

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

遺伝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 伊藤 悦朗（弘前大学大学院医学研究科地域医療学 特任教授）  
神尾 卓哉（弘前大学医学部附属病院小児科 助教）  
小林 明恵（弘前大学大学院医学研究科小児科学 助教）  
研究協力者 土岐 力（弘前大学大学院医学研究科小児科学 講師）  
佐藤 知彦（弘前大学医学部附属病院小児科 助教）

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 26 種類のリボソームタンパク（RP）遺伝子と *GATA1*、*TSR2*、*HEATR3* 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 14 例中 2 例（14%）に既報の遺伝子変異を認めた。これまでに 263 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、143 例（54.4%）に原因となる RP 遺伝子および *GATA1* 遺伝子変異を見出した。本年度は、ターゲットシーケンスあるいはエクソーム解析によっても原因遺伝子を同定することができなかった検体（29 トリオ検体を含む 31 症例（93 検体））を、国土班に依頼して全ゲノムシーケンスを行った。難病プラットフォーム（AMED 松田班）を用いた「遺伝性骨髄不全症候群レジストリ」に DBA 症例の登録を進めた。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。本年度は、令和 5 年度に遺伝性骨髄不全症診療ガイドライン 2017 の改訂版を出版することを目指して改訂作業を進めた。

**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 26 種類のリボソームタンパク（RP）遺伝子と *GATA1*、*TSR2*、*HEATR3* の 3 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、AMED の全ゲノム解析拠点（国土班）、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。

先行研究（伊藤班）により、「難病プラットフォーム（AMED 松田班）」を用いた公的「遺伝性骨髄不全症候群レジストリ」が令和 3 年度に初めて確立された。令和 4 年度は、先行班研究を発展させ、患者数の最も多い DBA 症例から登録を進め、診療ガイドラインの改訂を行う。なお、次世代の研究者を育成するため、若手や女性研究者を分担研究者として研究班に積極的に参加させる。

**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*）、*GATA1* 遺伝子、5q-症候群の原因遺伝子 *RPS14* および我々が見出した新規原因遺伝子 *TP53* について、次世代シーケンサー（MiSeq）を用い

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。ターゲットシーケンスあるいはエクソーム解析によっても原因遺伝子を同定することができなかった症例のうち、再同意の得られた検体は、国土班に依頼して全ゲノムシーケンスを行う。

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った。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム・遺伝子解析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

新規症例14名の遺伝子診断を行い、2例で既知の原因遺伝子 (*RPS19* 1例、*RPS26* 1例) を同定した。これまでに263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、143例 (54.4%) 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改訂を行った。

本年度はターゲットシーケンスあるいはエクソーム解析によっても原因遺伝子を同定することができなかった症例のうち、再同意の得られた検体 (29トリオ検体を含む31症例 (93検体)) を国土班に依頼して全ゲノムシーケンスを行った。このうち、16症例のシーケンスデータが返却され、現在データを解析中である。

難病プラットフォーム (AMED 松田班) を用いた「遺伝子診断の結果も含む精度の高い遺伝性造血不全のレジストリ」の構築を進めるため、京都大学医学部の「医の倫理委員会」に中央倫理審査承認後、46施設の施設長の研究実施許可を得た。さらに、中央倫理審査を認めない9施設の倫理審査承認と研究実施許可が得られた。令和3年5月から、疾患数の最も多いDBA症例から登録を開始し、令和4年度も登録を進めた。

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。遺伝性骨髄不全症診療ガイドライン2017を出版してから5年

が経過し、その間にDBAやその他の遺伝性骨髄不全の研究分野では大きな進歩が見られた。そのため、遺伝性骨髄不全症診療ガイドライン2017の改訂が必要となった。本年度は、令和5年度に改訂版を出版することを目指して改訂作業を進めた。

### 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%は原因遺伝子が不明であり、長期予後についても、全体像が明らかではない。AMED 国土班により、全ゲノムシーケンス (WGS) が可能となったため、再同意が得られた検体を両親の検体とともにトリオ検体でWGS解析を行った。これにより、ターゲットシーケンスやエクソームシーケンスでは同定できなかった構造異常などのゲノム異常が明らかとなり、さらに約10%のDBAで原因遺伝子同定が期待できる。

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。

### 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。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。本研究班の成果にもとに診療ガイドラインの改訂を行い、日本小児血液・がん学会で承認を得た。令和5年度に遺伝性骨髄不全症診療ガイドライン改訂版を出版するための改訂作業を進めた。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Nakahara E, Yamamoto KS, Ogura H, Aoki T, Utsugisawa T, Azuma K, Akagawa H, Watanabe K, Muraoka M, Nakamura F, Kamei M, Tatebayashi K, Shinozuka J, Yamane T, Hibino M, Katsura Y, Nakano-Akamatsu S, Kadowaki N, Maru Y, Ito E, Ohga S, Yagasaki H, Morioka I, Yamamoto T, Kanno H. Variant spectrum of PIEZO1 and KCNN4 in Japanese patients with dehydrated hereditary stomatocytosis. **Hum Genome Var.**

2023 Mar 2;10(1):8. doi: 10.1038/s41439-023-00235-y. PMID: 36864026.

- 2) Kanezaki R, Toki T, Terui K, Sato T, Kobayashi A, Kudo K, Kamio T, Sasaki S, Kawaguchi K, Watanabe K, Ito E\*. Mechanism of KIT gene regulation by GATA1 lacking the N-terminal domain in Down syndrome-related myeloid disorders. **Sci Rep**. 2022 Nov 29;12(1):20587. doi: 10.1038/s41598-022-25046-z. PMID: 36447001. (\*corresponding author)
  - 3) Ogasawara T, Fujii Y, Kakiuchi N, Shiozawa Y, Sakamoto R, Ogawa Y, Ootani K, Ito E, Tanaka T, Watanabe K, Yoshida Y, Kimura N, Shiraiishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S. Genetic Analysis of Pheochromocytoma and Paraganglioma Complicating Cyanotic Congenital Heart Disease. **J Clin Endocrinol Metab**. 2022 Aug 18;107(9):2545-2555. doi: 10.1210/clinem/dgac362. PMID: 35730597.
  - 4) Kobayashi A, Ohtaka R, Toki T, Hara J, Muramatsu H, Kanezaki R, Takahashi Y, Sato T, Kamio T, Kudo K, Sasaki S, Yoshida T, Utsugisawa T, Kanno H, Yoshida K, Nannya Y, Takahashi Y, Kojima S, Miyano S, Ogawa S, Terui K, Ito E\*. Dyserythropoietic anaemia with an intronic GATA1 splicing mutation in patients suspected to have Diamond-Blackfan anaemia. **eJHaem**. 2022 Jan 10;3(1):163-167. doi: 10.1002/jha2.374. PMID: 35846220. (\*corresponding author)
  - 5) Kudo K, Kubota Y, Toki T, Kanezaki R, Kobayashi A, Sato T, Kamio T, Sasaki S, Shiba N, Tomizawa D, Adachi S, Yoshida K, Ogawa S, Seki M, Takita J, Ito E, Terui K. Childhood acute myeloid leukemia with 5q deletion and HNRNP1-MLLT10 fusion: the first case report. **Blood Adv**. 2022 May 24;6(10):3162-3166. doi: 10.1182/bloodadvances.2021006383. PMID: 35139176.
  - 6) 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 Jul 1;107(7):1719-1725. doi: 10.3324/haematol.2021.279857. PMID: 35295077. (\*corresponding author)
  - 7) Matsumori H, Watanabe K, Tachiwana H, Fujita T, Ito Y, Tokunaga M, Sakata-Sogawa K, Osakada H, Haraguchi T, Awazu A, Ochiai H, Sakata Y, Ochiai K, Toki T, Ito E, Goldberg IG, Tokunaga K, Nakao M, Saitoh N. Ribosomal protein L5 facilitates rDNA-bundled condensate and nucleolar assembly. **Life Sci Alliance**. 2022 Mar 23;5(7):e202101045. doi: 10.26508/lsa.202101045. PMID: 35321919.
  - 8) 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. PMID: 34133388.
  - 9) Ito E. Bone marrow failure and TP53 activating mutations. **Rinsho Ketsueki**. 2022;63(9):1115-1125. doi: 10.11406/rinketsu.63.1115. PMID: 36198537.
2. 学会発表
- 1) 伊藤悦朗. (教育講演) 造血不全と *TP53* 活性化変異. 第84回日本血液学会学術集会 (2022年10月14日-16日, 福岡 (ハイブリッド開催)). (口頭).
- G. 知的財産権の出願・登録状況  
該当なし