

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

X染色体連鎖鉄芽球性貧血の女性例の検討

研究分担者 古山和道（岩手医科大学生化学講座分子医化学分野 教授）

研究要旨： X染色体連鎖鉄芽球性貧血は、X染色体上に存在するALAS2遺伝子の変異により発症する伴性劣性遺伝性の疾患で主に男性が発症する。しかしながら、近年、ALAS2遺伝子の変異により発症し、男性例とは異なる臨床的特徴を呈する女性例が報告されているので、自検例も含めてその特徴をまとめ、さらに診断に際して注意すべき点について検討を行った。

A．研究目的

X染色体連鎖鉄芽球性貧血（XLSA）は赤芽球型5-アミノレブリン酸合成酵素遺伝子（ALAS2）の機能欠失型変異により発症する遺伝性鉄芽球性貧血である。ALAS2はXp11にマップされるため、XLSAの遺伝形式は伴性劣性遺伝で、基本的には男性が発症する遺伝性鉄芽球性貧血として知られており、骨髄における環状鉄芽球の出現、小球性貧血、全身性の鉄過剰症が臨床的に主たる特徴である。しかしながら、近年、ALAS2の遺伝子変異により発症する女性例が報告されており、それらの症例では、男性患者と同様の臨床症状を呈する症例と男性患者とは異なる臨床的特徴を有する症例が混在していることが報告されている。このため、今後の診断に資することを目的に、男性例と女性例の症状や検査所見の違いについて既報例も含めて検討を行った。

B．研究方法

自検例に加え、公的な文献データベースを検索することによりALAS2遺伝子の機能欠失型変異による女性XLSA患者の報告を抽出し、現在まで報告されている男性患者の特徴と比較した。

（倫理面への配慮）

倫理面への配慮が必要な個人情報は利用していない。また、引用した公表済みの論文にも倫理面への配慮が必要な情報は含まれていない。

C．研究結果

女性の場合、変異遺伝子のキャリアであるため、鉄芽球性貧血としては発症しない場合が最も多い。一方、キャリアの女性と同様に野生型と変異型の2つのALAS2遺伝子をそれぞれのX染色体上に保有するにも関わらず発症する女性例では、大きく分けて2種類の発症機序が推定されている。一つは、何らかの理由によりX染色体の不活性化に偏りが生じたことに起因する場合で、もう一方は遺伝子変異の結果として変異ALAS2の機能が著しく低下する場合である。

1) 不均等なX染色体の不活化による場合

女性は父親由来と母親由来の2つのX染色体を有するが、全ての細胞では、分化の過程でどちらか一方のX染色体が細胞ごとにランダムに不活性化され、各細胞ではいずれか一方のX染色体のみから必要な遺伝子を発現していることが知られている。赤芽球も同様で、母親由来のX染色体が不活化されている赤芽球と、父親由来のX染色体が不活化されている赤芽球が通常はほぼ均等に混在している。すなわち、変異ALAS2遺伝子のキャリアである女性では、X染色体の不活化が均等であれば変異ALAS2を発現する赤芽球と正常型ALAS2を発現する赤芽球が同程度に存在するため、ALAS2遺伝子変異に起因する貧血を発症することはないが、この場合でも変異ALAS2遺伝子が発現している赤芽球から産生される赤血球は小球性であるため、末梢血の赤血球は大小の赤血球が混在し、赤血球粒度分布（RDW）は拡大することが多い。

しかしながら、何らかの理由でX染色体のランダムな不活化が一方のX染色体に偏ってしまった場合、あるいは、一方のX染色体が不活化された細胞がクローン化して増殖した場合などには、一方のX染色体からのみ遺伝子を発現する細胞が優勢に増殖する状態となる場合がある。変異ALAS2遺伝子を有するキャリアの女性で、野生型ALAS2遺伝子を有するX染色体が不活化された、すなわち変異型ALAS2遺伝子が発現している赤芽球の増殖が優勢となった場合には、女性でも男性患者と同様のXLSAを発症することが知られている。(参考文献1,2他)加齢に伴いX染色体の不均衡な不活化が起こりやすくなることが知られており、高齢者の女性で発症した場合には骨髄異形成症候群との鑑別診断が重要である。またこのような場合には、当該家系の中に、ALAS2の同じ変異を有する男性患者が同定されることが少なくない。また、PLPの前駆体であるピリドキシン(ビタミンB6)の投与に反応して、貧血が改善する場合がある。

2) ALAS2の機能低下が著しい場合

最近、ALAS2遺伝子に変異を有し、大球性の貧血を呈する女性例が相次いで報告された。(参考文献3,4,5)これらの症例で特徴的なのは、大球性貧血を呈するにも関わらずビタミンB12や葉酸などの欠乏は明らかではないこと、家系内に同じALAS2遺伝子変異を持つ男性が同定されないことである。また、末梢血網状赤血球由来のmRNAを調べた結果では、いずれの症例でもゲノムDNAで確認された変異を有するmRNAは検出されず、野生型ALAS2 mRNAのみが検出されている。一方、患者の骨髄中には環状鉄芽球が観察されることから、骨髄中では変異ALAS2タンパク質を発現している赤芽球が存在するものと推察される。そこで、我々が大球性鉄芽球性患者で同定した変異ALAS2遺伝子から発現すると予想される変異酵素を大腸菌で発現・精製して酵素活性を測定したところ、十分な濃度の補酵素(ピリドキサルリン酸, PLP)の存在下でも、野生型の約1/20に酵素活性が低下していた(参考文献5)。一方、参考文献3で報告されたALAS2変異酵素は補酵素であるPLPとの結合性が著明に低下しており、その結果、タンパク質の安定性が低下するものと考えられている。いずれにしても、遺伝子変異によるALAS2

酵素活性の著明な低下は共通の特徴であると考えられる。以上の結果より、酵素活性が極度に低下する変異ALAS2タンパク質を発現する赤芽球は、赤血球への分化に際して十分なヘモグロビンが合成できず、分化の途中のいずれかの時点で、おそらくはアポトーシスにより除去されるものと予想されている。したがって、変異アレルしか持たない男性患者はおそらく強度の貧血のため出生が困難で、女性患者の網状赤血球由来のmRNAには変異型のALAS2 mRNAが検出されないのではないかと予想されている。女性患者の野生型のALAS2を発現している赤芽球が大球性となるメカニズムの詳細は不明だが、通常よりも分化誘導刺激を強く受けることにより大球性の赤血球を産生すると推察されている。しかしながら、産生量が不十分であるために貧血を呈するらしい。

また、いずれの症例でも血清フェリチン値は高値で、全身性の鉄過剰状態が示唆されるのは男性のXLSA症例と同様である。ピリドキシンの投与が行われた症例では効果は認められていない。

D. 考察

ALAS2遺伝子は赤芽球におけるヘム生合成系の律速酵素であることから、ALAS2遺伝子の機能欠失型変異によるXLSAではヘモグロビンへのヘム供給不足により小球性貧血を呈すると考えられていた。

実際、女性が発症する場合でも、不均等なX染色体の不活化による場合には、変異型ALAS2遺伝子が発現する赤芽球に由来する赤血球は小球性であった。それゆえ家系内に男性患者が同定されず、さらに大球性の貧血を呈する女性の鉄芽球性貧血症例では、XLSAを疑われることは少なく、臨床的に環状鉄芽球を伴う不応性貧血(RARS)と診断される例が多かったと考えられる。本邦で症例数として最も多い鉄芽球性貧血はRARSで、それらの症例ではSF3B1遺伝子の体細胞性変異が非常に高い確率で同定されることが近年報告されている。一方、本邦における遺伝性鉄芽球性貧血の原因として最も高頻度に同定されるのはALAS2遺伝子変異である。従って、鉄芽球性貧血と診断された女性患者で、骨髄細胞の異形成が明らかではなく、SF3B1遺伝子の体細胞性変異も同定されない場合には、ALAS2遺伝子の変異の検索を考慮する必要がありそうである。

E . 結論

近年、エクソーム解析などにより、遺伝性鉄芽球性貧血の原因遺伝子として、様々な遺伝子が新たに同定されている。しかしながら、本邦においては、ALAS2遺伝子の変異による症例が最も多く報告されており、他の遺伝子の変異の報告は極端に少ない。

このことから、女性の鉄芽球性貧血患者において貧血以外に明らかな症状がなく、SF3B1遺伝子の体細胞変異が同定されない場合には、小球性であっても大球性であっても、ALAS2遺伝子の解析は重要な情報を提供する可能性が高いと思われる。

参考文献

1. Cazzola et al. **Blood** 2000;96:4363-4365.
2. Ducamp et al. *Hum Mutat.* 2011;32:590-597.
3. Sankaran et al. **J Clin Invest.** 2015;125:1665-1669.
4. Katsurada et al. **Int J Hematol.** 2016;103:713-717.
5. Fujiwara et al. **Ann Hematol.** 2017;96:1955-1957.

F . 研究発表

1. 論文発表
 - 1) Fujiwara T, Fukuhara N, Ichikawa S, Kobayashi M, Okitsu Y, Onishi Y, Furuyama K and 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.
 - 2) Kaneko K, Ohba K, Hirose T, Totsune K, Furuyama K and Takahashi K. Expression of (Pro)renin Receptor During Rapamycin-Induced Erythropoiesis in K562 Erythroleukemia Cells and Its Possible Dual Actions on Erythropoiesis. **Tohoku J Exp Med.** 2017;241:35-43.
 - 3) Furuyama K, and Kaneko K. Iron metabolism in erythroid cells and patients with congenital sideroblastic anemia. **Int. J. Hematol.**

2018;107:44-54.

2. 学会発表

- 1) 久保田美子, 久慈強, 古山和道. ヘム生合成経路の律速酵素 ALAS1 の分解経路の低下によるゲノム不安定性の誘導. **2017 年度生命科学系学会合同年次大会**(2017年12月6-9日,神戸).
- 2) 金子桐子, 千田大誠, 久保田美子, 野村和美, 古山和道. ALAS2 変異による遺伝性鉄芽球性貧血のモデル細胞樹立. **2017 年度生命科学系学会合同年次大会**(2017年12月6-9日,神戸).
- 3) 野村和美, 北川悠, 大木祐亮, 久保田美子, 金子桐子, 古山和道. ヒト CLPX-CLPP 複合体によるヘム結合型 ALAS1 の認識及び分解メカニズムの解明. **2017 年度生命科学系学会合同年次大会**(2017年12月6-9日,神戸).

G . 知的財産権の出願・登録状況

該当なし