

- 20** がん抑制因子 TEL の失活による MDS 進展の機構 (10 分) (13:45-13:55)
 獨協医科大学内科学 (血液) 三谷絹子、○山形哲也、牧 和弘、和賀一雄
- 21** プロテオミクスを用いた MDS 関連蛋白の同定とその解析 (10 分) (13:55-14:05)
 東京女子医科大学血液内科 ○寺村正尚、風間啓至、泉二登志子
- 22** MDS における NPM1 遺伝子の発現 (10 分) (14:05-14:15)
 名古屋大学血液・腫瘍内科学／難治感染症部
 ○直江知樹、鈴木達也、清井 仁
- 23** 骨髄異形成症候群 不応性貧血におけるビタミン K₂ 単独療法ならびにビタミン K₂ と D₃ 併用療法
 一多施設共同研究集計結果一 (10 分) (14:15-14:25)
 東京医科大学第一内科 大屋敷一馬、○宮澤啓介
 都立墨東病院 秋山 暢
 東京大学無菌治療部 神田善伸
 川崎医科大学検査診断学 通山 薫
 昭和大学藤ヶ丘病院内科血液 小峰光博
 獨協医科大学内科学 (血液) 三谷絹子

溶血性貧血領域

座長 金倉 讓

- 24** 研究の進捗状況について (10 分) (14:25-14:35)
 大阪大学血液・腫瘍内科学 金倉 讓
- 25** C8 RNA アプタマーによる補体溶血阻止効果 (10 分) (14:35-14:45)
 大阪大学血液腫瘍内科 金倉 讓
 Duke 大学 ○西村純一、Bruce Sullenger
 昭和大学藤が丘病院 小峰光博
- 26** PNH の良性腫瘍性について (10 分) (14:45-14:55)
 大阪大学微生物学研究所 木下タロウ
 大阪大学血液腫瘍内科 ○泉井朋久、金倉 讓
 府立成人病センター 村上良子、井上徳光
 Duke 大学 西村純一
- 27** PNH および骨髄不全症候群におけるストレス誘導型膜蛋白 (ULBP、MICA/B) の発現と臨床的意義
 (10 分) (14:55-15:05)
 和歌山県立医科大学 中熊秀喜
 熊本大学 ○川口辰哉、花岡伸佳、堀川健太郎
 熊本医療センター 長倉祥一
- 28** 自己免疫性溶血性貧血患者における血漿 ST2 濃度の検討 (10 分) (15:05-15:15)
 自治医科大学地域医療学センター 梶井英治、○亀崎豊実、小山田隆
 同 生化学講座 富永眞一



15:15~15:30

coffee break



骨髄線維症領域

座長 原田実根

29 研究の進捗状況について (10分) (15:30-15:40)

九州大学病態修復内科学 原田実根

30 慢性骨髄増殖性疾患における Jak キナーゼの遺伝子変異 (10分) (15:40-15:50)

九州大学病態修復内科学 原田実根、幣光太郎、角光晴子、熊野 孝、○下田和哉
久留米大学血液内科 岡村 孝

造血幹細胞移植領域

座長 岡本真一郎

31 研究の進捗状況について (10分) (15:50-16:00)

慶應義塾大学医学部血液内科 岡本真一郎

32 重症再生不良性貧血に対する非血縁者間同種骨髄移植—JM DP215 例の検討から— (10分) (16:00-16:10)

名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 ○小島勢二
東海大学 加藤俊一、矢部普正
茨城県立こども病院 土田昌宏
愛知県がんセンター 森島泰雄
名古屋第1赤十字病院 小寺良尚

小児科領域

座長 中畑龍俊

33 研究の進捗状況について (10分) (16:10-16:20)

京都大学大学院医学系研究科発達小児科学 中畑龍俊

34 疫学観察研究「小児期に発症する再生不良性貧血など造血障害疾患の臨床像に関する疫学調査」研究計画とこれまでの取り組み (10分) (16:20-16:30)

東邦大学医療センター大森病院輸血部 ○小原 明
名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 小島勢二
京都大学大学院医学系研究科発達小児科学 中畑龍俊
聖路加国際病院小児科 真部 淳
日本大学大学院医学研究科細胞再生・移植医学 麦島秀雄

35 若年性骨髄単球性白血病 (JMML) に対する多施設共同研究 (10分) (16:30-16:40)

京都大学大学院医学系研究科発達小児科学 中畑龍俊
名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 小島勢二
聖路加国際病院小児科 ○真部 淳

総合討論 (10分) (16:40-16:50)

座長 小澤敬也

事務連絡 (5分) (16:50-16:55) 特発性造血障害調査研究班・事務局 高德正昭

閉会の挨拶 (5分) (16:55-17:00)

小澤敬也

御案内

平成18年度第1回合同班会議

ならびに

特発性造血障害調査研究班 30周年記念国際シンポジウム ～特発性造血障害のゲノム解析と新規治療法開発～

International Symposium

30th Anniversary of National Research Group on Idiopathic Bone Marrow Failure Syndromes ～Bone Marrow Failure Syndromes: from Genomic Analysis to Novel Therapeutics～

共催：厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「特発性造血障害に関する調査研究」班
財団法人 難病医学研究財団

日時：平成18年7月13日(木)

夕方

：合同班員会議

平成18年7月14日(金)

午前と午後の前半

：平成18年度第1回合同班会議総会

午後の後半

：30周年記念国際シンポジウム

会場：アステラス製薬（旧 山之内製薬）本社 2階ホール



御発表に際して：

- (1) CD、MO (720 は不可)、あるいはUSB メモリによるデータを受付に御提出下さい。
- (2) 配布資料は、表紙右肩に口で囲んだ演題番号を記したものを、120部御用意下さい。
- (3) 割り当て時間は発表と討論を含みますので、討論の時間を残すようにコンパクトに御発表下さい。



アステラス製薬株式会社本社

東京都中央区日本橋本町2-3-11

東京メトロ三越前駅

A6出口（銀座線プラットホーム寄り）から3分

※半蔵門線を御利用の方は上記出口を御利用下さい。

東京メトロ小伝馬町駅3番出口から10分

JR神田駅東口出口から15分

JR新日本橋駅3番出口から10分

※駐車場はございませんので、お車での御来場は御遠慮下さい。

Ⅱ. 分担研究報告書

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

分担研究報告書

再生不良性貧血/骨髄異形成症候群の前方視的症例登録・セントラルレビュー・追跡調査研究
(調査研究)

分担研究者 内山 卓（京都大学大学院医学研究科血液・腫瘍内科学、教授）
中尾眞二（金沢大学大学院医学研究科細胞移植学、教授）
研究協力者 松田 晃（埼玉医科大学内科学部門血液内科、助教授）
通山 薫（川崎医科大学検査診断学、教授）

低リスク骨髄異形勢症候群に対するシクロスポリン療法の追跡調査（シクロスポリン療法）

分担研究者 内山 卓（京都大学大学院医学研究科血液・腫瘍内科学、教授）
研究協力者 通山 薫（川崎医科大学検査診断学、教授）

研究要旨

(調査研究)

従来より特発性造血障害に関する調査研究班で行われてきた骨髄異形成症候群の症例登録と、2004年5月以降、当研究班および骨髄異形成症候群に対する新規治療法の開発に関する研究班で行われてきた「再生不良性貧血の前方視症例登録：セントラルレビュー」を統合して、新たに再生不良性貧血または FAB 分類での骨髄異形成症候群と診断された患者を前方視的に症例登録し、追跡調査するとともに、セントラルレビューをあわせて行うことを骨子とした研究が計画され、班会議での審議により認められた。現在必ずしも明らかでない両疾患の境界の設定をはじめとして、多くの新たな知見が得られることが期待される。

(シクロスポリン療法)

2001年5月より2004年3月にかけて症例登録が行われた低リスク骨髄異形成症候群に対するシクロスポリン療法の追跡調査により、シクロスポリンによる血球回復効果はシクロスポリン依存性であること、継続投与例により血球減少の改善傾向は持続し、一部に24週以降に始めて血球回復効果が得られた例が見られること、ならびに観察期間中央値が24ヶ月に達した現在においても、進行した病型への移行が認められず、長期の安全性の高さが示された。

A. 研究目的

<調査研究>

本邦における再正不良性貧血 (AA) と骨髓異形成症候群 (MDS) 患者を前方視的に登録し、臨床経過、治療内容、治療に対する反応性などを追跡調査することにより、これらの疾患の全体像を把握し、新規治療法の開発と導入のための基礎資料とする。また、セントラルレビューを通じて国際的に通用する異形成の判定基準を作成するとともに、調査研究で得られた情報とリンクさせることで、従来不明確であった AA と MDS の境界を明らかにする。

<シクロスポリン療法>

低リスク MDS に対するシクロスポリン療法に参加された患者の追跡調査により、シクロスポリンによる血球改善効果の持続性の検討ならびに MDS の自然経過に与える影響を検討する。

B. 研究方法

<調査研究>

従来より当研究班で行われてきた MDS の症例登録と、2004 年 5 月に開始された AA の前方視症例登録とセントラルレビューを統合して、新規に FAB 分類での MDS または AA と診断された、もしくはその可能性が高いと判断されたすべての患者を前方視的に症例登録し、追跡調査研究を行う。また、骨髓の芽球比率が 5% 未満のすべての例 (AA, MDS, ならびに両者の鑑別困難例) を対象にセントラルレビューを行う。登録センター事務局を京都大学血液・腫瘍内科に設置し、追跡調査は AA を金沢大学細胞移植学が、MDS ならびに鑑別困難な疾患は川崎医科大学検査診断学が担当する。また、セントラルレビューは埼玉医科大学血液内科に検鏡担当施設委員会事務局をおき、検鏡担当者と検鏡担当施設委員会により行われる。

患者登録は患者登録個人票を用いて行われ、患者担当施設と登録事務局により匿名化がなされる。その上で患者担当施設で定められた登録責任者により、患者情報ならびに診断時骨髓・末梢血標本が登録センター事務局に送付される。登録センタ

ー事務局は患者担当施設の診断に従い、AA および MDS 追跡調査担当施設に情報を提供し、追跡調査を依頼する。骨髓・末梢血標本は検鏡担当施設委員会事務局に送られ、検鏡担当者が検鏡した後、検鏡担当施設委員会による審査に付される。

(倫理面への配慮)

患者登録票には参加施設ごとの「施設別患者匿名化 ID」を記載し、個人を特定可能な名前、カルテ番号、イニシャル、各施設で既に用いられている患者 ID 番号を用ない。

同意説明文書を用いた説明により患者本人もしくは代諾者より文書による同意を取得できない例は除外する

<シクロスポリン療法>

低リスク骨髓異形成症候群に対するシクロスポリン療法に参加された 22 症例に対して、追跡調査を行った。但し、造血幹細胞移植施行例は打ち切りとする。

C. 研究結果

<調査研究>

合同班会議での審議、了承を得て、最終試験計画書が作成された。参加施設の倫理委員会の審査を経て、近日中に登録が開始される予定である。

<シクロスポリン療法>

22 名中 2 名に造血幹細胞移植が行われ、計画書に従い追跡調査対象から除外されたほか、1 例は転院のためフォローアップが行えなかった。残る 19 名のうち、研究計画書に定めた追跡調査期間である 3 年を経過したものは 5 名で、追跡調査期間の中央値は 24 ヶ月である。

シクロスポリン療法が有効と判定され、追跡調査が可能であった 10 例中 3 例では研究終了後にシクロスポリンの投与が打ち切られたが、いずれの例もその後血球回復効果が失われ、うち 1 例で再投与後に血球回復効果を認めた。残る 7 例は試験終了後も継続して投与がなされている。この 7 例全例において血球回復効果は持続しており、4 例で 1 部の血球回復効果が 24 週後の minor response か

ら major response へと改善し、4 例で 24 週後には認められなかった血球系列の改善効果が新たに認められた。24 週後の判定で無効と判定された 7 例中 1 例は他の治療により貧血の改善効果が見られ、24 週以降もシクロスポリンの治療が継続された 1 例で新たに血球回復効果を認めた。新規の重篤な有害事象の発生は認めていないが、骨髄腫を発生した 1 例は感染症により試験登録 32 ヶ月後に死亡された。MDS の病型の進行は今のところ報告されていない。

E. 結論

<調査研究>

セントラルレビューを組み込んだ AA と MDS の前方視的症例登録と追跡調査により、現在必ずしも明らかでない AA と MDS の境界の設定をはじめとして、多くの新たな知見が得られることが期待される。実り多いものとするため、特発性造血障害に関する調査研究班および骨髄異形成症候群に対する新規治療法の開発に関する研究班参加全施設のすべての患者が登録されることが望まれる。

<シクロスポリン療法>

シクロスポリンによる血球回復効果はシクロスポリン依存性であることが示唆された。また、シクロスポリン継続投与例では血球減少の改善傾向が持続し、一部に 24 週以降に始めて血球回復効果が

見られた例が見られたことから、若干の血球回復の兆しが見られる例では 24 週後に International Working Group の criteria を必ずしも満たさなくとも、シクロスポリン継続投与を試みる価値があるものと考えられる。一方、観察期間中央値が 24 ヶ月に達した現在においても、より進行した病型への移行が認められていないことは、シクロスポリン投与が MDS の自然経過に与える影響は少ないことを示唆させる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

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

骨髄異形成症候群に対する同種造血幹細胞移植成績に関する検討

分担研究者 岡本真一郎（慶應義塾大学医学部内科 助教授）

研究要旨 骨髄異形成症候群に対する同種造血幹細胞移植の実態、成績、予後因子を明らかにするために、日本造血幹細胞移植学会に登録された移植症例の後方視的解析を行った。移植施行年次別の移植成績は不応性貧血を除いて有意な改善は認められていないが、移植件数は着実に増加しており、移植による長期生存例の絶対数は着実に増加していると考えられた。HLA 適合同胞間移植を対象とした移植成績（生存率）に影響を及ぼす因子としては、急性GVHDの発症が低い移植後生存率と相関する一方で、慢性GVHDの発症（RR=0.54 CI 0.36-0.82 P=0.004）とTBIを含む前処置（RR=0.61 CI 0.40-0.93 P=0.02）が高い生存率と相関した。造血幹細胞ソース、GVHD予防、FAB subtypesは有意な因子ではなかった。この結果はMDSに対するRISTの可能性を支持するが、RISTに関しては移植後期の非再発死亡を低下させることが成績改善に重要であることが確認された

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植は現時点において骨髄異形成症候群(MDS)に対する唯一の根治療法である。近年、骨髄非破壊的移植に代表される移植技術の導入、免疫抑制剤などの支持療法の進歩、造血幹細胞ソースの拡大によってその移植件数は着実に増加している。この研究は、骨髄異形成症候群に対する同種造血幹細胞移植の実態、成績、予後因子を解析し、今後の適応拡大および移植成績向上に必要な事項を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

日本造血幹細胞移植学会に登録された移植症例から、1991年1月から2002年12月までに骨髄、末梢血あるいは臍帯血を用いて造血幹細胞移植が施行された、成人（移植時年齢16歳以上）骨髄異形成症候群（急性骨髄性白血病への移行症例を含む）症例を抽出し解析を行った。解析した因子は解析した因子はドナーおよび患者年齢、性別、MDSのFAB subtypes、移植前処置前の化学療法、移植前処置（TBIの有無）、GVHD予防法、造血幹細胞ソース、診断から移植までの期間、急性GVHD、慢性GVHDである。生存率、移植後合併症の累積発症率、

再発率はKaplan-Meier (KM) product limit estimate法を用いて算定した。生存率、再発率、非再発死亡率に影響を及ぼす因子の解析にはFisher exact test, Wilcoxon検定、Mantel-Hansel検定、Logistic regression解析などの統計的手法を用いた。

C. 研究結果

1) 移植件数 1991年から2002年12月間で779件の造血幹細胞移植がMDSに対して施行された。年代とともに移植件数は着実に増加し、1999-2002年に施行された移植件数は1991-2002年の件数のほぼ3倍となっており、その約40%は50歳以上の高齢者を対象として施行されていた（図1）。

2) 造血幹細胞ソース 1991-1994年までは大多数の移植は骨髄を用いて施行されていたが、1999-2002年には半数以上の移植において血縁者からの末梢血が、さらに症例数は少ないが臍帯血移植が細胞ソースとして用いられるようになった（図2）。自家造血幹細胞移植症例は19例あり、同種造血幹細胞移植と比較して高齢者（53 vs. 40 p<0.0001）、advanced MDS（90% vs. 54% p=0.006）を対象として施行されていた。自家移植の造血幹

細胞ソースは末梢血が95%であった。

3) 移植成績 自家移植19例の10年生存率は30%であった。自家移植例を除いた同種造血幹細胞移植例の5年生存率は、HLA適合血縁者間移植ではRA+RARS 73% (N=119)、RAEB 44% (N=104)、RAEB-T 42% (N=97)、CMML 48% (N=37)、AML 移行症例 (MDS/AML) 31% (N=93)であった。一方、HLA適合非血縁者間移植の成績はRA 62% (N=134)、RAEB 39% (N=144)、RAEB-T 35% (N=137)、CMML 47% (N=33)、MDS/AML 7% (N=26) (3年生存率)と血縁者間移植にやや劣り、特にMDS/AMLに対する移植成績は不良であった。移植施行年次別の全MDS症例の移植後生存率には有意な改善は認められていない。病型別の解析においても、RA/RARSを除いて移植施行年次が最近であっても生存率の改善は明らかではなかった(図3, 4)。

4) 移植成績に影響を及ぼす因子 骨髄破壊的善処地を用いたHLA適合血縁者間移植例を対象として全生存率(OS)、非再発死亡率(NRM)、再発率(RR)に影響を及ぼす有意な因子について検討を行った。解析した因子はドナーおよび患者年齢、性別、MDSのFAB subtypes、移植前処置前の化学療法、移植前処置(TBIの有無)、GVHD予防法、造血幹細胞ソース、診断から移植までの期間、急性GVHD、慢性GVHDである。

RA+RARS症例を含む解析では、FAB subtype (RAEB以上のadvanced MDS)と慢性GVHDの未発症が再発率と有意に相関した。造血幹細胞ソース、急性GVHDの発症は有意な因子ではなかった。一方、NRMは急性GVHD発症あるいはadvanced MDSに対する移植で有意に増加し、TBIを用いた前処置では有意に低下した。慢性GVHDの発症はRMに有意な影響を与えなかった。OSはFAB subtypesと急性GVHDの発症によって有意に低下し、TBI併用前処置および慢性GVHDの発症によって有意に高まった。

次にRA+RARS症例を除外して同様の解析を行った結果を表1-3に示す。再発率に関してはFAB subtypesは有意な因子ではなく、唯一慢性GVHDの発症が移植後の再発率低下と有意に相関した

(RR=0.31 CI 0.18-0.54 P<0.0001)。移植後の高いNRMと相関する因子は診断から移植までの期間(RR=0.92 CI 1.02-3.60 P=0.044)と重症急性GVHD (grade III-IV) (RR=2.65 CI 1.08-6.54 P=0.034)であったが、慢性GVHDの発症はNRMに有意な影響は与えなかった。OSに関しては、急性GVHDの発症が低い移植後生存率と相関する唯一の因子であり、慢性GVHDの発症(RR=0.54 CI 0.36-0.82 P=0.004)とTBIを含む前処置(RR=0.61 CI 0.40-0.93 P=0.02)が高い生存率と相関する因子であった。造血幹細胞ソース、GVHD予防、FAB subtypesは有意な因子ではなかった。

5) 高齢者MDSに対する移植成績 今回の調査で最近ではMDSの移植対象が高齢化していることが明らかとなったので、高齢者(年齢55歳以上)MDSに対する移植成績について検討を加えた。1995年以前には55歳以上の症例に対して移植は施行されていなかったが、1995年以降では75例の高齢者に対して移植が施行されていた。平均年齢は60歳(55-69)で、男性が70%、MDSの内訳では83%がadvanced MDSであった。さまざまな前処置とGVHD予防が用いられていたが、造血幹細胞ソースは70%が末梢血であった。全症例の5年生存率は25.5%であり、subgroupではRA+RARSの生存率が他のsubgroupsと比較して良好であった。図5にreduced intensity stem cell transplantation (RIST)と骨髄破壊的移植別にみた生存率、NRM、再発率を示した。生存率は移植後1年ではRIST群で高い傾向にあるが、2年後の生存率は両群で差は認められなかった。再発率は両群同等であった。NRMは、生存率と同様に移植後1年ではRIST群で有意に低いが、2年後には両群に差は認められなかった。

D. 考察

今回の解析では年次ごとの移植成績に有意な改善は認められなかったが、移植の絶対数は着実に増加しており、移植により根治が得られる症例の絶対数は着実に増加したと考えられる。自家移植件数は欧米とくに欧州と比較して著しく少ないが、

これは欧州と比較して同種造血幹細胞移植に伴う移植関連合併症の頻度と重症度が有意に低いことに加えて、HLA 適合ドナーを見出し易いことが主な理由と考えられる。

移植成績に影響を及ぼす因子の解析で、急性GVHDがNRM及び生存率に関して負の要因であることはこれ間での報告と同様であるが、慢性GVHDの発症のsurvival benefitが示唆されたことが興味深い。一方で、造血幹細胞ソースによって生存率や再発率が異なることは確認できなかった。これまでに報告された骨髄と末梢血を比較した9つのPhase III 臨床試験のメタアナリシスでは、MDSを含むhigh risk 症例では同種末梢血幹細胞移植によって生存率が有意に改善することが報告されている。後方視的検討ではあるが、相反する結果となった理由として急性GVHDの頻度が高まったことが再発率の低下による生存率の改善と相殺された可能性が考えられる。この結果からは、急性GVHDを適切にコントロールし、慢性GVHDに関連する抗MDS効果に期待するアプローチ(RISTなど)の有用性が支持されるが、慢性GVHDに伴うQOLの低下に関する検討を含めた有用性を最終的には評価すべきであろう。本邦ではMDSを対象として骨髄と末梢血を比較した無作為比較試験は施行されていないが、これも将来的な課題の1つである。TBIを含む前処置で生存率が改善していた。我々は以前にTBI、キロサイド、G-CSFを用いた前処置で、advanced MDSにおいて再発率を低下させ70-80%の長期生存が得られることを報告した。しかし、今回の解析結果では再発率の低下ではなくNRMの低下による可能性が示唆されており、患者のselection biasがあるものとする。

高齢者MDSに関しては、約半数の症例においてRISTが施行されており、RIST群では移植後早期の生存は標準的移植に勝るものの、2年以降の生存率は移植後後期のNRMが増加することによって、両群同等となっている。再発率には両群で差が認

められないことから、MDSに対するRISTの後期NRMを低下させることが、高齢者MDSの成績改善に重要であることが示唆された。この点に関しては移植時のco-morbidityから移植後の予後を予測するスコアなどによって、移植適応症例の選択を検討することも重要と考える。さらにここでも慢性GVHDに伴うQOLの評価は今後の重要な課題である。今回の解析では、WHO分類に基づいた移植成績の解析、現在盛んに施行されている臍帯血移植の実態に関して明らかにすることが出来なかった。

E. 結論

同種造血幹細胞移植によって、MDSの根治症例の絶対数は着実に増加している。ここには比較的高齢者への移植適応の拡大が大きく関与している。同種移植免疫反応に伴う抗MDS効果を適切に制御することで移植成績が向上する可能性が確認されたことは、移植適応症例の選択基準とあわせて、今後RISTの成績向上させる上で重要な課題であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

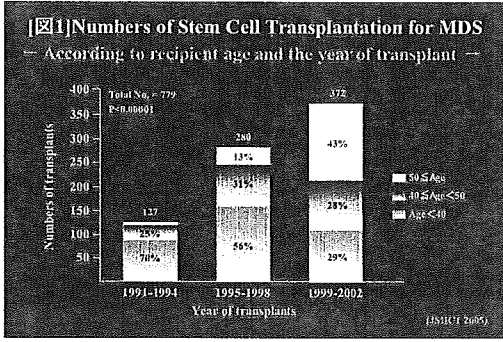
G. 研究発表

1. 論文発表 論文作成中。
2. 学会発表

1. Okamoto S: Allergenic stem cell transplantation for patients with myelodysplastic syndrome (MDS). Results of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). Leuk Res 29 (suppl 1) s21, 2005.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

4. 特許取得なし。
5. 実用新案登録なし。



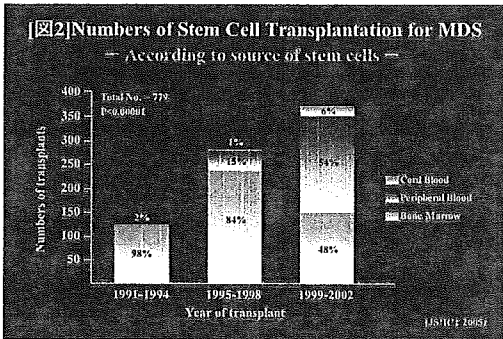
[表1] Multivariate Proportional Hazards Regression Analysis of Transplant Outcomes in HLA-Matched Sibling Transplantation for MDS
Relapse Rate

FAB Subtype	RAEB	RAEB-T	CMML	AML/MDS
RR (95% CI)	1.0	1.27 (0.62 - 2.57)	2.22 (0.93 - 5.29)	1.96 (0.96 - 4.01)
P value		0.51	0.071	0.063

Acute GVHD	No GVHD	Grade 1-2	Grade 3-4
RR (95% CI)	1.0	1.74 (0.96 - 3.15)	1.01 (0.29 - 3.59)
P value		0.07	0.98

Chronic GVHD	No GVHD	Limited + Extensive
RR (95% CI)	1.0	0.31 (0.18 - 0.54)
P value		< 0.0001

USJCT 2005



[表2] Multivariate Proportional Hazards Regression Analysis of Transplant Outcomes in HLA-Matched Sibling Transplantation for MDS
Non-relapse Mortality

FAB Subtype	RAEB	RAEB-T	CMML	AML/MDS
RR (95% CI)	1.0	1.0 (0.57 - 2.55)	1.16 (0.40 - 3.20)	1.10 (0.50 - 2.43)
P value		0.62	0.78	0.81

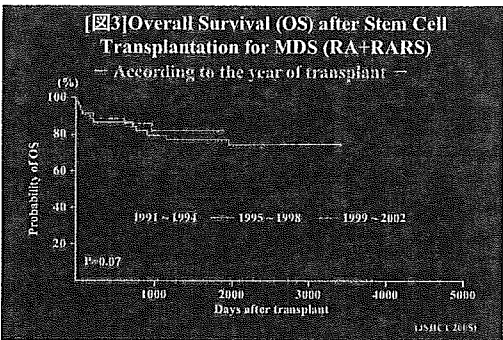
Time from Dx. to transplant	< 1y	1y ≤
RR (95% CI)	1.0	1.91 (1.02 - 3.60)
P value		0.044

Conditioning	TBI (-)	TBI (+)
RR (95% CI)	1.0	0.50 (0.28 - 0.93)
P value		0.027

Acute GVHD	No GVHD	Grade 1-2	Grade 3-4
RR (95% CI)	1.0	1.42 (0.73 - 2.80)	2.55 (1.08 - 6.53)
P value		0.30	0.031

Chronic GVHD	No GVHD	Limited + Extensive
RR (95% CI)	1.0	0.82 (0.44 - 1.52)
P value		0.53

USJCT 2005



[表3] Multivariate Proportional Hazards Regression Analysis of Transplant Outcomes in HLA-Matched Sibling Transplantation for MDS
Overall Survival

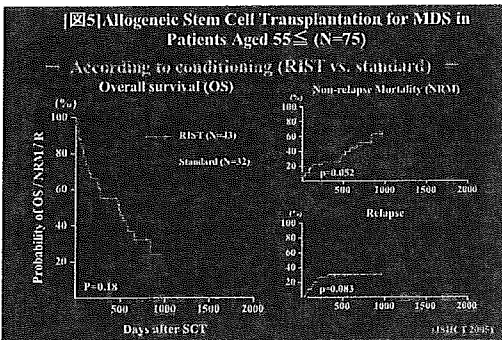
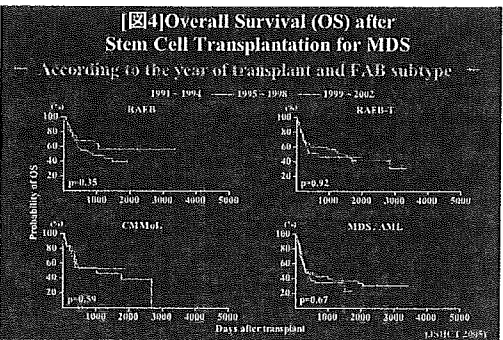
FAB Subtype	RAEB	RAEB-T	CMML	AML/MDS
RR (95% CI)	1.0	1.19 (0.70 - 2.0)	1.43 (0.75 - 2.83)	1.41 (0.83 - 2.41)
P value		0.51	0.30	0.21

Conditioning	TBI (-)	TBI (+)
RR (95% CI)	1.0	0.61 (0.40 - 0.93)
P value		0.02

Acute GVHD	No GVHD	Grade 1-2	Grade 3-4
RR (95% CI)	1.0	1.75 (1.10 - 2.78)	2.37 (1.17 - 4.77)
P value		0.02	0.02

Chronic GVHD	No GVHD	Limited + Extensive
RR (95% CI)	1.0	0.54 (0.36 - 0.82)
P value		0.004

USJCT 2005



C8 RNA アプタマーによる補体溶血阻止効果に関する研究

分担研究者 金倉 譲（大阪大学医学部 血液・腫瘍内科学 教授）

研究要旨

発作性夜間血色素尿症（PNH）は補体溶血を主徴とする造血幹細胞疾患であるが、溶血をコントロールする安全かつ有効な治療法はない。そこで、補体に対する RNA アプタマーの開発をめざした。SELEX システムを用いヒト後期補体成分（C8）に対する RNA アプタマーを開発し、補体溶血に対する阻止効果を検討した。C8 アプタマークローン（4-101）は 15nM の Kd と 74% の Bmax を有しており、強い溶血抑制効果を認めた。クローン（4-101）はマウス C8 に対しても抑制効果を示したので、マウスを用いた *in vivo* 試験に向けて現在改変中である。C8RNA アプタマーは補体溶血をコントロールすることが十分可能であることが示され、治療法への応用が期待される。

A. 研究目的

最近、ヒト化抗 C5 抗体による臨床治験の発作性夜間血色素尿症（PNH）の溶血に対する劇的な有効性が報告され、補体の活性化を制御することにより PNH の溶血をコントロールする可能性が示された。しかし、補体は溶血のみならず様々な宿主免疫にも関与していることから、長期に渡る C5 などの補体前期成分の抑制は、自己免疫病様症状や重症反復感染症などの危険性が高くなる。そこで RNA アプタマーのスクリーニングシステム（SELEX）を用いて（図 1）、C8 を標的とした RNA アプタマーによる補体阻害薬の開発をめざし、補体溶血に対する抑制効果を検討した。

B. 研究方法

SELEX 法（図 1）：RNA アプタマーライブラリー

と標的分子を反応させ、標的蛋白と結合した分子のみを分離し、RT-PCR にて増幅した後、RNA に転写するというサイクルを繰り返す。

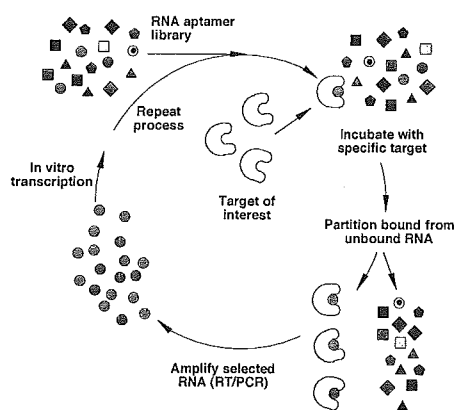


図 1. RNA Aptamer SELEX 法

数ラウンドの後（通常 8-12）、選別された RNA リガンドの塩基配列を決定し、標的蛋白に対する結合力と抑制活性を測定する。

Binding Assay：標的蛋白と γ P³²にて末端標識

した RNA アプタマーを反応させた後、RNA 蛋白複合物をニトロセルロースとナイロンメンブランにブロットし、放射活性を測定し結合率を計算する。

溶血試験：EA（抗体付着ヒツジ赤血球）と標的補体成分除去血清に希釈系列標的補体成分を加えて、50-80%溶血を誘導する標的補体分量を決定する。上記の条件を 100%溶血活性とし、RNA アプタマーを加えその溶血抑制活性を算出する。

（倫理面への配慮）

該当事項なし。

C. 研究結果

SELEX 4-7 ラウンドの結合定数を求めたところ、4 ラウンド BMAX 69%と Kd 2.0nM、5 ラウンド BMAX 71%と Kd 1.3nM、6 ラウンド BMAX 82%と Kd 1.3nM、7 ラウンド BMAX 54%と Kd 1.4nM であった（図 2）。

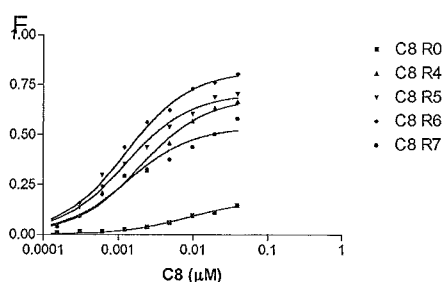


図 2. C8 RNA Aptamer (4-7 ラウンド) の C8 結合曲線

そこで 4-7 ラウンドの RNA をクローン化し、溶血試験にて溶血抑制活性を調べたところ、4-101 クローンは 250nM にて 92%の溶血抑制活性を認めた（図 3）。マウス補体に対する交

差反応を溶血試験にて調べたところ、4-101 クローンはマウス C8 に対しても抑制効果を示した。4-101 クローンは、74%の BMAX と 15nM の Kd を有していた（図 4）。

Hemolytic activity (%)

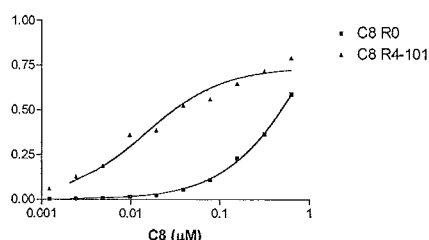


図 3. C8 RNA Aptamer (4-101) による補体溶血抑制効果

FB

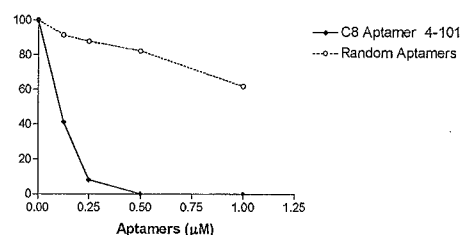


図 4. C8 RNA Aptamer (4-101) の C8 結合曲線

D. 考察

クローン (4-101) は C8 に対し強い結合力と溶血抑制活性を示し、マウス C8 に対しても抑制効果を示したので、マウスを用いた in vivo 試験に向けて現在改変中である。

E. 結論

補体に対する RNA アプタマーは PNH の補体溶血

をコントロールすることが十分可能であることが確認されたので、in vivo 試験に向けてクローンの効率の最適化、安定化をはかっており、今後の臨床への応用が十分期待される。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ezoe S, Matsumura I, Gale K, Satoh Y, Ishikawa J, Mizuki M, Takahashi S, Minegishi N, Nakajima K, Yamamoto M, Enver T, Kanakura Y. GATA transcription factors inhibit cytokine-dependent growth and survival of a hematopoietic cell line through the inhibition of STAT3 activity.

J Biol Chem. 280:13163-70, 2005

2. Kashiwagi H, Shiraga M, Kato H, Kamae T, Yamamoto N, Tadokoro S, Kurata Y, Tomiyama Y, Kanakura Y. Negative regulation of platelet function by a secreted cell repulsive protein, semaphorin 3A. Blood. 106:913-21, 2005

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

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

赤芽球癆の標準的治療の確立に関する研究

澤田 賢一¹、廣川 誠¹、中尾 眞二²、浦部 晶夫³、小峰 光博⁴、小澤 敬也⁵

秋田大学医学部内科学講座 血液・腎臓内科学分野¹、金沢大学大学院医学系研究科

細胞移植学²、NTT 関東病院 血液内科³、昭和大学藤が丘病院 内科血液⁴、

自治医科大学内科学講座 血液学部門⁵

研究要旨 再生不良性貧血の一亜型である慢性赤芽球癆（pure red cell aplasia, PRCA）の標準的治療の確立を目的として平成 16 年度からアンケート調査を開始した。平成 16 年度は、本研究班に属する 47 施設を対象とした。その結果、第一次調査で 126 例、第二次調査で 99 例の報告があり、解析可能症例は 87 例であった。うち、特発性 PRCA（34 例）の解析によって、初期治療薬としてシクロスポリン（cyclosporine A, CsA）の有用性が示唆された。しかし、症例数が少なく、CsA 有効群と副腎皮質ステロイド有効群間の無再発生存率に統計学的な有意差を認めなかった。続発性 PRCA では 53 例の登録があった。しかし、基礎疾患ごとの母数が少なく解析困難であった。以上を踏まえて、平成 17 年度はアンケート対象施設を全国 96 施設に拡大した。その結果、61 施設（63.5%）から第一次調査に対する回答があり 147 例の新規症例が登録された。

A. 研究目的

赤芽球癆（pure red cell aplasia, PRCA）は正球性貧血と網赤血球の著減および、骨髓赤芽球の著減を特徴とする症候群である。PRCA は稀な疾患で、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（cyclosporine A, CsA）の有効率が最

も高いことは疑いない。しかし海外では、初回治療に副腎皮質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。特発性とともに、リンパ増殖性疾患、リウマチ性疾患、薬剤などに伴うものなども含め、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確立する上で不可欠である。また、赤芽球癆は自己免疫的機序が明らかにされた最初の造血器疾患であり、その発症機序の解明は、造血不全疾患の発症機序の解明に寄与すると考えられる。このような観点から「厚生労働科学研究費補助金、難治性疾患克服研究事業、特発性造血障害に関する調査研究班」では、平成16年度から、後天性慢性PRCAを対象としてその治療実態に関するアンケート調査を開始した。その結果、初期治療薬としてシクロスポリン (cyclosporine A, CsA) の有用性が示唆されたが、症例数が少なく、CsA 有効群と副腎皮質ステロイド有効群間の無再発生存率に統計学的な有意差を認めることはできなかった。また、続発性PRCAは53例の解析可能症例があったものの、基礎疾患ごとの母数が少なく解析困難であった。以上を踏まえて、本年度はアンケート対象施設を、調査研究班の所属施設のみではなく、すべての都道府県を含む全国調査として拡大した。

I. 研究方法

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。アンケートを「特発性造血障害に関する

調査研究班」(小澤班)と「重点研究：骨髓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)に属する施設および全都道府県の大学/医学部附属病院の血液内科に送付し、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て調査を行った。

方法：第一次アンケート調査を2005年11月15日から2006年1月15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は2006年2月15日から4月15日までの期間で行い、個人調査票を回収する予定である。解析項目：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・合併症発症頻度など。

治療効果判定：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要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。輸血不要例における再発は、主治医の判断、薬剤の変更もしくは継続薬剤の初期投与量復帰とする。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。

(倫理面への配慮)

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。

J. 研究結果

全国 96 施設を対象として第一次調査を実施した。その結果、61 施設 (63.5%) から回答があり 147 例の新規登録を得た。うち 112 例は特発性 PRCA、35 例は続発性 PRCA であった。平成 16 年度の 126 例に加え、これまでの累積登録症例数は 259 例であった。調査対象期間が 1990 年から 2005 年までの 16 年であることから、後天性 PRCA の平均年間罹患数は少なくとも 16.2 人、人口 100 万人あたりの発症率は年間 1.3 人であると推定された。ただし、「ヒト B19 パルボウイルス感染症を除く 15 歳以上の後天性慢性 PRCA」を対象とした場合の概数である。

K. 考察

平成 16 年度の調査では、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。同様の理由で、基礎疾患を有する症例は 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。初期治療薬としてシクロスポリン (cyclosporine A, CsA) の有用性が示唆された。しかし、症例数が少なく、CsA 有効群と副腎皮質ステロイド有効群間の無再発生存率に統計学的な有意差を認めなかった。続発性 PRCA では 53 例の登録があった。しかし、基礎疾患ごとの母数が少なく解析困難であった。以上を踏まえて調査対象施設を拡大した。

本調査は第一次調査が終了した時点であり、今後の第 2 次調査とその解析が必要である。現時点で興味ある結果は、わが国における後天性慢性 PRCA の発症頻度である。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 年間で後天性慢性 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。その結果をもとに、再生不良性貧血の年間罹患率は人口 100 万人に対し 4.1 人であり、PRCA の年間罹患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 人であると推定されている。

平成 16 年度から引き続く今回の調査では、「ヒト B19 パルボウイルス感染症を除く 15 歳以上の後天性慢性 PRCA」を対象として、全国 96 施設で第一次調査を実施した。その結果、147 例の新規登録があり、平成 16 年度に登録された 126 例とあわせ全 259 例の後天性慢性 PRCA が登録された。調査期間が 1990 年から 2005 年までの 16 年間であることから、本邦における人口 100 万人あたりの後天性 PRCA 発症率は、すくなくとも年間 1.3 人であると推定された。これまでの年間推定発症率 (0.3 人/100 万人) の 4.3 倍となった要因としては、1) 調査対象を PRCA のみに限定したため回答が比較的容易であったこと、2) まれな疾患であるため調査回答者の症例把握が容易であることなどが推定される。しかし、その詳細な評価については今後の第二次調査が必要である。

今回の調査では、「特発性造血障害に関する調査研究班」の所属施設の他、全都道府県を

対象とした。また、施設としては、血液内科を含む診療科を有する大学病院すべてを対象とした。PRCA の診断は容易であるが、その基礎疾患の有無の検索は大学や地域の基幹病院に依頼されることが多い。従って、本調査は、現在の PRCA 診療の実態について、すべてではないがその大部分を把握している可能性が高い。特発性と続発性 PRCA の症例分布については、新規登録例（147 例）の 76.1%（112 例）が特発性であった。これまでの報告では、PRCA 全体に占める特発性の頻度は 30%～50%である。平成 16 年度の調査においても、解析可能症例 87 例中 34 例（39%）が特発性 PRCA であった。本調査では、基礎疾患による予後への影響を最小限にとどめるために、Dessypris & Lipton 分類を参考として特発性と続発性の再分類を行なっている。従って特発性と続発性の比率については、第二次調査（2006 年 2 月 15 日～4 月 15 日）の結果を待つ必要がある。

以上の検討をもとに、特発性慢性 PRCA に対する最も有効な薬剤とそれぞれの薬剤における無再発生存率が明らかになると考えられる。さらに登録症例の増加によって、これまで不明の部分が多かった基礎疾患ごとの有効な治療もまた明らかになることが期待される。しかし、これまでの検討から「CsA が最も有効な薬剤であるとしても CsA によって治癒は得られない」ことが示唆された。CsA をキードラッグとしつつ如何に PRCA の治癒をもたらすかが今後の最大の課題であり、そのためには PRCA の病因の解明が不可欠である。第二次調査に引き続いて、病因解析のための共同研究へと進展させていく予定である。

L. 結論

PRCA の標準的治療の確立を目的として平成 16 年度からアンケート調査を開始した。平成 17 年度はアンケート対象施設を全国 96 施設に拡大した。その結果、61 施設（63.5%）から第一次調査に対する回答があり 147 例の新規症例が登録された。調査対象期間が 1990 年から 2005 年までの 16 年であることから、後天性 PRCA の平均年間罹患数は少なくとも 16.2 人、人口 100 万人あたりの発症率は年間 1.3 人であると推定された。

M. 健康危険情報

該当なし。

N. 研究発表

1. 論文発表

1. 澤田賢一，茂木睦仁，廣川誠，間宮繁夫，浦部晶夫，中尾眞二，小峰光博：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．厚生労働省特定疾患特発性造血障害調査研究班、平成 16 年度研究業績報告書：80-87，2005.
2. Sawada K. Acquired aplastic anemia and pure red cell aplasia. In educational program book, The 67th annual meeting of Japanese Society of Hematology and The 47th annual meeting of Japanese Society of Clinical Hematology. 29-37, 2005.
3. Bohgaki T, Amasaki Y, Nishimura N, Bohgaki M, Yamahita Y, Nishio M, Sawada K, Jodo S, Atsumi T, Koike T. Upregulated

- expression of tumor necrosis factor- α converting enzyme in peripheral monocytes in patients with early systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis.* 64:1165-1173, 2005
4. Fujishima M, Hirokawa M, Fujishima N, Sawada K. TCR α β repertoire diversity of human naturally occurring CD4+CD25+ regulatory T cells. *Immunol Lett.* 99:193-197, 2005
5. Yoshioka T, Miura I, Kume M, Takahashi N, Okamoto M, Ichinohasama M, Yoshida T, Yamaguchi M, Hirokawa M, Sawada K, Nakamura S. Cytogenetic features of de novo CD5-positive diffuse large B-cell lymphoma: Chromosome aberrations affecting 8p21 and 11q13 constitute major subgroups with different overall survival. *Genes, Chromosomes & Cancer* 42:149-157, 2005
6. Okuyama S, Komatsuda A, Wakui H, Aiba N, Fujishima N, Iwamoto K, Ohtani H, Sawada K. Up-regulation of TRAIL mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells from patients with minimal-change nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 20:539-544, 2005
7. Takahashi N, Miura I, Kobayashi Y, Kume M, Yoshioka T, Otane W, Ohtsubo K, Takahashi K, Kitabayashi A, Kawabata T, Hirokawa M, Nishijima H, Ichinohasama R, Coteau JD, Miura AB, Sawada K. Fluorescence in situ hybridization monitoring of BCR-ABL-positive neutrophils in chronic-phase chronic myeloid leukemia patients during the primary stage of imatinib mesylate therapy. *Int J Hematol* 81:235-241, 2005
8. Komatsuda A, Maki N, Wakui H, Ohtani H, Hatakeyama T, Yasuda T, Nakamoto Y, Imai H, Sawada K. Development of systemic λ -light chain amyloidosis in a patient with γ -heavy chain deposition disease during long-term follow-up. *Nephrol Dial Transplant* 20:434-437, 2005
9. Wakui H, Masai R, Okuyama S, Ohtani H, Komatsuda A, Toyoshima I, Watanabe S, Sawada K. Development of lupus nephritis in a patient with human T-cell lymphotropic virus type I-associated myelopathy. *American J Kidney diseases* 46(2):e25-e29, 2005
10. Kosugi S, Kawabata Y, Hasegawa H, Yoshioka T, Hirokawa M, Miura I, Sawada K. Successful reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation (RIST) in a patient with myelodysplastic syndrome with severe coronary artery disease. *Int J Hematol*, (in press).
11. Saito K, Hirokawa M, Inaba K, Fukaya H, Kawabata Y, Komatsuda A, Yamashita J, Sawada K. Phagocytosis of co-developing megakaryocytic progenitors by dendritic cells in culture with thrombopoietin and tumor necrosis factor- α and its possible role in hemophagocytic syndrome. *Blood* [Epub ahead of print], 2005

2. 学会発表

1. 廣川誠、澤田賢一、茂木睦仁、間宮繁夫、浦部晶夫、中尾眞二、小峰光博：後天性特発性 PRCA の治療ガイドライン作成を目指した後方視的全国調査報告、第 67 回日本血液学会・第 47 回日本臨床血液学会合同総会、横浜、2005. 9. 17-19
2. 澤田賢一：教育講演、再生不良性貧血・赤芽球癆の診断と治療、第 67 回日本血液学会・第 47 回日本臨床血液学会合同総会、横浜、2005. 9. 17-19
3. 藤島直仁、廣川誠、藤島眞澄、斉藤宏文、茂木睦仁、三浦偉久男、澤田賢一：胸腺腫合併赤芽球癆でみられた $V\delta 1+\gamma\delta T$ 細胞の oligoclonal expansion、第 67 回日本血液学会・第 47 回日本臨床血液学会合同総会、横浜、2005. 9. 17-19
4. 藤島眞澄、廣川誠、藤島直仁、斉藤宏文、川端良成、三浦偉久男、澤田賢一：ヒト $CD4+CD25+$ 制御性 T 細胞における TCRBV レパトアの多様性について、第 67 回日本血液学会・第 47 回日本臨床血液学会合同総会、横浜、2005. 9. 17-19
5. Sawada K, Hirokawa M, Inaba K, Fukaya H, Kawabata Y, Komatsuda A, Yamashita J, Saito K. Phagocytosis of co-developing megakaryocytic progenitors by dendritic cells in the culture with thrombopoietin and tumor necrosis factor- α : Possible role in hemophagocytic syndrome. Poster Session 333-III. Monday, December 12, Atlanta, 2005

6. Hirokawa M, Sawada K, Motegi M, Mamiya S, Teramura M, Nakao S, Ozawa K, Urabe A, Omine M. A nationwide survey of immunosuppressive therapy for idiopathic acquired pure red cell aplasia in Japan and a proposal for first-Line treatment: Report of the PRCA Collaborative Study Group. Publication Only, Atlanta, 2005

O. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

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