

厚生労働省特定疾患対策研究事業

再生不良性貧血について治療薬の
組み合わせを評価する多施設共同研究

平成12年度研究業績報告書

平成13年3月

班長 溝口 秀昭

目 次

再生不良性貧血について治療薬の組み合わせを評価する多施設共同研究班 研究協力者名簿	1
I 平成12年度総括研究報告 特発性造血障害分科会 (重点研究事業)	3
	溝口 秀昭
II 分担研究	
1. c-Kit ⁺ CFU-EにおけるFas誘導アポトーシスとSCF	22
澤田賢一、西尾充史、小池隆夫、小田 淳	
2. Evi-1によるTGF β シグナルの抑制機構の解析	24
平井久丸、伊豆津宏二、黒川峰夫	
3. Fanconi 貧血の分子病態の解析	26
浅野茂隆、山下孝之、谷ヶ崎 博	
4. 外来再生不良性貧血患者のQOLの特徴	28
村手 隆	
5. AA-PNH症候群における分子生物学的異常に立脚した治療法の確立	29
金倉 譲、西村純一、待井隆志、木下タロウ、村上良子	
6. 再生不良性貧血におけるPNH顆粒球の増加：免疫抑制療法後の推移とその意義	30
中尾眞二、中条達也、王 紅波、寺村正尚、溝口秀昭	
7. 東日本で造血クロナリティ解析を施行した再生不良性貧血患者の追跡調査	32
石田陽治、厨 信一郎、槍澤大樹、千葉浩子、村井一範、伊藤薫樹	
8. 血漿nm23-H1蛋白質定量の再生不良性貧血と骨髓異形成症候群の鑑別への有用性	33
大屋敷一馬、伊藤良和、岩瀬 理、嶋本隆司、大屋敷純子、角 純子、本間良夫	
9. 再生不良性貧血に対するATGの再投与	35
浦部晶夫	
10. MDS患者における免疫抑制療法のアンケート調査報告	36
通山 薫	
11. 原爆被爆者における顆粒球減少症のリンパ球サブセットの解析	37
木村昭郎	

12. 再生不良性貧血に対する ATG + CyA 併用あるいは CyA + Primobolan 併用免疫抑制療法の臨床的評価に関する研究	38
八幡義人、山田 治、杉原 尚、和田秀穂、賀来万由美、矢田健一郎、三上 誠、中西秀和、末次慶收、辻岡貴之、末盛晋一郎	
13. MDS 好中球の核形態(クロマチン構造)異常をコンピューターにより定量化する試み	40
朝長万左男	
14. 重症再生不良性貧血における非血縁者間骨髄移植の問題点	42
芦田隆司、川西一信、宮武淳一、上田里美、松岡稔明、縄田浩行、佐野徹明、生駒真也、坂口美佳、前田裕弘、金丸昭久	
15. 悪性リンパ腫を合併した再生不良性貧血の 2 例	43
小峰光博、原田浩史、真田 昌、山科聡子、島本健至、中川陽子、樋口敬和、森 啓、新倉春男	
16. 再生不良性貧血に対する顆粒球コロニー刺激因子+エリスロポエチン併用療法のクローン性疾患への移行に関する検討	44
別所正美、松田 晃、岸本国也、秋葉美樹、矢ヶ崎史治、川井信孝、平嶋邦猛	
17. 再生不良性貧血の抗胸腺細胞グロブリン(ATG)療法(続報)	46
堀田知光、福田竜基	
18. 骨髄異形成症候群と妊娠: 自験例 4 例と文献的考察	48
大西一功	
19. ATG 投与後著明な血小板血症が持続する再生不良性貧血症例	49
岡村 孝	
20. 骨髄異形成症候群および骨髄性白血病における Survivin 遺伝子の発現	50
上田孝典、吉田 明、今村 信	
21. Fanconi 貧血の分子病態: FANCA と BRG1 の結合	51
小澤敬也	
22. DNA チップを用いた再生不良性貧血の病態解明	52
間野博行	
III 発表文献リスト	53

再生不良性貧血について治療薬の組み合わせを評価する多施設共同研究班

区 分	氏 名	所 属	職 名
班 長	溝口 秀昭	東京女子医科大学血液内科	教 授
研 究 者	浅野 茂隆	東京大学医科学研究所病態薬理学研究部	教 授
	小峰 光博	昭和大学藤が丘病院内科血液	教 授
	澤田 賢一	北海道大学医学部第二内科	助教授
	朝長万左男	長崎大学医学部附属原爆後障害医療研究施設 分子医療部門分子治療分野	教 授
	岡村 孝	九州大学大学院医学研究院病態回復内科学	講 師
	小澤 敬也	自治医科大学血液学	教 授
	村手 隆	名古屋大学医学部保健学科	教 授
	通山 薫	京都大学医学部付属病院検査部	講 師
	浦部 晶夫	N T T東日本関東病院血液内科	部 長
	大西 一功	浜松医科大学第三内科	講 師
	大屋敷一馬	東京医科大学第一内科	教 授
	金倉 謙	大阪大学医学部血液腫瘍内科	教 授
	石田 陽治	岩手医科大学第三内科	講 師
	堀田 知光	東海大学医学部第四内科	教 授
	別所 正美	埼玉医科大学第一内科	教 授
	金丸 昭久	近畿大学医学部第三内科	教 授
	八幡 義人	川崎医科大学血液内科	教 授
	木村 昭郎	広島大学原放医研血液内科	教 授
	上田 孝典	福井医科大学第一内科	教 授
	平井 久丸	東京大学医学部付属病院無菌治療部	助教授
中尾 真二	金沢大学医学部第三内科	教 授	
三輪 哲義	国立国際医療センター血液内科	医 長	
間野 博行	自治医科大学分子病態治療研究センター ゲノム機能研究部	助教授	
事務局	溝口 秀昭	東京女子医科大学血液内科 〒162-8666 東京都新宿区河田町8-1 TEL (03)3353-8111 (内線:31543) FAX (03)3353-8970	

I 厚生科学研究費補助金(特定疾患対策研究事業)

総括研究報告書

再生不良性貧血について治療薬の組み合わせを評価する多施設共同研究

主任研究者 溝口 秀昭

東京女子医科大学医学部長

再生不良性貧血について治療薬の 組み合わせを評価する多施設共同研究

主任研究者 溝口 秀昭
(東京女子医科大学医学部長)

浅野茂隆 (東大医科研病態病理), 小峰光博 (昭和大学藤が丘病院内科血液), 澤田賢一 (北海道大学医学部第二内科), 朝長万左男 (長崎大学医学部附属原医研内科), 岡村 孝 (九州大学大学院医学研究院病態回復内科学), 小澤敬也 (自治医科大学血液学), 村手 隆 (名古屋大学医学部保健学科), 通山 薫 (京都大学医学部附属病院検査部), 浦部晶夫 (NTT東日本関東病院血液内科), 大西 功 (浜松医科大学第三内科), 大屋敷一馬 (東京医科大学第一内科), 金倉 謙 (大阪大学医学部血液腫瘍内), 石田陽治 (岩手医科大学第三内科), 堀田知光 (東海大学医学部内科学第四教室), 別所正美 (埼玉大学第一内科), 金丸昭久 (近畿大学医学部第三内科), 八幡義人 (川崎医科大学血液内科), 木村昭郎 (広島大学原放医研血液内科), 上田孝典 (福井医科大学第一内科), 平井久丸 (東京大学医学部附属病院無菌治療部), 中尾真二 (金沢大学医学部第三内科), 三輪哲義 (国立国際医療センター血液内科), 間野博行 (自治医科大学分子病態治療研究センターゲノム機能研究部)

A. 研究目的

重症の再生不良性貧血患者に対する薬物治療としては、本邦ではシクロスポリン (CyA)、抗胸腺細胞グロブリン (ATG)、あるいは顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) が用いられている。外国の報告からATGとCyAの併用療法がATG (あるいはALG) 単独療法より有効であることが示されているが、それにG-CSFを併用することの有効性については不明である。そこで本臨床試験は、未治療の成人重症再生不良性貧血患者に対するCyA、ATG併用療法とそれにG-CSFを併用することの有効性について明らかにすることを目的

とする。本臨床研究により本邦の患者におけるATG、CyA併用療法の有用性、G-CSF併用の有用性の有無が明らかになると考えられ、その結果は本邦における成人重症再生不良性貧血の治療の標準化につながると考える。また、この臨床試験で得られた治療法の適用により、本邦の本症患者の予後およびQOLの著しい改善が期待される。また、本臨床試験ではHLA-DRB1のタイプやheat shock protein72 (HSP72) 誘導性と免疫抑制療法の有効性との相関、治療による異常クローンの出現、発作性夜間ヘモグロビン尿症 (PNH) や骨髄異形成症候群 (MDS)、急性骨髄性白血病 (AML) の併発頻度、治療による患者のQOL改善の程度について明らかにすることも目的としている。さらに、研究期間の最終年度である12年度には再生不良性貧血における新しい分子診断法の開発や遺伝子レベルでの病態の解明を目的として、再生不良性貧血患者の骨髄細胞のゲノミクス解析を同時に行うことにした。

B. 研究方法

本年度はこの重点研究の最終年度であり、症例収集の最終年度に当たる。昨年度までに構築した共同研究体制を用いて共同研究を行う。つまり、再生不良性貧血は希少疾患であり、患者の集中する血液臨床の専門施設の協力を得る必要がある。そのため、24名の班員とそれ以外に日本血液学会認定施設を中心とする協力病院を募り重症再生不良性貧血の新規発生患者の本研究への登録をはかることにした。協力病院は71施設となっている。

研究方法は昨年度同様、未治療の成人重症再生不良性貧血を対象とする。対象年齢は18歳以上、75歳以下である。ATGはリンフォグロブリン15mg/kg/日を5日間連日点滴静注する。CyAはサンディミュンを6mg/kg/日で経口投与開始し、その後は投与量を適宜調節しながら12週間投与する。G-CSFの投与に関しては、プロスペクティブに投与群と非投与群に割付をする。投与群では最初の4週間は隔日投与、それ以降は週1ないし2回投与し、12週間投与する。投与3ヶ月後、6ヶ月後、1年後に両群の有効率、感染の頻

度、血液学的所見、輸血の依存の有無の差を検討し、G-CSF投与の有用性を判定する。HUMARA法によるクロナリティ検査、FISH法によるモノソミー7検査、染色体検査、CD59検査を治療前と治療12週後と1年後に行い、治療後のPNH、MDS、AMLの併発を検査する。治療前にHLA-DR及びheat shock protein 72誘導性の解析を行い治療効果との相関を見る。なお、本臨床試験はその実施に先立ち、治験担当医師により患者さん本人に、臨床試験の目的および方法、予期される効果および危険性、他の治療方法の有無およびその内容について十分な説明がなされ、文書にて試験への参加の同意を得た後に行われる。

再生不良性貧血の骨髄細胞のゲノミクス解析のため、患者骨髄細胞から細胞表面AC133蛋白を指標として、均一な未分化造血幹細胞分画を純化し、これを用いてDNAチップ解析を行った。比較のために正常ヒト骨髄細胞あるいは不応性貧血の患者骨髄細胞についても同様の検討を行った。

C. 結果と考察

平成10年4月から患者登録を開始し、平成12年6月末に目標症例の100例に達したため終了とした。その後、調査票の回収を行い、治療12週後までの臨床試験成績の解析を行った。有効性解析対象症例は91例とした。ATG + Cy群は45例（男性21例、女性24例）が解析対象となり、ATG + CyA + G-CSF群は46例（男性23例、女性23例）が解析対象となった。両群間に年齢、血液学的所見、などに有意の差を認めていない。治療12週後の有効率はATG - CyA群ではgood response (GR) 51.1%、minimal response (MR) 26.7%、no response (NR) 22.2%、ATG + CyA + G-CSF群ではGR 56.5%、partial response (PR) 4.4%、NR17.4%で両群に有意の差を認めなかった ($p = 0.4020$)。治療12週間における感染症合併の頻度はATG - CyA群では39%、ATG - CyA - G-CSF群では55%、重症感染症

合併の頻度はそれぞれ17%、21%であり、両群に差は認められなかった ($p = 0.189$ 、 $p = 0.782$)。また、感染症罹病期間、38℃以上の発熱期間についても両群間に有意の差を認めなかった。以上の解析結果から少なくとも治療12週後の時点では、G-CSF併用による血球改善の増強効果は認めないことが明らかになった。また、G-CSF併用によって、顆粒球は治療早期に増加するものの感染症合併に対する予防効果はないと考えられた。症例の集積が当初の目標より3ヶ月遅れたので、今後は引き続き目標とする治療6ヶ月後および1年後の有効性を調査し、その解析を行う予定である。また症例を固定して長期にわたり予後（生存、再発の有無など）について経過観察を継続する予定である。特に、再発、染色体異常の出現、MDS、PNH、AMLなどのクローナルな血液疾患の発症に注目し、長期経過観察する予定である。DNAチップを用いた再生不良性貧血および不応性貧血患者の造血幹細胞の遺伝子の発現の検討では未知の遺伝子を含む複数の遺伝子が疾患特異的に発現していることが明らかになり、新たな遺伝子診断法の可能性が開かれた。

E. 結論

成人重症再生不良性貧血に対するATGとCyA併用療法とそれにG-CSFを加えた治療の効果を比較するためのプロスペクティブ無作為試験は平成12年6月に目標症例数集めることが出来た。治療終了後、全症例の12週後までの解析ではATGとCyA併用両方で約80%の有効率が認められ、それにG-CSFを加えても有効率の改善、感染の予防に有意の効果は認められなかった。これらの症例について当初の目標の6ヶ月後と1年後にケースカードを集め解析する予定である。DNAチップによる解析では再生不良性貧血と不応性貧血は遺伝子発現による新たな遺伝子診断法の可能性が考えられた。

再生不良性貧血について治療薬の 組み合わせを評価する多施設共同研究

臨床試験実地計画書

厚生労働省特定疾患対策研究事業

1. 背景

重症再生不良性貧血の治療は、骨髄移植療法が第一選択であるが、骨髄移植の適用とならない患者については本邦では蛋白同化ホルモン療法、メチルプレドニゾン療法が一般的治療法として行われてきた。平成3年(1991)になりG-CSF療法が行われるようになり、さらに平成7年(1995)11月に抗ヒト胸腺細胞ウマ免疫グロブリン(ATG)とシクロスポリン(CyA)が保険適応となったことから、本疾患に対する治療は新しい展開を迎えている。G-CSFは本症に対して、好中球増加作用が認められている。さらに症例によっては比較的長期間投与することにより貧血や血小板減少の改善も認めたとという報告もみられる。これはG-CSFの多能性幹細胞に対する刺激作用によると考えられている。

本邦における多施設共同臨床試験の結果、重症再生不良性貧血に対するATGの有効性は18.2%(2/11例)、CyAの有効率は24.1%(7/29例)に認められているが、ATGやCyAおよびG-CSFのように作用機序の異なる薬剤を併用投与することにより、治療効果が高まる可能性は十分考えられる。EBMT SAA Working Partyは重症再生不良性貧血患者にATG、CyA、G-CSFの3剤を併用投与し、有効率82%(33/40例)の好成績を報告している。また、NIHでは重症再生不良性貧血患者にATG、CyAの2剤のみの併用投与で、有効率が3ヶ月67%(34/51例)、1年78%(31/40例)の好成績を報告している。本邦においては小児科のグループが、ATG+CyA+G-CSF併用投与によりEBMTやNIH同様の好成績を報告している。

これらの報告からはG-CSFの併用が治療効果に与える影響は明らかでない。そこで本試験においては、重症再生不良性貧血に対してATG+CyA療法におけるG-CSF併用効果および感染予防効果について検討することを計画した。

一方、再生不良性貧血で免疫抑制療法やG-CSF療法を受けた症例においてPNH、MDS、AMLへの移行例が報告されている。特に、小児例ではモノソミー7を伴うMDS/AML移行例とG-CSF投与との関連が注目されている。しかしながら、このような移行例では、細胞レベルでの異常が治療前から存在したのか、治療後に出現したのか明確にはなっていない。

そこで本試験においては、G-CSF投与によるPNHやMDS、AMLのようなクローナルな造血異常に与える影響の有無についても検討することを計画した。

また、QOLの改善についても患者に対するアンケート調査により、合わせて検討する計画である。

2. 目的

重症再生不良性貧血患者に対する CyA+ATG 療法における、G-CSF 併用効果を比較検討する。また、G-CSF 投与による感染予防効果及びクローナルな造血異常に与える影響の有無についても検討する。

3. 対象

1. 選択基準

- 1) 「厚生省特定疾患特発性造血障害調査研究班・再生不良性貧血の診断基準および重症度分類」(別紙 1. 参照) により重症再生不良性貧血と診断された患者で同胞間の骨髄移植の適用が受けられない、または免疫抑制療法を希望する症例。
- 2) 特発性または肝炎後の再生不良性貧血例。
- 3) 初回治療症例(未治療例)。但し、G-CSF については、短期間(原則として 1 ヶ月以内の使用)の投与の既往があっても、現在その影響がないと考えられる症例は対象とする。
- 4) 最初の約 1 ヶ月間入院可能な症例。
- 5) 18 歳以上 75 歳以下(性別不問)。
- 6) 本試験前に参加について同意が得られた症例。

2. 除外基準

- 1) 悪性腫瘍のある症例。
- 2) 重篤な感染症、心臓、肝臓、膵臓、腎臓疾患を有する症例。
- 3) ファンコニー貧血など遺伝性再生不良性貧血の症例。
- 4) 妊娠又は授乳中および妊娠している可能性のある症例。
- 5) その他医師が不相当と判断した症例。

4. 試験参加への同意

被験者または法定代理人等の同意

本試験の実施に先立ち試験担当医師は、ヘルシンキ宣言(1964 年、ベニス改訂:1983 年)に基づき以下の項目について被験者に十分に説明し、文書または口頭で試験への参加の同意を得、その日付を症例記録用紙に記載する。なお、被験者が未成年の場合には、試験担当医師は同様に法定代理人等に説明し、同意を得る。また、未成年の被験者が説明を理解できる能力を有する場合には、その範囲で被験者の同意を得る。

- 1) 試験の目的及び方法
- 2) 予期される効果及び危険性
- 3) 他の治療方法の有無及びその内容
- 4) 被験者が本試験への参加に同意しない場合であっても不利益は受けないこと
- 5) 被験者が本試験への参加に同意した場合でも随時これを撤回できること
- 6) その他、被験者の人権の保護に関し必要な事項

5. 試験方法

1. 試験デザイン

- 1) 無作為割付臨床試験
- 2) FAXによる中央登録方式

2. 試験プロトコール

下記2群の無作為割付臨床試験

- a) ATG + CyA
- b) ATG + CyA + G-CSF

3. 試験薬剤

1) ATG (リンフォグロブリン：ローヌ・プーラン ローラー株式会社)

a) 試験投与

アナフィラキシー等の過敏症状を起こすことがあるので、使用に際しては、十分な問診を行うとともに、あらかじめ本剤の少量を試験投与し、ショック状態等の過敏症が認められないことを確認後本投与をはじめめる。

試験投与は通常、本剤1ml(抗ヒト胸腺細胞ウマ免疫グロブリンとして20mg)を100mlの生理食塩液で希釈して、患者への点滴静注を1時間以上かけて行う。

アナフィラキシーショックの徴候は手足と口のまわりのほてりと、唇と喉頭部のはれ、気管支痙攣、急激な排泄作用、低血圧等により判断する。

試験投与中、医師はずっと患者についていなければならない。

アナフィラキシーの反応は通常ヒドロコルチゾン100mgの静注とクロルフェニラミン10mg静注で対処する。ショック症状等の重篤な副作用が出現した場合には、試験担当医の判断のもと、本投与を中止する。

b) 本投与

1日1回体重1kgあたり抗ヒト胸腺細胞ウマ免疫グロブリンとして15mgを生理食塩液またはブドウ糖注射液500mlで希釈し静脈内に連日5日間投与する。1回の投与は12時間以上かけて行う。

2) CyA (サンディミュン：ノバルティスファーマ株式会社)

6mg/kg/日を第1日目より投与開始し、臨床症状等に応じて適宜調節し、12週間経口投与する。なお、CyAは1日2回に分けて朝食後及び夕食後に服薬させる。

3) G-CSF

第1日目より第28日目まで点滴静注にて隔日投与し、第29日目以降12週目までは1~2回/週投与とする。尚、好中球数が5,000/mm³以上または白血球数10,000/mm³以上に増加した場合には減量または中止する。

◆薬剤別投与量

グラン：400 μ g/m²/日、ノイトロジン：5 μ g/kg/日

6. 患者の登録方法

試験担当医師は患者を選択し症例登録用紙に必要事項を記入後ファクシミリで研究会事務局に送付する。事務局は患者選択基準に合致するか否かを確認し登録番号をつけ、試験担当医師にその結果を症例登録確認書にて連絡する。試験担当医師は、その連絡を受けた後投与を開始する。

事務局及び症例登録先

再生不良性貧血治療研究会事務局

東京女子医科大学 血液内科

寺村 正尚

TEL：03-3353-8111 内線 (31543)

FAX：03-5379-3376

7. 併用薬剤

1. ATG の副作用を軽減するために、ステロイド剤を使用する。ステロイド剤はプレドニンの経口投与とし、以下のスケジュールで行う。また、副作用を軽減するために抗ヒスタミン剤を使用した場合は、その使用目的、使用法、使用量について詳しく記録する。

