

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

## 中央診断，DCとCDAの遺伝子診断・診療ガイドラインの作成

研究分担者 高橋 義行（名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 教授）

研究要旨：日本小児血液学会（現日本小児血液・がん学会）は平成21年2月より再生不良性貧血（AA）、骨髄異形成症候群（MDS）および先天性造血不全症候群（CBFS）を対象とした中央診断を開始した。レビューは骨髄および末梢血塗抹標本を名古屋大学で、骨髄病理標本を日本赤十字社愛知医療センター名古屋第一病院と静岡県立こども病院の2施設で行っている。また、名古屋大学小児科において、遺伝性骨髄不全症候群に関連する遺伝子変異をターゲットシーケンスにより検討した。結果として、本年度は血液疾患182例に対して、ターゲットシーケンスを実施し、ファンconi貧血13例、溶血性貧血12例、先天性角化不全症5例、ダイヤモンド・ブラックファン貧血3例を遺伝子診断した。これらの結果をもとに、DCにおける診断のフローチャートを作成し、診療ガイドラインを作成した。中央診断および遺伝子診断により遺伝性骨髄不全症候群の診断精度の向上が可能となり、診療ガイドラインの利用により適切な患者診療が可能となる。

### A. 研究目的

先天性角化不全症（Dyskeratosis congenita; DC）は、テロメア長の維持機能に関与する遺伝子群の変異により発症する先天性造血不全症の一つである。疾患の原因となる主なメカニズムは、テロメラーゼ-shelterin複合体をコードする遺伝子の変異に起因する異常なテロメア短縮である。現在までに、DCの原因遺伝子としてテロメア長の維持に関わる*DKC1*、*TERT*、*TERC*、*RTEL1*、*NOP10*、*TINF2*、*CTC1*、*NHP2*、*WRAP53*、*ACD*、*PARN*などの遺伝子変異が報告されている。しかしながら、未だ原因遺伝子が明らかでない患者が約30%に存在する。

一部のDC症例は、古典的症状のほかに、多彩な全身症状を呈する例から血球減少のみの例までさまざまな臨床像（不全型DC）を示し、再生不良性貧血との鑑別が難しい場合がある。

本研究では、日本小児血液・がん学会の中央診断および疾患登録事業の一環として、包括的に登録するとともに、DCの原因遺伝子の探索を行った。

### B. 研究方法

名古屋大学小児科に中央診断の事務局を設置し、再生不良性貧血（AA）、骨髄異形成症候群（MDS）、あるいは先天性造血不全症候群（CBFS）が疑われる症例が発生した場合は、各施設から事務局に連絡をもらい、登録番号を発行した。中央診断およびそ

れに伴う検査については患者、または保護者の同意を取得した後に行うこととした。

骨髄・末梢血塗抹標本のレビューは、名古屋大学小児科で施行した。特徴的な身体的異常、骨髄不全、家族歴などからDCが疑われる場合には、末梢血を用いてFlow-FISH法による血球テロメア長測定を行った。

先天性造血不全症候群が疑われる症例について、名古屋大学小児科において、次世代シーケンサーによるターゲットシーケンス、もしくはエクソームシーケンスを行い、病的意義のある変異を検索した。

（倫理面への配慮）

研究にあたっては個人情報を守秘を厳守し、文書による同意を得た上で研究を遂行した。

### C. 研究結果

本年度は、遺伝性造血不全症候群を疑った患者（n=182例）に対して、ターゲットシーケンスを実施した。結果、ファンconi貧血13例、溶血性貧血12例、先天性角化不全症5例、ダイヤモンド・ブラックファン貧血3例に対する遺伝子診断を行った。これらの結果をもとに、特にDCにおける診断のフローチャートを作成し、遺伝性骨髄不全症候群の診断におけるテロメア長解析の意義について学会発表、

および論文報告を行った。

#### D. 考察

骨髄不全症を合併した先天角化不全症では、再生不良性貧血、Fanconi貧血、Schwachman-Diamond症候群、先天性無巨核芽球性血小板減少症、Pearson症候群などの疾患と鑑別を要する。それぞれ特徴的な臨床像があるため、まず臨床像から鑑別を行うが、網羅的遺伝子解析による、迅速かつ正確な遺伝子診断が必要である。

骨髄不全症や特徴的な臨床所見を認めるときに、テロメア長の測定を行い、短縮を認めれば遺伝子解析を行い、DC関連遺伝子を検索する。また、テロメア長短縮を認めないが、臨床的に否定することが困難な場合には遺伝子解析を行うことが望ましいと考えられた。

#### E. 結論

先天性角化不全症を含め、先天性造血不全症の診断は必ずしも容易ではなく、中央診断による塗抹標本の評価、および遺伝子診断を行うことによりその診断の精度が上昇したと考えられる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Yamamori A, Hamada M, Muramatsu H, Wakamatsu M, Hama A, Narita A, Tsumura Y, Yoshida T, Doi T, Terada K, Higa T, Yamamoto N, Miura H, Shiota M, Watanabe K, Yoshida N, Maemura R, Imaya M, Miwata S, Narita K, Kataoka S, Taniguchi R, Suzuki K, Kawashima N, Nishio N, Iwafuchi H, Ito M, Kojima S, Okuno Y, Takahashi Y. Germline and somatic RUNX1 variants in a pediatric bone marrow failure cohort. **Am J Hematol**. 2023 May;98(5):E102-E105. doi: 10.1002/ajh.26874. PMID: 36740830.
- 2) Narita K, Muramatsu H, Narumi S, Nakamura Y, Okuno Y, Suzuki K, Hamada M, Yamaguchi N, Suzuki A, Nishio Y, Shiraki A, Yamamori A, Tsumura Y, Sawamura F, Kawaguchi M, Wakamatsu M, Kataoka S, Kato K, Asada H, Kubota T, Muramatsu Y, Kidokoro H, Natsume J, Mizuno S, Nakata T, Inagaki H, Ishihara N, Yonekawa T, Okumura A, Ogi T, Kojima S, Kaname T, Hasegawa T, Saitoh S, Takahashi Y.

Whole-exome analysis of 177 pediatric patients with undiagnosed diseases. **Sci Rep**. 2022 Aug 26;12(1):14589. doi: 10.1038/s41598-022-14161-6. PMID: 36028527.

- 3) 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.
- 4) Narita A, Miwata S, Imaya M, Tsumura Y, Yamamori A, Wakamatsu M, Hamada M, Taniguchi R, Okuno Y, Muramatsu H, Takahashi Y. Minor PNH clones do not distinguish inherited bone marrow failure syndromes from immune-mediated aplastic anemia. **Blood Adv**. 2022 Apr 26;6(8):2517-2519. doi: 10.1182/bloodadvances.2021006044. PMID: 35073572.
- 5) Wakamatsu M, Kojima D, Muramatsu H, Okuno Y, Kataoka S, Nakamura F, Sakai Y, Tsuge I, Ito T, Ueda K, Saito A, Morihana E, Ito Y, Ohashi N, Tanaka M, Tanaka T, Kojima S, Nakajima Y, Ito T, Takahashi Y. TREC/KREC Newborn Screening followed by Next-Generation Sequencing for Severe Combined Immunodeficiency in Japan. **J Clin Immunol**. 2022 Nov;42(8):1696-1707. doi: 10.1007/s10875-022-01335-0. PMID: 35902420.
- 6) Hama A, Hasegawa D, Manabe A, Nozawa K, Narita A, Muramatsu H, Kosaka Y, Kobayashi M, Koh K, Takahashi Y, Watanabe K, Ohara A, Ito M, Kojima S. Prospective validation of the provisional entity of refractory cytopenia of childhood, proposed by the World Health Organization. **Br J Haematol**. 2022 Feb;196(4):1031-1039. doi: 10.1111/bjh.17921. PMID: 34729770.
- 7) Urata T, Imamura T, Osone S, Muramatsu H, Takahashi Y, Hosoi H. Genetic Study of Fanconi Anemia in Infancy Revealed FANCI Mutations and Defective ALDH2 Variant: A Case Report. **J Pediatr Hematol Oncol**. 2022 Mar 1;44(2):e438-

e441. doi: 10.1097/MPH.0000000000002254.  
PMID: 34310468.

## 2. 学会発表

- 1) 佐治木大知, 成田敦, 津村悠介, 前村遼, 今屋雅之, 山森彩子, 若松学, 片岡伸介, 濱田太立, 谷口理恵子, 川島希, 西川英里, 村松秀城, 西尾信博, 高橋義行. 移植後シクロホスファミドを用いたHLA半合致移植を行った重症型βサラセミアの2歳男児. **第44回日本造血・免疫細胞療法学会総会** (2022年5月12日-14日, 横浜 (ハイブリッド開催)). (口演).
- 2) 佐治木大知, 成田敦, 山下大紀, 津村悠介, 前村遼, 今屋雅之, 山森彩子, 若松学, 成田幸太郎, 片岡伸介, 谷口理恵子, 村松秀城, 西尾信博, 高橋義行. ドナー特異的抗HLA抗体に対して抗体除去療法後にPT-Cyハプロ移植を行った重症型βサラセミア. **第5回東海北陸HLA研究会** (2022年8月7日, 名古屋 (Web開催)). (口演).
- 3) Narita A, Takahashi Y. Investigation of telomere length shortening in pediatric aplastic anemia and congenital bone marrow failure. **The 6th Annual International Congress of Blood and Marrow Transplantation (ICBMT 2022)** (2022年9月1日, 韓国・釜山). (口演).
- 4) 津村悠介, 村松秀城, 西尾洋介, 佐治木大知, 前村遼, 若松学, 山森彩子, 今屋雅之, 成田幸太郎, 片岡伸介, 濱田太立, 谷口理恵子, 西川英里, 川島希, 成田敦, 奥野友介, 西尾信博, 小島勢二, 高橋義行. 全エクソーム解析によって診断したALPS-phenotypeを有する10q23欠失症候群. **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)). (ポスター).
- 5) Narita A, Muramatsu H, Imaya M, Sajiki D, Tsumura Y, Maemura R, Yamamori A, Wakamatsu M, Hamada M, Kataoka S, Taniguchi R, Nishio N, Okuno Y, Takahashi Y. 遺伝性骨髄不全症候群の診断におけるPNHクローンの有用性. **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).
- 6) Wakamatsu M, Muramatsu H, Sato H, Okuno Y, Ishikawa M, Nakajima D, Konno R, Kawashima Y, Ohara O, Takahashi Y. 遺伝性骨髄不全症候群に

対するプロテオミクス解析による診断検査. **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).

- 7) 山森彩子, 濱田太立, 村松秀城, 佐治木大知, 津村悠介, 前村遼, 今屋雅之, 若松学, 谷口理恵子, 片岡伸介, 成田敦, 西尾信博, 奥野友介, 小島勢二, 高橋義行. 小児骨髄不全コホートにおいて FPD-MM が疑われた<I>RUNX1</I>バリエント患者9名. **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