

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

### 小児造血不全症における遺伝性素因に基づく治療選択の検討

研究分担者	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）
	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）
研究協力者	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）
	江口克秀（同 助教）
	園田素史（同 助教）
	矢田裕太郎（同 博士課程）
	木下恵志郎（同 博士課程）
	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）

研究要旨：小児造血不全症は先天性および後天性に分類される。いずれも血液学的根治として造血細胞移植が選択肢となるが、治療関連毒性や晩期合併症のリスクが異なるため鑑別が重要である。遺伝学的に先天性骨髄不全症と診断した16名に対して強度減弱前処置を用いた造血細胞移植を行い、有効性・安全性を検討した。先天性角化不全症は移植成績が不良であり、移植適応・前処置法の更なる検討の必要性が示唆された。Fanconi 貧血、Diamond-Blackfan 貧血、先天性無巨核球形血小板減少症では比較的良好な成績が得られたが、長期的な観察が不十分であり、長期フォローアップ成績を含めた至適前処置の検討が必要である。小児再生不良性貧血におけるエルトロンボパグ使用例では、clonal evolution を来した症例はなく比較的安全に使用できたが、1名で骨髄線維症を発症しており、小児適応や使用時期については更なる検討が必要である。

#### A. 研究目的

小児造血不全症は先天性および後天性に分類される。先天性骨髄不全症は、骨髄不全のみならず、身体奇形や腸管病変など多臓器にわたり症状を来す全身性疾患である。稀少疾患ではあるが、疾患概念の普及および遺伝子解析技術の進歩から年々診断される患者数が増加傾向にある。簡便な診断法はなく、臨床症状と検査成績に遺伝子検査を組み合わせで診断する。後天性骨髄不全症の代表的疾患は再生不良性貧血（AA）であり、診断と治療選択において先天性骨髄不全症の鑑別が重要である。いずれの疾患でも血液学的根治の治療として造血細胞移植が選択肢となるが、特に先天性骨髄不全症では治療関連毒性やがん素因の観点から、正確に診断をつけることが長期フォローアップの観点でも大切である。AAの治療として、造血細胞移植以外に成人領域ではトロンボポエチン受容体作動薬（エルトロンボパグ）の有効性が示されているが、小児領域での安全性・有効性は確立されていない。今回、先

天性骨髄不全症における造血細胞移植例や再生不良性貧血におけるエルトロンボパグ使用例を集積し、小児造血不全症における治療選択を検討した。

#### B. 研究方法

先天性骨髄不全症症例は、2012年4月から2022年3月までの10年間で、原因遺伝子が同定され、血液学的根治を目的に造血細胞移植を行い、長期フォローアップが可能であった症例を対象とした。エルトロンボパグを使用した後天性造血不全症例は、対象期間を2017年8月から2019年12月とし、アンケート法による全国調査に回答があり、先天性骨髄不全症を除く小児例を対象とした。臨床情報は兵庫県立こども病院 田村彰広先生、小阪嘉之先生、原因遺伝子解析はかずさDNA研究所 小原收先生、弘前大学 伊藤悦朗先生、照井君典先生、名古屋大学 村松秀城先生、国立成育医療研究センター 石黒精先生のご協力を得て行った。DBAスクリーニングの赤血球酵素活性測定は、東京女子医科大学 菅野仁先生、テロ

メア長・FANCD2モノユビキチン化の評価は名古屋大学小児科の協力を得た。

(倫理面への配慮)

遺伝子解析は倫理委員会の承認を受け、対象患者とその家族より同意書を取得し、解析を行った。必要に応じて、遺伝カウンセリングを行った。

### C. 研究結果

先天性骨髄不全症は、Fanconi貧血 (FA)、先天性角化不全症 (DKC)、Diamond-Blackfan貧血 (DBA)、先天性無巨核球性血小板減少症 (CAMT) の4疾患計16名を対象とした。

FA患者は4名が対象であり、3名は汎血球減少と身体徴候から早期に診断されたが、1名は身体徴候に乏しく、11歳時に同疾患と診断された。原因遺伝子は3名がFANCA遺伝子、1名がFANCG遺伝子であった。全例にFLU/CY/TLI/rATGを前処置とした非血縁者間骨髄移植を行った。全例で完全キメラを得て、重篤な治療関連毒性は認めなかった。移植後観察期間の中央値は48か月 (範囲: 38-95か月) で、全例生存しており、悪性腫瘍の合併例はない。1名で遷延する低ガンマグロブリン血症を認め、免疫グロブリン定期補充療法を継続している。

DKC患者は4名が対象であり、血球減少、免疫不全症、身体徴候から3名がHoyeraal-Hreidarsson症候群 (HHS)、1名がRevesz症候群 (RS) と診断された。原因遺伝子は2名がRTEL1遺伝子、1名がDKC1遺伝子、1名がTINF2遺伝子であった。HHSの3名は免疫不全症と造血不全症をRSの1名は造血不全症を移植適応とした。いずれもFLU/CY/rATGをベースとした強度減弱前処置を用い、非血縁骨髄を移植源とする症例はTLIを追加した。HHSの3名は全例死亡し、1名は血栓性微小血管閉塞症の合併により移植後早期に死亡した。2名は完全キメラを得たが、治療抵抗性の腸管GVHDにより移植後1年以内に死亡した。RSの1名は血縁者間骨髄移植後に完全キメラを得たが、移植後41か月時に肺動静脈瘻に起因する脳膿瘍を合併した。生体肺移植により救命され、移植後61か月経過し生存している。

DBA患者は7名が対象であり、赤芽球癆と身体徴候から診断された。全例で赤血球酵素活性は、eADA活性および還元型グルタチオン濃度からDBA型を示した。原因遺伝子は5名がRPS19遺伝子、1名がRPL5遺伝子、1名がRPS26遺伝子であった。前処置

としては、6名で用量調整BU/FLUレジメン、1名でFLU/MEL/TBIレジメンを用いた。FLU/MEL/TBIレジメンを用いた症例は輸血依存期間も長く、16歳で比較的年齢も高かったが、MDS合併もあり、両親と協議の結果、造血細胞移植の方針とした。用量調整BUレジメンを用いた6名のうち5名が初回移植で完全キメラを達成し、1名が類洞閉塞症候群 (SOS) を発症し生着不全となった。生着不全の1名は6名の中で輸血依存期間が最も長く、移植前フェリチン値が最も高かった。生着不全例に対しては、初回移植から2か月後に臍帯血移植を行い、完全キメラを得た。移植後観察期間の中央値は49.5か月 (範囲: 13-78か月) であり、全例生存しており、観察期間中に悪性腫瘍、肺合併症および中枢神経合併症を認めた症例はない。FLU/MEL/TBIレジメンを用いた1名は完全キメラを得たが、慢性GVHDとして肺障害を合併し、移植後15か月で死亡した。

CAMT患者は1名が対象であり、乳児期発症の治療抵抗性の血小板減少症、骨髄中の巨核球数減少、血清トロンボポエチン値上昇から同疾患が疑われた。遺伝子解析でMPL遺伝子変異を同定し診断された。2歳時に用量調整BU/FLUレジメンを用いて血縁者間骨髄移植を行った。完全キメラを得て、重篤な治療関連毒性は認めなかった。移植後観察期間は22か月で、晩期合併症は認めていない。

小児AA患者でエルトロンボパグを使用した症例は27名であった。開始時年齢の中央値は9歳 (範囲: 1.5-14歳)、観察期間の中央値は14か月 (範囲: 2-60か月) であった。病型は特発性が81%、肝炎関連が11%であった。85%の症例が免疫抑制療法に抵抗性のために使用された。治療反応率は、エルトロンボパグ開始後3か月、6か月、12か月の時点でそれぞれ56%、57%、60%であった。完全奏功のためエルトロンボパグを中止できた症例が4名あり、うち2名は特発性の症例でいずれも10歳未満の年少児であった。有害事象としてはビリルビン上昇が22%と最も多くみられた。重篤な合併症として、1名でエルトロンボパグ使用中に骨髄線維症を発症したが、造血細胞移植により血液学的寛解が得られた。Clonal evolutionを来した症例はなかった。

### D. 考察

先天性骨髄不全症はがん素因や身体徴候に伴う臓器合併症発症リスクが高いことから造血細胞移

植に用いる前処置強度は低減することが望ましい。前処置強度の低減によりFA、DBA、CAMTの症例ではほとんどの症例で重篤な治療関連毒性なく完全キメラを得た。一方で、DKC患者では前処置強度の低減にも関わらず、全例で重度の移植後合併症を来し、他の疾患に比べ移植成績は不良であった。また、DKC以外の症例も移植後観察期間は短期間であり、長期的な安全性はまだ確認されておらず、悪性腫瘍など晩期合併症の発症に留意した慎重なフォローアップが重要である。

小児再生不良性貧血に対するエルトロンボパグの使用報告は限られる。本邦での使用例では重篤な合併症として骨髄線維症を1名で認めたが、その他の症例では比較的 safely に使用できていた。少数ながら年少児で造血細胞移植を回避できた症例もあり、エルトロンボパグの使用時期など今後の検討課題である。

## E. 結論

先天性骨髄不全症は全身性疾患であり、疾患および個々の症例毎に移植適応の慎重な検討が必要であり、治療関連毒性と長期フォローアップ成績を考慮した至適前処置の確立が必要である。がん素因のあるこれらの稀少疾患患者に対して、正確な診断と症例毎の細やかな臨床経過の蓄積が望まれる。後天性造血不全症の代表である再生不良性貧血においては安全性・有効性を検証し、エルトロンボパグの適応や使用時期について検討する上で更なる症例の蓄積が必要である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Koyamaishi S, Kamio T, Kobayashi A, Sato T, Kudo K, Sasaki S, Kanazaki 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.** 2021

May;56(5):1013-1020. doi: 10.1038/s41409-020-01056-1.

- 2) Sonoda M, Ishimura M, Eguchi K, Yada Y, Lenhartová N, Shiraiishi A, Tanaka T, Sakai Y, Ohga S. Progressive B cell depletion in human MALT1 deficiency. **Clin Exp Immunol.** 2021 Dec;206(3):237-247. doi: 10.1111/cei.13662.
- 3) Miyamoto S, Umeda K, Kurata M, Nishimura A, Yanagimachi M, Ishimura M, Sato M, Shigemura T, Kato M, Sasahara Y, Iguchi A, Koike T, Takahashi Y, Kajiwara M, Inoue M, Hashii Y, Yabe H, Kato K, Atsuta Y, Imai K, Morio T. Hematopoietic Cell Transplantation for Severe Combined Immunodeficiency Patients: a Japanese Retrospective Study. **J Clin Immunol.** 2021 Nov;41(8):1865-1877. doi: 10.1007/s10875-021-01112-5.
- 4) Eriguchi M, Katsuya H, Kidoguchi K, Ureshino H, Masanori N, Nishihara M, Sonoda M, Ishimura M, Kimura S, Hara H. Immune dysregulation syndrome with cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 mutation showing multiple central nervous system lesions. **Clin Exp Neuroimmunol.** 2021. doi: 10.1111/cen3.12672.
- 5) Shimizu M, Shimbo A, Takagi M, Eguchi K, Ishimura M, Sugita J, Morio T, Kanegane H. Successful treatment of joint and fascial chronic graft-versus-host disease with baricitinib. **Rheumatology (Oxford).** 2021 Dec 24;61(1):e1-e3. doi: 10.1093/rheumatology/keab599.
- 6) 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;118(3):368-372. doi: 10.1159/000515770.
- 7) 大賀正一, 虫本雄一, 石村匡崇. これからのゲノム医療 新生児・小児領域のゲノム医療. **日本内科学会雑誌** 2021;110(9):1898-1903.
- 8) 石村匡崇, 江口克秀, 園田素史, 白石暁, 大賀正一. 遺伝性骨髄不全症と原発性免疫不全症の治療戦略. **臨床血液** 2021;62(8):1327-1333.
- 9) 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.
- 10) Kurokawa M, Nishiyama K, Koga Y, Eguchi K, Imai T, Oba U, Shiraishi 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.
- 11) 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.
- 12) 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.
- 13) 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.
- 14) Ishimura M, Eguchi K, Shiraishi A, Sonoda M, Azuma Y, Yamamoto H, Imadome K, Ohga S. Systemic Epstein-Barr virus-positive T/NK lymphoproliferative diseases with SH2D1A/XIAP hypomorphic gene variants. **Front Pediatr.** 2019;7:183. doi: 10.3389/fped.2019.00183.
- 15) Kohara H, Utsukisawa T, Sakamoto C, Hirose L, Ogawa Y, Ogura H, Sugawara A, Aoki T, Iwasaki T, Asai T, Doisaki S, Okuno Y, Muramatsu H, Abe T, Kurita R, Miyamoto S, Sakuma T, Shiba M, Yamamoto T, Ohga S, Yoshida K, Ogawa S, Ito E, Kojima S, Kanno H, Tani K. KLF1 mutation E325K induces cell cycle arrest in erythroid cells differentiated from congenital dyserythropoietic anemia patient-specific induce pluripotent stem cells. **Exp Hematol.** 2019 May;73:25-37.e8.
- 16) Ichimiya Y, Sonoda M, Ishimura M, Kanno S, Ohga S. Hemorrhagic Pneumonia as the First Manifestation of Anhidrotic Ectodermal Dysplasia with Immunodeficiency. **J Clin Immunol.** 2019;39(3):264-266.
- 17) Sonoda M, Ishimura M, Eguchi K, Shiraishi A, Kanno S, Kaku N, Inoue H, Motomura Y, Ochiai M, Sakai Y, Nakayama M, Ohara O, Ohga S. Prognostic factors for survival of herpes simplex virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. **Int J Hematol.** 2020; 111(1):131-136.
- 18) Hagio Y, Shiraishi A, Ishimura M, Sonoda M, Eguchi K, Yamamoto H, Oda Y, Ohga S. Posttransplant recipient-derived CD4+ T-cell lymphoproliferative disease in X-linked hyper-IgM syndrome. **Pediatr Blood Cancer.** 2019 Mar;66(3):e27529. doi: 10.1002/pbc.27529.
- 19) Kinjo T, Inoue H, Kusuda T, Fujiyoshi J, Ochiai M, Takahata Y, Honjo S, Koga Y, Hara T, Ohga S. Chemokine levels predict progressive liver disease in Down syndrome patients with transient abnormal myelopoiesis. **Pediatr Neonatol.** 2019;60(4):382-338.
- 20) 江口克秀, 石井加奈子, 石村匡崇, 大賀正一. 【内分泌症候群（第3版）-その他の内分泌疾患を含めて-】XI. 低身長を伴う遺伝性(先天性)症候群 7. Fanconi貧血. **別冊内分泌症候群IV** 2019:430-434.
- 21) 石村匡崇, 大賀正一. 先天性骨髄不全症候群と原発性免疫不全症におけるがん素因. **臨床血液** 2019;60(6):702-707.
2. 学会発表
- 1) Eguchi K, Ishimura M, Ohga S. A retrospective study of eltrombopag for the treatment of pediatric aplastic anemia and inherited bone marrow failure syndromes in Japan. **2021 the Korean Society of Pediatric Hematology Oncology Autumn Meeting** (2021年10月22日, Web開催) .
- 2) 石村匡崇. (教育講演) 遺伝性骨髄不全症と原発性免疫不全症の治療戦略. **第83回日本血液**

学会学術集会 (2021年9月23日-25日, 仙台 (Web開催) ) .

- 3) 江口克秀, 石村匡崇, 田村彰広, 伊藤暢宏, 木下恵志郎, 幸伏寛和, 園田素史, 白石暁, 小阪嘉之, 大賀正一. Diamond-Blackfan 貧血に対する用量調整ブスルファン/フルダラピンを用いた非血縁者間骨髄移植. **小児造血幹細胞移植セミナー九州2021** (2021年1月9日, 福岡 (Web開催) ) .
- 4) Sonoda M, Ishimura M, Eguchi K, Yada Y, Shiraishi A, Ohga S. The clinical expression and treatment of MALT1 deficiency due to a novel nonsense mutation. **The 83rd Annual Meeting of Japanese Society of Hematology** (2021年9月23日-25日, 仙台 (Web開催) ) .
- 5) 木下恵志郎, 江口克秀, 石村匡崇, 長谷川一太, 矢田裕太郎, 園田素史, 白石暁, 村松秀城, 大賀正一. 遺伝性骨髄不全症候群における造血細胞移植の課題-Fanconi 貧血と重症型先天性角化不全症. **第63回日本小児血液・がん学会学術集会** (2021年11月25日-27日, 大阪 (Web開催) ) .
- 6) 木下恵志郎, 江口克秀, 石村匡崇, 幸伏寛和, 長谷川一太, 矢田裕太郎, 園田素史, 白石暁, 大賀正一. 遺伝性骨髄不全症に対する造血細胞移植: Fanconi 貧血と重症型先天性角化不全症の予後と課題. **第11回日本血液学会九州地方会** (2021年3月13日, Web開催) .
- 7) 江口克秀, 石村匡崇, 大賀正一. A retrospective study of eltrombopag for the treatment of pediatric aplastic anemia and inherited bone marrow failure syndrome in Japan. **第27回小児再生不良性貧血治療研究会学術集会** (2020年11月8日, Web開催) .
- 8) Ishimura M, Eguchi K, Shiraishi A, Sonoda M, Azuma Y, Yamamoto H, Imadome KI, Ohga S. Epstein-Barr virus related Hemophagocytic Lymphohistiocytosis and chronic active Epstein-Barr virus infection with SH2D1A/XIAP Hypomorphic gene variants. **The 15th Congress of Asian Society for Pediatric Research (ASPR)** (2019年9月7日-11日, インドネシア・マナド) .
- 9) Eguchi K. Systemic EBV-positive T/NK lymphoproliferative diseases with SH2D1A/XIAP

hypomorphic gene variants. **The 81st Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology** (2019年10月11日-13日, 東京) .

- 10) 江口克秀, 石村匡崇, 白石暁, 矢田裕太郎, 幸伏寛和, 園田素史, 江口啓意, 古賀大介, 山田愛, 木下真理子, 西眞範, 野村優子, 盛武浩, 大賀正一. Limited observation of eltrombopag therapy for aplastic anemia and refractory cytopenia of childhood. **第26回小児再生不良性貧血治療研究会学術集会** (2019年6月1日, 名古屋) .
- 11) 園田素史, 石村匡崇, 江口克秀, 市山正子, 藤吉順子, 井上普介, 落合正行, 金城唯宗, 高畑靖, 大賀正一. 新生児期の集学的治療によって救命し得た最重症型 $\alpha$ 0-サラセミア症例に対する造血細胞移植. **第29回日本産婦人科・新生児血液学会学術集会** (2019年6月7日-8日, 名古屋) .
- 12) 江口克秀, 石村匡崇, 白石暁, 幸伏寛和, 長谷川一太, 矢田裕太郎, 園田素史, 古賀友紀, 大賀正一. 非腫瘍性疾患に対する造血細胞移植～九州大学小児科での10年間の検討～. **第61回日本小児血液・がん学会** (2019年11月14日-16日, 広島) .
- 13) 大賀正一. 造血・免疫不全症に対する細胞療法. **第47回千葉基礎臨床免疫セミナー** (2019年11月29日, 千葉) .

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし