

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 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。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うことである。データ収集と観察研究を継続し、正確な遺伝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14例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発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) Kanazaki 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.
- 2) Kobayashi A, Ohtaka R, Toki T, Hara J, Muramatsu H, Kanazaki 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.
- 3) Tomizawa D, Tsujimoto SI, Tanaka S, Matsubayashi J, Aoki T, Iwamoto S, Hasegawa D, Nagai K, Nakashima K, Kawaguchi K, Deguchi T, Kiyokawa N, Ohki K, Hiramatsu H, Shiba N, Terui K, Saito AM, Kato M, Taga T, Koshinaga T, Adachi S. A phase III clinical trial evaluating efficacy and safety of minimal residual disease-based risk stratification for children with acute myeloid leukemia, incorporating a randomized study of gemtuzumab ozogamicin in combination with post-induction chemotherapy for non-low-risk patients (JPLSG-AML-20). **Jpn J Clin Oncol.** 2022 Oct 6;52(10):1225-1231. doi: 10.1093/jjco/hyac105. PMID: 35809896.
- 4) Sato R, Aizawa T, Imaizumi T, Tsugawa K, Kawaguchi S, Seya K, Terui K, Tanaka H. Effect of sera from lupus patients on the glomerular endothelial fibrinolysis system. **Pediatr Int.** 2022 Jan;64(1):e15099. doi: 10.1111/ped.15099. PMID: 35522716.
- 5) Karasawa T, Sato R, Imaizumi T, Hashimoto S, Fujita M, Aizawa T, Tsugawa K, Kawaguchi S, Seya K, Terui K, Tanaka H. Glomerular endothelial expression of type I IFN-stimulated gene, DExD/H-Box helicase 60 via toll-like receptor 3 signaling: possible involvement in the pathogenesis of lupus nephritis. **Ren Fail.** 2022 Dec;44(1):137-145. doi: 10.1080/0886022X.2022.2027249. PMID: 35392757.
- 6) Kudo K, Toki T, Kanazaki 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. BRAFV600E-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.
- 7) Kudo K, Kubota Y, Toki T, Kanazaki 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.
- 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) 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. PMID: 33661169.

- 10) 照井君典. 貧血. **小児科診療ガイドライン - 最新の診療指針 - 第5版**. 加藤元博編. 総合医学社, 2023, pp404-408.
- 11) 神尾卓哉, 照井君典. 【血液疾患のすべて】赤血球系疾患 小児の先天性骨髄不全症. **日本医師会雑誌** 2022;151(特別1):S194-S195.

2. 学会発表

- 1) Tomizawa D, Tanaka S, Iwamoto S, Hiramatsu H, Matsubayashi J, Hasegawa D, Moritake H, Hasegawa D, Terui K, Hama A, Tsujimoto S, Kiyokawa N, Miyachi H, Deguchi T, Hashii Y, Iijima-Yamashita Y, Taki T, Noguchi Y, Koike K, Koh K, Yuza Y, Saito AM, Horibe K, Taga T, Adachi S. Evaluation of High-Dose Cytarabine Induction Therapy and Flow Cytometric Measurable Residual Disease Monitoring for Children with De Novo Acute Myeloid Leukemia: A Report from the JPLSG-AML-12 Trial. **The 64th American Society of Hematology** (2022年12月10日-13日, 米国・ニューオーリンズ (Web開催)). (口頭).
- 2) Takahashi H, Tanaka S, Yuza Y, Iijima-Yamashita Y, Hasegawa D, Moritake H, Terui K, Iwamoto S, Shimada A, Matsubayashi J, Deguchi T, Hashii Y, Kiyokawa N, Miyachi H, Saito AM, Taga T, Adachi S, Tomizawa D. Safety and Efficacy of Arsenic Trioxide in the Treatment of Newly Diagnosed Pediatric Acute Promyelocytic Leukemia: Results from the JPLSG AML-P13 Study. *Blood* 2022; 140: 6160-1. **The 64th American Society of Hematology** (2022年12月10日-13日, 米国・ニューオーリンズ (Web開催)). (ポスター).
- 3) 照井君典. (シンポジウム) Down症候群関連骨髄性白血病における新規予後因子の探索. **第64回日本小児血液・がん学会学術集会**(2022年11月25日-27日, 東京). (口頭).

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし