

先天性骨髄不全症の登録システムの構築と診断ガイドラインの作成に関する研究

ファンconi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学 准教授）

研究要旨：Fanconi 貧血（FA）は DNA 修復欠損を基盤に、種々の身体異常と小児期発症の骨髄不全や白血化を特徴とする遺伝性疾患である。DNA 架橋剤添加による染色体脆弱検査と骨髄不全症を含む臨床症状および京都大学放射線生物研究センターの高田穰研究室における FA 遺伝子のゲノムシーケンスにより、東海大学における総計 82 例の日本人 FA につき検討した。同時に日本人 FA 患者 78 人の ALDH2（アセトアルデヒドの分解酵素）遺伝子解析も共同で行い、骨髄不全は AA 群、GA 群、GG 群の順に早く発症し、特に AA 群は生後早期より重症な血球減少と形態異常を呈した。33 例の MDS / 白血化 FA の移植症例について解析し、不応性貧血の段階で移植を行えば、再生不良性貧血と同等の成績が得られることが示唆された。

A . 研究目的

Fanconi 貧血（FA）は染色体不安定性と種々の身体異常と小児期に発症する骨髄不全、白血化や高発がんを特徴とする稀な遺伝性骨髄不全症である。臨床症状は一様ではなく、原因遺伝子も現在では 16 という多数の遺伝子が同定されている。日本人の FA 遺伝子群の疫学解析を行い、骨髄不全症、骨髄異形成症候群・白血病などの造血器腫瘍や固形がんの臨床像に基づき診療ガイドラインの作成を行う。

B . 研究方法

末梢血リンパ球への DNA 架橋剤添加による染色体脆弱検査と、日本人に最も高頻度に検出される FANCA の Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) を併用し、臨床症状を基本として FA のスクリーニングを行い、新規 FA 患者の各種サンプル（末梢血リンパ球、骨髄および皮膚線維芽細胞、骨髄細胞）につき試料保存を行う。京都大学放射線生物研究センター高田穰研究室にて解析された FA 遺伝子と ALDH2(アセトアルデヒドの分解酵素) の遺伝子変異を合わせて検討した。

（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倫理的にも科学的にも妥当な研究計画として実施した。「ファンconi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」が継続申請として承認されている。

C . 研究結果

東海大学における次世代シーケンスによるエクソーム解析を加えた総計 82 例の日本人 FA の解析を行った。FA 遺伝子のゲノムシーケンスより、37 例の FANCA と 20 例の FANCG 遺伝子の変異を京都大学放射性生物研究センターの高田穰研究室にて同定した。FANCB, FANCD1, FANCE, FANCP も確認され、既知遺伝子が全く検出されなかった症例のうち、2 例において新規遺伝子である可能性があり、解析中である。

MLPA 法を用いた 63 症例の検討では、38 例が FANCA シーケンスで A 群と断定され、そのうちの 26 例が A 群 MLPA 法にて片アレルまたは両アレルの検出が可能であった（68%）。

京都大学放射線生物研究センターの高田穰研究室と共同で解析を行った日本人 FA 患者 78 人におけるアルデヒド代謝に関わる重要な酵素である *ALDH2* 遺伝子型の分布は、健常日本人の分布と差を認めなかった。

骨髄不全は AA 群、GA 群、GG 群の順に早く発症し、有意差を認めた。特に AA 群の 6 症例では出生直後から 1 年以内に輸血依存の重症な血球減少が進行し、5 症例では 3 系統血球に顕著な形態異常を認めた。

骨髄異形成症候群や急性白血病を発症した 33 例の造血幹細胞移植では移植後 3 年生存率は約 68%であった。白血病 10 症例の移植後 3 年生存率は 30%以下で極めて不良であったが、不応性貧血 12 例では約 90%と再生不良性貧血と同等の成績が得られた。造血細胞移植に関しては小児ドナーの有効性と安全性の検討を行い、同胞 105 症例のうち FA 患者ドナー 11 例においても有効性と安全性が確認された。

D . 考察

FA の発症頻度、臨床症状や遺伝子変異は民族による差がみられ、日本人における疫学集積が必要である。エクソーム解析等を用いた遺伝子解析は従来の方法では検出できなかった変異確定させることができ、今後も重要な解析法となり、日本における FA の疫学の基盤になると推測される。MLPA-A を用いた方法は、既知の変異のみが対象となるものの、極めて有用であった。

FA に対する本邦での fludarabine を前処置に用いた造血細胞移植の成績は良好であり、骨髄形成症候群、急性骨髄性白血病に進展した症例では白血病に移行する前に移植を施行することが重要である。HLA 一致の同胞間移植の成績は良好であるが、同胞の FA を否定することが大切である。

また、FA 原因遺伝子とは異なる新しい視点から *ALDH2* 遺伝子型による骨髄不全症の重症度の検討も必要と思われる。

E . 結論

稀少遺伝性疾患である FA の遺伝子解析が進み、京都大学放射線生物研究センターの高田穰研究室等との共同研究により日本人 FA 患者の原因遺伝子の

種類や頻度、遺伝子異常と臨床病態との関連が明らかになってきた。FA 患者ではアルデヒドによるゲノム障害が修復できず、骨髄不全が進行する可能性が示唆され病態の解明と新規治療につながる事が期待される。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yabe M, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Ohtsubo K, Fukumura A, Kato S, Yabe H. Feasibility of marrow harvesting from pediatric sibling donors without hematopoietic growth factors and allotransfusion. **Bone Marrow Transplant.** 2014;49(7):921-6.
- 2) Kobayashi R, Yabe H, Kikuchi A, Kudo K, Yoshida N, Watanabe K, Muramatsu H, Takahashi Y, Inoue M, Koh K, Inagaki J, Okamoto Y, Sakamaki H, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Kojima S. Bloodstream infection after stem cell transplantation in children with idiopathic aplastic anemia. **Biol Blood Marrow Transplant.** 2014;20(8):1145-9.
- 3) Sakaguchi H, Nishio N, Hama A, Kawashima N, Wang X, Narita A, Doisaki S, Xu Y, Muramatsu H, Yoshida N, Takahashi Y, Kudo K, Moritake H, Nakamura K, Kobayashi R, Ito E, Yabe H, Ohga S, Ohara A, Kojima S; Japan Childhood Aplastic Anemia Study Group. Peripheral blood lymphocyte telomere length as a predictor of response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anemia. **Haematologica** 2014; 99(8):1312-6.
- 4) Nakayama H, Tabuchi K, Tawa A, Tsukimoto I, Tsuchida M, Morimoto A, Yabe H, Horibe K, Hanada R, Imaizumi M, Hayashi Y, Hamamoto K, Kobayashi R, Kudo K, Shimada A, Miyamura T, Moritake H, Tomizawa D, Taga T, Adachi S. Outcome of children with relapsed acute myeloid leukemia following initial therapy under the

- AML99 protocol. **Int J Hematol.** 2014; 100(2):171-9.
- 5) Kato M, Yoshida N, Inagaki J, Maeba H, Kudo K, Cho Y, Kurosawa H, Okimoto Y, Tauchi H, Yabe H, Sawada A, Kato K, Atsuta Y, Watanabe K. Salvage allogeneic stem cell transplantation in patients with pediatric myelodysplastic syndrome and myeloproliferative neoplasms. **Pediatr Blood Cancer.** 2014;61(10):1860-6.
 - 6) Patel P, Suzuki Y, Tanaka A, Yabe H, Kato S, Shimada T, Mason RW, Orii KE, Fukao T, Orii T, Tomatsu S. Impact of Enzyme Replacement Therapy and Hematopoietic Stem Cell Therapy on Growth in Patients with Hunter Syndrome. **Mol Genet Metab Rep.** 2014;1:184-196.
 - 7) Sato Y, Kurosawa H, Fukushima K, Okuya M, Yabe H, Arisaka O. Necessary stem cell transplantation using myeloablative therapy for myelodysplastic syndrome with progression of genotypic abnormalities and TP53 dysfunction in a young adult. **Pediatr Transplant.** 2014;18(7):E255-7.
 - 8) Yoshida N, Kobayashi R, Yabe H, Kosaka Y, Yagasaki H, Watanabe KI, Kudo K, Morimoto A, Ohga S, Muramatsu H, Takahashi Y, Kato K, Suzuki R, Ohara A, Kojima S. First-line treatment for severe aplastic anemia in children: bone marrow transplantation from a matched family donor vs. immunosuppressive therapy. **Haematologica** 2014;99(12):1784-91.
 - 9) Goto H, Kaneko T, Shioda Y, Kajiwara M, Sakashita K, Kitoh T, Hayakawa A, Miki M, Kato K, Ogawa A, Hashii Y, Inukai T, Kato C, Sakamaki H, Yabe H, Suzuki R, Kato K. Hematopoietic stem cell transplantation for patients with acute lymphoblastic leukemia and Down syndrome. **Pediatr Blood Cancer.** 2015;62(1):148-52.
 - 10) Kato M, Hasegawa D, Koh K, Kato K, Takita J, Inagaki J, Yabe H, Goto H, Adachi S, Hayakawa A, Takeshita Y, Sawada A, Atsuta Kato K. Allogeneic haematopoietic stem cell Y, transplantation for infant acute lymphoblastic leukaemia with KMT2A (MLL) rearrangements: a retrospective study from the paediatric acute lymphoblastic leukaemia working group of the Japan Society for Haematopoietic Cell Transplantation. **Br J Haematol.** 2014 Oct 10. doi:10.1111/bjh.13174. [Epub ahead of print]
 - 11) Tanjuakio J, Suzuki Y, Patel P, Yasuda E, Kubaski F, Tanaka A, Yabe H, Mason RW, Montañó AM, Orii KE, Orii KO, Fukao T, Orii T, Tomatsu S. Activities of daily living in patients With Hunter syndrome: Impact of enzyme replacement therapy and hematopoietic stem cell ransplantation. *Mol Genet Metab.* 2014 Nov 8. pii: S1096-7192 (14)00347-3. doi: 10.1016/ j.ymgme.2014.11.002. [Epub ahead of print]
 - 12) Yabe M, Ohtsuka Y, Watanabe K, Inagaki J, Yoshida N, Sakashita K, Kakuda H, Yabe H, Kurosawa H, Kudo K, Manabe A; Japanese Pediatric Myelodysplastic Syndrome Study Group. Transplantation for juvenile myelomonocytic leukemia: a retrospective study of 30 children treated with a regimen of busulfan, fludarabine, and melphalan. **Int J Hematol.** 2014 Dec 11. [Epub ahead of print]
 - 13) 矢部普正 . Fanconi 貧血 . **小児科** 2014;55(11): 1559-1564.
2. 学会発表
 - 1) Yabe H, Uchida N, Takahashi S, Ohno Y, Kasai K, Kanamori H, Mori S, Nagamura T, Kato K, Murata M, Suzuki R, Atsuta Y. Comparison of two doses of antithymocyte globulin in pediatric patients with aplastic anemia who received allogeneic bone marrow transplantation. **40th Annual Meeting of the**

- | | |
|---|--|
| <p>European Group for Blood and Marrow Transplantation (April 2014, Mirano, Italy).</p> <p>2) <u>Yabe H</u>, Tabuchi K, Takahashi Y, Kudo K, Kato K, Sakamaki H, Kaea K, Kanamori H, Mori S, Nagamura T, Murata M, Suzuki R, Kanda Y. Evaluation of cell dose to achieve engraftment in unrelated cord blood transplantation. 40th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (April 2014, Mirano, Italy).</p> <p>3) Yabe M, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, OhtsuboK, Fukumura A, Itosu M, Muroi K, Koh K, Kato S, <u>Yabe H</u>. Allogeneic hematopoietic cell transplantation for Japanese Fanconi anemia patients with myeloid malignancies. 40th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation (April 2014, Mirano, Italy).</p> <p>4) Yabe M, Hira A, <u>Yabe H</u>. Morimoto T, Fukumura A, Miyashita M, Ohtsubo K, Matsuo K, Takata M. Infant Japanese Fanconi anemia patients with the ALDH2-AA Genotype. 26th Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium (September, 2014, Bethesda, USA).</p> <p>5) <u>Yabe H</u>, Morimoto T, Shimizu T, Koike T, Takakura H, yabe M. Persistent parvovirus B19 infection resulting in donor cell leukemia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in a patient with Fanconi anemia. 26th Annual Fanconi Anemia Research Fund Scientific Symposium (September, 2014, Bethesda, USA).</p> <p>6) Hira A, Yoshida K, Sato K, Shimamoto A, Tahara H, Kurumizawa H, Ogawa S, Takata M, <u>Yabe H</u>, Yabe M. Identification of novel UBE2T mutations in Japanese Fanconi anemia patients. 37th Annual meeting of the molecular biology society of Japan(2014年11月, 横浜).</p> | <p>1. 特許取得
該当なし</p> <p>2. 実用新案登録
該当なし</p> <p>3. その他
該当なし</p> |
|---|--|

G . 知的財産権の出願・登録状況