

伝子異常が報告されていたが、2015年に3つの新規遺伝子 (*FANCR*, *FANCS*, *FANCT*) が報告された。そのうち、*FANCT* は上記に記載した日本人 FA 患者 2 例のゲノムをエクソーム解析等の手段で解析し、新たに *UBE2T* 遺伝子変異によると同定され、日本から初めての新規 FA 遺伝子である。*FANCA* と *FANCG* の占める割合が多く、臨床データの解析が可能であった東海大学 87 例のうち、*FANCA* は 50 例 (57%)、*FANCG* は 22 例 (25%) であり、両者における身体異常などの表現型には有意差はみられなかったが、骨髄不全の発症は *FANCG* の患者で有意に早かった。*FANCA* 症例の約 2/3 の症例では A 群 MLPA 法にて片アレルまたは両アレルの検出が可能であり、極めて有用であった。また、*FANCB* の 2 症例では身体合併奇形が極めて多く、海外報告例と一致した。*ALDH2* の解析は 79 例に行われ、*ALDH2-AA* : 6 例、*ALDH2-GA* : 32 例、*ALDH2-GG* : 41 例であった。*ALDH2* 遺伝子型の分布は、健常日本人の分布と差を認めなかった。骨髄不全は AA 群、GA 群、GG 群の順に早く発症し、有意差を認めた。特に AA 群の 6 症例では、出生直後から 1 年以内に輸血依存の重症な血球減少が進行し、5 症例では 3 系統血球に顕著な形態異常を認めた。*ALDH2* のバリエントが FA 患者の骨髄不全の増悪因子であることが確認された。骨髄異形成症候群や急性白血病を発症した 33 例の造血幹細胞移植では移植後 3 年生存率は約 68% であった。白血病 10 症例の移植後 3 年生存率は 30% 以下で極めて不良であったが、不応性貧血 12 例では約 90% と再生不良性貧血と同等の成績が得られた。造血細胞移植に関しては、小児ドナーの有効性と安全性の検討を行い、同胞 105 症例のうち FA 患者ドナー 11 例においても有効性と安全性が確認された。

以上の結果を踏まえて、Fanconi 貧血の診断基準、重症度基準、診療ガイドラインの作成および改訂を行った。診断基準は血球減少をはじめ、種々の身体異常、染色体不安定性に加えて、新規遺伝子を加えた遺伝学的検査と鑑別診断を総合した判断とした。重症度分類は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こととした。ガイドラインは上記、診断基準と重症度分類に加えて、疫学、病因・病態、詳細な臨床症状、造血幹細胞移植を含んだ治療指針、長期フォローアップ

とマネジメント、問題点と将来展望に至るまで、疾患を網羅できる形で作成した。

#### D. 考察

FA の遺伝子変異は民族による差がみられ、日本人 FA 患者の 100 例を超える疫学集積が可能であった。MLPA-A を用いた方法では既知の変異のみが対象となるものの、極めて有用であった。エクソーム解析等を用いた遺伝子解析は従来の方法では検出できなかった *FANCT* 変異を確定することができた。19 におよぶ FA 遺伝子毎の臨床的特徴も徐々に明らかになりつつある。臨床症状や染色体などの機能解析では FA と診断されながら、既知の遺伝子が同定されない症例がみられ、FA の新規遺伝子の可能性があり、今後の解析に期待したい。また日本人では、FA 原因遺伝子とは異なる *ALDH2* のバリエントが FA 患者の骨髄不全の進展に大きく影響する。今後は、再生不良性貧血の重症度だけではなく、*ALDH2* の遺伝子型も含めて、身体異常や骨髄不全の進展、造血器腫瘍や固形がんの発症を加味した重症度も考慮すべきかもしれない。

骨髄不全に対する治療法では、本邦での fludarabine を前処置に用いた造血細胞移植の成績は良好であり、骨髄形成症候群、急性骨髄性白血病に進展した症例では白血病に移行する前に移植を施行することが重要である。HLA 一致の同胞間移植の成績は良好であるが、同胞の FA を否定することが大切である。

#### E. 結論

FA の遺伝子解析が進み、京都大学放射線生物研究センターの高田穰研究室等との共同研究により日本人 FA 患者 106 例の解析が行われ、FA 遺伝子の疫学集積が進んでいる。FA 患者では、アルデヒドによるゲノム障害が修復できず、骨髄不全が進行する可能性が示唆され、病態の解明と新規治療につながることを期待される。今後は、さらに正確な診断のもとに症例を集積し、よりよい治療法開発のためにも、調査と研究の継続が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kato S, Yabe H, Takakura H, Mugishima H, Ishige M, Tanaka A, Kato K, Yoshida N, Adachi S, Sakai N, Hashii Y, Ohashi T, Sasahara Y, Suzuki Y, Tabuchi K. Hematopoietic stem cell transplantation for inborn errors of metabolism: A report from the Research Committee on Transplantation for Inborn Errors of Metabolism of the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare and the Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation.
- 2) Taga T, Murakami Y, Tabuchi K, Adachi S, Tomizawa D, Kojima Y, Kato K, Koike K, Koh K, Kajiwara R, Hamamoto K, Yabe H, Kawa K, Atsuta Y, Kudo K. Role of Second Transplantation for Children With Acute Myeloid Leukemia Following Posttransplantation Relapse. **Pediatr Blood Cancer**. 2015 Dec 16. doi:10.1002/pbc.25866. [Epub ahead of print]
- 3) Yabe H, Morimoto T, Takakura H, Okuya M, Ikegaya R, Kato S, Sugimoto T, Tsuchida F, Murakami M, Mochizuki H, and Yabe M. Post-transplantation-emerging anti-HLA DQA1/DQB1 antibody possibly responsible for graft rejection after myeloablative-unrelated marrow grafting. **Bone Marrow Transplant**. 2015 Dec 7. doi:10.1038/bmt.2015.292. [Epub ahead of print]
- 4) 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. doi:10.1111/petr.12626. [Epub ahead of print]
- 5) Yabe M, Yabe H. Diagnosis and management of inherited bone marrow failure syndrome. **Rinsho Ketsueki** 2015 Oct;56(10):1914-21. doi:10.11406/rinketsu.56.1914. Japanese.
- 6) Yabe H, Tanaka A, Chinen Y, Kato S, Sawamoto K, Yasuda E, Shintaku H, Suzuki Y, Orii T, Tomatsu S. Hematopoietic stem cell transplantation for Morquio A syndrome. **Mol Genet Metab**. 2015 Oct 1. pii:S1096-7192(15)30057-3. doi:10.1016/j.ymgme.2015.09.011. [Epub ahead of print]
- 7) Yamaguchi H, Sakaguchi H, Yoshida K, Yabe M, Yabe H, Okuno Y, Muramatsu H, Takahashi Y, Yui S, Shiraiishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Inokuchi K, Ito E, Ogawa S, Kojima S. 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. doi: 10.1007/s12185-015-1861-6. Epub 2015 Sep 2.
- 8) 矢部みはる, 矢部普正. 家族性腫瘍学 家族性腫瘍の最新研究動向 II. 各論 症候群 Fanconi anemia. **日本臨床** 2015;73:120-124.
- 9) 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. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and telomere length predicts response to immunosuppressive therapy in pediatric aplastic anemia. **Haematologica**. 2015 Aug 27. pii:haematol.2015.132530. [Epub ahead of print]
- 10) Bitan M, van Walraven SM, Worel N, Ball LM, Styczynski J, Torrabadella M, Witt V, Shaw BE, Seber A, Yabe H, Greinix HT, Peters C, Gluckman E, Rocha V, Halter J, Pulsipher MA. Determination of Eligibility in Related Pediatric Hematopoietic Cell Donors: Ethical and Clinical Considerations. Recommendations from a Working Group of the Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation Association. **Biol**

- Blood Marrow Transplant.** 2015 Aug 22. pii:S1083-8791(15) 00546-7. doi:10.1016/j.bbmt.2015.08.017. [Epub ahead of print]
- 11) 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 Nov;100(11):1426-33. doi:10.3324/haematol.2015.128553. Epub 2015 Aug 13.
  - 12) Worel N, Buser A, Greinix HT, Häggglund H, Navarro W, Pulsipher MA, Nicoloso de Faveri G, Bengtsson M, Billen A, Espino G, Fechter M, Giudice V, Hölig K, Kanamori H, Kodera Y, Leitner G, Netelenbos T, Niederwieser D, van Walraven SM, Rocha V, Torosian T, Vergueiro C, Weisdorf D, Yabe H, Halter JP. Suitability Criteria for Adult Related Donors: A Consensus Statement from the Worldwide Network for Blood and Marrow Transplantation Standing Committee on Donor Issues. **Biol Blood Marrow Transplant.** 2015 Dec;21(12):2052-60. doi:10.1016/j.bbmt.2015.08.009. Epub 2015 Aug 10.
  - 13) Hira A, Yoshida K, Sato K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Shimamoto A, Tahara H, Ito E, Kojima S, Kurumizaka H, Ogawa S, Takata M, Yabe H, Yabe M. Mutations in the gene encoding the E2 conjugating enzyme UBE2T cause Fanconi anemia. **Am J Hum Genet.** 2015 Jun 4;96(6):1001-7. doi:10.1016/j.ajhg.2015.04.022.
  - 14) Tomatsu S, Sawamoto K, Alméciga-Díaz CJ, Shimada T, Bober MB, Chinen Y, Yabe H, Montaña AM, Giugliani R, Kubaski F, Yasuda E, Rodríguez-López A, Espejo-Mojica AJ, Sánchez OF, Mason RW, Barrera LA, Mackenzie WG, Orii T. Impact of enzyme replacement therapy and hematopoietic stem cell transplantation in patients with Morquio A syndrome. **Drug Des Devel Ther.** 2015 Apr 1;9:1937-53. doi:10.2147/DDDT.S68562.
  - 15) Ishida H, Adachi S, Hasegawa D, Okamoto Y, Goto H, Inagaki J, Inoue M, Koh K, Yabe H, Kawa K, Kato K, Atsuta Y, Kudo K. Comparison of a fludarabine and melphalan combination-based reduced toxicity conditioning with myeloablative conditioning by radiation and/or busulfan in acute myeloid leukemia in Japanese children and adolescents. **Pediatr Blood Cancer.** 2015 May; 62(5):883-9. doi:10.1002/pbc.25389. Epub 2014 Dec 24.
  - 16) Yabe M, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, 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 July;49(7):921-6.
  - 17) 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.
  - 18) 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.
  - 19) 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.
- 20) 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.
- 21) 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.
- 22) 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.
- 23) 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 Dec;99(12):1784-91.
- 24) 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*. 2015 Jan;62(1):148-52.
- 25) 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]
- 26) 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]
- 27) 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]
- 28) 矢部普正. Fanconi 貧血. *小児科* 2014;55(11): 1559-1564.

2. 学会発表

- 1) Hira A, Yoshida K, Sato K, Shimamoto A, Tahara H, Kurumizawa H, Ogawa S, Yabe H, Yabe M, Takata M. Mutations in the gene encoding the E2 conjugating enzyme UBE2T cause Fanconi anemia. **27<sup>th</sup> Annual Fanconi anemia research fund scientific symposium** (2015年9月, カナダ・トロント).
- 2) Yabe M, Yabe H, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno K, Muramatsu H, Kojima S, Hira A, Takata M. Genetic subtyping of Fanconi anemia in Japanese patients. **Fanconi anemia. 27<sup>th</sup> Annual Fanconi anemia research fund scientific symposium** (2015年9月, カナダ・トロント).
- 3) 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** (2014年4月, イタリア・ミラノ).
- 4) 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** (2014年4月, イタリア・ミラノ).
- 5) 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** (2014年4月, イタリア・ミラノ).
- 6) 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** (2014年9月, 米国・ベセスダ).
- 7) 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** (2014年9月, 米国・ベセスダ).
- 8) 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

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 の臨床データ解析・診療ガイドラインの作成

研究分担者 真部 淳（聖路加国際病院小児科 医長）

**研究要旨：**本研究の目的は Congenital dyserythropoietic anemia（CDA：先天性赤血球産生異常性貧血）の疾患像を明らかにすることである。CDA は、先天性の赤血球系細胞の形成異常により慢性貧血、無効造血および続発性ヘモクロマトーシスを伴う疾患である。平成 21 年度に行った全国調査により把握された 22 例の CDA 症例を対象として二次調査と遺伝子検索を行った。20 例について遺伝子解析を行い、3 例で *CDAN1* 変異が、また、1 例で variant 型の責任遺伝子 *KLF1* の変異が見つかった。この他に次世代シーケンサーを用いて解析を行ったところ、臨床的に CDA と診断された 12 例中 4 例で溶血性貧血の原因遺伝子がみられた。すなわち、2 例では遺伝性楕円赤血球症でみられる *SPTA1* 遺伝子の変異が、1 例では *G6PD* 遺伝子の変異が、残りの 1 例では遺伝性球状赤血球症でみられる *ANK1* 遺伝子の変異がみられた。スクリーニングする集団を広げていき、実態を明らかにする必要がある。また、毎年 CDA の診療ガイドラインを改訂し、新たに重症度分類を作成した。

#### A. 研究目的

Congenital dyserythropoietic anemia（CDA：先天性赤血球産生異常性貧血）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が、我が国ではこれまで CDA の実態が十分把握されていなかった。本研究により、我が国における CDA の実態を明らかにし、最終的に効果的診断法や治療ガイドラインを作成することを目的とする。

#### B. 研究方法

従来行われている日本小児血液・がん学会疾患登録、中央診断事業を基に、我が国における CDA の把握ならびに診断を行う。診断を行うための診断基準、中央形態診断、遺伝子診断のシステムを構築する。疾患の把握は、過去に行われた全国調査を参考に、疑い症例を含みアンケート方式で行う。診断基準については、既存のものを参考にするが、軽症で診断基準に合致しないものも存在する可能性があるため、独自のものを作成する。調査は血液専門医だ

けでなく、一般小児科医にも協力してもらう。

（倫理面への配慮）

本研究で行われる臨床試験は、

- ① ヘルシンキ宣言に則り、患者の利益を最優先に考えて実施する。
- ② 調査フィールドとなる各施設における倫理委員会で承認を得て実施する。
- ③ 患者および家族に対して面談・介入開始時に統一した説明文を用いて文書による同意を得る。同意説明文では、調査を行う目的、介入・面談の内容、協力者に起こりうる利益・不利益について、未成年者の場合には年齢に応じた説明をする。

協力によって得られたデータは、個人情報保護を厳重に行い、研究目的以外には利用しないことを文書による同意を得て実施する。

#### C. 研究結果

CDA の全国調査により把握された症例を対象として、2 次調査と中央遺伝子診断を開始した。20 例

について遺伝性解析を行い、3例で *CDAN1* 変異、2例が (P1129L)、1例が (P185fs)、ex12 (N598S) が、また1例で variant 型の責任遺伝子 *KLF1* の変異 (E325K) が見つかった。この他に次世代シーケンサーを用いて解析を行ったところ、臨床的に CDA と診断された12例中4例で溶血性貧血の原因遺伝子がみられた。すなわち、2例では遺伝性楕円赤血球症でみられる *SPTA1* 遺伝子の変異 (R28H)、(Y2280C)、(W2172X) が、1例では *G6PD* 遺伝子の変異 (V424L) が、残りの1例では遺伝性球状赤血球症でみられる *ANK1* 遺伝子の変異 (R935X) がみられた。

毎年本疾患の診療ガイドラインを改訂している。また、新たに重症度分類を作成した。

#### Congenital dyserythropoietic anemia の重症度分類 (平成26年度作成)

軽症	赤血球輸血を受けたことがない
中等症	赤血球輸血を受けたことはあるが、現在は受けていない
重症	定期的な赤血球輸血を必要とする

注) 定期的な赤血球輸血とは、ヘモグロビン濃度 8.0 g/dL を維持するのに2~8週毎の輸血が必要な場合とする。

\*鉄過剰症などの貧血治療に伴う臓器合併症は除く。

#### D. 考察

我が国でも CDA 患者が一定数存在することが明らかになったが、諸外国に比べ稀な疾患なのか、軽症例が多く見逃されているのかは未だに不明である。遺伝子解析を進めるとともにスクリーニングする集団を広げていき、実態を明らかにする必要がある。実際、臨床的に CDA と診断された症例で通常は遺伝性楕円赤血球症でみられる *SPTA* 遺伝子の変異や遺伝性球状赤血球症でみられる *ANK1* 遺伝子の変異がみつかった。

新たに作成した重症度分類は今後、患者の取扱いに際して有用と考えられる。

#### E. 結論

我が国の CDA の実態の正確な把握をし、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。

共同研究者：土居崎小夜子、小島勢二 (名古屋大小児科)、多賀崇 (滋賀医大小児科)、長谷川大輔、平林真介 (聖路加国際病院小児科)

