

主論文の要旨

**Clinical diagnostic value of telomere length
measurement in inherited bone
marrow failure syndromes**

〔 遺伝性骨髄不全症における血球テロメア長測定の意義 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
発育・加齢医学講座 小児科学分野

(指導：高橋 義行 教授)

三輪田 俊介

【緒言】

骨髄不全症は骨髄低形成および汎血球減少を特徴とし、遺伝性骨髄不全症(Inherited bone marrow failure syndromes :IBMFS)と自己免疫的な原因によって起こる後天性再生不良性貧血(aplastic anemia :AA)に大別される。IBMFSは小児期の骨髄不全症の5-30%を占め、遺伝性角化不全症(dyskeratosis congenita :DC)、Fanconi 貧血(Fanconi anemia :FA)、Diamond-Blackfan 貧血(Diamond-Blackfan anemia :DBA)、Shwachman-Diamond 症候群(Shwachman-Diamond syndrome :SDS)などが含まれる。IBMFSは特徴的な身体の特徴や所見を呈することが多く従来は臨床診断がなされてきたが、その表現型は多様であり、血球減少以外の臨床症状がみられないこともある。近年、遺伝子解析の進歩により以前は後天性 AA と診断されてきた特徴的な所見をもたない骨髄不全症においても、次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析により IBMFS の診断がなされるようになってきた。

テロメアは DNA の分解や修復から染色体を保護する役割を担っており、老化とともに短縮することから加齢性変化を示すマーカーとされている。IBMFS のうち、DC はテロメアに関連する遺伝子の異常が原因であり、テロメア長が著明に短縮することが知られている。一方で、DC 以外の IBMFS や後天性 AA においても、テロメア長が短くなることが報告されているが、IBMFS と後天性 AA のテロメア長を直接比較した研究はこれまでに見られない。本研究では骨髄不全症 133 例に対して次世代シーケンサーを用いた網羅的な遺伝子学的解析を行い、骨髄不全症を DC(11 例)、DC 以外の IBMFS(15 例)、後天性 AA(107 例)の 3 群に分類した。さらに、3 群のテロメア長を比較検討することで、骨髄不全症の診断におけるテロメア長測定の意義について検討した。

【対象及び方法】

2013 年から 2018 年に名古屋大学医学部附属病院小児科でターゲットシーケンスによる遺伝子学的解析と、末梢血リンパ球のテロメア長を測定した骨髄不全症 133 例を対象とした。ターゲットシーケンスは次世代シーケンサーを用いて 184 の IBMFS に関連した遺伝子を網羅的に解析した。テロメア長は Flow-FISH 法を用いて測定し、71 人の健常人を対照とした年齢調整後の相対的テロメア長の標準偏差(standard deviation :SD)を算出し比較検討した。

【結果】

133 例の骨髄不全症の患者を Figure 1A に示す診断基準に従い、26 例を IBMFS、107 例を後天性 AA と診断した。IBMFS 26 例の内訳は DC 11 例、FA 9 例、DBA 4 例、SDS 1 例、Bloom 症候群 1 例であった(Figure 1B)。DC の 9 例は、*TINF2* に 6 例、*TERT* に 3 例の遺伝子変異が同定され遺伝子学的診断に至った。遺伝子変異が同定されなかった DC の 2 例は、臨床診断基準に従って診断した。DC 以外の IBMFS は、IBMFS 関連の遺伝子変異が全例で同定され 15 例が遺伝子学的診断に至った。以上を、DC(11 例)、

DC 以外の IBMFS (15 例)、後天性 AA (107 例) の 3 群に分類し、比較検討した (Table 1)。年齢と性別は 3 群間で有意差を認めなかった。血球減少症の重症・最重症の比率が、DC は 3 例 (30%)、DC 以外の IBMFS は 2 例 (17%) で、AA の 57 例 (53%) と比較して有意に低かった ($P=0.024$)。133 例の全体におけるテロメア長の中央値は $-0.96SD$ (範囲 -5.73 to $+4.00$ SD) であった。疾患ごとのテロメア長の中央値を比較すると、DC では -3.50 SD (範囲 -5.73 to $+0.83$ SD)、DC 以外の IBMFS では -1.89 SD (範囲 -4.74 to $+2.05$ SD)、後天性 AA では -0.84 SD (範囲 -4.27 to $+4.00$ SD) であり、DC および DC 以外の IBMFS は後天性 AA よりもテロメア長が有意に短縮していた (Figure 2A)。また、Receiver Operating Characteristic (ROC) 曲線を用いて DC と DC 以外の骨髄不全症を区別するテロメア長のカットオフ値を $<-2.19SD$ と算出し、Very short telomere length と定義した (Figure 2B)。また、DC を含む IBMFS と後天性 AA を区別するカットオフ値を $<-1.71SD$ と算出し、Relatively short telomere length (TL) と定義した (Figure 2C)。全体のコホートのうち 44 例 (33%) が Relatively short TL に相当し、DC の 10 例 (91%) と DC 以外の IBMFS の 9 例 (60%) は、AA の 25 例 (23%) と比較して有意に Relatively short TL の頻度が高く (Table 1)、IBMFS のテロメア長は後天性 AA に比べて短縮していることが示された。

【考察】

本研究では次世代シーケンサーを用いたターゲットシーケンスによる網羅的遺伝子学的解析を実施したコホートにおいて、Flow-FISH 法を用いてテロメア長を測定し、テロメア長が正常値の $-1.71SD$ 未満を新たな基準として Relatively short TL と定義した。この基準を満たした患者は、DC (91%) と DC 以外の IBMFS (60%) で、後天性 AA (23%) よりも高頻度に見られた。以上から、骨髄不全症におけるテロメア長の測定は DC のスクリーニング検査のみでなく、網羅的な遺伝子解析を必要とする DC 以外の IBMFS の診断においても、有用な補助的診断ツールになりうると考えられた。本研究の限界は症例数が少ないことが考えられるが、IBMFS の診断における Relatively short TL の検出力を計算したところ 0.998 の検出力が得られ、十分な症例数の解析であることが示された。DC 以外の IBMFS の症例数が少なく ($n=15$)、個々の疾患のテロメア長を直接比較することは難しいが、FA の 6/9 例、DBA の 2/4 例、SDS の 1 例でテロメア長の短縮 ($<-1.71SD$) を認め (Figure 1B)、テロメア長の中央値は FA で $-1.84SD$ (範囲 -4.74 to $+2.05SD$)、DBA で $-0.89SD$ (範囲 -2.83 to $+1.21SD$)、SDS で -1.99 SD であった。この結果は、FA、DBA、SDS でもテロメア長が短縮していることを示した過去の症例報告を支持するものであった (Table 2)。遺伝性骨髄不全症は希少疾患のため、今後の症例の蓄積が望まれる。

【結論】

本研究により、骨髄不全症の患者のテロメア長を測定することは、DC の診断のみでなく、DC 以外の IBMFS のスクリーニング検査としての役割も果たすことが期待され

る。テロメア長の短い骨髄不全症の患者に対して次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析を行うことで、IBMFSをより確実に診断することができる可能性がある。