

表2 結果

症例	aGVHD (発症日)	cGVHD (発症日)	CMV抗原陽性 (発症日)	EB-LPD (発症日)	その他 (発症日)
1	I, 皮膚 (day 17)	限局型	+	?	血小板減少症 (day 129)
2	0	-	+	+	?
			(day 26)	(day 48)	
3	II, 腸管 (day 34)	限局型	+	?	?
			(day 21)		
4	0	限局型	+	?	BKVIによる出血性膀胱炎 (day 56)
			(day 24)		
5	0	-	?	?	?
6	I, 皮膚 (day 26)	限局型	+	+	?
			(day 68)	(day 50)	
7	NE	NE	?	?	再移植にて生着、生存中
8	0	-	+	?	?
			(day 24)		

EBV-LPD : Epstein-Bar Virus lymphoproliferative disease

C. 研究成果

症例7を除いて、全例に生着がみられた。症例7はその後HLA2座不一致母親から再移植し、生着が得られた。好中球数が500/ μ lに達したのは移植後16～22日であった。II度以上の急性GVHDは1例にみられたのみで、4例に発症した慢性GVHDも限局型でステロイド投与に反応した。2例において移植後50日前後に末梢血でEBウイルスの出現と同時に頸部リンパ節の腫脹がみられ、病理像でリンパ増殖症と診断されたが、免疫抑制剤の投与で発熱、リンパ節腫脹などの症状は消失した。また症例5を除き経過中にサイトメガロウイルス抗原血症が陽性となったが、症状の出現はみられていない。移植後3から34ヵ月(中央値:12ヵ月)の現在、全例が造血能の回復が得られ生存中である。(表2)

D. 考案

日本骨髄バンクのボランティアドナー数の増加にもかかわらず、HLA完全一致ドナーが得られない移植適応患者は多い。このような患者に対し、

HLAハプロ適合血縁ドナーからの移植や非血縁臍帯血移植が試みられているが、再不貧患者を対象にした報告は少ない。日本骨髄バンクがHLA血清型1座不一致ドナーからの移植を許可するようになったことから、当科では移植ドナー拡大を目的に、HLA血清型1座不一致非血縁ドナーからの同種骨髄移植を、血縁あるいは非血縁者間でHLA完全一致ドナーが得られない患者を対象に開始した。以前の検討では、DNAタイピングでHLAクラスI座不一致ドナーからの移植は予後不良とされてきたが、今回の検討では、クラスI座不一致の2例を含み、全例が生存中である。移植ドナー拡大に血清学的HLA1座不一致ドナーからの移植は有用と考えられた。

E. 結論

免疫抑制療法に不応の難治性再不貧患者に対し、血縁あるいは非血縁者間でHLA完全一致ドナーが得られない場合には、血清学的1座不一致非血縁者ドナーからの移植の選択も妥当と考えられる。

F. 健康危惧情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hirano N, Kojima S, et al.: Presence of anti-kinectin and anti-PMS1 antibodies in Japanese aplastic anemia patients. *Br J Haematol* 128: 221-223, 2005
2. Watanabe N, K, Kojima S, et al.: Expansion of human CMV-specific cytotoxic T lymphocytes to a clinical scale: a simple culture system using tetrameric HLA-peptide complexes. *Cytotherapy* 6: 514-522, 2004

2. 学会発表

1. Kojima S : Aplastic Anemia in children. Xth Congress of the International Society of Hematology. Asian-Pacific Division , Nagoya , Sep. 2004
2. 小島勢二: 小児再生不良性貧血治療の EBM. 第 66 回日本血液学会総会・第 46 回日本臨床血液学会総会 (合同総会), 京都, 2004. 9
3. 小島勢二: 再生不良性貧血治療の進歩 2004 : 免疫抑制療法の立場から. 第 46 回日本小児血液学会, 京都, 2004. 11
4. Kojima S : Long-term outcome of children with aplastic anemia. Consensus Conference on Treatment of Aplastic Anemia, Kyoto, Sep. 2004
5. Kosaka Y, Nakahata T, Tsukimoto I, Kojima S, et al.: Prospective multicenter trial comparing

repeated Immunosuppressive Therapy (IST) with Stem Cell Transplantation (SCT) from an alternative donor as a second-line treatment for children with acquired aplastic anemia. 46th Annual Meeting of American Society of Hematology, San Diego, 2004. 12

6. Yagasaki H, Kojima S, et al.: Decreased incidence of clonal evolution to myelodysplastic syndrome with monosomy 7 in children with aplastic anemia following reduced duration G-CSF therapy and early indication for BMT from an alternative donor. 46th Annual Meeting of American Society of Hematology, San Diego, 2004. 12

7. Yamamoto T, Kojima S, et al.: Engraftment of NOD/SCID γ cnull mice with multilineage neoplastic cells from patients with juvenile myelomonocytic leukemia. 46th Annual Meeting of American Society of Hematology, San Diego, 2004. 12

H. 知的所有権の出願・取得情報

該当なし

1. 参考文献

1. Kojima S, et al.: Outcome of 154 patients with aplastic anemia who received transplants from unrelated donors: the Japan Marrow Donor Program. *Blood* 100: 799-803, 2002

PRCA の治療ガイドラインの作成を目指したアンケート調査報告

澤田 賢一¹、茂木 睦仁¹、廣川 誠¹、間宮 繁夫¹、
浦部 晶夫²、中尾 眞二³、小峰 光博⁴

秋田大学医学部内科学講座・血液・腎臓内科学分野¹、NTT 関東病院・血液内科²、
金沢大学大学院医学系研究科・細胞移植学³、昭和大学藤が丘病院・内科血液⁴

研究要旨 特発性 PRCA の治療における cyclosporin A (CsA)、prednisolone (PSL)、cyclophosphamide (CY) の有用性を比較検討するために、各薬剤による有効性、再発率、生存率を解析した。国内 47 施設から特発性慢性 PRCA34 症例が登録された。初回投与の有効性は CsA 80 %、PSL 60 %、CY 0 %であった。CsA 有効群の再発率は 36 % (観察期間中央値 38 ヶ月)、PSL 有効群の再発率は 57 % (同、37 ヶ月)であった。K-M 法による解析で、PSL 群はほぼ 24 ヶ月以内に全例の再発が推測されるのに対し、CsA 有効群では 50 % 無再発期間が約 7 年と推定され、有意差は認められないもの ($p < 0.114$)、PSL 有効群より長期の寛解を維持できる可能性が示唆された。全生存率に差を認めなかった。維持療法中の再発は PSL 有効群で全例、CsA 有効群で 12.5 % であった。以上、CsA は有効性のみならず寛解維持率・寛解持続期間においても PSL より有用性が高く現時点において、PRCA の治療における第一選択薬であると考えられた。

A. 研究目的

赤芽球癆 (pure red cell aplasia : PRCA) の発症頻度は極めて低いため、その治療法についてはメタ分析をはじめ無作為の前向き介入試験、前向き cohort 研究は行われていない。従って、治療は後ろ向き対照試験と症例報告および過去の報告を集積した総説を参考にして個々に行われているのが現状である。これまでの報告から PRCA の寛解導入療法として、シクロスポリン (cyclosporin A、CsA) の有効率が最も高いことは疑いない⁽¹⁾⁻⁽⁶⁾。しかし UpToDate[®] や Wintrobe's Clinical Hematology[®] では、初回治療にステロイドが推奨されている。理由は、PRCA は再発率が高く、初回有効率のみではなくその後の再発率や長期生存を考慮して初回薬剤が選択されるべきであるという点にある。現在、CsA 使用後の再発率や寛解持続期間、長期生存率は不明である。

PRCA の治療成績をさらに向上させるためには、治療の実態を把握し問題点を明らかにする必要がある。特発性ととも、リンパ増殖性疾患、リウマチ性疾患などに伴う続発性も含め、最近のわが国における PRCA の治療実態の把握を行なうことで、各治療モダリティの成績、併用効果な

どの基本情報をベースに再発と再治療の成績、さらには経過・生命予後が明らかになると考えられる。このような資料を整備することは、今後さまざまな新規治療薬が登場する中で、初回寛解導入療法とそれに引き続く維持療法、またはサルベージ療法を対象とした治療ガイドラインの作成を進めていく上で不可欠である。

本研究では、アンケート調査をもとに、1) 初回治療選択の実際、2) 各治療薬および治療法の有効率と寛解期間、3) 再発率および再治療の内容と有効率・寛解期間、4) 再々再発以後の治療内容と有効率・寛解期間、5) 各治療モダリティにおける全生存率・無病生存率・合併症発症頻度等、を明らかにすることを目的とした。今回、特発性 PRCA を中心に報告する。

B. 研究方法

1. 対象

1990 年以後に新たに後天性 PRCA と診断された 15 歳以上の症例を対象とした。ヒト B19 パルボウイルス感染症によるものは除外した。アンケート対象施設を「特発性造血障害に関する調査研究班」(小峰班) および「重点研究：骨髄異形成

症候群に対する画期的治療法に関する研究班] (三谷班) に属する研究者の施設および関連施設とし、総計 47 施設において診断・治療または経過観察を受けた全ての症例を対象とした。

2. 方法

第一次アンケート調査を 2004 年 8 月 15 日から 9 月 31 日の期間で行い、PRCA 症例の概数を把握した。第二次アンケート調査を 2004 年 10 月 1 日から 12 月 31 日までの期間で行い、個人調査票を回収した。以下の項目、1) 初回治療選択の実際、2) 各治療薬および治療法の有効率と寛解期間、3) 再発率および再治療の内容と有効率・寛解期間、4) 再々再発以後の治療内容と有効率・寛解期間、5) 各治療モダリティにおける全生存率・無病生存率・合併症発症頻度等、を解析した。治療効果判定は、薬剤継続の有無に関わらず、輸血を必要とせず血液学的に正常である状態を完全寛解 (complete remission : CR)、貧血は認めるが輸血が不用となった状態を部分寛解 (partial remission : PR)、輸血依存の状態を無効 (no response : NR) とした。輸血不用例における再発は、薬剤の変更もしくは継続薬剤の初期投与量復帰とした。生存率は Kaplan-Meier (K-M) 法を用いて解析し、2 群間の有意差は Generalized Wilcoxon test で検定し、 $P < 0.05$ を有意とした。

プライバシー保護を目的として、個人調査表の匿名化を行った。

C. 研究成果

1. 解析可能症例数

1990 年以後に新たに後天性 PRCA と診断された症例は 126 例であった (第一次アンケート)。99 例 (79%) の個人調査票が回収可能であった (第二次アンケート)。十分な記録を有する解析可能症例は 87 例であった。

2. 症例の分類

PRCA の分類は、Dessypris EN & Lipton JM による分類 (6) を改変して行った。以下の項目を改変した。①原発性の項目に含まれていた「前白血病性」を削除し、骨髓異形成症候群 (myelodysplastic syndrome、MDS) もしくは急性

骨髄性白血病 (acute myelocytic leukemia、AML) に含めた。②顆粒リンパ球の増多を示す疾患の総称として顆粒リンパ球増加症 (granular lymphocyte proliferative disorders、GLPD) を用い、大顆粒リンパ性白血病 (large granular lymphocyte [LGL] leukemia)、lymphoproliferative disease of granular lymphocytes (LDGL) を含めた。③続発性・造血器腫瘍の項目に本態性血小板血症を追加した (表 1)。

表 1. PRCA の病型分類 (文献 6 を改変)

後天性 PRCA	(続発性)
先天性低形成性貧血 (DBA)	感染症
原発性	ヒト B19 パルボウイルス感染症
自己免疫性	ヒト免疫不全ウイルス感染症
特発性	HIV-1 感染症
続発性	伝染性単核症
胸腺腫	ウイルス肝炎
造血器腫瘍	流行性耳下腺炎
慢性リンパ性白血病	サイトメガロウイルス感染症
B 細胞性	マイコプラズマ肺炎
T 細胞性	髄膜炎
ホジキンリンパ腫	ブドウ球菌血症
非ホジキンリンパ腫	レシェマニア症
多発性骨髄腫	Waldenstrom macroglobulinemia
慢性骨髄性白血病	慢性溶血性貧血
慢性特発性骨髄線維症	リウマチ性疾患
本態性血小板血症	全身性エリテマトーデス
骨髄異形成症候群	関節リウマチ
急性リンパ性白血病	混合性結合組織病
固形腫瘍	シェーグレン症候群
胃癌	薬剤・化学物質 (表 2)
乳癌	紅斑
胆道癌	産後腎不全
肺扁平上皮癌	悪性貧血
皮膚上皮癌	その他
甲状腺癌	ABO 不適合移植後
腎臓癌	血管免疫芽球性リンパ節症
原発巣不明癌	自己免疫性内分泌機能低下症
カポジ肉腫	自己免疫性甲状腺機能低下症
	自己免疫性肝炎
	EPO 治療後の抗 EPO 抗体

特発性 PRCA は、疾患との因果関係が不明であっても、表 1 における続発性病変を有しない症例とした。また、有意な染色体異常を有する症例は、MDS として続発性 PRCA に分類した。その結果、解析可能症例 87 例中、34 例 (39%) を特発性、53 例 (61%) を続発性に分類した (表 2)。続発性のうち、最多は胸腺腫 (18 例) で、解析症例全体 (87 例) の 21% であった。その他、リウマチ性疾患 7 例、GLPD 6 例、MDS 6 例であった (表 2)。

表 2. 後天性 PRCA 症例の分類

分類	例数	内訳	例数	内訳
特発性	34			
続発性	53	(続発性)		
胸腺腫	18	感染症	1	
造血器腫瘍	20	HTLV-1 感染症		1
B-CLL	1	リウマチ性疾患	7	
NHL	2	関節リウマチ		4
GLPD	6	全身性強皮症		1
Macroglobulinemia	2	シェーグレン		1
MDS	6	PMR		1
AML	1	産後腎不全		1
Prelukemia	1	IBI		2
ET	1	自己免疫性肝炎		1
固形腫瘍	3			

3. 特発性 PRCA

1) 症例

特発性 PRCA 34 例の男女比は 12:22 で女性の発症頻度が男性の 1.8 倍であった。年齢は 53±18 歳 (平均±標準偏差) で、年齢分布は 30 歳~82 歳であった。初発年は 1998 年±5 年 (1990 年~2004 年) であった。1994 年以前の症例数は 7 例であった。

2) 初回治療選択の実際

初発時の投与薬剤の時系列とその効果を、維持療法に用いられた薬剤ごとに、シクロスポリン (cyclosporin A, CsA) 群、プレドニゾロン (prednisolone, PSL) 群、シクロフォスファミド (cyclophosphamide, CY) 群として表 3 に示した。初回寛解導入における使用薬剤数は単剤が 17 例、2 剤が 13 例、3 剤が 1 例、4 剤 (mPSLを含む) が 3 例であった。

表 3. 特発性 PRCA に対する初発時免疫抑制療法の効果

症例	初発時 CsA 投与群		有効性	CsA mg/kg	輸血 (回)	寛解 期間	維持 mg/kg	再発	維持中止後 経過期間
	薬剤(投与期)	併用							
60	CsA	PR		4.7	末期	13	No	Yes	3.5*
75	CsA	CR		5.0	330	33	No	Yes	14*
50	CsA	PR		5.4	0	78	No	Yes	1.7*
64	CsA	CR		3.8	1	11	No	Yes	2*
12	CsA	CR		5.7	13	12	No	Yes	2*
82	CsA	PR		4.1	58	1*	Yes	No	
78	CsA	PR		5.0	0	64*	Yes	No	
24	CsA	PR		4.9	150	1*	3.9	No	
21	CsA	PR		5.3	18	28*	2.1	No	
8	CsA	PR		3.1	110	1*	3.1	No	
26	CsA	CR		4.3	0	18*	1.7	No	
22	CsA	CR		5.7	3	24*	2.4	No	
19	CsA	CR		4.0	241	12*	No	No	1
11	CsA	CR		5.6	0	1*	3.3	No	
83	CsA/AS	PR	PR	6.0	625	24*	3.0	No	
5	AS/CsA	PR	PR	6.0	62	40*	1.1	No	
29	CsA/Immuron	CR	NR	6.4	不明	50	No	Yes	1.5*
81	CY/CsA	NR	PR	5.6	不明	71*	No	No	0
63	CY/CsA	NR	PR	5.4	0	109*	1.8	No	
40	PSL/CsA	NR	PR	6.0	不明	78	Yes	Yes	
41	PSL/CsA	NR	PR	6.4	18	103	No	Yes	40*
1	PSL/CsA	PR	PR	5.1	5	168*	1.7	No	
42	PSL/CsA	NR	PR	5.8	28	4*	2.5	No	
20	PSL/CsA	NR	PR	5.0	不明	105*	Yes	No	
68	PSL/mPSL/CsA/ATG	PR	NR	6.6	33	11	Yes	Yes	

* 最終輸血までの日数、その他の期間は月数、*維持療法中止後再発までの期間

症例	初発時 PSL 投与群		有効性	PSL mg/kg	輸血 (回)	寛解 期間	維持 mg/kg	再発	CsA mg/kg (投与期間)
	薬剤(投与期)	併用							
96	PSL	CR		0.9	不明	5	Yes	Yes	
27	PSL	CR		0.5	27	33	0.3	Yes	
36	PSL	PR		0.6	97	30*	0.1	No	
47	PSL/mPSL	PR		0.6	111	18	0.2	Yes	
47	CsA/PSL	NR	PR	1.9	12	31*	0.1	No	2.7, (1)
49	CsA/PSL/mPSL/ATG	NR	NR	0.2	505	1*	0.2	No	2.1, (3)
93	CY/mPSL/PSL/AS	NR	PR	0.3	不明	2	Yes	Yes	

* 最終輸血までの日数、その他の期間は月数

症例	初発時 CY 投与群		有効性	CY mg/kg	輸血 (回)	寛解 期間	維持 mg/kg	再発	CsA mg/kg (投与期間)
	薬剤(投与期)	併用							
49	CsA/CY/AS	NR*	PR	0.9	7	4.5*	0.9	No	4.3, (1.3)
62	CsA/CY	NR	CR	0.8	27	38*	No	No	4.0, (4.3)

* 最終輸血までの日数、その他の期間は月数、*投与開始 7 日後から輸血不用、*維持療法中止後 29 ヶ月寛解を維持

初回投与薬剤は CsA が 20 例、PSL が 10 例、CY が 3 例、AS が 1 例であった。CsA 初回投与の効果は CR 8 例 (40%)、PR 8 例 (40%)、有効例 (PR+CR) 16 例 (80%)、NR 4 例 (20%) であった。初回の CsA 投与で PR 以上の効果が認められた 16 例における CsA 平均投与量は 4.9 ± 1.2 mg/kg (1.6 ~ 6.4 mg/Kg)、最終輸血日までの期間

は薬剤投与開始日から平均 78 ± 171 日 (0 ~ 640 日) であった。CsA の初回投与が無効であった 4 例の CsA 投与量は 2.1 mg/kg、2.7 mg/kg、4.0 mg/kg、4.3 mg/kg (平均 3.3 ± 1.0 mg/kg)、投与期間はそれぞれ 3 ヶ月、6 週間、6.5 ヶ月、6 週間であった。CsA 有効群と無効群で最終輸血日までの期間と薬剤投与量に相関を認めなかった。

PSL 初回投与の 10 例では CR 2 例 (20%)、PR 4 例 (40%)、有効例 6 例 (60%)、NR 4 例 (40%) であった。PSL 投与量は 10 例の平均で 0.9 ± 0.3 mg/kg であり、有効例における最終輸血日までの期間は 62 ± 105 日 (0 ~ 248 日) であった。有効例と無効例の間に PSL 投与量の違いを認めなかった。初回投与薬剤として CY が 3 例、蛋白同化ホルモン (anabolic steroid, AS) が 1 例に投与された。CY 初回投与は 3 例すべてで無効であった。CY 投与量と投与期間は 1.1 mg/kg (6 ヶ月)、1.8 mg/kg (詳細不明)、2.0 mg/kg (1 ヶ月、白血球減少による発熱のため中止) であった。

3) 各治療薬および治療法の有効率と寛解期間

薬剤の変更もしくは追加によって 34 例全例に PR 以上の効果が認められた。CsA 無効 4 例における有効薬剤は PSL (2 例)、CY (2 例) であった。PSL 無効 4 例における有効薬剤は全例 CsA であった。CY 無効 3 例では 2 例が CsA に反応し、残り 1 例について CsA は試みられていないが mPSL/PSL に反応した。AS 無効 1 例は CsA に反応した。CsA (4.0 mg/kg、6.5 ヶ月) 無効 1 例に対して CY (0.83 mg/kg、9 ヶ月) が投与され CR が得られた。

使用薬剤順にかかわらず CsA が投与された症例は全 34 症例中 29 例であった。CsA によって 25 例 (86%) に PR 以上の効果が認められ、CsA 平均投与量は 5.3 ± 0.9 mg/kg (3.1 ~ 6.6 mg/Kg) であった。また、CsA 有効例における最終輸血日までの期間は、薬剤投与開始日から平均 85 ± 155 日 (0 ~ 625 日) であり、うち 90 日以上を要した 5 例 (110 日、150 日、241 日、330 日、640 日) を除いた 16 例の最終輸血日までの期間は 17 ± 22 日 (0 ~ 69 日) であった。期間別では 43% (9 例) が 2 週間以内、57% (12 例) が 1 ヶ月以

内、75% (20例) が3ヶ月以内に無輸血となった。最終輸血日までの期間と薬剤投与量に相関は認められなかった。

4) 各治療の内容と再発率・全生存率

特発性 PRCA 34 例のうち 13 例が再発した。維持療法に用いられた薬剤別では CsA 群 25 例中再発 9 例 (36%、観察期間中央値 38 ヶ月)、PSL/mPSL 群 7 例中で再発 4 例 (57%、観察期間中央値 37 ヶ月) であった。K-M 法による解析で、PSL 群はほぼ 24 ヶ月以内に全例が再発すると推測されるのに対し、CsA 有効群では 50% 無再発期間が約 7 年と推定され、有意差は認められないもの ($p < 0.114$)、PSL 有効群より長期の寛解を維持できる可能性が示唆された。(図 1)。CsA 有効群で膜性腎症に基づく腎不全により 1 例が死亡したが、全生存率に差を認めなかった (図 2)。

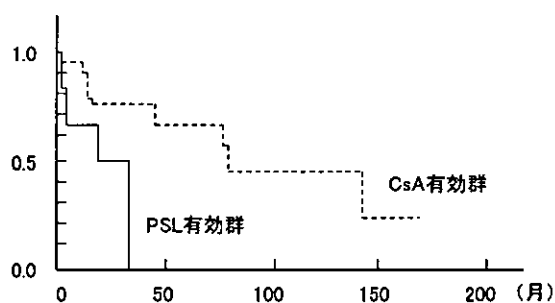


図 1. 無再発生存率

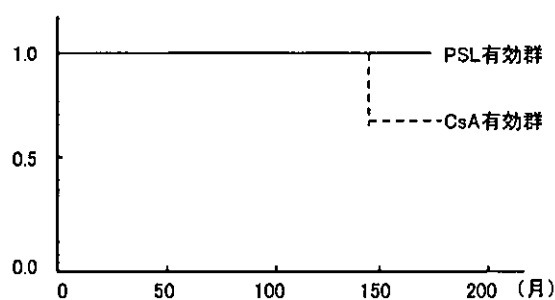


図 2. 全生存率

有効薬剤の継続投与が行われていた症例は 24 例 (69%) であった。CsA 群で再発した 9 例中 7 例 (78%) は CsA 中止後の再発であった。CsA 中止から再発までの期間は 9.4 ± 14.2 ヶ月 (1.5 ~ 40 ヶ月) であった。CsA 投与中に再発した 2 例の CsA 投与量は不明である。CsA の維持量投与で寛解を維持している症例は 14 例であった。

うち 9 例が 24 ヶ月以上の寛解を維持しており、解析可能な 6 例の CsA 維持投与量は 2.0 ± 0.6 mg/kg (1.1 ~ 3.0 mg/kg) であった。CsA による維持療法中止後も寛解を維持している症例は 2 例であり、それぞれの中止後観察期間は 1 ヶ月、0 ヶ月 (追跡不能) であった。PSL 群の再発 5 例は全例とも維持量投与中の再発であった (図 1)。維持投与量が判明している 2 例の再発時の PSL 量はそれぞれ 0.2 mg/kg、0.3 mg/kg であった。一方、寛解を維持し、投与量が判明している 2 例の PSL 維持量は 0.1 mg/kg、0.2 mg/kg であった。CY 群 2 例中 1 例は、CY 中止後現在まで 29 ヶ月間と、維持療法中止症例として本調査で最長の寛解を維持していた。

5) 再治療の内容と有効率・再発率

再発症例 13 例の有効薬剤を維持療法に用いられた薬剤を指標に分類した場合、CsA 有効群は 8 例、PSL 有効群は 4 例であった。CsA 投与中の 1 例は NR で膜性腎症に基づく慢性腎不全で死亡した。その他の 12 例では PR 以上の効果が認められた。輸血不用となるまでの期間は、CsA 群で 120 ± 236 ヶ月 (0 ~ 680 日以上)、PSL 群で 45 ± 54 日 (0 ~ 120 日) であった (表 4)。再発時に CsA が用いられた 11 例の CsA 投与量は、不明の 1 例を除き 4.1 ± 1.2 mg/kg (1.8 ~ 5.7 mg/kg) であった。再発時の初回薬剤として PSL が用いられた 2 例の PSL 投与量は、それぞれ 0.4 mg/kg、0.9 mg/kg であった。CY 無効の 1 例は mPSL/PSL に反応した。

表 4. 特発性 PRCA に対する再発時免疫抑制療法の効果

症例 No.	初発 群*	再発時治療群	有効性	初発量	輸血	寛解	再発	再発 期間 (月)
				mg/kg	(回)	期間 (月)		
50	CsA	CsA	PR	3.6	0	10	CsA 1.1	Yes
96	PSL*	PSL	CR	0.9	0	8	PSL	Yes
93	PSL*	CY/mPSL/PSL	NR	不明	120	46	不明	Yes
64	CsA*	CsA/PSL/mPSL	CR	3.5/1.0/-	0	35	CsA 2.5	Yes
67	PSL*	PSL/CsA/PSL	PR	0.6/4.9/-	45	40	PSL 0.3	Yes
69	CsA	CsA	PR	5.1	14	5.3	No	Yes 10 ⁴
28	CsA	CsA	CR	1.3	330	40	No	Yes 3.5 ¹
80	CsA*	CsA	NR	不明	680	0	CsA	死亡
75	CsA	CsA	CR	5.0	59	1 ¹	CsA	No
41	CsA	CsA	PR	1.8	0	2 ¹	CsA 1.8	No
27	PSL*	PSL/CsA	PR	0.4/5.0	14	2 ¹	0.3/2.5	No
64	CsA	CsA	CR	2.7	0	30 ¹	CsA 1.1	No
12	CsA	CsA	CR	5.7	0	50 ¹	CsA 4.7	No

*無輸血までの日数、¹維持療法施行回、²維持療法中止後再発までの期間

評価可能症例 12 例中 7 例 (58%) が再発した。維持療法中止後の再発が 2 例で中止後から再発までの期間は 3.5 ヶ月と 10 ヶ月であった。維持療法中の再発が 5 例あり、投与量が判明している症

例では、CsA 維持量 1.1 mg/kg、2.5 mg/kg の再発であった。CsA で PR となった 1 例において治癒を目指して ATG の投与が行われ CR を得たが、PSL 0.3 mg/kg の維持療法中に再発した。寛解中の 5 例全例に CsA が維持投与されていた。CsA の維持投与量は 24 ヶ月以上の寛解を維持している 3 例で 2.8 ± 1.8 mg/kg であった。

表 5. 特発性 PRCA に対する再々発時免疫抑制療法の効果

症例	初発時*	再発(1) 発症薬種	再発(2) 薬種	有効性	初発時		維持時		寛解
					mg/kg	日	mg/kg	日	
50	CsA	CsA*	CsA	PR	3.6	0	不明	0.9	Yes
96	PSL*	PSL*	CsA	CR	6.2	90	19.5	3.6	Yes
93	PSL*	不明	PSL/CsA	PR	不明	不明	不明	不明	Yes
68	CsA*	CsA/PSL*	PSL/CsA	PR	0.5/4.9	0	6.5*	0.1/4.9	
67	PSL*	PSL/CsA*	PSL/CsA/ATG	PR	0.9/4.5/-	0	48*	0.2/4.5	
60	CsA	CsA	CsA	PR	4.7	0	6*	4.7	
28	CsA	CsA	不明		不明	42.1*	0	不明	

*初発時までの日数、*維持療法進行例

6) 再々再発以後の治療内容と有効率・再発率

再々発7例のうち不明の 1 例を除いた 6 例の寛解導入において用いられた薬剤は、CsA 単独が 3 例、PSL と CsA の併用が 3 例であった。投与量について解析可能な 5 例における CsA の投与量は 4.8 ± 0.9 mg/kg (3.6 ~ 6.2 mg/kg) であった。効果が不明の 1 例を除いた 5 例全例で寛解が得られた。3 例で再発し、うち 2 例は CsA 依存性の頻回再発例であった。これら 2 例における 3 回目以降の寛解維持に必要な CsA 維持量は 3.6 mg/kg 以上、3.5 mg/kg 以上であった。24 ヶ月以上寛解を維持している 1 例では 4.5 mg/kg の投与を必要としていた (3.9 ± 0.6 mg/kg)。

7) 各治療における合併症発症頻度

今回の調査において、各治療薬における合併症発症頻度に明らかな差は認められなかった。

4. 続発性 PRCA

続発性 PRCA はそれぞれ基礎疾患と推定される群での症例数が少ないため、その解析には今後の症例の蓄積が必要である。そのため、現時点では概要を報告するに留める。

1) 胸腺腫

続発性 PRCA 53 例のうち胸腺腫は 18 例であった。平均年齢 62 ± 15 歳 (26 ~ 81 歳)、男女比は 5 : 13 例で女性の発症頻度は男性の 2.6 倍であった。胸腺摘出は 12 例で行われ、摘出効果は 3 例で CR、5 例で PR、3 例が無効 (NR) で、1 例

は判定不能であった。薬剤は CsA 単独投与が 5 例に行われ、有効性は 3 例で CR、2 例で PR であった。PSL 投与は 11 例で行われ 5 例が CR、1 例が PR、5 例が NR であった。NR であった 5 例では、2 例が CsA で PR、その他 3 例はそれぞれ CsA、FK506 および無投薬で経過観察されたが NR に留まり、前 2 者では胸腺摘出によって PR が得られた。4 例が胸腺腫の再発・増悪、または感染で死亡した。

2) その他の続発性 PRCA

MDS の 6 症例のうち 1 例は造血幹細胞移植で寛解した。残り 5 例のうち 3 例は PSL/CsA/AS、AS、PSL/mPSL/CsA/AS に無反応で後 2 者は死亡した。1 例は PSL/CsA の両者に PR の反応を示し、シェーグレン症候群を合併していた 1 例は PSL で CR となった。GLPD の 6 例では 1 例が経過観察で PR となり、他の 5 例についても CsA もしくは CY によって CR や PR が得られていた。うち 4 例が再発し、1 例は白血病化で死亡した。IBL の 2 例に PSL が用いられ PR と CR であった。NHL の 4 例中、1 例は自然寛解した。各 1 例ずつ CsA と PSL で CR となり 1 例は PSL に NR であった。1 例が原病により死亡した。自己免疫疾患の 7 例では 1 例が自然寛解した。PSL 服用中の発症が多く、CsA によって 3 例が CR、1 例が PR であった。1 例が脳血栓のため死亡した。固形癌の 3 例は CsA で PR が得られた。1 例は原疾患のため死亡した。

D. 考 察

赤芽球癆は稀な疾患で、わが国の特発性造血障害調査研究班の患者登録集計によると、1979 年 ~ 1993 年の 15 年間で PRCA は 107 例であり、同期間内の再生不良性貧血は 1,602 例であった⁷⁾。再生不良性貧血の年間罹病率は人口 10 万人に対し 4.1 人であることから⁷⁾、赤芽球癆の年間罹病率は再生不良性貧血の 7%、すなわち人口 10 万人に対し 0.3 人と推定された。今回の調査では、1990 年以後に新たに後天性 PRCA と診断された 15 歳以上の症例を対象としておりその期間は奇しくも前回の調査と同じ 15 年間であった。アン

ケート対象47施設から第一次アンケートで126例、第二次調査で99例の報告があった。調査対象期間を1990年以降に限定した理由は、C型肝炎ウイルス感染が予後に及ぼす影響を排除するためである。また、同様の理由で表1に示した基礎疾患を有する症例は、基礎疾患とPRCAとの因果関係が不明であっても続発性として分類した。その結果、解析可能症例87例中34例(39%)を特発性PRCAとして分類した。

これまでの報告では、PRCAの治療における単独投与での有効率はCsAが最も高く(75%~87%)、ついでPSL(30%~56%)、CY(7%~20%)である^{14,15)}。本調査における初発時の治療において、初回投与薬剤の効果は既報とほぼ同様であった。一方、複数の薬剤が試みられた症例では、先行薬剤の影響とともに薬剤併用効果も考慮する必要があり、各治療薬剤の効果を厳密に判定することはしばしば困難である。従って、本調査における各薬剤の効果は報告者の判断に従った。ただし、再発率や生存率の解析は、寛解維持に用いられた薬剤を各々の症例におけるkey drugとしてCsA有効群、PSL有効群およびCY有効群に分類して行った。

PSL治療では、その80%が24ヶ月以内に再発することが報告されている¹⁴⁾。またCsA登場以前にPSLやPSL/CY等で治療された特発性後天性PRCAの生存期間中央値は14年、続発性は4年であった¹⁶⁾。本調査において初めて明らかになったことの一つはCsAで治療した場合の再発率と生存率であり、CsA有効群の再発率は36%(観察期間中央値38ヶ月)、PSL群の再発率は57%(同、37ヶ月)であった。K-M法による解析で、PSL群はほぼ24ヶ月以内に全例が再発すると推測されるのに対し、CsA有効群では50%無再発期間が約7年と推定され、有意差は認められないものの($p<0.114$)、PSL有効群より長期の寛解を維持できる可能性が示唆された。CsA有効群で膜性腎症に基づく慢性腎不全による1例の死亡があったが、CsA有効群とPSL有効群の全生存率に差を認めなかった(図2)。

再発要因として興味深いのは寛解維持療法の有

無であった。CsA有効群における再発9例のうち7例が維持療法中止後の再発であり、維持療法が施行されていた16例での再発は2例のみであった。CsA中止から再発までの期間は初回再発で 9.4 ± 14.2 ヶ月(1.5~40ヶ月)、2回目の再発で3.5ヶ月~10ヶ月であり、CsA中止後も寛解を維持している2症例(観察期間0~1ヶ月)の評価は現時点で困難である。対照的に、PSL有効群では全ての再発が維持療法施行中であった。両群間におけるこの解離が維持療法期間の差に依存していないことは表3から明らかである。CsA有効群における維持療法中止例の最長維持療法期間は78ヶ月(6.5年)、また最長維持療法継続例は168ヶ月(14年)であった。患者の心理的・肉体的・経済的負担から鑑みて驚異的な期間である。対照的にPSL有効群では全ての再発症例が31ヶ月以内の維持療法施行中であった。以上からCsAはPSLに比して有効性において優れているのみならず、維持量減量による再発傾向把握と維持量調整による再発防止の観点からもPSLより有効な薬剤であると推定された。また、今回の調査ではCsA有効群とPSL有効群の副作用出現頻度に差は認められなかったが、維持量投与中の再発に基づく心理的衝撃、初期治療量へ復帰することによる身体的負担、また再発によって要する輸血は最も高価な治療法の一つであることから鑑み、CsAは患者側要因においても心理的・肉体的・経済的にPSLより有効な薬剤であると考えられた。また、PSL有効群においては再発、再々発によってCsAへの薬剤変更例が多くなり、再々発の時点では全ての症例にCsAがkey drugとして使用されていた。PSL有効例では維持療法中にも再発が多いこと、また、再発後はCsAへの切り替えや併用を余儀なくされることから、CsAによる治療が現時点で最も単純で効果的であると考えられた。

しかしCsA無効例もまた存在し、そのような症例に対してはCY、ATGなどの薬剤によるサルベージ療法が必要となる。今回の調査におけるCsA無効例の解析では、CsA無効群4例の初期投与量は 3.3 ± 1.0 mg/kgと有効群の 5.3 ± 0.9

mg/kg を下回っており、うち無効例 2 例では 6 週間で投与が中止されていた。今回の調査において CsA の効果発現までの期間は 2 週間以内が 43 %、1 ヶ月以内が 57 %、3 ヶ月以内が 75 %、3 ヶ月以上が 86 % であることが明らかとなった。従って、腎機能障害その他の制約がない症例においては CsA 初期投与量は 6 mg/kg、投与期間は 3 ~ 6 ヶ月が適切であると考えられた。さらに CsA の減量には慎重を要することが明らかとなった。24 ヶ月以上の寛解を維持していた症例の CsA 維持量が 2.0 ± 0.6 mg/kg であったことは、それ以上の減量が困難であることを示している。寛解 24 ヶ月後の維持量を 2.0 ± 0.6 mg/kg と仮定し、初期投与量平均値 (5.3 ± 0.9 mg/kg) を起点として単純に減量速度を推測した場合、 0.4 mg/kg/3 ヶ月であった。従って、個々の症例に応じて減量が行われるべきであるが、一つの目安としては、寛解導入後の CsA 減量は 3 ヶ月ごとに $0.4 \sim 0.5$ mg 減量し、維持量が初期量の 50 % 前後となった時点ではさらに慎重に行うことが必要であると考えられる。

今回の調査ではまた、初回寛解を維持することの重要性が示唆された。24 ヶ月以上の寛解を維持している症例を対象とした場合、CsA 維持量は初回寛解で 2.0 ± 0.6 mg/kg であるのに対し、再発例では 2.8 ± 1.8 mg/kg、再々発以後では 3.9 ± 0.6 mg/kg と漸増する傾向があった。寛解維持量と再、再々寛解導入までの期間に有意差は認められなかったものの初回寛解を維持することの重要性を示唆する所見であると思われる。

以上、有効性、寛解維持率、寛解持続期間の観点から PRCA に対する第一選択薬は CsA であると考えられる。しかし、CsA が PRCA の治療をもたらすという証拠は今回の調査からは得られなかった。従って、寛解を維持するためには CsA の維持量投与が不可欠であると考えられる。今後の問題点は、CsA を key drug としつつ、いかに CsA からの離脱を可能にするかという点にある。本調査においても CsA からの離脱を目指して抗胸腺グロブリン (anti-thymocyte globulin, ATG) の投与が 2 例において試みられたが CsA の中止

は不可能であった。CY によって寛解が得られた PRCA では維持療法中止後も長期の寛解が持続するとの報告があるが、寛解導入有効率の点から CY は CsA に及ばない。また CY の副作用を鑑みれば、比較的少量の CsA で寛解維持が可能な症例に対し、離脱を目指して CY 投与を試みることは躊躇を伴う。近年、難治例や CLL に伴う PRCA に対する抗 CD20 抗体⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾ や、他の治療で難治性であった CLL および LGL 白血病に伴う PRCA に対して抗 CD52 抗体 (Campath-1H)⁽¹¹⁾ を試み、有効であったことが報告されている。これらの新規治療薬が PRCA の治療をもたらすことが可能か否か今後検証が必要である。さらに、PRCA の治療を目指すためには、その本態の解明に向けた基礎的研究もまた必要不可欠であると考ええる。

E. 結 論

本研究では、アンケート調査をもとに、PRCA における 1) 初回治療選択の実際、2) 各治療薬および治療法の有効率と寛解期間、3) 再発率および再治療の内容と有効率・寛解期間、4) 再々再発以後の治療内容と有効率・寛解期間、5) 各治療モダリティにおける全生存率・無病生存率・合併症発症頻度等、を検討した。今回、特発性 PRCA を中心とした解析から、PRCA 治療における第一選択薬剤は CsA であると考えられた。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

該当なし

H. 知的所有権の出願・取得情報

該当なし

I. 参考文献

1. Dssypris EN. Pure red cell aplasia. Baltimore MD, Johns Hopkins Univ Press: 98-117, 1988
2. Lacy MQ, Kurtin PJ, Tefferi A. Pure red cell

- aplasia: association with large granular lymphocyte leukemia and the prognostic value of cytogenetic abnormalities. *Blood* 87: 3000-3006, 1996
3. Raghavachar A. Pure red cell aplasia: Review of treatment and proposal for a treatment strategy. *Blut* 61: 47-51, 1990
 4. Martha Q, Kurtin PJ, Tefferi A. Pure red cell aplasia: Association with large granular lymphocyte leukemia and the prognostic value of cytogenetic abnormalities. *Blood* 87: 3000-3006, 1996
 5. Mamiya S, Itoh T, Miura AB. Acquired pure red cell aplasia in Japan. *Eur J haematol* 59: 199-205, 1997
 6. Greer JP, Foerster J, Lukens JN, et al (eds): *Wintrobe's Clinical Hematology*, 11th ed, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, London: 1421-1427, 1988
 7. 清水弘之: 臨床疫学分科会会長総括, 厚生省特定疾患特発性造血障害調査研究班, 平成5年度研究業績報告書: 49-50, 1994
 8. Clark AD, Dessypris EN, Krantz SB. Studies on pure red cell aplasia. XI. Results of immunosuppressive treatment of 37 patients. *Blood* 63: 277-286, 1984
 9. Zecca M, De Stefano P, Nobili B, Locatelli F. Anti-CD20 monoclonal antibody for the treatment of severe, immune-mediated, pure red cell aplasia and hemolytic anemia. *Blood* 97: 3995-3997, 2001
 10. Ghazal H. Successful treatment of pure red cell aplasia with rituximab in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 99: 1092-1094, 2002
 11. Ru X, Liebman HA. Successful treatment of refractory pure red cell aplasia associated with lymphoproliferative disorders with the anti-CD52 monoclonal antibody alemtuzumab (Campath-1H). *Br J Haematol* 123: 278-281, 2003

付記: アンケート協力施設 (アイウエオ順、敬称略)

秋田大学医学部内科学第三講座 (澤田賢一、間宮繁夫、茂木睦仁、新津秀孝、小山雄太)、岩手医科大学血液内科 (石田陽治)、NTT 関東病院血液内科 (浦部晶夫、栢岐聖子)、大阪医療センター (井上信正)、大阪大学血液腫瘍内科学 (金倉譲、水木満佐央、柴山浩彦)、大阪大学微生物病研究所 (木下タロウ)、岡山医療センター (福田俊一)、岡山大学第2内科 (谷本光音、品川克至)、香川小児病院 (岩井朝幸)、金沢大学第3内科 (中尾真二、山崎宏人)、川崎医科大学検査診断学 (通山薫、伊藤満)、九州大学病態修復内科学 (原田実根、河野徳明、波呂卓)、京都大学血液病態学 (内山卓、石川隆之)、京都大学小児科 (中畑龍俊、足立壮一)、近畿大学血液内科 (金丸昭久、松田光弘)、熊本医療センター (河野文夫、井上佳子、長倉祥一)、群馬大学医学部付属病院輸血部 (唐沢正光)、慶応大学内科血液研究室 (岡本真一郎、村田満、宮川義隆)、国立感染症研究所感染病理部 (佐多徹太郎)、国立がんセンター中央病院 (渡辺隆、小林一彦)、埼玉医科大学血液内科 (別所正美、松田晃、三角素弘)、札幌医科大学内科学第四講座 (新津洋司郎、瀧本理修)、昭和大学藤が丘病院内科血液 (小峰光博、原田浩史、酒井広隆、樋口敬和、森啓)、自治医科大学血液学 (小澤敬也、永嶋貴博、大嶺謙、高德正昭)、自治医科大学ゲノム機能研究部 (間野博行)、自治医科大学人類遺伝学部門 (梶井英治)、仙台医療センター (目黒邦昭)、東海大学医学部血液腫瘍リウマチ内科 (堀田知光、深川智美)、東京医科大学第1内科 (大屋敷一馬、田内哲之、木村之彦、本多聖子、山口法隆)、東京医療センター (矢野尊啓)、東京女子医科大学血液内科 (寺村正尚)、東京大学血液腫瘍内科 (小川誠司、半下石明)、東邦大学衛生学 (杉田稔)、東邦大学第1小児科学教室 (月本一郎、小原明)、独協医科大学血液内科 (三谷絹子、新井幸宏)、長崎大学原研内科 (朝長万左男、對馬秀樹)、名古屋医療センター臨床研究センター (大橋春彦、堀部敬三)、名古屋大学小児科 (小島勢二)、名古屋大学分子細胞内科学 (直江知樹、大野稔人)、名古屋大学保健学科 (村手隆)、西札幌病院 (仲野龍巳)、浜松医科大学内科学第三講座 (大西一功、重野一幸、内藤健助)、広島大学原医研血液内科 (木村昭郎)、福井大学第一内科 (上田孝典、山内高弘、山本秀二)、福井病院 (竹谷英之)、北海道大学血液内科 (今村雅寛)、早稲田大学理工学部 (浅野茂隆)

Fanconi 貧血における p15/INK4b、p16/INK4a、DAP キナーゼのメチル化異常

浅野 茂隆¹、山下 孝之¹、浜之上 聡²、矢部みはる²、矢部 普正²

東京大学・医科学研究所¹、東海大学・医学部²

研究要旨 Fanconi 貧血 (FA) の原因遺伝子群は DNA 修復に関与することが示唆されているが、FA における MDS、AML の発症機構はほとんど判明していない。後天性 MDS、AML の発症において、プロモーターのメチル化亢進による腫瘍抑制遺伝子の失活が重要な役割を果たすことが知られる。そこで、FA の造血異常におけるメチル化の関与を明らかにするために、FA 患者 (11 例) の骨髄において p15/INK4b、p16/INK4a、DAP キナーゼのプロモーター領域のメチル化をメチル化特異的 PCR により解析した。その結果、8 例においていずれかの遺伝子においてメチル化亢進が検出された。MDS 発症における役割については明確な結論は得られなかったが、FA の病態とメチル化異常が密接に関連する可能性が示唆された。

A. 研究目的

Fanconi 貧血 (FA) は、小児期に発症する進行性の骨髄不全、急性骨髄性白血病や骨髄異形成症候群 (MDS)、固形腫瘍を含む悪性腫瘍の高頻度の合併などを特徴とする常染色体劣性遺伝疾患である。患者細胞は染色体不安定性を示し、特に mitomycin C (MMC) などの DNA 架橋剤に高感受性を示す。FA は遺伝的に異なる少なくとも 11 群に分類され、このうち 9 群に対応する遺伝子 (FANCA、B、C、D1/BRCA2、D2、E、F、G、L/PHF9) が同定されている。これらの遺伝子産物は乳癌遺伝子産物 BRCA1、BRCA2 とも共通の経路で作用し、DNA 修復に関与することが示唆されている。DNA 修復不全は遺伝子変異によるがん遺伝子の活性化やがん抑制遺伝子の不活性化を介して腫瘍を引き起こすと考えられるが、FA で具体的にどのような分子異常が MDS や AML の発症に関与するかは明らかではない。一方、造血腫瘍性疾患の発症には遺伝子変異だけでなく、プロモーターのメチル化亢進による p15/INK4b、p16/INK4a、DAP キナーゼなどの発現抑制が重要な役割を果たすことが示されている^{1,2)}。そこで、FA の造血異常においてこれらの遺伝子プロモーターのメチル化の異常の有無を明らかにすることを目的として研究を行った。

B. 研究方法

患者骨髄液から単核球を分離し、ゲノム DNA

を抽出して bisulfite 処理を行った。対照として正常末梢血単核球から抽出した DNA とメチル化 DNA を用いた。p15/INK4b、p16/INK4a、DAP キナーゼのプロモーター CpG 領域について、メチル化配列と非メチル化配列に特異的なプライマーを用いて PCR で増幅し、それぞれの産物をアガロース電気泳動により検出した。メチル化特異的 PCR (MSP) でバンドが検出された場合を陽性とした。

C. 研究成果 (表)

11 例の患者の骨髄検体を用いて解析を行った。このうち、4 例 (FA28-1、FA88、FA89、FA90) については経時的に 2 ~ 3 回の検体を解析した。p15/INK4b のメチル化が 4 例、p16/INK4a のメチル化が 3 例、DAP キナーゼのメチル化が 1 例で検出された。経過中 MDS 化した例では 4 例中全例でいずれかの遺伝子に陽性が得られ、MDS が見られなかった 7 例のうち 3 例でいずれかの遺伝子に陽性が得られた。

D. 考 察

本研究は、FA 骨髄においてがん抑制遺伝子プロモーターのメチル化異常が見られることを明らかにした。p15/INK4b、p16/INK4a はサイクリン依存性キナーゼを阻害することにより細胞周期を制御する分子であり、p15 のメチル化による発現抑制は MDS、AML など骨髄系腫瘍で高率に見ら

表 FA 骨髄における p15、p16、DAP キナーゼのメチル化

症例	発症年齢	発症から検体採取 までの間隔(月)	汎血球減少	MDS	染色体異常	MSP ^b		
						p15	p16	DAP kinase
FA28-1 ^a	5	128	重症	RA	-	-	-	-
		133	重症	RA	-	+	-	-
FA83	3	24	軽症	RA	+	-	+	ND ^c
FA87	8	252	重症	RAEB	+	+	-	ND ^c
FA88	5	31	中等度	-	-	+	-	+
		45	重症	RA	+	-	-	+
		58	重症	RAEB	+	+	-	-
FA89	5	49	軽症	-	-	+	-	+
		56	重症	-	-	+	ND ^c	ND ^c
		62	重症	-	-	-	+	-
FA90	2	2	軽症	-	-	+	-	-
		31	重症	-	-	-	-	-
FA28-2 ^a	5	51	軽症	-	-	-	-	-
FA28-3 ^a	3	12	軽症	-	-	-	+	-
FA47	3	15	軽症	-	-	-	-	-
FA68	5	46	中等度	-	-	-	ND ^c	ND ^c
FA91	5	129	軽症	-	-	-	-	-

^a 同胞, ^b MSP: methylation specific PCR, ^c ND: not determined

れる。一方、p16 のメチル化はリンパ系腫瘍により多く見られる。一方、アポトーシスに関与する分子である DAP キナーゼは非ホジキンリンパ腫だけでなく、MDS、AML においてメチル化の亢進が報告されている。

今回の結果ではこれらの遺伝子のメチル化と MDS 発症との間の関係を明確に結論づけるには至らなかった。しかし、メチル化亢進は MDS と診断されていない症例や RA 例でも見られることから、FA の造血異常の比較的早期に起こると考えられる。したがって、epigenetic な異常は FA の病態と密接に関連していることが示唆される。

同一患者の検体でも陽性所見が経過とともに変化している。この理由のひとつとして、解析材料とした骨髄単核球の中でも、骨髄不全の程度や採取した検体によりリンパ球の割合が変化することが影響する可能性がある。この問題を解決するために、今後は造血細胞を分画して行うなどの工夫が必要と考えられる。また、今回は MSP のみ行っているが、プロモーター CpC のメチル化の程度や機能的意義を明らかにするために、今後より詳細な解析が必要と考えられる。

E. 結 論

FA の骨髄細胞において、p15/INK4b、p16/INK4a、DAP キナーゼ遺伝子のメチル化亢進を検出した。FA における MDS、AML の発症にこれら遺伝子の epigenetic mechanism による失活が関与する可能性が示唆され、さらに検討する価値があると考えられる。

F. 発 表

1. 論文発表

1. Yagasaki H, Asano S, Yamashita T, et al. :Identification and characterization of novel mutations of the major Fanconi anemia gene FANCA in the Japanese population. Hum. Mutat.24:481-490, 2004

2. 学会発表

1. 浜之上聡, 谷ヶ崎博, 鶴田畝久, 矢部普正, 矢部みはる, 浅野茂隆, 山下孝之: Fancon 貧血における体細胞モザイクの意義: 復帰変異による長期緩解例. 第 66 回日本血液学会総会・第 46 回日本臨床血液学会総会 (平成 16 年 9 月, 京都)
2. 小田司, 浅野茂隆, 山下孝之: シャペロン複合体 Hac70/Hsp90 による Fanconi 貧血分子経路

の制御, 第 66 回日本血液学会総会・第 46 回
日本臨床血液学会総会 (平成 16 年 9 月, 京
都)

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

H. 参考文献

1. Claus R , Lubbert M, Oncogene 22: 6489-6946,
2003
2. Teresa Voso et al. Blood 103: 698-700, 2004

X染色体遺伝子を用いたクローン性解析の精度向上の試み(1) : 対照細胞の検討

唐沢 正光¹、三井 健輝²、山根 有人¹、塚本 憲史²、野島 美久²

群馬大学医学部輸血部¹、群馬大学大学院生体統御内科学²

A. 研究目的

The human androgen receptor gene (HUMARA)等を利用したクローン性の検討法では、正常女性においてもX染色体不活化が不均等に偏ることがあり、クローン性の判定に少なからぬ影響を与える。このため正常対照に偏りが無いことが対象のクローン性を判定する際の必要条件となる。これまでの多くの報告では全リンパ球をコントロールとしている。しかし、加齢に伴い特にCD8リンパ球ではオリゴクロナールな分画の拡大が生じることが知られているため、CD8を含まないCD4リンパ球分画が正常対照としてより有用性である可能性がある。今回、我々は健常女性とMDS症例における末梢血CD4およびCD8リンパ球の正常対照としての適正度を比較検討した。

B. 研究方法

健常女性34名とMDS症例13例(RA12およびRARS1)の末梢血よりMACSマグネティックビーズシステムを用いてCD4とCD8リンパ球分画に分離した。

各分画からDNAを抽出、HUMARA遺伝子をPCR法にて増幅後、キャピラリー電気泳動法に

よるクローン性の検索を行った。また、抽出RNAからcDNAを合成し、T細胞受容体レパトアを解析した²⁾。表面形質は溶血法により白血球浮遊液を作成し、FACScaliburで解析した。

C. 研究成果

CD28陽性ナイーブTリンパ球の減少はCD4群に比べてCD8群で顕著であった(図1)。健常女性においてはX染色体不活化が25%以上偏ったため正常対照として不適となった例数はCD4群で4名、CD8群で9名であった(図2)。TCRβのレパトア数を検討するとCD8群で有意に多様性が減少していた。MDSではCD4、CD8群とも同一の2例に偏りを認めた。検討可能であった残りのMDS11例中7例で顆粒球分画のクローン性を検出可能であった。

D. 考 察

CD28陽性細胞数の減少およびT細胞受容体レパトアの多様性の縮小より、CD8リンパ球においては健常人でも加齢によるナイーブTリンパ球の減少が顕著であると推測された。

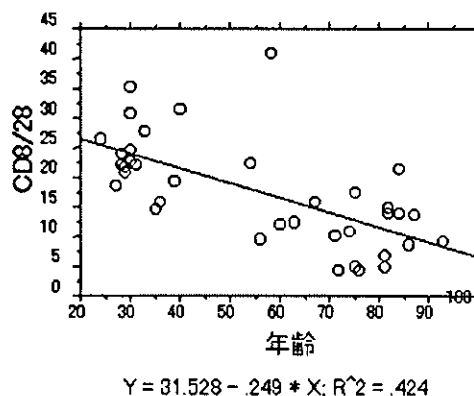
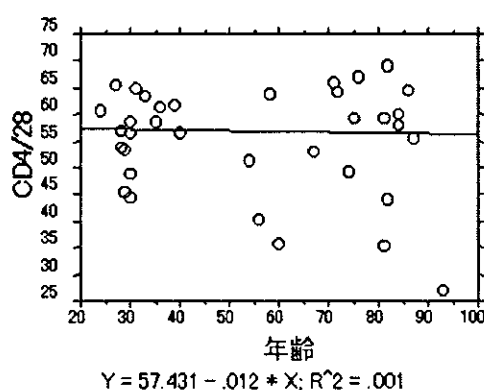


図1. CD4およびCD8Tリンパ球における加齢によるCD28陽性細胞比率の減少

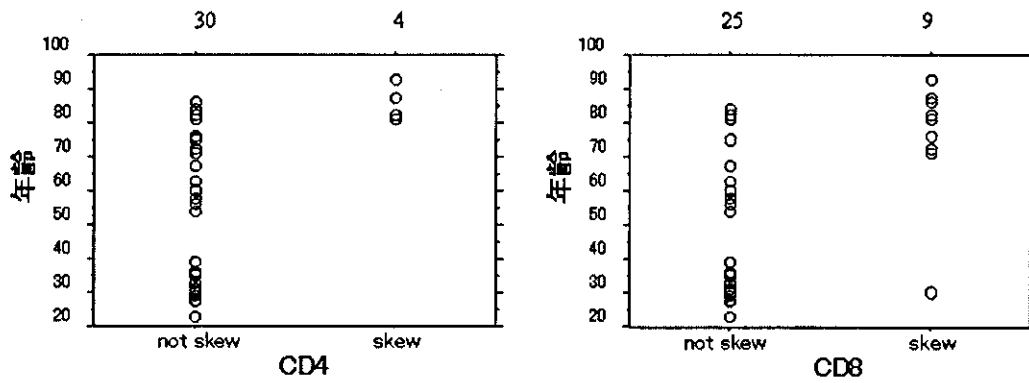


図2. CD4 および CD8T リンパ球における年齢と X 染色体不活化の偏り

E. 結 論

X 染色体不活化現象を指標としたクローン性の判定法の正常対照としては CD4 リンパ球が CD8 リンパ球より適当であると思われる。

F. 健康危惧情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1. 46th Annual Meeting of the American Society of Hematology. Abstract#3847 Better control for methylation-based clonal assay, CD4 or CD8 lymphocytes.

H. 知的所有権の取得状況

なし

I. 参考文献

1. Karasawa M et al: Int J Hematol 74: 281-286, 2001
2. Karasawa M et al: Br J Haematol 123: 613-620, 2003

造血器疾患における血清 SCGF 定量の意義

伊東 千絵、安藤 潔、堀田 知光

東海大学 血液腫瘍リウマチ内科

研究要旨 Stem cell growth factor (SCGF) は、1997 年に平岡らにより白血病細胞株の培養上清から遺伝子クローニングされた新規造血因子であり、我々は血清 SCGF が、骨髓中の造血機能を反映していることを示した。今回は、血液疾患患者の中でも、骨髓球系に異常を来す種々の疾患において、血清 SCGF 値を測定した。その結果、再生不良性貧血 (AA) のような骨髓低形成の状態では健常人に比べ有意に低値をとり、骨髓における芽球産生の亢進している骨髓異形成症候群・慢性骨髓性白血病などでは芽球が増えるにつれ高値をとっていた。また急性骨髓性白血病 (AML) では、発症時に比べ完全寛解期に有意に低値となり、再発時には再び上昇していた。骨髓での造血機能の変動を予測できる可能性があることから、今後は再生不良性貧血 (AA) での診断や治療効果判定法として、また MDS/AA の治療方法を選択する上での補助因子となりうる可能性が示唆された。

A. 研究目的

Stem cell growth factor (SCGF) は、1997 年に平岡らにより白血病細胞株の培養上清からクローニングされた新規造血因子であり、試験管内でコロニー形成支持能を有する。

我々は、SCGF の ELISA 法による測定系を確立し、実際に造血幹細胞移植後の患者血清を定量し、血清中の SCGF 値が移植後の骨髓回復の評価因子となりうる可能性を見いだした。さらに、SCGF が骨髓中の CD33⁺、34⁺ 前駆細胞群で発現されていることを確認した。

また、各種血液疾患において血清 SCGF 値を測定したところ、白血病では著明に高く、再生不良性貧血では有意に低値を示し、慢性骨髓性白血病 (CML) や骨髓異形成症候群 (MDS) では、芽球が増えるにつれ高値をとる傾向がみられた。これより、血清 SCGF 定量が再生不良性貧血 (AA) と MDS の鑑別のための補助診断として、また白血病における治療効果判定因子などに有用である可能性が考えられた。

本年はさらに、血液疾患患者の中でも、骨髓球系に異常を来す種々の疾患において、血清 SCGF 測定の意義につき再検討を行った。

B. 研究方法

対象は、AA 11 例、MDS 19 例 (RA 5 例、

RAEB・RAEB-t 5 例、overt 5 例、CMML 4 例)、急性骨髓性白血病 (AML) 21 例 (M1 4 例、M2 11 例、M3 3 例、M5 3 例)、慢性骨髓性白血病 (CML) 11 例 (慢性期 5 例、移行期 2 例、急性転化 4 例) とした。

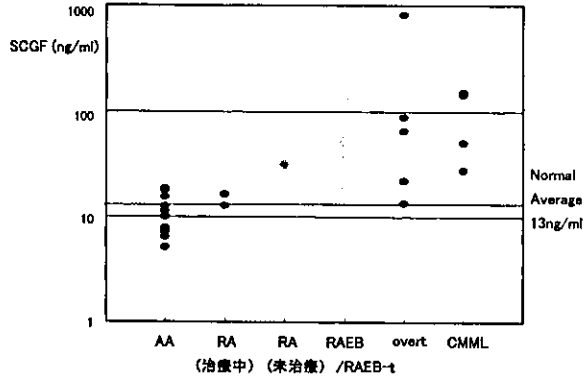
方法は、AA では初発未治療時に、MDS では免疫抑制療法中の 5 例を除く 14 例においては初発未治療時に血清を採取し、ELISA 法により血清 SCGF 値を測定した。MDS (RA) 5 例のうち初発未治療時の 2 例と、免疫抑制療法中の 3 例での血清 SCGF 値につき比較検討を行った。CML では、9 例は初発未治療時に、2 例では治療中止後の血清を採取し SCGF を測定した。AML では、19 例では初発未治療時、残り 2 例は初回再発時に血清を採取し SCGF 測定を行った。また AML 症例のうち 10 例においては、治療により完全寛解となった後に再度血清を採取し、治療前後の血清 SCGF 値を比較し検討を行った。さらに 3 例では、その後の治療経過中にも血清採取を続け、治療経過と SCGF との関係につき比較検討を行った。

C. 研究成果

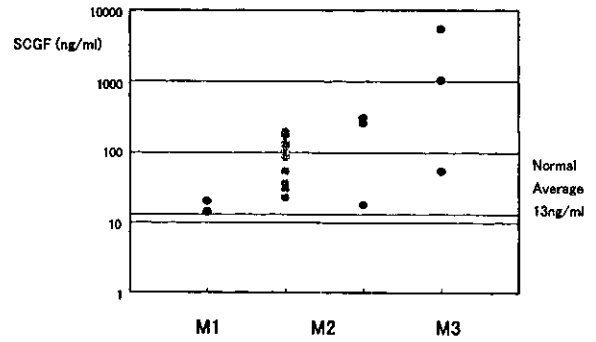
AA では、健常人と比べ低値であり、未治療 RA およびその他の MDS に比べ、低値となる傾向が見られた (P=0.05)。

MDS では、RA で低く、RAEB/RAEB-t と芽球

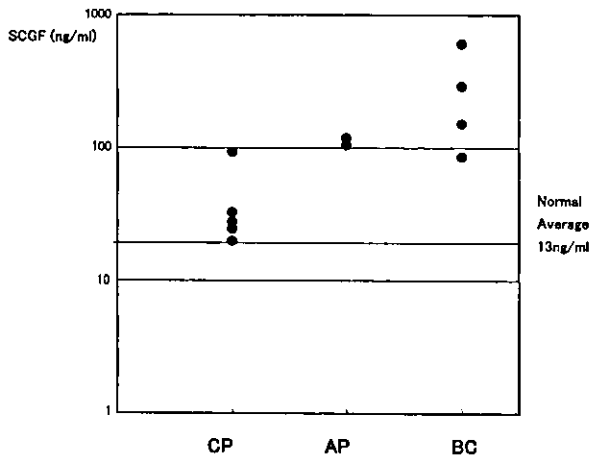
AA/MDS における血清 SCGF 値



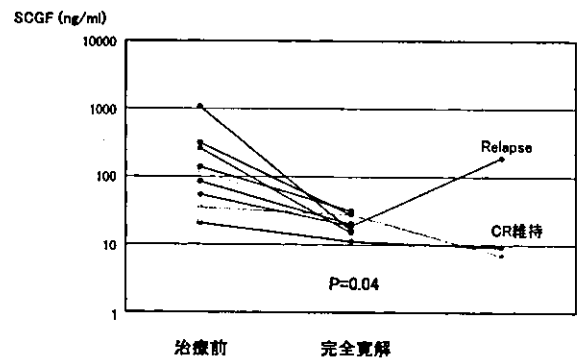
AML における血清 SCGF 値



CML における血清 SCGF 値



白血病治療経過に伴う SCGF の変動



が増えるにつれ高値をとる傾向がみられた。また RA では、免疫抑制療法開始後の症例で、未治療例に比べ低値を示していた。

CML では、CP、AP、BC となるにつれ、次第に上昇する傾向が見られ、BC 群では有意に CP 群に比べ高値を示した。(P=0.02)

AML では M1 で低く、M2、M3、M5 と分化が進むと、高値をとる傾向が見られた。

また治療前後を比較すると、完全寛解期には治療前に比べ、有意に血清 SCGF 値が低下していた (P=0.04)。さらにその後の経過を追ったところ、寛解を維持している 2 症例では、地固め・維持療法を続けるにつれ SCGF 値は正常値となった。一方地固め療法中に再発した症例では、再び SCGF は増加した。

D. 考 察

造血幹細胞移植後の血清 SCGF の変動は、移植後の骨髓機能の回復を反映しており、また SCGF は骨髓中の CD33⁺、34⁺ 前駆細胞群で発現されていたことより、骨髓中の造血機能を反映していると考えられている²⁾。

今回の結果からも、血清 SCGF 値は骨髓における造血前駆細胞を反映し、AA のような骨髓低形成の状態では健常人に比べ有意に低値をとることが示唆された。

また MDS や CML では、芽球が増えるにつれ高値をとっており、骨髓における芽球産生の亢進を反映していると考えられ、治療経過および予後の判定に利用できる可能性が示唆された。

AML では、発症時に比べ完全寛解期に有意に低値となり、再発時には再び上昇したことより、

治療効果判定および再発の早期診断に有用なマーカーとなる可能性が示唆された。

今後は、健常人とのカットオフ値を設定することにより、血清 SCGF 定量を AA の診断法として利用できる可能性が示唆される。また AA と MDS の鑑別のための補助診断として、また白血病における治療効果判定因子などに有用である可能性が考えられる。

E. 結 論

血清 SCGF 値は、骨髄中の造血機能を反映するとともに、骨髄における白血病細胞の増加も反映していると考えられた。AA/MDS における診断・治療において利用できる可能性が考えられた。

F. 研究発表

1. 学会発表

1. 伊東千絵, 安藤潔, 堀田知光, 佐藤秀尚, 守田和樹, 河野弘明: 白血病の診断, 治療における血清 SCGF 定量の有用性. 第 66 回日本血液学会総会, 2004 年発表

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

発明の名称: 白血病、前白血病または非白血病性悪性血液疾患の判定方法及び診断薬

出願番号: 特願2002-106786号

出願日: 平成14年4月9日

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

H. 参考文献

1. Hiraoka A, Sugimura A, Seki T, et al. Cloning, expression, and characterization of a cDNA encoding a novel human growth factor for primitive hematopoietic progenitor cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 94: 7577-7582, 1997
2. Ito C, Sato H, Ando K, et al. Serum stem cell growth factor (SCGF) for monitoring hematopoietic recovery following stem cell transplantation (SCT). Bone Marrow Transplant 32: 391-398, 2003

特発性造血障害における Positron Emission Tomography (PET) 検査の有用性に関する検討

小澤 敬也¹、高德 正昭¹、佐藤 俊彦²、永井 正¹
自治医科大学 内科学講座血液学部門¹、宇都宮セントラルクリニック²

研究要旨 再生不良性貧血 (AA) と低形成骨髄異形成症候群 (MDS) の鑑別は、骨髄病理所見や MRI などの解剖学的画像所見だけでは診断困難なことがある。今回我々は、組織機能を描出できる PET に注目し、その有用性を検討した。対象は AA 患者 4 例、低形成 MDS 5 例、および健常人 30 例。FDG-PET、CT、MRI、骨髄生検を行ったところ、PET の取込み値 (SUV: Standardized Uptake Value) は、AA では健常人と同程度であり、MRI 画像で鑑別困難な低形成 MDS では健常人に比べて有意に高かった。PET が AA と低形成 MDS の鑑別に有用である可能性が示唆された。

A. 研究目的

PET は細胞のグルコース代謝率を組織機能画像として描出できるアイソトープ診断法の一つである。造血器疾患では悪性リンパ腫の診断に対する PET の有用性は既に広く認められている。本研究では、骨髄生検や CT/MRI などの従来の検査方法だけでは鑑別が難しいことがある再生不良性貧血 (AA) と低形成骨髄異形成症候群 (MDS) に対して、骨髄機能イメージとしての fluorine-18 fluorodeoxyglucose (FDG) -PET 画像が、鑑別診断に有用性を発揮するかどうかを最適化条件も含めて検討した。

B. 研究方法

AA、MDS、MPD を対象とし、骨髄検査、FDG-PET、MRI、CT 検査を行った。

PET は 18F-FDG (0.12 mCi/kg) を静注し、腫瘍病変をより高感度に描出できる早期相 (60 分後) と晚期相 (120 分後) の 2 回スキャン法 (Dual time scanning) を行い、それぞれの SUV を計算した。さらに二相間での SUV の減衰パターンを比較検討した。

骨髄の MRI および CT 撮影も同日に施行し、PET 所見との比較を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は、本学生命倫理審査委員会承認された臨床研究実施計画書 (承認番号 03-66) に基づき、研究参加者には文書で同意を取得して実施した。

C. 研究成果

全身 PET (機能画像) と CT 画像 (解剖学的画像) を融合して行ったマッピングの結果、骨髄の評価は腰椎と腸骨が適していることが判明した。このため、健常人と AA および低形成 MDS の比較は腰椎と腸骨部を用いて行った。

表 1 には第 4 腰椎部の平均 SUV を示した。AA では健常人と SUV において差はみられなかった。一方、MDS 症例では、早期相および晚期相において全例が健常人の SUV より高い値を示し、骨髄内細胞増殖の亢進を示唆した。

また、健常人や AA では晚期相で SUV が減衰していたのに対し、MDS においては SUV が晚期相においても減衰がみられず、正常な糖代謝とは異なる腫瘍性病変のイメージを示した。

MRI 画像では、AA および低形成 MDS の両者共、T1 強調で増強される脂肪髄パターンを示し、鑑別は困難であった。

表 1 腰椎 (L4) の SUV 平均値

	SUVmean (early)	SUVmean (late)
健常人(N=30)	1.123 ± 0.219	1.180 ± 0.119
AA 1	0.998	0.981
AA 2	1.265	1.230
AA 3	1.063	1.002
AA 4	1.106	0.997
MDS 5	1.796	2.046
MDS 6	1.566	1.587
MDS 7	2.321	2.523
MDS 8	1.323	1.466
MDS 9	2.055	2.126

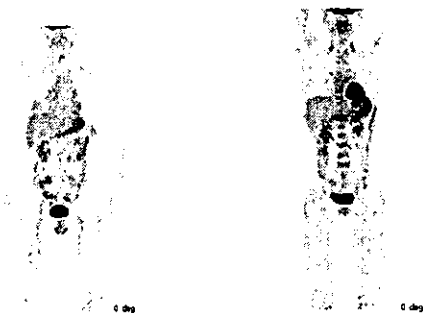
腰椎の SUV 2 回測定平均値を示す。early, late はそれぞれ 60 分値、120 分値
AA: aplastic anemia, MDS: myelodysplastic syndromes, SUV: standardized uptake value.

D. 考 察

骨髓病理検査は造血器疾患の確定診断を行う上で、最も確実な方法である。しかし、これは骨髓採取部位局所の情報に限られ、全身的な骨髓病変を必ずしも反映しない。これを補う目的で解剖学的画像診断法（CT、MRI）が用いられているが、AA と低形成 MDS のように鑑別困難な場合がある。そこで今回、既存の検査に PET 情報を組み込むことで、さらに鑑別診断の精度を向上させられるかどうか検討した。

FDG-PET は、組織の糖代謝パターンの差を機能画像として描出するものであるが、今回は骨髓内イメージを鑑別診断に利用した。造血巣に焦点を当てた PET 全身マッピングはこれまで報告がないが、我々の検討では腰椎と腸骨部の SUV が造血をイメージするのに最も適切と思われた。次に、早期と晩期相の二回スキャニング法は、微少な腫瘍細胞を検出するのに優れていると報告されているが、我々の検討でも骨髓内の腫瘍性増殖と正常造血パターンとの差異がより明確にできる可能性を示した（表1）。

また、今回の研究において、PET 検査で髄外造血巣への集積が確認され、種々の造血器障害の診断や病態予測にも有用である可能性が示唆された。



AA 1: 全脊椎に PET の取り込みはない
MDS 7: 全脊椎で PET の取り込みあり

図1 PET での鑑別診断

E. 結 論

既存の診断法に PET を併用することで、鑑別困難なことが多い AA と低形成 MDS の鑑別診断に有用な情報が得られる可能性が示唆された。

F. 健康危機情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

1. Takatoku M, Nagashima T, et al. Usefulness of FDG-PET (positron emission tomography) in the discrimination between hypoplastic myelodysplastic syndromes and aplastic anemia. The 46th annual meeting of the American Society of Hematology, Abstract 4738, Blood 104: 268, 2004.

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

I. 参考文献

1. 佐藤俊彦: 臨床家のための Clinical PET. Digital Medicine, 2004