

2. 学会発表  
特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
特になし
2. 実用新案登録  
特になし
3. その他  
特になし

# Shwachman-Diamond 症候群の診療ガイドライン 平成 27 年度策定

渡邊健一郎  
金兼 弘和

(静岡県立こども病院 血液腫瘍科)  
(東京医科歯科大学 小児科)

平成 27 年 (2015 年) 12 月

1. 緒 言
  2. 診 断
    - 1) 疾患概念
    - 2) 診断基準
    - 3) 重症度基準
    - 4) 診断のフローチャート
    - 5) 鑑別診断
  3. 疫 学
    - 1) 発生頻度
    - 2) 自然症・予後
  4. 病因・病態
  5. 臨床症状
    - 1) 身体奇形
    - 2) 悪性腫瘍の合併
  6. 診断及びフォローアップ時の検査
  7. 治療法
  8. 問題点・将来展望
- 参考文献

## 1. 緒言

Shwachman-Diamond 症候群は、1964 年に Shwachman らによって初めて記載された、膵外分泌不全、骨髄不全、骨格異常を主徴とする常染色体劣性の遺伝形式をとる先天性骨髄不全症候群である<sup>1)</sup>。造血器異常の他、骨格異常、肝障害等多彩な合併症を伴うことも多く、骨髄異形成症候群および急性骨髄性白血病を発症しやすいことが知られている<sup>2)3)</sup>。

本邦では海外に比べ稀と考えられていたが、日本小児血液・がん学会中央診断事業の普及に伴い、本症候群に対する認知度が高まり、本邦でも診断例が増加する傾向にある。2004 年に Boocock らは 7 番染色体上の新規遺伝子が本症患者の約 90% で、両アレル変異を起こしていることを報告し、SDS の責任遺伝子として *SBDS* と命名した<sup>4)</sup>。*SBDS* はリボソーム生成に関与しており<sup>5)6)7)</sup>、Diamond-Blackfan 貧血など他の骨髄不全も、リボソーム関連遺伝子の異常によって起こることから、*SBDS* 変異によるリボソーム生成異常が病態に関与していると考えられている。

本症に伴う骨髄不全、骨髄異形成症候群および急性骨髄性白血病に対しては造血細胞移植が根治的な治療となるが、従来移植成績は不良であり、近年の移植法の進歩により成功例が報告されているが、最適な移植方法は未だ確立されていない。

Shwachman-Diamond 症候群は稀少疾患であるため、前方視的治療研究によるエビデンスはなく、本症の専門家のコンセンサスに基づく暫定的なガイドライン<sup>3)</sup>に基づいて、診療ガイドラインを作成した。

## 2. 診断

### 1) 疾患概念

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常染色体劣性遺伝先天性骨髄不全症である<sup>1)</sup>。骨格異常、肝障害等造血器以外の臓器の異常を伴うことも多く、骨髄異形成症候群および急性骨髄性白血病を発症しやすい<sup>2)3)</sup>。本症候群と診断された患者の 90% に *SBDS* 遺伝子の両アレル変異が認められる<sup>4)</sup>。

### 2) 診断基準

#### Shwachman-Diamond 症候群(SDS)の診断基準 (平成 26 年度作成)

- 臨床所見としては、好中球を主体とした血球減少、慢性下痢、発育不良を認める。
- 骨髄不全を認め、以下の一つ以上を満たす。
  - 絶対数 1500/ $\mu$ L 未満の好中球減少 (間欠的あるいは慢性的; 少なくとも 3 ヶ月間隔で 2 回)
  - 血球産生低下による血球減少 (貧血、血小板減少、汎血球減少; 少なくとも 3 ヶ月間隔で 2 回)
- 膵外分泌不全を認め、以下の一つ以上を満たす。
  - 膵外分泌酵素低値  
3 歳未満でトリプシノーゲン低値  
かつ/または  
3 歳以上で膵型アミラーゼ低値
  - 画像 (超音波、CT、MRI) で小型あるいは脂肪の多い膵を認める。
  - 便中脂質の増加 (72 時間収集)
- 膵外分泌不全と骨髄不全の原因となる他疾患を除外する。<sup>注 1)</sup>
- 以下の所見があれば確実性が増す。
  - 一等親に本症候群と診断された家族がいる。
  - 骨格異常
  - 行動異常
  - 年齢別正常値と比較した MCV 高値 (ただし溶血や栄養不良等による他の原因によらない)
  - ヘモグロビン F 高値
  - 骨髄検査で白血病、骨髄異形成症候群、染色体異常のうち一つ以上に該当する。
  - SBDS* 遺伝子変異を両アレルに認める。
- 診断に際しては、1、2 および 3 によって本症を疑い、4 によって他の疾患を除外し、5 によって診断をさらに確実なものとする。

#### 注 1)

膵外分泌不全と骨髄不全がみられる Pearson 症候群や Fanconi 貧血などの他の先天性骨髄不全症候群、嚢胞線維症といった膵外分泌不全の原因となる他の疾患を鑑別診断する。

### 3) 重症度分類 (表 1)

再生不良性貧血に関しては後天性再生不良性貧血の重症度分類を用いて評価する。

本症では脾外分泌不全による症状は年齢が上がるにつれ改善することが多く、生命予後に最も関連するのは、骨髄不全の程度と骨髄異形成症候群・白血病への移行である。骨髄不全の重症度については、再生不良性貧血の重症度分類(表)に準じる。また、骨髄異形成症候群から白血病に移行すると、非常に予後不良であるため、白血症を発症した場合、最も重症であるとする。

表 1. 重症度分類(平成 16 年度修正)

stage 1	軽 症	下記以外
stage 2	中等症	以下の 2 項目以上を満たす 網赤血球 60,000/ $\mu$ l 未満 好中球 1,000/ $\mu$ l 未満 血小板 50,000/ $\mu$ l 未満
stage 3	やや重症	以下の 2 項目以上を満たし、定期的な赤血球輸血を必要とする 網赤血球 60,000/ $\mu$ l 未満 好中球 1,000/ $\mu$ l 未満 血小板 50,000/ $\mu$ l 未満
stage 4	重 症	以下の 2 項目以上を満たす 網赤血球 20,000/ $\mu$ l 未満 好中球 500/ $\mu$ l 未満 血小板 20,000/ $\mu$ l 未満
stage 5	最重症	好中球 200/ $\mu$ l 未満に加えて、以下の 1 項目以上を満たす 網赤血球 20,000/ $\mu$ l 未満 血小板 20,000/ $\mu$ l 未満

注1 定期的な赤血球輸血とは毎月 2 単位以上の輸血が必要なときを指す。

注2 この分類は平成 10(1998)年度に設定された 5 段階分類を修正したものである。

### 4) 診断のフローチャート (図 1)

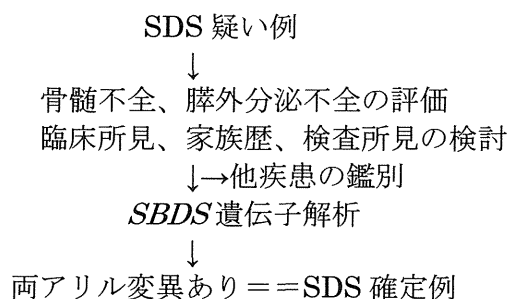


図 1 診断のフローチャート

### 5) 鑑別診断

先天性骨髄不全症候群として Fanconi 貧血、先天性角化不全症、ピアソン症候群などを鑑別する。最近、各疾患の原因遺伝子が同定されており、遺伝子診断が可能となっている。それぞれの疾患の概要を示す。

## A. Fanconi 貧血

DNA 修復欠損を基盤とした染色体の脆弱性を背景に、進行性汎血球減少、MDS や白血病への移行、身体奇形、固形がんの合併を特徴とする血液疾患である。染色体不安定性（染色体脆弱）を示し、MMC などの DNA 鎖間架橋薬剤で処理をすると、染色体の断裂の増強やラジアル構造を持つ特徴的な染色体が観察される。Fanconi 貧血遺伝子の変異が認められる。

B. 先天性角化不全症：古典型では爪の萎縮、口腔内白斑、皮膚の色素沈着をともなう。テロメア長を維持する機能の障害が考えられており、*DKC1*、*TERC*、*TERT*、*NOP10*、*NHP2*、*TINF2* などの責任遺伝子が見つかっている。末梢血リンパ球のテロメア長を測定すると、著明な短縮が認められる。扁平上皮がん、骨髄異形成症候群、骨髄性白血病のほか肺線維症などを合併しやすい。

C. ピアソン症候群：鉄芽球性貧血と脾外分泌不全を主徴とする。汎血球減少症をきたし、赤芽球系、骨髄芽球系前駆細胞内に特徴的な空胞を認め、環状鉄芽球が多数存在する。ミトコンドリア DNA の欠失を認める。

## 3. 疫学

### 1) 発生頻度

欧米では Fanconi 貧血、Diamond-Blackfan 貧血に次いで多い先天性骨髄不全症候群で、発症頻度は 76,000 人に 1 人と推定されている<sup>8)</sup>。我が国ではより稀とされているが、本症に対する認知度の高まりと共に診断される例が増加してきている。

### 2) 自然歴・予後

典型例では乳幼児期から慢性下痢、好中球減少で気づかれる。下痢は年齢が高くなると改善することが多い。白血病を発症した場合の予後は不良である。*SBDS* 遺伝子変異の種類と臨床症状、重症度、予後との関連は明らかではない<sup>9)</sup>。特定の固形腫瘍の発症リスクの増加は報告されていない<sup>10)</sup>。

## 4. 病因・病態

*SBDS* 蛋白はリボソームの生成や RNA の代謝に重要な役割をしている<sup>5)6)</sup>。造血異常の原因として *SBDS* 遺伝子の変異により、正常な *SBDS* 蛋白がつくられなくなり、リボソームの成熟が障害されることが病因の 1 つと考えられている。Diamond-Blackfan 貧血など他の骨髄不全も、リボソーム関連遺伝子の異常によって起こることから、リボソームの異常が骨髄不全の主な原因となり得ることが知られている。

本症患者の CD34 陽性骨髄細胞では、Fas を介したアポトーシスが亢進していることが報告され、造血前駆細胞の細胞死が血球減少の原因であることが示唆されている<sup>11)</sup>。Hela 細胞で siRNA を用い *SBDS* をノックダウンしても、細胞死が亢進することが報告されている<sup>12)13)</sup>。

また、*SBDS* 蛋白が細胞分裂の際の紡錘糸に局在することが報告された。*SBDS* の欠失により、細胞分裂の異常や異数性が起こることが示され、紡錘糸の安定性の喪失が、SDS 患者における骨髄不全や白血病発症の機構に寄与していることが示唆されている<sup>14)</sup>。

## 5. 臨床症状

乳幼児期から脾外分泌異常による脂肪便を伴う慢性下痢、体重増加不良があり、好中球が減少していることで気づかれることが多い。好中球減少により感染を繰り返し、貧血、血小板減少がみられ、輸血を要する場合もある。胸郭狭小などの骨格異常、低身長もよくみられる症状である。肝障害、精神発達遅滞、行動異常、歯牙の異常の頻度も高い<sup>2)3)</sup>。

15～30%の患者さんが骨髄異形成症候群、白血病を発症する。白血病発症のリスクは、男児が女児に比べ 10 倍高いことが知られている<sup>2)3)</sup>。

脾外分泌不全による、ビタミン D、ビタミン K といった脂溶性ビタミン不足がみられることがある<sup>2)3)</sup>。

## 6. 診断およびフォローアップ時の検査

### 1) 血液

診断時には、CBC、MCV、スメア、白血球分画、網状赤血球数、ヘモグロビン F、凝固能を検査する。また、骨髄穿刺、骨髄生検を行い、形態、染色体異常の有無を評価する。

フォローアップとしては、血球が安定している場合には、3-6 か月毎に CBC を評価する。反復感染、出血斑、顔色不良といった症状がみられた場合にも CBC を検査する。

骨髓穿刺、骨髓生検は、診断時および血球が減少した場合に行う。血球が安定している状態での定期的な骨髓検査の意義は確立していないが、1～3年に一度行ってもよい。G-CSF投与時には、1年に1回骨髓検査を行う。

## 2) 膵臓

便中血清アミラーゼ（膵型アミラーゼ）、トリプシノーゲン、便中脂質測定、可能な膵外分泌機能検査を行う。腹部超音波検査、MRIを行い脂肪膵の有無を評価する。脂溶性ビタミンであるビタミンA、D、Eを、またKの代替としてプロトロンビン時間を測定する。

## 3) 肝臓

血清トランスアミナーゼを含む肝酵素を測定する。

## 4) 成長・発育

SDSと診断される乳児は低栄養状態であることが多いため、身長、体重を含めた栄養状態の評価を行う。低身長、体重増加不良がしばしばみられるため、身長、体重を定期的に測定する。

## 5) 骨

診断時には、単純X-Pによる骨、骨格異常の評価を行う。フォローアップは画像所見、症状に応じて行う。

## 6) 歯牙

定期的な歯科検診が勧められる。特に歯周病に経験豊富な歯科医による評価が望ましい。

## 7) 神経発達

SDSでは学習障害、行動異常がよく認められる。発達検査を行い、必要な場合には専門家に紹介する。

## 7. 治療法

### 1) 血液学的合併症

#### ① 血球減少

貧血、血小板減少に対しては必要に応じ輸血を行う。

G-CSF投与は多くの場合必要ないが、細菌や真菌の感染を繰り返す場合には使用を考慮する。G-CSFを長期に使用する場合は、好中球数の正常化ではなく、感染の予防を目的とする。

アンドロゲンの効果に関してはデータが乏しく、少数例で反応があったとする報告はあるが、もともと肝障害を合併することが多いため、第一選択薬として使用することは推奨されない。

#### ② 骨髓異形成症候群（MDS）、急性骨髄性白血病（AML）

##### a. 診断

日本小児血液・がん学会再生不良性貧血・MDS委員会中央診断では、WHO分類（2008年）に基づいて小児MDSの診断が行われている。MDSは、骨髓の異形成、芽球の割合、病理所見に基づいて診断する。一方、SDS患者の骨髓では、軽度の異形成はしばしば認められ、異形成や染色体異常がみられながらも長期に渡りAMLに移行しない場合がある。SDS患者骨髓の染色体異常としてi(7q)、del(20q)がよく認められるが、これらは自然に消失することがある<sup>15)16)</sup>。SDSにおけるMDSの診断の臨床的意義についてはこのような点を考慮する。SDSでは約30%の症例が、白血病を発症すると考えられている。SDSではAMLを発症する割合が多く、中でもM6が多い。

##### b. 治療

MDSに対しては、造血細胞移植が行われる。移植前のAML型化学療法の意義については確立されていない。

AMLに対して化学療法は病勢のコントロールに有効な場合があるが、通常それだけで寛解を維持することはできず、長期に渡る重篤な骨髓抑制のリスクがあるため、早期に造血細胞移植を行う。

##### c. 造血細胞移植

造血細胞移植の適応は、骨髓不全による重篤な血球減少、MDS(RAEB)、AMLである。SDSに対する造血細胞移植については、少数例での報告がほとんどのため、現在のところ前処置、GVHD予防法を含む最適な移植方法を推奨するのは困難である。重篤な血球減少に対する移植では生存率約80%、MDS/AMLに対する移植では30～40%と移植適応により成績は異なっている<sup>3)</sup>。SDS患者では、重篤な骨髓抑制、感染、心毒性をはじめとする臓器障害<sup>17)</sup>、生着不全、GVHDといった化学療法や造血細胞移植による合併症がより起こ

りやすいとされている。そのため、近年 reduced intensity conditioning (RIC)を前処置として用いた移植が提唱されている<sup>18)19)</sup>。

## 2) 膵外分泌異常、栄養

SDS と診断され脂肪便が確認されれば、膵酵素補充療法を開始する。SDS 患者での膵酵素補充の効果は嚢胞線維症患者に比べ概ね良好である。SDS では、年齢と共に膵機能が徐々に改善し、膵酵素補充療法を中止することができることが多い。そのため経過をみながら膵外分泌機能の評価を行う。

血中脂溶性ビタミン値を6~12ヶ月毎に測定し、低値の場合には補充する。血中脂溶性ビタミン値は、脂肪吸収障害の間接的な指標であるため、膵酵素補充療法のコンプライアンスを確認することが重要である。

受診時には、身長、体重を測定し、栄養の評価を行う。食欲不振、食行動障害はよくみられ、この場合は心理的評価を行い、心理士によるサポートを依頼する。経口摂取が不十分な場合は、サプリメントの使用を考慮する。膵酵素補充療法が適切に行われているにも関わらず、体重増加不良が続く場合には、他の原因がないか検索する。

## 3) 骨異常

骨幹端軟骨異形成による骨変形は通常臀部、膝部に起こるが、整形外科に紹介し、手術が必要になることがある。骨粗鬆症を起こす可能性があり、十分な栄養、脂溶性ビタミンの摂取による予防を行い、栄養摂取が十分でなければビタミンD、カルシウムの補充を行う。

骨異形成は診断時に画像評価を行い、症状、所見に応じフォローアップする。骨変形や圧迫骨折は単純X-Pで評価する。骨粗鬆症はDXAによる骨密度検査により思春期発来前、中、後と所見に応じて評価する。

血清25-OH-ビタミンD、血漿副甲状腺ホルモンをモニターする。

## 4) 歯科的合併症

SDS 患者では歯科的合併症がよくみられる。口腔粘膜潰瘍、エナメル質欠損、石灰化の異常が認められる場合があるため、早期よりケアを行う。

## 5) 神経発達

SDS 患者では、発達遅滞、学習障害、行動異常が報告されている。

標準的な検査や臨床的な観察により認知、行動、社会、適応能力を評価し、必要な場合には、専門家へ紹介する。

## 8. 問題点・将来展望

我が国でも Shwachman-Diamond 症候群の認知度が上がり、日本小児血液・がん学会中央診断を通じ、診断に至る例が増加している。しかし、症状や重症度は多様であるため未診断例が存在していると考えられ、本邦での疫学、臨床像、予後を把握するためには、今後も症例の把握、登録を進めていく必要がある。また、本症の移植のタイミング、最適な移植法は未だ確立されておらず、今後の重要な検討課題である。

### 参考文献

- 1) Shwachman H, Diamond LK, Oski FA, et al. The syndrome of pancreatic insufficiency and bone marrow dysfunction. *J Pediatr* 65:645-663, 1964.
- 2) Burroughs L, Woolfrey A, Shimamura A. Shwachman-Diamond syndrome: a review of the clinical presentation, molecular pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Hematol Oncol Clin North Am* 23:233-248, 2009.
- 3) Dror Y, Donadieu J, Koglmeyer J, et al. Draft consensus guidelines for diagnosis and treatment of Shwachman-Diamond syndrome. *Ann NY Acad Sci* 1242:40-55, 2011.
- 4) Boocock GR, Morrison JA, Popovic M, et al. Mutations in SBDS are associated with Shwachman-Diamond syndrome. *Nat Genet* 33:97-101, 2003.
- 5) Menne TF, Goyenechea B, Sanchez-Puig N, et al. The Shwachman-Bodian-Diamond syndrome protein mediates translational activation of ribosomes in yeast. *Nat Genet* 39:486-495, 2007.
- 6) Wong CC, Traynor D, Basse N, et al. Defective ribosome assembly in Shwachman-Diamond syndrome. *Blood* 118:4305-12, 2011.
- 7) Ganapathi KA, Austin KM, Lee CS, et al. The human Shwachman-Diamond syndrome protein, SBDS, associates with ribosomal RNA. *Blood* 110:1458-1465, 2007.
- 8) Hashmi SK, Allen C, Klaassen R, et al. Comparative analysis of Shwachman-Diamond syndrome to



- other inherited bone marrow failure syndromes and genotype-phenotype correlation. *Clin Genet* 79:448-58,2011.
- 9) Alter BP, Giri N, Savage SA, et al. Malignancies and survival patterns in the National Cancer Institute inherited bone marrow failure syndromes cohort study. *Br J Haematol* 150:179-88, 2010.
  - 10) Dror Y, Freedman MH. Shwachman-Diamond syndrome marrow cells show abnormally increased apoptosis mediated through the Fas pathway. *Blood* 97:3011-6, 2001.
  - 11) Watanabe K, Ambekar C, Wang H, et al. SBDS-deficiency results in specific hypersensitivity to Fas stimulation and accumulation of Fas at the plasma membrane. *Apoptosis* 14:77-89, 2009.
  - 12) Rujkijyanont P, Watanabe K, Ambekar C, et al. SBDS-deficient cells undergo accelerated apoptosis through the Fas-pathway. *Haematologica* 93:363-71, 2008.
  - 13) Austin KM, Gupta ML, Coats SA, et al. Mitotic spindle destabilization and genomic instability in Shwachman-Diamond syndrome. *J Clin Invest* 118:1511-1518, 2008.
  - 14) Dror Y, Durie P, Ginzberg H, et al. Clonal evolution in marrows of patients with Shwachman-Diamond syndrome: a prospective 5-year follow-up study. *Exp Hematol* 30:659-69, 2002.
  - 15) Smith A, Shaw PJ, Webster B, et al. Intermittent 20q- and consistent i(7q) in a patient with Shwachman-Diamond syndrome. *Pediatr Hematol Oncol* 19:525-8, 2002.
  - 16) Toiviainen-Salo S, Pitkanen O, Holmstrom M, et al. Myocardial function in patients with Shwachman-Diamond syndrome: aspects to consider before stem cell transplantation. *Pediatr Blood Cancer* 51:461-7, 2008.
  - 17) Sauer M, Zeidler C, Meissner B, et al. Substitution of cyclophosphamide and busulfan by fludarabine, treosulfan and melphalan in a preparative regimen for children and adolescents with Shwachman-Diamond syndrome. *Bone Marrow Transplant* 39:143-7, 2007.
  - 18) Bhatla D, Davies SM, Shenoy S, et al. Reduced-intensity conditioning is effective and safe for transplantation of patients with Shwachman-Diamond syndrome. *Bone Marrow Transplant* 42:159-65, 2008.

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 症候群に対する造血細胞移植

研究分担者 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）  
官本 智史（東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野 医員）  
満生 紀子（東京医科歯科大学大学院発生発達病態学分野 助教）  
渡邊健一郎（静岡県立こども病院血液腫瘍科 科長）

**研究要旨：**Shwachman-Diamond 症候群（SDS）では、骨髄異形成症候群（MDS）や急性骨髄性白血病（AML）の発症リスクが高く、約 30%の症例で MDS/AML への転化が起これ、その際の予後は不良である。造血細胞移植が唯一の根治的治療法であるが、治療関連毒性が高率に認められるとされる。そこで、フルダラビンを含む骨髄非破壊的前処置による造血細胞移植の安全性と有用性を検証する。

#### A. 研究目的

Shwachman-Diamond 症候群（SDS）は、膵外分泌不全、骨髄不全、骨格異常を主徴とする先天性骨髄不全症候群である。SDS では骨髄異形成症候群（MDS）や急性骨髄性白血病（AML）の発症リスクが高く、約 30%の症例で MDS/AML への転化が起こるとされている。SDS に合併した MDS/AML の予後は不良で、SDS の主たる死因である。造血細胞移植は、SDS に伴う血液学的異常に対する唯一の根治的治療法であり、重度の血球減少や MDS/AML 転化を伴う患者に行われる。従来、骨髄破壊的前処置が使用されていたが、SDS 患者では治療関連毒性が高率に認められ、移植成績は不良であった。最近、SDS 患者においても、フルダラビンを含む骨髄非破壊的前処置を用いた移植の成功例の報告がなされている。本研究では SDS 患者に対する骨髄非破壊的前処置による造血細胞移植について検証する。

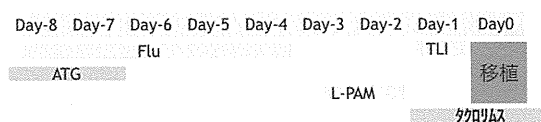
#### B. 研究方法

症例は 18 歳男性。在胎 40 週 2 日、2520g (Small for dates) で出生した。生後 3 か月頃より血小板減少、低 IgG 血症、肝機能障害、体重増加不良を指摘され、4 か月時には重症水痘に罹患した。その後も中耳炎、肺炎、緑膿菌皮膚感染症などで入院を繰

り返した。2 歳頃より好中球減少が出現し、また脂肪便も認められるようになった。血中アミラーゼ、キモトリプシンの低値、脾の脂肪変性から、SDS と診断した。7 歳時に遺伝子検査で、183-184TA>CT, 258+2T>C と複合ヘテロ変異を認めた。その後、徐々に血小板減少が進行し、8 歳時の骨髄穿刺で各系統の軽度な異形成および 20q- の染色体異常を指摘され、MDS の合併と診断した。HLA 一致同胞はおらず以降定期的に採血や骨髄検査を行いながら経過観察していた。輸血を要する血球減少、追加の染色体異常、AML への進展などは認められなかったが、造血細胞移植の適応と考えられ、入院となった。

フルダラビン (Flu) 150mg/m<sup>2</sup>、メルファラン (L-PAM) 140mg/m<sup>2</sup>、抗ヒト胸腺ウサギグロブリン (ATG) 5mg/kg、全身リンパ組織照射 (TLI) 3Gy による骨髄非破壊的前処置の後に非血縁者間同種骨髄移植を行った (図 1)。GVHD 予防として、タクロリムスおよび短期メソトレキサート投与を行った。

図 1.



(倫理面への配慮)

本研究を行うにあたり、両親ならびに本人に対して文書による同意を得た。

## C. 研究結果

重度の移植関連合併症の発症はなく、安全な治療と考えられた。有用性の評価については、長期的な観察結果を待ちたい。

## D. 考察

近年海外から SDS 患者に対して Flu+L-PAM+Campath-1H による造血細胞移植の良好な成績が報告されているが、我が国では Campath-1H が保険適用となっていない。造血細胞移植学会からは、先天性角化不全症や Fanconi 患者に対して、Flu+CY+ATG+low dose TBI による骨髄非破壊的前処置が推奨されている。当科では、これらの状況を鑑みて Flu+L-PAM+ATG+low dose TLI による前処置を選択した。この前処置は、当科で先天性角化不全症 2 例に対して施行され、安全かつ有用なことが確認されている。

## E. 結論

Flu+L-PAM+ATG+low dose TBI/TLI による骨髄非破壊的前処置による造血細胞移植は、SDS 患者に対して安全かつ有用である可能性が示唆される。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

特になし

### 2. 学会発表

特になし

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

特になし

### 2. 実用新案登録

特になし

### 3. その他

特になし

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

先天性血小板減少症のデータ管理・遺伝子診断・診療ガイドラインの作成

研究分担者 國島伸治（国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター高度診断研究部 室長）

**研究要旨：**19例の先天性血小板減少症を疑う症例について系統的鑑別診断解析を施行した。MYH9 異常症 10 例、Bernard-Soulier 症候群ホモ接合体 1 例・ヘテロ接合体 1 例、ACTN 異常症 1 例の診断に至り、6 例は確定診断されなかった。ACTN1 異常症の診断に有用なバイオマーカーを見出した。

#### A. 研究目的

先天性血小板減少症は病因不明な疾患が多く、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）と診断され不必要的治療を受ける症例も少なくない。本研究は、先天性血小板減少症を疑う症例を全国的に収集し、系統的鑑別診断解析による遺伝子診断を行い、臨床情報と検査データを集積し、重症度分類の確立と診療ガイドライン作成を目的とした。また、既知の原因遺伝子に異常を認めない原因不明の先天性血小板減少症については、新規原因遺伝子を同定、病態を解析し、鑑別診断法を確立することを目指す。

#### B. 研究方法

先天性血小板減少症を疑う症例の解析依頼に対して、我々が独自に確立中である系統的鑑別診断解析を施行する。

（倫理面への配慮）

本研究は、先天性血小板減少症の診断ガイドライン作成に関する研究として、当院ヒトゲノム・遺伝子解析研究審査委員会による審査承認を得ている。また、DNA 組み換え実験および動物実験についても審査承認を得ている。

#### C. 研究結果

本年度（平成 27 年 4 月～平成 28 年 1 月現在）は、19 例の先天性血小板減少症を疑う症例を解析し、MYH9 異常症 10 例、Bernard-Soulier 症候群ホモ接

合体 1 例・ヘテロ接合体 1 例、ACTN 異常症 1 例の診断に至り、6 例は確定診断されなかった。MYH9 異常症については、タイ国との共同研究を進め、研究成果を論文に報告した。自動血球計数装置による未熟血小板分画測定が先天性巨大血小板症の鑑別診断に有用であることを報告した。ACTN1 異常症の診断は、*ACTN1* 遺伝子配列解析により行っていたが、スライドガラス上への進展血小板におけるミオシン局在異常の同定が診断に有用なバイオマーカーになることを見出した。

#### D. 考察

近年、先天性血小板減少症の中で大型／巨大血小板を有する先天性巨大血小板症の病因病態解析は進んでいる。本年度は、我々が独自に確立中である先天性巨大血小板症の系統的鑑別診断解析により 19 例を解析し、13 例（68.4%）の症例で確定診断が得られた。MYH9 異常症は 10 例（52.6%）と最も高頻度に診断された。MYH9 異常症 10 例中、3 例では白血球封入体を認めず、原因不明の血小板減少症あるいは新生児同種免疫性血小板減少症と診断されていたが、末梢血塗抹標本を用いたミオシン免疫蛍光染色解析と局在分類により確定診断された。Bernard-Soulier 症候群については、フローサイトメトリにより 1 例のホモ接合性患者と 1 例のヘテロ接合性患者が診断された。

末梢血塗抹標本を用いたミオシン免疫蛍光染色解析は、遠隔地からの解析依頼にも対応可能であるた

め、タイ国との共同研究を進めてきた。昨年度からの継続した研究において、21 症例の塗抹標本を解析し、5 例の MYH9 異常症を同定した。

2013 年に我々が同定した ACTN1 異常症は中等度の血小板減少 (8-10 万/ $\mu$ l) と大小不同を伴う大型血小板を呈し、出血症状は軽度である。特異的な検査所見は認められず、診断は遺伝子検査のみで可能であり、簡便な検査診断法の開発が望まれていた。アクチンは細胞内においてミオシンと結合し、細胞の形態変化と移動において挙動を共にするため、アクチニン変異によりアクチンを介してミオシンの局在が異常となる可能性を考えた。正常血小板をスライドガラス上に進展させるとミオシンは血小板辺縁へと移動するが、ACTN1 異常症血小板では、一部のミオシンは中心部に残る。すなわち、アクチニン異常の代理マーカーとしてミオシン局在異常を同定することで ACTN1 異常症を診断できることが明らかとなった。

#### E. 結論

19 例の先天性血小板減少症を疑う症例を解析し、13 例 (68.4%) の症例で確定診断が得られた。

ACTN 異常症診断に有用なバイオマーカーを見出した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Sirachainan N, Komwilaisak P, Kitamura K, Hongeng S, Sekine T, Kunishima S. The first two cases of *MYH9* disorders in Thailand: an international collaborative study. *Ann Hematol*. 2015;94:707-9.
- 2) Nishimura S, Nagasaki M, Kunishima S, Sawaguchi A, Sakata A, Sakaguchi H, Ohmori T, Manabe I, Italiano JJ, Ryu T, Takayama N, Komuro I, Kadowaki T, Eto K, Nagai R. IL-1 $\alpha$  induces thrombopoiesis is through megakaryocyte rupture in response to acute platelet needs. *J Cell Biol*. 2015;209:453-66.
- 3) Hagiwara K, Kunishima S, Iida H, Miyata Y, Naoe T, Nagai H. The synergistic effect of

BCR signaling inhibitors combined with an HDAC inhibitor on cell death in a mantle cell lymphoma cell line. *Apoptosis* 2015;20:975-85.

- 4) Okano S, Takase M, Iseki K, Toriumi N, Kaneda M, Kunishima S. Genotype-phenotype correlation of the p.R1165C mutation in the *MYH9* disorder: Report of a Japanese pedigree. *J Pediatr Hematol/Oncol*. 2015;37:e352-5.
- 5) Yamanouchi J, Hato T, Kunishima S, Niiya T, Nakamura H, Yasukawa M. A novel *MYH9* mutation in a patient with *MYH9* disorders and platelet size-specific effect of romiplostim on macrothrombocytopenia. *Ann Hematol*. 2015;94:1599-600.
- 6) Hatta K, Kunishima S, Suganuma H, Tanaka N, Ohkawa N, Shimizu T. A family having type 2B von Willebrand disease with a novel *VWF* p.R1308S mutation : characteristic platelet aggregation on peripheral blood smears as the key aspect of diagnosis. *Thromb Res*. 2015;136:813-7.
- 7) Makino S, Kunishima S, Ikumi A, Awaguni H, Shinozuka J, Tanaka S, Maruyama R, Imashuku S. Sporadic Epstein syndrome with macrothrombocytopenia, sensorineural hearing loss and renal failure. *Pediatr Int*. 2015;57:977-81.
- 8) Miyazaki K, Koike Y, Kunishima S, Ishii R, Danbara M, Horie R, Yatomi Y, Higashihara M. Immature platelet fraction measurement is influenced by platelet size and is a useful parameter for discrimination of macrothrombocytopenia. *Hematology* 2015; 20:587-592.
- 9) Kunishima S, Kitamura K, Yasutomi M, Kobayashi R. Diagnostic biomarker for *ACTN1* macrothrombocytopenia. *Blood* 2015; 126:2525-6.
- 10) Yasutomi M, Kunishima S, Okazaki S, Tanizawa A, Tsuchida S, Ohshima Y. *ACTN1* rod domain mutation associated with

- congenital macrothrombocytopenia. *Ann Hematol.* 2016;95:141-4.
- 11) Kanematsu T, Suzuki N, Yoshida T, Kishimoto M, Aoki T, Ogawa M, Kagami Y, Kiyoi H, Matsushita T, Kunishima S. A case of *MYH9* disorders caused by a novel mutation (p.K74E). *Ann Hematol.* 2016;95:161-3.
  - 12) Eto K, Kunishima S. Linkage between the mechanisms of thrombocytopenia and thrombopoiesis. *Blood.* (in press)
2. 学会発表
- 1) 小田紘嗣, 國島伸治, 鈴木英紀, 河合朋樹, 西小森隆太, 小原収, 平家俊男. Filamin A 異常症男性患者の血小板機能評価. 第 37 回日本血栓止血学会学術集会 (平成 27 年 5 月, 甲府).
  - 2) 兼松毅, 小川実加, 岸本磨由子, 鈴木伸明, 國島伸治, 松下正. 新規変異を有する *MYH9* 異常症の 1 例. 第 37 回日本血栓止血学会学術集会 (平成 27 年 5 月, 甲府).
  - 3) 橋本恵梨華, 村田萌, 榎山愛弓, 河村奈美, 小塚敏弘, 中田悠紀子, 長谷部暲, 高木夕希, 水谷直貴, 高木明, 國島伸治, 松下正, 小嶋哲人. 血小板無力症に同定された *GPIIb* 遺伝子のミスセンス変異とスプライス変異の複合ヘテロ変異解析. 第 37 回日本血栓止血学会学術集会 (平成 27 年 5 月, 甲府).
  - 4) 柏木浩和, 清水一亘, 國島伸治, 坂野史明, 加藤恒, 森川陽一郎, 田所誠司, 小亀浩市, 本田繁則, 宮田敏行, 金倉讓, 富山佳昭.  $\alpha$ IIB83 活性化変異,  $\alpha$ IIB (R990W) KI マウスは巨大血小板減少症とともに血小板機能障害をきたす. 第 37 回日本血栓止血学会学術集会 (平成 27 年 5 月, 甲府).
  - 5) Belen FB, Polat M, Kocak U, Kunishima S. Usage of Elthrombopag in a 9 year old Syrian patient with immune thrombocytopenic purpura and familial deafness-first pediatric experience in Turkey. XXV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (2014 年 6 月, トロント).
  - 6) Kanematsu T, Suzuki N, Kishimoto M, Aoki T, Ogawa M, Kagami Y, Kunishima S, Kiyoi H, Matsushita T. A case of *MYH9* disorders caused by a novel mutation (p.K74E). XXV Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (2014 年 6 月, トロント).
  - 7) 國島伸治, 北村勝誠, 八田京子. 原因不明の血小板減少症と診断されていた 2B 型 von Willebrand 病の親子例. 第 16 回日本検査血液学会学術集会 (平成 27 年 7 月, 名古屋).
  - 8) 兼松毅, 鈴木伸明, 小川実加, 岸本磨由子, 國島伸治, 松下正. 末期腎不全の経過中、家族歴を有する巨大血小板減少症に気付かれ、新規 p.K74E 変異による *MYH9* 異常症と診断した 1 例. 第 16 回日本検査血液学会学術集会 (平成 27 年 7 月, 名古屋).
  - 9) 狩山由貴, 國島伸治, 今田昌秀, 高橋孝英, 青江伯規, 日野佳弥, 榊原佳奈枝, 渡辺俊幸, 嶋田明. 姉妹の診断を契機に ITP 経過観察中の父が *MYH9* 異常症の診断に至った一家系. 第 16 回日本検査血液学会学術集会 (平成 27 年 7 月, 名古屋).
  - 10) 國島伸治. (ワークショップ) 診断の迷宮ー判断に迷う疾患へのアプローチ. 第 16 回日本検査血液学会学術集会 (平成 27 年 7 月, 名古屋).
  - 11) Komwilaisak P, Sirachainan N, Sosothikul D, Suwanawiboon B, Pediatric Macrothrombocytopenia Registry in Thailand, Kitamura K, Hongeng S, Sekine T, Kunishima S. Identification of *MYH9* Disorders in Children with Macrothrombocytopenia: A Result from 14 Institutions in Thailand. 第 57 回日本小児血液・がん学会学術集会 (平成 27 年 11 月, 甲府).
  - 12) Kitamura K, Okuno Y, Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, Muramatsu H, Kobayashi R, Miyano S, Kojima S, Ogawa S, Kunishima S. Functional Characterization of a Novel *GFI1B* Mutation Causing Congenital Macrothrombocytopenia. 57<sup>th</sup> American Society for Hematology Annual Meeting and

**Exposition** (2015年12月, 米国・オーランド).

**G. 知的財産権の出願・登録状況**

1. 特許取得

出願 ACTN1 遺伝子変異を伴う先天性巨大血小板症の診断補助方法及び診断キット

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

## DKC の臨床データ、遺伝子解析

研究分担者 山口博樹（日本医科大学血液内科 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、治療成績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、HHS 3 症例、不全型 DKC 21 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 症例を初めて発見した。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。治療に関しては、10 症例 (DKC 5 症例、HHS 2 症例、cDKC 3 症例) に蛋白同化ステロイドホルモン療法が施行され 3 (30%) 症例に血液学的データの改善が得られた。また、造血幹細胞移植は 13 症例 (DKC 8 症例、HHS 2 症例、cDKC 3 症例) に行われ、11 症例は長期生存が得られた (移植後 10 年生存率 69.2%)。

### 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、大人になって特徴的 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、治療成績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上で同意を得る。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何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置き、連結可能匿名化を図った上で解析を行う。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%) のみであった。DKC の特徴的体所見に関しては、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/ $\mu$ l 以下は 1/16 (6.3%) 症例のみ、ヘモグロビン 7g/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/ $\mu$ 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/ $\mu$ l 以下は 1/3 (33.3%) 症例のみ、血小板数 20000/ $\mu$ l 以下も 1/3 (33.3%) 症例のみに認められたのに対して、Hb7g/dl 以下は 2/3 (66.7%) 症例に認められた。

骨髓検査に関しては、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初めての報告になる。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 へ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 (cryptic DKC : cDKC) 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/ $\mu$ l 以下は 4/21 (19.0%) 症例、ヘモグロビン 7g/dl 以下は 6/21 症例 (28.6%)、血小板数 20000/ $\mu$ 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 のように血小板減少を認める症例が顕著に多いということはなかった。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。

## 6. DKC や不全型 DKC に対する治療

シクロスポリンやステロイドなどの免疫抑制療法は、4 症例 (DKC 3 症例、cDKC 1 症例) に施行されたが明らかな有効性は得られなかった。蛋白同化ステロイドホルモンに関しては、10 症例 (DKC 5 症例、HHS 2 症例、cDKC 3 症例) に施行されたが、3 (30%) 症例に血液学的データの改善が得られた (DKC: 貧血の軽度改善 1 症例、血小板減少の改善 1 症例、HHS: 血小板減少の軽度改善 1 症例)。造血幹細胞移植は 13 症例 (DKC 8 症例、HHS 2 症例、cDKC 3 症例) に行われ、1 症例は移植後ウイルス性脳炎、1 症例は肺線維症による呼吸不全で死亡しているが、他の 11 症例は長期生存が得られた (移植後 10 年生存率 69.2%)。

## 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える。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初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できなかった。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揃わず、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、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 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 に関してその診断は問題ないと考ええる。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。

DKC や cDKC に対する現在の治療は、蛋白同化ステロイドホルモンを投与するか同種造血幹細胞移植となる。蛋白同化ステロイドホルモンは細胞内でエストロゲンに変換され *TERT* の promoter 領域

のエストロゲン結合領域を介してテロメララーゼ活性を亢進させると考えられている。これまで DKC の約 2/3 の症例に有効性があると報告されているが、実際にどのくらいの症例に効果があるのかは明確には示されていない。今回の研究において、約 1/3 の症例で何らかの血液学的改善が認められているが、その効果は限局的で DKC や HHS に対しての有望な治療とは言い難い。一方、DKC や HHS の重篤な骨髄不全症に対しては同種造血幹細胞移植が有効ではあるが、移植後の肺合併症などでその治療成績はそれほど良いものではないと考えられてきた。しかし、今回の研究においては、約 70% の症例が 10 年生存をしており、前処置などに工夫をすることによって、有望な治療法となるのではないかと考えられた。

#### 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 症例を初めて発見した。

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 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、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。

DKC や不全型 DKC の治療に関しては、蛋白同化ステロイドホルモンによる治療の効果は限局的で DKC や HHS に対しての有望な治療とは言い難い。一方、同種造血幹細胞移植は DKC や不全型 DKC の骨髄不全症に対しての根治療法ではあるが、これまで合併症による治療関連死亡率が高いことが問題であった。本邦の DKC や不全型 DKC に対しての同種

造血幹細胞移植の成績は、これまでの報告に比べて治療関連死亡率も低く有望な治療である可能性を示した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Yamaguchi H, Sakaguchi H, Yoshida K, Yabe M, Yabe H, Okuno Y, Muramatsu H, Takahashi Y, Yui S, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Inokuchi K, Ito E, Ogawa S, Kojima S. The clinical and genetic features of dyskeratosis congenita, cryptic dyskeratosis congenita, and Hoyeraal-Hreidarsson syndrome in Japan. *Int J Hematol.* 2015 Nov;102(5):544-52.

##### 2. 学会発表

1) Yamaguchi H, Sakaguchi H, Yoshida K, Yabe M, Yabe H, Okuno Y, Muramatsu H, Takahashi Y, Yui S, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Inokuchi K, Ito E, Ogawa S, Kojima S. The clinical and genetic features of dyskeratosis congenita, cryptic dyskeratosis congenita, and Hoyeraal-Hreidarsson syndrome in Japan. 第 77 回日本血液学会学術集会 (2015 年 10 月, 金沢).

#### 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