

先天性骨髄不全症の診断基準・重症度分類・診療ガイドラインの確立に関する研究

### 遺伝性鉄芽球性貧血

研究分担者 張替秀郎（東北大学大学院医学系研究科血液免疫病学分野 教授）

**研究要旨：** 遺伝性鉄芽球性貧血はミトコンドリアにおける鉄の代謝に関わる遺伝子の先天的異常により発症する難治性の貧血であり、骨髄における環状鉄芽球の出現を特徴とする。希少疾患である遺伝性鉄芽球性貧血の臨床データの解析や遺伝子変異については東北大学が拠点として解析している。最も代表的な遺伝性鉄芽球性貧血は赤血球におけるヘム合成系の初発酵素である赤血球型 5-アミノレブリン酸合成酵素（*ALAS2*）の変異により発症する X 連鎖性鉄芽球性貧血（*XLSA*）であるが、既知の遺伝子に変異が認められない症例も複数存在し、その発症機序は十分に解明されていない。研究期間内に 3 例の新規症例が登録され、うち 1 例において新規の *ALAS2* 遺伝子変異が同定された。

#### A．研究目的

鉄芽球性貧血（sideroblastic anemia）は骨髄に環状鉄芽球が出現することを特徴とする難治性貧血であり、遺伝性鉄芽球性貧血と後天性鉄芽球性貧血の2つに大きく分類される。先天性鉄芽球性貧血はミトコンドリアにおける鉄の代謝に関わる遺伝子の先天的異常により発症する稀な疾患であるため、その頻度、病態については不明である。本研究では、本邦における遺伝性鉄芽球性貧血の病態、遺伝子異常を明らかにし、鉄芽球性貧血の診断ガイドラインを確立させることを目的とする。

#### B．研究方法

難治性疾患克服事業「遺伝性鉄芽球性貧血の診断基準と治療法の確立」班から引き続き行っている全国調査で見出された症例・家系について既知の鉄芽球性貧血の原因遺伝子の変異解析を行う。既知の遺伝子変異が認められない家系については、次世代シーケンサーによる全エクソン解析あるいは全ゲノム解析を行う。この解析において候補遺伝子が見出された場合は、その機能解析を行う。

（倫理面への配慮）

遺伝子解析研究について所属施設の倫理委員会の承認を得る。主治医に患者本人もしくは保護者への

説明・同意の取得がなされた上で、遺伝子解析を行う。

#### C．研究結果

61歳、女性。貧血、肝硬変、肝へモクロマトーシス、胃食道静脈瘤の既往あり。貧血の家族歴は明らかでない。近医にて汎血球減少（WBC 2400/uL, Hb 7.3g/dL, Plt  $8.6 \times 10^4$ /uL, MCV 112.8fL）の精査目的で骨髄検査を施行した結果、全赤芽球中の60%に環状鉄芽球を認めた。染色体は正常核型で、MDSを示唆する異形性は認めなかった。遺伝性鉄芽球性貧血の可能性を考慮し遺伝子解析を施行した結果、新規の*ALAS2*遺伝子のヘテロ変異を認めた（*ALAS2* c.488 G>A, p.Arg163His）。組換蛋白質を用いた*ALAS2*活性測定の結果、変異*ALAS2*蛋白質の活性は野生型に比べ約1/20程度と有意に低下していた。本症例に対しビタミンB6補充を試みたものの不応であった。

#### D．考察

女性において *ALAS2* 遺伝子のヘテロ変異に伴う大球性鉄芽球性貧血を認めた例は、本症例以外にこれまでに 3 家系報告されている。貧血の発症機序としては、加齢に伴う Skewed X-chromosome inactivation や変異 *ALAS2* を発現する赤芽球の分化成熟不全などの可能性が示唆されている。

骨髓異形成症候群(MDS)では大球性貧血を示しうる点から(Takahashi et al. Int J Hematol. 2016)、女性で大球性鉄芽球性貧血を認めた際は、後天性鉄芽球性貧血の他にALAS2遺伝子のヘテロ変異の可能性も鑑別として考慮する必要がある。

## E . 結論

新たな遺伝性鉄芽球性貧血症例を見出した。

## F . 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Hatta S, Fujiwara T, Yamamoto T, Saito K, Kamata M, Tamai Y, Kawamata S, Harigae H. A defined culture method enabling the establishment of ring sideroblasts from induced pluripotent cells of X-linked sideroblastic anemia. **Haematologica**. 2018;103:e188-e191.
- 2) Ohashi K, Fujiwara T, Onodera K, Saito Y, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H. Establishment of a screening system to identify novel GATA-2 transcriptional regulators. **Tohoku J Exp Med**. 2018;244:41-52.
- 3) Hasegawa S, Fujiwara T, Okitsu Y, Kato H, Sato Y, Fukuhara N, Onishi Y, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. Effects of in vivo deletion of GATA2 in bone marrow stromal cells. **Exp Hematol**. 2017;56:31-45.
- 4) Fujiwara T, Fukuhara N, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Onishi Y, Furuyama K, Harigae H. A novel heterozygous ALAS2 mutation in a female with macrocytic sideroblastic anemia resembling myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts: A case report and literature review. **Ann Hematol**. 2017;96:1955-1957.
- 5) Saito K, Fujiwara T, Ota U, Hatta S, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizuka M, Tanaka T, Harigae H. Dynamics of absorption,

metabolism, and excretion of 5-aminolevulinic acid in human intestinal Caco-2 cells. **Biochem Biophys Res Commun**. 2017;11:105-111.

- 6) Fujiwara T, Sasaki K, Saito K, Hatta S, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H. Forced FOG1 expression in erythroleukemia cells: induction of erythroid genes and repression of myelo-lymphoid transcription factor PU.1. **Biochem Biophys Res Commun**. 2017;485:380-387.
  - 7) Inokura K, Fujiwara T, Saito K, Iino T, Hatta S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizawa K, Shimoda K, Harigae H. Impact of TET2 deficiency on iron metabolism in erythroblasts. **Exp Hematol**. 2017;49:56-67.
- ### 2. 学会発表
- 1) Saito K, Fujiwara T, Hatta S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Harigae H. Establishment and characterization of *in vitro* model of X-linked sideroblastic anemia. **The 59<sup>th</sup> American Society of Hematology** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ).
  - 2) Hasegawa S, Fujiwara T, Okitsu Y, Kato H, Sato Y, Fukuhara N, Onishi Y, Ishizawa K, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. Role of GATA2 in the maintenance of bone marrow microenvironment. **The 59<sup>th</sup> American Society of Hematology** (2017年12月9-12日, 米国・アトランタ).
  - 3) Saito K, Fujiwara T, Morita M, Hatta S, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Shimizu R, Harigae H. Establishment of in vivo and in vitro model of X-linked sideroblastic anemia. **The 22<sup>th</sup> Congress of European Hematology Association** (2017年6月22-25日, スペイン・マドリード).
  - 4) Hatta S, Fujiwara T, Yamamoto T, Kamata M, Tamai Y, Nakamura Y, Kawamata S, Harigae H. GENERATION OF INDUCED PLURIPOTENT STEM CELL-DERIVED

ERYTHROBLASTS FROM A PATIENT WITH X-LINKED SIDEROBLASTIC ANEMIA. **The 7<sup>th</sup> International Bioiron Society** (2017年5月7-11日, 米国・ロサンゼルス).

- 5) Fujiwara T, Sasaki K, Saito K, Hatta S, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H. Exploring the mechanism of FOG1-dependent transcriptional regulation in erythroid cells. **The 22<sup>th</sup> Congress of European Hematology Association**(2017年6月22-25日, スペイン・マドリード).
- 6) Fujiwara T, Sasaki K, Saito K, Hatta S, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Fukuhara N, Onishi Y, Harigae H. Exploring the mechanism of FOG1-dependent transcriptional regulation in erythroid cells. **第79回日本血液学会**(2017年10月20-22日, 東京).
- 7) Hasegawa S, Fujiwara T, Okitsu Y, Kato H, Sato Y, Fukuhara N, Onishi Y, Shimizu R, Yamamoto M, Harigae H. Role of GATA2 in the maintenance of the bone marrow microenvironment. **第79回日本血液学会**(2017年10月20-22日, 東京).
- 8) Hatta S, Fujiwara T, Yamamoto T, Kamata M, Tamai Y, Nakamura Y, Kawamata S, Harigae H. Generation of induced pluripotent stem cell-derived erythroblasts of X-linked sideroblastic anemia. **第79回日本血液学会**(2017年10月20-22日, 東京).
- 9) Saito K, Fujiwara T, Morita M, Hatta S, Fukuhara N, Onishi Y, Nakamura Y, Shimizu R, Harigae H. Establishment of in vivo and in vitro model of X-linked sideroblastic anemia by CRISPR/Cas9. **第79回日本血液学会**(2017年10月20-22日, 東京).
- 10) Kato H, Itoh A, Matsumoto M, Shibuya R, Sato Y, Kobayashi M, Muto A, Fujiwara T, Harigae H, Igarashi K. Bach1 and Bach2 orchestrate erythro-myeloid differentiation

responding to environmental changes. **第79回日本血液学会**(2017年10月20-22日, 東京).

**G . 知的財産権の出願・登録状況**

該当なし