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Hasegawa D, Chen X, Hirabayashi H, Ishida Y, Watanabe S, Zaike Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Nakahata T, Manabe A. Clinical characteristics and treatment outcome in 65 cases with refractory cytopenia of childhood defined according to the WHO 2008 classification. *Br J Haematol.* 2014;166:758-766.
- 2) Moriwaki K, Manabe A, Taketani T, Kikuchi A, Nakahata T, Hayashi Y. Cytogenetic and clinical features of pediatric myelodysplastic syndrome in Japan. *Int J Haematol.* 2014;100:478-484.
- 3) Niemeyer CM, Loh ML, Cseh A, Cooper T, Dvorak CC, Chan R, Xicoy B, Germing U, Kojima S, Manabe A, Dworzak M, De Moerloose B, Stary J, Smith OP, Masetti R, Catala A, Bergstraesser E, Ussowicz M, Fabri O, Baruchel A, Cave H, Zwaan M, Locatelli F, Hasle H, van den Heuvel-Eibrink MM, Flotho C, Yoshimi A. Criteria for evaluating response and outcome in clinical trials for children with juvenile myelomonocytic leukemia. *Haematologica.* 2015;100:17-22.
- 4) Ono R, Hasegawa D, Hirabayashi S, Kamiya T, Yoshida K, Yonekawa S, Ogawa C, Hosoya R, Toki T, Terui K, Ito E, Manabe A. Acute megakaryoblastic leukemia with acquired trisomy 21 and GATA1 mutations in phenotypically normal children. *Eur J*

- Pediatr.* 2015;174:525-531.
- 5) Yabe M, Ohtsuka Y, Watanabe K, Inagaki J, Yoshida N, Sakashita K, Kakuda H, Yabe H, Kurosawa H, Kudo K, Manabe A. Transplantation for juvenile myelomonocytic leukemia: A retrospective study of 30 children treated with a regimen of busulfan, fludarabine, and melphalan. *Int J Hematol.* 2015;101:184-190.
- 6) Elmahdi S, Hama A, Manabe A, Hasegawa D, Muramatsu H, Narita A, Nishio N, Ismael O, Kawashima N, Okuno Y, Xu Y, Wang X, Takahashi Y, Ito M, Kojima S. A cytokine-based diagnostic program in pediatric aplastic anemia and hypocellular refractory cytopenia of childhood. *Pediatr Blood Cancer.* (in press)
2. 学会発表
- 1) Hama A, Manabe A, Hasegawa D, Nozawa K, Okuno Y, Irie M, Muramatsu H, Takahashi Y, Watanabe K, Ohara A, Ito M, Kojima S. Central Morphology Review in Childhood Bone Marrow Failure in Japan. 第56回アメリカ血液学会(2014年12月, サンフランシスコ).
- 2) Hasegawa D, Hirabayashi S, Ishida Y, Watanabe S, Zaike Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Nakahata T, Manabe A. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Patients with Refractory Cytopenia of Childhood. 第56回アメリカ血液学会(2014年12月, サンフランシスコ).
- 3) Hama A, Manabe A, Hasegawa D, Nozawa K, Muramatsu H, Takahashi Y, Watanabe K, Ohara A, Ito M, Kojima S. Comparison of clinical and laboratory features between pediatric aplastic anemia and refractory cytopenia of childhood. 第57回アメリカ血液学会(2015年12月, オランダ).
- 4) Hasegawa D, Hama A, Nozawa K, Hirabayashi S, Watanabe K, Tsuchida M, Ito M, Kojima S, Nakahata T, Manabe A. Clinical characteristics of therapy-related myelodysplastic syndrome in childhood: A Prospective Registration through the Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology (JSPHO). *Haematologica* 100 (S2):3. 2015 国際小児 MDS シンポジウム (2015年10月, デンマーク).
- 5) Yoshimi A, Loh ML, Cseh A, Cooper T, Dvorak CC, Chan R, Xicoy B, Germing U, Kojima S, Manabe A, Dwprzak M, De Moerloose B, Stary J, Smith OP, Masetti R, catala A, Bergstraesser E, Ussowicz M, Fabri O, Baruchel A, Cave H, Zwaan M, Locatelli F, Hasle H, van den Heuvel-Eibrink MM, Flotho C, Niemeyer C. Criteria for evaluating response and outcome in clinical trials for children with myelodysplastic syndrome and juvenile myelomonocytic leukemia. *Haematologica* 100 (S2):3. 2015 国際小児 MDS シンポジウム (2015年10月, デンマーク).
- 6) Yoshida N, Kato M, Inagaki J, Yabe M, Yabe H, Takahashi Y, Inoue M, Akihisa S, Kato K, Atsuto Y, Manabe A, Koike K, Kojima S, Watanabe K. First allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for juvenile myelomonocytic leukemia: Data from the JSHCT. *Haematologica* 100 (S2):8. 2015 国際小児 MDS シンポジウム (2015年10月, デンマーク).
- G. 知的財産権の出願・登録状況  
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

## 中央診断、DKC と CDA の遺伝子診断・診療ガイドラインの作成

研究分担者 小島勢二（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 教授）

**研究要旨：**日本小児血液学会（現 日本小児血液・がん学会）は、平成 21 年 2 月より再生不良性貧血（AA）、骨髄異形成症候群（MDS）および先天性造血不全症候群（CBFS）を対象とした中央診断を開始した。レビューは、骨髄および末梢血塗抹標本を 2 施設（名古屋大学、聖路加国際病院）で、骨髄病理標本を 1 施設（名古屋第一赤十字病院）で行っている。中央診断症例を中心に集積された Congenital dyserythropoietic anemia (CDA) 22 例において、同意を得た後、遺伝子診断を行い、5 例で I 型、1 例で variant 型の責任遺伝子の変異を確認した。遺伝子変異が確認されなかった 12 症例については、次世代シーケンサーによる新規責任遺伝子の探索を行い、4 例で溶血性貧血の原因遺伝子の変異を確認した。遺伝性貧血の診断は必ずしも容易ではなく、中央診断、遺伝子診断を行うことにより、その診断の精度が上昇したと考えられる。

### A. 研究の目的

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。I 型、II 型、III 型、variant 型の 4 病型に分類され、近年 I 型が *CDAN1*、II 型が *SEC23B*、III 型が *KIF23*、variant 型が *KLF1* と責任遺伝子が同定された。本研究では、日本小児血液・がん学会の中央診断および疾患登録事業の一環として、本疾患を包括的に登録するとともに、新たに遺伝子診断法による診断精度の向上と新規責任遺伝子の探索を行う。

### B. 研究方法

中央診断事務局を名古屋大学小児科に設置した。AA、MDS、あるいは CBFS が疑われる症例が発生した場合は、各施設から事務局に連絡をもらい、登録番号を発行した。以後は、その番号でやりとりを行った（匿名化）。中央診断およびそれに伴う検査については、患者保護者の同意を取得した後に行った。レビューは、骨髄および末梢血塗抹標本を 2 施設（名古屋大学小児科、聖路加国際病院小児科）で、骨髄病理標本を 1 施設（名古屋第一赤十字病院病理部）

で行った。

CDA と診断された症例については、名古屋大学小児科において、次世代シーケンサーによるエクソーム解析、およびターゲットシーケンスを行った。すなわち、各症例より抽出したゲノム DNA を超音波破碎により断片化し、試料を識別する 6 塩基の Barcode 配列を付与したのち、12 試料を混合し、常法に従って液相ハイブリダイゼーションにより全エクソン配列を濃縮した。得られた混合試料を Illumina 社 HiSeq2000 シーケンサーにより平均読み取回数 200 回を目標として全エクソン配列、対象遺伝子領域の解析を行った。アミノ酸置換を生じる翻訳領域の一塩基変異（single nucleotide variants; SNVs）および欠失・挿入配列から SNP データベースおよび 1000personal genome データベースに登録済みの SNP を除去したのち、家族内罹患者と陰性コントロール（非罹患同胞や両親）の全エクソン解析データとを比較検討することにより、責任変異の候補となる SNV 原因遺伝子の候補を絞り込み、必要に応じて全ゲノムリシーケンスを併用しつつ、機能的な推定と併せて、新規原因遺伝子の同定を試みた。

(倫理面への配慮)

日本小児血液・がん学会として行う疾患登録事業は、疫学研究倫理指針に準拠した臨床研究として、すでに学会倫理審査委員会で承認されている。調査にあたっては、個人情報守秘を厳守し、データの取り扱いに注意する。中央診断事業についても、患者検体の匿名化を図る。検体の採取にあたっては患者および家族から事前に十分な説明を行い、文書による同意を得る。各疾患の遺伝子解析についてはヒトゲノム遺伝子解析研究指針に従い、患者および家族に事前に十分な説明を行い、文書による同意を得たのち連結可能匿名検体として研究を遂行する。患者および家族に対して不利益が生じる場合には、いつでも同意の撤回は可能である。既知の責任遺伝子に関しては、倫理委員会で承認されている。

### C. 研究結果

CDA と診断され同意を得た症例について遺伝子診断を行った。22 例中 6 例に遺伝子変異を確認し、5 例では I 型の責任遺伝子 *CDAN1* の変異 (2 例が (P1129L)、1 例が (P185fs)、ex12 (N598S)、1 例が P293R、1 例が R725W、P672L) を認めた。1 例では variant 型の責任遺伝子 *KLF1* の変異 (E325K) を認めた。I 型と診断された症例では骨髄において、I 型に特徴的とされる核間架橋が確認された。

既知の責任遺伝子変異が認められなかった症例について、次世代シーケンスによるターゲットシーケンスを行った。

エクソームシーケンスによる新規責任遺伝子の探索では、12 例中 4 例で溶血性貧血の原因遺伝子の変異を確認した。2 例が *SPTA1* の変異 ((R28H)、(Y2280C)、(W2172X)) であり、1 例が *G6PD* の変異 (V424L) であり、1 例が *ANK1* の変異 (R935X) であった。

### D. 考察

CDA 疑いとされた症例は 22 例中、既知の責任遺伝子の変異を認めた症例は 6 例のみであった。その原因としては、CDA の鑑別が困難であること、日本人に特有な CDA の病型の存在する可能性が挙げられる。また、6 例中 5 例が I 型の責任遺伝子である *CDAN1* の変異を認めたことから、日本人において

は I 型の頻度が高い可能性が示唆された。次世代シーケンスによる解析で、溶血性貧血の原因遺伝子の変異を複数例に認めた。この事実は、CDA と溶血性貧血の鑑別が困難であることを示唆し、貧血鑑別における遺伝子診断の重要性が再確認された。

### E. 結論

CDA のような稀な疾患は、このような中央診断登録システム、遺伝子変異解析を通して確実に診断がつけられていくと考えられる。また、次世代シーケンスによる解析を進めて行くことで、CDA の鑑別がより確かになるとともに、新たな責任遺伝子の同定が可能となると考えられる。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Fujita A, Ochi N, Fujimaki H, Muramatsu H, Takahashi Y, Natsume J, Kojima S, Nakashima M, Tsurusaki Y, Saitsu H, Matsumoto N, Miyake N. A novel *WTX* mutation in a female patient with osteopathia striata with cranial sclerosis and hepatoblastoma. *Am J Med Genet A*. 2014 Apr;164A(4):998-1002.
- 2) Hanada I, Terui K, Ikeda F, Toki T, Kanazaki R, Sato T, Kamio T, Kudo K, Sasaki S, Takahashi Y, Hayashi Y, Inukai T, Kojima S, Koike K, Kosaka Y, Kobayashi M, Imaizumi M, Mitsui T, Hori H, Hara J, Horibe K, Nagai J, Goto H, Ito E. Gene alterations involving the CRLF2-JAK pathway and recurrent gene deletions in Down syndrome-associated acute lymphoblastic leukemia in Japan. *Genes Chromosomes Cancer* 2014 Nov;53(11):902-910.
- 3) Hasegawa D, Chen X, Hirabayashi S, Ishida Y, Watanabe S, Zaike Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Nakahata T, Manabe A. Clinical characteristics and treatment outcome in 65 cases with refractory cytopenia of childhood defined according to the WHO 2008 classification. *Br J Haematol*. 2014 Sep;166 (5):758-766.

- 4) Hasegawa S, Imai K, Yoshida K, Okuno Y, Muramatsu H, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Kojima S, Ogawa S, Morio T, Mizutani S, Takagi M. Whole-exome sequence analysis of ataxia telangiectasia-like phenotype. *J Neurol Sci*. 2014 May 15;340(1-2):86-90.
- 5) Honda Y, Tsuchida M, Zaike Y, Masunaga A, Yoshimi A, Kojima S, Ito M, Kikuchi A, Nakahata T, Manabe A. Clinical characteristics of 15 children with juvenile myelomonocytic leukaemia who developed blast crisis: MDS Committee of Japanese Society of Paediatric Haematology/Oncology. *Br J Haematol*. 2014 Jun; 165(5):682-687.
- 6) Hyakuna N, Muramatsu H, Higa T, Chinen Y, Wang X, Kojima S. Germline mutation of CBL is associated with moyamoya disease in a child with juvenile myelomonocytic leukemia and Noonan syndrome-like disorder. *Pediatr Blood Cancer*. 2014 Oct 4.doi:10.1002/pbc.25271. [Epub ahead of print]
- 7) Ismael O, Shimada A, Elmahdi S, Elshazley M, Muramatsu H, Hama A, Takahashi Y, Yamada M, Yamashita Y, Horide K, Kojima S. RUNX1 mutation associated with clonal evolution in relapsed pediatric acute myeloid leukemia with t(16;21)(p11;q22). *Int J Hematol*. 2014 Feb; 99(2):169-174.
- 8) Jeong DC, Chung NG, Cho B, Zou Y, Ruan M, Takahashi Y, Muramatsu H, Ohara A, Kosaka Y, Yang W, Kim HK, Zhu X, Kojima S. Long-term outcome after immunosuppressive therapy with horse or rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine for severe aplastic anemia in children. *Haematologica*. 2014 Apr;99(4):664-671.
- 9) Kato M, Imamura T, Manabe A, Hashii Y, Koh K, Sato A, Takahashi H, Hori H, Taki T, Inoue M, Hayashi Y, Horibe K, Tsuchida M, Kojima S, Oda M, Ohara A. Prognostic impact of gained chromosomes in high-hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukaemia: a collaborative retrospective study of the Tokyo Children's Cancer Study Group and Japan Association of Childhood Leukaemia Study. *Br J Haematol*. 2014 Jul;166(2):295-298.
- 10) Kawashima N, Ito Y, Sekiya Y, Narita A, Okuno Y, Muramatsu H, Irie M, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Choreito formula for BK virus-associated hemorrhagic cystitis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014 Oct 23. [Epub ahead of print]
- 11) Kawashima N, Narita A, Wang X, Xu Y, Sakaguchi H, Doisaki S, Muramatsu H, Hama A, Nakanishi K, Takahashi Y, Kojima S. Aldehyde dehydrogenase-2 polymorphism contributes to the progression of bone marrow failure in children with idiopathic aplastic anaemia. *Br J Haematol*. 2014 Sep 11.[Epub ahead of print]
- 12) 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):1145-1149.
- 13) Mizoguchi Y, Tsumura M, Okada S, Hirata O, Minegishi S, Imai K, Hyakuna N, Muramatsu H, Kojima S, Ozaki Y, Imai T, Takeda S, Okazaki T, Ito T, Yasunaga S, Takihara Y, Bryant VL, Kong XF, Cypowyj S, Boisson-Dupuis S, Puel A, Casanova JL, Morio T, Kobayashi M. Simple diagnosis of STAT1 gain-of-function alleles in patients with chronic mucocutaneous candidiasis. *J Leukoc Biol*. 2014 Apr;95(4):667-676.
- 14) Ohye T, Inagaki H, Ihira M, Higashimoto Y, Kato K, Oikawa J, Yagasaki H, Niizuma T, Takahashi Y, Kojima S, Yoshikawa T, Kurahashi H. Dual roles for the telomeric repeats in chromosomally integrated human herpesvirus-6. *Sci Rep*. 2014;4:4559.
- 15) 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 G. Peripheral blood lymphocyte telomere length as a predictor of response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anemia. *Haematologica*. 2014 Aug; 99(8):1312-1316.
- 16) Suzuki M, Ito Y, Shimada A, Saito M, Muramatsu H, Hama A, Takahashi Y, Kimura H, Kojima S. Long-term parvovirus B19 infections with genetic drift after cord blood transplantation complicated by persistent CD4+ lymphocytopenia. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2014 Jan;36(1):e65-68.
- 17) Ueda S, Sakata N, Muramatsu H, Sakaguchi H, Wang X, Xu Y, Kojima S, Yamaguchi T, Higa T, Takemura T. Clinical course of juvenile myelomonocytic leukemia in the blast crisis phase treated by acute myeloid leukemia-oriented chemotherapy and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol*. 2014 Jul 22.
- 18) Wang R, Yoshida K, Toki T, Sawada T, Uechi T, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Kudo K, Kamimaki I, Kanezaki R, Shiraishi 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;168:854-64.
- 19) Yagasaki H, Shichino H, Ohara A, Kobayashi R, Yabe H, Ohga S, Hamamoto K, Ohtsuka Y, Shimada H, Inoue M, Muramatsu H, Takahashi Y, Kojima S. Immunosuppressive therapy with horse anti-thymocyte globulin and cyclosporine as treatment for fulminant aplastic anemia in children. *Ann Hematol*. 2014 May;93(5):747-752.
- 20) 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.
- 21) Elmahdi S, Muramatsu H, Narita A, Ismael O, Hama A, Nishio N, Okuno Y, Xu Y, Wang X, Takahashi Y, Kojima S. Markedly High Plasma Thrombopoietin (TPO) Level is a Predictor of Poor Response to Immunosuppressive Therapy in Children With Acquired Severe Aplastic Anemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2015 Nov 17. [Epub ahead of print]
- 22) Elmahdi S, Hama A, Manabe A, Hasegawa D, Muramatsu H, Narita A, Nishio N, Ismael O, Kawashima N, Okuno Y, Xu Y, Wang X, Takahashi Y, Ito M, Kojima S. A Cytokine-Based Diagnostic Program in Pediatric Aplastic Anemia and Hypocellular Refractory Cytopenia of Childhood. *Pediatr Blood Cancer*. 2015 Oct 20. [Epub ahead of print]
- 23) Elmahdi S, Muramatsu H, Narita A, Torii Y, Ismael O, Kawashima N, Okuno Y, Sekiya Y, Xu Y, Wang X, Hama A, Ito Y, Takahashi Y, Kojima S. Correlation of rabbit antithymocyte globulin serum levels and clinical outcomes in children who received hematopoietic stem cell transplantation from an alternative donor. *Pediatr Transplant*. 2015 Oct 30. [Epub ahead of print]
- 24) 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 Nov;100(11):1426-1433.
- 25) Hira A, Yoshida K, Sato K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Shimamoto A,

- Tahara H, Ito E, Kojima S, Kurumizaka H, Ogawa S, Takata M, Yabe H, Yabe M. Mutations in the Gene Encoding the E2 Conjugating Enzyme UBE2T Cause Fanconi Anemia. *Am J Hum Genet.* 2015 Jun 4;96(6):1001-1007.
- 26) Hiramoto R, Imamura T, Muramatsu H, Wang X, Kanayama T, Zuiki M, Yoshida H, Moroto M, Fujiki A, Chiyonobu T, Osone S, Ishida H, Kojima S, Hosoi H. Serial investigation of PTPN11 mutation in nonhematopoietic tissues in a patient with juvenile myelomonocytic leukemia who was treated with unrelated cord blood transplantation. *Int J Hematol.* 2015 Dec;102(6):719-22.
- 27) Ikeda F, Toki T, Kanezaki 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.
- 28) 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. [Epub ahead of print]
- 29) Kawashima N, Muramatsu H, Okuno Y, Torii Y, Kawada JI, Narita A, Nakanishi K, Hama A, Kitamura A, Asai N, Nakamura S, Takahashi Y, Ito Y, Kojima S. Fulminant adenovirus hepatitis after hematopoietic stem cell transplant: Retrospective real-time PCR analysis for adenovirus DNA in two cases. *J Infect Chemother.* 2015 Dec;21(12):857-63.
- 30) Kudo K, Muramatsu H, Yoshida N, Kobayashi R, Yabe H, Tabuchi K, Kato K, Koh K, Takahashi Y, Hashii Y, Kawano Y, Inoue M, Cho Y, Sakamaki H, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Kojima S. Second allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant.* 2015 Oct;50(10):1312-5.
- 31) Miura H, Kawamura Y, Kudo K, Ihira M, Ohye T, Kurahashi H, Kawashima N, Miyamura K, Yoshida N, Kato K, Takahashi Y, Kojima S, Yoshikawa T. Virological analysis of inherited chromosomally integrated human herpesvirus-6 in three hematopoietic stem cell transplant patients. *Transpl Infect Dis.* 2015 Oct;17(5):728-31.
- 32) Momota H, Kato S, Fujii M, Tsujiuchi T, Takahashi Y, Kojima S, Wakabayashi T. Primary peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified, of the central nervous system in a child. *Brain Tumor Pathol.* 2015 Oct;32(4):281-285.
- 33) 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 Dec;100(12):1546-52.
- 34) Okuno Y, Hoshino A, Muramatsu H, Kawashima N, Wang X, Yoshida K, Wada T, Gunji M, Toma T, Kato T, Shiraishi Y, Iwata A, Hori T, Kitoh T, Chiba K, Tanaka H, Sanada M, Takahashi Y, Nonoyama S, Ito M, Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Kanegane H. Late-Onset Combined Immunodeficiency with a Novel IL2RG Mutation and Probable Revertant Somatic Mosaicism. *J Clin Immunol.* 2015 Oct;35(7):610-4.
- 35) Sakaguchi H, Muramatsu H, Okuno Y, Makishima H, Xu Y, Furukawa-Hibi Y, Wang X, Narita A, Yoshida K, Shiraishi Y, Doisaki S, Yoshida N, Hama A, Takahashi Y, Yamada K, Miyano S, Ogawa S, Maciejewski JP, Kojima S. Aberrant DNA Methylation Is Associated with a Poor Outcome in Juvenile Myelomonocytic Leukemia. *PLoS One.* 2015 Dec 31;10(12):e0145394.
- 36) Shiota M, Yang X, Kubokawa M, Morishima T, Tanaka K, Mikami M, Yoshida K, Kikuchi M, Izawa K, Nishikomori R, Okuno Y, Wang X,

- Sakaguchi H, Muramatsu H, Kojima S, Miyano S, Ogawa S, Takagi M, Hata D, Kanegane H. Somatic Mosaicism for a NRAS Mutation Associates with Disparate Clinical Features in RAS-associated Leukoproliferative Disease: a Report of Two Cases. *J Clin Immunol*. 2015 Apr 21.[Epub ahead of print]
- 37) Suzuki M, Takeda T, Nakagawa H, Iwata S, Watanabe T, Siddiquey MN, Goshima F, Murata T, Kawada J, Ito Y, Kojima S, Kimura H. The heat shock protein 90 inhibitor BIIB021 suppresses the growth of T and natural killer cell lymphomas. *Front Microbiol*. 2015;6:280.
- 38) Wang X, Muramatsu H, Okuno Y, Sakaguchi H, Yoshida K, Kawashima N, Xu Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Saito S, Nakazawa Y, Masunari T, Hirose T, Elmahdi S, Narita A, Doisaki S, Ismael O, Makishima H, Hama A, Miyano S, Takahashi Y, Ogawa S, Kojima S. GATA2 and secondary mutations in familial myelodysplastic syndromes and pediatric myeloid malignancies. *Haematologica*. 2015 Oct;100(10):e398-401.
- 39) 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. 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.
- 40) Yang X, Hoshino A, Taga T, Kunitsu T, Ikeda Y, Yasumi T, Yoshida K, Wada T, Miyake K, Kubota T, Okuno Y, Muramatsu H, Adachi Y, Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Kanegane H. A female patient with incomplete hemophagocytic lymphohistiocytosis caused by a heterozygous XIAP mutation associated with non-random X-chromosome inactivation skewed towards the wild-type XIAP allele. *J Clin Immunol*. 2015 Apr;35(3):244-248.
2. 学会発表
- 1) Takahashi Y. Hematopoietic stem cell transplantation from an alternative donor for childhood aplastic anemia: HLA haploidentical family donor vs HLA mismatched unrelated donor. **40th Annual Meeting of the EBMT** (2014年4月9日, イタリア・ミラノ).
- 2) Hama A. Central Review of morphology in childhood aplastic anemia and myelodysplastic syndrome in Japan-summary of 1,000 cases. **25th Annual Meeting of the International BFM Study Group** (2014年4月26日, チェコ・プラハ).
- 3) Kojima S. Role of rATG in treatment of AA. **Educational Meeting : Role of Immunosuppressive therapy in treatment of Aplastic Anemia** (2014年4月26日, シンガポール).
- 4) Takahashi Y. **ANR COLOGNE 2014** (2014年5月13日, ドイツ・ケルン).
- 5) Kojima S. **Expert Meeting at Wuhan Union Hospital**(2014年7月15日, 中国・ウーハン).
- 6) Kojima S. **Expert Meeting at Wharton International Hotel** (2014年7月16日, 中国・ウーハン).
- 7) Kojima S. **Hematology Expert Meeting** (2014年7月18日, 中国・広州).
- 8) Kojima S. **South China Hematology Summit** (2014年7月19日, 中国・広州).
- 9) Kojima S. **Aplastic Anemia : Therapeutic updated in HSCT. 2013 International Forum on Bone Marrow Failure** (2013年8月16日, 中国・天津).
- 10) Muramatsu H, Takahashi Y, Nishikawa E, Sekiya Y, Kawashima N, Okuno Y, Narita A, Doisaki S, Irie M, Hama A, Kojima S. CD20-negative Epstein-Barr Virus-Associated Post-tasnsplant Lymphoproliferative Disease. **The 19th congress of APBMT** (2014年10月16日, 中国・杭州).
- 11) Yamaguchi H, Sakaguchi H, Yoshida K, Yabe M, Yabe H, Okuno Y, Muramatsu H, Yui 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. **56<sup>th</sup> ASH Annual Meeting** (2014年12月6日, 米国・サンフランシスコ).
- 12) Hasegawa D, Hirabayashi S, Watanabe S, Zaike Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Manabe A. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Patients with Refractory Cytopenia of Childhood. **56<sup>th</sup> ASH Annual Meeting** (2014年12月6日, 米国・サンフランシスコ).
- 13) Hama A, Atsushi M, Hasegawa D, Nozawa K, Okuno Y, Irie, M, Muramatsu H, Takahashi Y, Watanabe K, Ohara A, Ito M, Kojima S. Central Morphology Review of Childhood Bone Marrow Failure in Japan. **56<sup>th</sup> ASH Annual Meeting** (2014年12月6日, 米国・サンフランシスコ).
- 14) Patel B, Huang D, Thota S, Przychodzen P, Sakaguchi H, Kojima S, Ogawa S, Sekeres MA, Makishima H, Jaroslaw P. Maciejewski. Chronic Myelomonocytic Leukemia (CMML) Can be Categorized By Ancestral Mutational Events. **56<sup>th</sup> ASH Annual Meeting** (2014年12月6日, 米国・サンフランシスコ).
- 15) Utsugisawa T, Uchiyama T, Ogura H, Aoki T, Isao Hamaguchi I, Ishiguro A, Ohara A, Kojima S, Ohga S, Ito E, Kanno H. Elevated Red Cell Reduced Glutathione Is a Novel Biomarker of Diamond-Blackfan Anemia. **56<sup>th</sup> ASH Annual Meeting** (2014年12月6日, 米国・サンフランシスコ).
- 16) Yoshida N, Yabe H, Kudo K, Kobayashi R, Yabe M, Inoue M, Miki M, Sakamaki H, Kato K, Kawa K, Suzuki R, Watanabe K, Kojima S. Outcomes of Stem Cell Transplantation with Fludarabine and Melphalan Conditioning for Children with Acquired Bone Marrow Failure: A Nationwide Retrospective Study. **56<sup>th</sup> ASH Annual Meeting** (2014年12月6日, 米国・サンフランシスコ).
- 17) Okuno U, Atsushi N, Muramatsu H, Yoshida K, Hama A, Wang X, Xu Y, Kawashima N, Sakaguchi H, Doisaki S, Takahashi Y, Shiraishi, Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Whole-Exome Sequencing Reveals a Paucity of Somatic Gene Mutations in Aplastic Anemia and Refractory Cytopenia of Childhood. **56<sup>th</sup> ASH Annual Meeting** (2014年12月6日, 米国・サンフランシスコ).
- 18) Narita A, Sekiya Y, Sakaguchi H, Nishio N, Muramatsu H, Okuno Y, Yoshida N, Wang X, Xu Y, Kawashima N, Doisaki S, MD1\*, Kamei M, Irie M, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Predicting Response to Immunosuppressive Therapy By the Combination of Minor Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria Clones and Lymphocyte Telomere Length in Children with Aplastic Anemia. **56<sup>th</sup> ASH Annual Meeting** (2014年12月6日, 米国・サンフランシスコ).
- 19) Muramatsu H, Okuno Y, Yoshida K, Doisaki S, Hama A, Wang X, Narita A, Kawashima N, Xu Y, Sakaguchi H, Takahashi Y, Sanada M, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Diagnostic Efficacy of Whole-Exome Sequencing in 250 Patients with Congenital Bone Marrow Failure. **56<sup>th</sup> ASH Annual Meeting** (2014年12月6日, 米国・サンフランシスコ).
- 20) Kawshima N, Okuno Y, Sekiya Y, Wang X, Xu Y, Narita, Doisaki S, Kamei M, Muramatsu H, Irie M, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Generation of Cell Lines Harboring SETBP1 Mutations By the Crispr/Cas9 System. **56<sup>th</sup> ASH Annual Meeting** (2014年12月6日, 米国・サンフランシスコ).
- 21) Muramatsu H. Comprehensive Molecular Screening System for Pediatric Bone Marrow Failure Syndromes. **The 6th JSH International Symposium** (2015年4月23日, 軽井沢).

- 22) Kojima S. Development of successful treatment trials in severe aplastic anemia in Japanese children during the last 2 decades. **Workshop on Pathology and Patujogenesis of Bone Marrow Failure** (2015年6月8日, ドイツ・フライブルク).
- 23) Narita A. Biology and clinics of bone marrow failure syndromes and PNH. **The 20th EHA Congress** (2015年6月15日, オーストリア・ウィーン).
- 24) Muramatsu H, Okuno Y, Hama A, Kojima S., et al. Target Capture Next Generation Sequencing as a Molecular Screening System for Pediatric Bone Marrow Failure Syndromes. **the 7th International Symposium on Myelodysplastic syndromes and Bone Marrow Failure** (2015年10月1日, デンマーク).
- 25) Kojima S. Pediatric Aplastic Anemia and Myelodysplastic Syndrome. 第2回中国小児科国際フォーラム (2015年10月10日, 中国・北京).
- 26) Kojima S. Recent advance in hematopoietic stem cell transplantation for pediatric bone marrow failure. 第1回中米日小児トランスレーショナル医療フォーラムおよび第4回国際小児腫瘍フォーラム (2015年11月13日, 中国・上海).
- 27) Narita A, Okuno Y, Muramatsu H, Hama A, Kojima S., et al. Genetic Background of Idiopathic Bone Marrow Failure Syndromes in Children. **57th ASH Annual Meeting and Exposition** (2015年12月7日, 米国・オーランド).
- 28) Kawashima N, Okuno Y, Muramatsu H, Hama A, Kojima S., et al. Correction of Fanconi Anemia Mutation Using the Crispr/Cas9 System. **57th ASH Annual Meeting and Exposition** (2015年12月7日, 米国・オーランド).
- 29) Kojima S. Bone Marrow Failure in Children. **BMT Tandem Meetings 2016** (2016年1月9日, ハワイ・ホノルル).
- 30) 小島勢二. Recent advance in the diagnosis and treatment of childhood bone marrow failure syndrome. 第77回日本血液学会学術集会 (2015年10月16日, 金沢).
- 31) Okuno Y, Muramatsu H, Yoshida K, Shiraishi Y, Doisaki S, Narita A, Kawashima N, Wang X, Xu Y, Sekiya Y, Chiba K, Tanaka H, Nishio N, Hama A, Takahashi Y, Ogawa S, Miyano S, Kojima S. Target gene sequencing for genetic diagnosis of congenital bone marrow failure syndromes. 第77回日本血液学会学術集会 (2015年10月17日, 金沢).
- 32) 村上典寛, 奥野友介, 村松秀城, 王希楠, 小島大英, 鈴木喬悟, 関屋由子, 川島希, 成田敦, 土居崎小夜子, 亀井美智, 入江正寛, 西尾信博, 濱麻人, 高橋義行, 小島勢二. 寺田和樹. 第77回日本血液学会学術集会 (2015年10月18日, 金沢).
- 33) 村松秀城. Genetic predisposition for pediatric myeloid malignancies. 第77回日本血液学会学術集会 (2015年10月19日, 金沢).
- 34) Okuno Y, Wang X, Muramatsu H, Sakaguchi H, Yoshida K, Kawashima N, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Saito S, Nakazawa Y, Xu Y, Masunari T, Hirose T, Narita A, Doisaki S, Hama A, Miyano S, Takahashi Y, Ogawa S, Kojima S. GATA2 and secondary mutations in familial myelodysplastic syndromes and pediatric myeloid malignancies. 第57回日本小児血液・がん学会学術集会 (2015年11月28日, 甲府).
- 35) 小島大英, 奥野友介, 王希楠, 村松秀城, 村上典寛, 鈴木喬悟, 関屋由子, 川島希, 谷口理恵子, 秋田直洋, 成田敦, 亀井美智, 土居崎小夜子, 西尾信博, 濱麻人, 高橋義行, 小島勢二. Utility of targeted next-generation sequencing in diagnosis of primary immunodeficiencies. 第57回日本小児血液・がん学会学術集会 (2015年11月29日, 甲府).
- G. 知的財産権の出願・登録状況  
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

先天性赤芽球癆（Diamond Blackfan 貧血）患者赤血球における  
eADA と GSH のバイオマーカーとしての有用性

研究分担者 菅野 仁（東京女子医科大学輸血・細胞プロセッシング部 教授）

大賀正一（山口大学大学院医学系研究科小児科学 教授）

研究協力者 檜澤大樹（東京女子医科大学医学部 助教）

小倉浩美（東京女子医科大学医学部 非常勤講師）

青木貴子（東京女子医科大学病院 臨床検査技師）

**研究要旨：**先天性赤芽球癆（Diamond Blackfan 貧血）患者におけるバイオマーカーとして、赤血球 ADA（eADA）活性と還元型グルタチオン（GSH）が有用であることが明らかになり、判別式を用いて診断することが可能となった。平成 26～27 年度の 2 年間に eADA、GSH を測定した 11 症例について検討した。これらの症例は、RP 遺伝子検査が未検であり、末梢血・骨髄所見と eADA、GSH 測定結果で DBA の定義を用いて得られた診断結果との整合性について考察したところ、古典的 DBA と判定された 3 例、非古典的 DBA と判定された 4 例については全例 eADA と GSH による判別式で DBA と判別し得た。一方、eADA 陰性の DBA2 症例のうち、1 例は臨床的に古典的 DBA と診断できたが、もう 1 例に関しては、判別式を用いた場合のみ DBA と診断が可能であり、eADA/GSH 同時測定の臨床的有用性が明らかになった。

#### A. 研究目的

DBA は、リボゾーム機能不全によって発症する先天性赤芽球癆である。我々は、平成 22 年度から始まった研究班において赤芽球系細胞における最も重要な抗酸化物質である赤血球還元型グルタチオン（GSH）が DBA の新規バイオマーカーであることを同定した。赤血球アデノシンデアミナーゼ活性（eADA）と GSH を同時に検討することで、遺伝子検査により確定診断し得た DBA 症例と同一家系内非罹患者の識別を可能とする判別式を得た。本研究では、現行の診断基準および eADA 測定結果による DBA 診断に判別式を加えることの臨床的有用性を検討したので報告する。

#### B. 研究方法

全国の医療機関において、臨床的に DBA が疑われた症例についてインフォームド・コンセントを取得の上、末梢血を得た。血漿、白血球、血小板を除去

した洗浄赤血球より溶血液を作成し、eADA を測定した。eADA はアデノシンを基質として溶血液を加え、265 nm における吸光度減少により活性を測定した。また、GSH は溶血後の全血にメタリン酸を加えて得られた除蛋白抽出液に 5,5'-di-thiobis (2-nitrobenzoic acid) を加え、412 nm で定量した。

#### C. 研究結果

##### H26 年度

【症例 1】4 ヶ月、男児

身体的所見：特記することなし

輸血歴：あり（生後 3 ヶ月目より）その後の輸血頻度は不明であった。

赤血球数 88 万/ $\mu$ L、Hb 2.6 g/dL、Ht 7.5%、MCV 85.2、Retic 0.5%、白血球数 9210/ $\mu$ L、血小板数 51.4 万/ $\mu$ L、末梢血の赤血球形態は大小不同、奇形を認めた。

骨髄検査は著明な赤芽球系低形成を認めた（Myeloid

52.0%、Erythroid 1.8%、Lymphoid 41.8%、Blast 2.2%)。染色体核型は、46XYで異常は認められなかった。eADA 活性：2.54 IU/gHb、GSH：106.8 mg/dl RBC 判別式  $1.2448 * eADA + 0.0893 * GSH - 10.3505 > 0$  の時 DBA とする場合、DBA と判別された。

【症例 2】3 歳 4 ヶ月、男児

身体的所見：特記することなし

輸血歴：あり (2 歳 8 ヶ月時より) その後 2 週間に 1 回輸血施行。

赤血球数 106 万/ $\mu$ L、Hb 2.5 g/dL、Ht 8.2%、MCV 77.4、Retics 0.02%、白血球数 9600/ $\mu$ L、血小板数 18.9 万/ $\mu$ L、赤血球形態異常なし。

骨髄検査では染色体核型 46XY

eADA 活性：1.47 IU/gHb、GSH：94.8 mg/dl RBC 判別式  $1.2448 * eADA + 0.0893 * GSH - 10.3505 > 0$  の時 DBA とする場合、非 DBA と判された。

【症例 3】5 ヶ月男児

身体的所見：特記することなし

輸血歴：あり (生後 2 ヶ月目より)。その後、2 回輸血施行。

赤血球数 233 万/ $\mu$ L、Hb 6.9 g/dL、Ht 20.6%、MCV 88.4、Retics 0.45%、白血球数 10960/ $\mu$ L、血小板数 59 万/ $\mu$ L、赤血球形態では球状赤血球を認めたが、赤血球浸透圧抵抗の低下は認めなかった。

骨髄検査では正形成、Mgk 140、(Myeloid 46.8%、Erythroid 4.8%、Ly 36.4%、Blast 9.2%) 染色体核型 46XY

eADA 活性：2.74 IU/gHb、GSH：104 mg/dl RBC 判別式  $1.2448 * eADA + 0.0893 * GSH - 10.3505 > 0$  の時 DBA とする場合、DBA と判別された。

【症例 4】5 ヶ月女児

身体所見：SGA、PDA、PFD、VSD、TR、翼状頸、臍ヘルニア

輸血歴：あり (生後 1 ヶ月時)

赤血球数 216 万/ $\mu$ L、Hb 6.7g/ dL、Ht 19.7%、MCV 91.2、Retics 4.9%、白血球数 2510/ $\mu$ L、血小板数 34.0 万/ $\mu$ L、赤血球形態異常なし。

骨髄検査では正常変異 (46, XX, inv(9)(p12q13))

eADA 活性：2.36 IU/gHb、GSH：96.8 mg/dl RBC 判別式  $1.2448 * eADA + 0.0893 * GSH - 10.3505 > 0$  の時 DBA とする場合、DBA と判定された。

【症例 5】6 歳 7 ヶ月男児

身体所見：なし

輸血歴：6 歳 6 ヶ月時に 1 度のみ

赤血球数 199 万/ $\mu$ L、Hb 5.1 g/dL、Ht 15.1%、MCV 75.9、Retics 0.07%、白血球数 5160/ $\mu$ L、血小板数 36.0 万/ $\mu$ L、赤血球形態異常なし。

骨髄検査は低形成で赤芽球の著減を認めた。

eADA 活性：1.70 IU/gHb、GSH：94.2 mg/dl RBC 判別式  $1.2448 * eADA + 0.0893 * GSH - 10.3505 > 0$  の時 DBA とする場合、DBA と判定された。

【症例 6】2 ヶ月女児

身体所見：VSD

輸血歴：生後直後より 2 ヶ月間で 3 回

赤血球数 170 万/ $\mu$ L、Hb 4.8 g/dL、Ht 14.5%、MCV 85.3、Retics 4.81%、白血球数 7070/ $\mu$ L、血小板数 30.3 万/ $\mu$ L、赤血球形態異常なし。

骨髄検査は過形成で赤芽球系の著減を認めた。

eADA 活性：1.93 IU/gHb、GSH：85.6 mg/dl RBC 判別式  $1.2448 * eADA + 0.0893 * GSH - 10.3505 > 0$  の時 DBA とする場合、非 DBA と判定された。

## H27 年度

【症例 1】1 歳 2 ヶ月男児

身体的所見：漏斗胸、兔唇

輸血歴：なし

赤血球数 181 万/ $\mu$ L、Hb 6.3 g/dL、Ht 20.3%、MCV 112.2、Retics 1.05%、白血球数 16960/ $\mu$ L、血小板数 40.9 万/ $\mu$ L、末梢血の赤血球形態に異常は認められなかった。

骨髄検査は未検査であった。

eADA 活性：2.28 IU/gHb、GSH：132 mg/dl RBC 判別式  $1.2448 * eADA + 0.0893 * GSH - 10.3505 > 0$  の時 DBA とする場合、DBA と判別された。

【症例 2】4 ヶ月性別不明

身体的所見：特記することなし

輸血歴：生後～3 ヶ月

赤血球数 224 万/ $\mu$ L、Hb 6.7 g/dL、Ht 19.3%、MCV 86.2、Retics 0.2%、白血球数 13300/ $\mu$ L、血小板数 48 万/ $\mu$ L、

末梢血の赤血球形態に異常は認められなかった。

骨髄検査は骨髄球系・赤芽球系に低形成を認めた。

eADA 活性：0.95 IU/gHb、GSH：106 mg/dl RBC 判別式  $1.2448 * eADA + 0.0893 * GSH - 10.3505 > 0$  の時

DBA とする場合、DBA と判別された。

【症例 3】2 歳 6 ヶ月男児

身体的所見：耳介低位、陰囊水腫、鼠径ヘルニア、心房中隔欠損

輸血歴：なし

赤血球数 254 万/ $\mu$ L、Hb 8.3 g/dL、Ht 24.4%、MCV 96.1、Retics 0.86%、白血球数 6130/ $\mu$ L、血小板数 35.2 万/ $\mu$ L、末梢血に奇形赤血球を認めた。

骨髄検査は正形成であった。

eADA 活性：4.39 IU/gHb、GSH：119 mg/dl RBC  
判別式  $1.2448 * eADA + 0.0893 * GSH - 10.3505 > 0$  の時 DBA とする場合、DBA と判別された。

【症例 4】41 歳男性

身体的所見：特記することなし

輸血歴：生後 2 ヶ月～3 ヶ月

赤血球数 80 万/ $\mu$ L、Hb 2.1 g/dL、Ht 8%、Retics 0.1%、MCV 100.0、白血球数 6400/ $\mu$ L、血小板数 3.4 万/ $\mu$ L、末梢血の赤血球形態に異常は認められなかった。骨髄検査は低形成であった。

eADA 活性：1.83 IU/gHb、GSH：129 mg/dl RBC  
判別式  $0.937 * eADA + 0.0702 * GSH - 7.9004 > 0$  の時 DBA とする場合、DBA と判別された。

【症例 5】1 歳 3 ヶ月女児

身体的所見：特記することなし

輸血歴：1 歳 2 ヶ月時

赤血球数 110 万/ $\mu$ L、Hb 2.7 g/d、MCV 24.5、Ht 8.6%、Retics 0.13%、白血球数 6100/ $\mu$ L、血小板数 30 万/ $\mu$ L、末梢血の赤血球形態に異常は認められなかった。骨髄検査は低形成で赤芽球系の低形成を認めた。

eADA 活性：1.38 IU/gHb、GSH：80.6 mg/dl RBC

表 1. 先天性赤芽球癆 (DBA) の定義

A. 診断基準	1	1才未満である
	2	大球性貧血(あるいは正球性貧血)で、他の系統の血球減少を認めない
	3	網状赤血球減少を認める
	4	赤芽球前駆細胞の消失を伴う正形成骨髄所見を有する
B. 診断を支持する基準	大基準	1 古典的DBAに見られた遺伝子変異を有する
		2 家族歴を有する
	小基準	1 赤血球アデノシンデアミンナーゼ活性(eADA)高値
		2 古典的DBAにみられる先天奇形を有する
3	HbFの上昇	
	4 他の先天性骨髄不全症候群の証拠がない	
古典的DBA	4つの診断基準をすべて満たす	
非古典的DBA	1	3つの診断基準と1つの大あるいは2つの小基準
	2	2つの診断基準と2つの大あるいは3つの小基準
	3	2つの大基準

判別式  $1.2448 * eADA + 0.0893 * GSH - 10.3505 > 0$  の時 DBA とする場合、非 DBA と判別された。

その後、無治療経過観察にて赤血球数、網状赤血球数の増加を認め TEC 疑いと診断した。

表 2. 古典的・非古典的 DBA と判別式の結果

		平成26年度・症例					平成27年度・症例						
		1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	
A. 診断基準	1	○	×	○	○	×	○	×	○	×	○	×	
	2	○	×	○	○	×	○	○	○	○	○	×	
	3	○	○	○	×	○	×	○	○	○	○	○	
	4	○	○	○	△	○	△	○	△	○	○	×	×
B. 診断の支持基準	大基準	1	△	△	△	△	△	△	△	△	△	△	△
		2	×	×	×	×	×	×	×	×	○	×	×
	小基準	1	○	×	○	○	×	×	○	×	○	○	×
		2	×	×	×	○	×	×	○	×	○	×	×
3	△	△	△	△	△	△	○	△	○	△	△	×	
	4	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	
古典的DBA		○					○						
非古典的DBA							○ ○ ○ ○						
判別式		○ ○ ○ ○ ○					○ ○ ○ ○ ○						

D. 考察

平成 26、27 年度の 2 年間に、eADA、GSH を測定した 11 症例について検討した。これらの症例は、RP 遺伝子検査が未検であり、末梢血・骨髄所見と eADA、GSH 測定結果で DBA の定義 (表 1) を用いて得られた診断結果との整合性について考察した (表 2)。

1) 古典的 DBA と判定された 3 例

2) 非古典的 DBA と判定された 4 例

については、全例 eADA と GSH による判別式で DBA と判別し得た。

TEC と最終診断された症例については、eADA 単独、および判別式の両方で、非 DBA と判別し得た。

平成 26 年度の症例 5 のように、診断基準が揃わず、eADA も陰性のケースでは、eADA/GSH 同時測定結果に基づく判別式は有用と考えられる。また、平成 27 年度の症例 2 のように、臨床的に古典的 DBA と診断出来る症例でも、eADA が陰性のケースにおいては、この判別式は有用であった

E. 結論

DBA 疑い症例のうち RP 遺伝子検査で確定診断できるのは約 60% である。検索すべき原因遺伝子の数が多く、迅速に診断が可能な生化学的バイオマーカーである eADA の有用性が知られていた。我々が新規に見出した GSH を eADA と同時に測定すること

により、eADA 単独では DBA と診断できない症例や 4 つの診断基準を満たすが eADA が陰性であった症例について、判別式は有用であった。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Viprakasit V, Ekwattanakit S, Rioulueang S, Chalaow N, Fisher C, Lower K, Kanno H, Tachavanich K, Bejrachandra S, Saipin J, Juntharaniyom M, Sanpakit K, Tanphaichitr VS, Songdej D, Babbs C, Gibbons RJ, Philipson S, Higgs DR. Mutations in Kruppel-like factor 1 cause transfusion-dependent hemolytic anemia and persistence of embryonic globin gene expression. *Blood* 2014;123(10):1586-95.
  - 2) Hikosaka K, Ikutani M, Shito M, Kazuma K, Gulshan M, Nagai Y, Takatsu K, Konno K, Tobe K, Kanno H, Nakagawa T. Deficiency of nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase 3 (nmnat3) causes hemolytic anemia by altering the glycolytic flow in mature erythrocytes. *J Biol Chem*. 2014;289(21):14796-811.
  - 3) Kobayashi Y, Hatta Y, Ishiwatari Y, Kanno H, Takei M. Human parvovirus B19-induced aplastic crisis in an adult patient with hereditary spherocytosis: a case report and review of the literature. *BMC Res Notes*. 2014;11(7):137.
  - 4) 守屋友美, 岡本好雄, 小林博人, 松田和樹, 久保田友晶, 緒方康貴, 及川美幸, 李舞香, 木下明美, 青木貴子, 千野峰子, 岡田真一, 高源ゆみ, 青木正弘, 中林恭子, 今野マユミ, 槍澤大樹, 小倉浩美, 菅野仁. ABO 血液型不適合腎移植におけるアルブミン製剤の必要性. *日本輸血細胞治療学会誌* 2014;60(4):521-526.
  - 5) Wang R, Yoshida K, Toki T, Sawada T, Uechi T, Sato-Otubo A, Kudo K, Kamimaki I, Kanezaki R, Shiraishi 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 mutation in RPL27 and RPS27 identified by whole-exome sequencing in Diamond-Blackfan anaemia. *Br J Haematol*. 2015;168:854-64.
  - 6) 岡本好雄, 槍澤大樹, 小林博人, 小倉浩美, 菅野仁. 自己血漿製剤という観点から見た CART. *日本アフェレンス学会* 2014;33(3):178-184.
  - 7) 菅野仁, 小倉浩美. 【溶血性貧血診療の最前線】日本におけるグルコース-6-リン酸脱水素酵素異常症. *臨床血液* 2015;56(7):771-7.
  - 8) 菅野仁, 牧野茂義, 北澤淳一, 田中朝志, 紀野修一, 高橋孝喜, 半田誠, 室井一男. 日本における輸血管理体制と血液製剤使用実態調査報告. *日本輸血細胞治療学会誌* 2015;61(6):529-538.
  - 9) 小林博人, 菅野仁.  $\gamma\delta$  型 T 細胞を用いた癌免疫療法. *日本免疫・細胞治療学会誌* 2016;61(1). (in press)
  - 10) Ikeda F, Toki T, Kanezaki 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):112-4.
  - 11) 大原有理, 西森美香, 塩田祐也, 山崎美香, 長谷川智子, 門脇桂子, 一圓和宏, 阿部孝典, 品原久美, 鈴江真史, 菅野仁. 早発性黄疸を呈した遺伝性球状赤血球症の 1 例. *こうち* 2015;44(2):97-100.
- ### 2. 学会発表
- 1) 青木貴子, 市東正幸, 小倉浩美, 高橋秀弘, 岩井朝幸, 濱端隆行, 渡邊健一郎, 常松健一郎, 奥野友介, 村松秀城, 吉田健一, 宮野悟, 大賀正一, 小川誠司, 小島勢二, 菅野仁. 病因未確定の先天性溶血性貧血に対する全エクソーム解析. *日本人類遺伝学会第 59 回大会* (2014 年 11 月 20 日, 東京).
  - 2) 尾上佳子, 石谷健, 内山智貴, 青木貴子, 市東