

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 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23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16例中5例（31%）に既報の遺伝子変異を認めた。これまでに231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、132例（57.1%）に原因となるRP遺伝子および *GATA1* 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23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

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遺伝子の大欠失を解析した。

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、解析を行った。

C. 研究結果

本年度は、新規症例16例の遺伝子診断を行い、5例で既知の原因遺伝子（*RPS19* 3例、*RPS26* 1例、*GATA1* 1例）を同定した。これまでに231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、132例（57.1%）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) Ozono S, Yano S, Oishi S, Mitsuo M, Nakagawa S, Toki T, Terui K, Ito E. A Case of Congenital Leukemia With MYB-GATA1 Fusion Gene in a Female Patient. **J Pediatr Hematol Oncol.** 2021 Mar 3. doi: 10.1097/MPH.0000000000002119. [Epub ahead of print]
- 2) Yamato G, Deguchi T, Terui K, Toki T, Watanabe T, Imaizumi T, Hama A, Iwamoto S, Hasegawa D, Ueda T, Yokosuka T, Tanaka S, Yanagisawa R, Koh K, Saito AM, Horibe K, Hayashi Y, Adachi S, Mizutani S, Taga T, Ito E, Watanabe K, Muramatsu H. Predictive factors for the development of leukemia in patients with transient abnormal myelopoiesis and Down syndrome. **Leukemia** 2021;35(5):1480-1484. doi: 10.1038/s41375-021-01171-y.
- 3) Kudo K, Sato T, Takahashi Y, Yuzawa K, Kobayashi A, Kamio T, Sasaki S, Shimada J, Otani K, Tsuchimoto S, Kato M, Toki T, Terui K, Ito E. Association of Multiple Gene Polymorphisms Including Homozygous NUDT15 R139C With Thiopurine Intolerance During the Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia. **J Pediatr Hematol Oncol.** 2021 Mar 31. doi:

10.1097/MPH.0000000000002085. [Epub ahead of print]

- 4) Takafuji S, Mori T, Nishimura N, Yamamoto N, Uemura S, Nozu K, Terui K, Toki T, Ito E, Muramatsu H, Takahashi Y, Matsuo M, Yamamura T, Iijima K. Usefulness of functional splicing analysis to confirm precise disease pathogenesis in Diamond-Blackfan anemia caused by intronic variants in RPS19. **Pediatr Hematol Oncol.** 2021 Feb 24;1-16. doi: 10.1080/08880018.2021.1887984. [Epub ahead of print]
- 5) Taga T, Tanaka S, Hasegawa D, Terui K, Toki T, Iwamoto S, Hiramatsu H, Miyamura T, Hashii Y, Moritake H, Nakayama H, Takahashi H, Shimada A, Taki T, Ito E, Hama A, Ito M, Koh K, Hasegawa D, Saito AM, Adachi S, Tomizawa D. Post-induction MRD by FCM and GATA1-PCR are significant prognostic factors for myeloid leukemia of Down syndrome. **Leukemia** 2021 Feb 15. doi: 10.1038/s41375-021-01157-w. [Epub ahead of print]
- 6) Moritake H, Tanaka S, Miyamura T, Nakayama H, Shiba N, Shimada A, Terui K, Yuza Y, Koh K, Goto H, Kakuda H, Saito A, Hasegawa D, Iwamoto S, Taga T, Adachi S, Tomizawa D. The outcomes of relapsed acute myeloid leukemia in children: Results from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group AML-05R study. **Pediatr Blood Cancer.** 2021;68(1):e28736.
- 7) 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. [Epub ahead of print]

- 8) Hasegawa D, Tawa A, Tomizawa D, Watanabe T, Saito AM, Kudo K, Taga T, Iwamoto S, Shimada A, Terui K, Moritake H, Kinoshita A, Takahashi H, Nakayama H, Koh K, Goto H, Kosaka Y, Miyachi H, Horibe K, Nakahata T, Adachi S. Attempts to optimize postinduction treatment in childhood acute myeloid leukemia without core-binding factors: A report from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG). **Pediatr Blood Cancer**. 2020;67(12):e28692.
- 9) Aoki T, Takahashi H, Tanaka S, Shiba N, Hasegawa D, Iwamoto S, Terui K, Moritake H, Nakayama H, Shimada A, Koh K, Goto H, Kosaka Y, Saito AM, Horibe K, Kinoshita A, Tawa A, Taga T, Adachi S, Tomizawa D. Predisposition to prolonged neutropenia after chemotherapy for paediatric acute myeloid leukaemia is associated with better prognosis in the Japanese Paediatric Leukaemia/Lymphoma Study Group AML-05 study. **Br J Haematol**. 2021;193(1):176-80.
- 10) Osonoi K, Kudo K, Kobayashi A, Matsukura D, Tanaka K, Terui K, Ito E. Comprehensive evaluation including ultrasound monitoring of fetal hemolytic disease in Rhesus E incompatibility. **弘前医学** 2020;71(1):71-74.
- 11) 照井君典, 伊藤悦朗. 【造血管腫瘍学 (第2版) - 基礎と臨床の最新研究動向 - 】小児造血管腫瘍の臨床 その他 Down症に伴う骨髄増殖症. **日本臨床増刊号** 2020;78:696-701.
- 12) 照井君典, 伊藤悦朗. Down症候群における前白血病状態から骨髄性白血病移行の分子病態. **血液内科** 2020;80(3):415-421.
- 13) 照井君典, 伊藤悦朗. Down症候群関連白血病の分子病態. **小児科診療** 2020;83(4):497-504.

2. 学会発表

- 1) Moritake H, Tanaka S, Miyamura T, Nakayama H, Shiba N, Shimada A, Terui K, Yuza Y, Koh K, Goto H, Kakuda H, Saito AM, Hasegawa D, Iwamoto S, Taga T, Adachi S, Tomizawa D. Etoposide, Cytarabine and Mitoxantrone- or Fludarabine, Cytarabine and Granulocyte

Colony-Stimulating Factor-Based Intensive Reinduction Chemotherapy Is Recommended for Children with Relapsed Acute Myeloid Leukemia: The Results from the Japanese Pediatric Leukemia/Lymphoma Study Group (JPLSG) AML-05R Study. **American Society of Hematology 62th Annual Meeting** (2020年12月5-8日, WEB). (ポスター).

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし