

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）

佐藤知彦（弘前大学大学院医学研究科小児科学 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Diamond-Blackfan 貧血と診断された14例中11例（78.6%）に既報の遺伝子変異を認めた。これまでに192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、113例（58.9%）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。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、平成29年10月に診断と治療社より出版した。さらに、本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（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。平成29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14名の遺伝子診断を行い、11例 (*RPS19* 3例、*RPS26* 1例、*RPS7* 1例、*RPL11* 4例、*RPL5* 1例、*RPL35A* 1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192例となった。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。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。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なっている。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平成29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。

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) 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.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) Ogasawara T, Kawachi 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.
- 7) 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.
- 8) 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.
- 9) 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.
- 10) 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) 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).
- 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/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).
- 3) 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).
- 4) 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).
- 5) 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).

日-6 月 3 日, プラハ・チェコ).

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

- 6) 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).
- 7) 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).
- 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, 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).
- 9) 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