第 1 日目～第 9 日目 プレドニン 1.0mg/kg/日 経口投与

第 10 日目～第 15 日目 プレドニン 0.5mg/kg/日 経口投与

第 16 日目～第 21 日目 プレドニン 0.2mg/kg/日 経口投与

第 22 日目～ プレドニン 投与中止

2. 併用禁止薬剤

以下の薬剤は、原則として併用を行わない。

- a) 白血球減少症治療剤

セファランチン、イノシン製剤、ロイコボリン、アデニン製剤、チトクローム C 製剤、炭酸リチウム、L-システイン、メシル酸アドレノクロムアニルヒドラゾン製剤等

- b) エリスロポエチン

- c) 他の免疫抑制剤

- d) 他の ATG、ALG

- e) 蛋白同化ホルモン

- f) ATG+CyA 群では原則的には G-CSF を使用しない。ただし、感染症を合併もしくは疑われた場合の G-CSF の使用は可とする。G-CSF を使用した場合は、その使用目的、使用法、使用量を詳しく記入する。

- g) その他、造血機能に影響を及ぼすと考えられるもの

3. 併用注意薬剤

以下の薬剤は CyA との副作用増強作用あるいは薬物相互作用を有しているので、なるべく併用を避ける。

やむを得ず併用する場合は、シクロスポリンの血中濃度、副作用等に十分注意し、投与量等を症例記録用紙に記載する。

- a) 腎毒性を有する薬剤
アミノグリコシド系抗生物質、アムホテリシン B、非ステロイド系抗炎症剤、スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤
- b) シクロスポリンの血中濃度を上昇させる薬剤
エリスロマイシン、フルコナゾール、Ca 拮抗剤、ダナゾール、ノルエチステロン、利尿剤
- c) シクロスポリンの血中濃度を低下させる薬剤
フェニトイン、フェノバルビタール、カルバマゼピン、イソニアジド、リファンシピン

8. 観察・検査項目およびスケジュール

1. 観察項目

1) 輸血状況

治験薬剤投与前 12 週間および投与期間中の輸血実施日、輸血の種類、輸血量の状況を症例記録用紙に記載する。

2) 臨床所見

以下の項目について、試験薬剤投与開始時、その後は 2 週間ごとに観察し、症例記録用紙に記載する。

- a) 血圧 (mmHg)
- b) 体重 (kg)
- c) 一般状態、自覚所見

2. 検査項目

1) 末梢血液

赤血球数、網赤血球数、血小板数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画

2) 血液生化学検査

総蛋白、蛋白分画、尿素窒素、クレアチニン、総ビリルビン、GOT、GPT、ALP、LDH、尿酸、Na、K、Cl、CRP、血糖、トリグリセライド、総コレステロール

3) 尿検査

糖、蛋白、ウロビリノーゲン、沈渣、潜血

4) 骨髄穿刺検査

有核細胞数、巨核球数、骨髄像、M/E 比、染色体、FISH 法によるモノソミー 7 の検出 (SRL に提出する)

5) GPI アンカータンパク検査 (末梢血で行う、SRL に提出する)

CD59 陽性率

6) HLA-DRB1 のタイピング (シオノギに提出する)

7) HAM 試験 (実施可能な施設は行う)

8) 砂糖水試験 (実施可能な施設は行う)

9) HUMARA 法によるクロナリティー解析

西日本の施設：東海大学医学部第 4 内科 堀田知光

東日本の施設：岩手医科大学第 3 内科 厨信一郎に提出する。

女性患者に限る。

10) シクロスポリン血中濃度 (SRL に提出する、別紙 11. 参照)

11) HSP72 誘導性の解析 (金沢大学医学部第 3 内科 中尾眞二に提出する)

12) QOL 調査 (アンケート用紙に記入、別紙参照)

調査後アンケート用紙は、調査票にはさんで提出する。

3. 検査スケジュール

ATG 投与 5 日間は連日血液検査を行う。その後、血液検査は必要に応じて行ない、少なくとも 1 回/週、血液生化学検査は 2 週に 1 回、尿検査は 4 週に 1 回行う。骨髄穿刺検査、GPI アンカータンパク検査、HUMARA 法によるクロナリティー解析、HAM 試験および砂糖水試験、QOL 調査は、治療開始前、12 週後に行い、また追跡調査として 1 年後に行う。

シクロスポリン血中濃度は、投与開始時、その後は原則として 4 週毎に実施し、症例記録用紙に記載する。HSP72 誘導性の解析は治療開始前に行う。HLA-DRB1 のタイピングは、原則として治療開始前に行う。

4. 副作用及び臨床検査値の異常

試験薬剤投与前には認められず、観察中に生じた病状、疾病、臨床検査値の異常については、詳細に記録し試験薬剤との関連性について考察する。

9. 評価方法

試験開始時、12 週間後に自覚症状及び「厚生省特定疾患特発性造血障害調査研究班・再生不良性貧血の効果判定基準」(別紙 1. 参照)に基づいて臨床効果を判定する。また、安全性に関しては投与終了時に副作用と臨床検査の結果を考慮して判定する。

以上の評価は、研究終了後、効果安全性評価委員会で審査する。効果安全性評価委員会では治療開始から 12 週間のグレード 2 以上の発熱 (38.0°C 以上) の日数、感染症の罹患回数、期間、生存期間についても評価する。なお、追跡調査を 1 年後に行う。

10. 中止・脱落

下記の理由などにより、試験の継続が困難となった症例は、中止・脱落例とし、その時期、理由、処置および経過などを詳細に記載する。

- 1) 明らかなアレルギー様症状が出現した場合。
- 2) 試験開始時の検査によりモノソミー 7 あるいは他の染色体異常があることが判明した場合は、その時点で投与中止とする。
- 3) 症状が悪化し、試験の継続が困難と判断された場合。
- 4) 合併症が悪化した場合。
- 5) 偶発症が発生した場合。
- 6) 副作用が発現した場合。
- 7) その他、患者側の理由 (来院せず、転院、同意の撤回等)。
- 8) その他、試験担当医が中止を必要と判断した場合。

なお、好中球数 5,000/mm³以上、白血球数 10,000/mm³以上の増加による G-CSF の減量あるいは投与中断は、試験の脱落として扱わない。

11. 解析方法

臨床効果についての主要評価項目は、有効性とする。安全性については、臨床症状と臨床効果の各項目を個々に評価する。その他、副次的評価項目として輸血状況、自他覚所見の改善度、安全性、有用性を採用する。

各評価は、データの尺度、因子(罹病期間、HLA 等)の水準により、 χ^2 検定、Mann-Whitney の U 検定、Student の t 検定、Wilcoxon の検定等を採用する。また、Kaplan-Mier 法によ

る生存率の検討を行う。

検定の有意水準については両側 5%とする。

12. 有効例・無効例の取扱い留意点

1. やや有効以上の症例の取扱い留意点

- 1) 12 週間後の効果判定基準でやや有効以上の症例は、原則として、G-CSF を中止する。CyA は、さらに 1 ヶ月間投与を継続し、減量を始める。CyA は 2 週間に 1mg/kg/day のペースで注意深く漸減していく。
- 2) CyA 依存性再生不良性貧血では減量又は完全に中止することにより数日から数ヶ月に急激に血球数が低下することがあるため、減量又は完全に中止した後も注意深く経過を観察する必要がある。
- 3) CyA の減量または中止による再発例は、CyA 依存性再生不良性貧血の可能性が考えられるので、CyA の再投与を 12 週間行う。再投与が有効の場合には CyA 依存症例として CyA の投与を継続する。再投与が無効の場合には担当医の判断のもと、他の適切な治療を行う。

2. 無効例の治療計画

その後の治療は主治医の判断にまかせる。

13. 計画書の変更および試験の中止

1. 計画書の変更

試験の進行中に計画書の変更を余儀なくされた場合は、企画実行委員長は変更内容を試験担当医師に速やかに連絡する。

2. 試験の中止

試験の途中で不測の事態が生じて試験全体を中止せざるを得なくなった場合、企画実行委員長は速やかに中止理由とともに試験担当医師に連絡する。

14. 症例記録

1. 症例記録用紙の様式

本試験に用いる症例記録用紙の様式は、別紙「再生不良性貧血調査票 未治療例の重症再生不良性貧血に対するシクロスポリン+ ATG 療法における G-CSF 併用療法の比較検討」とし、12 週間までの臨床経過について記載する。

2. 症例記録用紙記載上の注意

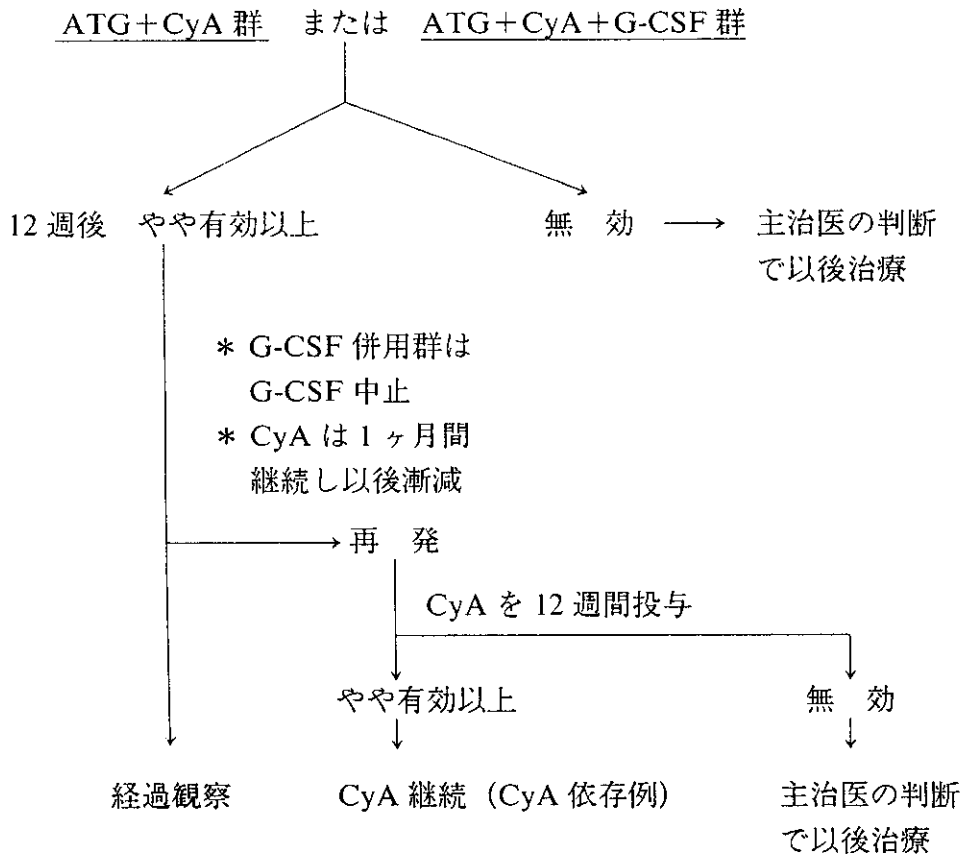
試験担当医師は、症例記録用紙の「担当医師名」の欄に自筆にて署名し捺印する。症例記録用紙は、黒のボールペンにて記載する。

試験担当医師は、記載内容を訂正する場合、訂正個所を二本線で消した上から訂正印を捺印する。重要項目に関する訂正の場合には、訂正理由及び訂正年月日を記載する。

15. 成績発表

本試験の成績は、研究会全体のものとし、会員の合意の上で企画実行委員長の責任のもとに公表する。学会発表、論文発表は原則として登録症例が多い施設が行うこととする。各施設毎の成績の発表は企画運営委員長の了解を得た上で行うものとする。

各群のフローチャート



検査スケジュール

検査項目	投与開始前	投与開始時	1週	2週	3週	4週	5週	6週	7週	8週	9週	10週	11週	12週	1年後
末梢血液検査		●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
尿検査		●				●				●				●	●
血液生化学検査		●		●		●		●		●		●		●	●
骨髄穿刺検査	●													●	●
GPI アンカータンパク検査	●													●	●
シクロスポリン血中濃度 ¹⁾		●				●				●				●	●
HLA-DRB1 タイピング	●														
HUMARA による解析	●													●	●
HAM 試験 ²⁾ /砂糖水試験 ³⁾	(●)													(●)	(●)
HSP72 誘導性の解析	●														
QOL 調査	●													●	●

- 1) シクロスポリン依存性例は継続的に血中濃度を測定する。
2) 3) 実施可能な施設は行う。

QOL アンケート用紙

イニシャル：(性) (名) 記入年月日：199 年 月 日 登録番号：

この調査票は、あなたの現在の状態を正しく理解するために用いるものです。

ここ数日間のあなたの状態にあてはまると思われる番号の部分に丸印を付けて下さい。

(個人のプライバシーが外部にもれたり、治療のうえで不利益になることは決してありませんので、感じたままをお答え下さい)

注意：1. 記入には黒いボールペンで丸印を付けて下さい。
2. 誤って印を付けた場合は二重線にて訂正して下さい。

ここ数日の間

- | | | | | | | |
|-------------------------|--|---|---|---|---|---|
| 1. 疲れやすいですか。 | <table border="1" style="margin: 0 auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">1</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">2</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">3</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">4</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">5</td> </tr> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">全く疲れない 非常に疲れる</p> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 2. 眠れないことがありますか。 | <table border="1" style="margin: 0 auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">1</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">2</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">3</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">4</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">5</td> </tr> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">全くない 非常に多くある</p> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 3. 息切れしますか。 | <table border="1" style="margin: 0 auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">1</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">2</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">3</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">4</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">5</td> </tr> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">くしない 非常によくする</p> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 4. めまいがしますか。 | <table border="1" style="margin: 0 auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">1</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">2</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">3</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">4</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">5</td> </tr> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">全くしない 非常によくする</p> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 5. 紫斑（皮下出血）がありますか。 | <table border="1" style="margin: 0 auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">1</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">2</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">3</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">4</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">5</td> </tr> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">全くない 非常に多い</p> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 6. 熱がでますか。 | <table border="1" style="margin: 0 auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">1</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">2</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">3</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">4</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">5</td> </tr> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">全くでない 非常によくでる</p> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 7. 外出できますか。 | <table border="1" style="margin: 0 auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">1</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">2</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">3</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">4</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">5</td> </tr> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">全くできない 十分できる</p> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 8. 階段を昇ることができますか。 | <table border="1" style="margin: 0 auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">1</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">2</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">3</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">4</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">5</td> </tr> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">全くできない 十分できる</p> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 9. 日常生活に制限がありますか。 | <table border="1" style="margin: 0 auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">1</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">2</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">3</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">4</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">5</td> </tr> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">全くない 非常にある</p> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 10. 病気の症状に対して不安がありますか。 | <table border="1" style="margin: 0 auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">1</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">2</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">3</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">4</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">5</td> </tr> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">全くない 非常にある</p> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 11. 治療に対する不安がありますか。 | <table border="1" style="margin: 0 auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">1</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">2</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">3</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">4</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">5</td> </tr> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">全くない 非常にある</p> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 12. 医療費を負担に感じますか。 | <table border="1" style="margin: 0 auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">1</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">2</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">3</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">4</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">5</td> </tr> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">全く感じない 強く感じる</p> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 13. 病気に対して家族の理解がありますか。 | <table border="1" style="margin: 0 auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">1</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">2</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">3</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">4</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">5</td> </tr> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">全くない 十分にある</p> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 14. 病気に対して家族の協力ががありますか。 | <table border="1" style="margin: 0 auto; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">1</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">2</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">3</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">4</td> <td style="width: 20px; height: 20px; text-align: center;">5</td> </tr> </table> <p style="font-size: small; margin-top: 5px;">全くない 十分にある</p> | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |

再生不良性貧血に対する免疫抑制療法の説明書

1. 治療の目的

免疫機能は人の身体を病気から守るために重要な働きを担っていますが、稀に免疫機能が異常となり、自己の細胞を攻撃して病気の原因となることがあります。このような疾患を自己免疫疾患と言ひ、再生不良性貧血もその大部分が自己免疫疾患と考えられ、免疫機能を抑制する薬剤（免疫抑制剤）が効果的と考えられます。

重症再生不良性貧血に対する治療法として骨髄移植がありますが、ドナーが得られなかったり高齢の場合は適応となりません。従って、患者さんの多くは免疫抑制療法の対象となります。

今回、重症再生不良性貧血で同胞間の骨髄移植を受けられない、または骨髄移植を望まれない患者さんに、免疫抑制療法を行うことにより治療したいと考えています。

また、現在免疫抑制療法の際に G-CSF と呼ばれる造血因子を併用することがありますが、この G-CSF を併用することがはたして患者さんにとって有益になるかについても検討したいと考えています。

2. 薬剤ならびに治療の方法

2-1 薬剤について

本試験で使用する薬剤は、身体の免疫機能を抑制する作用を有し一般に免疫抑制剤と呼ばれている薬剤（抗ヒト胸腺細胞ウマ免疫グロブリンとシクロスポリン）と、好中球を増加させる造血因子（G-CSF）です。

抗ヒト胸腺細胞ウマ免疫グロブリン（ATG）は、フランスで開発され、諸外国では20年以上も前から再生不良性貧血の治療に使用され、有効性が確認されています。日本においても臨床試験の結果、その有効性が認められ、その使用が認可されています。

シクロスポリン（CyA）はスイスで開発されたもので、日本においては腎臓移植や骨髄移植に以前から使用されておりましたが、再生不良性貧血においても有効性が確認され、その使用が認可されています。

G-CSF は再生不良性貧血に伴う好中球減少への使用が認可されています。再生不良性貧血においては、好中球が減少しているため感染症にかかりやすくなっています。さらに、ATG や CyA の免疫抑制作用により感染症にかかりやすくなる可能性も考えられます。そこで、好中球を増やすことによる感染症の予防効果が期待されています。一部の再生不良性貧血に対しては、G-CSF 単独投与でも白血球以外の赤血球、血小板が回復することが報告されていますが、治療効果は必ずしも明らかではありません。

また、G-CSF の使用が後に述べる骨髄異形成症候群や急性骨髄性白血病への移行を促進する可能性が指摘されているため、免疫抑制療法に G-CSF を併用することが患者さんにとって本当に良いかどうかは解っていません。そこで本治療試験では免疫抑制剤に G-CSF を併用する場合としない場合とで比較することによって、G-CSF 追加の有用性を明らかにしたいと考えています。

2-2 治療の方法

ATG・CyAの組合せ療法またはATG・CyA・G-CSFの組合せ療法のいずれかになります。

- ① ATGは事前に少量を試験的に投与し、患者さんに過敏症が無いことを確認した後、本投与を行います。本投与は1日12時間以上かけて点滴静注を行い、5日間連続して投与します。

また、この薬の投与の前に副作用を軽減する目的でプレドニゾロンを第1日から第5日まで服用しますが、それ以降は用量を減らし服用を終了します。

- ② CyAは朝食後と夕食後の1日2回、第1日目から12週目まで服用し、それ以降は用量を減らしていきます。

- ③ G-CSFは第1日目から第28日目まで1日おきに点滴静注を行い、第29日目以降12週目までは1~2回/週投与します。また、好中球が $5,000/\text{mm}^3$ 以上または白血球が $10,000/\text{mm}^3$ 以上に増加した場合は減量または中止します。

3. 予想される効果および危険性

ATGおよびシクロスポリンの重症再生不良性貧血における有効率は単独では20%位です。G-CSFは大半の症例で白血球数は増加しますが、貧血や血小板減少に対する改善効果は単独ではあまり期待できません。これらの3つの薬を組み合わせることにより、有効率が高まる可能性が考えられます。

また、ATG、シクロスポリン投与により、感染しやすくなる可能性が考えられますが、G-CSFを併用することにより、これを予防する効果も期待できます。

これまでに報告されているATGの主な副作用は、発熱、過敏症、インフルエンザ様症状、血小板減少、静脈炎などがあります。まれにアナフィラキシーショック等の過敏症を起こすこともあります。適切な処置を行うことにより軽減されます。

シクロスポリンの副作用は、腎機能検査値の異常変動、肝機能検査値の異常変動、高血圧、多毛、歯肉腫脹などです。これらの副作用の多くは一過性であり、薬の服用を中止することにより改善することが知られています。

G-CSFの副作用は、骨痛、頭痛などがありますが、ごくまれにみられるのみで一過性です。

これらの異常がありましたら、遠慮せず担当医師に申し出てください。

なお、最近再生不良性貧血から骨髄異形成症候群や急性骨髄性白血病に移行した患者さんの報告がみられます。

このような変化はATGやCYA、G-CSFが使用されるようになった以前からも報告されていますが、これらの薬剤の投与も関係あるのかどうかを慎重に観察する予定です。

4. 他の治療法の有無およびその内容

現在、再生不良性貧血に対する治療は、輸血の他に副腎皮質ホルモン剤、蛋白同化ホルモン剤などの投与が行われていますが、十分に満足のいく治療効果が得られておらず、さらに効果のある治療方法の研究が行われているのが現状です。

5. この試験への参加について

この説明書を読んだり担当医の説明をきいて、この治療を受けることを希望される場合は、別紙の同意書に署名および捺印してください。あなたがほかの治療法を選択されても、何等一切の不都合は生じません。また、あなたが治療に同意した後でも、その同意をいつでも自由に撤回できます。

6. プライバシーの保護

この治療で得られた結果は、これらの治療方法の効果と安全性を確認する資料として使用します。専門の学会や学術雑誌に発表されることもあります。患者さんのプライバシーは十分に尊重されます。結果発表の際には慎重な配慮をし、患者さんの個人に関する情報（氏名など）が外部に公表されることはいっさいありません。

この治療について何か解らないことや心配なことがありましたら、いつでも担当医師にご相談下さい。

これらの内容をよく読み、ご理解いただき、この治療に参加することを同意される場合は、別紙の同意書に署名、捺印し日付を記入して担当医師にお渡し下さい。