

CD34陽性造血幹細胞移植患者における CD34陰性造血前駆細胞の欠損

安藤 潔、堀田 知光

(東海大学 血液リウマチ内科)

加藤 俊一、中村 嘉彦

(東海大学 細胞移植研究センター)

[はじめに]

CD34分子がヒト造血幹細胞の表面マーカーであることが明らかにされ造血幹細胞を純化する技術が進歩し、現在では90%以上の純度でこれらの細胞を得て移植・遺伝子治療に利用されている。当施設では1993年に世界で第2例目の血縁者間CD34陽性幹細胞移植を成功させ、現在移植後8年を経過して造血再構築を維持している。一方、最近CD34陰性の新たな幹細胞の存在がヒトを含む哺乳類で報告されつつあるが、これらの細胞の血液学的意義はいまだ不明である。それらの細胞の存在頻度が低いことと培養が困難であることから細胞生物学的、分子生物学的解析が行えないためである。われわれはマウス骨髄ストローマ細胞を利用してヒト Lin-CD34-細胞を培養しCD34陽性幹細胞を誘導可能な培養系を開発した。今回はCD34陽性造血幹細胞移植患者のドナー造血細胞の動態を明らかにするために移植後患者骨髄サンプルを本培養系を用いて解析した。

[対象と方法]

解析対象は4人のCD34陽性造血幹細胞移植患者(年齢1-15才、移植後22-84ヶ月後)、1人のT細胞除去骨髄移植患者(年齢23才、移植後52ヶ月後)、6人の通常の骨髄移植患者(年齢2-16才、移植後17-113ヶ月後)、6人の健常人であり、全例説明と同意の上骨髄採取を行った。移植例は全例ドナー由来の造血を維持しており原病の再発を認めていない。骨髄より得られたMNCを11種類のPE-lineage markers (CD2, 3, 7, 14, 16, 19, 20, 33, 41, 56, glycophorin A) と FITC-CD45で染色し cell sorter を用いて Lin-細胞を得た後、

PE-CD34で標識し2度目のソーティングで Lin-CD34-細胞を得た。これらの細胞をマウス骨髄ストローマ細胞株 HESS-5とともにヒトサイトカイン Flk-2/Flt-3 ligand (300ng/ml)、TPO (300ng/ml)、SCF (300ng/ml)、G-CSF (10ng/ml)、IL-3 (10ng/ml)、IL-6 (10ng/ml) 存在下に培養した。

[結果]

11種類の lineage markers を用いると骨髄単核球中の Lin-CD34-細胞の存在頻度はCD34陽性造血幹細胞移植患者で $0.96 \pm 1.01\%$ (n=4)、それ以外の移植患者で $0.66 \pm 0.59\%$ (n=7)、健常人で $0.45 \pm 0.16\%$ (n=6)であった。これらの細胞はVNTR検査により100%ドナー由来であることを確認した。Lin-CD34-細胞をストローマ細胞およびヒトサイトカイン Flk-2/Flt-3 ligand、TPO、SCF、G-CSF、IL-3、IL-6存在下に培養した。CD34陽性造血幹細胞移植患者由来の Lin-CD34-細胞では増殖が認められなかったのに対して、それ以外の移植群および健常人の Lin-CD34-細胞は7日後、14日後にそれぞれ 4.2 ± 2.0 倍 (n=7)、 16.4 ± 7.8 倍 (n=7)に増加していた。培養7日後のCD34発現の解析ではCD34陽性造血幹細胞移植患者由来の Lin-CD34-細胞では全く発現を認めなかったが、その他の患者、健常人由来の Lin-CD34-細胞ではそれぞれ $21.8 \pm 13.8\%$ (n=7)、 $39.0 \pm 19.9\%$ (n=6)の発現が認められた。さらにこれらの細胞のコロニー形成能を検討した。培養前の Lin-CD34-細胞はいずれの群でもコロニー形成を認めなかったが、培養7日後ではCD34陽性造血幹細胞移植患者群で0、それ以外の患者群で $13.17 \pm 3.19/1000$ (n=7)、健常群で $24.80 \pm 12.87/1000$ (n=6)でありCD34発現誘導率との相関を認めた。(図1) 以上のようにCD34陽性造血幹細胞移植患者群の骨髄には Lin-CD34-細胞が存在するが培養後、CD34発現およびコロニー形成能を誘導できない。

[考案・結論]

以上の結果よりCD34陽性造血幹細胞移植患者群の骨髄には Lin-CD34-細胞が存在するが、培養後CD34発現およびコロニー形成能を誘導できない。

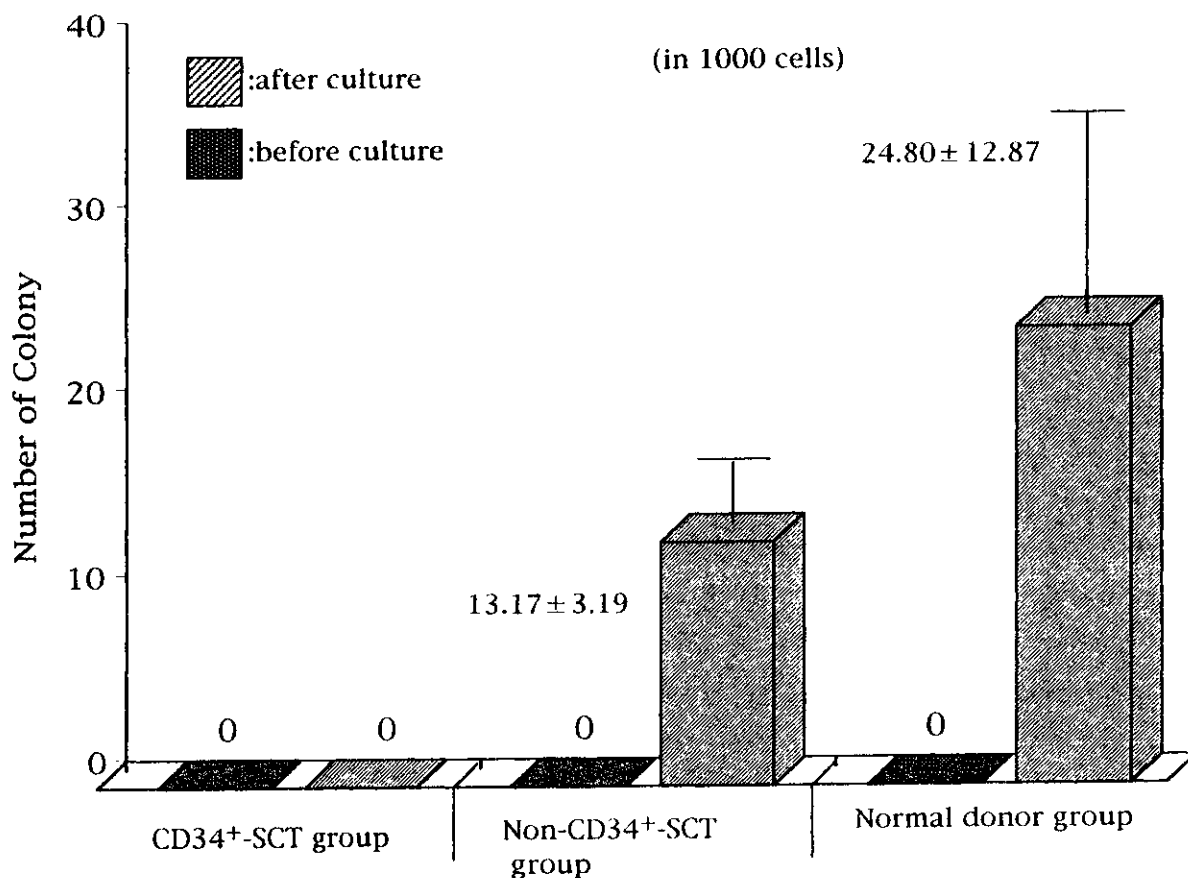


図1 Lin-CD34陰性細胞培養前後におけるコロニー形成能

いことはこれらの細胞に CD34- 細前駆・幹細胞が存在していないことを示唆し、CD34陽性造血幹細胞移植では CD34- 細前駆・幹細胞が移植されていない可能性が示唆された。

近年、CD34陽性造血幹細胞よりさらに未分化な CD34陰性造血幹細胞の存在が示され、ヒトにおいても正常造血、血液疾患におけるそれらの細胞の意義に関心が集まっている。しかしながら、マウスにおける c-kit、sca-1のような陽性マーカーが見いだされていないためヒトにおける解析は困難である。今回われわれは培養による CD34の誘導を指標にこれらの細胞を評価した。この方法は今後、骨髄異形成症候群、白血病などの各種疾患における CD34陰性造血幹細胞の解析に有用であると考えられた。

一方、最近マウスにおいては幹細胞における CD34の発現は reversible であるという報告もある。ただしこの際、CD34陰性に転化する幹細胞は5-FU処理などにより「活性化」した CD34陽性

造血幹細胞であるので、恒常的造血における動態を反映したものであるか否かは不明である。すなわち、骨髄移植においては恒常的造血状態にあるドナーより幹細胞を採取するわけであり、その際 CD34選択を行うことにより CD34陰性幹細胞が失われることは明白である。今後より長期にわたる経過を追うことによりここで解析された症例群の造血における CD34陰性幹細胞の意義が明らかとなるであろう。

[文 献]

1. Kato S, et al, Bone Marrow Transplant 28, 587, 2001
2. Kawada H, et al, Exp Hematol 27, 904, 1999
3. Nakamura Y, et al, Blood 94, 4053, 1999
4. Ando K, et al, Exp Hematol 28, 690, 2000

Ⅱ 溶血性貧血

マウス *Rhced* 遺伝子の塩基配列の 決定とその構造解析

梶井 英治、熊田 真樹、亀崎 豊実、
小山田 隆、奥田 浩、岩本 禎彦

(自治医科大学 法医学・人類遺伝学)

小峰 光博 (昭和大学藤が丘病院 内科血液)

[はじめに]

主要な血液型抗原の一つである Rh 抗原は、新生児溶血性貧血や不適合輸血の際の溶血性副作用の原因となると共に、温式自己免疫性溶血性貧血の主要な自己抗原として知られている。Rh 抗原を担っている Rh30 蛋白には非常に相同性の高い RHD と RHCE の 2 種類の蛋白があり、2 種類以上の Rh30 蛋白を持つ種はヒト、ゴリラ、チンパンジーしか知られていないことから、これらの共通祖先で遺伝子重複が起きたと考えられている。また、これらの遺伝子は第一染色体短腕上にタンデムに存在し、その領域には他に *SMP1* 遺伝子や、*rhesus box* と呼ばれる特徴的な塩基配列が存在していることが最近の知見として明らかになっている。このような *Rh30* 遺伝子座の構造に対して phylogenetical な観点から検討を加えるため、マウスのオーソログである *Rhced* 遺伝子座の構造を解析した。

[方 法]

マウスの BAC library から *Rhced* 遺伝子の exon 1 と exon 8 をプローブとして 2 個のクローンを選択し、ショットガン法、restriction enzyme mapping 法等を利用して塩基配列を決定し、得られた塩基配列を *RH30* 遺伝子と比較した。また周辺の領域について GENSCAN による遺伝子予測を行い、予測された塩基配列を BLAST search で処理することにより、データベース上の cDNA を検索した。このようにして得られた遺伝子について、マウスの脳、心臓、肺、胸腺、肝臓、脾臓、腎臓、膵臓、小腸、精巣、筋肉の各組織から mRNA を抽出し、発現分布を quantitative RT-PCR

により検討した。

[結 果]

約 159kb の塩基配列を決定した。*Rhced* と *RHCE* とのイントロン構成を比較すると、わずかにホモロジーを認める部位が散在していたが、明らかな転写調節のモチーフを見いだすことは出来なかった。

Rhced の 3' 側に、互いの 3' 側を向き合わせるようにして位置している遺伝子の存在が推測された。この遺伝子はヒト *SMP1* 遺伝子に高いホモロジーを持ち、ヒトと同様に 7 個のエクソンからなり、予測される open reading frame においても 85% のホモロジーが認められた。その下流約 6.2kb には、*rhesus box* に相当する配列は認められなかった。さらに *Rhced* 遺伝子の 5' 側約 52kb 上流に新たな遺伝子 (AK003528) が存在していることが推測された。この遺伝子の open reading frame の長さは 992bp で、5 個のエクソンからなり、水溶性蛋白であることが予測された。*Rhced*、*SMP1* オーソログならびに AK003528 遺伝子について組織発現分布を見ると、*Rhced* 遺伝子は脾臓のみに限局して発現しており、他の二つの遺伝子は比較的普遍的に発現していたが、*SMP1* オーソログでは肺、胸腺、脾臓、膵臓、精巣に、AK003528 遺伝子では精巣に比較的多く発現している傾向を認めた。(図 1)

[考 察]

マウス *Rhced* 遺伝子の 3' 側には *SMP1* のオーソログの存在が確認され、これらの位置関係はヒト *RHCE* の場合と同様であったが、*rhesus box* に相当する塩基配列は今回塩基配列が決定出来た範囲には存在していなかった。最近の研究によると、*RH30* 遺伝子座の構造は *RHD* と *RHCE* が互いの 3' 側を向き合うように存在し、その間は約 30kbp の距離があるとされている。*RHD* の両端には *rhesus box* と呼ばれる非常に相同性の高い塩基配列が存在している。また 3' 側の *rhesus box* と *RHCE* の間に *SMP1* 遺伝子が *RHCE* と互いの 3' 非翻訳領域の一部を重ねるようにして存在してい

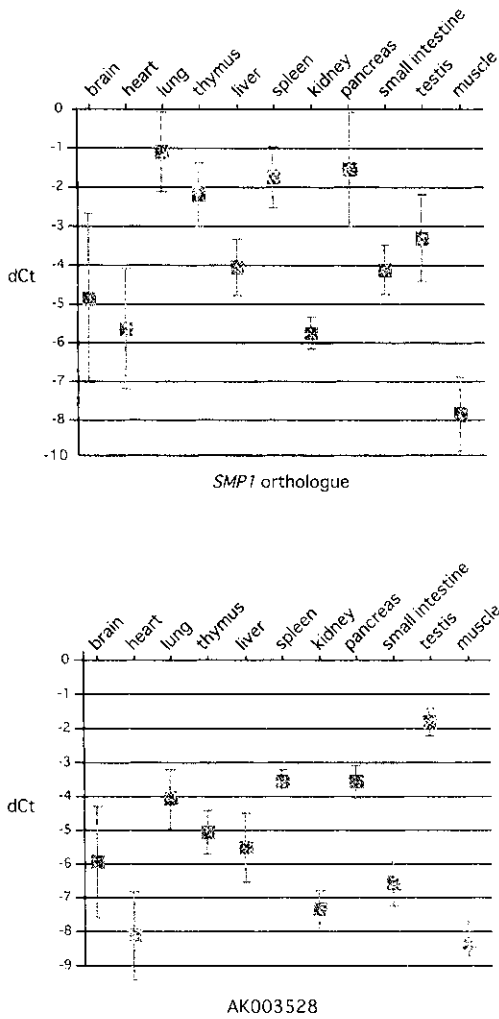


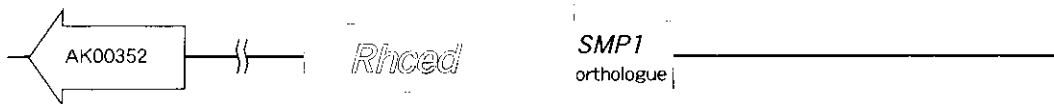
図1 SMP1 オースログと AK003528遺伝子のマウス各組織における発現量の比較 (dCt: GADPH を内部標準とした相対的発現量)

る。マウスの第4染色体長腕と、ヒトの第一染色体短腕との間に長い領域においてシテニーが存在することが知られており、今回の結果を併せると、マウス *Rhced* 遺伝子座の構造は図2の様になっていると推測される。*RHD* と *RHCE* 遺伝子は約800万年前に祖先遺伝子の重複により発生したと考えられているが、その重複を経ていない *Rhced* と *RHCE* とが染色体上の位置関係において類似していることから、*RHCE* 遺伝子がオリジナルの遺伝子であったと考えられた。今回新たに発見された *SMP1* のオースログと、*Rhced* の上流に存在する遺伝子 (AK003528) については、その機能などの詳細は不明であるが、ヒト *SMP1* 遺伝子については、*RHD* と *RHCE* 遺伝子の間に存在するという特徴的な位置関係から、この遺伝子の多型と Rh 血液型の多型との間に何らかの関連が存在する可能性が示唆されており、また AK003528 遺伝子についてはそのヒトオースログをマッピングすることにより、現在埋められていないゲノム地図のギャップの詳細を解明する一助になるものと考えられる。

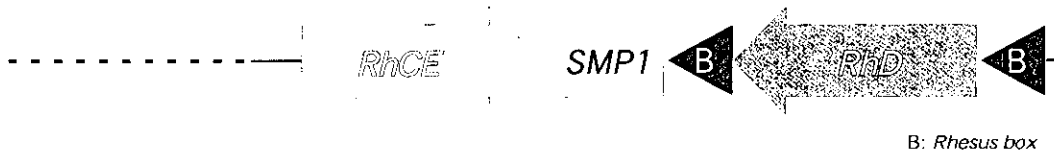
[文 献]

1. Iwamoto S, et al, Am J Hematol 68, 106, 2001
2. Liu Z, et al, Biochem Genet 37, 119, 1999
3. Wagner FF, et al, Blood 95, 3662, 2000

Rhced gene locus



RH gene locus



Wagner (2000)より一部改変し引用

図2 マウス *Rhced* 遺伝子および周辺領域の構造とヒト *Rh* 遺伝子との比較

発作性夜間血色素尿症患者における 臨床病歴と自然歴の日米比較調査

金倉 讓、西村 純一

(大阪大学医学部血液・腫瘍内科)

木下タロウ (大阪大学微生物病研究所免疫不全)

金丸 昭久 (近畿大学医学部第三内科)

小峰 光博 (昭和大学藤が丘病院内科血液)

[はじめに]

発作性夜間血色素尿症 (PNH) は、溶血、血栓、造血不全を主徴とする、クローナルな血液幹細胞性疾患である。GPI アンカー型蛋白欠損の責任遺伝子として PIG-A 遺伝子が単離され、報告されたほぼ全例で PNH 患者中に PIG-A 遺伝子変異が同定されている。しかしながら、症例ごとに症状の発現様式、程度は様々で、とりわけ欧米例とアジア例ではまったく様相を異にする。そこで、これらの相違を直接明らかにするために、Duke 大学と日本の385例について解析した。

[対象と方法]

1. 米国側調査

1966年より Duke 大学を受診し登録されている PNH患者のうち、十分な病歴の得られた176例について解析した。

2. 日本側調査

厚生省特発性造血障害に関する研究班関連施設より得られた調査票をもとに、十分な病歴の得られた209例について解析した。

[結 果]

Duke の176例中ほとんどが Caucasian (86.9%) であり、日本の209例全例が Asian であった。Duke はやや女性優位 (56.3%) であったのに対し、日本はやや男性優位 (56.5%) であった ($P=.01$)。診断確定年齢は、Duke が32.8才 (range: 4-80才)、日本が45.1才 (range: 10-86才) ($P<.0001$) であった。

先行病変として再生不良性貧血を伴う頻度は、

Duke に対して日本がやや高かったが (29.0% vs 37.8%, $P=.07$)、骨髓異形成症候群の頻度には差はなかった (5.1% vs 4.8%, $P=.NS$)。

診断時 (初発) 症状の頻度は、PNH の古典的の症状と考えられるヘモグロビン尿 (50.0% vs 33.5%, $P=.001$)、感染症 (13.6% vs 3.4%, $P=.0002$)、血栓症 (19.3% vs 6.2%, $P<.0001$) は Duke が有意に高かったが、造血不全症状と考えられる貧血 (88.1% vs 94.3%, $P=.03$)、白血球 (好中球) 減少 (45.5% vs 72.3%, $P<.0001$)、血小板減少 (52.3% vs 63.2%, $P=.03$) は日本が有意に高かった。診断時検査所見も同様に、溶血を反映する網状赤血球 ($195 \times 10^9/L$ vs $78 \times 10^9/L$, $P<.0001$)、LDH (2337 IU/L vs 1572 IU/L , $P=.1$) は Duke がより異常高値の傾向を示したのに対し、造血不全を反映するヘモグロビン (9.7 g/dL vs 8.2 g/dL , $P<.0001$)、白血球数 ($4948 \times 10^9/L$ vs $3475 \times 10^9/L$, $P<.0001$)、好中球数 ($3005 \times 10^9/L$ vs $1782 \times 10^9/L$, $P<.0001$)、血小板数 ($140 \times 10^9/L$ vs $96 \times 10^9/L$, $P<.0001$) は日本がより異常低値の傾向を示した。

経過中の合併症としては、造血不全の頻度に差はなかったものの (33.0% vs 36.4%, $P=.NS$)、PNH の古典的の症状である血栓症 (31.8% vs 4.3%, $P<.0001$)、感染症 (18.2% vs 9.1%, $P=.009$) は有意に Duke に多かった。PNH 患者では妊娠すると血栓傾向が強まるので、一般的には推奨されないが、5人のDuke患者が6人の子供を、8人の日本人患者が14人の子供を無事出産した。妊娠経過中に血栓症を合併した症例は、Duke 4例、日本1例で、致死的な合併症にはいたらなかった。治療に関しては、経過中に治療を必要としなかった症例は日本に有意に多かった (5.7% vs 28.2%, $P<.0001$)。また、4例のDuke患者 (2.3%) と10例の日本人患者 (4.8%) が、自然寛解にいたった ($P=.NS$)。

最終的に死亡した患者数には差はなかったが (21.7% vs 21.2%, $P=.NS$)、その原因は大きく異なっており、血栓症は有意に Duke に多かった (41.7% vs 7.9%, $P=.0007$)。平均生存期間は、Duke の19.4年に対し日本が32.1年と長かったが、

Kaplan-Meier の生存曲線に有意な差はなかった ($P=0.7$)。最後に予後に影響を与える因子について検討したところ、診断時年齢50才以上 ($P<0.0001$ vs $P<0.0001$)、診断時重度白血球 (好中球) 減少 ($P<0.0001$ vs $P<0.0001$)、感染症合併 ($P=0.03$ vs $P=0.0007$) が2群に共通した予後不良因子であった。また、診断時血栓症 ($P=0.007$ vs $P=0.2$)、血栓症合併 ($P=0.004$ vs $P=0.052$) は Duke にのみ有意な予後不良因子であった。

[考察・結論]

以上をまとめると、欧米例は従来より指摘されている血栓症のみならずヘモグロビン尿や感染症といったPNHの古典的症候群を特徴とし、診断も比較的早期につくものと思われた。一方、アジア

例は造血不全症候群が主体であるために、診断も遅れる傾向にあるものと思われた。また、欧米例は血栓症を伴う例では圧倒的に予後が悪いが、アジア例でも診断が遅れるために診断時高齢者が多く、結果として診断後生存期間にはあまり差がないものと思われた。これらの結果は、欧米-アジア間の臨床像の違いを直接明らかにするとともに、骨髄移植や遺伝子治療など侵襲の強い治療の適応となる症例を見きわめるのに役立つものと思われる。

[文 献]

1. Nishimura. J, et al, Am. J. Hematol, 62, 175, 1999
2. Hillmen. P, et al, N. Engl. J. Med, 333, 1253, 1995
3. Socie. G, et al, Lancet, 31, 573, 1996

発作性夜間血色素尿症における異常クローンの拡大メカニズムに関する研究

木下タロウ、泉井 朋久、桑山 真輝、
西村 純一、待井 隆志、金倉 譲
井上 徳光

(大阪大学・微生物病研究所・免疫不全)

(大阪大学大学院・医学系研究科・血液・腫瘍内科)

(大阪府立成人病センター・研究所・分子遺伝)

【はじめに】

発作性夜間血色素尿症 (PNH) では、PIG-A 遺伝子に変異したクローンが拡大している。PNH と再生不良性貧血が合併することより、拡大メカニズムに免疫学的機序が深く関わっている可能性が指摘されている (文献 1、2)。しかし、末梢血のほとんどを異常細胞が占めてしまうような PNH では、免疫学的機序に加え、GPI アンカー欠損細胞自身に第 2 の異常が起こり良性腫瘍的に拡大している可能性も考えられる。

以前我々は、PNH クローンにだけ染色体異常を持つ症例を報告した (文献 3)。この染色体異常がクローン性拡大に寄与している可能性を考え、異常を塩基レベルで決定した。

【対象・方法】

PNH クローンにだけ染色体異常を持つ症例 (文献 3) の異常単球からハイブリドーマを作成し、染色体異常を塩基レベルで解析した。

【結 果】

本症例の染色体異常は、顕微鏡的観察から 12 番染色体間の相互転座 46XX, t(12; 12)(q13; q15) であると報告していた (文献 3)。患者単球とマウスミエローマのハイブリドーマを確立し、それらを多型マーカーを利用して解析し、長い 12 番染色体のみを持つ株と短い 12 番染色体のみを持つ株を得た (図 1)。

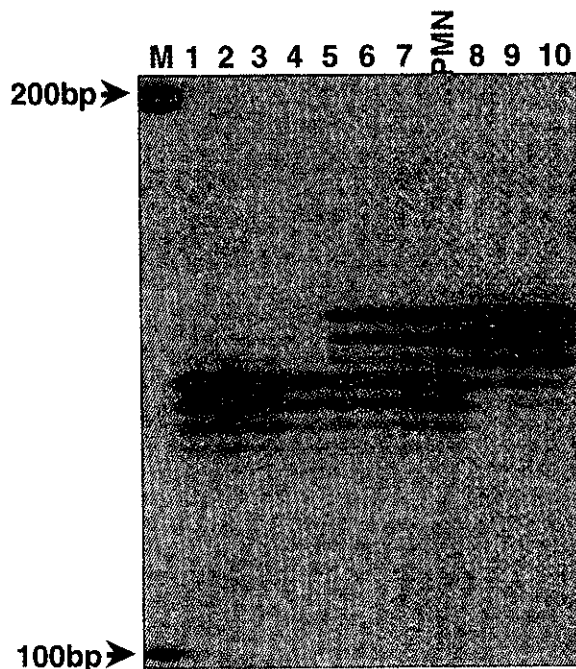


図 1 患者単球とマウスミエローマの融合により樹立したハイブリドーマの多型マーカー D12S77 による解析。レーン 1-10、ハイブリドーマの株 1-10; PMN、患者由来の多形核白血球; M、サイズマーカー。1-4 株は短い 12 番染色体のみを持ち、8-10 株は長い 12 番染色体のみを持つ。

これらの細胞株の DNA を用い、STS マーカーを利用して切断部位を絞り込み、inverse PCR で切断点を含む部分をクローニングし、最終的に PCR やサザンブロットイングにより切断点を確認した。その結果、顕微鏡レベルの解析では 12 番染色体間の相互転座であると思われた異常は、一方の 12 番染色体の q13-q15 領域が他方の q15 領域へ挿入された結果であり、46XX, ins(12; 12)(q15; q13q15) と表されるべきものであった。

さらに、q13-q15 領域の挿入によって q15 領域に存在する HMGI-C 遺伝子が 3' UTR 内で分断されていることがわかった。

【考察・結論】

HMGI-C は、AT リッチな DNA に結合して他の転写因子と共同して転写制御に働くタンパク質の遺伝子で、胎児期に発現している。HMGI-C が成人で異所性に発現すると、脂肪腫や平滑筋腫を起すことが知られている (文献 4)。3' UTR の

切断は、異所性発現を起こすことが知られており、本症例で見られた異常も異所性発現を起こす可能性が高い。その結果、PIG-A の変異を持つクローンが拡大したことが考えられた。

[文 献]

1. Rotoli B, Luzzatto L. *Baillieres Clin Haematol*, 2, 113, 1989
2. Young N S, *Blood* 79, 1385, 1992
3. Nishimura J, et al, *Am J Hematol*, 51, 229, 1996
4. Ashar H R, *Cell* 82, 57, 1995

慢性特発性骨髄線維症に併発した
発作性夜間ヘモグロビン尿症

小峰 光博、原田 浩史、森 啓
新倉 春男 (昭和大学藤が丘病院・内科血液)

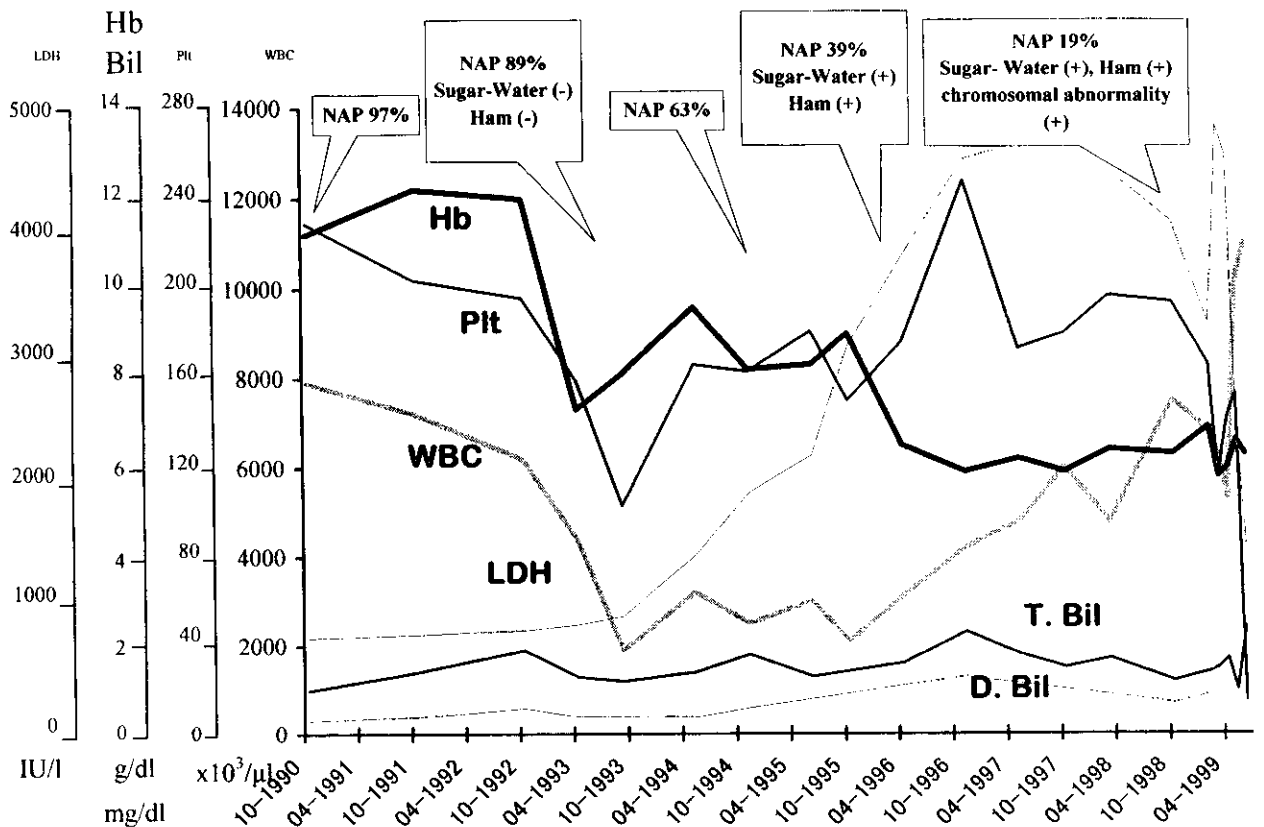
[はじめに]

慢性特発性骨髄線維症 (chronic idiopathic myelofibrosis, CIMF) は、1) 瀰漫性の骨髄線維化と硬化、2) 髓外造血による巨大な肝脾腫、3) leukoerythroblastic anemia を主徴とする慢性進行性疾患である。CIMF の病因は依然として明らかではないが異常な多能性幹細胞のクローン性増殖が観察されている。

発作性夜間ヘモグロビン尿症 (Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH) は GPI アンカータンパクの欠損したクローンの増加による後天性溶血性貧血である。PNH では再生不良性貧血や他の血液疾患の合併が時に見られることが知られている。しかし、PNH を合併した CIMF の報告は必ずしも多くない。我々は経過中に PNH を合併した CIMF の 2 例を経験したので報告する。

[症 例]

[症例 1]

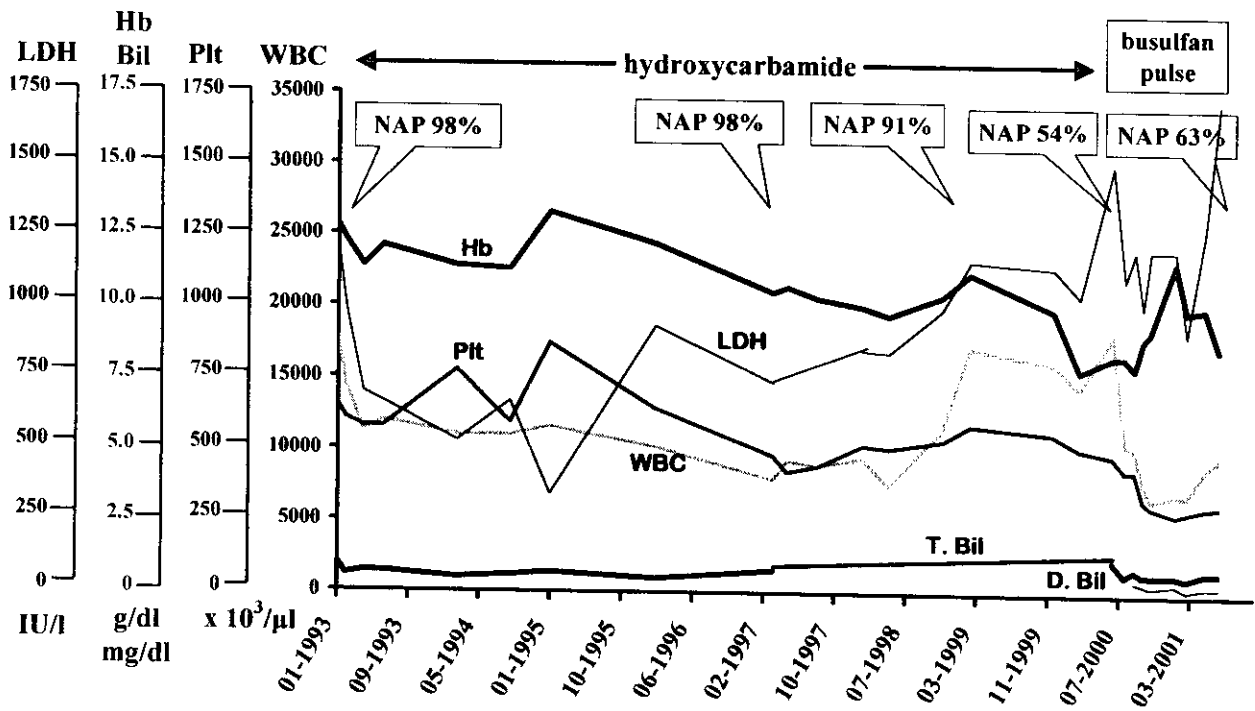


60歳男性。胃潰瘍術後の観察中の1990年8月にLDH高値・末梢血への芽球出現を指摘され当院紹介受診した。初診時著明な肝脾腫(肋弓下に肝6cm、脾10cm)を触知し、血液検査上leukoerythroblastic anemiaを認め、骨髄生検は定型的な骨髄線維化像を示した。testosteroneの投与により当初は反応を認めたが、しだいに貧血が進行し輸血が必要となった。1993年6月好中球アルカリフォスファターゼ(NAP)陽性率は89%でHam試験および蔗糖水試験はともに陰性であった。1995年12月、貧血に対してbusulfanパルス療法を開始したところ貧血の改善傾向が得られた。このときNAP陽性率が39%に低下を認めた。フローサイトメトリー法(FCM)で末梢赤血球および多形核白血球でCD55/CD59の発現を検査すると欠損分画がみられ、Ham試験および砂糖水試験も陽性であることから、PNHの合併と診断した。PNH診断当初は明らかな溶血発作は生じなかったが、1996年頃より輸血頻度が増し、ときに溶血があり、脾腫の進行を認めた。1998年脾腫による圧迫症状改善のために放射線照射を行ったが、効果は一過性であった。このとき末梢血染色体検査で染色体異常(46,XY,del(5)(q?31),add(18)(q23))が検出された。末梢血中のCD55/CD59クローンの割合は経時的に増加し、しだいに臨床的に持続的な溶血を認めるようになった。1999年7月に肝不全のため死亡した。

[症例 2]

51歳男性。1993年1月腹満のため近医受診し、巨大な肝脾腫（それぞれ肋弓下6cm）を認めた。末梢血所見では白血球および血小板の増加と軽度貧血がみられ、NAP陽性率は98%で、骨髓生検で著明な骨髓線維化を認めた。CIMFと診断されhydroxycarbamideの投与を受けた。1999年2月頃より脾腫と貧血が進行し、頻回の輸血が必要となった。心不全合併もあり同年6月当院受診した。この時、肋弓下に肝6cm、脾16cm触知した。NAP

陽性率は54%と低下し、FCMでCD55/CD59陰性クローンの出現を認めた。Ham試験は陰性であったが、蔗糖水試験では陽性であった。これらの結果よりPNH合併CIMFと診断した。貧血に対してbusulfanパルス療法を行ったところ貧血の改善と脾の縮小が得られ、外来管理となった。2001年8月にイレウスを生じ入院となったが、このとき一時的な溶血発作を認めた。この頃よりbusulfanパルス療法の効果が乏しくなり、metenolone投与に変更し経過観察中である。



[考 案]

PNHはPIG-A遺伝子の体細胞変異のため生じるクローン性血液疾患である¹⁾。CIMFは慢性骨髓増殖性疾患の一つであり、クローン性血液疾患に属する²⁾。

再生不良性貧血の一部にPNHが合併することはよく知られている。しかし、CIMFにPNHが合併する例の報告は多くない³⁾。Hansenらは10例の骨髓線維症患者のうち2例にPNHの症状と兆候を認め、1例に蔗糖溶血試験陽性を認めている⁴⁾。Chi-yenらは原発性骨髓線維症患者の54%に赤血球膜のPNH様欠損を報告している⁵⁾。

我々はCIMFにPNHを合併した2例を経験した。2例ともはじめにCIMFと診断されていたが、経過中にPNHを発症した。PNHクローンは各種血液細胞にみられ、経時的にその割合が増加し、CD34陽性細胞ではPNHクローンが大半を占め

た。CIMFにPNHが合併する機序は明らかではないが、以上のことよりCIMFからPNHが合併する際にはclonal evolutionが生じるものと想像される。さらに、症例1ではPNH合併後に染色体異常が検出されており、さらなる変異が生じたものと思われる。

[文 献]

1. Takeda J, et al, Cell 73, 703, 1993
2. Lebowitz P et al, Blood (suppl. 1) 76, 236a, 1990
3. Damshek W, et al, Arch Int Med 99, 202, 1957
4. Hansen NB, et al, Blood 36, 428, 1970
5. Chi-yen Kuo, et al, Blood, 40, 875, 1972
6. Lewis SM, et al, Scand J Haemat 8, 451, 1971
7. 平井博子, 他 臨床血液 14, 805, 1973
8. Almquist A et al, Acta Med Scand 209, 133, 1981

Genotype と Phenotype から見た我が国の 遺伝性球状赤血球症の特徴

八幡 義人 (川崎医療短期大学)
中西 秀和、八幡 愛弓、賀来万由美
山田 治、杉原 尚
(川崎医科大学 血液内科)

[はじめに]

赤血球膜異常症自験605家系1014症例の中から、遺伝性球状赤血球症 (HS) を選び、その病因としての赤血球膜蛋白質関連遺伝子変異 (genotype) の検索を通じて、疾患病態としての phenotype との整合性を検討し、遺伝子解析の臨床的意義を明らかにした。

[対象と方法]

病因としての赤血球膜蛋白質 (band 3:B3、ankyrin:Ank、protein 4.2:P4.2) の定量およびその関連遺伝子 (それぞれ EPB3、ANK1、ELB42) の検索を行った。まず、B3に関しては、本邦 HS60家系79症例について検索し、Ank に関しては、本邦 HS63家系67症例について検討した。P4.2に関しては、605家系1014症例の自験赤血球膜異常症のうち、完全欠損症を呈した17家系23症例について検索した。

[成 績]

1. 病因としての EPB3 変異：

Frameshift 変異 3 種、splicing 変異 1 種、missense 変異 8 種、計12種が同定され、このうち既報の 2 種 (B3 Prague、B3 Philadelphia) を除いた10種が日本人に固有の変異であった。また、frameshift 変異は、主として N 末端側に、missense 変異は C 末端側に多く認められた。これらの EPB3 変異の認められた HS 症例では全例、膜蛋白質としての B3 減量が認められ、genotype と phenotype との整合性はきわめて高い事が判明した。これらの EPB3 変異は、常染色体優性遺伝 (AD) HS (5 家系) にも孤発例 (6 家系) にも認

められ、いずれも heterozygote として発症していた。Homozygote は常染色体劣性遺伝 (AR) HS (1 家系) に認められた。これらの変異 allele (heterozygous) は mRNA レベルでは発現しておらず、存在する膜蛋白質 B3 は全て、対応する正常 EPB3 allele に由来することになり、その代償能は約70-80%と推定される。

2. 病因としての ANK1 変異：

Frameshift 変異 9 種、nonsense 変異 4 種、splicing 変異 6 種、計19種が同定され、これらは全て日本人固有の変異と判明した。欧米での既報変異は我が国の HS では全く認められなかった。これらの ANK1 変異は ANK1 遺伝子全域に亘っており、いわゆる “hot spot” は存在せず、また、C 末端側の regulatory domain 領域には変異は認められなかった。臨床的には、ANK1 変異は AD 型 HS 7 家系、non-AD 型 HS 7 家系、de novo 型 HS 6 家系に同定され、proband は全て heterozygote であった。注目される点は、これらの ANK1 変異症例では、genotype としての遺伝子変異が frameshift 変異や nonsense 変異などの重篤な変異であるにも関わらず、膜蛋白質としての Ank 量は全く正常であり、genotype と phenotype との間に明らかな乖離が認められた。この場合も、変異 allele は発現しておらず、存在する Ank 蛋白質は、対応する正常 allele 由来ということになる。しかし、B3 の場合と異なり、その膜蛋白質は減少を呈さず、ほぼ正常であった。その説明としては、本症に存在する reticulocytosis が考えられる。幼若赤血球では、正常成熟赤血球に比較して、Ank 量は増加していることが知られているが、これによる見かけ上の代償とも考えられる。しかし、いずれにしても、患者赤血球には正常量の Ank 蛋白質が存在しているのに、何故、著しい溶血を生ずる事になるのかは、猶、今後の課題であろう。

3. 我が国の HS 症例における ANK1 および EPB3 変異症例の臨床像の特徴：

ANK1 変異症例では、Hb 値 9.1 ± 1.8 g/dl、網赤血球比率 $15.1 \pm 6.5\%$ と、EPB3 変異症例のそれぞれ 12.1 ± 1.2 g/dl、 $9.0 \pm 5.2\%$ と比較して臨床像は明らかに重篤 ($p < 0.01$) であった。この場合、

表1 我が国の遺伝性球状赤血球症自験例における膜蛋白質関連遺伝子変異

遺伝子	変異名	部位	変異	変異型	遺伝形式
(1) EPB3変異	B3 Kagoshima	E4 (C56)	AAG→AG	F	De novo-HT
	B3 Fukuyama I	E5 (C112-113)	-AG or -GA	F	AD-HT
	B3 Fukuoka	E5 (C130)	GGA→AGA (G130R)	M	AR-HM
	B3 Fukuyama II	E7 (C183)	GAT→GAAT	F	AD-HT
	B3 Yamagata	E12 (C455)	GGG→AGG (G455R)	M	De novo-HT
	B3 Okinawa	E17 (C714)	GGG→AGG (G714R)	M	AD-CH
	B3 Tochigi I	E17 (C760)	CGG→TGG (R760W)	M	De novo-HT
	B3 Tochigi II	I16	-A	S	De novo-HT
	B3 Prague II (=B3 Kumamoto)	E17 (C760)	CGG→CAG (R760Q)	M	AD-HT
	B3 Nara	E18 (C808)	CGC→CAC (R808H)	M	De novo-HT
	B3 Nagoya	E19 (C837)	ACG→AGG (T837R)	M	AD-HT
	B3 Philadelphia	E19 (C837)	ACG→ATG (T837M)	M	De novo-HT
	(2) ANK1変異	Ank Chiba II	E1 (C2-5)	CCCTATTCTGTG→TG	F
Ank Nara		I1	AAgIga→AAgIga	S	AD-HT
Ank Saitama		E5 (C111or112)	GGTTTT→GGTTTT	F	Non-AD-HT
Ank Shiga		I5	AAgtaag→AAgtaaag	S	Non-AD-HT
Ank Tokyo II		E6 (C187-190)	CGCACGGCTGCG→CG	F	De novo-HT
Ank Kyoto		I8	AGgtggg→AGgtggc	S	AD-HT
Ank Tokyo III		E16 (C571~573)	ACCCCCCTG→ACCCCCCTG	F	De novo-HT
Ank Aichi		E16 (C592-593)	CGGGCGG→CGGG	F	De novo-HT
Ank Osaka II		E17 (C612)	CAG→TAG	N	De novo-HT
Ank Osaka I		E17 (C637)	ACG→ACCG	F	Non-AD-HT
Ank Kagoshima		E22 (C798-799)	GTCAGT→GT	F	AD-HT
Ank Yamanashi		E22 (C798-799)	GTCAGT→GT	F	De novo-HT
Ank Yamagata		I22	AGgt→AGct	S	Non-AD-HT
Ank Mie		E26 (C951-953)	TGCCGCCTG→TTCTGG	F	De novo-HT
Ank Chiba I		I28	AGgt→AGct	S	Non-AD-HT
Ank Chiba III		E31 (C1230)	TAC→TAG	N	Non-AD-HT
Ank Tokyo I		E31 (C1252)	CGA→TGA	N	AD-HT
Ank Chiba IV		E36 (C1437)	GTG→TG	F	Non-AD-HT
Ank Okayama		I36	agTG→aaTG	S	AD-HT
Ank Toyama		E38 (C1640)	CAG→TAG	N	AD-HT
(3) ELB42変異		P4.2 Nippon	E3 (C142)	GCT→ACT (A142T)	M
	P4.2 Komatsu	E4 (C175)	GAT→TAT (D175Y)	M	AR-HM
	P4.2 Shiga	E7 (C317)	CGC→TGC (R317C)	M	AR-CH

Exon, I:intron, C:codon, F:frameshift mutation, M:missense mutation, S:splicing mutation, N:nonsense mutation, AD:autosomal dominant, AR:autosomal recessive, HT:heterozygote, HM:homozygote, CH:compound heterozygote

(2002.1.14 現在 川崎医科大学)

ANK1 変異 HS 20発端者では、摘脾例は僅か1症例のみで、他は全て未摘脾例であった。

4. 病因としての ELB42変異：

本遺伝子変異（本邦例5種；自験3種）の場合には、全て P4.2の完全欠損症の形をとり、ELB42の missense 変異を主体とした AR 型のhomozygote（または compound heterozygote）として発症していた。変異が1 allele のみの場合（heterozygote）には、P4.2量は正常で、臨床的には無症状であった（表1）。

[考 察]

本研究班各位の多大のご協力によって、本邦における赤血球膜異常症、特にその代表ともいえる遺伝性球状赤血球症の病因と病態の特徴が明らかとなった。欧米諸国における HS 症例の成績では、

その病因の相対的頻度が ANK1 変異約60%、EPB3 変異約30%、その他約10%と報告されているのに対して、我が国では ANK1 変異約30%、EPB3 変異約30%、その他約40%と、明らかな相違が認められる。また、臨床的にも、我が国の HS では、その重篤度が欧米諸国と比較して、軽いと推定されているのは、おそらく ANK1 変異の頻度が低いためとも考えられる。更に、我が国では、この ANK1 変異症例のみの集団の中でも、摘脾症例は僅か5-10%にすぎないことを考え合わせると、未知の複雑な要因が介在している可能性が高い。また、ELB42変異は、ほとんど本邦に特異的ともいえる遺伝子変異であり、しかも A142T (Nippon Type) にその異常の9割が集中して認められる点は、病態理解に重要であり、P4.2蛋白質の機能解明が急務であろう。

Ⅲ 不応性貧血

低リスク MDS に対するシクロスポリン療法の有効性に関する多施設共同研究

内山 卓、石川 隆之

(京都大学血液病態学)

通山 薫 (京都大学臨床病態検査学)

【研究要旨】

低リスク MDS に対するシクロスポリン療法の安全性、有効性についての多施設共同研究を本年 5 月 1 日より開始した。各施設の審査委員会にて臨床試験、ヒト遺伝子解析の双方について承認を得た後、診断確定後 1 年以内で IPSS で Low または Int-1 のカテゴリーに合致する MDS 症例を、患者の同意取得後に登録する。その際には有害事象に関して十分な説明が必要である。ネオーラル® 4 mg/kg/日、32週分を事務局より発送する。血液学的反応は Cheson らの基準に従い、24週後に反応がある場合さらに 8 週間投与継続して効果持続性を見る。血球回復効果、有害事象発生率、生存期間の評価に加えて、作用機序の検討として造血のクロナリティ、TCR レパトア、PNH 顆粒球の解析を治療前後に行う。特定の HLA と治療反応性との関連も調べる。平成15年 4 月までの 2 年間で 50 名登録を目標とし、追跡期間は各々 3 年間とする。

【目 的】

低リスク MDS 患者を対象に、シクロスポリン療法による血球回復効果の検討をおこなう。あわせて効果の持続性、本治療の耐容性、有害反応の有無を検討する (治療研究)。さらに本薬剤の作用機序および薬物感受性に関する遺伝子学的解析を含めた検討を行う (シクロスポリンの作用機序および薬物感受性に関する基礎的研究)。

【対 象】

対象は年齢 18 才以上 70 才以下で、厚生省特発性造血障害調査研究班による診断基準を満たし、診断確定後 1 年以内の MDS で、IPSS で Low もし

くは Int-1 のカテゴリーに合致する症例とし、ヒト遺伝子研究の審議を含めた施設内審査委員会および患者の同意が得られた症例に限る。主要臓器障害や活動性感染症のある症例、悪性腫瘍を有する (既往を含む) 症例や免疫抑制剤投与症例、前治療の影響があると判断された症例は除外する。

【研究方法】

オープンスタディで FAX による中央登録方式とする (事務局は京都大学血液病態学におく)。試験薬剤シクロスポリン (ネオーラル®) はメーカーより提供され、事務局を通じて供給される。本薬剤内服 4 mg/kg/day で開始し、目標血中濃度 (トラフ値 150-200 ng/ml) を維持しつつ 24 週間投与する。観察・検査項目としては臨床所見・輸血状況、一般臨床検査・血液学的検査項目に加えて、HUMARA 法によるクロナリティ解析 (東海大学第四内科)、HLA-DNA タイピング (HLA 研究所)、TCR レパトア検査 (塩野義製薬創薬研究所)、PNH 顆粒球の検索 (金沢大学第三内科) を予定している。24 週後の時点で International Working Group の提唱する基準 (Cheson, et al: Blood, 2000) に従って効果判定を行う。minor response 以上の場合に限りさらに 8 週間継続投与を行い、再度効果を判定する。これを primary endpoint とする。32 週以降の後治療は自由とする。secondary endpoint としては、有害事象発生率 (NCI-CTC に基づく)・治療遂行率、血液学的改善効果の持続性、progression free survival・生存期間の検討を予定している。さらに遺伝子解析等により有効性に関する基礎的評価を予定している。各項目に応じて適切な統計学的解析を行う。

登録期間 2 年間で 50 名の登録を目標とし、追跡期間は各々 3 年間とする。なお当初の 25 例について安全性の中間評価を行い、病型移行のリスクやその他重大な問題点の有無につき協議する。

以上が今回開始した多施設共同臨床研究計画の骨子である。なお本試験に係る医療補償問題への対応としては、製剤自体の問題については PL 法で、服用による有害事象に対しては事前の十分な説明と同意を得ること、並びに各施設毎に医師賠

償保険に加入しておくことで対処する方針である。

[文 献]

1. Molldrem JJ, et al, Br J Haematol 99, 699, 1997
2. Jonasova A, et al, Br J Haematol 100, 304, 1998
3. Catalano L, et al, Hematologica 85, 133, 2000
4. Cheson BD, et al, Blood 96, 3671, 2000
5. Barret AJ, et al, Hematology 2000, 117, 2000

骨髓異形成症候群のシクロスポリン療法に
関する多施設調査

大屋敷一馬*、嶋本 隆司*、岡本 隆弘、
通山 薫、内山 卓、森 弘行、
朝長万左男、浅野 嘉延、仁保 喜之、
寺村 正尚、溝口 秀昭、小峰 光博

(*東京医科大学内科第一講座)

[はじめに]

骨髓異形成症候群 (MDS) は末梢血での汎血球減少と骨髓での3血球系の形態異常を示し、造血幹細胞のクローン性の異常が疾患の本態であると考えられている。しかし、一方で、MDS患者は自己免疫疾患をまれならず合併することや、免疫検査異常を高頻度に伴うことが報告されており、造血幹細胞を取り巻く骨髓内の免疫環境にも異常があることが報告されている。臨床的にも種々の免疫抑制療法が試みられており、一部の症例ではステロイドホルモンや ATG 療法の有効性が報告されている。Jonasova らは MDS 17例に対し、シクロスポリン (CyA) を使用し、14例 (82%) での血液学的改善というきわめて高い有効性を報告している。このような状況のなか、特に低悪性度群の MDS を対象とした CyA 治療の多施設臨床研究の必要性が高まりつつある。そこで今回、CyA 療法の prospective trial に向けての前段階として、すでに CyA を投与された MDS 症例を対象に実態調査を行い、有効性の有無、副作用の有無、至適投与量、効果発現までの期間、有効例の臨症像などに関して多施設アンケート調査を行った。

[対象と方法]

厚生労働省科学研究『特発性造血障害に関する研究班』の参加施設を中心とした全国15施設 (表1) に対して、CyA 投与を行った MDS 患者を対象とするアンケート調査表を送付した。15施設より計53症例の登録が行われた。うち2例は副作用のため1ヵ月以内に CyA 投与が中止され、また

表1 症例登録施設

施設名	症例数
岩手医大第3内科	1
金沢大学第3内科	1
獨協医大血液内科	4
自治医大血液科	2
埼玉医大第1内科	2
東京大学血液・腫瘍内科	1
東京医大第1内科	4
東京女子医大血液内科	5
日本医大第3内科	1
NTT 東日本関東病院血液内科	2
京都大学第1内科	1
兵庫医大第2内科	12
広島大学原研内科	1
九州大学第1内科	5
長崎大学原研内科	11

表2 MDS 50症例の患者背景

年齢：19～78歳 (中央値 55歳)

男/女：32/18

CyA 治療開始時の病型

RA	47
RARS	1
RAEB	2

1例は CyA 投与量が25mgときわめて低用量のため「評価不能」と回答された。したがって、この3例は対象外とし、計50症例についての評価を行った。対象患者の年齢、性別、病型は表2に示す通りである。年齢は、19-78歳で中央値が55歳、男女比は32/18、病型は RA 47例、RARS 1例、RAEB 2例であった。また CyA の投与経路に関し

では、全症例が経口投与、投与量は 2-6mg/kg (平均4.58mg/kg)、血中濃度は49.5-386ng/ml (平均163.7ng/ml)であった(表3)。統計解析は log-rank test および χ -square test を用い、 $p < 0.05$ を有意とした。

表3 MDS における CyA 治療の実際

CyA 投与量：2~6 mg/kg (平均 4.58 mg/kg)
 CyA 血中濃度：49.5~386 ng/ml (平均 163.7 ng/ml)
 投与開始から効果発現までの期間：
 0.5~4.0 ヶ月 (平均 1.76 ヶ月)

[結 果]

MDS 50症例において、著効例7例を含む計27例(54%)でCyA投与による血液学的改善効果が報告された(図1)。しかしながらRARSの1例とRAEBの2例はいずれも無効であった。また、効果の認められた症例のうち5例では、その後に血球減少が悪化しており、効果維持症例は22例(44%)であり、長期的な観察が必要と考えられた。CyA投与量は2-6 mg/kg (平均4.58 mg/kg)であり、また血中濃度は49.5-386 ng/ml (平均163.7 ng/ml)であった。有効例と無効例の間で投与量、血中濃度に有意差はなかった。また、CyA投与開始から効果発現までの期間は2週間から4ヶ月(平均1.76ヶ月)であり、ある一定期間の継続投与の必要性が示唆された(表3)。50症例中23例ではプレドニゾロン、酢酸メテノロン等を併用しており、併用例での有効例は16例(69.6%)と

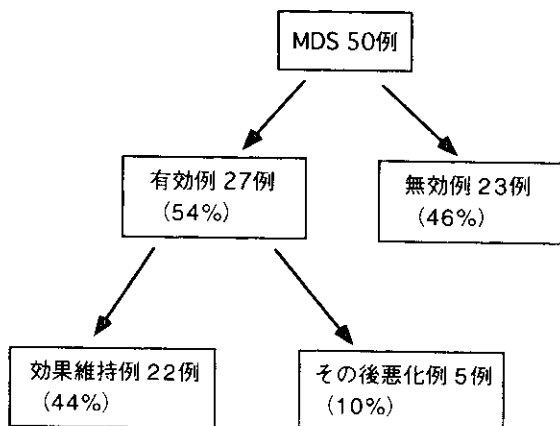


図1 MDS における CyA 治療の反応性

高率であった(表4)。しかし、そのうち4例では、その後に血液学的悪化をきたし、効果維持症例は12例(52.2%)であった。一方、残りの27例はCyA単独で治療を行っており、そのうち11例(40.7%)が有効であった。また、単独で効果のあった症例では、そのほとんど(10例、37.0%)で効果が維持されていた。

表4 CyA 単独療法と併用療法の比較

	CyA 単独 (27例)	併用療法 (23例)
有効例	11例 (40.7%)	16例 (69.6%)
効果維持	10例 (37.0%)	12例 (52.2%)
その後悪化	1例 (3.7%)	4例 (17.4%)
無効例	16例 (59.3%)	7例 (30.4%)

併用療法は主にプレドニゾロンもしくは酢酸メテノロンを使用。

副作用は、回答された53例中、11例で認めた(表5)。2例では副作用のため、早期に中止となったが、他は継続可能であった。最も多い副作用は腎障害(9例)であり、また1例では白血化を認めた。

表5 CyA 治療による副作用(回答53症例)

腎障害	9例 (1例で中止)
肝障害	1例
心不全	1例 (中止)
AML への移行	1例 (中止)
その他、軽度のもの	2例

有効例と無効例の平均年齢は各々58.1歳と51.2歳で有意差はなかった(表6)。しかし、患者を45歳以上と45歳未満に分類した場合、有効率は各々62.5%と37.5%であり、興味深いことに45歳以上の高齢者で有意に反応良好であった(表6)。染色体異常を伴うMDSと正常核型のMDSでは有効率は各々47.1%と59.4%で正常核型のMDSで反応良好の傾向があったが、統計的有意差はな

表6 MDSにおけるCyA治療の反応性と臨床像との関係

	有効群 (n = 27)	無効群 (n = 23)	p-value
年齢 (歳)	58.3±11.4	51.2±19.5	0.120
45歳以上	25 (62.5%)	15 (37.5%)	
45歳未満	2 (20.0%)	8 (80.0%)	0.015*
性別 (男/女)	17/10	15/8	0.869
WBC (10 ⁹ /l)	38.6±43.4	27.9±11.6	0.264
Hb (g/l)	73.4±24.4	74.0±16.5	0.922
PLT (10 ¹⁰ /l)	60.0±80.4	65.0±92.0	0.838
Rc (10 ⁹ /l)	42.3±27.7	35.6±16.5	0.367
BM cellularity			
hypocellular (n)	6 (60.0%)	4 (40.0%)	
normocellular (n)	13 (52.0%)	12 (48.0%)	
hypercellular (n)	8 (61.5%)	5 (38.5%)	0.388
BM blasts (%)	1.6±1.1	1.9±1.6	0.447
BM erythroblasts (%)	34.1±18.0	32.7±15.3	0.793
染色体			
正常 (n)	19 (59.4%)	13 (40.6%)	
異常 (n)	8 (47.1%)	9 (52.9%)	0.409
輸血依存性			
あり (n)	16 (45.7%)	19 (54.35%)	
なし (n)	11 (73.3%)	4 (26.7%)	0.072
HLA typing			
DRB1-1501 (n)	8 (66.7%)	3 (33.3%)	
その他 (n)	1 (11.1%)	8 (88.9%)	0.006**

WBC, white blood cell count; BM, bone marrow.

Differences are calculated with chi-test for categorical data and Wilcoxon rank-sum test for continuous data. *P < .05. **p < .01.

かった (表6)。輸血依存性のMDSと輸血非依存性のMDSでは有効率は各々45.7%と73.3%で輸血非依存性のMDSで反応良好の傾向があったが、統計的有意差はなかった (表6)。HLA DRB1-1501を持つ症例は他のHLA typingの症例に比し、有意に反応性良好であった (66.7% vs 11.1%) が、これら8例の有効例のうち3例はその後血液像の悪化をきたし、一時的な効果であった (表6)。

[考案・結論]

MDS 50例中、27例でCyA投与による血液学的改善が認められた。特にプレドニゾロンやプリモボランとの併用により効果は増強すると考えられた。CyA投与による副作用は約20%に認められ、腎障害が主であったが、ほとんどの症例は継続投

与が可能であった。CyA治療は特に高齢者、染色体正常核型、輸血非依存性の症例で高い有効率が認められた。HLA DRB1-1501を持つ症例ではCyA治療の高い有効率が確認されたが、その効果は一過性のことも多く、注意が必要である。これらのデータをもとに今後、大規模なprospective studyが必要と考えられる。

[文 献]

1. Okamoto T, et al, Int J Hematol 66, 345, 1997
2. Biesma H D, et al, Cancer 79, 1548, 1997
3. Jonasova A, et al, Br J Haematol 100, 304, 1998
4. Shimamoto T, et al, Br J Haematol 114, 358, 2001

MDS に対するシクロスポリン療法の
有効性の長期持続に関する検討

朝長万左男、測上 健吾、井上 順子、
陣内 逸郎（長崎大学医学部原研内科）
松尾 辰樹（長崎大学医学部附属病院輸血部）

【はじめに】

当科では、以前より骨髓異形成症候群（MDS）に対する免疫抑制療法に取り組んでおり、本研究班において、MDS 9 症例に対するシクロスポリン（CyA）の治療効果を報告したが（平成10年度研究業績報告書）、その後さらに症例を追加すると共に有効例の臨床的特徴を解析し、治療効果と有効性の長期持続に関して報告する。

【対象と方法】

MDS 患者15例を対象とした（表1）。年齢18～70（中央値59）歳、男性7例、女性8例、病型は全例 FAB 分類で refractory anemia（RA）であった。CyA は初期投与量 4 mg/kg/day としたが、トランプ値が100～200 ng/ml となるように調整し、また、血清クレアチニン値の上昇があれば減量することとした。低形成例 4 例には ATG/ALG、mPSL、G-CSF を併用した。治療効果の評価は最低3カ月経過の後、本研究班の不応性貧血共通治療プロトコルの効果判定基準（表2）に従って各系統毎に行い、少なくとも1血球系統以上でPR以上の反応が認められた例を有効例とした。有効例は可能な限り治療を継続した。

表1 患者背景

	MDS (RA) (N=15)
Median of age (range)	59.0(18~70)
Male : Female	7 : 8
Hemoglobin (g/dl)	6.5 ± 1.5
Platelets (/μl)	23000 ± 27000
Neutrophils (/μl)	970 ± 890
HLA-DRB1*1501	5 cases
Cytogenetic abnormality	5 cases

表2 効果判定基準

Response	Increase of hemoglobin (g/dl)	Increase of platelets ($\times 10^7 / \mu l$)	Increase of granulocytes (/μl)
GR (good response)	≥ 2.0	≥ 10	≥ 1500
PR (partial response)	1.5~2.0	5~10	1000~1500
MR (minimal response)	1.0~1.5	2~5	500~1000
NR (no response)	< 1.0	< 2	< 500

【結果】

各血球ごとの治療反応を図1に示した。血球系別に見たPR以上の効果は、15例中、ヘモグロビンが9例（GR）、血小板が3例（PR）、好中球は2例（GR1、PR1）であった。当科の再生不良性貧血に対する免疫抑制療法の治療効果は有効率が80%以上であったのに比べると、反応率、血球の回復の程度共に劣った。臨床的特徴と治療反応の関係を表3に示した。HLA-DRB1*1501陽性例は5例中4例（80%）に反応がみられたが、無効とされた1例は腎障害のためにCsAを中止されていた。低形成MDSと軽度異形成例では計7例中6例（86%）に反応がみられた。PNHクローン陽性例は2例中2例が反応した。また、染色体異常が認められた2例では、その異常は消失した。有効例では経過中新たな染色体異常の出現、白血病化は無かった。

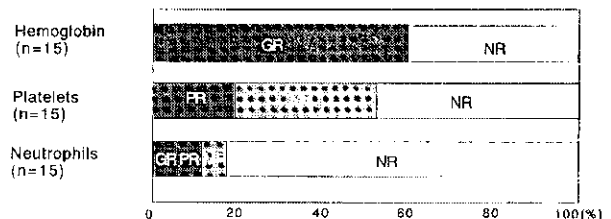


図1 各血球系ごとの治療反応性

表3 臨床的特徴と治療反応

		Response rate
Morphological	typical	3/ 8 (38%)
	atypical	8/ 7 (86%)
Cellularity	hypo.	3/ 4 (75%)
	nor./hyper	6/11 (55%)
HLA-DRB1	1501	4/ 5 (80%)
	others	5/10 (50%)
Cytogenetic	abnormal	3/ 5 (60%)
	normal	6/10 (60%)
All patients		9/15 (60%)