

Assay (Transgenomic 社) により変異が導入されていると予想されるクローンを選択し、最終的に *ALAS2* エンハンサー部分を PCR 法により増幅した後に塩基配列を決定し、変異が導入されているクローンを選択した。このようにして、*ALAS2* エンハンサーに変異が導入されたクローン (変異 K562 細胞) を選別し、それらから total RNA を抽出し、*ALAS2*mRNA の発現量を RealTime PCR 法により野生型 K562 細胞と比較した。また、ヘモグロビン染色によりヘモグロビン陽性細胞の割合を算出した。さらに、鉄染色により鉄芽球性貧血に特徴的な環状鉄芽球が観察されるか否か、あるいは環状鉄芽球で発現が亢進していると言われるミトコンドリア型フェリチンの発現がどのように変化するかについても検討した。並行して、*ALAS2* 遺伝子以外の遺伝子にも効率よく変異の導入が可能かどうかについても、ミトコンドリアに局在するタンパク質分解酵素の一部である *CLPX* 遺伝子を対象として検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究には倫理的配慮が必要となる個人情報や生体試料を用いた研究は含まない。

C. 研究結果

Nucleofector による K562 細胞への pCRISPR-*ALAS2*int1GATA (プラスミド) 導入高率は非常に良好で、限界希釈によりクローニングした後も約 50% 程度のクローンで目的の部位の変異が確認された。また、それぞれのクローンの変異導入部位における変異のタイプをシーケンスにより検討したところ、多くは欠失で、数塩基から 30 塩基程のものが大半を占めた。それ以外に、一部では数塩基の挿入も認められた。また、今回の検討では過半数の変異導入クローンで両方のアレルに異なる変異が導入されており、変異導入の効率も非常に良好であった。これらのクローンの中から両方のアレルに変異が導入されたクローンを選択して *ALAS2* mRNA 量を RealTime PCR 法により野生型の K562 細胞と比較したところ、比較した全ての変異導入クローンで *ALAS2* mRNA の発現が低下しており、また、これらの変異導入クローンにおいては野生型と比較してヘモグロビン陽性率も低下していた。さらに、環状

鉄芽球で特異的に高発現しているとされるミトコンドリア型フェリチンの mRNA の発現も野生型に比較して数倍から数百倍に増加していたが、鉄染色によって観察される鉄芽球性貧血に特徴的な環状鉄芽球のような細胞は観察されなかった。*ALAS2* 遺伝子とは異なる遺伝子座に存在する ATP 依存性タンパク質分解酵素である *CLPX* についても変異の導入を試みたところ、*ALAS2* 遺伝子で行ったのと遜色のない効率で変異の導入が認められ、1 回のプラスミドの導入により両方のアレルに変異が導入され、その結果、*CLPX* タンパク質の発現が欠失している細胞も得られた。

D. 考察

コード領域の変異がタンパク質の機能に与える影響を明らかにすることは、そのタンパク質の機能の評価方法が確定している場合にはそれほど困難ではないが、タンパク質の機能が明らかでない場合、あるいは、機能が明らかであってもその評価の方法が確立していない場合には、遺伝子変異が同定されたとしても、それが疾患の原因になりうるかどうかを判定することは困難である。実際、近年の次世代シーケンサの進歩により全てのタンパク質のコード領域の配列を明らかにするエクソーム解析が盛んに行われるようになり、家族歴などから遺伝性と推定されていても原因が不明であった症例で新たな候補遺伝子が次々に同定されており、現在これらの遺伝子変異がどのように当該疾患の発症に関与するのかについて更なる検討が行われている。また、次世代シーケンサの更なる改良とコストの低減により、エクソーム解析によっても原因遺伝子が明らかにならない症例については、全ゲノム解析が行われる可能性も高まっている。このような場合、プロモーター部分やイントロン部分の変異なども多数同定されると予想されることから、それらの変異がどのように疾患の発症と関与するのかを明らかにする方法を確立するのは急務であると考えられる。今回の研究では近年盛んに用いられるゲノム編集システムを用いて培養細胞の染色体上の特定の領域に変異を導入することにより、イントロン領域の変異が当該遺伝子の発現制御に関与している可能性が高いことを細胞レベルで明らかにした。さらに、*ALAS2* 遺伝子とは別

の遺伝子座に存在する *CLPX* 遺伝子についても *ALAS2* と同様の効率で変異の導入が可能であることを示した。これらの結果は、ゲノム編集技術で特定の遺伝子の機能を欠失させることにより、疾患モデル細胞を比較的容易に樹立できる可能性を示すものと考えている。一方で、特定の疾患に特異的な表現型が観察できないなどのモデル細胞としての限界も明らかとなっており、今後は iPS 細胞などの非腫瘍性の正常な機能を持つ細胞を利用して疾患モデル細胞を作成するなどの改善も必要であろう。いずれにしても、内在性の遺伝子の発現調節を細胞レベルで直接観察できるメリットは大きく、今回行ったのと同様の方法は、遺伝性鉄芽球性貧血のみならず、様々な遺伝性疾患において、網羅的な検索により同定された遺伝子変異と疾患との関連を明らかにし、確定診断に至るために有用であると考えられる。

E. 結論

汎用されるゲノム編集システムを用いて赤芽球系培養細胞である K562 細胞の *ALAS2* 遺伝子の第 1 イントロンに存在するエンハンサー領域に変異を導入し、これにより内在性 *ALAS2* mRNA の発現が低下し、ヘモグロビン陽性率が低下すること、さらに環状鉄芽球に特異的と考えられるミトコンドリア型フェリチンの発現が亢進することを明らかにした。一方で、悪性腫瘍由来の培養細胞を用いることに起因すると考えられる限界も明らかで、今後さらに改良する余地があるものと思われる。しかしながら、本法は、遺伝性鉄芽球性貧血のみならず、様々な疾患のモデル細胞を作成するために非常に有用であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 張替秀郎, 藤原亨, 古山和道. ヘム代謝と貧血. *臨床血液* 2014;55(7):729-734.
- 2) Kaneko K, Furuyama K, Fujiwara T, Kobayashi R, Ishida H, Harigae H, Shibahara S. Identification of the novel erythroid-specific enhancer for *ALAS2* gene and its loss-of-function mutation associated with congenital sideroblastic anemia. *Haematologica*. 2014;

99(2):252-61.

- 3) 古山和道. ミトコンドリアの鉄代謝機構と鉄芽球性貧血. *血液内科* 2015;70(3): 308-314.
- 4) 古山和道. 赤芽球特異的 5-アミノレブリン酸合成酵素の遺伝子変異と疾患. *岩手医学雑誌* 2015;67(1):1-9.

2. 学会発表

- 1) 古山和道, 山下莉奈, 野村和美, 加藤恭丈, 久保田美子. 非特異的 5-アミノレブリン酸合成酵素 (*ALAS1*) の新たなヘム依存的分解機構. 第 87 回日本生化学会大(2014 年 10 月, 京都).
- 2) 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).
- 3) 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).
- 4) 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、中央診断ならびに遺伝子診断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。

当科で follow 中であった CDA 疑いの男性は、既知の CDA 関連遺伝子の異常は見られなかったが、次世代シーケンスの結果、先天性溶血性貧血が疑われ最終的に G6PD 欠損症と診断された。

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、新規症例は極めて少なく、既知の遺伝子異常を持つ症例は極めて少ない。また、自験例のように、他の血液疾患と誤診されている症例も相当数あると考えられ、引き続き詳細な調査・研究が必要である。類縁疾患とともに諸外国とは違う本邦独自の病態把握を検討する必要がある。

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、今度も継続的な研究が必要で

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

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ターゼ遺伝子（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、当科にて再移植を含めた SCN 10 例 11 回の骨髄移植症例について報告する。

血縁 5 例、非血縁 6 例で移植ソースは全例骨髄を使用、前処置は Flu、CY、Mel、TBI に十分量の ATG を使用した免疫抑制効果の高いレジメンを選択した。症例 7-1 を除いて 10 例で速やかに生着した。生着後は、症例 3、4 で混合キメラとなった。移植後 2 ヶ月～8.5 年経過するが生存率 100%であり通常の日常生活を過ごしている。症例 7-2 は、生着後 3 ヶ月頃からドナータイプ細胞の減少を認めたため、DLI を施行し完全キメラとなった。GVHD に関しては、急性、慢性ともに重篤なものはみられなかった。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今後重要になる。G-CSF 製剤投与による MDS/AML への移行も約 30%にみられるため、造血幹細胞移植の選択は必要であり、特に低年齢での骨髄移植は意義のあるものと考えられる。

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。Oshima らの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。従って、SCN については、診断から治療まで一貫した登録システムの確立、長期フォローアップ体制と最良の治療法の提供までのガイドラインが必要と思われる。今回、広島大学病院で行った、再移植を含む 10 例 11 回の骨髄移植症例について検討を行った。

B. 症例

症例一覧を表 1 に示す。症例 1 から 7-1 までは初回移植、症例 7-2 から 10 までは再移植であった。年齢は、2 歳から 19 歳（中央値 4 歳）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。症例 9 以外の 3 全例で G-CSF による治療が行われていた。移植ソースは、全例骨髄を使用し、HLA 一致の血縁者ドナーが 5 例、HLA 一致の非血縁者ドナーが 3 例、HLA1 座不一致の非血縁者ドナーが 3 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た。Flu、CY、Mel、TBI に十分量の ATG 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、十分量の ATG が必要と判断した。移植後のウイルス感染に十分注意した上で 10-12 mg/Kg を使用した。

表 2 に初回移植の概要を示す。症例 7-1 は当院、8、9、10 は他院での移植である。拒絶に至った原因は後方視的検討にはなるが、臍帯血移植の 2 例は移植細胞数の不足が考えられた。症例 10 は、HLA が血清型では 1 座不一致であったが、アレルでは 6/8 の一致度であった。輸注細胞数も十分ではなかった。症例 7-1 については、造血幹細胞源の条件、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 8 のみ骨髄破壊的前処置が行われていた。症例 8 と 9 で DLI が追加されているが無効であった。症例 9 は、同胞の臍帯血を出生時に保存し、HLA 一致を確認後に移植を行ったので、DLI が可能であった。

C. 研究結果と考察

移植結果を表 3 に示す。10 症例とも生着は速やかであり、症例 3、4、7-2 を除いて、生着後は 100% ドナータイプの完全キメラの状態を維持し、以後、制限・服薬もない通常の日常生活を過ごしている。症例 7-2 は生着後 3 ヶ月頃からドナータイプ細胞の減少を認めたため、DLI を施行した。4 回の DLI 後に Grade II の GVHD を認めたが、免疫抑制剤、レミケード®、リツキサン®の使用でコントロール可能であり、再移植後 4 年経過した現在、完全キメラの状態での通常の日常生活を過ごしている。症例 3、4 は現在も混合キメラの状態ではあるが、易感染症なく経過している。経過中症例 5、10 で EB ウイルスによる LPD を合併したが、リツキサンで軽快した。

D. 結論

再移植を含む SCN 10 例 11 回の骨髄移植を施行した。前処置には、高用量 ATG を含む免疫抑制効果の強いレジメンを選択し、速やかな生着を認めた。2 例は混合キメラ状態となっているが、好中球数は十分であり、易感染性は認めていない。本前処置の有用性の評価には成長や妊孕性などを含めた検討が今後重要となる。G-CSF 製剤の投与で生命予後は良好となったが、慢性歯周病、MDS/AML の移行頻度を考慮すると造血幹細胞移植の選択は必要であり、特に低年齢での骨髄移植は意義があるものと考えられる。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Morishima T, Watanabe K, Niwa A, Hirai H, Saida S, Tanaka T, Kato I, Umeda K, Hiramatsu H, Saito MK, Matsubara K, Adachi S, Kobayashi M, Nakahata T, Heike T. Genetic correction of HAX1 in induced pluripotent stem cells from a patient with severe congenital neutropenia improves defective granulopoiesis. *Haematologica*. 2014;99:19-27.
- 2) Fujii Y, Ishikawa N, Kobayashi Y, Kobayashi M, Kato M. Compound heterozygosity in GPR56 with bilateral frontoparietal polymicrogyria. *Brain & Development* 2014; 36:528-31.
- 3) Ishikawa N, Kobayashi Y, Fujii Y, Tajima G, Kobayashi M. Ictal electroencephalography and electromyography features in symptomatic infantile epileptic encephalopathy with late-onset spasms. *Neuropediatrics* 2014;45:36-41.
- 4) Kobayashi Y, Ishikawa N, Fujii Y, Nakamura K, Kobayashi M. A case of trisomy 18 with exacerbation of seizures triggered by administration of valproic acid. *Am J Med Genet A*. 2014;164A:285-6.
- 5) 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. *Journal of Leukocyte Biology* 2014;95:667-676.
- 6) Joichi Y, Chijimatsu I, Yarita K, Kamei K, Miki M, Onodera M, Harada M, Yokozaki M, Kobayashi M, Ohge H. Detection of *Mucor velutinosus* in a blood culture after autologous peripheral blood stem cell transplantation: a pediatric case report. *Medical Mycology Journal* 2014;55:E43-48.
- 7) Yasumura J, Wago M, Okada S, Nishikomori R, Takei S, Kobayashi M. A 2-year-old Japanese girl with TNF receptor-associated periodic syndrome: A case report of the youngest diagnosed proband in Japan. *Modern Rheumatology* 2014.
- 8) Ishikawa N, Kobayashi Y, Fujii Y, Samukawa M, Kusunoki S, Kobayashi M. A pediatric case of peripheral polyneuropathy with IgM anti-GM1 antibody associated with a group A beta-hemolytic streptococcus infection. *Pediatric Neurology* 2014;51:441-3. Doi:10.1016/j.pediatrneurol.2014.03.019. Epub 2014 Mar 27.
- 9) Ishikawa N, Kobayashi Y, Fujii Y, Kobayashi M. Increased interleukin-6 high-sensitivity C-reactive protein levels in pediatric epilepsy patients with frequent, refractory generalized motor seizures. *Seizure* 2014. 10.007. (Epub ahead of print)
- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) Kobayashi M. Neutrophil disorders: diagnosis and hematopoietic stem cell transplantation. *Rinsho Ketsueki* 2015;56:2230-9.
- 14) 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.
- 15) 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.
- 16) 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.
- 17) 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.
- 18) 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.
- 19) 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) Utsunomiya AN, Tsumura M, Ohno N, Miki M, Kawaguchi H, Nakamura K, Kobayashi M. Excessive Nitric Oxide production of CGD neutrophils induces the down-regulation of *NOS3* and *EDN1* expression in human endothelial cells. **The 56th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition** (2014年12月6-9日, サンフランシスコ).
- 2) Mizoguchi Y, Okada S, Tsumura M, Hirata O, Minegishi S, Casanova JL, Morio T, Kobayashi M. *STAT1* gain-of-function in patients with chronic mucocutaneous candidiasis can be detected by the excessive phosphorylation of STAT1 in peripheral blood monocytes. **The 56th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition** (2014年12月6-9日, サンフランシスコ).
- 3) Hayakawa S, Maeno S, Ohno N, Okada S, Nishimura Y, Hayashidani M, Kobayashi M: Significant augmentation of regulatory T cells in early neonatal period. **16th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies** (2014年10月29日-11月1日, チェコ・プラハ).
- 4) Mizoguchi Y, Furue A, Chijimatsu I, Miki M, Tomioka K, Konishi N, Ono A, Kawaguchi H, Nakamura K, Kobayashi M. Early

- elimination of Factor VIII inhibitor by ITI with high dose immunoglobulin in hemophilia A children. **WORLD FEDERATION OF HEMOPHILIA** (2014年5月11-15日, メルボルン).
- 5) 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).
- 6) 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).
- 7) 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).
- 8) 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).
- 9) 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).
- 10) 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. 症例一覧

| Case | 1 1st | 2 1st | 3 1st | 4 1st | 5 1st | 6 1st | 7-1 1st | 7-2 2nd | 8 2nd | 9 2nd | 10 2nd |
|---------------------------------|---|---------------------------------------|---------------------------------------|---|---|---|--|---|---|---|---|
| Age(yr) | 2y7m | 19y | 2y8m | 4y | 2y1m | 7y | 2y8m | 3y10m | 8y | 9y | 5y |
| Sex | male | female | male | male | male | male | female | | male | female | male |
| Etiology | ELANE | unknown | ELANE | ELANE | ELANE | ELANE | ELANE | | ELANE | ELANE | ELANE |
| Pre-transplant status | pneumonia | cellulitis | Lung abscess | pneumonia | pneumonia | pneumonia | Skin, Perianal abscess | | Otitis media, pneumonia | Subcutaneous abscess | cellulitis |
| Duration of G-CSF therapy | 13 months | 17 years | 3 months | 3 years | 8 months | 1 month | 1 year | | 8 years | — | 8 months |
| Source (Bone Marrow) | MUD | MRD | MRD | MRD | MMUD | MRD | MUD | MUD | MMUD | MRD | MMUD |
| HLA disparity | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 8/8 | 7/8 DR | 8/8 | 6/6 | 8/8 | 7/8 A | 8/8 | 7/8 DR |
| NCC ($\times 10^8/\text{kg}$) | 2.9 | 3.7 | 5.1 | 1.7 | 7.0 | 4.6 | 1.9 | 3.1 | 3.4 | 10.9 | 8.47 |
| 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 | Flu 125 CY 140 LPAM 90 TBI 3 ATG 10 | Flu 125 CY 140 LPAM 90 TBI 3 ATG 10 | Flu 100 CY 160 LPAM 90 TBI 3 ATG 12 | Flu 100 CY 160 LPAM 90 TBI 3 ATG 12 |

表 2. 再移植例の初回移植

| Case | 7-1 1st | 8 1st | 9 1st | 10 1st |
|----------------------------------|--|----------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|
| Age | 2y8m | 10m | 3y9m | 15m |
| Source | BM (MUD) | CB (MMUD) | CB (MRD) | BM (MMUD) |
| HLA disparity | 6/6 | 5/6, A | 8/8 | 6/8, C.DR |
| NCC ($\times 10^8/\text{kg}$) | 1.9 | 0.7 | 0.49 | 1 |
| Conditioning regimen | Flu 125 CY 140 LPAM 90 TBI 3 ATG 2.5 | BU 16 CY 120 Flu 120 | CY 100 Flu 120 TBI 3 ALG 40 | Flu 125 LPAM 140 TBI 2 ATG 5 |
| Post transplant day of rejection | 55 days | 72 days | 14 days | One year after mixed chimerism |
| DLI (times) | 4 | 0 | 3 | 0 |

表 3. 移植結果

| Case | 1 1st | 2 1st | 3 1st | 4 1st | 5 1st | 6 1st | 7-2 2nd | 8 2nd | 9 2nd | 10 2nd |
|--------------------|--------------|----------|----------|-------------|-----------------|----------|---------------|--------------|----------|-----------------|
| Engraft-ment | Day 24 | Day 20 | Day 14 | Day 20 | Day 14 | Day 14 | Day 22 | Day 16 | Day 14 | Day 19 |
| Chimerism (%) | 100 | 100 | Mixed | Mixed (90%) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| DLI | — | — | 4 | 15 | — | — | 4 | — | — | — |
| Acute GVHD | Skin grade I | — | — | — | — | — | Skin grade II | Skin grade I | — | Skin grade I |
| Chronic GVHD | — | — | — | — | — | — | Limited | — | — | — |
| Infection | — | — | — | — | EBV-LPD (day48) | — | — | — | — | EBV-LPD (day40) |
| outcome | Alive | Alive | Alive | Alive | Alive | Alive | Alive | Alive | Alive | Alive |
| PS (%) | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 |
| Follow-up duration | 8.5y | 7.5y | 7.3y | 3.5y | 1y | 2m | 4.5y | 6.3y | 2.3y | 2y |

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、診断は容易ではなく、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、本邦での診断・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。90%に *SBDS* 遺伝子の両アリル変異を認める。症状は経過と共に変化し、白血病を発症すると予後不良なため、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断・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、本邦での診断・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

2014 年度に診断ガイドライン、2015 年度に診療ガイドラインを作成した。診療ガイドラインを添付

する。

また、骨髄異形成症候群を合併した本疾患患児に対し、骨髄非破壊的前処置後に非血縁者間非血縁者間同種骨髄移植を行い、重度な合併症なく経過している。

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。臨床的に使用しやすい診断基準・重症度分類の作成により、本邦での SDS の診断率が向上し、より多くの患者が正確な診断を受けることが期待される。本疾患は、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みられる。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考えられる。

また、今回使用した骨髄非破壊的前処置の有効性を検証することで、今後本疾患に対する適切な造血細胞移植法を確率できる可能性がある。

E. 結論

Shwachman-Diamond 症候群の診断・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. 別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No.29 神経症候 (第 2 版) IV Shwachman-Diamond 症候群. 2014 年 9 月 20 日発行, 681-684.
- 2) 渡邊健一郎, 森嶋達也, 金兼弘和. 別冊日本臨牀 新領域別症候群シリーズ No.21 血液症候群 (第 2 版) I Shwachman-Diamond 症候群. 2013 年 1 月 20 日発行, 24-27.
- 3) 渡邊健一郎, 森嶋達也. 遺伝子医学 MOOK【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. 2015;27126-130.

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¹⁾。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²⁾³⁾。

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⁴⁾。*SBDS* はリボソーム生成に関与しており⁵⁾⁶⁾⁷⁾、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³⁾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¹⁾。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²⁾³⁾。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⁴⁾。

2) 診断基準

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

1. 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。
2. 骨髄不全を認め、以下の一つ以上を満たす。
 - 1) 絶対数 1500/ μ 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)
 - 2) 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)
3. 膵外分泌不全を認め、以下の一つ以上を満たす。
 - 1) 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
 - 2) 画像 (超音波、CT、MRI) で小型あるいは脂肪の多い膵を認める。
 - 3) 便中脂質の増加 (72 時間収集)
4. 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。^{注1)}
5. 以下の所見があれば確実性が増す。
 - 1) 一等親に本症候群と診断された家族がいる。
 - 2) 骨格異常
 - 3) 行動異常
 - 4) 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)
 - 5) ヘモグロビン F 高値
 - 6) 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。
 - 7) *SBDS* 遺伝子変異を両アレルに認める。
6. 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、囊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/ μ l 未満 好中球 1,000/ μ l 未満 血小板 50,000/ μ 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/ μ l 未満 好中球 1,000/ μ l 未満 血小板 50,000/ μ 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/ μ l 未満 好中球 500/ μ l 未満 血小板 20,000/ μ l 未満 |
| stage 5 | 最重症 | 好中球 200/ μ 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/ μ l 未満 血小板 20,000/ μ 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)

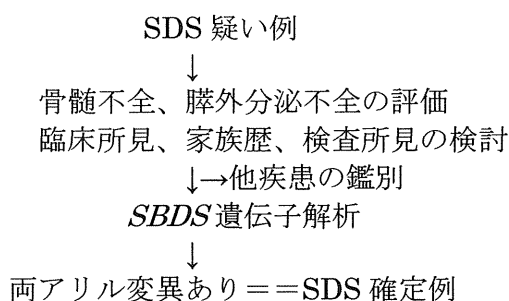


図 1 診断のフローチャート

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いている。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⁸⁾。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⁹⁾。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¹⁰⁾。

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⁵⁾⁶⁾。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¹¹⁾。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¹²⁾¹³⁾。

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¹⁴⁾。

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²⁾³⁾。

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²⁾³⁾。

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²⁾³⁾。

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。

骨髄穿刺、骨髄生検は、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髄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回骨髄検査を行う。

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 骨髄異形成症候群（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、骨髄の異形成、芽球の割合、病理所見に基づいて診断する。一方、SDS患者の骨髄では、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患者骨髄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¹⁵⁾¹⁶⁾。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髄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、骨髄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³⁾。SDS患者では、重篤な骨髄抑制、感染、心毒性をはじめとする臓器障害¹⁷⁾、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¹⁸⁾¹⁹⁾。

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