

先天性骨髄不全症の登録システムの構築と診断基準・重症度分類・診断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19種類のリボソームタンパク（RP）遺伝子と *GATA1*、*TSR2*、*EPO* 遺伝子が同定されている。しかし、我が国の DBA 患者の約 40%は原因遺伝子が不明である。本年度も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 15 例中 8 例（53%）に既報の遺伝子変異を認めた。これまでに 215 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、127 例（59.1%）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、エビデンスに基づいた「DBA の診療ガイドライン」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19種類のリボソームタンパク（RP）遺伝子と*GATA1*、*TSR2*、*EPO*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、オミックス解析拠点（宮野班）日本小児血液・がん学会の中央診断事業と疾患登録事業や原発性免疫不全班とも連携し、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、正確な先天性骨髄不全症候群の実態把握を行い、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

本年度は、新規症例15例の遺伝子診断を行い、8例で既知の原因遺伝子（*RPS19* 4例、*RPS26* 2例、*RPL5* 1例、*RPS17* 1例）を同定した。これまでに215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、127例（59.1%）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療ガイドラインの小改訂を行った。

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。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（AMED 松田班）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。

日本小児血液・がん学会と連携を取りながら、エビデンスに基づいた診療ガイドラインの小改訂を行った。専門医だけでなく、一般小児科医への啓蒙活動にも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。その成果をもとにエビデンスに基づいた診療ガイドラインの小改訂を行った。

F . 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yuzawa K, Terui K, Toki T, Kanazaki R, Kobayashi A, Sato T, Kamio T, Kudo K, Sasaki S, Endo M, Ozono S, Nomura K, Ito E. Clinical, cytogenetic, and molecular analyses of 17 neonates with transient abnormal myelopoiesis and nonconstitutional trisomy 21. **Pediatr Blood Cancer**. 2020;67:e28188.
- 2) Yoshida N, Sakaguchi H, Yabe M, Hasegawa D, Hama A, Hasegawa D, Kato M, Noguchi M, Terui K, Takahashi Y, Cho Y, Sato M, Koh K, Kakuda H, Shimada H, Hashii Y, Sato A, Kato K, Atsuta Y, Watanabe K; Pediatric Myelodysplastic Syndrome Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Clinical outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with juvenile myelomonocytic leukemia: A report from the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. **Biol Blood Marrow Transplant**. 2020;26(5):902-910. doi: 10.1016/j.bbmt.2019.11.029.
- 3) Takahashi N, Kudo K, Tanaka M, Kumagai N, Sato T, Kamio T, Sasaki S, Terui K, Kurose A,

Yanagisawa R, Nakazawa Y, Ito E. A Rapid Cytologic Double Staining of Epstein-Barr Virus-encoded Small RNA and Cell Surface Markers for Diagnosis of Epstein-Barr Virus-associated Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. **J Pediatr Hematol Oncol**. 2019 Nov 14. doi: 10.1097/MPH.0000000000001647. [Epub ahead of print]

- 4) Terui K, Toki T, Taga T, Iwamoto S, Miyamura T, Hasegawa D, Moritake H, Hama A, Nakashima K, Kanazaki R, Kudo K, Saito AM, Horibe K, Adachi S, Tomizawa D, Ito E. Highly sensitive detection of GATA1 mutations in patients with myeloid leukemia associated with Down syndrome by combining Sanger and targeted next generation sequencing. **Genes Chromosomes Cancer** 2020;59:160-167.
- 5) Takahashi Y, Terui K, Chinen Y, Tandai S, Kudo K, Sasaki S, Tono C, Taki T, Ito E. A pediatric case of secondary T-cell acute lymphoblastic leukemia with KMT2A-MAML2 developing after hepatoblastoma treatment. **Pediatr Blood Cancer**. 2020;67:e28033.
- 6) Nakashima K, Hasegawa D, Tomizawa D, Miyamura T, Hama A, Iwamoto S, Terui K, Adachi S, Taga T. Characteristics and outcomes of children with acute myeloid leukemia and Down syndrome who are ineligible for clinical trials due to severe comorbidities. **Pediatr Blood Cancer**. 2019;66:e27942.
- 7) Kubota Y, Uryu K, Ito T, Seki M, Kawai T, Isobe T, Kumagai T, Toki T, Yoshida K, Suzuki H, Kataoka K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Ohki K, Kiyokawa N, Kagawa J, Miyano S, Oka A, Hayashi Y, Ogawa S, Terui K, Sato A, Hata K, Ito E, Takita J. Integrated genetic and epigenetic analysis revealed heterogeneity of acute lymphoblastic leukemia in Down syndrome. **Cancer Sci**. 2019;110:3358-3367.
- 8) Watanabe A, Inukai T, Kagami K, Abe M, Takagi M, Fukushima T, Fukushima H, Nanmoku T, Terui

K, Ito T, Toki T, Ito E, Fujimura J, Goto H, Endo M, Look T, Kamps M, Minegishi M, Takita J, Inaba T, Takahashi H, Ohara A, Harama D, Shinohara T, Somazu S, Oshiro H, Akahane K, Goi K, Sugita K. Resistance of t(17;19)-acute lymphoblastic leukemia cell lines to multiagents in induction therapy. **Cancer Med.** 2019;8:5274-5288.

- 9) 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;61:315-317.
- 10) Kubo K, Kudo K, Toki T, Kanezaki R, Ikeda F, Ito T, Kobayashi A, Sato T, Kamio T, Sasaki S, Terui K, Ito E. Comprehensive genetic analyses of relapsed B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia in children. **弘前医学** 2019;70:13-23.
- 11) 照井君典, 伊藤悦朗. ダウン症に合併する造血異常、造血器腫瘍. **血液内科** 2019;79:290-296.

2. 学会発表

- 1) Taga T, Tanaka S, Terui K, Iwamoto S, Hiramatsu H, Miyamura T, Hashii Y, Hasegawa D, Moritake H, Nakayama H, Takahashi H, Shimada A, Taki T, Toki T, Ito E, Koh K, Hasegawa D, Hama A, Saito AM, Adachi S, Tomizawa D. Post-induction minimal residual disease measured by flow cytometry and deep sequencing of mutant GATA1 are both significant prognostic factors for children with myeloid leukemia and Down syndrome: a nationwide prospective study of the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group. **The 61th American Society of Hematology Annual Meeting** (2019年12月7-10日, 米国・オーランド).(ポスター)
- 2) Yamato G, Muramatsu H, Watanabe T, Deguchi T, Iwamoto S, Hasegawa D, Terui K, Ueda T, Yokosuka T, Toki T, Tanaka S, Yanagisawa R, Koh K, Saito AM, Horibe K, Hayashi Y, Adachi

S, Mizutani S, Taga T, Ito E, Watanabe, K. Predictive factors of the development of leukemia in patients with transient abnormal myelopoiesis and Down syndrome: the JCCG study JPLSG TAM-10. **The 61th American Society of Hematology Annual Meeting** (2019年12月7-10日, 米国・オーランド).(ポスター)

- 3) Kudo K, Kanezaki R, Kobayashi A, Sato T, Kamio T, Sasaki S, Imamura M, Imai C, Irie M, Sasahara Y, Ando K, Kakuda H, Doi T, Kawaguchi H, Kudo K, Kanegane H, Terui K, Toki T, Ito E. BRAF V600E-positive precursors as molecular markers of bone marrow involvement in pediatric langerhans cell histiocytosis **The 61th American Society of Hematology Annual Meeting** (2019年12月7-10日, 米国・オーランド).(ポスター)

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし