

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（東京慈恵会医科大学小児科学講座 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12例中2例（17%）に既報の遺伝子変異を認めた。昨年度は、ターゲットシーケンズ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ズを行った。本年度は、そのデータを詳細に解析し、4例にDBAの原因遺伝子、1例にSBDS遺伝子の変異を同定した。これまでに273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、149例（54.6%）に原因となるRP遺伝子および*GATA1*遺伝子変異を見出した。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。本年度は、2017年に出版した先天性骨髄不全症診療ガイドラインの改訂版「遺伝性骨髄不全症診療ガイドライン2023」を日本小児血液・がん学会の承認を受けて出版した。

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年度からは先行班研究を進展させ、患者数の最も多いDBA症例から登録を進める。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* および私達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）を用いてターゲットシーケンズを行った。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ズ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、國土班に依頼して全ゲノムシーケンスを行った。

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

新規症例12名の遺伝子診断を行い、2例で既知の原因遺伝子 (*RPS19* 2例) を同定した。昨年度は、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、國土班に依頼して全ゲノムシーケンスを行った。本年度は、そのデータを詳細に解析し、4例にDBAの原因遺伝子、1例に*SBDS*遺伝子の変異を同定した。これまでに273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、149例 (54.6%) 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重症度分類の改訂を行った。

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5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、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。このため、遺伝性骨髄不全症診療ガイドライン2017の改訂が必要となり、2022年度から改訂作業を進めた。2023年6月1日に、「遺伝性骨髄不全症診療ガイドライン2023」を日本小児血液・がん学会の承認を受けて出

版した。

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 國土班により、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解析を行う。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。実際、原因が不明であった31家系の臨床検体をWGSで解析した結果、5例 (15.5%) で原因遺伝子を同定した。注目すべきことに、そのうちの1例はDBA以外の遺伝性骨髄不全症であった。

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、小児血液がん学会で承認を取得し、2023年6月1日に遺伝性骨髄不全症診療ガイドライン改訂版を出版した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) [Sato T](#), [Yoshida K](#), [Toki T](#), [Kanezaki R](#), [Terui K](#), [Saiki R](#), [Ojima M](#), [Ochi Y](#), [Mizuno S](#), [Yoshihara M](#), [Uechi T](#), [Kenmochi N](#), [Tanaka S](#), [Matsubayashi J](#), [Kisai K](#), [Kudo K](#), [Yuzawa K](#), [Takahashi Y](#), [Tanaka T](#), [Yamamoto Y](#), [Kobayashi A](#), [Kamio T](#), [Sasaki S](#), [Shiraishi Y](#), [Chiba K](#), [Tanaka H](#), [Muramatsu H](#), [Hama A](#), [Hasegawa D](#), [Sato A](#), [Koh K](#), [Karakawa S](#), [Kobayashi M](#), [Hara J](#), [Taneyama Y](#), [Imai C](#), [Hasegawa D](#), [Fujita N](#), [Yoshitomi M](#), [Iwamoto S](#), [Yamato G](#), [Saida S](#), [Kiyokawa N](#), [Deguchi T](#), [Ito M](#), [Matsuo H](#), [Adachi S](#), [Hayashi Y](#), [Taga T](#), [Moriya Saito A](#), [Horibe K](#), [Watanabe K](#), [Tomizawa D](#),

- Miyano S, Takahashi S, Ogawa S, Ito E. Landscape of driver mutations and their clinical effects on Down syndrome-related myeloid neoplasms. **Blood**. 2024 Mar 21;blood.2023022247. doi: 10.1182/blood.2023022247. Online ahead of print. PMID: 38513239.
- 2) Tanaka T, Kudo K, Kanezaki R, Yuzawa K, Toki T, Okuse R, Kobayashi A, Sato T, Kamio T, Terui K, Ito E. Antileukemic effect of azacitidine, a DNA methyltransferase inhibitor, on cell lines of myeloid leukemia associated with Down syndrome. **Exp Hematol**. 2024 Apr;132:104179. doi: 10.1016/j.exphem.2024.104179. Epub 2024 Feb 9. PMID: 38342295.
- 1) Yamashita M, Tomoda T, Mizuo A, Isoda T, Egawa M, Yoshida M, Toki T, Kudo K, Terui K, Ito E, Morio T, Takagi M. Transient erythroblastopenia due to a GATA1 variant in an infant female. **Pediatr Blood Cancer**. 2024 Mar;71(3):e30834. doi: 10.1002/pbc.30834. Epub 2023 Dec 27. PMID: 38149846.
- 2) Hara Y, Shiba N, Yoshida K, Yamato G, Kaburagi T, Shiraishi Y, Ohki K, Shiozawa Y, Kawamura M, Kawasaki H, Sotomatsu M, Takizawa T, Matsuo H, Shimada A, Kiyokawa N, Tomizawa D, Taga T, Ito E, Horibe K, Miyano S, Adachi S, Taki T, Ogawa S, Hayashi Y. TP53 and RB1 alterations characterize poor prognostic subgroups in pediatric acute myeloid leukemia. **Genes Chromosomes Cancer**. 2023 Jul;62(7):412-422. doi: 10.1002/gcc.23147. Epub 2023 Apr 27. PMID: 37102302.
- 3) Yano M, Ishida H, Hara J, Kawaguchi H, Ito E, Moriya-Saito A, Hashii Y, Deguchi T, Miyamura T, Sato A, Hori H, Horibe K, Imamura T. Outcome of hematopoietic stem cell transplantation in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia not in remission enrolled in JACLS ALL-02. **Int J Hematol**. 2023 Sep;118(3):364-373. doi: 10.1007/s12185-023-03626-7. PMID: 37358749.
- 4) Hara Y, Shiba N, Yoshida K, Yamato G, Kaburagi T, Shiraishi Y, Ohki K, Shiozawa Y, Kawamura M, Kawasaki H, Sotomatsu M, Takizawa T, Matsuo H, Shimada A, Kiyokawa N, Tomizawa D, Taga T, Ito E, Horibe K, Miyano S, Adachi S, Taki T, Ogawa S, Hayashi Y. TP53 and RB1 alterations characterize poor prognostic subgroups in pediatric acute myeloid leukemia. **Genes Chromosomes Cancer**. 2023 Jul;62(7):412-422. doi: 10.1002/gcc.23147. PMID: 37102302.
- 5) 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;10(1):8. doi: 10.1038/s41439-023-00235-y. PMID: 36864026.
- 6) 伊藤悦朗, 小島勢二, 大賀正一, 菅野仁, 小原明, 矢部普正, 小林明恵, 神尾卓哉, 照井君典, 土岐力, 村松秀城. Diamond-Blackfan 貧血. **遺伝性骨髄不全症診療ガイドライン 2023**. 日本小児血液・がん学会編, 診断と治療社(東京), 2023, p4-15.
2. 学会発表
- 1) Suzuki Y, Nakajima Y, Kurosawa S, Ola R, Ochi Y, Kon A, Ito E, Ogawa S, Iwama A. Gata1s combined with Stag2 or Ezh2 loss induce abnormal megakaryocytopoiesis associated with DS-AMKL. **第85回日本血液学会学術総会** (2023年10月13日-15日, 東京) .
- G. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし