

DKCの遺伝子診断

研究分担者 山口博樹（日本医科大学 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。近年次世代シーケンサーによる変異解析技術が発展したため、本邦の先天性骨髄不全症においても遺伝子変異検索が積極的に行われつつあり診断が明確となった症例も多くある。一方で臨床診断と異なる疾患の遺伝子変異が同定されることもあり、遺伝子変異の結果をどのように判断すればよいのか判断が難しい症例もある。また、DKC の約 1/3 の症例では責任遺伝子変異が同定されていないため遺伝子診断ができない場合もある。本研究は、本邦の DKC 症例で発見された責任遺伝子変異に関して *in vitro* にて機能解析を行い、これらがテロメア長制御を障害し DKC の病態に関与しているのか、また、DKC の新規責任遺伝子を明らかにして DKC の遺伝子診断を発展させることが目的である。

本邦で発見された *TERT* 遺伝子変異に関して *TERT* を欠損しテロメラーゼ活性を認めない Saos-2 細胞にこれらの遺伝子変異を導入しテロメラーゼ活性を解析した。DKC 症例で発見された E280K と del334_335 は、テロメラーゼ活性に障害を与えず、これらの変異が DKC の原因遺伝子であったかは懐疑的であった。DKC の診断において遺伝子変異をその診断の根拠とする場合には注意が必要である。

次に、既知の責任遺伝子に変異を認めない DKC 症例に関して次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子変異解析を行った結果、*TEP1* 遺伝子変異と *ACD* 遺伝子変異が新規の責任遺伝子変異の候補として発見された。*ACD* 遺伝子変異は *TINF2* との結合領域に認められたため *ACD* と *TINF2* の結合阻害によって Shelterin 複合体が不安定化することを予想した。しかし、発見された *ACD* 遺伝子変異は *ACD* と *TINF2* の結合阻害を起こさず、Shelterin 複合体が不安定化することはなかった。発見された *ACD* 遺伝子変異は DKC の責任遺伝子変異ではないと考えられた。現在、*TEP1* 遺伝子変異の機能解析を行っている。

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の責任遺伝子変異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、テロメア末端の保護に関わる CST複合体を構成する *CTC1* の変異も発見されている。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、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、世代促進、

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。

近年次世代シーケンサーによる変異解析技術が発展したため本邦の先天性骨髄不全症においても遺伝子変異検索が積極的に行われつつあり診断が明確となった症例も多くある。一方で臨床診断と異なる疾患の遺伝子変異が同定されることもあり、遺伝子変異の結果をどのように判断すればよいのか判断が難しい症例もある。特に、不全型DKCの場合は他の骨髄不全症との鑑別を遺伝子変異解

析によって行っているが、発見された遺伝子変異が本当にテロメア長制御を障害しDKCの病態に関与しているのかは不明確である。また、DKCの約1/3の症例では責任遺伝子変異が同定されていないため遺伝子診断が出来ない場合もある。

本研究は本邦のDKC症例で発見された責任遺伝子変異に関して*in vitro*にて機能解析を行い、これらがテロメア長制御を障害し、DKCの病態に関与しているのか、またDKCの新規責任遺伝子を明らかにしてDKCの遺伝子診断を発展させることが目的である。

B. 研究方法

1. 本邦で発見された既知の責任遺伝子変異の機能解析

本邦で発見された*TERT*遺伝子変異(DKC: E280K, del334_335, cDKC: G106W, P632R, G682D, T726M)及び*TERC*遺伝子変異(DKC: c.73G>C, cDKC: c.439_443del)をオリゴ合成により作成し、pCI-neo-flag vectorでクローニングした。野生型の*TERC*を発現し、*TERT*を発現しておらず、テロメラーゼ活性を持たないSaos-2細胞(Alternative Lengthening of Telomere (ALT)にてテロメアを補正)に*TERT*野生型及び各変異を発現するpCI-neo-flag vectorをそれぞれリン酸カルシウム法でtransfectionし、48時間後に各細胞を粗抽出しTeloTAGGG Telomerase PCR ELISAPLUS (Roche)によりRelative telomerase activity(RTA: 相対的テロメラーゼ活性)を測定した。

また、野生型の*TERT*をオリゴ合成により作成し、pDon-neo-vectorでクローニングした。AmphoPack 293細胞を用いてレトロウイルスベクターを作成し、野生型の*TERC*、*TERT*を発現しておらず、テロメラーゼ活性を持たないVA13細胞(ALTにてテロメアを補正)にtransductionさせ野生型の*TERT*を発現するVA13-*TERT*細胞を作成した。VA13-*TERT*細胞に*TERC*野生型及び各変異を発現するpCI-neo-flag vectorをそれぞれリン酸カルシウム法でtransfectionし、48時間後に各細胞を粗抽出し同様にRTAを測定した。

2. DKCの新規責任遺伝子変異候補の機能解析

野生型の*ACD*遺伝子をオリゴ合成により作成し、pCI-neo-vectorでクローニングした(pCI-neo-*ACD* WT)。更に、pCI-neo-*ACD* WTから、次世代シーク

エンサーで発見されたACD遺伝子変異 p.F461Lを mutagenesis 法により作成した (pCI-neo-ACD p.F461L)。また、*TINF2* 遺伝子のC末端にFLAGタグを付与した配列をオリゴ合成により作成し、pCI-neo-flag vector でクローニングした (pCI-neo-TINF2)。野生型のACDを発現していない、HEK293細胞に1. pCI-neo-ACD WTと pCI-neo-FLAG、2. pCI-neo-ACD p.F461Lと pCI-neo-FLAG、3. pCI-neo-vectorをそれぞれ Lipofectamin3000によりトランスフェクションした。48時間後にHEK293細胞のタンパクを抽出し、抗ACD抗体 (AA-2) : sc-100597, 抗FLAG抗体: A8592を用いてACDタンパク, *TINF2* タンパクの発現を確認した。その後、Protein A/G PLUS-Agaroseを用いて抗ACD抗体 (AA-2) : sc-100597で免疫沈降を行った。免疫沈降後のタンパクを用い、抗FLAG抗体: A8592でウェスタンブロットを施行した。

(倫理面への配慮)

機能解析において遺伝子導入を行うため、日本医科大学組換えDNA実験指針に従う。具体的には組換えDNA実験は、P3レベルの研究室で行い、組換えDNAを導入した細胞などの破棄には所定の指示に従う。

C. 研究結果

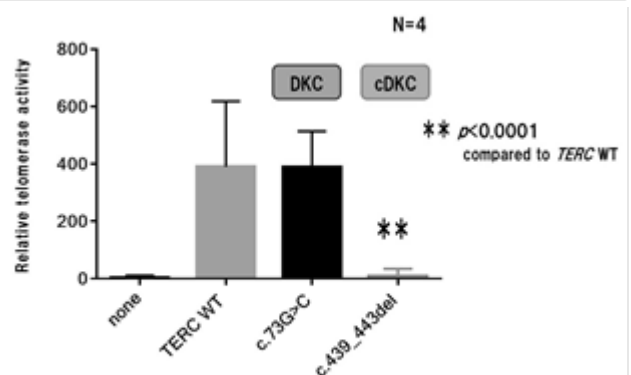
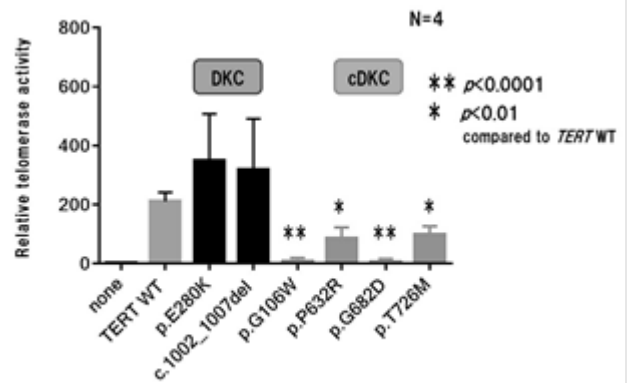
1. 本邦で発見された既知の責任遺伝子変異の機能解析

Saos-2細胞及びVA13-TERT細胞はテロメラーゼ活性が認められずALTにてテロメア長を補正している。

DKCで発見された *TERT* E280K, del334_335は野生型と比較してテロメラーゼ活性の低下は認められなかった (RTA 210.8 ± 17.8 vs. 350.0 ± 78.9 , 319.3 ± 85.8 $p=0.2010$, $p=0.3389$)。一方、不全型DKCで認められた *TERT* G106W, G682Dは野生型と比較し有意にテロメラーゼ活性が低下していた。 (RTA 210.8 ± 17.8 vs. 7.4 ± 6.3 , 5.9 ± 5.3 $p<0.0001$, $p<0.0001$)。また、不全型DKCで認められた *TERT* P632R, T726Mは野生型と比較し有意にテロメラーゼ活性が低下しているものの (RTA 210.8 ± 17.8 vs. 84.6 ± 19.4 , 97.6 ± 14.7 $p<0.0001$, $p<0.0001$) *TERT* G106W, G682Dと比較してテロメラーゼ活性の低下の程度が小さかった (RTA 7.4 ± 6.3

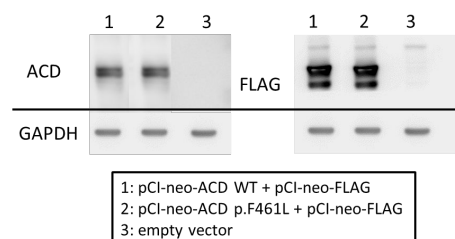
vs. 84.6 ± 19.4 , 97.6 ± 14.7 $p<0.01$, $p<0.01$)。

DKCで発見された *TERC* c.73 G>Cは野生型と比較してテロメラーゼ活性の低下は認められなかった (RTA 390.2 ± 113.9 vs. 388.2 ± 62.80 , $p=0.9881$)。一方、不全型DKCで認められた *TERC* c.439_443delは野生型と比較し有意にテロメラーゼ活性が低下していた (RTA 390.2 ± 113.9 vs. 6.780 ± 13.88 $p<0.0001$)。

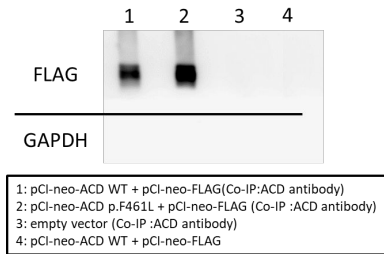


2. DKCの新規責任遺伝子変異候補の機能解析

それぞれのプラスミドベクターをHEK293細胞にトランスフェクションし、ACD, FLAGを共発現していることを確認した。



ACD抗体を用いて免疫沈降した結果、野生型のACD, ACD p.F461L変異いずれも *TINF2* と結合していることが明らかとなった。



ACD p.F461L変異はACDのTINF2結合領域に起きる変異であることから、変異の結果ACDとTINF2の結合が阻害されると推察されたが、今回の結果ではACD p.F461L変異はTINF2との結合を阻害しないことが明らかとなった。

D . 考察

本邦のDKC症例で発見された *TERT* 変異及び *TERC* 変異のテロメラーゼ活性の障害を *in vitro* で確認をした。不全型DKCで発見された *TERT* G106WとG682D, *TERC* c.439_443delはテロメラーゼ活性を完全に障害し原因遺伝子変異として間違いないと考えられた。また、不全型DKCで認められた *TERT* P632RとT726Mはテロメラーゼ活性が有意に低下をしているが、その障害の程度は野生型の約50%程度で臨床的に不全型DKCの表現型となった原因をよく示していた。一方、DKC症例で発見された *TERT* E280Kとdel334_335, *TERC* c.73G>Cはテロメラーゼ活性に障害を与えずこれらの変異がDKCの原因遺伝子であったかは懐疑的である。しかし、Saos-2細胞、VA13細胞がテロメラーゼ活性を介さずALTにてテロメア長補正をしているようにテロメア長制御はテロメラーゼ活性だけがすべてではない。これらの遺伝子変異が別のテロメア制御機構を障害してDKCの病態に関与している可能性は完全には否定できない。

今回の機能解析結果より症例によっては、遺伝子変異のみでDKCを診断するのは難しいことが明らかになった。

責任遺伝子が同定されていないDKC症例に対して次世代シーケンサーによる全エクソンシーケンスによってACD遺伝子変異 p.F461Lが発見された。ACD遺伝子変異はTINF2との結合領域に認められたため ACDとTINF2の結合阻害によってShelterin複合体が不安定化することを予想した。

しかし、発見された ACD遺伝子変異は ACDとTINF2の結合阻害を起こさず、Shelterin複合体が不安定化することはなかった。

発見されたACD遺伝子変異はDKCの責任遺伝子変異ではないと考えられた。しかし、ACDの機能はShelterin複合体だけではない。今回発見された遺伝子変異によってShelterin複合体が不安定化とは別の機序でテロメア長を短縮化させてDKCの病態に関与をしている可能性は否定できなかった。

現在、ACD遺伝子変異と同様に発見されたテロメラーゼ複合体を形成する *TEP1* 遺伝子変異の機能解析を行っている。

E . 結論

DKCや不全型DKCで発見された *TERT* 変異、*TERC* 変異の中にはテロメラーゼ活性に障害を与えずDKCの原因遺伝子でない変異が認められることがある。DKCの診断において遺伝子変異をその診断の根拠とする場合には注意が必要である。

ACD遺伝子変異 p.F461LはDKCの責任遺伝子変異ではない。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tachiwada T, Oda K, Tahara M, Sennari K, Nemoto K, Noguchi S, Kawanami T, Kido T, Yamaguchi H, Yatera K. Fatal Acute Exacerbation of Familial Interstitial Pneumonia Complicated with Dyskeratosis Congenita after Influenza Virus B Infection. *Inter Med.* (in press)
- 2) 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. *Genetics in Medicine* 2017;19(7):796-802.
- 3) 山口博樹 . 骨髄不全症におけるテロメア制御異常 . *血液フロンティア* 2017; 27(1):5-9.
- 4) Moriya K, Suzuki T, Watanabe Y, Saito-Nanjo Y, Niizuma H, Onuma M, Rikiishi T, Kakuta F, Abukawa D, Yamaguchi H,

Sasahara Y, Kure S. Hoyeraal-Hreidarsson syndrome in a patient with novel compound heterozygous RTEL1 gene mutations. **Pediatric Blood & Cancer** 2016 Sep;63(9):1683-4.

2. 学会発表

- 1) Terada K, Yamaguchi H, Miyake K, Miyake N, Osaki Y, Okada T, Kojima S, Ito E, Inokuchi K. Importance of functional analysis of TERT gene mutations in the diagnosis of dyskeratosis congenital. **第79回日本血液学会総会** (平成29年10月20-22日, 東京) .

G . 知的財産権の出願・登録状況

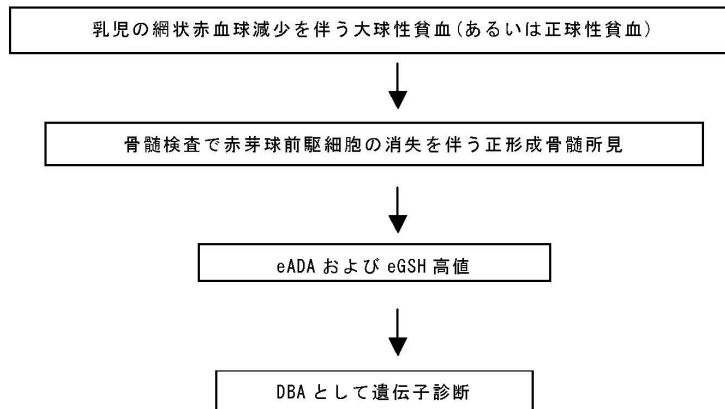
該当なし

先天性骨髄不全症診療ガイドライン 2017

一般社団法人 日本小児血液・がん学会（編集）

II Diamond-Blackfan 貧血

診断のフローチャート



●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、赤血球アデノシンデアミナーゼ活性 (eADA) の高値 (mean \pm 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 と赤血球還元型グルタチオン濃度 (eGSH) 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、通常のシークエンス法 (Sanger シークエンス、あるいは次世代シークエンスサーを用いたターゲットシークエンス) 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 50% にすぎない。

診断へのアプローチ

①疾患概念

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。骨髓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。

III Fanconi 貧血

診断のフローチャート

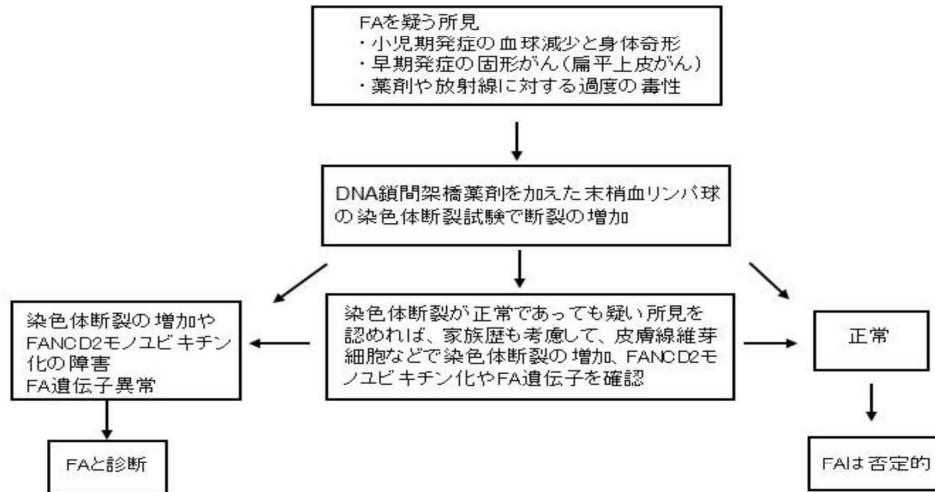


図1. Fanconi貧血診断のフローチャート

●Fanconi 貧血 (Fanconi anemia: FA) を疑った場合には、末梢血リンパ球を用いて mitomycin C (MMC) や diepoxybutane (DEB) などの DNA 架橋剤を添加した染色体断裂試験を行う (図 1)。正常の細胞と比べて多数の染色体断裂と、その結果生じると考えられる染色分体交換が特徴的とされる。また、一部の遺伝子異常ではスクリーニング法として、FANCD2 産物に対する抗体を用いウェスタンブロット法でモノユビキチン化を確認する方法も有用である。

●リンパ球に reversion を起こした細胞が増殖している体細胞モザイクの症例では、染色体脆弱がほとんどみられず判定困難であり、皮膚の線維芽細胞などを用いた染色体断裂検査や遺伝子検査などで初めて確定診断が得られる。FA 以外の染色体不安定性症候群を鑑別するうえで遺伝子検査が有用である。

診断へのアプローチ

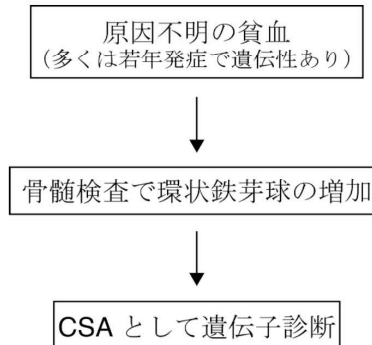
①疾患概念

1927 年に Fanconi は家族性の貧血と身体奇形を特徴とする兄弟例を初めて記載して Fanconi 貧血と命名し¹⁾、後年に 1) 汎血球減少、2) 皮膚の色素沈着、3) 奇形、4) 低身長、5) 性腺機能不全、6) 家族発生からなる診断基準を作成した²⁾。

1964 年に、Schroeder らは、FA 患者リンパ球に染色体異常がみられることを発見した³⁾。さらに、Sasaki らは、この染色体異常が mitomycin C (MMC) などの DNA 架橋剤によって著しく増加することを発見し、本疾患の基本病態が染色体不安定性にあることを明らかにした⁴⁾。最近の 20

IV 遺伝性鉄芽球性貧血

診断のフローチャート



● 遺伝性鉄芽球性貧血 (congenital sideroblastic anemia: CSA) は、まず若年発症かつ遺伝性の原因不明の貧血により疑い、骨髄検査により環状鉄芽球の存在を確認する。

● 最終的には遺伝子解析により診断を確定する。家系の中での遺伝性が明らかでない場合は、造血細胞以外の組織で遺伝子の変異を確認し、胚細胞変異であることを確認することも重要である。

診断へのアプローチ

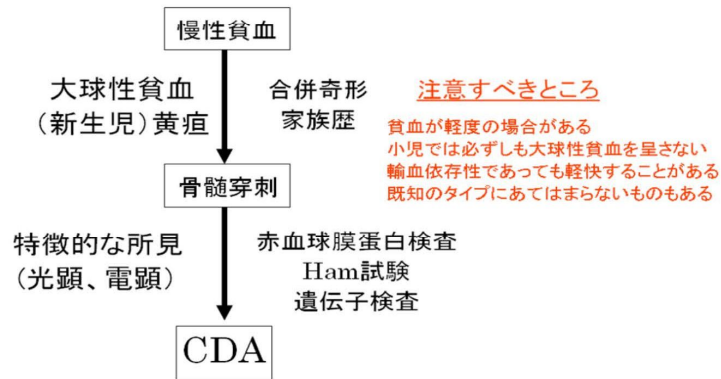
① 疾患概念

鉄芽球性貧血は赤芽球のミトコンドリアに鉄の異常沈着を認める貧血の総称で、遺伝性・後天性の様々な病態が含まれている。遺伝性鉄芽球性貧血については、1945年に Cooley が X 連鎖性小球性低色素性貧血を呈する家族性貧血症において赤芽球に鉄顆粒の存在を見出して報告したのが始まりである¹⁾。当初報告された X 連鎖性小球性低色素性貧血は、後になり赤血球型 5-アミノレブリン酸合成酵素 (ALAS2: erythroid specific 5-aminolevulinic acid synthase) をコードする遺伝子の変異による X 連鎖性鉄芽球性貧血 (X-linked sideroblastic anemia: XLSA) であることが証明された²⁾。後天性鉄芽球性貧血については、1956年に現在の骨髄異形成症候群 (myelodysplastic syndrome: MDS) に相当する慢性不応性貧血に

同様な鉄芽球が認められること、薬剤やアルコール常飲者でも本病態がみられることが報告され、1965年に鉄芽球性貧血の概念が確立された¹⁾。現在では鉄芽球性貧血は遺伝性のものより後天性つまり MDS に伴うものが多いことが明らかとなっている。遺伝性鉄芽球性貧血の原因として ALAS2 遺伝子の変異が最も多く報告されているが、その他にも鉄-硫黄クラスター合成・輸送に関わる遺伝子、ミトコンドリア DNA 遺伝子、ミトコンドリアトランスポーター遺伝子、ミトコンドリア tRNA 関連遺伝子など複数の遺伝子の変異が報告されている。表 1 に主な遺伝性鉄芽球性貧血とその原因遺伝子を示す。ただし、原因遺伝子が同定されない遺伝性鉄芽球性貧血も多く、既報の遺伝子以外にも原因となる遺伝子が存在すると考えられている。

V Congenital Dyserythropoietic Anemia (CDA)

診断のフローチャート



- 赤血球・赤芽球系の形態異常を伴う慢性貧血の診断に際しては congenital dyserythropoietic anemia (CDA) の鑑別診断を行う。
- 先天性溶血性貧血と診断されていた症例が後から CDA と診断されることがしばしばあり、他の先天性貧血や dyserythropoiesis を伴う先天異常疾患の除外が必須である。
- 特徴的な形態所見は光顕のみならず電顕でも認められる。II 型においては Ham 試験が陽性となる。
- 最近、各病型の責任遺伝子が次々と明らかになっており、確定診断に有用である。

診断へのアプローチ

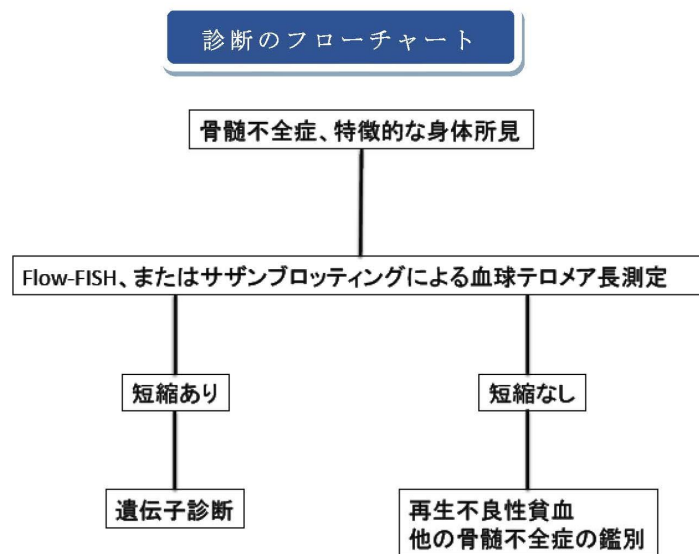
① 疾患概念

CDA は 1966 年に Crookston らによって提唱された赤芽球系細胞の成熟障害と骨髄内溶血による赤芽球系無効造血を呈する先天性疾患群で、慢性貧血、黄疸、胆石、脾腫および続発性ヘモクロマトーシスを来す。赤血球系の障害は赤芽球系前駆細胞レベルから生じ、形態異常は多染性および正染性赤芽球レベルで著明である。1968 年に Heimpel と Wendt が形態異常に基づいてこれらの疾患群を I 型から III 型の 3 病型に分類した(表 1)¹⁾。今でもこの分類が広く用いられているが、CDA が疑われながらこの 3 病型に該当しない亜型も散見される(表 2)²⁾。

② 診断基準

診断基準(表 3)にあるような家族歴、既往歴、身体所見、検査所見や、骨髄での赤芽球過形成と形態異常(クロマチン架橋、多核赤芽球、巨赤芽球変化など)²⁾、および末梢血での赤血球形態異常(大小不同、奇形赤血球、多染性、塩基性斑点など)と網赤血球減少などの赤芽球系無効造血を示唆する所見が見られる場合は CDA の可能性を疑い、他疾患(表 4)を除外した上で、遺伝子検査を行い診断確定する。注意すべき点として、貧血は臨床上問題にならないほど軽度の場合があること、輸血依存性であっても成長とともに改善することがあること、小児やサラセミア合併例では

VI 先天性角化不全症



●特徴的な身体的異常、骨髄不全、家族歴などから先天性角化不全症（Dyskeratosis congenita：DC）が疑われる場合には、末梢血を用いてFlow-FISHまたはサザンブロッティングを用いた血球テロメア長測定を行う。

●また、身体的特徴を有さない再生不良性貧血患者の中にも、テロメア長の短縮とテロメア関連遺伝子の異常を有する患者がいることが明らかになっているため、再生不良性貧血患者に対しては、診断時にテロメア長測定を行う事が望ましい。

●我が国では検査会社でこのような検査は行っていないため、検査が行える施設に問い合わせた検査を依頼する。特徴的な身体所見があり、テロメア長の著明な短縮が証明できれば診断が確定する。遺伝子診断は男性であればまずDKC1の変異解析を行う。DKC1に変異がない男性患者、または女性であればそれ以外の遺伝子変異について解析を進めるが、既知の遺伝子異常は約半数にしか見られない。

診断へのアプローチ

①疾患概念

DCは、テロメア長の維持機能の障害を背景とし爪の萎縮、口腔内白斑、皮膚色素沈着を3徴とする先天性造血不全症候群である¹⁾。DCは古典型DCの他に図に示すような低身長、小脳低形成、小頭症、網膜症、免疫などを伴う重症型であるHoyeraal-Hreidarsson症候群やRevesz症候群の

他、DCに特徴的な身体的異常を伴わず臨床的に再生不良性貧血、骨髄異形性症候群、家族性肺線維症などと鑑別が難しい不全型が存在する（図1）²⁻⁵⁾。これらの疾患は病像が異なるものの、共通してテロメア長の短縮や、テロメア関連遺伝子の変異がみられることから、一連の疾患と考えられている⁶⁾。

VII Shwachman-Diamond 症候群

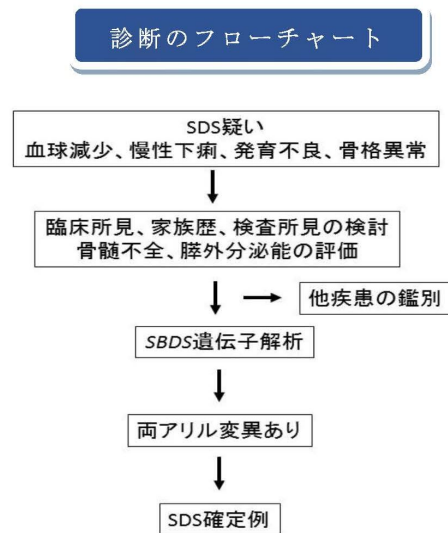


図1 診断フローチャート (SDS, Shwachman-Diamond syndrome)

●血球減少を来した患者で、慢性下痢、発育不良、骨格異常を認めた場合、Shwachman-Diamond 症候群 (Shwachman-Diamond syndrome: SDS) を疑う。血球減少は好中球減少が主体であるが、貧血、血小板減少を認める場合もあり、その程度もさまざまである。慢性下痢は膵外分泌不全による脂肪性下痢であるが、年長になるにつれて軽減し目立たなくなることが多い。低身長もよくみられる所見である。診断の鍵となる症状は、程度がさまざまで、経時的に変化することがあり、必ずしも同時に存在しないため、時間をかけて診断に至る場合もあることに留意する。疑い例では、SDS にみられる臨床所見、検査所見について検索し、家族歴を聴取し、骨髓不全、膵外分泌不全の評価を行う。併せて血球減少の原因となる他疾患の鑑別を行う。

●SDS では特異的なスクリーニング検査がなく、臨床診断例の 90% に *SBDS* 遺伝子の両アリル変異が認められるため、疑い例では *SBDS* 遺伝子解析を行う。*SBDS* 遺伝子の両アレルに変異が認められれば SDS 確定例と診断する。現在のところ *SBDS* 以外の原因遺伝子は報告されておらず、*SBDS* 遺伝子両アリル変異が認められない場合には、その他の骨髓不全の原因を検索しながら SDS 臨床診断例あるいは疑い例としてフォローする。近年、次世代シーケンサーを用いて先天性骨髓不全の原因遺伝子を網羅的に解析するターゲットシーケンス法が他疾患を含めた診断に有用であると報告されている。

診断へのアプローチ

① 緒言

SDS は、1964 年に Shwachman らによって初めて記載された、膵外分泌不全、骨髓不全、骨格異常を主徴とし、常染色体劣性の遺伝形式をとる

先天性骨髓不全症候群である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、骨髓異形成症候群 (myelodysplastic syndrome: MDS) および急性骨髄性白血病 (acute

VIII 先天性好中球減少症

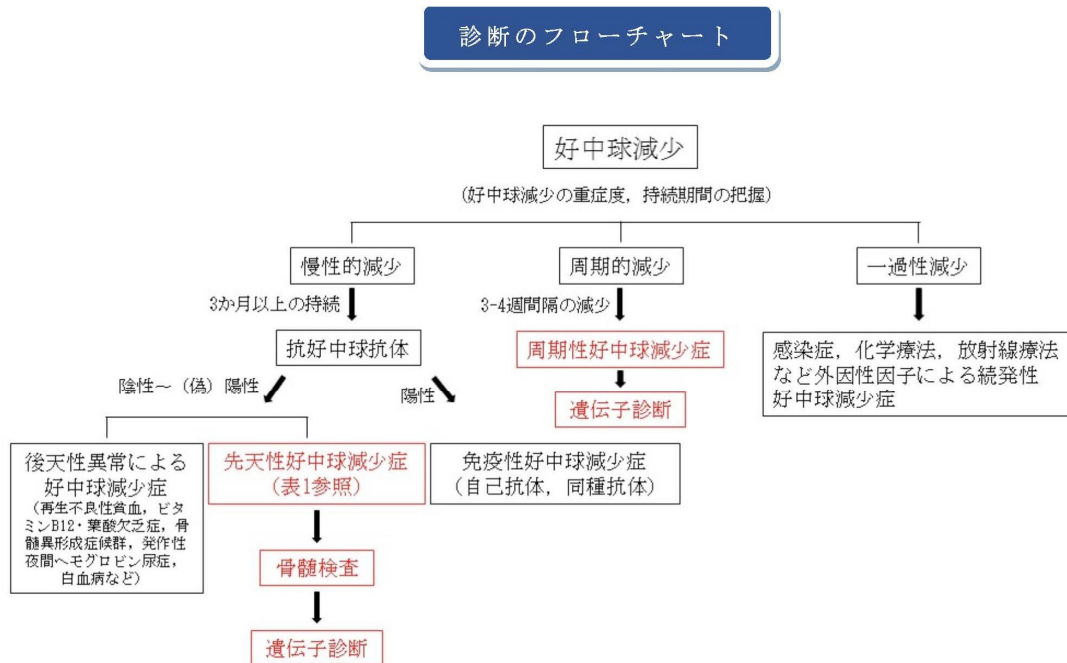


図1 好中球減少症：診断フローチャート

図1 好中球減少症：診断フローチャート（表1参照）

●好中球減少は末梢血好中球の絶対数（absolute neutrophil count, ANC）が $1,000 \sim 1,500/\mu\text{l}$ 以下に減少した状態を定義するが、臨床的に細菌を中心とした病原体に易感染性を呈するのは $500/\mu\text{l}$ 以下である。特に重症感染症の危険性が高くなるのは $200/\mu\text{l}$ 以下の場合である。

●先天性好中球減少症（congenital neutropenia）の多くの場合、ANCは $500/\mu\text{l}$ 以下が持続し、易感染性が認められる。3か月以上にわたる慢性好中球減少（ある程度の間隔で数回の測定が必要）を認めた場合下記のフローチャートに従って診断をすすめていく¹⁾。感染症併発時には一時的にANCが増加する場合もあるので、注意が必要である。

診断へのアプローチ

① 緒言

先天性好中球減少症は3か月以上にわたって、ANCが $500 \sim 1,000/\mu\text{l}$ 以下の慢性好中球減少を認め、何らかの易感染性を呈することを特徴とする。

好中球数は年齢、人種間で差があり、特に乳児期のANCは低めであることの認識が重要である。先天性好中球減少症の多くは遺伝性疾患であり、責任遺伝子が同定されている。2015年の

IX 先天性血小板減少症

診断のフローチャート

フローチャートは図 1・図 2 参照

- 日常診療において血小板減少を見る機会は少なくない。血小板減少をきたす原因は多岐にわたるが、血小板の産生低下、消費あるいは破壊の亢進、脾機能亢進に大別される。多くの場合は後天的要因によるものであり、肝硬変、SLE、特発性血小板減少性紫斑病 (idiopathic thrombocytopenic purpura: ITP)、急性白血病、再生不良性貧血などが原因にあげられる。
- 先天性血小板減少症はきわめてまれであると考えられてきたが、従来考えられていた程まれではなく、日常診療において十分遭遇する頻度で存在することが明らかになっている。
- また、確定診断がつかないために ITP と診断されステロイドなどによる不必要な治療を受けることも少なくない。慢性 ITP と診断される症例の 10% 程度には先天性血小板減少症が含まれていると考えられる。
- また、汎血球減少を呈する先天性骨髄不全症候群では血小板減少が先行することも多い。先天性血小板減少症の治療は補充療法が中心となるが、不必要な治療を施行しないためにも確定診断は重要である。

診断へのアプローチ

① 疾患概念

巨核球の増殖・分化異常、あるいは巨核球からの血小板放出機構の異常により血小板数が減少する先天性疾患である。

② 分類

先天性血小板減少症は単一の疾患ではなく原因は様々である。現在では 20 数種類の原因遺伝子が判明している。遺伝形式や原因遺伝子別により分類可能であるが、臨床的には血小板サイズによる分類が容易で理解しやすく、血小板サイズが

小型である先天性血小板減少症、正常大血小板の先天性血小板減少症、血小板サイズが大型である先天性巨大血小板性血小板減少症に分類される^{1,2)}。疾患一覧を表 1 に示す。

血小板サイズの指標となる平均血小板容積 (Mean platelet volume: MPV, 正常値 7-12fl) は自動血球計数装置から算出されるが、大型血小板が存在する場合は不正確になるため MPV 値のみで血小板サイズを評価してはならない。そのため、末梢血塗抹標本上での血小板形態観察と血小板