

先天性骨髄不全症の診断基準・重症度分類・診療ガイドラインの確立に関する研究

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：13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、MYH9異常症8例、Paris-Trousseau Jacobsen症候群1例、GFI1B異常症2例の診断に至り、2例は確定診断されなかった。GFI1B異常症診断のバイオマーカーとして末梢血塗抹標本を用いた血小板CD34局在解析を考案した。臨床情報と検査・解析データの集積により、先天性血小板減少症の診断基準、重症度分類、診療ガイドラインの作成および改訂を行った。

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と診断され不必要な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・解析データを集積し、診断基準、重症度分類、診療ガイドラインの作成を目的とした。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28年4月から平成29年1月現在）は、13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、MYH9異常症8例、

Paris-Trousseau Jacobsen症候群1例、GFI1B異常症2例の診断に至り、2例は確定診断されなかった。

GFI1B異常症診断のバイオマーカーとして末梢血塗抹標本を用いた血小板CD34局在解析を考案し、系統的鑑別診断解析および保存検体において施行し、GFI1B異常症2例の診断に至った。

臨床情報と検査・解析データ結果を踏まえ、先天性血小板減少症の診断基準、重症度分類、診療ガイドラインの作成および改訂を行った。

D．考察

近年、先天性血小板減少症のなかで大型/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13例を解析し、11例（84.6%）の症例で確定診断が得られた。MYH9異常症は8例（61.5%）と最も高頻度に診断された。MYH9異常症8例中、4例では白血球封入体を認めず、原因不明の血小板減少症あるいは新生児同種免疫性血小板減少症と診断されていたが、末梢血塗抹標本を用いたミオシン免疫蛍光染色解析と局在分類により確定診断された。

2013年に全エクソン解析により同定されたGFI1B異常症は血小板顆粒減少と赤血球形態異常を有する先天性巨大血小板症である。GFI1Bは巨核球赤芽球特異的転写因子であり、ドミナントネガティブ変異により本来転写抑制されるCD34分子が巨核球と血小板に発現することが報告されていた。本研究に

において考案した末梢血塗抹標本を用いた血小板CD34発現解析は簡便であり、未診断症例の保存標本においても明確な陽性所見を得た。すなわち、GFI1B異常症診断のバイオマーカーとして有用であることが示された。

E . 結論

13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、11例(84.6%)の症例で確定診断を得た。GFI1B異常症診断のバイオマーカーを考案した。先天性血小板減少症の診断基準、重症度分類、診療ガイドラインの作成および改訂を行った。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Muramatsu H, Okuno Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Doisaki S, Narita A, Sakaguchi H, Kawashima N, Wang X, Xu Y, Chiba K, Tanaka H, Hama A, Sanada M, Takahashi Y, Kanno H, Yamaguchi H, Ohga S, 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. **Genet Med**. 2017.
- 2) Sivapalaratnam S, Westbury SK, Stephens JC, Greene D, Downes K, Kelly AM, Lentaigne C, Astle WJ, Huizinga EG, Nurden P, Papadia S, Peerlinck K, Penkett CJ, Perry DJ, Roughley C, Simeoni I, Stirrups K, Hart DP, Tait RC, Mumford AD; NIHR BioResource., Laffan MA, Freson K, Ouwehand WH, Kunishima S, Turro E. Rare variants in GP1BB are responsible for autosomal dominant macrothrombocytopenia. **Blood** 2017;129(4):520-524.
- 3) Ogawa Y, Kunishima S, Yanagisawa K, Osaki Y, Uchiyama Y, Matsumoto N, Tokiniwa H, Horiguchi J, Nojima Y, Handa H. Successful management of perioperative hemostasis in a

patient with Glanzmann thrombasthenia who underwent a right total mastectomy. **Int J Hematol**. 2017;105(2):221-225.

- 4) Yamashita Y, Matsuura R, Kunishima S, Oikawa Y, Ariizumi H, Hamada S, Shirato N, Matsuoka R, Ogawa K, Sekizawa A. Perinatal Management for a Pregnant Woman with an MYH9 Disorder. **Case Rep Obstet Gynecol**. 2016;2016:6730174.
- 5) Kitamura K, Okuno Y, Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, Muramatsu H, Kobayashi R, Furukawa K, Miyano S, Kojima S, Ogawa S, Kunishima S. Functional characterization of a novel GFI1B mutation causing congenital macrothrombocytopenia. **J Thromb Haemost**. 2016;14(7):1462-9.
- 6) Simeoni I, Stephens JC, Hu F, Deevi SV, Megy K, Bariana TK, Lentaigne C, Schulman S, Sivapalaratnam S, Vries MJ, Westbury SK, Greene D, Papadia S, Alessi MC, Attwood AP, Ballmaier M, Baynam G, Bermejo E, Bertoli M, Bray PF, Bury L, Cattaneo M, Collins P, Daugherty LC, Favier R, French DL, Furie B, Gattens M, Germeshausen M, Ghevaert C, Goodeve AC, Guerrero JA, Hampshire DJ, Hart DP, Heemskerk JW, Henskens YM, Hill M, Hogg N, Jolley JD, Kahr WH, Kelly AM, Kerr R, Kostadima M, Kunishima S, Lambert MP, Liesner R, Lopez JA, Mapeta RP, Mathias M, Millar CM, Nathwani A, Neerman-Arbez M, Nurden AT, Nurden P, Othman M, Peerlinck K, Perry DJ, Poudel P, Reitsma P, Rondina MT, Smethurst PA, Stevenson W, Szkotak A, Tuna S, van Geet C, Whitehorn D, Wilcox DA, Zhang B, Revel-Vilk S, Gresele P, Bellissimo DB, Penkett CJ, Laffan MA, Mumford AD, Rendon A, Gomez K, Freson K, Ouwehand WH, Turro E. A high-throughput sequencing test for diagnosing inherited bleeding, thrombotic, and platelet disorders. **Blood** 2016;127(23):2791-803.

- 7) Wasano K, Matsunaga T, Ogawa K, Kunishima S. Late onset and high-frequency dominant hearing loss in a family with MYH9 disorder. **Eur Arch Otorhinolaryngol.** 2016;273(11):3547-3552.
- 8) 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;95(5):831-3.
2. 学会発表
- 1) Yamashita Y, Matsuura R, Oikawa Y, Hamada S, Ariizumi H, Odawara K, Koyano M, Nishii S, Muramoto T, Takenaka S, Nakayama K, Matsumoto K, Ichihara M, Sasaki Y, Shioto N, Matsuoka R, Ogawa K, Kunishima S, Sekizawa A. A case report of management including perinatal genetic counseling for May Hegglin Anomaly in pregnancy that low platelets counts made the opportunity to diagnose. **The 13th International Congress of Human Genetics** (2016年4月, 京都) .
- 2) Kunishima S, Kada A, Hao J. Further classification of neutrophil non-muscle myosin heavy chain IIA localization for efficient genetic diagnosis of *MYH9* disorders. **XXIX International Symposium on Technical Innovations in Laboratory Hematology** (2016年5月, イタリア・ミラノ) .
- 3) 福村明子, 大坪慶輔, 小池隆志, 森本克, 望月博之, 國島伸治. 急性虫垂炎を契機に診断に至ったMYH9異常症の男児例. **第119回日本小児科学会学術集会** (2016年5月, 札幌) .
- 4) 青木孝浩, 國島伸治, 山下晴喜, 太田節雄. 先天性白内障を呈したMYH9異常症の1例. **第119回日本小児科学会学術集会**(2016年5月 札幌) .
- 5) Kunishima S. Differential diagnosis of congenital macrothrombocytopenia (symposium). **62nd Annual SSC Meeting of the International Society on Thrombosis and Haemostasis** (2016年5月, フランス・モンペリエ) .
- 6) 神田健志, 佐藤彩, 安部大輔, 西島節子, 石上毅, 國島伸治. Bernard-Soulier症候群のブラジル人女児. **第75回日本小児科学会滋賀地方会** (2016年5月, 大津) .
- 7) 影山玲子, 植田寛子, 橋爪秀夫, 國島伸治. 臀部の皮疹を契機に確定診断されたEpstein症候群の1例. **第115回日本皮膚科学会総会** (2016年6月, 京都) .
- 8) 國島伸治, 嘉田晃子, Hao Jihong, 北村勝誠. *MYH9*異常症遺伝子診断のための好中球ミオシン局在解析の細分類. **第38回日本血栓止血学会学術集会** (2016年6月, 奈良) .
- 9) 國島伸治. ITPの鑑別診断と実践的アプローチ (教育講演). **第17回日本検査血液学会学術集会** (2016年8月, 福岡) .
- 10) Kunishima S, Saito H. Differential diagnosis of congenital macrothrombocytopenia-12-year experience in Nagoya-Platelets2016. **9th International Symposium** (2016年9月, 米国・ウィルズリー) .
- 11) 佐分利能生, 大塚英一, 宮崎泰彦, 河野克也, 國島伸治. May-Hegglin異常. **第30回日本臨床内科医学会** (2016年10月, 東京) .
- 12) 國島伸治, 北村勝誠, 山村喜美. 新規検査法により診断された先天性巨大血小板症. **第70回国立病院総合医学会** (2016年11月, 那覇) .
- 13) Chu Y, Rabbolini D, Gabrielli S, Kunishima S, Stevenson W, Ward C, Morel-Kopp MC. MYH9 disorders are not uncommon in Australia and New Zealand: results from a platelet next generation sequencing (NGS) project. **Annual Scientific Meetings of the HAA (Haematology Society of Australia and New Zealand, Australian & New Zealand Society of Blood Transfusion and the Australasian Society of Thrombosis and Haemostasis** (2016年11月, オーストラリア・メルボルン) .

- 14) 中矢雅治, 時政定雄, 濱崎考史, 村松秀城, 小島勢二, 奥野友介, 吉田健一, 小川誠司, 白石友一, 千葉健一, 田中洋子, 宮野悟, 國島伸治. 先天性巨大血小板症の新規病因遺伝子(*PLCB3*)の機能解析. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会** (2016年12月, 東京).
- 15) 中館尚也, 石黒精, 小林尚明, 國島伸治, 笹原洋二, 前田尚子, 高橋幸博. 小児期特発性血小板減少性紫斑病(ITP)の治療に関する疫学調査. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会** (2016年12月, 東京).
- 16) 神田健志, 國島伸治, 佐藤彩, 安部大輔, 西島節子, 石上毅. ベルナル・スーリエ症候群のブラジル人女兒. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会** (2016年12月, 東京).
- 17) 左信哲, 宮下恵実子, 鞍谷沙織, 橋本泰佑, 平野翔堂, 中村千華, 松田百代, 奥廣有喜, 古家信介, 山本浩継, 河津由紀子, 吉川真紀子, 徳永やすゆき, 加藤秀樹, 笹原洋二, 國島伸治, 茶山公祐. 破砕赤血球を伴う溶血性貧血を呈し診断に苦慮した先天性無巨核球性血小板減少症の1例. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会** (2016年12月, 東京).
- 18) 川口裕之, 小倉友美, 三井-關中佳奈子, 關中悠仁, 國島伸治, 野々山恵章. Target sequence による先天性血小板減少症のスクリーニング (続報). **第24回小児ITP研究会** (2016年12月, 東京).
- 19) 國島伸治. GFI1B 異常症の病態と検査診断. **第24回小児ITP研究会** (2016年12月, 東京).
- 20) Rabbolini DJ, Morel-Kopp MC, Chen Q, Gabrielli S, Best G, Dunlop L, Chew LP, Blair N, Brighton TA, Singh N, Fixter K, Kunishima S, Ward CM, Stevenson WS. Megakaryocyte and platelet CD34+ surface expression is increased by mutation of the GFI1B transcription factor and is independent of the affected functional domain. **Cell Biology of Megakaryocytes & Platelets, Fundamental Biology and Disorders of the Megakaryocyte Lineage: From Hematopoietic Stem Cell to Hemostasis, Gordon Research**

Conference (2017年2月, イタリア・ルッカ).

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし