

先天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

### 先天性溶血性貧血の診療ガイドラインの作成・疫学調査

研究分担者 菅野 仁（東京女子医科大学医学部輸血・細胞プロセッシング科 教授）  
大賀正一（九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野 教授）  
研究協力者 山本俊至（東京女子医科大学医学部遺伝子医療センターゲノム診療科 教授）  
槍澤大樹（東京女子医科大学医学部輸血・細胞プロセッシング科 講師）  
小倉浩美（ 同 非常勤講師）  
山本圭子（ 同 助教）  
石村匡崇（九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野 助教講師）

研究要旨：ピルビン酸キナーゼ欠乏性貧血（PKD）は解糖系酵素による先天性溶血性貧血で最も頻度の高い疾患である。2016年に世界のPKD解析センター20カ所から24人の専門家が参加してグローバルPKD国際ワーキンググループが設立され、診断ガイドラインを確立した。並行して1972年から2017年までに我々が解析した120例のPKD症例について、その臨床像、血液・生化学データ、赤血球PK活性、遺伝子検査結果を総括した。これらの成果は我が国の診療におけるPKDの認識を高めるのに役立つと考えられる。

#### A. 研究目的

先天性溶血性貧血（CHA）は主として赤血球膜・酵素およびヘモグロビン（Hb）遺伝子変異によって生じ、重症例では胎児死亡、赤血球輸血依存、二次性ヘモクロマトーシスなどを発症するため患者QOLは極めて低い（文献1）。現在CHAの主な病型は小児慢性特定疾患に指定されている（文献2）が、未だ指定難病にはなっていない。今回、CHAの病型のうち、小児期のみならず成人期にも長期療養を必要とする五つの病型（表）について診療ガイドラインおよび重症度分類を策定した。

表 長期療養を必要とする五つのCHA病型

- 1) 口唇赤血球症のうち脱水型遺伝性有口赤血球症 (dehydrated hereditary stomatocytosis; DHS)
- 2) ピルビン酸キナーゼ欠乏性貧血 (pyruvate kinase deficiency; PKD)
- 3) グルコース-6-リン酸脱水素酵素欠乏症 (glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency; G6PD)
- 4) サラセミア (thalassemia)
- 5) 不安定ヘモグロビン症 (unstable hemoglobinopathy)

特に、解糖系酵素異常症の中で最も高頻度であるピルビン酸キナーゼ欠乏性貧血（PKD）については、国際共同研究により、診断ガイドラインを策定した（文献3）、造血幹細胞移植の適応（文献4）について解析したので報告する。

#### B. 研究方法

1972年から2017年までに解析した120例のPKD症例について、その臨床像、血液・生化学データ、赤血球PK活性、遺伝子検査結果を総括した（文献5）。

#### C. 研究結果

PKD診断年齢の中央値は10（最小0-最大72）であり、性別は男性52名、女性68名であった。PKD患者の34.7%で両親の血族関係を認めた。患者の63.6%が新生児期に交換輸血を経験し、64.8%が診断までに赤血球輸血を経験した。47.7%に急性溶血発作の既往を認めた。53.1%の症例に脾腫を認め、そのうちの58.6%が脾臓摘出術を受けた。

Hb、網赤血球、間接ビリルビン、血清LDH、トランスフェリン飽和度、フェリチンの平均値は、8.8g/dL、13.0%、3.7mg/dL、587IU/L、57%、497 ng/mLであった。

遺伝子解析の結果、36PKD症例に2つのPKLR変異を有し、PKDと確定出来た。42例の家族にヘテロ接合変異を同定した。

PKD症例の相対的な赤血球PK活性は対照の $38.5 \pm 3.7\%$ （平均 $\pm$ SE）であったのに対し、ヘテロ接合体のそれは $58.5 \pm 3.3\%$ （平均 $\pm$ SE）だった。ROC曲線を

使用することにより、カットオフ限界を85.9%および79.8%と特定し、ヘテロ接合体/PKD患者を正常な被験者からそれぞれを区別できた。

#### D. 考察

PKDは、解糖系の最も頻度の高い酵素欠損症であり、先天性溶血性貧血の重要な原因である。溶血の程度は、非常に軽度で完全に補償された形態から、輸血依存性を伴う生命を脅かす貧血まで、大きく異なる（文献6）。この疾患は地理的に全世界で分布しているが、その頻度に関する検証済みのデータは無い。その理由の一つとして、診断ワークフローと酵素アッセイの解釈の難しさが挙げられる。

2016年に世界のPKD解析センター20カ所から24人の専門家が参加するグローバルPKD国際ワーキンググループが設立され、診断ガイドラインを確立するために、診断に直接関与するヨーロッパ、米国、および日本の専門家によって議論が開始され、PKD診断の臨床的および技術的側面について、幅広いコンセンサスが得られた（文献3）。本研究結果は、PKD診断アルゴリズムを提供し、今後各国の医療関係者におけるPKDの認識を高めるのに役立つと考えられる。

PKDの治療は主に支持療法であり、定期的な赤血球輸血、脾臓摘出術、鉄過剰症のキレート療法で構成される。造血幹細胞移植（HSCT）は、PKDを治療する可能性があるが、PKDにHSCTを適用した結果は未だ総括されていない。今回国際共同研究により、HSCTによって治療されたPKD症例の世界的なデータベースを作成し、PKDにおけるHSCTのガイドラインの確立に向けた最初のステップとして、適応症例および移植年齢と成績について検討した。その結果、遺伝子型から重症例と判断し得た症例に対してはヘモクロマトーシス発症前にHSCTを考慮すべきことが明らかになった。

#### E. 結論

我が国のPKD症例の過半数は新生児期重症黄疸で交換輸血を経験し、その後も赤血球輸血を受けていた。小児期に診断が確定する例が多いが、中高年になってから診断された例も多々見受けられた。近年はNICUで診断される例が多くなってきているが、赤血球輸血依存性の重症例では赤血球PK活性によ

る診断が困難なケースがある。輸血間隔が十分空いた症例では酵素診断は極めて有効であるが、輸血依存例では早期の遺伝子検査が必要である。具体的にはPKLR 遺伝子の両アレルに病的変異を有することを確認することが肝要であるが、場合によっては変異がイントロンに存在することもあり、注意が必要である（文献1）。

早期に確定診断が得られた症例では、ヘモクロマトーシス合併の有無を定期的な血液検査、画像診断で追跡する必要がある。両アレルにナンセンス変異、フレームシフト変異が同定される重症例に関しては早期の造血幹細胞移植が望ましい。我が国では既に二例の重症PKD患者に造血幹細胞移植が施行され、良好な結果を得ている（文献7, 8）。

#### 文献

1. 菅野仁, 小倉浩美. 網羅的遺伝子解析による先天性溶血性貧血診断の意義と課題. 臨床血液 2021;62(5). (印刷中)
2. 血液疾患の疾患一覧, 小児慢性特定疾病情報センター. <https://www.shouman.jp/disease/search/group/list/09/%E8%A1%80%E6%B6%B2%E7%96%BE%E6%82%A3/#8>.
3. Bianchi P, Fermo E, Glader B, et al. Addressing the diagnostic gaps in pyruvate kinase deficiency: Consensus recommendations on the diagnosis of pyruvate kinase deficiency. *Am J Hematol.* 2019;94:149-161. doi: 10.1002/ajh.25325.
4. van Straaten S, Bierings M, Bianchi P, et al. Worldwide study of hematopoietic allogeneic stem cell transplantation in pyruvate kinase deficiency. *Haematologica* 2018;103(2):e82-e86. doi: 10.3324/haematol.2017.177857.
5. Iwasaki T, Utsugisawa T, Yamamoto T, Ogura H, Aoki T, Okamoto Y, Kawakami T, Ohga S, Ohara A, Ito E, Kanno H. Pyruvate kinase deficiency in Japan: A summary of clinical feature, laboratory data, and enzymatic diagnosis. <https://library.chaweb.org/cha/2018/stockholm/214856/taiju.utsugisawa.pyruvate.kinase.deficiency.in.japan.a.summary.of.clinical.html>.
6. Grace RF, Bianchi P, van Beers EJ, et al. Clinical spectrum of pyruvate kinase deficiency: data from

the Pyruvate Kinase Deficiency Natural History Study. *Blood* 2018;131:2183-2192. doi: 10.1182/blood-2017-10-810796.

7. Akiyoshi K, Sekiguchi K, Okamoto T, et al. Cord blood transplantation in a young child with pyruvate kinase deficiency. *Pediatr Int*. 2016;58:634-636. doi: 10.1111/ped.12889.
8. Shimomura M, Doi T, Nishimura S, Imanaka Y, et al. Successful allogeneic bone marrow transplantation using immunosuppressive conditioning regimen for a patient with red blood cell transfusiondependent pyruvate kinase deficiency anemia. *Hematol Rep*. 2020;12:8305. doi: 10.4081/hr.2020.8305.

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Hasegawa M, Matsushita H, Yahata K, Sugawara A, Ishibashi Y, Kawahara R, Hamasaki Y, Kanno H, Yamada S, Nii N, Kato M, Ohashi A, Koide S, Hayashi H, Yuzawa Y, Tsuboi N. Evaluation of the performance, operability, and safety of Plasauto  $\mu$  TM, a new type of machine for cell-free and concentrated ascites reinfusion therapy (CART), in a post-marketing clinical study. **Ther Apher Dial**. 2021 Apr 22. doi: 10.1111/1744-9987.13658. [Epub ahead of print]
- 2) Ogura H, Ohga S, Aoki T, Utsugisawa T, Takahashi H, Iwai A, Watanabe K, Okuno Y, Yoshida K, Ogawa S, Miyano S, Kojima S, Yamamoto T, Yamamoto-Shimajima K, Kanno H. Novel COL4A1 mutations identified in infants with congenital hemolytic anemia in association with brain malformations. **Hum Genome Var**. 2020;7(1):42. doi: 10.1038/s41439-020-00130-w.
- 3) Kamio T, Kamio H, Aoki T, Ondo Y, Uchiyama T, Yamamoto-Shimajima K, Watanabe M, Okamoto T, Kanno H, Yamamoto T. Molecular Profiles of Breast Cancer in a Single Institution. **Anticancer Res**. 2020;40(8):4567-4570. doi: 10.21873/anticancer.14462.
- 4) Suzuki T, Togawa T, Kanno H, Ogura H, Yamamoto T, Sugiura T, Kouwaki M, Saitoh S. A Novel  $\alpha$ -Spectrin pathogenic variant in trans to  $\alpha$ -Spectrin LELY causing neonatal jaundice with hemolytic anemia from hereditary pyropoikilocytosis coexisting with Gilbert syndrome. **J Pediatr Hematol Oncol**. 2021;43(2):e250-e254. doi: 10.1097/MPH.0000000000001796.
- 5) Yamamoto-Shimajima K, Imaizumi T, Akagawa H, Kanno H, Yamamoto T. Primrose syndrome associated with unclassified immunodeficiency and a novel ZBTB20 mutation. **Am J Med Genet A**. 2020;182(3):521-526. doi: 10.1002/ajmg.a.61432.
- 6) Tanaka J, Tanaka N, Wang YH, Mitsuhashi K, Ryuzaki M, Iizuka Y, Watanabe A, Ishiyama M, Shinohara A, Kazama H, Hagiwara S, Yoshinaga K, Kougen Y, Kobayashi H, Kanno H, Shiseki M. Phase I study of cellular therapy using ex vivo expanded natural killer cells from autologous peripheral blood mononuclear cells combined with rituximab-containing chemotherapy for relapsed CD20-positive malignant lymphoma patients. **Haematologica**. 2020;105(4):e190-e193. doi: 10.3324/haematol.2019.226696.
- 7) Koyamaishi S, Kamio T, Kobayashi A, Sato T, Kudo K, Sasaki S, Kanezaki R, Hasegawa D, Muramatsu H, Takahashi Y, Sasahara Y, Hiramatsu H, Kakuda H, Tanaka M, Ishimura M, Nishi M, Ishiguro A, Yabe H, Sarashina T, Yamamoto M, Yuza Y, Hyakuna N, Yoshida K, Kanno H, Ohga S, Ohara A, Kojima S, Miyano S, Ogawa S, Toki T, Terui K, Ito E. Reduced-intensity conditioning is effective for hematopoietic stem cell transplantation in young pediatric patients with Diamond-Blackfan anemia. **Bone Marrow Transplant**. 2020 Sep 18. doi: 10.1038/s41409-020-01056-1. [Online ahead of print]
- 8) Kinoshita K, Ishizaki Y, Yamamoto H, Sonoda M, Yonemoto K, Kira R, Sanefuji M, Ueda A, Matsui H, Ando Y, Sakai Y, Ohga S. De novo p.G696S mutation in COL4A1 causes intracranial

- calcification and late-onset cerebral hemorrhage: A case report and review of the literature. **Eur J Med Genet.** 2020;63(4):103825.
- 9) Kurokawa M, Nishiyama K, Koga Y, Eguchi K, Imai T, Oba U, Shiraiishi A, Nagata H, Kaku N, Ishimura M, Honjo S, Ohga S. Hyperferritinemia and acute kidney injury in pediatric patients receiving allogeneic hematopoietic cell transplantation. **Pediatr Nephrol.** 2020;35(10):1977-1984.
  - 10) Nishiyama K, Watanabe Y, Ishimura M, Tetsuhara K, Imai T, Kanemasa H, Ueki K, Motomura Y, Kaku Y, Sakai Y, Imadome K, Ohga S. Parvovirus B19-infected tubulointerstitial nephritis in hereditary spherocytosis. **Open Forum Infect J.** 2020;7(8):ofaa288.
  - 11) Yamamoto S, Shiraiishi A, Ishimura M, Motomura Y, Yada Y, Moriuchi H, Ohga S. Cytomegalovirus-associated hemolytic anemia in an infant born to a mother with lupus. **Neonatology** 2021. (in press)
  - 12) 大賀正一, 石村匡崇, 江口克秀, 長谷川一太, 小倉浩美, 槍澤大樹, 菅野仁. 新生児の遺伝性溶血性貧血 - 遺伝子診断の臨床的意義 -. **臨床血液** 2020;61(5):484-490. doi: 10.11406/rinketsu.61.484.
  - 13) 牧野茂義, 菅野仁, 岡本好雄, 北澤淳一, 山本晃士, 安村敏, 米村雄士, 横濱章彦, 松下正. 改善されてきたわが国の輸血医療, その現状と課題～血液製剤使用実態調査から見えてくるもの～. **日本輸血・細胞治療学会誌** 2020;66(4):619-628.
2. 学会発表
- 1) 玉井佳子, 大戸齊, 藤井伸治, 小郷博昭, 矢澤百合香, 谷内田尚美, 山本晃士, 阿南昌弘, 三谷絹子, 篠原茂, 菅野仁, 槍澤大樹, 岡本好雄, 長嶋宏晃, 久米田麻衣, 田中一人, 山田舞衣子, 北澤淳一. 未成年者の抗赤血球抗体に関する多施設共同研究～移行抗体を除く抗体保有率と抗体産生率について～. **第 68 回日本輸血・細胞治療学会学術総会** (2020 年 5 月 28-30 日, 紙上開催). (口演). 日本輸血・細胞治療学会誌 2020;66(2):144.
  - 2) 中林恭子, 木下明美, 緒方康貴, 岡本好雄, 槍澤大樹, 菅野仁. 当院における輸血副作用報告の解析. **第 68 回日本輸血・細胞治療学会学術総会** (2020 年 5 月 28-30 日, 紙上開催). (口演). 日本輸血・細胞治療学会誌 2020;66(2):159.
  - 3) 中原衣里菜, 藤田浩, 中原美千代, 源川結, 伊東正剛, 吉橋知邦, 三澤正弘, 菅野仁, 谷ヶ崎博, 森岡一朗. Donath-Landsteiner 抗体検出により早期診断と安全な寒冷暴露制限解除ができた PCH の一例. **第 68 回日本輸血・細胞治療学会学術総会** (2020 年 5 月 28-30 日, 紙上開催). (ポスター). 日本輸血・細胞治療学会誌 2020;66(2):169.
  - 4) 緒方康貴, 岡本好雄, 槍澤大樹, 菅野仁. 輸血管理料適正使用加算取得のための検討. **第 68 回日本輸血・細胞治療学会学術総会** (2020 年 5 月 28-30 日, 紙上開催). (ポスター). 日本輸血・細胞治療学会誌 2020;66(2):173.
  - 5) 石田篤正, 榎木美佳, 中島久晴, 高木豊雅, 津田勝代, 栢尾和江, 胡内久美子, 八木秀男, 小倉浩美, 青木貴子, 菅野仁, 中村文彦. 脱水型遺伝性有口赤血球症に合併した鉄過剰症に対する赤血球除去療法. **第 68 回日本輸血・細胞治療学会学術総会** (2020 年 5 月 28-30 日, 紙上開催). (ポスター). 日本輸血・細胞治療学会誌 2020;66(2):181.
  - 6) 松田和樹, 久保田友晶, 守屋友美, 及川美幸, 千野峰子, 木下明美, 岡田真一, 中林恭子, 岡本好雄, 槍澤大樹, 菅野仁. **第 68 回日本輸血・細胞治療学会学術総会** (2020 年 5 月 28-30 日, 紙上開催). (ポスター). 日本輸血・細胞治療学会誌 2020;66(2):181.
  - 7) 菅野仁, 岡本好雄, 北澤淳一, 安村敏, 山本晃士, 横濱章彦, 米村雄士, 牧野茂義. (セミナー) 血液製剤使用実態調査について. **第 68 回日本輸血・細胞治療学会学術総会** (2020 年 5 月 28-30 日, 紙上開催). 日本輸血・細胞治療学会誌 2020;66(2):132.
  - 8) 菅野仁, 小倉浩美, 山本俊至. (シンポジウ

ム) 溶血性貧血の分子病態と新規治療. 網羅的遺伝子解析による先天性溶血性貧血診断の意義と課題. **第 82 回 日本血液学会学術集会** (2020 年 10 月 11 日-11 月 8 日, WEB) .

- 9) 神尾卓哉, 小山石隼, 小林明恵, 佐藤知彦, 工藤耕, 佐々木伸也, 金崎里香, 長谷川大一郎, 村松秀城, 高橋義行, 笹原洋二, 平松英文, 角田治美, 田中美幸, 石村匡崇, 西眞範, 石黒精, 矢部普正, 吉田健一, 菅野仁, 大賀正一, 小原明, 小島勢二, 宮野悟, 小川誠司, 土岐力, 照井君典, 伊藤悦朗. **ダイヤモンドブラックファン貧血に対する骨髄非破壊的前処置を用いた同種造血細胞幹移植の有用性.** **第 82 回 日本血液学会学術集会** (2020 年 10 月 11 日-11 月 8 日, WEB) . (口頭) .
- 10) 難波貴弘, 樋口洋介, 越智元春, 西村佑真, 浦田奈生子, 江渕有紀, 森茂弘, 井上拓志, 清水順也, 古城真秀子, 菅野仁, 久保俊英. **重症な溶血性貧血のため輸血を要した乳児濃縮赤血球症の 1 例.** **第 72 回中国四国小児科学会** (2020 年 11 月 28-29 日, 広島) . (口演) .
- 11) 山本圭子, 今泉太一, 赤川浩之, 菅野仁, 山本俊至. **選択的 IgG2 低下を示し中耳炎を反復した ZBTB20 の de novo 変異による Primrose 症候群の 1 例.** **第 62 回日本小児神経学会学術集会** (2020 年 8 月 18-20 日, WEB) . (ポスター) .
- 12) 山本圭子, 長谷川結子, 岡本伸彦, 菅野仁, 山本俊至. **Acrocentric な染色体の短腕への転座を示した 2 例.** **第 44 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会** (2020 年 7 月 3-5 日, WEB) . (ポスター) .
- 13) Grace RF, Boscoe AN, Bowden C, Glader B, Kanno H, Layton DM, van Beers E, Corrons JLV, Yan Y, Bianchi P. **Baseline Characteristics of Patients in Peak: A Global, Longitudinal registry of Patients with Pyruvate Kinase Deficiency.** **62<sup>nd</sup> ASH** (2020 年 12 月 5-8 日, WEB) . (ポスター) .

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし