

## 小型および正常サイズの血小板を有する先天性血小板減少症の診断と分子病態における最近の知見

笹原 洋二<sup>1,2\*</sup>, 大内 芽里<sup>1</sup>, 今泉 益栄<sup>2</sup>

<sup>1</sup>東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野

<sup>2</sup>日本小児血液・がん学会血小板委員会

### Recent Advances in the Diagnosis and Molecular Pathogenesis of Congenital Thrombocytopenia with Small or Normal-Sized Platelets

Yoji Sasahara<sup>1,2\*</sup>, Meri Ouchi<sup>1</sup>, Masue Imaizumi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Tohoku University Graduate School of Medicine

<sup>2</sup>Committee of Platelet Disorders, The Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology

#### Abstract

Childhood thrombocytopenia includes idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) as well as congenital thrombocytopenia caused by genetic mutations. We have to exclude congenital thrombocytopenia in patients with chronic and refractory ITP. To realize definite diagnosis of congenital thrombocytopenia with small or normal-sized platelets, accurate and clinically applicable methods for genetic diagnosis are required.

Recent advances revealed new disease entities and genetic backgrounds of the diseases. In this paper, we focused on the clinical manifestation, pathogenesis and diagnosis of congenital thrombocytopenia with small or normal-sized platelets. Thrombocytopenia with small platelets includes Wiskott-Aldrich syndrome and X-linked thrombocytopenia caused by mutations in WASP and the newly identified molecule, WIP. Congenital thrombocytopenia with normal-sized platelets includes six well-characterized diseases: i.e. congenital amegakaryocytic thrombocytopenia, congenital thrombocytopenia with radio-ulnar synostosis, thrombocytopenia with absent radii, familial platelet disorder with predisposition to acute myelogenous leukemia, autosomal dominant thrombocytopenia, and cytochrome C mutation.

This article is clinically applicable for making differential diagnosis of congenital thrombocytopenia with small or normal-sized platelets, and the choice of appropriate therapy in patients with chronic and refractory ITP.

**Key words:** congenital thrombocytopenia, idiopathic thrombocytopenic purpura, small platelets, normal-sized platelets, genetic diagnosis

#### 要 旨

小児期の血小板減少症には、特発性血小板減少性紫斑病 (idiopathic thrombocytopenic purpura, 以下 ITP) に加えて、遺伝子変異を原因とする先天性血小板減少症がある。ITP の診断は基本的には除外診断であり、慢性かつ難治性 ITP 症例の中に、先天性血小板減少症症例が含まれている可能性がある。小型および正常サイズの血小板を伴う先天性血小板減少症は、血小板サイズのみでは ITP との鑑別診断が時に困難であり、遺伝子診断を含めた確定診断法の確立が重要である。

本稿では、小型および正常サイズの血小板を伴う先天性血小板減少症について、本疾患群を疑う時の要点と、その疾患概念、臨床的特徴および確定診断法につき最近の知見をまとめた。小型血小板減少症には Wiskott-Aldrich および X 連鎖血小板減少症があり、X 連鎖形式の WASP 異常症の他に、新しく常染色体劣性形式の WIP 欠損症が報告された。正常サイズの血小板減少症には、先天性無巨核球性血小板減少症、橈骨尺骨癒合を伴う血小板減少症、橈骨欠損を伴う血小板減少症、骨髄悪性腫瘍傾向を伴った家族性血小板減少症、常染色体優性遺伝性血小板減少症、チトクローム c 異常症の 6 疾患が現在まで報告されている。近年、遺伝子異常と新しい疾患概念が次々と報告されている疾患群である。

本稿が慢性かつ難治性 ITP に対する鑑別診断と適切な治療法選択の指標となれば幸いである。

**キーワード:** 先天性血小板減少症, 特発性血小板減少性紫斑病, 小型サイズの血小板, 正常サイズの血小板, 遺伝子診断

#### I はじめに

小児期の血小板減少症には、特発性血小板減少性紫斑病 (以下 ITP) に加えて、悪性腫瘍や自己免疫疾患など多様な疾患が含まれるが、その中に遺伝的背景を原因とする先

2012年10月18日受付, 2013年2月21日受理

\* 別刷請求先: 〒980-8575 仙台市青葉区星陵町1-1

東北大学大学院医学研究科小児病態学分野 笹原洋二

E-mail: ysasahara@med.tohoku.ac.jp

天性血小板減少症がある<sup>1)</sup>。ITPの診断基準は基本的には除外診断であり、慢性かつ難治性ITP症例の中に、先天性血小板減少症症例が含まれている可能性がある。従って、ITPとの鑑別診断と適切な治療方針選択のためには、遺伝子検索を含めた効果的確定診断法の確立が必要である。これまでは一部の限られた研究機関において、限られた先天性血小板減少症についてのみ確定診断が可能であったが、日本小児血液・がん学会血小板委員会では、本症を疑い診断を進めるための指標とすることを目的に、系統的な診断アルゴリズムをまとめた。

はじめに先天性血小板減少症を疑う場合、詳細な病歴や家族歴、服薬状況(の有無)、出血傾向やその他の臨床症状を十分に問診することが重要である。以前の検査において、血小板数が正常であれば後天性要因を考慮する。先天性血小板減少症は、遺伝形式と原因遺伝子別により分類可能であるが、血小板の大きさで分類することは临床上より理解しやすい。そのため、目視と平均血小板容積(mean platelet volume: MPV)による血小板サイズが重要であるが、特に末梢血塗抹標本で血小板形態観察と目視による血小板サイズの評価は特に重要であり、MPVのみで評価してはならない。小型および正常大血小板を定義するのは困難であるが、大型および巨大血小板の定義については國島らの報告を参照されたい<sup>2)</sup>。巨大血小板の明確な定義は無いが、末梢血塗抹標本上、概ね正常血小板の大きさの2倍程度(直径4μm)は大型血小板、赤血球大(直径8μm)以上は巨大血小板と判別される。

表1に先天性血小板減少症を疑う時の要点をまとめた。なお、先天性血小板異常症は血小板減少症と血小板機能異常症からなるが、ここでは先天性血小板減少症を中心にま

表1 先天性血小板減少症を疑う時の要点

1. 血小板減少症の家族歴がある。
2. 血小板減少症と出血傾向以外の臨床所見がある。
3. 血小板サイズ、塗抹標本所見に異常がある。
4. 慢性の経過であり、ITPの治療に抵抗性である。

とめた。ITPの場合、大型血小板はしばしば観察されるが、大多数の血小板は正常大であり、表1に該当する場合は、末梢血塗抹標本で血小板形態観察と血小板サイズをよく観察した上で、適切な治療法選択のためにも鑑別診断を十分行うことが重要である。

## II 血小板サイズによる小型、正常大先天性血小板減少症の分類

表2に小型血小板、正常大の先天性血小板減少症の疾患名一覧を示す。本稿では、小型および正常大血小板減少症のみを記述しており、大型、巨大血小板減少症の疾患一覧については、國島らの優れた総説を御参照頂きたい<sup>2)</sup>。

## III 各疾患の概要と遺伝子異常

### 1. 小型サイズの血小板を伴う先天性血小板減少症

#### 1) X連鎖Wiskott-Aldrich症候群(X-linked WAS)とX連鎖血小板減少症(X-linked thrombocytopenia: XLT)<sup>3-7)</sup>

X連鎖原発性免疫不全症であるX-linked WASは、小型血小板を特徴とする先天性血小板減少症、易感染性、難治性湿疹を3主徴とし、その原因遺伝子はWASPである。WASP異常症の中で、その軽症型であり血小板減少症のみを呈す

表2 小型および正常サイズの血小板を有する先天性血小板減少症の分類

疾患	遺伝形式	遺伝子	特徴
<b>小型サイズの血小板減少症</b>			
Wiskott-Aldrich症候群(Wiskott-Aldrich syndrome: WAS)	X, AR	WASP, WIP	免疫不全, 湿疹, 血小板減少
X連鎖性血小板減少症(X-linked thrombocytopenia: XLT)	X	WASP	血小板減少(時に軽度の湿疹, 易感染あり)
<b>正常サイズの血小板減少症</b>			
先天性無巨核球性血小板減少症(Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia)	AR	MPL	巨核球著減, 骨髄不全
橈骨尺骨癒合を伴う血小板減少症(Congenital thrombocytopenia with radio-ulnar synostosis)	AD	HOXA11	橈骨尺骨癒合
橈骨欠損を伴う血小板減少症(Thrombocytopenia with absent radii)	AR	RBM8A	橈骨欠損, 年齢と共に血小板数正常化
骨髄悪性腫瘍傾向を伴った家族性血小板減少症(Familial platelet disorder with propensity to myeloid malignancy)	AD	RUNX1	MDS, 急性骨髄性白血病へ移行
常染色体優性遺伝性血小板減少症(Autosomal dominant thrombocytopenia, thrombocytopenia 2: THC2)	AD	ANKRD26	GPIaとα顆粒減少, 急性白血病へ移行
チトクロームc異常症(Cytochrome c mutation)	AD	CYCS	巨核球アポトーシス

注; X: X連鎖  
AD: 常染色体性優性  
AR: 常染色体性劣性

表3 臨床所見による WAS と XLT の重症度分類

クラス 1 (XLT)	血小板減少のみ
クラス 2 (XLT)	血小板減少+軽症一過性の湿疹±軽症感染症
クラス 3 (WAS)	血小板減少+持続性の湿疹 and/or 反復性感染症
クラス 4 (WAS)	血小板減少+持続性難治性湿疹+反復性重症感染症
クラス 5 (WAS)	血小板減少+湿疹 and/or 反復性感染症+自己免疫疾患あるいは悪性腫瘍の合併

る XLT があり, ITP との鑑別に重要な疾患である. 表3に臨床所見による WAS と XLT の重症度分類を示した. 男児で出生時からの血小板減少で, 血便が初発症状となることが多く, 湿疹や易感染性を伴う特徴的臨床像がある, 小型血小板であり (平均 MPV: 6.0-6.2 fL), 骨髄巨核球の増加がなく, 家族歴を認める, ITP に対する治療反応性がないか一過性の場合には WAS または XLT を疑う. ITP と比較し, 血小板凝集能低下により頭蓋内出血の頻度が高い. 自己免疫性溶血性貧血などの自己免疫疾患, IgA 腎症, 食物アレルギー, B 細胞悪性リンパ腫や他の悪性腫瘍を合併する例がある. これまで本邦では約 60 例の症例登録がなされている.

図1に WASP 遺伝子の機能的ドメインを示した. WASP は幾つかの機能的ドメインをもち, 細胞骨格系および T 細胞活性化や免疫担当細胞の機能を司る多様な機能をもった分子であり<sup>3,4)</sup>, ミスセンス変異が後述する WASP 結合蛋白質 (WASP-interacting protein, WIP) の結合領域に集中している特徴がある.

WASP 蛋白質発現の有無が WAS 症例の臨床的予後と相

関することが明らかとなっている<sup>9)</sup>. さらに近年 XLT の長期的な予後が報告され, 生存率は良好であるが経過中に自己免疫疾患や悪性腫瘍などの合併症を有して event free survival は決して良好ではないことが明らかとなった<sup>6)</sup>.

本症を疑う場合, 末梢血の T, B, NK 細胞分画における WASP 蛋白質発現量をフローサイトメトリー法によってスクリーニング可能である (図2). 三菱化学メディエンスによる外注検査が可能であり (保険適応外), コントロール血と一緒に依頼する. WASP 蛋白質発現が有意に低下している症例では, WASP 遺伝子変異を同定する. WASP 遺伝子解析は, PIDJ (primary immunodeficiency database in Japan <http://pidj.rcai.riken.jp/>) を通じて可能であり, また東北大学小児科や他大学での解析が可能である.

2) 常染色体劣性 Wiskott-Aldrich 症候群 (Autosomal recessive WAS)<sup>7-9)</sup>

次に, WAS 様の臨床経過があり, WASP 蛋白質発現が有意に低下しているにもかかわらず, WASP 遺伝子変異が同定されない症例は, WASP 蛋白質の安定化に重要な WIP の遺伝子解析を行い, 常染色体劣性 WAS としての WIP 欠

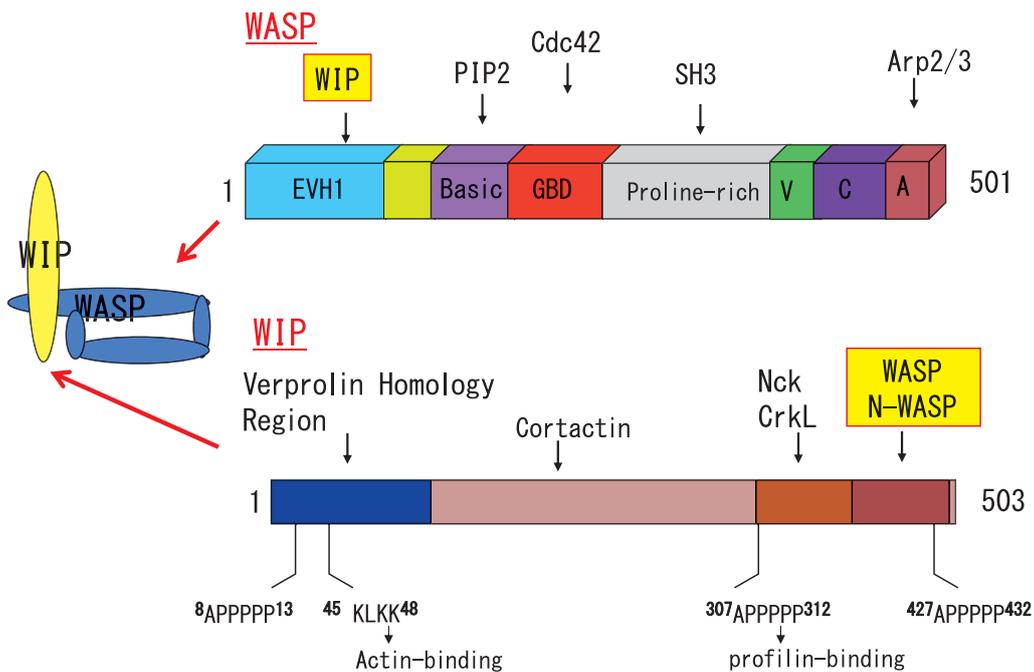
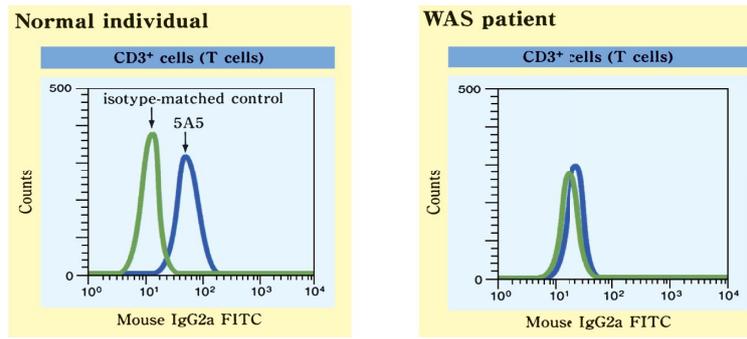


図1 WASP および WIP の機能的ドメインとその相互作用



コントロールと比較し 発現低下あり → WASP遺伝子変異検索へ — PIDJにて検索可能

図2 フローサイトメトリー法による WASP 蛋白質発現のスクリーニング

損症か否かを検討する。図1にWIPの機能的ドメインとWASPとの相互作用をまとめた。WIPはWASPと強い複合体を形成し、WASP蛋白質のリクルート、活性化、そして最も重要なことにWASP蛋白質の安定化に必須の分子である<sup>7,8)</sup>。筆者はこれまでの基礎的研究成果をもとに、表4に示したように、これまでWIP欠損症のスクリーニングを継続しているが、2012年に世界でWIP欠損症が1例報告されているのみで<sup>9)</sup>、日本からの症例はまだない。また、この1例のみの報告では免疫不全による易感染性、湿疹があり、血小板数は5.9万で血小板サイズは正常であったため、血小板サイズの検証と病態の理解にはさらに多くの症例の検討が必要である。東北大学小児科にて引き続き解析可能であり、対象症例があれば是非御連絡頂きたい。

2. 正常サイズの血小板を伴う先天性血小板減少症

比較的稀な疾患群であり報告症例数は未だ少ないが、正常の血小板サイズであることから、ITPとの鑑別に重要である。近年相次いで疾患原因遺伝子の報告がなされている疾患群であり、今後慢性および治療抵抗性ITPと診断さ

れている症例の中から発見される可能性が高いと考えられる。

1) 先天性無巨核球性血小板減少症 (Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia: CAMT)<sup>10,11)</sup>

常染色体劣性遺伝形式をとり、新生児期から乳児期において血小板減少を呈し、巨核球が著減している。その後3系統の骨髓造血不全が徐々に進行し再生不良性貧血様の病態となる。本疾患はthrombopoietin (TPO) 受容体であるMPL遺伝子異常が原因であり、血中TPOは高値となる。確定診断にはMPL遺伝子異常を同定する。これまで世界で約100例の報告がある。

2) 橈骨尺骨融合を伴う血小板減少症 (Congenital thrombocytopenia with radio-ulnar synostosis)<sup>12)</sup>

常染色体優性遺伝形式をとり、新生児期より血小板減少があり、近位側の橈骨尺骨融合を伴うことが特徴である。骨髓巨核球は減少し、経過とともに汎血球減少に進行する。ホメオボックス遺伝子群の1つであるHOXA11遺伝子異常が原因である。また、同じく近位側の橈骨尺骨癒合を伴う血小板減少症/骨髓不全症候群でありながらHOXA11遺

表4 WIP欠損症の分子基盤と、本邦におけるWIP欠損症(常染色体性WAS)発見の試み

<ol style="list-style-type: none"> <li>1. WIP蛋白質は、WASP蛋白質の安定化に重要である。</li> <li>2. WASPとWIPノックアウトマウスの表現形が類似している。</li> <li>3. WIP遺伝子はヒトでは常染色体上にコードされる。</li> </ol>
↓
<p>WIP欠損症疑いの対象症例として</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>--- 性別を問わず</li> <li>--- WAS様の臨床経過があり</li> <li>--- WASP蛋白質発現レベルが減少している</li> <li>--- WASP遺伝子異常が同定できない</li> </ul>
↓
<p>WIP欠損症(常染色体性WAS)疑いとしてWIP遺伝子検索を行う (東北大学小児科にて解析可能)</p>

伝子異常のない症例報告もある。これまで世界で約10例の報告がある。

### 3) 橈骨欠損を伴う血小板減少症 (Thrombocytopenia with absent radii: TAR 症候群)<sup>13)</sup>

常染色体劣性遺伝形式をとり、乳児期より血小板減少があり、骨髄巨核球は減少し、X線検査で橈骨欠損を伴うことが特徴である。成長とともに血小板減少や出血症状は軽快する。RNA プロセッシングに重要なエクソン接合部複合体を構成する4サブユニットの1つであるY14をコードするRBM8A (RNA binding motif protein 8A) 遺伝子のnull変異と、調節領域の低頻度の2つのsingle nucleotide polymorphism (SNP) のうちの1つの複合遺伝によって引き起こされる。53症例のうち51症例に、片アレルにRBM8Aを含む1q21.1の微小欠失が見られ、他の2症例にはRBM8Aの短縮型あるいはフレームシフト型のnull変異が見られた。加えてもう一方のアレルの調節領域のSNPがRBM8Aの転写を低下させ、その結果Y14の発現が低下することが原因であると報告されている。

### 4) 骨髄悪性腫瘍傾向を伴った家族性血小板減少症 (Familial platelet disorder with propensity to myeloid malignancy)<sup>14)</sup>

常染色体優性遺伝形式をとり、中等あるいは軽度の血小板減少、血小板機能異常を呈する疾患で、全体の約35%がMDSやAMLに移行する。慢性ITPとして経過観察される症例がある。血小板減少の発症年齢は7歳から45歳で、後にMDS/AMLを発症する。RUNX1 (AML1) 遺伝子変異が同定されている。これまで世界で約20家系の報告がある。

### 5) 常染色体優性遺伝性血小板減少症 (Autosomal dominant thrombocytopenia, thrombocytopenia 2: THC2)<sup>15,16)</sup>

常染色体優性遺伝形式をとり、血小板減少と出血傾向は通常軽症である。血小板凝集能は正常である。血小板はGP Iaの発現と $\alpha$ 顆粒を欠如する。発症年齢は10歳から報告されており、血小板数は3-8万(平均4.7万)であり、骨髄での巨核球は増加しているが血小板産生不全があり、血清TPO値は上昇している。その後の急性白血病への移行頻度が高いのが特徴的である。アポトーシス関連のANKRD26 (Ankyrin repeat domain-containing protein 26) 遺伝子の5'-非翻訳領域の変異が同定されている。これまで世界で113例(30家系)の報告がある。

### 6) チトクロームc異常症 (Cytochrome c mutation)<sup>17)</sup>

常染色体優性遺伝形式をとり、血小板減少のみを呈する。血小板凝集能は正常である。巨核球数は正常であるが、血小板産生系と特に血小板放出系が障害される。血小板寿命は正常である。7p15.2にコードされるミトコンドリア内のCYCS遺伝子変異(G41S)が同定されており、巨核

球におけるアポトーシス経路の亢進が原因とされている。これまで、世界で大きな1家系の報告がある。

## IV まとめと診断コンサルト先

小型および正常サイズの先天性血小板減少症は比較的稀な疾患群であるが、血小板サイズの類似性から、慢性および難治性ITPとの鑑別に重要である。巨大血小板にみられるような検鏡上の特徴的所見が少ないために、血小板減少症以外の特徴的臨床所見も鑑別上重要である。近年になって原因遺伝子発見の報告がなされてきている疾患群であり、今後慢性ITP症例の中から遺伝子異常同定により診断される可能性がある疾患群と考えられる。現在、東北大学小児科にてこれら疾患の遺伝子解析が可能となっている。

日本小児血液・がん学会血小板委員会では、血小板サイズによる先天性血小板減少症の疾患分類を提唱し、本疾患群の系統的な診断アルゴリズムをまとめ、本学会ホームページに掲載予定である。この診断アルゴリズムは、今後新規疾患と原因遺伝子が報告された場合には随時更新する予定である。委員会における診断コンサルト先は、これまでの解析実績を考慮し、下記のごとく小型および正常大血小板減少症に対しては東北大学小児科を、大型および巨大血小板減少症に対しては名古屋医療センターを推奨する。日常診療に御活用頂くとともに、今後本疾患群の日本全体の臨床像を明らかにしたいと考えている。

### 本学会血小板委員会が推奨する診断コンサルト先：

1. 小型および正常大血小板減少症  
東北大学大学院医学系研究科小児病態学分野  
笹原洋二  
〒980-8574 宮城県仙台市青葉区星陵町1-1  
TEL: 022-717-7287 FAX: 022-717-7290  
E-mail: ysasahara@med.tohoku.ac.jp
2. 大型および巨大血小板減少症  
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 國島伸治  
〒460-0001 愛知県名古屋市中区三の丸4-1-1  
TEL: 052-951-1111 FAX: 052-951-0664  
E-mail: kunishis@nnh.hosp.go.jp

## 文 献

- 1) Alter BP: Diagnosis, genetics, and management of inherited bone marrow failure syndromes. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 29-39, 2007.
- 2) 國島伸治：先天性巨大血小板症の鑑別診断. 日本小児血液・がん学会誌, 49: 382-386, 2012.

- 3) 笹原洋二: Wiskott-Aldrich 症候群の分子病態—最近の知見から—。日本臨床免疫学会会誌, 28: 140–147, 2005.
- 4) 笹原洋二: Wiskott-Aldrich 症候群の分子病態における WIP の役割。日本小児血液学会雑誌, 21: 141–150, 2007.
- 5) Imai K, Morio T, Zu Y, et al: Clinical course of patients with *WASP* gene mutations. *Blood*, 103: 456–464, 2004.
- 6) Albert MH, Bittner TC, Nonoyama S, et al: X-linked thrombocytopenia(XLT) due to *WAS* mutations: clinical characteristics, long-term outcome and treatment options. *Blood*, 115: 3231–3238, 2010.
- 7) Sasahara Y, Rachid R, Byrne MJ, et al: Mechanism of recruitment of WASP to the immunological synapse and of its activation following TCR ligation. *Mol Cell*, 10: 1269–1281, 2002.
- 8) de la Fuente MA, Sasahara Y, Calamito M, et al: WIP is a chaperone for Wiskott-Aldrich syndrome protein (WASP). *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 926–931, 2007.
- 9) Lanzi G, Moratto D, Vairo D, et al: A novel primary immunodeficiency due to deficiency in the WASP-interacting protein WIP. *J Exp Med*, 209: 29–34, 2012.
- 10) Ballmaier M, Germeshausen M: Advances in the understanding of congenital amegakaryocytic thrombocytopenia. *Br J Haematol*, 146: 3–16, 2009.
- 11) Ballmaier M, Germeshausen M: Congenital amegakaryocytic thrombocytopenia: clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Semin Thromb Hemost*, 37: 673–681, 2011.
- 12) Thompson AA, Nguyen LT: Amegakaryocytic thrombocytopenia and radio-ulnar synostosis are associated with *HOXA11* mutation. *Nat Genet*, 26: 397–398, 2000.
- 13) Albers CA, Paul DS, Schulze H, et al: Compound inheritance of a low-frequency regulatory SNP and a rare null mutation in exon-junction complex subunit *RBM8A* causes TAR syndrome. *Nat Genet*, 44: 435–439, 2012.
- 14) Owen CJ, Toze CL, Koochin A, et al: Five new pedigrees with inherited *RUNX1* mutations causing familial platelet disorder with propensity to myeloid malignancy. *Blood*, 112: 4639–4645, 2008.
- 15) Pippucci T, Savoia A, Perrotta S, et al: Mutations in the 5' UTR of *ANKRD26*, the ankirin repeat domain 26 gene, cause an autosomal-dominant form of inherited thrombocytopenia, THC2. *Am J Hum Genet*, 88: 115–120, 2011.
- 16) Noris P, Perrotta S, Seri M, et al: Mutations in *ANKRD26* are responsible for frequent form of inherited thrombocytopenia: analysis of 78 patients from 21 families. *Blood*, 117: 6673–6680, 2011.
- 17) Morison IM, Cramer Bordé EM, Cheesman EJ, et al: A mutation of human cytochrome c enhances the intrinsic apoptotic pathway but causes only thrombocytopenia. *Nat Genet*, 40: 387–389, 2008.