

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）

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

平成 28 年度～ 30 年度 総合研究報告書

研究代表者 伊藤 悦朗

平成 31 (2019) 年 3 月

目 次

・ 総合研究報告	1
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	
伊藤 悦朗（弘前大学大学院医学研究科小児科学 教授）	
・ 分担研究報告	
1 . DBAの遺伝子診断・診療ガイドラインの作成	40
伊藤 悦朗（弘前大学大学院医学研究科小児科学 教授）	
土岐 力（弘前大学大学院医学研究科小児科学 講師）	
神尾 卓哉（弘前大学医学部附属病院小児科 助教）	
佐藤 知彦（弘前大学医学部附属病院小児科 助教）	
2 . 遺伝性鉄芽球性貧血	48
張替 秀郎（東北大学大学院医学系研究科血液免疫病学分野 教授）	
3 . ファンコニ貧血の臨床データ解析・遺伝子診断・診療ガイドラインの作成	53
矢部 普正（東海大学医学部基盤診療学系再生医療科 教授）	
4 . CDAの臨床データ解析・診療ガイドラインの作成	60
真部 淳（聖路加国際大学聖路加国際病院小児科 医長）	
5 . 中央診断，DKCとCDAの遺伝子診断・診療ガイドラインの作成	63
高橋 義行（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 教授）	
6 . DBAのバイオマーカーの解析	68
菅野 仁（東京女子医科大学医学部輸血・細胞プロセッシング部 教授）	
大賀 正一（九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野 教授）	
槍澤 大樹（東京女子医科大学医学部輸血・細胞プロセッシング部 助教）	
7 . ファンコニ貧血の遺伝子解析	75
高田 穰（京都大学大学院生命科学研究所附属放射線生物研究センター 教授）	
8 . 小児期造血障害疾患登録による赤芽球癆など先天性遺伝性貧血 の疫学データベース構築	
疾患登録による先天性造血不全の疫学	82
小原 明（東邦大学医学部小児科 教授）	
9 . DBAの遺伝子診断・診療ガイドラインの作成	85
照井 君典（弘前大学大学院医学研究科小児科学 准教授）	

10 . 遺伝性鉄芽球性貧血の遺伝子診断	91
古山 和道 (岩手医科大学学生化学講座分子医化学分野 教授)	
11 . CDAのデータ管理、診断基準の確立	94
多賀 崇 (滋賀医科大学小児科 准教授)	
12 . 重症先天性好中球減少症 ガイドライン	96
小林 正夫 (広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学 教授)	
13 . Shwachman-Diamond症候群の診療ガイドライン作成に関する研究	103
渡邊健一郎 (静岡県立こども病院血液腫瘍科 科長)	
金兼 弘和 (東京医科歯科大学大学院小児地域成育医療学講座 寄付講座教授)	
14 . 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	106
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 (現 岐阜医療科学大学保健学部 教授))	
15 . DKCの遺伝子診断	111
山口 博樹 (日本医科大学血液内科 准教授)	
. 資料 先天性骨髄不全症診療ガイドライン2017 (抜粋)	116
. 研究成果の刊行に関する一覧表	125

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業））
総合研究報告書

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

研究代表者 伊藤悦朗（弘前大学大学院医学研究科小児科学 教授）

研究要旨： 主要な先天性骨髄不全症には、先天性赤芽球癆（DBA）、Fanconi貧血（FA）、遺伝性鉄芽球性貧血（SA）、congenital dyserythropoietic anemia（CDA）、Shwachman Diamond syndrome（SDS）、先天性角化不全症（DKC）、先天性好中球減少症（SCN）、先天性血小板減少症（CTP）の8疾患がある。本研究班は、8つの疾患別研究拠点から構成され、各研究拠点は疫学調査、臨床データおよび検体の収集、既知の原因遺伝子解析とバイオマーカーなどの特殊検査を担当した。日本小児血液・がん学会の中央診断事業と疾患登録事業とも連携し、正確な診断に基づいた新規症例の把握と検体収集を行い、精度の高い疾患データベースの構築を推進した。

DBAは、64例が新規登録され、31例（48.4%）に既報の遺伝子変異を認めた。これまでに221例のDBAの臨床情報と検体の収集および遺伝子解析を行い、128例（57.9%）に原因となるRP遺伝子変異を見出した。また、新規原因遺伝子*RPS15A*を見出した。さらに、最近、DBAの近縁疾患の中に、がん抑制遺伝子*TP53*の活性化変異が原因で起こる「新たな先天性骨髄不全症」を発見した（AJHG 2018）。我々は今までにDBA患者における診断バイオマーカーとして赤血球アデノシンデアミナーゼ活性（eADA）、還元型グルタチオン（GSH）の同時測定が有用であることを明らかにしてきた。この3年間でその有用性を21例の新規DBA症例について再確認した。SAは、9例の新規症例が登録され、うち5例において原因遺伝子である*ALAS2*の変異が同定された。しかし、エクソーム解析によっても原因遺伝子が同定できない遺伝性鉄芽球性貧血患者において、原因遺伝子を明らかにする方法を検討した。まず、*ALAS2*の赤芽球特異的エンハンサーを同定し、さらにエクソーム解析によっても原因遺伝子が不明であった遺伝性鉄芽球性貧血患者の同領域に変異を同定した。加えて、培養細胞株とゲノム編集法を用いて疾患モデル細胞を樹立することに成功し、確定診断に至るための方法の一つを示すことができた。FAは、新規症例の遺伝子解析を進め、日本人FA117例のうち、113例（97%）の責任遺伝子を特定し、213の変異アリルを同定することができた。これらを臨床病態と比較検討することにより、我が国のファンコニ貧血の責任遺伝子や変異バリエーションの特徴を明らかにし、さらにアルデヒド代謝酵素遺伝子型による病態修飾を解明した。CDAは、22例において、遺伝子診断を行い、5例で型、1例でvariant型の責任遺伝子の変異を確認した。遺伝子変異が確認されなかった12症例については、次世代シーケンサーによる新規責任遺伝子の探索を行い、4例で溶血性貧血の原因遺伝子の変異を確認した。また、さまざまな血液疾患症例738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、CDA 5例、DKC 15例など、計225例（32%）を遺伝子診断し得た。SDSは、計47例の患者が同定され、年間発症数は2.7例、男女比は2.2：1であった。最も多い変異は183-184TA>CT/258+2T>C変異が73%を占め、次に258+2T>C/258+2T>C変異が6.6%であった。初診時の臨床所見はさまざまであり、血球減少、体重増加不良、脂肪便、肝機能障害、低身長、骨格異常などである。膵外分泌不全あるいは画像での膵臓の異常はほとんどの患者で認められた。好中球減少は初診時に約1/3の患者でしか認められなかったが、経過中では89%の患者で認められた。その他の血球異常は貧血、血小板減少、汎血球減少症がそれぞれ64%、69%、40%で認められた。6%の患者では白血病に進展した。DKCは、約1/3の症例では責任遺伝子変異が同定されていない。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*にて機能解析を行った。*TERT*のE280Kとdel334_335変異は、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。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、*TEPI*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。しかし、機能解析の結果、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。本研究班で得られたデータをもとに、日本小児血液・がん学会の再生不良性貧血・MDS委員会と連携を取りながら診断基準、重症度分類および診療ガイドラインの小改訂を行い、「2017年度版診療ガイドライン」を作成した。日本小児血液・がん学会の認証を受けた後、同学会の編集書籍として、平成29年10月に診断と治療社より出版した。さらに、平成29年度は悪性腫瘍の合併を考慮した重症度分類の改訂を行った。平成30年度は、本研究班で得られたデータをもとに、診断基準および診断・治療ガイドラインの小改訂を行った。

【研究分担者氏名】

張替秀郎：東北大学大学院医学系研究科教授
矢部普正：東海大学医学部教授
真部 淳：聖路加国際大学聖路加国際病院医長
高橋義行：名古屋大学大学院医学系研究科教授
菅野 仁：東京女子医科大学教授
高田 穰：京都大学放射線生物研究センター教授
大賀正一：九州大学大学院医学研究院教授
小原 明：東邦大学医学部教授
照井君典：弘前大学大学院医学研究科准教授
古山和道：岩手医科大学医学部教授
多賀 崇：滋賀医科大学医学部准教授
小林正夫：広島大学大学院医歯薬保健学研究院教授
渡邊健一郎：静岡県立こども病院科長
金兼弘和：東京医科歯科大学寄附講座教授
山口博樹：日本医科大学医学部准教授
小島勢二：名古屋大学名誉教授（H28-29年度）
國島伸治：国立病院機構名古屋医療センター臨床
研究センター室長（現 岐阜医療科学大学教授）
（H28-29年度）

【研究協力者氏名】

國島伸治：岐阜医療科学大学教授
土岐 力：弘前大学大学院医学研究科講師
神尾卓哉：弘前大学医学部附属病院助教
佐藤知彦：弘前大学医学部附属病院助教
矢部みはる：東海大学医学部非常勤医師
長谷川大輔：聖路加国際大学聖路加国際病院副医長
槍澤大樹：東京女子医科大学助教
小倉浩美：東京女子医科大学非常勤講師
石村匡崇：九州大学病院助教
白石 暁：九州大学病院助教
江田克秀：九州大学病院特任助教
園田素史：九州大学大学院医学研究院博士課程

A . 研究目的

主要な先天性骨髄不全症には、先天性赤芽球癆（DBA）、Fanconi貧血（FA）、遺伝性鉄芽球性貧血（SA）、congenital dyserythropoietic anemia（CDA）、Shwachman Diamond syndrome（SDS）、先天性角化不全症（DKC）、先天性好中球減少症（SCN）、先天性血小板減少症（CTP）の8疾患がある。平成26年度から、発症数が少なく共通点の多いこれらの8疾患の医療水準の向上をより効果的に進めるために、一つの研究班に統合した厚労省難治性疾患政策研究班「先天性骨髄不全班」（伊藤班）が発足し、研究を推進してきた。本研究申請では、先天性骨髄不全班の先行研究を発展させ、

より優れた「診断基準・重症度分類・診断ガイドライン」の確立を目指す。これまでの研究を通じて確立した解析基盤を共有し、日本小児血液・がん学会の中央診断事業と疾患登録事業とも連携し、正確な診断に基づいた新規症例の把握と検体収集を行う。共通の基盤で遺伝子診断を含めた中央診断を行い、正確な診断に基づいた疫学調査を行い、遺伝子診断の結果や治療経過も含む、精度の高い疾患データベースを作成する。

B . 研究方法

本研究申請では、発症数が少なく共通点の多い先天性造血不全症の医療水準の向上をより効果的に進めるために、一つの研究班に統合して研究を推進する。本研究班は、8つの疾患別研究拠点から構成され、各研究拠点（DBA（伊藤）、SA（張替）、FA（矢部・高田）、CDA（小島・真部）、DKC（小島、山口）、SDS（渡邊）、SCN（小林）、CTP（國島））は、疫学調査、臨床データおよび検体の収集、遺伝子診断のための既知の原因遺伝子解析とバイオマーカーなどの特殊検査を担当する。研究代表者（伊藤）が、DBAの研究を担当するとともに研究全体を統括する。平成28年度は、遺伝子診断の結果も含む精度の高い先天性骨髄不全のデータベースの作成を進め、診療ガイドラインの小改訂を行った。平成29年度は、我が国における正確な患者数の把握と治療法と予後に関する疫学研究を推進し、先天性骨髄不全のより精度の高い疾患データベースの確立を目指す。また、重症度分類の改訂を行った。平成30年度は、データ収集と観察研究を継続し、正確な先天性骨髄不全の実態把握を行い、日本小児血液・がん学会の再生不良性貧血・MDS委員会と連携を取りながらエビデンスに基づいた診断基準と診療ガイドラインの改訂を行った。得られた最新の成果は、難病情報センターのホームページや書籍などを通じて国民に広く公表する。以下に、具体的な研究計画及び方法を述べる。

1) 疫学調査

先天性造血不全の8疾患について成人例も含めた疫学調査を行い、詳細な疫学情報を収集する（小原、大賀、張替、矢部、多賀、真部、小島、渡邊、小林、國島）。

2) 中央診断

先天性造血不全症の疑い例が発生すると日本小児血液・がん学会の登録システムを用いて疾患登録が行われる。先天性骨髄不全症が強く疑われる場合は各疾患拠点でさらに詳細な診断（3）、4）を

行う。

3) 先天性骨髄不全症の鑑別診断: 先天性溶血性貧血の解析

1972年から2017年の46年間で赤血球酵素活性測定により診断したPK異常症を集計し、臨床像を解析した。遺伝子検査を実施した症例および家系内保因者について赤血球PK活性と遺伝子型(ホモ接合および複合ヘテロ接合、ヘテロ接合)を比較検討した(菅野、大賀)。

4) 遺伝子診断

遺伝子診断のため、既知の原因遺伝子の解析を直接シーケンス法あるいはターゲット・NGSシーケンス法で、各疾患の解析拠点において行う。FA症例については、高レベルのモザイク症例も多く、特にリンパ球にリバージョン・モザイクを起こし、遺伝子変異が末梢血では同定不可能な症例もあるため、変異が同定されない場合は骨髄細胞や皮膚・骨髄線維芽細胞を用いて解析も行う(矢部・高田)。また、通常の直接シーケンス法では、既知の原因遺伝子の欠失を検出できないため、DBA研究班が開発したGenomic Copy Number Assay法とSNPアレイあるいはMultiplex Ligation-dependent Probe Amplification(MLPA)を用いて片アレル欠失の有無を解析する(各研究拠点)。

5) 疾患登録データベースの構築

得られた症例の臨床情報や遺伝子解析の結果も含めたデータを登録し、詳細な疾患データベースを構築する。海外との共同研究を視野に入れ、中国、韓国、インドの血液専門医とアジアにおける先天性骨髄不全のWEB登録システムの構築を計画している。(小島、張替、矢部、真部、小原、小林、國島、大賀、伊藤)。

6) 診療ガイドラインの確立

収集された情報を基に、日本小児血液・がん学会の再生不良性貧血・MDS委員会と連携を取りながら、より多くのエビデンスに基づいた診断基準、重症度分類、診断・治療ガイドラインの改正を行う。なお、治療ガイドラインは、造血幹細胞移植のプロトコールを含む実用的なものを策定する(伊藤、張替、大賀、真部、矢部、渡邊、小林、國島、小島)。

(倫理面への配慮)

日本小児血液・がん学会として行う疾患登録事

業は、疫学研究倫理指針に準拠した臨床研究として、すでに学会倫理審査委員会で承認されている。調査にあたっては個人情報の守秘を厳守し、データの取り扱いに注意する。中央診断事業についても、患者検体の匿名化を図る。検体の採取にあたっては患者および家族から事前に十分な説明を行い、文書による同意を得る。各疾患の遺伝子解析についてはヒトゲノム、遺伝子解析研究指針に従い、患者および家族に事前に十分な説明を行い、文書による同意を得たのち連結可能匿名検体として研究を遂行する。患者および家族に対して不利益が生じる場合には、いつでも同意の撤回は可能である。既知の責任遺伝子に関しては、すべての当該遺伝子解析施設の倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

1) 疫学調査

2006から2017年診断登録症例1,772例を表に示す(表)。本研究の研究期間3年間565例の集計を表右端示した。

- 疾患登録症例: 3年間の診断症例は小児血液学会会員施設の63-70%に相当する14-1,655施設が登録した。疾患では遺伝性溶血性疾患(遺伝性球状赤血球症 165例サラセミア 55例等)が多いが(総計 586例 3年間 257例)、造血不全症は総計 1,186例 3年間 308例であった。造血不全症としては、Idiopathic AA 132例、Cong. Thrombocytopenia 42例が多い。造血障害の診断は日本小児血液・がん学会の形態中央診断が貢献している。
- 特発性再生不良性貧血が最多病型である。年間 40ないし 50症例が新規に診断されており、臨床上鑑別が必要になる Refractory Cytopenia in Childhood, RCC を合わせると 60例ないし 70例となる。2017年は RCC 症例数が把握できなかった。
- Diamond-Blackfan 貧血: DBA 症例は 12年間で 97例、研究期間の 3年間で 12例であった。Fanconi 貧血は 12年間で 47例、3年間で 10例であった。
- 12年間で 10例未満の稀少疾患は、Cong. Dys-erythropoietic anemia 3例、先天性鉄芽球性貧血 8例、Dyskeratosis congenita 8例であった。
- 先天性溶血性疾患(PK欠損症・G6PD欠損症など)は予想よりも少なく、診断が新生児期である場合に日本小児血液・がん学会会員が新生

児医療に関与していなければ登録集計されていない可能性がある。

2) 中央診断

中央診断事務局を名古屋大学小児科に設置した。AA、MDS、あるいは先天性骨髄不全症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。以後はその番号でやりとりを行った(匿名化)。中央診断およびそれに伴う検査については患者保護者の同意を取得した後にいった。レビューは骨髄および末梢血塗抹標本を2施設(名古屋大学小児科、聖路加国際病院小児科)で、骨髄病理標本を1施設(名古屋第一赤十字病院病理部)で行った。

我々は今までにDBA患者における診断バイオマーカーとして赤血球アデノシンデアミナーゼ活性(eADA)、還元型グルタチオン(GSH)の同時測定が有用であることを明らかにしてきた。今年度は、新たに遺伝子変異が確定したDBA 14症例でADA活性とGSH濃度の測定を行い、その有用性を再確認した。

3) 遺伝子診断

a. DBA

新規症例64例中31例(%)に既報の遺伝子変異を同定した。これまでに221例のDBAの臨床情報と検体の収集および遺伝子解析を行い、原因となるRP遺伝子変異を見出した症例数は、128例(57.9%)となった。

既知の原因遺伝子が同定できなかった19症例のDNAをその両親の検体(22検体)と共にオミックス解析拠点(宮野班)に送付し、エクソームシーケンスを施行し、解析を進めた。

DBAの近縁疾患として収集した症例の中に、がん抑制遺伝子*TP53*の活性化変異が原因で起こる「新たな先天性骨髄不全症」の2症例を発見した。ゼブラフィッシュやヒトiPS細胞のモデルを用いて、機能解析を行い、*P53*の活性化変異が貧血の原因であることを証明した(AJHG 2018)。

b. FA

現在までに104家系117例の日本人FA患者の原因遺伝子の解析を進め、最終的に113例の原因遺伝子を特定し、213の変異アリルを同定した。その結果、*FANCA*が58%、*FANCG*が25%とこの両方で全体の80%を占め、3番目は*FANCB*であった。*FANCA*の68例からは130の変異アリルが検出され、c.2546delC等の高頻度バリエーションはあるものの、多

彩であった。*FANCG*では29例で57の変異アリルが検出されたが、その86%を2つの高頻度変異バリエーションが占めた。以上は、日本人FA患者の遺伝子診断を効率的に勧めるために有用な情報である。

原因遺伝子と表現型との関連では、FA-G患者はFA-A患者に比べて骨髄不全の発症時期が早いことが判明し、これがさらにアルデヒド代謝酵素(*ALDH2*)遺伝子型によって修飾される。*ALDH2*の母児解析を35症例について行った。出生時体重、奇形数、骨髄不全の発症日時を母児各々の*ALDH2*型で検討したところ、マウスとは異なり、母親の*ALDH2*の遺伝子型は患児の表現型や骨髄不全発症に影響を与えないことが判明した。また、先天性の形成異常との関連では、重症のFACTERL-H異常が、詳細な臨床情報のある108例中10例に認められ、特にFA-B、FA-Iの患者で重症であった。白血化例における骨髄染色体核型では複合型に加え、monosomyを呈する症例の予後が不良であった。一方、FA-D1、FA-Nの症例では骨髄不全を呈さず、若年で悪性腫瘍を合併し予後不良であった。

東海大学で2012年までに同種造血細胞移植を施行し、5年以上長期生存した52例中15例に固形がんの発症を認めた。舌がんが5例、上顎など他の口腔がんが3例、咽頭がんが2例、食道がんが5例、肝がんが1例、皮膚がん(ボーエン病)が1例で、うち2例は舌がんと食道がんの重複がんを発症した。死亡は肝がん1例、舌がん1例、食道がん2例、上顎がん1例で、10例は固形がんの診断後も外科手術、放射線療法、一部の例では化学療法や分子標的療法を併用して生存中であるが、うち2例は再発を繰り返しており、生命予後は極めて不良である。患者に対する発がんリスクの説明が不十分と思われた時期の症例や定期的なフォローアップから漏れた症例に進行期の固形がんが多い傾向があった。

c. SA

研究期間内に9例の新規症例が登録され、うち5例において原因遺伝子である*ALAS2*の変異が同定された。男性は、いずれも、典型的な小球性貧血を呈し、*ALAS2*のhemizygous変異(R170L、R452H、あるいはR170H)を認めた。一方、2例の女性は、大球性貧血を認め、*ALAS2*のheterozygous変異(R163H、L515F)であった。*ALAS2*変異に伴うSA症例は、男児発症、小球性貧血、鉄過剰症を特徴とするが、女性の大球性鉄芽球性貧血の一部では*ALAS2*のheterozygous変異が病因となりうることが示唆された。残りの4例に

についても全エクソン解析などの網羅的遺伝子解析を施行中である。

網羅的な遺伝子変異の解析を実施しても原因遺伝子が同定されない患者も少なくない。そこで、エクソーム解析によっても原因遺伝子が同定できないSA血患者において、原因遺伝子を明らかにする方法を検討した。まず、*ALAS2*の赤芽球特異的エンハンサーを同定し、さらにエクソーム解析によっても原因遺伝子が不明であった遺伝性鉄芽球性貧血患者の同領域に変異を同定した。加えて、培養細胞株とゲノム編集法を用いて疾患モデル細胞を樹立することに成功し、確定診断に至るための方法の一つを示すことができた。

d. CDA

CDAと診断され同意を得た症例について遺伝子診断を行った。22例中6例に遺伝子変異を確認し、5例では型の責任遺伝子*CDAN1*の変異(2例が(P1129L)、1例が(P185fs)、ex12(N598S)、1例がP293R、1例がR725W、P672L)を認めた。1例ではvariant型の責任遺伝子*KLF1*の変異(E325K)を認めた。型と診断された症例では骨髄において型に特徴的とされる核間架橋が確認された。既知の責任遺伝子変異が認められなかった症例について、次世代シーケンスによるターゲットシーケンスを行った。

エクソーム・シーケンスによる新規責任遺伝子の探索では、12例中4例で溶血性貧血の原因遺伝子の変異を確認した。2例が*SPTA1*の変異(R28H)、(Y2280C)、(W2172X)であり、1例が*G6PDD*の変異(V424L)であり、1例が*ANK1*の変異(R935X)であった。

e. DKC

DKCは、約1/3の症例では責任遺伝子変異が同定されていない。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。

f. SDS

計47例の患者が同定され、発症数は2.7例/年であった。男女比は2.2:1であった。最も多い変異は183-184TA>CT/258+2T>C変異が73%を占め、次に258+2T>C/258+2T>C変異が6.6%であった。初診時の臨床所見はさまざまであり、血球減少、体重増加不良、脂肪便、肝機能障害、低身長、骨格異常などである。水外分泌不全あるいは画像での膵臓の異常はほとんどの患者で認められた。好中球減少は初診時に約1/3の患者でしか認められなかったが、経過中では89%の患者で認められた。その他の血球異常は、貧血、血小板減少、汎血球減少症がそれぞれ64%、69%、40%で認められた。3例(6%)の患者では白血病に進展した。うち2例は18歳以上で白血病を発症していた。

g. CTP

CTPを疑う28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、22例の症例で確定診断が得られた。MYH9異常症は16例(57.1%)と最も高頻度に診断された。その他は、*TUBB1*異常症1例、2B型 von Willebrand病1例、Paris-Trousseau Jacobsen症候群1例、*GFI1B*異常症2例であった。

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。実際、MYH9異常症のうち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局在分類により確定診断された。

4) ガイドラインの作成

本研究班で得られたデータをもとに、日本小児血液・がん学会の再生不良性貧血・MDS委員会と連携を取りながら診断基準、重症度分類および診療ガイドラインの小改訂を行い、「2017年度版診療ガイドライン」を作成した。日本小児血液・がん学会の認証を受けた後、同学会の編集書籍として、平成29年10月に診断と治療社より出版した。さらに、平成29年度は悪性腫瘍の合併を考慮した重症度分類の改訂を行った。平成30年度は、本研究班で得られたデータをもとに、診断基準および診断・治療ガイドラインの小改訂を行った。

D. 考察

日本小児血液・がん学会疾患登録事業は2006年

に開始され、会員施設において診断された全ての血液疾患を対象にした全数把握疫学研究事業である。また、同学会形態中央診断事業（2017年で終了）は、診断困難な小児期の造血不全を対象にして、高い精度で新規症例が診断されている。12年間の診断症例数は1,186例であった。研究期間の3年間で先天性造血不全症は最多疾患の特発性再生不良性貧血は年間40-50症例であり、新規治療法や診断方法開発を目指した臨床試験が実施できる症例数規模である。一方、12年間で10例未満の稀少疾患では、各症例の詳細な臨床情報と遺伝情報の検討を重ねて、新規診断アルゴリズムの開発、病態解明の研究が企画されるべきであろう。また、この疫学データベースが日本小児血液・がん学会会員施設を対象にしていることから、新生児期に診断される先天性血液疾患（溶血性疾患、血小板異常症、好中球異常症など）が登録されていない可能性があり、悉皆性を求めて改善すべき問題点である。

我が国のDBAは、本研究事業により原因遺伝子も含め次第にその実態が明らかになってきた。しかし、まだ約40%が原因遺伝子不明であり、長期予後については、全体像が明らかではない。長期予後を含めた精度の高いデータベースの構築が必要であるが、難病プラットフォームの利用により、広く利用可能なデータベース構築が可能と思われる。

がん抑制遺伝子*TP53*の活性化変異が原因で起こる「新たな先天性骨髄不全症」により、“*TP53*の遺伝子産物p53の活性化がDBAなどの骨髄不全症を引き起こす”という従来の仮説を直接的に証明した。先天性骨髄不全症の新規治療法やがんの予防法の開発に結びつく可能性がある。

DBA患者における赤血球アデノシンデアミナーゼ（eADA）活性の測定は1983年のGladerらによる最初の報告以来、DBA診断における有用なバイオマーカーとして利用されており、米国DBAレジストリグループによって取りまとめられた最近のDBA診断基準においてもeADAの活性の上昇がSupporting criteriaとして採用されている。我々は、日本人DBA症例におけるeADA活性の測定を実施してきたが、海外の報告例と同様に臨床症状、血液・骨髄所見およびRP遺伝子変異解析によってDBAと診断されたにも関わらず、ADAが有意な上昇を認めない患者が全体の約20%存在していた。

一方、DBAの病因はリボゾームサブユニット蛋白（RP）遺伝子変異で起こることが明らかになっており、RPS19遺伝子変異の同定以来、すでに19

種類のリボゾーム遺伝子の変異が同定されているが、RP遺伝子変異が認められるのはDBA症例の60%にすぎず、また多数のRPサブユニット遺伝子を同時に解析することの労力と時間を要する点から、eADAを補完する新たなバイオマーカーの同定が望まれていた。

我々は、日本人DBA症例22例とその家族15例を対照にした研究で、赤血球内の最も重要な抗酸化物質である還元型グルタチオン（GSH）がDBA患者の多くで上昇していることを見出し、eADAとGSHの同時測定結果を用いてSVM法による判別式により、DBA家系内の罹患者と保因者および正常対象の判別が可能であることを明らかにした。

その後、この判別式の性能を検証するため、さらに21症例のRP遺伝子変異が同定されたDBA患者を対象とした解析を実施したところ、eADA単独では12例（57.1%）、GSH単独では13例（61.9%）、SVM法による判別式では17例（81.0%）がDBAと診断できることが明らかになった。当初、SVM法による判別式では、RP遺伝子変異が同定された全例をDBA、家系内非罹患者を非DBAと判別できたが、今回の検討ではeADA、GSH単独測定よりは感度が高いものの、判別性能は100%に至らなかった。

SVM法による判別式で非DBAとなった4症例のうち、3症例は輸血依存状態で検体採取前1ヶ月以内に赤血球輸血を受けていることから、輸血によってeADA/GSHが真の値より低下していたことが原因と考えられた。1例はRPL35a変異例であるが、1歳未満ではなく網赤血球低下を認めていないこと、さらに同じ変異を有する母にはDBAの表現型を認められないことからDBAでは無い可能性が考えられた。

遺伝性骨髄不全症候群の原因遺伝子の同定はしばしば困難であるが、FAの117例中113例（97%）で原因遺伝子を同定できたことは、我が国のFA患者の疫学、病態解明の点で、特筆に値する。欧米のRockefeller University Fanconi Anemia Mutation Databaseでは*FANCA* 57%、*FANCC* 15%、*FANCG* 11%と*FANCC*の頻度の差が浮き彫りになり、その他にもVACTERL-Hの頻度の差、アルデヒド代謝酵素遺伝子型の違いによる臨床病態の違いなども明らかとなり、貴重なデータと考えられた。

FA患者の診断は、臨床所見と血液リンパ球におけるDEBないしMMC刺激後の染色体脆弱性試験陽性でもって行われる。さらに、MMC刺激下の細

胞周期のG2での停止、FANCD2蛋白質のモノユビキチン化の消失（コア複合体成分の変異やFANCI変異ではこの所見が観察される）、PALB2（FANCN）、BRCA2（FANCD1）、RAD51C（FANCO）変異でのRAD51フォーカスの低下なども参考所見として有用である。しかし、原因遺伝子の変異を確定させる分子診断は、患者の原因遺伝子ごとのサブタイプの違いを観察するという研究的な意味のみならず、臨床診断の信頼性をあげるという意味でも有用性があると考えられる。

しかし、FAの原因遺伝子はしばしば巨大で、しかも変異の種類が膨大なため、分子診断は困難を極めてきた。この状況を打破する決定打が次世代シーケンサーを使用したエクソーム解析、ターゲットエクソーム解析である。さらに、それでも発生するとりこぼし（スプライスサイト変異や欠失変異が見逃されやすい）に対して、RNA-seqやアレイCGHなどが有用である。このような手段を駆使して、この研究班では100例を越える日本人FA患者の分子診断結果を蓄積し、日本人におけるファンconi貧血患者の変異スペクトラムを明らかにした。いまだかつて、これだけの規模の日本人FA患者の分子診断（タイプ分類）の結果がまとめられたことはない。これらの知見は、今後のFA患者の臨床的マネジメントや分子診断を効率よく施行する上での基礎データになるものである。合わせて、東北メガバンクのデータベースによって、日本人におけるFA遺伝子異常の頻度も算定し、~2.6%と算定された。今後、一般の日本人集団での変異頻度のデータの蓄積によって、家族性乳がん卵巣がんなど、さまざまな病態との関連性などが浮かび上がってくる可能性がある。インドでは全く違うスペクトルのFA遺伝子変異が高頻度に認められている。エスニック集団の過去の歴史がこれらの頻度に反映すると考えられ、さらに多数の疾患患者と健常人のデータが揃うことで、FAのみならず、さまざまな遺伝病のリスクなどについても、より確実な遺伝カウンセリングなどが可能となる時代が近づいていると思われる。

FAの治療として同種造血細胞移植が行われ、2000年以降はフルダラビンが使用可能となり、少線量の放射線照射や抗胸腺細胞グロブリンや少量のシクロフォスファミドを組み合わせた前処置により、代替ドナー移植の成績も飛躍的に向上した。しかしながら、移植後の長期生存例が増えるに従い、固形がんの発症が増加した。固形がんの多く

が成人後に発症することから、定期的なフォローアップとともに口腔内の変化や嚥下時の自覚症状など自分の体調に注意し、管理するヘルスリテラシーを身につけるよう指導すべきと考えられる。また、固形がんの発症臓器はさまざま、対応する診療科も口腔外科、耳鼻科、消化器内科・外科など多診療科の協力が必要であり、患者の経済的負担を軽減するための方策も必要と考えられる。

本邦における鉄芽球性貧血に関する全国調査の結果、遺伝性鉄芽球性貧血症例は計29例登録され、うち69%と大多数はALAS2の異常を認めた。ALAS2変異に伴う遺伝性鉄芽球性症例は、男児発症、小球性貧血、鉄過剰症を特徴とするが、調査研究の結果、女性の大球性鉄芽球性貧血の一部ではALAS2のHeterozygous変異が病因となりうることが示唆された（Fujiwara et al. Ann Hematol. 2017）。骨髓異形成症候群に伴う鉄芽球性貧血でも大球性鉄芽球性貧血を呈するため、女性において大球性鉄芽球性貧血を認め、さらに造血細胞の異形成に乏しい場合は本症を念頭に置くことも重要である。本研究結果が今後の診療ガイドラインの改訂に寄与しうるかもしれない。

次世代シーケンサーによる解析で、臨床的にCDAと診断された症例から、溶血性貧血の原因遺伝子の変異を複数例に認めた。また、DKCと診断された症例にSDSであることが判明した症例が認められた。この事実は、他の遺伝性血液疾患とCDA・DKCの鑑別診断は困難であることを示唆し、これらの疾患における遺伝子診断の重要性が再確認された。

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サーによって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TEPI遺伝子変異の機能

解析を行っている。

SDSは欧米では先天性骨髄不全症の中ではFanconi貧血、Diamond-Blackfan貧血に次に多いとされているが、我が国における頻度は低いとされていた。しかしながら、本研究によって我が国においてもSDSは少なからず存在することが明らかとなった。また、臨床像、SBDS遺伝子変異のタイプは既報と同様であった。成人期になってAMLに移行する例があり、継続的なフォローアップが必要と考えられた。

先天性骨髄不全症7疾患の診療ガイドラインの改訂版について、日本小児血液・がん学会編集の書籍として出版した。先天性骨髄不全症の学会認定のガイドラインはこれまでなく、専門医だけでなく一般小児科医の啓蒙活動にも大きく役立つことが期待される。

E . 結論

正確な診断に基づいた新規症例の把握と検体収集を行い、先天性骨髄不全のより精度の高い疾患データベースの構築を推進した。遺伝性骨髄不全の診断は必ずしも容易ではなく、中央診断、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。

DBA近縁疾患の中に、がん抑制遺伝子*TP53*の活性化変異が原因で起こる「新たな先天性骨髄不全症」を発見した。また、DBAの新規原因遺伝子*RPS15A*を発見し、DBAの研究に大きく貢献した。

我が国最多の日本人FA患者の遺伝子解析を行い、ほとんど全ての症例の責任遺伝子を明らかにすることで、臨床病態の解明や効率的な診断方法の提案に結びつけることができ、ガイドライン作成上も極めて有用であった。

次世代シーケンスによる解析で、臨床的にCDAと診断された症例から、溶血性貧血の原因遺伝子の変異を複数例に認めた。また、DKCと診断された症例に、SDSであることが判明した症例が認められた。この事実は、他の遺伝性血液疾患とCDA・DKCの鑑別診断は困難であることを示唆し、これらの疾患における遺伝子診断の重要性が再確認された。

小児期造血障害疾患の病態解明、診断法や治療開発には疾患遺伝子情報や詳細な臨床情報に加えて、追跡情報の収集(二次調査・追跡調査)が必須であり、それを目的にしたデータベース構築による系統的な解析が必要である。

研究班で得られたデータをもとに、診断基準および診断・治療ガイドラインの作成及び小改訂を行った。診療ガイドラインに基づいて、広く臨床医が先天性骨髄不全症を認知することによって、さらに多くの患者が同定され、早期治療介入によって予後の改善につながる可能性が示唆される。

F . 健康危険情報

該当なし

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mori M, Hira A, Yoshida K, Muramatsu H, Okuno Y, Shiraiishi Y, Anmae M, Yasuda J, Tadaka S, Kinoshita K, Osumi T, Noguchi Y, Adachi S, Kobayashi R, Kawabata H, Imai K, Morio T, Tamura K, Takaori-Kondo A, Yamamoto M, Miyano S, Kojima S, Ito E, Ogawa S, Matsuo K, Yabe H, Yabe M, Takata M. Pathogenic mutations identified by a multimodality approach in 117 Japanese Fanconi anemia patients. **Haematologica** 2019. [Epub ahead of print]. doi: 10.3324/haematol.2018.207241.
- 2) Saito K, Fujiwara T, Hatta S, Morita M, Ono K, Suzuki C, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Kawamata S, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. Generation and molecular characterization of human ring sideroblasts: A key role of ferrous iron in erythroid differentiation and ring sideroblast formation. **Mol Cell Biol**. 2019. (in press)
- 3) Takaoka K, Kawazu M, Koya J, Yoshimi A, Masamoto Y, Maki H, Toya T, Kobayashi T, Nannya Y, Arai S, Ueno H, Suzuki K, Harada H, Manabe A, Hayashi Y, Mano H, Kurokawa M. A germline HLTF mutation in familial MDS induces DNA damage accumulation through impaired PCNA polyubiquitination. **Leukemia** 2019. (in press)
- 4) Okamoto Y, Abe M, Itaya A, Tomida J, Ishiai M, Takaori-Kondo A, Taoka M, Isobe T, and Takata M. FANCD2 protects genome stability by recruiting RNA processing enzymes to resolve R-loops during mild

- replication stress. **FEBS J.** 2019. (in press)
- 5) Ninomiya K, Hata T, Yoshioka H, Ohashi, K, Bessho A, Hosokawa S, Ishikawa N, Yamasaki M, Shibayama T, Aoe K, Kozuki T, Harita S, Ueda Y, Murakami T, Nobukazu F, Yanai H, Toyooka S, Takata M, Hotta K, Kiura K. A prospective cohort study to define the clinical features and outcome of lung cancers harboring HER2 aberration (HER2-CS STUDY) in Japan". **Chest** 2019. (in press)
 - 6) 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)
 - 7) 西村聡、平林真介、山本俊亮、相賀咲央莉、西谷美佐、細谷要介、森慎一郎、長谷川大輔、真部淳 .Diamond-Blackfan貧血に対する強度減弱前処置を用いた骨髓移植 . **小児血液・がん学会雑誌** 2019. (in press)
 - 8) 平林真介 , 鈴木美慧 , 真部淳 . TP53変異と造血器腫瘍 . **臨床血液** 2019. (in press)
 - 9) Nakagawa R, Onishi Y, Kawajiri A, Onodera K, Furukawa E, Sano S, Saito K, Ichikawa S, Fujiwara T, Fukuhara N, Harigae H. Preemptive therapy for cytomegalovirus reactivation after daratumumab-containing treatment in patients with relapsed and refractory multiple myeloma. **Ann Hematol.** 2019. (in press)
 - 10) Usami I, Imamura T, Takahashi Y, Suenobu SI, Hasegawa D, Hashii Y, Deguchi T, Hori T, Shimada A, Kato K, Ito E, Moriya-Saito A, Kawasaki H, Hori H, Yumura-Yagi K, Hara J, Sato A, Horibe K; Japan Association of Childhood Leukemia Study Group (JACLS). Discontinuation of L-asparaginase and poor response to prednisolone are associated with poor outcome of ETV6-RUNX1-positive pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia. **Int J Hematol.** 2019;109(4):477-482. doi: 10.1007/s12185-019-02599-w.
 - 11) Kudo K, Tanaka T, Kobayashi A, Terui K, Ito E. Zoledronic acid for relapsed Langerhans cell histiocytosis with isolated skull bone lesion. **Pediatr Int.** 2019;61(3):315-317. doi: 10.1111/ped.13774.
 - 12) Yabe M, Koike T, Ohtsubo K, Imai E, Morimoto T, Takakura H, Koh K, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S, Matsuo K, Mori M, Hira A, Takata M, Yabe H. Associations of complementation group, ALDH2 genotype, and clonal abnormalities with hematological outcome in Japanese patients with Fanconi anemia. **Ann Hematol.** 2019;98(2):271-280. doi: 10.1007/s00277-018-3517-0.
 - 13) Yagi H, Kageyama K, Kinoshita N, Niioka K, Yamagata S, Ito E, Daimon M. Relaxin-3 regulates corticotropin-releasing factor gene expression in cultured rat hypothalamic 4B cells. **Neurosci Lett.** 2019;692:137-142. doi: 10.1016/j.neulet.2018.11.009.
 - 14) Ochi T, Onishi Y, Nasu K, Onodera K, Kobayashi M, Ichikawa S, Fujiwara T, Fukuhara N, Yamada-Fujiwara M, Harigae H. Umbilical Cord Blood Transplantation Using Reduced-intensity Conditioning without Antithymocyte Globulin in Adult Patients with Severe Aplastic Anemia. **Biol Blood Marrow Transplant.** 2019;25:e55-e59.
 - 15) Fujiwara T, Harigae H. Molecular pathophysiology and genetic mutations in congenital sideroblastic anemia. **Free Radic Biol Med.** 2019;133:179-185.
 - 16) Ono R, Watanabe T, Kawakami E, Iwasaki M, Tomizawa-Murasawa M, Matsuda M, Najima Y, Takagi S, Fujiki S, Sato R, Mochizuki Y, Yoshida H, Sato K, Yabe H, Kato S, Saito Y, Taniguchi S, Shultz LD, Ohara O, Amagai M, Koseki H, Ishikawa F. Co-activation of macrophages and T cells contribute to chronic GVHD in human IL-6 transgenic humanised mouse model. **EBioMedicine** 2019 Mar;41:584-596. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.02.001. Epub 2019 Feb 13.
 - 17) Miyamura K, Yamashita T, Atsuta Y, Ichinohe T, Kato K, Uchida N, Fukuda T,

- Ohashi K, Ogawa H, Eto T, Inoue M, Takahashi S, Mori T, Kanamori H, Yabe H, Hama A, Okamoto S, Inamoto Y. High probability of follow-up termination among AYA survivors after allogeneic hematopoietic cell transplantation. **Blood Adv.** 2019 Feb 12;3(3):397-405. doi: 10.1182/bloodadvances.2018026039.
- 18) Hirabayashi S, Seki M, Hasegawa D, Kato M, Hyakuna N, Shuo T, Kimura S, Yoshida K, Kataoka K, Fujii Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Kiyokawa N, Miyano S, Ogawa S, Takita J, Manabe A. Constitutional abnormalities of IDH1 combined with secondary mutations predispose a patient with Maffucci syndrome to acute lymphoblastic leukemia. **Pediatr Blood Cancer.** 2019;64(12):e27612. Epub 2019 Jan 21.
- 19) Hayano S, Okuno Y, Tsutsumi M, Inagaki H, Fukasawa Y, Kurahashi H, U, Takahashi Y, Kato T. Frequent intragenic microdeletions of elastin in familial supraaortic stenosis. **Int J Cardiol.** 2019 Jan 1;274:290-295. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.09.032.
- 20) Taylor M, Khan S, Stapleton M, Wang J, Chen J, Wynn R, Yabe H, Chinen Y, Boelens JJ, Mason RW, Kubaski F, Horovitz DDG, Barth AL, Serafini M, Bernardo ME, Kobayashi H, Orii KE, Suzuki Y, Orii T, Tomatsu S. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Mucopolysaccharidoses: Past, Present, and Future. **Biol Blood Marrow Transplant.** 2019 Feb 14. pii: S1083-8791(19)30137-5. doi: 10.1016/j.bbmt.2019.02.012. [Epub ahead of print] Review.
- 21) Yamazaki N, Kosuga M, Kida K, Takei G, Fukuhara Y, Matsumoto H, Senda M, Honda A, Ishiguro A, Koike T, Yabe H, Okuyama T. Early enzyme replacement therapy enables a successful hematopoietic stem cell transplantation in mucopolysaccharidosis type IH: Divergent clinical outcomes in two Japanese siblings. **Brain Dev.** 2019 Feb 9. pii: S0387-7604(18)30541-2. doi: 10.1016/j.braindev.2019.01.008. [Epub ahead of print]
- 22) Okamoto Y, Kudo K, Tabuchi K, Tomizawa D, Taga T, Goto H, Yabe H, Nakazawa Y, Koh K, Ikegame K, Yoshida N, Uchida N, Watanabe K, Koga Y, Inoue M, Kato K, Atsuta Y, Ishida H. Hematopoietic stem-cell transplantation in children with refractory acute myeloid leukemia. **Bone Marrow Transplant.** 2019 Feb 4. doi: 10.1038/s41409-019-0461-0. [Epub ahead of print]
- 23) Kawashima N, Iida M, Suzuki R, Fukuda T, Atsuta Y, Hashii Y, Inoue M, Kobayashi M, Yabe H, Okada K, Adachi S, Yuza Y, Kawa K, Kato K. Prophylaxis and treatment with mycophenolate mofetil in children with graft-versus-host disease undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a nationwide survey in Japan. **Int J Hematol.** 2019 Jan 29. doi: 10.1007/s12185-019-02601-5. [Epub ahead of print]
- 24) Kanegane H. Inflammatory bowel diseases and primary immunodeficiency diseases. **Immunol Med.** 2019 Jan;11:1-8. doi: 10.1080/25785826.2018.1556025. [Epub ahead of print]
- 25) Uemura S, Mori T, Nagano C, Takafuji S, Nishimura N, Toki T, Terui K, Ito E, Iijima K. Effective response to azacitidine in a child with a second relapse of myeloid leukemia associated with Down syndrome after bone marrow transplantation. **Pediatr Blood Cancer.** 2018:e27414. doi: 10.1002/pbc.27414.
- 26) Kudo K, Ueno H, Sato T, Kubo K, Kanazaki R, Kobayashi A, Kamio T, Sasaki S, Terui K, Kurose A, Yoshida K, Shiozawa Y, Toki T, Ogawa S, Ito E. Two siblings with familial neuroblastoma with distinct clinical phenotypes harboring an ALK germline mutation. **Genes Chromosomes Cancer.** 2018;57(12):665-669. doi: 10.1002/gcc.22676.
- 27) Toki T, Yoshida K, Wang R, Nakamura S, Maekawa T, Goi K, Katoh MC, Mizuno S, Sugiyama F, Kanazaki R, Uechi T,

- Nakajima Y, Sato Y, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Shiozawa Y, Kataoka K, Shiraiishi Y, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Sato T, Kamio T, Sakaguchi H, Ohga S, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Ohara A, Kanno H, Miyano S, Kojima S, Ishiguro A, Sugita K, Kenmochi N, Takahashi S, Eto K, Ogawa S, Ito E. De Novo Mutations Activating Germline TP53 in an Inherited Bone-Marrow-Failure Syndrome. **Am J Hum Genet.** 2018;103(3):440-447. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.07.020.
- 28) Tsujimoto S, Osumi T, Uchiyama M, Shirai R, Moriyama T, Nishii R, Yamada Y, Kudo K, Sekiguchi M, Arakawa Y, Yoshida M, Uchiyama T, Terui K, Ito S, Koh K, Takita J, Ito E, Tomizawa D, Manabe A, Kiyokawa N, Yang JJ, Kato M. Diploidy analysis of NUDT15 variants and 6-mercaptopurine sensitivity in pediatric lymphoid neoplasms. **Leukemia.** 2018;32(12):2710-2714. doi: 10.1038/s41375-018-0190-1.
- 29) Sonoda M, Ishimura M, Ichimiya Y, Terashi E, Eguchi K, Sakai Y, Takada H, Hama A, Kanno H, Toki T, Ito E, Ohga S. Atypical erythroblastosis in a patient with Diamond-Blackfan anemia who developed del(20q) myelodysplasia. **Int J Hematol.** 2018;108(2):236. doi: 10.1007/s12185-018-2424-4.
- 30) Kuwahara K, Kudo K, Yashima-Abo A, Katayama K, Kojima K, Tone K, Ito E, Nakazawa A, Iwafuchi H, Kurose A. Classic Hodgkin lymphoma with osseous involvement mimicking Langerhans cell histiocytosis in a child. **Hum Pathol.** 2018;77:147-151. doi: 10.1016/j.humpath.2017.12.016.
- 31) Kato H, Itoh-Nakadai A, Matsumoto M, Ishii Y, Watanabe-Matsui M, Ikeda M, Ebina-Shibuya R, Sato Y, Kobayashi M, Nishizawa H, Suzuki K, Muto A, Fujiwara T, Nannya Y, Cazzola M, Ogawa S, Harigae H, Igarashi K. Infection perturbs Bach2- and Bach1-dependent erythroid lineage choice to cause anemia. **Nat Immunol.** 2018;19:1059-1070.
- 32) Ishida H, Imamura T, Morimoto A, Fujiwara T, Harigae H. Five-aminolevulinic acid: New Approach for Congenital Sideroblastic Anemia. **Pediatr Int.** 2018;60:496-497.
- 33) Kawakami T, Nakazawa H, Kawakami F, Matsuzawa S, Sudo Y, Sakai H, Nishina S, Sendo N, Sendo Y, Komatsu M, Umemura T, Yamaguti T, Kosho T, Fujiwara T, Harigae H, Ishida F. Successful treatment with vitamin B6 for X-linked sideroblastic anemia with ALAS2 R452H mutation. **Rinsho Ketsueki** 2018;59:401-406.
- 34) Hatta S, Fujiwara T, Yamamoto T, Saito K, Kamata M, Tamai Y, Kawamata S, Harigae H. A defined culture method enabling the establishment of ring sideroblasts from induced pluripotent cells of X-linked sideroblastic anemia. **Haematologica** 2018;103:e188-e191.
- 35) Ohashi K, Fujiwara T, Onodera K, Saito Y, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H. Establishment of a screening system to identify novel GATA-2 transcriptional regulators. **Tohoku J Exp Med.** 2018;244:41-52.
- 36) Umeda K, Yabe H, Kato K, Imai K, Kobayashi M, Takahashi Y, Yoshida N, Sato M, Sasahara Y, Kato K, Adachi S, Koga Y, Okada K, Inoue M, Hashii Y, Atsuta Y, Morio T; Inherited Disease Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Impact of low-dose irradiation and in vivo T-cell depletion on hematopoietic stem cell transplantation for non-malignant diseases using fludarabine-based reduced-intensity conditioning. **Bone Marrow Transplant.** 2018 Dec 7. doi: 10.1038/s41409-018-0418-8. [Epub ahead of print]
- 37) Yakushijin K, Ikezoe T, Ohwada C, Kudo K, Okamura H, Goto H, Yabe H, Yasumoto A, Kuwabara H, Fujii S, Kagawa K, Ogata M, Onishi Y, Kohno A, Watamoto K, Uoshima N, Nakamura D, Ota S, Ueda Y, Oyake T, Koike K, Mizuno I, Iida H, Katayama Y, Ago H, Kato K, Okamura A, Kikuta A,

- Fukuda T. Clinical effects of recombinant thrombomodulin and defibrotide on sinusoidal obstruction syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Bone Marrow Transplant.** 2018 Aug 20. doi: 10.1038/s41409-018-0304-4. [Epub ahead of print]
- 38) Inamoto Y, Matsuda T, Tabuchi K, Kurosawa S, Nakasone H, Nishimori H, Yamasaki S, Doki N, Iwato K, Mori T, Takahashi S, Yabe H, Kohno A, Nakamae H, Sakura T, Hashimoto H, Sugita J, Ago H, Fukuda T, Ichinohe T, Atsuta Y, Yamashita T; Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation Late Effects and Quality of Life Working Group. Outcomes of patients who developed subsequent solid cancer after hematopoietic cell transplantation. **Blood Adv.** 2018 Aug 14;2(15):1901-1913. doi: 10.1182/bloodadvances.2018020966.
- 39) Nakasone H, Tabuchi K, Uchida N, Ohno Y, Matsushashi Y, Takahashi S, Onishi Y, Onizuka M, Kobayashi H, Fukuda T, Ichinohe T, Takanashi M, Kato K, Atsuta Y, Yabe H, Kanda Y. Which is more important for the selection of cord blood units for haematopoietic cell transplantation: the number of CD34-positive cells or total nucleated cells? **Br J Haematol.** 2018 May 29. doi: 10.1111/bjh.15418. [Epub ahead of print]
- 40) Hamada M, Doisaki S, Okuno Y, Muramatsu H, Hama A, Kawashima N, Narita A, Nishio N, Yoshida K, Kanno H, Manabe A, Taga T, Takahashi Y, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Whole-exome analysis to detect congenital hemolytic anemia mimicking congenital dyserythropoietic anemia. **Int J Hematol.** 2018;108(3):306-311.
- 41) 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.** 2018 Dec 20. pii: jmedgenet-2018-105487. doi: 10.1136/jmedgenet-2018-105487. [Epub ahead of print]
- 42) Takeichi T, Okuno Y, Kawamoto A, Inoue T, Nagamoto E, Murase C, Shimizu E, Tanaka K, Kageshita Y, Fukushima S, Kono M, Ishikawa J, Ihn H, Takahashi Y, Akiyama M. Reduction of stratum corneum ceramides in Neu-Laxova syndrome caused by phosphoglycerate dehydrogenase deficiency. **J Lipid Res.** 2018 Dec;59(12):2413-2420. doi: 10.1194/jlr.P087536.
- 43) Abe T, Ooka M, Kawasumi R, Miyata K, Takata M, Hirota K, Branzei D. Warsaw Breakage Syndrome DDX11 helicase acts jointly with RAD17 in the repair of bulky lesions and replication through abasic sites. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2018 Aug 14;115(33):8412-8417. doi: 10.1073/pnas.1803110115. Epub 2018 Jul 30.
- 44) Higgs MR, Sato K, Reynolds JJ, Begum S, Bayley R, Goula A, Vernet A, Paquin KL, Skalnik DG, Kobayashi W, Takata M, Howlett NG, Kurumizaka H, Kimura H, Stewart GS. Histone Methylation by SETD1A Protects Nascent DNA through the Nucleosome Chaperone Activity of FANCD2. **Mol Cell.** 2018;71(1):25-41.e6. doi: 10.1016/j.molcel.2018.05.018. PMID: 29937342.
- 45) Okamoto Y, Iwasaki WM, Kugou K, Takahashi KK, Oda A, Sato K, Kobayashi W, Kawai H, Sakasai R, Takaori-Kondo A, Yamamoto T, Kanemaki MT, Taoka M, Isobe T, Kurumizaka H, Innan H, Ohta K, Ishiai M, Takata M. Replication stress induces accumulation of FANCD2 at central region of large fragile genes. **Nucleic Acids Res.** 2018 Apr 6;46(6):2932-2944. doi: 10.1093/nar/gky058. PMID: 29394375.
- 46) 稲野将二郎, 佐藤浩一, 胡桃坂仁志, 高田穰. ファンコニ貧血の新規原因遺伝子 *RFWD3/FANCD2* の機能解析から明らかになった相同組換え反応制御機構. **生化学** 2018;90(3):371-380.
- 47) Minakawa S, Matsuzaki Y, Terui K, Kayaba H, Sawamura D. Tuberculous granuloma

- developed 9 years after bacillus Calmette-Guérin vaccination in a patient with immunodeficiency. **J Dermatol.** 2018; 45: e293-5. doi: 10.1111/1346-8138.14468.
- 48) Kaneko K, Kubota Y, Nomura K, Hayashimoto H, Chida T, Yoshino N, Wayama M, Ogasawara K, Nakamura Y, Tooyama I, and Furuyama K. Establishment of a cell model of X-linked sideroblastic anemia using genome editing. **Exp Hematol.** 2018;65:57-68.
- 49) Shimada A, Iijima-Yamashita Y, Tawa A, Tomizawa D, Yamada M, Norio S, Watanabe T, Taga T, Iwamoto S, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Koh K, Goto H, Kosaka Y, Saito AM, Kiyokawa N, Horibe K, Hara Y, Oki K, Hayashi Y, Tanaka S, Adachi S. Risk-stratified therapy for children with FLT3-ITD-positive acute myeloid leukemia: results from the JPLSG AML-05 study. **Int J Hematol.** 2018; 107: 586-595. doi: 10.1007/s12185-017-2395-x.
- 50) Yabushita T, Hiramoto N, Ono Y, Yoshioka S, Karakawa S, Kobayashi M, Ishikawa T. Adult-onset primary cyclic autoimmune neutropenia: a case report. **Transfusion** 2018;58:884-890.
- 51) Asano T, Okada S, Tsumura M, Yeh TW, Mitsui-Sekinaka K, Tsujita Y, Ichinose Y, Shimada A, Hashimoto K, Wada T, Imai K, Ohara O, Morio T, Nonoyama S, Kobayashi M. Enhanced AKT Phosphorylation of Circulating B Cells in Patients With Activated PI3K δ Syndrome. **Frontier in Immunology** 2018;9:568.
- 52) Zhang SY, Clark NE, Freije CA, Pauwels E, Taggart AJ, Okada S, Mandel H, Garcia P, Ciancanelli MJ, Biran A, Lafaille FG, Tsumura M, Cobat A, Luo J, Volpi S, Zimmer B, Sakata S, Dinis A, Ohara O, Garcia Reino EJ, Dobbs K, Hasek M, Holloway SP, McCammon K, Hussong SA, DeRosa N, Van Skike CE, Katolik A, Lorenzo L, Hyodo M, Faria E, Halwani R, Fukuhara R, Smith GA, Galvan V, Damha MJ, Al-Muhsen S, Itan Y, Boeke JD, Notarangelo LD, Studer L, Kobayashi M, Diogo L, Fairbrother WG, Abel L, Rosenberg BR, Hart PJ, Etzioni A, Casanova JL. Inborn Errors of RNA Lariat Metabolism in Humans with Brainstem Viral Infection. **Cell** 2018;172:952-965.
- 53) Leiding JW, Okada S, Hagin D, Abinun M, Shcherbina A, Balashov DN, Kim VHD, Ovidia A, Guthery SL, Pulsipher M, Lilic D, Devlin LA, Christie S, Depner M, Fuchs S, van Royen-Kerkhof A, Lindemans C, Petrovic A, Sullivan KE, Bunin N, Kilic SS, Arpaci F, Calle-Martin O, Martinez-Martinez L, Aldave JC, Kobayashi M, Ohkawa T, Imai K, Iguchi A, Roifman CM, Gennery AR, Slatter M, Ochs HD, Morio T, Torgerson TR; Inborn Errors Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation and the Primary Immune Deficiency Treatment Consortium. Hematopoietic stem cell transplantation in patients with gain-of-function signal transducer and activator of transcription 1 mutations. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2018;141:704-717.
- 54) Schwab C, Gabrysch A, Olbrich P, Patiño V, Warnatz K, Wolff D, Hoshino A, Kobayashi M, Imai K, Takagi M, Dybedal I, Haddock JA, Sansom DM, Lucena JM, Seidl M, Schmitt-Graeff A, Reiser V, Emmerich F, Frede N, Bulashevskaya A, Salzer U, Schubert D, Hayakawa S, Okada S, Kanariou M, Kucuk ZY, Chapdelaine H, Petruzalkova L, Sumnik Z, Sediva A, Slatter M, Arkwright PD, Cant A, Lorenz HM, Giese T, Lougaris V, Plebani A, Price C, Sullivan KE, Moutschen M, Litzman J, Freiburger T, van de Veerdonk FL, Recher M, Albert MH, Hauck F, Seneviratne S, Pachlopnik Schmid J, Kolios A, Unglik G, Klemann C, Speckmann C, Ehl S, Leichtner A, Blumberg R, Franke A, Snapper S, Zeissig S, Cunningham-Rundles C, Giulino-Roth L, Elemento O, Dücker G, Niehues T, Fronkova E, Kanderová V, Platt CD, Chou J, Chatila TA, Geha R, McDermott E, Bunn S, Kurzai M, Schulz A, Alsina L, Casals F, Deyà-Martinez A,

- Hambleton S, Kanegane H, Taskén K, Neth O, Grimbacher B. Phenotype, penetrance, and treatment of 133 cytotoxic T-lymphocyte antigen 4-insufficient subjects. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2018;142:1932-1946.
- 55) Mallick R, Jolles S, Kanegane H, Agbor-Tarh D, Rojavin M. Treatment Satisfaction with Subcutaneous Immunoglobulin Replacement Therapy in Patients with Primary Immunodeficiency: a Pooled Analysis of Six Hizentra® Studies. *J Clin Immunol*. 2018;38(8):886-897.
- 56) Tanaka-Kubota M, Shinozaki K, Miyamoto S, Yanagimachi M, Okano T, Mitsuiki N, Ueki M, Yamada M, Imai K, Takagi M, Agematsu K, Kanegane H, Morio T. Hematopoietic stem cell transplantation for pulmonary alveolar proteinosis associated with primary immunodeficiency disease. **Int J Hematol**. 2018;107(5):610-614.
- 57) Okano T, Tsujita Y, Kanegane H, Mitsui-Sekinaka K, Tanita K, Miyamoto S, Yeh TW, Yamashita M, Terada N, Ogura Y, Takagi M, Imai K, Nonoyama S, Morio T. Droplet Digital PCR-Based Chimerism Analysis for Primary Immunodeficiency Diseases. **J Clin Immunol**. 2018;38(3):300-306.
- 58) Morishima Y, Azuma F, Kashiwase K, Matsumoto K, Orihara T, Yabe H, Kato S, Kato K, Kai S, Mori T, Nakajima K, Morishima S, Satake M, Takanashi M, Yabe T; Japanese Cord Blood Transplantation Histocompatibility Research Group. Risk of HLA Homozygous Cord Blood Transplantation: Implications for Induced Pluripotent Stem Cell Banking and Transplantation. **Stem Cells Transl Med**. 2018 Feb;7(2):173-179. doi: 10.1002/sctm.17-0169. Epub 2017 Dec 23.
- 59) Horikoshi Y, Umeda K, Imai K, Yabe H, Sasahara Y, Watanabe K, Ozawa Y, Hashii Y, Kurosawa H, Nonoyama S, Morio T. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Leukocyte Adhesion Deficiency. **J Pediatr Hematol Oncol**. 2018 Jan 10. doi: 10.1097/MPH.0000000000001028. [Epub ahead of print]
- 60) Oshima K, Saiki N, Tanaka M, Imamura H, Niwa A, Tanimura A, Nagahashi A, Hirayama A, Okita K, Hotta A, Kitayama S, Osawa M, Kaneko S, Watanabe A, Asaka I, Fujibuchi W, Imai K, Yabe H, Kamachi Y, Hara J, Kojima S, Tomita M, Soga T, Noma T, Nonoyama S, Nakahata T, Saito MK. Human AK2 links intracellular bioenergetic redistribution to the fate of hematopoietic progenitors. **Biochem Biophys Res Commun**. 2018 Mar 4;497(2):719-725. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.02.139. Epub 2018 Feb 17.
- 61) Leiding JW, Okada S, Hagin D, Abinun M, Shcherbina A, Balashov DN, Kim VHD, Ovadia A, Guthery SL, Pulsipher M, Lilic D, Dvlin LA, Chritie S, Depner M, Fuchs S, van Royden-Kerkhof A, Lindemans C, Petrovic A, Sullivan KE, Bunin N, Kilic SS, Arpaci F, Calle-Martin O, Martinez-Martinez L, Alldave JC, Kobayashi M, Ohkawa T, Imai K, Iguchi A, Roifman CM, Genney AR, Slatter M, Ochs HD, Morio T, Torgerson TR, Inborn Errors Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation and the Primary Immune Deficiency Treatment Consortium. Hematopoietic stem cell transplantation in patients with gain-of-function signal transducer and activator of transcription 1 mutations. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2018;141:704-717. doi:10.1016/j.jaci.2017.03.049.
- 62) Matsuzaki Y, Rokunohe A, Minakawa S, Nomura K, Nakano H, Ito E, Sawamura D. Incontinentia pigmenti in a male (XY) infant with long-term follow up over 8 years. **J Dermatol**. 2018 Jan;45(1):100-103. doi: 10.1111/1346-8138.14002.
- 63) Ikawa Y, Nishimura R, Maeba H, Fujiki T, Kuroda R, Noguchi K, Fukuda M, Mase S, Araki R, Mitani Y, Sato T, Terui K, Ito E, Kitabayashi I, Yachie A. Deep spontaneous molecular remission in a patient with congenital acute myeloid leukemia expressing a novel MOZ-p300 fusion

- transcript. **Leuk Lymphoma**. 2018;1-3. doi: 10.1080/10428194.2018.1434885.
- 64) Sakamoto K, Imamura T, Kihira K, Suzuki K, Ishida H, Morita H, Kanno M, Mori T, Hiramatsu H, Matsubara K, Terui K, Takahashi Y, Suenobu SI, Hasegawa D, Kosaka Y, Kato K, Moriya-Saito A, Sato A, Kawasaki H, Yumura-Yagi K, Hara J, Hori H, Horibe K. Low Incidence of Osteonecrosis in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Treated with ALL-97 and ALL-02 Study of Japan Association of Childhood Leukemia Study Group. **J Clin Oncol**. 2018; 36: 900-7.
- 65) 照井君典. 貧血. 小児疾患の診断治療基準. 小児内科増刊号. 2018; 50: 70-1.
- 66) Furuyama K, and Kaneko K. Iron metabolism in erythroid cells and patients with congenital sideroblastic anemia. **Int J Hematol**. 2018;107:44-54.
- 67) Takahashi H, Kajiwara R, Kato M, Hasegawa D, Tomizawa D, Noguchi Y, Koike K, Toyama D, Yabe H, Kajiwara M, Fujimura J, Sotomatsu M, Ota S, Maeda M, Goto H, Kato Y, Mori T, Inukai T, Shimada H, Fukushima K, Ogawa C, Makimoto A, Fukushima T, Ohki K, Koh K, Kiyokawa N, Manabe A, Ohara A. Treatment outcome of children with acute lymphoblastic leukemia: the Tokyo Children's Cancer Study Group (TCCSG) Study L04-16. **Int J Hematol**. 2018 Jul;108(1):98-108. doi: 10.1007/s12185-018-2440-4. Epub 2018 Mar 27.
- 68) 今井枝里, 矢部普正. シドフォビル: 移植後ウイルス感染症. **小児内科**2018;50(10):1715-1718.
- 69) 小池隆志, 矢部普正. ライソゾーム病に対する造血幹細胞移植 ムコ多糖症に対する移植成績の現状と有効性の評価. **医学のあゆみ** 2018;264:779-784.
- 70) Ito E, Terui K, Toki T. Inherited bone marrow failure syndrome, TAM. In **Hematological Disorders in Children**. edited by Eiichi Ishii, Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2017, pp. 145-170.
- 71) Noguchi J, Kanno H, Chiba Y, Ito E, Ishiguro A. Discrimination of Diamond-Blackfan anemia from parvovirus B19 infection by RBC glutathione. **Pediatr Int**. 2017;59(7):838-840. doi:10.1111/ped.13284.
- 72) Ogasawara T, Kawauchi K, Mori N, Sakura H, Katoh F, Kanno H, Ito E. Successful long-term management with low-dose prednisolone in an adult patient with Diamond-Blackfan anemia. Successful long-term management with low-dose prednisolone in an adult patient with Diamond-Blackfan anemia. **Rinsho Ketsueki** 2017;58(8):917-921. doi:10.11406/rinketsu.58.917.
- 73) Miot C, Imai K, Imai C, Mancini AJ, Kucuk XY, Kawai T, Nishikomori R, Ito E, Pellier I, Girod SD, Rosain J, Sasaki S, Chandrakasan S, Schmid, JP, Okano T, Colin E, Olaya-Vargas A, Yamazaki-Nakashimada M, Qasim W, Padilla SE, Jones A, Krol A, Cole N, Jolles S, Blesing J, Vraetz T, Gennery AR, Abinun M, Güngör T, Carvalho BC, Condino-Neto A, Veys P, Holland SM, Uzel G, Moshous D, Neven B, Ehl S, Döffinger R, Patel SY, Puel A, Bustamante J, Gelfand EW, Casanova JL, Orange JS, and Picard C. Hematopoietic stem cell transplantation in 29 patients hemizygous for hypomorphic IKBKG/NEMO mutations. **Blood** 2017;130(12):1456-1467. doi:10.1182/blood-2017-03-771600.
- 74) Ichimura T, Yoshida K, Okuno Y, Yujiri T, Nagai K, Nishi M, Shiraishi Y, Ueno H, Toki T, Chiba K, Tanaka H, Muramatsu H, Hara T, Kanno H, Kojima S, Miyano S, Ito E, Ogawa S, Ohga S. Diagnostic challenge of Diamond-Blackfan anemia in mothers and children by whole-exome sequencing. **Int J Hematol**. 2017;105(4):515-520. doi:10.1007/s 12185-016-2151-7.
- 75) Ikeda F, Yoshida K, Toki T, Uechi T, Ishida S, Nakajima Y, Sasahara Y, Okuno Y, Kanezaki R, Terui K, Kamio T, Kobayashi A, Fujita T, Sato-Otsubo A, Shiraishi Y, Tanaka H, Chiba K, Muramatsu H, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Kenmochi N, Miyano S, Ogawa S, Ito E. Exome

- sequencing identified *RPS15A* as a novel causative gene for Diamond-Blackfan anemia. **Haematologica**. 2017;102(3):e93-e96. doi: 10.3324/haematol.2016.153932.
- 76) 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;19(7):796-802. doi: 10.1038/gim.2016.197.
- 77) Fujiwara T, Fukuhara N, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Onishi Y, Furuyama K, Harigae H. A novel heterozygous *ALAS2* mutation in a female with macrocytic sideroblastic anemia resembling myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts: A case report and literature review. **Ann Hematol**. 2017;96:1955-1957.
- 78) Saito K, Fujiwara T, Ota U, Hatta S, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizuka M, Tanaka T, Harigae H. Dynamics of absorption, metabolism, and excretion of 5-aminolevulinic acid in human intestinal Caco-2 cells. **Biochem Biophys Res Commun**. 2017;511:105-111.
- 79) Kubaski F, Yabe H, Suzuki Y, Seto T, Hamazaki T, Mason RW, Xie L, Onsten TGH, Leistner-Segal S, Giugliani R, D'Ung VC, Ngoc CTB, Yamaguchi S, Montaña AM, Orii KE, Fukao T, Shintaku H, Orii T, Tomatsu S. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Patients with Mucopolysaccharidosis II. **Biol Blood Marrow Transplant**. 2017 Oct;23(10):1795-1803. doi: 10.1016/j.bbmt.2017.06.020. Epub 2017 Jul 1.
- 80) Onishi Y, Mori T, Kako S, Koh H, Uchida N, Kondo T, Kobayashi T, Yabe H, Miyamoto T, Kato K, Suzuki R, Nakao S, Yamazaki H; Adult Aplastic Anemia Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Outcome of Second Transplantation Using Umbilical Cord Blood for Graft Failure after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Aplastic Anemia. **Biol Blood Marrow Transplant**. 2017 Aug 24. pii: S1083-8791(17)30655-9. doi: 10.1016/j.bbmt.2017.08.020. [Epub ahead of print]
- 81) Kanamitsu K, Shimada A, Nishiuchi R, Shigemura T, Nakazawa Y, Koike K, Kodama Y, Shinkoda Y, Kawano Y, Yasui K, Sasaki K, Kajiwarara R, Tsukahara H, Manabe A. Pediatric intestinal Behcet disease complicated by myeloid malignancies. **Int J Hematol**. 2017;105:377-382.
- 82) Narita A, Muramatsu H, Okuno Y, Sekiya Y, Suzuki K, Hamada M, Kataoka S, Ichikawa D, Taniguchi R, Murakami N, Kojima D, Nishikawa E, Kawashima N, Nishio N, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Development of clinical paroxysmal nocturnal haemoglobinuria in children with aplastic anaemia. **Br J Haematol**. 2017; 78(6):954-958. doi: 10.1111/bjh.14790.
- 83) Inano S, Sato K, Katsuki Y, Kobayashi W, Tanaka H, Nakajima K, Nakada S, Miyoshi H, Knies K, Takaori-Kondo A, Schindler D, Ishiai M, Kurumizaka H, Takata M. RFWF3-mediated ubiquitination promotes timely removal of both RPA and RAD51 from DNA damage sites to facilitate homologous recombination. **Mol Cell**. 2017;66(5):622-634.e8. doi:10.1016/j.molcel.2017.04.022. PMID: 28575658.
- 84) 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.
- 85) Matsuo H, Shiga S, Imai T, Kamikubo Y, Toki T, Terui K, Ito E, Adachi S. Purification of leukemic blast cells from blood smears using laser microdissection. **Int J Hematol**. 2017;106(1):55-59. doi:10.1007/s12185-017-2227-z.

- 86) Noujima-Harada M, Takata K, Miyata-Takata T, Sakurai H, Igarashi K, Ito E, Nagakita K, Taniguchi K, Ohnishi N, Omote S, Tabata T, Sato Y, Yoshino T. Frequent downregulation of BACH2 expression in Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma. **Cancer Sci**. 2017;108(5):1071-1079. doi:10.1111/cas.13213.
- 87) Kanehira M, Fujiwara T, Nakajima S, Okitsu Y, Onishi Y, Fukuhara N, Ichinohasama R, Harigae H. An LPA1/3 axis governs cellular senescence of mesenchymal stromal cells and promotes growth and vascularization of multiple myeloma. **Stem Cells**. 2017;35:739-753.
- 88) Kobayashi M, Kato H, Hada H, Itoh-Nakadai A, Fujiwara T, Inoguchi Y, Ichiyana K, Muto A, Tomosugi N, Sasaki H, Harigae H, Igarashi K. Iron-heme-Bach1 axis is involved in erythroblast adaptation to iron deficiency. **Haematologica** 2017;102:454-465.
- 89) Hasegawa S, Fujiwara T, Okitsu Y, Kato H, Sato Y, Fukuhara N, Onishi Y, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. Effects of in vivo deletion of GATA2 in bone marrow stromal cells. **Exp Hematol**. 2017;56:31-45.
- 90) Fujiwara T, Sasaki K, Saito K, Hatta S, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H. Forced FOG1 expression in erythroleukemia cells: induction of erythroid genes and repression of myelo-lymphoid transcription factor PU.1. **Biochem Biophys Res Commun**. 2017;485:380-387.
- 91) Inokura K, Fujiwara T, Saito K, Iino T, Hatta S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizawa K, Shimoda K, Harigae H. Impact of TET2 deficiency on iron metabolism in erythroblasts. **Exp Hematol**. 2017;49:56-67.
- 92) Stapleton M, Kubaski F, Mason RW, Yabe H, Suzuki Y, Orii KE, Orii T, Tomatsu S. Presentation and Treatments for Mucopolysaccharidosis Type II (MPS II; Hunter Syndrome). **Expert Opin Orphan Drugs**. 2017;5(4):295-307. doi: 10.1080/21678707.2017.1296761. Epub 2017 Mar 8. PMID: 29158997.
- 93) Sekinaka Y, Mitsuiki N, Imai K, Yabe M, Yabe H, Mitsui-Sekinaka K, Honma K, Takagi M, Arai A, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Muramatsu H, Kojima S, Hira A, Takata M, Ohara O, Ogawa S, Morio T, Nonoyama S. Common Variable Immunodeficiency Caused by FANC Mutations. **J Clin Immunol**. 2017 Jul;37(5):434-444. doi: 10.1007/s10875-017-0396-4. Epub 2017 May 11.
- 94) Hoenig M, Lagresle-Peyrou C, Pannicke U, Notarangelo LD, Porta F, Gennery AR, Slatte M, Cowan MJ, Stepensky P, Al-Mousa H, Al-Zahrani D, Pai SY, Al Herz W, Gaspar HB, Veys P, Oshima K, Imai K, Yabe H, Noroski LM, Wulfraat NM, Sykora KW, Soler-Palacin P, Muramatsu H, Al Hilali M, Moshous D, Debatin KM, Schuetz C, Jacobsen EM, Schulz AS, Schwarz K, Fischer A, Friedrich W, Cavazzana M. Reticular dysgenesis: international survey on clinical presentation, transplantation and outcome. **Blood** 2017 Mar 22. pii: blood-2016-11-745638. doi: 10.1182/blood-2016-11-745638. [Epub ahead of print]
- 95) Kadoda K, Moriwaki T, Tsuda M, Sasanuma H, Ishiai M, Takata M, Ide H, Masunaga SI, Takeda S, Tano K. Selective cytotoxicity of the anti-diabetic drug, metformin, in glucose-deprived chicken DT40 cells. **PLoS One**. 2017;12(9):e0185141. doi:10.1371/journal.pone.0185141. eCollection 2017.
- 96) Mochizuki AL, Katanaya A, Hayashi E, Hosokawa M, Moribe E, Motegi A, Ishiai M, Takata M, Kondoh G, Watanabe H, Nakatsuji N, Chuma S. PARI regulates stalled replication fork processing to maintain genome stability upon replication stress in mice. **Mol Cell Biol**. 2017;37(23). pii: e00117-17. doi:10.1128/MCB.00117-17.
- 97) Knies K, Inano S, Ramírez MJ, Ishiai M, Surallés J, Takata M, and Schindler D. Biallelic mutations in the ubiquitin ligase *RFWD3* cause Fanconi anemia. **Journal of**

- Clinical Investigation J Clin Invest.** 2017;127(8):3013-3027. doi: 10.1172/JCI92069. PMID: 28691929.
- 98) Ishiai M, Sato K, Tomida J, Kitao H, Kurumizaka H, Takata M. Mutation Research special section "Protein modifications in DNA repair and cancer" Activation of the FA pathway mediated by phosphorylation and ubiquitination. **Mutat Res.** 2017 May 5. pii: S0027-5107(17)30078-7. doi:10.1016/j.mrfmmm.2017.05.003.
- 99) Takata M. Mutation Research special section "Protein modifications in DNA repair and cancer" Editorial. **Mutat Res.** 2017;803-805.
- 100) 稲野将二郎, 佐藤浩一, 胡桃坂仁志, 高田穰. Fanconi貧血の新規の原因タンパク質 RFD3による相同組換えの制御. **ライフサイエンス 新着論文レビュー**. <http://first.lifesciencedb.jp/archives/16605>.
- 101) 石合正道, 高田穰. 2.18 放射線応答遺伝子の生物種間の保存・相関. **放射線医学の事典** 編集 宮川清, 監修 大西武雄.
- 102) 稲野将二郎, 高田穰. 新規Fanconi anemia 遺伝子RFD3/FANCWの発見と機能解明. **小児血液がん学会誌** 2017;54(5):287-293.
- 103) 矢部普正, 矢部みはる. 成人のFanconi貧血の特徴と管理. **日本臨床** 2017;75(suppl 1):418-421.
- 104) Nakayama H, Tomizawa D, Tanaka S, Iwamoto S, Shimada A, Saito AM, Yamashita Y, Moritake H, Terui K, Taga T, Matsuo H, Kosaka Y, Koh K, Hosoi H, Kurosawa H, Isoyama K, Horibe K, Mizutani S, Adachi S. Fludarabine, cytarabine, G-CSF and idarubicin for children with relapsed AML. **Pediatr Int.** 2017; 59: 1046-52.
- 105) Moritake H, Tanaka S, Nakayama H, Miyamura T, Iwamoto S, Shimada A, Terui K, Saito A, Shiba N, Hayashi Y, Tomizawa D, Taga T, Goto H, Hasegawa D, Horibe K, Mizutani S, Adachi S. Outcome of relapsed core binding factor acute myeloid leukemia in children: A result from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) AML-05R study. **Pediatr Blood Cancer.** 2017 Oct; 64 (10). doi: 10.1002/pbc.26491.
- 106) Kobayashi R, Mitsui T, Fujita N, Osumi T, Aoki T, Aoki K, Suzuki R, Fukuda T, Miyamoto T, Kato K, Nakamae H, Goto H, Eto T, Inoue M, Mori T, Terui K, Onizuka M, Koh K, Koga Y, Ichinohe T, Sawada A, Atsuta Y, Suzumiya J. Outcome differences between children and adolescents and young adults with non-Hodgkin lymphoma following stem cell transplantation. **Int J Hematol.** 2017; 105: 369-76.
- 107) Kaneko K, Ohba K, Hirose T, Totsune K, Furuyama K and Takahashi K. Expression of (Pro) renin Receptor During Rapamycin-Induced Erythropoiesis in K562 Erythroleukemia Cells and Its Possible Dual Actions on Erythropoiesis. **Tohoku J Exp Med.** 2017;241:35-43.
- 108) Onodera R, Kurita E, Taniguchi K, Karakawa S, Okada S, Kihara H, Fujii T, Kobayashi M. Anti-human neutrophil antigen-1a, -1b, -and -2 antibodies in neonates and children with immune neutropenia analyzed by extracted granulocyte antigen immunofluorescence assay. **Transfusion** 2017;57:2586-2594. doi: 10.1111/trf.14291.
- 109) Hayakawa S, Ohno N, Okada S, Kobayashi M. Significant augmentation of regulatory T cell numbers occurs during the early neonatal period. **Clin Exp Immunol.** 2017;190:268-279. doi:10.1111/cei.13008.
- 110) Kagawa R, Fujiki R, Tsumura M, Sakata S, Nishimura S, Itan Y, Kong XF, Kato Z, Ohnishi H, Hirata O, Saito S, Ikeda M, El Baghdadi J, Bousfiha A, Fujiwara K, Oleastro M, Yancoski J, Perez L, Danielian S, Ailal F, Takada H, Hara T, Pue; A, Boisson-Dupuis S, Bustamante J, Casanovva JL, Ohara O, Okada S, Kobayashi M. Alanine-scanning mutagenesis of human signal transducer and activator of transcription 1 to estimate loss- or gain-of-function variants. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2017;140:232-241.
- 111) Fujiki R, Hijikata A, Shirai T, Okada S,

- Kobayashi M, Ohara O. Molecular mechanism and structural basis of gain-of-function of STAT1 caused by pathogenic R274Q mutation. **Journal of Biological Chemistry** 2017;292:6240-6254.
- 112) Hoshino A, Okada S, Yoshida K, Nishida N, Okuno Y, Ueno H, Yamashita M, Okano T, Tsumura M, Nishimura S, Sakata S, Kobayashi M, Nakamura H, Kamizono J, Mitsui-Sekinaka K, Ichimura T, Ohga S, Nakazawa Y, Takagi M, Imai K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Nonoyama S, Morio T, Kanegane H. Abnormal hematopoiesis and autoimmunity in human subjects with germline IKZF1 mutations. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2017;140:223-231.
- 113) Yamasaki F, Takayasu T, Nosaka R, Nishibuchi I, Kawaguchi H, Kolakshyapati M M, Onishi S, Saito T, Sugiyama K, Kobayashi M, Kurisu K. Development of cystic malacia after high-dose cranial irradiation of pediatric CNS tumors in long-term follow-up. **Child's Nervous System** 2017;33:957-964.
- 114) 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.
- 115) 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.
- 116) Yabe M, Yabe H, Morimoto T, Fukumura A, Ohtsubo K, Koike T, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S, Matsuo K, Hira A, Takata M. The phenotype and clinical course of Japanese Fanconi Anaemia infants is influenced by patient, but not maternal ALDH2 genotype. **Br J Haematol.** 2016;175(3):457-461. doi: 10.1111/bjh.14243.
- 117) Utsugisawa T, Uchiyama T, Toki T, Ogura H, Aoki T, Hamaguchi I, Ishiguro A, Ohara A, Kojima S, Ohga S, Ito E, Kanno H. Erythrocyte glutathione is a novel biomarker of Diamond-Blackfan anemia. **Blood Cells Mol Dis.** 2016;59:31-6.
- 118) Ikeda F, Toki T, Kanazaki R, Terui K, Yoshida K, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Ogawa S, Ito E. ALDH2 polymorphism in patients with Diamond-Blackfan anemia in Japan. **Int J Hematol** 2016;103:112-4. doi: 10.1007/s12185-015-1891-0.
- 119) Shim YJ, Kim HS, Do YR, Ha JS, Yabe H. Sequential strategy for umbilical cord blood transplantation in a Korean Fanconi anemia girl with refractory acute myelomonocytic leukemia and complex karyotype. **Pediatr Transplant.** 2016 Dec 15. doi: 10.1111/petr.12871. [Epub ahead of print]
- 120) Yabe M, Yabe H, Morimoto T, Fukumura A, Ohtsubo K, Koike T, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S, Matsuo K, Hira A, Takata M. The phenotype and clinical course of Japanese Fanconi Anaemia infants is influenced by patient, but not maternal ALDH2 genotype. **Br J Haematol.** 2016 Nov;175(3):457-461. doi: 10.1111/bjh.14243.
- 121) Kondo A, Fujiwara T, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Sawada K, Harigae H. Identification of a novel putative mitochondrial protein FAM210B associated with erythroid differentiation. **Int J Hematol.** 2016;103:387-395.
- 122) Sakurai K, Fujiwara T, Hasegawa S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Yamada-Fujiwara M, Ichinohasama R, Harigae H. Inhibition of human primary

- megakaryocyte differentiation by anagrelide: A gene expression profiling analysis. **Int J Hematol.** 2016;104:190-199.
- 123) Imai J, Suzuki T, Yoshikawa M, Dekiden M, Nakae H, Nakahara F, Tsuda S, Mizukami H, Koike J, Igarashi M, Yabe H, Mine T. Fatal Hemorrhagic Gastrointestinal Angiectasia after Bone Marrow Transplantation for Dyskeratosis Congenita. **Intern Med.** 2016;55(23):3441-3444.
- 124) Yabe H. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for inherited diseases. **Rinsho Ketsueki** 2016;57(10):2199-2207.
- 125) Umeda K, Adachi S, Tanaka S, Miki M, Okada K, Hashii Y, Inoue M, Cho Y, Koh K, Goto H, Kajiwara R, Hyakuna N, Kato K, Morio T, Yabe H; Inherited Disease Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Comparison of second transplantation and donor lymphocyte infusion for donor mixed chimerism after allogeneic stem cell transplantation for nonmalignant diseases. **Pediatr Blood Cancer.** 2016 Dec;63(12):2221-2229. doi: 10.1002/pbc.26141.
- 126) Sakaguchi H, Watanabe N, Matsumoto K, Yabe H, Kato S, Ogawa A, Inagaki J, Goto H, Koh K, Yoshida N, Kato K, Cho Y, Kosaka Y, Takahashi Y, Inoue M, Kato K, Atsuta Y, Miyamura K; Donor/Source Working Group of Japan Society of Hematopoietic Cell Transplantation. Comparison of Donor Sources in Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Childhood Acute Leukemia: A Nationwide Retrospective Study. **Biol Blood Marrow Transplant.** 2016 Dec;22(12):2226-2234. doi: 10.1016/j.bbmt.2016.09.020.
- 127) Atsuta Y, Hirakawa A, Nakasone H, Kurosawa S, Oshima K, Sakai R, Ohashi K, Takahashi S, Mori T, Ozawa Y, Fukuda T, Kanamori H, Morishima Y, Kato K, Yabe H, Sakamaki H, Taniguchi S, Yamashita T; Late Effect and Quality of Life Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Late Mortality and Causes of Death among Long-Term Survivors after Allogeneic Stem Cell Transplantation. **Biol Blood Marrow Transplant.** 2016 Sep; 22(9): 1702-9. doi: 10.1016/j.bbmt.2016.05.019.
- 128) Yasuda E, Suzuki Y, Shimada T, Sawamoto K, Mackenzie WG, Theroux MC, Pizarro C, Xie L, Miller F, Rahman T, Kecskemethy HH, Nagao K, Morlet T, Shaffer TH, Chinen Y, Yabe H, Tanaka A, Shintaku H, Orii KE, Orii KO, Mason RW, Montaña AM, Fukao T, Orii T, Tomatsu S. Activity of daily living for Morquio A syndrome. **Mol Genet Metab.** 2016 Jun; 118(2): 111-22. doi: 10.1016/j.ymgme.2016.04.005.
- 129) Kato S, Yabe H, Takakura H, Mugishima H, Ishige M, Tanaka A, Kato K, Yoshida N, Adachi S, Sakai N, Hashii Y, Ohashi T, Sasahara Y, Suzuki Y, Tabuchi K. Hematopoietic stem cell transplantation for inborn errors of metabolism: A report from the Research Committee on Transplantation for Inborn Errors of Metabolism of the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare and the Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. **Pediatr Transplant.** 2016 Jan 25. doi: 10.1111/petr.12672. [Epub ahead of print]
- 130) Mu A, Li M, Tanaka M, Adachi Y, Tai TT, Liem PH, Izawa S, Furuyama K, Taketani S. Enhancements of the production of bilirubin and the expression of β -globin by carbon monoxide during erythroid differentiation. **FEBS Lett.** 2016;590:1447-1454.
- 131) 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.
- 132) Shiba N, Yoshida K, Shiraishi Y, Okuno Y, Yamato G, Hara Y, Nagata Y, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Kato M, Park Mj, Ohki

- K, Shimada A, Takita J, Tomizawa D, Kudo K, Arakawa H, Adachi S, Taga T, Tawa A, Ito E, Horibe K, Sanada M, Miyano S, Ogawa S, Hayashi Y. Whole-exome sequencing reveals the spectrum of gene mutations and the clonal evolution patterns in paediatric acute myeloid leukaemia. **Br J Haematol.** 2016;175(3):476-489. doi: 10.1111/bjh.14247.
- 133) Banno K, Omori S, Hirata K, Nawa N, Nakagawa N, Nishimura K, Ohtaka M, Nakanishi M, Sakuma T, Yamamoto T, Toki T, Ito E, Yamamoto T, Kokubu C, Takeda J, Taniguchi H, Arahori H, Wada K, Kitabatake Y, Ozono K. Systematic Cellular Disease Models Reveal Synergistic Interaction of Trisomy 21 and GATA1 Mutations in Hematopoietic Abnormalities. **Cell Rep.** 2016;15(6):1228-41. doi: 10.1016/j.celrep.2016.04.031.
- 134) Yoshimi A, Toya T, Nannya Y, Takaoka K, Kirito K, Ito E, Nakajima H, Hayashi Y, Takahashi T, Moriya-Saito A, Suzuki K, Harada H, Komatsu N, Usuki K, Ichikawa M, Kurokawa M. Spectrum of clinical and genetic features of patients with inherited platelet disorder with suspected predisposition to haematological malignancies: a nationwide survey in Japan. **Ann Oncol.** 2016;27(5):887-95. doi: 10.1093/annonc/mdw066.
- 135) Ogasawara S, Saito N, Itoga M, Kushibiki M, Nakata R, Ohta E, Fujita E, Kojima K, Terui K, Ito E, Kayaba H. Spurious thrombocytosis caused by tumor cell lysis in a patient with acute monocytic leukemia. **Clin Lab.** 2016;62: 1575-7. doi: 10.7754/Clin.Lab.2016.151218.
- 136) Miura R, Yokoyama Y, Shigeto T, Futagami M, Mizunuma H, Kurose A, Tsuruga K, Sasaki S, Terui K, Ito E. Dysgerminoma developing from an ectopic ovary in a patient with WAGR syndrome: A case report. **Mol Clin Oncol** 2016; 5:503-6.
- 137) Taga T, Watanabe T, Tomizawa D, Kudo K, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Iwamoto S, Nakayama H, Takahashi H, Shimada A, Taki T, Toki T, Ito E, Goto H, Koh K, Saito AM, Horibe K, Nakahata T, Tawa A, Adachi S. Preserved High Probability of Overall Survival with Significant Reduction of Chemotherapy for Myeloid Leukemia in Down Syndrome: A Nationwide Prospective Study in Japan. **Pediatr Blood Cancer** 2016;63:248-54. doi: 10.1002/pbc.25789.
- 138) 伊藤悦朗, 土岐力, 照井君典. Down症候群. 白血病学(上) 最新の基礎・臨床研究. **日本臨床増刊号** 2016;74:97-102.
- 139) 照井君典, 土岐力, 伊藤悦朗. 一過性異常骨髄増殖症. 小児疾患診療のための病態生理3. **小児内科増刊号** 2016;48:953-6.
- 140) 照井君典, 伊藤悦朗. ダウン症に伴う急性巨核芽球性白血病の分子的理解と臨床応用. **血液フロンティア** 2016;26:1533-40.
- 141) 伊藤悦朗, 土岐力, 照井君典. 遺伝性骨髄不全症研究の最近の進歩. **臨床血液** 2016;57:882-90.
- 142) 新居敏, 藤野寿典, 赤澤嶺, 田尻雄二郎, 高野良彦, 巽亜子, 中道恵里那, 内藤拓人, 安西香織, 杉田亮, 竹川麻衣, 野村安隆, 肥田晋矢, 坂本晴子, 葭井操雄, 土岐力, 照井君典, 伊藤悦朗, 住本真一. 感染を契機に診断に至ったRPL11の遺伝子変異陽性Diamond-Blackfan anemiaの11歳男児例. **小児科臨床** 2016;69:1416-20.
- 143) 照井君典, 伊藤悦朗. 小児急性巨核芽球性白血病の生物学的特性. **血液内科** 2016;72:737-42.
- 144) Onodera K, Fujiwara T, Onishi Y, Okitsu Y, Itoh-Nakadai A, Okitsu Y, Fukuhara N, Ishizawa K, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. GATA2 regulates dendritic cell differentiation. **Blood** 2016;128:508-518.
- 145) Sawamoto K, Suzuki Y, Mackenzie WG, Theroux MC, Pizarro C, Yabe H, Orii KE, Mason RW, Orii T, Tomatsu S. Current therapies for Morquio A syndrome and their clinical outcomes. **Expert Opin Orphan Drugs.** 2016;4(9):941-951. doi: 10.1080/21678707.2016.1214572. Epub 2016 Jul 28.
- 146) Nishikawa E, Yagasaki H, Hama A, Yabe H, Ohara A, Kosaka Y, Kudo K, Kobayashi R, Ohga S, Morimoto A, Watanabe KI, Yoshida N, Muramatsu H,

- Takahashi Y, Kojima S. Long-term outcomes of 95 children with moderate aplastic anemia treated with horse antithymocyte globulin and cyclosporine. **Pediatr Blood Cancer**. 2016 Nov 3. doi: 10.1002/xbc.26305. [Epub ahead of print]
- 147) Otsubo K, Yabe M, Yabe H, Fukumura A, Morimoto T, Kato M, Mochizuki H. Successful acute lymphoblastic leukemia-type therapy in two children with mixed-phenotype acute leukemia. **Pediatr Int**. 2016 Oct;58(10):1072-1076. doi: 10.1111/ped.13045.
- 148) 矢部普正, 矢部みはる. 遺伝性骨髄不全症候群. **小児内科** 2016;48(7):1050-1053.
- 149) 矢部普正. 非腫瘍性疾患に対する造血細胞移植. **日本造血細胞移植学会雑誌** 2016;5(1):1-12.
- 150) Ling C, Huang J, Yan Z, Li Y, Ohzeki M, Ishiai M, Xu D, Takata M, Seidman M, and Wang W. Bloom syndrome complex promotes FANCM recruitment to stalled replication forks and facilitates both repair and traverse of DNA interstrand crosslinks. **Cell Discov**. 2016 Dec 20;2:16047. doi: 10.1038/celldisc. 2016.47.
- 151) Tian X, Patel K, Ridpath JR, Chen Y, Zhou YH, Neo D, Clement J, Takata M, Takeda S, Sale J, Wright FA, Swenberg JA, Nakamura J. Homologous recombination and translesion DNA synthesis play critical roles on tolerating DNA damage caused by trace levels of hexavalent chromium. **pLOSOne** 2016 Dec 1;11(12):e0167503.
- 152) Sato K, Shimomuki M, Katsuki Y, Takahashi D, Kobayashi W, Ishiai M, Miyoshi H, Takata M, Kurumizaka H. FANCI-FANCD2 stabilizes the RAD51-DNA complex by binding RAD51 and protects the 5'-DNA end. **Nucleic Acids Res**. 2016 Sep 30. pii: gkw876. PMID: 27694619.
- 153) Hashimoto K, Sharma V, Sasanuma H, Tian X, Takata M, Takeda S, Swenberg J and Nakamura J. Poor recognition of O6-isopropyl dG by MGMT triggers double strand break-mediated cell death and micronucleus induction in FANC-deficient cells. **Oncotarget** 2016 Jul 29. doi: 10.18632/oncotarget.10928. [Epub ahead of print]
- 154) Takahashi H, Watanabe T, Kinoshita A, Yuza Y, Moritake H, Terui K, Iwamoto S, Nakayama H, Shimada A, Kudo K, Taki T, Yabe M, Matsushita H, Yamashita Y, Koike K, Ogawa A, Kosaka Y, Tomizawa D, Taga T, Saito AM, Horibe K, Nakahata T, Miyachi H, Tawa A, Adachi S. High event-free survival rate with minimum-dose-anthracycline treatment in childhood acute promyelocytic leukaemia: a nationwide prospective study by the Japanese Paediatric Leukaemia/Lymphoma Study Group. **Br J Haematol** 2016; 174: 437-43.
- 155) 照井君典, 伊藤悦朗. 小児急性巨核芽球性白血病の生物学的特性. **血液内科** 2016;72:737-42.
- 156) 新居敏, 藤野寿典, 赤澤嶺, 田尻雄二郎, 高野良彦, 巽亜子, 中道恵里那, 内藤拓人, 安西香織, 杉田亮, 竹川麻衣, 野村安隆, 肥田晋矢, 坂本晴子, 葭井操雄, 土岐力, 照井君典, 伊藤悦朗, 住本真一. 感染を契機に診断に至ったRPL11の遺伝子変異陽性Diamond-Blackfan anemiaの11歳男児例. **小児科臨床** 2016;69:1416-20.
- 157) Kubota Y, Nomura K, Katoh Y, Yamashita R, Kaneko K, Furuyama K. Novel Mechanisms for Heme-dependent Degradation of ALAS1 Protein as a Component of Negative Feedback Regulation of Heme Biosynthesis. **J Biol Chem**. 2016;291:20516-20529.
- 158) Tsujita Y, Mitsui-Sekinaka K, Imai K, Yeh TW, Mitsui N, Asano T, Ohnishi H, Kato Z, Sekinaka Y, Zaha K, Kato T, Okano T, Takashima T, Kobayashi K, Kimura M, Kunitsu T, Maruo Y, Kanegane H, Takagi M, 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. Phosphatase and tensin homolog (PTEN) mutation can cause activated phosphatidylinositol 3-kinase syndrome-like immunodeficiency.

- Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2016 Dec;138(6):1672-1680.e10. doi: 10.1016/j.jaci.2016.03.055. [Epub ahead of print]
- 159) Vijayan D, Mohd Redzwan N, Avery DT, Wirasinha RC, Brink R, Walters G, Adelstein S, Kobayashi M, Gray P, Elliott M, Wong M, King C, Vinuesa CG, Ghilardi N, Ma CS, Tangye SG, Batten M. IL-27 directly enhances germinal center B cell activity and potentiates lupus sanroque mice. **Journal of Immunology** 2016;197:3008-3017.
- 160) Lévy R, Okada S, Béziat V, Moriya K, Liu C, Chai LY, Migaud M, Hauck F, Al Ali A, Cyrus C, Vatte C, Patiroglu T, Unal E, Ferneiny M, Hyakuna N, Nepesov S, Oleastro M, Ikinçiogullari A, Dogu F, Asano T, Ohara O, Yun L, Della Mina E, Bronnimann D, Itan Y, Gothe F, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Tahuil N, Aytekin C, Salhi A, Al Muhsen S, Kobayashi M, Toubiana J, Abel L, Li X, Camcioglu Y, Celmeli F, Klein C, AlKhater SA, Casanova JL, Puel A. Genetic immune and clinical features of patients with bacterial and fungal infections due to inherited IL-17RA deficiency. **Proc Natl Acad Sci USA** 2016;113:E8277-8285.
- 161) Ma CS, Wong N, Rao G, Nguyen A, Avery DT, Payne K, Torpy J, O'Young P, Deenick E, Bustamante J, Puel A, Okada S, Kobayashi M, Martinez-Barricarte R, Elliott M, Sebnem Kilic S, El Baghdadi J, Minegishi Y, Bousfiha A, Robertson N, Hambleton S, Arkwright PD, French M, Blincoe AK, Hsu P, Campbell DE, Stormon MO, Wong M, Adelstein S, Fulcher DA, Cook MC, Stepensky P, Boztug K, Beier R, Ikinçiogullari A, Ziegler JB, Gray P, Picard C, Boisson-Dupuis S, Phan TG, Grimbacher B, Warnatz K, Holland SM, Uzel G, Casanova JL, Tangye SG. Unique and shared signaling pathways cooperate to regulate the differentiation of human CD4+T cells into distinct effector subsets. **Journal of Experimental Medicine** 2016;213:1589-608.
- 162) Toubiana J, Okada S, Hiller J, Oleastro M, Lagos Gomez M, Aldave Becerra JC, Ouachée-Chardin M, Fouyssac F, Girisha KM, Etzioni A, Van Montfrans J, Camcioglu Y, Kerns LA, Belohradsky B, Blanche S, Bousfiha A, Rodriguez-Gallego C, Meyts I, Kisand K, Reichenbach J, Renner ED, Rosenzweig S, Grimbacher B, van de Veerdonk FL, Traidl-Hoffmann C, Picard C, Marodi L, Morio T, Kobayashi M, Lilic D, Milner JD, Holland S, Casanova JL, Puel A. Heterozygous STAT1 gain-of-function mutations underlie and unexpectedly broad clinical phenotype. **Blood** 2016;127:3154-64.
- 163) Hayakawa S, Okada S, Tsumura M, Imai K, Morio T, Ohara O, Chayama K, Kobayashi M. Predisposition to gastric cancer in a patient with autosomal dominant immune dysregulation syndrome associated with CTLA-4 haploinsufficiency. **Journal of Clinical Immunology** 2016;36:28-32.
- 164) Yasumura J, Wago M, Okada S, Nishikomori R, Takei S, Kobayashi M. A 2-year old Japanese girl with TNF receptor-associated periodic syndrome: A case report of the youngest diagnosed proband in Japan. **Mod Rheumatol.** 2016;26:798-801.
- 165) Yamasaki F, Takayasu T, Nosaka R, Kawaguchi H, Sugiyama K, Kobayashi M, Kurisu K. Cavernous angioma after chemotherapy for desmoplastic/nodular medulloblastoma associated with anhidrotic ectodermal dysplasia. **Child Nerv Syst.** 2016;32:395-8.
- 166) Mizoguchi Y, Furue A, Kagawa R, Chijimatsu I, Tomioka K, Shimomura M, Imanaka Y, Nishimura S, Saito S, Miki M, Ono A, Konishi N, Kawaguchi H, Kobayashi M. Early eradication of factor VIII inhibitor in patients with congenital hemophilia A by immune tolerance induction with a high dose of immune. **International Journal of Hematology** 2016;103:473-7.
- 167) Ishikawa N, Kobayashi Y, Fujii Y, Kobayashi M. Late-onset epileptic spasms in a patient with 22q13.3 deletion syndrome.

- Brain & Development** 2016;38:109-12.
- 168) Katsuki Y, Takata M. Defects in HR repair behind the human diseases: FA and HBOC. **Endocr Relat Cancer**. 2016 Oct;23(10): T19-37.
- 169) 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.
- 170) 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.
- 171) 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.
- 172) 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.
- 173) 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.
- 174) 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.
- 175) 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
国際学会
- 1) Kubota Y, Uryu K, Ito T, Kawai T, Seki M, Isobe T, Toki T, Yoshida K, Kataoka K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J. Integrated genetic and epigenetic analysis elucidated expression and methylation profiles of acute lymphoblastic leukemia in Down syndrome. **The 23th Congress of European Hematology Association** (2018年7月14-17日, スウェーデン・ストックホルム).
- 2) M. Labuhn, K. Perkins, E Papaemmanuil, S Matzk, C Scheer, Yoshida K, A Schwarzer, J Taub, J Crispino, MJ Weiss, Ito E, Ogawa S, ML Yaspo, PJ Campbell,

- D Heckl, JH Klusmann, P Vyas. Modelling the progression of a preleukemic stage to overt leukemia in children with Down syndrome. **The 60th American Society of Hematology** (2018年12月1-4日, 米国・サンディエゴ).
- 3) Watanabe K, Kanegane H, Hamabata T, Kozuki K, Umeda K, Hama A, Okuno Y, Muramatsu H, Takahashi Y, Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Ito M, Kojima S, Ito E. Clinical and genetic characteristics of patients with Shwachman-Diamond syndrome in Japan. **The 60th American Society of Hematology** (2018年12月1-4日, 米国・サンディエゴ).
 - 4) Saito K, Fujiwara T, Hatta S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Harigae H. Generation and molecular characterization of human ring sideroblasts. **The 60th American Society of Hematology** (2018年12月1-4日, 米国・サンディエゴ).
 - 5) Yabe H, Imai E, Sugimoto A, Otsubo K, Morimoto T, Mochizuki H, Koike T, Kato S and Yabe M. Full-dose busulfan-based conditioning regimen for pediatric non-malignant disease. **44th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation**(2018年3月18-21日, ポルトガル・リスボン).
 - 6) Tsumanuma R, Omoto E, Kumagai H, Katayama Y, Iwato K, Aoki G, Sato Y, Tsutsumi Y, Miyazaki K, Tsukada N, Iino M, Shinagawa A, Atsuta Y, Kodera Y, Okamoto S, Yabe H. Efficacy and Safety of Biosimilar Filgrastim in Peripheral Hematopoietic Stem Cell Mobilization Procedures for Related Allogeneic Transplantation. **44th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation** (2018年3月18-21日, ポルトガル・リスボン).
 - 7) Muramatsu H, Kojima D, Okuno Y, Kataoka S, Nakajima Y, Ito T, Tsuge I, Sakai Y, Kato T, Kojima S, and Takahashi Y. Combination of TREC Measurement and Next-Generation Sequencing in Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency: A Pilot Program in Japan. **The 60th American Society of Hematology** (2018年12月1-4日, 米国・サンディエゴ).
 - 8) 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, Lee JW, and 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 60th American Society of Hematology** (2018年12月1-4日, 米国・サンディエゴ).
 - 9) Utsugisawa T, Yamamoto T, Ogura H, Aoki T, Okamoto Y, Kawakami T, Ohga S, Ohara A, Ito E, Kanno H. Pyruvate kinase deficiency in Japan: A Summary of clinical feature, laboratory data and enzymatic diagnosis. **23rd Congress of European Hematology Association (EHA 23)**(2018年6月14-17日, スウェーデン・ストックホルム).
 - 10) Takata M. Analysis of DNA damage repair by homologous recombination and the Fanconi anemia pathway. **International Particle Medicine Research Symposium IPMRS-2018-Takasaki** (2018年10月30日, 高崎).
 - 11) Katsuki Y, Abe M, Attikum HV, Kim Y, Takata M. The ubiquitination pathway that recruits the Fanconi anemia nuclease scaffold SLX4/FANCP. **International Conference: Korean Society for Molecular and Cellular Biology. Symposium "Molecular Mechanisms to preserve Genomic Integrity."** (2018年9月17-19日, 韓国・ソウル).
 - 12) Takata M. RNF168 mediates the recruitment of SLX4 via ubiquitination during ICL repair (招待講演). **2018 IBS CONFERENCE IBS-KSMCB Conference on Genomic Integrity & Cell Cycle** (2018年6月17-19日, 韓国・慶州).
 - 13) Katsuki Y, Abe M, Attikum HV, Kanemaki M, Nakada S, Yabe M, Yabe H, Yonghwan

- Kim, Takata M. RNF168 mediates the recruitment of SLX4 via ubiquitination during ICL repair. **The 2nd International Symposium on Radiation Therapeutics and Biology “Molecular Targets and Precision Cancer Medicine: From basic research toward translation” (34th Radiation Biology Center International Symposium)** (2018年11月10-12日 京都).
- 14) Mochizuki AL, Katanaya A, Hayashi E, Hosokawa M, Moribe E, Motegi A, Ishiai M, Takata M. Kondoh G, Watanabe H, Nakatsuji N, Chuma S. PARI regulates stalled replication fork processing to maintain genome stability upon replication stress in mice. **The 2nd International Symposium on Radiation Therapeutics and Biology “Molecular Targets and Precision Cancer Medicine: From basic research toward translation” (34th Radiation Biology Center International Symposium)** (2018年11月10-12日, 京都).
- 15) Katsuki Y, Abe M, Attikum HV, Kanemaki MT, Nakada S, Yabe M, Yabe H. Kim Y, Takata M. RNF168 mediates the recruitment of SLX4 via ubiquitination during ICL repair. **2018 Gordon Research Conference Genomic Instability** (2018年7月22-27日, 香港).
- 16) Nishimura S, Mizoguchi Y, Asano T, Miki M, Furue a, Kawaguchi H, Okada S, Mochizuki S, Doi T, Kobayashi M. Successful bone marrow transplantation using an immunosuppressive conditioning in patients with severe congenital neutropenia. **The 18th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies** (2018年10月24-27日, ポルトガル, リスボン).
- 17) Asano T, Nishimura S, Kobayashi Y, Tsumura M, Ishikawa N, Ohnishi H, Takeda H, Sancho-Shimizu V, Moriya K, Puel A, Picard C, Irani SR, J.L. Casanova JL, Okada S, Kobayashi M. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with IRAK4 deficiency. **The 18th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies** (2018年10月24-27日, ポルトガル, リスボン).
- 18) Okamoto K, Shigemizu D, Okano T, Yeh TW, Takashima T, Yamashita M, Ono S, Mitsuiki N, Takagi M, Mori M, Kanegane H. Tsunoda T, Imai K, Morio T. Whole exome sequence analysis using the known and candidate genes for primary immunodeficiency diseases. **The 2nd APSID Scientific Congress** (2018年5月7日, 中国・重慶).
- 19) Watanabe K. Kanegane H. Hamabata T, Kozuki K, Umeda K, Hama A, Okuno Y, Muramatsu H, Takahashi Y. Hasegawa D, Manabe A. Ohara A. Masafumi I, Kojima S, Ito E. EA nationwide cohort for Shwachman-Diamond syndrome in Japan. **9th Internatioal Congress of Shwachman-Diamond Syndrome** (2018年4月8-11日, 米国・ヒューストン).
- 20) Katsuki Y, Abe M, Attikum HV, Kanemaki MT, Nakada S, Yabe M, Yabe H. Kim Y, Takata M. RNF168 mediates the recruitment of SLX4 via ubiquitination during ICL repair. **3rd DNA Replication/Repair Structures and Cancer Conference** (2018年2月11-15日, メキシコ・カンクン).
- 21) Mutramatsu 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. Ogawa 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. **EWOG-S/SAA2017** (2017年9月28-30, イタリア・ローマ).
- 22) Narita A, Hideki M, Okuno Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Wang X, Kojima D, Xu Y, Kawashima N, Nishio N, Hama A, Takahashi Y. Hasegawa D, Manabe A. Sakaguchi H, Yoshida N, Kato K, Miyano S, Ito M, Ogawa S and Kojima

- S. Genetic background of idiopathic bone marrow failure syndromes in children. **EWOG-S/SAA2017** (2017年9月28-30日, イタリア・ローマ) .
- 23) Iwasaki T, Utsugisawa T, Ogura H, Aoki T, Kinoshita A, Ogata Y, Okamoto Y, Kawakami T, Kanno H. The Flow Cytometric Osmotic Fragility Test is an Effective Screening Test for Red Cell Membrane Disorders, Including Dehydrated Hereditary Stomatocytosis. **ISLH (International Society for Laboratory Hematology)** (2017年5月4-6日, ハワイ・ホノルル) .
- 24) Uechi T, Yoshihama M, Nakajima Y, Suzuki Y, Sugano S, Ito E, Kenmochi N. Ribosomal dysfunction and defective erythropoiesis in a zebrafish model of Diamond-Blackfan anemia. **The 22nd Annual Meeting of the RNA Society** (2017年5月30日-6月3日, プラハ・チェコ) .
- 25) Saito K, Fujiwara T, Hatta S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Harigae H. Establishment and characterization of *in vitro* model of X-linked sideroblastic anemia. **The 59th American Society of Hematology** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ) .
- 26) Hasegawa S, Fujiwara T, Okitsu Y, Kato H, Sato Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizawa K, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. Role of GATA2 in the maintenance of bone marrow microenvironment. **The 59th American Society of Hematology** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ) .
- 27) Saito K, Fujiwara T, Morita M, Hatta S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Shimizu R, Harigae H. Establishment of in vivo and in vitro model of X-linked sideroblastic anemia. **The 22th Congress of European Hematology Association** (2017年6月22-25日, スペイン・マドリード) .
- 28) Hatta S, Fujiwara T, Yamamoto T, Kamata M, Tamai Y, Nakamura Y, Kawamata S, Harigae H. GENERATION OF INDUCED PLURIPOTENT STEM CELL-DERIVED ERYTHROBLASTS FROM A PATIENT WITH X-LINKED SIDEROBLASTIC ANEMIA. **The 7th International Bioiron Society** (2017年5月7-11日, 米国・ロサンゼルス) .
- 29) Fujiwara T, Sasaki K, Saito K, Hatta S, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H. Exploring the mechanism of FOG1-dependent transcriptional regulation in erythroid cells. **The 22th Congress of European Hematology Association** (2017年6月22-25日, スペイン・マドリード) .
- 30) Hasegawa D, Hirabayashi S, Nishimura A, Aiga S, Yamamoto S, Hosoya Y, Fujiwara T, Harigae H, Manabe A. Clonal evolution with monosomy 7 in Pearson syndrome. **International Meeting on childhood MDS and SAA** (2017年9月28-30日, イタリア・ローマ) .
- 31) Goto T, Togawa T, Ito T, Kouwaki M, Ogura H, Kanno H, Saitoh S, Koyama N. A patient with hereditary Pyropoikilocytosis caused by a combination of a novel in-frame deletion and a common functional but non-pathogenic allele, α LELY, in SPTA1. **American Society of Human Genetics 2017 annual meeting** (2017年10月17-18日, 米国・オランダ) .
- 32) Utsugisawa T, Ogura H, Yamamoto T, Aoki T, Iwasaki T, Ondo Y, Kawakami T, Nakagawa S, Ohga S, Inaba H, Kanno H. (Oral): The Novel Missense Mutation Of GATA1 Caused Red Cell Adenosine Deaminase Overproduction Associated with Congenital Hemolytic Anemia. **The 59th American Society of Hematology** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ) .
- 33) Takata M. Regulation of homologous recombination by a novel FA protein RFWD3/FANCW. (Invited lecture) (2017年12月14日, 台湾) .
- 34) Takata M. Regulation of homologous recombination by a novel FA protein RFWD3/FANCW. **1st International Symposium on Radiation Therapeutics and Biology (isRTB-2017)** (2017年10月

- 31日-11月1日, 中国・深圳).
- 35) Knies K, Inano S, J. Ramírez M, Ishiai M, Surrallés J, Takata M, and Schindler D. Biallelic mutations in the ubiquitin ligase *RFWD3* cause Fanconi anemia. **29th Annual Fanconi Anemia Scientific Symposium** (2017年9月14-17日, 米国・アトランタ).
- 36) Inano S, Sato K, Katsuki Y, Knies K, Schindler D, Ishiai M, Kurumizaka H, Takata M. Regulation of homologous recombination by a novel FA protein *RFWD3/FANCW*. **Center for Genomic Integrity at UNIST invited lecture** (2017年6月27日, 韓国・蔚山).
- 37) Takata M. Regulation of homologous recombination repair by a novel Fanconi anemia E3 ligase *RFWD3/FANCW*. **6th US-Japan DNA Repair Meeting** (2017年5月17-21日, 米国・バークレー).
- 38) Inano S, Sato K, Katsuki Y, Knies K, Schindler D, Ishiai M, Kurumizaka H, Takata M. Regulation of homologous recombination by a novel FA protein *RFWD3*. **FEBS workshop Nucleotide excision repair and crosslink repair - from molecules to mankind** (2017年5月7-11日, スロバキア).
- 39) Takata M. Pathogenesis of Fanconi anemia: an update. **INTERNATIONAL CONFERENCE ON “ REVOLUTION OF LABORATORY MEDICINE IN MODERN BIOLOGY” (招待講演)** (2017年2月15-17日, ムンバイ).
- 40) Watanabe K, Kanegane H, Hamabata T, Kozuki K, Umeda K, Hama A, Okuno, Muramatsu H, Takahashi Y, Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Ito M, Kojima S, Ito E. Establishment of a nationwide cohort for Shwachman-Diamond syndrome in Japan. **International Meeting on Childhood MDS and SAA**(2017年9月28-30日, イタリア・ローマ).
- 41) Hama A, Manabe A, Hasegawa D, Nozawa K, Suzuki K, Narita A, Muramatsu H, Takahashi Y, Watanabe K, Ohara A, Ito M, Kojima S. Bone marrow transplantation for children with acquired bone marrow failure. **International Meeting on Childhood MDS and SAA**(2017年9月28-30日, イタリア・ローマ).
- 42) Hasegawa D, Miyamura T, Nagai K, Kudo K, Tawa A, Sano H, Fukushima K, Iwamoto S, Kinoshita A, Takahashi H, Terui K, Nakayama H, Arakawa Y, Nakashima K, Yamamoto S, Saito MA, Horibe K, Tomizawa D, Taga T, Adachi S. Effectiveness of Supportive Care Measurements to Reduce Infections during Induction for Children with Acute Myeloid Leukemia: A Report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG). **American Society of Hematology 59th Annual Meeting**(2017年12月9-12日, 米国・アトランタ).
- 43) Sakamoto K, Imamura T, Kihira K, Ishida H, Suzuki K, Morita H, Kanno M, Mori T, Hiramatsu H, Matsubara K, Terui K, Takahashi Y, Suenobu S, Hasegawa D, Kosaka Y, Kato K, Saito MA, Sato A, Kawasaki H, Yagi YK, Hara J, Hori H, and Horibe K. Low Incidence of Osteonecrosis in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Treated with ALL-97 and ALL-02 Study of Japan Association of Childhood Leukemia Study Group. **American Society of Hematology 59th Annual Meeting** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ).
- 44) Kobayashi M, Mizoguchi Y, Karakawa S, Miki M, Nishimura S, Okada S, Kawaguchi H. Long-Term Follow-up of Patients with Chronic Granulomatous Disease Receiving Bone Marrow Transplantation Using Immunosuppressive Conditioning Regimen. **The 59th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition**(2017年12月9-12日, 米国・アトランタ).
- 45) Watanabe K, Kanegane H, Hamabata T, Kozuki K, Umeda K, Hama A, Okuno, Muramatsu H, Takahashi Y, Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Ito M, Kojima S, Ito E. Establishment of a nationwide cohort for Shwachman-Diamond syndrome in

- Japan. **International Meeting on Childhood MDS and SAA**(2017年9月28-30日 , イタリア・ローマ).
- 46) Hama A, Manabe A, Hasegawa D, Nozawa K, Suzuki K, Narita A, Muramatsu H, Takahashi Y, Watanabe K, Ohara A, Ito M, Kojima S. Bone marrow transplantation for children with acquired bone marrow failure. **International Meeting on Childhood MDS and SAA**(2017年9月28-30日 , イタリア・ローマ).
- 47) Nishimura S, Tomioka K, Shimomura M, Mizoguchi Y, Kobayashi M. Pharmacokinetics Using myPKFiTR for Personalized Prophylaxis in Children with Severe Hemophilia A. **The 59th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition** (2017年12月9-12日 , 米国・アトランタ).
- 48) 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).
- 49) 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・マドリード).
- 50) 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).
- 1) 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).
- 2) 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).
- 3) 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).
- 4) 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).
- 5) 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).
- 51) Kato H, Itoh-Nakadai A, Matsumoto M, Ebina-Shibuya R, Sato Y, Kobayashi M, Muto A, Fujiwara T, Harigae H, Igarashi K. Transcription Factor Bach1 and Bach2 Operate Erythro-myeloid Competitive Differentiation by Responding to Environmental Changes. **The 58th American Society of Hematology** (2016年 , 米国・サンディエゴ).
- 52) Hatta S, Fujiwara T, Yamamoto T, Kamata M, Tamai Y, Nakamura Y,

- Kawamata S, Harigae H. Generation of induced pluripotent stem cell-derived erythroblasts from a patient with X-linked sideroblastic anemia. **The 58th American Society of Hematology** (2016年, 米国・サンディエゴ) .
- 53) Ito E, Yoshida K, Toki T, Saida S, Watanabe K, Nakamura M, Terui K, Nakahata T, Miyano S, Watanabe A, Ogawa S. Genetic and Epigenetic Alterations in Acute Megakaryoblastic Leukemia in Down Syndrome. **Fifth JCA-AACR Special Joint Conference -The Latest Advances in Hematological Cancer Research: From Basic Science to Therapeutics** (招待講演)(2016年7月15日, 千葉) .
- 54) Terui K, Toki T, Hama A, Muramatsu H, Hasegawa D, Park MJ, Iwamoto S, Taga T, Yanagisawa R, Koh K, M. Saito A, Horibe K, Hayashi Y, Adachi S, Mizutani S, Watanabe K, Ito E. Analysis of *GATA1* mutations in Down syndrome infants with transient abnormal myelopoiesis and clinical impacts of *GATA1* mutation types: A report from the JPLSG TAM-10 study. **58th Annual Meeting & Exposition** (2016年12月3-6日, 米国・サンディエゴ) .
- 55) Kubota Y, Uryu K, Kawai T, Ito T, Hanada I, Toki T, Seki M, Yoshida K, Sato Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J. Gene expression profiles and methylation analysis in Down syndrome related acute lymphoblastic leukemia. **58th Annual Meeting & Exposition**(2016年12月3-6日, 米国・サンディエゴ) .
- 56) Yabe M, Morimoto T, Fukumura A, Ohtsubo K, Koike T, Shimizu T, Takakura H, Koh K, Ito E, Kojima S, Hira A, Takata M, Yabe H. Myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia in Japanese Fanconi anemia patients. **28th Annual Fanconi anemia research fund scientific symposium** (2016年9月, 米国・シアトル) .
- 57) Kanno H, Utsugisawa T, Ogura H. Next-generation sequencing in diagnosis of congenital hemolytic anemia. **the 5th TSH International Symposium Red Cell Disorders: From Bench to Bedside** (2016年5月20-22日, タイ・バンコク) .
- 58) Kanno H, Utsugisawa T, Ogura H. Congenital hemolytic anemia due to red cell enzymopathies. **the 5th TSH International Symposium Red Cell Disorders: From Bench to Bedside** (2016年5月20-22日, タイ・バンコク) .
- 59) Kohara H, Ogura H, Aoki T, Sakamoto C, Ogawa Y, Miyamoto S, Kanno H, Tani K. Generation and functional analysis of congenital dyserythropoietic anemia (CDA) patient-specific induced pluripotent stem Cells. **58th Annual Meeting & Exposition** (2016年12月3-6日, 米国・サンディエゴ) .
- 60) Utsugisawa T, Yamamoto T, Ogura H, Aoki T, Iwasaki T, Ondo Y, Kawakami T, Nakagawa S, Ozono S, Inada H, Kanno H. The novel missense mutation of *GATA1* caused red cell adenosine deaminase overproduction associated with congenital hemolytic Anemia. **58th Annual Meeting & Exposition** (2016年12月3-6日, 米国・サンディエゴ) .
- 61) Inano S, Sato K, Knies K, Katsuki Y, Nakada S, Takaori-Kondo A, Ishiai M, Schindler D, Kurumizaka H, Takata M. Novel Fanconi anemia E3 ligase *RFWD3* promotes removal of both RPA and *RAD51* from DNA damage sites during ICL repair. **28th Annual Fanconi Anemia research fund Scientific Symposium**. (2016年9月15-18日, 米国・ベルビュー) .
- 62) Yabe M, Morimoto T, Fukumura A, Ohtsubo K, Koike T, Shimizu T, Takakura H, Koh K, Ito E, Kojima S, Hira A, Takata M and Yabe H. Myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia in Japanese Fanconi anemia patients. **28th Annual Fanconi Anemia research fund Scientific Symposium** (2016年9月15-18日, 米国・ベルビュー) .
- 63) Okada S, Kagawa R, Fujiki R, Kato Z, Ohnishi H, Boisson-Dupuis S, Bustamante J, Casanova JL, Ohara O, Kobayashi M.

- Loss-of-function and dominant negative STAT1 coiled-coil domain mutations in MSMD. **Congress of Asia Pacific Society for Immunodeficiencies**(2016 年 4 月 30 日 , 大阪).
- 64) Mizoguchi Y, Karakawa S, Doi T, Shimomura M, Tomioka K, Sakata S, Furue A, Chijimatsu I, Okada S, Miki M, Kawaguchi H, Kobayashi M. Successful hematopoietic stem cell transplantation in ten patients with severe congenital neutropenia using an intensive immunomyelosuppressive conditioning regimen: The results of a single institute. **The 21st Congress of European Hematology Association** (2016 年 6 月 12 日 , コペンハーゲン・デンマーク) .
- 65) Okada S, Fujiki R, Kagawa R, Tsumura M, Kong X, Sakata S, Nishimura S, Kato Z, Ohnishi H, Itan Y, Boisson-Dupuis S, Bustamante J, Casanova JL, Ohara O, Kobayashi M. Alanine-scanning mutagenesis of human STAT1 to estimate the loss-or gain-of-function nature of variants. **The 17th Biennial Meeting of the European Society for immunodeficiencies** (2016 年 9 月 22 日 , バルセロナ・スペイン) .
- 66) Asano T, Tsumura M, Okada S, Kobayashi M. Flow cytometry based simple diagnosis of activated PI3K δ syndrome by evaluating pAKT in circulating B cells. **The 17th Biennial Meeting of the European Society for immunodeficiencies** (2016 年 9 月 22 日 , バルセロナ・スペイン) .
- 67) Mizoguchi Y, Miki M, Furue A, Nishimura S, Shimomura M, Tomioka K, Sakata S, Chijimatsu I, Karakawa S, Okada S, Doi T, Nakamura K, Kawaguchi H, Kobayashi M. Successful Hematopoietic Stem Cell Transplantation Using an Immunosuppressive Conditioning Regimen in Ten Patients with Severe Congenital Neutropenia. A Single-Institute Experience. **The 58th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition** (2016 年 12 月 3-6 日 , サンディエゴ) .
- 68) Hama A, Manabe A, Hasegawa D, Nozawa K, Narita A, Muramatsu H, Takahashi Y, Watanabe K, Ohara A, Ito M, Kojima S. Comparison of Clinical Outcomes Between Pediatric Aplastic Anemia and Refractory Cytopenia of Childhood. **58th ASH Annual Meeting & Exposition** (2016年12月 , 米国・サンディエゴ) .
- 69) 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, Shiroto 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) .
- 70) 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) .
- 71) 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) .
- 72) 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) .
- 73) 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) .

- 74) 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) .

国内学会

- 1) 渡邊健一郎, 金兼弘和, 濱端隆行, 上月景弘, 梅田雄嗣, 浜麻人, 奥野友介, 村松英城, 高橋義行, 上野浩生, 吉田健一, 長谷川大輔, 真部淳, 小野明, 伊藤雅文, 小川誠司, 小島勢二, 伊藤悦朗. 本邦におけるSwachman-Diamond症候群の臨床像. **第2回日本免疫不全・自己炎症学会総会・学術集会** (2019年2月2-3日, 東京) .
- 2) 伊藤悦朗. ダウン症に伴う急性巨核芽球性白血病の多段階発症の分子機構. **第60回日本小児血液・がん学会学術集会** (2018年11月14日-16日, 京都) .
- 3) 渡辺亮, 才田聡, 中村正裕, 土岐力, 金崎里香, 照井君典, 渡邊健一郎, 伊藤悦朗. ダウン症児に発症する巨核芽球性白血病におけるエピゲノム異常. **第80回日本血液学会学術集会** (2018年10月12-14日, 大阪) .
- 4) Fujiwara T, Saito K, Hatta S, Suzuki C, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Tanaka T, Harigae H. Effect of ALA on in a model of X-linked sideroblastic anemia. **The 6th International ALA and Porphyrin Symposium** (2018年10月27日, 静岡) .
- 5) Fujiwara T, Saito K, Hatta S, Suzuki C, Onodera K, Ichikawa S, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Harigae H. The effect of TET2 disruption in human erythroid cells. **The 9th Japanese Society of Hematology International Symposium** (2018年7月27-28日, 京都) .
- 6) Saito K, Fujiwara T, Hatta S, Onodera K, Ichikawa S, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Harigae H. Characterization of in vitro model of X-linked sideroblastic anemia. **第80回日本血液学会** (2018年10月12-14日, 大阪) .
- 7) Ohashi K, Fujiwara T, Onodera K, Saito Y, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H. Establishment of a screening system to identify novel GATA-2 transcriptional regulators. **第80回日本血液学会** (2018年10月12-14日, 大阪) .
- 8) Onishi Y, Fujiwara M, Sano S, Nakagawa R, Kawajiri A, Saito K, Onodera K, Ichikawa S, Fukuhara N, Fujiwara T, Harigae H. Cyclosporine A treatment for T-cell large granular lymphocytic leukemia: a single-center experience. **第80回日本血液学会** (2018年10月12-14日, 大阪) .
- 9) 濱麻人, 長谷川大輔, 真部淳, 野沢和江, 成田敦, 奥野友介, 村松秀城, 高橋義行, 渡邊健一郎, 小原明, 伊藤雅文, 小島勢二. 遺伝性骨髄不全症における骨髄形態学的特徴. **第60回日本小児血液・がん学会学術集会** (2018年11月14-16日, 京都) .
- 10) 川島希, 伊藤雅文, 濱麻人, 奥野友介, 村松秀城, 三輪田俊介, 成田幸太郎, 片岡伸介, 濱田太立, 村上典寛, 小島大英, 市川大輔, 鈴木喬悟, 北澤宏展, 西川英里, 谷口理恵子, 成田敦, 西尾信博, 小島勢二, 高橋義行. ファンコニ貧血患者における骨髄の組織病理像とp53発現. **第80回日本血液学会** (2018年10月12-14日, 大阪) .
- 11) Narita A, Muramatsu H, Okuno Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Sakaguchi H, Kawashima N, Wang X, Xu Y, Chiba K, Tanaka H, Hama A, Sanada M, 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, Takahashi Y. シーケンスによる先天性骨髄不全症の診断. **第60回日本小児血液・がん学会学術集会** (2018年11月14-16日, 京都) .

- 12) Muramatsu H, Okuno Y, Yoshida K, Shiraiishi Y, Doisaki S, Narita A, Sakaguchi H, Kawashima N, Xinan Wang, Yinyan Xu, 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 and Kojima S. ターゲットシーケンス解析を施行した小児造血不全移植例の解析. **第40回日本造血細胞移植学会総会** (2018年2月1-3日, 札幌).
- 13) 濱麻人, 鈴木喬悟, 成田敦, 成田幸太郎, 北澤宏展, 濱田太立, 片岡伸介, 村上典寛, 市川大輔, 谷口理恵子, 小島大英, 西川英里, 奥野友介, 川島希, 村松秀城, 西尾信博, 小島勢二, 高橋義行. Diamond-Blackfan貧血に対するフルダラビンおよびメルファランを用いた同種骨髄移植. **第40回日本造血細胞移植学会総会** (2018年2月1-3日, 札幌).
- 14) 平形絢子, 佐藤実紅, 春日夏那子, 橋本真理, 田中健佑, 水野隆久, 河野美幸, 須永康夫, 田代雅彦, 小倉浩美, 菅野仁. 新生児に重症黄疸と溶血性貧血を来した一例. **日本小児科学会群馬地方会** (2018年6月10日, 高崎).
- 15) 谷直之, 降旗謙一, 谷口敦夫, 福内友子, 山岡法子, 金子希代子, 菅野仁. 健常人とサラセミア、異常ヘモグロビン血症患者から得た赤血球におけるATP増強. **日本人類遺伝学会第63回大会** (2018年10月10-13日, 横浜).
- 16) 青木貴子, 小倉浩美, 槍澤大樹, 山根孝久, 山本俊至, 菅野仁. 遺伝子パネルシーケンスにより脱水型遺伝性有口赤血球(DHSt)と診断し得た一例. **日本人類遺伝学会第63回大会** (2018年10月10-13日, 横浜).
- 17) 小倉浩美, 青木貴子, 槍澤大樹, 岡本好雄, 川上高弘, 山本俊至, 大賀正一, 伊藤悦朗, 菅野仁. 乳児期の一過性溶血性貧血を呈するinfantile pyknocytosisの臨床像と検査所見. Clinical and laboratory characteristics of neonatal cases suspected with infantile pyknocytosis. **第80回日本血液学会** (2018年10月12-14日, 大阪).
- 18) 槍澤大樹, 青木貴子, 小倉浩美, 岡本好雄, 川上高弘, 山根孝久, 山本俊至, 菅野仁. 先天性溶血性貧血診断における網羅的遺伝子検査の有用性. Usefulness of comprehensive genetic testing for the diagnosis of congenital hemolytic anemia. **第80回日本血液学会** (2018年10月12-14日, 大阪).
- 19) 菅野仁. 先天性溶血性貧血の秒型診断と治療～最近のトピックス. **第4回北陸小児血液研究会** (2018年6月30日, 金沢).
- 20) 菅野仁. (特別講演) 先天性溶血性貧血の疫学と病型診断. **第17回日本新生児黄疸管理研究会** (2018年10月6日, つくば).
- 21) Takata M. Chromosome stress due to endogenous DNA damage and Fanconi anemia. Symposium “Cancer predisposition and hemato/immunological defect: from children to adults (招待講演). **第80回日本血液学会** (2018年10月12-14日, 大阪).
- 22) 高田穰. 家族性のがんの話. **京都大学研究連携基盤丸の内セミナー** (2018年9月7日, 京都).
- 23) 勝木陽子, 安倍昌子, Attilum HV, 中田慎一郎, 鐘巻将人, Kim Y, 矢部みはる, 矢部普正, 高田穰. DNAクロスリンク切断酵素SLX4のコピキチン化による制御機構(ワークショップ). **第41回日本分子生物学会年会** (2018年11月28-30日, 横浜).
- 24) 勝木陽子, 安倍昌子, 中田慎一郎, 鐘巻将人, 矢部みはる, 矢部普正, 高田穰. DNAクロスリンク修復因子SLX4のコピキチン化による制御機構(ワークショップ). **日本放射線影響学会第61回大会** (2018年11月7-9日, 長崎).
- 25) 勝木陽子, 安倍昌子, 中田慎一郎, 鐘巻将人, 矢部みはる, 矢部普正, 高田穰. DNAクロスリンク修復因子SLX4のコピキチン化による制御機構(ワークショップ). **日本遺伝学会第90回大会** (2018年9月19-22日, 奈良).
- 26) 金子桐子, 久保田美子, 野村和美, 林本遥, 千田大誠, 吉野直人, 和山真里奈, 小笠原勝利, 中村幸雄, 遠山育夫, 古山和道. ALAS2変異による鉄芽球性貧血のモデル細胞構築. **第682回岩手医学会例会** (2018年4月27日, 盛岡).
- 27) 金子桐子, 林本遥, 千田大誠, 久保田美子, 野村和美, 小笠原勝利, 和山真里奈, 吉野直人, 中村幸夫, 遠山育夫, 博多修子, 古山和道. 遺伝性鉄芽球性貧血モデル細胞の樹立. **日本生化学会東北支部第84回例会シンポジウム** (2018年5月19日, 盛岡).
- 28) 久保田美子, 草壁香帆里, 久慈強, 金子桐子, 野村和美, 博多修子, 古山和道. ヘム合成経路の律速酵素ALAS1の分解経路の抑制によるゲノム不安定性の誘導. **日本生化学会東北**

- 支部第 84 回例会シンポジウム (2018 年 5 月 19 日, 盛岡)。
- 29) 西村聡, 青木由貴, 石渡泰芳, 松本和明, 廣木遥, 小野真太郎, 岡野翼, 宮本智史, 足洗美穂, 星野顕宏, 田中真理, 宮脇零士, 小林千佳, 手束真理, 大川哲平, 満生紀子, 遠藤明史, 小野敏明, 磯田健志, 宮澤大輔, 長澤正之, 水谷修紀, 安原真人, 梶原道子, 柳町昌克, 高木正稔, 金兼弘和, 今井耕輔, 森尾友宏. 原発性免疫不全症に対するFluBUとFluMelによる前処置法に比較検討. **第40回日本造血細胞移植学会総会** (2018年2月1-3日, 札幌)。
- 30) Watanabe K, Kanegane H, Hamabata T, Kozuki K, Umeda K, Hama A, Okuno Y, Muramatsu H, Takahashi Y, Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Masafumi I, Kojima S, Ito E. Establishment of a nationwide cohort for Shwachman-Diamond syndrome in Japan. **第80回日本血液学会学術集会** (2018年10月12-14日, 大阪)。
- 31) Terui K, Toki T, Hama A, Muramatsu H, Hasegawa D, Park MJ, Iwamoto S, Taga T, Yanagisawa R, Koh K, M. Saito A, Horibe K, Hayashi Y, Adachi S, Mizutani S, Watanabe K and Ito E. Clinical impact of *GATA1* mutation types in infants with Down syndrome and TAM: JPLSG TAM-10 study. **第79回日本血液学会学術集会**(2017年10月20-22日, 東京)。
- 32) 土岐力. 本邦における Diamond-Blackfan 貧血の診断的ターゲットおよびエクソームシーケンス (シンポジウム). **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京)。
- 33) 上地珠代, 吉浜麻生, 中島由香里, 鈴木穰, 伊藤悦朗, 剣持直哉. リボソーム病モデルにおける mRNA の翻訳制御と疾患発症の分子機構. **第19回日本 RNA 学会年会** (2017年7月19-21日, 松山)。
- 34) 関戸雄貴, 中舘尚也, 石黒精, 照井君典, 土岐力, 伊藤悦朗, 吉田健一, 小川誠司, 小島勢二. Blackfan-Diamond 症候群と鑑別を要した Shwachman-Diamond 症候群の姉弟例. **第59回日本小児血液・がん学会学術集会** (2017年11月9-11日, 松山)。
- 35) 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, Ogawa 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, and Kojima S. Clinical sequencing of 375 patients with inherited and acquired bone marrow failure syndrome. **第79回日本血液学会学術集会**(2017年10月20-22日, 東京)。
- 36) Fujiwara T, Sasaki K, Saito K, Hatta S, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H. Exploring the mechanism of FOG1-dependent transcriptional regulation in erythroid cells. **第79回日本血液学会** (2017年10月20-22日, 東京)。
- 37) Hasegawa S, Fujiwara T, Okitsu Y, Kato H, Sato Y, Fukuhara N, Onishi Y, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. Role of GATA2 in the maintenance of the bone marrow microenvironment. **第79回日本血液学会** (2017年10月20-22日, 東京)。
- 38) Hatta S, Fujiwara T, Yamamoto T, Kamata M, Tamai Y, Nakamura Y, Kawamata S, Harigae H. Generation of induced pluripotent stem cell-derived erythroblasts of X-linked sideroblastic anemia. **第79回日本血液学会** (2017年10月20-22日, 東京)。
- 39) Saito K, Fujiwara T, Morita M, Hatta S, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Shimizu R, Harigae H. Establishment of in vivo and in vitro model of X-linked sideroblastic anemia by CRISPR/Cas9. **第79回日本血液学会** (2017年10月20-22日, 東京)。
- 40) Kato H, Itoh A, Matsumoto M, Shibuya R, Sato Y, Kobayashi M, Muto A, Fujiwara T, Harigae H, Igarashi K. Bach1 and Bach2 orchestrate erythro-myeloid differentiation responding to environmental changes. **第79回日本血液学会**(2017年10月20-22日, 東京)。
- 41) Koike T, Ohtsubo K, Fukumura A, Shimizu T, Takakura H, Nakae S, Mochizuki H, Morimoto T, Kato S, Yabe M, and Yabe H. Hematopoietic stem cell transplantation for inherited bone marrow failure syndrome. **第39回日本造血細胞移植学会総会** (2017年3月3日, 松江)。
- 42) 川島希, 奥野友介, 村松秀城, 濱麻人, 片岡

- 伸介, 濱田太立, 市川大輔, 村上典寛, 小島大英, 鈴木喬悟, 西川英里, 成田敦, 西尾信博, 中沢洋三, 小島勢二, 高橋義行. 次世代シーケンスによるファンコニ貧血遺伝子診断が可能な時代におけるFANCD2モノユビキチンの意義. **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京).
- 43) Hamada M, Doisaki S, Okuno Y, Muramatsu H, Hama A, Kataoka S, Ichikawa D, Taniguchi E, Suzuki K, Kojima D, Sekiya Y, Kawashima N, Narita A, Yoshida K, Shiraishi Y, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Manabe A, Taga T, Takahashi Y, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Congenital hemolytic anaemia mimicking congenital dyserythropoietic anaemia revealed by whole exome analysis. **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京).
- 44) Okuno Y. 遺伝性造血不全疾患群のクリニカルシーケンス. **第79回日本血液学会学術集会** (Symposium 8) (2017年10月20-22日, 東京).
- 45) 村松秀城. 先天性および後天性造血不全375例に対するクリニカルシーケンス. **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京).
- 46) Hama A, Toki T, Kobayashi A, Muramatsu H, Okuno Y, Hasegawa D, Nozawa K, Takahashi Y, Watanabe KI, Manabe A, Ito M, Ito E, and Kojima S. Correlation of bone marrow morphology with clinical findings and gene alterations in patients with Diamond-Blackfan anemia. **第59回日本小児血液・がん学会** (2017年11月9-11日, 松山).
- 47) Narita A, Muramatsu H, Okuno Y, Wang X, Xu Y, Kawashima N, Nishio N, Hama A, Sakaguchi H, Yoshida N, Kato K, Kojima S and Takahashi Y. Germline mutation in pediatric patients with aplastic anemia. **第59回日本小児血液・がん学会** (2017年11月9-11日, 松山).
- 48) 小倉浩美, 槍澤大樹, 岩崎拓也, 青木貴子, 岡本好雄, 川上高弘, 菅野仁. 系統的検査による先天性溶血性貧血 80 症例の病型診断. **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京).
- 49) 槍澤大樹, 小倉浩美, 岩崎拓也, 青木貴子, 岡本好雄, 川上高弘, 菅野仁. Heterogeneous KCNN4 or PIEZO1 gene mutation cause dehydrated hereditary Stomatocytosis in Japan. **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京).
- 50) 菅野仁, F.Grace R, Layton DM, Galacteros F, Rose C, Barcellini W, Morton DH, Van Beers E, Yaish H, Ravindranath Y, Kevin H.M.Kuo, Sheth S, L.Kwiatkowski J, Silver B, Kung C, Cohen M, Yang H, A. Kosinski P, Hua L, J. Barbier A, Glader B. AG-348, a pyruvate kinase activator, for pyruvate kinase deficiency: Results the drive PK study. **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京).
- 51) 菅野仁. (招待講演) iPS 細胞を活用した稀少遺伝性血液疾患の病態解析と治療薬の探索. **平成 29 年度医学研究セミナー** (2017年6月13日, 金沢医科大学).
- 52) 大賀正一, 石村匡崇, 槍澤大樹, 菅野仁. 新生児の遺伝性溶血性貧血～疾患概念の拡張～. **第59回小児血液・がん学会学術集会** (2017年11月9-11日, 愛媛県).
- 53) 高田穰. 「ファンコニ貧血経路による染色体ストレス応答制御」「新規ファンコニ貧血遺伝子 RFW3D3による相同組換え修復制御メカニズム」. **神戸大学大学院講義&セミナー 現代の生物学II** (招待講演) (2017年12月22日, 神戸).
- 54) 勝木陽子, 安倍昌子, H. van Attikum, 中田慎一郎, 鐘巻将人, Kim Y, 高田穰. ICL 修復因子 SLX4 は RNF168 依存的なユビキチン化経路を介して損傷部位に集積する (ワークショップ). **ゲノム恒常性維持機構の破綻と疾患発症の分子メカニズム(3PW02)** (招待講演). **2017 年度生命科学系学会合同年次大会 ConBio2017 / 第 40 回日本分子生物学会年会** (2017年12月6-9日, 神戸).
- 55) 岡本裕介, 岩寄航, 高橋数牙, 久郷和人, 小田有沙, 河合秀彦, 佐藤浩一, 小林航, 逆井良, 高折晃史, 山本卓, 鐘巻将人, 田岡万悟, 磯部俊明, 胡桃坂仁志, 印南秀樹, 太田邦史, 石合正道, 高田穰. 複製ストレスにおける染色体脆弱部位への R-Loop 依存性 FANCD2 集積メカニズム. **第 40 回日本分子生物学会年会** (2017年12月6-9日, 神戸).
- 56) 松井美咲, 木村祐輔, 安倍昌子, 石合正道, 堀利行, 高田穰, Jackson S, 西良太郎. 核内構造体に局在する因子による相同組換え修復制御 「遺伝的組換えの分子メカニズムとその生理的機能と技術応用」(ワークショップ).

- 第40回日本分子生物学会年会**(2017年12月6-9日,神戸).
- 57) L. Mochizuki A, Katanaya A, Hayashi E, Hosokawa M, Moribe E, Motegi A, Ishiai M, Takata M, Kondoh G, Watanabe H, Nakatsuji N, Chuma S. PARI regulates stalled replication fork processing to maintain genome stability upon replication stress in mice. **日本遺伝学会第89回大会**(2017年9月13-16日,岡山).
- 58) 高田穰. ファンコニ貧血とゲノム損傷修復因子:患者サンプル解析による希少疾患病態解明を目指して. **金沢大学薬学シンポジウム2017**(2017年10月6日,金沢).
- 59) 高田穰.「ファンコニ貧血の原因遺伝子探索と相同組換えの新規メカニズム」. **名古屋大学平成29年度基盤医学特論(招待講演)**(2017年9月21日,名古屋).
- 60) 久保田美子, 久慈強, 古山和道. ヘム生合成経路の律速酵素 ALAS1 の分解経路の低下によるゲノム不安定性の誘導. **2017年度生命科学系学会合同年次大会**(2017年12月6-9日,神戸).
- 61) 金子桐子, 千田大誠, 久保田美子, 野村和美, 古山和道. ALAS2 変異による遺伝性鉄芽球性貧血のモデル細胞樹立. **2017年度生命科学系学会合同年次大会**(2017年12月6-9日,神戸).
- 62) 野村和美, 北川悠, 大木祐亮, 久保田美子, 金子桐子, 古山和道. ヒト CLPX-CLPP 複合体によるヘム結合型 ALAS1 の認識及び分解メカニズムの解明. **2017年度生命科学系学会合同年次大会**(2017年12月6-9日,神戸).
- 63) 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**(2017年10月20-22日,東京).
- 64) 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).
- 65) 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).
- 66) 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).
- 67) 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遺伝子変異の女児例. **第59回日本小児神経学会学術集会**(2017年6月15-17日,大阪).
- 68) 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).
- 69) 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).
- 70) 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).
- 71) 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).
- 72) 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).
- 73) Kanazaki R, Toki T, Terui K, Sasaki S, Kudo K, Kamio T, Sato T, Ikeda F, Ito E. Dysregulation of *KIT* expression by GATA1s in TAM and acute megakaryoblastic leukemia in Down syndrome. **第78回日本血液学会学術集会**(2016年10月15日,横浜).
- 74) Kubota Y, Uryu K, Kawai T, Ito T, Hanada I, Toki T, Seki M, Yoshida K, Sato Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J. DNA methylation analysis in acute lymphoblastic leukemia of

- Down syndrome. **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) .
- 75) 照井君典, 土岐力, 濱麻人, 村松秀城, 長谷川大輔, 朴明子, 岩本彰太郎, 多賀崇, 柳澤龍, 康勝好, 林泰秀, 足立壯一, 水谷修紀, 渡邊健一郎, 伊藤悦朗. 一過性異常骨髄増殖症における GATA1 遺伝子変異 JPLSG TAM-10 登録症例の解析 (GATA1 mutation status in infants with transient abnormal myelopoiesis: A report from the JPLSG TAM-10 study). **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) .
- 76) Kondo A, Fujiwara T, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Sawada K, Harigae H. Identification of a novel putative mitochondrial protein FAM210B associated with erythroid differentiation. **第78回日本血液学会** (2016年10月, 横浜) .
- 77) Saito K, Inokura K, Fujiwara T, Hatta S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizawa K, Shimoda K, Harigae H. Impact of TET2 deficiency on iron metabolism in erythroblasts. **第78回日本血液学会** (2016年10月, 横浜) .
- 78) Onodera K, Fujiwara T, Onishi Y, Okitsu Y, Itoh-Nakadai A, Okitsu Y, Fukuhara N, Ishizawa K, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. GATA2 regulates dendritic cell differentiation. **第78回日本血液学会** (2016年10月, 横浜) .
- 79) 矢部普正. 遺伝性疾患に対する同種造血細胞移植. **第78回日本血液学会学術集会** (教育講演) (2016年10月15日, 横浜) .
- 80) 菅野仁. (依頼講演) 先天性溶血性貧血の診断と治療～次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子検査と分子標的薬の登場. **第40回埼玉先端血液懇話会** (2016年11月24日, 大宮) .
- 81) 谷諭美, 花谷あき, 佐原真澄, 松丸重人, 千葉幸英, 鶴田敏久, 菅野仁, 中舘尚也, 永田智. 酸素親和性の上昇を認めた不安定ヘモグロビン症の1例. **第119回日本小児科学会学術集会** (2016年5月13日-15日, 札幌) .
- 82) 岩崎拓也, 山本俊至, 村松秀城, 奥野友介, 佐藤裕子, 三井哲夫, 小野田正志, 矢野未央, 小松博史, 坂本謙一, 青木貴子, 岡本好雄, 槍澤大樹, 小倉浩美, 小島勢二, 菅野仁. 先天性溶血性貧血の診断におけるターゲットシーケンシングの有用性. **第78回日本血液学会学術集会** (2016年10月14日, 横浜) .
- 83) 野口隼, 千葉悠太, 中舘尚成, 伊藤裕司, 土岐力, 伊藤悦朗, 菅野仁, 石黒精. 赤血球還元型グルタチオン測定が診断に有用であったパルボウイルス感染母体出生の先天性赤芽球癆. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会** (2016年12月15-17日, 東京) .
- 84) 新敷信人, 菅野仁, 高桑雄一. ヒト赤血球膜においてフォスファチジルセリンが内層に維持されるメカニズム. **第89回日本生化学会大会** (2016年9月25-27日, 仙台) .
- 85) 新敷信人, 菅野仁, 高桑雄一. ヒト赤血球膜におけるフリッパーゼ分子の同定とリン脂質非対称性維持のメカニズム. **第58回日本脂質生化学会** (2016年6月9日, 秋田) .
- 86) 新敷信人, 菅野仁, 高桑雄一. ヒト赤血球膜におけるフリッパーゼ分子の同定. 日本膜学会38年会 (2016年5月10日, 東京) .
- 87) 高田穰. 新規ファンコニ貧血原因遺伝子であるRFWD3/FANCWの相同組換え修復における役割の解明. **第8回群馬大学 Genome Damage Discussion Group セミナー** (招待講演) (2016年12月21日, 前橋) .
- 88) Takata M. “Genetic basis for childhood bone marrow failure and malignancies” A novel Fanconi anemia gene regulates ICL repair and homologous recombination. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会シンポジウム** (招待講演) (2016年12月15-17日, 東京) .
- 89) 稲野将二郎, 佐藤浩一, 勝木陽子, 石合正道, 中田慎一郎, 胡桃坂仁志, 高田穰. 新規ファンコニ貧血遺伝子RFWD3による相同組換え修復制御メカニズム. **九州大学薬学部・藤田雅俊研究室研究セミナー** (招待講演) .
- 90) 稲野将二郎, 佐藤浩一, 勝木陽子, 石合正道, 中田慎一郎, 胡桃坂仁志, 高田穰. 相同組換えにおけるRPAおよびRAD51の動態制御はRFWD3によるユビキチン化に依存する. **第75回日本癌学会学術総会 シンポジウム18** がんにおける染色体・ゲノム不安定性の分子基盤 (2016年10月6-8日, 横浜) .
- 91) 稲野将二郎, 佐藤浩一, 勝木陽子, 中田慎一郎, 石合正道, 胡桃坂仁志, 高田穰. An E3 ligase RFWD3 is a critical component that facilitates RPA and RAD51 dynamics in homologous recombination. 放射線・ゲノムストレスに対抗する多彩な生命システムの解明に向けて. **放射線影**

- 響学会第59回大会 (ワークショップ) (招待講演)**
(2016年10月26日, 広島)。
- 92) 石合正道. 放射線・ゲノムストレスに対抗する多彩な生命システムの解明に向けて. **放射線影響学会第59回大会 (ワークショップ)** (2016年10月26日, 広島)。
- 93) 田部井由依, 大橋由佳, 坂本裕貴, 小摩木里奈, 穀田哲也, 勅使河原愛, 飯島健太, 高田穰, 小松賢志, 田内広. 損傷応答キナーゼ活性が相同組換え修復に与える影響. **放射線影響学会第59回大会** (2016年10月26-28日, 広島)。
- 94) 久保田美子, 野村和美, 蝦名真行, 金子桐子, 加藤恭丈, 古山和道. 非特異的5-アミノレブリン酸合成酵素(ALAS1)のCLPXPによる翻訳後修飾. **第89回日本生化学会大会** (2016年9月, 仙台)。
- 95) 野村和美, 久保田美子, 金子桐子, 蝦名真行, 古山和道. ヒトCLPX-CLPP複合体によるミトコンドリアマトリクスのタンパク質品質管理機構の解明. **第89回日本生化学会大会** (2016年9月, 仙台)。
- 96) 濱麻人, 真部淳, 長谷川大輔, 野沢和江, 成田敦, 村松秀城, 高橋義行, 渡邊健一郎, 小原明, 伊藤雅文, 小島勢二. 小児再生不良性貧血および低形成骨髄異形成症候群における臨床的予後の比較. **第78回日本血液学会学術集会** (2016年10月, 横浜)。
- 97) Kanegane H. Pancytopenia and primary immunodeficiency diseases. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会** (2016年12月, 東京)。
- 98) 濱麻人, 真部淳, 長谷川大輔, 野沢和江, 成田敦, 村松秀城, 高橋義行, 渡邊健一郎, 小原明, 伊藤雅文, 小島勢二. 小児再生不良性貧血および骨髄異形成症候群の形態中央診断: 1500例のまとめ. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会** (2016年12月, 東京)。
- 99) 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)。
- 100) 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)。
- 101) 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)。
- 102) 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)。
- 103) 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)。
- 104) 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)。
- 105) 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)。
- 106) 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)。
- 107) 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)。
- 108) 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)。
- 109) 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・スーリ工症候群のブラジル人女児. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会** (2016年12月, 東京)。
- 110) 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. 破碎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)。
- 111) 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)。
- 112) 國島伸治. GF11B 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)。

表.

Diagnosis / Year	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2015 - 2017
Hospitals (registered/member)	184 / 223	204 / 231	212 / 235	213 / 236	216 / 239	216 / 239	219 / 242	212 / 230	171 / 232	158 / 239	165 / 236	145 / 230	
(%)	83%	88%	90%	90%	90.3%	90.4%	90.5%	92%	74%	66%	70%	63%	Subtotal
Idiopathic AA	58	62	68	68	55	62	49	58	41	54	46	32	132
Hepatitis AA	5	8	11	7	13	5	11	3	5	8	15	6	29
AA / PNH	2	1	1	0	1	0	0	0	0	ND	·	·	0
PNH	ND	·	·	·	·	·	·	0	3	0	ND	·	0
Fanconi Anemia	5	4	6	1	4	2	6	6	3	4	3	3	10
Diamond-Blackfan	9	6	9	10	6	9	6	11	10	12	6	3	21
Idiopathic PRCA	1	4	5	8	5	7	6	6	1	7	6	7	20
Schwachman-Diamond	0	1	1	2	0	0	2	2	0	2	1	1	4
Cong. Dyserythropoietic anemia	ND	·	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
Sideroblastic anemia	ND	·	2	1	1	0	1	0	1	0	1	1	2
Svere Cong. Neutropenia	2	1	2	0	3	4	4	1	2	1	1	2	4
Cyclic Neutropenia	1	3	2	3	2	3	5	3	0	4	0	1	5
Dyskeratosis congenita	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	3
Cong. Thrombocytopenia							12	11	19	14	16	12	42
Cong. Spherocytosis	ND	·	·	·	54	49	26	48	50	64	48	53	165
Cong. Elliptocytosis	ND	·	·	·	2	1	1	2	1	0	1	3	4
G6PD deficiency	ND	·	·	·	5	5	3	3	6	9	6	2	17
PK deficiency	ND	·	·	·	0	0	0	0	0	3	0	0	3
other erythrocyte enzyme def.	ND	·	·	·	2	0	0	0	0	2	0	1	3
Sickel cell disease	ND	·	·	·	1	1	0	1	1	0	0	0	0
Unstable hemoglobinopathy	ND	·	·	·	1	0	0	0	2	4	1	0	5
Thalasemia	ND	·	·	·	18	16	11	8	10	14	16	25	55
other hemoglobinopathy	ND	·	·	·	0	0	0	1	0	1	1	3	5
Refract. Cytopenia Child., RCC	ND	·	·	·	·	·	·	·	20	21	15	ND	36

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

DBAの遺伝子診断・診療ガイドラインの作成

研究分担者 伊藤悦朗（弘前大学大学院医学研究科小児科学 教授）
研究協力者 土岐 力（弘前大学大学院医学研究科小児科学 講師）
神尾卓哉（弘前大学医学部附属病院小児科 助教）
佐藤知彦（弘前大学医学部附属病院小児科 助教）

研究要旨： Diamond Blackfan 貧血（DBA）は、赤血球造血のみが障害される稀な先天性赤芽球癆である。原因遺伝子として 15 種類のリボソームタンパク（RP）遺伝子と *GATA1* 遺伝子が同定されている。しかし、我が国の DBA 患者の約半数は原因遺伝子が不明である。本年度も日本小児血液・がん学会の中央診断事業と疾患登録事業とも連携し、正確な診断に基づいた新規症例の把握と検体収集を行い、臨床的に DBA と診断された 64 例中 31 例（%）に既報の遺伝子変異を認めた。これまでに 221 例の DBA の臨床情報と検体の収集および遺伝子解析を行い、128 例（57.9%）に原因となる RP 遺伝子変異を見出した。この中には、我々が見出した新規原因遺伝子 *RPL27*, *RPS27* 及び *RPS15A* が含まれている。さらに、最近、DBA の近縁疾患の中に、がん抑制遺伝子 *TP53* の活性化変異が原因で起こる「新たな先天性骨髄不全症」を発見した（AJHG 2018）。これらのデータをもとに、日本小児血液・がん学会の再生不良性貧血・MDS 委員会と連携を取りながらエビデンスに基づいた診断基準および診断・治療ガイドラインの小改訂を行った。研究代表者として、「2017 年度版診療ガイドライン」全体の監修を行い、日本小児血液・がん学会の認証を受けた後、同学会の編集書籍として、2017 年 10 月に診断と治療社より出版した。その後、2017 年度は悪性腫瘍の合併を考慮した「DBA の重症度分類」の改定、2018 年度は「DBA の診断基準および診断・治療ガイドライン」の小改訂を行った。

A．研究目的

Diamond-Blackfan 貧血（DBA）は、赤血球造血のみが障害される稀な先天性赤芽球癆である。原因遺伝子として 15 種類のリボソームタンパク（RP）遺伝子と *GATA1* 遺伝子が同定されているが、我が国の DBA 患者の約半数は原因遺伝子が不明である。また、遺伝子診断により臨床的な診断が誤りであった症例が複数存在することが明らかとなった。本研究の目的は、これまでの研究を通じて確立した解析基盤を共有し、日本小児血液・がん学会の中央診断事業と疾患登録事業とも連携し、正確な診断に基づいた新規症例の把握と検体収集を行うことである。初年度（2016 年度）は、遺伝子診断の結果も含む精度の高い先天性造血不全のデータベースの作成を進め、診療ガイドラインの小改訂を行った。2017 年度以降は、

データ収集と観察研究を継続し、正確な先天性造血不全の実態把握を行い、より精度の高い疾患データベースの確立とエビデンスに基づいた診断基準、重症度分類と診療ガイドラインの改訂を行う。

B．研究方法

最初に、DBA で遺伝子変異が報告されている 12 種類の RP 遺伝子（*RPS7*, *RPS10*, *RPS17*, *RPS19*, *RPS24*, *RPS26*, *RPS27*, *RPL5*, *RPL11*, *RPL26*, *RPL27*, *RPL35a*）と *GATA1* 遺伝子について、次世代シーケンサー（MiSeq）を用いてターゲットシーケンスを行った。次に、定量的 PCR 法と SNP アレイ法により RP 遺伝子の欠失を解析した。

得られたデータベースをもとに、エビデンスに基づいた診断基準の改訂、重症度分類の策定および診

断・治療ガイドラインの改訂を行う。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従い、弘前大学医学部の倫理委員会の承認を得て、患者および家族に十分な説明を行い文書による同意を得たのち、検体を連結可能匿名化して解析を行った。

C. 研究結果

新規症例64名の遺伝子診断を行い、31例 (*RPS19* 11例、*RPL11* 6例、*RPL5* 5例、*RPS26* 4例、*RPS7* 3例、*RPL35A* 2例) で既知の原因遺伝子を同定した。これまでに遺伝子検査を施行した症例は221例となった。本研究事業とAMEDの「稀少小児遺伝性血液疾患研究班」(小島班)の連携研究により、新規原因候補遺伝子 *RPS15A* を見出した (*Haematologica* 2016)。さらに、DBAの近縁疾患の中に、がん抑制遺伝子 *TP53* の活性化変異が原因で起こる「新たな先天性骨髄不全症」の2症例を発見した (*AJHG* 2018)。

これらのデータをもとに、日本小児血液・がん学会の再生不良性貧血・MDS委員会と連携を取りながら、エビデンスに基づいた診断基準および診断・治療ガイドラインの小改訂を行った。DBAを含めた先天性骨髄不全症7疾患の診療ガイドラインの改訂版について、日本小児血液・がん学会での審議とパブリックコメントを終え、理事会において正式の診療ガイドラインとして承認された。なお、「2017年度版診療ガイドライン」は日本小児血液・がん学会の認証を受けた後、同学会の編集書籍として2017年10月に診断と治療社より出版された。専門医だけでなく一般小児科医をも読者対象とした実践的な内容とした。その後、2017年度は悪性腫瘍の合併を考慮した「DBAの重症度分類」の改定、2018年度は「DBAの診断基準および診断・治療ガイドライン」の小改訂を行った。2018年度には、難病プラットフォーム (AMED 松田班) を用いた「遺伝子診断の結果も含む精度の高い先天性骨髄不全症のレジストリ」の構築を進めるため、個別相談会に出席し、中央倫理委員会で承認を得るための準備を開始した。

D. 考察

我が国のDBAは、本研究事業により原因遺伝子も含め次第にその実態が明らかになってきた。まだ約

40%が原因遺伝子不明であるが、精度の高いデータベースの構築が進んでいると思われる。

DBAを含めた先天性骨髄不全症7疾患の診療ガイドラインの改訂版について、予め出版社とも協議し、日本小児血液・がん学会編集の書籍として出版することを念頭に改訂作業を行った。先天性骨髄不全症の学会認定のガイドラインはこれまでなく、専門医だけでなく一般小児科医の啓蒙活動にも大きく役立つことが期待される。

E. 結論

DBA近縁疾患の中に、がん抑制遺伝子 *TP53* の活性化変異が原因で起こる「新たな先天性骨髄不全症」を発見した。また、DBAの新規原因遺伝子 *RPS15A* を発見し、DBAの研究に大きく貢献した。

DBAの遺伝子診断を進め、精度の高いDBAのデータベースが構築されてきた。その成果にもとに診断基準、重症度分類と診療ガイドラインの改訂を行った。本研究班は、DBAの診療の質の向上に大きな貢献をしたと思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mori M, Hira A, Yoshida K, Muramatsu H, Okuno Y, Shiraishi Y, Anmae M, Yasuda J, Tadaka S, Kinoshita K, Osumi T, Noguchi Y, Adachi S, Kobayashi R, Kawabata H, Imai K, Morio T, Tamura K, Takaori-Kondo A, Yamamoto M, Miyano S, Kojima S, Ito E, Ogawa S, Matsuo K, Yabe H, Yabe M, Takata M. Pathogenic mutations identified by a multimodality approach in 117 Japanese Fanconi anemia patients. *Haematologica*. 2019. [Epub ahead of print]. doi: 10.3324/haematol.2018.207241.
- 2) Usami I, Imamura T, Takahashi Y, Suenobu SI, Hasegawa D, Hashii Y, Deguchi T, Hori T, Shimada A, Kato K, Ito E, Moriya-Saito A, Kawasaki H, Hori H, Yumura-Yagi K, Hara J, Sato A, Horibe K; Japan Association of Childhood Leukemia Study Group (JACLS). Discontinuation of L-asparaginase and poor response to prednisolone are associated with poor outcome of ETV6-RUNX1-positive pediatric B-cell precursor acute

- lymphoblastic leukemia. **Int J Hematol.** 2019;109(4):477-482. doi: 10.1007/s12185-019-02599-w.
- 3) Kudo K, Tanaka T, Kobayashi A, Terui K, Ito E. Zoledronic acid for relapsed Langerhans cell histiocytosis with isolated skull bone lesion. **Pediatr Int.** 2019;61(3):315-317. doi: 10.1111/ped.13774.
 - 4) Yabe M, Koike T, Ohtsubo K, Imai E, Morimoto T, Takakura H, Koh K, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S, Matsuo K, Mori M, Hira A, Takata M, Yabe H. Associations of complementation group, ALDH2 genotype, and clonal abnormalities with hematological outcome in Japanese patients with Fanconi anemia. **Ann Hematol.** 2019;98(2):271-280. doi: 10.1007/s00277-018-3517-0.
 - 5) Kudo K, Ueno H, Sato T, Kubo K, Kanazaki R, Kobayashi A, Kamio T, Sasaki S, Terui K, Kurose A, Yoshida K, Shiozawa Y, Toki T, Ogawa S, Ito E. Two siblings with familial neuroblastoma with distinct clinical phenotypes harboring an ALK germline mutation. **Genes Chromosomes Cancer.** 2018;57(12):665-669. doi: 10.1002/gcc.22676.
 - 6) Yagi H, Kageyama K, Kinoshita N, Niioka K, Yamagata S, Ito E, Daimon M. Relaxin-3 regulates corticotropin-releasing factor gene expression in cultured rat hypothalamic 4B cells. **Neurosci Lett.** 2019;692:137-142. doi: 10.1016/j.neulet.2018.11.009.
 - 7) Toki T, Yoshida K, Wang R, Nakamura S, Maekawa T, Goi K, Katoh MC, Mizuno S, Sugiyama F, Kanazaki R, Uechi T, Nakajima Y, Sato Y, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Shiozawa Y, Kataoka K, Shiraishi Y, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Sato T, Kamio T, Sakaguchi H, Ohga S, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Ohara A, Kanno H, Miyano S, Kojima S, Ishiguro A, Sugita K, Kenmochi N, Takahashi S, Eto K, Ogawa S, Ito E. De Novo Mutations Activating Germline TP53 in an Inherited Bone-Marrow-Failure Syndrome. **Am J Hum Genet.** 2018;103(3):440-447. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.07.020.
 - 8) Tsujimoto S, Osumi T, Uchiyama M, Shirai R, Moriyama T, Nishii R, Yamada Y, Kudo K, Sekiguchi M, Arakawa Y, Yoshida M, Uchiyama T, Terui K, Ito S, Koh K, Takita J, Ito E, Tomizawa D, Manabe A, Kiyokawa N, Yang JJ, Kato M. Diploidy analysis of NUDT15 variants and 6-mercaptopurine sensitivity in pediatric lymphoid neoplasms. **Leukemia.** 2018;32(12):2710-2714. doi: 10.1038/s41375-018-0190-1.
 - 9) Uemura S, Mori T, Nagano C, Takafuji S, Nishimura N, Toki T, Terui K, Ito E, Iijima K. Effective response to azacitidine in a child with a second relapse of myeloid leukemia associated with Down syndrome after bone marrow transplantation. **Pediatr Blood Cancer.** 2018:e27414. doi: 10.1002/pbc.27414.
 - 10) Sonoda M, Ishimura M, Ichimiya Y, Terashi E, Eguchi K, Sakai Y, Takada H, Hama A, Kanno H, Toki T, Ito E, Ohga S. Atypical erythroblastosis in a patient with Diamond-Blackfan anemia who developed del(20q) myelodysplasia. **Int J Hematol.** 2018;108(2):236. doi: 10.1007/s12185-018-2424-4.
 - 11) Kuwahara K, Kudo K, Yashima-Abo A, Katayama K, Kojima K, Tone K, Ito E, Nakazawa A, Iwafuchi H, Kurose A. Classic Hodgkin lymphoma with osseous involvement mimicking Langerhans cell histiocytosis in a child. **Hum Pathol.** 2018;77:147-151. doi: 10.1016/j.humpath.2017.12.016.
 - 12) Ito E, Terui K, Toki T. Inherited bone marrow failure syndrome, TAM. In **Hematological Disorders in Children**, edited by Eiichi Ishii, Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2017, pp. 145-170.
 - 13) Sonoda M, Ishimura M, Ichimiya Y, Terashi E, Eguchi K, Sakai Y, Takada H, Hama A, Kanno H, Toki T, Ito E, Ohga S. Atypical erythroblastosis in a patient with Diamond-Blackfan anemia who developed

- del(20q) myelodysplasia. **Int J Hematol.** 2018 Feb 23. doi: 10.1007/s12185-018-2424-4.
- 14) Matsuzaki Y, Rokunohe A, Minakawa S, Nomura K, Nakano H, Ito E, Sawamura D. Incontinentia pigmenti in a male (XY) infant with long-term follow up over 8 years. **J Dermatol.** 2018 Jan;45(1):100-103. doi: 10.1111/1346-8138.14002.
 - 15) Ikawa Y, Nishimura R, Maeba H, Fujiki T, Kuroda R, Noguchi K, Fukuda M, Mase S, Araki R, Mitani Y, Sato T, Terui K, Ito E, Kitabayashi I, Yachie A. Deep spontaneous molecular remission in a patient with congenital acute myeloid leukemia expressing a novel MOZ-p300 fusion transcript. **Leuk Lymphoma.** 2018;1-3. doi: 10.1080/10428194.2018.1434885.
 - 16) Noguchi J, Kanno H, Chiba Y, Ito E, Ishiguro A. Discrimination of Diamond-Blackfan anemia from parvovirus B19 infection by RBC glutathione. **Pediatr Int.** 2017;59(7):838-840. doi:10.1111/ped.13284.
 - 17) Ogasawara T, Kawauchi K, Mori N, Sakura H, Katoh F, Kanno H, Ito E. Successful long-term management with low-dose prednisolone in an adult patient with Diamond-Blackfan anemia. Successful long-term management with low-dose prednisolone in an adult patient with Diamond-Blackfan anemia. **Rinsho Ketsueki** 2017;58(8):917-921. doi:10.11406/rinketsu.58.917.
 - 18) Miot C, Imai K, Imai C, Mancini AJ, Kucuk XY, Kawai T, Nishikomori R, Ito E, Pellier I, Girod SD, Rosain J, Sasaki S, Chandrakasan S, Schmid JP, Okano T, Colin E, Olaya-Vargas A, Yamazaki-Nakashimada M, Qasim W, Padilla SE, Jones A, Krol A, Cole N, Jolles S, Bleesing J, Vraetz T, Gennery AR, Abinun M, Güngör T, Carvalho BC, Condino-Neto A, Veys P, Holland SM, Uzel G, Moshous D, Neven B, Ehl S, Döffinger R, Patel SY, Puel A, Bustamante J, Gelfand EW, Casanova JL, Orange JS, and Picard C. Hematopoietic stem cell transplantation in 29 patients hemizygous for hypomorphic IKBKG/ NEMO mutations. **Blood** 2017;130(12):1456-1467. doi:10.1182/blood-2017-03-771600.
 - 19) Matsuo H, Shiga S, Imai T, Kamikubo Y, Toki T, Terui K, Ito E, Adachi S. Purification of leukemic blast cells from blood smears using laser microdissection. **Int J Hematol.** 2017;106(1):55-59. doi:10.1007/s12185-017-2227-z.
 - 20) Noujima-Harada M, Takata K, Miyata-Takata T, Sakurai H, Igarashi K, Ito E, Nagakita K, Taniguchi K, Ohnishi N, Omote S, Tabata T, Sato Y, Yoshino T. Frequent downregulation of BACH2 expression in Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma. **Cancer Sci.** 2017;108(5):1071-1079. doi:10.1111/cas.13213.
 - 21) Ichimura T, Yoshida K, Okuno Y, Yujiri T, Nagai K, Nishi M, Shiraishi Y, Ueno H, Toki T, Chiba K, Tanaka H, Muramatsu H, Hara T, Kanno H, Kojima S, Miyano S, Ito E, Ogawa S, Ohga S. Diagnostic challenge of Diamond-Blackfan anemia in mothers and children by whole-exome sequencing. **Int J Hematol.** 2017;105(4):515-520. doi:10.1007/s12185-016-2151-7.
 - 22) 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, Md, Miyano S, Kojima S. Clinical Utility of Next-generation Sequencing for Inherited Bone Marrow Failure Syndromes. **Genet Med.** 2017;19(7):796-802. doi: 10.1038/gim.2016.197.
 - 23) Ikeda F, Yoshida K, Toki T, Uechi T, Ishida S, Nakajima Y, Sasahara Y, Okuno Y, Kanazaki R, Terui K, Kamio T, Kobayashi A, Fujita T, Sato-Otsubo A, Shiraishi Y, Tanaka H, Chiba

- K, Muramatsu H, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Kenmochi N, Miyano S, Ogawa S, Ito E. Exome sequencing identified *RPS15A* as a novel causative gene for Diamond-Blackfan anemia. **Haematologica**. 2017;102(3):e93-e96. doi: 10.3324/haematol.2016.153932.
- 24) Shiba N, Yoshida K, Shiraishi Y, Okuno Y, Yamato G, Hara Y, Nagata Y, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Kato M, Park Mj, Ohki K, Shimada A, Takita J, Tomizawa D, Kudo K, Arakawa H, Adachi S, Taga T, Tawa A, Ito E, Horibe K, Sanada M, Miyano S, Ogawa S, Hayashi Y. Whole-exome sequencing reveals the spectrum of gene mutations and the clonal evolution patterns in paediatric acute myeloid leukaemia. **Br J Haematol**. 2016;175(3):476-489. doi: 10.1111/bjh.14247.
- 25) Yabe M, Yabe H, Morimoto T, Fukumura A, Ohtsubo K, Koike T, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S, Matsuo K, Hira A, Takata M. The phenotype and clinical course of Japanese Fanconi Anaemia infants is influenced by patient, but not maternal ALDH2 genotype. **Br J Haematol**. 2016;175(3):457-461. doi: 10.1111/bjh.14243.
- 26) Utsugisawa T, Uchiyama T, Toki T, Ogura H, Aoki T, Hamaguchi I, Ishiguro A, Ohara A, Kojima S, Ohga S, Ito E, Kanno H. Erythrocyte glutathione is a novel biomarker of Diamond-Blackfan anemia. **Blood Cells Mol Dis**. 2016;59:31-6.
- 27) Banno K, Omori S, Hirata K, Nawa N, Nakagawa N, Nishimura K, Ohtaka M, Nakanishi M, Sakuma T, Yamamoto T, Toki T, Ito E, Yamamoto T, Kokubu C, Takeda J, Taniguchi H, Arahori H, Wada K, Kitabatake Y, Ozono K. Systematic Cellular Disease Models Reveal Synergistic Interaction of Trisomy 21 and GATA1 Mutations in Hematopoietic Abnormalities. **Cell Rep**. 2016;15(6):1228-41. doi: 10.1016/j.celrep.2016.04.031.
- 28) Yoshimi A, Toya T, Nannya Y, Takaoka K, Kirito K, Ito E, Nakajima H, Hayashi Y, Takahashi T, Moriya-Saito A, Suzuki K, Harada H, Komatsu N, Usuki K, Ichikawa M, Kurokawa M. Spectrum of clinical and genetic features of patients with inherited platelet disorder with suspected predisposition to haematological malignancies: a nationwide survey in Japan. **Ann Oncol**. 2016;27(5):887-95. doi: 10.1093/annonc/mdw066.
- 29) Ogasawara S, Saito N, Itoga M, Kushibiki M, Nakata R, Ohta E, Fujita E, Kojima K, Terui K, Ito E, Kayaba H. Spurious thrombocytosis caused by tumor cell lysis in a patient with acute monocytic leukemia. **Clin Lab**. 2016;62:1575-7. doi: 10.7754/Clin.Lab.2016.151218.
- 30) Miura R, Yokoyama Y, Shigeto T, Futagami M, Mizunuma H, Kurose A, Tsuruga K, Sasaki S, Terui K, Ito E. Dysgerminoma developing from an ectopic ovary in a patient with WAGR syndrome: A case report. **Mol Clin Oncol** 2016; 5:503-6.
- 31) Taga T, Watanabe T, Tomizawa D, Kudo K, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Iwamoto S, Nakayama H, Takahashi H, Shimada A, Taki T, Toki T, Ito E, Goto H, Koh K, Saito AM, Horibe K, Nakahata T, Tawa A, Adachi S. Preserved High Probability of Overall Survival with Significant Reduction of Chemotherapy for Myeloid Leukemia in Down Syndrome: A Nationwide Prospective Study in Japan. **Pediatr Blood Cancer** 2016;63:248-54. doi: 10.1002/pbc.25789.
- 32) Ikeda F, Toki T, Kanezaki R, Terui K, Yoshida K, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Ogawa S, Ito E. ALDH2 polymorphism in patients with Diamond-Blackfan anemia in Japan. **Int J Hematol** 2016;103:112-4. doi: 10.1007/s12185-015-1891-0.
- 33) 伊藤悦朗, 土岐力, 照井君典. Down症候群. 白血病学(上) 最新の基礎・臨床研究. **日本臨床増刊号** 2016;74:97-102.
- 34) 照井君典, 土岐力, 伊藤悦朗. 一過性異常骨髓増殖症. 小児疾患診療のための病態生理3. **小児内科増刊号** 2016;48:953-6.

- 35) 照井君典, 伊藤悦朗. ダウン症に伴う急性巨核芽球性白血病の分子的理解と臨床応用. **血液フロンティア** 2016;26:1533-40.
- 36) 伊藤悦朗, 土岐力, 照井君典. 遺伝性骨髄不全症研究の最近の進歩. **臨床血液** 2016;57:882-90.
- 37) 新居敏, 藤野寿典, 赤澤嶺, 田尻雄二郎, 高野良彦, 巽亜子, 中道恵里那, 内藤拓人, 安西香織, 杉田亮, 竹川麻衣, 野村安隆, 肥田晋矢, 坂本晴子, 葭井操雄, 土岐力, 照井君典, 伊藤悦朗, 住本真一. 感染を契機に診断に至ったRPL11の遺伝子変異陽性Diamond-Blackfan anemiaの11歳男児例. **小児科臨床** 2016;69:1416-20.
- 38) 照井君典, 伊藤悦朗. 小児急性巨核芽球性白血病の生物学的特性. **血液内科** 2016;72:737-42.
2. 学会発表
国際学会
- 1) Kubota Y, Uryu K, Ito T, Kawai T, Seki M, Isobe T, Toki T, Yoshida K, Kataoka K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J. Integrated genetic and epigenetic analysis elucidated expression and methylation profiles of acute lymphoblastic leukemia in Down syndrome. **The 23th Congress of European Hematology Association** (2018年7月14-17日, スウェーデン・ストックホルム).
- 2) M. Labuhn, K. Perkins, E Papaemmanuil, S Matzk, C Scheer, Yoshida K, A Schwarzer, J Taub, J Crispino, MJ Weiss, Ito E, Seishi Ogawa, ML Yaspo, PJ Campbell, D Heckl, JH Klusmann, P Vyas. Modelling the progression of a preleukemic stage to overt leukemia in children with Down syndrome. **The 60th American Society of Hematology** (2018年12月1-4日, 米国・サンディエゴ).
- 3) Watanabe K, Kanegane H, Hamabata T, Kozuki K, Umeda K, Hama A, Okuno Y, Muramatsu H, Takahashi Y, Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Ito M, Kojima S, Ito E. Clinical and genetic characteristics of patients with Shwachman-Diamond syndrome in Japan. **The 60th American Society of Hematology** (2018年12月1-4日, 米国・サンディエゴ).
- 4) Kubota Y, Uryu K, Ito T, Kawai T, Seki M, Isobe T, Toki T, Yoshida K, Kataoka K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J. Integrated genetic/epigenetic analysis revealed high heterogeneity of acute lymphoblastic leukemia in Down syndrome. **American Society of Hematology 59th Annual Meeting** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ).
- 5) Hideki M, 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, Ogawa 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. **EWOG-S/SAA2017** (2017年9月28-30日, イタリア・ローマ).
- 6) Uechi T, Yoshihama M, Nakajima Y, Suzuki Y, Sugano S, Ito E, Kenmochi N. Ribosomal dysfunction and defective erythropoiesis in a zebrafish model of Diamond-Blackfan anemia. **The 22nd Annual Meeting of the RNA Society** (2017年5月30日-6月3日, プラハ・チェコ).
- 7) Ito E, Yoshida K, Toki T, Saida S, Watanabe K, Nakamura M, Terui K, Nakahata T, Miyano S, Watanabe A, Ogawa S. Genetic and Epigenetic Alterations in Acute Megakaryoblastic Leukemia in Down Syndrome. **Fifth JCA- AACR Special Joint Conference -The Latest Advances in Hematological Cancer Research: From Basic Science to Therapeutics** (招待講演)(2016年7月15日, 千葉).
- 8) Terui K, Toki T, Hama A, Muramatsu H, Hasegawa D, Park MJ, Iwamoto S, Taga T, Yanagisawa R, Koh K, M. Saito A, Horibe K, Hayashi Y, Adachi S, Mizutani S, Watanabe K, Ito E. Analysis of *GATA1* mutations in

Down syndrome infants with transient abnormal myelopoiesis and clinical impacts of *GATA1* mutation types: A report from the JPLSG TAM-10 study. **58th Annual Meeting & Exposition** (2016年12月3-6日, 米国・サンディエゴ) .

- 9) Kubota Y, Uryu K, Kawai T, Ito T, Hanada I, Toki T, Seki M, Yoshida K, Sato Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J. Gene expression profiles and methylation analysis in Down syndrome related acute lymphoblastic leukemia. **58th Annual Meeting & Exposition** (2016年12月3-6日, 米国・サンディエゴ) .

国内学会

- 1) 伊藤悦朗 . ダウン症に伴う急性巨核芽球性白血病の多段階発症の分子機構 . **第60回日本小児血液・がん学会学術集会** (2018年11月14日-16日, 京都) .
- 2) 渡辺亮, 才田聡, 中村正裕, 土岐力, 金崎里香, 照井君典, 渡邊健一郎, 伊藤悦朗 . ダウン症児に発症する巨核芽球性白血病におけるエピゲノム異常 **第80回日本血液学会学術集会** (2018年10月12-14日, 大阪) .
- 3) Terui K, Toki T, Hama A, Muramatsu H, Hasegawa D, Park MJ, Iwamoto S, Taga T, Yanagisawa R, Koh K, M. Saito A, Horibe K, Hayashi Y, Adachi S, Mizutani S, Watanabe K and Ito E. Clinical impact of *GATA1* mutation types in infants with Down syndrome and TAM: JPLSG TAM-10 study. **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京) .
- 4) 土岐力 . 本邦における Diamond-Blackfan 貧血の診断的ターゲットおよびエクソームシーケンス (シンポジウム) . **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京) .
- 5) Hama A, Toki T, Kobayashi A, Muramatsu H, Okuno Y, Hasegawa D, Nozawa K, Yoshiyuki T, Watanabe K, Manabe A, Ito M, Ito E, Kojima S. ダイヤモンド-ブラックファン貧血の骨髄形態と臨床所見および遺伝子異常の関係 . **第59回日本小児血液・がん学会学術集会**

(2017年11月9-11日, 松山) .

- 6) 上地珠代, 吉浜麻生, 中島由香里, 鈴木穰, 伊藤悦朗, 剣持直哉 . リボソーム病モデルにおける mRNA の翻訳制御と疾患発症の分子機構 . **第19回日本 RNA 学会年会** (2017年7月19-21日, 松山) .
- 7) 関戸雄貴, 中館尚也, 石黒精, 照井君典, 土岐力, 伊藤悦朗, 吉田健一, 小川誠司, 小島勢二 . Blackfan-Diamond 症候群と鑑別を要した Shwachman-Diamond 症候群の姉弟例 . **第59回日本小児血液・がん学会学術集会** (2017年11月9-11日, 松山) .
- 8) Hideki M, 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, Ogawa 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, and Kojima S. Clinical sequencing of 375 patients with inherited and acquired bone marrow failure syndrome. **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京) .
- 9) Kanazaki R, Toki T, Terui K, Sasaki S, Kudo K, Kamio T, Sato T, Ikeda F, Ito E . Dysegregation of *KIT* expression by *GATA1*s in TAM and acute megakaryoblastic leukemia in Down syndrome. **第78回日本血液学会学術集会** (2016年10月15日, 横浜) .
- 10) Kubota Y, Uryu K, Kawai T, Ito T, Hanada I, Toki T, Seki M, Yoshida K, Sato Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J. DNA methylation analysis in acute lymphoblastic leukemia of Down syndrome. **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) .
- 11) 照井君典, 土岐力, 濱麻人, 村松秀城, 長谷川大輔, 朴明子, 岩本彰太郎, 多賀崇, 柳澤龍, 康勝好, 林泰秀, 足立壯一, 水谷修紀, 渡邊健一郎, 伊藤悦朗 . 一過性異常骨髄増殖症における *GATA1* 遺伝子変異 JPLSG TAM-10 登録症例の解析 (*GATA1* mutation status in infants with transient abnormal myelopoiesis: A

report from the JPLSG TAM-10 study) 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

該当なし

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

遺伝性鉄芽球性貧血

研究分担者 張替秀郎（東北大学大学院医学系研究科血液免疫病学分野 教授）

研究要旨： 遺伝性鉄芽球性貧血はミトコンドリアにおける鉄の代謝に関わる遺伝子の先天的異常により発症する難治性の貧血であり、骨髄における環状鉄芽球の出現を特徴とする。希少疾患である遺伝性鉄芽球性貧血の臨床データの解析や遺伝子変異については東北大学が拠点として解析している。最も代表的な遺伝性鉄芽球性貧血は赤血球におけるヘム合成系の初発酵素である赤血球型5-アミノレブリン酸合成酵素（ALAS2）の変異により発症するX連鎖性鉄芽球性貧血（XLSA）であるが、既知の遺伝子に変異が認められない症例も複数存在し、その発症機序は十分に解明されていない。研究期間内に9例の新規症例が登録され、うち5例はALAS2遺伝子の変異が同定された。

A．研究目的

鉄芽球性貧血（sideroblastic anemia）は骨髄に環状鉄芽球が出現することを特徴とする難治性貧血であり、遺伝性鉄芽球性貧血と後天性鉄芽球性貧血の2つに大きく分類される。先天性鉄芽球性貧血はミトコンドリアにおける鉄の代謝に関わる遺伝子の先天的異常により発症する稀な疾患であるため、その頻度、病態については不明である。本研究では、本邦における遺伝性鉄芽球性貧血の病態、遺伝子異常を明らかにし、鉄芽球性貧血の診断ガイドラインを確立させることを目的とする。

B．研究方法

難治性疾患克服事業「遺伝性鉄芽球性貧血の診断基準と治療法の確立」班から引き続き行っている全国調査で見出された症例・家系について既知の鉄芽球性貧血の原因遺伝子の変異解析を行う。既知の遺伝子変異が認められない家系については、「稀少小児遺伝性血液疾患の迅速な原因究明及び診断・治療法の開発に関する研究」班において次世代シーケンサーによる全エクソン解析あるいは全ゲノム解析を行う。この解析において候補遺伝子が見出された場合は、本班でその機能解析を行う。

（倫理面への配慮）

遺伝子解析研究について所属施設の倫理委員会の承認を得る。主治医に患者本人もしくは保護者への説明・同意の取得がなされた上で、遺伝子解析を行う。

C．研究結果

1例目の新規症例は41歳男性、貧血精査の結果、骨髄異形成症候群（環状鉄芽球を伴う不応性貧血）として赤血球輸血などで加療されていたが、兄弟にも同様の貧血症状を認めることから、遺伝性鉄芽球性貧血の診断依頼目的で紹介となった。データ上、小球性低色素性貧血（Hb 7.4 g/dL, MCV 66fL, MCH 19.9pg）鉄過剰症状（肝腫大、血清フェリチン 2859ng/mL）を認めていた。本人の末梢血液細胞を用いた遺伝子変異解析の結果、ALAS2遺伝子のHemizygous変異（R170L）が同定された。本変異は既報でも同一箇所の変異を認めており（Ohba et al. Ann Hematol 2013）これが原因遺伝子であると考えた。ビタミンB6補充は効果を認めないため、現在5アミノレブリン酸の有効性・安全性をみる臨床試験を施行中である。

2例目は41歳男性、家族歴なし。小球性貧血の精査のため18歳頃に骨髄検査を施行し、鉄芽球性貧血と診断。以後、患者の自己判断で通院はされていな

かった。40歳になり、肝障害・小球性貧血で近医より紹介があり、ヘモクロマトーシスに伴う肝硬変を認めていた。骨髓検査では引き続き環状鉄芽球を認めていたため、遺伝性鉄芽球性貧血の診断依頼目的で紹介となった。本人の末梢血液細胞を用いた遺伝子変異解析の結果、ALAS2遺伝子のHemizygous変異(R452H)が同定された。本変異は既報でも同一箇所の変異を認めており(Ohba et al. Ann Hematol 2013)、これが原因遺伝子であると考えた。本症例は、ビタミンB6補充の効果を認め、現在も引き続き加療中である。

3例目は61歳、女性。貧血、肝硬変、肝ヘモクロマトーシス、胃食道静脈瘤の既往あり。貧血の家族歴は明らかでない。近医にて汎血球減少(WBC 2400/uL, Hb 7.3g/dL, Plt 8.6 x 10⁴/uL, MCV 112.8fL)の精査目的で骨髓検査を施行した結果、全赤芽球中の60%に環状鉄芽球を認めた。染色体は正常核型で、MDSを示唆する異形性は認めなかった。遺伝性鉄芽球性貧血の可能性を考慮し遺伝子解析を施行した結果、新規のALAS2遺伝子のヘテロ変異を認めた(ALAS2 c.488 G>A, p.Arg163His)。組換え蛋白質を用いたALAS2活性測定の結果、変異ALAS2蛋白質の活性は野生型に比べ約1/20程度と有意に低下していた。本症例に対しビタミンB6補充を試みたものの不応であった。

4例目の新規症例は3歳男児、小球性貧血(Hb 7.0g/dL, MCV 58.8 fL)および骨髓における環状鉄芽球の出現あり、末梢血液細胞を用いた遺伝子解析の結果精査の結果、ALAS2遺伝子のHemizygous変異(p.R170H)が同定された。本変異は既報でも同一箇所の変異を認めており(Ohba et al. Ann Hematol 2013)これが原因遺伝子であると考えた。現在、ビタミンB6補充の有効性を確認中である。

5例目は49歳の女性、家族歴なし。大球性貧血(Hb 6.3 g/dL, MCV 112.3 fL)と骨髓環状鉄芽球を認める。本人の末梢血液細胞を用いた解析の結果、ALAS2遺伝子のHeterozygous変異(p.L515F)を認めた。

残りの4例についても全エクソン解析などの網羅的遺伝子解析を施行中である。

D. 考察

本邦における鉄芽球性貧血に関する全国調査の結果、遺伝性鉄芽球性貧血症例は計29例登録され、うち69%と大多数はALAS2の異常を認めた。ALAS2変

異に伴う遺伝性鉄芽球性症例は、男児発症、小球性貧血、鉄過剰症を特徴とするが、調査研究の結果、女性の夫球性鉄芽球性貧血の一部ではALAS2のHeterozygous変異が病因となりうることが示唆された(Fujiwara et al. Ann Hematol 2017)。骨髓異形成症候群に伴う鉄芽球性貧血でも夫球性鉄芽球性貧血を呈するため、女性において夫球性鉄芽球性貧血を認め、さらに造血細胞の異形成に乏しい場合は本症を念頭に置くことも重要である。本研究結果が今後の診療ガイドラインの改訂に寄与しうるかもしれない。

E. 結論

新たな遺伝性鉄芽球性貧血症例を見出すとともに、先天性骨髓不全症の診断ガイドラインにおける遺伝性鉄芽球性貧血の項の改訂・策定を行った。

F. 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Nakagawa R, Onishi Y, Kawajiri A, Onodera K, Furukawa E, Sano S, Saito K, Ichikawa S, Fujiwara T, Fukuhara N, Harigae H. Preemptive therapy for cytomegalovirus reactivation after daratumumab-containing treatment in patients with relapsed and refractory multiple myeloma. **Ann Hematol.** 2019. (in press)
 - 2) Saito K, Fujiwara T, Hatta S, Morita M, Ono K, Suzuki C, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Kawamata S, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. Generation and molecular characterization of human ring sideroblasts: A key role of ferrous iron in erythroid differentiation and ring sideroblast formation. **Mol Cell Biol.** 2019. (in press)
 - 3) Ochi T, Onishi Y, Nasu K, Onodera K, Kobayashi M, Ichikawa S, Fujiwara T, Fukuhara N, Yamada-Fujiwara M, Harigae H. Umbilical Cord Blood Transplantation Using Reduced-intensity Conditioning without Antithymocyte Globulin in Adult Patients with Severe Aplastic Anemia. **Biol Blood Marrow Transplant.** 2019;25:e55-e59.
 - 4) Fujiwara T, Harigae H. Molecular pathophysiology and genetic mutations in

- congenital sideroblastic anemia. **Free Radic Biol Med.** 2019;133:179-185.
- 5) Hatta S, Fujiwara T, Yamamoto T, Saito K, Kamata M, Tamai Y, Kawamata S, Harigae H. A defined culture method enabling the establishment of ring sideroblasts from induced pluripotent cells of X-linked sideroblastic anemia. **Haematologica** 2018;103:e188-e191.
 - 6) Ohashi K, Fujiwara T, Onodera K, Saito Y, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H. Establishment of a screening system to identify novel GATA-2 transcriptional regulators. **Tohoku J Exp Med.** 2018;244:41-52.
 - 7) Kato H, Itoh-Nakadai A, Matsumoto M, Ishii Y, Watanabe-Matsui M, Ikeda M, Ebina-Shibuya R, Sato Y, Kobayashi M, Nishizawa H, Suzuki K, Muto A, Fujiwara T, Nannya Y, Cazzola M, Ogawa S, Harigae H, Igarashi K. Infection perturbs Bach2- and Bach1-dependent erythroid lineage choice to cause anemia. **Nat Immunol.** 2018;19:1059-1070.
 - 8) Ishida H, Imamura T, Morimoto A, Fujiwara T, Harigae H. Five-aminolevulinic acid: New Approach for Congenital Sideroblastic Anemia. **Pediatr Int.** 2018;60:496-497.
 - 9) Kawakami T, Nakazawa H, Kawakami F, Matsuzawa S, Sudo Y, Sakai H, Nishina S, Sendo N, Sendo Y, Komatsu M, Umemura T, Yamaguti T, Kosho T, Fujiwara T, Harigae H, Ishida F. Successful treatment with vitamin B6 for X-linked sideroblastic anemia with ALAS2 R452H mutation. **Rinsho Ketsueki** 2018;59:401-406.
 - 10) Kanehira M, Fujiwara T, Nakajima S, Okitsu Y, Onishi Y, Fukuhara N, Ichinohasama R, Harigae H. An LPA1/3 axis governs cellular senescence of mesenchymal stromal cells and promotes growth and vascularization of multiple myeloma. **Stem Cells.** 2017;35:739-753.
 - 11) Kobayashi M, Kato H, Hada H, Itoh-Nakadai A, Fujiwara T, Inoguchi Y, Ichiyangi K, Muto A, Tomosugi N, Sasaki H, Harigae H, Igarashi K. Iron-heme-Bach1 axis is involved in erythroblast adaptation to iron deficiency. **Haematologica** 2017;102:454-465.
 - 12) Hasegawa S, Fujiwara T, Okitsu Y, Kato H, Sato Y, Fukuhara N, Onishi Y, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. Effects of in vivo deletion of GATA2 in bone marrow stromal cells. **Exp Hematol.** 2017;56:31-45.
 - 13) Fujiwara T, Fukuhara N, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Onishi Y, Furuyama K, Harigae H. A novel heterozygous ALAS2 mutation in a female with macrocytic sideroblastic anemia resembling myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts: A case report and literature review. **Ann Hematol.** 2017;96:1955-1957.
 - 14) Saito K, Fujiwara T, Ota U, Hatta S, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizuka M, Tanaka T, Harigae H. Dynamics of absorption, metabolism, and excretion of 5-aminolevulinic acid in human intestinal Caco-2 cells. **Biochem Biophys Res Commun.** 2017;11:105-111.
 - 15) Fujiwara T, Sasaki K, Saito K, Hatta S, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H. Forced FOG1 expression in erythroleukemia cells: induction of erythroid genes and repression of myelo-lymphoid transcription factor PU.1. **Biochem Biophys Res Commun.** 2017;485:380-387.
 - 16) Inokura K, Fujiwara T, Saito K, Iino T, Hatta S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizawa K, Shimoda K, Harigae H. Impact of TET2 deficiency on iron metabolism in erythroblasts. **Exp Hematol.** 2017;49:56-67.
 - 17) Kondo A, Fujiwara T, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Sawada K, Harigae H. Identification of a novel putative mitochondrial protein FAM210B associated with erythroid differentiation. **Int J Hematol.** 2016;103:387-395.
 - 18) Sakurai K, Fujiwara T, Hasegawa S, Okitsu

- Y, Fukuhara N, Onishi Y, Yamada-Fujiwara M, Ichinohasama R, Harigae H. Inhibition of human primary megakaryocyte differentiation by anagrelide: A gene expression profiling analysis. **Int J Hematol**. 2016;104:190-199.
- 19) Onodera K, Fujiwara T, Onishi Y, Okitsu Y, Itoh-Nakadai A, Okitsu Y, Fukuhara N, Ishizawa K, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. GATA2 regulates dendritic cell differentiation. **Blood** 2016;128:508-518.
2. 学会発表
- 1) Fujiwara T, Saito K, Hatta S, Suzuki C, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Tanaka T, Harigae H. Effect of ALA on in a model of X-linked sideroblastic anemia. **The 6th International ALA and Porphyrin Symposium** (2018年10月27日, 静岡) .
- 2) Fujiwara T, Saito K, Hatta S, Suzuki C, Onodera K, Ichikawa S, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Harigae H. The effect of TET2 disruption in human erythroid cells. **The 9th Japanese Society of Hematology International Symposium** (2018年7月27-28日, 京都) .
- 3) Saito K, Fujiwara T, Hatta S, Onodera K, Ichikawa S, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Harigae H. Characterization of in vitro model of X-linked sideroblastic anemia. **第80回日本血液学会** (2018年10月12-14日, 大阪) .
- 4) Ohashi K, Fujiwara T, Onodera K, Saito Y, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H. Establishment of a screening system to identify novel GATA-2 transcriptional regulators. **第80回日本血液学会** (2018年10月12-14日, 大阪) .
- 5) Onishi Y, Fujiwara M, Sano S, Nakagawa R, Kawajiri A, Saito K, Onodera K, Ichikawa S, Fukuhara N, Fujiwara T, Harigae H. Cyclosporine A treatment for T-cell large granular lymphocytic leukemia: a single-center experience. **第80回日本血液学会** (2018年10月12-14日, 大阪) .
- 6) Saito K, Fujiwara T, Hatta S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Harigae H. Generation and molecular characterization of human ring sideroblasts. **The 60th American Society of Hematology** (2018年12月1-4日, 米国・サンディエゴ) .
- 7) Saito K, Fujiwara T, Hatta S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Harigae H. Establishment and characterization of *in vitro* model of X-linked sideroblastic anemia. **The 59th American Society of Hematology** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ) .
- 8) Hasegawa S, Fujiwara T, Okitsu Y, Kato H, Sato Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizawa K, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. Role of GATA2 in the maintenance of bone marrow microenvironment. **The 59th American Society of Hematology** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ) .
- 9) Saito K, Fujiwara T, Morita M, Hatta S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Shimizu R, Harigae H. Establishment of in vivo and in vitro model of X-linked sideroblastic anemia. **The 22th Congress of European Hematology Association** (2017年6月22-25日, スペイン・マドリード) .
- 10) Hatta S, Fujiwara T, Yamamoto T, Kamata M, Tamai Y, Nakamura Y, Kawamata S, Harigae H. GENERATION OF INDUCED PLURIPOTENT STEM CELL-DERIVED ERYTHROBLASTS FROM A PATIENT WITH X-LINKED SIDEROBLASTIC ANEMIA. **The 7th International Bioiron Society** (2017年5月7-11日, 米国・ロサンゼルス) .
- 11) Fujiwara T, Sasaki K, Saito K, Hatta S, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H. Exploring the mechanism of FOG1-dependent transcriptional regulation in erythroid cells. **The 22th Congress of European Hematology Association** (2017年6月22-25日, スペイン・マドリード) .
- 12) Fujiwara T, Sasaki K, Saito K, Hatta S,

- Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H. Exploring the mechanism of FOG1-dependent transcriptional regulation in erythroid cells. **第79回日本血液学会**(2017年10月20-22日, 東京).
- 13) Hasegawa S, Fujiwara T, Okitsu Y, Kato H, Sato Y, Fukuhara N, Onishi Y, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. Role of GATA2 in the maintenance of the bone marrow microenvironment. **第79回日本血液学会**(2017年10月20-22日, 東京).
- 14) Hatta S, Fujiwara T, Yamamoto T, Kamata M, Tamai Y, Nakamura Y, Kawamata S, Harigae H. Generation of induced pluripotent stem cell-derived erythroblasts of X-linked sideroblastic anemia. **第79回日本血液学会**(2017年10月20-22日, 東京).
- 15) Saito K, Fujiwara T, Morita M, Hatta S, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Shimizu R, Harigae H. Establishment of in vivo and in vitro model of X-linked sideroblastic anemia by CRISPR/Cas9. **第79回日本血液学会**(2017年10月20-22日, 東京).
- 16) Kato H, Itoh A, Matsumoto M, Shibuya R, Sato Y, Kobayashi M, Muto A, Fujiwara T, Harigae H, Igarashi K. Bach1 and Bach2 orchestrate erythro-myeloid differentiation responding to environmental changes. **第79回日本血液学会**(2017年10月20-22日, 東京).
- 17) Kato H, Itoh-Nakadai A, Matsumoto M, Ebina-Shibuya R, Sato Y, Kobayashi M, Muto A, Fujiwara T, Harigae H, Igarashi K. Transcription Factor Bach1 and Bach2 Operate Erythro-myeloid Competitive Differentiation by Responding to Environmental Changes. **The 58th American Society of Hematology**(2016年, 米国・サンディエゴ).
- 18) Hatta S, Fujiwara T, Yamamoto T, Kamata M, Tamai Y, Nakamura Y, Kawamata S, Harigae H. Generation of induced pluripotent stem cell-derived erythroblasts from a patient with X-linked sideroblastic anemia. **The 58th American Society of Hematology**(2016年, 米
- 国・サンディエゴ).
- 19) Kondo A, Fujiwara T, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Sawada K, Harigae H. Identification of a novel putative mitochondrial protein FAM210B associated with erythroid differentiation. **第78回日本血液学会**(2016年10月, 横浜).
- 20) Saito K, Inokura K, Fujiwara T, Hatta S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizawa K, Shimoda K, Harigae H. Impact of TET2 deficiency on iron metabolism in erythroblasts. **第78回日本血液学会**(2016年10月, 横浜).
- 21) Onodera K, Fujiwara T, Onishi Y, Okitsu Y, Itoh-Nakadai A, Okitsu Y, Fukuhara N, Ishizawa K, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. GATA2 regulates dendritic cell differentiation. **第78回日本血液学会**(2016年10月, 横浜).
- 22) Onodera K, Fujiwara T, Onishi Y, Okitsu Y, Itoh-Nakadai A, Okitsu Y, Fukuhara N, Ishizawa K, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. GATA2 regulates dendritic cell differentiation. **第78回日本血液学会**(2016年10月, 横浜).

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

ファンコニ貧血の臨床データ解析・遺伝子診断・診療ガイドラインの作成

研究分担者 矢部普正（東海大学医学部基盤診療学系再生医療科 教授）

研究要旨： Fanconi 貧血（FA）は身体奇形と小児期発症の骨髄不全、白血病や固形がんを臨床的な特徴とし、DNA 修復障害を基盤とした遺伝性疾患である。京都大学高田研究室と共同で新規症例の遺伝子解析を進め、日本人 FA117 例のうち、113 例の責任遺伝子を特定し、213 の変異アリルを同定することができた。これらを臨床病態と比較検討することにより、我が国のファンコニ貧血の責任遺伝子や変異バリエーションの特徴を明らかにし、さらにアルデヒド代謝酵素遺伝子型による病態修飾を解明した。移植後長期患者における固形がん発症例も増加しており、これらを踏まえた診療ガイドラインの改訂が必要になった。

A．研究目的

Fanconi 貧血（FA）は DNA 修復欠損を基盤に、造血不全、身体奇形、白血病、固形がんなどを呈する稀な遺伝性疾患である。本研究では、我が国における FA の病態や遺伝子異常および臨床症状を明らかにし、診断基準や重症度基準を見直し、FA の診療ガイドラインを確立することを目的とする。

B．研究方法

末梢血リンパ球における染色体脆弱検査と、FANCA の multiplex ligation-dependent probe amplification（MLPA）を併用し、臨床症状とあわせて FA の診断を行う。FA 遺伝子については、京都大学放射線生物研究センター高田穰研究室にて、名古屋大学のターゲットシーケンスの結果を合わせて解析が行われた。以上で同定されなかった例では前ゲノムシーケンスおよび RNA シーケンスを用いた。さらに、京都大学にてアルデヒド分解酵素（ALDH2）の変異を解析し、臨床データと合わせて検討した。骨髄不全が進行し、輸血依存あるいは重症基準を満たすか、骨髄異形成症候群（MDS）あるいは白血病化した場合も同種造血細胞移植を行う。以上の結果を踏まえて FA の重症度基準、診療ガイドラインの作成および改訂を行った。

（倫理面への配慮）

「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」と「臨床研究に関する倫理指針を順守し、インフォームドコンセントに基づいた研究の計画を実施している。「ファンコニ貧血とその類縁疾患の原因遺伝子の探索および病態解明の研究」が東海大学倫理委員会で承認されている。

C．研究結果

現在までに 104 家系 117 例の日本人 FA 患者の原因遺伝子の解析を進め、最終的に 113 例の原因遺伝子を特定し、213 の変異アリルを同定した。その結果、FANCA が 58%、FANCG が 25%とこの両方で全体の 80%を占め、3 番目は FANCB であった。FANCA の 68 例からは 130 の変異アリルが検出され、c.2546delC 等の高頻度バリエーションはあるものの、多彩であった。FANCG では 29 例で 57 の変異アリルが検出されたが、その 86%を 2 つの高頻度変異バリエーションが占めた。以上は日本人 FA 患者の遺伝子診断を効率的に勧めるために有用な情報である。

原因遺伝子と表現型との関連では、FA-G 患者は FA-A 患者に比べて骨髄不全の発症時期が早いことが判明し、これがさらにアルデヒド代謝酵素遺伝子型によって修飾される。ALDH2 の母児解析を 35 症例について行った。出生時体重、奇形数、骨髄不全

の発症日時を母児各々の ALDH2 型で検討したところ、マウスとは異なり、母親の ALDH2 の遺伝子型は患児の表現型や骨髄不全発症に影響を与えないことが判明した。また、先天性の形成異常との関連では、重症の FACTERL-H 異常が、詳細な臨床情報のある 108 例中 10 例に認められ、特に FA-B、FA-I の患者で重症であった。白血化例における骨髄染色体核型では複合型に加え、monosomy を呈する症例の予後が不良であった。

当院で 2012 年までに同種造血細胞移植を施行し、5 年以上長期生存した 52 例中 15 例に固形がんの発症を認めた。舌がんが 5 例、上顎など他の口腔がんが 3 例、咽頭がんが 2 例、食道がんが 5 例、肝がんが 1 例、皮膚がん（ボーエン病）が 1 例で、うち 2 例は舌がんと食道がんの重複がんを発症した。死亡は肝がん 1 例、舌がん 1 例、食道がん 2 例、上顎がん 1 例で、10 例は固形がんの診断後も外科手術、放射線療法、一部の例では化学療法や分子標的療法を併用して生存中であるが、うち 2 例は再発を繰り返しており、生命予後は極めて不良である。患者に対する発がんリスクの説明が不十分と思われた時期の症例や定期的なフォローアップから漏れた症例に進行期の固形がんが多い傾向があった。

D . 考察

遺伝性骨髄不全症候群の原因遺伝子の同定はしばしば困難であるが、117 例中 113 例（97%）で原因遺伝子を同定できたことは、我が国の FA 患者の疫学、病態解明の点で、特筆に値する。欧米の Rockefeller University Fanconi Anemia Mutation Database では *FANCA* 57%、*FANCC* 15%、*FANCG* 11%と、*FANCC* の頻度の差が浮き彫りになり、その他にも *VACTERL-H* の頻度の差、アルデヒド代謝酵素遺伝子型の違いによる臨床病態の違いなども明らかとなり、貴重なデータと考えられた。

FA の治療として同種造血細胞移植が行われ、2000 年以降はフルダラビンが使用可能となり、少線量の放射線照射や抗胸腺細胞グロブリンや少量のシクロフォスファミドを組み合わせた前処置により、代替ドナー移植の成績も飛躍的に向上した。しかしながら、移植後の長期生存例が増えるに従い、固形がんの発症が増加した。固形がんの多くが成人後に発症することから、定期的なフォローアップとともに口腔内の変化や嚥下時の自覚症状など自分の体調に注意し、管理するヘルスリテラシーを身につける

よう指導すべきと考えられる。また、固形がんの発症臓器はさまざま、対応する診療科も口腔外科、耳鼻科、消化器内科・外科など多診療科の協力が必要であり、患者の経済的負担を軽減するための方策も必要と考えられる。

E . 結論

我が国最多の日本人 FA 患者の遺伝子解析を行い、ほとんど全ての症例の責任遺伝子を明らかにすることで、臨床病態の解明や効率的な診断方法の提案に結びつけることができ、治療としての造血細胞移植の成績向上と長期フォローアップにおける問題点とその対策についても立案が可能となり、ガイドライン作成上も極めて有用であった

F . 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Mori M, Hira A, Yoshida K, Muramatsu H, Okuno Y, Shiraishi Y, Anmae M, Yasuda J, Tadaka S, Kinoshita K, Osumi T, Noguchi Y, Adachi S, Kobayashi R, Kawabata H, Imai K, Morio T, Tamura K, Takaori-Kondo A, Yamamoto M, Miyano S, Kojima S, Ito E, Ogawa S, Matsuo K, Yabe H, Yabe M, Takata M. Pathogenic mutations identified by a multimodality approach in 117 Japanese Fanconi anemia patients. **Haematologica** 2019 Feb 21. pii: haematol.2018.207241. doi: 10.3324/haematol.2018.207241. [Epub ahead of print]
 - 2) Taylor M, Khan S, Stapleton M, Wang J, Chen J, Wynn R, Yabe H, Chinen Y, Boelens JJ, Mason RW, Kubaski F, Horovitz DDG, Barth AL, Serafini M, Bernardo ME, Kobayashi H, Orii KE, Suzuki Y, Orii T, Tomatsu S. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Mucopolysaccharidoses: Past, Present, and Future. **Biol Blood Marrow Transplant.** 2019 Feb 14. pii: S1083-8791(19)30137-5. doi: 10.1016/j.bbmt.2019.02.012. [Epub ahead of print] Review.
 - 3) Ono R, Watanabe T, Kawakami E, Iwasaki M, Tomizawa-Murasawa M, Matsuda M, Najima Y, Takagi S, Fujiki S, Sato R,

- Mochizuki Y, Yoshida H, Sato K, Yabe H, Kato S, Saito Y, Taniguchi S, Shultz LD, Ohara O, Amagai M, Koseki H, Ishikawa F. Co-activation of macrophages and T cells contribute to chronic GVHD in human IL-6 transgenic humanised mouse model. **EBioMedicine** 2019 Mar;41:584-596. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.02.001. Epub 2019 Feb 13.
- 4) Yamazaki N, Kosuga M, Kida K, Takei G, Fukuhara Y, Matsumoto H, Senda M, Honda A, Ishiguro A, Koike T, Yabe H, Okuyama T. Early enzyme replacement therapy enables a successful hematopoietic stem cell transplantation in mucopolysaccharidosis type IH: Divergent clinical outcomes in two Japanese siblings. **Brain Dev.** 2019 Feb 9. pii: S0387-7604(18)30541-2. doi: 10.1016/j.braindev.2019.01.008. [Epub ahead of print]
 - 5) Miyamura K, Yamashita T, Atsuta Y, Ichinohe T, Kato K, Uchida N, Fukuda T, Ohashi K, Ogawa H, Eto T, Inoue M, Takahashi S, Mori T, Kanamori H, Yabe H, Hama A, Okamoto S, Inamoto Y. High probability of follow-up termination among AYA survivors after allogeneic hematopoietic cell transplantation. **Blood Adv.** 2019 Feb 12;3(3):397-405. doi: 10.1182/bloodadvances.2018026039.
 - 6) Okamoto Y, Kudo K, Tabuchi K, Tomizawa D, Taga T, Goto H, Yabe H, Nakazawa Y, Koh K, Ikegame K, Yoshida N, Uchida N, Watanabe K, Koga Y, Inoue M, Kato K, Atsuta Y, Ishida H. Hematopoietic stem-cell transplantation in children with refractory acute myeloid leukemia. **Bone Marrow Transplant.** 2019 Feb 4. doi: 10.1038/s41409-019-0461-0. [Epub ahead of print]
 - 7) Kawashima N, Iida M, Suzuki R, Fukuda T, Atsuta Y, Hashii Y, Inoue M, Kobayashi M, Yabe H, Okada K, Adachi S, Yuza Y, Kawa K, Kato K. Prophylaxis and treatment with mycophenolate mofetil in children with graft-versus-host disease undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a nationwide survey in Japan. **Int J Hematol.** 2019 Jan 29. doi: 10.1007/s12185-019-02601-5. [Epub ahead of print]
 - 8) Umeda K, Yabe H, Kato K, Imai K, Kobayashi M, Takahashi Y, Yoshida N, Sato M, Sasahara Y, Kato K, Adachi S, Koga Y, Okada K, Inoue M, Hashii Y, Atsuta Y, Morio T; Inherited Disease Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Impact of low-dose irradiation and in vivo T-cell depletion on hematopoietic stem cell transplantation for non-malignant diseases using fludarabine-based reduced-intensity conditioning. **Bone Marrow Transplant.** 2018 Dec 7. doi: 10.1038/s41409-018-0418-8. [Epub ahead of print]
 - 9) Yabe M, Koike T, Ohtsubo K, Imai E, Morimoto T, Takakura H, Koh K, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S, Matsuo K, Mori M, Hira A, Takata M, Yabe H. Associations of complementation group, ALDH2 genotype, and clonal abnormalities with hematological outcome in Japanese patients with Fanconi anemia. **Ann Hematol.** 2018 Oct 27. doi: 10.1007/s00277-018-3517-0. [Epub ahead of print]
 - 10) Yakushijin K, Ikezoe T, Ohwada C, Kudo K, Okamura H, Goto H, Yabe H, Yasumoto A, Kuwabara H, Fujii S, Kagawa K, Ogata M, Onishi Y, Kohno A, Watamoto K, Uoshima N, Nakamura D, Ota S, Ueda Y, Oyake T, Koike K, Mizuno I, Iida H, Katayama Y, Ago H, Kato K, Okamura A, Kikuta A, Fukuda T. Clinical effects of recombinant thrombomodulin and defibrotide on sinusoidal obstruction syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. **Bone Marrow Transplant.** 2018 Aug 20. doi: 10.1038/s41409-018-0304-4. [Epub ahead of print]

- 11) Inamoto Y, Matsuda T, Tabuchi K, Kurosawa S, Nakasone H, Nishimori H, Yamasaki S, Doki N, Iwato K, Mori T, Takahashi S, Yabe H, Kohno A, Nakamae H, Sakura T, Hashimoto H, Sugita J, Ago H, Fukuda T, Ichinohe T, Atsuta Y, Yamashita T; Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation Late Effects and Quality of Life Working Group. Outcomes of patients who developed subsequent solid cancer after hematopoietic cell transplantation. **Blood Adv.** 2018 Aug 14;2(15):1901-1913. doi: 10.1182/bloodadvances.2018020966.
- 12) Nakasone H, Tabuchi K, Uchida N, Ohno Y, Matsuhashi Y, Takahashi S, Onishi Y, Onizuka M, Kobayashi H, Fukuda T, Ichinohe T, Takanashi M, Kato K, Atsuta Y, Yabe H, Kanda Y. Which is more important for the selection of cord blood units for haematopoietic cell transplantation: the number of CD34-positive cells or total nucleated cells? **Br J Haematol.** 2018 May 29. doi: 10.1111/bjh.15418. [Epub ahead of print]
- 13) Takahashi H, Kajiwara R, Kato M, Hasegawa D, Tomizawa D, Noguchi Y, Koike K, Toyama D, Yabe H, Kajiwara M, Fujimura J, Sotomatsu M, Ota S, Maeda M, Goto H, Kato Y, Mori T, Inukai T, Shimada H, Fukushima K, Ogawa C, Makimoto A, Fukushima T, Ohki K, Koh K, Kiyokawa N, Manabe A, Ohara A. Treatment outcome of children with acute lymphoblastic leukemia: the Tokyo Children's Cancer Study Group (TCCSG) Study L04-16. **Int J Hematol.** 2018 Jul;108(1):98-108. doi: 10.1007/s12185-018-2440-4. Epub 2018 Mar 27.
- 14) Oshima K, Saiki N, Tanaka M, Imamura H, Niwa A, Tanimura A, Nagahashi A, Hirayama A, Okita K, Hotta A, Kitayama S, Osawa M, Kaneko S, Watanabe A, Asaka I, Fujibuchi W, Imai K, Yabe H, Kamachi Y, Hara J, Kojima S, Tomita M, Soga T, Noma T, Nonoyama S, Nakahata T, Saito MK. Human AK2 links intracellular bioenergetic redistribution to the fate of hematopoietic progenitors. **Biochem Biophys Res Commun.** 2018 Mar 4;497(2):719-725. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.02.139. Epub 2018 Feb 17.
- 15) Horikoshi Y, Umeda K, Imai K, Yabe H, Sasahara Y, Watanabe K, Ozawa Y, Hashii Y, Kurosawa H, Nonoyama S, Morio T. Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Leukocyte Adhesion Deficiency. **J Pediatr Hematol Oncol.** 2018 Jan 10. doi: 10.1097/MPH.0000000000001028. [Epub ahead of print]
- 16) Morishima Y, Azuma F, Kashiwase K, Matsumoto K, Orihara T, Yabe H, Kato S, Kato K, Kai S, Mori T, Nakajima K, Morishima S, Satake M, Takanashi M, Yabe T; Japanese Cord Blood Transplantation Histocompatibility Research Group. Risk of HLA Homozygous Cord Blood Transplantation: Implications for Induced Pluripotent Stem Cell Banking and Transplantation. **Stem Cells Transl Med.** 2018 Feb;7(2):173-179. doi: 10.1002/sctm.17-0169. Epub 2017 Dec 23.
- 17) Stapleton M, Kubaski F, Mason RW, Yabe H, Suzuki Y, Orii KE, Orii T, Tomatsu S. Presentation and Treatments for Mucopolysaccharidosis Type II (MPS II; Hunter Syndrome). **Expert Opin Orphan Drugs.** 2017;5(4):295-307. doi: 10.1080/21678707.2017.1296761. Epub 2017 Mar 8. PMID: 29158997.
- 18) Onishi Y, Mori T, Kako S, Koh H, Uchida N, Kondo T, Kobayashi T, Yabe H, Miyamoto T, Kato K, Suzuki R, Nakao S, Yamazaki H; Adult Aplastic Anemia Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Outcome of Second Transplantation Using Umbilical Cord Blood for Graft Failure after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Aplastic Anemia. **Biol Blood Marrow Transplant.** 2017 Aug 24. pii: S1083-8791(17)30655-9. doi: 10.1016/j.bbmt.2017.08.020. [Epub ahead of

print]

- 19) Kubaski F, Yabe H, Suzuki Y, Seto T, Hamazaki T, Mason RW, Xie L, Onsten TGH, Leistner-Segal S, Giugliani R, Dũng VC, Ngoc CTB, Yamaguchi S, Montaño AM, Orii KE, Fukao T, Shintaku H, Orii T, Tomatsu S. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Patients with Mucopolysaccharidosis II. **Biol Blood Marrow Transplant.** 2017 Oct;23(10):1795-1803. doi: 10.1016/j.bbmt.2017.06.020. Epub 2017 Jul 1.
- 20) Sekinaka Y, Mitsuiki N, Imai K, Yabe M, Yabe H, Mitsui-Sekinaka K, Honma K, Takagi M, Arai A, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Muramatsu H, Kojima S, Hira A, Takata M, Ohara O, Ogawa S, Morio T, Nonoyama S. Common Variable Immunodeficiency Caused by FANC Mutations. **J Clin Immunol.** 2017 Jul;37(5):434-444. doi: 10.1007/s10875-017-0396-4. Epub 2017 May 11.
- 21) Hoenig M, Lagresle-Peyrou C, Pannicke U, Notarangelo LD, Porta F, Gennery AR, Slatter M, Cowan MJ, Stepensky P, Al-Mousa H, Al-Zahrani D, Pai SY, Al Herz W, Gaspar HB, Veys P, Oshima K, Imai K, Yabe H, Noroski LM, Wulffraat NM, Sykora KW, Soler-Palacin P, Muramatsu H, Al Hilali M, Moshous D, Debatin KM, Schuetz C, Jacobsen EM, Schulz AS, Schwarz K, Fischer A, Friedrich W, Cavazzana M. Reticular dysgenesis: international survey on clinical presentation, transplantation and outcome. **Blood** 2017 Mar 22. pii: blood-2016-11-745638. doi: 10.1182/blood-2016-11-745638. [Epub ahead of print]
- 22) Sawamoto K, Suzuki Y, Mackenzie WG, Theroux MC, Pizarro C, Yabe H, Orii KE, Mason RW, Orii T, Tomatsu S. Current therapies for Morquio A syndrome and their clinical outcomes. **Expert Opin Orphan Drugs.** 2016;4(9):941-951. doi: 10.1080/21678707.2016.1214572. Epub 2016 Jul 28.
- 23) Shim YJ, Kim HS, Do YR, Ha JS, Yabe H. Sequential strategy for umbilical cord blood transplantation in a Korean Fanconi anemia girl with refractory acute myelomonocytic leukemia and complex karyotype. **Pediatr Transplant.** 2016 Dec 15. doi: 10.1111/petr.12871. [Epub ahead of print]
- 24) Imai J, Suzuki T, Yoshikawa M, Dekiden M, Nakae H, Nakahara F, Tsuda S, Mizukami H, Koike J, Igarashi M, Yabe H, Mine T. Fatal Hemorrhagic Gastrointestinal Angioectasia after Bone Marrow Transplantation for Dyskeratosis Congenita. **Intern Med.** 2016;55(23):3441-3444.
- 25) Nishikawa E, Yagasaki H, Hama A, Yabe H, Ohara A, Kosaka Y, Kudo K, Kobayashi R, Ohga S, Morimoto A, Watanabe KI, Yoshida N, Muramatsu H, Takahashi Y, Kojima S. Long-term outcomes of 95 children with moderate aplastic anemia treated with horse antithymocyte globulin and cyclosporine. **Pediatr Blood Cancer.** 2016 Nov 3. doi: 10.1002/pbc.26305. [Epub ahead of print]
- 26) Otsubo K, Yabe M, Yabe H, Fukumura A, Morimoto T, Kato M, Mochizuki H. Successful acute lymphoblastic leukemia-type therapy in two children with mixed-phenotype acute leukemia. **Pediatr Int.** 2016 Oct;58(10):1072-1076. doi: 10.1111/ped.13045.
- 27) Yabe H. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for inherited diseases. **Rinsho Ketsueki** 2016;57(10):2199-2207.
- 28) Yabe M, Yabe H, Morimoto T, Fukumura A, Ohtsubo K, Koike T, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S, Matsuo K, Hira A, Takata M. The phenotype and clinical course of Japanese Fanconi Anaemia infants is influenced by patient, but not maternal ALDH2 genotype. **Br J Haematol.** 2016 Nov;175(3):457-461. doi: 10.1111/bjh.14243.
- 29) Umeda K, Adachi S, Tanaka S, Miki M, Okada K, Hashii Y, Inoue M, Cho Y, Koh K, Goto H, Kajiwara R, Hyakuna N, Kato K, Morio T, Yabe H. Inherited Disease Working Group of the Japan Society for Hematopoietic

Cell Transplantation. Comparison of second transplantation and donor lymphocyte infusion for donor mixed chimerism after allogeneic stem cell transplantation for nonmalignant diseases. **Pediatr Blood Cancer**. 2016 Dec;63(12):2221-2229. doi: 10.1002/pbc.26141.

- 30) Sakaguchi H, Watanabe N, Matsumoto K, Yabe H, Kato S, Ogawa A, Inagaki J, Goto H, Koh K, Yoshida N, Kato K, Cho Y, Kosaka Y, Takahashi Y, Inoue M, Kato K, Atsuta Y, Miyamura K; Donor/Source Working Group of Japan Society of Hematopoietic Cell Transplantation. Comparison of Donor Sources in Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Childhood Acute Leukemia: A Nationwide Retrospective Study. **Biol Blood Marrow Transplant**. 2016 Dec;22(12):2226-2234. doi: 10.1016/j.bbmt.2016.09.020.
- 31) Atsuta Y, Hirakawa A, Nakasone H, Kurosawa S, Oshima K, Sakai R, Ohashi K, Takahashi S, Mori T, Ozawa Y, Fukuda T, Kanamori H, Morishima Y, Kato K, Yabe H, Sakamaki H, Taniguchi S, Yamashita T; Late Effect and Quality of Life Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Late Mortality and Causes of Death among Long-Term Survivors after Allogeneic Stem Cell Transplantation. **Biol Blood Marrow Transplant**. 2016 Sep; 22(9): 1702-9. doi: 10.1016/j.bbmt.2016.05.019.
- 32) Yasuda E, Suzuki Y, Shimada T, Sawamoto K, Mackenzie WG, Theroux MC, Pizarro C, Xie L, Miller F, Rahman T, Kecskemethy HH, Nagao K, Morlet T, Shaffer TH, Chinen Y, Yabe H, Tanaka A, Shintaku H, Orii KE, Orii KO, Mason RW, Montaña AM, Fukao T, Orii T, Tomatsu S. Activity of daily living for Morquio A syndrome. **Mol Genet Metab**. 2016 Jun; 118(2): 111-22. doi: 10.1016/j.ymgme.2016.04.005.
- 33) Kato S, Yabe H, Takakura H, Mugishima H, Ishige M, Tanaka A, Kato K, Yoshida N, Adachi S, Sakai N, Hashii Y, Ohashi T,

Sasahara Y, Suzuki Y, Tabuchi K. Hematopoietic stem cell transplantation for inborn errors of metabolism: A report from the Research Committee on Transplantation for Inborn Errors of Metabolism of the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare and the Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. **Pediatr Transplant**. 2016 Jan 25. doi: 10.1111/petr.12672. [Epub ahead of print]

総説

- 1) 今井枝里, 矢部普正. シドフォビル: 移植後ウイルス感染症. **小児内科** 2018;50(10):1715-1718.
- 2) 小池隆志, 矢部普正. ライソゾーム病に対する造血幹細胞移植 ムコ多糖症に対する移植成績の現状と有効性の評価. **医学のあゆみ** 2018;264:779-784.
- 3) 矢部普正, 矢部みはる. 成人の Fanconi 貧血の特徴と管理. **日本臨床** 2017;75(suppl 1):418-421.
- 4) 矢部普正, 矢部みはる. 遺伝性骨髄不全症候群. **小児内科** 2016;48(7):1050-1053.
- 5) 矢部普正. 非腫瘍性疾患に対する造血細胞移植. **日本造血細胞移植学会雑誌** 2016;5(1):1-12.

2. 学会発表

国際学会

- 1) Yabe H, Imai E, Sugimoto A, Otsubo K, Morimoto T, Mochizuki H, Koike T, Kato S and Yabe M. Full-dose busulfan-based conditioning regimen for pediatric non-malignant disease. **44th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation** (2018年3月18-21日, ポルトガル・リスボン).
- 2) Tsumanuma R, Omoto E, Kumagai H, Katayama Y, Iwato K, Aoki G, Sato Y, Tsutsumi Y, Miyazaki K, Tsukada N, Iino M, Shinagawa A, Atsuta Y, Koderia Y, Okamoto S, Yabe H. Efficacy and Safety of Biosimilar Filgrastim in Peripheral Hematopoietic Stem

Cell Mobilization Procedures for Related Allogeneic Transplantation. **44th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation** (2018年3月18-21日, ポルトガル・リスボン).

- 3) 矢部普正 . 遺伝性疾患に対する同種造血細胞移植 . **第78回日本血液学会学術集会** (教育講演) (2016年10月15日, 横浜) .
- 4) Yabe M, Morimoto T, Fukumura A, Ohtsubo K, Koike T, Shimizu T, Takakura H, Koh K, Ito E, Kojima S, Hira A, Takata M, Yabe H. Myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia in Japanese Fanconi anemia patients. **28th Annual Fanconi anemia research fund scientific symposium** (2016年9月, 米国・シアトル) .
- 5) Koike T, Ohtsubo K, Fukumura A, Shimizu T, Takakura H, Nakae S, Mochizuki H, Morimoto T, Kato S, Yabe M, and Yabe H. Hematopoietic stem cell transplantation for inherited bone marrow failure syndrome. **第39回日本造血細胞移植学会総会** (2017年3月3日, 松江) .

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

CDAの臨床データ解析・診療ガイドラインの作成

研究分担者 真部 淳（聖路加国際大学聖路加国際病院小児科 医長）

研究要旨：本研究の目的は Congenital dyserythropoietic anemia (CDA：先天性赤血球産生異常性貧血)の疾患像を明らかにすることである。CDAは先天性の赤血球系細胞の形成異常により、慢性貧血、無効造血および続発性ヘモクロマトーシスを伴う疾患である。この3年間の成果として、臨床情報とゲノム情報を統合して検討を行うとともにCDAの重症度分類を改訂し、診療ガイドラインを追補修正した。

A．研究目的

Congenital dyserythropoietic anemia (CDA：先天性赤血球産生異常性貧血)は先天的に赤血球系細胞に形成異常があり、慢性の不応性貧血、無効造血および続発性ヘモクロマトーシスを伴う稀な疾患群であるが、我が国ではこれまでCDAの実態が十分把握されていなかった。本研究により我が国におけるCDAの実態を明らかにし、最終的に効果的診断法や治療ガイドラインを作成することを目的とする。

B．研究方法

従来行われている日本小児血液・がん学会疾患登録、中央診断事業をもとに、我が国におけるCDAの把握ならびに診断を行う。診断を行うための診断基準、中央形態診断、遺伝子診断のシステムを構築する。疾患の把握は、過去に行われた全国調査を参考に、疑い症例を含みアンケート方式で行う。診断基準については既存のものを参考にしながら、軽症で診断基準に合致しないものも存在する可能性があるため、独自のものを作成する。調査は血液専門医だけでなく一般小児科医にも協力してもらう。

(倫理面への配慮)

本研究で行われる臨床試験は、

ヘルシンキ宣言に則り、患者の利益を最優先に考えて実施する。

調査フィールドとなる各施設における倫理委員会で承認を得て実施する。

患者および家族に対して面談・介入開始時に統

一した説明文を用いて文書による同意を得る。同意説明文では、調査を行う目的、介入・面談の内容、協力者に起こりうる利益・不利益について、未成年者の場合には年齢に応じた説明をする。

協力によって得られたデータは、個人情報保護を厳重に行い、研究目的以外には利用しないことを文書による同意を得て実施する。

C．研究結果

本疾患の診療ガイドラインを改訂している。また、臨床的にCDAと診断された12例について、エクソーム解析の結果と照合させて検討を行った。

臨床的にCDAタイプ1と診断された3例では全例で*CDNA1*遺伝子に変異が検出された。うち2例ではホモ変異がみられ、1例はコンパウンドヘテロ変異であった。

臨床的にCDAタイプ2と診断された6例ではこのタイプに特徴的とされる*SEC23B*の変異はみられなかった。その代わりに1例においてグルコース-6-リン酸脱水酵素(G6PD)欠損症の責任遺伝子である*G6PD*の変異がみられ、他の1例において遺伝性球状赤血球症(HS)の責任遺伝子である*SPTA1*(spectrina鎖)の変異がみられた。ともに先天性の溶血性貧血である。

臨床的にCDAタイプ3と診断された1例ではこのタイプに特徴的とされる*KIG23*の変異はみられず、またその他の変異もみられなかった。

D . 考察

我々は我が国でもCDA患者が一定数存在することを示してきたが、諸外国に比べ稀なためか、軽症例が多く見逃されているのかは未だに不明である。遺伝子解析を進めるとともにスクリーニングする集団を広げていき、実態を明らかにする必要がある。実際、臨床的にCDAと診断された症例において、通常はグルコース-6-リン酸脱水酵素 (G6PD) 欠損症でみられるG6PD遺伝性の変異がみられ、また遺伝性球状赤血球症でみられるSPTA1遺伝子の変異がみつかった。今後、CDAと溶血性疾患の境界例について臨床情報とゲノム情報を統合した解析を行い、新たな診断と治療のガイドラインの作成に繋げる必要がある。

国際的には毎年、新たな変異遺伝子が同定されている。型ではCDAN1に加えてC15ORF41遺伝子の変異が中東と東南アジアの家系でみつかった。なお、

型で報告されているSEC23B変異が多発性過誤腫症候群の原因遺伝子として同定された。今後国内症例を対象に検討する必要がある。なお、小児期のみならず成人に達して初めてCDAと診断される患者も多いため、血液内科医を対象に啓発活動を行うことが必要である。

E . 結論

我が国のCDAの実態の正確な把握をし、よりよい治療法を開発するため、今度も調査、研究が必要である。

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 bone marrow failure syndrome. **Genet Med.** 2017;19:796-802.
- 2) Kanamitsu K, Shimada A, Nishiuchi R, Shigemura T, Nakazawa Y, Koike K, Kodama Y, Shinkoda Y, Kawano Y, Yasui K, Sasaki K,

Kajiwara R, Tsukahara H, Manabe A. Pediatric intestinal Behcet disease complicated by myeloid malignancies. **Int J Hematol.** 2017;105:377-382.

- 3) Hirabayashi S, Seki M, Hasegawa D, Kato M, Hyakuna N, Shuo T, Kimura S, Yoshida K, Kataoka K, Fujii Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Kiyokawa N, Miyano S, Ogawa S, Takita J, Manabe A. Constitutional abnormalities of IDFH1 combined with secondary mutations predispose a patient with Maffucci syndrome to acute lymphoblastic leukemia. **Pediatr Blood Cancer.** 2019;64(12):e27612. Epub 2019 Jan 21.
 - 4) Takaoka K, Kawazu M, Koya J, Yoshimi A, Masamoto Y, Maki H, Toya T, Kobayashi T, Nannya Y, Arai S, Ueno H, Suzuki K, Harada H, Manabe A, Hayashi Y, Mano H, Kurokawa M: A germline HLTF mutation in familial MDS induces DNA damage accumulation through impaired PCNA polyubiquitination. **Leukemia** 2019. (in press)
 - 5) 西村聡、平林真介、山本俊亮、相賀咲央莉、西谷美佐、細谷要介、森慎一郎、長谷川大輔、真部淳 . Diamond-Blackfan貧血に対する強度減弱前処置を用いた骨髄移植 . **小児血液・がん学会雑誌** 2019. (in press)
 - 6) Hamada M, Doisaki S, Okuno Y, Muramatsu H, Hama A, Kawashima N, Narita A, Nishio N, Yoshida K, Kanno H, Manabe A, Taga T, Takahashi Y, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Whole-exome analysis to detect congenital hemolytic anemia mimicking congenital dyserythropoietic anemia. **Int J Hematol.** 2018;108(3):306-311.
 - 7) 平林真介, 鈴木美慧, 真部淳 . TP53変異と造血器腫瘍 . **臨床血液** 2019. (in press)
- ### 2. 学会発表
- 1) 濱麻人, 長谷川大輔, 真部淳, 野沢和江, 成田敦, 奥野友介, 村松秀城, 高橋義行, 渡邊健一郎, 小原明, 伊藤雅文, 小島勢二 . 遺伝性骨髄不全症における骨髄形態学的特徴 . **第60回日本小児血液・がん学会学術集会** (2018年11月

14-16日, 京都) .

- 2) Hasegawa D, Hirabayashi S, Nishimura A, Aiga S, Yamamoto S, Hosoya Y, Fujiwara T, Harigae H, Manabe A. Clonal evolution with monosomy 7 in Pearson syndrome. **International Meeting on childhood MDS and SAA** (2017年9月28-30日, イタリア・ローマ).
- 3) Hama A, Manabe A, Hasegawa D, Nozawa K, Narita A, Muramatsu H, Takahashi Y, Watanabe K, Ohara A, Ito M, Kojima S. Comparison of Clinical Outcomes between Pediatric Aplastic Anemia and Refractory Cytopenia of Childhood. **ASH 2016 アメリカ血液学会** (2016年12月, サンディエゴ).

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

中央診断，DKCとCDAの遺伝子診断・診療ガイドラインの作成

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）で行っている。中央診断症例を中心に集積された Congenital dyserythropoietic anemia (CDA) 22 例において、同意を得た後、遺伝子診断を行い、5 例で I 型、1 例で variant 型の責任遺伝子の変異を確認した。遺伝子変異が確認されなかった 12 症例については、次世代シーケンサーによる新規責任遺伝子の探索を行い、4 例で溶血性貧血の原因遺伝子の変異を確認した。また、様々な血液疾患症例 738 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、CDA 5 例 (CDAN1 2 例、SEC23B 2 例、KLF1 1 例)、DKC 15 例 (TINF2 8 例、TERT 4 例、DKC1 2 例、TERC 1 例) など、計 225 例 (32%) を遺伝子診断し得た。遺伝性造血不全の診断は必ずしも容易ではなく、中央診断、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。

A．研究目的

CDA は先天的に赤血球系細胞に形成異常があり、慢性の不応性貧血、無効造血および続発性ヘモクロマトーシスを伴う稀な疾患群である。I 型、II 型、III 型、variant 型の 4 病型に分類され、近年 I 型が *CDAN1*、II 型が *SEC23B*、III 型が *KIF23*、variant 型が *KLF1* と責任遺伝子が同定された。DKC はテロメア長短縮を特徴とする先天性造血不全症候群の一つで、現在までに DC の原因遺伝子としてテロメア長維持に関わる 11 遺伝子 (*DKC1*、*TERT*、*TERC*、*RTEL1*、*NOPI10*、*TINF2*、*CTC1*、*NHP2*、*WRAP53*、*ACD*、*PARN*) の異常が見出されている。

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、本疾患を包括的に登録するとともに、新たに遺伝子診断法による診断精度の向上と、新規責任遺伝子の探索を行う。

B．研究方法

中央診断事務局を名古屋大学小児科に設置した。

AA、MDS、あるいは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。以後はその番号でやりとりを行った（匿名化）。中央診断およびそれに伴う検査については患者保護者の同意を取得した後に行った。レビューは骨髄および末梢血塗抹標本を 2 施設（名古屋大学小児科、聖路加国際病院小児科）で、骨髄病理標本を 1 施設（名古屋第一赤十字病院病理部）で行った。

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・エクソームシーケンスを行った。すなわち、各症例より抽出したゲノムDNAを超音波破碎により断片化し、試料を識別する 6 塩基のBarcode配列を付与したのち、12 試料を混合し、常法に従って液相ハイブリダイゼーションにより関連する181遺伝子ないし全遺伝子のエクソン配列を濃縮した。得られた混合試料をIllumina社HiSeq2000 シーケンサーにより平均

読み取回数200回 を目標として全エクソン配列、対象遺伝子領域の解析を行った。アミノ酸置換を生じる翻訳領域の 一塩基変異 (single nucleotide variants; SNVs) および欠失・挿入配列からSNP データベースおよび1000personal genome データベースに登録済みのSNPを除去したのち、責任変異の候補となるSNV原因遺伝子の候補を絞り込んだ。

(倫理面への配慮)

日本小児血液・がん学会として行う疾患登録事業は、疫学研究倫理指針に準拠した臨床研究として、すでに学会倫理審査委員会で承認されている。調査にあたっては個人情報守秘を厳守し、データの取り扱いに注意する。中央診断事業についても、患者検体の匿名化を図る。検体の採取にあたっては患者および家族から事前に十分な説明を行い、文書による同意を得る。各疾患の遺伝子解析についてはヒトゲノム遺伝子解析研究指針に従い、患者および家族に事前に十分な説明を行い、文書による同意を得たのち連結可能匿名検体として研究を遂行する。患者および家族に対して不利益が生じる場合には、いつでも同意の撤回は可能である。既知の責任遺伝子に関しては、倫理委員会で承認されている。

C . 研究結果

CDAと診断され同意を得た症例について遺伝子診断を行った。22例中6例に遺伝子変異を確認し、5例では型の責任遺伝子*CDAN1*の変異(2例が(P1129L)、1例が(P185fs)、ex12(N598S)、1例がP293R、1例がR725W、P672L)を認めた。1例ではvariant型の責任遺伝子*KLF1*の変異(E325K)を認めた。型と診断された症例では骨髄において型に特徴的とされる核間架橋が確認された。

既知の責任遺伝子変異が認められなかった症例について、次世代シーケンスによるターゲットシーケンスを行った。

エクソームシーケンスによる新規責任遺伝子の探索では、12例中4例で溶血性貧血の原因遺伝子の変異を確認した。2例が*SPTA1*の変異((R28H)(Y2280C)(W2172X))であり、1例が*G6PD*の変異(V424L)であり、1例が*ANK1*の変異(R935X)であった。

また、さまざまな血液疾患症例738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、CDA 5例(*CDAN1* 2例、*SEC23B* 2例、*KLF1* 1例)、*DKC* 15例(*TINF2* 8例、*TERT* 4例、*DKC1* 2例、*TERC* 1例)など、計225例(32%)を遺伝子診断し得た。遺伝性造血不全の診断は必ずしも容易ではなく、中央診断、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。

D . 考察

次世代シーケンスによる解析で、臨床的にCDAと診断された症例から、溶血性貧血の原因遺伝子の変異を複数例に認めた。また、*DKC*と診断された症例に、*SDS*であることが判明した症例が認められた。この事実は、他の遺伝性血液疾患とCDA・*DKC*の鑑別診断は困難であることを示唆し、これらの疾患における遺伝子診断の重要性が再確認された。

E . 結論

遺伝性造血不全の診断は必ずしも容易ではなく、中央診断、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.* 2018 Dec 20. pii: jmedgenet-2018-105487. doi: 10.1136/jmedgenet-2018-105487. [Epub ahead of print]
- 2) Takeichi T, Okuno Y, Kawamoto A, Inoue T, Nagamoto E, Murase C, Shimizu E, Tanaka K, Kageshita Y, Fukushima S, Kono M, Ishikawa J, Ihn H, Takahashi Y, Akiyama M. Reduction of stratum corneum ceramides in Neu-Laxova syndrome caused by phosphoglycerate dehydrogenase deficiency. *J Lipid Res.* 2018 Dec;59(12):2413-2420. doi: 10.1194/jlr.P087536.

- 3) Hayano S, Okuno Y, Tsutsumi M, Inagaki H, Fukasawa Y, Kurahashi H, Kojima S, Takahashi Y, Kato T. Frequent intragenic microdeletions of elastin in familial supravalvular aortic stenosis. **Int J Cardiol.** 2019 Jan 1;274:290-295. doi: 10.1016/j.ijcard.2018.09.032.
- 4) Hamada M, Doisaki S, Okuno Y, Muramatsu H, Hama A, Kawashima N, Narita A, Nishio N, Yoshida K, Kanno H, Manabe A, Taga T, Takahashi Y, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Whole-exome analysis to detect congenital hemolytic anemia mimicking congenital dyserythropoietic anemia. **Int J Hematol.** 2018 Sep;108(3):306-311. doi: 10.1007/s12185-018-2482-7.
- 5) Narita A, Muramatsu H, Okuno Y, Sekiya Y, Suzuki K, Hamada M, Kataoka S, Ichikawa D, Taniguchi R, Murakami N, Kojima D, Nishikawa E, Kawashima N, Nishio N, Hama A, Takahashi Y, Kojima S. Development of clinical paroxysmal nocturnal haemoglobinuria in children with aplastic anaemia. **Br J Haematol.** 2017; 78(6):954-958. doi: 10.1111/bjh.4790.
- 6) 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 Jul;19(7):796-802, doi: 10.1038/gim.2016.197.
- 7) Sekinaka Y, Mitsuiki N, Imai K, Yabe M, Yabe H, Mitsui-Sekinaka K, Honma K, Takagi M, Arai A, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Muramatsu H, Kojima S, Hira A, Takata M, Ohara O, Ogawa S, Morio T, Nonoyama S, Common Variable Immunodeficiency Caused by FANC Mutations. **J Clin Immunol.** 2017;37(5):434-444. doi: 10.1007/s10875-017-0396-4.
- 8) Nishikawa E, Yagasaki H, Hama A, Yabe H, Ohara A, Kosaka Y, Kudo K, Kobayashi R, Ohga S, Morimoto A, Watanabe KI, Yoshida N, Muramatsu H, Takahashi Y, Kojima S, Long-term outcomes of 95 children with moderate aplastic anemia treated with horse antithymocyte globulin and cyclosporine. **Pediatr Blood Cancer.** 2017, 64(5), doi: 10.1002/pbc.26305.
- 9) Ichimura T, Yoshida K, Okuno Y, Yujiri T, Nagai K, Nishi M, Shiraishi Y, Ueno H, Toki T, Chiba K, Tanaka H, Muramatsu H, Hara T, Kanno H, Kojima S, Miyano S, Ito E, Ogawa S, Ohga S. Diagnostic challenge of Diamond-Blackfan anemia in mothers and children by whole-exome sequencing. **Int J Hematol.** 2017;105(4):515-520. doi: 10.1007/s12185-016-2151-7.
2. 学会発表
- 1) 川島希, 伊藤雅文, 濱麻人, 奥野友介, 村松秀城, 三輪田俊介, 成田幸太郎, 片岡伸介, 濱田太立, 村上典寛, 小島大英, 市川大輔, 鈴木喬悟, 北澤宏展, 西川英里, 谷口理恵子, 成田敦, 西尾信博, 小島勢二, 高橋義行. ファンコニ貧血患者における骨髄の組織病理像とp53発現. **第80回日本血液学会**(2018年10月12-14日, 大阪).
- 2) Narita A, Muramatsu H, Okuno Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Sakaguchi H, Kawashima N, Wang X, Xu Y, Chiba K, Tanaka H, Hama A, Sanada M, 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, Takahashi Y. シーケンスによる先天性骨髄不全症の診断. **第60回日本小児血液・がん学会学術集会**(2018年11月14-16日, 京都).
- 3) Muramatsu H, Kojima D, Okuno Y, Kataoka

- S, Nakajima Y, Ito T, Tsuge I, Sakai Y, Kato T, Kojima S, and Takahashi Y. Combination of TREC Measurement and Next-Generation Sequencing in Newborn Screening for Severe Combined Immunodeficiency: A Pilot Program in Japan. **The 60th American Society of Hematology** (2018年12月1-4日, 米国・サンディエゴ) .
- 4) 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, Lee JW, and 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 60th American Society of Hematology** (2018年12月1-4日, 米国・サンディエゴ) .
- 5) Mutamatsu 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, and Kojima S. Clinical sequencing of 375 patients with inherited and acquired bone marrow failure syndromes. **EWOG-S/SAA2017** (2017年9月28-30日, イタリア・ローマ) .
- 6) Narita A, Hideki M, Okuno Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Wang X, Kojima D, Xu Y, Kawashima N, Nishio N, Hama A, Takahashi Y, Hasegawa D, Manabe A, Sakaguchi H, Yoshida N, Kato K, Miyano S, Ito M, Ogawa S and Kojima S. Genetic background of idiopathic bone marrow failure syndromes in children. **EWOG-S/SAA2017** (2017年9月28-30日, イタリア・ローマ) .
- 7) 川島希, 奥野友介, 村松秀城, 濱麻人, 片岡伸介, 濱田太立, 市川大輔, 村上典寛, 小島大英, 鈴木喬悟, 西川英里, 成田敦, 西尾信博, 中沢洋三, 小島勢二, 高橋義行. 次世代シーケンスによるファンconi貧血遺伝子診断が可能な時代におけるFANCD2モノユビキチンの意義. **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京) .
- 8) Hamada M, Doisaki S, Okuno Y, Muramatsu H, Hama A, Kataoka S, Ichikawa D, Taniguchi E, Suzuki K, Kojima D, Sekiya Y, Kawashima N, Narita A, Yoshida K, Shiraishi Y, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Manabe A, Taga T, Takahashi Y, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Congenital hemolytic anaemia mimicking congenital dyserythropoietic anaemia revealed by whole exome analysis. **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京) .
- 9) Okuno Y. 遺伝性造血不全疾患群のクリニカルシーケンス. **第79回日本血液学会学術集会** (Symposium 8) (2017年10月20-22日, 東京) .
- 10) 村松秀城. 先天性および後天性造血不全375例に対するクリニカルシーケンス. **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京) .
- 11) Hama A, Toki T, Kobayashi A, Muramatsu H, Okuno Y, Hasegawa D, Nozawa K, Takahashi Y, Watanabe KI, Manabe A, Ito M, Ito E, and Kojima S. Correlation of bone marrow morphology with clinical findings and gene alterations in patients with Diamond-Blackfan anemia. **第59回日本小児血液・がん学会** (2017年11月9-11日, 松山) .
- 12) Narita A, Muramatsu H, Okuno Y, Wang X, Xu Y, Kawashima N, Nishio N, Hama A, Sakaguchi H, Yoshida N, Kato K, Kojima S and Takahashi Y. Germline mutation in pediatric patients with aplastic anemia. **第59回日本小児血液・がん学会** (2017年11月9-11日, 松山) .

- 13) Muramatsu H, Okuno Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Doisaki S, Narita A, Sakaguchi H, Kawashima N, Xinan Wang, Yinyan Xu, 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 and Kojima S. ターゲットシーケンス解析を施行した小児造血不全移植例の解析．**第40回日本造血細胞移植学会総会**（2018年2月1-3日，札幌）．
- 14) 濱麻人，鈴木喬悟，成田敦，成田幸太郎，北澤宏展，濱田太立，片岡伸介，村上典寛，市川大輔，谷口理恵子，小島大英，西川英里，奥野友介，川島希，村松秀城，西尾信博，小島勢二，高橋義行．Diamond-Blackfan貧血に対するフルダラビンおよびメルファランを用いた同種骨髄移植．**第40回日本造血細胞移植学会総会**（2018年2月1-3日，札幌）．

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

DBAのバイオマーカーの解析

研究分担者 菅野 仁（東京女子医科大学医学部輸血・細胞プロセッシング部 教授）

研究分担者 大賀正一（九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野・教授）

研究協力者 槍澤大樹（東京女子医科大学医学部輸血・細胞プロセッシング部 助教）

研究要旨：我々は今までに先天性赤芽球癆（Diamond Blackfan 貧血；以下 DBA）の診断バイオマーカーとして、従来から利用されている赤血球アデノシンデアミナーゼ活性（eADA）に加えて、赤血球還元型グルタチオン(GSH)を同時測定することが有用であることを明らかにしてきた。2016～2018年度は遺伝子解析の結果、RP 遺伝子の変異が同定された 21 例の新規 DBA 症例について、eADA および GSH を同時に測定し、その有用性について検討した。

A . 研究目的

DBAはリボソーム機能不全によって発症する先天性赤芽球癆である。現在までに20種のDBA原因遺伝子が同定されており、そのうちの19種はリボソームサブユニットタンパク遺伝子であり、残りの1種は赤血球特異的転写因子であるGATA1である。我々は赤血球における最も重要な抗酸化物質である還元型グルタチオン（GSH）がDBAの新規バイオマーカーであることを発見した¹⁾。赤血球アデノシンデアミナーゼ活性（eADA）とGSHを同時に検討することで、遺伝子検査により確定診断し得たDBA症例と、同一家系内非罹患者の識別を可能とする判別式を得た。本研究では、さらに症例数を積み重ねることで判別式の臨床的有用性を検討したので報告する。

B . 研究方法

RP遺伝子解析

全国の医療機関において臨床的にDBAが疑われる症例についてインフォームドコンセントを取得した上、末梢血白血球から抽出したDNAを用いて弘前大学小児科学教室にてRP遺伝子解析を行った。（倫理面への配慮）

検体の採取にあたっては患者および家族から事前に十分な説明を行い、文書による同意を得た。DBA遺伝子解析についてはヒトゲノム、遺伝子解析研究指針に従い、患者および家族に事前に十分な説明を行い、文書による同意を得たのち連結可能匿名検体

として研究を遂行した。

ADAとGSHの測定

全国の医療機関において臨床的にDBAが疑われる症例についてインフォームドコンセントを取得した上、末梢血を得た。血漿、白血球、血小板をセルロースカラムで除去した洗浄赤血球より溶血液を作成し、eADAを測定した。eADAはアデノシンを基質として溶血液を加え265nmにおける吸光度減少により活性を測定した。また、GSHは溶血後の全血にメタリン酸を加えて得られた除蛋白抽出液に5,5'-di-thiobisを加え、412nmで測定した。

C . 研究結果

表1 遺伝子変異の確定したDBA22症例の赤血球アデノシンデアミナーゼ活性（ADA）、還元型グルタチオン(GSH)、およびADA/GSHを用いた判別結果（SVM）

患者番号	RP遺伝子変異	ADA (IU/gHb)	GSH (mg/dl RBC)	SVM	判定
021	RPS7	1.48	101.20 ^b	0.529364	
240	RPS17	3.43 ^a	102.00 ^b	3.028164	
266		2.75 ^a	104.00 ^b	2.3603	
241	RPS19	1.21	96.20	-0.253232	×
363		1.05	84.30	-1.51507	×
270		1.74	86.00	-0.504348	×
184		4.35 ^a	97.10	3.73581	
213		1.66	118.20 ^b	2.271528	
260		1.95 ^a	143.30 ^b	4.87395	
275		2.36 ^a	96.80	1.231868	
265		1.39	102.20 ^b	0.506632	
294		1.83	129.00 ^b	3.447584	
399		1.20	113.00 ^b	1.23456	
383	RPS26	2.42 ^a	126.00 ^b	3.914116	
388	RPL5	2.02 ^a	86.40	-0.120084	×
185		5.91 ^a	97.00	5.668768	
244		11.90 ^a	95.70	13.00903	
391		0.91	110.00 ^b	0.605668	
400		3.62 ^a	141.00 ^b	6.747376	
216	RPL11	4.99 ^a	124.00 ^b	6.934652	
326	RPL35A	2.30 ^a	130.00 ^b	4.12194	

a 1.94 IU / gHb (平均+ 2SD) の診断的eADALレベル上限カットオフよりも高値

b 99.8 mg / dl RBC (平均+ 2SD) 診断的GSHレベル上限カットオフ値よりも高値

今回の検討は、2013～2018年に遺伝子検査を実施した39例のうち21症例であり、RP遺伝子変異同定率は、56.4%であった。変異が同定されたRP遺伝子の内訳は、RPS19 10例、RPL5 5例、RPS17 2例、RPS7・RPS26・RPL11・RPL35a 各1例であった。この21例を対象に、バイオマーカーの陽性的中率を検討すると、ADA 54.5% (12例)、GSH 59.1% (13例)、そしてSVM 77.3% (17例)となり、SVM法が最も感度の高い結果となった。

遺伝子変異が同定できなかったが、VlachosらによるDBA診断基準²⁾で古典的・非古典的DBAと診断された3例(表2)に関しては、ADA/GSHの両方とも異常高値を呈したのが1例、ADAは基準値内でGSHが高値でSVM法がDBA型となった例が2例であり、ここでもSVM法の有用性が明らかだった。

表2 遺伝子変異は同定されなかったが診断基準にて古典的/非古典的DBAと診断された3症例のADA、GSHおよびSVMの結果

		症例		
		213	216	265
診断を支持する基準	年齢1歳以下			
	大球性貧血で他の血球に減少を認めない			×
	網赤血球数低下			
	骨髓所見は正形成だが赤芽球前駆細胞の減少を伴う			
診断を支持する基準	大基準			
	古典的DBAに見られた遺伝子変異を有する家族歴の存在	×	×	×
	赤血球アデノシンデアミナーゼ活性(eADA)の高値	×		×
	古典的DBAに見られる先天奇形の存在			×
小基準				
HbF上昇	ND	ND	ND	
他の先天性骨髓不全症候群の否定	ND	ND	ND	
診断	古典的DBA			
GSH	非古典的DBA			
SVM				

D. 考察

DBA患者における赤血球アデノシンデアミナーゼ(eADA)活性の測定は1983年のGladerらによる最初の報告³⁾以来、DBA診断における有用なバイオマーカーとして利用されており、米国DBAレジストリグループによって取りまとめられた最近のDBA診断基準においてもeADAの活性の上昇がSupporting criteriaとして採用されている²⁾。我々は、日本人DBA症例におけるeADA活性の測定を実施してきたが、海外の報告例と同様に臨床症状、血液・骨髓所見およびRP遺伝子変異解析によってDBAと診断されたにも関わらず、ADAが有意な上昇を認めない患者が全体の約20%存在していた¹⁾。

一方、DBAの病因はリボゾームサブユニット蛋白(RP)遺伝子変異で起こることが明らかになっており、RPS19遺伝子変異の同定以来、すでに19種類のリボゾーム遺伝子の変異が同定されている

が、RP遺伝子変異が認められるのはDBA症例の60%にすぎず、また多数のRPサブユニット遺伝子を同時に解析することの労力と時間を要する点から、eADAを補完する新たなバイオマーカーの同定が望まれていた。

我々は、日本人DBA症例22例とその家族15例を対照にした研究で、赤血球内の最も重要な抗酸化物質である還元型グルタチオン(GSH)がDBA患者の多くで上昇していることを見出し、eADAとGSHの同時測定結果を用いてSVM法による判別式により、DBA家系内の罹患者と保因者および正常対象の判別が可能であることを明らかにした¹⁾。

その後、この判別式の性能を検証するため、さらに21症例のRP遺伝子変異が同定されたDBA患者を対象とした解析を実施したところ、eADA単独では12例(57.1%)、GSH単独では13例(61.9%)、SVM法による判別式では17例(81.0%)がDBAと診断できることが明らかになった。当初、SVM法による判別式では、RP遺伝子変異が同定された全例をDBA、家系内非罹患者を非DBAと判別できたが、今回の検討ではeADA、GSH単独測定よりは感度が高いものの、判別性能は100%に至らなかった。

SVM法による判別式で非DBAとなった4症例のうち、3症例は輸血依存状態で検体採取前1ヶ月以内に赤血球輸血を受けていることから、輸血によってeADA/GSHが真の値より低下していたことが原因と考えられた。1例はRPL35a変異例であるが、1歳未満ではなく網赤血球低下を認めていないこと、さらに同じ変異を有する母にはDBAの表現型を認められないことからDBAでは無い可能性が考えられた。

E. 結論

eADA/GSH同時測定結果を用いた判別式はeADA、GSHそれぞれの単独測定より高感度にDBAを診断可能と考えられる。今後は赤血球系に病変が限られ、正球性～大球性貧血を呈する他の先天性骨髓不全症候群である先天性赤血球形成異常性貧血(CDA)を疾患対照として解析し、判別式の特異性を確認していく必要があると考えられた。

【文献】

- 1) Utsugisawa T, Uchiyama T, Toki T, Ogura H, Aoki T, Hamaguchi I, Ishiguro A, Ohara A, Kojima S, Ohga S, Ito E, Kanno H. Erythrocyte glutathione is a novel

biomarker of Diamond-Blackfan anemia. *Blood Cells Mol Dis.* 2016 Jul;59:31-6. doi: 10.1016/j.bcmd.2016.03.007. Epub 2016 Apr 11. PMID: 27282564.

- 2) Glader BE, Backer K, Diamond LK. Elevated erythrocyte adenosine deaminase activity in congenital hypoplastic anemia. *N Engl J Med.* 1983 Dec 15;309(24):1486-90. PMID:6646173.
- 3) Vlachos A, Ball S, Dahl N, Alter BP, Sheth S, Ramenghi U, Meerpohl J, Karlsson S, Liu JM, Leblanc T, Paley C, Kang EM, Leder EJ, Atsidaftos E, Shimamura A, Bessler M, Glader B, Lipton JM. Diagnosing and treating Diamond Blackfan anaemia: results of an international clinical consensus conference. *Br J Haematol.* 2008 Sep;142(6):859-76. doi: 10.1111/j.1365-2141.2008.07269.x. Epub 2008 Jul 30.

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kohara H, Utsugisawa T, Sakamoto C, Hirose L, Ogawa Y, Ogura H, Sugawara A, Liao J, Aoki T, Iwasaki T, Asai T, Doisaki S, Okuno Y, Muramatsu H, Abe T, Kurita R, Miyamoto S, Sakuma T, Shiba M, Yamamoto T, Ohga S, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Kojima S, Kanno H, Tani K. KLF1 mutation E325K induces cell cycle arrest in erythroid cells differentiated from congenital dyserythropoietic anemia patient-specific induced pluripotent stem cells. *Exp Hematol.* 2019 Mar 12. pii: S0301-472X(19)30128-6. doi:10.1016/j.exphem.2019.03.001. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 30876823.
- 2) Kamio H, Uchiyama T, Kanno H, Onoe Y, Saito K, Kameoka S, Kamio T, Okamoto T. Association between SLCO1B1 rs4149056 and tegafururacil-induced hepatic dysfunction in breast cancer. *Pharmacogenomics* 2019 Feb 8. doi:10.2217/pgs-2018-0100. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 30734632.
- 3) Bianchi P, Fermo E, Glader B, Kanno H, Agarwal A, Barcellini W, Eber S, Hoyer JD, Kuter DJ, Maia TM, Mañu-Pereira MDM, Kalfa TA, Pissard S, Segovia JC, van Beers E, Gallagher PG, Rees DC, van Wijk R; with the endorsement of EuroBloodNet, the European Reference Network in Rare Hematological Diseases. Addressing the diagnostic gaps in pyruvate kinase deficiency. Consensus recommendations on the diagnosis of pyruvate kinase deficiency. *Am J Hematol.* 2019 Jan;94(1):149-161. doi: 10.1002/ajh.25325. Epub 2018 Nov 28. PMID: 30358897.
- 4) Toki T, Yoshida K, Wang R, Nakamura S, Maekawa T, Goi K, Katoh MC, Mizuno S, Sugiyama F, Kanezaki R, Uechi T, Nakajima Y, Sato Y, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Shiozawa Y, Kataoka K, Shiraishi Y, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Sato T, Kamio T, Sakaguchi H, Ohga S, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Ohara A, Kanno H, Miyano S, Kojima S, Ishiguro A, Sugita K, Kenmochi N, Takahashi S, Eto K, Ogawa S, Ito E. De Novo Mutations Activating Germline TP53 in an Inherited Bone Marrow Failure Syndrome. *Am J Hum Genet.* 2018 Sep 6;103(3):440-447. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.07.020. Epub 2018 Aug 23. PMID: 30146126. PubMed Central PMCID: PMC6128301.
- 5) Sonoda M, Ishimura M, Ichimiya Y, Terashi E, Eguchi K, Sakai Y, Takada H, Hama A, Kanno H, Toki T, Ito E, Ohga S. Correction to: Atypical erythroblastosis in a patient with Diamond-Blackfan anemia who developed del(20q) myelodysplasia. *Int J Hematol.* 2018 Aug;108(2):236. doi: 10.1007/s12185-018-2493-4. PMID:29967977.
- 6) Hamada M, Doisaki S, Okuno Y, Muramatsu H, Hama A, Kawashima N, Narita A, Nishio N, Yoshida K, Kanno H, Manabe A, Taga T, Takahashi Y, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Whole-exome analysis to detect congenital hemolytic

- anemiamimicking congenital dyserythropoietic anemia. *Int J Hematol.* 2018 Sep;108(3):306-311. doi:10.1007/s12185-018-2482-7. Epub 2018 Jun 23. PMID: 29936674.
- 7) Sonoda M, Ishimura M, Ichimiya Y, Terashi E, Eguchi K, Sakai Y, Takada H, Hama A, Kanno H, Toki T, Ito E, Ohga S. Atypical erythroblastosis in a patient with Diamond-Blackfan anemia who developed del(20q) myelodysplasia. *Int J Hematol.* 2018 Aug;108(2):228-231. doi: 10.1007/s12185-018-2424-4. Epub 2018 Feb 23. Erratum in: *Int J Hematol.* 2018 Jul 2. PMID: 29476317.
 - 8) van Straaten S, Bierings M, Bianchi P, Akiyoshi K, Kanno H, Serra IB, Chen J, Huang X, van Beers E, Ekwattanakit S, Güngör T, Kors WA, Smiers F, Raymakers R, Yanez L, Sevilla J, van Solinge W, Segovia JC, van Wijk R. World-wide study of hematopoietic allogeneic stem cell transplantation in pyruvate kinase deficiency. *Haematologica* 2018 Feb;103(2):e82-e86. doi: 10.3324/haematol.2017.177857. Epub 2017 Dec 14. PMID: 29242305; PubMed Central PMCID: PMC5792292.
 - 9) Ogasawara T, Kawauchi K, Mori N, Sakura H, Katoh F, Kanno H, Ito E. Successful longterm management with low-dose prednisolone in an adult patient with Diamond-Blackfan anemia. *Rinsho Ketsueki* 2017;58(8):917-921. doi:10.11406/rinketsu.58.917. Japanese. PMID: 28883274.
 - 10) Noguchi J, Kanno H, Chiba Y, Ito E, Ishiguro A. Discrimination of Diamond-Blackfan anemia from parvovirus B19 infection by RBC glutathione. *Pediatr Int.* 2017 Jul;59(7):838-840. doi: 10.1111/ped.13284. PMID: 28745457.
 - 11) Sakaue S, Kasai T, Mizuta I, Suematsu M, Osone S, Azuma Y, Imamura T, Tokuda T, Kanno H, El-Agnaf OMA, Morimoto M, Nakagawa M, Hosoi H, Mizuno T. Early-onset parkinsonism in a pedigree with phosphoglycerate kinase deficiency and a heterozygous carrier: do PGK-1 mutations contribute to vulnerability to parkinsonism? *NPJ Parkinsons Dis.* 2017 Mar 31;3:13. doi:10.1038/s41531-017-0014-4. eCollection 2017. PMID: 28649613; PubMed Central PMCID: PMC5459803.
 - 12) Matsumaru S, Oguni H, Ogura H, Shimojima K, Nagata S, Kanno H, Yamamoto T. A novel PGK1 mutation associated with neurological dysfunction and the absence of episodes of hemolytic anemia or myoglobinuria. *Intractable Rare Dis Res.* 2017 May;6(2):132-136. doi: 10.5582/irdr.2017.01020. PMID: 28580215. PubMedCentral PMCID: PMC5451746.
 - 13) Niizuma H, Kanno H, Sato A, Ogura H, Imaizumi M. Splenectomy resolves hemolytic anemia caused by adenylate kinase deficiency. *Pediatr Int.* 2017 Feb;59(2):228-230. doi: 10.1111/ped.13166. PMID: 28211224.
 - 14) 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 Jul;19(7):796-802. doi:10.1038/gim.2016.197. Epub 2017 Jan 19. PMID: 28102861.
 - 15) Ikeda F, Yoshida K, Toki T, Uechi T, Ishida S, Nakajima Y, Sasahara Y, Okuno Y, Kanezaki R, Terui K, Kamio T, Kobayashi A, Fujita T, Sato-Otsubo A, Shiraishi Y, Tanaka H, Chiba K, Muramatsu H, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Kenmochi N, Miyano S, Ogawa S, Ito E. Exome sequencing identified RPS15A as a novel causative gene for Diamond-Blackfan

- anemia. **Haematologica** 2017 Mar;102(3):e93-e96. doi: 10.3324/haematol.2016.153932. Epub 2016 Dec 1. PMID: 27909223; PubMed Central PMCID: PMC5394974.
- 16) Ichimura T, Yoshida K, Okuno Y, Yujiri T, Nagai K, Nishi M, Shiraishi Y, Ueno H, Toki T, Chiba K, Tanaka H, Muramatsu H, Hara T, Kanno H, Kojima S, Miyano S, Ito E, Ogawa S, Ohga S. Diagnostic challenge of Diamond-Blackfan anemia in mothers and children by whole-exome sequencing. **Int J Hematol**. 2017 Apr;105(4):515-520. doi: 10.1007/s12185-016-2151-7. Epub 2016 Nov 23. PMID: 27882484.
- 17) Utsugisawa T, Uchiyama T, Toki T, Ogura H, Aoki T, Hamaguchi I, Ishiguro A, Ohara A, Kojima S, Ohga S, Ito E, Kanno H. Erythrocyte glutathione is a novel biomarker of Diamond-Blackfan anemia. **Blood Cells Mol Dis**. 2016 Jul;59:31-6. doi:10.1016/j.bcmd.2016.03.007. Epub 2016 Apr 11. PMID: 27282564.
- 18) Imashuku S, Muramatsu H, Sugihara T, Okuno Y, Wang X, Yoshida K, Kato A, Kato K, Tatsumi Y, Hattori A, Kita S, Oe K, Sueyoshi A, Usui T, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Kanno H. PIEZO1 gene mutation in a Japanese family with hereditary high phosphatidylcholine hemolytic anemia and hemochromatosis-induced diabetes mellitus. **Int J Hematol**. 2016 Jul;104(1):125-9. doi: 10.1007/s12185-016-1970-x. Epub 2016 Mar 14. PMID: 26971963.
- 19) Arashiki N, Takakuwa Y, Mohandas N, Hale J, Yoshida K, Ogura H, Utsugisawa T, Ohga S, Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Kanno H. ATP11C is a major flippase in human erythron-cytes and its defect causes congenital hemolytic anemia. **Haematologica** 2016 May;101(5):559-65. doi: 10.3324/haematol.2016.142273. Epub 2016 Mar 4. PMID: 26944472; PubMed Central PMCID: PMC5004368.
- 20) Ikeda F, Toki T, Kanezaki R, Terui K, Yoshida K, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Ogawa S, Ito E. ALDH2 polymorphism in patients with Diamond-Blackfan anemia in Japan. **Int J Hematol**. 2016 Jan;103(1):112-4. doi:10.1007/s12185-015-1891-0. Epub 2015 Nov 25. PMID: 26608366.
2. 学会発表
- 1) 平形絢子, 佐藤実紅, 春日夏那子, 橋本真理, 田中健佑, 水野隆久, 河野美幸, 須永康夫, 田代雅彦, 小倉浩美, 菅野仁. 新生児に重症黄疸と溶血性貧血を来した一例. **日本小児科学会群馬地方会** (2018年6月10日, 高崎).
- 2) Utsugisawa T, Yamamoto T, Ogura H, Aoki T, Okamoto Y, Kawakami T, Ohga S, Ohara A, Ito E, Kanno H. Pyruvate kinase deficiency in Japan: A Summary of clinical feature, laboratory data and enzymatic diagnosis. **23rd Congress of European Hematology Association (EHA 23)** (2018年6月14-17日, スウェーデン・ストックホルム).
- 3) 鎌谷直之, 降旗謙一, 谷口敦夫, 福内友子, 山岡法子, 金子希代子, 菅野仁. 健常人とサラセミア、異常ヘモグロビン血症患者から得た赤血球におけるATP増強. **日本人類遺伝学会第63回大会** (2018年10月10-13日 横浜).
- 4) 青木貴子, 小倉浩美, 檜澤大樹, 山根孝久, 山本俊至, 菅野仁. 遺伝子パネルシーケンスにより脱水型遺伝性有口赤血球(DHSt)と診断し得た一例. **日本人類遺伝学会第63回大会** (2018年10月10-13日, 横浜).
- 5) 小倉浩美, 青木貴子, 檜澤大樹, 岡本好雄, 川上高弘, 山本俊至, 大賀正一, 伊藤悦朗, 菅野仁. 乳児期の一過性溶血性貧血を呈する infantile pyknocytosis の臨床像と検査所見. Clinical and laboratory characteristics of neonatal cases suspected with infantile pyknocytosis. **第80回日本血液学会** (2018年10月12-14日, 大阪).
- 6) 檜澤大樹, 青木貴子, 小倉浩美, 岡本好雄, 川上高弘, 山根孝久, 山本俊至, 菅野仁. 先天性溶血性貧血診断における網羅的遺伝子検査の有用性. Usefulness of comprehensive genetic testing for the diagnosis of

- congenital hemolytic anemia. **第80回日本血液学会** (2018年10月12-14日, 大阪).
- 7) 菅野仁. 先天性溶血性貧血の秒型診断と治療～最近のトピックス. **第4回北陸小児血液研究会** (2018年6月30日, 金沢).
 - 8) 菅野仁. (特別講演) 先天性溶血性貧血の疫学と病型診断. **第17回日本新生児黄疸管理研究会** (2018年10月6日, つくば).
 - 9) Iwasaki T, Utsugisawa T, Ogura H, Aoki T, Kinoshita A, Ogata Y, Okamoto Y, Kawakami T, Kanno H. The Flow Cytometric Osmotic Fragility Test is an Effective Screening Test for Red Cell Membrane Disorders, Including Dehydrated Hereditary Stomatocytosis. **ISLH (International Society for Laboratory Hematology)** (2017年5月4-6日, ハワイ・ホノルル).
 - 10) Goto T, Togawa T, Ito T, Kouwaki M, Ogura H, Kanno H, Saitoh S, Koyama N. A patient with hereditary Pyropoikilocytosis caused by a combination of a novel in-frame deletion and a common functional but non-pathogenic allele, αLELY, in SPTA1. **American Society of Human Genetics 2017 annual meeting** (2017年10月17-18日, 米国・オーランド).
 - 11) 小倉浩美, 槍澤大樹, 岩崎拓也, 青木貴子, 岡本好雄, 川上高弘, 菅野仁. 系統的検査による先天性溶血性貧血 80 症例の病型診断. **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京).
 - 12) 槍澤大樹, 小倉浩美, 岩崎拓也, 青木貴子, 岡本好雄, 川上高弘, 菅野仁. Heterogeneous KCNN4 or PIEZO1 gene mutation cause dehydrated hereditary Stomatocytosis in Japan. **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京).
 - 13) 菅野仁, F.Grace R, Layton DM, Galacteros F, Rose C, Barcellini W, Morton DH, Van Beers E, Yaish H, Ravindranath Y, Kevin H.M.Kuo, Sheth S, L.Kwiatkowski J, Silver B, Kung C, Cohen M, Yang H, A. Kosinski P, Hua L, J. Barbier A, Glader B. AG-348, a pyruvate kinase activator, for pyruvate kinase deficiency: Results the drive PK study. **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京).
 - 1) Utsugisawa T, Ogura H, Yamamoto T, Aoki T, Iwasaki T, Ondo Y, Kawakami T, Nakagawa S, Ohga S, Inaba H, Kanno H. The Novel Missense Mutation Of GATA1 Caused Red Cell Adenosine Deaminase Overproduction Associated with Congenital Hemolytic Anemia. **The 59th American Society of Hematology** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ).
 - 2) 菅野仁. (招待講演) iPS細胞を活用した稀少遺伝性血液疾患の病態解析と治療薬の探索. **平成29年度医学研究セミナー** (2017年6月13日, 金沢).
 - 3) Kanno H, Utsugisawa T, Ogura H. Next-generation sequencing in diagnosis of congenital hemolytic anemia. **the 5th TSH International Symposium Red Cell Disorders: From Bench to Bedside** (2016年5月20-22日, タイ・バンコク).
 - 4) Kanno H, Utsugisawa T, Ogura H. Congenital hemolytic anemia due to red cell enzymopathies. **the 5th TSH International Symposium Red Cell Disorders: From Bench to Bedside** (2016年5月20-22日, タイ・バンコク).
 - 14) 菅野仁. (依頼講演) 先天性溶血性貧血の診断と治療～次世代シーケンサーによる網羅的遺伝子検査と分子標的薬の登場. **第40回埼玉先端血液懇話会** (2016年11月24日, 大宮).
 - 15) 谷諭美, 花谷あき, 佐原真澄, 松丸重人, 千葉幸英, 鶴田敏久, 菅野仁, 中舘尚也, 永田智. 酸素親和性の上昇を認めた不安定ヘモグロビン症の1例. **第119回日本小児科学会学術集会** (2016年5月13日-15日, 札幌).
 - 16) Kohara H, Ogura H, Aoki T, Sakamoto C, Ogawa Y, Miyamoto S, Kanno H, Tani K. Generation and functional analysis of congenital dyserythropoietic anemia (CDA) patient-specific induced pluripotent stem

Cells. **58th Annual Meeting & Exposition**
(2016年12月3-6日,米国・サンディエゴ).

- 17) Utsugisawa T, Yamamoto T, Ogura H, Aoki T, Iwasaki T, Ondo Y, Kawakami T, Nakagawa S, Ozono S, Inada H, Kanno H. The novel missense mutation of GATA1 caused red cell adenosine deaminase overproduction associated with congenital hemolytic Anemia. **58th Annual Meeting & Exposition** (2016年12月3-6日, 米国・サンディエゴ) .
- 18) 大賀正一, 石村匡崇, 槍澤大樹, 菅野仁. 新生児の遺伝性溶血性貧血～疾患概念の拡張～. **第59回小児血液・がん学会学術集会** (2017年11月9-11日, 松山).
- 19) 岩崎拓也, 山本俊至, 村松秀城, 奥野友介, 佐藤裕子, 三井哲夫, 小野田正志, 矢野未央, 小松博史, 坂本謙一, 青木貴子, 岡本好雄, 槍澤大樹, 小倉浩美, 小島勢二, 菅野仁. 先天性溶血性貧血の診断におけるターゲットシーケンシングの有用性. **第78回日本血液学会学術集会** (2016年10月14日, 横浜) .
- 20) 野口隼, 千葉悠太, 中舘尚成, 伊藤裕司, 土岐力, 伊藤悦朗, 菅野仁, 石黒精. 赤血球還元型グルタチオン測定が診断に有用であったパルボウイルス感染母体出生の先天性赤芽球癆. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会** (2016年12月15-17日, 東京).
- 21) 新敷信人, 菅野仁, 高桑雄一. ヒト赤血球膜においてフォスファチジルセリンが内層に維持されるメカニズム. **第89回 日本生化学会大会** (2016年9月25-27日, 仙台).
- 22) 新敷信人, 菅野仁, 高桑雄一. ヒト赤血球膜におけるフリッパーゼ分子の同定とリン脂質非対称性維持のメカニズム. **第58回 日本脂質生化学会** (2016年6月9日, 秋田).
- 23) 新敷信人, 菅野仁, 高桑雄一. ヒト赤血球膜におけるフリッパーゼ分子の同定. **日本膜学会38年会** (2016年5月10日, 東京).

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

ファンコニ貧血の遺伝子解析

研究分担者 高田 穰（京都大学大学院生命科学研究科附属放射線生物研究センター 教授）

研究要旨： 主に東海大矢部博士らとの共同研究で、日本人ファンコニ貧血（FA）患者と関連病態の疫学調査に資するため、FA の既知遺伝子の解析を進めてきた。日本人ファンコニ貧血患者、合計 117 例の症例の解析結果について論文化した。日本人 FA 原因遺伝子の特徴として、FANCA と FANCG が 8 割を超えており、FANCC がほとんど存在しないこと、3 番目に頻度の高い変異遺伝子が FANCB であることなどが判明した。また、BRCA2 などの変異によるタイプが稀ながら日本にも存在し、早期の発がんなどの特殊病型を呈することがわかった。

A．研究目的

ファンコニ貧血（FA）は骨髄不全、奇形、白血病、固形腫瘍などを呈し、稀ながら、その重篤な症状と診断治療法の確立の遅れから、特に小児の临床上重大な問題となっている。典型的な症例では奇形などの外見上の特徴からも診断が可能な場合もあるが、非典型例、成人発症の軽症例、また遺伝子のリバージョンによるモザイク症例などでは、診断にいたらず見逃され、化学療法時に重篤な副作用を発症するなどの可能性も指摘されている。

臨床の現場で発症早期に確実な分子診断を得ることは、その後のフォロー、骨髄移植の実施と使用薬剤等の判断の上で重要と思われる。本研究では、できるだけ多数の日本人 FA 患者の分子診断結果を集積し、日本人 FA の疫学を明らかにすることを目的とした。

B．研究方法

東海大学矢部博士からの FA 患者のサンプルを中心に、各地の共同研究者から FA 患者サンプルを集め、ゲノムを分離し、PCR、次世代シーケンサー（共同研究者名古屋大小島勢二博士、京都大小川誠司博士らによる）、アレイCGHをはじめとした分子診断を施行した。ALDH2 遺伝子型は、愛知がんセンターの松尾恵太郎博士から恵与された Taqman PCR 法によって決定した。

（倫理面への配慮）

本研究計画は、「ファンコニ貧血と関連病態の原因遺伝子解析」として京都大学 医の倫理委員会に申請し、G434 号として承認を受けている。検体は京大への送付時にすべて匿名化されている。

C．研究結果

これまでの症例の解析結果の見直しを進め、現在まで集積した 117 例（113 家系）について、遺伝子の変異とその効果について、解析し論文化した（Mori et al. Haematologica 2019）。東海大矢部博士、弘前大伊藤博士、名古屋大小島勢二博士らとの共同研究の結果である。

具体的には、日本人 FA 患者 117 人のゲノム解析を行い、欧米とは異なる日本人における原因遺伝子、その変異の特徴、さらに原因遺伝子と表現型との関連を明らかにした。日本人 FA の原因遺伝子として FANCA が 58%、FANCG が 25%であった。最も頻度の高い FANCA 遺伝子における変異は多彩であったが、中でも高頻度な変異として c.2546delC が同定された。一方、FANCG 遺伝子における変異は数少なく、2 つの変異（c.307+1G>C と c.1066C>T）で FANCG 原因遺伝子の 86%を占めていた。FANCB、FANCI を原因遺伝子とする症例では極めて重症な先天異常を有し、FANCD1、FANCN を原因遺伝子とする症例では骨髄不全を呈さず、若年で悪性腫瘍を合併し予後不良であった。

D . 考察

ファンコニ貧血患者の診断は、臨床所見と血液リンパ球におけるDEBないしMMC刺激後の染色体脆弱性試験陽性でもって行われる。さらに、MMC刺激下の細胞周期のG2での停止、FANCD2蛋白質のモノユビキチン化の消失（コア複合体成分の変異やFANCI変異ではこの所見が観察される）、PALB2（FANCN）、BRCA2（FANCD1）、RAD51C（FANCO）変異でのRAD51フォーカスの低下なども参考所見として有用である。しかし、原因遺伝子の変異を確定させる分子診断は、患者の原因遺伝子ごとのサブタイプの違いを観察するという研究的な意味のみならず、臨床診断の信頼性をあげるという意味でも有用性があると考えられる。

しかし、FAの原因遺伝子はしばしば巨大で、しかも変異の種類が膨大なため、分子診断は困難を極めてきた。この状況を打破する決定打が次世代シーケンサーを使用したエクソーム解析、ターゲットエクソーム解析である。さらに、それでも発生するとりこぼし（スプライスサイト変異や欠失変異が見逃されやすい）に対して、RNA-seqやアレイCGHなどが有用である。このような手段を駆使して、この研究班では100例を超える日本人FA患者の分子診断結果を蓄積し、日本人におけるファンコニ貧血患者の変異スペクトラムを明らかにした。いまだかつて、これだけの規模の日本人FA患者の分子診断（タイプ分類）の結果がまとめられたことはない。これらの知見は、今後のFA患者の臨床的マネジメントや分子診断を効率よく施行する上での基礎データになるものである。合わせて、東北メガバンクのデータベースによって、日本人におけるFA遺伝子異常の頻度も算定し、~2.6%と算定された。今後、一般の日本人集団での変異頻度のデータの蓄積によって、家族性乳がん卵巣がんなど、さまざまな病態との関連性などが浮かび上がってくる可能性がある。インドでは全く違うスペクトルのFA遺伝子変異が高頻度に認められている。エスニック集団の過去の歴史がこれらの頻度に反映すると考えられ、さらに多数の疾患患者と健常人のデータが揃うことで、FAのみならず、さまざまな遺伝病のリスクなどについても、より確実な遺伝カウンセリングなどが可能となる時代が近づいていると思われる。

E . 結論

過去最大規模の日本人FA患者の原因遺伝子診断

を実行し、117例の変異スペクトルを明らかにした。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ninomiya K, Hata T, Yoshioka H, Ohashi, K, Bessho A, Hosokawa S, Ishikawa N, Yamasaki M, Shibayama T, Aoe K, Kozuki T, Harita S, Ueda Y, Murakami T, Nobukazu F, Yanai H, Toyooka S, Takata M, Hotta K, Kiura K. A prospective cohort study to define the clinical features and outcome of lung cancers harboring HER2 aberration (HER2-CS STUDY) in Japan". *Chest* 2019. (in press)
- 2) Mori M, Hira A, Yoshida K, Muramatsu H, Okuno Y, Shiraishi Y, Anmae M, Yasuda J, Tadaka S, Kinoshita K, Osumi T, Noguchi Y, Adachi S, Kobayashi R, Kawabata H, Imai K, Morio T, Tamura K, Takaori-Kondo A, Yamamoto M, Miyano S, Kojima S, Ito E, Ogawa S, Matsuo K, Yabe H, Yabe M, Takata M. Pathogenic mutations identified by a multimodality approach in 117 Japanese Fanconi anemia patients. *Haematologica* 2019. (in press)
- 3) Okamoto Y, Abe M, Itaya A, Tomida J, Ishiai M, Takaori-Kondo A, Taoka M, Isobe T, and Takata M. FANCD2 protects genome stability by recruiting RNA processing enzymes to resolve R-loops during mild replication stress. *FEBS J*. 2019. (in press)
- 4) Yabe M, Koike T, Keisuke Ohtsubo, Eri Imai, Morimoto T, Takakura H, Koh K, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S, Matsuo K, Mori M, Hira A, Takata M and Yabe H. Associations of complementation group, *ALDH2* genotype, and clonal abnormalities with hematological outcome in Japanese patients with Fanconi anemia. *Ann Hematol*. 2018;98(2):271-280. doi: 10.1007/s00277-018-3517-0.
- 5) Abe T, Ooka M, Kawasumi R, Miyata K, Takata M, Hirota K, Branzei D. Warsaw Breakage Syndrome DDX11 helicase acts jointly with RAD17 in the repair of bulky

- lesions and replication through abasic sites. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2018 Aug 14;115(33):8412-8417. doi: 10.1073/pnas.1803110115. Epub 2018 Jul 30.
- 6) Higgs MR, Sato K, Reynolds JJ, Begum S, Bayley R, Goula A, Vernet A, Paquin KL, Skalnik DG, Kobayashi W, Takata M, Howlett NG, Kurumizaka H, Kimura H, Stewart GS. Histone Methylation by SETD1A Protects Nascent DNA through the Nucleosome Chaperone Activity of FANCD2. **Mol Cell.** 71(1);25-41.e6. doi: 10.1016/j.molcel.2018.05.018. PMID: 29937342.
 - 7) Okamoto Y, Iwasaki WM, Kugou K, Takahashi KK, Oda A, Sato K, Kobayashi W, Kawai H, Sakasai R, Takaori-Kondo A, Yamamoto T, Kanemaki MT, Taoka M, Isobe T, Kurumizaka H, Innan H, Ohta K, Ishiai M, Takata M. Replication stress induces accumulation of FANCD2 at central region of large fragile genes. **Nucleic Acids Res.** 2018 Apr 6;46(6):2932-2944. doi: 10.1093/nar/gky058. PMID: 29394375.
 - 8) Kadoda K, Moriwaki T, Tsuda M, Sasanuma H, Ishiai M, Takata M, Ide H, Masunaga SI, Takeda S, Tano K. Selective cytotoxicity of the anti-diabetic drug, metformin, in glucose-deprived chicken DT40 cells. **PLoS One.** 2017;12(9):e0185141. doi:10.1371/journal.pone.0185141. eCollection 2017.
 - 9) Mochizuki AL, Katanaya A, Hayashi E, Hosokawa M, Moribe E, Motegi A, Ishiai M, Takata M, Kondoh G, Watanabe H, Nakatsuji N, Chuma S. PARI regulates stalled replication fork processing to maintain genome stability upon replication stress in mice. **Mol Cell Biol.** 2017;37(23). pii: e00117-17. doi:10.1128/MCB.00117-17.
 - 10) Knies K, Inano S, Ramírez MJ, Ishiai M, Surallés J, Takata M, and Schindler D. Biallelic mutations in the ubiquitin ligase *RFWD3* cause Fanconi anemia. **Journal of Clinical Investigation J Clin Invest.** 2017;127(8):3013-3027. doi:10.1172/JCI92069. Epub 2017 Jul 10. PMID: 28691929.
 - 11) Inano S, Sato K, Katsuki Y, Kobayashi W, Tanaka H, Nakajima K, Nakada S, Hiroyuki Miyoshi, Knies K, Takaori-Kondo A, Schindler D, Ishiai M, Kurumizaka H, Takata M. RFWD3-mediated ubiquitination promotes timely removal of both RPA and RAD51 from DNA damage sites to facilitate homologous recombination. **Mol Cell.** 2017;66(5):622-634.e8. doi:10.1016/j.molcel.2017.04.022. PMID: 28575658.
 - 12) Sekinaka Y, Mitsui N, Imai K, Yabe M, Yabe H, Mitsui-Sekinaka K, Honma K, Takagi M, Arai A, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Muramatsu H, Kojima S, Hira A, Takata M, Ohara O, Ogawa S, Morio T, Nonoyama S. Common Variable Immunodeficiency Caused by FANC Mutations. **J Clin Immunol.** 2017;37(5):434-444. doi:10.1007/s10875-017-0396-4. PMID:28493158.
 - 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, and Kojima S. Clinical Utility of Next-generation Sequencing for Inherited Bone Marrow Failure Syndromes. **Genet Med.** 2017 Jan 19. doi: 10.1038/gim.2016.197.
 - 14) Takata M. Mutation Research special section "Protein modifications in DNA repair and cancer" Editorial. **Mutat Res.** 2017:803-805.
 - 15) Ling C, Huang J, Yan Z, Li Y, Ohzeki M, Ishiai M, Xu D, Takata M, Seidman M, and Wang W. Bloom syndrome complex promotes FANCM recruitment to stalled replication forks and facilitates both repair and traverse of DNA interstrand crosslinks. **Cell Discov.** 2016 Dec 20;2:16047. doi: 10.1038/celldisc.2016.47.
 - 16) Tian X, Patel K, Ridpath JR, Chen Y, Zhou YH, Neo D, Clement J, Takata M, Takeda S,

Sale J, Wright FA, Swenberg JA, Nakamura J. Homologous recombination and translesion DNA synthesis play critical roles on tolerating DNA damage caused by trace levels of hexavalent chromium. **pLOS One** 2016 Dec 1;11(12):e0167503.

- 17) Sato K, Shimomuki M, Katsuki Y, Takahashi D, Kobayashi W, Ishiai M, Miyoshi H, Takata M, Kurumizaka H. FANCI-FANCD2 stabilizes the RAD51-DNA complex by binding RAD51 and protects the 5'-DNA end. **Nucleic Acids Res.** 2016 Sep 30. pii: gkw876. PMID: 27694619.
- 18) Hashimoto K, Sharma V, Sasanuma H, Tian X, Takata M, Takeda S, Swenberg J and Nakamura J. Poor recognition of O6-isopropyl dG by MGMT triggers double strand break-mediated cell death and micronucleus induction in FANCD2-deficient cells. **Oncotarget** 2016 Jul 29. doi: 10.18632/oncotarget.10928. [Epub ahead of print]
- 19) Yabe M, Yabe H, Morimoto T, Fukumura A, Ohtsubo K, Koike T, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S, Matsuo K, Hira A, Takata M. The phenotype and clinical course of Japanese Fanconi Anaemia infants is influenced by patient, but not maternal ALDH2 genotype. **Br J Haematol.** 2016 Nov;175(3):457-461. doi: 10.1111/bjh.14243.

Review

- 1) Okamoto Y, Hejna J, Takata M. Regulation of R-loops and genome instability in Fanconi anemia. **J Biochemistry Tokyo.** 2019. (in press)
- 2) Ishiai M, Sato K, Tomida J, Kitao H, Kurumizaka H, Takata M. Mutation Research special section "Protein modifications in DNA repair and cancer" Activation of the FA pathway mediated by phosphorylation and ubiquitination. **Mutat Res.** 2017 May 5. pii: S0027-5107(17)30078-7. doi:10.1016/j.mrfmmm.2017.05.003.

- 3) Katsuki Y, Takata M. Defects in HR repair behind the human diseases: FA and HBOC. **Endocr Relat Cancer.** 2016 Oct;23(10): T19-37.

日本語総説・著書

- 1) 稲野将二郎, 佐藤浩一, 胡桃坂仁志, 高田穰. ファンコニ貧血の新規原因遺伝子 *RFWD3/FANCD3* の機能解析から明らかになった相同組換え反応制御機構. **生化学** 2018;90(3):371-380.
- 2) 稲野将二郎, 佐藤浩一, 胡桃坂仁志, 高田穰. Fanconi 貧血の新規の原因タンパク質 *RFWD3* による相同組換えの制御. **ライフサイエンス 新着論文レビュー**. <http://first.lifesciencedb.jp/archives/16605>.
- 3) 矢部普正, 高田穰, 村松秀樹. III Fanconi 貧血. **先天性骨髄不全症診療ガイドライン 2017**. 編集 日本小児血液・がん学会 診断と治療社.
- 4) 石合正道, 高田穰. 2.18 放射線応答遺伝子の生物種間の保存・相関. **放射線医学の事典** 編集 宮川清, 監修 大西武雄.
- 5) 稲野将二郎, 高田穰. 新規 Fanconi anemia 遺伝子 *RFWD3/FANCD3* の発見と機能解明. **小児血液がん学会誌** 2017;54(5):287-293.

2. 学会発表

- 1) Takata M. Analysis of DNA damage repair by homologous recombination and the Fanconi anemia pathway. **International Particle Medicine Research Symposium IPMRS-2018-Takasaki** (2018年10月30日, 高崎).
- 2) Takata M. Chromosome stress due to endogenous DNA damage and Fanconi anemia. Symposium "Cancer predisposition and hemato/immunological defect: from children to adults (招待講演)". **第80回日本血液学会** (2018年10月12-14日, 大阪).
- 3) Katsuki Y, Abe M, Attikum HV, Kim Y, Takata M. The ubiquitination pathway that recruits the Fanconi anemia nuclease scaffold *SLX4/FANCD3*. **International Conference: Korean Society for Molecular and Cellular Biology. Symposium "Molecular Mechanisms**

- to preserve Genomic Integrity.” (2018年9月17-19日, 韓国・ソウル).
- 4) 高田穰. 家族性のがんの話. 京都大学研究連携基盤丸の内セミナー(2018年9月7日, 京都).
 - 5) Takata M. RNF168 mediates the recruitment of SLX4 via ubiquitination during ICL repair (招待講演). **2018 IBS CONFERENCE IBS-KSMCB Conference on Genomic Integrity & Cell Cycle** (2018年6月17-19日, 韓国・慶州).
 - 6) 勝木陽子, 安倍昌子, Attikum HV, 中田慎一郎, 鐘巻将人, Kim Y, 矢部みはる, 矢部普正, 高田穰. DNA クロスリンク切断酵素 SLX4 のユビキチン化による制御機構(ワークショップ). **第41回日本分子生物学会年会** (2018年11月28-30日, 横浜).
 - 7) 勝木陽子, 安倍昌子, 中田慎一郎, 鐘巻将人, 矢部みはる, 矢部普正, 高田穰. DNA クロスリンク修復因子 SLX4 のユビキチン化による制御機構(ワークショップ). **日本放射線影響学会第61回大会** (2018年11月7-9日, 長崎).
 - 8) 勝木陽子, 安倍昌子, 中田慎一郎, 鐘巻将人, 矢部みはる, 矢部普正, 高田穰. DNA クロスリンク修復因子 SLX4 のユビキチン化による制御機構(ワークショップ). **日本遺伝学会第90回大会** (2018年9月19-22日, 奈良).
 - 9) Katsuki Y, Abe M, Attikum HV, Kanemaki M, Nakada S, Yabe M, Yabe H, Yonghwan Kim, Takata M. RNF168 mediates the recruitment of SLX4 via ubiquitination during ICL repair. **The 2nd International Symposium on Radiation Therapeutics and Biology “Molecular Targets and Precision Cancer Medicine: From basic research toward translation” (34th Radiation Biology Center International Symposium)** (2018年11月10-12日, 京都).
 - 10) Mochizuki AL, Katanaya A, Hayashi E, Hosokawa M, Moribe E, Motegi A, Ishiai M, Takata M. Kondoh G, Watanabe H, Nakatsuji N, Chuma S. PARI regulates stalled replication fork processing to maintain genome stability upon replication stress in mice. **The 2nd International Symposium on Radiation Therapeutics and Biology “Molecular Targets and Precision Cancer Medicine: From basic research toward translation” (34th Radiation Biology Center International Symposium)** (2018年11月10-12日, 京都).
 - 11) Katsuki Y, Abe M, Attikum HV, Kanemaki MT, Nakada S, Yabe M, Yabe H, Kim Y, Takata M. RNF168 mediates the recruitment of SLX4 via ubiquitination during ICL repair. **2018 Gordon Research Conference Genomic Instability** (2018年7月22-27日, 香港).
 - 12) Katsuki Y, Abe M, Attikum HV, Kanemaki MT, Nakada S, Yabe M, Yabe H, Kim Y, Takata M. RNF168 mediates the recruitment of SLX4 via ubiquitination during ICL repair. **3rd DNA Replication/Repair Structures and Cancer Conference** (2018年2月11-15日, メキシコ・カンクン).
 - 13) 高田穰. 「ファンコニ貧血経路による染色体ストレス応答制御」「新規ファンコニ貧血遺伝子 RFWD3 による相同組換え修復制御メカニズム」. **神戸大学大学院講義&セミナー 現代の生物学 II 招待講演** (2017年12月22日, 神戸).
 - 14) Takata M. Regulation of homologous recombination by a novel FA protein RFWD3/FANCW. (Invited lecture) (2017年12月14日, 台湾).
 - 15) 勝木陽子, 安倍昌子, H. van Attikum, 中田慎一郎, 鐘巻将人, Kim Y, 高田穰. ICL 修復因子 SLX4 は RNF168 依存的なユビキチン化経路を介して損傷部位に集積する(ワークショップ). **ゲノム恒常性維持機構の破綻と疾患発症の分子メカニズム(3PW02)** (招待講演). **2017年度生命科学系学会合同年次大会 ConBio2017 / 第40回日本分子生物学会年会** (2017年12月6-9日, 神戸).
 - 16) 岡本裕介, 岩寄航, 高橋数冴, 久郷和人, 小田有沙, 河合秀彦, 佐藤浩一, 小林航, 逆井良, 高折晃史, 山本卓, 鐘巻将人, 田岡万悟, 磯部俊明, 胡桃坂仁志, 印南秀樹, 太田邦史, 石合正道, 高田穰. 複製ストレスにおける染色体脆弱部位への R-Loop 依存性 FANCD2 集積メカニズム. **第40回日本分子生物学会年会** (2017年12月6-9日, 神戸).
 - 17) 松井美咲, 木村祐輔, 安倍昌子, 石合正道, 堀

- 利行, 高田穰, Jackson S, 西良太郎. 核内構造体に局在する因子による相同組換え修復制御「遺伝的組換えの分子メカニズムとその生理的機能と技術応用」(ワークショップ). **第40回日本分子生物学会年会** (2017年12月6-9日, 神戸).
- 18) L. Mochizuki A, Katanaya A, Hayashi E, Hosokawa M, Moribe E, Motegi A, Ishiai M, Takata M, Kondoh G, Watanabe H, Nakatsuji N, Chuma S. PARI regulates stalled replication fork processing to maintain genome stability upon replication stress in mice. **日本遺伝学会第89回大会** (2017年9月13-16日, 岡山).
- 19) Takata M. Regulation of homologous recombination by a novel FA protein RFWD3/FANCW. **1st International Symposium on Radiation Therapeutics and Biology (isRTB-2017)** (2017年10月31日-11月1日, 中国・深圳).
- 20) 高田穰. ファンコニ貧血とゲノム損傷修復因子: 患者サンプル解析による希少疾患病態解明を目指して. **金沢大学薬学シンポジウム 2017** (2017年10月6日, 金沢).
- 21) 高田穰. 「ファンコニ貧血の原因遺伝子探索と相同組換えの新規メカニズム」. **名古屋大学平成29年度基盤医学特論** (招待講演) (平成29年9月21日, 名古屋).
- 22) Knies K, Inano S, J. Ramírez M, Ishiai M, Surrallés J, Takata M, and Schindler D. Biallelic mutations in the ubiquitin ligase *RFWD3* cause Fanconi anemia. **29th Annual Fanconi Anemia Scientific Symposium** (2017年9月14-17日, 米国・アトランタ).
- 23) Inano S, Sato K, Katsuki Y, Knies K, Schindler D, Ishiai M, Kurumizaka H, Takata M. Regulation of homologous recombination by a novel FA protein RFWD3/FANCW. **Center for Genomic Integrity at UNIST invited lecture** (2017年6月27日, 韓国・蔚山).
- 24) Takata M. Regulation of homologous recombination repair by a novel Fanconi anemia E3 ligase RFWD3/FANCW. **6th US-Japan DNA Repair Meeting** (2017年5月17-21日, 米国・パークレー).
- 25) Inano S, Sato K, Katsuki Y, Knies K, Schindler D, Ishiai M, Kurumizaka H, Takata M. Regulation of homologous recombination by a novel FA protein RFWD3. **FEBS workshop Nucleotide excision repair and crosslink repair - from molecules to mankind** (2017年5月7-11日, スロバキア).
- 26) Takata M. Pathogenesis of Fanconi anemia: an update. **INTERNATIONAL CONFERENCE ON "REVOLUTION OF LABORATORY MEDICINE IN MODERN BIOLOGY"** (招待講演) (2017年2月15-17日, ムンバイ).
- 27) 高田穰. 新規ファンコニ貧血原因遺伝子であるRFWD3/FANCWの相同組換え修復における役割の解明. **第8回群馬大学 Genome Damage Discussion Group セミナー** (招待講演) (2016年12月21日, 前橋).
- 28) Takata M. "Genetic basis for childhood bone marrow failure and malignancies" A novel Fanconi anemia gene regulates ICL repair and homologous recombination. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会シンポジウム** (招待講演) (2016年12月15-17日, 東京).
- 29) 稲野将二郎, 佐藤浩一, 勝木陽子, 石合正道, 中田慎一郎, 胡桃坂仁志, 高田穰. 新規ファンコニ貧血遺伝子RFWD3による相同組換え修復制御メカニズム. **九州大学薬学部・藤田雅俊研究室研究セミナー** (招待講演).
- 30) Inano S, Sato K, Knies K, Katsuki Y, Nakada S, Takaori-Kondo A, Ishiai M, Schindler D, Kurumizaka H, Takata M. Novel Fanconi anemia E3 ligase RFWD3 promotes removal of both RPA and RAD51 from DNA damage sites during ICL repair. **28th Annual Fanconi Anemia research frund Scientific Symposium**. (2016年9月15-18日, ワシントン・ベルビュー・米国).
- 31) Yabe M, Morimoto T, Fukumura A, Ohtsubo K, Koike T, Shimizu T, Takakura H, Koh K, Ito E, Kojima S, Hira A, Takata M and Yabe H. Myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia in Japanese Fanconi anemia patients. **28th Annual Fanconi Anemia research frund Scientific Symposium**.

(2016年9月15-18日, ワシントン・ベルビュー・米国).

- 32) 稲野将二郎, 佐藤浩一, 勝木陽子, 石合正道, 中田慎一郎, 胡桃坂仁志, 高田穰. 相同組換えにおけるRPAおよびRAD51の動態制御はRFWD3によるユビキチン化に依存する. **第75回日本癌学会学術総会 シンポジウム18 がん**における染色体・ゲノム不安定性の分子基盤 (2016年10月6-8日, 横浜).
- 33) 稲野将二郎, 佐藤浩一, 勝木陽子, 中田慎一郎, 石合正道, 胡桃坂仁志, 高田穰. An E3 ligase RFWD3 is a critical component that facilitates RPA and RAD51 dynamics in homologous recombination. 放射線・ゲノムストレスに対抗する多彩な生命システムの解明に向けて. **放射線影響学会第59回大会 (ワークショップ)** (招待講演) (2016年10月26日, 広島).
- 34) 石合正道. 放射線・ゲノムストレスに対抗する多彩な生命システムの解明に向けて. **放射線影響学会第59回大会 (ワークショップ)** (2016年10月26日, 広島).
- 35) 田部井由依, 大橋由佳, 坂本裕貴, 小摩木里奈, 穀田哲也, 勅使河原愛, 飯島健太, 高田穰, 小松賢志, 田内広. 損傷応答キナーゼ活性が相同組換え修復に与える影響. **放射線影響学会第59回大会** (2016年10月26-28日, 広島).

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

小児期造血障害疾患登録による赤芽球癆など先天性遺伝性貧血の疫学データベース構築
疾患登録による先天性造血不全の疫学

研究分担者 小原 明（東邦大学医学部小児科 教授）

研究要旨： 日本小児血液・がん学会疾患登録事業を一次調査とする小児期発症の造血障害疾患を集計解析し2006から2017年に診断された造血不全1,186例の各疾患の症例数一次データを得た。本研究期間では308例であった。3年間の最多病型は特発性再生不良性貧血132例。先天性血小板減少症42例、Diamond Blackfan 貧血21例が続いた。Cong. Dyserythropoietic anemi、先天性鉄芽球性貧血、Dyskeratosis congenitaは3年間で3例以下の稀少疾患であった。小児期造血障害疾患の病態解明、診断法や治療開発には疾患遺伝子情報や詳細な臨床情報に加えて、追跡情報の収集（二次調査・追跡調査）が必須であり、それを目的にしたデータベース構築による系統的な解析が必要である。

A．研究目的

【背景】

遺伝性貧血は稀少疾患であり、診断法や治療開発には疫学データベースの必要性が高い。小児血液・がん学会疾患登録事業調査結果を一次調査とする小児期発症の造血障害疾患のデータベースを構築し、遺伝性貧血Diamond Blackfan貧血をはじめ、広く小児期造血障害疾患の症例把握に努めた。

【目的】

本邦の小児期造血障害疾患症例を悉皆性高く収集して疫学データベース構築する。日本小児血液・がん学会疾患登録事業を一次調査とした疫学観察研究を基盤とした小児期造血障害疾患の詳細なデータベース構築を目指す。

B．研究方法

本研究班の研究では疫学観察研究として実施し、治療介入は行わない。日本小児血液・がん学会会員施設を対象にした20歳未満全例登録（疾患登録事業）は、前年診断症例を対象にWeb登録にて実施される。この血液疾患登録から小児期発症の造血障害疾患と先天性溶血性貧血の対象症例数を診断年度ごとに抽出する。

（倫理面への配慮）

症例数抽出の元になる疾患登録は日本小児血液・がん学会臨床研究審査委員会の倫理審査承認を得て実施されている。本研究では集計データのみを提供されており、疾患遺伝子診断情報を含む二次調査は本年度実施していない。

C．研究結果

2006から2017年診断登録症例1,772例を表に示す（表）。本研究の研究期間3年間565例の集計を表右端示した。

- a. 疾患登録症例：3年間の診断症例は小児血液学会会員施設の63-70%に相当する14-1,655施設が登録した。疾患では遺伝性溶血性疾患（遺伝性球状赤血球症165例サラセミア55例等）が多いが（総計586例3年間257例）造血不全症は総計1,186例3年間308例であった。造血不全症としては、Idiopathic AA132例、Cong. Thrombocytopenia42例が多い。造血障害の診断は日本小児血液・がん学会の形態中央診断が貢献している。
- b. 特発性再生不良性貧血が最多病型である。年間40ないし50症例が新規に診断されており、臨床上鑑別が必要になる Refractory Cytopenia in Childhood, RCCを合わせると60例ないし

70例となる。2017年はRCC症例数が把握できなかった。

- c. Diamond-Blackfan 貧血 : DBA 症例は 12 年間で 97 例、研究期間の 3 年間で 12 例であった。Fanconi 貧血は 12 年間で 47 例、3 年間で 10 例であった。
- d. 12 年間で 10 例未満の稀少疾患は、Cong. Dys-erythropoietic anemia 3 例、先天性鉄芽球性貧血 8 例、Dyskeratosis congenita 8 例であった。
- e. 先天性溶血性疾患 (PK 欠損症・G6PD 欠損症など) は予想よりも少なく、診断が新生児期である場合に日本小児血液・がん学会会員が新生児医療に関与していなければ登録集計されていない可能性がある。

D . 考察

日本小児血液・がん学会疾患登録事業は2006年に開始され、会員施設において診断された全ての血液疾患を対象にした全数把握疫学研究事業である。また同学会形態中央診断事業(2017年で終了)は、診断困難な小児期の造血不全を対象にして、高い精度で新規症例が診断されている。12年間の診断症例数は1,186例であった。研究期間の3年間で先天性造血不全症は最多疾患の特発性再生不良性貧血は年間40-50症例であり、新規治療法や診断方法開発を目指した臨床試験が実施できる症例数規模である。一方、12年間で10例未満の稀少疾患では、各症例の詳細な臨床情報と遺伝情報の検討を重ねて、新規診断アルゴリズムの開発、病態解明の研究が企画されるべきであろう。また、この疫学データベースが日本小児血液・がん学会会員施設を対象にしていることから、新生児期に診断される先天性血液疾患(溶血性疾患、血小板異常症、好中球異常症など)が登録されていない可能性があり、悉皆性を求めて改善すべき問題点である。

E . 結論

小児期造血障害疾患の病態解明、診断法や治療開発には疾患遺伝子情報や詳細な臨床情報に加えて、追跡情報の収集(二次調査・追跡調査)が必須であり、それを目的にしたデータベース構築による系統的な解析が必要である。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ikeda F, Yoshida K, Toki T, Uechi T, Ishida S, Nakajima Y, Sasahara Y, Okuno Y, Kanezaki R, Terui K, Kamio T, Kobayashi A, Fujita T, Sato-Otsubo A, Shiraishi Y, Tanaka H, Chiba K, Muramatsu H, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Kenmochi N, Miyano S, Ogawa S, Ito E. Exome sequencing identified RPS15A as a novel causative gene for Diamond-Blackfan anemia. **Haematologica** 2017 Mar;102(3):e93-e96. doi: 10.3324/haematol.2016.153932.
- 2) Nishikawa E, Yagasaki H, Hama A, Yabe H, Ohara A, Kosaka Y, Kudo K, Kobayashi R, Ohga S, Morimoto A, Watanabe K-I, Yoshida N, Muramatsu H, Takahashi Y, Kojima S. Long-term outcomes of 95 children with moderate aplastic anemia treated with horse antithymocyte globulin and cyclosporine. **Pediatric Blood and Cancer** 2017;64(5):e26305. doi : 10.1002/pcb.26305.
- 3) Utsugisawa T, Uchiyama T, Toki T, Ogura H, Aoki T, Hamaguchi I, Ishiguro A, Ohara A, Kojima S, Ohga S, Ito E, Kanno H. Erythrocyte glutathione is a novel biomarker of Diamond-Blackfan anemia. **Blood Cells Mol Dis.** 2016;59:31-36.
- 4) Ikeda F, Toki T, Kanezaki R, Terui K, Yoshida K, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Ogawa S, Ito E. ALDH2 polymorphism in patients with Diamond-Blackfan anemia in Japan. **Int J Hematol.** 2016;103:112-114.

2. 学会発表

該当なし

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

表.

Diagnosis / Year	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2015 - 2017
Hospitals (registered/member)	184 / 223	204 / 231	212 / 235	213 / 236	216 / 239	216 / 239	219 / 242	212 / 230	171 / 232	158 / 239	165 / 236	145 / 230	
(%)	83%	88%	90%	90%	90.3%	90.4%	90.5%	92%	74%	66%	70%	63%	Subtotal
Idiopathic AA	58	62	68	68	55	62	49	58	41	54	46	32	132
Hepatitis AA	5	8	11	7	13	5	11	3	5	8	15	6	29
AA / PNH	2	1	1	0	1	0	0	0	0	ND	•	•	0
PNH	ND	•	•	•	•	•	•	0	3	0	ND	•	0
Fanconi Anemia	5	4	6	1	4	2	6	6	3	4	3	3	10
Diamond-Blackfan	9	6	9	10	6	9	6	11	10	12	6	3	21
Idiopathic PRCA	1	4	5	8	5	7	6	6	1	7	6	7	20
Schwachman-Diamond	0	1	1	2	0	0	2	2	0	2	1	1	4
Cong. Dyserythropoietic anemia	ND	•	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0
Sideroblastic anemia	ND	•	2	1	1	0	1	0	1	0	1	1	2
Svere Cong. Neutropenia	2	1	2	0	3	4	4	1	2	1	1	2	4
Cyclic Neutropenia	1	3	2	3	2	3	5	3	0	4	0	1	5
Dyskeratosis congenita	1	0	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	3
Cong. Thrombocytopenia							12	11	19	14	16	12	42
Cong. Spherocytosis	ND	•	•	•	54	49	26	48	50	64	48	53	165
Cong. Elliptocytosis	ND	•	•	•	2	1	1	2	1	0	1	3	4
G6PD deficiensy	ND	•	•	•	5	5	3	3	6	9	6	2	17
PK deficiency	ND	•	•	•	0	0	0	0	0	3	0	0	3
other erythrocyte enzyme def.	ND	•	•	•	2	0	0	0	0	2	0	1	3
Sickel cell disease	ND	•	•	•	1	1	0	1	1	0	0	0	0
Unstable hemoglobinopathy	ND	•	•	•	1	0	0	0	2	4	1	0	5
Thalasemia	ND	•	•	•	18	16	11	8	10	14	16	25	55
other hemoglobinopathy	ND	•	•	•	0	0	0	1	0	1	1	3	5
Refract. Cytopenia Child., RCC	ND	•	•	•	•	•	•	•	20	21	15	ND	36

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

DBAの遺伝子診断・診療ガイドラインの作成

研究分担者 照井君典（弘前大学大学院医学研究科小児科学 准教授）

研究要旨： Diamond Blackfan 貧血（DBA）は、赤血球造血のみが障害される稀な先天性赤芽球癆である。原因遺伝子として 15 種類のリボソームタンパク（RP）遺伝子と *GATA1* 遺伝子が同定されている。しかし、我が国の DBA 患者の約半数は原因遺伝子が不明である。本年度も日本小児血液・がん学会の中央診断事業と疾患登録事業とも連携し、正確な診断に基づいた新規症例の把握と検体収集を行い、臨床的に DBA と診断された 64 例中 31 例（％）に既報の遺伝子変異を認めた。これまでに 221 例の DBA の臨床情報と検体の収集および遺伝子解析を行い、128 例（57.9％）に原因となる RP 遺伝子変異を見出した。この中には、我々が見出した新規原因遺伝子 *RPL27*, *RPS27* 及び *RPS15A* が含まれている。さらに、最近、DBA の近縁疾患の中に、がん抑制遺伝子 *TP53* の活性化変異が原因で起こる「新たな先天性骨髄不全症」を発見した（AJHG 2018）。これらのデータをもとに、日本小児血液・がん学会の再生不良性貧血・MDS 委員会と連携を取りながらエビデンスに基づいた診断基準および診断・治療ガイドラインの小改訂を行った。さらに、2017 年度は悪性腫瘍の合併を考慮した「DBA の重症度分類」の改訂、2018 年度は「DBA の診断基準および診断・治療ガイドライン」の小改訂を行った。

A．研究目的

Diamond-Blackfan 貧血（DBA）は、赤血球造血のみが障害される稀な先天性赤芽球癆である。原因遺伝子として 15 種類のリボソームタンパク（RP）遺伝子と *GATA1* 遺伝子が同定されているが、我が国の DBA 患者の約半数は原因遺伝子が不明である。また、遺伝子診断により臨床的な診断が誤りであった症例が複数存在することが明らかとなった。本研究の目的は、これまでの研究を通じて確立した解析基盤を共有し、日本小児血液・がん学会の中央診断事業と疾患登録事業とも連携し、正確な診断に基づいた新規症例の把握と検体収集を行うことである。データ収集と観察研究を継続し、正確な先天性造血不全の実態把握を行い、より精度の高い疾患データベースの確立とエビデンスに基づいた診断基準、重症度分類と診療ガイドラインの改訂を行う。

B．研究方法

最初に、DBA で遺伝子変異が報告されている 12 種類の RP 遺伝子（*RPS7*, *RPS10*, *RPS17*, *RPS19*, *RPS24*, *RPS26*, *RPS27*, *RPL5*, *RPL11*, *RPL26*,

RPL27, *RPL35a*）と *GATA1* 遺伝子について、次世代シーケンサー（MiSeq）を用いてターゲットシーケンスを行った。次に、定量的 PCR 法と SNP アレイ法により RP 遺伝子の欠失を解析した。

得られたデータベースをもとに、エビデンスに基づいた診断基準の改訂、重症度分類の策定および診断・治療ガイドラインの改訂を行う。

（倫理面への配慮）

ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従い、弘前大学医学部の倫理委員会の承認を得て、患者および家族に十分な説明を行い文書による同意を得たのち、検体を連結可能匿名化して解析を行った。

C．研究結果

新規症例 64 名の遺伝子診断を行い、31 例（*RPS19* 11 例、*RPL11* 6 例、*RPL5* 5 例、*RPS26* 4 例、*RPS7* 3 例、*RPL35A* 2 例）で既知の原因遺伝子を同定した。これまでに遺伝子検査を施行した症例は 221 例となった。本研究事業と AMED の「稀少小児遺伝

性血液疾患研究班」(小島班)の連携研究により、新規原因候補遺伝子 *RPS15A* を見出した (Haematologica 2016)。さらに、DBAの近縁疾患の中に、がん抑制遺伝子 *TP53* の活性化変異が原因で起こる「新たな先天性骨髄不全症」の2症例を発見した (AJHG 2018)。

これらのデータをもとに、日本小児血液・がん学会の再生不良性貧血・MDS委員会と連携を取りながら、エビデンスに基づいた診断基準および診断・治療ガイドラインの小改訂を行った。さらに、2017年度は悪性腫瘍の合併を考慮した「DBAの重症度分類」の改訂、2018年度は「DBAの診断基準および診断・治療ガイドライン」の小改訂を行った。

D . 考察

我が国のDBAは、本研究事業により原因遺伝子も含め次第にその実態が明らかになってきた。まだ約40%が原因遺伝子不明であるが、精度の高いデータベースの構築が進んでいると思われる。

DBAを含めた先天性骨髄不全症7疾患の診療ガイドラインの改訂版について、予め出版社とも協議し、日本小児血液・がん学会編集の書籍として出版することを念頭に改訂作業を行った。先天性骨髄不全症の学会認定のガイドラインはこれまでなく、専門医だけでなく一般小児科医の啓蒙活動にも大きく役立つことが期待される。

E . 結論

DBA近縁疾患の中に、がん抑制遺伝子 *TP53* の活性化変異が原因で起こる「新たな先天性骨髄不全症」を発見した。また、DBAの新規原因遺伝子 *RPS15A* を発見し、DBAの研究に大きく貢献した。

DBAの遺伝子診断を進め、精度の高いDBAのデータベースが構築されてきた。その成果のもとに診断基準、重症度分類と診療ガイドラインの改訂を行った。本研究班は、DBAの診療の質の向上に大きな貢献をしたと思われる。

F . 研究発表

1. 論文発表

1) Kudo K, Tanaka T, Kobayashi A, Terui K, Ito E. Zoledronic acid for relapsed Langerhans cell histiocytosis with isolated skull bone lesion. **Pediatr Int.** 2019;61(3):315-317. doi: 10.1111/ped.13774.

- 2) Kudo K, Ueno H, Sato T, Kubo K, Kanezaki R, Kobayashi A, Kamio T, Sasaki S, Terui K, Kurose A, Yoshida K, Shiozawa Y, Toki T, Ogawa S, Ito E. Two siblings with familial neuroblastoma with distinct clinical phenotypes harboring an ALK germline mutation. **Genes Chromosomes Cancer.** 2018;57(12):665-669. doi: 10.1002/gcc.22676.
- 3) Toki T, Yoshida K, Wang R, Nakamura S, Maekawa T, Goi K, Katoh MC, Mizuno S, Sugiyama F, Kanezaki R, Uechi T, Nakajima Y, Sato Y, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Shiozawa Y, Kataoka K, Shiraishi Y, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Sato T, Kamio T, Sakaguchi H, Ohga S, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Ohara A, Kanno H, Miyano S, Kojima S, Ishiguro A, Sugita K, Kenmochi N, Takahashi S, Eto K, Ogawa S, Ito E. De Novo Mutations Activating Germline TP53 in an Inherited Bone-Marrow-Failure Syndrome. **Am J Hum Genet.** 2018;103(3):440-447. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.07.020.
- 4) Tsujimoto S, Osumi T, Uchiyama M, Shirai R, Moriyama T, Nishii R, Yamada Y, Kudo K, Sekiguchi M, Arakawa Y, Yoshida M, Uchiyama T, Terui K, Ito S, Koh K, Takita J, Ito E, Tomizawa D, Manabe A, Kiyokawa N, Yang JJ, Kato M. Diplotype analysis of NUDT15 variants and 6-mercaptopurine sensitivity in pediatric lymphoid neoplasms. **Leukemia.** 2018;32(12):2710-2714. doi: 10.1038/s41375-018-0190-1.
- 5) Uemura S, Mori T, Nagano C, Takafuji S, Nishimura N, Toki T, Terui K, Ito E, Iijima K. Effective response to azacitidine in a child with a second relapse of myeloid leukemia associated with Down syndrome after bone marrow transplantation. **Pediatr Blood Cancer.** 2018:e27414. doi: 10.1002/pbc.27414.
- 6) Minakawa S, Matsuzaki Y, Terui K, Kayaba H, Sawamura D. Tuberculous granuloma developed 9 years after bacillus Calmette-Guérin vaccination in a patient with immunodeficiency. **J Dermatol.** 2018; 45: e293-5. doi: 10.1111/1346-8138.14468.

- 7) Ito E, Terui K, Toki T. Inherited bone marrow failure syndrome, TAM. In **Hematological Disorders in Children**. edited by Eiichi Ishii, Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2017, pp. 145-170.
- 8) Ikawa Y, Nishimura R, Maeba H, Fujiki T, Kuroda R, Noguchi K, Fukuda M, Mase S, Araki R, Mitani Y, Sato T, Terui K, Ito E, Kitabayashi I, Yachie A. Deep spontaneous molecular remission in a patient with congenital acute myeloid leukemia expressing a novel MOZ-p300 fusion transcript. **Leuk Lymphoma**. 2018;1-3. doi: 10.1080/10428194.2018.1434885.
- 9) Sakamoto K, Imamura T, Kihira K, Suzuki K, Ishida H, Morita H, Kanno M, Mori T, Hiramatsu H, Matsubara K, Terui K, Takahashi Y, Suenobu SI, Hasegawa D, Kosaka Y, Kato K, Moriya-Saito A, Sato A, Kawasaki H, Yumura-Yagi K, Hara J, Hori H, Horibe K. Low Incidence of Osteonecrosis in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Treated with ALL-97 and ALL-02 Study of Japan Association of Childhood Leukemia Study Group. **J Clin Oncol**. 2018; 36: 900-7.
- 10) Shimada A, Iijima-Yamashita Y, Tawa A, Tomizawa D, Yamada M, Norio S, Watanabe T, Taga T, Iwamoto S, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Koh K, Goto H, Kosaka Y, Saito AM, Kiyokawa N, Horibe K, Hara Y, Oki K, Hayashi Y, Tanaka S, Adachi S. Risk-stratified therapy for children with FLT3-ITD-positive acute myeloid leukemia: results from the JPLSG AML-05 study. **Int J Hematol**. 2018; 107: 586-595. doi: 10.1007/s12185-017-2395-x.
- 11) Nakayama H, Tomizawa D, Tanaka S, Iwamoto S, Shimada A, Saito AM, Yamashita Y, Moritake H, Terui K, Taga T, Matsuo H, Kosaka Y, Koh K, Hosoi H, Kurosawa H, Isoyama K, Horibe K, Mizutani S, Adachi S. Fludarabine, cytarabine, G-CSF and idarubicin for children with relapsed AML. **Pediatr Int**. 2017; 59: 1046-52.
- 12) Matsuo H, Shiga S, Imai T, Kamikubo Y, Toki T, Terui K, Ito E, Adachi S. Purification of leukemic blast cells from blood smears using laser microdissection. **Int J Hematol**. 2017;106(1):55-59. doi:10.1007/s12185-017-2227-z.
- 13) Moritake H, Tanaka S, Nakayama H, Miyamura T, Iwamoto S, Shimada A, Terui K, Saito A, Shiba N, Hayashi Y, Tomizawa D, Taga T, Goto H, Hasegawa D, Horibe K, Mizutani S, Adachi S. Outcome of relapsed core binding factor acute myeloid leukemia in children: A result from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) AML-05R study. **Pediatr Blood Cancer**. 2017 Oct; 64 (10). doi: 10.1002/pbc.26491.
- 14) Ikeda F, Yoshida K, Toki T, Uechi T, Ishida S, Nakajima Y, Sasahara Y, Okuno Y, Kanazaki R, Terui K, Kamio T, Kobayashi A, Fujita T, Sato-Otsubo A, Shiraiishi Y, Tanaka H, Chiba K, Muramatsu H, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Kenmochi N, Miyano S, Ogawa S, Ito E. Exome sequencing identified *RPS15A* as a novel causative gene for Diamond-Blackfan anemia. **Haematologica**. 2017;102(3):e93-e96. doi: 10.3324/haematol.2016.153932.
- 15) Hiyama TY, Utsunomiya AN, Matsumoto M, Fujikawa A, Lin CH, Hara K, Kagawa R, Okada S, Kobayashi M, Ishikawa M, Anzo M, Cho H, Takayasu S, Nigawara T, Daimon M, Sato T, Terui K, Ito E, Noda M. Adipsic Hyponatremia Without Hypothalamic Lesions Accompanied by Autoantibodies to Subfornical Organ. **Brain Pathol** 2017; 27: 323-31.
- 16) Kobayashi R, Mitsui T, Fujita N, Osumi T, Aoki T, Aoki K, Suzuki R, Fukuda T, Miyamoto T, Kato K, Nakamae H, Goto H, Eto T, Inoue M, Mori T, Terui K, Onizuka M, Koh K, Koga Y, Ichinohe T, Sawada A, Atsuta Y, Suzumiya J. Outcome differences between children and adolescents and young adults with non-Hodgkin lymphoma

- following stem cell transplantation. **Int J Hematol.** 2017; 105: 369-76.
- 17) Shiba N, Yoshida K, Shiraishi Y, Okuno Y, Yamato G, Hara Y, Nagata Y, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Kato M, Park Mj, Ohki K, Shimada A, Takita J, Tomizawa D, Kudo K, Arakawa H, Adachi S, Taga T, Tawa A, Ito E, Horibe K, Sanada M, Miyano S, Ogawa S, Hayashi Y. Whole-exome sequencing reveals the spectrum of gene mutations and the clonal evolution patterns in paediatric acute myeloid leukaemia. **Br J Haematol.** 2016;175(3):476-489. doi: 10.1111/bjh.14247.
 - 18) Ogasawara S, Saito N, Itoga M, Kushibiki M, Nakata R, Ohta E, Fujita E, Kojima K, Terui K, Ito E, Kayaba H. Spurious thrombocytosis caused by tumor cell lysis in a patient with acute monocytic leukemia. **Clin Lab.** 2016;62: 1575-7. doi: 10.7754/Clin.Lab.2016.151218.
 - 19) Miura R, Yokoyama Y, Shigeto T, Futagami M, Mizunuma H, Kurose A, Tsuruga K, Sasaki S, Terui K, Ito E. Dysgerminoma developing from an ectopic ovary in a patient with WAGR syndrome: A case report. **Mol Clin Oncol** 2016; 5:503-6.
 - 20) Takahashi H, Watanabe T, Kinoshita A, Yuza Y, Moritake H, Terui K, Iwamoto S, Nakayama H, Shimada A, Kudo K, Taki T, Yabe M, Matsushita H, Yamashita Y, Koike K, Ogawa A, Kosaka Y, Tomizawa D, Taga T, Saito AM, Horibe K, Nakahata T, Miyachi H, Tawa A, Adachi S. High event-free survival rate with minimum-dose-anthracycline treatment in childhood acute promyelocytic leukaemia: a nationwide prospective study by the Japanese Paediatric Leukaemia/Lymphoma Study Group. **Br J Haematol** 2016; 174: 437-43.
 - 21) Umeda K, Adachi S, Horikoshi Y, Imai K, Terui K, Endo M, Mitsui T, Kato K, Koh K, Kajiwara R, Ito R, Otsuka Y, Inoue M, Ishii E, Yabe H. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for Chediak-Higashi syndrome. **Pediatr Transplant** 2016; 20: 271-5.
 - 22) Taga T, Watanabe T, Tomizawa D, Kudo K, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Iwamoto S, Nakayama H, Takahashi H, Shimada A, Taki T, Toki T, Ito E, Goto H, Koh K, Saito AM, Horibe K, Nakahata T, Tawa A, Adachi S. Preserved High Probability of Overall Survival with Significant Reduction of Chemotherapy for Myeloid Leukemia in Down Syndrome: A Nationwide Prospective Study in Japan. **Pediatr Blood Cancer** 2016;63:248-54. doi: 10.1002/pbc.25789.
 - 23) Ikeda F, Toki T, Kanazaki R, Terui K, Yoshida K, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Ogawa S, Ito E. ALDH2 polymorphism in patients with Diamond-Blackfan anemia in Japan. **Int J Hematol** 2016;103:112-4. doi: 10.1007/s12185-015-1891-0.
 - 24) 照井君典. 貧血. 小児疾患の診断治療基準. 小児内科増刊号. 2018; 50: 70-1.
 - 25) 伊藤悦朗, 土岐力, 照井君典. Down症候群. 白血病学(上) 最新の基礎・臨床研究. 日本臨床増刊号 2016;74:97-102.
 - 26) 照井君典, 土岐力, 伊藤悦朗. 一過性異常骨髄増殖症. 小児疾患診療のための病態生理3. 小児内科増刊号 2016;48:953-6.
 - 27) 照井君典, 伊藤悦朗. ダウン症に伴う急性巨核芽球性白血病の分子的理解と臨床応用. 血液フロンティア 2016;26:1533-40.
 - 28) 伊藤悦朗, 土岐力, 照井君典. 遺伝性骨髄不全症研究の最近の進歩. 臨床血液 2016;57:882-90.
 - 29) 新居敏, 藤野寿典, 赤澤嶺, 田尻雄二郎, 高野良彦, 巽亜子, 中道恵里那, 内藤拓人, 安西香織, 杉田亮, 竹川麻衣, 野村安隆, 肥田晋矢, 坂本晴子, 葭井操雄, 土岐力, 照井君典, 伊藤悦朗, 住本真一. 感染を契機に診断に至ったRPL11の遺伝子変異陽性Diamond-Blackfan anemiaの11歳男児例. 小児科臨床 2016;69:1416-20.
 - 30) 照井君典, 伊藤悦朗. 小児急性巨核芽球性白血病の生物学的特性. 血液内科 2016;72:737-42.
2. 学会発表
 - 1) Kubota Y, Uryu K, Ito T, Seki M, Isobe T, Toki

- T, Yoshida K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Hiwatari M, Miyano S, Oka A, Ogawa S, Terui K, Sato A, Ito E, and Takita J. Comprehensive Genomic Analysis Identified Acute Lymphoblastic Leukemia in Down Syndrome Was Highly Heterogeneous with the High Prevalence of Ph-like Signature. **American Society of Hematology 60th Annual Meeting** (2018年12月1-4日, 米国・サンディエゴ).
- 2) Kubota Y, Uryu K, Ito T, Kawai T, Seki M, Isobe T, Toki T, Yoshida K, Kataoka K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J. Integrated genetic and epigenetic analysis elucidated expression and methylation profiles of acute lymphoblastic leukemia in Down syndrome. **The 23th Congress of European Hematology Association** (2018年7月14-17日, スウェーデン・ストックホルム).
 - 3) Kubota Y, Uryu K, Ito T, Kawai T, Seki M, Isobe T, Toki T, Yoshida K, Kataoka K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J. Integrated genetic/epigenetic analysis revealed high heterogeneity of acute lymphoblastic leukemia in Down syndrome. **American Society of Hematology 59th Annual Meeting** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ).
 - 4) Hasegawa D, Miyamura T, Nagai K, Kudo K, Tawa A, Sano H, Fukushima K, Iwamoto S, Kinoshita A, Takahashi H, Terui K, Nakayama H, Arakawa Y, Nakashima K, Yamamoto S, Saito MA, Horibe K, Tomizawa D, Taga T, Adachi S. Effectiveness of Supportive Care Measurements to Reduce Infections during Induction for Children with Acute Myeloid Leukemia: A Report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG). **American Society of Hematology 59th Annual Meeting** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ).
 - 5) Sakamoto K, Imamura T, Kihira K, Ishida H, Suzuki K, Morita H, Kanno M, Mori T, Hiramatsu H, Matsubara K, Terui K, Takahashi Y, Suenobu S, Hasegawa D, Kosaka Y, Kato K, Saito MA, Sato A, Kawasaki H, Yagi YK, Hara J, Hori H, and Horibe K. Low Incidence of Osteonecrosis in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Treated with ALL-97 and ALL-02 Study of Japan Association of Childhood Leukemia Study Group. **American Society of Hematology 59th Annual Meeting** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ).
 - 6) Ito E, Yoshida K, Toki T, Saida S, Watanabe K, Nakamura M, Terui K, Nakahata T, Miyano S, Watanabe A, Ogawa S. Genetic and Epigenetic Alterations in Acute Megakaryoblastic Leukemia in Down Syndrome. **Fifth JCA- AACR Special Joint Conference -The Latest Advances in Hematological Cancer Research: From Basic Science to Therapeutics** (招待講演)(2016年7月15日, 千葉).
 - 7) Terui K, Toki T, Hama A, Muramatsu H, Hasegawa D, Park MJ, Iwamoto S, Taga T, Yanagisawa R, Koh K, M. Saito A, Horibe K, Hayashi Y, Adachi S, Mizutani S, Watanabe K, Ito E. Analysis of *GATA1* mutations in Down syndrome infants with transient abnormal myelopoiesis and clinical impacts of *GATA1* mutation types: A report from the JPLSG TAM-10 study. **58th Annual Meeting & Exposition** (2016年12月3-6日, 米国・サンディエゴ).
 - 8) Kubota Y, Uryu K, Kawai T, Ito T, Hanada I, Toki T, Seki M, Yoshida K, Sato Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J. Gene expression profiles and methylation analysis in Down syndrome related acute lymphoblastic leukemia. **58th Annual Meeting & Exposition** (招待講演)(2016年12月3-6日, 米国・サンディエゴ).

Annual Meeting & Exposition (2016年12月3-6日, 米国・サンディエゴ) .

- 9) Miyamura T, Tanaka S, Nakayama H, Moritake H, Tomizawa D, Saito A, Tawa A, Iwamoto S, Shimada A, Terui K, Morimoto T, Hayashi Y, Horibe K, Mizutani S, Taga T and Adachi S. Clinical and Biological Features of Pediatric Acute Myeloid Leukemia with Primary Induction Failure in the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) AML-05 Study. **58th Annual Meeting & Exposition** (2016年12月3-6日, 米国・サンディエゴ) .

国内学会

- 1) 渡辺亮, 才田聡, 中村正裕, 土岐力, 金崎里香, 照井君典, 渡邊健一郎, 伊藤悦朗. ダウン症児に発症する巨核芽球性白血病におけるエピゲノム異常. **第80回日本血液学会学術集会** (2018年10月12-14日, 大阪) .
- 2) Terui K, Toki T, Hama A, Muramatsu H, Hasegawa D, Park MJ, Iwamoto S, Taga T, Yanagisawa R, Koh K, M. Saito A, Horibe K, Hayashi Y, Adachi S, Mizutani S, Watanabe K and Ito E. Clinical impact of *GATA1* mutation types in infants with Down syndrome and TAM: JPLSG TAM-10 study. **第79回日本血液学会学術集会** (2017年10月20-22日, 東京) .
- 3) 関戸雄貴, 中館尚也, 石黒精, 照井君典, 土岐力, 伊藤悦朗, 吉田健一, 小川誠司, 小島勢二. Blackfan-Diamond 症候群と鑑別を要した Shwachman-Diamond 症候群の姉弟例. **第59回日本小児血液・がん学会学術集会** (2017年11月9-11日, 松山) .
- 4) Kanazaki R, Toki T, Terui K, Sasaki S, Kudo K, Kamio T, Sato T, Ikeda F, Ito E. Dyregulation of *KIT* expression by *GATA1*s in TAM and acute megakaryoblastic leukemia in Down syndrome. **第78回日本血液学会学術集会** (2016年10月15日, 横浜) .
- 5) Kubota Y, Uryu K, Kawai T, Ito T, Hanada I, Toki T, Seki M, Yoshida K, Sato Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Oka A,

Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J. DNA methylation analysis in acute lymphoblastic leukemia of Down syndrome. **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) .

- 6) 照井君典, 土岐力, 濱麻人, 村松秀城, 長谷川大輔, 朴明子, 岩本彰太郎, 多賀崇, 柳澤龍, 康勝好, 林泰秀, 足立壯一, 水谷修紀, 渡邊健一郎, 伊藤悦朗. 一過性異常骨髄増殖症における *GATA1* 遺伝子変異 JPLSG TAM-10 登録症例の解析 (*GATA1* mutation status in infants with transient abnormal myelopoiesis: A report from the JPLSG TAM-10 study). **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

該当なし

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

遺伝性鉄芽球性貧血の遺伝子診断

研究分担者 古山和道（岩手医科大学医学部生化学講座分子医化学分野 教授）

研究要旨： 遺伝性鉄芽球性貧血は稀な遺伝性貧血症であるが、近年の次世代シーケンサーの性能向上に伴い、エクソームシーケンスが比較的容易に実施されるようになり、多数の新たな原因遺伝子が報告されている。しかしながら、網羅的な遺伝子変異の解析を実施しても原因遺伝子が同定されない患者も少なくない。今後はこれらの患者における原因遺伝子を同定するための方策を考える必要があると思われる。

A．研究目的

遺伝性鉄芽球性貧血の診断基準を確定し、さまざま果等を参照して重症度を分類し、それに基づいて治療法を決定するための診療ガイドラインを確立することが本研究の目的である。このうち、当分担研究者の主な役割は、遺伝性疾患の診断基準を確定するための原因遺伝子の同定である。実際、エクソームシーケンスにより、知られている全てのタンパク質をコードする遺伝子のエクソン部分の変異の有無が明らかにされるようになり、その結果、新たな原因遺伝子が次々に報告されている。しかしながら、そのような網羅的な遺伝子解析の方法を用いても未だに原因遺伝子が明らかにならない患者も少なくない。そのような患者ではさらなる解析手段として whole genome sequencing (WGS)による遺伝子解析が想定されるが、これにより網羅的で膨大な情報が得られるものの、その中から疾患の原因となる変異を同定するのは容易ではない。多数の患者を含む家系において解析することが可能な場合には連鎖解析により責任領域を絞り込むことも可能であるが、本疾患の患者数が少ないことや、核家族化の進展に伴う家系内の親族患者についての情報不足などにより、そのような手法の適用は困難な状況となりつつある。一方、既知の原因遺伝子の転写に重要な役割を果たす転写調節領域が存在することが明らかな場合には、当該領域における遺伝子変異の有無を明らかにすることを優先させることにより、効率よく原因遺伝子を明らかにできるのではないかと考えた。

B．研究方法

本研究分担者が分担している疾患は遺伝性鉄芽球性貧血である。特に、X染色体連鎖鉄芽球性貧血（XLSA）の原因遺伝子は赤芽球のみで発現する赤芽球特異的5-アミノレブリン酸合成酵素遺伝子（ALAS2）であることが明らかなので、まず、ALAS2の赤芽球特異的転写調節を同定し、次に同領域における遺伝子変異の有無をエクソーム解析によっても原因遺伝子が同定されない男性患者で明らかにし、さらに疾患モデル細胞を用いて、患者で同定された遺伝子発現調節領域の変異により環状鉄芽球が観察されるか否かを確認した。

（倫理面への配慮）

本研究計画は、主たる実施施設である東北大学医学部、および岩手医科大学医学部の倫理委員会の審査を受けて承認された後に、患者およびその家族の個人情報の保護等につき十分に配慮して実施された。

C．研究結果

まず、ALAS2遺伝子の赤芽球特異的転写調節領域の同定を試みた。GATA1転写因子はさまざまな遺伝子の赤芽球特異的転写調節に深く関与することが知られている。GATA1に対する抗体を用いたクロマチン免疫沈降法（ChIP法）によりGATA1転写因子が結合している赤芽球系培養細胞（K562細胞）の遺伝子断片を濃縮し、次世代シーケンサーにより解析した結果が既に報告されていた（Fujiwara et al., 2009, PMID 2784893）が、標的遺伝子のリストの中にALAS2遺伝子も含まれていた。ALAS2遺伝子におけ

るGATA1の結合部位について詳細に検討したところ、ChIP法でGATA1が結合しているとされた領域はALAS2遺伝子の第1イントロンの中程に存在し、今までALAS2の遺伝子発現調節領域としては未報告の領域であった。このため、赤芽球系培養細胞を用いてChIP法により同領域に特異的にGATA1が結合することを確認し、さらにプロモーターアッセイ法により当該部位がALAS2遺伝子における赤芽球特異的なエンハンサー（ALAS2int1Enh）として機能することを明らかにした。また、エクソーム解析によっても原因遺伝子が同定できなかった遺伝性鉄芽球性貧血患者のALAS2遺伝子について同領域の変異の有無を検索したところ、3家系5人の男性患者で変異を同定し、さらに、いずれの変異によってもGATA1が同部に結合できなくなることを確認した。これらの結果から、原因遺伝子として既知であるALAS2遺伝子の組織特異的発現調節領域の変異が、遺伝性鉄芽球性貧血発症の原因となる可能性が高いことが示された。

さらに、同領域の変異が貧血、および鉄芽球性貧血の代表的な表現型である環状鉄芽球の出現に直接関与するか否かを明らかにするために、疾患モデル細胞の樹立を試みた。モデル細胞の樹立のために赤白血病細胞由来のK562細胞のALAS2int1EnhにGATA1が結合できない欠失変異を導入したところヘモグロビン合成能の低下は確認できたが、環状鉄芽球は観察されなかった。

次に、非腫瘍細胞由来の赤芽球系培養細胞株であるHUDEP2細胞株を用いて同様の検討を実施したところ、ヘモグロビン合成能の低下が観察されたのに加えて、変異を導入した細胞では環状鉄芽球が再現性良く観察されることが明らかになった。

D . 考察

既知の原因遺伝子の組織特異的なエンハンサー領域を同定し、次いで同領域における変異の有無を明らかにすることにより、エクソーム解析によっても原因遺伝子が明らかにならなかった遺伝性鉄芽球性貧血の症例において、原因遺伝子の候補を同定することが可能であった。遺伝性鉄芽球性貧血患者におけるALAS2int1Enhの中のGATA1結合領域の変異については海外のグループからも報告されており、自検例も含めこれらの患者では同領域の変異が原因である可能性は極めて高いと考えられる。さらに、疾患モデル細胞を樹立して環状鉄芽球の形成をin

vitroで確認することができたことも、同領域の変異が疾患の原因として重要であることを示唆している。このような結果から、エクソーム解析によっても原因遺伝子が同定できない患者については、本研究で試みた手法の適用についても検討の対象になるものと考えられる。

また、HUDEP2細胞とゲノム編集法を組み合わせた疾患モデル細胞の樹立は、ALAS2遺伝子のみならず、鉄芽球性貧血の原因遺伝子として知られる他の遺伝子の未知の変異や、エクソーム解析等により同定された新たな遺伝性鉄芽球性貧血の原因遺伝子が、疾患の原因となりうるかどうかを明らかにするためにも有用であると予想されるため、遺伝性鉄芽球性貧血における確定診断に至るためのツールとしても利用可能であると考えられる。

E . 結論

エクソーム解析によっても原因遺伝子が同定できない遺伝性鉄芽球性貧血患者において、原因遺伝子を明らかにする方法を検討した。その結果、既知の原因遺伝子の赤芽球特異的エンハンサーを同定し、さらにエクソーム解析によっても原因遺伝子が不明であった遺伝性鉄芽球性貧血患者の同領域に変異を同定した。加えて、培養細胞株とゲノム編集法を用いて疾患モデル細胞を樹立することに成功し、確定診断に至るための方法の一つを示すことができた。

F . 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Furuyama K, and Kaneko K. Iron metabolism in erythroid cells and patients with congenital sideroblastic anemia. **Int J Hematol.** 2018;107:44-54.
 - 2) Kaneko K, Kubota Y, Nomura K, Hayashimoto H, Chida T, Yoshino N, Wayama M, Ogasawara K, Nakamura Y, Tooyama I, and Furuyama K. Establishment of a cell model of X-linked sideroblastic anemia using genome editing. **Exp Hematol.** 2018;65:57-68.
 - 3) Fujiwara T, Fukuhara N, Ichikawa ., Kobayashi M, Okitsu Y, Onishi Y, Furuyama K and Harigae H. A novel heterozygous ALAS2 mutation in a female with macrocytic sideroblastic anemia resembling

myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts: a case report and literature review. **Ann Hematol.** 2017;96:1955-1957.

- 4) Kaneko K, Ohba K, Hirose T, Totsune K, Furuyama K and Takahashi K. (2017) Expression of (Pro)renin Receptor During Rapamycin-Induced Erythropoiesis in K562 Erythroleukemia Cells and Its Possible Dual Actions on Erythropoiesis. **Tohoku J Exp Med.** 2017;241:35-43.
- 5) Kubota Y, Nomura K, Katoh Y, Yamashita R, Kaneko K, Furuyama K. Novel Mechanisms for Heme-dependent Degradation of ALAS1 Protein as a Component of Negative Feedback Regulation of Heme Biosynthesis. **J Biol Chem.** 2016;291:20516-20529.
- 6) Mu A, Li M, Tanaka M, Adachi Y, Tai TT, Liem PH, Izawa S, Furuyama K, Taketani S. Enhancements of the production of bilirubin and the expression of β -globin by carbon monoxide during erythroid differentiation. **FEBS Lett.** 2016;590:1447-1454.

2. 学会発表

- 1) 金子桐子, 久保田美子, 野村和美, 林本遥, 千田大誠, 吉野直人, 和山真里奈, 小笠原勝利, 中村幸雄, 遠山育夫, 古山和道. ALAS2 変異による鉄芽球性貧血のモデル細胞構築. **第 682 回 岩手医学会例会**(平成 30 年 4 月 27 日, 盛岡).
- 2) 金子桐子, 林本遥, 千田大誠, 久保田美子, 野村和美, 小笠原勝利, 和山真里奈, 吉野直人, 中村幸夫, 遠山育夫, 博多修子, 古山和道. 遺伝性鉄芽球性貧血モデル細胞の樹立. **日本生化学会東北支部第 84 回例会シンポジウム**(平成 30 年 5 月 19 日, 盛岡).
- 3) 久保田美子, 草壁香帆里, 久慈強, 金子桐子, 野村和美, 博多修子, 古山和道. ヘム合成経路の律速酵素 ALAS1 の分解経路の抑制によるゲノム不安定性の誘導. **日本生化学会東北支部第 84 回例会シンポジウム**(平成 30 年 5 月 19 日, 盛岡).
- 4) 久保田美子, 久慈強, 古山和道. ヘム合成経路の律速酵素 ALAS1 の分解経路の低下によるゲノム不安定性の誘導. **2017 年度生命科学系学会合同年次大会**(2017 年 12 月 6-9 日, 神戸).

- 5) 金子桐子, 千田大誠, 久保田美子, 野村和美, 古山和道. ALAS2 変異による遺伝性鉄芽球性貧血のモデル細胞樹立. **2017 年度生命科学系学会合同年次大会**(2017 年 12 月 6-9 日, 神戸).
- 6) 野村和美, 北川悠, 大木祐亮, 久保田美子, 金子桐子, 古山和道. ヒト CLPX-CLPP 複合体によるヘム結合型 ALAS1 の認識及び分解メカニズムの解明. **2017 年度生命科学系学会合同年次大会**(2017 年 12 月 6-9 日, 神戸).
- 7) 久保田美子, 野村和美, 蝦名真行, 金子桐子, 加藤恭丈, 古山和道. 非特異的 5-アミノレブリン酸合成酵素(ALAS1)のCLPXPによる翻訳後修飾. **第89回日本生化学会大会**(2016年9月, 仙台).
- 8) 野村和美, 久保田美子, 金子桐子, 蝦名真行, 古山和道. ヒトCLPX-CLPP複合体によるミトコンドリアマトリクスのタンパク質品質管理機構の解明. **第89回日本生化学会大会**(2016年9月, 仙台).

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

CDAのデータ管理，診断基準の確立

研究分担者 多賀 崇（滋賀医科大学小児科 准教授）

研究要旨： Congenital dyserythropoietic anemia (CDA) は先天的に赤血球系細胞に形成異常があり、慢性の不応性貧血、無効造血および続発性ヘモクロマトーシスを伴う疾患群である。従来 CDA に関する知見は主に西欧から得られているのみで、本邦での実態は明らかにされていなかった。本研究班において我が国における CDA の実態を把握し、そのデータ管理、診断基準の確立、さらには有効な治療法の開発の基盤となる研究を行う。

A．研究目的

Congenital dyserythropoietic anemia (CDA) は、先天的に赤血球系細胞に形成異常があり、慢性の不応性貧血、無効造血および続発性ヘモクロマトーシスを伴う稀な疾患群である。我が国ではこれまでCDAの実態が十分把握されておらず、我が国におけるCDAの実態を明らかにし、診断基準の確立、さらには有効な治療法の開発の基盤となる研究を行うことを目的とする。

B．研究方法

分担研究者（多賀）が以前行ったCDAの全国調査を参考に作成した調査表をまとめるとともに、中央遺伝子診断への協力、検体送付などを依頼する。小児血液専門医のみならず、新生児科医、一般小児科医、血液内科医などにも学会発表や論文による啓蒙を行い、さらなる症例の蓄積につとめる。

（倫理面への配慮）

調査の基本となる日本小児血液・がん学会の疾患登録事業として、学会倫理審査委員会で承認されている。また、調査に関する倫理審査は、共同研究者である真部淳の所属する聖路加国際病院、遺伝子診断に関する倫理審査は、検査実施施設である名古屋大学でそれぞれ承認されている。

C．研究結果

分担研究者（多賀）が以前行ったCDAの全国調査を参考に患者を収集、CDA疑いの症例のうち10例を既知の遺伝子変異の解析と全エクソーム解析

(WES)を共同研究者である名古屋大学で施行した。10例の内訳は、CDA I 3例、CDA II 6例、CDA III 1例で、CDAIは全例で既知のCDAN1遺伝子変異が同定されたが、CDA II / CDA IIIの7例ではCDAの既知及び新規の遺伝子変異は認められなかった。一方、CDA IIと診断された6例のうち2例で先天性溶血性貧血の原因遺伝子（SPTA1,G6PD）変異が同定され、遺伝学的に溶血性貧血と診断された。この結果が英文雑誌に投稿、掲載された（Hamada M, et al, IJH. 2018）。また、この結果を踏まえてCDA診療参照ガイドラインを改訂し、実際、臨床的にCDAと診断された症例の全エクソーム解析ではサンガーシーケンスで診断できなかった症例の変異が見つかる一方、球状赤血球症や遺伝性橢円赤血球症、G6PD欠損症などと診断された症例があり、全エクソーム解析による遺伝子検査も含めた中央診断は的確な診断と症例の把握には必須であると思われる旨を追記した。

D．考察

本班研究のサポートをもとに、本邦でのCDAの症例収集、精査を行ってきたが、新規症例は極めて少なく、既知の遺伝子異常を持つ症例は極めて少ない。また、今回の遺伝子解析で判明したように従来診断基準では診断困難な症例もあり、今後CDAが疑われる症例については網羅的遺伝子解析による遺伝学的診断を行うことが必須と考えられる。他の血液疾患と誤診されている症例も相当数あると考えられ、引き続き詳細な調査・研究が必要である。類縁疾患とともにの諸外国とは違う本邦独自の病態

把握を検討する必要がある。

E . 結論

本班研究のサポートをもとに、本邦でのCDAの症例収集、精査を行ってきたが、新規症例は極めて少なく、既知の遺伝子異常を持つ症例は極めて少ない。また、今回の遺伝子解析で判明したように従来の診断基準では診断困難な症例もあり、今後CDAが疑われる症例については網羅的遺伝子解析による遺伝学的診断を行うことが必須と考えられる。他の血液疾患と誤診されている症例も相当数あると考えられ、引き続き詳細な調査・研究が必要である。類縁疾患ととも諸外国とは違う本邦独自の病態把握を検討する必要がある。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hamada M, Doisaki S, Okuno Y, Muramatsu H, Hama A, Kawashima N, Narita A, Nishio N, Yoshida K, Kanno H, Manabe A, Taga T, Takahashi Y, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Whole-exome analysis to detect congenital hemolytic anemia mimicking congenital dyserythropoietic anemia. *Int J Hematol*. 2018;108(3):306-31.
- 2) 真部淳 , 長谷川大輔 , 多賀崇 , 小島勢二 . Congenital Dyserythropoietic Anemia (CDA) . **先天性骨髄不全症ガイドライン2017** , 診断と治療社 , pp54-61 .

2. 学会発表

該当なし

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

重症先天性好中球減少症 - ガイドライン -

研究分担者 小林正夫（広島大学大学院医歯薬保健学研究科小児科学 教授）

研究要旨： 重症先天性好中球減少症（severe congenital neutropenia, SCN）は、慢性好中球減少（末梢血好中球絶対数が 200/ μ l 以下）、生後早期からの細菌感染症の反復、骨髄像での骨髄顆粒球系細胞の低～正形成と前骨髄球/骨髄球での成熟障害を特徴とする。International Union of Immunological Society, 2017 Primary Immunodeficiency Diseases (IUIS, 2017) 分類では、慢性好中球減少を示す、いわゆる先天性好中球減少症 12 疾患の中に SCN として 1～5 型が分類されている。SCN としては *ELANE* 変異によるものが 75-80%、*HAX1* 変異によるものが 20%弱であり、その他が数%と考えられる。また、SCN と全く同じ *ELANE* 変異を原因とする周期性好中球減少症は SCN とは表現型が異なるが、SCN1 の範疇に分類されている。その他、症候群としての慢性好中球減少を呈する疾患が多いことから、好中球減少以外の他の合併所見は診断、予後には重要となる。本邦での全体の患者数は 100 例程度と推測される。SCN の病因、病態、診断、重症度、治療、予後について概要をまとめる。

A．疾患概念と疫学

重症先天性好中球減少症（severe congenital neutropenia, SCN）は末梢血好中球絶対数（absolute neutrophil count, ANC）が 200/ μ l 未満の重症慢性好中球減少、骨髄像での骨髄顆粒球系細胞の正形成から低形成と前骨髄球と骨髄球での成熟障害、生後早期から細菌感染症の反復を臨床的特徴とする。骨髄顆粒球系細胞の形態異常は明らかでなく、赤芽球系、巨核球系には異常を認めない。図に先天性好中球減少症診断のためのアルゴリズムを示す。IUIS（2017）分類では、SCN は先天性好中球減少症の一部として SCN を 5 型に分類している（表）。SCN のタイプによってはそれぞれに特有な合併症状が存在するので診断の参考となる。

発症頻度の確定的な数字はないが、欧米と本邦では発症頻度が異なり、人種間での差が認められている。本邦では 100 万人に 1-2 人の発生頻度と推測され、現在までに 100 例近い患者数が集積されている。SCN で、遺伝子解析が施行されている症例からは、*ELANE* 変異（SCN1）と *HAX1* 変異（SCN3）に限定されていたが、最近 G6PC3 欠損症（SCN4）の本邦第一例目が報告されている。常染色体性優性遺伝形式をとる SCN1（*ELANE* 遺伝子

のヘテロ接合性変異）が最も頻度が高く、75～80% を占めている。*HAX1* 異常による SCN3 は Kostmann 病と呼ばれ、全例が *HAX1* 遺伝子のホモ接合性変異が複合ヘテロ接合性変異で常染色体性劣性遺伝形式をとる。その頻度は約 15%である。その他の SCN の頻度は明らかではないが、非常に稀と思われる。

B．病因・病態

SCN を含めた先天性好中球減少症において、多くの責任遺伝子が同定、報告されているので、それぞれその病態は異なってくる。細胞レベルで病因を考えると、細胞内小器官ごと（細胞膜受容体、核、小胞体、ミトコンドリア、エンドゾーム、ライソゾーム、リボゾーム、アズール顆粒、細胞骨格等）に責任遺伝子が分布し、分類されている。

1) SCN1：好中球エラスターゼ遺伝子（*ELANE*）変異

好中球エラスターゼ（NE）はセリンプロテアーゼに分類される 30kD の糖蛋白であり、成熟骨髄顆粒球系細胞で最も強く発現している。合成された活性型 NE は主に一次顆粒（アズール顆粒）に存在するが、細胞膜や核にも存在が知られている。*ELANE* 変異が好中球減少を引き起こす機序について種々の

説が挙げられているが、その病態の詳細は明らかでない。

2) SCN2 : GF1 欠損症

2003年に *GF1I* ヘテロ接合性変異 (DNA 結合に関与する zinc finger 部位) が同定され、好中球減少、単球増多、CD4 リンパ球の減少、ナイーブ T、B 細胞の減少が認められた。G-CSF に対する反応性の低下や好中球、単球の両方の性質を有する異常細胞の出現も認められた。T、B 細胞に関しては数と活性の低下は認められるものの機能は正常と推察されている。

3) SCN3 : HA1 異常症 (Kostmann 病)

hematopoietic cell-specific Lyn substrate 1 (HCLS1)-associated protein X-1 (HAX1) は、細胞内のシグナル伝達に関与する分子として 1997 年に見出されたが、その後、多くの細胞内蛋白質やウイルス蛋白質と相互作用し、細胞骨格形成やアポトーシスにも関与することが明らかにされている。スプライシングサイトの違いにより、2 種類のアイソフォーム (アイソフォーム a, b) が存在する。HAX1 の欠失は骨髄前駆細胞内にチトクロム C を放出し、前駆細胞ならびに好中球でのアポトーシスを亢進させ、好中球減少が惹起されると考えられている。

現在までに 17 種類の HAX1 遺伝子変異が報告されているが、HAX1 異常症のうち、アイソフォーム a のみに影響する変異が認められる症例とアイソフォーム a と b の両方に影響する変異が認められる症例がおよそ半数ずつである。アイソフォーム a のみに影響する変異を有する群では神経症状はほとんど認められないのに対し、a、b 両方に影響する変異を有する群では 68% に中等度以上の精神発達遅滞、てんかんが認められている。

4) SCN4 : G6PC3 欠損症

グルコース-6-ホスファターゼ (Glucose-6-Phosphatase; G6Pase) の 1 つである Glucose-6-Phosphatase protein 3 (G6PC3) (または Glucose-6-Phosphatase-β; G6Pase-β) の変異により発症する常染色体劣性遺伝性疾患である。

G6Pase は小胞体内の酵素で、グルコース-6-リン酸からリン酸を除去してグルコースを遊離する。ヒトでは G6Pase は *G6PC1*、*G6PC2*、*G6PC3* からなる遺伝子ファミリーによりコードされている。*G6PC1* の両アレル変異は糖原病 Ia 型を発症するが、グルコース-6-リン酸を細胞質から小胞体内に輸送するグルコース-6-リン酸トランスロカーゼ (glucose-6-phosphatase translocase; G6PT) をコードする *SLC37A4* (*G6PT1*) 変異では糖原病 Ib 型を引き起こす。ヒトでは *G6PC3* 遺伝子のホモ接合または複合ヘテロ接合の変異により G6PC3 欠損症

を発症する。また糖原病 b 型でも G6PC3 欠損症と同様に好中球数の減少と機能低下を伴うことが知られている。

5) SCN5 : VPS45 欠損症

VPS45 欠損症は、好中球減少、好中球機能異常、原発性骨髄線維症、腎腫大を特徴とする。エンドソーム系を介した膜輸送を制御するタンパクである VPS45 をコードする遺伝子の変異が原因であり、VPS45 タンパクの発現が低下に基づき、細胞運動能の低下、アポトーシスの増加が引き起こされる。これらが好中球機能低下や好中球減少の原因と考えられているが、病態の詳細は不明である。

C . 診断

1) 臨床症状

易感染性：皮膚化膿症、慢性歯肉炎、歯周病は高頻度で認められる。咽頭扁桃炎、上気道感染症、時に肺炎、肺膿瘍が認められる。

2) 検査所見

末梢血での慢性好中球減少症 (ほとんど好中球絶対数 200/μl 以下)、末梢血単球数増加、骨髄像：骨髄顆粒球系細胞の低形成～正形成と前骨髄球/骨髄球での成熟障害にあわせ、それぞれの責任遺伝子変異の同定

D . 重症度分類：重症

継続的な易感染性、慢性歯肉炎 (歯周病)、皮膚感染症、骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病への進展。根治療法としての造血幹細胞移植が必要である。特に、G-CSF 使用例では長期の高用量使用での骨髄異形成症候群/急性骨髄性白血病への移行は 40% 以上に認められている。

CN の分類において特徴的な合併所見を呈するものがある。感染症を反復、重症化と MDS/AML への移行は SCN 全体に共通した臨床所見と経過である。SCN3、いわゆる Kostmann 病ではてんかんをはじめとした中枢神経系 (精神運動発達遅滞、高次脳機能障害など) の合併症の頻度が高く、変異の部位によっては必発の症状であることが報告されている。SCN4 は先天性心疾患、泌尿生殖器奇形、内耳性難聴、体幹・四肢の静脈拡張が高率に認められる。SCN5 では腎肥大と骨髄線維化が認められることから、好中球減少に特徴的な合併症から SCN の分類を推測することが可能である。重症度は ANC の程度とは関係なく、感染症の頻度とその重症度による。G-CSF の使用の有無にかかわらず、MDS/AML への移行・進展症例は最重症であり、造血幹細胞移植以外に治療法はない。口内炎、慢性歯肉炎/慢性歯周病

はほぼ必発の所見であり、無治療の患者では歯牙の喪失につながる可能性があることから QOL 低下の要因となる。

E . 治療の概要

感染症対策としての対症療法と根治療法に分けて治療法を考える必要がある。

1) 対症療法

感染症対策が重要であり、Sulfamethoxazole-trimethoprim (ST) 合剤の定期的投与、必要であれば抗真菌薬投与、歯科医による口腔ケアが必要である。G-CSF 投与で約 90%の患者では好中球増加が認められるので、感染症のコントロールが可能である。ただし、長期間の G-CSF 投与、特に高用量 (8 μ g/kg 以上) の場合に骨髄異形成症候群/急性骨髄性白血病 (MDS/AML) への進展が高率に認められるので経時的な注意が必要である。SCN での G-CSF 使用に基づいた白血病発症の機序の詳細が明らかにされつつある。G-CSF の長期投与で後天的な CSF3R の切断変異が入るが、そのまま長期間 SCN のままで経過する症例と、一部に第 2 の変異が認められる症例に分けられる。後者が AML に移行していくが、第 2 の変異としては CSF3R-T618I が共通して認められ、G-CSF に依存しない骨髄系細胞の自己増殖が認められるようになる。最終的には RUNX1、ASXL1 などの更なる遺伝子変異を認める AML の発症に至ることが推測されている。従って、G-CSF の長期投与を行う症例では定期的な骨髄検査、染色体検査、上記の内容の遺伝子検査を行っていくことが望ましい。ただし、どの時点で根治療法である造血細胞移植を行うか確定したものはない。

2) 根治療法

根治療法は造血幹細胞移植である。適切なドナーがいる場合には骨髄非破壊の前処置での移植が推奨されるが、生着不全には注意が必要である。MDS/AML へ移行後は造血幹細胞移植が唯一の治療法であるが、予後は不良となる。

F . 予後

重症感染症の程度ならびに MDS/AML への移行が予後を左右する。G-CSF の投与で、感染症 (敗血症) での生命予後は格段に進歩している。G-CSF の投与期間が 10 年以上になる症例で、投与量を 8 μ g/kg 未満と以上に区分すると、前者での重症敗血症による死亡頻度は 4%、MDS/AML の発症頻度は 11%とされている。一方、後者の場合には重症敗血症による死亡頻度は 14%、MDS/AML の発症頻度は 40% になることが報告されている。SCN 症例が

MDS/AML に移行した場合には化学療法を行うと、好中球の回復はほとんど認められないことから、造血細胞移植の継続が必要となるので、ドナー選択を用意しながらの治療開始が必要である。造血細胞移植が唯一の救命できる治療法となる。

慢性好中球減少のために歯肉炎、歯周病、口内炎は必発の症状であるため、永久歯の維持が困難となる。歯肉が弱いためインプラントも不可能であり、成人期早期から総義歯となる場合があり、QOL はかなり損なわれることとなる。現在、根治療法として造血細胞移植が選択される症例が増えているが、移植時期を小児期と成人に分けた成績の比較では有意に前者が良好である。

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Asano T, Okada S, Tsumura M, Yeh TW, Mitsui-Sekinaka K, Tsujita Y, Ichinose Y, Shimada A, Hashimoto K, Wada T, Imai K, Ohara O, Morio T, Nonoyama S, Kobayashi M. Enhanced AKT Phosphorylation of Circulating B Cells in Patients With Activated PI3K δ Syndrome. **Frontier in Immunology** 2018;9:568.
- 2) Zhang SY, Clark NE, Freije CA, Pauwels E, Taggart AJ, Okada S, Mandel H, Garcia P, Ciancanelli MJ, Biran A, Lafaille FG, Tsumura M, Cobat A, Luo J, Volpi S, Zimmer B, Sakata S, Dinis A, Ohara O, Garcia Reino EJ, Dobbs K, Hasek M, Holloway SP, McCammon K, Hussong SA, DeRosa N, Van Skike CE, Katolik A, Lorenzo L, Hyodo M, Faria E, Halwani R, Fukuhara R, Smith GA, Galvan V, Damha MJ, Al-Muhsen S, Itan Y, Boeke JD, Notarangelo LD, Studer L, Kobayashi M, Diogo L, Fairbrother WG, Abel L, Rosenberg BR, Hart PJ, Etzioni A, Casanova JL. Inborn Errors of RNA Lariat Metabolism in Humans with Brainstem Viral Infection. **Cell** 2018;172:952-965.
- 3) Yabushita T, Hiramoto N, Ono Y, Yoshioka S, Karakawa S, Kobayashi M, Ishikawa T. Adult-onset primary cyclic autoimmune neutropenia: a case report. **Transfusion** 2018;58:884-890.
- 4) Leiding JW, Okada S, Hagin D, Abinun M, Shcherbina A, Balashov DN, Kim VHD, Ovadia A, Guthery SL, Pulsipher M, Lilic D,

- Devlin LA, Christie S, Depner M, Fuchs S, van Royen-Kerkhof A, Lindemans C, Petrovic A, Sullivan KE, Bunin N, Kilic SS, Arpaci F, Calle-Martin O, Martinez-Martinez L, Aldave JC, Kobayashi M, Ohkawa T, Imai K, Iguchi A, Roifman CM, Gennery AR, Slatter M, Ochs HD, Morio T, Torgerson TR; Inborn Errors Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation and the Primary Immune Deficiency Treatment Consortium. Hematopoietic stem cell transplantation in patients with gain-of-function signal transducer and activator of transcription 1 mutations. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2018;141:704-717.
- 5) Schwab C, Gabrysch A, Olbrich P, Patiño V, Warnatz K, Wolff D, Hoshino A, Kobayashi M, Imai K, Takagi M, Dybedal I, Haddock JA, Sansom DM, Lucena JM, Seidl M, Schmitt-Graeff A, Reiser V, Emmerich F, Frede N, Bulashevskaya A, Salzer U, Schubert D, Hayakawa S, Okada S, Kanariou M, Kucuk ZY, Chapdelaine H, Petruzalkova L, Sumnik Z, Sediva A, Slatter M, Arkwright PD, Cant A, Lorenz HM, Giese T, Lougaris V, Plebani A, Price C, Sullivan KE, Moutschen M, Litzman J, Freiberger T, van de Veerdonk FL, Recher M, Albert MH, Hauck F, Seneviratne S, Pachlopnik Schmid J, Kolios A, Unglik G, Klemann C, Speckmann C, Ehl S, Leichtner A, Blumberg R, Franke A, Snapper S, Zeissig S, Cunningham-Rundles C, Giulino-Roth L, Elemento O, Dücker G, Niehues T, Fronkova E, Kanderová V, Platt CD, Chou J, Chatila TA, Geha R, McDermott E, Bunn S, Kurzai M, Schulz A, Alsina L, Casals F, Deyà-Martinez A, Hambleton S, Kanegane H, Taskén K, Neth O, Grimbacher B. Phenotype, penetrance, and treatment of 133 cytotoxic T-lymphocyte antigen 4-insufficient subjects. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2018;142:1932-1946.
- 6) Onodera R, Kurita E, Taniguchi K, Karakawa S, Okada S, Kihara H, Fujii T, Kobayashi M. Anti-human neutrophil antigen-1a, -1b, and -2 antibodies in neonates and children with immune neutropenia analyzed by extracted granulocyte antigen immunofluorescence assay. **Transfusion** 2017;57:2586-2594. doi:10.1111/trf.14291.
- 7) Hayakawa S, Ohno N, Okada S, Kobayashi M. Significant augmentation of regulatory T cell numbers occurs during the early neonatal period. **Clin Exp Immunol.** 2017;190:268-279. doi:10.1111/cei.13008.
- 8) Leiding JW, Okada S, Hagin D, Abinun M, Shcherbina A, Balashov DN, Kim VHD, Ovadia A, Guthery SL, Pulsipher M, Lilic D, Devlin LA, Christie S, Depner M, Fuchs S, van Royden-Kerkhof A, Lindemans C, Petrovic A, Sullivan KE, Bunin N, Kilic SS, Arpaci F, Calle-Martin O, Martinez-Martinez L, Aldave JC, Kobayashi M, Ohkawa T, Imai K, Iguchi A, Roifman CM, Gennery AR, Slatter M, Ochs HD, Morio T, Torgerson TR, Inborn Errors Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation and the Primary Immune Deficiency Treatment Consortium. Hematopoietic stem cell transplantation in patients with gain-of-function signal transducer and activator of transcription 1 mutations. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2018;141:704-717. doi:10.1016/j.jaci.2017.03.049.
- 9) 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;19:796-802.
- 10) Kagawa R, Fujiki R, Tsumura M, Sakata S, Nishimura S, Itan Y, Kong XF, Kato Z, Ohnishi H, Hirata O, Saito S, Ikeda M, El Baghdadi J, Bousfiha A, Fujiwara K, Oleastro M, Yancoski J, Perez L, Danielian S, Ailal F, Takada H, Hara T, Pue A, Boisson-Dupuis S, Bustamante J, Casanovva JL, Ohara O, Okada S, Kobayashi M.

- Alanine-scanning mutagenesis of human signal transducer and activator of transcription 1 to estimate loss- or gain-of-function variants. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2017;140:232-241.
- 11) Fujiki R, Hijikata A, Shirai T, Okada S, Kobayashi M, Ohara O. Molecular mechanism and structural basis of gain-of-function of STAT1 caused by pathogenic R274Q mutation. **Journal of Biological Chemistry** 2017;292:6240-6254.
 - 12) Hoshino a, Okada S, Yoshida K, Nishida N, Okuno Y, Ueno H, Yamashita M, Okano T, Tsumura M, Nishimura S, Sakata S, Kobayashi M, Nakamura H, Kamizono J, Mitsui-Sekinaka K, Ichimura T, Ohga S, Nakazawa Y, Takagi M, Imai K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Nonoyama S, Morio T, Kanegane H. Abnormal hematopoiesis and autoimmunity in human subjects with germline IKZF1 mutations. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2017;140:223-231.
 - 13) Yamasaki F, Takayasu T, Nosaka R, Nishibuchi I, Kawaguchi H, Kolakshyapati M M, Onishi S, Saito T, Sugiyama K, Kobayashi M, Kurisu K. Development of cystic malacia after high-dose cranial irradiation of pediatric CNS tumors in long-term follow-up. **Child's Nervous System** 2017;33:957-964.
 - 14) Tsujita Y, Mitsui-Sekinaka K, Imai K, Yeh TW, Mitsuiki N, Asano T, Ohnishi H, Kato Z, Sekinaka Y, Zaha K, Kato T, Okano T, Takashima T, Kobayashi K, Kimura M, Kunitsu T, Maruo Y, Kanegane H, Takagi M, 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. Phosphatase and tensin homolog (PTEN) mutation can cause activated phosphatidylinositol 3-kinase syndrome-like immunodeficiency. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2016 Dec;138(6):1672-1680.e10. doi: 10.1016/j.jaci.2016.03.055. [Epub ahead of print]
 - 15) Vijayan D, Mohd Redzwan N, Avery DT, Wirasinha RC, Brink R, Walters G, Adelstein S, Kobayashi M, Gray P, Elliott M, Wong M, King C, Vinuesa CG, Ghilardi N, Ma CS, Tangye SG, Batten M. IL-27 directly enhances germinal center B cell activity and potentiates lupus sanroque mice. **Journal of Immunology** 2016;197:3008-3017.
 - 16) Lévy R, Okada S, Béziat V, Moriya K, Liu C, Chai LY, Migaud M, Hauck F, Al Ali A, Cyrus C, Vatte C, Patiroglu T, Unal E, Ferneiny M, Hyakuna N, Nepesov S, Oleastro M, Ikinçiogullari A, Dogu F, Asano T, Ohara O, Yun L, Della Mina E, Bronnimann D, Itan Y, Gothe F, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Tahuil N, Aytekin C, Salhi A, Al Muhsen S, Kobayashi M, Toubiana J, Abel L, Li X, Camcioglu Y, Celmeli F, Klein C, AlKhater SA, Casanova JL, Puel A. Genetic immune and clinical features of patients with bacterial and fungal infections due to inherited IL-17RA deficiency. **Proc Natl Acad Sci USA** 2016;113:E8277-8285.
 - 17) Ma CS, Wong N, Rao G, Nguyen A, Avery DT, Payne K, Torpy J, O'Young P, Deenick E, Bustamante J, Puel A, Okada S, Kobayashi M, Martinez-Barricarte R, Elliott M, Sebnem Kilic S, El Baghdadi J, Minegishi Y, Bousfiha A, Robertson N, Hambleton S, Arkwright PD, French M, Blincoe AK, Hsu P, Campbell DE, Stormon MO, Wong M, Adelstein S, Fulcher DA, Cook MC, Stepensky P, Boztug K, Beier R, Ikinçiogullari A, Ziegler JB, Gray P, Picard C, Boisson-Dupuis S, Phan TG, Grimbacher B, Warnatz K, Holland SM, Uzel G, Casanova JL, Tangye SG. Unique and shared signaling pathways cooperate to regulate the differentiation of human CD4+T cells into distinct effector subsets. **Journal of Experimental Medicine** 2016;213:1589-608.
 - 18) Toubiana J, Okada S, Hiller J, Oleastro M, Lagos Gomez M, Aldave Becerra JC, Ouachée-Chardin M, Fouyssac F, Girisha KM, Etzioni A, Van Montfrans J, Camcioglu Y, Kerns LA, Belohradsky B, Blanche S,

- Bousfiha A, Rodriguez-Gallego C, Meyts I, Kisand K, Reichenbach J, Renner ED, Rosenzweig S, Grimbacher B, van de Veerdonk FL, Traidl-Hoffmann C, Picard C, Marodi L, Morio T, Kobayashi M, Lilic D, Milner JD, Holland S, Casanova JL, Puel A. Heterozygous STAT1 gain-of-function mutations underlie and unexpectedly broad clinical phenotype. **Blood** 2016;127:3154-64.
- 19) Hayakawa S, Okada S, Tsumura M, Imai K, Morio T, Ohara O, Chayama K, Kobayashi M. Predisposition to gastric cancer in a patient with autosomal dominant immune dysregulation syndrome associated with CTLA-4 haploinsufficiency. **Journal of Clinical Immunology** 2016;36:28-32.
- 20) Yasumura J, Wago M, Okada S, Nishikomori R, Takei S, Kobayashi M. A 2-year old Japanese girl with TNF receptor-associated periodic syndrome: A case report of the youngest diagnosed proband in Japan. **Mod Rheumatol.** 2016;26:798-801.
- 21) Yamasaki F, Takayasu T, Nosaka R, Kawaguchi H, Sugiyama K, Kobayashi M, Kurisu K. Cavernous angioma after chemotherapy for desmoplastic/nodular medulloblastoma associated with anhidrotic ectodermal dysplasia. **Child Nerv Syst.** 2016;32:395-8.
- 22) Mizoguchi Y, Furue A, Kagawa R, Chijimatsu I, Tomioka K, Shimomura M, Imanaka Y, Nishimura S, Saito S, Miki M, Ono A, Konishi N, Kawaguchi H, Kobayashi M. Early eradication of factor VIII inhibitor in patients with congenital hemophilia A by immune tolerance induction with a high dose of immune. **International Journal of Hematology** 2016;103:473-7.
- 23) Ishikawa N, Kobayashi Y, Fujii Y, Kobayashi M. Late-onset epileptic spasms in a patient with 22q13.3 deletion syndrome. **Brain & Development** 2016;38:109-12.
- immunosuppressive conditioning in patients with severe congenital neutropenia. **The 18th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies** (2018年10月24-27日, ポルトガル, リスボン).
- 2) Asano T, Nishimura S, Kobayashi Y, Tsumura M, Ishikawa N, Ohnishi H, Takeda H, Sancho-Shimizu V, Moriya K, Puel A, Picard C, Irani SR, J.L. Casanova JL, S. Okada S, Kobayashi M. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with IRAK4 deficiency. **The 18th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies** (2018年10月24-27日, ポルトガル, リスボン).
- 3) Kobayashi M, Mizoguchi Y, Karakawa S, Miki M, Nishimura S, Okada S, Kawaguchi H. Long-Term Follow-up of Patients with Chronic Granulomatous Disease Receiving Bone Marrow Transplantation Using Immunosuppressive Conditioning Regimen. **The 59th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ).
- 4) Nishimura S, Tomioka K, Shimomura M, Mizoguchi Y, Kobayashi M. Pharmacokinetics Using myPKFiTR for Personalized Prophylaxis in Children with Severe Hemophilia A. **The 59th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ).
- 5) Okada S, Kagawa R, Fujiki R, Kato Z, Ohnishi H, Boisson-Dupuis S, Bustamante J, Casanova JL, Ohara O, Kobayashi M. Loss-of-function and dominant negative STAT1 coiled-coil domain mutations in MSMD. **Congress of Asia Pacific Society for Immunodeficiencies** (2016年4月30日, 大阪).
- 6) Mizoguchi Y, Karakawa S, Doi T, Shimomura M, Tomioka K, Sakata S, Furue A, Chijimatsu I, Okada S, Miki M, Kawaguchi H, Kobayashi M. Successful hematopoietic stem cell transplantation in ten patients with severe congenital neutropenia using an intensive immunosuppressive conditioning regimen: The results of a single institute. **The 21st Congress of European Hematology Association** (2016年6月12日,
2. 学会発表
- 1) Nishimura S, Mizoguchi Y, Asano T, Miki M, Furue a, Kawaguchi H, Okada S, Mochizuki S, Doi T, Kobayashi M. Successful bone marrow transplantation using an

コペンハーゲン・デンマーク)。

- 7) Okada S, Fujiki R, Kagawa R, Tsumura M, Kong X, Sakata S, Nishimura S, Kato Z, Ohnishi H, Itan Y, Boisson-Dupuis S, Bustamante J, Casanova JL, Ohara O, Kobayashi M. Alanine-scanning mutagenesis of human STAT1 to estimate the loss-or gain-of-function nature of variants. **The 17th Biennial Meeting of the European Society for immunodeficiencies** (2016年9月22日, バルセロナ・スペイン)。
- 8) Asano T, Tsumura M, Okada S, Kobayashi M. Flow cytometry based simple diagnosis of activated PI3K δ syndrome by evaluating pAKT in circulating B cells. **The 17th Biennial Meeting of the European Society for immunodeficiencies** (2016年9月22日, バル

セロナ・スペイン)。

- 9) Mizoguchi Y, Miki M, Furue A, Nishimura S, Shimomura M, Tomioka K, Sakata S, Chijimatsu I, Karakawa S, Okada S, Doi T, Nakamura K, Kawaguchi H, Kobayashi M. Successful Hematopoietic Stem Cell Transplantation Using an Immunosuppressive Conditioning Regimen in Ten Patients with Severe Congenital Neutropenia. A Single-Institute Experience. **The 58th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition** (2016年12月3-6日, サンディエゴ)。

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

図 小児期好中球減少症の診断アルゴリズム

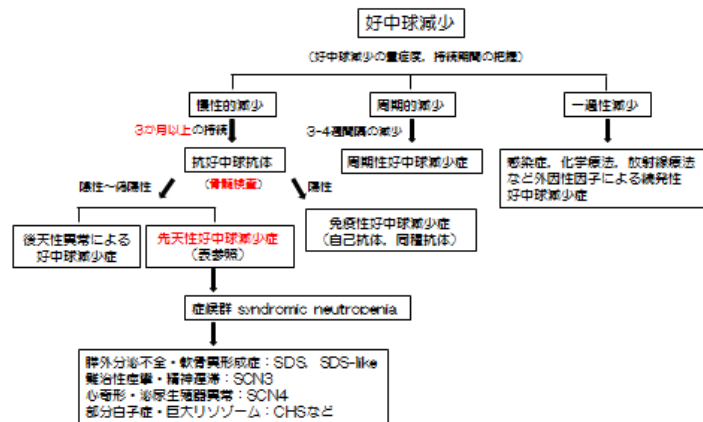


表 先天性好中球減少症の分類 (UIS, 2017)

疾患	変異遺伝子	合併所見
1. 重症先天性好中球減少症 (SCN)		
(a) SCN1 (ELANE異常症)	ELANE	MDS/白血病
周期性好中球減少症	ELANE	MDS/白血病
(b) SCN2 (GFI1欠損症)	GFI1	B/Tリンパ球減少
(c) SCN3 (Kostmann病)	HAXY	高次脳機能・神経学的障害, MDS/白血病
(d) SCN4 (G6PC3欠損症)	G6PC3	先天性心疾患, 泌尿生殖器奇形, 内耳性難聴, 侏儒・四肢の神経根病
(e) SCNS (VPS45欠損症)	VPS45	脾外出血, 骨髄線維化, 腎肥大
2. 難産者1b型	G6PT1	空腸肺血栓, 尿酸アシドーシス, 高脂血症, 肝肥大
3. X連鎖性好中球減少症	MAS	単球減少
4. P14/LAMTOR2欠損症	ROBLD3/LAMTOR2	低ガンマグロブリン血症, CD8T細胞障害活性低下, 部分白血症, 成長障害
5. Barth症候群	tefazzin (TAZ)	心筋症, 筋萎縮, 成長遅延
6. Cohen症候群	GCHI	網膜症, 発達遅延, 顔面奇形
7. 好中球減少を伴う多形皮膚剥離症	G16ORFS7	皮膚剥離症, 白血球減少, MDS
8. JAGN1変異	JAGN1	骨格系異常 (低身長), 歯牙形成異常
9. 3-Methylglutanic aciduria	GLPB	小脳症, 低血糖, 筋緊張低下, けいれん, 白内障, 子宮内発育遅滞
10. G-CSF受容体 (CSFR3) 異常症	CSFR3	G-CSFに反応なし
11. SMARCD2 deficiency	SMARCD2	発達異常, 骨格異常, MDS
12. HYDU1 deficiency	HYDU1	低血糖

(Picard CA, et al. J Clin Immunol. 2018; 38: 96.)

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

Shwachman-Diamond症候群の診療ガイドライン作成に関する研究

研究分担者 渡邊健一郎（静岡県立こども病院血液腫瘍科 科長）

研究分担者 金兼弘和（東京医科歯科大学大学院小児地域成育医療学講座 寄附講座教授）

研究要旨： Shwachman-Diamond 症候群は、膵外分泌異常と造血不全による血球減少を主徴とする先天性骨髄不全症である。骨格異常、肝障害、行動異常を伴うことが多く、15～30%で骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病を発症し、造血細胞移植が行われる。稀少疾患であるため、臨床試験に基づき確立した治療、フォローアップの指針はないが、適切な経過観察と治療介入が患者の QOL 向上、生命予後改善に重要と考えられる。本研究では、本疾患の本邦での診療ガイドラインを作成し、我が国における診療実態について調査を行った。

A．研究目的

Shwachman-Diamond症候群（SDS）は、膵外分泌異常と造血不全による血球減少を主徴とする先天性骨髄不全症である。骨格異常、肝障害、行動異常を伴うことが多く、骨髄異形成症候群(MDS)、急性骨髄性白血病（AML）発症のリスクが高い。適切な経過観察と治療介入が患者のQOL向上、生命予後改善に重要と考えられる。そのため、本邦における診療ガイドラインを作成し、それに基づき我が国における診療実態を明らかにすることを目的とする。

B．研究方法

本疾患の研究者により提案された国際的なコンセンサスガイドライン案（Dror, et al. Ann N Y Acad Sci, 2011）に基づき、内外の知見を加え、本邦での診療ガイドラインを作成した。

また、これまでに遺伝子解析に基づいてSDSと診断された患者の臨床情報をアンケート形式にて集計し、解析した。

（倫理面への配慮）

遺伝子解析はヘルシンキ宣言に基づいて、本人または家族から文書による同意を得た上で行った。実態調査は、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に基づいて施行した。

C．研究結果

診療ガイドライン2017を作成した。疾患概念、診断基準、病態、治療の他、フォローアップの具体的な指針について示し、本症に特徴的な膵、骨の画像も掲載した。2018年にガイドライン改訂を行い、SDSでは成人期にMDS/AMLに移行することが多いこと、新たに同定された新規遺伝子について追記した。

調査では計47例のSBDS両アリル変異をもつ患者が同定され、年間発症数は2.6例、男女比は2.1：1であった。SBDS変異は183-184TA>CT/258+2T>C変異が72%を占め、次に258+2T>C/258+2T>C変異が6.4%であった。初診時の臨床所見はさまざまであり、血球減少、体重増加不良、脂肪便、肝機能障害、低身長、骨格異常などである。水外分泌不全あるいは画像での膵臓の異常はほとんどの患者で認められた。好中球減少は初診時に約1/3の患者でしか認められなかったが、経過中では89%の患者で認められた。その他の血球異常は貧血、血小板減少、汎血球減少症がそれぞれ66%、68%、40%で認められた。4例（8.5%）がAMLを発症しており、うち3例の発症年齢は18歳以上であった。

D．考察

SDSは欧米では先天性骨髄不全症の中ではFanconi貧血、Diamond-Blackfan貧血に次に多いとされているが、我が国における頻度は低いとされていた。しかしながら、本研究によって我が国にお

いてもSDSは少なからず存在することが明らかとなった。また、臨床像、SBDS遺伝子変異のタイプは既報と同様であった。成人期になってAMLに移行する例があり、継続的なフォローアップが必要と考えられた。

E . 結論

診療ガイドラインに基づいて、広く臨床医がSDSを認知することによって、さらに多くの患者が同定され、適切な治療、フォローアップによって、予後やQOLの改善につながる可能性が示唆された。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kanegane H. Inflammatory bowel diseases and primary immunodeficiency diseases. **Immunol Med.** 2019 Jan;11:1-8. doi: 10.1080/25785826.2018.1556025. [Epub ahead of print]
- 2) Mallick R, Jolles S, Kanegane H. Agbor-Tarh D, Rojavin M. Treatment Satisfaction with Subcutaneous Immunoglobulin Replacement Therapy in Patients with Primary Immunodeficiency: a Pooled Analysis of Six Hizentra® Studies. **J Clin Immunol.** 2018;38(8):886-897.
- 3) Tanaka-Kubota M, Shinozaki K, Miyamoto S, Yanagimachi M, Okano T, Mitsuiki N, Ueki M, Yamada M, Imai K, Takagi M, Agematsu K, Kanegane H. Morio T. Hematopoietic stem cell transplantation for pulmonary alveolar proteinosis associated with primary immunodeficiency disease. **Int J Hematol.** 2018;107(5):610-614.
- 4) Okano T, Tsujita Y, Kanegane H. Mitsui-Sekinaka K, Tanita K, Miyamoto S, Yeh TW, Yamashita M, Terada N, Ogura Y, Takagi M, Imai K, Nonoyama S, Morio T. Droplet Digital PCR-Based Chimerism Analysis for Primary Immunodeficiency Diseases. **J Clin Immunol.** 2018;38(3):300-306.
- 5) Kobayashi T, Nannya Y, Ichikawa M, Oritani K, Kanakura Y, Tomita A, Kiyoi H, Kobune M, Kato J, Kawabata H, Shindo M,

- Torimoto Y, Yonemura Y, Hanaoka N, Nakakuma H, Hasegawa D, Manabe A, Fujishima N, Fujii N, Tanimoto M, Morita Y, Matsuda A, Fujieda A, Katayama N, Ohashi H, Nagai H, Terada Y, Hino M, Sato K, Obara N, Chiba S, Usuki K, Ohta M, Imataki O, Uemura M, Takaku T, Komatsu N, Kitanaka A, Shimoda K, Watanabe K. Tohyama K, Takaori-Kondo A, Harigae H, Arai S, Miyazaki Y, Ozawa K, Kurokawa M; for National Research Group on Idiopathic Bone Marrow Failure Syndromes. A nationwide survey of hypoplastic myelodysplastic syndrome (a multicenter retrospective study). **Am J Hematol.** 2017;92:1324-1232.
- 6) 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;19:796-802.
- ### 2. 学会発表
- 1) 濱麻人, 真部淳, 長谷川大輔, 野沢和江, 成田敦, 村松秀城, 高橋義行, 渡邊健一郎, 小原明, 伊藤雅文, 小島勢二. 小児再生不良性貧血および低形成骨髄異形成症候群における臨床的予後の比較. **第78回日本血液学会学術集会**(2016年10月, 横浜).
 - 2) Kanegane H. Pancytopenia and primary immunodeficiency diseases. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会**(2016年12月, 東京).
 - 3) Watanabe K., Kanegane H., Hamabata T, Kozuki K, Umeda K, Hama A, Okuno, Muramatsu H, Takahashi Y, Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Ito M, Kojima S, Ito E. Establishment of a nationwide cohort for Shwachman-Diamond syndrome in Japan.

International Meeting on Childhood MDS and SAA (2017年9月28-30日, イタリア・ローマ).

- 4) Hama A, Manabe A, Hasegawa D, Nozawa K, Suzuki K, Narita A, Muramatsu H, Takahashi Y, Watanabe K, Ohara A, Ito M, Kojima S. Bone marrow transplantation for children with acquired bone marrow failure. **International Meeting on Childhood MDS and SAA** (2017年9月28-30日, イタリア・ローマ).
- 5) Hama A, Manabe A, Hasegawa D, Nozawa K, Narita A, Muramatsu H, Takahashi Y, Watanabe K, Ohara A, Ito M, Kojima S. Comparison of Clinical Outcomes Between Pediatric Aplastic Anemia and Refractory Cytopenia of Childhood. **58th ASH Annual Meeting & Exposition** (2016年12月, 米国・サンディエゴ).
- 6) 西村聡, 青木由貴, 石渡泰芳, 松本和明, 廣木遥, 小野真太郎, 岡野翼, 宮本智史, 足洗美穂, 星野顕宏, 田中真理, 宮脇零士, 小林千佳, 手束真理, 大川哲平, 満生紀子, 遠藤明史, 小野敏明, 磯田健志, 宮澤大輔, 長澤正之, 水谷修紀, 安原真人, 梶原道子, 柳町昌克, 高木正稔, 金兼弘和, 今井耕輔, 森尾友宏. 原発性免疫不全症に対するFluBUとFluMelによる前処置法に比較検討. **第40回日本造血細胞移植学会総会** (2018年2月1-3日, 札幌).
- 7) 濱麻人, 真部淳, 長谷川大輔, 野沢和江, 成田敦, 村松秀城, 高橋義行, 渡邊健一郎, 小原明, 伊藤雅文, 小島勢二. 小児再生不良背貧血および骨髄異形成症候群の形態中央診断: 1500例のまとめ. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会** (2016年12月, 東京).
- 8) Okamoto K, Shigemizu D, Okano T, Yeh TW, Takashima T, Yamashita M, Ono S, Mitsuiki N, Takagi M, Mori M, Kanegane H, Tsunoda T, Imai K, Morio T. Whole exome sequence analysis using the known and candidate genes for primary immunodeficiency diseases. **The 2nd APSID Scientific Congress** (2018 5月7日, 中国・重慶).
- 9) 渡邊健一郎, 金兼弘和, 濱端隆行, 上月景弘,

梅田雄嗣, 浜麻人, 奥野友介, 村松英城, 高橋義行, 上野浩生, 吉田健一, 長谷川大輔, 真部淳, 小野明, 伊藤雅文, 小川誠司, 小島勢二, 伊藤悦朗. 本邦におけるScwachman-Diamond症候群の臨床像. **第2回日本免疫不全・自己炎症学会総会・学術集会** (2019年2月2-3日, 東京).

- 10) Watanabe K, Kanegane H, hamabata T, Kozuki K, Umeda K, Hama A, Okuno Y, Muramatsu H, Takahashi Y, Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Masafumi I, Kojima S, Ito E. Establishment of a nationwide cohort for Shwachman-Diamond syndrome in Japan. **第80回日本血液学会学術集会** (2018年10月12-14日, 大阪).
- 11) Watanabe K, Kanegane H, hamabata T, Kozuki K, Umeda K, Hama A, Okuno Y, Muramatsu H, Takahashi Y, Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Masafumi I, Kojima S, Ito E. EA nationwide cohort for Shwachman-Diamond syndrome in Japan. **9th Internatioal Congress of Shwachman-Diamond Syndrome** (2018年4月8-11日, 米国・ヒューストン).

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（H28-29年度） 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（現 岐阜医療科学大学保健学部 教授））

研究要旨： CTP を疑う 28 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、22 例の症例で確定診断が得られた。MYH9 異常症は 16 例（57.1%）と最も高頻度に診断された。その他は、TUBB1 異常症 1 例、2B 型 von Willebrand 病 1 例、Paris-Trousseau Jacobsen 症候群 1 例、GFI1B 異常症 2 例であった。残りの 7 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

平成28-29年度は、28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16例、TUBB1異常症1例、2Bvon型Willebrand病1例、Paris-Trousseau Jacobsen症候群1例、GFI1B異常症2例の診断に至り、7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、21例（75%）の症例で確定診断が得られた。MYH9異常症は16例（57.1%）と最も高頻度に診断された。MYH9異常症16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局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28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、21例（75%）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.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) 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) 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, 加藤文典, 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・マドリード).
- 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 GPIba 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・オランダ)。
 - 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)。
 - 20) 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, Shiroto 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)。
 - 21) 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)。
 - 22) 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）。
 - 23) 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).
- 24) 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).
- 25) 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).
- 26) 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).
- 27) 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).
- 28) 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).
- 29) 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).
- 30) 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).
- 31) 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).
- 32) 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).
- 33) 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).
- 34) 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).
- 35) 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児. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会** (2016年12月, 東京).
- 36) 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. 破碎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).
- 37) 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).
- 38) 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).
- 39) 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).

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

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* の結合障害によって 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* の結合障害を起こさず、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、次世代シーケ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

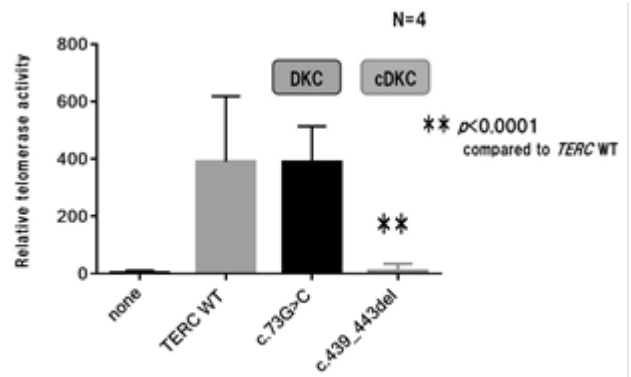
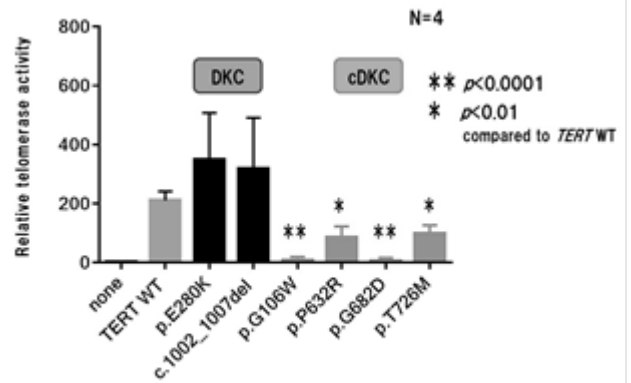
1. 本邦で発見された既知の責任遺伝子変異の機能解析

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 $p<0.01$, $p<0.01$)。

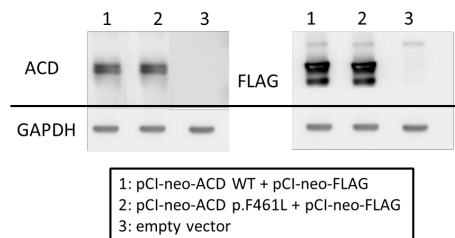
DKCで発見された*TERC* c.73 G>Cは野生型と

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 $p<0.0001$)。

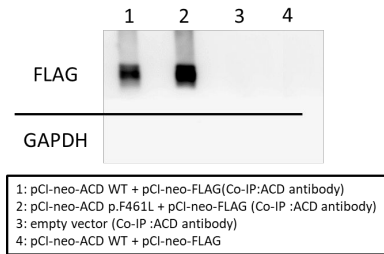


2. DKCの新規責任遺伝子変異候補の機能解析

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

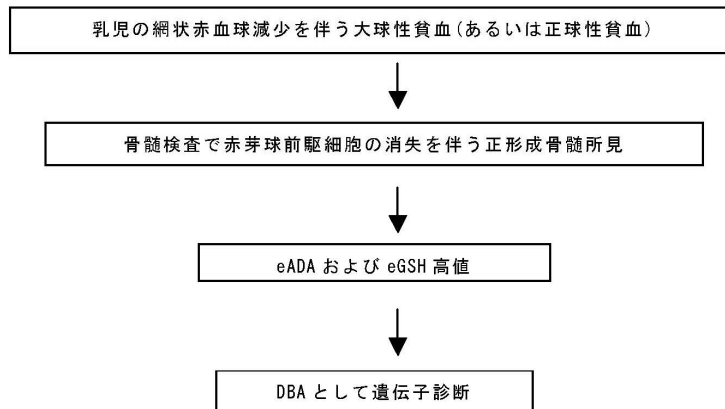
該当なし

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

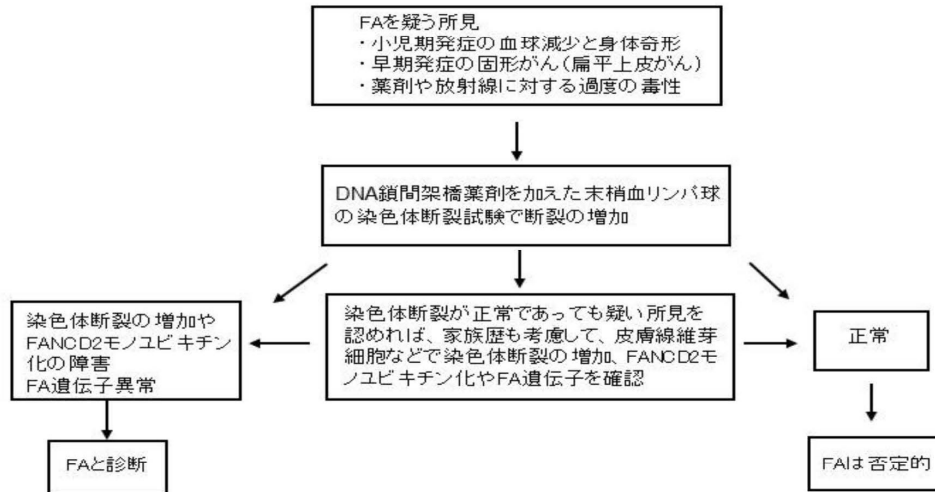


図1. Fanconi貧血診断のフローチャート

●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

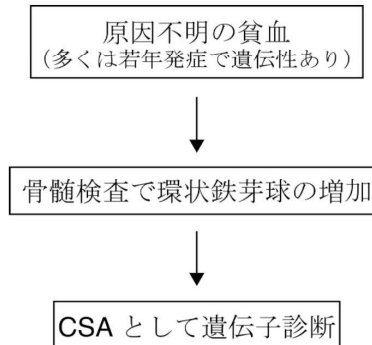
①疾患概念

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

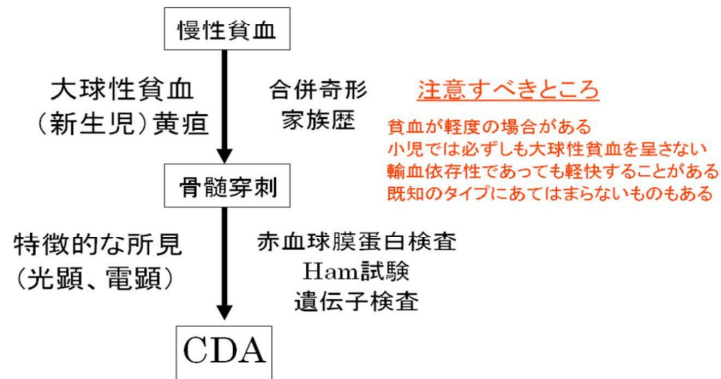
① 疾患概念

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

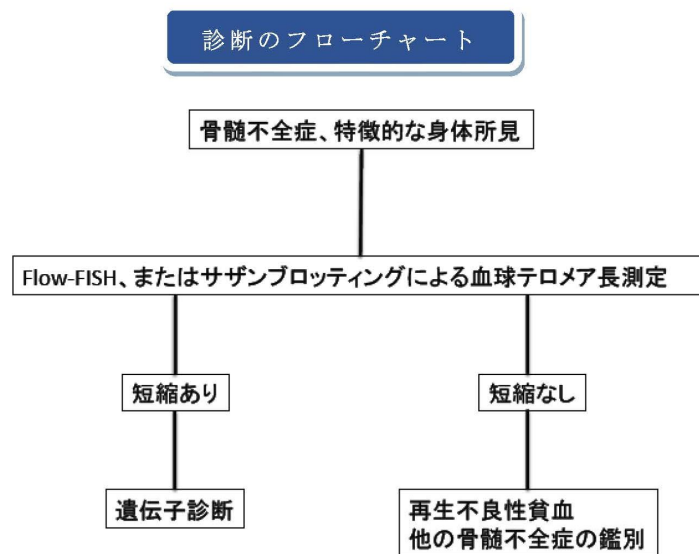
① 疾患概念

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

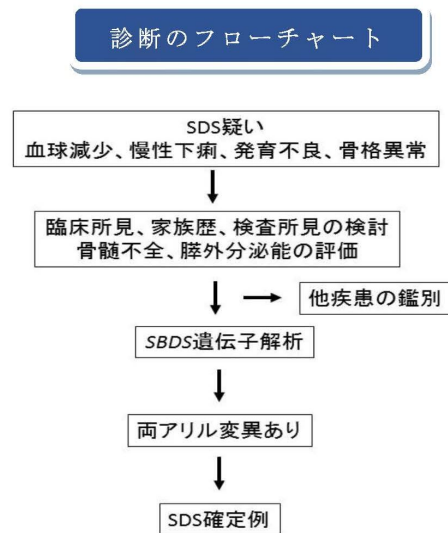


図1 診断フローチャート (SDS, Shwachman-Diamond syndrome)

●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

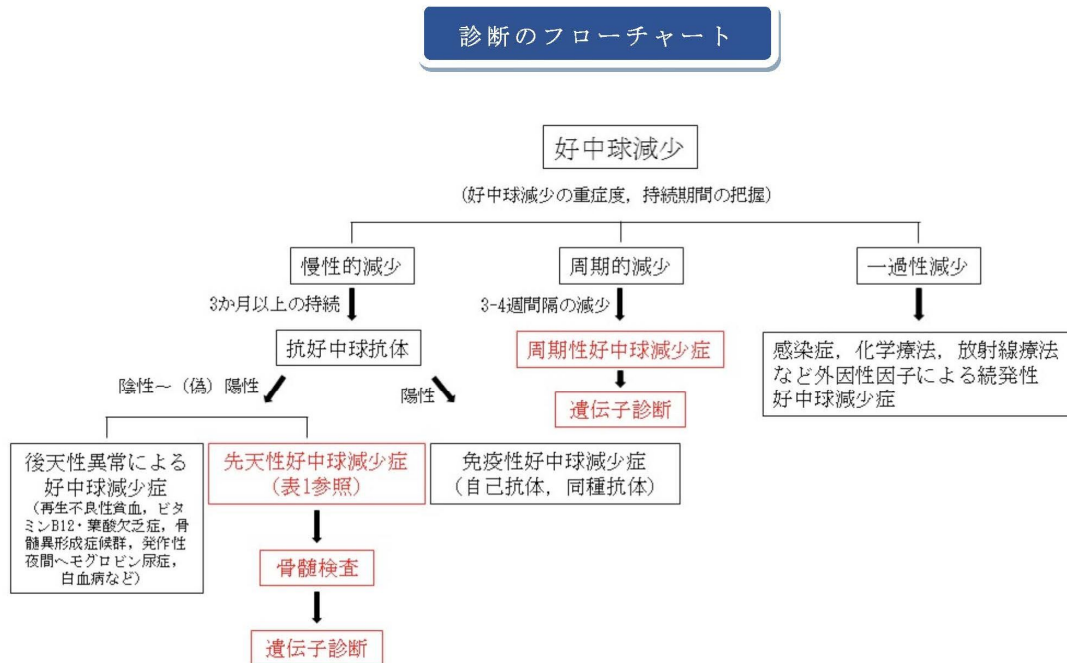


図1 好中球減少症：診断フローチャート

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

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

遺伝性鉄芽球性貧血の遺伝子診断

研究分担者 古山和道（岩手医科大学医学部生化学講座分子医化学分野 教授）

研究要旨： 遺伝性鉄芽球性貧血は稀な遺伝性貧血症であるが、近年の次世代シーケンサーの性能向上に伴い、エクソームシーケンスが比較的容易に実施されるようになり、多数の新たな原因遺伝子が報告されている。しかしながら、網羅的な遺伝子変異の解析を実施しても原因遺伝子が同定されない患者も少なくない。今後はこれらの患者における原因遺伝子を同定するための方策を考える必要があると思われる。

A．研究目的

遺伝性鉄芽球性貧血の診断基準を確定し、さまざま果等を参照して重症度を分類し、それに基づいて治療法を決定するための診療ガイドラインを確立することが本研究の目的である。このうち、当分担研究者の主な役割は、遺伝性疾患の診断基準を確定するための原因遺伝子の同定である。実際、エクソームシーケンスにより、知られている全てのタンパク質をコードする遺伝子のエクソン部分の変異の有無が明らかにされるようになり、その結果、新たな原因遺伝子が次々に報告されている。しかしながら、そのような網羅的な遺伝子解析の方法を用いても未だに原因遺伝子が明らかにならない患者も少なくない。そのような患者ではさらなる解析手段として whole genome sequencing (WGS)による遺伝子解析が想定されるが、これにより網羅的で膨大な情報が得られるものの、その中から疾患の原因となる変異を同定するのは容易ではない。多数の患者を含む家系において解析することが可能な場合には連鎖解析により責任領域を絞り込むことも可能であるが、本疾患の患者数が少ないことや、核家族化の進展に伴う家系内の親族患者についての情報不足などにより、そのような手法の適用は困難な状況となりつつある。一方、既知の原因遺伝子の転写に重要な役割を果たす転写調節領域が存在することが明らか場合には、当該領域における遺伝子変異の有無を明らかにすることを優先させることにより、効率よく原因遺伝子を明らかにできるのではないかと考えた。

B．研究方法

本研究分担者が分担している疾患は遺伝性鉄芽球性貧血である。特に、X染色体連鎖鉄芽球性貧血（XLSA）の原因遺伝子は赤芽球のみで発現する赤芽球特異的5-アミノレブリン酸合成酵素遺伝子（ALAS2）であることが明らかなので、まず、ALAS2の赤芽球特異的転写調節を同定し、次に同領域における遺伝子変異の有無をエクソーム解析によっても原因遺伝子が同定されない男性患者で明らかにし、さらに疾患モデル細胞を用いて、患者で同定された遺伝子発現調節領域の変異により環状鉄芽球が観察されるか否かを確認した。

（倫理面への配慮）

本研究計画は、主たる実施施設である東北大学医学部、および岩手医科大学医学部の倫理委員会の審査を受けて承認された後に、患者およびその家族の個人情報の保護等につき十分に配慮して実施された。

C．研究結果

まず、ALAS2遺伝子の赤芽球特異的転写調節領域の同定を試みた。GATA1転写因子はさまざまな遺伝子の赤芽球特異的転写調節に深く関与することが知られている。GATA1に対する抗体を用いたクロマチン免疫沈降法（ChIP法）によりGATA1転写因子が結合している赤芽球系培養細胞（K562細胞）の遺伝子断片を濃縮し、次世代シーケンサーにより解析した結果が既に報告されていた（Fujiwara et al., 2009, PMID 2784893）が、標

的遺伝子のリストの中にALAS2遺伝子も含まれていた。ALAS2遺伝子におけるGATA1の結合部位について詳細に検討したところ、ChIP法でGATA1が結合しているとされた領域はALAS2遺伝子の第1イントロンの中程に存在し、今までALAS2の遺伝子発現調節領域としては未報告の領域であった。このため、赤芽球系培養細胞を用いてChIP法により同領域に特異的にGATA1が結合することを確認し、さらにプロモーターアッセイ法により当該部位がALAS2遺伝子における赤芽球特異的なエンハンサー(ALAS2int1Enh)として機能することを明らかにした。また、エクソーム解析によっても原因遺伝子が同定できなかった遺伝性鉄芽球性貧血患者のALAS2遺伝子について同領域の変異の有無を検索したところ、3家系5人の男性患者で変異を同定し、さらに、いずれの変異によってもGATA1が同部に結合できなくなることを確認した。これらの結果から、原因遺伝子として既知であるALAS2遺伝子の組織特異的発現調節領域の変異が、遺伝性鉄芽球性貧血発症の原因となる可能性が高いことが示された。

さらに、同領域の変異が貧血、および鉄芽球性貧血の代表的な表現型である環状鉄芽球の出現に直接関与するか否かを明らかにするために、疾患モデル細胞の樹立を試みた。モデル細胞の樹立のために赤白血病細胞由来のK562細胞のALAS2int1EnhにGATA1が結合できない欠失変異を導入したところヘモグロビン合成能の低下は確認できたが、環状鉄芽球は観察されなかった。

次に、非腫瘍細胞由来の赤芽球系培養細胞株であるHUDEP2細胞株を用いて同様の検討を実施したところ、ヘモグロビン合成能の低下が観察されたのに加えて、変異を導入した細胞では環状鉄芽球が再現性良く観察されることが明らかになった。

D . 考察

既知の原因遺伝子の組織特異的なエンハンサー領域を同定し、次いで同領域における変異の有無を明らかにすることにより、エクソーム解析によっても原因遺伝子が明らかにならなかった遺伝性鉄芽球性貧血の症例において、原因遺伝子の候補を同定することが可能であった。遺伝性鉄芽球性貧血患者におけるALAS2int1Enhの中のGATA1結合領域の変異については海外のグループからも報告されており、自検例も含めこれらの患者では同領域の

変異が原因である可能性は極めて高いと考えられる。さらに、疾患モデル細胞を樹立して環状鉄芽球の形成をin vitroで確認することができたことも、同領域の変異が疾患の原因として重要であることを示唆している。このような結果から、エクソーム解析によっても原因遺伝子が同定できない患者については、本研究で試みた手法の適用についても検討の対象になるものと考えられる。

また、HUDEP2細胞とゲノム編集法を組み合わせた疾患モデル細胞の樹立は、ALAS2遺伝子のみならず、鉄芽球性貧血の原因遺伝子として知られる他の遺伝子の未知の変異や、エクソーム解析等により同定された新たな遺伝性鉄芽球性貧血の原因遺伝子が、疾患の原因となりうるかどうかを明らかにするためにも有用であると予想されるため、遺伝性鉄芽球性貧血における確定診断に至るためのツールとしても利用可能であると考えられる。

E . 結論

エクソーム解析によっても原因遺伝子が同定できない遺伝性鉄芽球性貧血患者において、原因遺伝子を明らかにする方法を検討した。その結果、既知の原因遺伝子の赤芽球特異的エンハンサーを同定し、さらにエクソーム解析によっても原因遺伝子が不明であった遺伝性鉄芽球性貧血患者の同領域に変異を同定した。加えて、培養細胞株とゲノム編集法を用いて疾患モデル細胞を樹立することに成功し、確定診断に至るための方法の一つを示すことができた。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Furuyama K, and Kaneko K. Iron metabolism in erythroid cells and patients with congenital sideroblastic anemia. *Int J Hematol.* 2018;107:44-54.
- 2) Kaneko K, Kubota Y, Nomura K, Hayashimoto H, Chida T, Yoshino N, Wayama M, Ogasawara K, Nakamura Y, Tooyama I, and Furuyama K. Establishment of a cell model of X-linked sideroblastic anemia using genome editing. *Exp Hematol.* 2018;65:57-68.
- 3) Fujiwara T, Fukuhara N, Ichikawa ., Kobayashi M, Okitsu Y, Onishi Y,

Furuyama K and Harigae H. A novel heterozygous ALAS2 mutation in a female with macrocytic sideroblastic anemia resembling myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts: a case report and literature review. **Ann Hematol.** 2017;96:1955-1957.

- 4) Kaneko K, Ohba K, Hirose T, Totsune K, Furuyama K and Takahashi K. (2017) Expression of (Pro)renin Receptor During Rapamycin-Induced Erythropoiesis in K562 Erythroleukemia Cells and Its Possible Dual Actions on Erythropoiesis. **Tohoku J Exp Med.** 2017;241:35-43.
- 5) Kubota Y, Nomura K, Katoh Y, Yamashita R, Kaneko K, Furuyama K. Novel Mechanisms for Heme-dependent Degradation of ALAS1 Protein as a Component of Negative Feedback Regulation of Heme Biosynthesis. **J Biol Chem.** 2016;291:20516-20529.
- 6) Mu A, Li M, Tanaka M, Adachi Y, Tai TT, Liem PH, Izawa S, Furuyama K, Taketani S. Enhancements of the production of bilirubin and the expression of β -globin by carbon monoxide during erythroid differentiation. **FEBS Lett.** 2016;590:1447-1454.

2. 学会発表

- 1) 金子桐子, 久保田美子, 野村和美, 林本遥, 千田大誠, 吉野直人, 和山真里奈, 小笠原勝利, 中村幸雄, 遠山育夫, 古山和道. ALAS2 変異による鉄芽球性貧血のモデル細胞構築. **第 682 回岩手医学会例会** (平成 30 年 4 月 27 日, 盛岡).
- 2) 金子桐子, 林本遥, 千田大誠, 久保田美子, 野村和美, 小笠原勝利, 和山真里奈, 吉野直人, 中村幸夫, 遠山育夫, 博多修子, 古山和道. 遺伝性鉄芽球性貧血モデル細胞の樹立. **日本生化学会東北支部第 84 回例会シンポジウム** (平成 30 年 5 月 19 日, 盛岡).
- 3) 久保田美子, 草壁香帆里, 久慈強, 金子桐子, 野村和美, 博多修子, 古山和道. ヘム合成経路の律速酵素 ALAS1 の分解経路の抑制によるゲノム不安定性の誘導. **日本生化学会東北**

支部第 84 回例会シンポジウム (平成 30 年 5 月 19 日, 盛岡).

- 4) 久保田美子, 久慈強, 古山和道. ヘム合成経路の律速酵素 ALAS1 の分解経路の低下によるゲノム不安定性の誘導. **2017 年度生命科学系学会合同年次大会** (2017 年 12 月 6-9 日, 神戸).
- 5) 金子桐子, 千田大誠, 久保田美子, 野村和美, 古山和道. ALAS2 変異による遺伝性鉄芽球性貧血のモデル細胞樹立. **2017 年度生命科学系学会合同年次大会** (2017 年 12 月 6-9 日, 神戸).
- 6) 野村和美, 北川悠, 大木祐亮, 久保田美子, 金子桐子, 古山和道. ヒト CLPX-CLPP 複合体によるヘム結合型 ALAS1 の認識及び分解メカニズムの解明. **2017 年度生命科学系学会合同年次大会** (2017 年 12 月 6-9 日, 神戸).
- 7) 久保田美子, 野村和美, 蝦名真行, 金子桐子, 加藤恭丈, 古山和道. 非特異的 5-アミノレブリン酸合成酵素(ALAS1)のCLPXPによる翻訳後修飾. **第89回日本生化学会大会** (2016年9月, 仙台).
- 8) 野村和美, 久保田美子, 金子桐子, 蝦名真行, 古山和道. ヒトCLPX-CLPP複合体によるミトコンドリアマトリクスのタンパク質品質管理機構の解明. **第89回日本生化学会大会** (2016年9月, 仙台).

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

CDAのデータ管理，診断基準の確立

研究分担者 多賀 崇（滋賀医科大学小児科 准教授）

研究要旨： Congenital dyserythropoietic anemia (CDA) は先天的に赤血球系細胞に形成異常があり、慢性の不応性貧血、無効造血および続発性ヘモクロマトーシスを伴う疾患群である。従来 CDA に関する知見は主に西欧から得られているのみで、本邦での実態は明らかにされていなかった。本研究班において我が国における CDA の実態を把握し、そのデータ管理、診断基準の確立、さらには有効な治療法の開発の基盤となる研究を行う。

A．研究目的

Congenital dyserythropoietic anemia (CDA) は、先天的に赤血球系細胞に形成異常があり、慢性の不応性貧血、無効造血および続発性ヘモクロマトーシスを伴う稀な疾患群である。我が国ではこれまでCDAの実態が十分把握されておらず、我が国におけるCDAの実態を明らかにし、診断基準の確立、さらには有効な治療法の開発の基盤となる研究を行うことを目的とする。

B．研究方法

分担研究者（多賀）が以前行ったCDAの全国調査を参考に作成した調査表をまとめるとともに、中央遺伝子診断への協力、検体送付などを依頼する。小児血液専門医のみならず、新生児科医、一般小児科医、血液内科医などにも学会発表や論文による啓蒙を行い、さらなる症例の蓄積につとめる。

（倫理面への配慮）

調査の基本となる日本小児血液・がん学会の疾患登録事業として、学会倫理審査委員会で承認されている。また、調査に関する倫理審査は、共同研究者である真部淳の所属する聖路加国際病院、遺伝子診断に関する倫理審査は、検査実施施設である名古屋大学でそれぞれ承認されている。

C．研究結果

分担研究者（多賀）が以前行ったCDAの全国調査を参考に患者を収集、CDA疑いの症例のうち10例を既知の遺伝子変異の解析と全エクソーム解析

(WES)を共同研究者である名古屋大学で施行した。10例の内訳は、CDA I 3例、CDA II 6例、CDA III 1例で、CDAIは全例で既知のCDAN1遺伝子変異が同定されたが、CDA II / CDA IIIの7例ではCDAの既知及び新規の遺伝子変異は認められなかった。一方、CDA IIと診断された6例のうち2例で先天性溶血性貧血の原因遺伝子（SPTA1,G6PD）変異が同定され、遺伝学的に溶血性貧血と診断された。この結果が英文雑誌に投稿、掲載された（Hamada M, et al, IJH. 2018）。また、この結果を踏まえてCDA診療参照ガイドラインを改訂し、実際、臨床的にCDAと診断された症例の全エクソーム解析ではサンガーシーケンスで診断できなかった症例の変異が見つかる一方、球状赤血球症や遺伝性橢円赤血球症、G6PD欠損症などと診断された症例があり、全エクソーム解析による遺伝子検査も含めた中央診断は的確な診断と症例の把握には必須であると思われる旨を追記した。

D．考察

本班研究のサポートをもとに、本邦でのCDAの症例収集、精査を行ってきたが、新規症例は極めて少なく、既知の遺伝子異常を持つ症例は極めて少ない。また、今回の遺伝子解析で判明したように従来診断基準では診断困難な症例もあり、今後CDAが疑われる症例については網羅的遺伝子解析による遺伝学的診断を行うことが必須と考えられる。他の血液疾患と誤診されている症例も相当数あると考えられ、引き続き詳細な調査・研究が必要である。類縁疾患とともにの諸外国とは違う本邦独自の病態

把握を検討する必要がある。

E . 結論

本班研究のサポートをもとに、本邦でのCDAの症例収集、精査を行ってきたが、新規症例は極めて少なく、既知の遺伝子異常を持つ症例は極めて少ない。また、今回の遺伝子解析で判明したように従来の診断基準では診断困難な症例もあり、今後CDAが疑われる症例については網羅的遺伝子解析による遺伝学的診断を行うことが必須と考えられる。他の血液疾患と誤診されている症例も相当数あると考えられ、引き続き詳細な調査・研究が必要である。類縁疾患ととも諸外国とは違う本邦独自の病態把握を検討する必要がある。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hamada M, Doisaki S, Okuno Y, Muramatsu H, Hama A, Kawashima N, Narita A, Nishio N, Yoshida K, Kanno H, Manabe A, Taga T, Takahashi Y, Miyano S, Ogawa S, Kojima S. Whole-exome analysis to detect congenital hemolytic anemia mimicking congenital dyserythropoietic anemia. *Int J Hematol*. 2018;108(3):306-31.
- 2) 真部淳 , 長谷川大輔 , 多賀崇 , 小島勢二 . Congenital Dyserythropoietic Anemia (CDA) . **先天性骨髄不全症ガイドライン2017** , 診断と治療社 , pp54-61 .

2. 学会発表

該当なし

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

重症先天性好中球減少症 - ガイドライン -

研究分担者 小林正夫（広島大学大学院医歯薬保健学研究科小児科学 教授）

研究要旨： 重症先天性好中球減少症（severe congenital neutropenia, SCN）は、慢性好中球減少（末梢血好中球絶対数が 200/ μ l 以下）生後早期からの細菌感染症の反復、骨髄像での骨髄顆粒球系細胞の低～正形成と前骨髄球/骨髄球での成熟障害を特徴とする。International Union of Immunological Society, 2017 Primary Immunodeficiency Diseases (IUIS, 2017) 分類では、慢性好中球減少を示す、いわゆる先天性好中球減少症 12 疾患の中に SCN として 1～5 型が分類されている。SCN としては *ELANE* 変異によるものが 75-80%、*HAX1* 変異によるものが 20%弱であり、その他が数%と考えられる。また、SCN と全く同じ *ELANE* 変異を原因とする周期性好中球減少症は SCN とは表現型が異なるが、SCN1 の範疇に分類されている。その他、症候群としての慢性好中球減少を呈する疾患が多いことから、好中球減少以外の他の合併所見は診断、予後には重要となる。本邦での全体の患者数は 100 例程度と推測される。SCN の病因、病態、診断、重症度、治療、予後について概要をまとめる。

A．疾患概念と疫学

重症先天性好中球減少症（severe congenital neutropenia, SCN）は末梢血好中球絶対数（absolute neutrophil count, ANC）が 200/ μ l 未満の重症慢性好中球減少、骨髄像での骨髄顆粒球系細胞の正形成から低形成と前骨髄球と骨髄球での成熟障害、生後早期から細菌感染症の反復を臨床的特徴とする。骨髄顆粒球系細胞の形態異常は明らかでなく、赤芽球系、巨核球系には異常を認めない。図に先天性好中球減少症診断のためのアルゴリズムを示す。IUIS（2017）分類では、SCN は先天性好中球減少症の一部として SCN を 5 型に分類している（表）。SCN のタイプによってはそれぞれに特有な合併症状が存在するので診断の参考となる。

発症頻度の確定的な数字はないが、欧米と本邦では発症頻度が異なり、人種間での差が認められている。本邦では 100 万人に 1-2 人の発生頻度と推測され、現在までに 100 例近い患者数が集積されている。SCN で、遺伝子解析が施行されている症例からは、*ELANE* 変異（SCN1）と *HAX1* 変異（SCN3）に限定されていたが、最近 G6PC3 欠損症（SCN4）の本邦第一例目が報告されている。常染色体性優性遺伝形式をとる SCN1（*ELANE* 遺伝子

のヘテロ接合性変異）が最も頻度が高く、75～80% を占めている。*HAX1* 異常による SCN3 は Kostmann 病と呼ばれ、全例が *HAX1* 遺伝子のホモ接合性変異が複合ヘテロ接合性変異で常染色体性劣性遺伝形式をとる。その頻度は約 15%である。その他の SCN の頻度は明らかではないが、非常に稀と思われる。

B．病因・病態

SCN を含めた先天性好中球減少症において、多くの責任遺伝子が同定、報告されているので、それぞれその病態は異なってくる。細胞レベルで病因を考えると、細胞内小器官ごと（細胞膜受容体、核、小胞体、ミトコンドリア、エンドゾーム、ライソゾーム、リボゾーム、アズール顆粒、細胞骨格等）に責任遺伝子が分布し、分類されている。

1) SCN1：好中球エラスターゼ遺伝子（*ELANE*）変異

好中球エラスターゼ（NE）はセリンプロテアーゼに分類される 30kD の糖蛋白であり、成熟骨髄顆粒球系細胞で最も強く発現している。合成された活性型 NE は主に一次顆粒（アズール顆粒）に存在するが、細胞膜や核にも存在が知られている。*ELANE* 変異が好中球減少を引き起こす機序について種々の

説が挙げられているが、その病態の詳細は明らかでない。

2) SCN2 : GF1 欠損症

2003年に *GF1I* ヘテロ接合性変異 (DNA 結合に関与する zinc finger 部位) が同定され、好中球減少、単球増多、CD4 リンパ球の減少、ナイーブ T、B 細胞の減少が認められた。G-CSF に対する反応性の低下や好中球、単球の両方の性質を有する異常細胞の出現も認められた。T、B 細胞に関しては数と活性の低下は認められるものの機能は正常と推察されている。

3) SCN3 : HA1 異常症 (Kostmann 病)

hematopoietic cell-specific Lyn substrate 1 (HCLS1)-associated protein X-1 (HAX1) は、細胞内のシグナル伝達に関与する分子として 1997 年に見出されたが、その後、多くの細胞内蛋白質やウイルス蛋白質と相互作用し、細胞骨格形成やアポトーシスにも関与することが明らかにされている。スプライシングサイトの違いにより、2 種類のアイソフォーム (アイソフォーム a, b) が存在する。HAX1 の欠失は骨髄前駆細胞内にチトクロム C を放出し、前駆細胞ならびに好中球でのアポトーシスを亢進させ、好中球減少が惹起されると考えられている。

現在までに 17 種類の HAX1 遺伝子変異が報告されているが、HAX1 異常症のうち、アイソフォーム a のみに影響する変異が認められる症例とアイソフォーム a と b の両方に影響する変異が認められる症例がおよそ半数ずつである。アイソフォーム a のみに影響する変異を有する群では神経症状はほとんど認められないのに対し、a、b 両方に影響する変異を有する群では 68% に中等度以上の精神発達遅滞、てんかんが認められている。

4) SCN4 : G6PC3 欠損症

グルコース-6-ホスファターゼ (Glucose-6-Phosphatase; G6Pase) の 1 つである Glucose-6-Phosphatase protein 3 (G6PC3) (または Glucose-6-Phosphatase-β; G6Pase-β) の変異により発症する常染色体劣性遺伝性疾患である。

G6Pase は小胞体内の酵素で、グルコース-6-リン酸からリン酸を除去してグルコースを遊離する。ヒトでは G6Pase は *G6PC1*、*G6PC2*、*G6PC3* からなる遺伝子ファミリーによりコードされている。*G6PC1* の両アレル変異は糖原病 Ia 型を発症するが、グルコース-6-リン酸を細胞質から小胞体内に輸送するグルコース-6-リン酸トランスロカーゼ (glucose-6-phosphatase translocase; G6PT) をコードする *SLC37A4* (*G6PT1*) 変異では糖原病 Ib 型を引き起こす。ヒトでは *G6PC3* 遺伝子のホモ接合または複合ヘテロ接合の変異により G6PC3 欠損症

を発症する。また糖原病 b 型でも G6PC3 欠損症と同様に好中球数の減少と機能低下を伴うことが知られている。

5) SCN5 : VPS45 欠損症

VPS45 欠損症は、好中球減少、好中球機能異常、原発性骨髄線維症、腎腫大を特徴とする。エンドソーム系を介した膜輸送を制御するタンパクである VPS45 をコードする遺伝子の変異が原因であり、VPS45 タンパクの発現が低下に基づき、細胞運動能の低下、アポトーシスの増加が引き起こされる。これらが好中球機能低下や好中球減少の原因と考えられているが、病態の詳細は不明である。

C . 診断

1) 臨床症状

易感染性：皮膚化膿症、慢性歯肉炎、歯周病は高頻度で認められる。咽頭扁桃炎、上気道感染症、時に肺炎、肺膿瘍が認められる。

2) 検査所見

末梢血での慢性好中球減少症 (ほとんど好中球絶対数 200/μl 以下)、末梢血単球数増加、骨髄像：骨髄顆粒球系細胞の低形成～正形成と前骨髄球/骨髄球での成熟障害にあわせ、それぞれの責任遺伝子変異の同定

D . 重症度分類：重症

継続的な易感染性、慢性歯肉炎 (歯周病)、皮膚感染症、骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病への進展。根治療法としての造血幹細胞移植が必要である。特に、G-CSF 使用例では長期の高用量使用での骨髄異形成症候群/急性骨髄性白血病への移行は 40% 以上に認められている。

CN の分類において特徴的な合併所見を呈するものがある。感染症を反復、重症化と MDS/AML への移行は SCN 全体に共通した臨床所見と経過である。SCN3、いわゆる Kostmann 病ではてんかんをはじめとした中枢神経系 (精神運動発達遅滞、高次脳機能障害など) の合併症の頻度が高く、変異の部位によっては必発の症状であることが報告されている。SCN4 は先天性心疾患、泌尿生殖器奇形、内耳性難聴、体幹・四肢の静脈拡張が高率に認められる。SCN5 では腎肥大と骨髄線維化が認められることから、好中球減少に特徴的な合併症から SCN の分類を推測することが可能である。重症度は ANC の程度とは関係なく、感染症の頻度とその重症度による。G-CSF の使用の有無にかかわらず、MDS/AML への移行・進展症例は最重症であり、造血幹細胞移植以外に治療法はない。口内炎、慢性歯肉炎/慢性歯周病

はほぼ必発の所見であり、無治療の患者では歯牙の喪失につながる可能性があることから QOL 低下の要因となる。

E . 治療の概要

感染症対策としての対症療法と根治療法に分けて治療法を考える必要がある。

1) 対症療法

感染症対策が重要であり、Sulfamethoxazole-trimethoprim (ST) 合剤の定期的投与、必要であれば抗真菌薬投与、歯科医による口腔ケアが必要である。G-CSF 投与で約 90%の患者では好中球増加が認められるので、感染症のコントロールが可能である。ただし、長期間の G-CSF 投与、特に高用量 (8 μ g/kg 以上) の場合に骨髄異形成症候群/急性骨髄性白血病 (MDS/AML) への進展が高率に認められるので経時的な注意が必要である。SCN での G-CSF 使用に基づいた白血病発症の機序の詳細が明らかにされつつある。G-CSF の長期投与で後天的な CSF3R の切断変異が入るが、そのまま長期間 SCN のままで経過する症例と、一部に第 2 の変異が認められる症例に分けられる。後者が AML に移行していくが、第 2 の変異としては CSF3R-T618I が共通して認められ、G-CSF に依存しない骨髄系細胞の自己増殖が認められるようになる。最終的には RUNX1、ASXL1 などの更なる遺伝子変異を認める AML の発症に至ることが推測されている。従って、G-CSF の長期投与を行う症例では定期的な骨髄検査、染色体検査、上記の内容の遺伝子検査を行っていくことが望ましい。ただし、どの時点で根治療法である造血細胞移植を行うか確定したものはない。

2) 根治療法

根治療法は造血幹細胞移植である。適切なドナーがいる場合には骨髄非破壊の前処置での移植が推奨されるが、生着不全には注意が必要である。MDS/AML へ移行後は造血幹細胞移植が唯一の治療法であるが、予後は不良となる。

F . 予後

重症感染症の程度ならびに MDS/AML への移行が予後を左右する。G-CSF の投与で、感染症 (敗血症) での生命予後は格段に進歩している。G-CSF の投与期間が 10 年以上になる症例で、投与量を 8 μ g/kg 未満と以上に区分すると、前者での重症敗血症による死亡頻度は 4%、MDS/AML の発症頻度は 11%とされている。一方、後者の場合には重症敗血症による死亡頻度は 14%、MDS/AML の発症頻度は 40% になることが報告されている。SCN 症例が

MDS/AML に移行した場合には化学療法を行うと、好中球の回復はほとんど認められないことから、造血細胞移植の継続が必要となるので、ドナー選択を用意しながらの治療開始が必要である。造血細胞移植が唯一の救命できる治療法となる。

慢性好中球減少のために歯肉炎、歯周病、口内炎は必発の症状であるため、永久歯の維持が困難となる。歯肉が弱いためインプラントも不可能であり、成人期早期から総義歯となる場合があり、QOL はかなり損なわれることとなる。現在、根治療法として造血細胞移植が選択される症例が増えているが、移植時期を小児期と成人に分けた成績の比較では有意に前者が良好である。

G . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Asano T, Okada S, Tsumura M, Yeh TW, Mitsui-Sekinaka K, Tsujita Y, Ichinose Y, Shimada A, Hashimoto K, Wada T, Imai K, Ohara O, Morio T, Nonoyama S, Kobayashi M. Enhanced AKT Phosphorylation of Circulating B Cells in Patients With Activated PI3K δ Syndrome. **Frontier in Immunology** 2018;9:568.
- 2) Zhang SY, Clark NE, Freije CA, Pauwels E, Taggart AJ, Okada S, Mandel H, Garcia P, Ciancanelli MJ, Biran A, Lafaille FG, Tsumura M, Cobat A, Luo J, Volpi S, Zimmer B, Sakata S, Dinis A, Ohara O, Garcia Reino EJ, Dobbs K, Hasek M, Holloway SP, McCammon K, Hussong SA, DeRosa N, Van Skike CE, Katolik A, Lorenzo L, Hyodo M, Faria E, Halwani R, Fukuhara R, Smith GA, Galvan V, Damha MJ, Al-Muhsen S, Itan Y, Boeke JD, Notarangelo LD, Studer L, Kobayashi M, Diogo L, Fairbrother WG, Abel L, Rosenberg BR, Hart PJ, Etzioni A, Casanova JL. Inborn Errors of RNA Lariat Metabolism in Humans with Brainstem Viral Infection. **Cell** 2018;172:952-965.
- 3) Yabushita T, Hiramoto N, Ono Y, Yoshioka S, Karakawa S, Kobayashi M, Ishikawa T. Adult-onset primary cyclic autoimmune neutropenia: a case report. **Transfusion** 2018;58:884-890.
- 4) Leiding JW, Okada S, Hagin D, Abinun M, Shcherbina A, Balashov DN, Kim VHD, Ovadia A, Guthery SL, Pulsipher M, Lilic D,

- Devlin LA, Christie S, Depner M, Fuchs S, van Royen-Kerkhof A, Lindemans C, Petrovic A, Sullivan KE, Bunin N, Kilic SS, Arpacı F, Calle-Martin O, Martinez-Martinez L, Aldave JC, Kobayashi M, Ohkawa T, Imai K, Iguchi A, Roifman CM, Gennery AR, Slatter M, Ochs HD, Morio T, Torgerson TR; Inborn Errors Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation and the Primary Immune Deficiency Treatment Consortium. Hematopoietic stem cell transplantation in patients with gain-of-function signal transducer and activator of transcription 1 mutations. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2018;141:704-717.
- 5) Schwab C, Gabrysch A, Olbrich P, Patiño V, Warnatz K, Wolff D, Hoshino A, Kobayashi M, Imai K, Takagi M, Dybedal I, Haddock JA, Sansom DM, Lucena JM, Seidl M, Schmitt-Graeff A, Reiser V, Emmerich F, Frede N, Bulashevskaya A, Salzer U, Schubert D, Hayakawa S, Okada S, Kanariou M, Kucuk ZY, Chapdelaine H, Petruzalkova L, Sumnik Z, Sediva A, Slatter M, Arkwright PD, Cant A, Lorenz HM, Giese T, Lougaris V, Plebani A, Price C, Sullivan KE, Moutschen M, Litzman J, Freiberger T, van de Veerdonk FL, Recher M, Albert MH, Hauck F, Seneviratne S, Pachlopnik Schmid J, Kolios A, Unglik G, Klemann C, Speckmann C, Ehl S, Leichtner A, Blumberg R, Franke A, Snapper S, Zeissig S, Cunningham-Rundles C, Giulino-Roth L, Elemento O, Dücker G, Niehues T, Fronkova E, Kanderová V, Platt CD, Chou J, Chatila TA, Geha R, McDermott E, Bunn S, Kurzai M, Schulz A, Alsina L, Casals F, Deyà-Martinez A, Hambleton S, Kanegane H, Taskén K, Neth O, Grimbacher B. Phenotype, penetrance, and treatment of 133 cytotoxic T-lymphocyte antigen 4-insufficient subjects. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2018;142:1932-1946.
- 6) Onodera R, Kurita E, Taniguchi K, Karakawa S, Okada S, Kihara H, Fujii T, Kobayashi M. Anti-human neutrophil antigen-1a, -1b, and -2 antibodies in neonates and children with immune neutropenia analyzed by extracted granulocyte antigen immunofluorescence assay. **Transfusion** 2017;57:2586-2594. doi:10.1111/trf.14291.
- 7) Hayakawa S, Ohno N, Okada S, Kobayashi M. Significant augmentation of regulatory T cell numbers occurs during the early neonatal period. **Clin Exp Immunol.** 2017;190:268-279. doi:10.1111/cei.13008.
- 8) Leiding JW, Okada S, Hagin D, Abinun M, Shcherbina A, Balashov DN, Kim VHD, Ovadia A, Guthery SL, Pulsipher M, Lilic D, Devlin LA, Christie S, Depner M, Fuchs S, van Royden-Kerkhof A, Lindemans C, Petrovic A, Sullivan KE, Bunin N, Kilic SS, Arpacı F, Calle-Martin O, Martinez-Martinez L, Aldave JC, Kobayashi M, Ohkawa T, Imai K, Iguchi A, Roifman CM, Gennery AR, Slatter M, Ochs HD, Morio T, Torgerson TR, Inborn Errors Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation and the Primary Immune Deficiency Treatment Consortium. Hematopoietic stem cell transplantation in patients with gain-of-function signal transducer and activator of transcription 1 mutations. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2018;141:704-717. doi:10.1016/j.jaci.2017.03.049.
- 9) 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;19:796-802.
- 10) Kagawa R, Fujiki R, Tsumura M, Sakata S, Nishimura S, Itan Y, Kong XF, Kato Z, Ohnishi H, Hirata O, Saito S, Ikeda M, El Baghdadi J, Bousfiha A, Fujiwara K, Oleastro M, Yancoski J, Perez L, Danielian S, Ailal F, Takada H, Hara T, Pue A, Boisson-Dupuis S, Bustamante J, Casanovva JL, Ohara O, Okada S, Kobayashi M.

- Alanine-scanning mutagenesis of human signal transducer and activator of transcription 1 to estimate loss- or gain-of-function variants. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2017;140:232-241.
- 11) Fujiki R, Hijikata A, Shirai T, Okada S, Kobayashi M, Ohara O. Molecular mechanism and structural basis of gain-of-function of STAT1 caused by pathogenic R274Q mutation. **Journal of Biological Chemistry** 2017;292:6240-6254.
 - 12) Hoshino a, Okada S, Yoshida K, Nishida N, Okuno Y, Ueno H, Yamashita M, Okano T, Tsumura M, Nishimura S, Sakata S, Kobayashi M, Nakamura H, Kamizono J, Mitsui-Sekinaka K, Ichimura T, Ohga S, Nakazawa Y, Takagi M, Imai K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Nonoyama S, Morio T, Kanegane H. Abnormal hematopoiesis and autoimmunity in human subjects with germline IKZF1 mutations. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2017;140: 223-231.
 - 13) Yamasaki F, Takayasu T, Nosaka R, Nishibuchi I, Kawaguchi H, Kolakshyapati M M, Onishi S, Saito T, Sugiyama K, Kobayashi M, Kurisu K. Development of cystic malacia after high-dose cranial irradiation of pediatric CNS tumors in long-term follow-up. **Child's Nervous System** 2017;33:957-964.
 - 14) Tsujita Y, Mitsui-Sekinaka K, Imai K, Yeh TW, Mitsuiki N, Asano T, Ohnishi H, Kato Z, Sekinaka Y, Zaha K, Kato T, Okano T, Takashima T, Kobayashi K, Kimura M, Kunitsu T, Maruo Y, Kanegane H, Takagi M, 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. Phosphatase and tensin homolog (PTEN) mutation can cause activated phosphatidylinositol 3-kinase syndrome-like immunodeficiency. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2016 Dec;138(6):1672-1680.e10. doi: 10.1016/j.jaci.2016.03.055. [Epub ahead of print]
 - 15) Vijayan D, Mohd Redzwan N, Avery DT, Wirasinha RC, Brink R, Walters G, Adelstein S, Kobayashi M, Gray P, Elliott M, Wong M, King C, Vinuesa CG, Ghilardi N, Ma CS, Tangye SG, Batten M. IL-27 directly enhances germinal center B cell activity and potentiates lupus sanroque mice. **Journal of Immunology** 2016;197:3008-3017.
 - 16) Lévy R, Okada S, Béziat V, Moriya K, Liu C, Chai LY, Migaud M, Hauck F, Al Ali A, Cyrus C, Vatte C, Patiroglu T, Unal E, Ferneiny M, Hyakuna N, Nepesov S, Oleastro M, Ikinçiogullari A, Dogu F, Asano T, Ohara O, Yun L, Della Mina E, Bronnimann D, Itan Y, Gothe F, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Tahuil N, Aytekin C, Salhi A, Al Muhsen S, Kobayashi M, Toubiana J, Abel L, Li X, Camcioglu Y, Celmeli F, Klein C, AlKhatir SA, Casanova JL, Puel A. Genetic immune and clinical features of patients with bacterial and fungal infections due to inherited IL-17RA deficiency. **Proc Natl Acad Sci USA** 2016;113:E8277-8285.
 - 17) Ma CS, Wong N, Rao G, Nguyen A, Avery DT, Payne K, Torpy J, O'Young P, Deenick E, Bustamante J, Puel A, Okada S, Kobayashi M, Martinez-Barricarte R, Elliott M, Sebnem Kilic S, El Baghdadi J, Minegishi Y, Bousfiha A, Robertson N, Hambleton S, Arkwright PD, French M, Blincoe AK, Hsu P, Campbell DE, Stormon MO, Wong M, Adelstein S, Fulcher DA, Cook MC, Stepensky P, Boztug K, Beier R, Ikinçiogullari A, Ziegler JB, Gray P, Picard C, Boisson-Dupuis S, Phan TG, Grimbacher B, Warnatz K, Holland SM, Uzel G, Casanova JL, Tangye SG. Unique and shared signaling pathways cooperate to regulate the differentiation of human CD4+T cells into distinct effector subsets. **Journal of Experimental Medicine** 2016;213:1589-608.
 - 18) Toubiana J, Okada S, Hiller J, Oleastro M, Lagos Gomez M, Aldave Becerra JC, Ouachée-Chardin M, Fouyssac F, Girisha KM, Etzioni A, Van Montfrans J, Camcioglu Y, Kerns LA, Belohradsky B, Blanche S,

- Bousfiha A, Rodriguez-Gallego C, Meyts I, Kisand K, Reichenbach J, Renner ED, Rosenzweig S, Grimbacher B, van de Veerdonk FL, Traidl-Hoffmann C, Picard C, Marodi L, Morio T, Kobayashi M, Lilic D, Milner JD, Holland S, Casanova JL, Puel A. Heterozygous STAT1 gain-of-function mutations underlie and unexpectedly broad clinical phenotype. **Blood** 2016;127:3154-64.
- 19) Hayakawa S, Okada S, Tsumura M, Imai K, Morio T, Ohara O, Chayama K, Kobayashi M. Predisposition to gastric cancer in a patient with autosomal dominant immune dysregulation syndrome associated with CTLA-4 haploinsufficiency. **Journal of Clinical Immunology** 2016;36:28-32.
- 20) Yasumura J, Wago M, Okada S, Nishikomori R, Takei S, Kobayashi M. A 2-year old Japanese girl with TNF receptor-associated periodic syndrome: A case report of the youngest diagnosed proband in Japan. **Mod Rheumatol.** 2016;26:798-801.
- 21) Yamasaki F, Takayasu T, Nosaka R, Kawaguchi H, Sugiyama K, Kobayashi M, Kurisu K. Cavernous angioma after chemotherapy for desmoplastic/nodular medulloblastoma associated with anhidrotic ectodermal dysplasia. **Child Nerv Syst.** 2016;32:395-8.
- 22) Mizoguchi Y, Furue A, Kagawa R, Chijimatsu I, Tomioka K, Shimomura M, Imanaka Y, Nishimura S, Saito S, Miki M, Ono A, Konishi N, Kawaguchi H, Kobayashi M. Early eradication of factor VIII inhibitor in patients with congenital hemophilia A by immune tolerance induction with a high dose of immune. **International Journal of Hematology** 2016;103:473-7.
- 23) Ishikawa N, Kobayashi Y, Fujii Y, Kobayashi M. Late-onset epileptic spasms in a patient with 22q13.3 deletion syndrome. **Brain & Development** 2016;38:109-12.
- immunosuppressive conditioning in patients with severe congenital neutropenia. **The 18th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies** (2018年10月24-27日, ポルトガル, リスボン).
- 2) Asano T, Nishimura S, Kobayashi Y, Tsumura M, Ishikawa N, Ohnishi H, Takeda H, Sancho-Shimizu V, Moriya K, Puel A, Picard C, Irani SR, J.L. Casanova JL, S. Okada S, Kobayashi M. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis associated with IRAK4 deficiency. **The 18th Biennial Meeting of the European Society for Immunodeficiencies** (2018年10月24-27日, ポルトガル, リスボン).
- 3) Kobayashi M, Mizoguchi Y, Karakawa S, Miki M, Nishimura S, Okada S, Kawaguchi H. Long-Term Follow-up of Patients with Chronic Granulomatous Disease Receiving Bone Marrow Transplantation Using Immunosuppressive Conditioning Regimen. **The 59th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ).
- 4) Nishimura S, Tomioka K, Shimomura M, Mizoguchi Y, Kobayashi M. Pharmacokinetics Using myPKFiTR for Personalized Prophylaxis in Children with Severe Hemophilia A. **The 59th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ).
- 5) Okada S, Kagawa R, Fujiki R, Kato Z, Ohnishi H, Boisson-Dupuis S, Bustamante J, Casanova JL, Ohara O, Kobayashi M. Loss-of-function and dominant negative STAT1 coiled-coil domain mutations in MSMD. **Congress of Asia Pacific Society for Immunodeficiencies** (2016年4月30日, 大阪).
- 6) Mizoguchi Y, Karakawa S, Doi T, Shimomura M, Tomioka K, Sakata S, Furue A, Chijimatsu I, Okada S, Miki M, Kawaguchi H, Kobayashi M. Successful hematopoietic stem cell transplantation in ten patients with severe congenital neutropenia using an intensive immunosuppressive conditioning regimen: The results of a single institute. **The 21st Congress of European Hematology Association** (2016年6月12日,
2. 学会発表
- 1) Nishimura S, Mizoguchi Y, Asano T, Miki M, Furue a, Kawaguchi H, Okada S, Mochizuki S, Doi T, Kobayashi M. Successful bone marrow transplantation using an

コペンハーゲン・デンマーク)。

- 7) Okada S, Fujiki R, Kagawa R, Tsumura M, Kong X, Sakata S, Nishimura S, Kato Z, Ohnishi H, Itan Y, Boisson-Dupuis S, Bustamante J, Casanova JL, Ohara O, Kobayashi M. Alanine-scanning mutagenesis of human STAT1 to estimate the loss-or gain-of-function nature of variants. **The 17th Biennial Meeting of the European Society for immunodeficiencies** (2016年9月22日, バルセロナ・スペイン)。
- 8) Asano T, Tsumura M, Okada S, Kobayashi M. Flow cytometry based simple diagnosis of activated PI3K δ syndrome by evaluating pAKT in circulating B cells. **The 17th Biennial Meeting of the European Society for immunodeficiencies** (2016年9月22日, バル

セロナ・スペイン)。

- 9) Mizoguchi Y, Miki M, Furue A, Nishimura S, Shimomura M, Tomioka K, Sakata S, Chijimatsu I, Karakawa S, Okada S, Doi T, Nakamura K, Kawaguchi H, Kobayashi M. Successful Hematopoietic Stem Cell Transplantation Using an Immunosuppressive Conditioning Regimen in Ten Patients with Severe Congenital Neutropenia. A Single-Institute Experience. **The 58th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition** (2016年12月3-6日, サンディエゴ)。

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

図 小児期好中球減少症の診断アルゴリズム

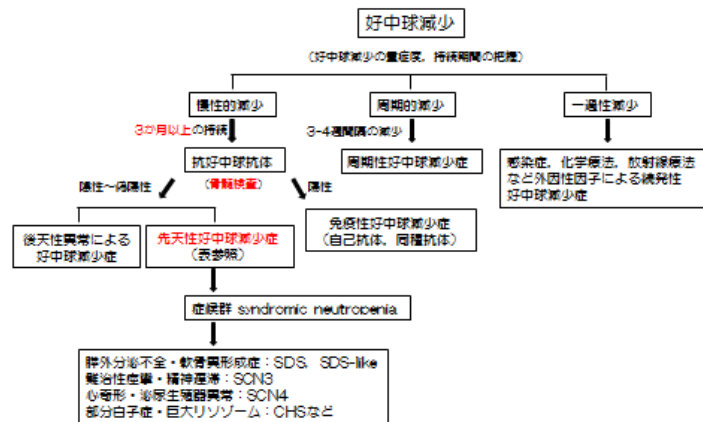


表 先天性好中球減少症の分類 (UIS, 2017)

症名	変異遺伝子	合併所見
1. 重症先天性好中球減少症 (SCN1)		
(a) SCN1 (ELANE異常症)	ELANE	MDS/白血病
周期性好中球減少症	ELANE	MDS/白血病
(b) SCN2 (GFI1欠損症)	GFI1	B/Tリンパ球減少
(c) SCN3 (Kostmann病)	HAXY	高次脳機能・神経学的障害, MDS/白血病
(d) SCN4 (G6PG3欠損症)	G6PG3	先天性心疾患, 泌尿生殖器奇形, 内耳性難聴, 体幹・四肢の神経根症
(e) SCN5 (VPS45欠損症)	VPS45	髄外出血, 骨髄線維化, 腎肥大
2. 難原性1b型	G6PT1	空腸肺血管, 異熟アンドロシス, 高脂血症, 肝肥大
3. X連鎖性好中球減少症	MAS	単球減少
4. P14/LAMTOR2欠損症	ROBLD3/LAMTOR2	低ガンマグロブリン血症, CD8T細胞障害活性低下, 部分白血症, 成長障害
5. Barth症候群	tefazzin(TAZ)	心筋症, 筋萎縮, 成長遅延
6. Cohen症候群	GCHI	根拠症, 発達遅延, 顔面奇形
7. 好中球減少を伴う多形皮膚剥離症	G16ORF57	皮膚剥離症, 白血球減少, MDS
8. JAGN1変異	JAGN1	骨格系異常 (低身長), 歯牙形成異常
9. 3-Methylglutanic aciduria	GLPB	小脳症, 低血糖, 筋緊張低下, けいれん, 白内障, 子宮内発育遅滞
10. G-CSF受容体 (CSFR3) 異常症	CSFR3	G-CSFに反応なし
11. SMARCD2 deficiency	SMARCD2	発達異常, 骨格異常, MDS
12. HYDU1 deficiency	HYDU1	低血糖

(Picard CA, et al. J Clin Immunol. 2018; 38: 96.)

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

Shwachman-Diamond症候群の診療ガイドライン作成に関する研究

研究分担者 渡邊健一郎（静岡県立こども病院血液腫瘍科 科長）

研究分担者 金兼弘和（東京医科歯科大学大学院小児地域成育医療学講座 寄附講座教授）

研究要旨： Shwachman-Diamond 症候群は、膵外分泌異常と造血不全による血球減少を主徴とする先天性骨髄不全症である。骨格異常、肝障害、行動異常を伴うことが多く、15～30%で骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病を発症し、造血細胞移植が行われる。稀少疾患であるため、臨床試験に基づき確立した治療、フォローアップの指針はないが、適切な経過観察と治療介入が患者の QOL 向上、生命予後改善に重要と考えられる。本研究では、本疾患の本邦での診療ガイドラインを作成し、我が国における診療実態について調査を行った。

A．研究目的

Shwachman-Diamond症候群（SDS）は、膵外分泌異常と造血不全による血球減少を主徴とする先天性骨髄不全症である。骨格異常、肝障害、行動異常を伴うことが多く、骨髄異形成症候群（MDS）、急性骨髄性白血病（AML）発症のリスクが高い。適切な経過観察と治療介入が患者のQOL向上、生命予後改善に重要と考えられる。そのため、本邦における診療ガイドラインを作成し、それに基づき我が国における診療実態を明らかにすることを目的とする。

B．研究方法

本疾患の研究者により提案された国際的なコンセンサスガイドライン案（Dror, et al. Ann N Y Acad Sci, 2011）に基づき、内外の知見を加え、本邦での診療ガイドラインを作成した。

また、これまでに遺伝子解析に基づいてSDSと診断された患者の臨床情報をアンケート形式にて集計し、解析した。

（倫理面への配慮）

遺伝子解析はヘルシンキ宣言に基づいて、本人または家族から文書による同意を得た上で行った。実態調査は、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に基づいて施行した。

C．研究結果

診療ガイドライン2017を作成した。疾患概念、診断基準、病態、治療の他、フォローアップの具体的な指針について示し、本症に特徴的な膵、骨の画像も掲載した。2018年にガイドライン改訂を行い、SDSでは成人期にMDS/AMLに移行することが多いこと、新たに同定された新規遺伝子について追記した。

調査では計47例のSBDS両アリル変異をもつ患者が同定され、年間発症数は2.6例、男女比は2.1：1であった。SBDS変異は183-184TA>CT/258+2T>C変異が72%を占め、次に258+2T>C/258+2T>C変異が6.4%であった。初診時の臨床所見はさまざまであり、血球減少、体重増加不良、脂便、肝機能障害、低身長、骨格異常などである。水外分泌不全あるいは画像での膵臓の異常はほとんどの患者で認められた。好中球減少は初診時に約1/3の患者でしか認められなかったが、経過中では89%の患者で認められた。その他の血球異常は貧血、血小板減少、汎血球減少症がそれぞれ66%、68%、40%で認められた。4例（8.5%）がAMLを発症しており、うち3例の発症年齢は18歳以上であった。

D．考察

SDSは欧米では先天性骨髄不全症の中ではFanconi貧血、Diamond-Blackfan貧血に次に多いとされているが、我が国における頻度は低いとされていた。しかしながら、本研究によって我が国にお

いてもSDSは少なからず存在することが明らかとなった。また、臨床像、SBDS遺伝子変異のタイプは既報と同様であった。成人期になってAMLに移行する例があり、継続的なフォローアップが必要と考えられた。

E . 結論

診療ガイドラインに基づいて、広く臨床医がSDSを認知することによって、さらに多くの患者が同定され、適切な治療、フォローアップによって、予後やQOLの改善につながる可能性が示唆された。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kanegane H. Inflammatory bowel diseases and primary immunodeficiency diseases. **Immunol Med.** 2019 Jan;11:1-8. doi: 10.1080/25785826.2018.1556025. [Epub ahead of print]
- 2) Mallick R, Jolles S, Kanegane H. Agbor-Tarh D, Rojavin M. Treatment Satisfaction with Subcutaneous Immunoglobulin Replacement Therapy in Patients with Primary Immunodeficiency: a Pooled Analysis of Six Hizentra® Studies. **J Clin Immunol.** 2018;38(8):886-897.
- 3) Tanaka-Kubota M, Shinozaki K, Miyamoto S, Yanagimachi M, Okano T, Mitsuiki N, Ueki M, Yamada M, Imai K, Takagi M, Agematsu K, Kanegane H. Morio T. Hematopoietic stem cell transplantation for pulmonary alveolar proteinosis associated with primary immunodeficiency disease. **Int J Hematol.** 2018;107(5):610-614.
- 4) Okano T, Tsujita Y, Kanegane H. Mitsui-Sekinaka K, Tanita K, Miyamoto S, Yeh TW, Yamashita M, Terada N, Ogura Y, Takagi M, Imai K, Nonoyama S, Morio T. Droplet Digital PCR-Based Chimerism Analysis for Primary Immunodeficiency Diseases. **J Clin Immunol.** 2018;38(3):300-306.
- 5) Kobayashi T, Nannya Y, Ichikawa M, Oritani K, Kanakura Y, Tomita A, Kiyoi H, Kobune M, Kato J, Kawabata H, Shindo M,

- Torimoto Y, Yonemura Y, Hanaoka N, Nakakuma H, Hasegawa D, Manabe A, Fujishima N, Fujii N, Tanimoto M, Morita Y, Matsuda A, Fujieda A, Katayama N, Ohashi H, Nagai H, Terada Y, Hino M, Sato K, Obara N, Chiba S, Usuki K, Ohta M, Imataki O, Uemura M, Takaku T, Komatsu N, Kitanaka A, Shimoda K, Watanabe K. Tohyama K, Takaori-Kondo A, Harigae H, Arai S, Miyazaki Y, Ozawa K, Kurokawa M; for National Research Group on Idiopathic Bone Marrow Failure Syndromes. A nationwide survey of hypoplastic myelodysplastic syndrome (a multicenter retrospective study). **Am J Hematol.** 2017;92:1324-1232.
- 6) 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;19:796-802.
- ### 2. 学会発表
- 1) 濱麻人, 真部淳, 長谷川大輔, 野沢和江, 成田敦, 村松秀城, 高橋義行, 渡邊健一郎, 小原明, 伊藤雅文, 小島勢二. 小児再生不良性貧血および低形成骨髄異形成症候群における臨床的予後の比較. **第78回日本血液学会学術集会**(2016年10月, 横浜).
 - 2) Kanegane H. Pancytopenia and primary immunodeficiency diseases. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会**(2016年12月, 東京).
 - 3) Watanabe K., Kanegane H., Hamabata T, Kozuki K, Umeda K, Hama A, Okuno, Muramatsu H, Takahashi Y, Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Ito M, Kojima S, Ito E. Establishment of a nationwide cohort for Shwachman-Diamond syndrome in Japan.

International Meeting on Childhood MDS and SAA (2017年9月28-30日, イタリア・ローマ).

- 4) Hama A, Manabe A, Hasegawa D, Nozawa K, Suzuki K, Narita A, Muramatsu H, Takahashi Y, Watanabe K, Ohara A, Ito M, Kojima S. Bone marrow transplantation for children with acquired bone marrow failure. **International Meeting on Childhood MDS and SAA** (2017年9月28-30日, イタリア・ローマ).
- 5) Hama A, Manabe A, Hasegawa D, Nozawa K, Narita A, Muramatsu H, Takahashi Y, Watanabe K, Ohara A, Ito M, Kojima S. Comparison of Clinical Outcomes Between Pediatric Aplastic Anemia and Refractory Cytopenia of Childhood. **58th ASH Annual Meeting & Exposition** (2016年12月, 米国・サンディエゴ).
- 6) 西村聡, 青木由貴, 石渡泰芳, 松本和明, 廣木遥, 小野真太郎, 岡野翼, 宮本智史, 足洗美穂, 星野顕宏, 田中真理, 宮脇零士, 小林千佳, 手束真理, 大川哲平, 満生紀子, 遠藤明史, 小野敏明, 磯田健志, 宮澤大輔, 長澤正之, 水谷修紀, 安原真人, 梶原道子, 柳町昌克, 高木正稔, 金兼弘和, 今井耕輔, 森尾友宏. 原発性免疫不全症に対するFluBUとFluMelによる前処置法に比較検討. **第40回日本造血細胞移植学会総会** (2018年2月1-3日, 札幌).
- 7) 濱麻人, 真部淳, 長谷川大輔, 野沢和江, 成田敦, 村松秀城, 高橋義行, 渡邊健一郎, 小原明, 伊藤雅文, 小島勢二. 小児再生不良貧血および骨髓異形成症候群の形態中央診断: 1500例のまとめ. **第58回日本小児血液・がん学会学術集会** (2016年12月, 東京).
- 8) Okamoto K, Shigemizu D, Okano T, Yeh TW, Takashima T, Yamashita M, Ono S, Mitsuiki N, Takagi M, Mori M, Kanegane H, Tsunoda T, Imai K, Morio T. Whole exome sequence analysis using the known and candidate genes for primary immunodeficiency diseases. **The 2nd APSID Scientific Congress** (2018 5月7日, 中国・重慶).

- 9) 渡邊健一郎, 金兼弘和, 濱端隆行, 上月景弘, 梅田雄嗣, 浜麻人, 奥野友介, 村松英城, 高橋義行, 上野浩生, 吉田健一, 長谷川大輔, 真部淳, 小野明, 伊藤雅文, 小川誠司, 小島勢二, 伊藤悦朗. 本邦におけるScwachman-Diamond症候群の臨床像. **第2回日本免疫不全・自己炎症学会総会・学術集会** (2019年2月2-3日, 東京).
- 10) Watanabe K, Kanegane H, hamabata T, Kozuki K, Umeda K, Hama A, Okuno Y, Muramatsu H, Takahashi Y, Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Masafumi I, Kojima S, Ito E. Establishment of a nationwide cohort for Shwachman-Diamond syndrome in Japan. **第80回日本血液学会学術集会** (2018年10月12-14日, 大阪).
- 11) Watanabe K, Kanegane H, hamabata T, Kozuki K, Umeda K, Hama A, Okuno Y, Muramatsu H, Takahashi Y, Hasegawa D, Manabe A, Ohara A, Masafumi I, Kojima S, Ito E. EA nationwide cohort for Shwachman-Diamond syndrome in Japan. **9th Internatioal Congress of Shwachman-Diamond Syndrome** (2018年4月8-11日, 米国・ヒューストン).

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（H28-29年度） 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（現 岐阜医療科学大学保健学部 教授））

研究要旨： CTP を疑う 28 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、22 例の症例で確定診断が得られた。MYH9 異常症は 16 例（57.1%）と最も高頻度に診断された。その他は、TUBB1 異常症 1 例、2B 型 von Willebrand 病 1 例、Paris-Trousseau Jacobsen 症候群 1 例、GFI1B 異常症 2 例であった。残りの 7 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

平成28-29年度は、28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16例、TUBB1異常症1例、2Bvon型Willebrand病1例、Paris-Trousseau Jacobsen症候群1例、GFI1B異常症2例の診断に至り、7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、21例（75%）の症例で確定診断が得られた。MYH9異常症は16例（57.1%）と最も高頻度に診断された。MYH9異常症16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局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28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、21例（75%）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.
- 6) 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.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) 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) 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, 加藤文典, 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・マドリード).
- 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 GPIba 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・オランダ)。
 - 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)。
 - 20) 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, Shiroto 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)。
 - 21) 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)。
 - 22) 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）。
 - 23) 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).
- 24) 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).
- 25) 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兒. **第75回日本小児科学会滋賀地方会** (2016年5月, 大津).
- 26) 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).
- 27) 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).
- 28) 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).
- 29) 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).
- 30) 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).
- 31) 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).
- 32) 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).
- 33) 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).
- 34) 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).
- 35) 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).
- 36) 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. 破碎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).
- 37) 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).
- 38) 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).
- 39) 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).

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 Hoyerall 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 Hoyerall 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の病態に關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の病態に關与しているのか、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

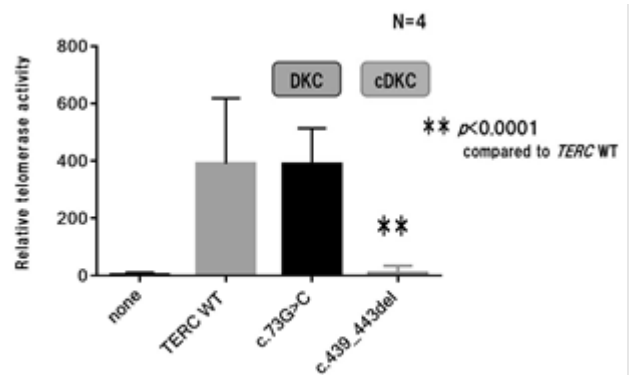
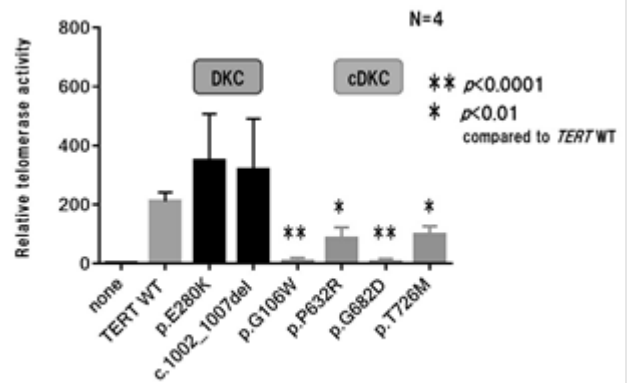
1. 本邦で発見された既知の責任遺伝子変異の機能解析

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

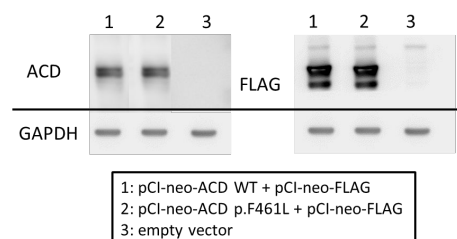
vs. 84.6 ± 19.4 , 97.6 ± 14.7 $p<0.01$, $p<0.01$)。

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 $p<0.0001$)。

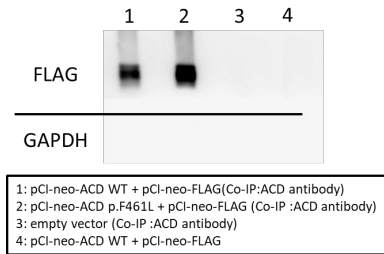


2. DKCの新規責任遺伝子変異候補の機能解析

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

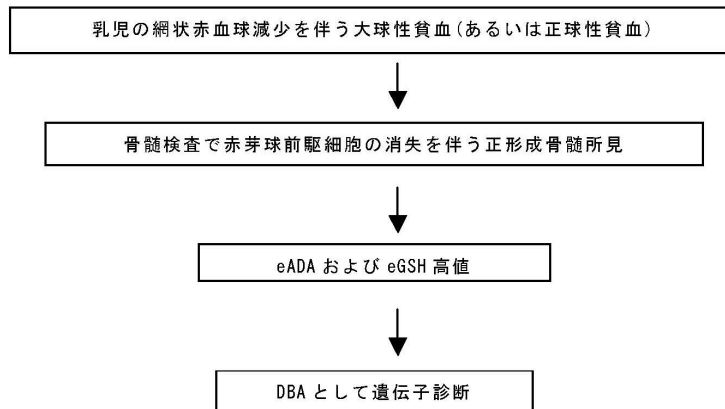
該当なし

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

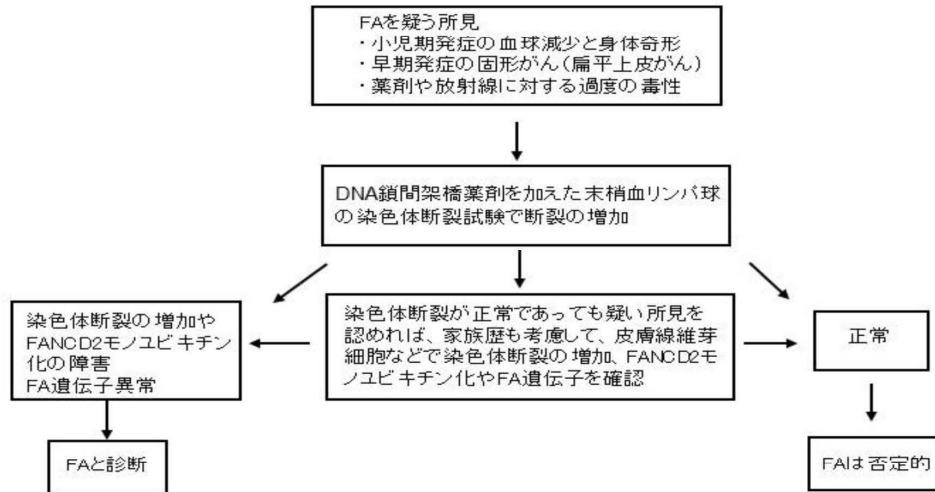


図1. Fanconi貧血診断のフローチャート

●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

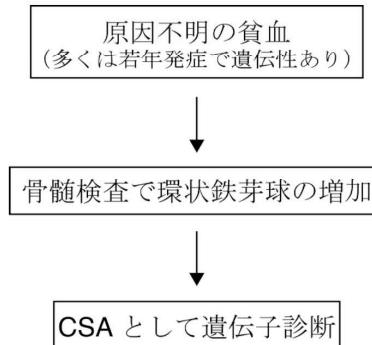
①疾患概念

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

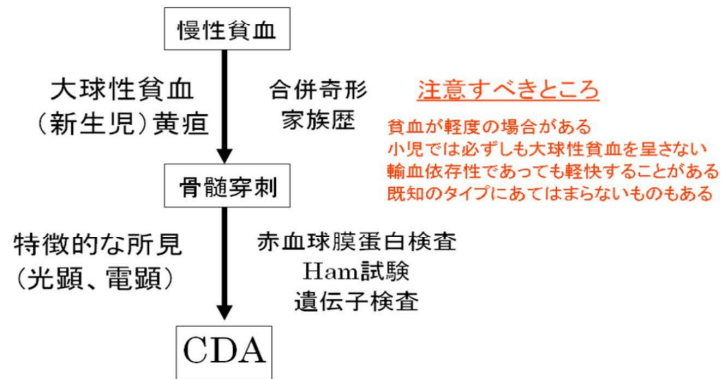
① 疾患概念

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

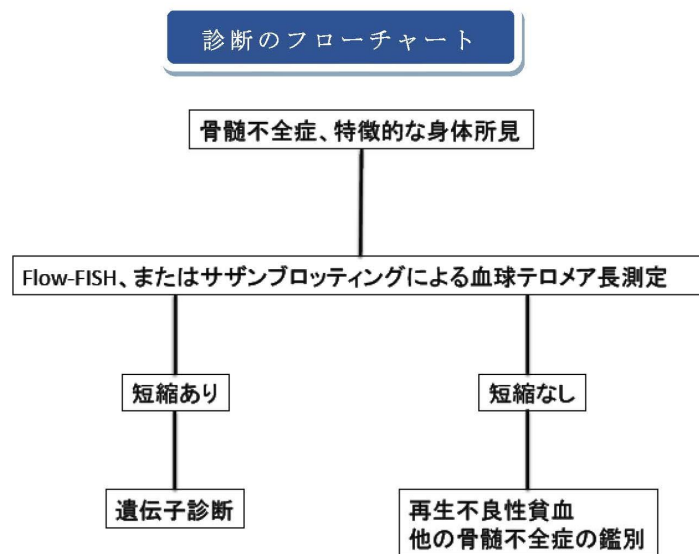
① 疾患概念

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

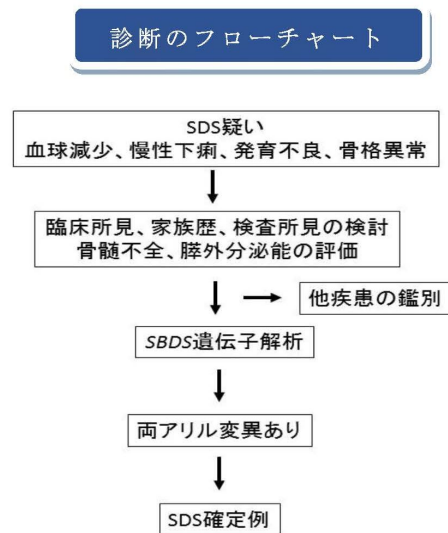


図1 診断フローチャート (SDS, Shwachman-Diamond syndrome)

●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、骨髄不全、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、その他の骨髄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髄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、骨髄不全、骨格異常を主徴とし、常染色体劣性の遺伝形式をとる

先天性骨髄不全症候群である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、骨髄異形成症候群 (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

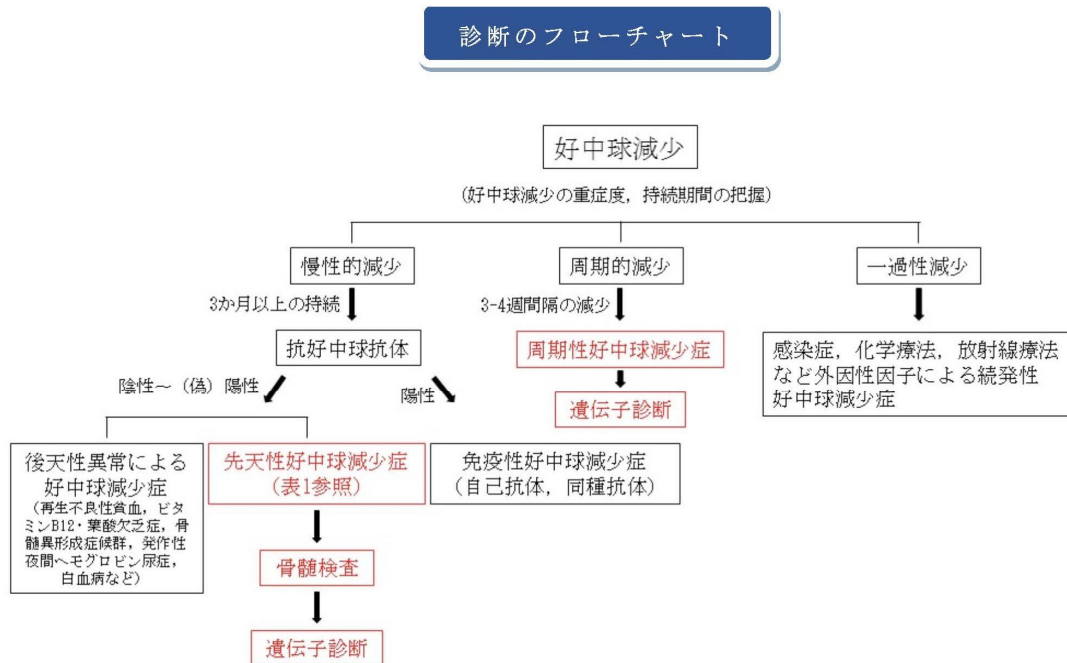


図1 好中球減少症：診断フローチャート

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。

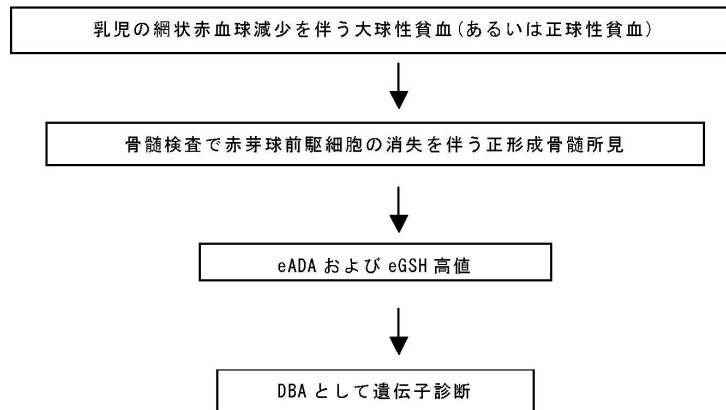
血小板サイズの指標となる平均血小板容積 (Mean platelet volume: MPV, 正常値 7-12fl) は自動血球計数装置から算出されるが、大型血小板が存在する場合は不正確になるため MPV 値のみで血小板サイズを評価してはならない。そのため、末梢血塗抹標本上での血小板形態観察と血小板

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

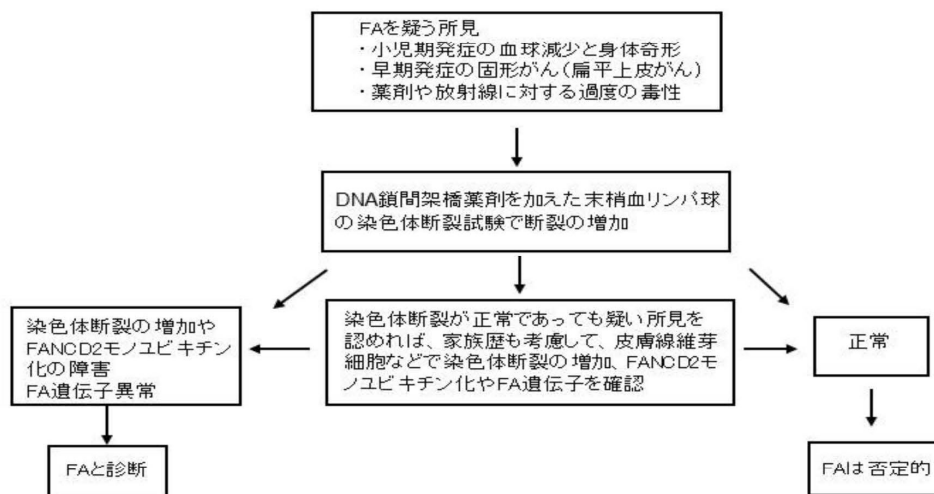


図1. Fanconi貧血診断のフローチャート

●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

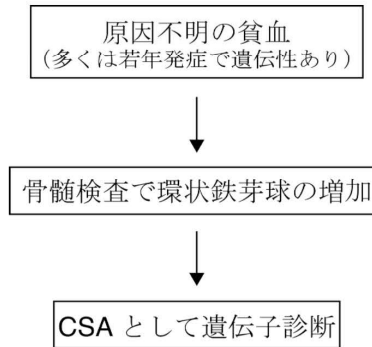
①疾患概念

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

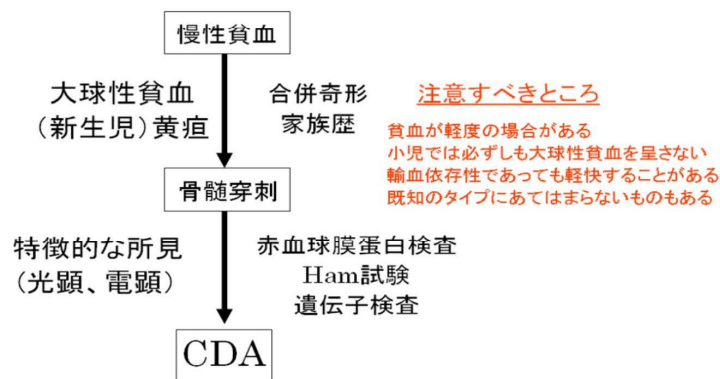
① 疾患概念

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

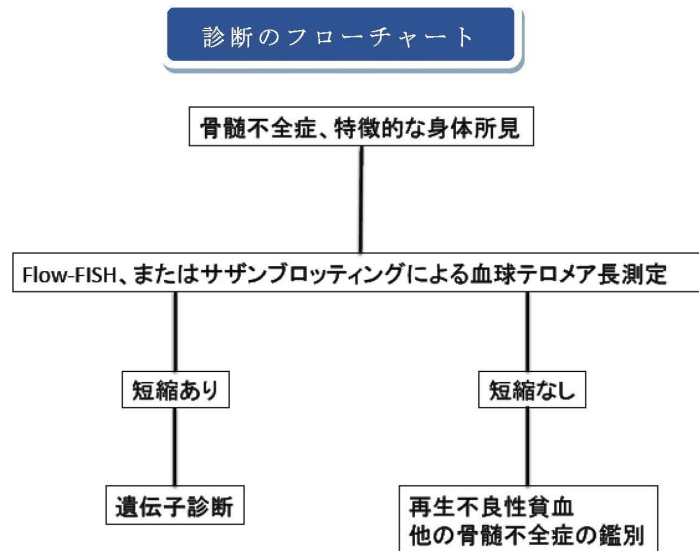
① 疾患概念

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

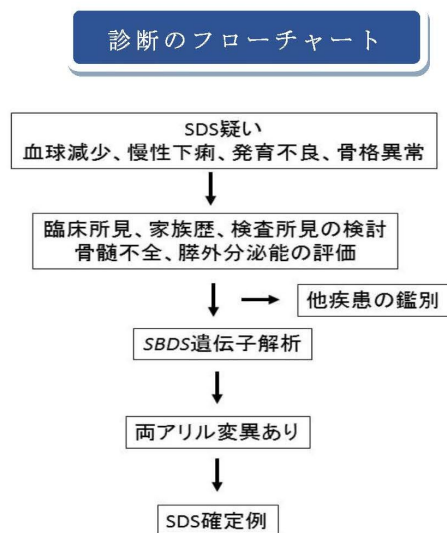


図1 診断フローチャート (SDS, Shwachman-Diamond syndrome)

●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探索しながら 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

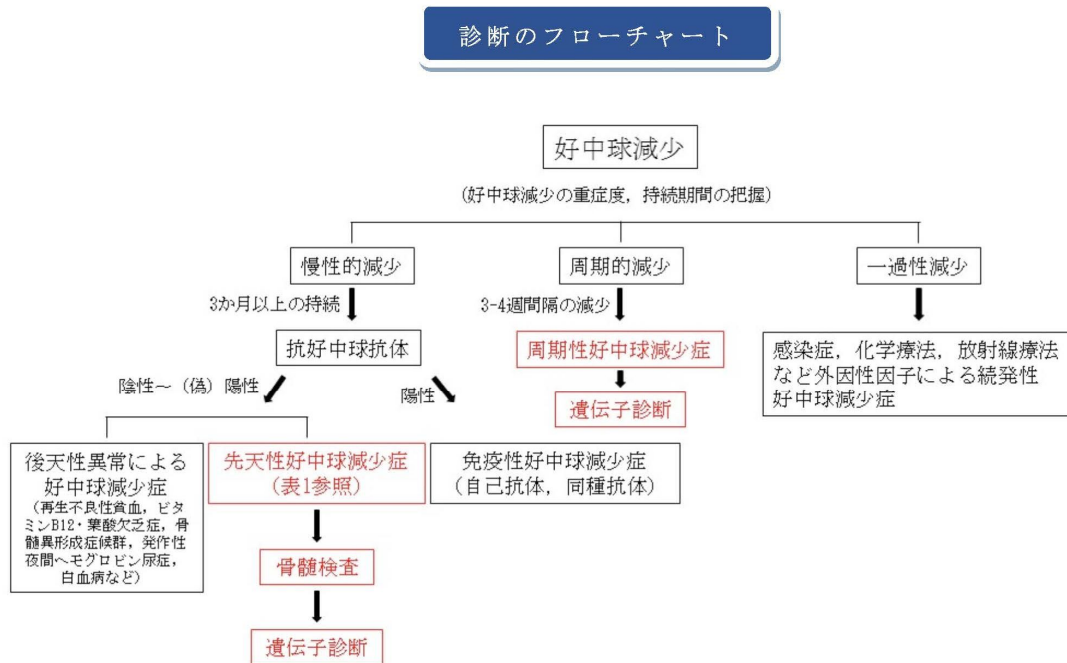


図1 好中球減少症：診断フローチャート

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

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
小倉浩美, 菅野仁.	【特集 新生児黄疸を再び考える】 各論 先天性溶血性疾患.		周産期医学	東京医学社	東京	2019	211-6
小倉浩美, 菅野仁.	赤血球酵素とその異常. 特集 赤血球		血液フロンティア	医薬ジャーナル社	東京	2018	1333-41
Yabe H, Serafini M, Boelens JJ.	Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Mucopolysaccharidoses: The Effects and Limitations.	Tomatsu S, Orii T	Mucopolysaccharidoses update	Nova Science	New York	2018	513-534
伊藤悦朗, 大賀正一, 小原明, 金兼弘和, 唐川修平, 菅野仁, 國島伸治, 小島勢二, 小林正夫, 笹原洋二, 多賀崇, 高田穰, 照井君典, 長谷川大輔, 張替秀郎, 藤原亨, 古山和道, 真部淳, 溝口洋子, 村松秀城, 矢部普正, 山口博樹, 渡邊健一郎.	Diamond-Blackfan貧血 / Fanconi貧血 / 遺伝性鉄芽球性貧血 / Congenital dyserythropoietic anemia / 先天性角化不全症 / Shwachman-Diamond症候群 / 先天性好中球減少症 / 先天性血小板減少症	日本小児血液・がん学会	先天性骨髄不全症診療ガイドライン2017	診断と治療社	東京	2017	4-77
藤原亨, 張替秀郎.	鉄芽球性貧血 疾患概念・病因・病態	谷脇雅史	貧血学 最新の動向・治療動向	日本臨床社	東京	2017	448-452
石合正道, 高田穰.	2.18 放射線応答遺伝子の生物種間の保存・相関	宮川清	放射線医学の事典		東京	2017	
Ito E, Terui K, Toki T.	Inherited bone marrow failure syndrome, TAM.	Eiichi Ishii	In Hematological Disorders in Children.	Springer Natures Singapore Pte Ltd	Shingapore	2017	145-170
Hasegawa D, Manabe A.	Myelodysplastic syndrome and JMML.	Eiichi Ishii	In Hematological Disorders in Children.	Springer Natures Singapore Pte Ltd	Shingapore	2017	87-108
小倉浩美, 菅野仁.	先天性貧血	神田善伸	血液科研修ノート	診断と治療社	東京	2016	462-465

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Mori M, Hira A, Yoshida K, Muramatsu H, Okuno Y, Shiraishi Y, Anmae M, Yasuda J, Tadaka S, Kinoshita K, Osumi T, Noguchi Y, Adachi S, Kobayashi R, Kawabata H, Imai K, Morio T, Tamura K, Takaori-Kondo A, Yamamoto M, Miyano S, Kojima S, Ito E, Ogawa S, Matsuo K, Yabe H, Yabe M, Takata M.	Pathogenic mutations identified by a multimodality approach in 117 Japanese Fanconi anemia patients.	Haematologica			2019 [Epub ahead of print]
Saito K, Fujiwara T, Hatta S, Morita M, Ono K, Suzuki C, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Kawamata S, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H.	Generation and molecular characterization of human ring sideroblasts: A key role of ferrous iron in erythroid differentiation and ring sideroblast formation.	Mol Cell Biol.			2019 (in press)
Takaoka K, Kawazu M, Koya J, Yoshimi A, Masamoto Y, Maki H, Toya T, Kobayashi T, Nannya Y, Arai S, Ueno H, Suzuki K, Harada H, Manabe A, Hayashi Y, Mano H, Kurokawa M.	A germline HLTF mutation in familial MDS induces DNA damage accumulation through impaired PCNA polyubiquitination.	Leukemia			2019 (in press)
Okamoto Y, James Hejna, Takata M.	Regulation of R-loops and genome instability in Fanconi anemia.	J Biochemistry Tokyo.			2019 (in press)
Ninomiya K, Hata T, Yoshioka H, Ohashi K, Bessho A, Hosokawa S, Ishikawa N, Yamasaki M, Shibayama T, Aoe K, Kozuki T, Harita S, Ueda Y, Murakami T, Fujimoto N, Yanai H, Toyooka S, Takata M, Hotta K, Kiura K.	A prospective cohort study to define the clinical features and outcome of lung cancers harboring HER2 aberration (HER2-CS STUDY) in Japan.	Chest			2019 (in press)
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.			2019 (in press)
森美奈子, 矢部普正, 矢部みはる, 高田穰.	日本人ファンconi貧血患者のゲノム解析から得られた知見.	臨床血液			2019 (in press)

西村聡, 平林真介, 山本俊亮, 相賀咲央莉, 西谷美佐, 細谷要介, 森慎一郎, 長谷川大輔, 真部淳.	Diamond-Blackfan貧血に対する強度減弱前処置を用いた骨髄移植.	小児血液・がん学会雑誌			2019 (in press)
平林真介, 鈴木美慧, 真部淳.	TP53変異と造血器腫瘍.	臨床血液			2019 (in press)
Usami I, Imamura T, Takahashi Y, Suenobu SI, Hasegawa D, Hashii Y, Deguchi T, Hori T, Shimada A, Kato K, Ito E, Moriya-Saito A, Kawasaki H, Hori H, Yumura-Yagi K, Hara J, Sato A, Horibe K; Japan Association of Childhood Leukemia Study Group (JACLS).	Discontinuation of L-asparaginase and poor response to prednisolone are associated with poor outcome of ETV6-RUNX1-positive pediatric B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia.	Int J Hematol.	109(4)	477-482	2019
Kudo K, Tanaka T, Kobayashi A, Terui K, Ito E.	Zoledronic acid for relapsed Langerhans cell histiocytosis with isolated skull bone lesion.	Pediatr Int.	61(3)	315-317	2019
Yabe M, Koike T, Ohtsubo K, Imai E, Morimoto T, Takakura H, Koh K, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S, Matsuo K, Mori M, Hira A, Takata M, Yabe H.	Associations of complementation group, ALDH2 genotype, and clonal abnormalities with hematological outcome in Japanese patients with Fanconi anemia.	Ann Hematol.	98(2)	271-280	2019
Yagi H, Kageyama K, Kinoshita N, Niioka K, Yamagata S, Ito E, Daimon M.	Relaxin-3 regulates corticotropin-releasing factor gene expression in cultured rat hypothalamic 4B cells.	Neurosci Lett.	692	137-142	2019
Ochi T, Onishi Y, Nasu K, Onodera K, Kobayashi M, Ichikawa S, Fujiwara T, Fukuhara N, Yamada-Fujiwara M, Harigae H.	Umbilical Cord Blood Transplantation Using Reduced-intensity Conditioning without Antithymocyte Globulin in Adult Patients with Severe Aplastic Anemia.	Biol Blood Marrow Transplant.	25	e55-59	2019
Fujiwara T, Harigae H.	Molecular pathophysiology and genetic mutations in congenital sideroblastic anemia.	Free Radic Biol Med.	133	179-185	2019
Ono R, Watanabe T, Kawakami E, Iwasaki M, Tomizawa-Murasawa M, Matsuda M, Najima Y, Takagi S, Fujiki S, Sato R, Mochizuki Y, Yoshida H, Sato K, Yabe H, Kato S, Saito Y, Taniguchi S, Shultz LD, Ohara O, Amagai M, Koseki H, Ishikawa F.	Co-activation of macrophages and T cells contribute to chronic GVHD in human IL-6 transgenic humanised mouse model.	EBioMedicine	41	584-596	2019

Miyamura K, Yamashita T, Atsuta Y, Ichinohe T, Kato K, Uchida N, Fukuda T, Ohashi K, Ogawa H, Eto T, Inoue M, Takahashi S, Mori T, Kanamori H, Yabe H, Hama A, Okamoto S, Inamoto Y.	High probability of follow-up termination among AYA survivors after allogeneic hematopoietic cell transplantation.	Blood Adv.	3(3)	397-405	2019
Bianchi P, Elisa Fermo E, Glader B, Kanno H, Agarwal A, Barcellini W, Eber S, Hoyer JD, Kuter DJ, Maia TM, Del Mar Mañu-Pereira M, Kalfa TA, Pissard S, Segovia JC, van Beers E, Gallagher PG, Rees DC, van Wijk R.	Addressing The Diagnostic Gaps in Pyruvate Kinase (PK) Deficiency: Consensus Recommendations on the Diagnosis of PK Deficiency.	Am J Hematol.	94	149-161	2019
Kamio H, Uchiyama T, Kanno H, Onoe Y, Saito K, Kameoka S, Kamio T, Okamoto T. Association between SLCO1B1 rs4149056 and tegafur-uracil-induced hepatic dysfunction in breast cancer.	Association between SLCO1B1 rs4149056 and tegafur-uracil-induced hepatic dysfunction in breast cancer.	Pharmacogenomics	20(5)	353-365	2019
Kohara H, Utsugisawa T, Sakamoto C, Hirose L, Ogawa Y, Ogura H, Sugawara A, Liao J, Aoki T, Iwasaki T, Asai T, Doisaki S, Okuno Y, Muramatsu H, Abe T, Kurita R, Miyamoto S, Sakuma T, Shiba M, Yamamoto T, Ohga S, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Kojima S, Kanno H, Tani K.	KLF1 mutation E325K induces cell cycle arrest in erythroid cells differentiated from congenital dyserythropoietic anemia patient-specific induced pluripotent stem cells.	Exp Hematol.	73	25-37.e8	2019
Hayano S, Okuno Y, Tsutsumi M, Inagaki H, Fukasawa Y, Kurahashi H, Kojima S, Takahashi Y, Kato T.	Frequent intragenic microdeletions of elastin in familial supravalvular aortic stenosis.	Int J Cardiol.	274	290-295	2018
Uemura S, Mori T, Nagano C, Takafuji S, Nishimura N, Toki T, Terui K, Ito E, Iijima K.	Effective response to azacitidine in a child with a second relapse of myeloid leukemia associated with Down syndrome after bone marrow transplantation.	Pediatr Blood Cancer.		e27414	2018
Kudo K, Ueno H, Sato T, Kubo K, Kanazaki R, Kobayashi A, Kamio T, Sasaki S, Terui K, Kurose A, Yoshida K, Shiozawa Y, Toki T, Ogawa S, Ito E.	Two siblings with familial neuroblastoma with distinct clinical phenotypes harboring an ALK germline mutation.	Genes Chromosomes Cancer	57(12)	665-669	2018

Toki T, Yoshida K, Wang R, Nakamura S, Maekawa T, Goi K, Katoh MC, Mizuno S, Sugiyama F, Kanezaki R, Uechi T, Nakajima Y, Sato Y, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Shiozawa Y, Kataoka K, Shiraishi Y, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Sato T, Kamio T, Sakaguchi H, Ohga S, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Ohara A, Kanno H, Miyano S, Kojima S, Ishiguro A, Sugita K, Kenmochi N, Takahashi S, Eto K, Ogawa S, Ito E.	De Novo Mutations Activating Germline TP53 in an Inherited Bone-Marrow-Failure Syndrome.	Am J Hum Genet.	103(3)	440-447	2018
Tsujimoto S, Osumi T, Uchiyama M, Shirai R, Moriyama T, Nishii R, Yamada Y, Kudo K, Sekiguchi M, Arakawa Y, Yoshida M, Uchiyama T, Terui K, Ito S, Koh K, Takita J, Ito E, Tomizawa D, Manabe A, Kiyokawa N, Yang JJ, Kato M.	Diploidy analysis of NUDT15 variants and 6-mercaptopurine sensitivity in pediatric lymphoid neoplasms.	Leukemia	32(12)	2710-2714	2018
Sonoda M, Ishimura M, Ichimiya Y, Terashi E, Eguchi K, Sakai Y, Takada H, Hama A, Kanno H, Toki T, Ito E, Ohga S.	Atypical erythroblastosis in a patient with Diamond-Blackfan anemia who developed del (20q) myelodysplasia.	Int J Hematol.	108(2)	228-231	2018
Kuwahara K, Kudo K, Yashima-Abo A, Katayama K, Kojima K, Tone K, Ito E, Nakazawa A, Iwafuchi H, Kurose A.	Classic Hodgkin lymphoma with osseous involvement mimicking Langerhans cell histiocytosis in a child.	Hum Pathol.	77	147-151	2018
Kato H, Itoh-Nakadai A, Matsumoto M, Ishii Y, Watanabe-Matsui M, Ikeda M, Ebina-Shibuya R, Sato Y, Kobayashi M, Nishizawa H, Suzuki K, Muto A, Fujiwara T, Nannya Y, Cazzola M, Ogawa S, Harigae H, Igarashi K.	Infection perturbs Bach2- and Bach1-dependent erythroid lineage choice to cause anemia.	Nat Immunol.	19	1059-1070	2018
Ishida H, Imamura T, Morimoto A, Fujiwara T, Harigae H.	Five-aminolevulinic acid: New Approach for Congenital Sideroblastic Anemia.	Pediatr Int.	60	496-497	2018

Kawakami T, Nakazawa H, Kawakami F, Matsuzawa S, Sudo Y, Sakai H, Nishina S, Sendo N, Sendo Y, Komatsu M, Umemura T, Yamaguti T, Kosho T, Fujiwara T, Harigae H, Ishida F.	Successful treatment with vitamin B6 for X-linked sideroblastic anemia with ALAS2 R452H mutation.	Rinsho Ketsueki	29	401-406	2018
Hatta S, Fujiwara T, Yamamoto T, Saito K, Kamata M, Tamai Y, Kawamata S, Harigae H.	A defined culture method enabling the establishment of ring sideroblasts from induced pluripotent cells of X-linked sideroblastic anemia.	Haematologica	244	e188-e191	2018
Ohashi K, Fujiwara T, Onodera K, Saito Y, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H.	Establishment of a screening system to identify novel GATA-2 transcriptional regulators.	Tohoku J Exp Med.	44	41-52	2018
Umeda K, Yabe H, Kato K, Imai K, Kobayashi M, Takahashi Y, Yoshida N, Sato M, Sasahara Y, Kato K, Adachi S, Koga Y, Okada K, Inoue M, Hashii Y, Atsuta Y, Morio T; Inherited Disease Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation.	Impact of low-dose irradiation and in vivo T-cell depletion on hematopoietic stem cell transplantation for non-malignant diseases using fludarabine-based reduced-intensity conditioning.	Bone Marrow Transplant.			2018 [Epub ahead of print]
Yakushijin K, Ikezoe T, Ohwada C, Kudo K, Okamura H, Goto H, Yabe H, Yasumoto A, Kuwabara H, Fujii S, Kagawa K, Ogata M, Onishi Y, Kohno A, Watamoto K, Uoshima N, Nakamura D, Ota S, Ueda Y, Oyake T, Koike K, Mizuno I, Iida H, Katayama Y, Ago H, Kato K, Okamura A, Kikuta A, Fukuda T.	Clinical effects of recombinant thrombomodulin and defibrotide on sinusoidal obstruction syndrome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.	Bone Marrow Transplant.			2018 [Epub ahead of print]
Inamoto Y, Matsuda T, Tabuchi K, Kurosawa S, Nakasone H, Nishimori H, Yamasaki S, Doki N, Iwato K, Mori T, Takahashi S, Yabe H, Kohno A, Nakamae H, Sakura T, Hashimoto H, Sugita J, Ago H, Fukuda T, Ichinohe T, Atsuta Y, Yamashita T; Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation Late Effects and Quality of Life Working Group.	Outcomes of patients who developed subsequent solid cancer after hematopoietic cell transplantation.	Blood Adv.	2(15)	1901-1913	2018

Nakasone H, Tabuchi K, Uchida N, Ohno Y, Matsuhashi Y, Takahashi S, Onishi Y, Onizuka M, Kobayashi H, Fukuda T, Ichinohe T, Takanashi M, Kato K, Atsuta Y, Yabe H, Kanda Y.	Which is more important for the selection of cord blood units for haematopoietic cell transplantation: the number of CD34-positive cells or total nucleated cells?	Br J Haematol.				2018 [Epub ahead of print]
Hamada M, Doisaki S, Okuno Y, Muramatsu H, Hama A, Kawashima N, Narita A, Nishio N, Yoshida K, Kanno H, Manabe A, Taga T, Takahashi Y, Miyano S, Ogawa S, Kojima S.	Whole-exome analysis to detect congenital hemolytic anemia mimicking congenital dyserythropoietic anemia.	Int J Hematol.	108(3)	306-311		2018
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.				2018 [Epub ahead of print]
Takeichi T, Okuno Y, Kawamoto A, Inoue T, Nagamoto E, Murase C, Shimizu E, Tanaka K, Kageshita Y, Fukushima S, Kono M, Ishikawa J, Ihn H, Takahashi Y, Akiyama M.	Reduction of stratum corneum ceramides in Neu-Laxova syndrome caused by phosphoglycerate dehydrogenase deficiency.	J Lipid Res.	59(12)	2413-2420		2018
Kamatani N, Furihata K, Taniguchi A, Fukuuchi T, Yamaoka N, Kaneko K, Kanno H.	In vitro enhancement of ATP in human erythrocytes from a healthy subject and two patients with thalassemia and hemoglobinopathy.	Gout and Nucleic Acid Metabolism	42(1)	59-64		2018
井島廣子, 古賀正史, 杉山正悟, 小倉浩美, 菅野仁, 陣内秀昭.	HbA1cが偽低値をしめしたエノラーゼ、異常症合併2型糖尿病の1例.	Diabetes Journal	46(1)	30-34		2018
van Straaten S, Bierings M, Bianchi P, Akiyoshi K, Kanno H, Serra IB, Chen J, Huang X, van Beers E, Ekwattanakit S, Gungör T, Kors WA, Smiers F, Raymakers R, Yanez L, Sevilla J, van Solinge W, Segovia JC, van Wijk R.	Worldwide study of hematopoietic allogeneic stem cell transplantation in pyruvate kinase deficiency.	Haematologica	103(2)	e82-e86		2018
槍澤大樹, 小林良輔, 磯合綾子, 小野寺博和, 松野義弘, 加藤道夫, 菅野仁.	自己アルブミン製剤としての濾過濃縮腹水の有効性.	日本輸血細胞治療学会誌	645	631-640		2018

Abe T, Ooka M, Kawasumi R, Miyata K, Takata M, Hirota K, Branzei D.	Warsaw Breakage Syndrome DDX11 helicase acts jointly with RAD17 in the repair of bulky lesions and replication through abasic sites.	Proc Natl Acad Sci U S A.	115(33)	8412-8417	2018
Yabe M, Koike T, Ohtsubo K, Imai E, Morimoto T, Takakura H, Koh K, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S, Matsuo K, Mori M, Hira A, Takata M and Yabe H. Associations of complementation group.	ALDH2 genotype, and clonal abnormalities with hematological outcome in Japanese patients with Fanconi anemia.	Ann Hematol.	98(2)	271-280	2018
Higgs MR, Sato K, Reynolds JJ, Begum S, Bayley R, Goula A, Vernet A, Paquin KL, Skalnik DG, Kobayashi W, Takata M, Howlett NG, Kurumizaka H, Kimura H, Stewart GS.	Histone Methylation by SETD1A Protects Nascent DNA through the Nucleosome Chaperone Activity of FANCD2.	Mol Cell.	71(1)	25-41.e6	2018
Okamoto Y, Iwasaki WM, Kugou K, Takahashi KK, Oda A, Sato K, Kobayashi W, Kawai H, Sakasai R, Takaori-Kondo A, Yamamoto T, Kanemaki MT, Taoka M, Isobe T, Kurumizaka H, Innan H, Ohta K, Ishiai M, Takata	Replication stress induces accumulation of FANCD2 at central region of large fragile genes.	Nucleic Acids Res.	46(6)	2932-2944	2018
高田穰.	ファンコニ貧血の新規原因遺伝子RFWD3の同定とその機能解析.	医学の歩み	TOPICS 266(6/7)	545-546	2018
稲野将二郎, 高田穰.	ファンコニ貧血の新規原因遺伝子RFWD3/FANCD2の機能解析から明らかになった相同組換え反応制御機構.	生化学	90(3)	371-380	2018
Eguchi K, Ishimura M, Sonoda M, Ono H, Shiraishi A, Kanno S, Koga Y, Takada H, Ohga S.	Nontuberculous mycobacteria-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in MonoMAC syndrome.	Pediatr Blood Cancer.	65(7)	e27017	2018
大賀正一, 石村匡崇, 槍澤大樹, 菅野仁.	新生児の遺伝性溶血性貧血～疾患概念の拡張～.	日本産婦人科・新生児血液学会誌	27(2)	41-47	2018
Minakawa S, Matsuzaki Y, Terui K, Kayaba H, Sawamura D.	Tuberculous granuloma developed 9 years after bacillus Calmette-Guérin vaccination in a patient with immunodeficiency.	J Dermatol.	45	e293-5	2018
照井君典.	貧血. 小児疾患の診断治療基準.	小児内科増刊号	50	70-1	2018

Kaneko K, Kubota Y, Nomura K, Hayashimoto H, Chida T, Yoshino N, Wayama M, Ogasawara K, Nakamura Y, Tooyama I, and Furuyama K.	Establishment of a cell model of X-linked sideroblastic anemia using genome editing.	Exp Hematol.	65	57-68.e2	2018
Shimada A, Iijima-Yamashita Y, Tawa A, Tomizawa D, Yamada M, Norio S, Watanabe T, Taga T, Iwamoto S, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Koh K, Goto H, Kosaka Y, Saito AM, Kiyokawa N, Horibe K, Hara Y, Oki K, Hayashi Y, Tanaka S, Adachi S.	Risk-stratified therapy for children with FLT3-ITD-positive acute myeloid leukemia: results from the JPLSG AML-05 study.	Int J Hematol.	107	586-595	2018
Yamato G, Shiba N, Yoshida K, Hara Y, Shiraishi Y, Ohki K, Okubo J, Park MJ, Sotomatsu M, Arakawa H, Kiyokawa N, Tomizawa D, Adachi S, Taga T, Horibe K, Miyano S, Ogawa S, Hayashi Y.	RUNX1 mutations in pediatric acute myeloid leukemia are associated with distinct genetic features and an inferior prognosis.	Blood	131	2266-2270	2018
Imamura T, Taga T, Takagi M, Kawasaki H, Koh K, Taki T, Adachi S, Manabe A, Ishida Y; Leukemia/Lymphoma Committee; Japanese Society of Pediatric Hematology Oncology (JSPHO).	Nationwide survey of therapy-related leukemia in childhood in Japan.	Int J Hematol.	108	91-97	2018
Matsuo H, Yoshida K, Fukumura K, Nakatani K, Noguchi Y, Takasaki S, Noura M, Shiozawa Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Okada A, Nannya Y, Takeda J, Ueno H, Shiba N, Yamato G, Handa H, Ono Y, Hiramoto N, Ishikawa T, Usuki K, Ishiyama K, Miyawaki S, Itonaga H, Miyazaki Y, Kawamura M, Yamaguchi H, Kiyokawa N, Tomizawa D, Taga T, Tawa A, Hayashi Y, Mano H, Miyano S, Kamikubo Y, Ogawa S, Adachi S.	Recurrent CCND3 mutations in MLL-rearranged acute myeloid leukemia.	Blood Adv.	2	2879-2889	2018
Yabushita T, Hiramoto N, Ono Y, Yoshioka S, Karakawa S, Kobayashi M, Ishikawa T	Adult-onset primary cyclic autoimmune neutropenia: a case report.	Transfusion	58	884-890	2018

Tomizawa D, Tanaka S, Hasegawa D, Iwamoto S, Hiramatsu H, Kiyokawa N, Miyachi H, Horibe K, Saito AM, Taga T, Adachi S.	Evaluation of high-dose cytarabine in induction therapy for children with de novo acute myeloid leukemia: a study protocol of the Japan Children's Cancer Group Multi-Center Seamless Phase II-III Randomized Trial (JPLSG AML-12).	Jpn J Clin Oncol.	48	587-593	2018
Asano T, Okada S, Tsumura M, Yeh TW, Mitsui-Sekinaka K, Tsujita Y, Ichinose Y, Shimada A, Hashimoto K, Wada T, Imai K, Ohara O, Morio T, Nonoyama S, Kobayashi M.	Enhanced AKT Phosphorylation of Circulating B Cells in Patients With Activated PI3K δ Syndrome.	Frontier in Immunology	9	568	2018
Zhang SY, Clark NE, Freije CA, Pauwels E, Taggart AJ, Okada S, Mandel H, Garcia P, Ciancanelli MJ, Biran A, Lafaille FG, Tsumura M, Cobat A, Luo J, Volpi S, Zimmer B, Sakata S, Dinis A, Ohara O, Garcia Reino EJ, Dobbs K, Hasek M, Holloway SP, McCammon K, Hussong SA, DeRosa N, Van Skike CE, Katolik A, Lorenzo L, Hyodo M, Faria E, Halwani R, Fukuhara R, Smith GA, Galvan V, Damha MJ, Al-Muhsen S, Itan Y, Boeke JD, Notarangelo LD, Studer L, Kobayashi M, Diogo L, Fairbrother WG, Abel L, Rosenberg BR, Hart PJ, Etzioni A, Casanova JL.	Errors of RNA Lariat Metabolism in Humans with Brainstem Viral Infection.	Cell	172	952-965	2018
Leiding JW, Okada S, Hagin D, Abinun M, Shcherbina A, Balashov DN, Kim VHD, Ovadia A, Guthery SL, Pulsipher M, Lilic D, Devlin LA, Christie S, Depner M, Fuchs S, van Royen-Kerkhof A, Lindemans C, Petrovic A, Sullivan KE, Bunin N, Kilic SS, Arpaci F, Calle-Martin O, Martinez-Martinez L, Aldave JC, Kobayashi M, Ohkawa T, Imai K, Iguchi A, Roifman CM, Gennery AR, Slatter M, Ochs HD, Morio T, Torgerson TR.	Inborn Errors Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation and the Primary Immune Deficiency Treatment Consortium: Hematopoietic stem cell transplantation in patients with gain-of-function signal transducer and activator of transcription 1 mutations.	Journal of Allergy & Clinical Immunology	141	704-717	2018

<p>Schwab C, Gabrysch A, Olbrich P, Patiño V, Warnatz K, Wolff D, Hoshino A, Kobayashi M, Imai K, Takagi M, Dybedal I, Haddock JA, Sansom DM, Lucena JM, Seidl M, Schmitt-Graeff A, Reiser V, Emmerich F, Frede N, Bulashevskaya A, Salzer U, Schubert D, Hayakawa S, Okada S, Kanariou M, Kucuk ZY, Chapdelaine H, Petruzelkova L, Sumnik Z, Sediva A, Slatter M, Arkwright PD, Cant A, Lorenz HM, Giese T, Lougaris V, Plebani A, Price C, Sullivan KE, Moutschen M, Litzman J, Freiburger T, van de Veerdonk FL, Recher M, Albert MH, Hauck F, Seneviratne S, Pachlopnik Schmid J, Kolios A, Unglik G, Klemann C, Speckmann C, Ehl S, Leichtner A, Blumberg R, Franke A, Snapper S, Zeissig S, Cunningham-Rundles C, Giulino-Roth L, Elemento O, Dückers G, Niehues T, Fronkova E, Kanderová V, Platt CD, Chou J, Chatila TA, Geha R, McDermott E, Bunn S, Kurzai M, Schulz A, Alsina L, Casals F, Deyà-Martinez A, Hambleton S, Kanegane H, Taskén K, Neth O, Grimbacher B.</p>	<p>Phenotype, penetrance, and treatment of 133 cytotoxic T-lymphocyte antigen 4-insufficient subjects.</p>	<p>Journal of Allergy & Clinical Immunology</p>	<p>142</p>	<p>1932-1946</p>	<p>2018</p>
<p>Mallick R, Jolles S, Kanegane H, Agbor-Tarh D, Rojavin M.</p>	<p>Treatment Satisfaction with Subcutaneous Immunoglobulin Replacement Therapy in Patients with Primary Immunodeficiency: a Pooled Analysis of Six Hizentra® Studies.</p>	<p>J Clin Immunol.</p>	<p>38(8)</p>	<p>886-897</p>	<p>2018</p>
<p>Tanaka-Kubota M, Shinozaki K, Miyamoto S, Yanagimachi M, Okano T, Mitsuiki N, Ueki M, Yamada M, Imai K, Takagi M, Agematsu K, Kanegane H, Morio T.</p>	<p>Hematopoietic stem cell transplantation for pulmonary alveolar proteinosis associated with primary immunodeficiency disease.</p>	<p>Int J Hematol.</p>	<p>107(5)</p>	<p>610-614</p>	<p>2018</p>
<p>Aoki T, Kunishima S, Yamashita Y, Minamitani K, Ota S.</p>	<p>Macrothrombocytopenia with congenital bilateral cataracts: a phenotype of <i>MYH9</i> disorder with exon 24 indel mutations.</p>	<p>J Pediatr Hematol/Oncol.</p>	<p>40(1)</p>	<p>76-78</p>	<p>2018</p>

Okano T, Tsujita Y, Kanegane H, Mitsui-Sekinaka K, Tanita K, Miyamoto S, Yeh TW, Yamashita M, Terada N, Ogura Y, Takagi M, Imai K, Nonoyama S, Morio T.	Droplet Digital PCR-Based Chimerism Analysis for Primary Immunodeficiency Diseases.	J. Clin. Immunol.	38(3)	300-306	2018
Sonoda M, Ishimura M, Ichimiya Y, Terashi E, Eguchi K, Sakai Y, Takada H, Hama A, Kanno H, Toki T, Ito E, Ohga S.	Atypical erythroblastosis in a patient with Diamond-Blackfan anemia who developed del(20q) myelodysplasia.	Int J Hematol.			2018
Hatta S, Fujiwara T, Yamamoto T, Saito K, Kamata M, Tamai Y, Kawamata S, Harigae H.	A defined culture method enabling the establishment of ring sideroblasts from induced pluripotent cells of X-linked sideroblastic anemia.	Haematologica	103	e188-e191	2018
Ohashi K, Fujiwara T, Onodera K, Saito Y, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H.	Establishment of a screening system to identify novel GATA-2 transcriptional regulators.	Tohoku J Exp Med.	244	41-52	2018
Morishima Y, Azuma F, Kashiwase K, Matsumoto K, Orihara T, Yabe H, Kato S, Kato K, Kai S, Mori T, Nakajima K, Morishima S, Satake M, Takanashi M, Yabe T; Japanese Cord Blood Transplantation Histocompatibility Research Group.	Risk of HLA Homozygous Cord Blood Transplantation: Implications for Induced Pluripotent Stem Cell Banking and Transplantation.	Stem Cells Transl Med.	7(2)	173-179	2018
Horikoshi Y, Umeda K, Imai K, Yabe H, Sasahara Y, Watanabe K, Ozawa Y, Hashii Y, Kurosawa H, Nonoyama S, Morio T.	Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Leukocyte Adhesion Deficiency.	J Pediatr Hematol Oncol.	40(2)	137-140	2018
Oshima K, Saiki N, Tanaka M, Imamura H, Niwa A, Tanimura A, Nagahashi A, Hirayama A, Okita K, Hotta A, Kitayama S, Osawa M, Kaneko S, Watanabe A, Asaka I, Fujibuchi W, Imai K, Yabe H, Kamachi Y, Hara J, Kojima S, Tomita M, Soga T, Noma T, Nonoyama S, Nakahata T, Saito M.	Human AK2 links intracellular bioenergetic redistribution to the fate of hematopoietic progenitors.	Biochem Biophys Res Commun.	497(2)	719-725	2018
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.	12	3	2018

Okamoto Y, Iwasaki WM, Kugou K, Takahashi KK, Oda A, Sato K, Kobayashi W, Kawai H, Sakasai R, Takaori-Kondo A, Yamamoto T, Kanemaki MT, Taoka M, Isobe T, Kurumizaka H, Innan H, Ohta K, Ishiai M, Takata M.	Replication stress induces accumulation of FANCD2 at central region of large fragile genes.	Nucleic Acid Res.	46(6)	2932-2944	2018
Hiejima E, Shibata H, Yasumi T, Shimodera S, Hori M, Izawa K, Kawai T, Matsuoka M, Kojima Y, Ohara A, Nishikomori R, Ohara O, Heike T.	Characterization of a large UNC13D gene duplication in a patient with familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 3.	Clin Immunol.	191	63-66	2018
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.	97(4)	709-711	2018
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.	97(4)	629-640	2018
Leiding JW, Okada S, Hagin D, Abinun M, Shcherbina A, Balashov DN, Kim VHD, Ovadia A, Guthery SL, Pulsipher M, Lilic D, Dvlin LA, Chritie S, Depner M, Fuchs S, van Royden-Kerkhof A, Lindemans C, Petrovic A, Sullivan KE, Bunin N, Kilic SS, Arpacı F, Calle-Martin O, Martinez-Martinez L, Alldave JC, Kobayashi M, Ohkawa T, Imai K, Iguchi A, Roifman CM, Genney AR, Slatter M, Ochs HD, Morio T, Torgerson TR, Inborn Errors Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation and the Primary Immune Deficiency Treatment Consortium.	Hematopoietic stem cell transplantation in patients with gain-of-function signal transducer and activator of transcription 1 mutations.	Journal of Allergy & Clinical Immunology	141.e5	704-717	2018

Noguchi J, Kanno H, Chiba Y, Ito E, Ishiguro A.	Discrimination of Diamond-Blackfan anemia from parvovirus B19 infection by RBC glutathione.	Pediatr Int.	59(7)	838-840	2017
Ogasawara T, Kawauchi K, Mori N, Sakura H, Katoh F, Kanno H, Ito E.	Successful long-term management with low-dose prednisolone in an adult patient with Diamond-Blackfan anemia.	Rinsho Ketsueki	58(8)	917-921	2017
Miot C, Imai K, Imai C, Mancini AJ, Kucuk XY, Kawai T, Nishikomori R, Ito E, Pellier I, Girod SD, Rosain J, Sasaki S, Chandrakasan S, Schmid JP, Okano T, Colin E, Olaya-Vargas A, Yamazaki-Nakashimada M, Qasim W, Padilla SE, Jones A, Krol A, Cole N, Jolles S, Bleesing J, Vraetz T, Gennery AR, Abinun M, Gungör T, Carvalho BC, Condino-Neto A, Veys P, Holland SM, Uzel G, Moshous D, Neven B, Ehl S, Döffinger R, Patel SY, Puel A, Bustamante J, Gelfand EW, Casanova JL, Orange JS, and Picard C.	Hematopoietic stem cell transplantation in 29 patients hemizygous for hypomorphic IKBKG / NEMO mutations.	Blood	130(12)	1456-1467	2017
Ichimura T, Yoshida K, Okuno Y, Yujiri T, Nagai K, Nishi M, Shiraishi Y, Ueno H, Toki T, Chiba K, Tanaka H, Muramatsu H, Hara T, Kanno H, Kojima S, Miyano S, Ito E, Ogawa S, Ohga S.	Diagnostic challenge of Diamond-Blackfan anemia in mothers and children by whole-exome sequencing.	Int J Hematol.	105(4)	515-520	2017
Ikeda F, Yoshida K, Toki T, Uechi T, Ishida S, Nakajima Y, Sasahara Y, Okuno Y, Kanezaki R, Terui K, Kamio T, Kobayashi A, Fujita T, Sato-Otsubo A, Shiraishi Y, Tanaka H, Chiba K, Muramatsu H, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Kenmochi N, Miyano S, Ogawa S, Ito E.	Exome sequencing identified RPS15A as a novel causative gene for Diamond-Blackfan anemia.	Haematologica	102(3)	e93-e96	2017

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.	19(7)	796-802	2017
Hasegawa S, Fujiwara T, Okitsu Y, Kato H, Sato Y, Fukuhara N, Onishi Y, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H.	Effects of in vivo deletion of GATA2 in bone marrow stromal cells.	Exp Hematol.	56	31-45	2017
Fujiwara T, Fukuhara N, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Onishi Y, Furuyama K, Harigae H.	A novel heterozygous ALAS2 mutation in a female with macrocytic sideroblastic anemia resembling myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts: A case report and literature review.	Ann Hematol.	96	1955-1957	2017
Saito K, Fujiwara T, Ota U, Hatta S, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizuka M, Tanaka T, Harigae H.	Dynamics of absorption, metabolism, and excretion of 5-aminolevulinic acid in human intestinal Caco-2 cells.	Biochem Biophys Rep.	11	105-111	2017
Fujiwara T, Sasaki K, Saito K, Hatta S, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H.	Forced FOG1 expression in erythroleukemia cells: induction of erythroid genes and repression of myelo-lymphoid transcription factor PU.1.	Biochem Biophys Res Commun.	485	380-387	2017
Inokura K, Fujiwara T, Saito K, Iino T, Hatta S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizawa K, Shimoda K, Harigae H.	Impact of TET2 deficiency on iron metabolism in erythroblasts.	Exp Hematol.	49	56-67	2017
Nishikawa E, Yagasaki H, Hama A, Yabe H, Ohara A, Kosaka Y, Kudo K, Kobayashi R, Ohga S, Morimoto A, Watanabe Ki, Yoshida N, Muramatsu H, Takahashi Y, Kojima S.	Long-term outcomes of 95 children with moderate aplastic anemia treated with horse antithymocyte globulin and cyclosporine.	Pediatr Blood Cancer.	64(5)	e26305	2017
Stapleton M, Kubaski F, Mason RW, Yabe H, Suzuki Y, Orii K, Orii T, Tomatsu S.	Presentation and Treatments for Mucopolysaccharidosis Type II (MPS II; Hunter Syndrome).	Expert Opin Orphan Drugs.	5(4)	295-307	2017

Hoenig M, Lagresle-Peyrou C, Pannicke U, Notarangelo LD, Porta F, Gennery AR, Slatter M, Cowan MJ, Stepensky P, Al-Mousa H, Al-Zahrani D, Pai SY, Al Herz W, Gaspar HB, Veys P, Oshima K, Imai K, Yabe H, Noroski LM, Wulffraat NM, Sykora KW, Soler-Palacin P, Muramatsu H, Al Hilali M, Moshous D, Debatin KM, Schuetz C, Jacobsen EM, Schulz AS, Schwarz K, Fischer A, Friedrich W, Cavazzana M.	Reticular dysgenesis: international survey on clinical presentation, transplantation and outcome.	Blood	129	2928-2938	2017
Sekinaka Y, Mitsui N, Imai K, Yabe M, Yabe H, Mitsui-Sekinaka K, Honma K, Takagi M, Arai A, Yoshida K, Okuno Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Muramatsu H, Kojima S, Hira A, Takata M, Ohara O, Ogawa S, Morio T, Nonoyama S.	Common Variable Immunodeficiency Caused by FANCA Mutations.	J Clin Immunol.	37(5)	434-444	2017
Kubaski F, Yabe H, Suzuki Y, Seto T, Hamazaki T, Mason RW, Xie L, Onsten TGH, Leistner-Segal S, Giugliani R, Dūng VC, Ngoc CTB, Yamaguchi S, Montaña AM, Orii K, Fukao T, Shintaku H, Orii T, Tomatsu S.	Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Patients with Mucopolysaccharidosis II.	Biol Blood Marrow Transplant.	23(10)	1795-1803	2017
Onishi Y, Mori T, Kako S, Koh H, Uchida N, Kondo T, Kobayashi T, Yabe H, Miyamoto T, Kato K, Suzuki R, Nakao S, Yamazaki H; Adult Aplastic Anemia Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation.	Outcome of Second Transplantation Using Umbilical Cord Blood for Graft Failure after Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Aplastic Anemia.	Biol Blood Marrow Transplant.	23(12)	2137-2142	2017
Kanamitsu K, Shimada A, Nishiuchi R, Shigemura T, Nakazawa Y, Koike K, Kodama Y, Shinkoda Y, Kawano Y, Yasui K, Sasaki K, Kajiwara R, Tsukahara H, Manabe A.	Pediatric intestinal Behcet disease complicated by myeloid malignancies.	Int J Hematol.	105	377-382	2017

Hirabayashi S, Seki M, Hasegawa D, Kato M, Hyakuna N, Shuo T, Kimura S, Yoshida K, Kataoka K, Fujii Y, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Kiyokawa N, Miyano S, Ogawa S, Takita J, Manabe A.	Constitutional abnormalities of IDH1 combined with secondary mutations predispose a patient with Maffucci syndrome to acute lymphoblastic leukemia.	Pediatr Blood Cancer.	64(12)		2017
Narita A, Muramatsu H, Okuno Y, Sekiya Y, Suzuki K, Hamada M, Kataoka S, Ichikawa D, Taniguchi R, Murakami N, Kojima D, Nishikawa E, Kawashima N, Nishio N, Hama A, Takahashi Y, Kojima S.	Development of clinical paroxysmal nocturnal haemoglobinuria in children with aplastic anaemia.	Br J Haematol.	78(6)	954-958	2017
Matsumaru S, Oguni H, Ogura H, Shimojima K, Nagata S, Kanno H, Yamamoto T.	A novel PGK1 mutation associated with neurological dysfunction and the absence of episodes of hemolytic anemia or myoglobinuria.	Intractable Rare Diseases Research	6(2)	132-136	2017
Sakaue S, Kasai T, Mizuta I, Suematsu M, Osone S, Azuma Y, Imamura T, Tokuda T, Kanno H, El-Agnaf OMA, Morimoto M, Nakagawa M, Hosoi H, Mizuno T.	Early-onset parkinsonism in a pedigree with phosphoglycerate kinase deficiency and a heterozygous carrier: do PGK-1 mutations contribute to vulnerability to parkinsonism?.	NPJ Parkinsons Dis.	3(1)	13	2017
Niizuma H, Kanno H, Sato A, Ogura H, Imaizumi M.	Splenectomy resolves hemolytic anemia caused by adenylate kinase deficiency.	Pediatr Int.	59(2)	228-230	2017
Kadoda K, Moriwaki T, Tsuda M, Sasanuma H, Ishiai M, Takata M, Ide H, Masunaga SI, Takeda S, Tano K.	Selective cytotoxicity of the anti-diabetic drug, metformin, in glucose-deprived chicken DT40 cells.	PLoS One	12(9)	e0185141	2017
Mochizuki AL, Katanaya A, Hayashi E, Hosokawa M, Moribe E, Motegi A, Ishiai M, Takata M, Kondoh G, Watanabe H, Nakatsuji N, Chuma S.	PARI regulates stalled replication fork processing to maintain genome stability upon replication stress in mice.	Mol Cell Biol.	37(23)	e00117-17	2017
Knies K, Inano S, Ramírez MJ, Ishiai M, Surallés J, Takata M, and Schindler D.	Biallelic mutations in the ubiquitin ligase <i>RFWD3</i> cause Fanconi anemia.	J Clin Invest.	127(8)	3013-3027	2017

Inano S, Sato K, Katsuki Y, Kobayashi W, Tanaka H, Nakajima K, Nakada S, Hiroyuki Miyoshi, Knies K, Takaori-Kondo A, Schindler D, Ishiai M, Kurumizaka H, Takata M.	RFWD3-mediated ubiquitination promotes timely removal of both RPA and RAD51 from DNA damage sites to facilitate homologous recombination.	Mol Cell.	66(5)	622-634	2017
Ishiai M, Sato K, Tomida J, Kitao H, Kurumizaka H, Takata M.	Mutation Research special section "Protein modifications in DNA repair and cancer" Activation of the FA pathway mediated by phosphorylation and ubiquitination.	Mutat Res.	803-805	89-95	2017
Watanabe M, Nishikomori R, Fujimaki Y, Heike T, Ohara A, Saji T.	Live-attenuated vaccines in a cryopyrin-associated periodic syndrome patient receiving canakinumab treatment during infancy.	Clin Case Rep.	5	1750-1755	2017
Yusa T, Tateda K, Ohara A, Miyazaki S.	New possible biomarkers for diagnosis of infections and diagnostic distinction between bacterial and viral infections in children.	J Infect Chemother.	23	96-100	2017
Onodera R, Kurita E, Taniguchi K, Karakawa S, Okada S, Kihara H, Fujii T, Kobayashi M.	Anti-human neutrophil antigen-1a, -and -2 antibodies in neonates and children with immune neutropenia analyzed by extracted granulocyte antigen immunofluorescence assay.	Transfusion	57	2586-2594	2017
Hayakawa S, Ohno N, Okada S, Kobayashi M.	Significant augmentation of regulatory T cell numbers occurs during the early neonatal period.	Clin Exp Immunol.	190	268-279	2017
Fujiki R, Hijikata A, Shirai T, Okada S, Kobayashi M, Ohara O.	Molecular mechanism and structural basis of gain-offunction of STAT1 caused by pathogenic R274Q mutation.	Journal of Biological Chemistry	292	6240-6254	2017
Yamasaki F, Takayasu T, Nosaka R, Nishibuchi I, Kawaguchi H, Kolakshyapati M M, Onishi S, Saito T, Sugiyama K, Koabayashi M, Kurisu K.	Development of cystic malacia after high-dose cranial irradiation of pediatric CNS tumors in long-term follow-up.	Child's Nervous System	33	957-964	2017
矢部みはる, 矢部普正	Fanconi貧血 臨床診断・検査・治療	日本臨床	75 (増刊1)	414-417	2017
矢部普正, 矢部みはる	成人のFanconi貧血の特徴と管理	日本臨床	75 (増刊1)	418-421	2017

Kobayashi T, Nannya Y, Ichikawa M, Oritani K, Kanakura Y, Tomita A, Kiyoi H, Kobune M, Kato J, Kawabata H, Shindo M, Torimoto Y, Yonemura Y, Hanaoka N, Nakakuma H, Hasegawa D, Manabe A, Fujishima N, Fujii N, Tanimoto M, Morita Y, Matsuda A, Fujieda A, Katayama N, Ohashi H, Nagai H, Terada Y, Hino M, Sato K, Obara N, Chiba S, Usuki K, Ohta M, Imataki O, Uemura M, Takaku T, Komatsu N, Kitanaka A, Shimoda K, Watanabe K, Tohyama K, Takaori-Kondo A, Harigae H, Arai S, Miyazaki Y, Ozawa K, Kurokawa M; for National Research Group on Idiopathic Bone Marrow Failure Syndromes.	A nationwide survey of hypoplastic myelodysplastic syndrome (a multicenter retrospective study).	Am J Hematol.	92	1224-1232	2017
Kagawa R, Fujiki R, Tsumura M, Sakata S, Nishimura S, Itan Y, Kong XF, Kato Z, Ohnishi H, Hirata O, Saito S, Ikeda M, El Baghdadi J, Bousfiha A, Fujiwara K, Oleastro M, Yancoski J, Perez L, Danielian S, Ailal F, Takada H, Hara T, Pue; A, Boisson-Dupuis S, Bustamate J, Casanovva JL, Ohara O, Okada S, Kobayashi M.	Alanine-scanning mutagenesis of human signal transducer and activator of transcription 1 to estimate loss- or gain-of-function variants.	Journal of Allergy & Clinical Immunology	140	232-241	2017
Hoshino A, Okada S, Yoshida K, Nishida N, Okuno Y, Ueno H, Yamashita M, Okano T, Tsumura M, Nishimura S, Sakata S, Kobayashi M, Nakamura H, Kamizono J, Mitsui-Sekinaka K, Ichimura T, Ohga S, Nakazawa Y, Takagi M, Imai K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Nonoyama S, Morio T, Kanegane H.	Abnormal hematopoiesis and autoimmunity in human subjects with germline IKZF1 mutations.	Journal of Allergy & Clinical Immunology	140	223-231	2017
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.	4	17030	2017

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	129(4)	520-524	2017
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.	105(2)	221-225	2017
Kanehira M, Fujiwara T, Nakajima S, Okitsu Y, Onishi Y, Fukuhara N, Ichinohasama R, Harigae H.	An LPA1/3 axis governs cellular senescence of mesenchymal stromal cells and promotes growth and vascularization of multiple myeloma.	Stem Cells.	35(3)	739-753	2017
Kobayashi M, Kato H, Hada H, Itoh-Nakadai A, Fujiwara T, Inoguchi Y, Ichianagi K, Muto A, Tomosugi N, Sasaki H, Harigae H, Igarashi K.	Iron-heme-Bach1 axis is involved in erythroblast adaptation to iron deficiency.	Haematologica	102(3)	454-465	2017
Ishiguro A, Ezinne CC, Michihata N, Nakadate H, Manabe A, Taki M, Shima M.	Pediatric Thromboembolism: A National Survey in Japan.	Int J Hematol.	105	52-58	2017
山口博樹	骨髓不全症におけるテロメア制御異常.	血液フロンティア	27(1)	5-9	2017
Yabe M, Yabe H, Morimoto T, Fukumura A, Ohtsubo K, Koike T, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S, Matsuo K, Hira A, Takata M.	The phenotype and clinical course of Japanese Fanconi Anaemia infants is influenced by patient, but not maternal ALDH2 genotype.	Br J Haematol.	175	457-461	2016
Utsugisawa T, Uchiyama T, Toki T, Ogura H, Aoki T, Hamaguchi I, Ishiguro A, Ohara A, Kojima S, Ohga S, Ito E, Kanno H.	Erythrocyte glutathione is a novel biomarker of Diamond-Blackfan anemia.	Blood Cells, Molecules and Diseases	59	31-36	2016
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	273(11)	3547-3552	2016

Kubota Y 他	Novel Mechanisms for Heme-dependent Degradation of ALAS1 Protein as a Component of Negative Feedback Regulation of Heme Biosynthesis.	J Biol Chem.	291	20516-29	2016
Ikeda F, Toki T, Kanezaki R, Terui K, Yoshida K, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Ogawa S, Ito E.	ALDH2 polymorphism in patients with Diamond-Blackfan anemia in Japan.	Int J Hematol.	103(1)	112-4	2016
Shim YJ, Kim HS, Do YR, Ha JS, Yabe H.	Sequential strategy for umbilical cord blood transplantation in a Korean Fanconi anemia girl with refractory acute myelomonocytic leukemia and complex karyotype.	Pediatr Transplant.	doi: 10.1111/ petr.12871		2016 [Epub ahead of print]
Yabe M, Yabe H, Morimoto T, Fukumura A, Ohtsubo K, Koike T, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Okuno Y, Muramatsu H, Kojima S, Matsuo K, Hira A, Takata M.	The phenotype and clinical course of Japanese Fanconi Anaemia infants is influenced by patient, but not maternal ALDH2 genotype.	Br J Haematol.	175(3)	457-461	2016
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	6730174	2016
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.	14(7)	1462-9	2016
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.	95(5)	831-3	2016
Kondo A, Fujiwara T, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Sawada K, Harigae H.	Identification of a novel putative mitochondrial protein FAM210B associated with erythroid differentiation.	Int J Hematol.	103	387-395	2016
Sakurai K, Fujiwara T, Hasegawa S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Yamada-Fujiwara M, Ichinohasama R, Harigae H.	Inhibition of human primary megakaryocyte differentiation by anagrelide: A gene expression profiling analysis.	Int J Hematol.	104	190-199	2016

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, López 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	127(23)	2791-803	2016
Onodera K, Fujiwara T, Onishi Y, Okitsu Y, Itoh-Nakadai A, Okitsu Y, Fukuhara N, Ishizawa K, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H.	GATA2 regulates dendritic cell differentiation	Blood	128	508-518	2016
Imai J, Suzuki T, Yoshikawa M, Dekiden M, Nakae H, Nakahara F, Tsuda S, Mizukami H, Koike J, Igarashi M, Yabe H, Mine T.	Fatal Hemorrhagic Gastrointestinal Angioectasia after Bone Marrow Transplantation for Dyskeratosis Congenita.	Intern Med	55	3341-3444	2016
Otsubo K, Yabe M, Yabe H, Fukumura A, Morimoto T, Kato M, Mochizuki H.	Successful acute lymphoblastic leukemia-type therapy in two children with mixed-phenotype acute leukemia.	Pediatr Int.	58	1072-1076	2016
Yabe H.	Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for inherited diseases.	Rinsho Ketsueki	57	2199-2207	2016

Umeda K, Adachi S, Tanaka S, Miki M, Okada K, Hashii Y, Inoue M, Cho Y, Koh K, Goto H, Kajiwara R, Hyakuna N, Kato K, Morio T, Yabe H; Inherited Disease Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation.	Comparison of second transplantation and donor lymphocyte infusion for donor mixed chimerism after allogeneic stem cell transplantation for nonmalignant diseases.	Pediatr Blood Cancer.	63	2221-2229	2016
Sakaguchi H, Watanabe N, Matsumoto K, Yabe H, Kato S, Ogawa A, Inagaki J, Goto H, Koh K, Yoshida N, Kato K, Cho Y, Kosaka Y, Takahashi Y, Inoue M, Kato K, Atsuta Y, Miyamura K; Donor/Source Working Group of Japan Society of Hematopoietic Cell Transplantation.	Comparison of Donor Sources in Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Childhood Acute Leukemia: A Nationwide Retrospective Study.	Biol Blood Marrow Transplant.	22	2226-2234	2016
Atsuta Y, Hirakawa A, Nakasone H, Kurosawa S, Oshima K, Sakai R, Ohashi K, Takahashi S, Mori T, Ozawa Y, Fukuda T, Kanamori H, Morishima Y, Kato K, Yabe H, Sakamaki H, Taniguchi S, Yamashita T; Late Effect and Quality of Life Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation.	Late Mortality and Causes of Death among Long-Term Survivors after Allogeneic Stem Cell Transplantation.	Biol Blood Marrow Transplant.	22	1702-1709	2016
Yasuda E, Suzuki Y, Shimada T, Sawamoto K, Mackenzie WG, Theroux MC, Pizarro C, Xie L, Miller F, Rahman T, Kecskemethy HH, Nagao K, Morlet T, Shaffer TH, Chinen Y, Yabe H, Tanaka A, Shintaku H, Orii KE, Orii KO, Mason RW, Montaña AM, Fukao T, Orii T, Tomatsu S.	Activity of daily living for Morquio A syndrome.	Mol Genet Metab.	118	111-22	2016

Kato S, Yabe H, Takakura H, Mugishima H, Ishige M, Tanaka A, Kato K, Yoshida N, Adachi S, Sakai N, Hashii Y, Ohashi T, Sasahara Y, Suzuki Y, Tabuchi K.	Hematopoietic stem cell transplantation for inborn errors of metabolism: A report from the Research Committee on Transplantation for Inborn Errors of Metabolism of the Japanese Ministry of Health, Labour and Welfare and the Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation.	Pediatr Transplant.	20	203-214	2016
Elmahdi,S, Hama A, Manabe A, Hasegawa D, Muramatsu H, Narita A, Nishio N, Ismael O, Kawashima N, Okuno Y, Xu Y, Wang X, Takahashi Y, Ito M, Kojima S.	A cytokine-based diagnostic program in pediatric aplastic anemia and hypocellular refractory cytopenia of childhood.	Pediatr Blood Cancer.	63	652-658	2016
Elmahadi S, Muramatsu H, Kojima S.	Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for dyskeratosis congenita.	Curr Opin Hematol.	23(6)	501-507	2016
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.	138(1)	303-305.e3	2016
Imashuku S, Muramatsu H, Sugihara T, Okuno Y, Wang X, Yoshida K, Kato A, Kato K, Tatsumi Y, Hattori A, Kita S, Oe K, Sueyoshi A, Usui T, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Kanno H.	PIEZO1 gene mutation in a Japanese family with hereditary high phosphatidylcholine hemolytic anemia and hemochromatosis-induced diabetes mellitus.	Int J Hematol.	104(1)	125-129	2016
Arashiki N, Takakuwa Y, Mohandas N, Hale J, Yoshida K, Ogura H, Utsugisawa T, Ohga S, Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Kanno H.	ATP11C is a major flippase in human erythrocytes and its defect causes congenital hemolytic anemia.	Haematologica.	101(5)	59-65	2016
小倉浩美, 菅野仁	【貧血 実地医家に役立つ知識と診療の進めかた】セミナー臨床に役立つ知識と情報 溶血性貧血の鑑別診断の進め方	MedicalPractic	33(9)	1387-1391	2016
大賀正一, 山城安啓, 菅野仁	【貧血性疾患診療の進歩】先天性溶血性貧血の遺伝子診断	血液内科	73(2)	149-154	2016
新敷信人, 菅野仁, 高桑雄一	ヒト赤血球膜におけるフリッパーゼ分子の同定とリン脂質非対称性維持のメカニズム	脂質生化学研究	58	72-73	2016
小倉浩美, 菅野仁	【血球の増加と減少】赤血球 貧血 遺伝性貧血	小児内科	48(7)	1000-3	2016

小林博人, 菅野仁	型T細胞を用いた癌免疫療法	日本輸血細胞治療学会誌	62(1)	3-12	2016
Ling C, Huang J, Yan Z, Li Y, Ohzeki M, Ishiai M, Xu D, Takata M, Seidman M, and Wang W.	Bloom syndrome complex promotes FANCM recruitment to stalled replication forks and facilitates both repair and traverse of DNA interstrand crosslinks.	Cell Discov.	2	16047	2016
Tian X, Patel K, Ridpath JR, Chen Y, Zhou YH, Neo D, Clement J, Takata M, Takeda S, Sale J, Wright FA, Swenberg JA, Nakamura J.	Homologous recombination and translesion DNA synthesis play critical roles on tolerating DNA damage caused by trace levels of hexavalent chromium.	pLOS One	11(12)	e0167503	2016
Sato K, Shimomuki M, Katsuki Y, Takahashi D, Kobayashi W, Ishiai M, Miyoshi H, Takata M, Kurumizaka H.	FANCI-FANCD2 stabilizes the RAD51-DNA complex by binding RAD51 and protects the 5'-DNA end.	Nucleic Acids Res.	44	10758-10771	2016
Katsuki Y, Takata M.	Defects in HR repair behind the human diseases: FA and HBOC.	Endocrine Related Cancer.	23	T19-37	2016
Hashimoto K, Sharma V, Sasanuma H, Tian X, Takata M, Takeda S, Swenberg J and Nakamura J.	Poor recognition of O6-isopropyl dG by MGMT triggers double strand break-mediated cell death and micronucleus induction in FANC-deficient cells.	Oncotarget	7	59795-59808	2016
Mu A, Li M, Tanaka M, Adachi Y, Tai TT, Liem PH, Izawa S, Furuyama K, Taketani S	Enhancements of the production of bilirubin and the expression of β -globin by carbon monoxide during erythroid differentiation.	FEBS Lett.	590	1447-54	2016
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	63(9)	1683-4	2016