

先天性角化不全症の診療ガイドライン作成について

研究分担者 村松 秀城 名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 助教

研究要旨

原発性免疫不全症候群の診断基準・重症度分類および診療ガイドラインの確立に関する研究にあたり先天性角化不全症（DC; Dyskeratosis congenita）を担当した。DCは、テロメア長維持に関与する遺伝子群の変異により発症し、爪の萎縮、口腔内白斑、皮膚色素沈着を3徴とする原発性免疫不全症の一つであり、特徴的な臨床検査所見として著明なテロメア長の短縮が知られている。

近年の遺伝子診断技術の向上などを考慮し、国内外の文献的知見をまとめた上で、我が国のDC患者に対し現時点で最も推奨されると思われる診療基準を作成した。

A. 研究目的

原発性免疫不全症候群の一つである、先天性角化不全症の診断基準・重症度分類および診療ガイドライン作成することが目的である。

B. 研究方法

DC国内外の文献的知見をまとめた上で、我が国のDC患者に対し現時点で最も推奨されると思われる診療基準を作成した。

また、DCに対する次世代シーケンサーを用いた遺伝子解析の有用性についても検討した。臨床的にDCと診断された13人に対し、DCの原因遺伝子（*C16orf57*、*CTC1*、*DKC1*、*NHP2*、*NOP10*、*RTEL1*、*TERC*、*TERT*、*TINF2*、*WRAP53*、*POT1*、*TERF2IP*）を含む、関連疾患の原因となりうる184遺伝子を網羅したターゲットシーケンスを行った。また、従来のサンガー法等によるスクリーニングで遺伝子解析が得られなかったものの、臨床的にDCと診断された27人について全エクソーム解析を施行した。

（倫理面への配慮）

本研究は名古屋大学医学部倫理委員会の承認のもと、患者および患者保護者の同意を取得して行った。

C. 研究結果

DCの診断基準を作成した（表1）。なお、本診断基準には含めてられていないが、テロメア長短縮は本疾患において特徴的な臨床検査所見である。テロメア長測定法には、定量PCR法・サザンプロット法・Flow-FISH法（図1）などがある。

国内でDCと臨床診断された32例に関して、網羅的遺伝子解析による評価を実施した。ターゲットシーケンスでは13人中5人（38%）、全エクソン解析では29人中7人（24%）で遺伝子診断が可能であった（表2）。遺伝子診断が得られた症例のうち1例でShwachman-Diamond症候群の原因遺伝子である*SBDS*の病的意義の報告のある複合ヘテロ変異を認め、臨床診断と遺伝子診断に乖離が見られた。

D. 考察

爪の萎縮、口腔内白斑、皮膚色素沈着などの身体的特徴、汎血球減少がそろっている場合には診断は比較的容易である。しかし、実際には、これらの身体異常がそろわない不全型先天性角化不全症の存在が知られており、そのような患者での診断は臨床症状のみからでは困難である。造血不全を認める小児例では積極的なテロメア長測定によるDCの可能性の検索が必要である。ただし、他の先天性造血不全症候群患者においてもテロメア長短

縮が認められることがあり、テロメア長短縮がすなわちDCの診断とはならないことには注意が必要である。テロメア長測定によるスクリーニングに加えて、次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析を行うことで、本疾患の正確な診断が可能となると考えられる。

一方、次世代シーケンサーを用いてもおよそ半数の患者では遺伝子診断が得られないため、実臨床においては、遺伝子解析のみに頼った診断では不十分であり、身体所見・テロメア長測定検査結果と組み合わせた総合的な臨床診断が求められる。

E. 結論

先天性角化不全症の診断基準を作成した。

表 1. 先天性角化不全症の診断基準

A. 骨髄不全症

一系統異常の血球減少と骨髄低形成を認める

B. 大症状（皮膚・粘膜所見）

1. 網状色素沈着
2. 爪の萎縮
3. 口腔粘膜白斑症

C. 小症状（その他の身体所見）

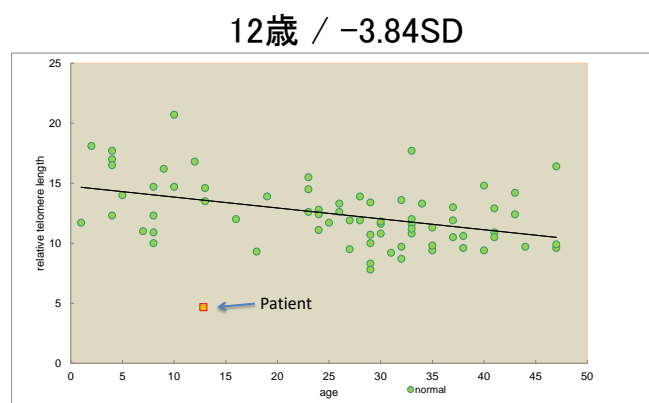
1. 頭髪の喪失、白髪
2. 歯牙の異常
3. 肺病変
4. 低身長、発育遅延
5. 肝障害
6. 食道狭窄
7. 悪性腫瘍
8. 小頭症
9. 小脳失調
10. 骨粗鬆症

骨髄不全および1つ以上の大症状と2つ以上の小症状を満たすとき、狭義の先天性角化不全症と診断する。

表 2. 国内 DC 症例の遺伝子変異

	遺伝子	塩基置換	アミノ酸置換	接合性
UPN-1090	<i>DKC1</i>	c.1058C>T	p.A353V	hemi
UPN-1126	<i>DKC1</i>	c.146C>T	p.T49M	hemi
UPN-303	<i>DKC1</i>	c.91C>A	p.Q31K	hemi
UPN-382	<i>DKC1</i>	c.1058C>T	p.A353V	hemi
UPN-381	<i>TERT</i>	c.2045G>A	p.G682D	hetero
UPN-496	<i>TERT</i>	c.1002_1004delCTC	p.S334del	homo
UPN-585	<i>TERT</i>	c.2594G>A	p.R865H	hetero
UPN-1050	<i>TINF2</i>	c.889_889delA	p.T297PfsX20	hetero
UPN-1157	<i>TINF2</i>	c.847C>T	p.P283S	hetero
UPN-298	<i>TINF2</i>	c.G845A	p.R282H	hetero
UPN-299	<i>TINF2</i>	c.G845A	p.R282H	hetero
UPN-1289	<i>SBDS</i>	c.97A>G	p.K33E	hetero
	<i>SBDS</i>	c.731_733delAAG	p.E243del	hetero

図 1. Flow-FISH 法による DC 患者の末梢血リンパ球テロメア長測定



F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 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* 2016 Feb;137(2):619-622.
- 2) Yokoi S, Kunishima S, Takahashi Y, Morishita M, Kojima S. A Japanese pedigree with a p.A95V mutation in the MYH9 gene demonstrates inherited macrothrombocytopenia without Alport manifestations. *Ann Hematol.* 2016 Apr;95(5):831-3.
- 3) Kojima D, Wang X, Muramatsu H, Okuno Y, Nishio N, Hama A, Tsuge I, Takahashi Y, Kojima S. Application of extensively targeted next-generation sequencing for

- the diagnosis of primary immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 Jul;138(1):303-305.
- 4) Kojima D, Muramatsu H, Okuno Y, Kataoka S, Murakami N, Tanahashi Y, Suzuki K, Kato T, Sekiya Y, Kawashima N, Narita A, Nishio N, Hama A, Imai K, Nonoyama S, Takahashi Y, Kojima S. Successful T-cell reconstitution after unrelated cord blood transplantation in a patient with complete DiGeorge syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 2016 (in press)
 - 5) Tsujita Y, Imai K, Okada S, Asano T, Kato T, Sekinaka Y, Mitsui-Sekinaka K, Okano T, Takashima T, Yeh TW, Kanegane H, Takagi M, Kunitsu T, Maruo Y, Ohnishi H, Kato Z, Yoshida K, Okuno Y, Muramatsu H, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Kojima S, Ogawa S, Ohara O, Okada S, Kobayashi M, Morio T, Nonoyama S. PTEN mutation causes activated PI3 kinase delta syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. (in press)
 - 6) Muramatsu H, Okuno Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Doisaki S, Narita A, Hirotoshi Sakaguchi H, Kawashima N, Wang X, Xu Y, Chiba K, Tanaka H, Hama A, Sanada M, Takahashi Y, MD, Kanno H, Yamaguchi H, Ohga S, MD, Manabe A, Harigae H, Kunishima S, Ishii E, Kobayashi M, Koike K, Watanabe K, Ito E, Takata M, Yabe M, Ogawa S, Miyano S, Kojima S. Clinical Utility of Next-generation Sequencing for Inherited Bone Marrow Failure Syndromes. *Genetics in Medicine*.(in press)
2. 学会発表
- 1) Muramatsu H. Clinical sequencing of 209 patients with suspected inherited bone marrow failure syndromes. 先天性造血不全症候群疑いの209例に対するクリニカルシーケンス. 第78回日本血液学会学術集会. 2016年10月14日. 横浜
 - 2) 片岡伸介、村松秀城、小島大英、濱田太立、市川大輔、谷口理恵子、村上典寛、鈴木喬悟、関屋由子、西川英里、西尾信博、奥野友介、川島希、成田敦、濱麻人、小島勢二、高橋義行. HLA一致同胞間骨髓移植を施行したWHIM症候群患者の長期予後.第78回日本血液学会学術集会.2016年10月14日.横浜
 - 3) 小島大英、村松秀城、片岡伸介、濱田太立、谷口理恵子、村上典寛、市川大輔、関屋由子、鈴木喬悟、川島希、西川英里、奥野友介、成田敦、西尾信博、濱麻人、小島勢二、高橋義行. 臍帯血移植によりT細胞機能の構成が見られた完全型DiGeorge症候群の一例.第58回日本小児血液・がん学会学術集会.2016年12月15日. 東京
- G. 知的財産権の出願・登録状況
なし