厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業））
分担研究報告書

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

重症先天性好中球減少症 - ガイドライン -

研究分担者　小林　正夫（広島大学大学院医歯薬保健学研究院小児科学　教授）

研究要旨： 重症先天性好中球減少症（severe congenital neutropenia, SCN）は、慢性好中球減少（末梢血好中球絶対数が 200/μl 以下）、生後早期からの反復する細菌感染症、骨髄像での骨髄顆粒球系細胞の低～正形成と前骨髄球／骨髄球での成熟障害を特徴とする。International Union of Immunological Society, 2017 Primary Immunodeficiency Diseases（IUIS, 2017）分類では、慢性好中球減少を示す、いわゆる先天性好中球減少症 12 疾患の中に、 SCN として 1～5 型が分類されている。SCN としては ELANE 変異によるものが 75-80%、HAX1 変異によるものが 20%弱であり、その他が数%と考えられる。症候群としての慢性好中球減少を呈する疾患が多いことから、好中球減少以外の他の合併所見は診断、予後には重要となる。本邦での全体の患者数は 100 例程度と推測される。SCN の病因、病態、診断、重症度、治療、予後について概要をまとめる。

A．疾患概念と疫学

重症先天性好中球減少症（severe congenital neutropenia, SCN）は末梢血好中球絶対数（absolute neutrophil count, ANC）が 200/μl 未満の重症慢性好中球減少、骨髄像での骨髄顆粒球系細胞の正形成から低形成と前骨髄球と骨髄球での成熟障害、生後早期から反復する細菌感染症を臨床的特徴とする。基本として、骨髄顆粒球系細胞の形態異常は明らかでなく、赤芽球系、巨核球系には異常を認めない。IUIS（2017）分類では、SCN は先天性好中球減少症の一部として SCN を 5 型に分類している。SCN のタイプによってはそれぞれに特有な合併症状が存在するので診断の参考となる。

発症頻度の確定的な数字はないが、本邦では 100 万人に 1～2 人の発生頻度と推測され、現在までに 100 例近い患者数が集積されている。SCN で遺伝子解析が施行されている症例からは、 ELANE 変異（SCN1）と HAX1 変異（SCN3）に限定されていたが、最近 G6PC3 欠損症（SCN4）の本邦第一例目が報告されている。常染色体性優性遺伝形式をとる SCN1（ELANE 遺伝子のヘテロ接合性変異）が最も頻度が高く、75～80%を占めている。HAX1 異常による SCN3 は Kostmann 病と呼ばれ、全例が HAX1 遺伝子のホモ接合性変異か複合ヘテロ接合性変異で、常染色体性劣性遺伝形式をとる。その頻度は約 15%である。その他の SCN の頻度は明らかではないが、非常に稀と思われる。

B．病因・病態

SCN を含めた先天性好中球減少症において、多くの責任遺伝子が同定、報告されているので、それぞれその病態は異なってくる。細胞レベルで病因を考えると、細胞内小器官ごと（細胞膜受容体、核、小胞体、ミトコンドリア、エンドゾーム、ライソゾーム、リボゾーム、アズール顆粒、細胞骨格等）に責任遺伝子が分布し、分類されている。

1)　SCN1：好中球エラスターゼ（ELANE）変異

好中球エラスターゼ（NE）はセリンプロテアーゼに分類される 30kD の糖蛋白であり、成熟骨髄顆粒球系細胞で最も強く発現している。合成された活性型 NE は主に一次顆粒（アズール顆粒）に存在するが、細胞膜や核にも存在が知られている。ELANE

変異が好中球減少を引き起こす機序について、種々の説が挙げられているが、その病態の詳細は明らかでない。

SCN1 における NE の mislocalization 説では、NE が顆粒内へと輸送される際に、変異 NE と adaptor protein complex 3（AP3）との結合障害により、NE の細胞内輸送異常が起こり、集積した NE が骨髄顆粒球系前駆細胞でアポトーシスを誘導し、骨髄顆粒球系細胞の成熟障害に結びついている可能性を示している。

異常 NE 蛋白が細胞内に蓄積することによるフォールディング病としての概念が提唱されている。小胞体ストレスのマーカーである BiP mRNA 発現が wild type に比し 2〜6 倍であったこと、実際に患者骨髄系細胞でも高値が認められたことを示し、NE の細胞内局在の異常と併せてフォールディング病の可能性を示唆している。実際に、小胞体ストレスセンサーとして機能する EIF2AK3 変異により発症する Wolcott-Raillison 症候群において、多くの患者が好中球減少を合併することが報告されている。

しかし、必ずしも BiP mRNA の発現上昇は有意ではないことが示されており、フォールディング病としての結論は不明である。

SCN 患者では C/EBP-α の発現を制御する LEF-1 mRNA 発現の低下がみられることが報告され、LEF1の発現低下はSCNの本態と考えられる病因の下流に共通した異常と考えられている。また、SCN において G-CSF 受容体下流の転写因子である STAT5 活性が亢進し、LEF-1 のユビキチン化に関与していることが示された。プロテアソームインヒビターである Bortezomib が LEF-1 mRNA レベルを回復し、顆粒球分化を促したと報告されている。さらに、別の報告で NE のインヒビターである secretory leukocyte protease inhibitor（SLPI）が骨髄細胞の増殖、分化、細胞周期を制御していることが示され、患者の骨髄細胞や血漿中における SLPI の低下が報告された。また、NE 自体が増殖抑制物質として作用し、好中球産生の制御を行っているとの報告もあり、ELANE 異常症の病態形成には様々な要因が関与している可能性がある。

2) SCN2：GF1 欠損症

2003 年に GFI1 ヘテロ接合性変異（DNA 結合に関与する zinc finger 部位）が同定され、好中球減少、単球増多、CD4 リンパ球の減少、ナイーブ T、B 細胞の減少が認められた。G-CSF に対する反応性の低下や、好中球、単球の両方の性質を有する異常細胞の出現も認めた。T、B 細胞に関しては数と活性の低下は認められるものの機能は正常と推察されている。Cell line を用いた in vitro の検討では変異型は野生型に対し GFI1 の抑制活性を dominant negative に抑制した。ELANE 遺伝子のプロモーター領域に GFI1 の結合部位が同定されたことから、ELANE 遺伝子発現が GFI1 により抑制されることがレポーターアッセイで証明された。GFI1 変異は ELANE 遺伝子の過剰発現を誘導し、産生された過剰な NE が細胞内に蓄積する結果、細胞死が誘導されることが示されている。

3) SCN3：HA1 異常症（Kostmann 病）

hematopoietic cell‐specific Lyn substrate 1（HCLS1）‐associated protein X-1（HAX1）は、細胞内のシグナル伝達に関与する分子として 1997 年に見出されたが、その後多くの細胞内蛋白質やウイルス蛋白質と相互作用し、細胞骨格形成やアポトーシスにも関与することが明らかにされている。スプライシングサイトの違いにより、2 種類のアイソフォーム（アイソフォーム a、b）が存在する。スプライシングによりアイソフォーム b はエクソン 2 が短い構造となる。興味深いことに、HAXI 異常症では後述するように、この 2 種類のアイソフォームの存在形式の違いにより臨床病型が異なる。HAX1 の欠失は骨髄前駆細胞内にチトクロム C を放出し、前駆細胞並びに好中球でのアポトーシスを亢進させ、好中球減少が惹起される。また、転写因子である LEF1 とその下流遺伝子群の発現低下が認められていることから、HAX1 の欠失が HCLS1 のリン酸化を抑制し LEF1 の発現を低下させることにより。G-CSF を介した骨髄造血の抑制も示唆されている。現在までに 17 種類の HAX1 遺伝子変異が報告されているが、HAX1 異常症のうち、アイソフォーム a のみに影響する変異が認められる症例とアイソフォーム a と b の両方に影響する変異が認められる症例がおよそ半数ずつである。アイソフォーム a のみに影響する変異を有する群では神経症状はほとんど認められないのに対し、a、b 両方に影響する変異を有

する群では 68%に中等度以上の精神発達遅滞、てんかんが認められている。

4) SCN4：G6PC3 欠損症

グルコース‐6‐ホスファターゼ（Glucose-6-Phosphatase; G6Pase）の 1 つである Glucose-6-Phosphatase protein 3（G6PC3）（または Glucose-6-Phosphatase-ß; G6Pase-ß）の変異により発症する常染色体劣性遺伝性疾患である。

G6Pase は小胞体内の酵素で、グルコース-6-リン酸からリン酸を除去してグルコースを遊離する。ヒトでは G6Pase は G6PC1、G6PC2、G6PC3 からなる遺伝子ファミリーによりコードされている。G6PC1 の両アレル変異は糖原病 Ia 型を発症するが、グルコース-6-リン酸を細胞質から小胞体内に輸送するグルコース-6-リン酸トランスロカーゼ（glucose-6-phosphatase translocase; G6PT）をコードする SLC37A4（G6PT1）変異では糖原病 Ib 型を引き起こす。ヒトでは G6PC3 遺伝子のホモ接合または複合ヘテロ接合の変異により G6PC3 欠損症を発症する。また、糖原病 Ib 型でも G6PC3 欠損症と同様に好中球数の減少と機能低下を伴うことが知られている。

G6PC3 欠損症患者における好中球数減少・機能低下の機序としては、前骨髄球中の小胞体分子シャペロンの増加により小胞体ストレス反応が生じて RRNA-dependent protein kinase-like ER kinase pathway が活性化することや、加えて細胞内グルコースの濃度低下により Glycogen synthase kinase 3ß が活性化することにより、好中球アポトーシスが亢進する。その結果、骨髄で前骨髄球、骨髄球での成熟障害が生じ、好中球減少が生じる。また、機能低下について不明な点もあるが、グルコース-6-リン酸の蓄積により UDP-ガラクトースの生成が抑制される結果、nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase の構成要素である gp91phox のグリコシル化が阻害され、呼吸バーストが消失し殺菌能の低下を生じることが想定される。

5) SCN5：VPS45 欠損症

VPS45 欠損症は、好中球減少、好中球機能異常、原発性骨髄線維症、腎腫大を特徴とする。エンドソーム系を介した膜輸送を制御するタンパクである VPS45 をコードする遺伝子の変異が原因であり、VPS45 タンパクの発現が低下に基づき、細胞運動能の低下、アポトーシスの増加が引き起こされる。これらが好中球機能低下や好中球減少の原因と考えられているが、病態の詳細は不明である。

C．診断

1) 臨床症状

易感染性：皮膚化膿症、慢性歯肉炎、歯周病は高頻度で認められる。咽頭扁桃炎、上気道感染症、時に肺炎、肺膿瘍が認められる。

2) 検査所見

末梢血での慢性好中球減少症（ほとんど好中球絶対数 200/µl 以下）、末梢血単球数増加、骨髄像：骨髄顆粒球系細胞の低形成～正形成と前骨髄球／骨髄球での成熟障害に合わせ、それぞれの責任遺伝子変異の同定

D．重症度分類：重症

継続的な易感染性、慢性歯肉炎（歯周病）、皮膚感染症、骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病への進展。根治療法としての造血幹細胞移植が必要である。特に、G-CSF 使用例では長期の高用量使用での骨髄異形成症候群／急性骨髄性白血病への移行は 40%以上に認められている。

CN の分類において特徴的な合併所見を呈するものがある。感染症を反復、重症化と MDS/AML への移行は SCN 全体に共通した臨床所見と経過である。SCN3、いわゆる Kostmann 病ではてんかんをはじめとした中枢神経系（精神運動発達遅滞、高次脳機能障害など）の合併症の頻度が高く、変異の部位によっては必発の症状であることが報告されている。SCN4 は先天性心疾患、泌尿生殖器奇形、内耳性難聴、体幹・四肢の静脈拡張が高率に認められる。SCN5 では腎肥大と骨髄線維化が認められることから、好中球減少に特徴的な合併症から SCN の分類を推測することが可能である。重症度は ANC の程度とは関係なく、感染症の頻度とその重症度による。G-CSF の使用の有無にかかわらず、MDS/AML への移行・進展症例は最重症であり、造血幹細胞移植以外に治療法はない。口内炎、慢性歯肉炎/慢性歯周病はほぼ必発の所見であり、無治療の患者では歯牙の喪失につながる可能性があることから QOL 低下の

要因となる。

E．治療の概要

感染症対策としての対症療法と根治療法に分けて治療法を考える必要がある。

1) 対症療法

感染症対策が重要であり、Sulfamethoxazole-trimethoprim（ST）合剤の定期的投与、必要であれば抗真菌薬投与、歯科医による口腔ケアが必要である。G-CSF 投与で約 90%の患者では好中球増加が認められるので、感染症のコントロールが可能である。ただし，長期間の G-CSF 投与、特に高用量（8μg/kg 以上）の場合に MDS/AML への進展が高率に認められるので経時的な注意が必要である。SCN での G-CSF 使用に基づいた白血病発症の機序の詳細が明らかにされつつある。G-CSF の長期投与で後天的な CSF3R の切断変異が入るが、そのまま長期間 SCN のままで経過する症例と、一部に第 2 の変異が認められる症例に分けられる。後者が AML に移行していくが、第 2 の変異としては CSF3R-T618I が共通して認められ、G-CSF に依存しない骨髄系細胞の自己増殖が認められるようになる。最終的には RUNX1、ASXL1 などの更なる遺伝子変異を認める AML の発症に至ることが推測されている。従って、G-CSF の長期投与を行う症例では定期的な骨髄検査、染色体検査、上記の内容の遺伝子検査を行っていくことが望ましい。ただし、どの時点で根治療法である造血細胞移植を行うか確定したものはない。

2) 根治療法

根治療法は造血幹細胞移植である。適切なドナーがいる場合には骨髄非破壊的前処置での移植が推奨されるが、生着不全には注意が必要である。MDS/AML へ移行後は造血幹細胞移植が唯一の治療法であるが、予後は不良となる。

F．予後

重症感染症の程度ならびに MDS/AML への移行が予後を左右する。G-CSF の投与で、感染症（敗血症）での生命予後は格段に進歩している。G-CSF の投与期間が 10 年以上になる症例で、投与量を 8μg/kg 未満と以上に区分すると、前者での重症敗血症による死亡頻度は 4%、MDS/AML の発症頻度は 11%とされている。一方、後者の場合には重症敗血症による死亡頻度は 14%、MDS/AML の発症頻度は 40%になることが報告されている。SCN 症例が MDS/AML に移行した場合には化学療法を行うと、好中球の回復はほとんど認められないことから造血細胞移植の継続が必要となるので、ドナー選択を用意しながらの治療開始が必要である。造血細胞移植が唯一の救命できる治療法となる。

慢性好中球減少のために歯肉炎、歯周病、口内炎は必発の症状であるため、永久歯の維持が困難となる。歯肉が弱いためインプラントも不可能であり、成人期早期から総義歯となる場合もあり、QOL はかなり損なわれることなる。現在、根治療法として造血細胞移植が選択される症例が増えているが、移植時期を小児期と成人に分けた成績の比較では有意に前者が良好である。

G．研究発表

1. 論文発表

1) Onodera R, Kurita E, Taniguchi K, Karakawa S, Okada S, Kihara H, Fujii T, Kobayashi M. Anti-human neutrophil antigen-1a, -1b, -and -2 antibodies in neonates and children with immune neutropenia analyzed by extracted granulocyte antigen immunofluorescence assay. **Transfusion** 2017;57:2586-2594. doi: 10.1111/trf.14291.

2) Hayakawa S, Ohno N, Okada S, Kobayashi M. Significant augmentation of regulatory T cell numbers occurs during the early neonatal period. **Clin Exp Immunol.** 2017;190:268-279. doi:10.1111/cei.13008.

3) Leiding JW, Okada S, Hagin D, Abinun M, Shcherbina A, Balashov DN, Kim VHD, Ovadia A, Guthery SL, Pulsipher , M, Lilic D, Dvlin LA, Chritie S, Depner M, Fuchs S, van Royden-Kerkhof A, Lindemans C, Petrovic A, Sullivan KE, Bunin N, Kilic SS, Arpaci F, Calle-Martin O, Martinez-Martinez L, Alddave JC, Kobayashi M, Ohkawa T, Imai K, Iguchi A, Roifman CM, Genney AR, Slatter

M, Ochs HD, Morio T, Torgerson TR, Inborn Errors Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation and the Primary Immune Deficiency Treatment Consortium. Hematopoietic stem cell transplantation in patients with gain-of-function signal transducer and activator of transcription 1 mutations. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2018;141:704-717. doi:10.1016/ j.jaci.2017.03.049.

4) Muramatsu H, Okuno Y, Yoshida K, Shiraishi Y, Doisaki S, Narita A, Sakaguchi H, Kawashima N, Wang X, Xu Y, Chiba K, Tanaka H, Hama A, Sanada M, Takahashi Y, Kanno H, Yamaguchi H, Ohga S, Manabe A, Harigae H, Kunishima S, Ishii E, Kobayashi M, Koike K, Watanabe K, Ito E, Takata M, Yabe M, Ogawa S, Miyano S, Kojima S. Clinical utility of next-generation sequencing for inherited bone marrow failure syndromes. **Genetics in Medicine** 2017;19:796-802.

5) Kagawa R, Fujiki R, Tsumura M, Sakata S, Nishimura S, Itan Y, Kong XF, Kato Z, Ohnishi H, Hirata O, Saito S, Ikeda M, El Baghdadi J, Bousfiha A, Fujiwara K, Oleastro M, Yancoski J, Perez L, Danielian S, Ailal F, Takada H, Hara T, Pue; A, Boisson-Dupuis S, Bustamate J, Casanovva JL, Ohara O, Okada S, Kobayashi M. Alanine-scanning mutagenesis of human signal transducer and activator of transcription 1 to estimate loss- or gain-of-function variants. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2017;140:232-241.

6) Fujiki R, Hijikata A, Shirai T, Okada S, Kobayashi M, Ohara O. Molecular mechanism and structural basis of gain-offunction of STAT1 caused by pathogenic R274Q mutation. **Journal of Biological Chemistry** 2017;292:6240-6254.

7) Hoshino a, Okada S, Yoshida K, Nishida N, Okuno Y, Ueno H, Yamashita M, Okano T, Tsumura M, Nishimura S, Sakata S, Kobayashi M, Nakamura H, Kamizono J, Mitsui-Sekinaka K, Ichimura T, Ohga S, Nakazawa Y, Takagi M, Imai K, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Ogawa S, Kojima S, Nonoyama S, Morio T, Kanegane H. Abnormal hematopoiesis and autoimmunity in human subjects with germline IKZF1 mutations. **Journal of Allergy & Clinical Immunology** 2017;140: 223-231.

8) Yamasaki F, Takayasu T, Nosaka R, Nishibuchi I, Kawaguchi H, Kolakshyapati M M, Onishi S, Saito T, Sugiyama K, Koabayashi M, Kurisu K. Development of cystic malacia after high-dose cranial irradiation of pediatric CNS tumors in long-term follow-up. **Child's Nervous System** 2017;33:957-964.

2. **学会発表**

1) Kobayashi M, Mizoguchi Y, Karakawa S, Miki M, Nishimura S, Okada S, Kawaguchi H. Long-Term Follow-up of Patients with Chronic Granulomatous Disease Receiving Bone Marrow Transplantation Using Immunosuppressive Conditioning Regimen. **The 59th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition**（2017 年 12 月 9-12 日，米国・アトランタ）.

2) Nishimura S, Tomioka K, Shimomura M, Mizoguchi Y, Kobayashi M. Pharmacokinetics Using myPKFiTR for Personalized Prophylaxis in Children with Severe Hemophilia A. **The 59th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition**（2017 年 12 月 9-12 日, 米国･アトランタ）.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし