

## E. 結論

赤芽球系に異形成が認められる AA 例があった。non-dys AA と AA with miniD の性、年齢、重症度、IST に対する反応性に差は認められなかった。染色体異常の保有は AA with miniD に多い傾向があった。

### 1. 論文発表

● Arai Y, Kondo T, Kitano T, Hishizawa M, Yamashita K, Kadowaki N, Yamamoto T, Yano I, Matsubara K, Takaori-Kondo A: Monitoring mycophenolate mofetil is necessary for the effective prophylaxis of acute gvhd after cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2015;50 (312-314)

● Arai Y, Yamashita K, Mizugishi K, Kondo T, Kitano T, Hishizawa M, Kadowaki N, Takaori-Kondo A: Risk factors for hypogammaglobulinemia after allo-SCT. *Bone Marrow Transplant* 2014;49 (859-861)

● Rhyasen GW, Wunderlich M, Tohyama K,

Garcia-Manero G, Mulloy JC, Starczynowski DT: An MDS xenograft model utilizing a patient-derived cell line. *Leukemia* 2014; 24 (1142-1145)

● Hayashi K, Tasaka T, Hirose T, Furukawa S, Kohguchi K, Matsuhashi Y, Wada H, Tohyama K, Sugihara T: Delayed false elevation of circulating tacrolimus concentrations after cord blood transplantation in a patient with myelodysplastic syndrome. *Intern. Med.* 2014; 53 (2635-2638)

● Okamura D, Matsuda A, Ishikawa M, Maeda T, Tanae K, Kohri M, Takahashi N, Kawai N, Asou N, Bessho M: Hematologic improvements in a myelodysplastic syndromes with myelofibrosis (mds-f) patient treated with azacitidine. *Leuk Res Rep* 2014;3 (24-27)

● 通山 薫: [特集 難治性貧血 - 診断と病態・治療の進歩 - ] 骨髄異形成症候群の病態解明と診断の進歩. *最新医学* 2014; 69 (2125-2133)

● 松田晃: 骨髄異形成症候群の治療の進歩. *最新医学* 2014; 69 (2134-2141)

● 松田晃: MDSの形態異常と遺伝子異常. *病理と臨床* 2015; 33 (145-149)

● 川端浩, 高折晃史. 治療可能な疾患となった骨髄異形成症候群の初期診療のすすめかた. *Medical Practice.* 2015;32 (247-252)

● 川端浩, 高折晃史. 骨髄異形成症候群の診断と臨床的予後予測 2014年Update. *血液フロンティア.* 2014;24 (1463-1471)

### 2. 学会発表

● Sugino N, Kawahara M, Suzuki T, Nagai Y, Shimazu Y, Fujii S, Yamamoto R, Hishizawa M, Takaori-Kondo A. The pharmacological inhibition of KDM1A displays preclinical efficacy in AML and MDS by inducing myelomonocytic differentiation. *The American Society of Hematology 56<sup>th</sup> Annual Meeting*, 2014.12.5-8, San Francisco, CA, USA

● Arai Y, Yamashita K, Mizugishi K, Takaori-Kondo A. Presepsin (soluble CD14

subtype) is secreted from human monocytes after phagocytosis – in vitro analyses and a retrospective cohort study in patients with allogeneic stem cell transplantation. The American Society of Hematology 56<sup>th</sup> Annual Meeting, 2014.12.5-8, San Francisco, CA, USA

● Takeda J, Kawabata H, Aoki K, Shiga S, Kawahara M, Kitawaki T, Hishizawa M, Kondo T, Kitano T, Yonetani N, Tabata S, Hiramoto N, Matsushita A, Hashimoto H, Ishikawa T, Kadowaki N, Takaori A. Clinical impact of complex karyotype, monosomal karyotype and acquisition of chromosomal abnormalities in patients with myelodysplastic syndromes. The American Society of Hematology 56<sup>th</sup> Annual Meeting, 2014.12.5-8, San Francisco, CA, USA

● Okamura D, Matsuda A, Ishikawa M, Maeda T, Kohri M, Takahashi N, Kawai N, Miitsu N, Asou N: Long-term treatment with azacitidine induced a complete remission and improved myelofibrosis in an MDS with myelofibrosis (MDS-F) patient. ; The 5th JSH International Symposium 2014, 2014年5月24日～26日, 浜松.

● 通山 薫. 教育セミナー・MDS の診断と治療. 日本血液学会中四国地方会. 2014.2.28, 徳島市

● 通山 薫. 教育講演・形態異常からわかる病態. 第76回日本血液学会学術集会. 2014.10.31, 大阪市

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。

## 骨髓異形成症候群の病期進行に関わる分子メカニズムの解析

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 が急性骨髄性白血病へ移行する分子機構を、MDS 細胞とそれらを取り巻く造血微小環境との相互作用の観点から解明することを目的とする。本年度は、MDS の病期進行に伴い、未分化な造血細胞分画で発現が上昇する分子として我々が同定した CLEC-2、Pdpn について解析を行った。高リスク MDS および AML 患者骨髄を解析した結果、芽球の一部に CLEC-2 の高発現を認め、間質細胞の一部に CLEC-2、Pdpn の異常な発現を認めた。CLEC-2 を強制発現した造血支持細胞との共培養の結果、正常 HSC/HPCs では増殖抑制と骨髓球系細胞への分化促進を認めた。一方、未分化な MDS 細胞では、支持細胞の CLEC-2 の発現量に依存した未分化細胞の維持と増殖促進を認めた。今後、MDS 細胞の増殖優位性の分子機序について詳細な解析を行う予定である。

### A. 研究目的

我々はこれまでに、MDS 患者骨髄を用いた遺伝子発現プロファイルの結果から、MDS の病期進行に伴い、造血幹/前駆細胞(HSC/HPCs)分画で発現が著明に上昇する分子として、C-type lectin domain family 1, member B (CLEC-2)を同定した。本研究は、CLEC-2 およびその受容体である podoplanin (Pdpn)を介した MDS 細胞と骨髓微小環境 (ニッチ) との相互作用を明らかにすることを目的とする。

### 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) 骨髓単核球における CLEC-2、Pdpn の発現解析

CLEC-2 は、主に血小板に発現する膜蛋白として知られるが、その他の血球を含めた生体内組織での発現分布については明らかにされて

いない。MDS、AML 患者骨髄より得た単核球を表面抗原により分離し、造血細胞、造血支持細胞の各系統における CLEC-2、Pdpn の発現を定量的 RT-PCR 法、および FACS により解析した。

#### 3) 造血支持細胞における CLEC-2 の機能解析

CLEC-2 は、ホモフィリックな結合、あるいは Pdpn など腫瘍抗原との結合を介して血小板を活性化する分子として報告されているが、MDS 細胞、あるいは骨髓ニッチを構成する造血支持細胞における機能は明らかにされていない。骨髓ストローマ細胞株 MS-5 に CLEC-2 を強制発現させた細胞株を樹立し、HSC/HPCs あるいは未分化な MDS 細胞と種々サイトカイン存在下に共培養することで、培養後に得られた血球の特性を解析した。

### C. 研究結果

#### 1) MDS、AML 患者骨髄における CLEC-2、Pdpn の発現

健常人、および低リスク MDS 患者骨髄を用いた解析では、巨核球、および血小板に CLEC-2 の強い発現を認めた。造血幹細胞分画における CLEC-2 の発現は認めなかったが、前駆細胞分

画では一部の細胞に強い遺伝子発現を認め、FACSにて細胞表面での発現を確認した。一方、間質細胞では CLEC-2 の発現は認めず、また、造血細胞、間質細胞いずれにおいても Pdpn の発現は認めなかった。高リスク MDS、および AML (MDS overt AML を含む)患者骨髄では、症例間で発現量に差は認めるものの、未分化な細胞分画に CLEC-2 の発現を認めた。また、これらの症例では、間質細胞の一部に CLEC-2、Pdpn を強く発現する分画を認めた。

## 2) 造血支持細胞における CLEC-2 が造血細胞の増殖、分化に及ぼす影響

CLEC-2 を発現しない骨髄ストローマ細胞株 MS-5 に、Mock および CLEC-2 をレトロウイルスを用いて遺伝子導入し、CLEC-2 の発現量の多い(high)、あるいは少ない (dim) 株を樹立した。各細胞株と造血細胞を SCF、FL, TPO 存在下で 7 日間共培養した結果、正常 HSC/HPCs では Mock, dim, high と CLEC-2 の発現量が多くなるに従い、生じる血球数が有意に減少し、増殖抑制を認めた。表面抗原上は、未分化な細胞の有意な減少と、顆粒球系、単球系マーカー陽性細胞の増加を認め、骨髄球系への分化が促進していると考えられた。一方 MDS 細胞では、MS-5 における CLEC-2 の発現量が多くなるに従い、未分化な細胞が維持され、生じる血球数も有意に増加した。

### (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

MDS の病因・病態には、造血細胞だけでなく、造血細胞を取りまく骨髄環境も深く関与していると考えられているが、その詳細は不明である。最近、生体内での炎症に伴って、免疫担当細胞の CLEC-2 が、リンパ節を構成する間質

細胞の Pdpn と相互に作用することで、リンパ節の構造を変化させ、節内の免疫担当細胞の量を増大させていることが報告された(Nature. 514: 498-502. 2014)。本研究では、高リスク MDS、および AML 患者骨髄の芽球の一部で CLEC-2 の高発現を認め、これらの症例では、間質細胞の一部に CLEC-2、Pdpn を強く発現する分画を認めた。造血支持細胞における CLEC-2 は、正常造血に対する増殖抑制、分化を誘導する一方で、MDS 細胞の維持と増殖を誘導したことから、CLEC-2 (および Pdpn) が、MDS 細胞および骨髄ニッチを構成する造血支持細胞に作用することで、MDS の病因・病態に深く関わっている可能性が示唆された。

## E. 結論

MDS 細胞、および骨髄間質細胞の一部に CLEC-2 の発現を認め、相互作用により MDS 細胞が増殖優位性を獲得している可能性が示唆された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Tanimura A, Shibayama H, Hamanaka Y, Fujita N, Ishibashi T, Sudo T, Yokota T, Ezoe S, Tanaka H, Matsumura I, Oritani K, Kanakura Y.

The anti-apoptotic gene Anamorsin is essential for both autonomous and extrinsic regulation of murine fetal liver hematopoiesis.

Exp Hematol 2014;42(410-422)

Kuroda J, Shimura Y, Ohta K, Tanaka H, Shibayama H, Kosugi S, Fuchida S, Kobayashi M, Kaneko H, Uoshima N, Ishii K, Nomura S, Taniwaki M, Takaori-Kondo A, Shimazaki C, Tsudo M, Hino M, Matsumura I, Kanakura Y; Kansai Myeloma Forum

Investigators.

Limited value of the international staging system for predicting long-term outcome of transplant-ineligible, newly diagnosed, symptomatic multiple myeloma in the era of novel agents.

Int J Hematol. 2014;99(441-9)

Rai S, Tanaka H, Suzuki M, Ogoh H, Taniguchi Y, Morita Y, Shimada T, Tanimura A, Matsui K, Yokota T, Oritani K, Tanabe K, Watanabe T, Kanakura Y, Matsumura I.

Clathrin assembly protein CALM plays a critical role in KIT signaling by regulating its cellular transport from early to late endosomes in hematopoietic cells.

PLoS One. 2014;9(e109441)

Sakurai M, Kunimoto H, Watanabe N, Fukuchi Y, Yuasa S, Yamazaki S, Nishimura T, Sadahira K, Fukuda K, Okano H, Nakauchi H, Morita Y, Matsumura I, Kudo K, Ito E, Ebihara Y, Tsuji K, Harada Y, Harada H, Okamoto S, Nakajima H.

Impaired hematopoietic differentiation of RUNX1-mutated induced pluripotent stem cells derived from FPD/AML patients.

Leukemia. 2014 ;28(2344-54)

## 2. 学会発表

Rai S, Tanaka H, Taniguchi Y, Shimada T, Suzuki M, Tanimura A, Matsui K, Watanabe T, Kanakura Y, Matsumura I.  
Leukemogenic FLT3-ITD and KIT D814V depend more in CALM function than their wild types to transmit growth/survival signals: Identification of CALM as a new therapeutic target.

19<sup>th</sup> EHA 2014.6.12~6.15 (Italy · Milano)

Serizawa K, Morita Y, Taniguchi T, Oyama Y, Kawauchi M, Kumode T, Kanai Y, Hirase C,

Tanaka H, Miyatake J, Tatsumi Y, Ashisda T, Matsumura I.

Analysis of conditioning regimen for ASCT with relapsed or refractory malignant lymphoma.

第76回日本血液学会学術集会

2014.10.31~11.2(大阪)

## 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

小児科領域；

先天性造血障害の診断システムの構築と、疾患別の至適移植方法の確立

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）

共同研究者：矢部 みはる（東海大学医学部基盤診療学係 准教授）

## 研究要旨

小児を対象とする造血細胞移植においては、成長後の生活の質（QOL）の維持が期待され、特に妊孕能の維持は重要である。東海大学小児科・細胞移植科においては造血細胞移植後に10例が妊娠、挙児に到っており、前処置との関係を検討したところ、放射線は子宮の妊娠維持能の低下に影響し、Fludarabineの180 mg/m<sup>2</sup>やCyclophosphamideの200 mg/kgでは妊孕能は保たれると考えられた。また、Fanconi貧血において、アルデヒド分解酵素遺伝子であるALDH2の遺伝子型が変異型ホモのAA型の場合、骨髄不全とMDSの発症が極めて早く、早期の造血細胞移植が必要である。

### A. 研究目的

小児期に発症する骨髄不全症候群にはFanconi貧血（FA）など、遺伝性疾患が含まれるため、効率的な診断システムの構築と病態に合った移植方法の確立、さらに移植後の生活の質（QOL）の維持が重要である。以上につき、診断・治療の参照ガイドの改訂を含めて検討した。

### B. 研究方法

東海大学小児科・細胞移植科にて、先天性および後天性再生不良性貧血に対し、1985年6月より2001年11月までに同種骨髄移植を受け、妊娠、挙児に至った10例について前処置などの移植条件を検討した。調査方法は既存資料による後方視的解析で行った。

FA患者におけるALDH2の遺伝子解析は従来より継続しており、骨髄不全の発症時期、造血細胞移植の経過を検討した。

### （倫理面への配慮）

再生不良性貧血の妊娠、挙児例の調査は、東海大学臨床研究審査委員会の承認を得た。造血

細胞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われ、文書による同意を得た。FAにおける遺伝子診断については東海大学医の倫理委員会の承認を得た。

### C. 研究結果

妊娠、挙児に至ったのは男性2例、女性8例で、移植時年齢は中央値12歳（範囲；4～21歳）であった。ドナーはHLA一致同胞が5例、HLA不一致血縁が2例、非血縁が3例で、移植細胞ソースはすべて骨髄であった。移植前処置は全身放射線照射（TBI）あるいは放射線胸腹部照射（TAI）（6～8 Gy）+ Cyclophosphamide（CY）（200 mg/kg）+/- 抗リンパ球グロブリン（ALG）が5例、TAI（10 Gy）+ CY（200 mg/kg）+ 抗胸腺細胞グロブリン（ATG）（10 mg/kg）が2例、TAI（3 Gy）+ Fludarabine（Flu）（100 mg/m<sup>2</sup>）+ CY（200 mg/kg）+ ATG（10 mg/kg）が1例、Flu（150～180 mg/m<sup>2</sup>）+ CY（40 mg/kg）+ ATG（10 mg/kg）+/- TAI（4.5 Gy）が2例で、8 GyのTAIを用いた初期2例の女性を除いて性腺遮蔽を施行した。遮蔽を施行しなかった2例では、1

例が30週1500gの早産、低出生体重児であり、他の1例が妊娠2回の不育症となった。性腺遮蔽が行われた8例は、38～41週の満期産で出生体重は2677～3355gであった。出生した児はいずれも健常児であった。

FA患者でかつ、ALDH2の遺伝子型が変異型ホモのAA型であった例が新たに2例見いだされた。2例とも出生直後から骨髄不全を発症し、1例は造血細胞移植で改善したが、他の1例は転院前に頭蓋内出血で死亡した。変異型ホモのAA型のFA患者は合計6例となったが、いずれも骨髄不全とMDSの発症が極めて早かった。

#### D. 考察

Fluの180 mg/m<sup>2</sup>やCYの200 mg/kgでは妊孕能は保たれることが多く、放射線照射を行う場合、卵巣は遮蔽することが望ましいが、子宮も放射線照射によって妊娠維持能が低下すると考えられた。

AA型のFA患者6例においては、骨髄不全とMDSの発症が極めて早く、早期の造血細胞移植を必要とする。このようなALDH2活性欠損例では迅速な診断とドナー検索を早期に開始する必要がある。

#### E. 結論

再生不良性貧血に対する造血細胞移植では、前処置の工夫により、殆どの症例で妊孕能の維持が可能である。新生児期発症の骨髄不全症候群ではFAのALDH2欠損例を疑い、早期の対応が必要である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

原著論文；英文

1. Yabe M, Ohtsuka Y, Watanabe K, Inagaki J, Yoshida N, Sakashita K, Kakuda H, Yabe H, Kurosawa H, Kudo K, Manabe A; Japanese

Pediatric Myelodysplastic Syndrome Study Group. Transplantation for juvenile myelomonocytic leukemia: a retrospective study of 30 children treated with a regimen of busulfan, fludarabine, and melphalan. *Int J Hematol*. 2014 Dec 11. [Epub ahead of print]

2. Tanjuakio J, Suzuki Y, Patel P, Yasuda E, Kubaski F, Tanaka A, Yabe H, Mason RW, Montañó AM, Orii KE, Orii KO, Fukao T, Orii T, Tomatsu S. Activities of daily living in patients with Hunter syndrome: Impact of enzyme replacement therapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Mol Genet Metab*. 2014 Nov 8. pii: S1096-7192(14)00347-3. doi: 10.1016/j.ymgme.2014.11.002. [Epub ahead of print]
3. Kato M, Hasegawa D, Koh K, Kato K, Takita J, Inagaki J, Yabe H, Goto H, Adachi S, Hayakawa A, Takeshita Y, Sawada A, Atsuta Y, Kato K. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation for infant acute lymphoblastic leukaemia with KMT2A (MLL) rearrangements: a retrospective study from the paediatric acute lymphoblastic leukaemia working group of the Japan Society for Haematopoietic Cell Transplantation. *Br J Haematol*. 2014 Oct 10. doi: 10.1111/bjh.13174. [Epub ahead of print]
4. Goto H, Kaneko T, Shioda Y, Kajiwara M, Sakashita K, Kitoh T, Hayakawa A, Miki M, Kato K, Ogawa A, Hashii Y, Inukai T, Kato C, Sakamaki H, Yabe H, Suzuki R, Kato K. Hematopoietic stem cell transplantation for patients with acute lymphoblastic leukemia and Down syndrome. *Pediatr Blood Cancer*. 2014 Sep 27. doi: 10.1002/pbc.25245. [Epub ahead of print]

5. Yoshida N, Kobayashi R, Yabe H, Kosaka Y, Yagasaki H, Watanabe KI, Kudo K, Morimoto A, Ohga S, Muramatsu H, Takahashi Y, Kato K, Suzuki R, Ohara A, Kojima S. First-line treatment for severe aplastic anemia in children: bone marrow transplantation from a matched family donor vs. immunosuppressive therapy. *Haematologica*. 2014 Sep 5. pii: haematol.2014.109355. [Epub ahead of print]
6. Sato Y, Kurosawa H, Fukushima K, Okuya M, Yabe H, Arisaka O. Necessary stem cell transplantation using myeloablative therapy for myelodysplastic syndrome with progression of genotypic abnormalities and TP53 dysfunction in a young adult. *Pediatr Transplant*. 2014 Nov;18(7):E255-7. doi: 10.1111/petr.12334. Epub 2014 Aug 7.
7. Patel P, Suzuki Y, Tanaka A, Yabe H, Kato S, Shimada T, Mason RW, Orii KE, Fukao T, Orii T, Tomatsu S. Impact of Enzyme Replacement Therapy and Hematopoietic Stem Cell Therapy on Growth in Patients with Hunter Syndrome. *Mol Genet Metab Rep*. 2014;1:184-196.
8. Kato M, Yoshida N, Inagaki J, Maeba H, Kudo K, Cho Y, Kurosawa H, Okimoto Y, Tauchi H, Yabe H, Sawada A, Kato K, Atsuta Y, Watanabe K. Salvage allogeneic stem cell transplantation in patients with pediatric myelodysplastic syndrome and myeloproliferative neoplasms. *Pediatr Blood Cancer*. 2014 Oct;61(10):1860-6. doi: 10.1002/pbc.25121. Epub 2014 Jun 29.
9. Nakayama H, Tabuchi K, Tawa A, Tsukimoto I, Tsuchida M, Morimoto A, Yabe H, Horibe K, Hanada R, Imaizumi M, Hayashi Y, Hamamoto K, Kobayashi R, Kudo K, Shimada A, Miyamura T, Moritake H, Tomizawa D, Taga T, Adachi S. Outcome of children with relapsed acute myeloid leukemia following initial therapy under the AML99 protocol. *Int J Hematol*. 2014 Aug;100(2):171-9. doi:10.1007/s12185-014-1616-9. Epub 2014 Jun 25.
10. Sakaguchi H, Nishio N, Hama A, Kawashima N, Wang X, Narita A, Doisaki S, Xu Y, Muramatsu H, Yoshida N, Takahashi Y, Kudo K, Moritake H, Nakamura K, Kobayashi R, Ito E, Yabe H, Ohga S, Ohara A, Kojima S; Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. Peripheral blood lymphocyte telomere length as a predictor of response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anemia. *Haematologica*. 2014 Aug;99(8):1312-6. doi: 10.3324/haematol.2013.091165. Epub 2014 May 9.
11. Kobayashi R, Yabe H, Kikuchi A, Kudo K, Yoshida N, Watanabe K, Muramatsu H, Takahashi Y, Inoue M, Koh K, Inagaki J, Okamoto Y, Sakamaki H, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Kojima S. Bloodstream infection after stem cell transplantation in children with idiopathic aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014 Aug;20(8):1145-9. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.04.006. Epub 2014 Apr 13.
12. Yabe M, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, Ohtsubo K, Fukumura A, Kato S, Yabe H. Feasibility of marrow harvesting from pediatric sibling donors without hematopoietic growth factors and allotransfusion. *Bone Marrow Transplant*. 2014 Jul;49(7):921-6.



## 総説

1. 矢部 普正 Fanconi 貧血 小児科  
2014 ; 55(11): 1559-1564.

## ガイドライン

1. 矢部 普正 小児造血細胞移植患者への予  
防接種 小児の臓器移植および免疫不全  
状態における予防接種ガイドライン 日  
本小児感染症学会 2014.

## 2. 学会発表

1. Yabe H, Uchida N, Takahashi S, Ohno Y,  
Kasai K, Kanamori H, Mori S, Nagamura T,  
Kato K, Murata M, Suzuki R, Atsuta Y.  
Comparison of two doses of  
antithymocyte globulin in pediatric  
patients with aplastic anemia who  
received allogeneic bone marrow  
transplantation. 40<sup>th</sup> Annual Meeting of  
the European Group for Blood and Marrow  
Transplantation. April 2014, Mirano Italy.
2. Yabe H, Tabuchi K, Takahashi Y, Kudo K,  
Kato K, Sakamaki H, Kaea K, Kanamori H,  
Mori S, Nagamura T, Murata M, Suzuki R,  
Kanda Y. Evaluation of cell dose to achieve  
engraftment in unrelated cord blood  
transplantation. 40<sup>th</sup> Annual Meeting of the  
European Group for Blood and Marrow  
Transplantation. April 2014, Mirano Italy.
3. Yabe M, Morimoto T, Shimizu T, Koike T,  
Takakura H, Ohtsubo K, Fukumura A, Itosu  
M, Muroi K, Koh K, Kato S, Yabe H.  
Allogeneic hematopoietic cell transplantation  
for Japanese Fanconi anemia patients with  
myeloid malignancies. 40<sup>th</sup> Annual Meeting  
of the European Group for Blood and  
Marrow Transplantation. April 2014, Mirano  
Italy.
4. Yabe M, Hira A, Yabe H, Morimoto T,

Fukumura A, Miyashita M, Ohtsubo K,  
Matsuo K, Takata M. Infant Japanese  
Fanconi anemia patients with the  
ALDH2-AA Genotype. 26<sup>th</sup> Annual Fanconi  
Anemia Research Fund Scientific  
Symposium. September, 2014, Bethesda,  
USA.

5. Yabe H, Morimoto T, Shimizu T, Koike T,  
Takakura H, yabe M. Persistent parvovirus  
B19 infection resulting in donor cell  
leukemia after allogeneic hematopoietic stem  
cell transplantation in a patient with Fanconi  
anemia. 26<sup>th</sup> Annual Fanconi Anemia  
Research Fund Scientific Symposium.  
September 2014, Bethesda, USA.
6. Hira A, Yoshida K, Sato K, Shimamoto A,  
Tahara H, Kurumizawa H, Ogawa S, Takata  
M, Yabe H, Yabe M. Identification of  
novel UBE2T mutations in Japanese  
Fanconi anemia patients. 37<sup>th</sup> Annual  
meeting of the molecular biology society of  
Japan 2014年 11月 横浜

## 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

## 重症再生不良性貧血患者の改善に関連する要因

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・准教授）

### 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、重症再生不良性貧血患者の改善に関連する要因を検討した。2010年に新規申請して2011年に更新申請した625名、2011年に新規申請して2012年に更新申請した615名、2012年に新規申請して2013年に更新申請した380名の合計1,620名を解析母集団として、初年度に造血幹細胞移植療法を実施した者を除外した上で、初年度はStage5だったが次年度にStage1に改善した45名（改善群）と、初年度はStage5で次年度もStage5のままだった69名（不変群）を抽出して、両群の患者特性、臨床像、治療状況を比較検討した。その結果、重症再生不良性貧血患者の改善に年齢、初年度の白血球数、好中球百分率が関連していることが明らかになった。住所（都道府県）、出生都道府県、アンドロゲン療法施行率も有意な傾向を認めたことから、さらに対象者数を増やすなどして検討する必要があると考えられる。

### A. 研究目的

再生不良性貧血は、厚生労働省の特定疾患治療研究事業において医療受給対象疾患に指定されている。特定疾患治療研究事業では、臨床調査個人票は全ての医療受給申請で提出され、これにより患者の基本的臨床情報を得ることができる。厚生労働省の難病患者認定適正化事業において、臨床調査個人票の内容は、都道府県によってWISH（厚生労働省行政情報総合システム）に導入されている特定疾患調査解析システムに電子入力され、オンラインで厚生労働省へデータが届く仕組みになっている。2003年以降、本格的に電子入力されるようになり、その利用が可能となっている。

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いると考えられるが、いまだ治療が奏効しない重症例も少なくない。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、重症

再生不良性貧血患者の改善に関連する要因を検討することを目的とした。

### B. 研究方法

表1に2003年から2013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、①2010年に新規申請して2011年に更新申請した625名、②2011年に新規申請して2012年に更新申請した615名、③2012年に新規申請して2013年に更新申請した380名の合計1,620名を解析母集団とした。①②③の3群で性別、年齢に有意差を認めなかったことから、3群をまとめて検討した。

解析母集団から、初年度に造血幹細胞移植療法を実施した者を除外した上で、初年度はStage5だったが次年度にStage1に改善した45名（改善群）と、初年度はStage5で次年度もStage5のままだった69名（不変群）を抽

出して、両群の患者特性、臨床像、治療状況を比較検討した。

(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

### 1. 患者特性

改善群と不変群とで新規申請年の分布には有意差を認めなかった。

男性割合は改善群 60.0%、不変群 50.7%で有意差を認めなかった。年齢(平均±標準偏差)は改善群 31.4±25.5 歳、不変群 57.2±22.1 歳で有意差を認めた(二標本 t 検定:  $p=0.000$ )。住所(都道府県)、出生都道府県ともに不変群の方が西日本に多い傾向が認められた。特に不変群の 1 割以上が九州・沖縄だったのに対して、改善群には九州・沖縄はいなかった(表 2、表 3)。

日常生活状況(正常、やや不自由であるが独力で可能)は改善群 83.7%、不変群 82.5%で有意差を認めなかった。血液疾患の家族歴(有り)は両群とも 1 名のみであった。病型(特発性)は改善群 93.2%、不変群 92.8%で有意差を認めなかった。

### 2. 初年度の症状及び所見

初年度の自他覚症状 3 項目および血液生化学 3 項目は改善群と不変群とで有意差を認めなかった(表 4)。

初年度の末梢血検査所見では、白血球数は改善群が不変群よりも有意に多かった(Mann-Whitney の U 検定:  $p=0.031$ )。一方、好中球百分率は不変群が改善群よりも有意に高かった(Mann-Whitney の U 検定:  $p=0.009$ )。但し、好中球数は有意差を認めなかった。それ

以外の検査項目も改善群と不変群とで有意差を認めなかった(表 5)。

初年度の骨髓生検所見は、両群とも全員が低形成だった。造血細胞の形態異常(なし)は改善群 90.7%、不変群 94.0%で有意差を認めなかった。骨髓染色体検査(正常)は改善群 92.0%、不変群 97.4%で有意差を認めなかった。Ham 試験は大部分が未施行だった(改善群 87.2%、不変群 86.0%)。

### 3. 初年度の治療状況

初年度の治療状況の中で、アンドロゲン療法は不変群が改善群よりも施行率が高い傾向が認められた(Fisher の直接法:  $p=0.067$ )。それ以外の無治療で経過観察、免疫抑制療法、成分輸血、サイトカイン類の施行率は改善群と不変群とで有意差を認めなかった(表 6)。

## D. 考察

改善群と不変群で明らかな有意差を認めたのは年齢、初年度の白血球数、好中球百分率のみであった。

有意な傾向を認めた住所(都道府県)、出生都道府県、アンドロゲン療法施行率については、さらに対象者数を増やして検討すると同時に、その意義について検討する必要があると考えられる。

今回の解析対象者は、新規申請から 2 年目の更新申請まで医療機関への受診を継続しており、その間に治癒も死亡もせず、登録者証への変更も行われなかった症例である。そのため、すべての再生不良性貧血患者を代表しているとは言えないが、改善群で最も改善したのが治癒、登録者への変更であり、不変群で最も悪化したのが死亡であることを考えれば、本研究で有意差を認めた項目は、治癒、死亡、登録者証への変更が含まれた場合でも有意差を認めると考えられる。

今回は初年度から次年度への変化を指標としたが、更新申請が毎年7～9月に一律で行われることを考えると、新規申請から半年程度しか経過していない症例が含まれている可能性がある。今後、初年度から3年目（2年後）までの変化を指標とすることも検討したい。

#### E. 結論

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、重症再生不良性貧血患者の改善に年齢、初年度の白血球数、好中球百分率が関連していることが明らかになった。他にも有意な傾向を認めた項目があったことから、さらに対象者数を増やすなどして検討する必要があると考えられる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

該当なし

##### 2. 学会発表

●Ohta A, Nagai M, Nishina M, Shimada N, Nakao S, Kurokawa M. Incidence of aplastic anemia in Japan: analysis of data from a nationwide registration system. The 20th International Epidemiological

Association (IEA) World Congress of Epidemiology. 2014.8.18, Anchorage, Alaska, USA

●Nagai M, Ohta A, Nishina M, Shimada N, Nakao S, Kurokawa M. Sex, age and other epidemiological characteristics of aplastic anemia patients in Japan. The 20th International Epidemiological Association (IEA) World Congress of Epidemiology. 2014.8.18, Anchorage, Alaska, USA

●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新規申請から3年目までの縦断的検討. 第79回日本民族衛生学会総会, 2014年11月22日, つくば

#### 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 所持者数	登録者証 所持者数	総患者数
	新規	更新	合計	入力率			
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	1,097	6,564	7,661	74.5%	10,287	3,217	13,504
2013	518	3,878	4,396	42.2%	10,428	3,581	14,009

表2 住所（都道府県）の分布

	北海道 東北	関東	北陸 甲信越	東海	近畿	中国	四国	九州 沖縄	合計
改善群	5 11.1%	19 42.2%	6 13.3%	4 8.9%	4 8.9%	5 11.1%	2 4.4%	0 0.0%	45
不変群	8 11.6%	27 39.1%	6 8.7%	7 10.1%	11 15.9%	1 1.4%	2 2.9%	7 10.1%	69

(人数)

表3 出生都道府県の分布

	北海道 東北	関東	北陸 甲信越	東海	近畿	中国	四国	九州 沖縄	合計
改善群	6 13.3%	16 35.6%	5 11.1%	4 8.9%	4 8.9%	3 6.7%	2 4.4%	0 0.0%	40
不変群	5 7.2%	17 24.6%	6 8.7%	5 7.2%	10 14.5%	1 1.4%	1 1.4%	11 15.9%	56

(人数)

表4 初年度の自覚症状および血液生化学

	改善群			不変群			p値*
	人数	該当者	%	人数	該当者	%	
貧血症状	45	34	75.6%	69	57	82.6%	0.497
出血症状	45	39	86.7%	69	58	84.1%	0.910
発熱	45	29	64.4%	69	35	50.7%	0.211
血清鉄の上昇	40	29	72.5%	61	43	70.5%	1.000
不飽和鉄結合能の低下	36	27	75.0%	57	41	71.9%	0.932
フェリチンの増加	41	28	68.3%	63	46	73.0%	0.766

\*  $\chi^2$ 検定

表5 初年度の末梢血検査所見

	改善群*	不変群*	p値**
白血球 (/ $\mu$ l)	2075 $\pm$ 1405	1560 $\pm$ 872	0.031
赤血球 ( $\times 10^4$ / $\mu$ l)	238 $\pm$ 106	217 $\pm$ 90	0.132
ヘモグロビン (g/dl)	7.75 $\pm$ 2.46	7.25 $\pm$ 2.23	0.195
ヘマトクリット (%)	22.4 $\pm$ 6.7	20.8 $\pm$ 6.4	0.161
血小板 ( $\times 10^4$ / $\mu$ l)	2.03 $\pm$ 2.51	1.58 $\pm$ 2.18	0.161
網赤血球比率 (%)	4.85 $\pm$ 5.63	3.26 $\pm$ 3.44	0.295
網赤血球数 (/ $\mu$ l)	9359 $\pm$ 9363	6437 $\pm$ 6957	0.116
好中球百分率 (%)	6.5 $\pm$ 5.0	11.1 $\pm$ 9.6	0.009
好中球 (/ $\mu$ l)	113 $\pm$ 78	168 $\pm$ 205	0.291
好酸球百分率 (%)	0.7 $\pm$ 1.0	0.7 $\pm$ 1.4	0.603
好塩基球百分率 (%)	0.1 $\pm$ 0.3	0.7 $\pm$ 4.6	0.790
単球百分率 (%)	4.5 $\pm$ 14.3	3.3 $\pm$ 3.7	0.185
リンパ球百分率 (%)	85.0 $\pm$ 19.3	81.0 $\pm$ 19.2	0.101

\* 平均 $\pm$ 標準偏差

\*\* Mann-WhitneyのU検定

表6 初年度の治療状況

	改善群		不変群		p値*
無治療で経過観察	2	4.4%	2	2.9%	0.517
アンドロゲン療法	1	2.2%	8	11.6%	0.067
免疫抑制療法	32	71.1%	51	73.9%	0.452
成分輸血	26	57.8%	36	52.2%	0.347
サイトカイン類	16	35.6%	23	33.3%	0.481
	45名		69名		

\* Fisherの直接法

## 本邦における先天性各課不全症の臨床的遺伝学的特徴

研究協力者：猪口 孝一（日本医科大学 教授）

山口 博樹（日本医科大学 准教授）

### 研究要旨

先天性角化不全症(Dyskeratosis congenita(DKC))は重症型と考えられる Hoyeraal Hreidarsson syndrome (HHS) から軽症型の不全型 DKC までその病態や臨床像が多彩である。これまでアジア人における DKC の臨床的特徴や原因遺伝子の頻度を解析した研究はない。本研究は日本人における DKC の臨床的特徴、原因遺伝子の頻度などを明らかにすることが目的である。臨床的に DKC の診断となった 16 症例、HHS3 症例、不全型 DKC21 症例を解析した。本邦の DKC に関しては、発症年齢、性別や特徴的身体所見の頻度などはこれまでの欧米の報告とほぼ同等の結果が得られた。一方で DKC 症例は血小板数が白血球数やヘモグロビン値と比べて有意に低値であることが明らかになった。また *TERT* 遺伝子変異の大欠失による DKC 症例をはじめて発見した。本邦の HHS は、DKC の特徴的身体所見の頻度が低く、さらに 3 つの DKC の特徴的身体所見をすべて認める症例がなかった。また本邦の HHS は DKC の既知の遺伝子変異が認められていない。不全型 DKC は 11/21(52.4%)症例で既知の遺伝子変異が認められた。既知の遺伝子変異を認めない症例の確定診断は難しい。こうした症例を不全型 DKC と確定診断をするためには次世代シーケンサーによる新規の原因遺伝子変異の同定が必要である。

### 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、舌などの粘膜白斑症を伴う骨髄不全症(Bone marrow failure: BMF)で 10 歳前後までに約 80% 以上の症例にこれらの特徴的身体所見が付随し BMF を発症する。遺伝型式は X 連鎖劣性遺伝が約 35%、常染色体優性遺伝が約 15%、常染色体劣性遺伝が数%に認められるが、残りの約 40%近くが型式不明である。

DKC の責任遺伝子として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)*、*NOP10*、*NHP2*、Shelterin 複合体を構成する *TRF-interacting nuclear protein (TINF2)*、テロメラーゼ複合体を核内の Cajalbody に移行させる *TCAB1* が同定された。また近年 DNA ヘリカーゼの一つである

### *Regulator of Telomere Elongation Helicase 1*

(*RTEL1*)の変異が常染色体劣性遺伝の DKC やその重症型と考えられている Hoyeraal Hreidarsson syndrome (HHS) で発見された。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細胞に増殖障害が生じ上記の症候が形成されると考えられている。

また成人になって特徴的身体所見を伴わず緩徐に発症する不全型の DKC の存在が明らかになった。不全型の DKC は、臨床的には再生不良性貧血(AA)や骨髄異形成症候群(MDS)などの BMF と診断されていることが多く、BMF の 2-5%に末梢血単核球のテロメア長が短縮し、上述のテロメア関連遺伝子異常を認める不全型の DKC が報告されている。

DKC の病態形成には①テロメア関連遺伝子異常による細胞内の分子生物学的変異、②世代

促進、③加齢の3つ要因が重要である。不全型 DKC で認められた *TERC*、*TERT* 変異は haploinsufficiency 効果を示し、テロメラーゼ活性の減弱の程度が少なく、DKC の表現型となるにはある程度の世代促進や加齢が必要であると考えられる。以上のことからテロメア関連遺伝子変異のテロメア補正の障害が軽度で、世代促進や加齢が進んでいない場合は、細胞増殖や分裂が盛んな造血器のテロメア長が他の組織に先行して短縮化し、DKC の特徴的身体所見が出現せずに不全型の DKC となるのではないかと予想する。

DKC は網状色素沈着、爪の萎縮、舌などの粘膜白斑症といった特徴的身体所見、家族歴、テロメア長短縮、上述の原因遺伝子変異の同定などによって診断をする。しかしその重症型と考えられている HHS においては小頭症、小脳低形成、成長発達遅延、顔貌異常、B 細胞と NK 細胞数の低下、細胞性免疫不全などといった多彩な身体異常や免疫異常を認め、さらに DKC の特徴的身体所見を認めない場合もあり診断が難しい場合がある。一方で骨髄不全症以外の明らかな異常を認めない不全型 DKC は AA や MDS などの他の骨髄不全症との鑑別が難しい場合がある。また臨床的に DKC を考えた症例の中にはテロメア長の短縮の程度が軽度の場合や原因遺伝子が同定されない場合などもあり診断に苦慮をすることが少なくない。

このように DKC は重症型と考えられる HHS から軽症型の不全型 DKC までその病態や臨床像が多彩であるが、これまでの DKC の臨床症例の蓄積は主に欧米が中心でアジア人においては少数の症例報告のみである。欧米人以外の人種における DKC の臨床的特徴やその原因遺伝子の頻度などは明らかになっていない。本研究は日本人における DKC の臨床的特徴、原因遺伝子の頻度などを明らかにすることが目的である。

## B. 研究方法

本邦における臨床的に DKC が疑われた症例、DKC 以外の先天性骨髄不全症が否定的なテロメア長の短縮化を認めた家族性 BMF、免疫抑制療法に不応性 BMF でテロメア長の著明な短縮化を認めた症例、BMF を合併した家族性肺線維症の症例を対象とした。診断に関しては、皮膚の網状色素沈着、舌白斑症、爪の委縮のいずれかの身体異常とテロメア長の短縮を有する骨髄不全症症例を DKC の疑い症例とし、またそれ以外の症例を不全型 DKC 症例とした。

テロメア長解析はサザンブロット法の TeloTAGGG kit (ロッシュ社)、flow-fluorescence in situ hybridization (flow-FISH) 法の Telomere PNA kit (ダコ社)、Real time PCR 法を用いた。既知の遺伝子変異解析は、従来のサンガー法以外に一部の症例に関しては次世代シーケンサーにおける exon シーケンスならびにゲノムコピー数解析を用いた。

### (倫理面への配慮)

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. DKC や HHS 症例の臨床的特徴

本邦において臨床的に DKC の診断となった症例は 16 症例、HHS の診断となった症例は 3 症例あった。DKC は HHS と比較して有意に診断時年齢が高かった(DKC  $9.484 \pm 2.419$  vs HHS  $0.8333 \pm 0.1667$ ,  $p=0.003$ )。DKC と HHS は女性が 25%を占めた。家族歴は DKC の診断に重要な因子ではあるが、家族歴を認めた症例は DKC の 2 症例(12.5%)に認めるのみであった。DKC の特徴的身体所見に関しては、爪の委縮 15/16(93.75%)症例、皮膚の網状色素沈着 14/16(87.5%)症例、舌白斑症 13/16(81.3%)症例に認められ、これら 3 つの身体的異常すべて認める症例は 11/16(68.8%)症例であった。一方 HHS の特徴的身体所見に関しては、皮膚の網状色素沈着 3/3(100%)症例、爪の委縮 2/3(66.7%)症例、舌白斑症 1/3(33.3%)症例に認められたが、これら 3 つの身体的異常すべて認める症例は認められなかった。

### 2. DKC や HHS 症例の血液学的異常

DKC の血液学的異常に関しては、好中球数  $1000/\mu\text{l}$  以下は 1/16(6.3%)症例のみ、ヘモグロビン  $7\text{g/dl}$  以下も 1/16 症例(6.3%)のみに認められたのに対して、血小板数  $20000/\mu\text{l}$  以下は 7/16(43.8%)症例に認められた。DKC の診断時の血液学検査では 3 系統の血球の中で血小板低下が顕著であった。HHS の血液学的異常に関しては症例数が少ないため明らかな結論は出せないが、好中球数  $1000/\mu\text{l}$  以下は 1/3 (33.3%)症例のみ、血小板数  $20000/\mu\text{l}$  以下も 1/3 (33.3%)症例のみに認められたのに対して、Hb $7\text{g/dl}$  以下は 2/3(66.7%)症例に認められた。

骨髄検査に関しては、DKC の 1 症例以外で解析が行われ、全症例低形成髄で病的染色体異常は認められなかった。

### 3. DKC や HHS 症例のテロメア長解析とテロメア長遺伝子変異解析

テロメア長解析は、DKC では 7/16(43.8%)症例で解析が行われ、6/7(85.7%)の症例でテロメア長の短縮が認められた。HHS では 2/3(66.6%)で解析が行われ、2/2(100%)の症例でテロメア長の短縮が認められた。

DKC のテロメア制御遺伝子変異に関しては、11/16(68.7%)症例に認められた(*DKC1* 変異が 5 症例、*TINF2* 変異が 3 症例、*TERT* 変異が 2 症例、*TERC* 変異が 1 症例、変異が同定されなかった症例が 5 症例)。一方 HHS に関しては 3 症例ともに原因遺伝子変異は同定されなかった。

この中で、*TERT* 変異 c.1002\_1004del;p.334\_335del をホモで認めた症例に関しては、次世代シーケンサーによるゲノムコピー数解析にて染色体 5 番の *TERT* 遺伝子をコードする領域に片アレルの大欠失を認めた。*TERT* 遺伝子変異の大欠失の症例ははじめての報告になる。この症例の家族解析を行うと、*TERT* 変異をホモで認めた症例は、テロメア長の著明な短縮を認め、5 歳児より DKC の表現型で発症し、HHS で認められるような免疫不全の合併により重篤な感染症を繰り返しており DKC の重症型であると診断されている。一方 *TERT* の片アレルの大欠失のみを認める弟は、テロメア長短縮は認めるが 6 歳時まで DKC の臨床症状や血液学的異常は示していない。また *TERT*c.1002\_1004del;p.334\_335del ヘテロ変異を有する母は経度の貧血は認めるが、テロメア長短縮は認めていない。

#### 4. 不全型 DKC の臨床的特徴、血液学的異常、テロメア長解析とテロメア長遺伝子変異解析

不全型 DKC は 21 症例診断された。DKC の診断前の臨床的診断は、11 症例は再生不良性貧血、3 症例は骨髓異形成症候群、3 症例は家族性肺線維症と診断されていた。診断時年齢は  $20.50 \pm 4.674$  で、DKC ( $p=0.045$ ) や HHS ( $p<0.001$ ) と比較して有意に高かった。不全型 DKC は 7/21 (33.3%) 症例が女性であった。家族歴を認めた症例は 6/21 (28.6%) と DKC や HHS と比較して多く認めた。BMF 以外の合併症としては、肺線維症が 3 症例、発達障害を 2 症例、肝障害 1 症例、腎障害 1 症例を認めた。診断時血液学的異常に関しては、好中球数  $1000/\mu\text{l}$  以下は 4/21 (19.0%) 症例、ヘモグロビン  $7\text{g/dl}$  以下は 6/21 症例 (28.6%)、血小板数  $20000/\mu\text{l}$  以下は 7/21 (33.3%) 症例に認め、不全型 DKC の診断時血液学検査では DKC の様に血小板減少を認める症例が顕著に多いということとはなかった。骨髓検査に関しては、19 症例で行われ、17 症例は低形成髄で、1 症例に -10 の染色体異常が認められた。

#### 5. 不全型 DKC のテロメア長解析とテロメア長遺伝子変異解析

テロメア長解析は全症例で行われ、1 症例が正常下限であったが、その他の症例は全例著明なテロメア長の短縮が認められた。テロメア制御遺伝子変異に関しては、11/21 (52.4%) 症例で遺伝子変異が認められた (*TERT* 変異 5 症例、*TINF2* 変異 3 症例、*RTEL1* 変異 2 症例 (1 家系)、*TERC* 変異 1 症例)。*RTEL1* 変異は両アレル変異、その他の変異はヘテロ変異であった。*RTEL1* 変異は常染色体劣性遺伝形式で HHS に多く発見された遺伝子変異ではあるが、この 2 症例は明らかな DKC の特徴的な身体的異常を認めず、*RTEL1* 変異を有する初めての不全

型 DKC である。またこの 2 症例の片アレルの *RTEL1* 変異を有している両親は身体的異常や血液学的異常を認めないが、テロメア長の著明な短縮を認めている。

#### D. 考察

本研究によって日本人における DKC、HHS、不全型 DKC の臨床的特徴や原因遺伝子の頻度などが明らかになった。

DKC に関しては発症年齢、性別や特徴的身体所見の頻度などはこれまでの欧米の報告とほぼ同等の結果が得られた。一方で DKC 症例は血小板数が白血球数やヘモグロビン値と比べて有意に低値であることが明らかになった。この結果を反映しているのか今回の研究対象症例において DKC の診断がつく前の臨床的診断は特発性血小板減少性紫斑病が約 1/5 を占めていた。また遺伝子変異に関しては *TERC* 変異がやや少ない傾向があったが、この結果が日本人の DKC 症例の遺伝子変異の特徴なのかはさらなる症例の解析が必要であると考えられる。また次世代シーケンサーによるゲノムコピー数解析にて染色体 5 番の *TERT* 遺伝子をコードする領域に片アレルの大欠失と *TERT* 変異 c.1002\_1004del:p.334\_335del を認める DKC 症例を発見した。*TERT* 遺伝子変異の大欠失の症例ははじめての報告になるが、原因遺伝子変異が発見されない DKC 症例の中にはこのような既知の原因遺伝子の大欠失が原因の症例が含まれている可能性がある。

HHS に関しては、症例数が少ないため明確な結果を示すことは出来なかった。しかし HHS は DKC の特徴的身体所見の頻度が低く、3 つの特徴的身体所見をすべて認める症例はなかった。HHS は DKC に認められる特徴的身体所見がそろわず、DKC に認められない他の身体異常や免疫異常が認められている。また本邦の HHS と診断された症例は、テロメア長解析が

行われた症例は100%テロメア長の短縮が認められるが、DKCの既知の遺伝子変異は認められていない。以上よりHHSはDKCの重症型という考え方より、テロメア制御異常によって発症するDKCとは異なる先天性BMFが含まれるのではないかと考える。

不全型DKCに関してはテロメア制御遺伝子変異を認めた不全型DKCに関してはその診断は問題ないと考え。しかしテロメア制御遺伝子変異を認めない不全型DKC症例に関しては、はたして不全型DKCと診断していいのか？という疑問が残る。確かに再生不良性貧血の一部の症例ではテロメア長の-2SD以上の短縮を認めるとの報告がある。今回の対象となった21症例の不全型DKC症例は、テロメア長短縮をしたBMFに家族歴がある、家族性肺線維症がある、免疫抑制療法が不応であったなどを認める症例を解析対象としたが、この中にはテロメア長の短縮を認める他のBMFが含まれている可能性も完全には否定できない。こうした症例を不全型DKCと確定診断をするためには次世代シーケンサーによる新規の原因遺伝子変異の同定が必要である。

#### E. 結論

本邦のDKCに関しては、発症年齢、性別や特徴的身体所見の頻度などはこれまでの欧米の報告とほぼ同等の結果が得られた。一方でDKC症例は血小板数が白血球数やヘモグロビン値と比べて有意に低値であることが明らかになった。また *TERT* 遺伝子変異の大欠失によるDKC症例をはじめて発見した。

本邦のHHSは、DKCの特徴的身体所見の頻度が低く、さらに3つのDKCの特徴的身体所見をすべて認める症例はなかった。また本邦のHHSはDKCの既知の遺伝子変異が認められていない。以上よりHHSの疾患概念にはDKCの重症型という考え方だけでなく、テロメア制御異常によって発症するDKCとは異なる先天性B

MFが含まれるのではないかと考える。

不全型DKCに関しては、既知の遺伝子変異を認めない症例の確定診断は難しい。こうした症例を不全型DKCと確定診断をするためには次世代シーケンサーによる新規の原因遺伝子変異の同定が必要である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

「Tanino Y, **Yamaguchi H**, Fukuhara A, Munakata M. Pulmonary fibrosis associated with TINF2 gene mutation: is somatic reversion required? Eur Respir J. 2014 Jul;44(1):270-1.

##### 2. 学会発表

1. **Hiroki Yamaguchi**, Hirotoishi Sakaguchi, Kenichi Yoshida, Miharuru Yabe, Hiromasa Yabe, Yusuke Okuno, Hideki Muramatsu, Shunsuke Yui, **Koiti Inokuchi**, Etsuro Ito, Seishi Ogawa, Seiji Kojima. The clinical and genetic features of dyskeratosis congenita, cryptic dyskeratosis congenita, and Hoyeraal-Hreidarsson syndrome in Japan. The 56<sup>th</sup> American society of hematology annual meeting, San Francisco, 2014.

#### 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

## 特発性造血障害に対する造血幹細胞移植

研究協力者：豊嶋 崇徳（北海道大学医学研究科血液内科・教授）

研究要旨：骨髄異形性症候群/骨髄増殖腫瘍に対する移植後大量シクロホスファミドを用いた HLA 半合致移植を 2 例に実施した。生着は順調で、急性移植片対宿主病は発症せず、本法はドナーの得られない患者に移植医療を迅速に提供できる可能性が示唆された。

### A. 研究目的

少子高齢化社会を迎えた日本では、HLA 適合同胞ドナーの確保が困難となり、移植が必要な患者に遅滞なく移植医療を提供する体制を整備する必要がある。HLA 半合致移植はこの目的に合致し、とくに移植後大量シクロホスファミドを用いた HLA 半合致移植の日本人の骨髄異形性症候群/骨髄増殖腫瘍での安全性と有効性を検討する。

### B. 研究方法

2013 年 5 月より全国多施設共同第 II 相試験として、移植後大量シクロホスファミドを用いた血縁者間 HLA 半合致移植の安全性と有効性の検討 JSCT-Haplo13 試験、2014 年からは JSCT-Haplo14 試験を実施した。この中で、慢性骨髄単球性白血病 (CMML) 1 例、骨髄異形成症候群由来白血病 (MDS-AML) 1 例で本法を用いた移植を実施した。

(倫理面への配慮)

本研究は IRB の承認をえており、対象者に対する人権擁護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明と同意 (インフォームド・コンセント) を取得した。

### C. 研究結果

2 例ともに移植が必要な状況であったが、血縁に HLA 適合ドナーはえられず、骨髄、臍帯血バンクにもドナーが見つからなかった。そこで家族の HLA 半合致ドナーより末梢血幹細胞を採

取し、移植を実施することができた。生着は 14 日目、19 日目に得られ、安定した造血が維持された。2 例とも HLA 半合致移植であるにもかかわらず急性 GVHD の発症はみられなかった。

### D. 考察

本法は日本人に対しても安全であり HLA バリアを打破できる可能性が示唆された。

### E. 結論

ドナーの得られない骨髄異形性症候群/骨髄増殖腫瘍に対し、移植医療を迅速に提供できる可能性が示唆された。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

● Koyama M, Hashimoto D, Nagafuji K, Eto T, Ohno Y, Aoyama K, Iwasaki H, Miyamoto T, Hill GR, Akashi K, Teshima T: Expansion of donor-reactive host T cells in primary graft failure after allogeneic hematopoietic SCT following reduced-intensity conditioning.

Bone Marrow Transplant 2014,49(1):110-115

● Shono Y, Shiratori S, Kosugi-Kanaya M, Ueha S, Sugita J, Shigematsu A, Kondo T, Hashimoto D, Fujimoto K, Endo T, Nishio M, Hashino S, Matsuno Y, Matsushima K, Tanaka J, Imamura M,