

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 照井君典（弘前大学大学院医学研究科小児科学 准教授）

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 DBA と診断された 24 例中 9 例（37.5%）に既報の遺伝子変異を認めた。これまでに 221 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、128 例（57.9%）に原因となる RP 遺伝子変異を見出した。さらに、DBA の近縁疾患として収集した症例の中に、がん抑制遺伝子 *TP53* の活性化変異が原因で起こる「新たな先天性骨髄不全症」の 2 症例を発見した。（AJHG 2018）。これらのデータをもとに、エビデンスに基づいた「DBA の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。

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。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

ークエンスを行った。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 24 名の遺伝子診断を行い、9 例（*RPS19* 4 例、*RPL11* 2 例、*RPL5* 3 例）で既知の原因遺伝子を同定した。これまでに 221 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、原因となる RP 遺伝子変異を見出した症例数は、128 例（57.9%）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の近縁疾患として収集した症例の中に、がん抑制遺伝子 *TP53* の活性化変異が原因で起こる「新たな先天性骨髄不全症」の2症例を発見した。ゼブラフィッシュやヒトiPS細胞のモデルを用いて、機能解析を行い、*P53* の活性化変異が貧血の原因であることを証明した (AJHG 2018)。

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。しかし、まだ約40%が原因遺伝子不明であり、長期予後については、全体像が明らかではない。長期予後を含めた精度の高いデータベースの構築が必要であるが、難病プラットフォームの利用により、広く利用可能なデータベース構築が可能と思われる。

がん抑制遺伝子 *TP53* の活性化変異が原因で起こる「新たな先天性骨髄不全症」により、“*TP53* の遺伝子産物 *p53* の活性化がDBAなどの骨髄不全症を引き起こす” という従来の仮説を直接的に証明した。先天性骨髄不全症の新規治療法やがんの予防法の開発に結びつく可能性がある。

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。難病プラットフォームの利用により、広く利用可能なデータベース構築が可能と思われる。

本研究班の成果のもとに診断基準、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) Kudo K, Tanaka T, Kobayashi A, Terui K, Ito E. Zoledronic acid for relapsed Langerhans cell histiocytosis with isolated skull bone lesion. *Pediatr Int*. 2019;61(3):315-317. doi: 10.1111/ped.13774.
- 2) Kudo K, Kanazaki R, Kobayashi A, Kamio T, Sasaki S, Terui K, Kurose A, Yoshida K, Shiozawa Y, Toki T, Ogawa S, Ito E. Two siblings with familial neuroblastoma with

distinct clinical phenotypes harboring an ALK germline mutation. *Genes Chromosomes Cancer*. 2018;57(12):665-669. doi: 10.1002/gcc.22676.

- 3) Toki T, Yoshida K, Wang R, Nakamura S, Maekawa T, Goi K, Katoh MC, Mizuno S, Sugiyama F, Kanazaki R, Uechi T, Nakajima Y, Sato Y, Okuno Y, Sato-Otsubo A, Shiozawa Y, Kataoka K, Shiraishi Y, Sanada M, Chiba K, Tanaka H, Terui K, Sato T, Kamio T, Sakaguchi H, Ohga S, Kuramitsu M, Hamaguchi I, Ohara A, Kanno H, Miyano S, Kojima S, Ishiguro A, Sugita K, Kenmochi N, Takahashi S, Eto K, Ogawa S, Ito E. De Novo Mutations Activating Germline TP53 in an Inherited Bone-Marrow-Failure Syndrome. *Am J Hum Genet*. 2018;103(3):440-447. doi: 10.1016/j.ajhg.2018.07.020.
- 4) Tsujimoto S, Osumi T, Uchiyama M, Shirai R, Moriyama T, Nishii R, Yamada Y, Kudo K, Sekiguchi M, Arakawa Y, Yoshida M, Uchiyama T, Terui K, Ito S, Koh K, Takita J, Ito E, Tomizawa D, Manabe A, Kiyokawa N, Yang JJ, Kato M. Diploidy analysis of NUDT15 variants and 6-mercaptopurine sensitivity in pediatric lymphoid neoplasms. *Leukemia*. 2018;32(12):2710-2714. doi: 10.1038/s41375-018-0190-1.
- 5) Uemura S, Mori T, Nagano C, Takafuji S, Nishimura N, Toki T, Terui K, Ito E, Iijima K. Effective response to azacitidine in a child with a second relapse of myeloid leukemia associated with Down syndrome after bone marrow transplantation. *Pediatr Blood Cancer*. 2018:e27414. doi: 10.1002/pbc.27414.
- 6) Minakawa S, Matsuzaki Y, Terui K, Kayaba H, Sawamura D. Tuberculous granuloma developed 9 years after bacillus Calmette-Guérin vaccination in a patient with immunodeficiency. *J Dermatol*. 2018;45:e293-5. doi: 10.1111/1346-8138.14468.

7) 照井君典 . 貧血 . 小児疾患の診断治療基準 . 小児内科増刊号 2018;50:70-1.

2. 学会発表

- 1) Kubota Y, Uryu K, Ito T, Seki M, Isobe T, Toki T, Yoshida K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Hiwatari M, Miyano S, Oka A, Ogawa S, Terui K, Sato A, Ito E, and Takita J. Comprehensive Genomic Analysis Identified Acute Lymphoblastic Leukemia in Down Syndrome Was Highly Heterogeneous with the High Prevalence of Ph-like Signature. **American Society of Hematology 60th Annual Meeting** (2018年12月1-4日, 米国・サンディエゴ).
- 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 and epigenetic analysis elucidated expression and methylation profiles of acute lymphoblastic leukemia in Down syndrome. **The 23th Congress of European Hematology Association** (2018年7月14-17日, スウェーデン・ストックホルム).
- 3) 渡辺亮, 才田聡, 中村正裕, 土岐力, 金崎里香, 照井君典, 渡邊健一郎, 伊藤悦朗 . ダウン症児に発症する巨核芽球性白血病におけるエピゲノム異常 . **第80回日本血液学会学術集会** (2018年10月12-14日, 大阪) .

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし