

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

FAの臨床データ解析・遺伝子診断・診療ガイドラインの作成

研究分担者 矢部普正（東海大学医学部基盤診療学系先端医療科学 教授）

研究要旨：日本人ファンconi貧血患者 117 人における 113 例の責任遺伝子、213 の変異アレルを同定し、臨床病態と比較してガイドラインに反映した。また、163 例の造血細胞移植成績を解析し、MDS/白血病移行例や 15 例の固形がん発症例の予後不良について報告した。同時に固形がん予防のため、移植前処置の放射線照射として VMAT 併用 TAI を導入し、口腔・食道被曝量を 0.6 Gy まで減量して生着を得ることに成功した。この間、京都大学、ケンブリッジ大学との共同研究で、新規遺伝性骨髄不全症候群であるアルデヒド分解酵素欠損症候群を発見した。

A. 研究目的

ファンconi貧血 (FA) はDNA修復障害を基本病態とし、骨髄不全や高頻度の発がんを特徴とする遺伝性骨髄不全症候群である。本研究では、我が国におけるFAの病態や遺伝子異常および臨床症状を明らかにし、診断基準や重症度基準を見直し、予後不良因子に対応した移植方法を開発して、FAの診療ガイドラインを確立することを目的とする。また、骨髄不全に対しては非血縁ドナーを含めて造血細胞移植 (HSCT) の著しい成績向上が得られるようになったが、成人後の頭頸部がん、食道がんが高頻度に合併するため、生着不全を増加させることなく発がん頻度を低下させるような前処置の放射線照射量の減量を試みた。

B. 研究方法

末梢血リンパ球における染色体脆弱検査と臨床症状とあわせてFAのスクリーニングを行い、FA遺伝子については、名古屋大学のターゲットシーケンスの結果に基づき、京都大学放射線生物研究センター高田穰研究室による解析を加えて検討された。以上で同定されなかった例では全ゲノムシーケンスおよびRNAシーケンスを用いた。さらに京都大学にてアルデヒド分解酵素 (ALDH2) の変異を解析し、臨床データと合わせて臨床病態との関連を検討した。国際的にはインドとの共同研究で、南アジアに多い変異の同定と臨床病態との関連を検討し、ケンブリッジ大学、京都大学との共同研究で新規遺伝

性骨髄不全症候群の解明を行った。従来の研究で、造血細胞移植による骨髄不全の克服で予後が改善したものの、長期的には固形がんの合併が問題となるため、口腔・食道がんの防止として、VMAT (Volumetric modulated arc therapy) を用いて当該部位の被曝量を0.6Gyまで減量した前処置を試みた。以上の結果を踏まえてFAの重症度基準、診療ガイドラインの作成および改訂を行った。

(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」と「臨床研究に関する倫理指針を順守し、インフォームドコンセントに基づいた研究の計画を実施している。「ファンconi貧血とその類縁疾患の原因遺伝子の探索および病態解明の研究」が東海大学倫理委員会で承認されている。

C. 研究結果

117例の日本人FA患者の原因遺伝子の解析を進め、最終的に113例の原因遺伝子を特定し、213の変異アレルを同定し、*FANCA*が58%、*FANCG*が25%とこの両方で全体の80%を占め、3番目は*FANCB*であった。原因遺伝子と表現型との関連では、FA-G患者はFA-A患者に比べて骨髄不全の発症時期が早いことが判明し、これがさらにアルデヒド代謝酵素遺伝子型によって修飾されていた。また、先天性の形成異常との関連では、重症の*FACTERL-H*異常が、詳細な臨床情報のある108例中10例に認められ、特にFA-B、FA-Iの患者で重症であった。我が国では稀な*FANCL*

がインドなど南アジアに多いことが明らかになったが、臨床病態には大きな差違は認めなかった。この間、FA類似症候群でありながらFAの診断ができなかった例に対する病態解析を行い、京都大学、ケンブリッジ大学との共同研究で新規遺伝性骨髄不全症候群であるアルデヒド分解酵素欠損症候群を発見した。

日本造血細胞移植データセンターに登録された我が国の成人を含むFA貧血患者163例における進行期別（再不貧118例、MDS30例、白血病15例）の成績では、多変量解析で移植時年齢18歳以上、ATG/ALGを用いない前処置、Grade II -IVの急性GVHDが予後不良因子であることが示された。15例に二次がんの合併を認め、うち12例は頭頸部がん、食道がんで、3例は舌がん（2例）あるいは食道がんで死亡したが、9例は移植後6～19年を経て生存中である。残る3例はドナー細胞で発症したAML、非ホジキンリンパ腫、肝炎後の肝がんがそれぞれ1例で、いずれも二次がんにより死亡した。

VMAT併用移植前処置はFA4例、先天性角化異常症（DKC）1例の計5例を対象に、HLA不一致の血縁（1例はハプロ一致）移植2例、HLA一致非血縁移植2例、HLA不一致非血縁1例（移植細胞はいずれも骨髄）を行い、全例で速やかな生着が得られ、STR法でドナータイプが確認された。急性および慢性GVHDも問題なく、全例が移植後8～44ヶ月を経て生存中である。

D. 考察

遺伝性骨髄不全症候群の原因遺伝子の同定はしばしば困難であるが、117例中113例（97%）で原因遺伝子を同定し、その結果として我が国のFA患者の疫学、臨床病態を解明することができた。効率的な遺伝子診断のためには今回得られた疫学情報は極めて有用である。また、民族性の違いの可能性も明らかになり、今後の国際共同研究に重要な情報となった。

FAの治療は造血細胞移植により骨髄不全や血液腫瘍による死亡が著しく減少し、1980年代には18歳と言われていた平均寿命は30歳前後まで伸びている。一方で、長期生存に伴い、二次がんは次の大きな障壁となっており、その対策は急務である。今回、163例という過去最多の症例数をもとに、FA患者の長期生存率と予後不良因子の解析を行った。再不貧群の移植後成績は世界的に見ても良好であり、特にMDS/

白血病群における予後不良因子に注目すると、移植時年齢18歳以上、ATG/ALGを用いない前処置、Grade II -IVの急性GVHDが抽出された。

治療においては造血細胞移植の成績が著しく向上したものの、特に20歳以上に至った長期生存例での固形がんの発症が問題となってきており、その対策が急務である。我々は口腔・食道がん発症防止のために、局所的な照射量の減量を試みた。具体的にはVMATの採用により、口腔・食道の照射量を0.6Gyまで減量しつつ、安定した生着が得られることを証明した。放射線の減量は免疫抑制効果の減弱によって生着不全の増加を招く可能性があるが、今回はハプロ一致を含むHLA不一致血縁ドナーやHLA不一致非血縁ドナーからのHSCTで、しかもDKCの1例は200回を超える頻回輸血例にもかかわらず、順調な生着を得ることができた。VMATの発がんに対する有効性を証明するには長期の観察を要するが、世界初のFAにおける放射線の減量成功となった。

E. 結論

日本人FA患者の遺伝子解析を行い、ほぼ全例の責任遺伝子を明らかにすることで、臨床病態の解明や効率的な診断方法の提案に結びつけることができ、ガイドライン作成上も極めて有用であった。FA患者の長期予後とQOLの維持には、予後不良因子に対応した移植方法の確立と移植後合併症の管理を行った上で、慎重かつ丁寧なフォローアップが必要である。VMAT併用TAIの採用により、拒絶頻度を増加させることなく、口腔・食道被曝量の減量が可能であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kato K, Yabe H, Shimozawa N, Adachi S, Kurokawa M, Hashii Y, Sato A, Yoshida N, Kaga M, Onodera O, Kato S, Atsuta Y, Morio T. Stem cell transplantation for pediatric patients with adrenoleukodystrophy: A nationwide retrospective analysis in Japan. **Pediatr Transplant.** 2022 Feb;26(1):e14125. doi: 10.1111/ptr.14125. PMID: 34661325.
- 2) Hayakawa A, Sato I, Kamibeppu K, Ishida Y, Inoue M, Sato A, Shiohara M, Yabe H, Koike K, Adachi S, Atsuta Y, Yamashita T, Kanda Y, Okamoto S.

- Impact of chronic GVHD on QOL assessed by visual analogue scale in pediatric HSCT survivors and differences between raters: a cross-sectional observational study in Japan. **Int J Hematol.** 2022 Jan;115(1):123-128. doi: 10.1007/s12185-021-03227-2. PMID: 34601694.
- 3) Mikami K, Akama F, Kimoto K, Okazawa H, Orihashi Y, Onishi Y, Takahashi Y, Yabe H, Yamamoto K, Matsumoto H. Iron supplementation for hypoferritinemia-related psychological symptoms in children and adolescents. **J Nippon Med Sch.** 2022 May 12;89(2):203-211. doi: 10.1272/jnms.JNMS.2022_89-216.
 - 4) 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. PMID: 34706224.
 - 5) Miyamoto S, Umeda K, Kurata M, Nishimura A, Yanagimachi M, Ishimura M, Sato M, Shigemura T, Kato M, Sasahara Y, Iguchi A, Koike T, Takahashi Y, Kajiwara M, Inoue M, Hashii Y, Yabe H, Kato K, Atsuta Y, Imai K, Morio T. Hematopoietic Cell Transplantation for Severe Combined Immunodeficiency Patients: a Japanese Retrospective Study. **J Clin Immunol.** 2021 Nov;41(8):1865-1877. doi: 10.1007/s10875-021-01112-5. PMID: 34448087.
 - 6) Kada A, Kikuta A, Saito AM, Kato K, Iguchi A, Yabe H, Ishida H, Hyakuna N, Takahashi Y, Nagasawa M, Hashii Y, Umeda K, Matsumoto K, Fujisaki H, Yano M, Nakazawa Y, Sano H. Single-Arm Non-Blinded Multicenter Clinical Trial on T-Cell-Replete Haploidentical Stem Cell Transplantation Using Low-Dose Antithymocyte Globulin for Relapsed and Refractory Pediatric Acute Leukemia. **Kurume Med J.** 2021 Oct 6;66(3):161-168. doi: 10.2739/kurumemedj.MS663004. PMID: 34421094.
 - 7) Yabe T, Satake M, Odajima T, Watanabe-Okochi N, Azuma F, Kashiwase K, Matsumoto K, Orihara T, Yabe H, Kato S, Kato K, Kai S, Mori T, Morishima S, Takanashi M, Nakajima K, Murata M, Morishima Y. Combined impact of HLA-allele matching and the CD34-positive cell dose on optimal unit selection for single-unit cord blood transplantation in adults. **Leuk Lymphoma.** 2021 Nov;62(11):2737-2746. doi: 10.1080/10428194.2021.1929958. PMID: 34128753.
 - 8) Kanda Y, Inoue M, Uchida N, Onishi Y, Kamata R, Kotaki M, Kobayashi R, Tanaka J, Fukuda T, Fujii N, Miyamura K, Mori SI, Mori Y, Morishima Y, Yabe H, Kodera Y. Cryopreservation of Unrelated Hematopoietic Stem Cells from a Blood and Marrow Donor Bank During the COVID-19 Pandemic: A Nationwide Survey by the Japan Marrow Donor Program. **Transplant Cell Ther.** 2021 Aug;27(8):664.e1-664.e6. doi: 10.1016/j.jtct.2021.04.022. PMID: 33964514.
 - 9) 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. doi: 10.1007/s12185-020-02991-x. PMID: 32949371.
 - 10) 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;56(5):1013-1020. doi: 10.1038/s41409-020-01056-1. PMID: 32948829.
 - 11) 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;80(6):996-1012.e9. doi: 10.1016/j.molcel.2020.10.012. PMID: 33147438.
- 12) 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 Jul;55(7):1272-1281. doi: 10.1038/s41409-020-0948-8. Epub 2020 May 23. PMID: 32444864.
- 13) Mori M, Hira A, Yoshida K, Muramatsu H, Okuno Y, Shiraishi Y, Anmae M, Yasuda J, Tadaka S, Kinoshita K, Osumi T, Noguchi Y, Adachi S, Kobayashi R, Kawabata H, Imai K, Morio T, Tamura K, Takaori-Kondo A, Yamamoto M, Miyano S, Kojima S, Ito E, Ogawa S, Matsuo K, Yabe H, Yabe M, Takata M. Pathogenic mutations identified by a multimodality approach in 117 Japanese Fanconi anemia patients. **Haematologica.** 2020 Apr;105(4):1166-1167. doi: 10.3324/haematol.2019.245720.
- 14) Yabe H, Tabuchi K, Uchida N, Takahashi S, Onishi Y, Aotsuka N, Sugio Y, Ikegame K, Ichinohe T, Takanashi M, Kato K, Atsuta Y, Kanda Y. Could the minimum number of hematopoietic stem cells to obtain engraftment exist in unrelated, single cord blood transplantation? **Br J Haematol.** 2020;189(2):e56-e60. doi: 10.1111/bjh.16465. PMID: 32108331.
- 15) Donovan FX, Solanki A, Mori M, Chavan N, George M, Kumar C S, Okuno Y, Muramatsu H, Yoshida K, Shimamoto A, Takaori-Kondo A, Yabe H, Ogawa S, Kojima S, Yabe M, Ramanagoudr-Bhojappa R, Smogorzewska A, Mohan S, Rajendran A, Auerbach AD, Takata M, Chandrasekharappa SC, Vundinti BR. A founder variant in the South Asian population leads to a high prevalence of FANCL Fanconi anemia cases in India. **Hum Mutat.** 2020;41(1):122-128.
- 16) Mori M, Hira A, Yoshida K, Muramatsu H, Okuno Y, Shiraishi Y, Anmae M, Yasuda J, Tadaka S, Kinoshita K, Osumi T, Noguchi Y, Adachi S, Kobayashi R, Kawabata H, Imai K, Morio T, Tamura K, Takaori-Kondo A, Yamamoto M, Miyano S, Kojima S, Ito E, Ogawa S, Matsuo K, Yabe H, Yabe M, Takata M. Pathogenic mutations identified by a multimodality approach in 117 Japanese Fanconi anemia patients. **Haematologica.** 2020;105(4):1166-1167.
- 17) Hyakuna N, Hashii Y, Ishida H, Umeda K, Takahashi Y, Nagasawa M, Yabe H, Nakazawa Y, Koh K, Goto H, Fujisaki H, Matsumoto K, Kakuda H, Yano M, Tawa A, Tomizawa D, Taga T, Adachi S, Kato K. Retrospective analysis of children with high-risk acute myeloid leukemia who underwent allogeneic hematopoietic stem cell transplantation following complete remission with initial induction chemotherapy in the AML-05 clinical trial. **Pediatr Blood Cancer.** 2019 Oct;66(10):e27875. doi: 10.1002/pbc.27875. Epub 2019 Jul 16.
- 18) Iguchi A, Cho Y, Yabe H, Kato S, Kato K, Hara J, Koh K, Takita J, Ishihara T, Inoue M, Imai K, Nakayama H, Hashii Y, Morimoto A, Atsuta Y, Morio T; Hereditary disorder Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Long-term outcome and chimerism in patients with Wiskott-Aldrich syndrome treated by hematopoietic cell transplantation: a retrospective nationwide survey. **Int J Hematol.** 2019;110:364-369. doi: 10.1007/s12185-019-02686-y. PMID: 31187438.
- 19) Matsuda M, Ono R, Iyoda T, Endo T, Iwasaki M, Tomizawa-Murasawa M, Saito Y, Kaneko A,

- Shimizu K, Yamada D, Ogonuki N, Watanabe T, Nakayama M, Koseki Y, Kezuka-Shiotani F, Hasegawa T, Yabe H, Kato S, Ogura A, Shultz LD, Ohara O, Taniguchi M, Koseki H, Fujii SI, Ishikawa F. Human NK cell development in hIL-7 and hIL-15 knockin NOD/SCID/IL2rgKO mice. **Life Sci Alliance**. 2019 Apr 1;2(2). pii: e201800195. doi: 10.26508/lsa.201800195. PMID: 30936185.
- 20) Taylor M, Khan S, Stapleton M, Wang J, Chen J, Wynn R, Yabe H, Chinen Y, Boelens JJ, Mason RW, Kubaski F, Horovitz DDG, Barth AL, Serafini M, Bernardo ME, Kobayashi H, Orii KE, Suzuki Y, Orii T, Tomatsu S. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Mucopolysaccharidoses: Past, Present, and Future. **Biol Blood Marrow Transplant**. 2019;25(7):e226-e246. doi: 10.1016/j.bbmt.2019.02.012.
- 21) Ono R, Watanabe T, Kawakami E, Iwasaki M, Tomizawa-Murasawa M, Matsuda M, Najima Y, Takagi S, Fujiki S, Sato R, Mochizuki Y, Yoshida H, Sato K, Yabe H, Kato S, Saito Y, Taniguchi S, Shultz LD, Ohara O, Amagai M, Koseki H, Ishikawa F. Co-activation of macrophages and T cells contribute to chronic GVHD in human IL-6 transgenic humanised mouse model. **EBioMedicine**. 2019 Mar;41:584-596. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.02.001.
- 22) Yamazaki N, Kosuga M, Kida K, Takei G, Fukuhara Y, Matsumoto H, Senda M, Honda A, Ishiguro A, Koike T, Yabe H, Okuyama T. Early enzyme replacement therapy enables a successful hematopoietic stem cell transplantation in mucopolysaccharidosis type IH: Divergent clinical outcomes in two Japanese siblings. **Brain Dev**. 2019;41(6):546-550. doi: 10.1016/j.braindev.2019.01.008.
- 23) Miyamura K, Yamashita T, Atsuta Y, Ichinohe T, Kato K, Uchida N, Fukuda T, Ohashi K, Ogawa H, Eto T, Inoue M, Takahashi S, Mori T, Kanamori H, Yabe H, Hama A, Okamoto S, Inamoto Y. High probability of follow-up termination among AYA survivors after allogeneic hematopoietic cell transplantation. **Blood Adv**. 2019 Feb 12;3(3):397-405.
- 24) Okamoto Y, Kudo K, Tabuchi K, Tomizawa D, Taga T, Goto H, Yabe H, Nakazawa Y, Koh K, Ikegame K, Yoshida N, Uchida N, Watanabe K, Koga Y, Inoue M, Kato K, Atsuta Y, Ishida H. Hematopoietic stem-cell transplantation in children with refractory acute myeloid leukemia. **Bone Marrow Transplant**. 2019 Sep;54(9):1489-1498. doi: 10.1038/s41409-019-0461-0.
- 25) Kawashima N, Iida M, Suzuki R, Fukuda T, Atsuta Y, Hashii Y, Inoue M, Kobayashi M, Yabe H, Okada K, Adachi S, Yuza Y, Kawa K, Kato K. Prophylaxis and treatment with mycophenolate mofetil in children with graft-versus-host disease undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a nationwide survey in Japan. **Int J Hematol**. 2019 Apr;109(4):491-498. doi: 10.1007/s12185-019-02601-5.
2. 学会発表
- 1) 秋山康介, 森本克, 小池隆志, 今井枝里, 外山大輔, 金子綾太, 藤田祥央, 小金澤征也, 山本将平, 望月博之, 矢部普正. Full-dose BuによるBMT後に精子を保存し、TBIを含む再移植後に凍結精子で妊娠した1例. **第43回日本造血細胞移植学会** (2021年3月5日-7日, 東京 (ハイブリッド開催)).
- 2) 小池隆志, 今井枝里, 大坪慶輔, 秋山康介, 外山大輔, 金子綾太, 藤田祥央, 小金澤征也, 山本将平, 望月博之, 矢部普正. 骨髄採取シミュレーターの開発. **第43回日本造血細胞移植学会** (2021年3月5日-7日, 東京 (ハイブリッド開催)).
- 3) 矢部普正, 川端奈央子, 藤田祥央, 秋山康介, 外山大輔, 山本将平, 小池隆志, 内山温. ムコ多糖症IVAに対する同種造血幹細胞移植. **第62回日本先天代謝異常学会** (2021年11月4日-6日, 名古屋 (ハイブリッド開催)).
- 4) 矢部普正. 造血幹細胞採取ドナーの安全性. **第69回日本輸血細胞治療学会** (2021年6月4日-6日, 東京 (ハイブリッド開催)).
- 5) 藤田祥央, 金子綾太, 秋山康介, 外山大輔, 小

金澤征也, 大坪慶輔, 小池隆志, 望月博之, 山本将平, 矢部みはる, 矢部普正, 高田穰. ALDH2 変異の異なるファンconi貧血の兄弟例. **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)).

- 6) 山本将平, 矢部みはる, 矢部普正, 藤田祥央, 金子綾太, 秋山康介, 外山大輔, 小金澤征也, 大坪慶輔, 小池隆志, 望月博之. 片親が日本人以外の患児に対する代替ドナー骨髄移植の4例. **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)).
- 7) Yabe H. Hematopoietic stem cell transplantation for mucopolysaccharidosis. **The 5th International Forum of Lysosomal Disorders** (2019年7月11-13日, 東京).
- 8) 矢部普正, 小池隆志, 大坪慶輔, 今井枝理, 森本克, 望月博之, 加藤俊一, 矢部みはる. 先天代謝異常に対する造血細胞移植後の現状. **第61回日本先天代謝異常学会総会** (2019年10月24日-26日, 秋田).

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし