

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

ファンconi貧血の遺伝子解析

研究分担者 高田 穰（京都大学大学院生命科学研究科 教授）

研究要旨：日本人でファンconi貧血（FA）を疑われた患者の遺伝子解析を継続実施している。本年度は、合計5例の症例解析の依頼を受け、実施した。また、FA類似の臨床症状を示し、その病態からFAの亜型とも考えられる新規の造血不全症ADH5/ALDH2欠損症（Aldehyde Degradation Deficiency症候群と命名）を論文報告した。

A. 研究目的

ファンconi貧血（FA）は骨髄不全、奇形、白血病、固形腫瘍などを呈し、稀ながらその重篤な症状と診断治療法の確立の遅れから特に小児の臨床に重大な問題となっている。典型的な症例では奇形などの外見上の特徴からも診断が可能な場合もあるが、非典型例、成人発症の軽症例、また遺伝子のリバージョンによるモザイク症例などでは、診断に至らず見逃され、化学療法時に重篤な副作用を発症するなどの可能性も指摘されている。逆に、FAでない症例に本症を疑ったために非適切なプロトコールによる造血幹細胞移植を行い、無効となることも考えられる。

臨床の現場で発症早期に確実な分子診断を得ることは、その後のフォロー、骨髄移植の実施と使用薬剤等の判断の上で重要と思われる。本研究では、できるだけ多数のFAと関連病態患者の分子診断結果を集積し、日本人FAと類似疾患の分子疫学を明らかにすることを目的として継続実施している。

B. 研究方法

日本各地の臨床家から送られたFAを疑われた患者サンプルからゲノムを分離し、必要に応じて、日本人FA患者で高頻度であることが判明している変異であるFANCA遺伝子c.2546delC、FANCG遺伝子c.307+1G>Cとc.1066C>Tについて、ゲノムPCRとサンガーシーケンスによる分子診断を施行した。また、患者によっては、我々が発見したFA類似症状を示すAldehyde Degradation Deficiency症候群を疑

って、同じく既知のADH5変異4種をPCRとシーケンスで検索した。ALDH2遺伝子型は、愛知がんセンターの松尾恵太郎博士から恵与された試薬を用いたTaqman PCR法によって決定した。

（倫理面への配慮）

本研究計画は、「ファンconi貧血と関連病態の原因遺伝子解析」として京都大学医の倫理委員会に申請し、G434号として承認を受けている。検体は京大への送付時にすべて匿名化されている。

C. 研究結果

2020年度は、5例のFAないしADD症候群の疑い症例を検索した。

- ① 若年者の再生不良性貧血症例で、ADD症候群を疑ってADH5の既知+変異を検索したが、正常であった。また、染色体脆弱性試験も正常で、FAとADD症候群は否定された。
- ② 60代の高齢患者で、名大でのターゲットエクソームの結果、FANCD2の両アレル変異が認められた。国内最高齢かつ初のFANCD2変異症例として報告した（日本血液学会ポスター）。
- ③ 小児の再生不良性貧血でFAが疑われ、ゲノムを検索したところ、FANCG変異（c. 1066C>T）が両アレルで同定された。
- ④ 若年発症のがん患者で、がん細胞においてターゲットエクソームでFANCGの片アレル変異が同定された患者のジャームラインの検索を依頼された。FANCGの変異はジャームラインでも片アレルであった。この患者は、固形がん以外、FAの症状所見はなく、染色体脆弱性もな

いことが判明し、FAではないと考えられた。
より広範なゲノム検索が適切と考えられた。

- ⑤ 臨床的にファンconi貧血に一致するが、ターゲットエクソームでFANCGが片アレル変異しか同定できない患児の父親から、直接電話でADH5の検索を依頼された。一応、さまざまな見地からその可能性はないことを伝えたが、希望が強く、主治医から検体が送られ、ADH5の既知変異部位を検索した。やはり異常は認められなかった。

D. 考察

このような活動を継続し、より多数の患者への分子診断を提供し、臨床情報を蓄積することで、今後の日本人FAおよびADD症候群の疫学を明らかにすることが重要である。特に、ADD症候群については、まだ確定した症例数も少なく、多数の症例を同定して、臨床像を明確にする努力が必要である。病態を明らかにする臨床研究を行い、その成果に基づいた診断基準やマネジメントガイドラインの策定が将来の目標である。

E. 結論

FAと関連疾患の病態と臨床疫学の解明、さらには臨床現場へのフィードバックを目的として、今後も研究継続が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mu A, Hira A, Niwa A, Osawa M, Yoshida K, Mori M, Okamoto Y, Inoue K, Kondo K, Kanemaki MT, Matsuda T, Ito E, Kojima S, Nakahata T, Ogawa S, Tanaka K, Matsuo K, Saito MK, Takata M. Analysis of disease model iPSCs derived from patients with a novel Fanconi anemia-like IBMFS *ADH5/ALDH2* deficiency. **Blood** 2021;1137(15):2021-2032. doi: 10.1182/blood.2020009111. PMID: 33512438.
- 2) Dingler FA, Wang M, Mu A, Millington CL, Oberbeck N, Watcham S, Pontel LB, Kamimae-Lanning AN, Langevin F, Nadler C, Cordell RL, Monks PS, Yu R, Wilson NK, Hira A,

Yoshida K, Mori M, Okamoto Y, Okuno Y, Muramatsu H, Shiraishi Y, Kobayashi M, Moriguchi T, Osumi T, Kato M, Miyano S, Ito E, Kojima S, Yabe H, Yabe M, Matsuo K, Ogawa S, Göttgens B, Hodskinson MRG, Takata M, Patel KJ. Two aldehyde clearance systems are essential to prevent lethal formaldehyde accumulation in mice and humans. **Mol Cell**. 2020 Dec 17;80(6):996-1012.e9. doi: 10.1016/j.molcel.2020.10.012. PMID: 33147438.

- 3) Sakamoto Y, Kokuta T, Teshigahara A, Iijima K, Kitao H, Takata M, Tauchi H. Mitotic cells can repair DNA double-strand breaks via a homology-directed pathway. **J Radiat Res**. 2021;62(1):25-33. doi: 10.1093/jrr/rraa095. PMID: 33009557.
- 4) Okamoto Y, Abe M, Mu A, Tempaku Y, Rogers CB, Mochizuki AL, Katsuki Y, Kanemaki MT, Takaori-Kondo A, Soback AT, Bielinsky AK, Takata M. SLFN11 promotes stalled fork degradation that underlies the phenotype in Fanconi anemia cells. **Blood** 2021 Jan 21;137(3):336-348. doi: 10.1182/blood.2019003782. PMID: 32735670.
- 5) Nakano T, Shoukamy MI, Tsuda M, Sasanuma H, Hirota K, Takata M, Masunaga SI, Takeda S, Ide H, Bessho T, Tano K. Participation of TDP1 in the repair of formaldehyde-induced DNA-protein cross-links in chicken DT40 cells. **PLoS One** 2020 Jun 26;15(6):e0234859. doi: 10.1371/journal.pone.0234859. eCollection 2020. PMID: 32589683.
- 6) Matsui M, Sakasai R, Abe M, Kimura Y, Kajita S, Torii W, Katsuki Y, Ishiai M, Iwabuchi K, Takata M, Nishi R. USP42 enhances homologous recombination repair by promoting R-loop resolution with a DNA-RNA helicase DHX9. **Oncogenesis** 2020 Jun 15;9(6):60. doi: 10.1038/s41389-020-00244-4. PMID: 32541651.
- 7) Hotta K, Yanai H, Ohashi K, Ninomiya K, Nakashima H, Kayatani H, Takata M, Kiura K. Pilot evaluation of a HER2 testing in

non-small-cell lung cancer. **J Clin Pathol.** 2020 Jun;73(6):353-357. doi: 10.1136/jclinpath-2019-206204. PMID: 31796633.

日本血液学会学術集会 (2020年10月11日-11月8日, WEB)。(ポスター)。

- 8) 望月綾子, 高田穰. 【特集 多様な疾患の原因となるDNA損傷応答不全】ファンconi貧血の原因遺伝子群とクロスリンク修復経路 最近の研究展開 Recent advances on the molecular function exerted by Fanconi anemia genes. **医学のあゆみ** 2021;274(12):1181-1188.
- 9) Katsuki Y, Jeggo PA, Uchihara Y, Takata M, Shibata A. DNA double-strand break end resection: a critical relay point for determining the pathway of repair and signaling. **Genome Instability & Disease** 2020;1(4):155-171.
- 10) 牟安峰, 平明日香, 松尾恵太郎, 高田穰. Aldehyde Degradation Deficiency (ADD) 症候群: アルデヒド代謝酵素欠損によるファンconi貧血症類似の新たな遺伝性骨髄不全症候群の発見. **臨床血液** 2021. (in press)

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

2. 学会発表

- 1) Okamoto Y, Abe M, Anfeng M, Tempaku Y, Rogers CB, Mochizuki AL, Katsuki Y, Kanemaki MT, Takaori-Kondo A, Soback A, Bielinsky AK, Takata M. Loss of *SLFN11* gene expression rescues the Fanconi anemia phenotype by stabilizing stalled replication forks. **2020 Fanconi Anemia Research Fund** (2020年9月15-17日, Virtual Scientific Symposia) .
- 2) Mu A, Hira A, Mori M, Okamoto Y, Takata M. Aldehyde clearance by ADH5 and ALDH2 is essential for human hematopoiesis. **2020 National Taiwan University-Kyoto University of Tsukuba Virtual-Physical students mini-symposium on Cancer Biology and Medicine Program** (2020年12月19日, Invited) .
- 3) 山本和彦, 森美奈子, 近藤英生, 池内一廣, 村松秀城, 奥野友介, 平明日香, 山本宜和, 新谷大悟, 吉田親正, 小島勢二, 高田穰, 今城健二. 60歳以上まで生存した日本初の *FANCD2* 変異ファンconi貧血の1例. **第82回**