

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

中央診断、DCとCDAの遺伝子診断・診療ガイドラインの作成

研究分担者 高橋義行（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 教授）

研究要旨：日本小児血液学会（現日本小児血液・がん学会）は平成21年2月より再生不良性貧血（AA）、骨髄異形成症候群（MDS）および先天性造血不全症候群（CBFS）を対象とした中央診断を開始した。レビューは骨髄および末梢血塗抹標本を2施設（名古屋大学、聖路加国際病院）で、骨髄病理標本を1施設（名古屋第一赤十字病院）で行った。また、名古屋大学小児科において、次世代シーケンサーによるターゲットシーケンス、もしくはエクソームシーケンスを行い、病的意義のある変異を検索した。結果として、血液疾患999例に対して遺伝性血液疾患関連遺伝子のターゲットシーケンスを実施し、先天性角化不全症（DC）19例（*TINF2* 10例、*TERT* 4例、*DKC1* 5例）を遺伝子診断した。これらの結果をもとに、DCにおける診断のフローチャートを作成し、診療ガイドを作成した。中央診断および遺伝子診断により先天性造血不全症の診断精度の向上が可能となり、診療ガイドの利用により適切な患者診療が可能となる。

A. 研究目的

先天性角化不全症（Dyskeratosis congenita; DC）は、テロメア長の維持機能に関与する遺伝子群の変異により発症する先天性造血不全症の一つである。疾患の原因となる主なメカニズムは、テロメラーゼ-shelterin複合体をコードする遺伝子の変異に起因する異常なテロメア短縮である。現在までに、DCの原因遺伝子としてテロメア長の維持に関わる*DKC1*、*TERT*、*TERC*、*RTEL1*、*NOP10*、*TINF2*、*CTC1*、*NHP2*、*WRAP53*、*ACD*、*PARN*などの遺伝子変異が報告されている。しかしながら、いまだ原因遺伝子が明らかでない患者が約30%に存在する。

一部のDC症例は、古典的症状のほかに、多彩な全身症状を呈する例から血球減少のみの例までさまざまな臨床像（不全型DC）を示し、再生不良性貧血との鑑別が難しい場合がある。

本研究では、日本小児血液・がん学会の中央診断および疾患登録事業の一環として、包括的に登録するとともに、DCの原因遺伝子の探索を行った。

B. 研究方法

名古屋大学小児科に中央診断の事務局を設置し、再生不良性貧血（AA）、骨髄異形成症候群（MDS）、あるいは先天性造血不全症候群（CBFS）が疑われる

症例が発生した場合は、各施設から事務局に連絡をもらい、登録番号を発行した。中央診断およびそれに伴う検査については患者、または保護者の同意を取得した後に行うこととした。

骨髄・末梢血塗抹標本のレビューは、名古屋大学小児科と聖路加国際病院小児科で施行した。特徴的な身体的異常、骨髄不全、家族歴などからDCが疑われる場合には、末梢血を用いてFlow-FISH法による血球テロメア長測定を行った。

先天性造血不全症候群が疑われる症例について、名古屋大学小児科において、次世代シーケンサーによるターゲットシーケンス、もしくはエクソームシーケンスを行い、病的意義のある変異を検索した。

研究にあたっては個人情報守秘を厳守し、文書による同意を得た上で研究を遂行した。

C. 研究結果

さまざまな先天性造血不全症を疑った患者（n=999例）に対して遺伝性血液疾患関連遺伝子のターゲットシーケンスを実施した。結果として、DC 19例（*TINF2* 10例、*TERT* 4例、*DKC1* 5例）を遺伝子診断し得た。19例のうち、末梢血Flow-FISH法による血球テロメア長を測定した13例中10例でテロメア長の短

縮を認めた。これらの結果をもとに、DCにおける診断のフローチャートを作成し、遺伝性骨髄不全症候群の診断におけるテロメア長解析の意義について論文発表を行った。

D. 考察

骨髄不全症を合併した先天角化不全症では、再生不良性貧血、Fanconi貧血、Schwachman-Diamond症候群、先天性無巨核芽球性血小板減少症、Pearson症候群などの疾患と鑑別を要する。それぞれ特徴的な臨床像があるため、まず臨床像から鑑別を行うが、網羅的遺伝子解析による、迅速かつ正確な遺伝子診断が必要である。

骨髄不全症や特徴的な臨床所見を認めるときに、テロメア長の測定を行い、短縮を認めれば遺伝子解析を行い、DC関連遺伝子を検索する。また、テロメア長短縮を認めないが、臨床的に否定することが困難な場合には遺伝子解析を行うことが望ましいと考えられた。

E. 結論

先天性角化不全症を含め、先天性造血不全症の診断は必ずしも容易ではなく、中央診断による塗抹標本の評価、および遺伝子診断を行うことによりその診断の精度が上昇したと考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Wakamatsu M, Okuno Y, Murakami N, Miwata S, Kitazawa H, Narita K, Kataoka S, Ichikawa D, Hamada M, Taniguchi R, Suzuki K, Kawashima N, Nishikawa E, Narita A, Nishio N, Kojima S, Muramatsu H, Takahashi Y. Detection of subclonal SETBP1 and JAK3 mutations in juvenile myelomonocytic leukemia using droplet digital PCR. **Leukemia** 2021;35(1):259-263.
- 2) Yabe M, Morio T, Tabuchi K, Tomizawa D, Hasegawa D, Ishida H, Yoshida N, Koike T, Takahashi Y, Koh K, Okamoto Y, Sano H, Kato K, Kanda Y, Goto H, Takita J, Miyamura T, Noguchi M, Kato K, Hashii Y, Astuta Y, Yabe H. Long-term outcome in patients with Fanconi anemia who

received hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective nationwide analysis. **Int J Hematol.** 2021;113(1):134-144.

- 3) Umeda K, Imai K, Yanagimachi M, Yabe H, Kobayashi M, Takahashi Y, Kajiwara M, Yoshida N, Cho Y, Inoue M, Hashii Y, Atsuta Y, Morio T; Inherited Disease Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Impact of graft-versus-host disease on the clinical outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for non-malignant diseases. **Int J Hematol.** 2020;111(6):869-876.
- 4) Yoshida N, Takahashi Y, Yabe H, Kobayashi R, Watanabe K, Kudo K, Yabe M, Miyamura T, Koh K, Kawaguchi H, Goto H, Fujita N, Okada K, Okamoto Y, Kato K, Inoue M, Suzuki R, Atsuta Y, Kojima S; Pediatric Aplastic Anemia Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Conditioning regimen for allogeneic bone marrow transplantation in children with acquired bone marrow failure: fludarabine/melphalan vs. fludarabine/ cyclophosphamide. **Bone Marrow Transplant.** 2020;55(7):1272-1281.
- 5) Koyamaishi S, Kamio T, Kobayashi A, Sato T, Kudo K, Sasaki S, Kanazaki R, Hasegawa D, Muramatsu H, Takahashi Y, Sasahara Y, Hiramatsu H, Kakuda H, Tanaka M, Ishimura M, Nishi M, Ishiguro A, Yabe H, Sarashina T, Yamamoto M, Yuza Y, Hyakuna N, Yoshida K, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Miyano S, Ogawa S, Toki T, Terui K, Ito E. Reduced-intensity conditioning is effective for hematopoietic stem cell transplantation in young pediatric patients with Diamond-Blackfan anemia. **Bone Marrow Transplant.** 2020 Sep 18. doi:10.1038/s41409-020-01056-1.
- 6) Sakaguchi Y, Natsume J, Kidokoro H, Tanaka M, Okai Y, Ito Y, Yamamoto H, Ohno A, Nakata T, Nakane T, Kawai H, Taoka T, Muramatsu H, Naganawa S, Takahashi Y. Change of White Matter Integrity in Children With Hematopoietic Stem Cell Transplantation. **Pediatr Neurol.** 2020;111:78-84.
- 7) Torii Y, Horiba K, Hayano S, Kato T, Suzuki T,

Kawada JI, Takahashi Y, Kojima S, Okuno Y, Ogi T, Ito Y. Comprehensive pathogen detection in sera of Kawasaki disease patients by high-throughput sequencing: a retrospective exploratory study. **BMC Pediatr.** 2020;20(1):482.

- 8) Hama A, Muramatsu H, Narita A, Nishikawa E, Kawashima N, Nishio N, Kojima S, Takahashi Y. Risk factors for secondary poor graft function after bone marrow transplantation in children with acquired aplastic anemia. **Pediatr Transplant.** 2020;24(7):e13828.
- 9) Oka Y, Hamada M, Nakazawa Y, Muramatsu H, Okuno Y, Higasa K, Shimada M, Takeshima H, Hanada K, Hirano T, Kawakita T, Sakaguchi H, Ichimura T, Ozono S, Yuge K, Watanabe Y, Kotani Y, Yamane M, Kasugai Y, Tanaka M, Suganami T, Nakada S, Mitsutake N, Hara Y, Kato K, Mizuno S, Miyake N, Kawai Y, Tokunaga K, Nagasaki M, Kito S, Isoyama K, Onodera M, Kaneko H, Matsumoto N, Matsuda F, Matsuo K, Takahashi Y, Mashimo T, Kojima S, Ogi T. Digenic mutations in ALDH2 and ADH5 impair formaldehyde clearance and cause a multisystem disorder, AMeD syndrome. **Sci Adv.** 2020;6(51):eabd7197.

2. 学会発表

- 1) Narita A, Muramatsu H, Imaya M, Yamamori A, Yoshida T, Wakamatsu M, Miwata S, Narita K, Kitazawa H, Taniguchi R, Hamada M, Ichikawa D, Nishikawa E, Kawashima N, Okuno Y, Nishio N, Kojima S, Takahashi Y. Allogeneic stem cell transplantation from alternative donors for children with aplastic anemia. **the 47th EBMT Annual Meeting** (2021年3月14-17日, WEB) . (ポスター) .
- 2) Narita A, Ito Y, Muramatsu H, Hamada M, Ichikawa D, Nishikawa E, Kawashima N, Okuno Y, Nishio N, Torii Y, Kawada J, Yamazaki H, Nakao S, Kojima S, Takahashi Y. 重症再生不良性貧血における抗ヒト胸腺細胞ウサギ免疫グロブリンを用いた免疫抑制療法後のCMV/EBV再活性化. **第82回日本血液学会学術集会** (2020年10月10日-11月8日,

WEB) . (口頭) .

- 3) Hamada M, Muramatsu H, Okuno Y, Yamamori A, Yoshida T, Imaya M, Wakamatsu M, Miwata S, Narita K, Ichikawa D, Taniguchi R, Narita A, Kawashima N, Nishikawa E, Nishio N, Hama A, Ito M, Ogi T, Kojima S, Takahashi Y. 遺伝性骨髄不全症候群166例に対する全エクソン解析. **第82回日本血液学会学術集会** (2020年10月10日-11月8日, WEB) . (口頭) .
- 4) 川島希, 伊藤雅文, 成田幸太郎, 市川大輔, 西川英里, 成田敦, 村松秀城, 西尾信博, 小島勢二, 高橋義行. ファンコニー貧血を背景にモノソミー7を有する骨髄異形成症候群に対するアザシチジンの効果. **第62回日本小児血液・がん学会学術集会** (2020年11月20-22日, WEB) . (口頭) .
- 5) Narita A, Ito Y, Kawashima N, Okuno Y, Muramatsu H, Nishio N, Torii Y, Kawada J, Kojima S, Takahashi Y. Viral Reactivations in children with Aplastic Anemia Undergoing Allogeneic Hematopoietic Stem Cell Transplantation. **第62回日本小児血液・がん学会学術集会** (2020年11月20-22日, WEB) . (口頭) .
- 6) Hamada M, Muramatsu H, Okuno Y, Yamamori A, Taro Yoshida T, Imaya M, Wakamatsu M, Miwata S, Narita K, Ichikawa D, Taniguchi R, Narita A, Kawashima N, Nishikawa E, Nishio N, Hama A, Ito M, Ogi T, Kojima S, Takahashi Y. Diagnostic Whole Exome Sequencing for 166 Patients with Inherited Bone Marrow Failure Syndrome. **62nd ASH Annual Meeting and Exposition** (2020年12月5-8日, WEB) .
- 7) 成田敦, 津村悠介, 前村遼, 今屋雅之, 山森彩子, 吉田太郎, 若松学, 三輪田俊介, 成田幸太郎, 谷口理恵子, 濱田太立, 西川英里, 川島希, 奥野友介, 村松秀城, 西尾信博, 小島勢二, 高橋義行. 当施設におけるファンコニー貧血に対する造血幹細胞移植成績. **第43回日本造血細胞移植学会** (2021年3月4-6日, WEB) . (口頭) .

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし