

各パラメーターは何らかの核の状態を反映した数値としての一定の傾向性を有するものと考えられた。しかしながら、MDS患者と正常人の検体間で各パラメーターを全好中球の平均値として比較すると有意差は認められなかった(図3)。これは

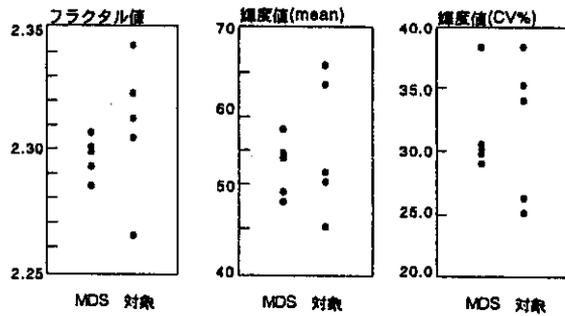


図3 検体間での各パラメーターの平均値による比較

異なる検体感で比較する際には標本の染色体などの違いに、数値が大きく影響を受けることによるものと考えられる。

[結論]

形態学的な診断に際しては、標本の染色状態などの条件を勘案しつつ、視覚的に得られる様々な情報を総合的に評価して判断を下している。今後、標本間の条件の違いを補正し標準化する方法や、複数のパラメーターを組み合わせた新たな指標についても検討する必要がある。

[参考文献]

A. Doudkine et al : Pathologica 87, 286-299, 1995

## 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

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

(近畿大学医学部, 第三内科)

### [要旨および目的]

重症再生不良性貧血 (AA) では同胞ドナーがなく、免疫抑制療法が無効の場合、非血縁ドナーからの骨髄移植が選択肢のひとつとなるが、非血縁者間骨髄移植 (UR-BMT) の予後は不良である。最近3例のAAに対するUR-BMTを経験したので、症例を通して問題点を考察する。

### [対象および結果]

症例1: 診断の約8年後にUR-BMTを施行した。Day2からthrombotic microangiopathy (TMA) を発症し、連日の血漿交換の施行にもかかわらずday26に死亡した。症例2: 診断の1年4ヵ月後にUR-BMTを施行した。移植後は軽度の

薬剤性肝・腎障害のみがみられた。症例3: 診断の約11年後にUR-BMTを施行した。Day7にveno-occlusive disease (VOD) を発症し、現在血漿交換を施行中である。

### [結論]

UR-BMT症例において移植まで長期間を要した症例ではともに血管内皮細胞障害を発症した。この血管内皮細胞障害の原因は明らかではないが、今後VOD/TMA発症を予測して移植後の予後因子として対応を考える必要があるかもしれない。

### [参考文献]

1. 日本造血細胞移植学会: 平成12年度全国調査報告書. 2000
2. Storb R et al: Long-term follow-up of allogeneic marrow transplants in patients with aplastic anemia conditioned by cyclophosphamide combined with antithymocyte globulin. Blood 89: 3890, 1997
3. Socie G et al: Malignant tumors occurring after treatment of aplastic anemia. N Engl J Med 329: 1152, 1993

## 悪性リンパ腫を合併した 再生不良性貧血の2例

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

(昭和大学藤が丘病院、内科血液)

### [はじめに]

再生不良性貧血 (AA) の原因として、cytotoxic T cell の異常など免疫異常の関与が考えられている。免疫不全患者に悪性リンパ腫が合併することがあるが、我々はAAの経過中に非Hodgkinリンパ腫 (NHL) を合併した2症例を経験したので報告する。

### [症 例]

症例1: 65歳女性。2000年3月出血傾向および貧血症状出現。初診時WBC 2200/ $\mu$ l、好中球7.5%、RBC  $2.50 \times 10^6$ / $\mu$ l、Hb 8.2g/dl、Ret 2%、Plt  $9 \times 10^3$ / $\mu$ l、LDH 347IU/lで、骨髄は著明な低形成で重症型AAと診断した。4月にATGとCyAの併用療法を実施したところ約2か月後に右扁桃腫大出現。その後左扁桃腫大も出現した。LDH 706IU/l、sIL-2R 2560U/mlと上昇を認め、扁桃生検でNHL、diffuse mixed cell typeと診断された。病変は扁桃に限られたため同部に放射線照射しNHLは寛解した。CyA投与中であったが漸減・中止し、タンパク同化ステロイド投与し、現在中等症で経過中である。

症例2: AA発症時59歳女性。貧血のため近医受診するが治療せず放置。1999年5月貧血症状が増悪し、近医受診。鼠径リンパ節腫大あり、胃内視鏡でMALTomaを認め、当院紹介受診した。受診時WBC 2600/ $\mu$ l、好中球60.5%、RBC  $1.93 \times 10^6$ / $\mu$ l、Hb 5.6g/dl、Ret 32%、Plt  $144 \times 10^3$ / $\mu$ l、LDH 1087IU/l、sIL-2R 2560U/mlで、骨髄は著明な低形成のためAAと診断した。ま

た、鼠径リンパ節腫大を認め生検でNHL、diffuse small cell typeと診断した。NHLは腰椎浸潤も認めた。AAに対してタンパク同化ホルモンを開始し、NHLに対してCHOP療法を実施した。AAは増悪するためステロイド、CyA等を投与し一時改善傾向を認めたが再度増悪を認めた。NHLも再増悪あり、CHOP療法を行ったが、感染症で死亡した。解剖時には、全身性リンパ節腫大に加えて骨髄は脂肪髄ながら腰椎にNHLの浸潤を認めた。

### [考 察]

AAの発生には免疫学的異常が関与していると考えられている。実際に免疫抑制療法が高い奏効率を示すことから関与は明らかと解釈されている。一方、免疫抑制療法後の長期経過中にMDSやPNH等のクローン性の造血異常が生じることが報告されている<sup>1)</sup>。臓器移植後の免疫抑制療法中には悪性疾患の発生率が高いことも知られている。AAの治療後に生じる悪性疾患はMDS、急性白血病が多く報告されているもののNHLの発生はまれである<sup>2)</sup>。症例1は免疫抑制療法後にNHLが出現しており免疫抑制剤の関与が強く疑われる。症例2は免疫抑制療法と無関係にNHLを発症しており、AA自体の免疫異常がNHLの発生を促した可能性がある。AAは、その疾患の性質上、外科的治療や抗癌剤治療が難しい場合が多く、悪性疾患が合併すると治療が困難になりやすい。従って、悪性疾患の発生には常に注意する必要がある、特に近年は中等症以上のAAに対する治療として免疫抑制療法が主体となっておりNHLの発生が増える可能性もあり、今後も症例の蓄積が必要であろう。

### [参考文献]

1. Rosenfeld SJ et al: Blood 85, 3058 - 3065, 1995.
2. Socie G et al: N Eng J Med 329, 1152 - 1157, 1993.

## 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

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 (埼玉医科大学, 第一内科)

### [研究要旨]

再生不良性貧血 (AA) に対する顆粒球コロニー刺激因子 (rhG-CSF) + エリスロポエチン (rhEpo) 併用療法の後期併発症としてクローン性疾患への移行について検討した。rhG-CSF + rhEpo 併用療法をおこない、2系統以上に血液学的反応が認められた AA 長期生存例のクローン性疾患への移行について追跡した。長期観察が可能な有効 AA5例のうち1例に急性骨髄性白血病への移行を認めた。症例は29歳、男性。1989年11月当科にて肝炎後重症 AA と診断。HLA 適合ドナーなく、1990年1月より rhG-CSF 投与を開始し、2月に ALG療法をおこなった。同年7月より rhG-CSF とエリスロポエチン (rhEpo) の併用療法を開始した。3系統に改善が認められたが、造血能は G-CSF、Epo に依存性であったため、rhG-CSF ± rhEpo の維持療法を続けていた。1999年8月 AML へ移行を認め、CAG療法もおこなうも奏功せず死亡した。免疫抑制剤や rhG-CSF により、AA の長期生存例が増加した。しかし、クローン性疾患への移行などの問題がまだ解決されていない。

### [研究目的]

AA の長期生存例の増加に伴い、後期併発症としてクローン性疾患への移行が問題になっている。特に骨髄異形成症候群 (MDS) と急性骨髄性白血病 (AML) への移行は臨床的に重大な問題である。欧州における大規模試験によれば、免疫抑制療法後の10年間の累積発現率は MDS が 9.6%、AML が 6.6% と報告されている<sup>1)</sup>。重症小児再生不良性貧血の retrospective な検討では、シクロ

スポリン (CyA) と rhG-CSF を併用した患者の50例中11例に MDS や AML への移行がみられ、10例に monosomy7 (-7) が認められた<sup>2)</sup> と報告されている。以前われわれは、AA と不応性貧血患者に対し、rhG-CSF + rhEpo 併用療法をおこない、約60%の有効率を報告した<sup>3)</sup>。今回われわれは、本療法のクローン性疾患への移行について検討した。

### [研究方法]

AA 症例に対し rhG-CSF + rhEpo 併用療法をおこなった。2系統以上に血液学的反応が認められた症例に対し長期観察をおこない、クローン性疾患への移行について検討した。

### [結果と観察]

2系統以上に血液学的反応が認められ長期観察が可能な有効 AA5例のうち1例に AML への移行を認めた。[症例] 29歳、男性。1989年1月に非 A 非 B 肝炎にて近医受診、同年10月近医にて汎血球減少を指摘された。同年11月当科を受診し (初診時19歳)、肝炎後重症 AA と診断された。HLA 適合ドナーなく、1990年1月より rhG-CSF 投与を開始した。同年2月、抗リンパ球グロブリン (ALG) + rhG-CSF 併用療法を、同年7月より rhEpo の併用も開始した。3系統に改善が認められたが造血能は rhG-CSF、rhEpo に依存性であったため、rhG-CSF + rhEpo (rhEpo 最終投与は1992年2月) 療法を続けていた。1999年7月より血小板減少を示し同年8月 rhG-CSF 投与を中止したが、末梢血に芽球の出現を認めたため、入院となった。末梢血は、RBC456万/mm<sup>3</sup>、Hb10.9g/dl、PLT7,000/mm<sup>3</sup>、WBC6,640/mm<sup>3</sup>で芽球を40%認めた。骨髄は異形成を認め、赤芽球は61.3%、芽球は22.6%であった。芽球はペルオキシダーゼ陽性であり、AML (M6) と診断した。染色体分析では48, XY, +8, +21を29/30に認めた。CAG療法をおこなうも奏功せず、同年12月死亡した。

[結論]

現時点では rhG-CSF の7クローンの出現、MDSへの移行への関与について結論は出ていない。本例では長期にわたる rhG-CSF 投与がAMLへの移行に関与した可能性も否定はできないと思われる。クローン性疾患への移行の機序の解明や、予防および治療法の開発が必要である。

[参考文献]

1. Socie G et al : N Eng J Med 329 : 1152-1157, 1993
2. Ohara A et al : Blood 90 : 1009-1013, 1997
3. Bessho M et al : Stem Cells 12 : 604-615, 1994

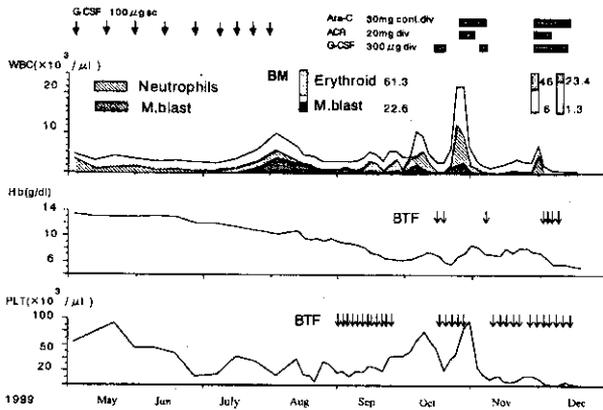
表1-1. 入院時検査所見

尿検査		生化学検査			
異常なし		GOT	27	IU/l	
		GPT	40	IU/l	
		LDH	307	IU/l	
		ALP	198	IU/l	
		γ-GTP	12	IU/l	
		chE	6515	IU/l	
		T-Bil	1.1	mg/dl	
		TP	7.9	g/dl	
		Alb	5.0	g/dl	
		BUN	15	mg/dl	
		Cr	0.63	mg/dl	
		UA	6.0	mEq/l	
		Na	138	mg/dl	
		Cl	103	mEq/l	
		K	3.9	mEq/l	
		Fe	57	μg/dl	
		UIC	151	μg/dl	
		TIBC	208	μg/dl	
		Ferritin	860	ng/ml	
		免疫学的検査			
		CFP	<0.10	mg/dl	
末梢血検査					
RBC	4.56 × 10 <sup>9</sup> / μl				
Hb	10.9 g/l				
Ht	35.2 %				
MCV	77.2 fl				
MCH	23.9 pg				
MCHC	31.0 %				
Ret	11.1 %				
WBC	6640 / μl				
Bl	40 %				
Pro	3 %				
Mye	5 %				
Met	7 %				
St	4 %				
Sg	4 %				
Mo	3 %				
Ly	34 %				
Ebl	6 /100WBC				
Plt	7 × 10 <sup>3</sup> / μl				

表1-2. 入院時検査所見

骨髄検査		表面形質	
NCC	13.3 × 10 <sup>4</sup> / μl	T-cell marker	
Mgk	16 / μl	CD2	1.3 %
M/E	0.39 %	CD7	8.0 %
Myeloid		B-cell marker	
M bi	22.6 %	CD19	11.9 %
Pro	0.9 %	Myeloid marker	
Mye	0.8 %	CD13	90.6 %
Met	3.8 %	CD14	4.3 %
St	5.7 %	CD15	14.6 %
Sg	0.0 %	CD33	2.8 %
Eo	0.9 %	CD41	8.5 %
Mo	0.9 %	CD61	8.5 %
Erythroid	61.3 %	CD64	53.5 %
Lymphoid	0.9 %	CD65	33.1 %
		GP-A	8.1 %
		Others	
		CD117	25.9 %
		CD11b	4.8 %
		CD34	65.6 %
		CD56	0.3 %
		CD71	37.9 %
		HLA-DR	54.1 %
骨髄染色体検査			
48, XY, +8, +21 (29/30)			

図1. 臨床経過



## 再生不良性貧血の抗胸腺細胞 グロブリン (ATG) 療法 (続報)

堀田 知光、福田 竜基

(東海大学医学部、血液リウマチ内科)

### [目的]

再生不良性貧血の成因として造血幹細胞異常、造血微小環境障害、自己免疫機序などが想定されているがまだ不明な点が多い。抗胸腺細胞グロブリン (ATG) の治療への導入以後、免疫抑制療法の有効性が明らかにされ、重症ないし中等症の再生不良性貧血の多くに自己免疫機序が関与しているものと考えられている。最近の報告では発症後1年以内にATGで治療した場合の有効率は50%を超える。しかし、ATGは移植に比して安全とはいえ、異種蛋白製剤であるため程度の違いはあるものの、何らかの有害事象は避けられず、使用に当たっては慎重を要する。われわれはATGで治療した症例について安全性と有効性の検討を行った。

### [方法]

東海大学血液リウマチ内科においてATG療法を行った13名の再生不良性貧血患者(女性8名、男性5名、年齢18~66歳、平均39歳)を解析の対象とした。肺性不良性貧血の重症度は厚生省特定疾患特発性造血障害調査研究班の重症度分類に基づいて判定した。ATGは20mgを試験投与して過敏反応がないことを確認した後、15mg/kgをプレドニゾロン1mg/kgとともに点滴静注で連続5日間投与した。プレドニゾロンは9日以降に漸減中止した。4例はシクロスポリン (CyA) との併用、2例はG-CSFとの併用、6症例はCyAおよびG-CSFの併用投与を行った。安全性と有効性の評価はWHOの有害事象の重症度判定基準および特発性造血障害班の効果判定基準に従い、有効性の評価はATG投与後1ヶ月、3ヶ月、6ヶ月および1年で行った。

### [結果]

ATG投与後の有害事象は投与後早期に発現する発熱、皮疹、浮腫、関節痛などの事象と投与後1~3週以後に発現する血清病様症状がある。早期に発現する有害事象として即時型アレルギー反応と白血球減少および血小板減少を主体とする血球減少は13例全例に認められた(表1)。有害事

表1 有害事象

症例	年齢	性別	有害事象							その他
			発熱	皮疹	浮腫	関節痛	血球減少	血清病様症状	GOT/GPT上昇	
1	18	F	G2	G1	-	G1	+	+	G2	
2	64	F	G3	G2	-	-	+	+	G3	下肢痛 G1
3	32	F	G2	G1	-	G2	+	+	G2	
4	24	M	G2	G1	-	G3	+	+	-	真菌感染 呼吸困難 G3 下痢 G2
5	18	M	G2	-	G1	-	+	-	-	
6	43	F	G3	G1	G1	-	+	-	-	
7	34	F	G2	G2	-	-	+	+	-	筋肉痛
8	66	M	G2	-	-	G1	+	+	G1	
9	51	M	G2	-	-	-	+	-	-	口内炎
10	57	F	G3	G2	-	-	+	-	-	
11	56	F	G1	G2	-	-	+	-	-	
12	23	M	G2	-	-	-	+	-	G1	
13	45	F	G2	G1	-	-	+	-	G1	
頻度(%)			100	69	15	30	100	46	46	

象の程度はgrade 3以下で、いずれの場合も抗ヒスタミン剤やヒドロコルチゾンなどの投与によって速やかに改善した。2万/ $\mu$ l未満の血小板減少には濃厚血小板液の輸注が有効で重篤な出血をきたした例はなかった。白血球減少は全例にみられたが、感染の合併や増悪はなかった。投与後1~3週以降に発生する有害事象としての血清病は6例にみられた。これらの症例では発熱、皮疹リンパ節腫脹、関節痛などのいずれかの症状とCRPの上昇を示し、4例はGOTおよびGPOTの上昇、1例は真菌感染を併発したがいずれもgrade 3以下で治療に良好に反応した。治療効果の発現は早い例では投与後1ヶ月後に網赤血球の増加反応がみられ、minimal response (MR) が4例にみられたが、partial response (PR) 以上の効果は投与後3ヶ月の経過が必要であった(表2)。投与後3ヶ月ではgood response (GR) 53%、PR 15%であった。6ヶ月ではGR 58%、PR 8%、1年ではGR 64%とPR 0%と反応の良好な例と無効または二次性不応になる例に2極化する傾向がみられた。無効の1例は発症から1年以上を経過した中

等症例であった。また1例が治療後に発作性夜間血色素尿症を発症した。

表2 効果

症例	原因	重症度	罹患期間	併用薬	効果				転帰
					1M	3M	6M	1Y	
1	特発性	重症	2ヶ月	G-CSF,CyA	MR	GR	GR	GR	PNH合併
2	特発性	中等	13ヶ月	G-CSF	NR	NR	NR	NR	死亡
3	特発性	中等	4ヶ月	-	MR	PR	MR	GR	生存
4	肝炎後	重症	2ヶ月	G-CSF,CyA	NR	MR	PR	GR	生存
5	特発性	中等	3ヶ月	G-CSF,CyA	MR	GR	GR	GR	生存
6	特発性	重症	1ヶ月	G-CSF	NR	GR	GR	GR	生存
7	特発性	中等	2ヶ月	G-CSF,CyA	NR	NR	MR	GR	生存
8	特発性	中等	8ヶ月	G-CSF,CyA	NR	GR	GR	-	生存
9	特発性	重症	1ヶ月	CyA	MR	GR	GR	MR	生存
10	特発性	重症	1ヶ月	G-CSF,CyA	NR	GR	GR	NR	生存
11	特発性	重症	1ヶ月	CyA	NR	GR	GR	GR	生存
12	特発性	中等	1ヶ月	CyA	NR	NR	NR	NR	生存
13	特発性	重症	1ヶ月	CyA	NR	PR	-	-	生存

[考察・結論]

ATG投与後に13例全例に何らかの有害事象が発生した。多くは投与後早期に即時型アレルギー反応や血球減少、投与後1~3週に血清病様症状を示したが、その程度は比較的軽度で各種の投薬

や輸血などの対処によって軽快しており安全性に重大の問題のある症例はなかった。有害事象はすべてATG投与後1ヶ月以内に発生していた。このシリーズでは経験しなかったが、重篤な有害事象が起こりうるのもこの期間と考えられるので、ATG投与後1ヶ月までは十分な観察と管理が必要と考えられる。今回の検討では治療効果は過半数例にGRが得られ、従来の報告と同様であった。ATGを主体とする免疫抑制療法は同種造血幹細胞移植の適応や条件のない若年のAA患者や比較的高齢のAA患者に対する治療として早期に考慮すべき治療法であると考えられる。

[文献]

1. Marsh JCW et al : Int J Hematol 62 : 133-144, 1995
2. Colby C et al : Ann-Pharmacother 30 : 1164-1174, 1996
3. Busque L : Blood 59-65, 1996

## 骨髓異形成症候群と妊娠： 自験例4例と文献的考察

大西 一功 (浜松医科大学, 第三内科)

### 【研究要旨】

妊娠時に骨髓異形成症候群(MDS)を合併する症例はまれであるが、近年、その報告が散見されるようになった。欧米からの報告ではMDS合併妊娠の長期予後は良好ではない。そこでMDS合併妊娠の自験例4例の出産前後の臨床経過と予後を検討した。妊娠中一時的に血球減少が進行した症例が多いが、全例で出産後は非妊娠時の値、またはそれ以上に回復した。本邦では約25例の報告があるが、大半は不応性貧血(RA)であり、妊娠中の一時的な血球減少の進行はあるが、出産後は血液学的改善を認めている。症例数は少ないが、わが国で経験されたMDS合併妊娠例においては、妊娠出産がMDSの憎悪に関与したと思われる症例は認めなかった。

### 【研究目的】

妊娠時に骨髓異形成症候群(MDS)を合併する症例はまれであるが、欧米からの報告ではその長期予後は良好ではない。今回当科で4例のMDS合併妊娠例を経験したので本邦での約25例の報告を含めて妊娠のMDSに与える影響を検討した。

### 【研究方法】

MDS合併妊娠自験例4例の出産前後の臨床経過と予後を検討し、本邦および欧米の報告と比較した。

### 【研究結果】

MDS合併妊娠自験例4例の病型は全例不応性貧血(RA)であった。3例で染色体が検索され2例は正常核型、1例はtrisomy8を呈した。3症例で妊娠中血球減少が進行し、非妊娠時に比較し輸血頻度が増加したが、出産時は全例で輸血を必要とした。出産後の血算は、全例で非妊娠時の値、

またはそれ以上に回復し、妊娠出産がMDSの憎悪や白血病への移行に関与したと思われる症例は認めなかった。出産後4~61ヶ月が経過しているが、いずれも生存中である。

### 【考 察】

骨髓異形成症候群は高齢者に好発することもあり、妊娠を合併する症例はまれとされてきた。しかし、疾患概念の浸透と出産の高齢化により、近年、その報告が散見されるようになった。欧米のMDS合併妊娠例11例の報告では、出産後5例がAMLへ移行し、それらを含む6例が約2年以内に死亡している。この妊娠出産後の不良な予後について、estrogenとleukemic clone増殖の関連が示唆されるものの、確定的な結論には至っていない。一方、わが国で経験されたMDS合併妊娠例は、自験例4例を含め大半はRAであり、全例で出産後の血液学的改善を認め、妊娠出産がMDSの憎悪に関与したと思われる症例は認めていない。これらの長期予後について引き続き経過観察と症例の蓄積が必要であるとともに、将来の憎悪時に備え、分娩時に臍帯血の採取、保存を行うことも、今後考慮していかなければならない問題であろう。

### 【結 論】

わが国で経験されたMDS合併妊娠例は、欧米の報告と異なり全例で出産後の血液学的改善を認め、妊娠出産がMDSの憎悪に関与したと思われる症例は認めていない。しかしこれらの長期予後について引き続き経過観察と症例の蓄積が必要である。

### 【参考文献】

1. Tariq Siddiqui et al.: Cancer 66, 377-381, 1990
2. Paglica A et al.: Euro J Haematol 47, 310-312, 1991
3. 鹿野共晁他: 日本産婦人科・新生児血液学会誌 9, 35-40, 2000

## 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

岡村 孝

(九州大学大学院医学研究院, 病態修復内科学)

### 〔研究要旨〕

中等症再生不良性貧血に対し、ATG、サイクロスポリン投与し、汎血球減少は改善したが、投与後約3年経過後も、血小板血症が持続している非常に稀な症例を報告する。

### 〔症 例〕

症例は48歳男性。平成10年1月に中等症再生不良性貧血と診断され、ATG（リンフォグロブリン）15mg/kg、5日間投与を開始した。メチルプレドニゾロンを併用するも、高熱、蕁麻疹様の紅斑の出現などの血清病を認め、投与後約30日まで遷延した。また好中球減少も来たし、G-CSFの投与も併用した。しかし、好中球数は投与後20日頃より急激に増加し、G-CSF投与中止後も減少なくほぼ正常値で経過した。また、血小板数も一時的に減少し、輸血を必要としたが、投与後30日頃より、増加し始めた。しかしその後も増加を続け、3ヶ月後には約100万/ $\mu$ lまで増加、その後も減少することなく経過した。しかし、赤血球数の増加は認めず、輸血依存性が続いた。骨髓穿

刺にても、顆粒球系の増加、巨核球の著明な増加を認めるも、赤芽球系の細胞はほとんど認められなかった。そのため、ATG投与後約10ヶ月後より、シクロスポリン5  $\mu$ g/kg/dayの投与を開始した。特に副作用はなく経過した。投与後約8ヶ月頃より、網状赤血球数の増加を認め始め、赤血球数の増加、輸血依存性の離脱を認めた。その後、貧血は徐々に改善し、輸血なしでHb13g/dl前後に安定した。その後、シクロスポリンを漸減するも、3系統の血球数の低下は認めなかった。シクロスポリン投与終了後約3年を経過するが、血球数の変化は少なく、血小板数も100万/ $\mu$ l以上で経過している。骨髓検査では、3系統の造血細胞の回復、特に巨核球の増多を認め、また、ペルオキシダーゼ陰性で、巨核芽球様の幼若細胞も少数散見され、本態性血小板血症様の骨髓所見と考えられた。骨髓染色体検査では、治療前後とも46XYと正常核型である。

### 〔考 察〕

再生不良性貧血患者でATGやシクロスポリン投与により、AMLやMDSなどの染色体異常を伴ったクローン性増殖をきたすことは知られているが、本例のような骨髓増殖性疾患、特に本態性血小板血症に類似した病態をきたす例は非常に稀であり報告した。将来、本例もクローナルな増殖への移行期をみている可能性もあり今後とも経過観察が重要である。

## 骨髓異形成症候群および骨髓性白血病における Survivin 遺伝子の発現

上田 孝典、吉田 明、今村 信

(福井医科大学医学部, 第一内科)

### [はじめに]

Survivin は Ambrosini ら<sup>1)</sup> により同定された遺伝子で、そのコードする蛋白 (分子量約 16kDa) は、アポトーシスを抑制する作用を持つ蛋白質群 IAP (inhibitor of apoptosis protein) ファミリーの一つである。Survivin は正常組織において、その発現は検出されていないが、癌細胞において発現していると考えられている。今回、我々は、骨髓異形成症候群および骨髓性白血病患者のサンプルにおける Survivin 発現の検討をおこなったので報告する。

### [方法]

MDS (CMMOL を含む) 18 例, CML10 例, AML12 例 合計 40 サンプルより分離した単核球

より RNA を抽出して RT-PCR 実施して、その発現を検討した。

### [結果]

AML のうちの 6 例に発現を認めた。CML 慢性期の症例全例においてその発現はみられなかったが、急性転化症例の全例において発現がみられた。また MDS (RA) では 9 例中 7 例に発現を認めた。

### [考察]

Survivin の発現パターンからみると、MDS (RA) においても強い発現を示す症例を認めたことより、MDS の病態は従来いわれてきたごとくアポトーシス亢進状態とは、必ずしも言えない可能性がある。また Survivin の発現パターンを調べることは、MDS (RA) を診断する際の有用な所見となりうる可能性が考えられる。

### [参考文献]

1. Ambrosini G et al : Nat Med 3, 917-921, 1997

## Fanconi 貧血の分子病態： FANCA と BRG1 の結合

小澤 敬也 (自治医科大学, 内科学講座血液学部門)

### 【研究要旨】

Fanconi 貧血原因遺伝子産物の一つである FANCA に結合する蛋白として、クロマチンリモデリング因子 (SWI/SNF 複合体) の重要な構成要素の一つである BRG1 を同定した。FANCA は SWI/SNF 複合体のアセンブリーに関与している可能性が示唆された。

### 【研究方法】

FANCA を bait として、yeast two-hybrid 法により FANCA に結合する蛋白をスクリーニングした。

### 【結果】

クロマチンリモデリング因子 (SWI/SNF 複合体) の重要な構成要素の一つである BRG1 が

FANCA 結合蛋白として同定された。Fanconi 貧血 A 群患者由来細胞とこれに正常 FANCA cDNA を導入して補正した細胞から SWI/SNF 複合体を抽出して、電気泳動後に銀染色を行いそのアセンブリーパターンを比較したところ、両者には違いがあることがわかった。

### 【考察・結論】

Fanconi 貧血の原因遺伝子は続々とクローニングされているが、その遺伝子産物の機能は依然として不明のままである。本研究により、FANCA と SWI/SNF 複合体との関連が明らかとなった。SWI/SNF 複合体はクロマチン構造を変化させ、転写の調節を行っていることが知られている。つまり、FANCA が転写調節に関与している可能性が示唆され、Fanconi 貧血の分子病態を解明する上で興味深い。

### 【参考文献】

1. Phelan ML et al.: Mol Cell 20, 6380, 2000
2. Khavari PA et al.: Nature 366, 170, 1993

## DNA チップを用いた再生不良性貧血の 病態解明

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)

### [研究要旨]

再生不良性貧血は臨床の場においてしばしば不応性貧血との鑑別が困難であり、両者を区別する分子マーカーの同定が待たれていた。われわれは両疾患患者骨髄より造血幹細胞特異的細胞表面蛋白 AC133 を指標として造血幹細胞分画のみを純化し、これを用いて DNA チップ解析を行い、再生不良性貧血および不応性貧血に固有の発現パターンを取る遺伝子の同定を試みた。具体的に再生不良性貧血 7 例、および不応性貧血 11 例の患者骨髄よりアフィニティカラムにて造血幹細胞分画を純化し、これらをカスタムメイドの DNA チップを用いて発現プロファイルの比較をした。その結果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。

### [研究目的]

「ポスト・ゲノム」時代においては論理上は未知の遺伝子というのは存在せず、機能が不明であるにしろ配列自体は明らかになっている全ての遺伝子の中から、特定の疾患に関与した遺伝子を選ぶことが研究の重要な目標となる。このような実験において DNA チップは極めて強力な武器となる<sup>1)</sup>。しかし DNA チップは余りに鋭敏な検査法で

あるため、サンプル内の構成細胞群の違いに起因する偽陽性結果を得ることが多かった。我々はこのような欠点を克服し、再生不良性貧血の病態解明・診断法の開発を目指し以下のような解析を行った。

### [研究方法]

再生不良性貧血、不応性貧血などの特発性造血障害および白血病の多くは造血幹細胞（およびその近傍）の異常に起因すると考えられている。そこで AC133<sup>2)</sup> 陽性細胞を指標としてこれら患者から造血幹細胞分画のみを純化し、計 2400 個のヒト遺伝子をスポットした DNA チップによる発現プロファイリングを試みた。

### [結果]

再生不良性貧血患者 7 例および不応性貧血患者 11 例より AC133 陽性細胞を純化し解析した結果未知の遺伝子を含む複数の遺伝子が疾患特異的に高発現していることが明らかになった。その結果再生不良性貧血および不応性貧血を鑑別する新たな分子マーカーの候補が同定された。

### [結論]

以上より造血幹細胞分画を用いた DNA チップ解析により効率よく再生不良性貧血の病態解析が可能になることが示された。

### [参考文献]

1. Duggan DJ et al : Nat. Genet. 21, 10-14, 1999
2. Hin AH et al : Blood 90, 5002-5012, 1997



# 発表文献リスト

## 国際・国内学会雑誌への発表文献リスト

平成12年度の本研究に当たってなされた分科会研究業績のうち既発表または印刷中の原著論文、学会発表抄録、単行本を関連別に区分し、原則として、英文、和文の順序で、それぞれを原著、抄録に整理し、さらに班員・研究協力者が所属する施設の所在地によりほぼ北から南の順に配列した。

著者のアンダーラインは本研究分科会員・研究協力者を示す。

1. Ieko, M. Sawada, K. et al. : Effects of  $\beta$ 2-glycoprotein I and monoclonal anticardiolipin antibodies on extrinsic fibrinolysis. *Sem Thrombos Hemostas* 26 : 85-90, 2000
2. Kashii, Y. Sawada, K. et al. : A member of forkhead family transcription factor FKHRL1 is one of the downstream molecule of phosphatidylinositol 3-kinase-Akt activation pathway in erythropoietin signal transduction. *Blood* 96 : 941-949, 2000
3. Notoya, A. Sawada, K. et al. : Splenomegaly and chronic disseminated intravascular coagulation in Osler-Weber-Reudt disease. *Am J Hematol* 65 : 315-318, 2000
4. Nishio, M. Sawada, K. et al. : Stem cell factor prevents Fas-mediated apoptosis of human erythroid precursor cells with Src-family kinase dependency. *Exp Hematol* 29 : 19-29, 2001
5. Koizumi, K. Sawada, K. et al. : Large scale purification of human blood CD34+ cells from cryopreserved peripheral blood stem cells, using a nylon-fiber syringe system and immunomagnetic microspheres. *Bone Marrow Transplant* 26 : 787-793, 2000
6. Nishio, M. Sawada, K. et al. : Effective high dose chemotherapy combined with CD34+-selected autologous peripheral blood stem cell transplantation in a patient with cutaneous CD30-negative large T cell lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 25 : 1315-1317, 2000
7. Oda, A. Sawada, K. : Signal transduction in primary cultured human erythroid cells. *J Hematotherapy Stem Cell Res* 9 : 417-423, 2000
8. Tsutsumi, A. Sawada, K. et al. : Heterogeneous behavior of anti- $\beta$ 2-glycoprotein I

antibodies on various commercially available enzyme immunoassay plates coated with  $\beta$ 2-glycoprotein I. *J Rheumatol* 27 : 391-396, 2000

9. Endo, T. Sawada, K. et al. : A possible role for lamivudine as prophylaxis against hepatitis B reactivation in carriers of hepatitis B who undergo chemotherapy and autologous peripheral blood stem cell transplantation for non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant* (in press)
10. Yamaguchi, M. Sawada, K. et al. : Serum-free coculture system for ex vivo expansion of human cord blood primitive progenitors and scid mouse-reconstituting cells using human bone marrow primary stromal cells. *Exp Hematol* (in press)
11. Nishio, M. Sawada, K. et al. : Reversal of HIV associated motor neuron disease after highly active antiretroviral therapy (HAART). *J Neurology* (in press)
- 12.\* Endo, T. Sawada, K. et al. : Stem cell factor protects c-kit positive human erythroid cells from apoptosis. *Blood (abs)* 96 : 341, 2000
- 13.\* Takashima, H. Sawada, K. et al. : Molecular cloning and characterization of a novel human kruppel-associated box (KRAB) containing zinc finger protein, EKZ1 from human erythroid progenitor cells. *Blood (abs)* 96 : 4277, 2000
- 14.\* Komatsu, N. Sawada, K. et al. : Pegylated recombinant human megakaryocyte growth and development factor (PEG-rHuMGDF) augmented circulating platelet counts (PLT) in patients with aplastic anemia (AA) and myelodysplastic syndrome (MDS). *Blood (abs)* 96 : 1273, 2000
- 15.\* Kirito, K. Sawada, K. et al. : Forkhead family transcription factor FKHRL1 is expressed in human megakaryocytes and regulates cell cycling as a downstream molecule of TPO signaling. *Blood (abs)* 96 : 4308, 2000
16. Ishida, Y. et al. : Purification of proplatelet formation (PPF) stimulating factor : Thrombin/antithrombin III complex stimulates PPF of megakaryocytes in vitro and platelet production in vivo. *Thrombosis Haemostasis* 85 : 349-355, 2001
17. Ito, S. Ishida, Y. et al. : Flowcytometric analysis of aberrant antigen express in of blasts using CD45 blast gating for minimal residual disease in acute leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome. *Leukemia Res* 25 : 205-211, 2001
18. Ishida, Y. Murai, K. : Development of quantitative RT-PCR for the expression of Wilms' tumor in leukemia on the Light Cycler System. *Rapid Cycle Real Time PCR-Methods*

- and Applications (Meyer, Wittwer and Nakagawara edits) Springer (Heidelberg), (in press)
19. Kashii, Y. Ozawa, K. et al. : A member of Forkhead family transcription factor, FKHRL1, is one of the downstream molecules of phosphatidylinositol 3-kinase-Akt activation pathway in erythropoietin signal transduction. *Blood* 96 : 941-949, 2000
  20. Tarumoto, T. Ozawa, K. et al. : N (G)-monomethyl-L-arginine inhibits erythropoietin gene expression by stimulating GATA-2. *Blood* 96 : 1716-1722, 2000
  21. Miyazato, A. Ozawa, K. et al. : Identification of myelodysplastic syndrome-specific genes by background-matched population (BAMP) screening. *Blood* 98 : 422-427, 2001
  22. Tabata, M. Ozawa, K. et al. : Essential thrombocythemia transformed to acute myelogenous leukemia with t (3 ; 17) (p24 ; q12), del (5) (q13q34) after treatment with carboquone and hydroxyurea. *J Clin Oncol* 30 : 310-312, 2000
  23. Kawano, C. Ozawa, K. et al. : Engraftment syndrome after autologous peripheral blood stem cell transplantation with high numbers of peripheral blood stem cells followed by granulocyte colony-stimulating factor administration. *Bone Marrow Transplant* 25 : 228-229, 2000
  24. Yoshida, K. Ozawa, K. et al. : Mediation by the protein-tyrosine kinase Tex of signaling between the B cell antigen receptor and Dok-1. *J Biol Chem* 275 : 24945-24952, 2000
  25. Urabe, M. Ozawa, K. et al. : Self amplification system for recombinant adeno-associated virus production. *Biochem Biophys Res Commun* 276 : 559-563, 2000
  26. Uwai, M. Ozawa, K. et al. : A new apoptotic pathway for the complement factor B-derived fragment Bb. *J Cell Physiol* 185 : 280-292, 2000
  27. Urabe, M. Ozawa, K. et al. : DNA/calcium phosphate precipitates mixed with medium are stable and maintain high transduction efficiency. *Anal Biochem* 278 : 91-92, 2000
  28. Tarumoto, T. Ozawa, K. et al. : A de novo Philadelphia chromosome-positive acute mixed-lineage leukemia with both major and minor BCR/ABL mRNA transcripts. *Am J Hematol* 65 : 72-74, 2000
  29. Shimazaki, K. Ozawa, K. et al. : Adeno-associated virus vector-mediated bcl-2 gene transfer into post-ischemic gerbil brain in vivo: prospects for gene therapy of ischemia-induced neuronal death. *Gene Ther* 7 : 1244-1249, 2000

30. Kume, A. Ozawa, K. et al. : Long-term tracking of murine hematopoietic cells transduced with a bicistronic retrovirus containing CD24 and EGFP genes. *Gene Ther* 7 : 1193-1199, 2000
31. Matsuda, K.M. Ozawa, K. et al. : A novel strategy for the tumor angiogenesis-targeted gene therapy : Generation of angiostatin endogenous plasminogen by protease gene transfer. *Cancer Gene Ther* 7 : 589-596, 2000
32. Matsumoto, Y. Ozawa, K. et al. : Phenotype conversion of T-lineage lymphoblasts in the lymph node to myeloblasts in the bone marrow during relapse after allogeneic bone marrow transplantation. *Int J Hematol* 72 : 253-254, 2000
33. Muroi, K. Ozawa, K. et al. : Autologous peripheral blood stem cell transplantation for adults with B-lineage acute lymphoblastic leukemia : a pilot study. *Leukemia Lymphoma* 38 : 103-111, 2000
34. Tarumoto, T. Ozawa, K. et al. : A case of bilateral heel ulcers associated with hydroxyurea therapy for chronic myelogenous leukemia. *Jpn J Clin Oncol* 30 : 159-162, 2000
35. Yano, K. Ozawa, K. et al. : Quality of life in adult patients after stem cell transplantation. *Int J Hematol* 71 : 283-289, 2000
36. Ozawa, K. et al. : Gene therapy of Parkinson's disease using adeno-associated virus (AAN) vectors. *J Neural Transm* 58 : 181-191, 2000
37. Maeda, Y. Ozawa, K. et al. : Adeno-associated virus-mediated vascular endothelial growth factor gene transfer into cardiac myocytes. *J Cardiovasc Pharm* 36 : 438-443, 2000
38. Muroi, K. Ozawa, K. et al. : Sialy-Tn- and neuron-specific enolase-positive minimally differentiated erythroleukemia. *Intern Med* 39 : 843-846, 2000
39. Shen, Y. Ozawa, K. et al. : Triple transduction with adeno-associated virus vectors expressing tyrosine hydroxylase, aromatic l-amino acid decarboxylase, and GTP cyclohydrolase I for gene therapy of Parkinson's disease. *Hum Gene Ther* 11 : 1509-1519, 2000
40. Shinpo, M. Ozawa, K. et al. : Gene transfer into rat renal cells using adeno-associated virus vectors. *Am J Nephrol* 20 : 242-247, 2000

41. Akimoto, T. Ozawa, K. et al. : Erythropoietin regulates vascular smooth muscle cell apoptosis by phosphatidylinositol 3 kinase-dependent pathway. *Kidney Int* 58 : 269-282, 2000
42. Kawano, C. Ozawa, K. et al. : Filamented pseudomonas aeruginosa and a markedly high level of endotoxin in cerebrospinal fluid. *J Infect* 41 : 114-115, 2000
43. Jimbu, Y. Ozawa, K. et al. : Unusual tumor formation in the tongue of an acute myelocytic leukemia patient : report of a case. *Oral Med Pathol* 5 : 53-56, 2000
44. Maeda, Y. Ozawa, K. et al. : Endogenously generated nitric oxide by nitric-oxide synthase gene transfer inhibits cellular proliferation. *J Pharmacol Exp Therapeut* 292 : 387-393, 2000
45. Chen, H. Ozawa, K. et al. : Inhibition of vascular endothelial growth factor activity by transfection with the soluble FLT-1 gene. *J Cardiovasc Pharm* 36 : 498-502, 2000
46. Matsuda, A. Jinnai, I. Yagasaki, F. Ito Y. Ito, K. Kusumoto, S. Murohashi, I. Bessho, M. Hirashima, K. : The pathogenetic mechanism of myeloid malignancies associated with deletions of the long arm of chromosome 20 can not be explained by a "one hit" model. *Eur J Haematol* 65 : 210-211, 2000
47. Handa, A. Kashimura, T. Takeuchi, S. Yamamoto, A. Murohashi, I. Bessho, M. Hirashima, K. : Expression of functional granulocyte colony-stimulating factor receptors on human B-lymphocytic leukemia cells. *Ann Hematol* 79 : 127-131, 2000
48. Miyazawa, K. Nishiyama, J. Ohyashiki, K. Enomoto, S. Kuriya, S. Fukuda, R. Hotta, T. Teramura, M. Mizoguchi, H. Uchiyama, T. Omine, M. : Vitamin K2 therapy for myelodysplastic syndromes (MDS) and Post-MDS acute myeloid leukemia : information through a questionnaire survey of Multi Center Pilot Studies in Japan. *Leukemia* 14 : 1156-1157, 2000
49. Wada, M. Okamura, T. Teramura, M. Masuda, M. Motoji, T. Mizoguchi, H. : Delineation of the frequently deleted region of chromosome arm 13q in B-cell non-Hodgkin's B-cell non-Hodgkin's Lymphoma. *Int J Hematol* 71, 2000
50. Inoue, K. Kohno, T. Takakura, S. Hayashi, Y. Mizoguchi, H. Yokota, J : Frequent microsatellite instability and BAX mutations in T cell acute lymphoblastic leukemia cell lines. *Leukemia Res* 24 : 255-262, 2000
51. Shiotsu Y. Yamashita, K. Kanai, F. Ikuina, Y. Murakata, C. Teramura, M. Mizoguchi,

- H. Tamaoki, T. Akinaga, S. : Chemoprotective effects of KF41399 a derivative of carbazole compounds on nimustine induced thrombocytopenia. *Bolld* 95 : 3771-3780, 2000
52. Mori, N. Morosetti, R. Hoflehner, E. Lubbert M. Mizoguchi, H. Loeffler, P. : Allelic loss in the progression of myelodysplastic syndrome. *Cancer Res* 60 : 3034-3042, 2000
53. Kojima, S. Nakao, S. Tomonaga, M. Hows, J. Marsh, J. Socie, G. Bacigalupo, A. Mizoguchi, H. : Cosensus conference on the treatment of aplastic anemia. *Int J Hematol* 72 : 118-123, 2000
54. Akiyama, M. Yamada, O. Akita, S. Urashima, M. Horiguchi, Y.J. Ohno, T. Mizoguchi, H. Eto, Y. Yamada, H. : Ectopic expression of c-myc fails to overcome downregulation of telomerase activity induced by herbimycin A, but ectopic hTERT expression overcomes it. *Leukemia* 14 : 1260-1265, 2000
55. Tsuji, K. Motoji, T. Sugawara, I. Shiozaki, H. Wang, Yan-Hua. Motomura, S. Okada, M. Yasunami, T. Sano, F. Takahashi, M. Kawada, H. Maseki, N. Hoshino, S. Ishida, M. Mizoguchi, H. : Significance of lung resistance related protein in the clinical outcome of acute leukemic patients with reference to P-glycoprotein. *Br J Haematol* 110 : 370-378, 2000
56. Kurokawa, M. Mitani, K. Yamagata, T. Takahashi, T. Izutsu, K. Ogawa, S. Moriguchi, T. Nishida, E. Yazaki, Y. Hirai, H. : The Evi-1 oncoprotein inhibits c-Jun N-terminal kinase and prevents stress-induced cell death. *EMBO J* 19 : 2958-2968, 2000
57. Yamagata, T. Mitani, K. Oda, H. Suzuki, T. Honda, H. Asai, T. Maki, K. Nakamoto, T. Hirai, H. : Acetylation of GATA-3 affects T-cell survival and homing to secondary lymphoid organs. *EMBO J* 19 : 4676-4687, 2000
58. Honda, H. Ushijima, T. Wakazono, K. Oda, H. Tanaka, Y. Aizawa, S. Ishikawa, T. Yazaki, Y. Hirai, H. : Acquired loss of p53 induces blastic transformation in p210bcr/abl-expressing hematopoietic cells : a transgenic study for blast crisis of human CML. *Blood* 95 : 1144-1150, 2000
59. Imai, Y. Kurokawa, M. Izumi, K. Hangaishi, A. Takeuchi, K. Maki, K. Ogawa, S. Chiba, S. Mitani, K. Hirai, H. : Mutations of the AML1 gene in patients with myeloblastic syndrome and their functional implications in leukemogenesis. *Blood* 96 : 3154-3160, 2000
60. Imai, Y. Kurokawa, M. Izutsu, K. Hangaishi, A. Maki, K. Ogawa, S. Chiba, S. Mitani,

- K. Hirai, H. : Mutations of the Smad4 gene in acute myelogenous leukemia and their functional implications in leukemogenesis. *Oncogene* 20 : 88-96, 2001
61. Nakamoto, T. Yamagata, T. Sakai, R. Ogawa, S. Honda, H. Ueno, H. Hirano, N. Yazaki, Y. Hirai, H. : CIZ : a zinc finger protein that interacts with p130cas and activates the expression of matrix metalloproteinases. *Mol Cell Biol* 20 : 1649-1658, 2000
  62. Shimizu, K. Chiba, S. Kumano, K. Hosoya, N. Takahashi, T. Hamada, Y. Yazaki, Y. Hirai, H. : Binding of Delta1, Jagged1, and Jagged2 to Notch2 rapidly induces cleavage, nuclear translocation and hyperphosphorylation of Notch2. *Mol Cell Biol* 20 : 6913-6922, 2000
  63. Ueno, H. Kondo, E. Yamamoto, R. Honda, R. Tobe, K. Nakamoto, T. Sasaki, K. Mitani, K. Furusaka, A. Tanaka, T. Tsujimoto, Y. Kadowaki, T. Hiraki, H. : Association of IRS proteins with Bcl-2 and their effects on its phosphorylation and anti-apoptotic function. *Mol Biol Cell* 11 : 735-746, 2000
  64. Kanda, Y. Hamaki, T. Yamamoto, R. Chizuka, A. Suguro, M. Matsuyama, T. Takezako, N. Miwa, A. Kami, M. Hirai, H. Togawa, A. : Clinical significance of CD34 expression on response to therapy in acute myeloid leukemia : An overview of 2483 patients from 22 studies. *Cancer* 88 : 2529-2533, 2000
  65. Machida, U. Kami, M. Uozaki, H. Makimura, K. Yamaguchi, H. Hirai, H. : Subacute spinal cord infarction due to zygomycotic thrombosis in a patient with myelodysplastic syndrome. *Hematologica* 85 : 1004-1006, 2000
  66. Tanabe, T. Kuwabara, T. Asano, S. et al. : Oncogene inactivation in a mouse model. *Nature* 406 : 473-474, 2000
  67. Futaki, M. Yamashita, T. Asano, S. et al. : The IVS + 4A → T mutation of the Fanconi anemia gene FANCE is not associated with a severe phenotype in Japanese patients. *Blood* 95 : 1493-1498, 2000
  68. Wataki, K. Tojo, A. Asano, S. et al. : Hyperfunction of neutrophils in a BCR/ABL-negative chronic myeloid leukemia : a case report with in vitro studies. *Cancer* 89 : 551-560, 2000
  69. Machida, U. Tojo, A. Asano, S. et al. : The effect of G-CSF administration in healthy donors before bone marrow transplantation. *Br J Haematol* 108 : 747-753, 2000
  70. Machida, U. Tojo, A. Asano, S. et al. : Refractory facial cellulitis following cosmetic