

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 22 例中 7 例（32%）に既報の遺伝子変異を認めた。これまでに 249 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、141 例（56.6%）に原因となる RP 遺伝子および *GATA1* 遺伝子変異を見出した。これまでのデータをもとに、エビデンスに基づいた「DBA の診療ガイドライン」の改訂を行い、日本小児血液・がん学会で承認を受けた。

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、5q-症候群の原因遺伝子 *RPS14* および私達が見出した新規骨髄不全症の原因遺伝子 *TP53* 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。変異が同定されない場合は、両親の検

体と一緒にエクソーム解析を行い、原因遺伝子の同定を進めた。

得られたデータをもとに、エビデンスに基づいた診断基準の改訂、重症度分類の策定および診断・治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、解析を行った。

C. 研究結果

本年度は、新規症例 22 例の遺伝子診断を行い、7 例で既知の原因遺伝子（*RPS19* 4 例、*RPS26* 1 例、*RPL11* 1 例、*GATA1* 1 例）を同定した。これまでに 249 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、原因遺伝子変異を見出した症例数は、141 例（56.6%）となった。これまでのデータをもとに、エビデンスに基づいた「DBA の診療ガイドライン」の改訂を行い、日本小児血液・がん学会で承認を受けた。

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DBAの診療ガイドラインの改訂を行った。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DBAの診療ガイドラインの改訂を行い、日本小児血液・がん学会で承認を受けた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kudo K, Toki T, Kanezaki R, Tanaka T, Kamio T, Sato T, Sasaki S, Imamura M, Imai C, Ando K, Kakuda H, Doi T, Kawaguchi H, Irie M, Sasahara Y, Tamura A, Hasegawa D, Itakura Y, Watanabe K, Sakamoto K, Shioda Y, Kato M, Kudo K, Fukano R, Sato A, Yagasaki H, Kanegane H, Kato I, Umeda K, Adachi S, Kataoka T, Kurose A, Nakazawa A, Terui K, Ito E. *BRAF^{V600E}-positive cells as molecular markers of bone marrow disease in pediatric Langerhans cell histiocytosis. Haematologica.* 2022 Mar 17. doi: 10.3324/haematol.2021.279857. [Online ahead of print]
- 2) Kudo K, Kubota Y, Toki T, Kanezaki R, Kobayashi A, Sato T, Kamio T, Sasaki S, Shiba N, Tomizawa D, Yoshida K, Ogawa S, Seki M, Takita J, Ito E, Terui K. Childhood acute myeloid leukemia with 5q deletion and HNRNPH1-MLLT10 fusion: The first case report. *Blood Adv.* 2022 Feb 9;bloodadvances. 2021006383. doi: 10.1182/bloodadvances. 2021006383. [Online ahead of print]
- 3) Takahashi Y, Kudo K, Ogawa K, Sato T, Kamio T, Sasaki S, Kobayashi A, Ito T, Yamamoto T, Asano K, Ohkuma H, Kurose A, Ito E, Terui K. Isolated Bone Recurrence of Medulloblastoma With MYCN Amplification and TP53 Loss: A Case Report. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2022 Mar

1;44(2):e593-e596. doi: 10.1097/MPH. 0000000000002234.

- 4) Karasawa T, Kudo K, Tanita K, Takahashi Y, Kanegane H, Terui K. Epstein-Barr Virus-Negative Granulomatous Disease Due to SAP Deficiency. *J Clin Immunol.* 2021 Aug;41(6):1372-1375. doi: 10.1007/s10875-021-01032-4.
- 5) 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.* 2022 Jan 1;44(1):e250-e252. doi: 10.1097/MPH. 0000000000002119.
- 6) 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 May;35(5):1480-1484. doi: 10.1038/s41375-021-01171-y.
- 7) Kudo K, Sato T, Takahashi Y, Yuzawa K, Kobayashi A, Kamio T, Sasaki S, Shimada J, Otani K, Tuszimoto 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 Nov 1;43(8):e1173-e1176. doi: 10.1097/MPH. 0000000000002085.
- 8) 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 Sep;38(6):515-527. doi: 10.1080/08880018.2021. 1887984.
- 9) 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 Sep;35(9):2508-2516. doi: 10.1038/s41375-021-01157-w.

- 10) 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 Jan;68(1):e28736. doi: 10.1002/pbc.28736.
- 11) Koyamaishi S, Kamio T, Kobayashi A, Sato T, Kudo K, Sasaki S, Kanezaki 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**. 2021 May;56(5):1013-1020. doi: 10.1038/s41409-020-01056-1.
- 12) 伊藤悦朗, 土岐力, 神尾卓哉, 照井君典. 遺伝性骨髄不全症候群の新知見. **臨床血液** 2021;62(10):1455-1464.
- 13) 神尾卓哉, 照井君典. 遺伝性貧血. **小児内科** 2021;53(7):1065-1068.

2. 学会発表

- 1) Yamato G, Park MJ, Shimada A, Shiba N, Yamada Y, Terui K, Ito E, Muramatsu H, Watanabe K, Hayashi Y. Cytokine Analysis in 154 Patients with transient abnormal myelopoiesis: JCCG JPLSG TAM-10 clinical study. **The 63th American Society of Hematology** (2021年12月11日-14日, 米国・アトランタ (ハイブリッド開催)). (ポスター).
- 2) Matsuo H, Yoshida K, Nannya Y, Ito Y, Saito S,

Koga Y, Moritake H, Terui K, Kawaguchi K, Okamoto Y, Nakayama H, Kanno M, Hino M, Akane Y, Inoue A, Shimada A, Goto H, Ueno H, Takita J, Yamato G, Shiba N, Hayashi Y, Shiraishi Y, Miyano S, Kiyokawa N, Tomizawa D, Taga T, Tawa A, Ogawa S, Adachi S. Clonal evolution pattern and prognostic significance of clonal architecture in KMT2A-rearranged acute myeloid leukemia. **The 63th American Society of Hematology** (2021年12月11日-14日, 米国・アトランタ (ハイブリッド開催)). (ポスター).

- 3) 小林明恵, 大高龍星, 土岐力, 金崎里香, 高橋佑果, 佐藤知彦, 神尾卓哉, 工藤耕, 佐々木伸也, 村松秀城, 原純一, 菅野仁, 照井君典, 伊藤悦朗. Dyserythropoietic anemia with an intronic *GATA1* splicing mutation in patients suspected to have DBA. **第83回日本血液学会学術総会** (2021年9月23日-25日, 仙台 (Web開催)).

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし