

- 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

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：34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17例、Bernard-Soulier症候群ホモ接合体3例・ヘテロ接合体2例、2B型 von Willebrand病1例、gray platelet症候群1例、ACTN1異常症1例の診断に至り、9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 unnecessary 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26年4月から平成28年1月現在）は、34例の先天性血小板減少症を疑う症例を解析し、MYH9異常症17例、Bernard-Soulier症候群ホモ接

合体3例・ヘテロ接合体2例、2B型 von Willebrand病1例、gray platelet症候群1例、ACTN1異常症1例の診断に至り、9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。

Bernard-Soulier症候群については、世界的コンソーシアムを結成し、遺伝子異常と臨床症状との関連性を示し、重症度分類を行い、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34例を解析し、25例（73.5%）の症例で確定診断が得られた。MYH9異常症は17例（50.0%）と最も高頻度に診断された。末梢血塗抹標本を用いた免疫蛍光染色解析と血小板フローサイトメトリによる系統的鑑別診断解析の有用性が実証されたと考えている。

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/ μ 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

34例の先天性血小板減少症を疑う症例を解析し、25例(73.5%)の症例で確定診断が得られた。

ACTN1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) Kunishima S, Nishimura S, Suzuki H, Imaizumi M, Saito H. *TUBB1* mutation disrupting microtubule assembly impairs proplatelet formation and results in congenital macrothrombocytopenia. *Eur J Haematol*. 2014;92:276-82.
- 2) Kuzmanović M, Kunishima S, Putnik J, Stajić N, Paripović A, Bogdanović R. Congenital thrombocytopenia with nephritis-the first case of MYH9 related disorder in Serbia. *Vojnosanit Pregl*. 2014;71:395-8.
- 3) Abe Y, Kobayashi S, Wakusawa K, Tanaka S, Inui T, Yamamoto T, Kunishima S, Haginoya K. Bilateral periventricular nodular heterotopia with megalencephaly: a case report. *J Child Neurol*. 2014;29:818-22.
- 4) Kunishima S, Kitamura K, Matsumoto T, Sekine T, Saito H. Somatic mosaicism in *MYH9* disorders: the need to carefully evaluate apparently healthy parents. *Br J Haematol*. 2014;165:885-7.
- 5) Noris P, Biino G, Pecci A, Civaschi E, Savoia A, Seri M, Melazzini F, Loffredo G, Russo G, Bozzi V, Notarangelo LD, Gresele P, Heller P, Pujol-Moix N, Kunishima S, Cattaneo M, Bussel J, De Candia E, Cagioni C, Ramenghi U, Cagioni C, Fabris F, Balduini CL. Platelet diameters in inherited thrombocytopenias: Analysis of 376 patients with all known disorders. *Blood* 2014;124:e4-e10.
- 6) Savoia A, Kunishima S, De Rocco D, Zieger B, Rand ML, Pujol-Moix N, Caliskan U, Pecci A, Noris P, Srivastava A, Ward C, Kopp MC, Alessi MC, Bellucci S, Beurrier P, de Maistre E, Favier R, Hezard N, Hurtaud-Roux MF, Latger-Cannard V, Lavenu-Bombled C, Meunier S, Negrier C, Nurden A, Proulle V, Randrianaivo H, Fabris F, Platokouki H, Rosenberg H, Gargouri AF, Heller P, Karimi M, Balduini CL, Pastore A, Lanza F: Spectrum of the mutations in Bernard-Soulier syndrome. *Hum Mut*. 2014;35:1033-45.
- 7) Abe Y, Kikuchi A, Kobayashi S, Wakusawa K, Tanaka S, Inui T, Kunishima S, Kure S, Haginoya K. Xq26.1-26.2 gain identified on array comparative genomic hybridization in bilateral periventricular nodular heterotopia with overlying polymicrogyria. *Dev Med Child Neurol*. 2014;56:1221-4.
- 8) Bottega R, Marconi C, Faleschini M, Baj G, Cagioni C, Pecci A, Pippucci T, Ramenghi U, Pardini S, Ngu L, Baronci C, Kunishima S, Balduini CL, Seri M, Savoia A, Noris P. *ACTN1*-related thrombocytopenia: identification of novel families for phenotypic characterization. *Blood* 2015; 25:869-72.
- 9) 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.
- 10) 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 α induces thrombopoiesis through megakaryocyte rupture in response to acute platelet needs. *J Cell Biol*. 2015; 209:453-66.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) 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.
- 14) 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.
- 15) 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.
- 16) 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.
- 17) Kunishima S, Kitamura K, Yasutomi M, Kobayashi R. Diagnostic biomarker for *ACTN1* macrothrombocytopenia. *Blood* 2015; 126:2525-6.
- 18) 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.
- 19) 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.
- 20) Eto K, Kunishima S. Linkage between the mechanisms of thrombocytopenia and thrombopoiesis. *Blood* (in press)
2. 学会発表
- 1) 遣田美貴, 菅野直希, 古谷麻衣子, 坪井伸夫, 宮崎陽一, 小倉誠, 徳留悟朗, 細谷龍男, 横尾隆, 海渡健, 國島伸治. 腎障害の経過が緩徐な Epstein 症候群の 1 例. 第 111 回日本内科学会総会 (平成 26 年 4 月, 東京).
- 2) 國島伸治. 学術推進委員会 (SPC) シンポジウム 1 血小板減少の病態と分子メカニズム~最新の知見 Molecular mechanisms for congenital macrothrombocytopenia. 第 36 回日本血栓止血学会学術集会 (平成 26 年 5 月, 大阪).
- 3) 國島伸治, 北村勝誠, 西村智, 鈴木英紀, 今泉益栄, 齋藤英彦. 巨核球特異的 β 1-tubulin 異常は微小管構成阻害により胞体突起形成不全を来す. 第 36 回日本血栓止血学会学術集会 (平成

- 26年5月29日, 大阪).
- 4) 兼松毅, 岸本磨由子, 鈴木伸明, 國島伸治, 松下正. α -Storage Pool 病の1例. 第36回日本血栓止血学会学術集会(平成26年5月29日, 大阪).
 - 5) 岸本磨由子, 松田剛典, 築瀬正吾, 鈴木伸明, 池尻誠, 高木明, 國島伸治, 小嶋哲人, 直江知樹, 丸山光生, 勝見章, 松下正. 遺伝子改変マウスを用いた small GTPase RhoF の機能解析. 第36回日本血栓止血学会学術集会(平成26年5月29日, 大阪).
 - 6) 小林宣彦, 小川孔幸, 柳澤邦雄, 林俊誠, 三原正大, 合田史, 内海英貴, 時庭英彰, 堀口淳, 國島伸治, 野島美久. HLA 抗体を有する血小板無力症の周術期止血管理. 第36回日本血栓止血学会学術集会(平成26年5月29日, 大阪).
 - 7) 松本多絵, 柳原剛, 吉崎薫, 土屋正巳, 高瀬真人, 益田幸成, 清水章, 國島伸治, 前田美穂, 伊藤保彦. 学校検尿を契機として MYH9 異常症の診断に至った一男児例. 第49回日本小児腎臓病学会学術集会(平成26年6月, 秋田).
 - 8) 岡野聡美, 高瀬雅史, 井関憲一, 鳥海尚久, 金田眞, 國島伸治. R1165C 変異を確認した MYH9 異常症の1家系. 日本小児科学会北海道地方会第290回例会(平成26年6月, 旭川).
 - 9) Suzuki N, Kunishima S, Matsushita T. Mouse models of MYH9 disorders. 60th Annual Meeting of the SSC, International Society on Thrombosis and Haemostasis (2014年6月, ミルウォーキー).
 - 10) 國島伸治, 北村勝誠, 松本多絵, 関根孝司. MYH9 異常症の体細胞モザイク. 第15回日本検査血液学会学術集会(平成24年7月, 仙台).
 - 11) 國島伸治. 幹細胞技術の検査医学研究への応用. 第33回日本臨床検査医学会東海北陸支部例会(平成26年8月, 名古屋).
 - 12) Sirachainan N, Komwilaisak P, Kitamura K, Hongeng S, Sekine T, Kunishima S. Identification of myosin heavy chain 9 (MYH9) disorders in children with macrothrombocytopenia: a result from two institutions in Thailand. 8th Congress of the Asian-Pacific Society of Thrombosis and Hemostasis (2014年10月, ベトナム・ハノイ).
 - 13) Kiyomizu K, Kashiwagi H, Kunishima S, Banno F, Kato H, Morikawa Y, Tadokoro S, Kokame K, Honda S, Miyata T, Kanakura Y, Tomiyama Y. GT-like phenotype with macrothrombocytopenia induced by α IIB β 3 activating mutation in mice. 第76回日本血液学会総会(平成26年10月, 大阪).
 - 14) Kishimoto M, Matsuda T, Yanase S, Katsumi A, Suzuki N, Ikejiri M, Takagi A, Ikawa M, Kojima T, Kunishima S, Kiyoi H, Naoe T, Matsushita T, Maruyama M. RhoF promotes murine late B cell development: RhoF promotes murine marginal zone B cell development. 第76回日本血液学会総会(平成26年10月, 大阪).
 - 15) 安富素子, 國島伸治, 岡崎新太郎, 土田晋也, 鈴木孝二, 吉川利英, 谷澤昭彦, 大嶋勇成. 新規 ACTN1 変異による先天性巨大血小板性血小板減少症の1例. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会(平成26年11月, 岡山).
 - 16) 西村美穂, 伊藤早織, 中川慎一郎, 松尾陽子, 大園秀一, 上田耕一郎, 稲田浩子, 松石豊次郎 國島伸治. 発熱時の採血を契機として May-Hegglin 異常の診断に至った男児例. 第56回日本小児血液・がん学会学術集会(平成26年11月, 岡山).
 - 17) Kiyomizu K, Kashiwagi H, Kunishima S, Banno F, Kato H, Morikawa Y, Tadokoro S, Kokame K, Honda S, Miyata T, Kanakura Y, Tomiyama Y. α IIB(R990W), a constitutive activating mutation of integrin α IIB β 3, knock-in mice show macrothrombocytopenia with impairment of platelet function. 56th American Society for Hematology Annual Meeting and Exposition (2014年12月, 米国・サンフランシスコ).
 - 18) 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).
 - 19) 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).
- 20) 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, 長谷部瞭, 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).
- 21) 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, 金倉謙, 富山佳昭. α IIB β 3 活性化変異, α 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).
- 22) 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 (2015 年 6 月, トロント).
- 23) 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 (2015 年 6 月, トロント).
- 24) 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).
- 25) 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).
- 26) 狩山由貴, 國島伸治, 今田昌秀, 高橋孝英, 青江伯規, 日野佳弥, 榎原佳奈枝, 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).
- 27) 國島伸治. (ワークショップ) 診断の迷宮—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).
- 28) 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).
- 29) 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. 57th American Society for Hematology Annual Meeting and Exposition (2015 年 12 月, 米国, オランダ).
- 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、成人になって特徴的身体所見を伴わず緩徐に発症する不全型の DKC の存在が明らかになった。不全型の DKC は、臨床的には再生不良性貧血 (AA) や骨髄異形成症候群 (MDS) などの BMF と診断されていることが多く、BMF の 2-5% に末梢血単核球のテロメア長が短縮し、上述のテロメア関連遺伝子異常を認める不全型の DKC が報告されている。

DKCの病態形成には、①テロメア関連遺伝子異常による細胞内の分子生物学的変異、②世代促進、③加齢の3つ要因が重要である。不全型 DKC で認め

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

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

このように、DKC は重症型と考えられる HHS から軽症型の不全型 DKC までその病態や臨床像が多彩であるが、これまでの DKC の臨床症例の蓄積は主に欧米が中心でアジア人においては、少数の症例報告のみである。欧米人以外の人種における DKC の臨床的特徴やその原因遺伝子の頻度などは明らかになっていない。本研究は、日本人における DKC の臨床的特徴、原因遺伝子の頻度、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、爪の萎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 シークエ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 ± 2.419 vs HHS 0.8333 ± 0.1667 , $p=0.003$)。DKC と HHS は、女性が 25% を占めた。家族歴は、DKC の診断に重要な因子ではあるが、家族歴を認めた症例は DKC の 2 症例 (12.5%) に認めるのみであった。DKC の特徴的身体所見に関しては、爪の萎縮 15/16 (93.75%)

症例、皮膚の網状色素沈着 14/16 (87.5%) 症例、舌白斑症 13/16 (81.3%) 症例に認められ、これら 3 つの身体的異常すべて認める症例は 11/16 (68.8%) 症例であった。一方、HHS の特徴的身体所見に関しては、皮膚の網状色素沈着 3/3 (100%) 症例、爪の委縮 2/3 (66.7%) 症例、舌白斑症 1/3 (33.3%) 症例に認められたが、これら 3 つの身体的異常すべて認める症例は認められなかった。

2. DKC や HHS 症例の血液学的異常

DKC の血液学的異常に関しては、好中球数 1000/ μ 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/ μ 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/ μ l 以下は 1/3 (33.3%) 症例のみ、血小板数 20000/ μ 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。

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

3. DKC や HHS 症例のテロメア長解析とテロメア長遺伝子変異解析

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

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

この中で、*TERT* 変異 c.1002_1004del:p.334_335del をホモで認めた症例に関しては、次世代シーケンサーによるゲノムコピー数解析にて、染色体 5 番の *TERT* 遺伝子をコードする領域に片アレルの

大欠失を認めた。*TERT* 遺伝子変異の大欠失の症例は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 ヘテロ変異を有する母は、経度の貧血は認めるが、テロメア長短縮は認めていない。

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

不全型 DKC は、21 症例診断された。DKC の診断前の臨床的診断は、11 症例は再生不良性貧血、3 症例は骨髄異形成症候群、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/ μ 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/ μ l 以下は 7/21 (33.3%) 症例に認め、不全型 DKC の診断時血液学検査では、DKC の様に血小板減少を認める症例が、顕著に多いということはなかった。骨髄検査に関しては、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 (cryptic DKC : cDKC) 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

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た症例は、100% テロメア長の短縮が認められるが、DKC の既知の遺伝子変異は認められていない。以上より、HHS は DKC の重症型という考えだけでなく、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 に関しては、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はいない。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の重篤な骨髓不全症に対しては、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の骨髓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志望率も低く、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) Tanino Y, Yamaguchi H, Fukuhara A, Munakata M. Pulmonary fibrosis associated with *TINF2* gene mutation: is somatic reversion required? *Eur Respir J*. 2014 Jul; 44(1):270-1.
- 2) 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, 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. **The 56th American society of hematology annual meeting** (2014年, サンフランシスコ).
- 2) 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

IV. 診療ガイドライン

- Diamond-Blackfan 貧血
(平成 27 年度改訂版)
- Fanconi 貧血
(平成 27 年度改訂版)
- 遺伝性鉄芽球性貧血
(平成 27 年度改訂版)
- Congenital Dyserythropoietic Anemia
(平成 27 年度改訂版)
- 先天性角化不全症
(平成 27 年度改訂版)
- Shwachman-Diamond 症候群
(平成 27 年度策定)
- 先天性好中球減少症
(平成 27 年度策定)
- 先天性血小板減少症
(平成 27 年度策定)

3. (1)-5 Diamond-Blackfan 貧血のガイドラインの改定

Diamond-Blackfan 貧血の診療ガイドライン 平成 27 年度改訂版

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業
先天性骨髄不全症の登録システムの構築と診療ガイドラインの作成に関する研究班
研究代表者 伊藤悦朗

Diamond-Blackfan 貧血担当

伊藤悦朗	(弘前大学大学院 小児科)
小島勢二	(名古屋大学大学院 小児科)
大賀正一	(山口大学大学院 小児科)
小原明	(東邦大学 輸血部)
菅野仁	(東京女子医大 輸血部・細胞プロセッシング科)
矢部普正	(東海大学医学部 細胞移植医療センター)
照井君典	(弘前大学大学院 小児科)

平成 27 年 (2015 年) 12 月 (改訂)

目 次

1. 緒 言
2. 診 断
 - 1) 疾患概念
 - 2) 診断基準
 - 3) 診断のフローチャート
 - 4) 鑑別診断
 - 5) 重症度分類
3. 疫 学
 - 1) 発生頻度
 - 2) 自然歴・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. 治療法・治療指針
 - 1) 輸血
 - 2) 薬物療法
 - 3) 造血幹細胞移植
7. 問題点・将来の展望

参考文献

1. 緒言

Diamond-Blackfan anemia (DBA) は、乳児期に発症する赤血球造血のみが障害される先天性の赤芽球癆である。骨髄は正形成であるが赤血球系細胞のみが著減し、末梢血では網赤血球が減少し、大球性正色素性貧血を呈する。約 40% の症例で様々な奇形を合併することが知られている。大頭、小頭などの頭部、顔部の異常が最も多く、上肢、眼、泌尿生殖器系、心臓の異常や低身長が見られる。ほとんどが散発例であるが、約 10～20% の症例では家族歴があり、主に常染色体性優性の形式をとる¹⁾。

1936 年 Josephs により 2 例²⁾、2 年後には Diamond および Blackfan により 4 例が報告され³⁾、独立した疾患概念として確立した。その後、この疾患の病因に関する様々な研究が行われてきたが、長らく病因は不明であった。1999 年、Draptchinskaia らは染色体転座をもつ DBA 患者の遺伝子解析などから病因遺伝子の遺伝子座が第 19 番染色体長腕 (19q13) に存在し、さらに原因遺伝子が 80 個あるリボソームタンパク (RP) の一つである RPS19 をコードする遺伝子であることを明らかにした⁴⁾。RPS19 遺伝子変異は約 25% の DBA 患者に認められるが、その後、RPS7、RPS10、RPS17、RPS24、RPS26、RPS27、RPS29、RPL5、RPL11、RPL27、RPL26 および RPL35A などの遺伝子変異が少数例の DBA で発見された⁵⁾⁻¹¹⁾。さらに最近、X 連鎖の遺伝形式を示す DBA の症例に、赤血球・巨核球系転写因子 GATA1 をコードする遺伝子に変異が同定された¹²⁾。欧米では約 50～60%^{9,13)}、本邦では約 55%^{11,14)} の患者で遺伝子変異が見出されている。これまで発見された DBA 遺伝子は GATA1 を除いて RP をコードしていることから、リボソームの機能障害によって生じる翻訳の異常が、本疾患の赤芽球造血障害の中心的なメカニズムであることが明らかになってきた¹⁵⁾。

DBA も他の先天性造血不全症と同様に、経過中に骨髄異形成症候群 (MDS) や白血病などの血液腫瘍と大腸癌や骨肉腫などの固型癌を合併する頻度が高い¹⁶⁾。治療は輸血とステロイド療法が基本である。約 80% の例は最初のステロイドに反応するが、60～70% が輸血非依存性になるのみである¹³⁾。治療抵抗例では、同種骨髄移植の適応がある^{13,17)}。DBA は、患者数も限られるため、無作為割付試験を含む前方視的治療研究は少なく、得られている情報は極めて乏しい。よって、我が国や海外に存在する疾患登録事業で得られたデータや文献をもとに専門家が作業をすすめ、我が国の DBA の患者に対し現時点で最も推奨される診療ガイドラインを作成した。

2. 診断

1) 疾患概念

リボソームの機能不全を背景に、1) 赤芽球癆、2) 身体奇形、3) MDS や白血病への移行や固型癌の合併を特徴とする血液疾患である。

2) 診断基準

典型例の臨床像としては、1) 一歳未満の発症、2) 他の 2 系の血球減少を認めない大球性貧血 (あるいは正球性貧血)、3) 網状赤血球減少、4) 赤芽球前駆細胞の消失を伴う正形成骨髄所見を認め、身体奇形を伴う。しかし、その表現型は多様で、家族内に発端者と同一の遺伝子異常をもつ貧血や身体奇形を伴わない軽症例も存在する。したがって、臨床像のみで本疾患を確定診断するのは不可能である。遺伝子変異が確認されれば診断は確定するが、50% 以上の患者では、責任遺伝子が同定されていない。本症が悪性疾患を合併しやすいことから、同種骨髄移植のドナーを選択する上で軽症例の診断は重要課題になっている。軽症例の診断も可能な診断基準案を表 1 に示す。

表 1. 先天性赤芽球癆 (Diamond-Blackfan 貧血 : DBA) の診断基準 (平成 27 年 12 月改定)

A. 診断基準

1. 1 才未満発症である。
2. 大球性貧血 (あるいは正球性貧血) で他の 2 系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**大支持基準**

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。

小支持基準

1. 赤血球アデノシンデアミナーゼ活性 (eADA) と還元型グルタチオン (GSH) の高値 (注 1)
2. 古典的 DBA にみられる先天奇形を有する (表 2)。
3. HbF の上昇。
4. 他の先天性骨髄不全症候群の証拠がない。

Definite: A の 4 項目をすべて満たす。

Probable: 下記の①～③のいずれかを満たす。

- ① 3 つの診断基準と 1 つの大あるいは 2 つ小支持基準
- ② 2 つの診断基準と 3 つの小支持基準
- ③ 2 つの大支持基準

注 1) eADA と eGSH を同時測定し、SVM 法による判別式により判定する。

表 2. Diamond-Blackfan 貧血にみられる合併奇形

頭部、顔面、口蓋	両眼隔離症、口蓋裂、高口蓋、小頭症、小顎症、小耳症、耳低位、内眼角ぜい皮、眼瞼下垂など
上肢	拇指骨数過多症、重複拇指、拇指低形成、平坦拇指球、合指症、橈骨動脈欠損
腎、泌尿器	腎臓欠損、馬蹄腎、腎低形成
心・肺	心室中隔欠損、心房中隔欠損、大動脈縮窄、複雑心奇形
その他	
頸部	短頸、翼状頸
眼	先天性緑内障、斜視、先天性白内障
神経系	学習障害
低身長	

3) 診断のフローチャート (図 1)

DBA には、診断のために有用なスクリーニング法がない。Transient erythroblastopenia of childhood (TEC) との鑑別診断には、eADA の高値 (mean ± 3SD 以上) を確認することが有用である。しかし、DBA 症例の約 20% は eADA が有意の上昇を示さない。eADA と GSH の同時測定により、遺伝子検査で確定診断し得た DBA 症例は全例が家族内非罹患者と判別が可能である。

次に確定診断のために遺伝子診断を行う。なお、通常のシーケンス法 (Sanger シークエンス、あるいは次世代シーケンスサーを用いたターゲットシーケンス) で遺伝子変異を同定できない場合は、片アレルの大欠損を解析する必要がある。このような解析を行っても、本邦では原因遺伝子が同定されるのは全体の約 60% にすぎない。

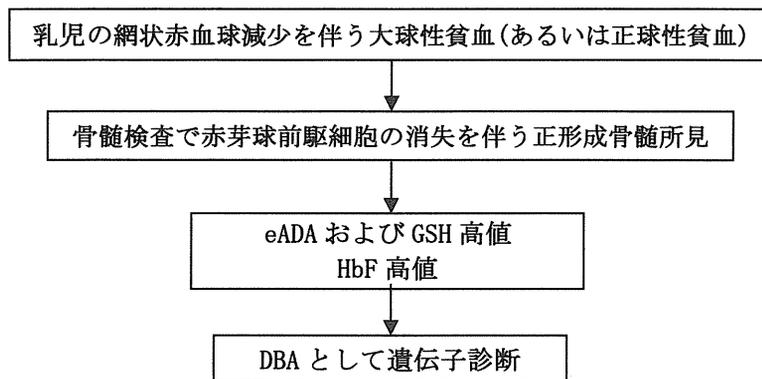


図1 診断のフローチャート

4) 鑑別診断 (表 3)

赤芽球癆を呈する疾患の鑑別診断としては、TEC が最も重要である。TEC は1歳以上の幼児に好発し、先行するウイルス感染に続発することが多い疾患とされる。ほとんどの症例は無治療で1～2ヶ月以内に自然治癒する。正球性貧血を呈し、DBA と異なり HbF および赤血球アデノシンデアミナーゼ活性 (eADA) は正常である (表 3)¹³⁾。また、骨髓不全や外表奇形を特徴とする先天性造血不全症候群には、表 4 に示すように、1) Dyskeratosis congenita, 2) Schwachman-Diamond 症候群、3) Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia, 4) Pearson 症候群などが知られている。いずれも、稀少疾患ではあるが、それぞれの臨床像が特徴的で鑑別可能である。最近、上記にあげた疾患については、すべて原因遺伝子が同定されたことから、分子病態の解明が進むとともに、遺伝子診断も可能となっている。

表 3. TEC との鑑別診断

	DBA	TEC
赤芽球癆	有	有
年齢	1歳未満	1歳以上
遺伝形式	散発性、優性遺伝	無
先天奇形	有	無
平均赤血球容積	高値	正常
HbF	高値	正常
i RBC 抗原	有	無
eADA	高値	正常

表 4. 先天性再生不良性貧血

	FA	DKC	SDS	CAMT
報告数	>1000	>225	>300	>45
遺伝形式	AR FANCB:XLR	AR DKC:XLR	AR	AR, XL
責任遺伝子	FANCA (57-66%) FANCB (rare) FANCC (10-15%) FANCD1/BRCA2 (2-4%) FANCD2 (~2%) FANCE (rare) FANCF (2%) FANCG/XRCC9 (9%) FANCI/BACH1 (稀) FANCI/BRIP1(稀) FANCL/PHF9/POG (稀) FANCM/Hef (稀) FANCN/PALB2 (2%) FANCO/RAD51C (稀) FANCP/SLX4 (稀) FANCO/ERCC4 (稀) FANCR/RAD51(稀) FANCS/BRCA1 (稀) FANCT/UBE2T (稀)	DKC1 (30%) TERC (<5%) TERT (<5%) TINF2 (11%) NOP10 (稀) NHP2 (稀) TCAB1 (稀) RTEL1 (稀)	SDBS (95%)	c-Mpl (~100%)
平均診断年齢	7.6 歳	5~15 歳	4 ヶ月	9 ヶ月
先天奇形	75%	100%	60%	40%
汎血球減少	90%	50% (up to 10 歳)	95%(好中球減少症)	40%
MDS/AML への移行	>14%	0.4~1.3%	5~33%	5%
発癌	7%	8~12%	0%	0%
染色体不安定性	有	正常	正常	正常
平均余命	30 歳	80%が 30 歳までに死亡	35 歳	3 歳までに 50%が死亡

FA: Fanconi anemia, DKC: Dyskeratosis congenita, SDS: Schwachman-Diamond syndrome,

CAMT: Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia

AR: autosomal recessive, AD: autosomal dominant, XL: X-linked

5) 重症度分類 (表 5)

重症度分類の stage 2 以上が指定難病の対象となる。

表 5. 重症度分類

stage 1	軽 症	輸血非依存性で薬物療法を必要としない
stage 2	やや軽症	輸血非依存性だが、ステロイド以外の薬物療法を必要とする
stage 3	中等症	ステロイド依存性
stage 4	重 症	定期的な赤血球輸血を必要とする

注1 薬物療法とは、ステロイドの他サイクロスポリンなどを指す。

注2 ステロイド依存性とは、ヘモグロビン濃度 8.0 ～10.0 g/dL を維持するのにステロイドの連日あるいは隔日投与が必要なときを指す。

注3 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ときを指す。

注4 重症度分類の stage 2 以上が指定難病の対象となる。しかし、症状の程度が上記の重症度分類等で一定以上に該当しない者であるが、高額な医療を継続することが必要な者については、医療費助成の対象とする。

3. 疫学

1) 発生頻度 (表 6)

家族性に発症し常染色体優性遺伝の形式をとるものが 10～20%である。残りは散发例や他の遺伝形式をとる家族内発生である。発症頻度は、出生人口 100 万人当たり約 5～7 名と推定されている。日本小児血液・がん学会の全国データによれば、1988～2011 年に登録された DBA 患者は特発性赤芽球癆と診断された症例も含め 175 名であった¹⁸⁾。

表 6. 日本小児血液・がん学会 再生不良性貧血委員会登録症例

	特発性	肝炎後	その他の 二次性	Fanconi 貧血	Diamond- Blackfan 貧血	計
1988	63	6	0	4	6	79
1989	56	6	0	7	3	72
1990	52	5	0	9	3	69
1991	69	11	1	4	4	89
1992	84	8	1	6	4	103
1993	62	6	1	8	9	86
1994	70	8	0	4	6	88
1995	49	8	2	5	9	73
1996	52	12	1	3	4	72
1997	76	5	0	7	6	94
1998	64	7	0	7	8	86
1999	52	5	1	2	7	67
2000	51	11	0	8	7	77
2001	41	11	0	8	7	67