

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 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coni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。

#### 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、固形がん等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%とこの両者で全体の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。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。

#### 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。

#### 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、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, 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]
2. 学会発表
- 1) Yabe H, Imai E, Sugimoto A, Ohtsubo K, Morimoto T, Mochizuki H, Koike T, Kato S and Yabe M. Full-dose busulfan-based conditioning regimen for pediatric non-malignant disease. **44<sup>th</sup> 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, Koderu Y, Okamoto S, Yabe H. Efficacy and Safety of Biosimilar Filgrastim in Peripheral Hematopoietic Stem Cell Mobilization Procedures for Related Allogeneic Transplantation. **44<sup>th</sup> 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)。

**G . 知的財産権の出願・登録状況**

該当なし