

遺伝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

小児先天性貧血に対する造血細胞移植の適応と前処置に関する検討

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 特任教授）
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）
足立 俊一（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 准教授）
白山 理恵（産業医科大学小児科学教室 修練指導医）

研究要旨：造血細胞移植は、Diamond-Blackfan 貧血（DBA）をはじめとした小児先天性貧血において血液学的治癒をもたらす治療法である。個々の症例毎に移植適応は慎重に検討する必要がある、治療関連毒性の軽減から強度減弱前処置が望まれる。今回、DBA 6名、GATA1 関連先天性貧血 2名、SPTA1 関連遺伝性球状赤血球症 1名を対象に検討した。DBA の6名、GATA1 関連溶血性貧血の1名は輸血依存のため用量調整ブスルファンを用いた骨髄移植を行った。5名が初回移植で生着し、2名が急性期・慢性期合併症により生着不全となり、再移植により生着を得た。全例生存し、悪性腫瘍など晩期合併症を発症した症例はなかった。遺伝性球状赤血球症患者は既存治療抵抗性と赤血球輸血依存から骨髄移植を計画しており、GATA1 関連赤芽球癆患者はステロイド反応性があり、経過観察中である。小児先天性貧血に対する強度減弱前処置として用量調整ブスルファンレジメンは許容可能な前処置法と考えられるが、長期的な安全性を含め慎重な経過観察が必要である。疾患と症例毎に移植適応を検討するため、さらなる症例情報の蓄積が望まれる。

A. 研究目的

造血細胞移植は、小児先天性貧血において血液学的治癒を得ることが可能な治療法である。移植適応となる代表疾患として、リボソーム機能障害を病因とするDiamond-Blackfan貧血（DBA）が挙げられる。近年の移植技術向上に伴い先天性溶血性貧血の根治を目的に造血細胞移植を受ける症例が増加している。いずれの疾患においても既存治療に対する不応または抵抗性や赤血球輸血依存を移植適応の理由とするが、移植関連合併症や晩期合併症の観点から移植適応は慎重に検討する必要がある。移植方法に関しては、DBAではがん素因、溶血性貧血では赤芽球形成過多による拒絶リスク、また両疾患において赤血球輸血依存に伴う鉄過剰症による臓器障害を考慮した前処置強度の決定が必要となる。今回先天性貧血に対する至適な治療選択を目的として、移植適応や用量調整Busulfan（BU）を用いた強度減弱

前処置の有効性について検討した。

B. 研究方法

DBAもしくは先天性溶血性貧血と診断し、2015年4月から2023年3月までの8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。兵庫県立こども病院 田村彰広先生、小阪嘉之先生、久留米大学 中川慎一郎先生、佐世保共済病院 上玉利彰先生、産業医科大学 白山理恵先生に臨床情報の提供、東京女子医科大学 菅野仁先生にDBAスクリーニングの赤血球酵素活性測定と遺伝子解析、弘前大学 伊藤悦朗先生、照井君典先生に遺伝子解析のご協力を得て行った。BUは単回試験投与を行い、得られた血中濃度をもとに、統計解析ソフトウェアを用いてcumulative AUCを算出した。輸血依存期間、移植前フェリチン値を参考に個々の

BU投与量を決定した。

(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

*RPS19*もしくは*RPS26*遺伝子ヘテロ接合性variantを同定したDBA 6名、*GATA1*遺伝子にヘミ接合性variantを同定した*GATA1*関連先天性貧血2名および*SPTA1*遺伝子に複合ヘテロ接合性variantsを同定した遺伝性球状赤血球症1名を解析対象患者とした。

DBAの6名(男性:3名、女性:3名)は、ステロイド治療に不応もしくは抵抗性となり、輸血依存となったため全例造血細胞移植を施行した。初回移植では、全例非血縁骨髄を移植源とした。移植時年齢の中央値は5.4歳(範囲:1.8-23歳)であった。HLA遺伝子適合度は完全一致が3名、1座不一致が3名であった。輸血依存期間の中央値は31か月(範囲:4-78か月)、移植前フェリチン値の中央値は1164.4 ng/mL(範囲:271.7-2174.0 ng/mL)であった。全例初回移植では用量調整BUを前処置とし、BUのcumulative AUCの中央値は61 mg/L×hr(範囲:60-75 mg/L×hr)であった。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。Grade III以上の急性GVHDを発症した症例はなかったが、完全キメラを得た1名で移植後難治性免疫性血球減少症と慢性GVHD(難治性下痢症)を発症した。免疫性血球減少症のコントロールがつかず、二次性生着不全となり、初回移植後23か月後にHLA一致同胞から再度骨髄移植を施行した。移植後1か月経過し、完全キメラを得て、現在経過観察中である。移植後観察期間の中央値は60.5か月(範囲:24-89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。

*GATA1*関連先天性貧血と診断した2名の病型は、赤芽球癆(RCA)が1名、溶血性貧血が1名であった。RCAと診断した1名は、1歳時に正球形貧血を指摘され、遺伝子検査で*GATA1* splice site variant(c.218_220delinsATTGA)を同定した。ステロイド加療への反応は良好で、間欠的なステロイド加療で

輸血依存なく、成長障害など有害事象もなく経過している。溶血性貧血と診断した1名は、新生児貧血を認め、当初はRCAと診断され赤血球輸血で経過をみられたが、2歳以降自然に輸血依存から脱却し経過観察された。20歳時に溶血性貧血の進行により再度赤血球輸血依存となり、この際に赤血球アデノシンデアミナーゼ活性上昇と新規の*GATA1* variant(c.920G>A, p.R307H)を同定された。22歳以降は頻回の赤血球輸血を要したため、造血細胞移植適応と判断した。赤芽球形成過多に対するpreconditioningとしてHydroxyureaを併用し、24歳時にHLA一致同胞より用量調整BU(cumulative AUC 75 mg/L×hr)を用いて骨髄移植を行った。移植後3年経ち、輸血依存や重篤な移植後合併症なく経過している。

*SPTA1*遺伝子異常による重症遺伝性球状赤血球症と診断した1名は、新生児期より溶血性貧血を認め、赤血球輸血依存となった。3歳時に脾臓摘出術を施行し、赤血球輸血頻度は減少したものの、Hb 6.5-7 g/dLで経過し、貧血症状が出現した。10歳時に小型赤血球、EMA結合能低下、赤血球浸透圧脆弱性試験陽性、還元型グルタチオン高値であり、*SPTA1*遺伝子に複合ヘテロ接合性variants(c.6516G>A, p.W2172X/c.6839A>G, p.Y2280C)を同定し、溶血性貧血を示す同胞も同variantsを有していたことから確定診断とした。脾摘後も赤血球輸血依存であり、造血細胞移植の適応と判断し、非血縁者間骨髄移植を計画中である。

D. 考察

DBAに対して強度減弱前処置を用いた造血細胞移植の報告は限られる。今回、用量調整BUを用いた非血縁者間骨髄移植を行い、6名中5名で完全キメラが得られ、重篤な治療関連毒性もみられず、用量調整BUは許容可能な前処置法と考えられた。一方で、SOS合併例に一次性生着不全、難治性免疫性血球減少症合併例に二次性生着不全を認めた。急性期・慢性期の合併症リスクを集積し、個々の状態に応じた前処置法を選択する必要がある。

*GATA1*は、種々の遺伝子の転写制御因子のため、赤芽球癆、赤血球形成異常性貧血、溶血性貧血など様々な病型をとる。血液学的根治療法として造血細胞移植は有用だが、自然軽快や病型が変化する症例、ステロイドが有効な症例もあり、移植適応は慎重に判断する必要がある。至適な治療選択を行うためにもgenotype-phenotypeに関する知見の集積が望まれ

る。今回、新規に同定されたGATA1関連溶血性貧血の1名に用量調整BUを用いた骨髄移植を施行した。同疾患に対する造血細胞移植例の報告はなく、拒絶リスク低減のためのHydroxyureaの有効性を含め移植適応と前処置法についての更なる検討が必要である。

遺伝性球状赤血球症で造血細胞移植を施行された報告は限られる。移植適応の判断において、原疾患の同定は移植関連リスクを考慮する上で重要であり、その際に赤血球酵素活性や遺伝子解析による詳細な解析が有用である。

E. 結論

小児先天性貧血は、DBAをはじめ様々な疾患があり、近年、先天性溶血性貧血の原因遺伝子としてGATA1遺伝子が同定され、遺伝子解析技術の進歩により年々新規遺伝子が同定されている。いずれの疾患においても血液学的根治治療の選択肢として造血細胞移植が挙げられるが、稀少疾患であり、特に強度減弱前処置を用いた造血細胞移植の報告例は限られる。疾患と症例毎に移植適応を慎重に検討するため、さらに診断と臨床経過の正確な情報を蓄積し、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望まれる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Nakahara E, Yamamoto KS, Ogura H, Aoki T, Utsugisawa T, Azuma K, Akagawa H, Watanabe K, Muraoka M, Nakamura F, Kamei M, Tatebayashi K, Shinozuka J, Yamane T, Hibino M, Katsura Y, Nakano-Akamatsu S, Kadowaki N, Maru Y, Ito E, Ohga S, Yagasaki H, Morioka I, Yamamoto T, Kanno H. Variant spectrum of PIEZO1 and KCNN4 in Japanese patients with dehydrated hereditary stomatocytosis. **Hum Genome Var.** 2023 Mar 2;10(1):8. doi: 10.1038/s41439-023-00235-y. PMID: 36864026.
- 2) Tobai H, Endo M, Ishimura M, Moriya K, Yano J, Kanamori K, Sato N, Amanuma F, Maruyama H, Muramatsu H, Shibahara J, Narita M, Fumoto S, Peltier D, Ohga S. Neonatal intestinal obstruction in Hoyeraal-Hreidarsson syndrome with novel RTEL1 variants. **Pediatr Blood Cancer.** 2023 Jun;70(6):e30250. doi: 10.1002/pbc.30250. PMID:

36776130.

- 3) Kobushi H, Ishimura M, Fukuoka S, Ohga S. Hypoplastic crisis in hereditary spherocytosis associated with Kawasaki disease. **Pediatr Neonatol.** 2023 Mar;64(2):225-226. doi: 10.1016/j.pedneo.2022.09.012. PMID: 36437215.
 - 4) Yamamoto S, Nakao S, Inoue H, Koga Y, Kojima-Ishii K, Semba Y, Maeda T, Akashi K, Ohga S. A preterm newborn-onset juvenile myelomonocytic leukemia-like myeloproliferation with PTPN11 mutation. **Pediatr Blood Cancer.** 2023 Feb;70(2):e29915. doi: 10.1002/pbc.29915. PMID: 35997526.
 - 5) Ludwig LS, Lareau CA, Bao EL, Liu N, Utsugisawa T, Tseng AM, Myers SA, Verboon JM, Ulirsch JC, Luo W, Muus C, Fiorini C, Olive ME, Vockley CM, Munschauer M, Hunter A, Ogura H, Yamamoto T, Inada H, Nakagawa S, Ohzono S, Subramanian V, Chiarle R, Glader B, Carr SA, Aryee MJ, Kundaje A, Orkin SH, Regev A, McCavit TL, Kanno H, Sankaran VG. Congenital anemia reveals distinct targeting mechanisms for master transcription factor GATA1. **Blood.** 2022 Apr 21;139(16):2534-2546. doi: 10.1182/blood.2021013753. PMID: 35030251.
 - 6) Yamamoto KS, Utsugisawa T, Ogura H, Aoki T, Kawakami T, Ohga S, Ohara A, Ito E, Yamamoto T, Kanno H. Clinical and genetic diagnosis of thirteen Japanese patients with hereditary spherocytosis. **Hum Genome Var.** 2022 Jan 12;9(1):1. doi: 10.1038/s41439-021-00179-1. PMID: 35022413.
2. 学会発表
 - 1) 石村匡崇. 小児非腫瘍性血液疾患に関する登録事業の現況と課題. 第64回日本小児血液・がん学会JSPHO&JCCG 特別企画ジョイントシンポジウム (2022年11月26日, 東京) .
 - 2) 江口克秀, 石村匡崇, 園田素史, 大賀正一. Diamond-Blackfan 貧血の非血縁者間骨髄移植における用量調整ブスルファンレジメンの有効性と移植関連合併症の検討。「遺伝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」班 (伊藤班) 令和4年度班会議 (2022年8月

25日, Web開催) .

- 3) 江口克秀, 石村匡崇, 田村彰広, 伊藤暢宏, 平野直樹, 足立俊一, 木下恵志郎, 幸伏寛和, 矢田裕太郎, 園田素史, 白石暁, 小阪嘉之, 照井君典, 伊藤悦朗, 大賀正一. Diamond-Blackfan 貧血に対する用量調整ブスルファンを用いた非血縁者間骨髄移植. **第44回日本造血・免疫細胞療法学会** (2022年5月12日-14日, 横浜 (ハイブリッド開催)) .
- 4) 江口克秀, 石村匡崇, 遠渡沙緒理, 高橋義行, 大賀正一. Clinical utility of eltrombopag for childhood aplastic anemia - a retrospective study in Japan -. **第28回小児再生不良性貧血治療研究会** (2022年1月16日, Web開催) .

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし