

先天性骨髄不全症の登録システムの構築と診断基準・重症度分類・診断ガイドラインの確立に関する研究

### 先天性角化不全症の診療ガイドライン作成

研究分担者 高橋義行（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 教授）

研究要旨：日本小児血液学会（現日本小児血液・がん学会）は平成21年2月より再生不良性貧血（AA）、骨髄異形成症候群（MDS）および先天性造血不全症候群（CBFS）を対象とした中央診断を開始した。レビューは骨髄および末梢血塗抹標本を2施設（名古屋大学、聖路加国際病院）で、骨髄病理標本を1施設（名古屋第一赤十字病院）で行った。また、名古屋大学小児科において、次世代シーケンサーによるターゲットシーケンス、もしくはエクソームシーケンスを行い、病的意義のある変異を検索した。結果として、血液疾患760例に対して遺伝性血液疾患関連遺伝子のターゲットシーケンスを実施し、先天性角化不全症（DC）17例（*TINF2* 10例、*TERT* 4例、*DKC1* 2例、*TERC* 1例）を遺伝子診断した。これらの結果をもとに、DCにおける診断のフローチャートを作成した。中央診断、および遺伝子診断を行うことにより、先天性造血不全症の診断精度が上昇すると考えられる。

#### A．研究目的

先天性角化不全症(Dyskeratosis congenita; DC)は、テロメア長の維持機能に關与する遺伝子群の変異により発症する先天性造血不全症の一つである。疾患の原因となる主なメカニズムは、テロメラゼ-shelterin複合体をコードする遺伝子の変異に起因する異常なテロメア短縮である。現在までに、DCの原因遺伝子としてテロメア長の維持に關わる*DKC1*、*TERT*、*TERC*、*RTEL1*、*NOPI10*、*TINF2*、*CTC1*、*NHP2*、*WRAP53*、*ACD*、*PARN*などの遺伝子変異が報告されている。しかしながら、未だ原因遺伝子が明らかでない患者が約30%に存在する。

一部のDC症例は、古典的症状のほかに、多彩な全身症状を呈する例から血球減少のみの例までさまざまな臨床像（不全型DC）を示し、再生不良性貧血との鑑別が難しい場合がある。

本研究では、日本小児血液・がん学会の中央診断および疾患登録事業の一環として、包括的に登録するとともに、DCの原因遺伝子の探索を行った。

#### B．研究方法

名古屋大学小児科に中央診断の事務局を設置し、再生不良性貧血(AA)、骨髄異形成症候群(MDS)、

あるいは先天性造血不全症候群(CBFS)が疑われる症例が発生した場合は、各施設から事務局に連絡をもらい、登録番号を発行した。中央診断およびそれに伴う検査については患者、または保護者の同意を取得した後に行うこととした。

骨髄・末梢血塗抹標本のレビューは、名古屋大学小児科と聖路加国際病院小児科で施行した。特徴的な身体的異常、骨髄不全、家族歴などからDCが疑われる場合には、末梢血を用いてFlow-FISH法による血球テロメア長測定を行った。

先天性造血不全症候群が疑われる症例について、名古屋大学小児科において、次世代シーケンサーによるターゲットシーケンス、もしくはエクソームシーケンスを行い、病的意義のある変異を検索した。

研究にあたっては個人情報守秘を厳守し、文書による同意を得た上で研究を遂行した。

#### C．研究結果

さまざまな先天性造血不全症を疑った患者(n=760例)に対して遺伝性血液疾患関連遺伝子のターゲットシーケンスを実施した。結果として、DC 17例(*TINF2* 10例、*TERT* 4例、*DKC1* 2例、*TERC* 1例)を

遺伝子診断し得た。17例のうち、末梢血Flow-FISH法による血球テロメア長を測定した12例中11例でテロメア長の短縮を認めた。

これらの結果をもとに、DCにおける診断のフローチャートを作成した。

#### D . 考察

骨髄不全症を合併した先天角化不全症では、再生不良性貧血、Fanconi貧血、Schwachman-Diamond症候群、先天性無巨核芽球性血小板減少症、Pearson症候群などの疾患と鑑別を要する。それぞれ特徴的な臨床像があるため、まず臨床像から鑑別を行うが、網羅的遺伝子解析による、迅速かつ正確な遺伝子診断が必要である。

骨髄不全症や特徴的な臨床所見を認める時に、テロメア長の測定を行い、短縮を認めれば遺伝子解析を行い、DC関連遺伝子を検索する。また、テロメア長短縮を認めないが、臨床的に否定することが困難な場合には遺伝子解析を行うことが望ましいと考えられた。

#### E . 結論

先天性角化不全症を含め、先天性造血不全症の診断は必ずしも容易ではなく、中央診断による塗沫標本の評価、および遺伝子診断を行うことによりその診断の精度が上昇したと考えられる。

#### F . 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kato K, Miya F, Hamada N, Negishi Y, Narumi-Kishimoto Y, Ozawa H, Ito H, Hori I, Hattori A, Okamoto N, Kato M, Tsunoda T, Kanemura Y, Kosaki K, Takahashi Y, Nagata KI, Saitoh S. MYCN de novo gain-of-function mutation in a patient with a novel megalencephaly syndrome. **J Med Genet.** 2019 Jun;56(6):388-395. doi: 10.1136/jmedgenet-2018-105487.
- 2) Narita A, Zhu X, Muramatsu H, Chen X, Guo Y, Yang W, Zhang J, Liu F, Jang JH, Kook H, Kim H, Usuki K, Yamazaki H, Takahashi Y, Nakao S, Wook Lee J, Kojima S; Aplastic Anaemia Working Party of the Asia-Pacific Blood, Marrow Transplantation

Group. Prospective randomized trial comparing two doses of rabbit anti-thymocyte globulin in patients with severe aplastic anaemia. **Br J Haematol.** 2019 Oct;187(2):227-237. doi: 10.1111/bjh.16055.

- 3) Umeda K, Imai K, Yanagimachi M, Yabe H, Kobayashi M, Takahashi Y, Kajiwarra M, Yoshida N, Cho Y, Inoue M, Hashii Y, Atsuta Y, Morio T; Inherited Disease Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Impact of graft-versus-host disease on the clinical outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for non-malignant diseases. **Int J Hematol.** 2020 Feb 12. doi: 10.1007/s12185-020-02839-4.
2. 学会発表
  - 1) Narita A, Zhu X, Takahashi Y, Nakao S, Wook Lee J, Kojima S on behalf of Aplastic Anemia Working Party of the Asia-Pacific Blood and Marrow Transplantation Group. Randomized Trial of Two Dosages of Rabbit Antithymocyte Globulin in Patients with Aplastic Anemia. **The 10th JSH International Symposium 2019** (2019年5月17-18日, 伊勢)。(口頭)
  - 2) 若松学, 村松秀城, 吉田太郎, 山森彩子, 今屋雅之, 三輪田俊介, 成田幸太郎, 北澤宏展, 濱田太立, 市川大輔, 谷口理恵子, 西川英里, 川島希, 成田敦, 奥野友介, 西尾博信, 小島勢二, 高橋義行. エルトロンボパグ投与により輸血依存から離脱しえた先天性角化不全症の一例. **第61回日本小児血液・がん学会学術集会** (2019年11月14-16日, 広島)。(口頭)
  - 3) 川島希, 若松学, 村松秀城, 吉田太郎, 山森彩子, 今屋雅之, 三輪田俊介, 成田幸太郎, 北澤宏展, 濱田太立, 市川大輔, 谷口理恵子, 西川英里, 成田敦, 奥野友介, 西尾博信, 小島勢二, 高橋義行. ファンコニ 貧血診断における次世代シーケンス解析とFANCD2機能解析の統合の意義. **第61回日本小児血液・がん学会学術集会** (2019年11月14-16日, 広島)。(口頭)
  - 4) Muramatsu H, Hamada M, Okuno Y, Wakamatsu M, Taniguchi R, Narita K, Miwata S, Kitazawa H,

Ichikawa D, Nishikawa E, Kawashima N, Narita, A, Nishio N, Kojima S, Ogi T, Takahashi Y. 遺伝性造血不全症候群に対する全エクソーム解析．第61回日本小児血液・がん学会学術集会（2019年11月14-16日，広島）．（口頭）

- 5) 三輪田俊介，成田敦，今屋雅之，山森彩子，吉田太郎，若松学，成田幸太郎，北澤宏展，濱田太立，市川大輔，谷口理恵子，西川英里，川島希，奥野友介，村松秀城，西尾博信，小島勢二，高橋義行．先天性骨髓不全症におけるテロミア長測定の有用性．第61回日本小児血液・がん学会学術集会（2019年11月14-16日，広島）．（口頭）
- 6) Narita A, Muramatsu H, Hamada M, Ichikawa D, Nishikawa E, Kawashima N, Okuno Y, Nishio N, Yamazaki H, Nakao S, Kojima S, Takahashi Y. 再生不良性貧血における血漿中ウサギATG血中濃度と免疫抑制療法反応率の関連性．第61回日本小児血液・がん学会学術集会（2019年11月14-16日，広島）．（口頭）

#### G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし