

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2例の症例解析の依頼を受け、実施した。

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で重大な問題となっている。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する。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する。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法によって決定する。

（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

2021年度は、2例のFA症例を検索した。

① 若年者の再生不良性貧血症例で、名古屋大学の

ターゲットシーケンスでFANCGのホモ変異を検出された症例について依頼を受け、サンガーシーケンスによる確定を行った。ターゲットシーケンスの結果は正しいことが確認された。さらにALDH2遺伝子型を検索し、GG型であることが判明した。

② 身体的特徴や染色体断裂試験の結果から、FAと診断され、近日造血幹細胞移植予定の患児について、FA遺伝子異常の検索依頼があった。末梢血よりのゲノムを検索したところ、FANCAのc.2536delC変異がヘテロで見つかり、一方、FANCGのc.307+1G>C, c.1066C>Tについては検出されなかった。なお、FANCGのT297I変異が見つかったが、これはbenignとされている。したがって、この患児はFANCAの変異によって発症している可能性が（極めて）高いと考えられた。もう一方のアレルのFANCA変異は、我々の検索では見つけることができずMLPAないし次世代による検索が必要とコメントした。

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および関連病態の疫学を明らかにすることが重要である。そのためには、研究の継続性が重要であり、データとサンプルのRepositoryの体制を整えることが必要と思われる。

E. 結論

今後もこのような研究を継続し、患者データを蓄積していくことが重要と思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Katsuki Y, Abe M, Park SY, Wu W, Yabe H, Yabe M, van Attikum H, Nakada S, Ohta T, Seidman MM, Kim Y, Takata M. RNF168 E3 ligase participates in ubiquitin signaling and recruitment of SLX4 during DNA crosslink repair. **Cell Rep**. 2021 Oct 26;37(4):109879. doi: 10.1016/j.celrep.2021.109879.
- 2) Xu X, Xu Y, Guo R, Xu R, Fu C, Xing M, Sasanuma H, Li Q, Takata M, Takeda S, Guo R, Xu D. Fanconi anemia proteins participate in a break-induced-replication-like pathway to counter replication stress. **Nat Struct Mol Biol**. 2021 Jun;28(6):487-500. doi: 10.1038/s41594-021-00602-9.
- 3) 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 Apr 15;137(15):2021-2032. doi: 10.1182/blood.2020009111.
- 4) 牟安峰, 高田穰. Aldehyde Degradation Deficiency (ADD) 症候群: アルデヒド代謝酵素 ADH5/ALDH2 欠損による新規遺伝性再生不良性貧血. **生化学** 2022;94(1):122-127.
- 5) 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;62(6):547-553.
- 6) 牟安峰, 高田穰. iPS 細胞を用いたファンconi 貧血研究の新展開 (解説). **血液内科** 2021;83(6):824-829.

2. 学会発表

- 1) Mu A, Hira A, Niwa A, Osawa M, Mori M, Okamoto Y, Saito MK, Takata M. Discovery of a novel FA-like disorder Aldehyde Degradation Deficiency (ADD) Syndrome caused by ADH5/ALDH2 mutations. Understanding and treating hematopoietic failure and malignant

predisposition in Fanconi anemia. **33rd Fanconi anemia Research Fund Scientific Symposium** (2021年7月16日, virtual events) .

- 2) 岡本裕介, 牟安峰, 望月綾子, 勝木陽子, 高折晃史, 高田穰. (招待講演) SLFN11 promotes stalled fork degradation that underlies the phenotype in Fanconi anemia cells. **第16回血液学若手研究者勉強会 (麒麟塾)** (2021年6月19日, Web開催) .
- 3) 勝木陽子, 安倍昌子, Park SY, 呉文文, 矢部善正, 矢部みはる, van Attikum H, 中田慎一郎, 太田智彦, Seidman MM, Kim Y, 高田穰. (ワークショップ) RNF168は複製依存的DNAクロスリンク修復因子SLX4のユビキチン化経路を介したリクルートを制御する. **第44回日本分子生物学会年会** (2021年12月1日-3日, 横浜 (ハイブリッド開催)) . (口演) .
- 4) 高田穰, Erin A, 小川みのり, 勝木陽子, 岡本祐介, Andres C, 望月綾子, 牟安峰. (ワークショップ) SLFN11 と SLFN ファミリー機能の統一的理解を目指して. **第 44 回日本分子生物学会年会** (2021年12月1日-3日, 横浜 (ハイブリッド開催)) . (口演) .
- 5) 牟安峰, 平明日香, 丹羽明, 大澤光次郎, 森美奈子, 岡本裕介, 齋藤潤, 高田穰. (ワークショップ) 新規遺伝性骨髄不全症アルデヒド分解不全 (ADD) 症候群の発見: 代謝異常によって引き起こされるゲノム不安定性. **第 44 回日本分子生物学会年会** (2021年12月1日-3日, 横浜 (ハイブリッド開催)) . (口演) .
- 6) Takata M. (invited lecture) SLFN11: a gene that links sensitivities to cancer chemotherapy and degradation of stalled replication forks. **Kyoto University-UCLA online seminar New developments in Cancer Research** (2022年3月23日, Web開催) .
- 7) Takata M. (invited, Keynote lecture) “Genome Action” Responses to replication stress and human disease mechanisms. **第 12 回群馬大学未来先端研究機構国際シンポジウム** (2022年3月1日-2日, 前橋 (ハイブリッド開催)) .

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし