

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 分子診断研究室 室長）

研究要旨：15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、2B型 von Willebrand病1例、TUBB1異常症1例の診断に至り、5例は確定診断されなかった。

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。

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29年4月～平成30年3月）は、15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、TUBB1異常症1例、2Bvon型 Willebrand病1例の診断に至り、5例は確定診断されなかった。

また、本研究班と連携する「稀少小児遺伝性血液疾患に対する新規責任遺伝子の探索と遺伝子診断シ

ステムの構築に関する研究」（小島班）で同定された2個のMYH9遺伝子バリエーションの評価を末梢血塗抹標本を用いたミオシン免疫蛍光染色解析により施行し、ともに良性であることを示した。

D．考察

先天性血小板減少症を疑う15症例について先天性巨大血小板症の系統的鑑別診断解析を行い、10例（66.7%）の症例で確定診断が得られた。MYH9異常症は8例（53.3%）と最も高頻度に診断された。MYH9異常症8例中、2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同在分類により確定診断された。2例のMYH9異常症では新規変異を同定した。

MYH9異常症診断に用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では、異常局在を認めればMYH9異常症と診断することが可能で、正常局在所見からはMYH9異常症を否定することが可能である。従って、MYH9遺伝子解析により同定されたバリエーションの病原性の判定にも有用であり、本年度には次世代シーケンス解析で同定されたMYH9バリエーションの評価を行った。

E．結論

先天性血小板減少症を疑う15症例について先天性巨大血小板症の系統的鑑別診断解析を行い、10例（66.7%）の症例で確定診断を得た。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kanda K, Kunishima S, Sato A, Abe D, Nishijima S, Ishigami T. A Brazilian case of Bernard-Soulier syndrome with two distinct founder mutations. **Hum Genome Var.** 2017;4:17030.
- 2) Aoki T, Kunishima S, Yamashita Y, Minamitani K, Ota S. Macrothrombocytopenia with congenital bilateral cataracts: a phenotype of *MYH9* disorder with exon 24 indel mutations. **J Pediatr Hematol/Oncol.** 2018;40(1):76-8.
- 3) Ichimiya Y, Wada Y, Kunishima S, Tsukamoto K, Kosaki R, Sago H, Ishiguro A, Ito Y. 11q23 deletion syndrome (Jacobsen syndrome) with severe bleeding: a case report. **J Med Case Rep.** 2018;12:3.
- 4) Hao J, Kada A, Kunishima S. Further classification of neutrophil non-muscle myosin heavy chain IIA localization for efficient genetic diagnosis of MYH9 disorders. **Ann Hematol.** 2018;97(4):709-11.
- 5) Miyashita N, Onozawa M, Hayasaka K, Yamada T, Migita O, Hata K, Okada K, Goto H, Nakagawa M, Hashimoto D, Kahata K, Kondo T, Kunishima S, Teshima T. A novel heterozygous *ITGB3* p.T720del inducing spontaneous activation of integrin α IIb β 3 in autosomal dominant macrothrombocytopenia with aggregation dysfunction. **Ann Hematol.** 2018;97(4):629-40.

2. 学会発表

- 1) Kunishima S, Uchiyama Y, Ogawa Y, Matsumoto N, Kobayashi R, Ichikawa S. Diagnostic biomarker for GFI1B macrothrombocytopenia. **XXXth International Symposium on Technical Innovations in Laboratory Hematology** (2017年5月4-6日, ハワイ・ホノルル)
- 2) 國島伸治, 北村勝誠, 小林良二, 市川聡, 内山

- 由理, 小川孔幸, 松本直通. 2GFI1B異常症診断のバイオマーカー. **第39回日本血栓止血学会学術集会** (平成29年6月8日-10日, 名古屋).
- 3) 橋本恵梨華, 高木夕希, 鈴木幸子, 河村奈美, 槇山愛弓, 坂根寛人, 藤岡亮, 田村彰吾, 高木明, 上原貴博, 國島伸治, 小嶋哲人. 新規変異 *ITGA2B* p.Cys198Serを含む複合ヘテロ変異をもつ血小板無力症の一例. **第39回日本血栓止血学会学術集会** (平成29年6月8日-10日, 名古屋).
 - 4) 米野由希子, 國島伸治, 柳富子. *RUNX1*変異による家族性血小板異常症に発症したMDS (RAEB-2) の症例. **第39回日本血栓止血学会学術集会** (平成29年6月8日-10日, 名古屋).
 - 5) 家田大輔, 堀いくみ, 中村勇治, 大下裕法, 根岸豊, 篠原務, 服部文子, 加藤丈典, 犬飼幸子, 齋藤伸治, 北村勝誠, 國島伸治, 河合智樹. 脳室周囲異所性灰白質と結合組織症状を示した *FLNA* 遺伝子変異の女兒例. **第59回日本小児神経学会学術集会** (2017年6月15-17日, 大阪).
 - 6) Miyashita N, Onozawa M, Hayasaka K, Kunishima S, Teshima T. Novel heterozygous *ITGB3* T746del mutation inducing spontaneous activation of integrin α IIb β 3 causing autosomal dominant macrothrombocytopenia with abnormal α IIb β 3 localization. **22nd Congress of the European Hematology Association** (2017年6月22-25日, スペイン・マドリッド).
 - 7) Morel-Kopp MC, Rabbolini D, Chun Y, Fixter K, Kunishima S, Gabrielli S, Chen Q, Stevenson W, Tan P, Radhakrishnan K, Bird R, Paul O, Chew LP, Ward C. MYH9 disorders are the most common cause of macrothrombocytopenia in Australia: importance of mean platelet diameter measurement and Döhle body detection for improved diagnosis. **XXVI Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis** (2017年7月8-13日, ドイツ・ベルリン).
 - 8) Hashimoto E, Kunishima S, Takagi Y, Suzuki S, Makiyama A, Sakane H, Fujioka A,

- Uehara T, Tamura S, Takagi A, Kojima T. Compound heterozygosity for mutations in ITGA2B including a novel p.Cys198Ser in Glanzmann Thrombasthenia. **XXVI Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis**(2017年7月8-13日 , ドイツ・ベルリン) .
- 9) Xu M, Zhu G, Li J, Carrim N, Kunishima S, Ware J, Ruggeri ZM, Freeman J, Ni H. Platelet GPIb α is important for liver thrombopoietin (TPO) production. **XXVI Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis**(2017年7月8-13日 , ドイツ・ベルリン) .
- 10) 國島伸治, 小林良二, 市川聡, 内山由理, 小川孔幸, 宮崎浩二. GFI1B異常症の新規検査診断法. **第18回日本検査血液学会学術集会**(平成29年7月22-23日, 札幌) .
- 11) Uchiyama Y, Ogawa Y, Kunishima S, Shiina M, Nakashima M, Yanagisawa K Yokohama A, Imagawa E, Miyatake S, Mizuguchi T, Takata A, Miyake N, Ogata K, Handa H, Matsumoto N. A novel GFI1B mutation at the first Zinc-Finger Domain causes congenital macrothrombocytopenia. **67th American Society of Human Genetics 2017 Annual Meeting** (2017年10月17-21日 , 米国・オーランド) .
- 12) 岩井俊樹, 村松彩子, 川路悠加, 栗山幸大, 大城宗生, 平川佳子, 内山人二, 黒田純也, 國島伸治. 当院で経験したMYH9異常症. **第79回日本血液学会総会**(平成29年10月20-22日, 東京) .
- 13) 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 sequencing of 375 patients with inherited and acquired bone marrow failure syndromes. **第79回日本血液学会総会** (平成29年10月20-22日, 東京) .
- 14) Miyashita N, Onozawa M, Kunishima S, Hayasaka K, Yamada T, Migita O, Hata K, Fujioka Y, Ohba Y, Teshima T. Mechanisms of congenital macrothrombocytopenia induced by a novel ITGB3 T720del mutation. **第79回日本血液学会総会** (平成29年10月20-22日, 東京) .
- 15) 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 sequencing of 347 children with acquired and inherited bone marrow failure syndromes. **59th American Society for Hematology Annual Meeting and Exposition** (2017年12月 9-12日 , 米国・アトランタ) .
- 16) 國島伸治. Next-generation sequencingと血栓止血学. **第39回日本血栓止血学会学術集会**(平成29年6月8-10日, 名古屋) .
- 17) 國島伸治. 先天性血小板異常症. **日本小児血液・がん学会学術集会教育セミナー**(平成29年6月18日, 東京) .
- 18) Kunishima S. Update on congenital thrombocytopenias. **XXVI Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis** (2017年7月8-13日 , ドイツ・ベルリン) .
- 19) Kunishima S. Diagnosis of inherited platelet disorders on a blood smear: survey and workshop. **XXVI Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis** (2017年7月8-13日 , ドイツ・ベルリン) .
- G . 知的財産権の出願・登録状況**
該当なし