

貧血を認め当科転院。骨髓検査にて赤芽球著明な減少を認めた。また、直接・間接クームス陽性、ハプトグロビンの低下を認め、自己免疫学的な機序による赤芽球癆と診断した。PSL 1 mg/kg より開始し、一旦は改善したものの再燃あり、2 mg/kg まで増量。CSA を導入した。導入後 Hb は改善し、PSL 漸減開始した。経過中に可逆性後頭葉白質脳症 (PRES) を発症し、CSA は中止したが、その後も再燃なく PSL を漸減できている。

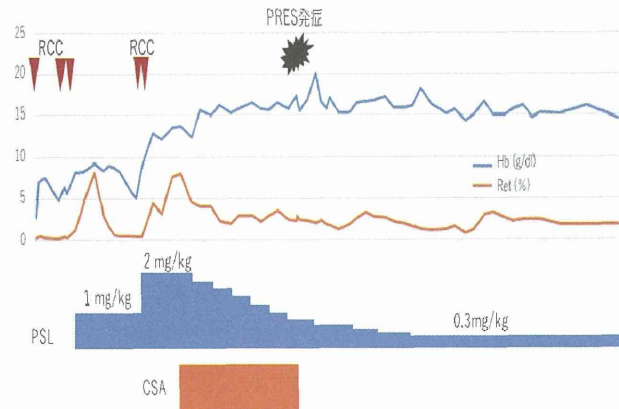


図 1. CSA が奏効した赤芽球癆の経過

症例 2: 寒冷暴露後重度溶血性貧血を発症した 31 生日男児。IgM 型冷式自己抗体による自己免疫性溶血性貧血と診断した。ステロイド (経口・パルス療法)、 γ グロブリン大量及び CSA は無効で輸血依存となり交換輸血を繰り返した。B 細胞の単クローン増殖も明らかな基礎疾患もなかった。頻回輸血のため除鉄が進まずヘモクロマトーシスの危険性から、発症後 1 か月時に Rituximab を投与した (375 mg/m²/day×2 回)。貧血は速やかに改善し、投与 3 か月後に末梢 B 細胞が出現した。以後、1 歳 4 か月現在まで溶血性貧血の再燃はない。

症例 3: アフリカ人父と日本人母を持つ小球性低色素性貧血 (Hb 7 g/dl、MCV 72 fl) の 3 か月男児。新生児期に黄疸を認め光線療法を施行後は黄疸なし。父に貧血はなかったが、家族歴から鎌状赤血球症を疑い $\alpha\beta$ 両 globin 遺伝子解析から、児と父の異常ヘモグロビン症 (HbS、ヘテロ型) と父の無症候性 α サラセミアを診断した。

2) 汎血球減少の新生児

症例 1: 35 週で出生した低出生体重の男児。奇形徴候はなし。出生時より汎血球減少と B 細胞欠

損を認め、3 生日に頭蓋内出血を来した。出生後も汎血球減少が持続し輸血依存となった。10 生日頃より輸血頻度が低下し、白血球数も緩やかに上昇し、末梢に B 細胞が出現した。42 生日以降は輸血不要となり、生後 4 か月時に血球数はほぼ正常化した。Ikaros 欠損症を疑い解析を進めている。

症例 2: 胎児水腫、牛眼に汎血球減少、進行性肝不全を合併した極低出生体重児の女児。HLA 一致非血縁臍帯血移植を行い day30 に split chimera となった。既知の疾患に合致するものはなく網羅的遺伝子解析を進めている。

3) その他

新生児期に Hb5 で発症した CDA 疑い家系、難治性 Kasabach-Merritt 現象を伴う血管腫の新生児例、治療抵抗性 DBA 7 名の解析と治療を進めた。

D. 考察

DBA と鑑別を要する新生児から乳児早期に発症する貧血症例は多様で、無効造血と溶血の鑑別が難しい上にクームス陽性でも赤芽球癆を呈する例に遭遇した。また、原因遺伝子の変異のみならず、鎌状貧血父子のように modifier が表現型に影響することがある。診断困難な例にはターゲットリシークエンスや全エクソーム解析が必要である。

E. 結論

DBA と鑑別を要する先天性造血不全症の確定診断には、症候分類による効率的スクリーニングの確立と網羅的遺伝子解析の臨床応用が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Wang R, Yoshida K, Toki T, Uechi T, Sawada T, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Kudo K, Kamimaki I, Kanazaki R, Shiraishi Y, Chiba K, Terui K, Sato T, Iribe Y, Ohga S, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Kanno H, Kojima S, Miyano S, Kenmochi N, Ogawa S, Ito E. Loss of function mutations in RPL27 and RPS27 identified by whole-exome sequencing in Diamond-Blackfan Anemia. *Br J Haematol.* 2015;168:854-864.

いずれもなし

- 2) Maeba S, Hasegawa S, Shimomura M, Ichimura T, Takahashi K, Motoyama M, Fukunaga S, Ito Y, Ichiyama T, Ohga S. Successful treatment of corticosteroid with antiviral therapy for a neonatal liver failure with disseminated herpes simplex virus infection. *Am J Perinatol*. 2015;5(2): e089-92.
- 3) Okada S, Hasegawa S, Suzuki Y, Ichimura T, Kaneyasu H, Shimomura M, Wakabayashi-Takahara M, Nakamura K, Kobayashi M, Ohga S. Remission of autoimmune neutropenia after the development of Kawasaki disease. *Pediatr Int*. 2015;57(5):1012-4.

2. 学会発表

- 1) Ikeda F, Yoshida K, Toki T, Kanazaki R, Terui K, Sasahara Y, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Shiraishi Y, Chiba K, Muramatsu H, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Uechi T, Kenmochi N, Miyano S, Ogawa S, Ito E. Exome sequencing identified RPS15A as a novel causative gene in a Diamond-Blackfan anemia family. 第 77 回日本血液学会学術集会 (2015 年 10 月 16-18 日, 金沢).
- 2) 太田陽香, 市村卓也, 下村麻衣子, 飯田恵庸, 寺地真一, 大賀正一. Rituximab により寛解に至った難治性自己免疫性溶血性貧血の乳児例. 第 126 回日本小児科学会山口地方会 (2015 年 7 月 12 日, 宇部).
- 3) 青木貴子, 岩崎拓也, 小倉浩美, 浅井隆善, 土居崎小夜子, 奥野友介, 村松秀城, 大賀正二, 小川誠司, 小島勢二, 菅野仁. 先天性貧血症の鑑別診断における次世代シーケンスの有用性. 日本人類遺伝学会第 60 回大会 (2015 年 10 月 14-17 日, 東京).

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

先天性骨髄不全症の登録システムの構築と診断ガイドラインの作成に関する研究

小児期造血障害疾患登録による赤芽球癆など先天性遺伝性貧血の疫学データベース構築

研究分担者 小原 明（東邦大学医学部小児科 教授）

研究要旨：日本小児血液・がん学会疾患登録事業を一次調査とする小児期発症の造血障害疾患のデータベースを構築し、遺伝性貧血の症例把握に努めた結果、2006～2014年に新規診断 Diamond Blackfan 貧血症例は74例、特発性赤芽球癆は40例であった。また、2008～2014年の期間の鉄芽球性貧血は5例、Congenital dyserythropoietic anemia は3例であった。このデータベースの検証と、適切な二次情報の収集項目を求める事を目的に、小児慢性特定疾患医療費助成意見書データを参照して「先天性赤芽球癆・赤芽球癆」診断で申請した症例を34例検討した。2つのデータベース間には症例数の違いがあり、病名の不統一、診断基準適用の問題などが明らかとなったが、一方で学会疾患登録では把握できていない臨床情報が得られていた。この成果を踏まえて次年度は、「小児造血障害」データベース特異的な調査項目を順次整理する。

A. 研究目的

【背景】

稀少疾患である遺伝性貧血は、診断法や治療開発に疫学データベースの必要性が高い。日本小児血液・がん学会疾患登録事業調査結果を一次調査とする小児期発症の造血障害疾患のデータベースを構築し、Diamond Blackfan 貧血（DBA）を始めとする小児期造血障害疾患の症例把握に努めた。また、本年度は小児慢性特定疾患医療費助成データ（以下、小慢データ）を参照した。

【目的】

本邦の小児期造血障害疾患症例を悉皆性高く収集して疫学データベース構築する。日本小児血液・がん学会疾患登録事業を一次調査とした疫学観察研究を基盤とした小児期造血障害疾患の詳細なデータベース構築を目指す。同時に、本データベースの検証と適切なデータベース収集項目を探索的に求めることを目的に、同時期の小慢データを検討した。

B. 研究方法

本研究班の研究では疫学観察研究として実施し、治療介入は行わない。日本小児血液・がん学会会員

240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 登録にて実施される。構築されるデータベースには小児期発症の造血障害全般を網羅し、遺伝性貧血症例に限定はしない。学会では中央診断システムが活動し、診断困難例の確定診断に用いられている。

今回は、許諾を得て小慢データを利用し、同助成意見書病名「先天性赤芽球癆・赤芽球癆」データと本データベースを比較検討し、小慢データの利用可能性について試験的に検討した。

（倫理面への配慮）

疾患登録事業研究計画は、日本小児血液・がん学会臨床研究審査委員会の倫理審査承認を得た。疾患遺伝子診断情報を含む二次調査は本年度実施していない。倫理審査を承認後に実施する。

小慢データは主治医意見書を元にしており患者自由意思により申請される。患者は意見書作成時に研究資料提供に同意している。また、本研究者には匿名化されて提供された。

C. 研究結果

2006～2014年診断登録症例数を表に示す(表1)。

- a. 疾患登録(一次調査)症例: 2014年診断症例は、日本小児血液・がん学会会員232施設の74%に相当する171施設が登録した。新規診断DBA症例は74例、特発性赤芽球癆は40例、2008年から2014年の鉄芽球性貧血は5例、Congenital dyserythropoietic anemiaは3例であった。
- b. 小児慢性疾患医療助成には平成24年に101件の「先天性赤芽球癆・赤芽球癆」が申請されていた。24年の新規申請件数は13件、そのうち24年新規診断症例は6であり、88件は継続申請であった。この症例数は疾患登録データと異なっている(表2)。意見書病名の先天性赤芽球癆、DBA症例の診断時年齢は乳児期であったが、赤芽球癆病名は1歳以上14歳までにも分布しており(図)、疾患登録データベースIdiopathic PRCA症例が少なからず混入している可能性が高い。古典的DBA診断基準や、DBA遺伝子診断に準拠していない、または合致しない症例が病名赤芽球癆として含まれている可能性が高い。
- c. 小児慢性疾患医療助成の継続申請88件の医療状況は、診断時よりも改善が29例、寛解18例(合計47例53%)、不変37例、無記入4例であった。不変37例では22例がステロイド薬投与中。11例が徐鉄治療中であった。輸血依存性についてはデータが収集されていなかった。

D. 考察

日本小児血液・がん学会疾患登録事業は、2006年に開始され、会員施設において診断された全ての血液疾患を対象にした全数把握疫学研究事業である。このデータベースは基礎情報のみであり、診断方法の開発、適切な診断基準の改正、治療研究の基礎資料に資する為には詳細(二次)データの収集、症例をコホート化した追跡調査研究が必要である。本研究成果の基礎データベースに基づき、二次データの収集を企画している。

一方、小児慢性特定疾患医療費助成は、公的助成事業であり、主治医意見書に基づいて患者自由意思により申請されている。学会疾患登録よりも広い臨床情報収集を期待した。今回の小慢データとの比較

検討では、学会疾患登録との病名の不統一、古典的DBA診断基準適用の有無、申請者の自由意思などによると想像される年度症例数の違いが明らかになった。一方で、学会疾患登録では把握できていない臨床情報が得られており、今後の疾患データベース構築の際の必要項目設定の参考になった。また、小慢データは診断後長期になると継続申請症例数が減少するので、長期フォローアップ、コホート研究には不向きであることも明らかであった。

以上の成果を踏まえて次年度は、「小児造血障害」データベース特異的な調査項目を順次整理する。その際には、海外の同様のデータベースと比較検討できる共通基本項目を海外との情報交換で調査整備する必要がある。

E. 結論

学会疾患登録事業一次調査情報データベースを小慢データと比較し、詳細な二次データを含む「小児造血障害」データベース構築の基盤が整った。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Wang R, Yoshida K, Toki T, Sawada T, Uechi T, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Kudo K, Kamimaki I, Kanazaki R, Shiraiishi Y, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Sato T, Iribe Y, Ohga S, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Ohara A, Hara J, Goi K, Matsubara K, Koike K, Ishiguro A, Okamoto Y, Watanabe K, Kanno H, Kojima S, Miyano S, Kenmochi N, Ogawa S, Ito E. Loss of function mutations in RPL27 and RPS27 identified by whole-exome sequencing in Diamond-Blackfan anaemia. *Br J Haematol.* 2015;168(6):854-864.
- 2) Hama A, Takahashi Y, Muramatsu H, Ito M, Narita A, Kosaka Y, Tsuchida M, Kobayashi R, Ito E, Yabe H, Ohga S, Ohara A, Kojima S. Comparison of long-term outcomes between children with aplastic anemia and refractory cytopenia of childhood who received immunosuppressive therapy with antithymocyte globulin and cyclosporine.

Haematologica. 2015;100(11):1426-1433.

- 3) Narita A, Muramatsu H, Sekiya Y, Okuno Y, Sakaguchi H, Nishio N, Yoshida N, Wang X, Xu Y, Kawashima N, Doisaki S, Hama A, Takahashi Y, Kudo K, Moritake H, Kobayashi M, Kobayashi R, Ito E, Yabe H, Ohga S, Ohara A, Kojima S; Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and telomere length predicts response to immunosuppressive therapy in pediatric aplastic anemia. *Haematologica*. 2015;100 (12):1546-1552.
- 4) Ikeda F, Toki T, Kanazaki R, Terui K, Yoshida K, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Ogawa S, Ito E. ALDH2 polymorphism in patients with Diamond-Blackfan anemia in Japan. *Int J Hematol*. 2016;103 (1):112-114,

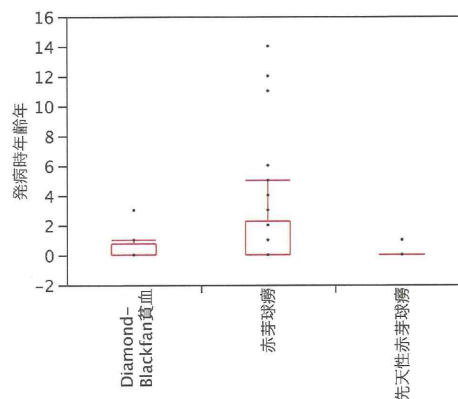
2. 学会発表

研究期間に本研究に関連する学会発表はない。

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

図. 小慢データにみる診断時年齢分布
年齢分布



月齢分布

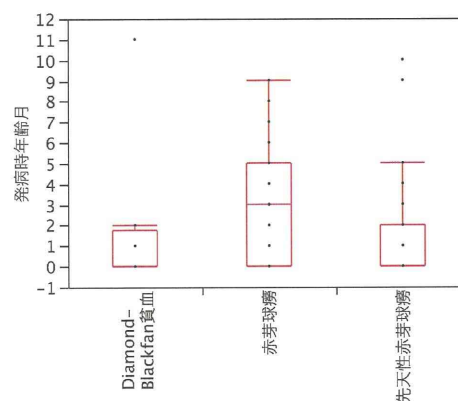


表 1.

Diagnosis / Year	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
Hospitals (registered/member)	184 / 223	204 / 231	212 / 235	213 / 236	216 / 239	216 / 239	219 / 242	212 / 230	171 / 232
(%)	83%	88%	90%	90%	90.3%	90.4%	90.5%	92%	74%
Idiopathic AA	58	62	68	68	55	62	49	49	38
Hepatitis AA	5	8	11	7	13	5	11	1	3
AA / PNH	2	1	1	0	1	0	0	0	0
Fanconi Anemia	5	4	6	1	4	2	6	5	3
Diamond-Blackfan	9	6	9	10	6	9	6	10	9
Idiopathic PRCA	1	4	5	8	5	7	6	4	0
Schwachman-Diamond	0	1	1	2	0	0	2	2	0
Cong. Dyserythropoietic anemia	No data	·	1	0	0	1	0	0	1
Sideroblastic anemia	No data	·	2	1	1	0	1	0	0
Svere Cong. Neutropenia	2	1	2	0	3	4	4	1	2
Cyclic Neutropenia	1	3	2	3	2	3	5	3	0
Dyskeratosis congenita	1	0	0	1	1	0	0	0	1
Cong. Thrombocytopenia	No data	·	·	·	·	·	12	11	16
Idiopathic Thrombocytopenia	No data	·	·	·	·	·	406	348	316
Cong. Spherocytosis	No data	·	·	·	54	49	26	32	37
Cong. Elliptocytosis	No data	·	·	·	2	1	1	2	1
G6PD deficiensy	No data	·	·	·	5	5	3	1	5
PK deficiency	No data	·	·	·	0	0	0	0	0
other erythrocyte enzyme def.	No data	·	·	·	2	0	0	0	0
Sickel cell disease	No data	·	·	·	1	1	0	0	1
Unstable hemoglobinopathy	No data	·	·	·	1	0	0	0	0
Thalasemia	No data	·	·	·	18	16	11	8	7
other hemoglobinopathy	No data	·	·	·	0	0	0	1	0

表 2.

診断年	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014
日本小児血液・がん学会疾患登録に基づく症例数（登録症例数）									
Diamond-Blackfan	9	6	9	10	6	9	6	10	9
Idiopathic PRCA	1	4	5	8	5	7	6	4	0
小児慢性疾患医療費助成制度に基づく症例数（助成申請症例の診断年度別症例数）									
先天性赤芽球癆・赤芽球癆	8	7	6	9	5	6	8	No data	No data

先天性骨髄不全症の登録システムの構築と診断ガイドラインの作成に関する研究

DBA の遺伝子診断・診療ガイドラインの作成

研究分担者 照井君典（弘前大学大学院医学研究科小児科学 准教授）

研究要旨： Diamond Blackfan 貧血 (DBA) は、赤血球造血のみが障害される稀な先天性赤芽球癆である。原因遺伝子として 12 種類のリボソームタンパク (RP) 遺伝子と *GATA1* 遺伝子が同定されているが、我が国の DBA 患者の約半数は原因遺伝子が不明である。本年度は、新規症例 15 例の遺伝子診断を行い、8 例で既知の原因遺伝子の変異を同定した。また、サンガーシーケンスや次世代シーケンサーを用いたターゲットシーケンスを行っても原因遺伝子が不明な 4 家系 21 名（非罹患者も含む）について全エクソン解析を行った。その結果、臨床的に DBA と診断されていた 2 家系が、他の先天性骨髄不全症であることが判明した。1 家系 3 症例では *TERT* 遺伝子に変異が認められ、先天性角化不全症 (DKC) と診断された。他の 1 家系 2 症例では *SBDS* 遺伝子に変異が認められ、Schwachman-Diamond 症候群 (SDS) と診断された。先天性骨髄不全症では臨床的に診断困難な症例が存在するため、正確な遺伝子診断法を確立することが重要である。

A. 研究目的

Diamond Blackfan 貧血 (DBA) は、赤血球造血のみが障害される稀な先天性赤芽球癆である。原因遺伝子として 12 種類のリボソームタンパク (RP) 遺伝子と *GATA1* 遺伝子が同定されているが、我が国の DBA 患者の約半数は原因遺伝子が不明である。本研究の目的は、既知の原因遺伝子を解析して DBA の遺伝子診断を行うとともに、未知の原因遺伝子を同定して、より正確な遺伝子診断法を確立することである。

B. 研究方法

最初に、DBA で遺伝子変異が報告されている 12 種類の RP 遺伝子 (*RPS7*, *RPS10*, *RPS17*, *RPS19*, *RPS24*, *RPS26*, *RPL5*, *RPL11*, *RPL26*, *RPL35a*) と *GATA1* 遺伝子について、次世代シーケンサー (MiSeq) を用いてターゲットシーケンスを行った。次に、定量的 PCR 法と SNP アレイ法により RP 遺伝子の欠失を解析した。

この検索によっても原因遺伝子を同定できなかった臨床検体について、次世代シーケンサーを用い

た全エクソーム解析を行った。ヒト全エクソン領域をベイトと呼ばれる RNA ライブラリーを用いて溶液中でキャプチャーし、イルミナ社の高速シーケンサー HiSeq2000 で網羅的な解析を行った。得られた遺伝子異常は、サンガーシーケンスや次世代シーケンサーを用いたターゲットシーケンスにより確認した。アミノ酸置換を生じる翻訳領域の一塩基多型が多数見つかりと予想されるため、家族内の罹患者や非罹患者も解析し、結果を比較することにより原因遺伝子の候補を絞り込み、新規遺伝子変異の同定を試みた。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針に従い、弘前大学医学部倫理委員会の承認を得て、患者および家族に十分な説明を行い、文書による同意を得たのち、検体を連結可能匿名化して解析を行った。

C. 研究結果

本年度は、新規症例 15 例の遺伝子診断を行い、8

例で既知の原因遺伝子の変異を同定した (*RPS19* 4例、*RPL112* 例、*RPS71* 例、*RPS241* 例)。

また、次世代シーケンサーを用いたターゲットシーケンスや大欠失の解析を行っても原因遺伝子が不明な4家系21名(非罹患家族も含む)について、全エクソン解析を行った。その結果、臨床的にDBAと診断されていた2家系が他の先天性骨髄不全症であることが判明した。1家系3症例では *TERT* 遺伝子に変異が認められ、先天性角化不全症 (DKC) と診断された。他の1家系2症例では *SBDS* 遺伝子に変異が認められ、Schwachman-Diamond 症候群 (SDS) と診断された。

また、RP 遺伝子以外の新規原因候補遺伝子も同定し、解析を進めている。

D. 考察

我が国のDBAは、まだ約半数が原因遺伝子不明である。本年度の遺伝子解析においても、遺伝子変異が判明したのは15例中8例であった。新規原因遺伝子を同定するために、原因遺伝子が不明な4家系21名(非罹患家族も含む)について全エクソン解析を行ったところ、臨床的にDBAと診断されていた2家系が他の先天性骨髄不全症であることが判明した。先天性骨髄不全症では、臨床的に診断困難な症例が存在するため、正確な遺伝子診断法を確立することが重要である。

また、RP 遺伝子以外の新規原因候補遺伝子も同定し、現在解析を進めているところである。

E. 結論

既知の原因遺伝子の解析は順調に行われている。先天性骨髄不全症では、臨床的に診断困難な症例が存在するため、正確な遺伝子診断法を確立することが重要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Umeda K, Adachi S, Horikoshi Y, Imai K, Terui K, Endo M, Mitsui T, Kato K, Koh K, Kajiwara R, Ito R, Otsuka Y, Inoue M, Ishii E, Yabe H. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for Chediak-Higashi

syndrome. *Pediatr Transplant*. 2015 Oct 29. [Epub ahead of print]

- 2) Ikeda F, Toki T, Kanazaki R, Terui K, Yoshida K, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Ogawa S, Ito E. ALDH2 polymorphism in patients with Diamond-Blackfan anemia in Japan. *Int J Hematol*. 2016;103:112-4.
- 3) Taga T, Watanabe T, Tomizawa D, Kudo K, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Md SI, Md HN, Md HT, Md AS, Taki T, Toki T, Ito E, Goto H, Koh K, Saito AM, Horibe K, Nakahata T, Tawa A, Adachi S. Preserved High Probability of Overall Survival with Significant Reduction of Chemotherapy for Myeloid Leukemia in Down Syndrome: A Nationwide Prospective Study in Japan. *Pediatr Blood Cancer*. 2016;63:248-54.
- 4) Ishida H, Kato M, Kudo K, Taga T, Tomizawa D, Miyamura T, Goto H, Inagaki J, Koh K, Terui K, Ogawa A, Kawano Y, Inoue M, Sawada A, Kato K, Atsuta Y, Yamashita T, Adachi S. Comparison of Outcomes for Pediatric Patients With Acute Myeloid Leukemia in Remission and Undergoing Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation With Myeloablative Conditioning Regimens Based on Either Intravenous Busulfan or Total Body Irradiation: A Report From the Japanese Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015;21:2141-7.
- 5) Takahashi T, Inoue A, Yoshimoto J, Kanamitsu K, Taki T, Imada M, Yamada M, Ninomiya S, Toki T, Terui K, Ito E, Shimada A. Transient myeloproliferative disorder with partial trisomy 21. *Pediatr Blood Cancer*. 2015;62:2021-4.
- 6) Tomizawa D, Watanabe T, Hanada R, Horibe K, Horikoshi Y, Iwamoto S, Kinoshita A, Moritake H, Nakayama H, Shimada A, Taga

- T, Takahashi H, Tawa A, Terui K, Hori H, Kawano Y, Kikuta A, Manabe A, Adachi S. Outcome of adolescent patients with acute myeloid leukemia treated with pediatric protocols. *Int J Hematol*. 2015;102: 318-26.
- 7) 照井君典, 金崎里香, 土岐力, 伊藤悦朗. ダウン症候群に伴う TAM 発症の分子機構. *日本産婦人科・新生児血液学会誌* 2015;25:49-54.
- 8) 野村優子, 宮内潤, 太田栄治, 柳井文男, 宮下俊之, 照井君典, 伊藤悦朗, 廣瀬伸一. 2 ヶ月後に芽球が再増加した一過性骨髄異常増殖症の超早産児例. *日本小児血液・がん学会雑誌* 2015; 52:36-39.
2. 学会発表
- 1) Ikeda F, Yoshida K, Toki T, Kanazaki R, Terui K, Sasahara Y, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Shiraiishi Y, Chiba K, Muramatsu H, Kanno H, Ohga S, Ohara Aa, Kojima S, Uechi T, Kenmochi N, Miyano S, Ogawa S, Ito E. Exome sequencing identified RPS15A as a novel causative gene in a Diamond-Blackfan anemia family. 第 77 回日本血液学会学術集会 (2015 年 10 月 16-18 日, 金沢).
- 2) Terui K, Hanada I, Ikeda F, Ito T, Toki T, Kanazaki R, Sato T, Kamio T, Kudo K, Sasaki S, Takahashi Y, Hayashi Y, Inukai T, Hori H, Ito E. Gene alterations in Down syndrome-associated acute lymphoblastic leukemia in Japan. 第 77 回日本血液学会学術集会 (2015 年 10 月 16-18 日, 金沢).
- 3) Saida S, Nakamura M, Toki T, Nishinaka-Arai Y, Terui K, Yoshida K, Ogawa S, Nakahata T, Heike T, Watanabe K, Watanabe A, Ito E. Dysregulation of DNA Methylation Involves in Progression of Myeloid Leukemia in Down Syndrome. *Blood* 2015;126:S89. 第 57 回アメリカ血液学会 (2015 年 12 月 5-8 日, 米国・サンディエゴ).
- 4) Muramatsu H, Watanabe T, Hasegawa D, Park MJ, Iwamoto S, Taga T, Ito E, Toki T, Terui K, Yanagisawa R, Koh K, Saito AM, Horibe K, Hayashi Y, Adachi S, Mizutani S, Watanabe K. Prospective Study of 168 Infants with Transient Abnormal Myelopoiesis with Down Syndrome: Japan Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group, TAM-10 Study. *Blood* 2015;126:S1311. 第 57 回アメリカ血液学会 (2015 年 12 月 5-8 日, 米国・サンディエゴ).
- 5) Moritake H, Tanaka S, Nakayama H, Miyamura T, Iwamoto S, Shimada A, Terui K, Saito AM, Shiba N, Hayashi Y, Tomizawa D, Taga T, Goto H, Manabe A, Horibe K, Mizutani S, Adachi S. The Outcome of Relapsed Childhood Core Binding Factor Acute Myeloid Leukemia: A Report from the JPLSG AML-05R Study. *Blood* 2015;126: S2516. 第 57 回アメリカ血液学会 (2015 年 12 月 5-8 日, 米国・サンディエゴ).
- 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
該当なし

先天性骨髄不全症の登録システムの構築と診断ガイドラインの作成に関する研究

遺伝性鉄芽球性貧血の診断確定手技の検討

研究分担者 古山和道（岩手医科大学生化学講座分子医化学分野 教授）

研究要旨： 遺伝子解析手法の進展に伴い、新たな原因遺伝子の候補が多数同定されつつあるが、同定された遺伝子変異が実際に疾患の原因になるか否かを判断する手技の確立が確定診断のためには急務である。本研究では、赤芽球系培養細胞にゲノム編集技術を用いて変異を導入することにより遺伝性鉄芽球性貧血の疾患モデル細胞を作成し、原因遺伝子の確定における有用性を明らかにした。一方で培養細胞を用いるための限界も明らかになり、更なる改善が必要と考えられる。

A. 研究目的

近年の解析手法の進展に伴い、原因不明とされていた様々な先天性疾患において、多くの遺伝子の変異が同定されている。一方、確定診断に至るためには、変異を有する遺伝子が実際に発症原因となるのか否かを明らかにする必要があるが、その方法は遺伝子やその変異のタイプによっても異なり、全ての遺伝子変異に関して共通の方法はない。従って、遺伝子の変異が個々の遺伝子産物の機能低下の原因となることは明らかにできても、疾患における特定の表現型が出現するか否かについては証明が困難な場合が少なくない。その様な問題を解決するために様々なモデル生物が利用されており、その有用性に疑問を挟む余地はないが、当該遺伝子の完全な欠失が致死的な表現型である場合、あるいは動物種の違いに基づく代謝経路の相違などにより期待された結果が得られないことも少なくない。そのような場合には、ヒト由来の培養細胞株の利用が現実的であると考えられる。そこで本研究では、赤芽球系培養細胞の染色体上の遺伝子に近年汎用されつつあるゲノム編集技術を用いて変異を導入することにより、疾患特異的な表現型が再現できるかどうか、すなわち疾患モデル細胞として原因遺伝子の確定のために利用可能かどうかを検討することを目的とした。

B. 研究方法

遺伝性鉄芽球性貧血は遺伝的な要因により骨髄に環状鉄芽球（鉄が沈着したミトコンドリアが核の周囲を取り囲む様に観察される赤芽球）が出現することを特徴とする貧血症の総称で、鉄が沈着するミトコンドリアにはミトコンドリア型フェリチンが集積し過剰な鉄を保持していると報告されている。従って、環状鉄芽球の出現のみならず、ミトコンドリア型フェリチンの発現亢進も鉄芽球性貧血の重要な表現型と考えられ、特定の遺伝子の変異や欠失によりこれらの表現型が観察できれば、その遺伝子は鉄芽球性貧血の原因遺伝子である可能性が高いと推察される。そこで、本研究では、遺伝性鉄芽球性貧血の原因遺伝子として最も症例数が多い赤芽球型 5-アミノレブリン酸合成酵素遺伝子（以下 *ALAS2*）に着目し、赤芽球系培養細胞でヘモグロビン合成能を有する K562 細胞の *ALAS2* 遺伝子に変異を導入し、遺伝性鉄芽球性貧血に特徴的な表現型が観察できるかどうか検討した。遺伝性鉄芽球性貧血で同定される *ALAS2* の遺伝子変異は、ほとんどがミスセンス変異であるが、分担者の古山らが同定した *ALAS2* 遺伝子の第 1 イントロンの赤芽球特異的エンハンサーについては、同部の数塩基の欠失により遺伝性鉄芽球性貧血の原因となりうるものが既に報告されている。通常のゲノム編集技術は遺伝子の切断と同部の修復

に伴う遺伝子配列の欠失や挿入が期待されるものなので、ゲノム編集の標的として適切であると考えられる。そこで、K562細胞のALAS2遺伝子にゲノム編集技術であるCRISPR/Cas9システムを用いて欠失あるいは挿入変異を導入し、限界希釈法にてクローン化し、遺伝子型を決定した後、表現型の解析を行なった。また、ALAS2遺伝子以外の遺伝子についてもK562細胞で効率よく変異の導入が可能かどうかを検討するため、K562細胞以外の細胞を用いてその欠失が致死的な表現型を呈さないことを確認済みであった、ミトコンドリア内のATP依存性タンパク質分解酵素であるCLPX遺伝子についてもコード領域への変異の導入を試みた。

(倫理面への配慮)

本研究には、倫理面への配慮が必要な個人情報あるいは生体試料の利用は含まれない。

C. 研究結果

ゲノム編集技術を用いてK562細胞のALAS2遺伝子の両方のアレルのエンハンサー配列に変異が導入されると、ALAS2 mRNAの発現は野生型のK562細胞の10-20%まで低下した。そのような細胞では、ヘモグロビン産生能も低下していた。また、患者赤芽球で観察されるような典型的な環状鉄芽球は観察されなかったが、変異導入細胞では細胞内に鉄の沈着が増加しているような像が観察された。さらに、ミトコンドリア型フェリチンのmRNAの発現も増加していたが、その程度は数倍から数百倍の間で大きな開きがあり、ミトコンドリア型フェリチンの発現は、ALAS2の発現量以外にも様々な環境要因により変化する可能性が示唆された。また、CLPX遺伝子についても、同時に両方のアレルに変異を導入することに成功し、CLPXのタンパク質の発現を欠失した細胞を得ることができたが、他の細胞と同様に明らかな形質の変化は認めなかった。

D. 考察

ミトコンドリア型フェリチンの発現亢進という特徴が観察されたことから、赤芽球系培養細胞のK562細胞にゲノム編集技術を用いて変異を導入することにより、疾患モデル細胞が比較的簡便に作成できる

可能性が示された。さらに、ゲノム編集技術を用いた染色体上の遺伝子への変異の導入は特定の遺伝子に限定されるものではなく、様々な遺伝子で変異の導入が可能であることも明らかとなった。一方で、ALAS2遺伝子の発現を低下させたK562細胞では、鉄芽球性貧血における最も大きな特徴である環状鉄芽球の観察が困難であったことから、このシステムの限界も明らかになった。環状鉄芽球が観察できない理由については明らかではないが、ミトコンドリア型フェリチンを大過剰に発現させた後に、鉄が過剰な環境でK562細胞を維持した場合には環状鉄芽球様の細胞が観察されたとの報告があることから、K562細胞においてはALAS2の発現抑制だけではミトコンドリア型フェリチンの発現誘導が十分ではない可能性は否定できない。また、K562細胞が白血病細胞由来の細胞で、ヘモグロビン合成能は有するが、脱核するまで分化・成熟しないことが影響している可能性もある。従って、現在の変異導入K562細胞を用いてさらに検討を進めるのに加えて、iPS細胞などのヒト由来の非腫瘍性培養細胞を用いて同様の検討を進める予定である。

E. 結論

ゲノム編集システムを用いて培養細胞の染色体上の遺伝子に効率よく変異を導入することにより、疾患モデル細胞を作成できる可能性を確認できた。この方法はエクソーム解析などにより同定された、それまで知られていなかった遺伝子変異が疾患の原因となりうるか否かを明らかにするために有用であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 金子桐子, 久保田美子, 野村和美, 古山和道, CRISPR/Cas9システムと赤芽球系培養細胞を用いた先天性鉄芽球性貧血モデル細胞の樹立, 第38回日本分子生物学会・第88回日本生化学会大会(2015年12月, 神戸).
- 久保田美子, 野村和美, 金子桐子, 古山和道.

非特異的5-アミノレブリン酸合成酵素(ALAS1)のヘム依存的ミトコンドリア内タンパク質分解シグナル配列の同定. 第38回日本分子生物学会・第88回日本生化学会大会(2015年12月, 神戸).

- 3) 野村和美, 久保田美子, 金子桐子, 古山和道.
ヒトのALAS1翻訳後調節におけるミトコンドリアCLPX(ATP依存性タンパク質アンフォールダーゼ)の役割. 第38回日本分子生物学会・第88回日本生化学会大会(2015年12月, 神戸).

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
該当なし

先天性骨髄不全症の登録システムの構築と診断ガイドラインの作成に関する研究

CDA のデータ管理、診断基準の確立

研究分担者 多賀 崇（滋賀医科大学小児科 講師）

研究要旨： Congenital dyserythropoietic anemia (CDA) は、先天的に赤血球系細胞に形成異常があり、慢性の不応性貧血、無効造血および続発性ヘモクロマトーシスを伴う疾患群である。従来、CDA に関する知見は主に西欧から得られているのみで、本邦での実態は明らかにされていなかった。本研究班において、我が国における CDA の実態を把握し、そのデータ管理、診断基準の確立、さらには有効な治療法の開発の基盤となる研究を行う。

A. 研究目的

Congenital dyserythropoietic anemia (CDA) は、先天的に赤血球系細胞に形成異常があり、慢性の不応性貧血、無効造血および続発性ヘモクロマトーシスを伴う稀な疾患群である。我が国では、これまで CDA の実態が十分把握されておらず、我が国における CDA の実態を明らかにし、診断基準の確立、さらには有効な治療法の開発の基盤となる研究を行うことを目的とする。

B. 研究方法

分担研究者（多賀）が以前行った CDA の全国調査を参考に作成した調査表をまとめるとともに、中央遺伝子診断への協力、検体送付などを依頼する。小児血液専門医のみならず、新生児科医、一般小児科医、血液内科医などにも学会発表や論文による啓蒙を行い、さらなる症例の蓄積に努める。

（倫理面への配慮）

調査の基本となる日本小児血液・がん学会の疾患登録事業として、学会倫理審査委員会で承認されている。また、調査に関する倫理審査は、共同研究者である真部淳の所属する聖路加国際病院、遺伝子診断に関する倫理審査は、検査実施施設である名古屋大学でそれぞれ承認されている。

C. 研究結果

分担研究者（多賀）が以前行った CDA の全国調査を参考に該当症例に対し、中央遺伝子診断への協力、検体送付などを依頼した。また、成人領域を含む本疾患が疑われる患者相談があった際に、診断支援をするとともに中央形態診断（名古屋大学、聖路加国際病院）ならびに遺伝子診断（名古屋大学）への協力を呼びかけた。遺伝子検査で次世代シーケンサーによる解析がなされた症例で、CDA 以外の症例の可能性が判明した場合は、該当疾患遺伝子の解析も進めた。遺伝子情報を入れるなどしてガイドラインの改訂を行った。新規診断症例は極めて少数であった。

D. 考察

本班研究のサポートを基に、本邦での CDA の症例収集、精査を行ってきたが、既知の遺伝子異常を持つ症例は極めて少なく、他の血液疾患と誤診されている症例も少なからず見られた。引き続き、詳細な調査・研究が必要であると同時に本邦の CDA は極めて稀であるだけでなく、既知の病型と異なる可能性もあり、診断方法などを含めて再検討が必要である。

E. 結論

我が国の CDA の実態の正確な把握と、よりよい治療法を開発するため、今度も調査、研究が必要である。

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

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

先天性骨髄不全症の登録システムの構築と診断ガイドラインの作成に関する研究報告書

重症先天性好中球減少症の骨髄移植

研究分担者 小林正夫（広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学 教授）

研究要旨：重症先天性好中球減少症（Severe congenital neutropenia, SCN）は、慢性好中球減少、骨髄像での前骨髄球・骨髄球での成熟障害、生後早期からの重症細菌感染症の反復を特徴とする遺伝性疾患である。現在までに 10 種類以上の責任遺伝子が同定されているが、欧米、本邦ともに好中球エラストラーゼ遺伝子（ELANE）の変異を約 75%に認めている。根治療法としては造血幹細胞移植が唯一の治療法であるが、ドナーソースの選択、移植時期や前処置の方法など一定の結論はない。今回、当科にての初回移植 7 症例について報告する。

血縁 4 例、非血縁 3 例で移植ソースは全例骨髄を使用。前処置は Flu、CY、Mel、TBI、ATG を用いた。1 例で早期の生着不全を認めた。他の 6 例は、混合キメラが 2 例存在するものの、performance score 100%で全例生存している。生着不全例は、再骨髄移植で生着し、経過良好である。GVHD に関しては急性、慢性ともに重篤なものは見られなかった。免疫抑制効果を強化した本前処置は、SCN を含めた食細胞異常症に有効であり、今後は成長や妊孕性などを含めた晩期障害の検討が重要である。

A. 研究目的

先天性好中球減少症（Severe congenital neutropenia, SCN）は、慢性好中球減少、骨髄像での前骨髄球・骨髄球での成熟障害、生後早期よりの重症細菌感染症の反復を特徴とする難治性遺伝性疾患である。2015 年の原発性免疫不全症の最新分類では、食細胞異常症の中に好中球減少症として SCN1 から SCN5 まで、責任遺伝子によって分類されている。G-CSF 製剤の投与により感染症に対しての生命予後は劇的に改善されたが、長期の G-CSF 投与により骨髄異形成症候群（MDS）や急性骨髄性白血病（AML）への進展が約 30%に報告されている。近年では根治療法として造血幹細胞移植が行われる症例の頻度が増加している。

しかし、造血幹細胞移植におけるドナーソースの選択、移植時期、前処置法等についての見解は一定ではない。本邦症例の集積では、骨髄破壊的、非破壊的前処置にかかわらず、5 例が拒絶されており、安全な治療に至っていない現状である。今回、広島大学病院で施行した SCN 症例の初回骨髄移植につ

いて検討を行った。

B. 症例

7 症例の一覧を表 1 に示す。年齢は、2 歳から 19 歳（中央値 4 歳）で、症例 2 を除いて *ELANE* 変異例であった。全例で重症細菌感染症を経験していた。全例で G-CSF による治療が行われていた。移植ソースは骨髄を使用し、HLA 一致の血縁者ドナーが 3 例、HLA 一致の非血縁者ドナーが 2 例、HLA1 座不一致の非血縁者ドナーが 1 例であった。前処置は、免疫抑制効果を最大限に発揮できる骨髄非破壊的レジメンを選択し、Flu、CY、Mel、ATG、TBI を使用した。当科で移植を開始した当初は、HLA 一致の血縁ドナーでは ATG を使用していなかったが、症例 3 のように混合キメラとなる例を認めたため ATG が必要と判断した。症例 7 は、ウイルス感染を考慮して ATG を 1/4 量で使用した。

C. 研究結果と考察

表 2 に移植結果を示す。症例 1-6 は、全例生着し

たが、HLA 一致血縁者ドナーの症例 3、4 では混合キメラとなったために DLI を繰り返し、症例 3 は安定した混合キメラ、症例 4 はほぼ完全キメラ状態となっている。好中球絶対数は十分であり、易感染性なく移植後数年経過している。症例 7 は、移植細胞源の条件、輸注細胞数ともに許容範囲内と判断できるが、早期拒絶であったことは前処置の免疫抑制が不十分と考えられた。症例 4 は、血縁者間で ATG も十分量使用したが、混合キメラ状態だったことは輸注細胞数が若干少なかったことが影響していると考えられた。本症における生着に関しては前処置での免疫抑制効果を図ること、輸注細胞数は可能な範囲で十分量あることが推測された。いずれの症例に関しても GVHD は軽度、performance status 100% で全例生存していることは、前処置、輸注細胞数を考慮した移植が有効であることを示しているものと思われた。

D. 結論

血縁 4 例、非血縁 3 例で移植ソースは、全例骨髓を使用した免疫抑制効果を最大限とした前処置(Flu、CY、Mel、TBI、ATG) は、本症の根治療法として有用なものであった。今後、成長や妊孕性などを含めた晩期障害の検討が重要である。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hayakawa S, Okada S, Tsumura M, Sakata S, Ueno Y, Imai K, Morio T, Ohara O, Chayama K, Kobayashi M. A patient with CTLA-4 haploinsufficiency presenting gastric cancer. *J Clin Immunol*. 2016;36:28-32.
- 2) Narita A, Muramatsu H, Sekiya Y, Okuno Y, Sakaguchi H, Nishio N, Yoshida N, Wang X, Xu Y, Kawashima N, Doisaki S, Hama A, Takahashi Y, Kudo K, Moritake H, Kobayashi M, Kobayashi R, Ito E, Yabe H, Ohga S, Ohara A, Kojima S; Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and telomere length predicts response to immunosuppressive therapy in pediatric aplastic anemia. *Haematologica*.

2015;100:1546-52.

- 3) Ma CS, Wong N, Rao G, Avery DT, Torpy J, Hambridge T, Bustamante J, Okada S, Stoddard JL, Deenick EK, Pelham SJ, Payne K, Boisson-Dupuis S, Puel A, Kobayashi M, Arkwright PD, Kilic SS, El Baghdadi J, Nonoyama S, Minegishi Y, Mahdavian SA, Mansouri D, Bousfiha A, Blincoe AK, French MA, Hsu P, Campbell DE, Stormon MO, Wong M, Adelstein S, Smart JM, Fulcher DA, Cook MC, Phan TG, Stepensky P, Boztug K, Kansu A, İkinçioğullari A, Baumann U, Beier R, Roscioli T, Ziegler JB, Gray P, Picard C, Grimbacher B, Warnatz K, Holland SM, Casanova JL, Uzel G, Tangye SG. Monogenic mutations differentially affect the quantity and quality of T follicular helper cells in patients with human primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol*. 2015;136:993-1006.
- 4) Kobayashi M. Neutrophil disorders: diagnosis and hematopoietic stem cell transplantation. *Rinsho Ketsueki* 2015;56:2230-9.
- 5) Okada S, Markle JG, Deenick EK, Mele F, Averbuch D, Lagos M, Alzahrani M, Al-Muhsen S, Halwani R, Ma CS, Wong N, Soudais C, Henderson LA, Marzouqa H, Shamma J, Gonzalez M, Martinez-Barricarte R, Okada C, Avery DT, Latorre D, Deswarte C, Jabot-Hanin F, Torrado E, Fountain J, Belkadi A, Itan Y, Boisson B, Migaud M, Arlehamn CS, Sette A, Breton S, McCluskey J, Rossjohn J, de Villartay JP, Moshous D, Hambleton S, Latour S, Arkwright PD, Picard C, Lantz O, Engelhard D, Kobayashi M, Abel L, Cooper AM, Notarangelo LD, Boisson-Dupuis S, Puel A, Sallusto F, Bustamante J, Tangye SG, Casanova JL. Impairment of immunity to *Candida* and *Mycobacterium* in humans with bi-allelic RORC mutations. *Science* 2015;349:606-13.

- 6) Kataoka S, Muramatsu H, Okuno Y, Hayashi Y, Mizoguchi Y, Tsumura M, Okada S, Kobayashi M, Sano C, Sato H, Oh-Iwa I, Ito M, Kojima D, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Extrapulmonary tuberculosis mimicking Mendelian susceptibility to mycobacterial disease in a patient with signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) gain-of-function mutation. *J Allergy Clin Immunol*. 2015 Aug 1. pii:S0091-6749(15)00881-7. doi:10.1016/j.jaci.2015.06.028. [Epub ahead of print] No abstract available. PMID: 26242301.
- 7) Hirata O, Okada S, Tsumura M, Karakawa S, Matsumura I, Kimura Y, Maihara T, Yasunaga S, Takihara Y, Ohara O, Kobayashi M. Mosaicism of an ELANE mutation in an asymptomatic mother in a familial case of cyclic neutropenia. *J Clin Immunol*. 2015;35:512-6.
- 8) Wilson RP, Ives ML, Rao G, Lau A, Payne K, Kobayashi M, Arkwright PD, Peake J, Wong M, Adelstein S, Smart JM, French MA, Fulcher DA, Picard C, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Gray P, Stepensky P, Warnatz K, Freeman AF, Rossjohn J, McCluskey J, Holland SM, Casanova JL, Uzel G, Ma CS, Tangye SG, Deenick EK. STAT3 is a critical cell-intrinsic regulator of human unconventional T cell numbers and function. *J Exp Med*. 2015;212:855-64.
- 9) Yoshioka A, Ishii E, Ueno T, Usami I, Kobayashi M, Kobayashi R, Sotomatsu M, Shirahata A, Suzuki T, Taki M, Ishida Y, Matsushita T, Shima M, Nogami K, Sakai M, Kigasawa H, Fukutake K. The International Immune Tolerance Induction Study and its follow-up study on Japanese hemophilia A patients with inhibitors. *Int J Hematol*. 2015;101:362-8.
- 10) Nishikawa S, Toshima T, Kobayashi M. Perceived parenting mediates serotonin transporter gene (5-HTTLPR) and neural system function during facial recognition: A pilot study. *PLoS One* 2015;10:e0134685.
2. 学会発表
- 1) Nishimura S, Tsumura M, Hirata O, Kagawa R, Mizoguchi Y, Okada S, Kobayashi M. MSMD Patients with IFN- γ -STAT1 Signaling Defect Present Enhanced Osteoclastogenesis and Bone Resorption. **The 57th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition** (2015年12月5-8日, オーランド).
- 2) Saito S, Nishimura S, Tsumura M, Mizoguchi Y, Sakata S, Furue A, Kobayashi M. A comparison of myelopoiesis from induced pluripotent stem cells with a mutation in *ELANE* between cyclic neutropenia and severe congenital neutropenia. **The 57th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition** (2015年12月5-8日, オーランド).
- 3) Okada S, Markle J, Kobayashi M, Bustamante J, Casanova JL. Impairment of IL-17 immunity to *Candida* and IFN γ immunity to *Mycobacterium* in humans with bi-allelic *Rorc* mutations. **The 57th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition** (2015年12月5-8日, オーランド).
- 4) Nishimura S, Tomioka K, Mizoguchi Y, Karakawa K, Miki M, Kawaguchi K, Nakamura K, Kobayashi M. Successful retransplantation of bone marrow cells following failure of initial engraftments in 4 SCN patients. **The 12th Asian Society for Pediatric Research** (2015年4月15-18日, 大阪).
- 5) Saito S, Mizoguchi Y, Furue A, Chijimatsu I, Miki M, Tomioka T, Konishi N, Ono A, Kawaguchi H, Nakamura K, Kobayashi M. Early elimination of FVIII inhibitor in congenital hemophilia A cases with inhibitors by immune tolerance induction with a high dose of immunoglobulin. **The 12th Asian**

Society for Pediatric Research (2015年4月
15-18日, 大阪).

- 6) 小林正夫. (教育講演 22) 好中球異常症: 診断
と造血幹細胞移植. 第 77 回日本血液学会 (2015
年 10 月 18 日, 金沢).

F. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

表 1. 症例一覽

	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4	Case 5	Case 6	Case 7
Age(yr)	2y7m	19y	2y8m	4y	2y1m	7y	2y8m
Sex	male	female	male	male	male	male	female
Etiology	ELANE	unknown	ELANE	ELANE	ELANE	ELANE	ELANE
Pre-transplant status	pneumonia	cellulitis	Lung abscess	pneumonia	pneumonia	pneumonia	Skin, Perianal abscess
Duration of G-CSF therapy	13 months	17 years	3 months	3 years	8 months	1 month	1 year
Source	BM (MUD)	BM (MRD)	BM (MRD)	BM (MRD)	BM (MMUD)	BM (MRD)	BM (MUD)
HLA disparity	8/8	8/8	8/8	8/8	7/8 DR	8/8	6/6
NCC ($\times 10^8$ /kg)	2.9	3.7	5.1	1.7	7.0	4.6	1.9
Conditioning regimen	Flu 125 CY 100 LPAM 70 TBI 3 ALG 60	Flu 125 CY 160 LPAM 90 TBI 3	Flu 125 CY 120 LPAM 90 TBI 3	Flu 125 CY 125 LPAM 70 TBI 3.6 ATG 10	Flu 100 CY 200 LPAM 90 TBI 3.6 ATG 12	Flu 100 CY 180 LPAM 90 TBI 3.6 ATG 10	Flu 125 CY 140 LPAM 90 TBI 3 ATG 2.5

表 2. 移植結果

	Case 1	Case 2	Case 3	Case 4	Case 5	Case 6	Case 7
Engraftment	Day 24	Day 20	Day 14	Day 20	Day 14	Day 14	Rejection (55 days)
Chimerism (%)	100	100	Mixed	Mixed (90%)	100	100	—
DLI	—	—	4	15	—	—	2
Acute GVHD	Skin grade I	—	—	—	—	—	—
Chronic GVHD	—	—	—	—	—	—	—
Infection	—	—	—	—	EBV-LPD (day 48)	—	—
outcome	Alive	Alive	Alive	Alive	Alive	Alive	Alive
PS (%)	100	100	100	100	100	100	—
Follow-up duration	8.5y	7.5y	7.3y	3.5y	1y	2m	Second transplantation

先天性骨髄不全症の登録システムの構築と診断ガイドラインの作成に関する研究

Shwachman-Diamond 症候群の診療ガイドライン作成に関する研究

研究分担者 渡邊健一郎（静岡県立こども病院血液腫瘍科 科長）

金兼 弘和（東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野 准教授）

研究要旨：Shwachman-Diamond 症候群は、膵外分泌異常と造血不全による血球減少を主徴とする先天性骨髄不全症である。骨格異常、肝障害、行動異常を伴うことが多く、15～30%で骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病を発症し、造血細胞移植が行われる。稀少疾患であるため、臨床試験に基づき確立した治療、フォローアップの指針はないが、適切な経過観察と治療介入が患者の QOL 向上、生命予後改善に重要である。本研究では、本疾患の研究者により提案された国際的な診療ガイドライン案に基づき、本邦での診療ガイドラインを作成した。

A. 研究目的

Shwachman-Diamond 症候群は、膵外分泌異常と造血不全による血球減少を主徴とする先天性骨髄不全症である。骨格異常、肝障害、行動異常を伴うことが多く、骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病発症のリスクが高い。適切な経過観察と治療介入が患者の QOL 向上、生命予後改善に重要である。そのため、本研究では本邦での診療ガイドライン作成を目的とする。

B. 研究方法

本疾患の研究者により提案された国際的なコンセンサスガイドライン案に基づき、本邦での診療ガイドラインを作成した。

（倫理面への配慮）

本研究はヒトを対象とするものではないため、倫理面の配慮は特に必要としない。

C. 研究結果

作成した診療ガイドラインを添付する。

D. 考察

本疾患は本邦では稀とされてきたが、認知度の高

まりと共に診断例が増加してきた。乳児期より好中球減少による易感染性、膵外分泌異常による慢性下痢、体重増加不良、低身長、骨格異常など多彩な症状が見られる。また、白血病を発症すると、造血細胞移植を行っても予後は不良である。本研究で作成したガイドラインは、本疾患患者の診療を行う際の有効な指針となり、QOL 向上、予後の改善に寄与すると期待される。

E. 結論

Shwachman-Diamond 症候群の診療ガイドラインを作成した。本ガイドラインにより同疾患の本邦における診断、治療状況の向上に寄与できると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 渡邊健一郎, 森嶋達也. 【iPS 細胞を用いた難病研究-臨床病態解明と創薬に向けた研究の最新知見】(第 4 章) 血液・免疫疾患 Shwachman-Diamond 症候群. 遺伝子医学 MOOK 2015;27: 126-130.