芽球 200 個、好中球 200 個を検鏡し、10%以上を異形成ありとした。dys Mgk は 40% の閾値でも評価した。各血球減少の定義は IPSS の定義である $Hb < 10g/dL$, $ANC < 1,800/\mu L$, $Plt < 10万/\mu L$ とした。血球形態異常と各血球数などの情報を data set より抽出し検討した。

(倫理面への配慮)

埼玉医科大学国際医療センターの IRB の承認を受けている。匿名化を行っている。

C. 研究結果

1. 異形成の系統と血球数との関係

a. 赤芽球系

赤芽球系では、全例に DysE10%以上を認めた。

b. 顆粒球系

顆粒球系では、染色不良例 (特に顆粒の観察不能) を除く 96 例で DysG を検討した。好中球数は DysG10%以上群 (17 例、中央値 1394 (492-6201)) と DysG10%未満群 (79 例、中央値 1397 (260-4708)) に有意差を

認めなかった($p=0.83$)。また、両群で好中球減少の定義を満たすのはそれぞれ 13 例 (76.5%)、48 例 (60.8%) で、両群に有意差を認めなかった($p=0.22$)。Pelger 核異常は評価不能例 1 例を除く 99 例で検討可能であった。好中球数は Pelger10% 以上群 (12 例、中央値 1364 (492-6201)) と Pelger10%未満群 (87 例、中央値 1397 (260-4708)) とで有意差を認めなかった($p=0.86$)。また、両群で好中球減少を呈していたのはそれぞれ 9 例 (75.5%)、55 例 (63.2%) であり、両群に有意差を認めなかった($p=0.42$)。

c. 巨核球系

巨核球系では、評価不能例 (検討 MgK 数が 25 細胞に満たない例)を除く 81 例で検討した。血小板数は、DysMgk10%以上群 (69 例、中央値 48 (8-760)) が DysMgk10%未満群 (12 例、中央値 26 (5-313)) よりも高い傾向にあった($p=0.08$)。両群で血小板減少の定義を満たすのはそれぞれ 51 例 (73.9%)、11 例 (91.7%) で、両群に有意差を認めなかった($p=0.18$)。40%の閾値での検討では、DysMgk40%以上群 (38 例、中央値 70 (15-760)) が DysMgk40%未満群 (43 例、中央値 36 (5-343)) よりも血小板数が有意に高値であった($p=0.02$)。両群で血小板減少の定義を満たすのはそれぞれ 26 例 (68.4%)、36 例 (83.7%) で、DysMgk40%以上群で高率の傾向があった($p=0.10$)。また、mMgk10%以上の症例は 12 例存在したが、全例が DysMgk40%以上の症例であった。mMgk10%以上群 (12 例、中央値 99 (29-760)) が mMgk10%未満群 (88 例、中央値 33 (4-390)) よりも血小板数が有意に高値であった($p=0.004$)。両群で血

小板減少の定義を満たすのはそれぞれ 7 例 (58.3%)、7 例 (84.1%) で、mMgk10%以上群で有意に高率であった($p=0.03$)。

2. 単一血球系血球減少症患者における異形成の系統

単一血球系血球減少症患者において、血球減少と同じ系統に異形成を認めるかを検討した。血球系統が単独に減少した症例は 19 例 (貧血のみ: 4 例、好中球減少のみ: 4 例、血小板減少のみ: 11 例) であった。17 例は 2 系統以上に異形成を示した。2 例は異形成を 1 系統のみに示したが、その系統は血球減少の系統とは異なる系統であった。

2. 単一血球系に異形成を示す患者における血球減少の系統

血球異形成が単独血球系の症例は 11 例で、全例が異形成を赤芽球系に認めた。9 例は 2 系統以上に血球減少を示した。2 例の血球減少は 1 系統のみであったが、貧血ではなく血小板減少であった。

D. 考察

MDS の血球減少は、無効造血によると理解されている。赤芽球系では、全例に DysE10%以上を認めたが、必ずしも貧血は認められなかった。顆粒球系では、異形成と血球減少とが一致しなかった。巨核球の異形成が認められる症例の血小板数は有意に高値であった。今回の結果からは、細胞形態学的異形成は血球減少/無効造血と関連する所見ではないと考えられた。

E. 結論

細胞形態学的異形成が認められる系統と血球減少の系統とは一致しない。

F. 研究発表

1. 論文発表

● Matsuda A, Jinnai I, Iwanaga M, Okamura D, Ishikawa M, Maeda T, Hata T, MD, Kawai N, Miyazaki Y, Bessho M, Tomonaga M. Correlation Between Dysplastic Lineage and Type of Cytopenia in Myelodysplastic Syndromes Patients With Refractory Anemia According to the FAB Classification. *Am J Clin Pathol* 2013;140:253-257

● 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* 2013;54: 1450-1458

2. 学会発表

● 前田智也、松田晃、陣内逸郎、岩永正子、岡村大輔、石川真穂、波多智子、川井信孝、宮崎泰司、別所正美、朝長万

左男. 不応性貧血における血球別異形成と血球減少との相関性についての検討. 第75回日本血液学会学術総会, 平成25年10月11日~13日. 札幌

● 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, 千葉滋, 有馬靖佳, 直川匡晴, 小澤敬也, 黒川峰夫, 高折晃史. : Extremely poor prognosis in mds patients with monosomy-7 or more than 3 chromosomal abnormalities: 第75回日本血液学会学術集会. 平成25年10月11日~13日. 札幌

● 小林隆, 南谷泰仁, 市川幹, 小原尚恵, 小船雅義, 原田浩徳, 米村雄士, 松田晃, 川端浩, 通山薫, 宮崎泰司, 黒川峰夫. : A nationwide survey of hypoplastic myelodysplastic syndrome (a multicenter retrospective study): 第75回日本血液学会学術集会, 平成25年10月11日~13日. 札幌

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。

進行性骨髄異形成症候群の標準的治療法の確立に関する研究

研究協力者 松村 到 (近畿大学血液・膠原病内科 教授)

研究要旨: 本研究は、MDS を根絶するための重要な標的と考えられる MDS 幹細胞を同定し、その特性を解析することを目的とする。本年度は、進行期 MDS 幹細胞を用いて、幹細胞マーカー Bmi1 と既知の AML の予後不良因子 (Evi1, BAALC, MN1, ENG) との発現の相関について、single cell レベルでの解析を行った。その結果、解析した症例間を通して Bmi1 と Evi1 の発現との間に相関を認めたことから、Evi1 はより未分化な MDS 細胞に特徴的な因子であると考えられた。さらに、Evi1 を高発現している MDS 細胞特異的に発現している細胞表面マーカーを複数同定した。

A. 研究目的

本研究は、骨髄異形成症候群 (MDS) を根絶するための重要な標的と考えられる MDS 幹細胞を同定し、その特性を解析することを目的とする。昨年度までに、MDS 幹細胞における single cell レベルでの網羅的遺伝子発現を解析しうる系を確立した。本年度は、本法を用いて生体内に存在する未分化な MDS 細胞の同定を目指し、幹細胞維持に重要な Bmi1 と既知の急性骨髄性白血病 (AML) の予後不良因子群の発現との相関について、AML および進行期 MDS 細胞を用いて解析を行った。

B. 研究方法

1) 患者サンプル

(倫理面への配慮)

本研究で用いる患者細胞については、当科において、サンプル採取前に患者もしくはその家族に本プロジェクトについての説明を行い、口頭、文書の両方で同意を得た後に分離、保存したものをを用いた。

2) 腫瘍幹細胞分画における single cell レベルでの網羅的遺伝子発現解析

AML 患者 2 例 (case1: M1、case2: M2)、MDS 患者 1 例 (case3: MDS overt AML) のヘパリン加骨髄液 1ml よりフィコール重層法にて約 1×10^7 個の単核球を得たのち、FACS Aria にて CD34+CD38-細胞 (腫瘍幹細胞, CSC 分画) を sorting した。個々の細胞から RNA を抽出、cDNA 合成を行い、single cell レベルでの遺伝子発現を定量的 PCR により解析した。

C. 研究結果

1) 幹細胞マーカーと既知の AML の予後不良因子との発現の相関

Bmi1 は、幹細胞が自己複製するために必須の分子で、様々な正常組織幹細胞および CSC で高発現していることが報告されている。そこで、CSC 分画における Bmi1 の発現パターンを single cell レベルで解析すると同時に、AML の予後不良因子として知られる Evi1, BAALC, MN1, ENG の発現パターンを解析し、より未分化な MDS 細胞の同定を試みた。AML 2 症例、MDS overt AML 1 症例、および健常人から得た細胞を対象に、CD34+38-細胞 96 個における各遺伝子の発現を定量 PCR に

て解析した。横軸に解析した 96 細胞、縦軸に各細胞における解析遺伝子の発現強度をプロットし、スピアマンの順位相関係数を算出、相関を検討した。その結果、症例間を通して Bmi1 と Evi1, ERG の発現との間に相関を認めた (Fig.1)。一方、ERG は健康人 CD34+CD38-細胞においても Bmi1 と相関を認めたことから、解析した予後不良因子の中で、Evi1 がより未分化な MDS 細胞に特徴的な因子であると考えられた。

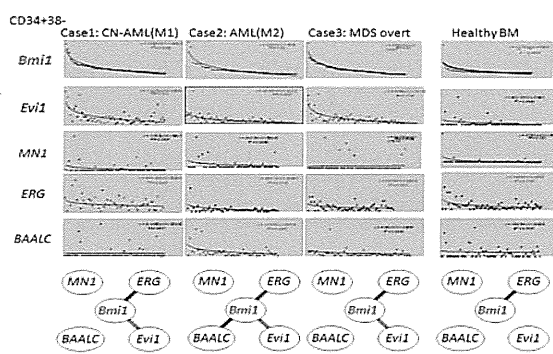


Fig. 1 CSC における Bmi1 と AML 予後不良因子の発現の相関

2) Evi1 高発現 MDS 細胞に特異的な表面抗原の同定

次に、MDS から AML に移行した症例 (case3) を対象に、Evi1 を高発現している細胞、低発現している細胞を用いて個々の細胞における表面抗原の発現を網羅的に解析した。横軸に解析した細胞 (低発現 2 細胞、高発現 3 細胞)、縦軸に各細胞における CD1-350 および、その他の細胞表面マーカー遺伝子の発現強度をマッピング (内在コントロール GAPDH との比で 100 以上の場合に黄色で色づけ) したものを示す (Fig.2)。その結果、細胞表面への蛋白レベルでの発現、および、正常幹細胞における発現に関しての解析は必要ではあるが、Evi1 を高発現している MDS 細胞に特異的に発現している細胞表面マーカーを複数同定した。

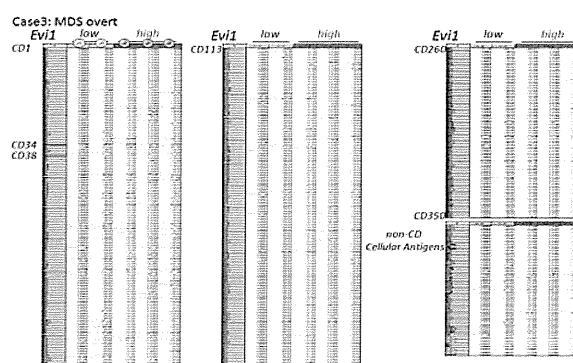


Fig. 2 MDS 幹細胞に発現する表面抗原 (健康危機情報)

本研究は、通常診療内で得られた生体試料を用いた研究であり、健康被害が生じる可能性はないと考える。

D. 考察

今回、AML 細胞、MDS 細胞における幹細胞マーカー Bmi1 と既知の AML の予後不良因子 (Evi1, BAALC, MN1, ERG) との発現の相関を single cell レベルで解析した結果、Bmi1 と Evi1 の発現との間に相関を認めた。さらに、Evi1 を高発現している MDS 細胞に特異的に発現している細胞表面マーカーを複数同定した。本研究結果は、新規マーカーを用いた MDS 診断や層別化、さらには新たな分子標的探索に大いに貢献できると考えられた。

E. 結論

Single cell PCR 法を用いた網羅的遺伝子発現解析により、より未分化な MDS 細胞特異的に発現する表面抗原を同定した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Morita Y, Nishimura J, Shimada T, Tanaka H, Serizawa K, Taniguchi Y, Tsurutani M, Kanakura Y, Matsumura I Successful anticoagulant therapy for two pregnant PNH patients, and prospects for

the eculizumabera Int J Hematol
2013;97 (491-497)

Miyatake J, Ohguro N, Kawauchi M,
Kumode T, Yamaguchi T, Morita Y,
Tatsumi Y, Maeda Y, Matsumura I
A case of intraocular lymphoma with
central nervous system involvement and
high interleukin-10 levels in both vitreous
humor and cerebrospinal fluids: successful
treatment with a combination of
intravitreal, intrathecal, and systemic
therapy. Int Canc Conf J 2013;2(71-75)

Rai S, Matsuda M, Yamairi N, Eguchi G,
Iwanaga T, Morita Y, Tanaka H, Tatsumi
Y, Ashida T, Matsumura I.
Successful allogeneic hematopoietic stem
cell transplantation in a young patient
with Richter syndrome presenting with
chronic lymphocytic leukemia and diffuse
large B-cell lymphoma with different cell
origins. Intern Med. 2013 ; 52.2(273-276)

Satoh Y, Yokota T, Sudo T, Kondo M, Lai A,
Kincade PW, Kouro T, Iida R, Kokame K,
Miyata T, Habuchi Y, Matsui K, Tanaka H,
Matsumura I, Oritani K,
Kohwi-Shigematsu T, Kanakura Y.

The Satb1 protein directs hematopoietic
stem cell differentiation toward lymphoid
lineages. Immunity. 2013 ;
38.6(1105-1115)

2. 学会発表
Rai S, Tanaka H, Suzuki M, Tanimura A,
Matsui K, Watanabe T, Kanakura Y,
Matsumura I.

CALM links cytokine signals to
hematopoietic cell growth and survival by
regulating intracellular trafficking of
receptor tyrosine kinases. 第18回 欧州血
液学会 2013. 6. 11~18、Stockholm・Sweden
Kanai Y, Shimada T, Tanaka H,
Matsumura I. Trib1 and Trib2 block
myeloid differentiation by suppressing
AKT phosphorylation. 第72回日本癌学会
学術集会 2013. 10. 3~5、横浜
Matsumura I, Wakase S, Nagase T,
Shimozuma K.
cost-effectiveness of nilotinib and
dasatinib for newly diagnosed chronic
myeloid leukemia in Japan. 第75回日本血
液学会学術集会 2013.10.11~13、札幌
Miyatake J, Kawauchi M, Serizawa K,
Emoto M, Taniguchi Y, Hirase C, Morit
a Y, Tatsumi Y, Ashida T, Matsumura I.
Three hematologic malignancies in dif
ferent lineages observed in a patient du
ring the
short period. 第75回日本血液学会学術集会
2013. 10. 11~13、札幌

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

研究協力者：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）

研究要旨 骨髄不全症候群に対する造血細胞移植後の合併症として、ドナー細胞の生着を得ているにもかかわらず、骨髄不全が再燃する例が問題となっている。移植前の造血能と移植後骨髄不全との関連を検討したところ、骨髄有核細胞数よりも移植直前の白血球数が多い例で移植後骨髄不全の頻度が高かった。RCCあるいはRCMDのうち骨髄密度の高い例に対しては、前処置強度を強化する移植前処置を立案した。

共同研究者

矢部みはる 東海大学基盤診療学系 准教授

A. 研究目的

骨髄不全症候群には様々な病因と病態を呈する疾患が混在するが、薬物療法が無効で輸血依存な場合の治療法として造血細胞移植が選択される。近年、造血細胞移植後の生存率は改善しているが、ドナー細胞の生着を得ながら骨髄不全が再燃する症例が散見され、大きな問題となっている。この骨髄不全のリスク因子を同定し、造血細胞移植の標準的前処置の確立を目指す。

B. 研究方法

東海大学小児科・細胞移植科において1998年12月より2012年3月までに同種造血細胞移植を施行した36例を対象に、移植前の骨髄有核細胞数、前処置による骨髄抑制がどれだけ強く得られたかの指標として移植日当日の末梢白血球数を調べ、移植後の骨髄不全、拒絶、免疫性血小板減少症合併との関連を検討した。

（倫理面への配慮）

既存資料による後方視的観察研究であり、生体試料も用いないが、個人情報の管理に留意し、連結可能匿名化の上で解析を行った。

C. 研究結果

36例の年齢は中央値11歳（2～22歳）、移植ドナーはHLA一致同胞5例、他の血縁ドナー4例、非血縁骨髄ドナー25例、臍帯血2例であった。前処置はシクロフォスファミド/サイモグロブリン±放射線照射が7例、さらにフルダラビン併用が29例であった。移植後のイベントとしては、ドナー型骨髄不全が4例、拒絶が2例、免疫性血小板減少症が3例、薬剤誘発過敏症候群が1例であった。移植前処置の種類とイベントとの関連は認められなかった。骨髄有核細胞数1万/ μL 以上の19例中イベントは6例、1万/ μL 未満の17例中4例で（ $p=0.67$ ）、骨髄有核細胞数とイベントは関連しなかった。移植当日の末梢白血球数では20個/ μL 以上の11例中6例にイベントを認め、20個/ μL 未満の25例中4例より多い傾向を認めた（ $p=0.06$ ）。

D. 考察

今回の対象は骨髄穿刺による有核細胞数が算定されており、骨髄生検による骨髄密度の判定は行われていない。骨髄穿刺による有核細胞数では、造血葉が不均等に分布してい

る可能性もあって、骨髄密度を正確に反映するとは言えない。移植当日に残存する白血球数は、全身の造血巣のうち前処置後に残存した造血能を反映しており、前処置前の骨髄密度と相関しているものと推測される。移植当日に残存する白血球数と移植後イベントといは一定の相関があり、骨髄密度の高い例では前処置の強化が必要と考えられた。性腺機能への影響が少なく、かつ骨髄抑制を強化する前処置として、メルファランをフルダラビン、少線量放射線、サイモグロブリンに加えた前処置を考案した。

E. 結論

骨髄密度の高い骨髄不全症候群の前処置は、メルファランを加えた強化が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kato M, Takahashi Y, Tomizawa D, Okamoto Y, Inagaki J, Koh K, Ogawa A, Okada K, Cho Y, Takita J, Goto H, Sakamaki H, Yabe H, Kawa K, Suzuki R, Kudo K, Kato K. Comparison of intravenous with oral busulfan in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with myeloablative conditioning regimens for pediatric acute leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013; 19(12): 1690-1694, Sep 23. doi:p11: S1083-8791(13)00439-4.
2. Hira A, Yabe H, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Nakamura J, Kojima S, Ogawa S, Matsuo K, Takata M, Yabe M. Variant ALDH2 is associated with accelerated progression of bone marrow failure in Japanese Fanconi anemia patients. *Blood*. 2013 Sep 13. [Epub ahead of print]
3. Sawada A, Ohga S, Ishii E, Inoue M, Okada K, Inagaki J, Goto H, Suzuki N, Koike K, Atsuta Y, Suzuki R, Yabe H, Kawa K, Kato K, Yasutomo K. Feasibility of reduced-intensity conditioning followed by unrelated cord blood transplantation for primary hemophagocytic lymphohistiocytosis: a nationwide retrospective analysis in Japan. *Int J Hematol*. 2013 Aug;98(2):223-30. doi: 10.1007/s12185-013-1391-z. Epub 2013 Jul 11.
4. Murata M, Nakasone H, Kanda J, Nakane T, Furukawa T, Fukuda T, Mori T, Taniguchi S, Eto T, Ohashi K, Hino M, Inoue M, Ogawa H, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Yabe H, Morishima Y, Sakamaki H, Suzuki R. Clinical factors predicting the response of acute graft-versus-host disease to corticosteroid therapy: an analysis from the GVHD Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013 Aug;19(8):1183-9. doi: 10.1016/j.bbmt.2013.05.003. Epub 2013 May 12.
5. Shinzato A, Tabuchi K, Atsuta Y, Inoue M, Inagaki J, Yabe H, Koh K, Kato K, Ohta H, Kigasawa H, Kitoh T, Ogawa A, Takahashi Y, Sasahara Y,

Kato S, Adachi S. PBSCT is associated with poorer survival and increased chronic GvHD than BMT in Japanese paediatric patients with acute leukaemia and an HLA-matched sibling donor. *Pediatr Blood Cancer*. 2013 Sep;60(9):1513-9. doi: 10.1002/pbc.24524. Epub 2013 Mar 19.

2. 学会発表

1. H Yabe, M Inoue, K Koh, K Kawa, K Kato, H Sakamaki, Y Atsuta the Inborn Errors Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT) Allogeneic stem cell transplantation for Diamond-Blackfan anemia in Japan：:A Report from the Inborn Errors Working Group of the

Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). 38th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation. April 2013, London, UK.

2. 矢部普正、加藤俊一、小池隆志、大坪慶輔、清水崇史、森本 克、矢部みはる 拒絶に対する再移植を施行した非腫瘍性疾患の21例 第75回日本血液学会学術総会 2013年10月 札幌

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

再生不良性貧血患者の新規申請から3年目までの縦断的検討

研究協力者：島田直樹（国際医療福祉大学基礎医学研究センター・教授）

研究分担者：太田晶子（埼玉医科大学医学部公衆衛生学・講師）

研究要旨

複数年度にわたる臨床調査個人票の個票データを患者単位でリンケージすることにより、臨床像、治療状況などについて縦断的に検討した。具体的には、①2008年に新規申請して2009年、2010年に更新申請した者、②2009年に新規申請して2010年、2011年に更新申請した者、③2010年に新規申請して2011年、2012年に更新申請した者、を解析対象として、新規申請から3年目までの臨床像、治療状況などの推移を縦断的に検討した。その結果、新規申請から3年目にかけて解析対象者の重症度、自覚症状は著しく改善しており、治療状況の変化と合わせて考えると、3年目には治療を行う必要がなくなるまで症状が改善した患者が少なくない可能性が考えられた。

A. 研究目的

近年の補充療法を含めた治療技術の進歩により、再生不良性貧血患者の生命予後は改善しており、長期間にわたり特定疾患治療研究事業の対象となる患者が少なからず存在する。そこで本研究では、複数年度にわたる臨床調査個人票の個票データを患者単位でリンケージすることにより、臨床像、治療状況などについて縦断的に検討することを目的とした。

B. 研究方法

表1に2003年から2012年までの再生不良性貧血の臨床調査個人票の入力状況、当該年度の医療受給者証所持者数および入力率、登録者証所持者数を示す。

入力率、対象者数を考慮して、①2008年に新規申請して2009年、2010年に更新申請した者、②2009年に新規申請して2010年、2011年に更新申請した者、③2010年に新規申請して2011年、2012年に更新申請した者、を解析対象とした。新規申請から3年目までの臨床像、治療状況などの推移

を縦断的に検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は特定疾患治療研究事業における臨床調査個人票の研究目的利用に関する要項に則って実施した。

利用したデータには、個人名、住所、受療医療機関など個人を同定できる項目は含まれていない。

C. 研究結果

解析対象者は①380名、②436名、③290名の合計1,106名であった。①②③の3群で性別、年齢、発病年齢に有意差を認めなかったことから、ここからは3群をまとめて検討した。

性別は男性478名(43.2%)、女性628名(56.8%)であった。年齢は 54.6 ± 23.1 歳(0~95歳)、発病年齢は 53.6 ± 23.5 歳(0~95歳)であり、いずれも50歳代後半から増加して70歳代前半が最も多かった。全体の85%が発病から1年以内に新規申請していた。

表2に重症度の推移を示す。新規、2年目、3年目と改善しており、新規ではStage4が最も多かったのに対して、3年目は半数以上がStage1になっ

ていた。Stage1 および 2 (軽症～中等症) の割合は新規 36.8%、2 年目 62.2%、3 年目 70.3%であった。

表 3 に自他覚症状の推移を示す。貧血症状、出血症状、発熱ともに新規、2 年目、3 年目と減少しており、3 年目は新規に比較して貧血症状 63.0%、出血症状 51.9%、発熱 77.2%となっていた。

表 4 に治療状況の推移を示す。「無治療で経過観察」は 2 年目に大きく減少したが、3 年目は少し増加した。「アンドロゲン療法」「免疫抑制療法」「サイトカイン療法」は 2 年目に増加したが 3 年目に減少した。特に「サイトカイン療法」は 3 年目に新規よりも減少した。新規、2 年目、3 年目と「造血細胞移植療法」が少しずつ増加した一方で、「成分輸血」は減少して、特に 2 年目から 3 年目にかけて大きく減少した。

D. 考察

新規申請から 3 年目にかけて解析対象者の重症度は改善しており、3 年目には半数以上が Stage1 になっていた。また、貧血症状、出血症状、発熱といった自他覚症状も減少しており、特に貧血症状、出血症状は半数近くに減少していた。これらは治療技術の進歩を裏付けるものと考えられる。

その一方で、治療状況は治療法によって様々な変化を示した。まず、「無治療で経過観察」は 2 年目に大きく減少したが、3 年目は少し増加した。また、「アンドロゲン療法」「免疫抑制療法」「サイトカイン療法」は 2 年目に増加したが 3 年目に減少した。これらより、2 年目までに積極的に治療が行われた結果、3 年目には治療を行う必要がなくなるまで症状が改善した患者が少なくない可能性が考えられる。「成分輸血」が新規、2 年目、3 年目と

減少して、特に 2 年目から 3 年目にかけて大きく減少したことも、これを裏付けていると考えられる。これに対して、これらの治療法が奏効しない重症患者のうち 40 歳未満に対して選択される「造血細胞移植療法」は、少しずつ増加したと考えられる。

E. 結論

再生不良性貧血患者の新規申請から 3 年目までの縦断的検討により、3 年目には治療を行う必要がなくなるまで症状が改善した患者が少なくない可能性が考えられた。

今後は、①性別、年齢別、病型別などの検討、②生活状況、検査所見などに関する検討、③さらに長期間にわたる縦断的検討、を行っていきたいと考えている。

F. 研究発表

1. 論文発表 該当なし

2. 学会発表

太田晶子, 仁科基子, 島田直樹, 永井正規. 臨床調査個人票データベースの入力率と有用性の検討. 第 72 回日本公衆衛生学会総会, 2013 年 10 月 25 日, 津
島田直樹, 太田晶子, 中尾眞二, 黒川峰夫. 再生不良性貧血患者の臨床像などに関する縦断的検討. 第 78 回日本民族衛生学会総会, 2013 年 11 月 15 日, 佐賀

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

表1 再生不良性貧血の臨床調査個人票の入力状況など

	臨床調査個人票				医療受給者証	登録者証	総患者数
	新規	更新	合計	入力率	所持者数	所持者数	
2001					10,572		10,572
2002					10,619		10,619
2003	448	6,508	6,956	71.9%	9,680	823	10,503
2004	719	5,443	6,162	67.2%	9,173	1,336	10,509
2005	852	4,983	5,835	64.9%	8,997	1,825	10,822
2006	667	4,414	5,081	56.4%	9,010	2,149	11,159
2007	669	3,889	4,558	49.7%	9,162	2,568	11,730
2008	915	5,650	6,565	70.6%	9,301	2,714	12,015
2009	1,028	7,335	8,363	88.2%	9,479	2,914	12,393
2010	1,108	6,103	7,211	76.6%	9,417	2,952	12,369
2011	1,207	6,939	8,146	80.3%	10,148	3,200	13,348
2012	933	5,165	6,098	59.3%	10,287	3,217	13,504

表2 重症度の推移

	新規	2年目	3年目
Stage1	142 13.1%	426 39.3%	553 50.7%
Stage2	258 23.7%	248 22.9%	214 19.6%
Stage3	251 23.1%	189 17.4%	168 15.4%
Stage4	306 28.2%	156 14.4%	114 10.5%
Stage5	130 12.0%	65 6.0%	41 3.8%
合計	1,087	1,084	1,090

表3 自覚症状の推移

	新規	2年目	3年目
貧血症状	77.2%	62.1%	48.6%
出血症状	55.1%	38.6%	28.6%
発熱	20.6%	18.9%	15.9%

表4 治療状況の推移

	新規	2年目	3年目
無治療で経過観察	11.4%	6.5%	8.5%
アンドロゲン療法	24.1%	32.4%	31.0%
免疫抑制療法	67.0%	78.3%	73.1%
造血細胞移植療法	5.4%	9.5%	10.0%
成分輸血	47.1%	45.2%	34.1%
サイトカイン療法	18.5%	22.0%	14.1%
上記以外の治療	7.2%	10.3%	9.2%

先天性角化不全症の新規原因遺伝子変異の探索

研究分担者 山口博樹 (日本医科大学血液内科 講師)

猪口孝一 (日本医科大学血液内科 教授)

研究要旨: 先天性角化不全症 (Dyskeratosis congenita: DKC) の約40%の症例は原因遺伝子変異が同定されていない。我々は次世代シーケンサーを用いてDKCや不全型DKCにおける新規の原因遺伝子変異の探索を行った。現在既知の遺伝子変異を認めないHoyeraal-Hreidarsson syndrome 1症例、DKC4症例、不全型DKC13症例に対して検討を行った。DNAヘリカーゼ遺伝子群では*RTEL1*変異などが、テロメラーゼ複合体遺伝子群では*TEPI*変異が、Shelterin複合体遺伝子群では*ACD(TPPI)*変異が新規の原因遺伝子変異の候補として発見された。今後これらの遺伝子変異の機能解析を行う予定である。

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生が認められる。遺伝型はX連鎖劣性遺伝が35%、常染色体優性遺伝が5%、常染色体劣勢遺伝が数%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7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。本研究は原因遺伝子が同定されていない症例に関して、次世代シーケンサーを用いて全 exon シーケンスを行い、新規原因遺伝子変異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、原因遺伝子が同定されていない特徴的身体的所見を伴う

Hoyeraal-Hreidarsson syndrome (HHS) 症例、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。

これらの症例に対して *DKC1*、*TERC*、*TERT*、*NOPIQ*、*NHP2*、*TINF2*、*TCABI* といった既知の遺伝子変異のスクリーニングを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 法にて遺伝子解析を行う。

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対して、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 GAIIX, GAIIX, 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

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 1 に示す新規遺伝子変異の候補が抽出されている。

1. DNA ヘリカーゼ遺伝子群の変異

DNA ヘリカーゼ遺伝子である *WRN* 変異を 1 症例に、*RECQL4* 変異を 3 症例に、*PIF1* 変異を 2 症例に、*BLM* 変異を 2 症例に、*RTEL1* 変異を 3 症例に認めた。*RTEL1* 変異の 2 症例(症例 14、15)は、母に *RTEL1* 102+1G>A のヘテロ変異が認められ、症例においては

102+1G>A と F709L の両アレルに変異があると考えた。その他の変異はすべてヘテロ変異であった。しかし症例 6 に関してはヘテロの *BLM* 変異と *PIF1* 変異を、症例 11 に関してはヘテロの *WRN* 変異と *RECQL4* 変異を認めている。

2. テロメラーゼ複合体遺伝子群の変異

テロメラーゼ複合体遺伝子群のひとつである *TEP1* 変異を 2 症例に認めた。1 症例は nonsense mutation で 1 症例は frameshift mutation であった。

3. Shelterin 複合体遺伝子群の変異

Shelterin 複合体遺伝子群のひとつである *ACD*(*TPPI1*)に変異を認めた。変異部位は Shelterin 複合体を形成し DKC の原因遺伝子変異を認める *TINF2* との結合ドメインであった。

4. その他

毛細血管拡張性運動失調症の原因遺伝子で DNA 損傷修復反応の重要な機能を有する *ATM* のヘテロ変異を 1 症例に、顔面の奇形、免疫不全、網状皮斑、低身長を症候とする FALS syndrome の原因遺伝子として同定された DNA ポリメラーゼの機能をもつ *POLE* のヘテロ変異を 1 症例に認めた。

表 1 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

	Clinical Daiganosis	Mutation 1	Mutation 2	Mutation 3
1	HHS	PIF1 P109S		
2	DKC			
3	DKC	ACD F461L	RECQL4 G1105R	
4	DKC			
5	DKC			
6	cryptic DKC	<i>BLM G1129R</i>	<i>PIF1 P109S</i>	<i>ATM V1260M</i>
7	cryptic DKC	<i>BLM L716F</i>		
8	cryptic DKC			
9	cryptic DKC	<i>TEP1W1079fs</i>		
10	cryptic DKC			
11	cryptic DKC	<i>WRN 3139-1G>C</i>	<i>RECQL4 T465M</i>	
12	cryptic DKC		<i>RECQL4 A72V</i>	
13	cryptic DKC	<i>TEP1 R1237X</i>		
14	cryptic DKC	<i>RTEL1 102+1G>A</i>	<i>RTEL1 F709L</i>	
15	cryptic DKC	<i>RTEL1 102+1G>A</i>	<i>RTEL1 F709L</i>	
16	cryptic DKC	<i>POLE R266X</i>		
17	cryptic DKC			
18	cryptic DKC	<i>RTEL1 V643G</i>		

D. 考察

次世代高速シーケンサーによる新規遺伝子変異探索は、DNA ヘリカーゼ遺伝子群、テロメラーゼ複合体遺伝子群、Shelterin 複合体遺伝子群に新規の遺伝子変異の候補が発見された。

その中でも DNA ヘリカーゼ遺伝子群の *RTEL1* 変異は、我々と同様に次世代シーケンサーを用いた新規遺伝子変異探索によって 2013 年にいくつかのグループから DKC の重症型である HHS の原因遺伝子として報告がなされたばかりである。これらの報告では *RTEL1* 変異は常染色体劣性遺伝形式の HHS 症候群の原因遺伝子と考えられている。今回の我々が発見した 2 症例(症例 14、15)に関しては 102+1G>A と F709L の両アレルに変異があり原因遺伝子の可能性が高い。しかしこれまでの *RTEL1* 変異を認めた症例の大多数は DKC の重症型である HHS であるのに対して、今回我々が発見した症例 14、15 はともに不全型 DKC の臨床像を示している。現時点では明らかになっていないが、*RTEL1* の変異部位による機能差が臨床像の違いに関与をしている可能性があり今後の機能解析の結果が待たれるところである。

また 9/18 症例 (50%) に DNA ヘリカーゼ遺伝子群の変異が認められ、症例 6 や 11 に関しては異なる DNA ヘリカーゼ遺伝子群のヘテロ変異を 2 つ認めている。これらが DKC の病

態にどのように関与をしているのかは明らかではないが、大変興味深い結果であると考ええる。

新規の原因遺伝子として有望と考えられるテロメラーゼ複合体遺伝子群の *TEPI* 変異、Shelterin 複合体遺伝子群の *ACD(TPPI)* 変異が発見された。今後機能解析を行い原因遺伝子変異として確定をする予定である。

E. 結論

現在既知の遺伝子変異を認めない HHS、DKC、や不全型 DKC に対して次世代高速シーケンサーを用いて新規遺伝子変異探索を行い、DNA ヘリカーゼ遺伝子群、テロメラーゼ複合体遺伝子群、Shelterin 複合体遺伝子群に新規の遺伝子変異の候補を発見した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Fukuhara A, Tanino Y, Ishii T,

Inokoshi Y, Saito K, Fukuhara N, Sato S, Saito J, Ishida T, **Yamaguchi H**, Munakata M. Pulmonary fibrosis in dyskeratosis congenita with *TINF2* gene mutation. *Eur Respir J.* in press.

2. **山口博樹**. テロメア病. 血液フロンティア. 2013; 23(6): 816-820.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
該当なし。

2. 実用新案登録
該当なし。

3. その他

なし。