

5) 支持療法とは

腫瘍細胞を根絶することはなかなか難しいのですが、腫瘍細胞に対する治療以外に、少なくとも現在起きている症状を軽減するため、あるいは予防するために、積極的に行うべき治療法がいくつかあります。これを支持療法といいます。

多発性骨髄腫では、感染症を起こしやすくなっています。よく見られるのは細菌感染症ですが、感染症を起こした場合には早めに抗生物質を使います。

また、細菌を貪食する好中球の数が少なければ、好中球の数を増やすためにG-CSFという薬を使います。そして、血液中の正常ガンマグロブリンが少なくなっていれば、ガンマグロブリンを点滴します。そのほか、貧血が進行すれば、赤血球輸血を行い、血小板数が極端に減っていれば、血小板輸血を行います。

支持療法で問題となるのは、骨の痛みです。骨がつぶれたり、あるいは骨折したりすることにより、腰痛や肋骨痛などが起こります。対症療法として通常の痛み止めを使いますが、痛みがひどい場合は麻薬を積極的に使います。その副作用で吐き気や便秘が起こることもあるので、同時にこれらの予防薬も使います。最近では、皮膚に貼る麻薬もあり、使いやすくなっています。

また、予防として骨を丈夫にするために、通常使われる骨・カルシウム代謝薬のほかに、骨を融かす原因となる破骨細胞の働きを抑えるビスフォスフォネート製剤が有効です。さらにこの薬には、腫瘍細胞そのものの増殖を抑えるという効果もあると考えられています。現在、さらに強力なビスフォスフォネート製剤が開発中とのことで、今後期待される薬といえそうです。

【表4】 治療の副作用

治 療 法	副 作 用
抗がん剤一般	白血球減少による感染症、貧血、血小板減少による出血
化学療法 プレドニゾン、デキサメサゾン	糖尿病、感染症、骨粗鬆症、ムーンフェイスなど
ビンクリスチン	手足のしびれ
アドリアマイシン	心筋障害、脱毛など
インターフェロン療法	発熱、倦怠感、抑うつ状態など
サリドマイド	眠気、便秘、手足のしびれなど
造血幹細胞移植	多彩な強い副作用
支 持 療 法	用いる薬により大いに異なる

●日常生活におけるアドバイス ⑤

— 一般的な注意事項 —

骨がもろくなって骨折しやすいため、転ばないように気をつけてください。また、感染症にかかりやすくなっているため、早めに抗生物質を使う、高熱が出たらすぐ主治医に連絡するなどの対策が必要です。そのほか、腎臓の働きが悪くなりやすいため、脱水を避け、腎臓に負担がかかる抗生物質などの薬の使い方に気をつけてください。腰痛などの痛みが強いときは、我慢しないで医師に相談することが大切です。

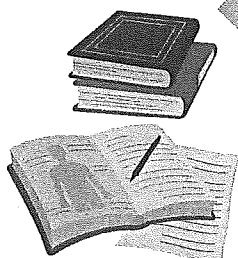
■ 運動での注意事項：無理のない範囲で、できるだけ体を動かすようにしてください（動かさないと、骨がさらにもろくなります）。

■ 食事での注意事項：普通食で大丈夫です（ただし白血球が極端に少ないときは、寿司や刺身などの生物を控えて下さい）。治療当日は軽めにして、直前の摂取は避けてください。治療後に吐き気強いときは、無理に食事をしなくても良いのですが、水分はとるようにしましょう。

■ 仕事での注意事項：病気の状態により異なります。症状が軽い場合は、通常の仕事は可能ですが、腰痛がひどくなったり、腎臓が悪くなったり、感染症にかかったりした場合は、主治医と相談して仕事量を控えるようにしてください。

6) 治療の副作用

治療の副作用は、各治療法や使用する薬によって異なります（表4）。とくに注意が必要なのはサリドマイドを使用する場合で、妊婦が服用すると奇形児が生まれるという重大な副作用のほか、眠気、便秘、しびれ、皮疹などの副作用があります。そのため、注意深く使う必要があります。また、途中で服用を中止したときは残りの薬を回収する方がよく、薬の管理に注意することが重要でしょう。



血液よもやま話

α_2 -プラスミンインヒビターの発見

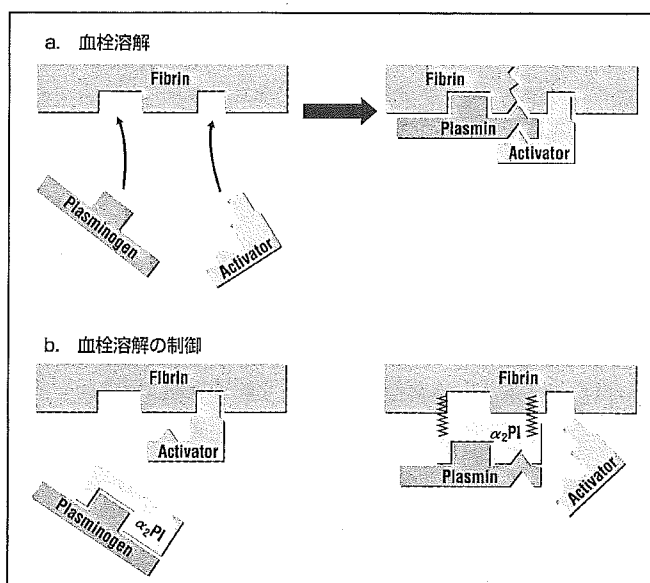
東京医科歯科大学・自治医科大学名誉教授
青梅市立総合病院顧問

青木 延雄
Nobuo Aoki

今から27年前の1976年に、自治医科大学の1研究室で新しいフィブリン溶解の阻止因子がヒト血漿より分離され、その性状が解明された。 α_2 -プラスミンインヒビター(α_2 PI)と名付けられた(別名 α_2 アンチプラスミンあるいは単に血漿プラスミンインヒビターとも呼ばれている)。それから3年後の1979年に、沖縄の患者から α_2 PIの遺伝的欠損症の世界第1例が発見された。これらの発見は、血栓溶解機構の理解に革命的な進歩をもたらしたと言っても過言ではない。 α_2 PIの発見以前は、血栓の溶解は病的な現象とみなされていた。たとえば、実験的に動物にショックを起こさせるとフィブリノゲン・フィブリンの溶解が起こり、試験管内で形成された凝塊も溶けてゆくことが観察される。類似の現象が臨床的に大きな外科手術後、ショック患者などで報告されていた。し

かし、 α_2 PI欠損患者では、採血された血液は試験管内で正常通り凝塊を形成するが、健康状態でも形成された凝塊は自然に数時間で完全に溶解する。止血のために形成された止血栓も数時間で自然に溶解するため、再び出血が始まる。 α_2 PIが存在しないと、生理的に備わったフィブリン溶解機構が順調に作動し、一旦形成したフィブリンが溶けるのである。すなわち、血栓溶解は必ずしも病的現象ではなく、生理的な機構として存在することが判明した。

この生理的血栓溶解機構は、単にフィブリンが析出する(凝固が起きる)だけで始動する。フィブリンが析出すると、血管内皮から循環血中に分泌されているプラスミノゲン・アクチベータ(プラスミノゲン活性化酵素)がフィブリンに吸着し、同じくフィブリンに吸着したプラスミノゲンをフィブリン上で蛋白分解酵素プラスミンに活性化し、生じたプラスミンがフィブリンを分解する(図a)。これが生理的血栓溶解機構である。 α_2 PIは、このフィブリン上でのプラスミンの形成と、プラスミンのフィブリン分解を制御しているのである。すなわち、 α_2 PIは、プラスミノゲンがフィブリンに吸着するのを競合的に阻害し、また、凝固の際に活性化したXIII因子によってフィブリンに共有結合で架橋結合しフィブリンをプラスミンの蛋白分解活性から保護する(図b)。活性化XIII因子によるフィブリンへの結合が、 α_2 PIが単なるプラスミン・インヒビターではなく、フィブリン溶解の制御因子であることを特徴付けている。このような機序で止血栓は通常安定化されて、損傷血管の修復すなわち完全止血に至るものと考えられる。しかし、 α_2 PIの血中濃度はプラスミノゲンの血中濃度の1/2~1/3程度でしかなく、全体として血栓溶解阻止よりも、むしろ、血栓溶解に傾いていると考えられる。血栓が自然に溶解し、血管が再疎通することが血管造影で時折観察されることがあるが、これも生理的血栓溶解によるものであろう。出血傾向を起こさせない程度にまで α_2 PIを減少させておく手段があれば、常に血栓溶解を優位な状態に置くことができ、血栓症の予防あるいは治療に有効であろうと想像することも、あながち、荒唐無稽な夢とは言い切れないであろう。



【図】 生理的血栓溶解機序とその制御反応

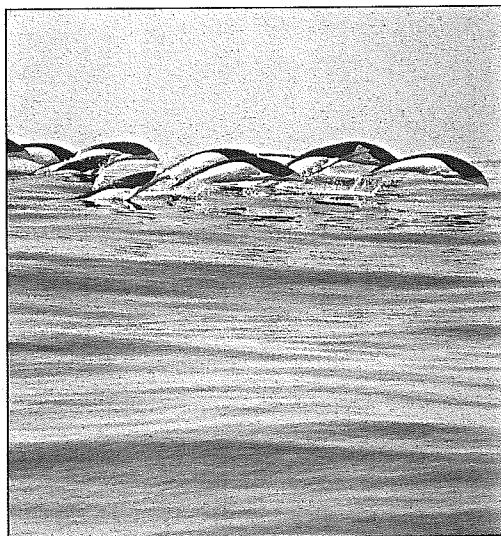
● 編集顧問

高久 史彦： 自治医科大学学長
齋藤 英彦： 国立名古屋病院院長

● 編集委員

堀田 知光： 東海大学医学部長、
血液・腫瘍・リウマチ内科教授
上田 龍三： 名古屋市立大学医学研究科臨床分子
内科学(第二内科)教授、病院長
押味 和夫： 順天堂大学医学部血液内科教授
大屋敷一馬： 東京医科大学第一内科教授
畠 清彦： 癌研究会附属病院化学療法科部長

表紙photo



ニュージーランド南島の都市クライストチャーチから約200キロ北に位置する小さな町カイコウラ(Kaikoura)は、クジラやイルカが見られるホエール・ウォッチングの場所として世界的に有名である。背びれのない背中と、白と黒のコントラストがきわだつシロハラセミイルカは、深海を生活圏とする謎の多いイルカであるが、南半球の初秋から冬にかけて、このカイコウラで貴重な姿を見ることができる。真冬では珍しく穏やかに晴れた日、500頭を超える群れが現れた。数頭のイルカが一直線に並びいっせいに跳び出した。

● 発行：オーシーシー・ジャパン株式会社

☆本誌の内容を許可なく複製、転載することを禁じます。

※この雑誌に関するお問い合わせ等は、下記にご連絡ください。
オーシーシー・ジャパン株式会社 『Front Wave in Hematology』編集部
〒153-0052 東京都目黒区祐天寺2-8-16 KITビル
TEL: 03-5721-0451 FAX: 03-5721-0445

撮影者： TOOD PUSSEY
タイトル： カイコウラのシロハラセミイルカ
提供： NATURE PICTURE LIBRARY
ネイチャー・プロダクション

分子細胞治療

別 刷

発行：株式会社 先端医学社
〒103-0004 東京都中央区東日本橋1-9-7 G1 東日本橋ビル

特集

ゲノム創薬と医療

■
間野博行

MANO Hiroyuki

自治医科大学ゲノム機能研究部

序文 —ポストゲノム時代の医療—

ヒトゲノムの全塩基配列を決定し、その全遺伝子構造を明らかにする壮大なプロジェクトである「ヒトゲノムプロジェクト」の最初の成果が、2001年2月に「ドラフト配列」として公表された。かつては夢物語であった「 3×10^9 塩基対の最終決定」がおそらく2003年中には現実のものになるであろう。しかしながら「塩基配列の決定」とそこに存在する「全遺伝子構造の解明」とにはいぜん大きなギャップがある。現段階の塩基配列が不完全であり、また配列からエクソン・イントロンを予測するプログラムがいまだ不正確であるために、配列中に埋め込まれた遺伝子を完全に予測することは困難である。この点では完全長 cDNA プロジェクトなどによる mRNA 情報が重要な役割を担うであろうし、またマウスやチンパンジーなどほかの種のゲノム情報との比較も役立つであろう。

ヒトがもつ全遺伝子数についても、ドラフト配列から3～4万種類程度と予想されているだけで、だれもその真実の姿を知らない。「遺伝子」についても、われわれが一般的に考える「蛋白質をコードする単位」としての遺伝子以外に、たとえば RNA をコードするだけの遺伝子などがどの程度存在するのかも不明である。このように、配列の決定だけではポストゲノム時代とよぶには時期尚早である。

しかしながら同時に、ドラフト配列の公表が医学・医療に決定的なインパクトを与えたことも間違いない。ゲノム配列の完全版の作成や、配列への遺伝子の割り付けが完成するものも所詮時間の問題であるし、NCBI や Ensembl などの公的データベースは日々改訂されている。ポストゲノム時代がまもなく訪れると仮定したうえで、21世紀の医学・医療はすでに大きく動きは始めているのである。実際にヒトゲノムの解明が医学・医療に

もたらす影響は甚大であるが、それには具体的に二種類の方向性があると思われる。

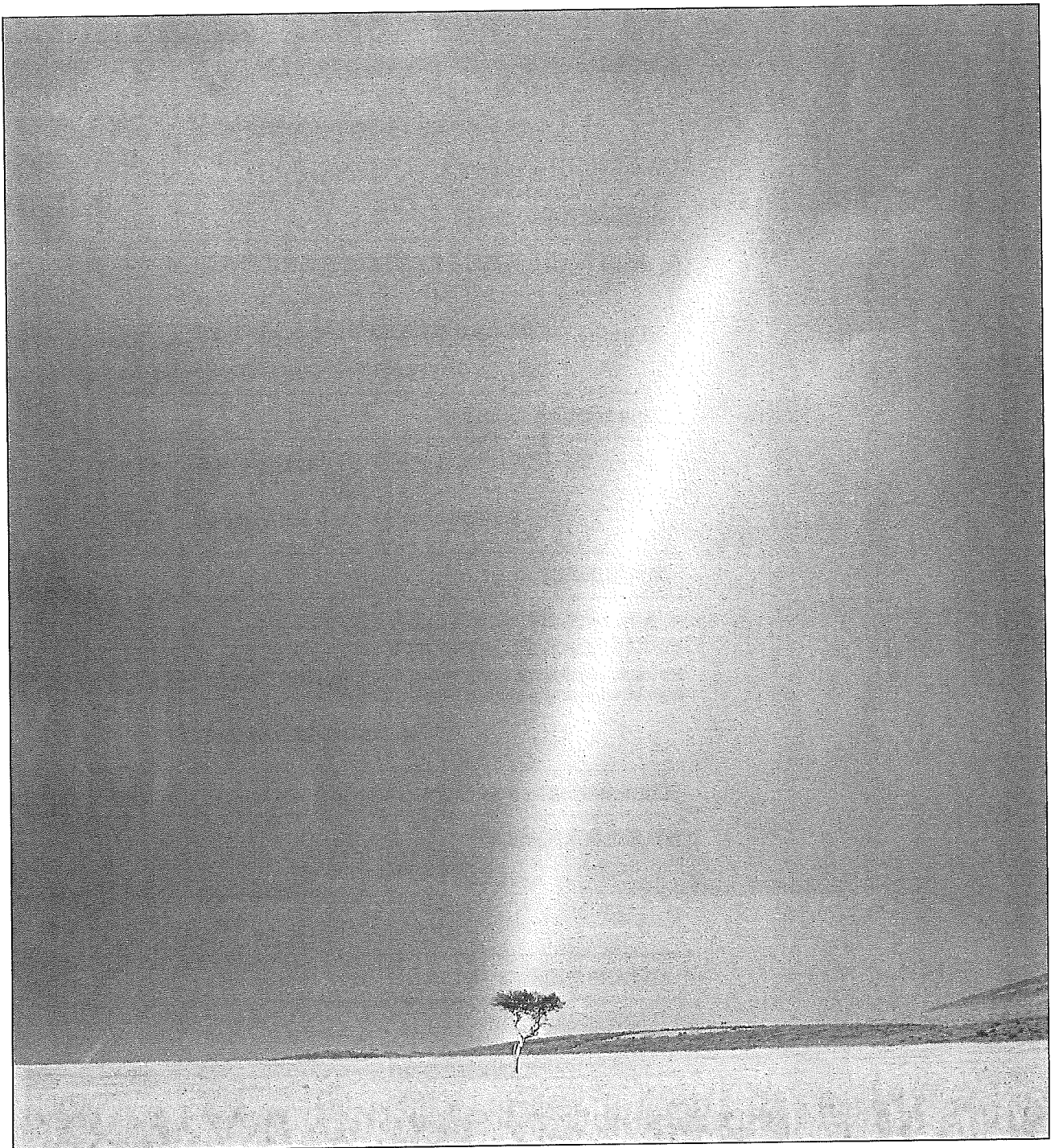
その一つは個人のもつ先天的なゲノムの多様性・個性の解明である。ヒトゲノムの配列は各個人間で完全に同じではなく、たとえばアングロサクソンとコーカシアンでは人種特異的な塩基配列の違いが存在することが知られる。またたとえば同じ日本人のなかでも地域によって固有の塩基配列の多型があり、さらに部分的には各家系、個人にも固有の配列多型がある。一塩基多型(single nucleotide polymorphism: SNP)を含むこれら遺伝子配列の多様性が個人の遺伝的個性を決定していると考えられる。高血圧、動脈硬化症、糖尿病など生活習慣病の多くは多因子の遺伝的異常を背景として発症することが知られているが、SNPなどの遺伝的多様性自体がこれら疾患の発症素因をかたちづくっていると考えられている。またこれら遺伝子多型は薬剤感受性あるいは薬剤の副作用発症においても重要な役割を担っており、たとえば薬剤関連遺伝子多型をあらかじめ検査することで副作用の発生を最小限にとどめるような治療も将来的には可能になるであろう。

ポストゲノム時代の医学・医療における第二の重要な方向性は、疾患の病態理解における飛躍的な前進である。SNPなどの遺伝的個性を明らか

にすることは重要であるが、一方、それだけでは患者に最適化した医療の実現には不十分であろう。遺伝子多型はあくまでstaticな素因を明らかにするのみであり、日々変化する疾患責任細胞・組織の遺伝子変化のリアルタイムな定量的把握は、任意の患者の任意の時期における治療方針を決定するうえで不可欠である。ダイナミックに変化する後天的遺伝子変化をリアルタイムで明らかにすることが、staticな遺伝子変化であるSNPの解明と補完しあうことではじめて真のテーラーメイド・オーダーメイド治療が可能になると予測される。具体的には、DNAマイクロアレイやSAGE法などのゲノミクス技術と、質量分析法などのプロテオミクス技術がその中心的役割を担うと予想される。これらの技術は疾患の病態理解に役立つだけでなく、疾患の分類あるいは疾患概念自体に変化をもたらす、また新しい分子診断法もつぎつぎと提案されていくであろう。

本特集では、これらの分野で最先端の業績をあげられている方々にご執筆いただいた。ポストゲノム時代はある意味で「特許獲得戦争」の時代でもある。特集記事をごらんになって少しでも多くの方がポストゲノム時代の医学・医療に興味をもち、日本発の独創的な研究に参画されることを期待したい。

FRONT WAVE **in** HEMATOLOGY



CONTENTS

Introduction

1

血液学の発展の歴史を振り返って

自治医科大学学長 高久 史磨

写真で見る血液癌／Case Report

2

膿胸関連リンパ腫 (pyothorax-associated lymphoma ; PAL)

九州大学大学院医学研究院病態修復内科学医員 平安山英穂
教授 原田 実根

血液腫瘍治療の最前線

4

In vitro, *in vivo* における造血幹細胞の増殖法の確立による臨床応用

京都大学大学院医学研究科発達小児科学教授 中畑 龍俊

Diagnostics Update

8

DNAマイクロアレイの基礎と実際(2)－発現解析の実際：データの抽出－

自治医科大学医学部ゲノム機能研究部教授 間野 博行

海外臨床報告

10

未治療の慢性期慢性骨髄性白血病に対するイマチニブとインターフェロン α
および少量シタラビン併用の比較

Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia (N Engl J Med 348:994-1004, 2003)

浜松医科大学第三内科助教授 大西 一功

Communication with Patients－患者さんへの説明用資料としてご使用下さい

12

急性前骨髄球性白血病

癌研究会附属病院化学療法科部長 畠 清彦

血液よもやま話

16

ATL発見から4半世紀

(財) 田附興風会医学研究所北野病院理事 高月 清
熊本大学名誉教授

血液学の発展の歴史を振り返って

私が、「日本臨牀」誌に依頼されて、2000年に『20世紀の回顧と21世紀への展望—血液学—』を執筆した時に痛感したことは、近年は、血液学が内科学を常にリードしてきたということであった。その一部をご紹介しますならば、造血幹細胞という形で成人の体内に幹細胞が存在していることを示し、その造血幹細胞の移植である骨髄移植によって様々な疾患の治療が可能であることを示したのは、まさしく血液学の研究者であった。

また、エリスロポエチン、G-CSF等の造血因子が各種成長因子の中で最も早く発見され、しかも、現在極めて広範な臨床的応用が行われている点も特記すべきことである。

その他、白血病に関しても、Ph¹染色体の発見は腫瘍と染色体の変化を直接関連づける最初の出来事であり、白血病に対する化学療法が、その後の各種腫瘍に対する化学療法のモデルとなったことも周知の如くである。そして、腫瘍細胞の分化とその分化の治療への応用も前骨髄性白血病に対するATRAの有効性の証明によって、可能になったことは記憶に新しい。

『20世紀の回顧と21世紀への展望—血液学—』を執筆してから、まだ3年弱しか経っていないが、その間の血液学の進歩には目を見張るものがある。幹細胞に関しては、骨髄中のmesenchymal stem cell (MSC)の多能性、骨髄中のhemangioblast由来の内皮細胞前駆細胞(EPC)を利用した閉塞性血管障害の治療等、最近の話題にはこと欠かない。この他、臍帯血の臨床応用に関しても大きな期待がもたれている。

ゲノムに関しても、DNAチップを利用したdiffuse large B-cell lymphoma (DLBCL)の治療方針の決定などが話題になっているが、pharmacogeneticsに関して最も関心を集めているのはイマチニブメシレイト (Glivec/Gleevec)である。イマチニブメシレイトは、すでにCML治療の第一選択薬となっているが、最近になってidiopathic hypereosinophilic syndromeや多剤抵抗性c-kit⁺ AMLにも有効なことが分かっている。さらに、PDGF レセプター活性の抑制を介して、血管平滑筋細胞の増殖ひいては動脈硬化に対して予防的に働くことも報告されている。このように、イマチニブメシレイトの臨床応用は、今後ともますます広がることが十分に予想される。

以上のような血液学の発展の歴史の中で、日本の血液学者も様々な貢献をしてきた。その一部は、本誌「Front Wave in Hematology」の中で『血液よもやま話』として紹介されている。それらの話が、血液学を目指す若い方々の刺激になることを切に期待している。

自治医科大学学長 高久 史磨

写真で見る
血液癌
Case Report

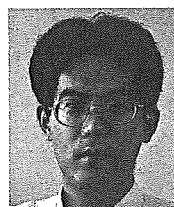
膿胸関連リンパ腫 (pyothorax-associated lymphoma ; PAL)

九州大学大学院医学研究院
病態修復内科学医員

平安山英穂

教授 原田 実根

Hideho Henzan / Mine Harada



Hideho Henzan



Mine Harada

結核性胸膜炎や人工気胸後の膿胸壁に発症する悪性リンパ腫は、わが国で多く報告されており、大部分がB細胞性で、22～55年(平均33年)の慢性膿胸の経過後に発症しpyothorax-associated lymphoma (PAL)と呼ばれる。PAL発症には、Epstein-Barr virus (EBV)の関与が示唆されている。ここでは、血中EBV DNAで治療経過をフォローしたPAL症例を呈示する。

症例：74歳男性。1950年頃結核性胸膜炎に罹患し、加療歴あり。1999年頃より血痰が出現。2002年1月より発熱が出現。2002年4月、右上胸膜の肥厚、石灰化、胸膜腔の空洞形成と液体の貯留を認めた。空洞の上部に直径6cmの軟部組織を認めた。肝右葉に直径14cmの腫瘤があり、直接浸潤の所見であった(図1)。

WBC 5,910/ μ L (St 0.5%, Seg 68%, Ly 6%, Mo 25%, Eo 0.5%), Hb 7.7g/dL, Plt 29.6×10^4 / μ L, LDH 500U/L, EBV: EA IgG (+), VCA IgG (+), VCA IgM (-), EBNA IgG (+), VCA IgA (-), EA-DR IgA (-)。右側胸部皮下腫瘤生検により、悪性リンパ腫と診断(図2a)。

結核性胸膜炎後の慢性膿胸、組織の免疫染色でEBV遺伝

子の発現が見られたことから(図2b～e)、PALと診断した。THP-COPによる化学療法を開始したが、施行後10日頃より発熱の再燃とLDH値の再上昇傾向を認める経過を繰り返した。

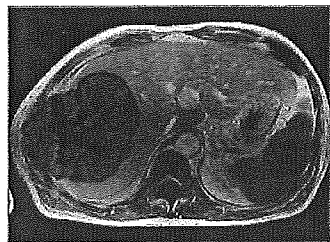
また、血漿中のEBV DNAコピー数は、治療経過と関連した。腫瘍細胞はCD20陽性であったことから、抗CD20抗体 rituximabを併用した。その後、全肺野+膿胸腔、肝臓の局所に対する放射線療法を併用した。THP-COP 5コース+16Gy照射後の時点でLDHの正常化を認め、血漿中のEBV DNAコピー数も測定感度以下まで低下した(図3)。

考察：結核性胸膜炎や人工気胸後の膿胸壁に発症した悪性リンパ腫は、わが国で多く報告されてきた¹⁾。青笹らは、リンパ腫が慢性膿胸患者の2.2%に発症すること、胸膜腔から発生するリンパ腫はすべて慢性膿胸患者からのものであるという統計から、胸膜リンパ腫の発症には慢性膿胸の存在が重要であることを示し、PALという名称を提唱した。

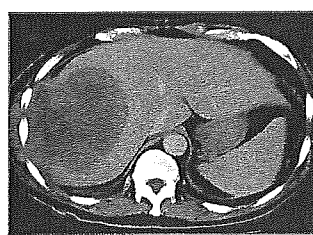
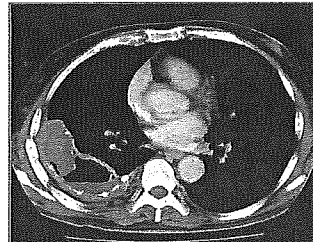
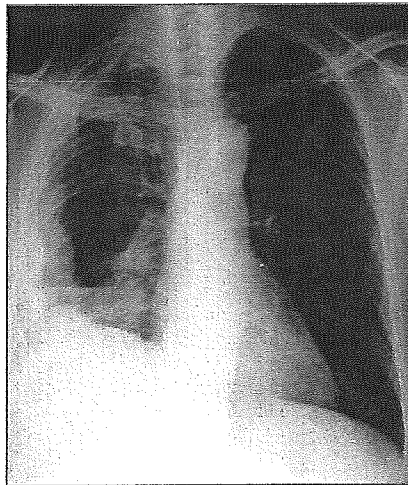
1990年に青笹らが行った全国調査では、PALは非ホジキンリンパ腫であり大部分がB細胞性であること、22～55年(平均33年)の慢性膿胸の経過後に発症することが明らかとなった²⁾。

1993年に深山らは、PAL腫瘍細胞内に単クローン性のEBVゲノムを発見し、PAL発症にEBVが関与している可能性を示

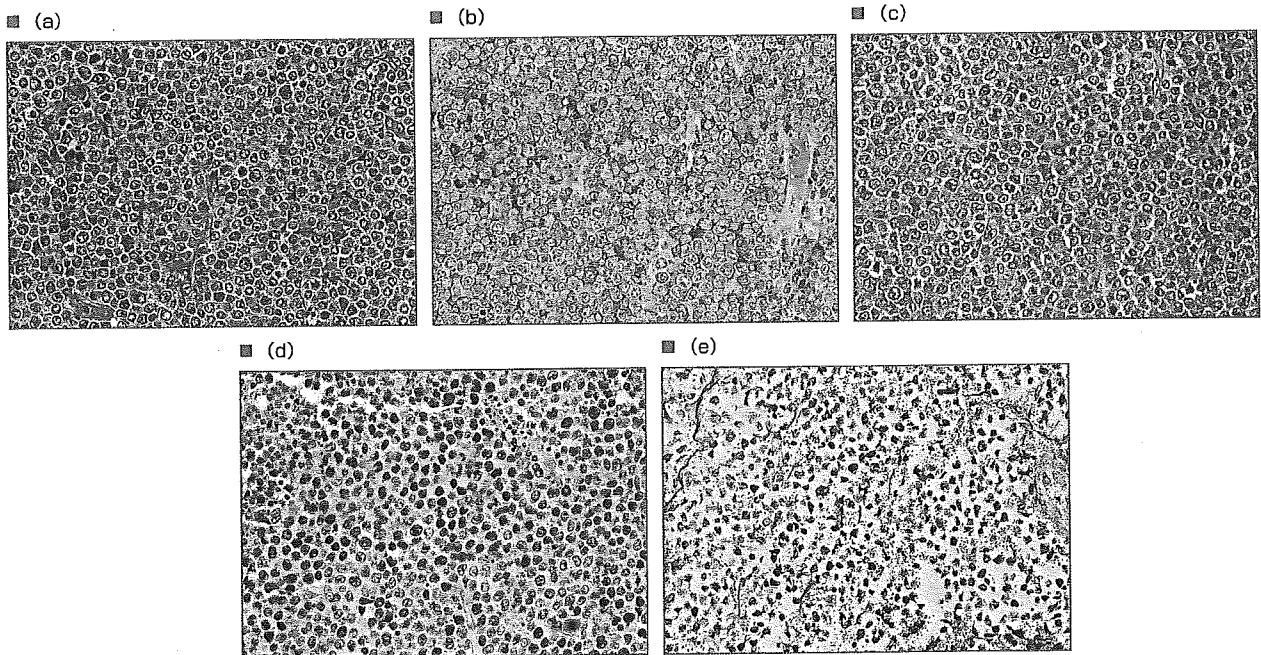
■入院時MRI



■入院時Chest-Xp : CT



【図1】 入院時のMRI、Chest-Xp : CT



【図2】 右側胸部皮下腫瘍生検(a)により、悪性リンパ腫 (diffuse large cell, B cell type) と診断した。免疫組織染色 (b) L26 (CD20) (+)、(c) UCHL-1 (CD45RO) (-)、(d) EBV-EBNA2 (+)、(e) EBER-ISH (+) より、EBV遺伝子の発現が見られたことからPALと診断した。

唆した³⁾。

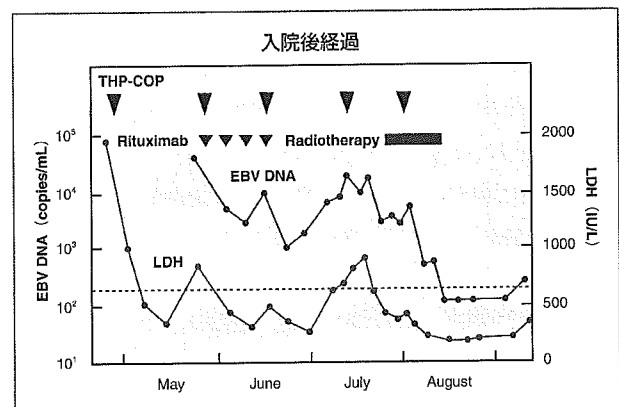
正常な免疫状態では、EBVに感染した細胞は、EBVの発現する蛋白質であるEBNA-2やLMP-1に反応した宿主のCTLにより排除されることが知られている。日和見リンパ腫では、宿主の免疫不全のために、腫瘍からEBNA-2やLMP-1の発現が認められるが、CTLによる排除は認められない。

PALはこれらのEBV関連遺伝子を発現するが、慢性膿胸およびPAL患者では、全身性の免疫不全状態は存在しないと考えられていることから、PAL細胞の宿主のCTLによる免疫監視からの逸脱機構の存在が考えられている⁴⁾。

PALの病変の多くは、膿胸腔壁から胸膜、胸壁の軟部組織、肺に局限し、まれに肝、脾、後腹膜腔に連続的に進展する。PALでは病変が局限しているため、可能例では外科的切除の有効性が報告されている。

また、早期の症例では、放射線療法の有効性も報告がある。化学療法単独の効果については、報告により様々である。本症例では、肝臓への浸潤が見られ、外科的切除は困難であり、rituximabも加えた化学療法で加療した。

血漿中EBV DNAについては、EBV関連のNK/T-cell lymphomaの診断、治療における腫瘍マーカー、予後予測因子としての有用性が報告されている。EBVが関連する腫瘍に関して、血漿中EBV DNAは有用な腫瘍マーカーとなる可能性がある⁵⁾。



【図3】 治療による血漿中のLDHおよびEBV DNA濃度の変化

文 献

1. Iuchi K, Ichimiya A, Akashi A, et al: Non-Hodgkin's lymphoma of the pleural cavity developing from long-standing pyothorax. *Cancer* 60 (8): 1771-1775, 1987.
2. Aozasa K, Ohsawa M: [Non-Hodgkin's lymphoma of the pleural cavity developing from long-standing pyothorax]. *Rinsho Ketsueki* 31 (5): 547-553, 1990.
3. Fukayama M, Hayashi Y, Ooba T, et al: Pyothorax-associated lymphoma: development of Epstein-Barr virus-associated lymphoma within the inflammatory cavity. *Pathol Int* 45 (11): 825-831, 1995.
4. Ohshima K, Kikuchi M. [Malignant lymphoma and EBV]. *Rinsho Byori* 44 (1): 24-31, 1996.
5. Shide K, Henzan H, Nagafuji K, et al: Dynamics of Epstein-Barr virus load in pyothorax-associated lymphoma. *J Med Virol* 70 (1): 137-140, 2003.



In vitro、in vivo における造血幹細胞の増殖法の確立による臨床応用

京都大学大学院医学研究科
発達小児科学教授

中畑 龍俊
Tatsutoshi Nakahata



はじめに

造血幹細胞は、通常骨髄で増殖・分化し造血を担っているが、臍帯血中にも豊富に存在し、また、顆粒球コロニー刺激因子 (G-CSF) などのサイトカイン投与後、大量に骨髄から末梢血に流出してくることが知られている。現在では、骨髄移植、末梢血幹細胞移植、臍帯血移植と多様な幹細胞源を用いた造血幹細胞移植が広く行われている。近年、いわゆる再生医療を目指した研究が爆発的な広がりを見せているが、造血幹細胞は再生医療の面でも最も研究が進んでおり、*in vitro* で増幅した造血幹細胞を用いた実際の臨床応用も開始されている。われわれ移植医療に携わるものにとって、少量の骨髄や臍帯血を採取し、その中に含まれている造血幹細胞を *in vitro* あるいは *in vivo* で増幅して用いることにより移植を成立させることは長年の夢であった。本稿では、造血幹細胞をめぐる最近の話題について概説するとともに、増幅した造血幹細胞の臨床応用とその問題点について述べてみたい。

1. 造血幹細胞増殖法確立の意義

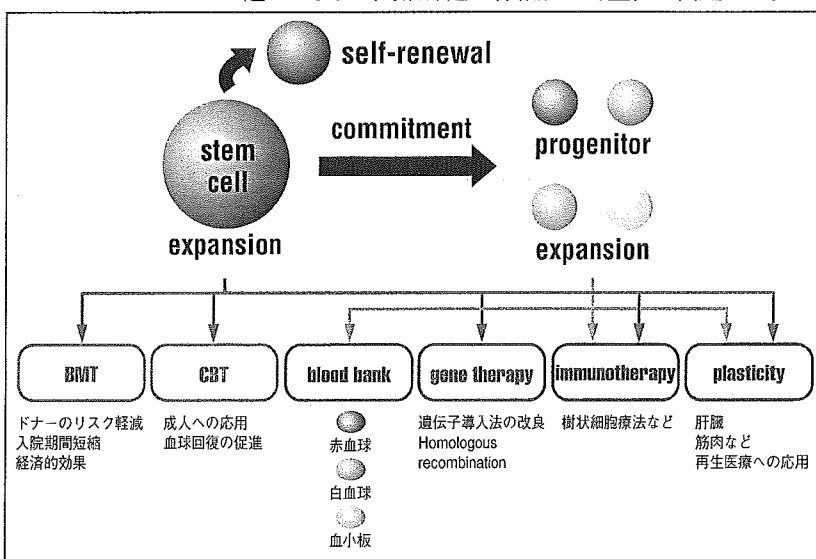
造血幹細胞の増幅技術の確立は、現代の医療において様々な面から求められている。現在行われている骨髄移植では、全身麻酔下にドナーから大量の骨髄を採取する必要があり、大きなリスクになっている。同種末梢血幹細胞移植においても、健康人に大量の G-CSF を投与後、アフレーションにより 10L 以上の血液から末梢血幹細胞が採取される。G-CSF 大量投与に伴う長期的副作用やアフレーションに伴うリスクも指摘されている。

造血幹細胞の体外増幅は、このようなドナーのリスク軽減に役立つばかりでなく、1 人の細胞を複数の患者さんに利用できる

道を開くと考えられる。臍帯血移植は、血球回復遅延と造血幹細胞の絶対数不足のために、成人に対しては生着不全の頻度が高く、今後、臍帯血移植をより安全な医療としていくためには、造血幹細胞や造血前駆細胞の体外増幅の研究成果が切望されている。

その他、造血幹細胞の体外増幅の研究は、現在壁にぶつかっている造血幹細胞を用いた遺伝子治療の突破口を開く技術として期待されている。また、本年わが国でも大きな問題となっているように、献血を用いた輸血では HIV や肝炎ウイルスなどによる感染症の伝播は避け難く、今後の医療の大きな課題となっている。造血幹細胞から赤血球や血小板などへの分化培養法はほぼ確立できていることから、造血幹細胞自身の増幅法を確立することができれば、工場で医薬品と同じように厳重な品質管理のもとで作成した人工赤血球、血小板などの安全な輸血製剤の大量産生も可能となろう。

このように、造血幹細胞の体外増幅はその成果が臨床に直結することから大きな期待が寄せられている (図1)。また、次項で述べるように、最近、造血幹細胞の可塑性が問題となってお



【図1】 造血幹細胞の *in vitro*, *in vivo* 増幅と様々な医療への応用

り、造血幹細胞の*in vitro*、*in vivo*増幅の研究成果は、今後様々な再生医療に応用できる可能性を示している。

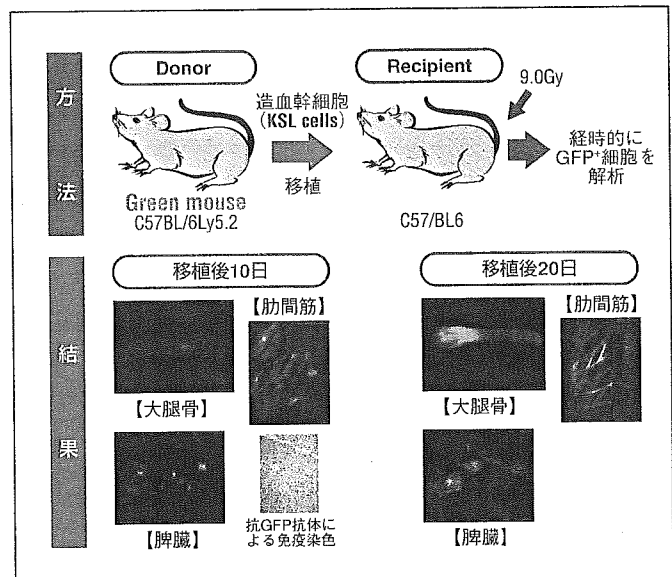
2. 造血幹細胞の可塑性と再生医療への応用の可能性

最近、造血幹細胞の可塑性を示唆する多くの研究が報告され、今後の再生医療を進める上で極めて重要な問題となることから議論を呼んでいる。2000年のNature誌に、骨髄移植を受けた患者の肝組織を検討すると、肝細胞の一部がドナー細胞により置き換わっていたという衝撃的な報告がなされた¹⁾。

この観察は、①造血幹細胞自身が血球系以外の肝細胞に形質転換した、②骨髄中には、造血幹細胞とは別の肝細胞の元になる組織幹細胞が存在した、③骨髄中には造血幹細胞と肝臓の幹細胞に共通した、より未分化な幹細胞が存在した、④造血幹細胞あるいはその子孫と肝細胞が細胞融合を起こしたなどの可能性を示している。

その後、遺伝子変異チロシン血症マウスに正常造血幹細胞分画の細胞を移植したところ、血球系のドナータイプへの変換とともに、肝細胞の一部もドナータイプに置き換わり、肝機能の著明な改善とともに、血中チロシン値も低下し、マウスは一生を全うできたことが報告され、造血幹細胞自身が何らかの形で正常の機能を持った肝細胞の再生を担った可能性を示唆している²⁾。われわれは、GFPトランスジェニックマウス骨髄から造血幹細胞分画(KSL細胞)を分取し、正常マウスに移植してどんな組織がドナータイプに置き換わるかを検討した。骨髄、脾臓などの造血組織のみならず骨格筋も、一過性に広範にドナータイプのGFP陽性細胞に置換されることが明らかとなった(投稿中)(図2)。

その他、骨髄から血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、心筋細胞、神経細胞、グリア細胞、骨細胞などが*in vivo*、*in vitro*で形成されたとの報告が見られる。これらは、骨髄中に存在する間葉系幹細胞や、より未分化な幹細胞によりもたらされているのかは、造血幹細胞自身の可塑性を示しているのか、細胞融合によりもたらされているのか、明らかではないが、比較的採取が容易な骨髄や臍帯血を用いて、今後、従来の造血幹細胞移植だけではなく、



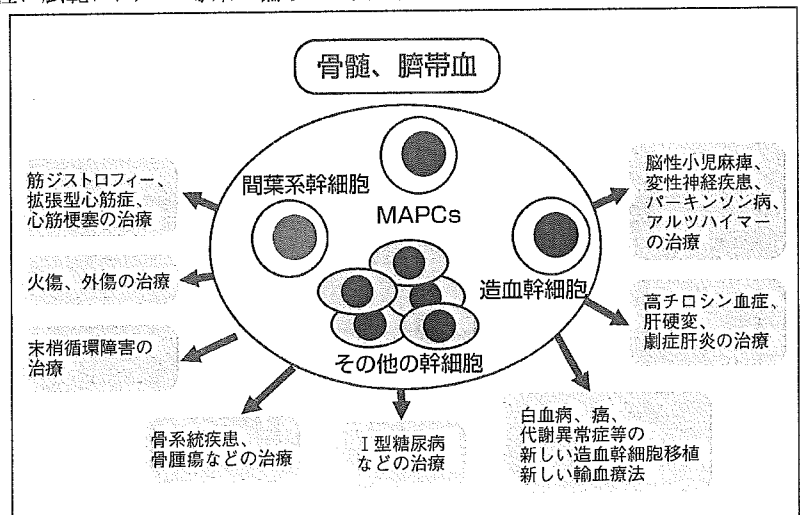
【図2】 造血幹細胞の可塑性の研究

様々な再生医療が展開できる可能性を示している(図3)。

3. ヒト造血幹細胞の測定法の開発

ヒト造血幹細胞の*in vivo*測定法の開発は長年の課題であり、これなくして、増幅造血幹細胞の臨床応用を進めることはできない。近年、NOD/SCID (nonobese diabetic/scid) マウスにヒト造血幹細胞を移植すると生着し、ヒト血球が継続的に産生されることが明らかにされ、ヒト造血幹細胞のアッセイ法として広く使用されている。

しかし、このマウスにヒト造血幹細胞を移植してもキメラ率は極めて低く、また、分化増殖してくるヒト細胞はB細胞系と骨髄球系に偏っており、T細胞系への分化は全くみられない。こ



【図3】 造血幹細胞の可塑性と骨髄、臍帯血を用いた様々な再生医療の可能性

のような欠点を改善するために、最近、われわれは、IL-2などの共通の受容体であるcommon γ 鎖をノックアウトしたNOD/SCID/ γ_c^{null} (NOG) マウスを開発した^{3, 4)}。このマウスは、従来のマウスに比べてヒト造血幹細胞の生着率が著しく高く、再移植してもT細胞を含む全ての血球分化が見られることから、ヒト造血幹細胞の測定系としては、画期的なマウスと考えられる(図4)。このマウスを用いて、ヒト造血幹細胞の可塑性、*ex vivo*増幅造血幹細胞の定量的な測定などが検討されている。

4. 支持細胞を利用した造血幹細胞の増幅

造血幹細胞は、骨髄中のNicheと呼ばれる特殊な場所に存在し、幹細胞としての性質を維持していると考えられている。したがって、Nicheを構成しているストローマ細胞は造血幹細胞の生存や自己複製に必要な分子を発現している可能性が高いことから、このような分子の同定を目指した研究が世界的に行われている。

われわれは、造血幹細胞が発生する胎生10.5日のマウス胚のaorta-gonad-mesonephros (AGM) 領域から造血幹細胞の増殖を支持するストローマ細胞株AGM-S3を樹立し、サイトカインの添加なしに、このストローマ上でヒト造血幹細胞を維持できることを報告した⁵⁾。このストローマ細胞株は、種を超えて働く造血幹細胞の自己複製因子を発現している可能性もあり、現在様々な分子生物学的手法を用いた遺伝子クローニングが進

行中である。このような研究は、造血幹細胞の*in vitro*増幅法の開発に役立つばかりでなく、少量の造血幹細胞を移植後*in vivo*で増幅し、移植を成立させる新しい医療に結びつくであろう。

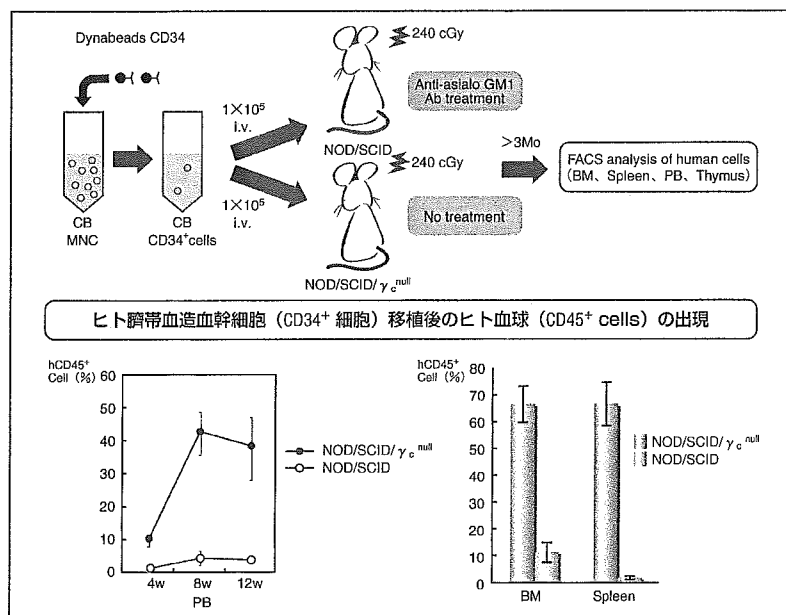
マウス造血幹細胞は、骨髄ストローマ細胞との共培養により、生存や増殖能が維持できることが知られている。ヒトで安定したストローマ細胞株が得られないことから、マウスストローマ株にstem cell factor (SCF)、flk2/flt3 ligand (FL)、thrombopoietin (TPO)を添加した共培養系でヒト臍帯血造血幹細胞を増幅し、実際の移植に用いた例も報告されている。しかし、異種細胞を用いたこのような増幅系においては、従来、ヒトに感染しなかったウイルスなどの病原体が培養することによって、あるいは、ヒトに移植されることにより感染性を獲得する危険も指摘されており、現在このプロトコールは中断されている。今後、より効率的な造血幹細胞の体外増幅を可能にするためには、ストローマ細胞に発現していると考えられる造血幹細胞の増幅に関与する分子の同定が待たれる。

5. サイトカインによる造血幹細胞の*in vitro*増幅の研究の現状

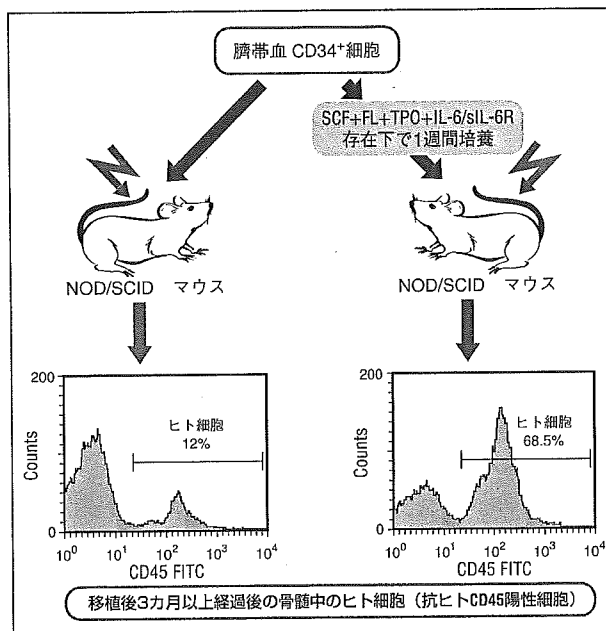
現在、ヒト臍帯血を中心にサイトカインを用いた造血幹細胞の*in vitro*増幅が世界的に試みられているが、未だ成功したとは言い難い。McNieceら、Kurzbergらを中心に、欧米では臍帯血中の造血幹細胞/造血前駆細胞を種々のサイトカインを組み合

わせて体外増幅し、それを用いた移植が開始されている。現在のところ、安全性は確認されたものの明らかな臨床効果は報告されていない。われわれは、ヒト造血幹細胞上に発現しているサイトカイン受容体を解析し、gp130、c-Kit、Flt3、Mplが強弱はあるものの、多くの細胞で発現していることを明らかにした。

さらに、これらの受容体に対応するサイトカインである可溶性IL-6受容体(sIL-6R)/IL-6複合体、SCF、FL、TPOを組み合わせた新しいヒト造血幹細胞の増幅法を開発した⁶⁾。臍帯血から分離したCD34⁺細胞をこの条件下で1週間培養することにより、造血幹細胞を約4.2倍増幅できることがNOD/SCIDマウスを用いた定量的な測定法で明らかとなった(図5)。



【図4】 NOD/SCID/ γ_c^{null} マウス (NOGマウス) を用いたヒト造血幹細胞の測定



【図5】 臍帯血造血幹細胞の*in vitro*増幅とその評価

われわれの開発した培養法は、従来報告されてきた方法に比べて格段に未分化なヒト細胞を増幅できることから、現時点では、ヒト造血幹細胞の体外増幅法として最も優れていると考えられ、来年度からの臨床応用に向けた無血清培養法の確立、完全閉鎖系での培養などの検討が進んでいる。

6. 再生医療のための基盤整備

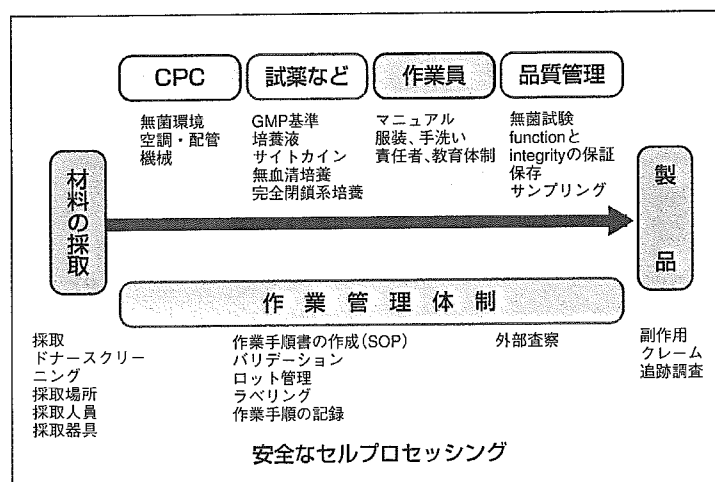
生体外で培養したり、加工した細胞を用いた臨床応用を行うためには、まずは、安全性と細胞の機能、品質が保証されなければならない。最近、細胞治療の普及に伴い、米国のFDAからGTPガイドラインが施行された。GTPとはGood Tissue

Practiceの略で、ヒト細胞/組織由来する製品の製造工程において伝染病物質の混入を防ぐとともに、製造工程と品質管理の基準を示すことで安全かつ細胞機能を保証するものである。われわれが、体外増幅した造血幹細胞を用いた臨床研究を行う場合、これらの基準に合致した方法で細胞を加工することが必要な時代となってきた。

具体的には、伝染物質の混入や細胞の取り違いなどを防ぐため、完全閉鎖系培養法および無血清培養法の確立、細胞操作をする部屋全体が無菌的環境であるCPC (cell processing center)の整備、標準作業手順書(SOP)の作成、厳格な品質管理体制の確立などの整備を行う必要がある(図6)。また、体外処理された造血幹細胞の安全性と効果を科学的に証明していくためには、質の良い臨床試験のデザインの構築が必要であることは言うまでもない。

おわりに

本稿では、造血幹細胞の*in vitro*増幅法を中心にまとめた。造血幹細胞の*in vivo*増幅法は、造血幹細胞の自己複製因子の同定にかかっている。*In vitro*増幅造血幹細胞移植など、再生医療は近年爆発的な広がりを見せているが、われわれは、この治療が未だ実験治療の段階であるという明確な意識をもって慎重に進めていく必要がある。再生医療の今後の発展は、臨床試験の科学性、安全性、倫理性をできるかぎり担保するとともに、全ての情報が公開され、様々な面から議論を重ねることにより、社会的コンセンサスが得られるものと確信している。



【図6】 再生医療において求められるGTP (Good Tissue Practice)

文 献

1. Alison MR, et al: Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature* 406:257,2000.
2. Lagesse E, et al: Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes *in vivo*. *Nature Med* 6:1229-1234,2000.
3. Ito M, et al: NOD/SCID/ γ_c^{null} mouse: An excellent recipient mouse model for human cells. *Blood* 100:3175-3182,2002.
4. Hiramatsu H, et al.: Complete reconstitution of human lymphocytes from cord blood CD34⁺ cells using NOD/SCID/ γ_c^{null} mice model. *Blood* 102:873-880, 2003.
5. Xu M, et al: Stimulation of mouse and human primitive hematopoiesis by murine embryonic aorta-gonad-mesonephros-derived stromal cells. *Blood* 192:2032-2040,1998.
6. Ueda T, et al: *Ex vivo* expansion of human NOD/SCID-repopulating cells by stem cell factor, Flk2/Flt3 ligand, thrombopoietin interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptor. *J Clin Invest* 105:1013-1021,2000.



DNAマイクロアレイの基礎と実際(2)

—発現解析の実際：データの抽出—

自治医科大学医学部ゲノム機能研究部教授

間野 博行

Hiroyuki Mano



今回は、DNAマイクロアレイで行える実験手技について概説した。マイクロアレイの応用は、網羅的発現解析とSNP解析に大きく分けられるが、現実的には大規模SNPスクリーニングに適したアレイは未だ存在しない。現段階で、マイクロアレイが最もその能力を発揮するのは網羅的発現スクリーニングであろう。今回は、アレイを用いて発現解析を行う際の基本的な操作を説明する。

「マイクロアレイのデータ抽出」

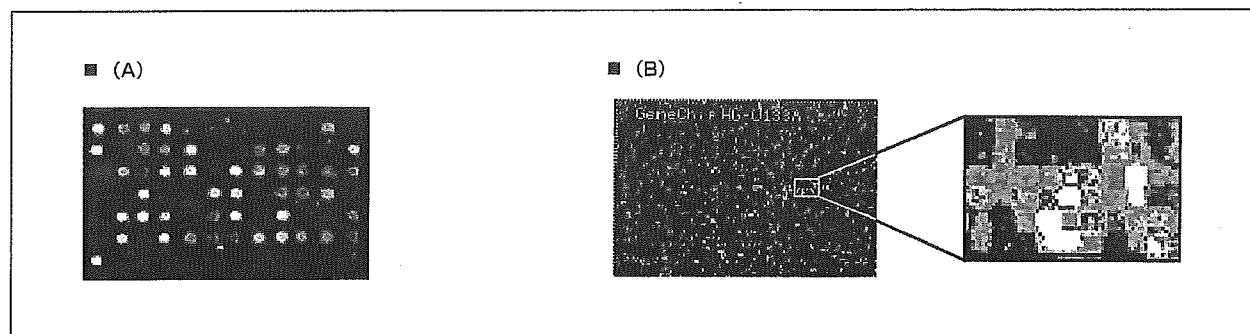
現在、広く使われているマイクロアレイは、スポッティングタイプアレイとGeneChipの2種類に大きく分けられ、図1に両者をスキャンした画像を示す。図1AのcDNAアレイは、2種類のサンプルを1枚のアレイに結合させており、スポットの色からサンプル間の発現比が定量できる。一方、GeneChipの場合は1種類の標識サンプルを1枚のアレイに結合させている(図1B)¹⁾。チップ上のオリゴヌクレオチドを配置した場所は、あまりに小さいため肉眼では判別困難であるが、一部を拡大すると、正方形の区画にオリゴヌクレオチドが配置されており、遺伝子発現量に応じた形でシグナルが得られているのが分かる(右拡大図)。これらのスライドをレーザーで励起しスキャンすることで、各スポットの蛍光強度が精密に測定可能であり、データはテキストファイルとして得ることができる。

得られたデータはどのような形式のアレイであれ、最終的に

はコンピュータ上で比較することになる。その際に重要な前処理として、「データの正規化(ノーマライゼーション)」がある。等量のmRNAから出発しても得られる標識cDNAの収量は実験ごとに異なり、また、最初のmRNAの質によってもアレイの蛍光強度は異なってくる。さらには、アレイをスキャンした時間やレーザーの強度の変化によって当然得られるデータ＝発現量は変化する。

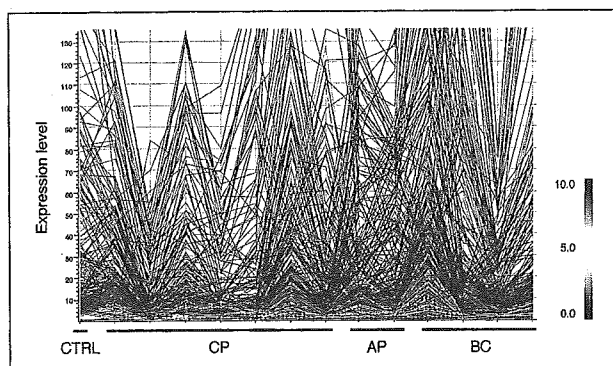
そのため、異なったアレイからのデータを比較する場合には、必ず何らかの方法でデータを正規化する必要がある。現在大きく分けて2種類の正規化法がとられている。すなわち、「アレイごとの総発現量を一定にする方法」と「コントロール遺伝子の発現量を揃える方法」である。前者の場合は、アレイ上の総遺伝子発現量の和(あるいは中央値)で各遺伝子の発現量を割ることにより、アレイ全体での蛍光強度を揃える。一方、後者の場合は強く、しかも普遍的に発現する構造蛋白質等の発現量を用いて、それが各アレイで同じになるようにするのである。

しかし、 β アクチンやGAPDH遺伝子など代表的なポジティブコントロール遺伝子であってもサンプル間で発現量が変化することが明らかになり、最近では、house keeping遺伝子数10種類を選択し、これら遺伝子群全体での発現量の中央値・平均値などが同一になるように正規化することもよく行われるようになった。



【図1】 マイクロアレイのスキャン画像

cDNAタイプマイクロアレイ(A)およびAffymetrix社のGeneChipTM(B)をスキャンした画像をそれぞれ示す。cDNAアレイの場合は、2種類のサンプルから調整したcDNAをそれぞれCy3とCy5の蛍光色素で標識し、混合してハイブリダイズした。Cy3標識cDNAが主に結合したスポットは緑色、Cy5標識cDNAが主に結合したスポットは赤色、両者がほぼ等量結合したスポットは黄色で表される。(B)は単一のサンプルより調整した標識cRNAをハイブリダイズさせてあり、実際は単色のグレースケールで表されるが、発現強度を分かりやすくするためにpseudo-colorで表してある。



【図2】 CMLにおける遺伝子発現変化

健常者 (CTRL) 1例、CML CP患者7例、AP患者2例、BC患者4例についてDNAマイクロアレイを用いて3,456種類の遺伝子発現量を測定した。得られたデータを折れ線グラフで示したのがこの図である。折れ線の各1本がアレイ上の1遺伝子に相当し、健常者サンプルにおける発現量に応じてカラー化されている(右側のスケールバーに示されるように、発現が高い場合は赤色、低い場合は緑色で表される)。

「発現プロファイルの可視化」

たとえば、2個のアレイデータを比べるのであれば、Excel等の市販スプレッドシートを用いて解析することで十分である。しかし、健常者・患者各20例の発現データから後者の特異的な遺伝子を抽出する、といった場合を考えてみると、そのような単純なアプローチでは解析不可能なことに気づく。数千から数万種類の遺伝子の発現量を比較するには、バイオインフォマティクスの進歩・普及が必須であるが、現段階ではまだこの分野も日進月歩であり、教科書的な解決法はない。

しかし、共通に行われる初歩的な解析法として以下の知識が重要であろう。たとえば、慢性骨髄性白血病 (CML) の各病期ごとに発現が異なる遺伝子の同定を目指して、CP患者7例、AP患者2例、BC患者4例および健常者1例のサンプルをDNAマイクロアレイを用いて解析すると仮定しよう²⁾。得られた数値データは $3,456 \times 14 = 48,384$ ポイントとなり、この中から、CMLの各病期特異的に発現する遺伝子を取り出すのは簡単ではない。

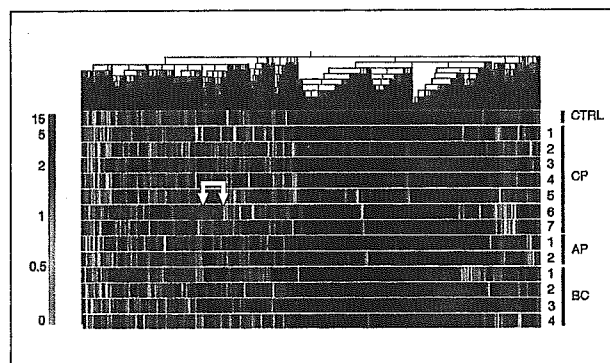
そこで、アレイ上の各遺伝子の発現変化を可視化してみよう。まず、直感的に分かりやすい折れ線グラフで示したのが図2である。折れ線の1本1本がアレイ上の各遺伝子を表し、各サンプルでの発現量に応じた形で変化しているのが分かる。しかし、やはりこの図からでは、たとえば、CP期だけに発現が上昇するようなCPマーカー遺伝子を同定するのは不可能である。また第一に、そのような病期特異的な遺伝子が存在するのかどうか自体を確認する必要がある。

このような目的で行われるのが、階層的クラスタリング解析である³⁾。たとえば、ある1種類の遺伝子に着目した場合、その遺伝子の発現量はサンプル間で変動していることが分かるで

あろう。そこで、本遺伝子の発現量の変化と近いパターンで発現が変化するような遺伝子を残りの中から捜してみる。その「近似性」もほとんど同じものから大きく違っているものまで様々であろう。

そこで、この近似性を指標に遺伝子の系統樹を描いてみたのが図3である。縦軸1本1本が各遺伝子に相当し、横軸が各サンプルに相当する。発現量の高低は図左のカラースケールにしたがって色づけされており、この図は通称「Gene Tree」とも呼ばれる。このGene Treeから、約半数の遺伝子はこのサンプルにおいても発現していない(緑色)ことが分かるし、また、各病期特異的に発現が亢進している(赤色)遺伝子の集団があることも目で見て判断することができる。このように、各サンプルでの遺伝子発現の様式を肉眼で判断する上でGene Treeは有効である。

以上、CMLサンプルを用いた実際のアレイ解析の基本的なデータ処理のステップを概説した。次回は、ここからさらにCMLの病態にリンクした遺伝子を具体的に同定する方法を説明する予定である。



【図3】 CML発現データのGene Tree(文献2より改変)

図2で示された発現データを基に階層的クラスタリング解析を行い、遺伝子系統樹 (Gene Tree) を作成した。縦軸1本1本がそれぞれアレイ上の各遺伝子に相当し、横の行が各サンプルを表す。それぞれの遺伝子の発現量はサンプルごとに異なるが、その変化のパターンが似ている遺伝子をより近くに置くように系統樹を作成したものである。本図から各病期に固有の発現を示す遺伝子クラスターが存在することが分かる(たとえば、CP固有クラスターが矢印で表されている)。

文 献

1. Lipshutz RJ, Fodor SP, Gingeras TR, et al : High density synthetic oligonucleotide arrays. Nat Genet 21 (supple 1): 20-24, 1999.
2. Ohmine K, Ota J, Ueda M, et al: Characterization of stage progression in chronic myeloid leukemia by DNA microarray with purified hematopoietic stem cells. Oncogene 20: 8249-8257, 2001.
3. Eisen MB, Spellman PT, Brown PO, et al : Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns. Proc Natl Acad Sci USA 95: 14863-14868, 1998.



未治療の慢性期慢性骨髄性白血病に対するイマチニブとインターフェロン α および少量シタラビン併用の比較

Imatinib compared with interferon and low-dose cytarabine for newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia (N Engl J Med 348: 994-1004, 2003)

浜松医科大学第三内科助教授

大西 一功

Kazunori Ohnishi

未治療慢性期慢性骨髄性白血病に対し、イマチニブと従来の最善の成績が報告されているインターフェロン α とシタラビン併用の無作為比較試験を行い、イマチニブが細胞遺伝学的効果、無増悪生存率、耐容性において有意に優れていることが報告されている。

緒言

BCR-ABLのABLチロシンキナーゼの選択的阻害剤であるメシル酸イマチニブ(以下イマチニブ)による臨床試験は、インターフェロン α (IFN α) 無効または不耐性の慢性骨髄性白血病(CML)に対し1998年6月に開始され、慢性期のみならず、移行期、急性転化期においても、従来の薬物療法をはるかにしのぐ試験成績が報告された。

こうした優れた臨床効果から、イマチニブは、2001年5月には米国でIFN α 不応性CMLに対して認可され、日本でも2001年11月に未治療例も含むCML全般に対して承認された。この第Ⅲ相比較試験は、2000年6月より欧米で開始され、半年あまりで1,106例の登録があり、2002年7月の中間解析において、イマチニブの有効性がIFN α 療法に有意に優ることが判明した。

この報告により、CMLの薬物療法として従来のIFN α 療法に替わりイマチニブが第一選択薬として推奨されることとなった。

論文の概要

1.対象と方法

この研究は、イマチニブとIFN α + シタラビン(ara-C) 併用との第Ⅲ相無作為比較試験で外来設定により行われた。18歳~70歳までのPS O-2の未治療の慢性期CML症例が対象とされた。

イマチニブ群は、400mgの連日経口投与が行われ、3カ月で血液学的完全寛解(CHR)が得られない場合、12カ月で少なくとも小幅<minor>細胞遺伝学的効果(Ph染色体陽性細胞36~

65%)に到達しない場合は800mgに増量された。IFN α + ara-C群(以下IFN α 群)は、IFN α を目標用量500万単位/m²として最大耐容量の連日皮下注射を行い、低用量ara-C 20mg/m² (最大40mg/日)を月に10日間投与した。イマチニブと同様の有効性基準に達しない場合は、IFN α は最大耐容量まで、ara-Cは40mg/日の15日間投与まで増量可能とされた。

この試験では、一方の群で反応が得られない場合、反応が喪失した場合、白血球数が増加した場合、治療に不耐性の場合は、他群へのcrossoverが可能と設定された。primary endpointは無増悪生存率とされ、secondary endpointは血液学的完全寛解(CHR)、大幅<major>細胞遺伝学的効果(major cytogenetic response : major CGR)とされた。解析はprimary endpointについてはintension to treatで行われ、その他については中止、crossover症例をcensored caseとして補正が行われた。

2.結果

2000年6月から2001年1月までの間に、16カ国177施設から1,106例(各群553例)が登録され、2002年7月に中間解析が行われた(観察期間中央値19カ月)。

1) crossover症例、有害事象

初期治療の中止は、イマチニブ群12.3%、IFN α 群31.6%であり、crossoverされた症例はイマチニブ群2%、IFN α 群57.5%であった。IFN α 群の中止、変更理由は不耐性が最も多かった。また、全体で52例(イマチニブ群18例、IFN α 群34例)が造血幹細胞移植を受けた。有害事象は以前に報告されたものと同様であり、イマチニブ群の有害事象はIFN α 群に比べ有意に軽度であった。

2) 血液学的効果、細胞遺伝学的効果(表1、図1)

初期治療によるイマチニブ群とIFN α 群の治療効果はそれぞれ、CHR 95.3%対55.5%、complete CGR 73.8%対8.5%、major CGR 85.2%対22.1%であった。progressive disease以外の理由によるcrossover症例および中止例をcensoredとした場合の18カ月時点の予測major CGRは87.1%対34.7%、

【表1】 各群の最善の血液学的および細胞遺伝学的効果 ※

Response	Initial Treatment		Crossover Treatment	
	Imatinib (N=553)	IFN α + ara-C (N=553)	From Imatinib to IFN α + ara-C (N=11)	From IFN α + ara-C to Imatinib (N=318)
	percent (95% CI)			
Complete hematologic	95.3 (93.2-96.9)	55.5 (51.3-59.7) *	27.3 (6.0-61.0)	82.4 (77.7-86.4)
Major cytogenetic	85.2 (81.9-88.0)	22.1 (18.7-25.8) *	0 (0-28.5)	55.7 (50.0-61.2)
Complete cytogenetic	73.8 (69.9-77.4)	8.5 (6.3-11.1) *	0 (0-28.5)	39.6 (34.2-45.2)
Partial cytogenetic	11.4 (8.9-14.3)	13.6 (10.8-16.7)	0 (0-28.5)	16.0 (12.2-20.5)

※ The level of cytogenetic response was defined by the percentage of Philadelphia-chromosome-positive cells in metaphase: complete response, 0 percent; partial response, 1 to 35 percent. A major cytogenetic response was defined as a complete or partial response. CI denotes confidence interval.
* p<0.001 for the comparison with the imatinib group.

complete CGRは76.2%と14.5%であった。いずれもイマチニブ群がIFN α 群に有意に優った ($p < 0.001$)。

3) 無増悪生存率(図2)

イマチニブ群とIFN α 群の12カ月時点のintension to treatによる無増悪生存率は96.6%対79.9%、18カ月予測では92.1%対73.5%であった。移行期・急転期への移行をイベントとした場合の無増悪生存率は12カ月で98.5% 対93.1%、18カ月予測では96.7% 対91.5%であった。各Sokal risk毎の比較でもイマチニブがIFN α 群に有意に優った。 ($p < 0.001$)

3. 考察

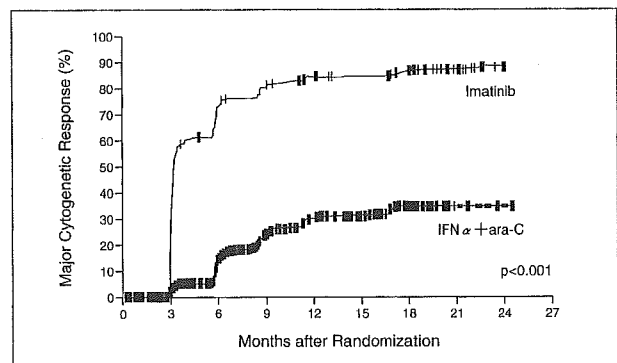
この研究は、第Ⅱ相試験におけるイマチニブの著明な効果を考慮して crossover designで行われた。その結果、中止または crossoverした症例がイマチニブ群では14.3%であったのに対し、IFN α 群では89.2%に及んでおり、IFN α を継続している症例は60例にすぎなかった。さらに、intension to treatにより解析してもイマチニブの優位性は明らかであった。イマチニブによって高率に得られたcomplete CGRから、長期生存率の改善がもたらされることが期待される。

本論文の評価

この論文は、CMLに対するABLチロシンキナーゼ阻害剤が従来の標準療法より明らかに優ることを示したもので、この試験により、CMLに対するイマチニブの分子標的治療が第一選択と位置づけられた画期的な臨床研究報告である。

観察期間の中央値が19カ月と短期の中間解析であるが、イマチニブは細胞遺伝学的効果、無増悪生存率、耐容性のいずれも有意にIFN α 療法に優ることから、IFN α に替わってイマチニブを第一選択薬とすることは妥当と考えられる。しかしながら、CMLは4年前後の慢性期を経て、急性期へ進展することから、イマチニブの生存に関する有効性を評価するためには5年以上の長期観察が必要であることは論を待たない。

同時に、分子標的薬という新しい薬剤であるが故に、長期の毒性についても慎重に観察することが必要である。さらに、今後解明する必要があるのは、CMLの治療法のもう1つの選択肢、造血幹細胞移植(SCT)の適応の問題である。イマチニブによる長期生存、治癒の可能性、先行したイマチニブのSCTに



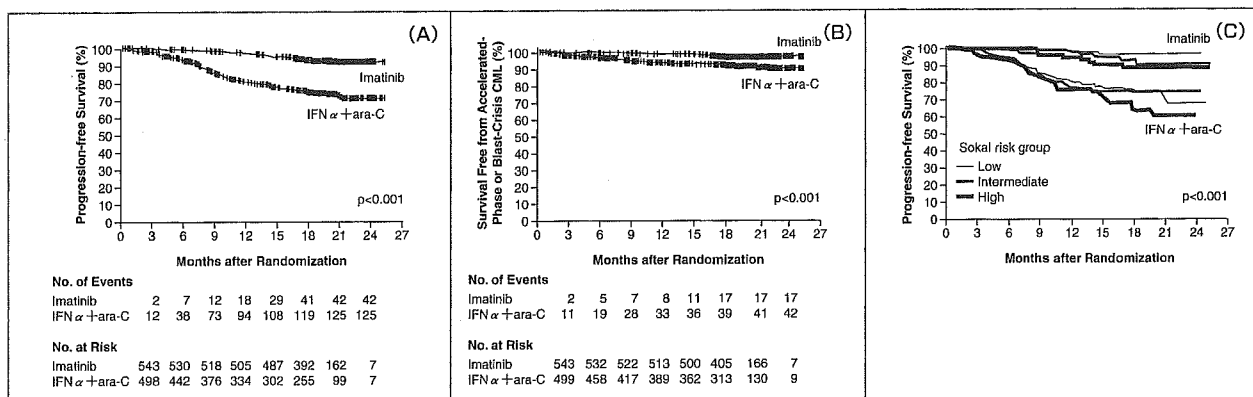
【図1】 Major CGRへの到達期間のKaplan-Meier曲線
Crossoverまたは治療中止症例はcensoredとした。

与える影響等の検討は、治療法の選択のためには必須の情報である。また、400mgが至適投与量かどうかは必ずしも明らかにはされていない。

この国際的な試験では、各国で各種の随伴研究が行われた。real time PCRによりcomplete CGRに達した症例におけるBCR-ABLの微小残存病変が定量的に検討され、イマチニブ群のBCR-ABL量が有意に低いことも判明している。しかし、高率なcomplete CGRが得られたにもかかわらず、molecular remissionが得られる比率は10%以下と少ないことも予想されている。イマチニブに関する耐性の問題についても早期から検討され、ABL遺伝子の変異、BCR-ABLの増幅等が明らかにされ、本試験でも継続して研究されている。イマチニブの感受性予測に関して、SNPsのpreliminaryな解析結果、cDNA microarrayを用いた腫瘍細胞側の遺伝子発現パターンによる感受性の差も報告されている。こうしたデータの蓄積とイマチニブの長期成績が明らかにされることにより、治療法の選択もより明解になることが期待される。

文 献

1. Druker BJ, et al: Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 344: 1031-1037, 2001.
2. Kantarjian HM, et al: Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med* 346: 645-652, 2002.



【図2】 無増悪生存曲線

A: 死亡、病期の進行、効果の喪失、白血球の増加をイベントとした場合の無増悪生存率 B: 移行期、急性転化をイベントとした場合の無増悪生存率
C: Sokal risk別の無増悪生存率

1) 急性前骨髄球性白血病 (APL; M3) とは

急性前骨髄球性白血病とは、骨髄にある造血幹細胞がそれぞれの血液細胞に育っていく過程の前骨髄球レベルで腫瘍化して、無制限に増殖するために起こる“血液のがん”です。すなわち、白血球のもとになる細胞から発症する白血病です。日本人では、毎年500～1,000人くらいが発病しており、白血病全体のおよそ10%を占めていますが、原因は不明です。

2) どのような時に急性前骨髄球性白血病を疑うのか

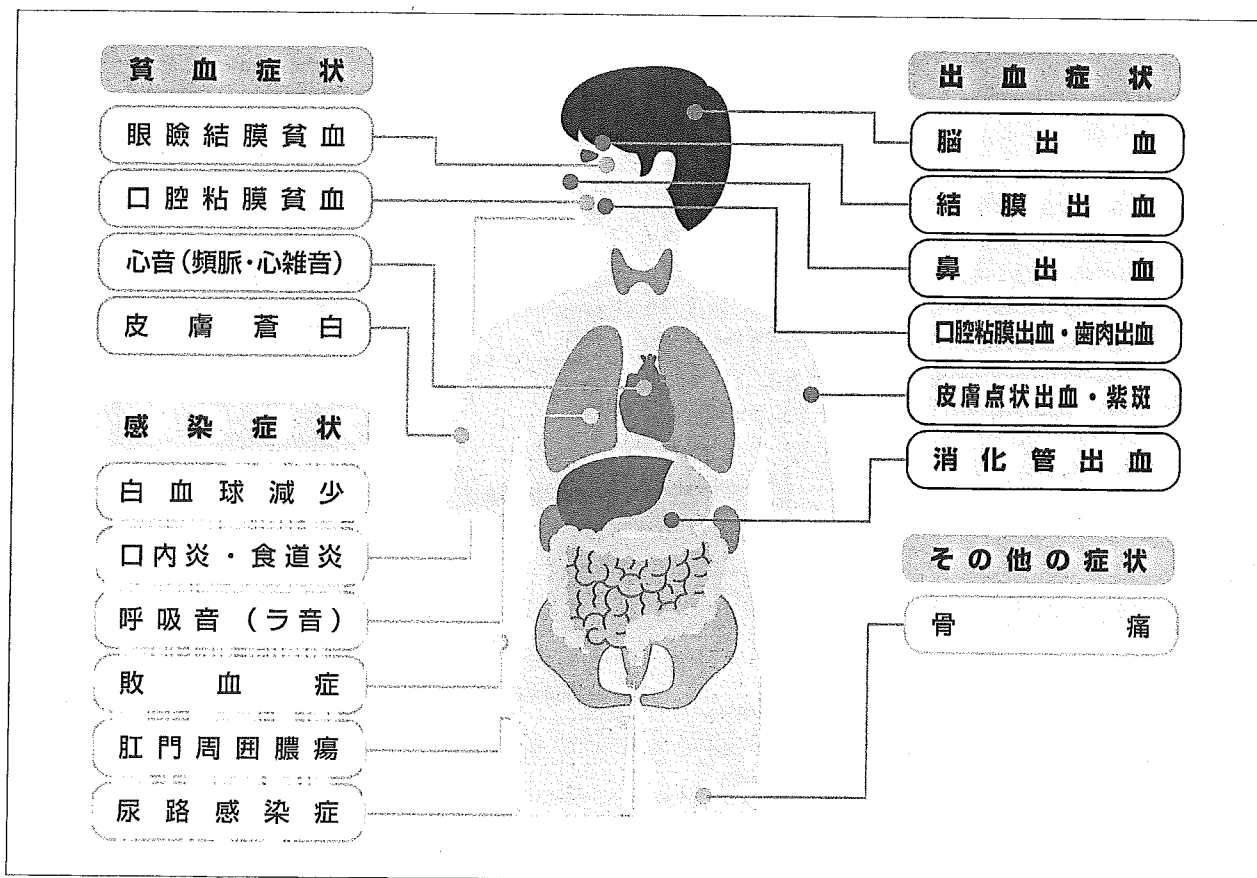
急性白血病は、骨髄や末梢血中で白血病細胞が増殖し、正常な血球成分が減少することによって症状が出現します。このような症状が出現する前に、血液検査で末梢血中に白血病細胞

が出現していることで発見される場合もあります。体内の白血病細胞がある一定数以上になると、さまざまな臨床症状がみられることになります。

急性前骨髄球性白血病は他のタイプの白血病とは異なり、白血球数減少の状態で見出されることが多く、貧血、血小板減少の症状も生じます(図1)。

3) 出血傾向が強いのはなぜでしょうか

この病気では、特に細胞から凝固を促進する物質が出ることによって、血小板数から予想されるよりもはるかに強い出血傾向がみられます。細胞に認められる顆粒内にそのような物質が入っており、増殖中にも、そうでないときにも、また治療で細



【図1】 急性前骨髄球性白血病の症状と理学所見