

201128039A-B

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

先天性好中球減少症の効果的診断方法の

確立と治療ガイドライン

平成23年度 総合・総括・分担研究報告書

研究代表者

小林 正夫

平成24年（2012年）3月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

先天性好中球減少症の効果的診断方法の

確立と治療ガイドライン

平成23年度 総合・総括・分担研究報告書

研究代表者

小林 正夫

平成24年（2012年）3月

## 目次

I. 構成員名簿	.....	1
II. 総合研究報告	.....	3
III. 総括研究報告	.....	13
IV. 分担・協力研究報告	.....	21
V. 研究成果の刊行に関する一覧表	.....	31
VI. 研究成果の印刷物・別冊	.....	45

# I 構成員名簿

平成23年度 厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業  
先天性好中球減少症の効果的診断方法の確立と治療ガイドライン

## I. 構成員名簿

氏名	所属等	職名
研究代表者		
小林 正夫	広島大学大学院医歯薬学総合研究科・小児科学	教授
研究分担者		
稲葉 俊哉	広島大学原爆放射線医科学研究所・ ゲノム疾患治療研究部門	教授
小島 勢二	名古屋大学大学院医学系研究科・小児科学	教授
布井 博幸	宮崎大学医学部生殖発達医学・小児科学	教授
石井 榮一	愛媛大学大学院医学系研究科・小児科学	教授
中村 和洋	広島大学大学院医歯薬学総合研究科・小児科学	准教授
渡邊健一郎	京都大学大学院医学研究科・発達小児科学	講師

### Ⅲ 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
（総括研究報告書）

先天性好中球減少症の効果的診断方法の確立と治療ガイドライン

研究代表者 小林正夫 広島大学大学院医歯薬学総合研究科・小児科学

**研究要旨**

先天性好中球減少症は慢性好中球減少，骨髓像での前骨髓球・骨髓球での成熟障害，生後早期よりの重症細菌感染症の反復を特徴とする難治性遺伝性疾患である。本研究では，本疾患の効果的診断方法の確立と治療ガイドライン作成を目的に，本邦症例を集積し，臨床病態の解析，原因遺伝子の検討を実施した。日本小児血液学会の中央診断，疾患登録事業を利用した調査から，本年度は先天性好中球減少症 46 例，Shwachman-Diamond 症候群 20 例の臨床像を解析した。先天性好中球減少症では 90%以上が乳児期早期に，反復性の皮膚感染，不明熱，口内炎などで発症していた。遺伝子解析は 33 例（72%）で行われ，25 例が *ELANE* 変異，4 例が *HAXI* 変異であった。4 例は既知の遺伝子変異が同定出来なかった。G-CSF の投与は 36 例（78%）に行われ，26 例（56%）は連日投与であった。4 例（9%）で骨髓異形成症候群への進展が認められ，造血幹細胞移植が施行され 3 例が生存していた。G-CSF 連日投与の 12 例（26%）で造血幹細胞移植が実施されていた。近年は骨髓非破壊的前処置が主であり，移植関連合併症の頻度，重症度は減少していたが 2 例で拒絶が認められた。従来遺伝子検査から責任遺伝子が明らかにされていない症例の次世代シーケンサを用いた解析に着手し，1 例で新規の責任遺伝子候補が同定されたが，機能解析からは責任遺伝子としての変異ではなかった。これらの研究結果から，現在，効果的な診断法とともに G-CSF 治療や造血幹細胞移植の適応を含めた治療についての指針が必要と考えられた。

研究分担者

稲葉俊哉 広島大学原爆放射線医科学研究所・ゲノム疾患治療研究部門 教授

小島勢二 名古屋大学大学院医学研究科・小児科学 教授

布井博幸 宮崎大学医学部生殖発達医学・小児科学 教授

石井榮一 愛媛大学大学院医学系研究科・小児科学 教授

小池健一 信州大学医学部・小児医学 教授

中村和洋 広島大学大学院医歯薬学総合研究科・小児科学 准教授

渡邊健一郎 京都大学大学院医学研究科 発達小児科学 講師

#### A. 研究目的

先天性好中球減少症は慢性好中球減少、骨髓像での前骨髓球・骨髓球での成熟障害、生後早期よりの重症細菌感染症の回復を特徴とする難治性遺伝性疾患である。本疾患は同一表現型を呈する heterogeneousな疾患群であり、正確な診断には症例の集積と遺伝子診断が必須である。責任遺伝子として *ELANE* が最も頻度が高く、他に *HAX1*, *GF11*, *G6PT*, *WAS*, *CXCR4*, *G6PC3* 等が同定されているが、約10%は原因不明である。また、好中球減少を主とする骨髓不全と脾外分泌不全を主徴とする Shwachman-Diamond 症候群などの好中球減少と他の先天異常を合併する症候群も存在している。

本研究班の目的は本邦における上記疾患群の症例数（正確な臨床診断と責任遺

伝子の解析、原因遺伝子未知の疾患の遺伝子解析)から、効果的診断方法を確立することである。また、本疾患はG-CSF製剤の開発により長期生存が可能となってきたが、G-CSF製剤の長期投与は骨髓異形成症候群、急性骨髓性白血病への進展が明らかとされている。本症の治療ではこの点を留意しながらの長期観察が必要であり、唯一の根治療法である造血幹細胞移植を含めた治療の選択を行うにあたり、重症感染症の頻度、G-CSF製剤の有効性と副作用、造血幹細胞移植を含めた治療ガイドライン作成を最終的な目的とする。

#### B. 研究方法

##### 1) 本疾患の症例集積

日本小児血液学会の中央診断、疾患登録事業を利用し、本邦における症例を集積し、臨床病態ならびに臨床情報を把握し、を解析・検討する。

##### 2) 原因遺伝子の検討

本疾患の原因遺伝子を解析し、正確な診断を実施するとともに、遺伝子変異と臨床症状との関連性について検討する。既存の責任遺伝子に異常が同定されない患者を対象に、次世代シーケンサーによる解析を行い新規責任遺伝子の同定を行う。

##### 3) 本疾患の効果的診断方法、治療ガイドラインの作成

1) 2) により遺伝子検査を含めた精度の高い診断症例を対象として、病因、病態、臨床経過を解析することにより、本疾患の効果的診断方法を確立し、治療ガイドラインを作成する。

#### C. 研究結果



## 1) 本疾患の症例集積

日本小児血液学会の中央診断、疾患登録事業を利用し、本邦における重症慢性好中球減少症例についてアンケート調査を実施した。一次調査を経て、臨床情報の再確認を行い、先天性好中球減少症46症例を集積した。好中球減少を主とする骨髄不全と脾外分泌不全を主徴とする Shwachman-Diamond 症候群の全国調査からは20例が遺伝子診断され、臨床情報が把握された。先天性好中球減少症46例の臨床像では、90%以上の症例で発症年齢が乳児期早期であった。初発症状としては、皮膚感染症や不明熱、口内炎などが多く認められた。

先天性好中球減少症症例に実施された治療を図4に示す。46例中36例(78%)にG-CSFの投与が行われ、26例(56%)は連日投与であった。感染症併発時のみの使用は10例(22%)、使用なしが10例(22%)であった。2例(4%)がG-CSF不応例であった。G-CSF使用例で経過中に骨髄異形成症候群に進展した症例は4例(9%)であり、すべてに造血幹細胞移植が行われ、3例が生存していた。G-CSF投与症例で、骨髄異形成症候群に進展前に12例(26%)で造血幹細胞移植が行われていた。G-CSF使用から移植までの期間は比較的短期であり、前処置はfludarabineを中心とした骨髄非破壊的前処置が主であった。移植関連合併症は6例(50%)では全く認められなかった。2例で拒絶がみられた。

## 2) 原因遺伝子の検討

責任遺伝子が同定できていない3症例

に関して、次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析を行った。1例で *WAS* 遺伝子の変異を同定したが、家族の検索を含め、機能解析の結果からは責任遺伝子の可能性は考えにくいと判断した。

## D. 考察

本邦における先天性好中球減少症、Shwachman-Diamond 症候群の概要が明らかになった。本疾患の欧米での発症頻度は2~3/100万と推定されているが、本邦でも同程度と考えられた。

本疾患は同一表現型を呈する異種な疾患群であり、約70%で常染色体優先遺伝を呈する *ELANE* の変異が、約20%で Kostmann 症候群として知られる常染色体劣性遺伝を呈する *HAX1* の変異が報告されている。Shwachman-Diamond 症候群においては全例遺伝子診断で確定されている。最終的に遺伝子診断に至っていない約15症例について確定診断を行う必要がある。従来の遺伝子検査から責任遺伝子が明らかにされていない3症例の次世代シーケンサーを用いた解析に着手し、1例で新規の責任遺伝子候補が同定され、現在遺伝子解析と機能解析を進行中である。

本疾患はG-CSF投与により好中球増加が認められ、感染予防が可能となっているが、G-CSF長期投与により、骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病への移行例が報告されている。今回の検討でも、約半数の18例でG-CSFの連日投与を必要とし、そのうち3例では骨髄異形成症候群への進展が認められた。唯一の根治療法は造血幹細胞移植であり、今回検討した46例中12例で造血幹細胞移植が実施されてい

た。最近では、治療関連毒性軽減による移植成績の向上を目的に悪性疾患進展前に骨髄非破壊的前処置による骨髄移植を実施する例が増加しているが、移植にいたる経緯、前処置の方法、移植細胞源、移植関連合併症、予後等を集積し、欧米での成績と比較することにより、本邦独自の効果的治療ガイドライン作成に繋げる必要がある。

#### E. 結論

本疾患の本邦症例を集積し、臨床病態の検討を実施した。遺伝子診断を実施されていない症例が約半数あり、正確な診断のために、遺伝子診断を含めた効果的診断ガイドラインが必要である。またG-CSF 連日投与例で骨髄異形成症候群への進展が認められ、G-CSF 治療や造血幹細胞移植の適応を含めた治療ガイドラインを作成中である。

#### F. 研究危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 学会発表

Takafumi Hiramoto, Yasuhiro Ebihara, Yoko Mizoguchi, Kazuhiro Nakamura, Shinji Mochizuki, Shohei Yamamoto, Emiko Matsuzaka, Sachiyo Hanada, Ryoko Ohnishi, Kenzaburo Tani, Koji Eto, Hiromitsu Nakauchi, Masao Kobayashi, Kohichiro Tsuji:  
Suppressed Neutrophil Development in Hematopoiesis of Induced Pluripotent Stem Cells Derived From a Severe

Congenital Neutropenia Patient with ELA2 Mutation. 53<sup>rd</sup> American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, CA, December 10-13, 2011.

Isamu Hanada, Kiminori Terui, Tsutomu Toki, Ko Kudo, Tomohiko Sato, Takuya Kamio, Shinya Sasaki, Yoshihiro Takahashi, Yasuhide Hayashi, Kanji Sugita, Seiji Kojima, Kenichi Koike, Yoshiyuki Kosaka, Masao Kobayashi, Etsuro Ito: JAK2 mutations and CRLF2 rearrangements in Down Syndrome-Associated Acute Lymphoblastic Leukemia in Japan. 53<sup>rd</sup> American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, CA, December 10-13, 2011.

Yoko Mizoguchi, Kazuhiro Nakamura, Shuhei Karakawa, Satoshi Okada, Hiroshi Kawaguchi, Masao Kobayashi: Clinical and Genetic Characteristics of Patients with Severe Congenital Neutropenia in Japan. 53<sup>rd</sup> American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, CA, December 10-13, 2011.

中村和洋, 小林正夫: 重症先天性好中球減少症 先天性造血不全シンポジウム  
2011年2月5日 千葉

Asahito Hama, Atsushi Manabe, Kazue Nozawa, Hirotohi Sakaguchi, Sayoko Doiaski, Hideki Muramatsu, Akira Shimada, Yoshiyuki Takahashi, Akira

Ohara, Masafumi Ito, and Seiji Kojima.  
Central Review of the Morphology in  
Childhood Aplastic Anemia and  
Myelodysplastic Syndrome. 第73回日本  
血液学会学術集会, 2011年10月14日, 名  
古屋

Al Kzayer, Sakashita K, Koike K, et al.  
FTA cards for genetic evaluation of  
childhood ALL in Iraq  
52:1055, 2011  
第 73 回日本血液学会学術集会 2011 年  
10 月 14 日～16 日

Sakashita K, Koike K, et al.  
小児同種造血幹細胞移植後再発の予後に  
関する検討  
52:1337, 2011  
第 73 回日本血液学会学術集会 2011 年  
10 月 14 日～16 日

Shiohara M, Koike K, et al.  
Two cases of childhood CML whose  
therapy were changed from imatinib to  
nilotinib  
52:1131, 2011 (巻が不明です)  
第 73 回日本血液学会学術集会 2011 年  
10 月 14 日～16 日

小池健一  
チェルノブイリ原発事故と福島第一原発  
事故 -人体への影響-  
第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会  
2011 年 11 月 25 日～27 日  
199, 2011 (巻が不明です)

柳沢俊光、小池健一他  
T 細胞性悪性リンパ腫再発に対してネラ  
ラビント臍帯血移植を併用した 1 例  
第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会  
2011 年 11 月 25 日～27 日  
206, 2011 (巻が不明です)

重村倫成、中沢洋三、小池健一他  
PiggyBac トランスポゾン法を用いて遺伝  
子修復した X 連鎖慢性肉芽腫症患者 T 細  
胞からの iPS 細胞の樹立  
第 53 回日本小児血液・がん学会学術集会  
2011 年 11 月 25 日～27 日  
220, 2011

## 2. 論文発表

Ishimura M, Takada H, Doi T, Imai K,  
Sasahara Y, Kanegane H, Nishikomori R,  
Morio T, Heike T, Kobayashi M, Ariga T,  
Tsuchiya S, Nonoyama S, Miyawaki T,  
Hara T: Nationwide survey of patients  
with primary immunodeficiency diseases  
in Japan. *Journal of Clinical  
Immunology* 31: 968-976, 2011.

Karakawa S, Okada S, Tsumura M,  
Mizoguchi Y, Ohno N, Yasunaga S,  
Ohtsubo M, Kawai T, Nishikomori R,  
Sakaguchi T, Takihara Y, Kobayashi M:  
Decreased expression in nuclear  
factor-kB essential modulator due to a  
novel splice-site mutation causes  
X-linked ectodermal dysplasia with  
immunodeficiency. *Journal of  
Clinical Immunology* 31: 762-772,  
2011.

- Liu L, Okada S, Kong XF, Kreins AY, Cypowyj S, Abhyankar A, Toubiana J, Itan Y, Audry M, Nitschke P, Masson C, Toth B, J 屍 ome Flatot J, Migaud M, Chrabieh M, Kochetkov T, Bolze A, Borghesi A, Toulon A, Hiller J, Eyerichs S, Eyerichs K, Gulacsy V, Chernyshova L, Chernyshov V, Bondarenko A, Grimaldo RMC, Galicia LB, Beas IMM, Roesler J, Magdorf K, Engelhardt D, Thumerelle C, Burgel PR, Hoernes M, Drexel B, Seger R, Kusuma T, Jansson AF, Sawalle-Belohradsky J, Belohradsky B, Jouanguy E, Bustamante J, Bue M, Bodemer C, Lortholary O, Fischer A, Blanche S, Al-Muhsen S, Reichenbach J, Kobayashi M, Lozano CT, Kilic SS, Oleastro M, Etzioni A, Traidl-Hoffmann C, Renner ED, Abel L, Picard C, Mar 妖 i L, Boisson-Dupuis S, Anne Puel A, Casanova JL: Gain-of-function human STAT1 mutations impair IL-17 immunity and underlie chronic mucocutaneous candidiasis. *Journal of Experimental Medicine* 208: 1635-1648, 2011.
- Hoshina T, Takada H, Sasaki-Mihara Y, Kusuhara K, Ohshima K, Okada S, Kobayashi M, Ohara O, Hara T: Clinical and host genetic characteristics of Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases in Japan. *Journal of Clinical Immunology* 31: 309-314, 2011.
- Nakagawa N, Imai K, Kanegane H, Sato H, Yamada M, Kondo K, Okada S, Kobayashi M, Takada H, Mitsuiki N, Oshima K, Ohara O, Suri D, Rawat A, Singh S, Pan-Hammarstrom Q, Hammarstrom L, Reichenbach J, Seger R, Ariga T, Hara T, Miyawaki T, Nonoyama S: Newborn screening of B cell deficiencies by measuring kappa-deleting recombination excision circles in Guthrie cards. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 128: 223-225, 2011.
- Higuchi K, Nakazawa Y, Sakata N, Takizawa M, Ohso K, Tanaka M, Yanagisawa R, Koike K. Telecommunication system for children undergoing stem cell transplantation. *Pediatr Int.*, in press.
- Saito S, Matsuda K, Taira C, Sano K, Tanaka-Yanagisawa M, Yanagisawa R, Nakazawa Y, Sakashita K, Shiohara M, Koike K. Genetic analysis of TP53 in childhood myelodysplastic syndrome and juvenile myelomonocytic leukemia. *Leuk Res.*, 2011 35(12):1578-84.
- Mukai S, Hidaka Y, Hirota-Kawadobora M, Matsuda K, Fujihara N, Takezawa Y, Kubota S, Koike K, Honda T, Yamauchi K. Factor H gene variants in Japanese: Its relation to atypical hemolytic uremic

syndrome. *Mol Immunol*. 2011  
49(1-2):48-55.

Hirabayashi K, Shiohara M, Takahashi D,  
Saito S, Tanaka M, Yanagisawa R,  
Sakashita K, Nakamura T, Ishii E, Koike  
K. Retrospective analysis of risk  
factors for development of liver  
dysfunction in transient leukemia of  
Down syndrome. *Leuk Lymphoma*. 2011  
[Epub ahead of print]

Shigemura T, Yamazaki T, Hara Y, Ou JN,  
Stevens AM, Ochs HD, Koike K, Agematsu  
K. Monitoring serum IL-18 levels is  
useful for treatment of a patient with  
systemic juvenile idiopathic arthritis  
complicated by macrophage activation  
syndrome. *Pediatr Rheumatol Online J*.  
2011 9(1):15.

Takagi M, Shinoda K, Piao J, Mitsuiki  
N, Takagi M, Matsuda K, Muramatsu H,  
Doisaki S, Nagasawa M, Morio T,  
Kasahara Y, Koike K, Kojima S, Takao A,  
Mizutani. Autoimmune  
lymphoproliferative syndrome-like  
disease with somatic KRAS mutation.  
*Blood*, in press

Baba A, Ishida T, Okada M, Akazawa Y,  
Hirabayashi K, Saida K, Sakaguchi K,  
Koike K. Right-to-left shunting in the  
ductus arteriosus is induced readily by  
intense crying and rapid postural  
change in neonates with

meconium-stained amniotic fluid.  
*Pediatr Crit Care Med*. 2011 [Epub ahead  
of print]

Matsuda K, Nakazawa Y, Yanagisawa R,  
Honda T, Ishii E, Koike K. Detection of  
T-cell receptor gene rearrangement in  
children with Epstein-Barr  
virus-associated hemophagocytic  
lymphohistiocytosis using the BIOMED-2  
multiplex polymerase chain reaction  
combined with GeneScan analysis. *Clin  
Chim Acta*. 2011 412(17-18):1554-8.

Yanagisawa R, Katsuyama Y, Shigemura T,  
Saito S, Tanaka M, Nakazawa Y,  
Sakashita K, Shiohara M, Koike K.  
Engraftment syndrome, but not acute  
graft-versus-host disease, younger age,  
CYP3A5 or MDR1 polymorphisms,  
increases tacrolimus clearance in  
pediatric hematopoietic stem cell  
transplantation. *Bone Marrow  
Transplantation*, 2011 46, 90-97.

Yanagisawa R, Matsuda K, Sakashita K,  
Nakazawa Y, Tanaka M, Saito S,  
Yoshikawa K, Kamijo T, Shiohara M,  
Koike K. Disappearance of minimal  
residual disease after the early  
withdrawal of immunosuppressants in a  
patient with juvenile myelomonocytic  
leukemia. *Pediatr Blood Cancer*. 2011  
56:501-2

Higuchi T, Fukuyama T, Misawa Y, Inaba

Y, Ichikawa M, Koike K. Reflex seizures induced by micturition and defecation, successfully treated with clobazam and phenytoin. *Epileptic Disord.* 2011;13(2):166-71.

濱 麻人, 小島勢二. 小児骨髄不全の診断と治療のポイント. *血液内科.* 2011;63(2):157-165.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし

## IV 分担・協力研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
（分担研究報告書）

先天性好中球減少症の効果的診断方法の確立と治療ガイドライン作成に関する研究

研究分担者 稲葉 俊哉

広島大学原爆放射線医科学研究所ゲノム疾患治療研究部門 教授

研究分担者 石井 榮一

愛媛大学大学院医学系研究科・小児科学 教授

研究要旨

先天性好中球減少症は慢性好中球減少、生後早期からの重症細菌感染症を反復する難治性遺伝性疾患である。本疾患は同一表現型を呈する heterogenous な疾患群であり、正確な診断には症例の遺伝子診断が必須となる。責任遺伝子として *ELANE*（最も頻度が高い）、*HAX1*、*GF11*、*G6PT*、*WAS*、*CXCR4*、*G6PC3*等が同定されているが、約 15%は原因不明である。原因遺伝子未知の症例 3 症例について次世代シーケンサーを用いて網羅的解析を行った。1 例で *WAS* 遺伝子の変異を同定した。この遺伝子変異が先天性好中球減少症の責任遺伝子かどうかの解析を行ったが、明確な事実を同定することは出来なかった。他の 2 例については次世代シーケンサー解析で多数の遺伝子の違いが同定され、その絞り込みが困難であった。次世代シーケンサーを用いて解析の問題点は今後の大きな課題と思われる。

A. 研究目的

重症先天性好中球減少症（SCN）は、慢性好中球減少症（好中球絶対数が  $200/\mu\text{l}$  以下）、生後早期からの重症細菌感染症を反復する難治性遺伝性疾患であり、治療に難渋する。G-CSF 製剤の投与により感染症に対する生命予後は改善されたが、長期の G-CSF 投与により骨髄異形成症候群（MDS）や急性骨髄性白血病（AML）への合併が報告されており、近年では根治療法として造血幹細胞移植が行われてい

る。1999 年に好中球エラストーゼをコードする *ELA2* 遺伝子（現在は *ELANE*）のヘテロ接合性変異が SCN の半数例で同定され、以後も数種類以上の責任遺伝子が明らかにされている。SCN は種々の原因によりもたらされる疾患群と考えられており、責任遺伝子を明らかにすることにより、診断方法及び治療法確立のための基盤整備を目的とした。

B. 研究方法



広島大学ならびに愛媛大学において診断された3症例について家族歴，臨床経過，随伴症状，治療経過などの臨床情報を収集，解析した。これまでに特定されている，*ELANE*，*HAX1*，*GFI1*，*G6PT*，*WAS*，*CXCR4*，*G6PC3*の変異の有無と特定されていない遺伝子変異の探索のために次世代シーケンサーを用いたシーケンスを施行した。本研究は広島大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会での承認を得た。

#### C. 研究結果

解析された3症例はいずれも *ELANE*，*HAX1*，*GFI1*，*G6PT*，*WAS*，*CXCR4*，*G6PC3*の遺伝子変異は認めなかった。次世代シーケンサーを用いた網羅的解析を行った結果，1例で *WAS* 遺伝子の変異 (P460S) を同定した。本症例は4年前にHLA一致の同胞から骨髄移植を施行し，好中球減少症は完治している。家族のシーケンスを行った結果，母及び移植ドナーである同胞ならびに移植後の本人の白血球にも全く同一の変異を同定した。母，同胞ともに好中球減少の所見はなく，健常である。機能解析としてアクチン重合アッセイを行ったが，本症例の変異ではコントロールとほぼ同様であり，アクチン重合の促進は認めなかった。これらから本症例で認めた *WAS* 遺伝子 P460S の変異は先天性好中球減少症の責任遺伝子ではないと結論づけた。

#### D. 考察と結論

本疾患は近年，生命予後が改善してきているが依然として治療に難渋するケー

スも散見され，効果的な診断方法の確立がよりよい治療の確立につながると考えられる。責任遺伝子の探索は根本的治療の可能性となりうるが，未知の責任遺伝子の同定には直接シーケンス法では限界があると考えられ，次世代シーケンサー (Illumina 社 Genome Analyser 2) を併用した解析が必要である。しかし，本症例のように候補遺伝子を同定するも好中球減少症の責任遺伝子であると同定することは困難であった。今後は次世代シーケンサー解析精度の向上と，候補遺伝子の絞り込みのための遺伝子情報の収集が必須であると思われた。今後，症例を増加するとともに解析技術の向上のうえに解析を継続することで，更なる成果が期待できると考えている。

#### F. 研究危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Hiraga N, Imamura M, Abe H, Hayes CN, Kono T, Onishi M, Tsuge M, Takahashi S, Ochi H, Iwao E, Kamiya N, Yamada I, Tateno C, Yoshizato K, Matsui H, Kanai A, Inaba T, Tanaka S, Chayama K: Rapid emergence of telaprevir resistant hepatitis C virus strain from wildtype clone in vivo. *Hepatology*. 54: 781-8, 2011.

Ozaki Y, Matsui H, Nagamachi A, Asou H, Aki D, Inaba T: The dynactin complex maintains the integrity of metaphasic centrosomes to ensure transition to anaphase. *Journal of*

Biological Chemistry 286: 5589-98, 2011.

Hirose K, Inukai T, Kikuchi J, Furukawa Y, Ikawa T, Kawamoto H, Oram SH, Göttgens B, Kiyokawa N, Miyagawa Y, Okita H, Akahane K, Zhang X, Kuroda I, Honna H, Kagami K, Goi K, Kurosawa H, Look AT, Matsui H, Inaba T, Sugita K: Aberrant induction of LMO2 by the E2A-HLF chimeric transcription factor and its implication in leukemogenesis of B-precursor ALL with t(17;19). *Blood*. 116: 962-70, 2010.

Nagai K, Ochi T, Fujiwara H, An J, Shirakata T, Mineno J, Kuzushima K, Shiku H, Melenhorst JJ, Gostick E, Price DA, Ishii E, Yasukawa M: Aurora kinase A-specific T-cell receptor gene transfer redirects T lymphocytes to display effective antileukemia reactivity. *Blood*. 119: 368-76, 2012.

Murata Y, Yasumi T, Shirakawa R, Izawa K, Sakai H, Abe J, Tanaka N, Kawai T, Oshima K, Saito M, Nishikomori R, Ohara O, Ishii E, Nakahata T, Horiuchi H, Heike T: Rapid diagnosis of FHL3 by flow cytometric detection of intraplatelet Munc13-4 protein. *Blood*. 118: 1225-30, 2011.

Nagai K, Yamamoto K, Fujiwara H, An J, Ochi T, Suemori K, Yasumi T, Tauchi H, Koh K, Sato M, Morimoto A, Heike T, Ishii E, Yasukawa M: Subtypes of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan based on genetic and functional analyses of cytotoxic T lymphocytes. *PLoS One*. 5:e14173, 2010.

H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
（分担研究報告書）

先天性好中球減少症の効果的診断方法の確立と治療ガイドライン作成に関する研究

研究分担者 布井博幸 宮崎大学医学部生殖発達医学・小児科学 教授  
研究分担者 小池健一 信州大学医学部・小児医学 教授  
研究分担者 中村和洋 広島大学大学院医歯薬学総合研究科・小児科学 准教授  
研究分担者 渡邊健一郎 京都大学大学院医学研究科・発達小児科学 講師

研究要旨

重症先天性好中球減少症（SCN）は細菌，真菌感染症を反復する難治性遺伝性疾患であるが，G-CSF投与により約95%の症例で感染予防が可能となり，長期生存が可能となっている。しかし，G-CSFの長期投与により，約20%の症例で骨髄異形成症候群（MDS）/急性骨髄性白血病（AML）への移行がみられ，生命予後に重大な影響を与えている。現在のところMDS/AML進展前の骨髄移植における前処置，移植時期等について明確な基準は示されていない。今回われわれは治療関連毒性軽減による移植成績の向上を目的に，MDS/AML進展前のSCN症例にfludarabineを中心とした骨髄非破壊的前処置による骨髄移植を実施した。5例は移植後完全キメラを誘導でき，好中球減少は治癒したが，1例で生着不全を認め，再移植を施行したが，慢性GVHDの状態である。G-CSFに反応不良である症例，G-CSFの長期投与が必要な症例，重症感染症を反復する症例では，MDS/AML進展前に骨髄非破壊的前処置による骨髄移植は有用と思われるが，前処置法を確立する必要がある。基本的には骨髄非破壊的前処置が望ましいが，生着不全，混合キメラの可能性があるので，移植後の慎重な免疫抑制剤投与と経過観察が重要である。移植症例の集積と解析が必要と思われる。

A. 研究の目的

重症先天性好中球減少症（SCN）は，慢性好中球減少症（好中球絶対数が $200/\mu\text{l}$ 未満），生後早期からの細菌，真菌感染症を反復する難治性疾患である。G-CSF製剤の投与により感染症に対しての生命予後は劇的に改善されたが，長期のG-CSF投与

により骨髄異形成症候群（MDS）や急性骨髄性白血病（AML）への進展が投与年数，投与量に依存していることが報告されている。近年では根治療法として造血幹細胞移植が導入されているが，移植における前処置法，移植時期等についての見解は一定していない。本研究ではSCNにおい

てMDS/AML移行前にfludarabineを中心とした骨髄非破壊的前処置 (RIC) による造血幹細胞移植 (SCT) をおこない、その有効性や治療関連毒性を評価する。

## B. 研究方法

2007年8月から2011年12月までに造血幹細胞移植を施行したSCNの6例を対象とした。年齢は1歳から17歳であり、男児3例、女児2例であった。原因遺伝子は4例で*ELA2*の変異が確認された。1例は*ELA2*, *HAX1*, *GFI-1*, *G6PC3*を解析したが変異を認められなかった。全例MDS/AMLを発症しておらず、G-CSFを使用しているにもかかわらず感染症が繰り返されており移植適応となった。症例4は9ヶ月時に臍帯血移植が行われていたが、移植後早期に拒絶となり、7年後に非血縁者間骨髄移植を施行にいたった。

移植細胞源は症例2, 3ではHLA一致同胞の骨髄、症例1, 4, 5では非血縁ドナーの骨髄を用いた。症例1, 5はHLA一致であったが、症例4はHLA-Aの一座不一致であった。

前処置は全例Fludarabine (Flu) 125 mg/m<sup>2</sup>, Cyclophosphamide (CY) 100-160 mg/kg, Melphalan (L-PAM) 70-90 mg/m<sup>2</sup>, TBI 3 Gyを使用し、非血縁ドナーであった症例1, 4, 5に関してはanti-lymphocyte globulin (ALG) 60 mg/kgもしくはanti-thymocyte globulin (ATG) 2.5 or 10 mg/kgを追加した。症例5は移植後の感染症を危惧しATGを減量した。GVHD予防には全例Tacrolimus (FK) + short Methotrexate (MTX)を使用した。

## C. 研究結果

症例1, 2, 4, 6は100% donor typeの生着であった。症例3は移植後6カ月よりmixed chimerismとなりDonor lymphocyte infusion (DLI)を数回おこなったが、現在donor typeは30-50 %である。症例5は、移植早期よりドナー骨髄の生着不全が認められ、DLIにより一過性の反応がみられたがその後急速に拒絶された。生着不全がATGの減量に基づくものと判断し、他症例と同様量にて骨髄バンクドナーから再移植を施行した。移植後1か月で完全キメラを確認したが、4か月でドナータイプの減少 (50%) がみられたので、DLIを3回施行し、完全キメラが誘導された。しかし、DLIに伴った重度のGVHDを合併し、現在はGVHDの治療を継続している。症例6は血縁同胞からの移植であり、上記と同様な前処置を行い、移植後2か月で完全キメラとなっている。

GVHDは症例1の顔面皮膚に軽度の発疹を認めたのみでその他の症例では認めなかった。症例5に関しては初回DLI後に皮膚のGVHD (stage II) が出現したが一過性であった。再移植後のGVHDは(stage III)であり、重篤であった。免疫抑制剤とTNF- $\alpha$ 阻害剤でコントロールしている。全例重篤な移植後ウイルス感染症は合併していない。症例5を除き、移植後経過は良好である。

## D. 考察

MDS/AMLに進展したSCN症例では造血幹細胞移植が唯一の根治療法となるが、その治療成績は極めて不良である。SCN症例の国際的な登録組織であるSevere