

200834016A

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

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小澤 敬也

平成21（2009）年4月

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

平成20年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小澤 敬也

平成21（2009）年4月

目次

I. 総括研究報告書

- 特発性造血障害に関する調査研究 小澤 敏也 1

資料1 班員構成および研究領域

II. 分担研究報告書

1. 本邦における原発性骨髄線維症臨床像 赤司 浩一 19
2. 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・追跡調査に関する研究 内山 卓 21
3. 慢性移植片対宿主病(GVHD)の NIH 診断基準と重症度スコアの validation 岡本 真一郎 23
4. 本邦 PNH 患者における補体阻害剤(eculizumab)の有効性と安全性の比較検討 金倉 譲 28
5. MDS 関連遺伝子 AML1/Runx1 による NF- κ B のシグナル制御 黒川 峰夫 31
6. 赤芽球癆の標準的治療の確立に関する研究 澤田 賢一 33
7. FAB 分類の不良性貧血における日本・中国・ドイツ例の臨床像の比較 朝長 万左男 35
8. 巨核球減少性血小板減少症における免疫病態マーカー検出の意義 中尾 眞二 38
9. 小児骨髄異形成症候群に関する研究 中畑 龍俊 41
10. GATA1 および GATA2 の WT1 遺伝子 3' enhancer への結合が白血病および固形腫瘍細胞株の WT1 高発現に必須である 村手 隆 43
11. 再生不良性貧血の新規申請患者における臨床的特徴 ～認定基準の観点から～ 杉田 稔 45

III. 研究協力者報告書

1. 移植片対宿主病における T cell receptor excision circle の解析 今村 雅寛 47
2. 本態性血小板血症症例におけ MPL 遺伝子変異の解析 大橋 春彦 49
3. 日本小児血液学会疾患登録事業を一次登録とする再生不良性貧血など造血障害の疫学データベース構築 小原 明 51
4. Coombs 陰性自己免疫性溶血性貧血診断における赤血球結合 IgG カットオフ値 梶井 英治 53
5. 細胞周期プロファイリング(C2P) 技術を用いた骨髄異形成症候群(MDS/AML)と

de novo AML の生物学的差異に関する検討	金丸 昭久	5 5
6. 骨髄異形性症候群、急性骨髄性白血病を多発した 2 家系における遺伝子変異の検索	唐澤 正光	5 7
7. 発作性夜間血色素尿症における HMGA2 の発現について	木下 タロウ	5 9
8. AML1/RUNX1 点変異による MDS/AML 発症機構	木村 昭郎	6 1
9. 非トランスフェリン結合鉄 (NTBI) の測定およびヘプシジンの測定	高後 裕	6 3
10. 小児再生不良性貧血の免疫抑制療法に対する反応予測因子の検討	小島 勢二	6 5
11. 造血細胞における ROS センサーとしての HIF-1 の機能解析	小松 則夫	6 7
12. MDS 関連分子 c-Cbl による造血制御メカニズムの解析	鈴木 隆浩	6 9
13. 骨髄異形成症候群に対する骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植に関する研究	谷本 光音	7 2
14. 骨髄不全症におけるテロメア制御遺伝子変異	壇 和夫	7 4
15. 未熟網赤血球の指標としての CD71(トランスフェリン・レセプター)の意義: PNH症例における解析	千葉 滋	7 6
16. 骨髄異形成症候群由来細胞株 MDS-L における lenalidomide の影響	通山 薫	7 8
17. 発作性夜間血色素尿症 (PNH) 関連の造血障害と NKG2D 介在性免疫	中熊 秀喜	8 0
18. 「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」のセントラルレビュー対象登録例による骨髄検査の実態調査	松田 晃	8 2
19. Fanconi 貧血の分子病態の解明	山下 孝之	8 4

IV. 輸血後鉄過剰症の診療ガイド

V. 班会議関係資料

資料 2 班員会議議事録

資料 3 班会議総会プログラム

VI. 研究成果の刊行に関する一覧表

VII. 研究成果の刊行物・別刷

I. 総括研究報告書

特発性造血障害に関する調査研究

研究代表者 小澤 敬也（自治医科大学医学部 内科学講座血液学部門 教授）

研究要旨

本研究班では、再生不良性貧血、溶血性貧血、不応性貧血（骨髄異形成症候群）、骨髄線維症を対象疾患とした全国規模の調査研究を、疫学・病因・病態・診断・予後などの幅広い領域にわたって実施した。

再生不良性貧血の領域として、①再生不良性貧血の新規申請患者における臨床的特徴を検討した。②再生不良性貧血の発症動向を把握するため日本血液学会（日本臨床血液学会）と連携し、血液疾患全例登録を継続した。③セントラルレビューを行い、再生不良性貧血と骨髄異形成症候群（不応性貧血）の鑑別法について検討を継続した。④PNH型血球や自己抗体などの免疫病態マーカーの意義を調べるための共通免疫抑制療法プロトコールによる臨床試験を継続した。⑤巨核球減少性血小板減少症における免疫病態マーカー検出の意義について検討した。⑥ファンconi貧血の分子病態解析を行った。⑦再生不良性貧血のI型である慢性赤芽球病については、標準的治療法開発を目的とした全国実態調査を実施し、結果を解析した。

溶血性貧血領域の自己免疫性溶血性貧血については、性・年齢を考慮したカットオフ値の設定により、クームス陰性自己免疫性溶血性貧血の診断において赤血球結合IgGは高い有用性を示した。治療前に検査を行った場合には、gold standardとして利用できる可能性が示唆された。発作性夜間ヘモグロビン尿症については、新規治療薬エクリズマブの研究を進めると共に、わが国での治験データを調査し、エクリズマブは安全かつ忍容性も良好で、PNHの溶血に対して極めて有効な薬剤であることを確認した。

不応性貧血の領域では、骨髄異形成症候群(MDS)と再生不良性貧血に関する疫学統計の作成、両者の鑑別のための形態学的異形成所見のコンセンサス作成、本邦における両疾患の治療成績、臨床像の把握を目的として、①骨髄異形成症候群、再生不良性貧血の前方視的症例登録、セントラルレビュー、追跡調査研究を継続した。②症例数が少なく診断標準化作業が進んでいなかった小児MDSについても、日本小児血液学会と提携してセントラルレビューを推進し、小児MDSにおける疫学的特徴と予後の解析を行った。③造血不全の診断のため行われている骨髄検査の実態調査を行った。④わが国におけるMDS症例の特徴を把握するため、MDS症例の日本・中国・ドイツにおける臨床像の比較を行った。⑤5q-症候群に対して特効薬的效果を示すlenalidomideの作用機序について検討を加えた。⑥MDSや白血病発症に多様な役割を果たすAML/Runx1分子がNF- κ Bシグナルを活性化し、MDS病態の進展に関与している可能性が示された。⑦腫瘍細胞におけるWT1遺伝子発現制御メカニズムについて検討を加えた。

原発性骨髄線維症の領域では、1999年から2008年の10年間に、432例の原発性骨髄線維症の新規登録があった。これらの症例で予後を解析したところ、谷本らの分類とCervantesの分類で高リスク群、低リスク群を分けることが可能であり、わが国における予後予測分類として有用であることが判明した。

その他、多くの造血不全症候群にとって根治療法となる造血幹細胞移植について、移植後の慢性 GVHD に関する新 NIH 基準をわが国の症例に当てはめ、その有用性を検討した。また、特発性造血障害疾患患者の多くが罹患する鉄過剰症について、体内の鉄動態を検討し、鉄キレート剤の効果を検証する臨床研究を本年度より開始した。

<研究分担者>

赤司 浩一

九州大学大学院医学研究院
病態修復内科学 教授

内山 卓

京都大学医学研究科医学専攻内科系
内科学講座 血液・腫瘍内科学 教授

岡本真一郎

慶應義塾大学医学部内科 血液研究室 准教授

金倉 謙

大阪大学大学院医学系研究科
血液・腫瘍内科学 教授

黒川 峰夫

東京大学大学院医学系研究科
血液・腫瘍内科学 教授

澤田 賢一

秋田大学大学院医学系研究科
内科学第三講座 教授

朝長万左男

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科
附属原爆後障害医療研究施設 分子医療部門
分子治療研究分野 教授

中尾 眞二

金沢大学大学院医学系研究科
細胞移植学 教授

中畑 龍俊

京都大学大学院医学研究科
発達小児科学 教授

村手 隆

名古屋大学医学部 保健学科 教授

杉田 稔

東邦大学医学部医学科

社会医学講座衛生学分野 教授

A. 研究目的

再生不良性貧血、溶血性貧血、不応性貧血（骨髄異形成症候群 MDS-RA）、骨髄線維症の 4 疾患を対象とした全国規模の調査研究が、疫学・病因・病態・診断・治療・予後などの幅広い領域にわたって、我が国を代表する専門医の力を結集して継続的に進められてきた。その研究成果の多くは臨床現場に反映され、患者福祉の向上に多大な貢献をなしている。

しかしながら、これら 4 疾患の本質的な分子病態には依然として不明の点が多く残されており、根本的治療の確立には至っていないのが実情である。とりわけ、再生不良性貧血と不応性貧血を明確に区別することは難しく、境界領域の扱いは必ずしも判然としていない。また、不応性貧血の診断そのものについても、異形成の判定などに検査者によるばらつきが生じている可能性がある。日常の診療および臨床研究を推進する上では診断の一致率を高める必要があり、広く受け入れられやすい科学的指標を見出す必要がある。また、治療面では造血幹細胞移植療法以外に奏効率の高い治療法のない MDS に関しては、今後は分子標的治療薬の導入が期待されている。溶血性貧血では、発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）に対しては抗体医薬（補体阻害剤）の開発が進められており、臨床試験が既に開始された。これまで有効な治療法を欠いていた骨髄線維症につい

でも、新しい角度からの取り組みが必要である。

ゲノム医療・再生医療が大きな発展を遂げつつある現代医学の中で、その潮流に沿った形で特発性造血障害疾患へのアプローチも様変わりしてきている。最新のゲノム解析/プロテオーム解析技術の導入により、不透明感の残る分子病態に新たな突破口が切り開かれようとしている。また、これからの先端治療の大きな方向性である分子標的治療（低分子治療薬あるいは抗体医薬を代表とし、将来的には遺伝子治療の方向性も含んでいる）への期待も高まっている。したがって、本研究班では、このような新しいアプローチを導入しつつ、特発性造血障害4疾患の病態解明・診断基準/重症度分類の見直し・新規治療法の導入・治療指針の改訂を適宜進めていく。さらに、臨床調査個人票などを活用し、患者実態把握及び疫学的解析を行い、治療成績の評価を進めていく。また、国際ハーモナイゼーションの観点から、欧米・アジアの研究者との交流も活発に行う。本研究班の活動で得られた研究成果を踏まえ、血液関係の諸学会への働きかけにも力を入れ、臨床現場への確実なフィードバックを図ることも大きな責務である。

B. 研究方法

本研究班は、研究代表者1名、研究分担者11名、研究協力者19名の計31名より構成される。

各研究分担者の担当研究領域は「資料1.班員構成および研究領域」に示した通りであるが、必ずしもそれに限定されず、横断的にフレキシブルに研究に従事した。また、研究協力者は広く全国をカバーし、効率的な共同研究を実施できる布陣とした。症例調査などの全国規模の調査研究は、国立病院機構病院をはじめとする全国主要病院、日本血液学会・日本造血細胞移植学会・日本小児血液学会など関連学会の協力を得て実施した。さらに、重点研究グループ「骨髄異形成症候群に対する病態解明・治療法の開発に関する研究」班（三谷班）とも密接に連携を

とった。

具体的な研究計画・方法については、共同研究を中心に主要なものは下記の通りであるが、その他、様々な各個研究を実施した。

1. 再生不良性貧血：

(1) 再生不良性貧血の臨床調査個人票を解析し、再生不良性貧血の新規申請患者における臨床的特徴を検討した。(2) 新規に発症した全血液疾患症例の把握を目的に、日本血液学会と連携して、疾患登録システムを構築し登録を継続した。(3) 新規発症の全患者を、(2)とは別に前方視的に登録し、これら新規症例については骨髄標本のセントラルレビューを行い、診断の妥当性を検証するとともに、骨髄異形成症候群の不応性貧血と再生不良性貧血を鑑別する基準について検討した。(4) PNH型血球や自己抗体などの免疫病態マーカーの意義を調べるための共通免疫抑制療法プロトコールによる臨床試験を継続した。(5) 巨核球減少性血小板減少症における免疫病態マーカー検出の意義について検討した。(6) Fanconi 貧血の分子病態解析を行った。(7) 再生不良性貧血の1亜型である慢性赤芽球癆(PRCA)については、標準的治療法開発を目的とした全国実態調査を実施し、結果を解析した。

2. 溶血性貧血：

(1) 自己免疫性溶血性貧血(AIHA)に関しては、Coombs 陰性 AIHA 診断における RBC-IgG 量の適切なカットオフ値の設定を目的に DAT 陰性溶血性貧血 140 例の検討を行った。

(2) PNH に関しては、本邦で開始された eculizumab 臨床試験の成績を、これまで蓄積された欧米での成績と比較・検討することにより、eculizumab の本邦における有効性と安全性を検証するとともに、残された今後の課題について考察を行った。

3. 不応性貧血：

(1) 「骨髄異形成症候群に対する病態解明・治療法の

開発に関する研究」班（三谷班）と連携し、症例登録システムを継続し、(2) セントラルレビューを通じた診断一致率の向上、(3) 2006年までに小児血液学会に登録された453例についての予後調査、(4) 造血不全の診断に実施されている骨髄検査の実態調査、(5) MDS症例の日本・中国・ドイツ例の臨床像の比較、(6) 5q-MDS細胞へのlenalidomideの作用機序の解明、(7) AML1/Runx1のNF- κ Bのシグナル伝達経路への影響、(8) 白血病細胞で良く知られ臨床的にも重要視されているWT1遺伝子の高発現のメカニズムを転写調節の観点から解析した。

4. 骨髄線維症：

日本血液学会認定施設にアンケート調査を行い、2008年に新たに原発性骨髄線維症と診断した患者登録、臨床情報の集積を行うと同時に、1999年から2007年までの登録症例の追跡調査を行った。集積したデータをもとに、本邦からのものも含めて、現在まで報告がある原発性骨髄線維症の予後予測分類の妥当性を検討した。

5. その他：

(1) 特発性造血障害疾患においては、造血幹細胞移植が唯一の根治療法である場合が多い。慢性GVHDは造血幹細胞移植の治療成績を左右する因子の一つであるが、最近NIHから慢性GVHDの診断と重症度に関する基準（NIH Consensus Criteria for the Diagnosis and Severity Grading of Chronic GVHD）が提唱された。本研究では、様々な移植成績の指標をend pointsとして、新規NIH診断基準と重症度スコアの臨床的意義についてこれまでのシアトル基準と比較する後方視的validationを行った。

(2) 特発性造血障害患者にしばしば認められる鉄過剰症の病態および鉄キレート療法の効果を検討するため、「骨髄不全症候群患者における体内鉄動態に関する臨床研究」、および「輸血後鉄過剰症に対する鉄キレート療法の有用性（臓器障害の予防改善効果）

に関する臨床研究」を開始した。付随研究として、血清NTBIおよびヘプシジン測定を行っている。

前者では輸血未施行の骨髄不全症候群患者から同意を得た上で採血を行い、血清鉄、不飽和鉄結合能、フェリチン、NTBI、血清ヘプシジン値を測定し、骨髄不全症候群患者における鉄代謝状態について検討を行う。また、後者では鉄キレート療法を施行された輸血後鉄過剰症の患者の経過を観察し、血液系をはじめとする臓器障害の改善経過、および上記の各種鉄代謝マーカーの変化を調べ、鉄キレート療法の与える影響について検討を加える。

（倫理面への配慮）

全国実態調査など必要に応じて行う全国規模の調査にあたっては、患者個人情報のお守りについて遺漏のないよう資料の収集と取り扱いに留意した。公費負担対象疾患の臨床調査個人票データの取り扱い保管は評価委員会の助言に従った。前方視治療研究、病態研究では研究者の所属施設毎に施設内審査委員会・倫理審査委員会に諮り、事前に書面での承認を得た。その他の医学研究あるいは患者検体の収集と利用に関しては、事前の十分な説明と患者の自由意思による同意を取得した。ヒト遺伝子解析研究に該当する場合は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に示された基準と進め方の具体的手順を遵守した。

その他、研究活動の公開性に配慮し、研究成果発表の場である班会議総会には、班研究者以外に関心をもつ他の研究者などにも広く通知するほか、患者支援団体へ案内するなど配慮した。

C. 研究結果

1. 再生不良性貧血：

(1) 再生不良性貧血の臨床調査個人票を解析し、我が国における認定再生不良性貧血の特徴を解析した。対象者は男性1484名（平均年齢52.3±24.3歳）、女

性 1785 名 (平均年齢 57.7±22.0 歳) だった。臨床所見の有所見率は貧血 75.3%、出血傾向 58.5%、発熱 27.4% だった。全く臨床所見を認めない者が男性で 13.3%、女性で 12.8% 存在した。

(2) 新規に発症した全血液疾患症例の把握を目的に、日本血液学会と連携して、疾患登録システムを構築し登録を継続している。すでに 140 を超える施設において症例登録が進行している。

(3) 新規発症の全患者を、(2) とは別に前方視的に登録し、これら新規症例については骨髓標本のセントラルレビューを行い、特に再生不良性貧血と MDS-RA の鑑別が困難な症例における鑑別基準について検討を継続した。

(4) PNH 型血球や自己抗体などの免疫病態マーカーの意義を調べるための共通免疫抑制療法プロトコルによる臨床試験を継続した。

(5) 巨核球減少性血小板減少症 29 例中 16 例 (55%) で PNH 型血球が検出された。28 例中 15 例で抗ヒト胸腺細胞ウマ免疫グロブリン (ATG, 3 例) またはシクロスポリン A (CsA, 12 例) による免疫抑制療法が施行され、PNH 型血球陽性例の 80% が CsA に、また 1 例が ATG+CsA に反応して改善した。PNH 型血球陰性例で免疫抑制療法が施行されたのは 3 例のみ (25%) であったが、そのうち 1 例は CsA 無効、2 例は ATG+CsA に反応して改善した。

(6) Fanconi 貧血の分子病態解析では、Y-Pol のうち、Pol η と REV1 が DNA 損傷後にクロマチンにおいて FANCA, FANCD2 と結合すること、分子シャペロン Hsp90 が Pol η に特異的に結合し、DNA 損傷部位への局在に重要な役割を果たすことを見いだした。

(7) 慢性赤芽球癆 (PRCA) について全国実態調査を継続し、結果を解析した。対象患者の年齢中央値は 68 歳 (48-82 歳) であった。悪性リンパ腫合併症例において、その組織型は follicular lymphoma (1 例)、splenic marginal zone lymphoma (1 例)、diffuse large B

cell lymphoma (2 例)、angioimmunoblastic lymphoma T cell type (2 例)、precursor T lymphoblastic lymphoma (1 例)、adult T cell lymphoma (1 例) であった。PRCA に対する寛解導入療法として副腎皮質ステロイド、シクロスポリン、化学療法のいずれか単独、あるいはそれらの併用が 8 例中 7 例において奏効した。奏効例 7 例中 PRCA の再燃は 1 例において観察され、シクロスポリンで再寛解を得た。4 例において免疫抑制療法による維持療法なしに PRCA は寛解を維持していた。8 例中 2 例が PRCA、リンパ腫ともに無病生存中であった (81 ヶ月、128 ヶ月)。

2. 溶血性貧血:

(1) AIHA について: アンケートへの回答は 192 例 (78%) であった。その 144 例が DAT 陰性であり、臨床的に AIHA と診断された症例は 68 例 (温式 64 例、冷式 4 例)、DAT 陰性非 AIHA は 76 例であった (DAT 陰性溶血性貧血 140 例)。Coombs 陰性 AIHA 診断における感度・特異度・尤度比、ROC 曲線下面積を求めたところ、RBC-IgG でのみ、カットオフ値 83 以上で感度 70%、特異 84%、尤度比 4.8 と有用性が認められた。Coombs 陰性 AIHA 症例における RBC-IgG の分布は性・年齢に特異的であり、Coombs 陽性 AIHA での報告と同じ傾向を認めた。この性別・年齢別分布を考慮して、カットオフ値 (男性 60 歳未満: 60 以上、60 歳以上: 102 以上、女性 45 歳未満: 96 以上、45 歳以上: 128 以上) を設定すると、感度 71%、特異度 88%、尤度比 5.9 と良好な尤度比が得られた。

(2) PNH について: Eculizumab の臨床治験を調査し、以下の報告を確認した。溶血の指標である血清 LDH 値 (中間、正常 103-223) は、投与前 1814 単位/L と高値であったが、投与後速やかに下降し、12 週には 244 単位/L と正常よりやや高値に安定した ($P < 0.001$)。溶血量を、血清 LDH 値曲線下面積をもとに算定すると、86% の溶血抑制効果を認めた。また、治療前 12 週に輸血を必要とした患者のうち 67% が、治療期間

中 12 週には全く輸血不要となっており ($P<0.001$)、貧血の改善を認めた。また、患者 QOL (生活の質) を EORTC QLQ-C30 を用いて比較すると、多くの項目で 12 週に有意な改善を認めた ($P=0.02$)。安全性については、死亡例、重篤有害事象ともに、12 週時点では認めておらず、高頻度の有害事象としては、頭痛、鼻咽頭炎、嘔気等を認めたが、いずれも軽微なものであった。

3. 不応性貧血:

- (1) 「骨髄異形成症候群に対する病態解明・治療法の開発に関する研究」班 (三谷班) と連携し、症例登録システムを継続し、症例登録を継続した。
- (2) 平成 20 年 12 月までに 47 例が前方視的に登録された。内訳は再不貧 15 例、MDS 29 例 (FAB 分類で RA 15 例、RARS 2 例、RAEB 11 例、RAEB-t 1 例)、両者の鑑別困難 3 例であった。セントラルレビューは 31 例に行われ、患者登録施設診断とセントラルレビュー診断は 4 例をのぞいて一致した (一致率 87%)。
- (3) 各病型の 4 年生存率: 一次性 MDS は 69% ($n=96$)、JMML は 57% ($n=71$)、治療関連性 MDS は 70% ($n=19$)、先天要因を有する例は 58% ($n=35$) であった。一次性 MDS を FAB 分類で分けると RA は 90% ($n=52$)、RAEB は 37% ($n=25$)、RAEBT は 40% ($n=19$) であった。また一次性 MDS において核型では 7/7 のある例は 42% ($n=14$)、複雑核型異常は 25% ($n=9$)、その他の核型異常は 80% ($n=28$)、正常核型は 78% ($n=42$) であった。
- (4) 73 例中 55 例 (75%) [AA: 47 例 (84%)、MDS: 6 例 (40%)、診断不能: 2 例 (100%)] に腸骨での骨髄生検が実施された。胸骨または腸骨での骨髄穿刺は全例に実施された。18 例 (25%) [AA: 9 例 (16%)、MDS: 9 例 (60%)] は骨髄生検の実施なしに診断された。骨髄生検の実施なしに診断された 18 例では 1-3 回 [1 回: 14 例 (AA: 6 例、MDS: 8 例)、2 回 3 例 (AA: 2 例、MDS: 1 例)、3 回 1 例 (AA: 1 例)] の胸骨または

腸骨での骨髄穿刺がおこなわれた。骨髄穿刺が 1 回のみ実施された場合は、腸骨が選択されることが多かった (63%)。

腸骨での 1 回の骨髄穿刺のみで診断された症例は 10 例 (AA: 5 例、MDS: 5 例) あり、登録施設診断 AA 5 例全例に、MDS 5 例中 1 例に、登録施設診断と検鏡担当施設の評価と何らかの不一致があり、最終中央診断確定のために検鏡担当施設委員会の共同検鏡を要した。

- (5) 日中両国の検鏡者の形態学的診断の一致率は 98.3% であった。また、FAB 分類を用いた診断一致率は 94% ($p<0.001$) と高率であった。従って両国の診断が一致し、その後の臨床像を検討することが可能であると判断した。

日本と中国の FAB-RA 患者を比較すると、中国の方が、日本例よりも好中球とヘモグロビンが有意に減少していた。また、二血球以上減少している割合が多かった。しかし、それ以外は非常に似通った特徴を有していた。次に、ドイツを加えた 3 国間で比較を行った結果、以下のような結果が得られた。

診断時年齢が日中において低かった (日本: 57 才、中国: 52 才、ドイツ: 71 才)、血球減少の程度が強い、二/汎血球減少の割合が多い、正常核型が多い (異常核型 日本: 29%、中国: 33%、ドイツ: 53%) / $5q^{-}$ の割合が少ない。また、血球減少の予後に対する影響が弱く、日中はドイツより OS (75% OS; 日本: 52 ヶ月、中国: 38 ヶ月、ドイツ: 16 ヶ月) / LFS (90% LFS; 日本: 92 ヶ月、中国: 到達せず、ドイツ: 23 ヶ月) が良好であった。

- (6) MDS-L に lenalidomide を添加すると複数核細胞の増加を認めた。添加 4 日目には主に 2 核細胞が出現したが、フローサイトメリーでは tetraploid (4N) 細胞が増加していた。さらに 4 日目以降 4 核以上の細胞が増加するとともに 8N 細胞が増加し、10 日目では約半数の細胞が複数核を呈していた。また上記複数核細胞

の増加とともに、4日目以降細胞増殖が抑制され、フローサイトメトリーでも subdiploid 分画が増加した。これらの分子基盤を検証するためにマイクロアレイを用いた遺伝子発現解析を施行したところ、5q31-33に局在し、lenalidomideにて発現が上昇した分子として EGR1 (early growth response1)、CSF1R (macrophage colony-stimulating factor receptor)などを同定し、発現が減少する分子として IRF-1(interferon regulatory factor-1)や KIF20A (kinesin family member 20A)を同定した。また Gen MAPP を用いた Gene ontology(GO)解析において細胞周期、特に MYH10 (non-muscle myosin heavy chain II B)、PLKI (polo-like kinase 1)、CIT (citron kinase)、AURKB (aurora kinase B)など分裂期間連分子の発現低下を認めた。また同時に施行したプロテオーム解析では現時点でマイクロアレイ解析との整合性は得られていない。

(7) AML1 遺伝子を欠失したマウスの造血前駆細胞では、細胞の増殖に関わる NF- κ B シグナル伝達経路の遺伝子群の発現が亢進していた。一方、AML1 を高発現させた細胞株において、NF- κ B シグナル活性がシグナル分子のリン酸化阻害を介して抑制されていた。さらに、MDS 症例で見いだされた AML1 の D171N 変異体ではこの NF- κ B シグナル活性の抑制作用がみられなかった。

(8) 白血病細胞株では GATA1, GATA2 のいずれかの発現と、固形腫瘍では GATA2 の発現が WT1 発現レベルと正の相関を示した。転写の調節では 5' promoter 領域の既報の Sp1 motif よりも 3' enhancer に存在する GATA motif が WT1 mRNA の調節に必須であった。

4. 骨髄線維症:

1999年から2008年の10年間に、432例の原発性骨髄線維症の新規登録があった。発症年齢中央値は66歳、男女比は2.06:1であった。検査成績では、Hb 10g/dl未満の貧血を71%に、血小板数10万/ μ L未満

が33%、50万/ μ L以上が13%であった。染色体検査では149例は正常核型であったが、99例(40%)は異常核型を示し、複雑な染色体異常や、del 13、del 20、+8などの異常が認められた。

319例(77%)に対し治療が行われており、蛋白同化ホルモンが136例に、サリドマイドが249例に投与されていた。

症例の予後を解析すると、Lille分類とInternational Working group for Myelofibrosis Research and Treatmentの分類では有意差が認められない群間が存在した。谷本らの分類、Cervantesの分類で高リスク群、低リスク群を分けることが可能であった。

5. その他:

(1) 多変量解析の結果では、NIH診断基準に基づく慢性GVHDの病型と重症度は、病状のflare-up (FU)と有意に相関した。しかし、NIH診断基準と重症度スコアとFU以外のendpointsの間には全く相関が認められなかった。

(2) 鉄過剰症臨床研究は2009年3月現在、中央施設である自治医科大学を含めて全国5施設において倫理委員会で承認されており、症例登録が開始されている。

D. 考察

1. 再生不良性貧血:

(1) 再生不良性貧血の疫学調査では、臨床所見に関して、異常所見の認められない患者が存在することが明らかとなった。認定基準の標準化の観点からは、臨床調査個人票の記載項目について以下のような改善が望ましいと思われる。

①鑑別診断は根拠を記載する。②補足所見として重要な末梢血の好中球、網赤血球については実数を記載する。③骨髄生検所見は造血細胞比率を記載する。④血清生化学における血清鉄、不飽和鉄結合能についても実測値を記載する。

また、現在の臨床調査個人票には鑑別診断に有用だが施行率が低い（未施行または無回答である）検査が多く認められた点も問題と考えられた。再生不良性貧血を正確に診断、認定するためには、これらの検査を確実に施行して、その結果が出るのを待ち、それを記載して申請するように指導することが望ましいと考えられる。

(2) 平成18年度10月から開始された新規症例登録システムは、入力する医師の負担が少ない優れたシステムであるが、現時点では協力施設・医師数ともに不十分であるため、これを増やすためのさらなる工夫が必要である。現在学会においても対応策を検討している。

(3) 再生不良性貧血とMDS-RAの鑑別法について検討したが、今後も両者の鑑別に関する研究を進め、適宜新規知見を盛り込んで行く必要がある。

(4) 微小PNH型血球は免疫抑制療法の治療効果を予測する有効な因子として期待されるため、今後も症例登録を勧めていく必要がある。

(5) PNH型血球陽性の再生不良性貧血や骨髄異形成症候群の不应性貧血には、他の血球系統に比べて血小板減少が顕著であるという特徴がある。一方、進行の遅い再生不良性貧血の中には、発病当初は血小板減少だけしか認めなかった例がしばしば経験される。このため、慢性的な血小板減少症患者の中には、PNH型血球陽性の骨髄不全が隠れていることが予想されていた。今回の検討から、巨核球減少性の血小板減少症患者の中には、PNH型血球陽性の「前再生不良性貧血」と考えられる病態の患者が含まれていることが示唆された。

(6) Fanconi 貧血に関して、ゲノム複製阻害に対応するFA/BCA経路とY-Pol が物理的に結合することが確認された。しかしその機能的意義についてはまだほとんど不明であるため、今後は造血障害における意義を研究することが重要と考えられる。

(7) 悪性リンパ腫に合併するPRCAにおいて、リンパ腫の組織型とPRCAの発症時期は一定の傾向を有しないことから、リンパ腫に伴うPRCAの発症メカニズムはheterogenousである可能性が示唆された。

2. 溶血性貧血：

(1) AIHAについて：DAT陰性溶血性疾患患者においては、非AIHA例で健常人よりも高値を示す例やCoombs陰性AIHA例において正常域近くの値を示す例も認められることから、実際の診療においては健常人の正常値よりもDAT陰性溶血性貧血患者においてカットオフ値を計算することが必要と考えられる。現時点ではAIHA診断のgold standardが存在せず、性・年齢で層別化してカットオフ値を算出すると、RBC-IgG量が性・年齢に特異的な分布を示すことから、RBC-IgG定量は高い有用性を示し、治療前に検査を行った場合にはgold standardとして利用できる可能性が示唆された。

(2) PNHについて：Eculizumabは、PNHの溶血阻害剤として極めて有効な薬剤であり、安全かつ忍容性も良好であった。本邦例においてもこれまでの欧米での成績とほぼ同等の効果が確認されたが、効果のみられない症例が2例あり、その機序については今後精査の必要がある。なお、PNH赤血球を長期間にわたって蓄積することの影響やPNHクローン拡大による影響、投与中断による影響などについては、依然分からない点が多く、今後の経過観察が必要である。

3. 不应性貧血：

(1,2) 松田・朝長らにより作成された診断確度区分を用いることで、再不貧とMDSの高い診断一致率が得られた。なかでも検鏡担当者間の診断一致率の高さは、診断確度区分に習熟することによりごく一部の診断困難例を除いて再現性の高い病型診断が可能であることを示しており、診断確度区分の有用性を示すものである。来年度以降の本格的な追跡調査によ

り、診断精度区分の検証を含めて本研究の更なる充実に努めたい。

(3) 小児血液学会が以前行った1990年から1997年に発した症例に対する後方視的調査（診断は各施設で行われた）によると、各病型の4年生存率は、一次MDSではRAは87% (n=41)、RAEBは44% (n=20)、RAEBTは52% (n=28)、JMMLは45% (n=62)、治療関連性MDSは30% (n=71)、先天要因を有する例は56% (n=53)であり、JMMLと治療関連性MDSでは予後の改善がみられたが、他の病型では改善はみられなかった。しかしながらこの2つの研究は当然のことながら診断の正確性が異なるため、その予後を比較することは意味がないかもしれない。今回初めて小児MDS全体の予後が明らかになったともいえよう。今後中央診断された個々の症例が受けた治療を詳細に検討する予定である。

(4) 骨髄生検は造血不全の診断に実施されるべき検査であるが、今回の調査では約1/4の症例では骨髄生検は実施されていなかった。特にMDSでの実施率は40%にすぎず、低形成MDS、線維化を伴うMDS (MDS-F) などの診断とMDSの予後不良因子であるabnormal localization of immature precursors (ALIP)の有無の評価に問題を生じる可能性があると思われた。AAでは骨髄細胞密度の評価が重要であるが、骨髄生検の実施がなく1回の腸骨での骨髄穿刺のみでAAと診断された症例が約10%認められた。この場合は、特に高齢者においては健康者でも腸骨の骨髄細胞密度が低下するため、骨髄細胞密度の評価に問題を生じる可能性があると思われた。診断精度を高めるためには腸骨での1回の骨髄穿刺のみでは不十分と思われた。

(5) 日本と中国を比較すると、血球減少の程度には有意差を認めたが、全体的に日本と中国のFAB-RAの臨床像は非常に類似しており、ドイツとは異なっていることが確認された。従って、アジアと欧米のRA

は臨床像が異なっていることが示唆された。MDSの治療を行う上において、民族差を考慮した治療方針決定が必要であろう。

(6) MDS-Lにlenalidomideを添加すると、前述の如く複数核細胞の出現を伴いながら細胞増殖が抑制された。初期変化として形態学的には2核細胞が増加し、これらはDNA ploidy解析にてtetraploid(4N)を呈していたことからlenalidomideの直接的な作用として、2核細胞(4N細胞)の形成が考えられる。

さらにマイクロアレイの結果から細胞周期、特に分裂期関連分子の発現が低下しており、その中でもMYH10、PLK1、AURKB、CITなど細胞質分裂に関与する分子の発現低下が認められた。これらはいずれも5qに局在しないが、lenalidomideの作用機序の一端を担う可能性がある。一方で5q31-33に局在し、lenalidomideにて発現が変化する分子も認められ、特にEGR1など近年5q-を有するMDSの病態形成の候補遺伝子と考えられている分子も含まれており、現在遺伝子導入やsiRNAを用いた遺伝子発現抑制などを用いて、MDS-Lで認められる形態変化や細胞増殖抑制との関連性を検討している。またプロテオーム解析を含めた蛋白レベルでの発現解析も今後の重要な検討課題である。

(7) AML1の機能異常によりNF- κ Bシグナル活性が活性化されMDSの病態形成に関与する可能性が示された。

(8) 我々の報告により白血病細胞株におけるWT1高発現機序とWT1遺伝子における転写調節責任部位、責任転写因子が明らかとなった。固形腫瘍においてはWT1高発現株におけるGATA2の関与を初めて明らかにした。

4. 骨髄線維症:

本邦での原発性骨髄線維症の予後は、欧米からの報告とほぼ同等であった。予後予測に関して、3群、あるいは4群に分類するLille分類、International

Working group for Myelofibrosis Research and Treatment の分類では有意差が認められない群が存在し、本邦の症例にそのまま適応することは困難と考えられた。しかし、いまだ観察期間は十分でなく、今後も前方視的に新規発症例の登録と登録済み症例の予後調査をすすめ、本邦における予後予測因子の妥当性を検討する必要がある。

5. その他：

(1) 新規 NIH 診断基準については、肺、口腔、眼そして肝臓の単一臓器の慢性 GVHD、そして組織所見のみの慢性 GVHD をどのように取り扱っていくかが今後の課題と考えられた。一方で、NIH の慢性 GVHD 診断基準で従来の基準で診断されてきた慢性 GVHD の 98% の症例が capture されていることは、この新規基準に含まれる診断の根拠とする features (臨床所見、検査所見) に関しては適切かつ詳細に網羅されていると考えられた。一方、重症度に関しては、今回の検討と同様に他の報告においても従来の limited vs. extensive という重症度分類と新 NIH 重症度分類の間に相関が認められており、有用と考えられた。

(2) 骨髄不全患者における鉄代謝に関する研究は世界的に見ても報告は少ない。本研究は依然不明な点の多い鉄代謝制御機構に関して有用な知見を提供するものと期待される。また、最近鉄キレート療法による造血能改善報告が散見されるようになった。本研究は、様々な骨髄不全症患者を対象に鉄キレート療法後の経過を前向きに検討するものであり、現在ほとんど分かっていない鉄キレートに伴う造血能の改善について新たな知見が得られることが期待される。

E. 結論

1. 再生不良性貧血：

(1-3) 再生不良性貧血の新規申請患者には、再生不良性貧血ではない者がかなり含まれている可能性が考

えられる。そして認定基準の観点からは、現在の臨床調査個人票には改善すべき点が少なくないと考えられるため今後の検討が必要である。また、再生不良性貧血の症例登録を進め、病態の解析を進めると共に、MDS との鑑別法についてさらに検討を進めた。(4,5) PNH 型血球の検出は、汎血球減少症だけでなく血小板減少症の患者においても重要である。巨核球増加がみられない血小板減少患者に対しては高感度フローサイトメトリーを用いて PNH 型血球を検出し、陽性であった場合には積極的に免疫抑制療法を施行すべきと考えられる。

(6) TLS 機能を持つ Y-Pol のうち Pol η と REV1 が FA 蛋白と結合することが確認された。Hsp90 は FA/BRCA 経路だけでなく、Pol η の機能を制御することが示唆された。

(7) 悪性リンパ腫に合併した PRCA は維持療法に依存しない寛解を継続可能な症例が存在し、免疫抑制療法依存性の特異性や胸腺腫合併 PRCA と異なった特徴を有している。

2. 溶血性貧血：

(1) AIHA について：DAT 陰性溶血性貧血 140 例において、Coombs 陰性 AIHA 診断における RBC-IgG 検査の感度・特異度・カットオフ値を算出した。性・年齢を考慮したカットオフ値の設定により、Coombs 陰性 AIHA 診断において RBC-IgG は高い有用性を示した。治療前に検査を行った場合には、gold standard として利用できる可能性が示唆された。

(2) PNH について：Eculizumab は、安全かつ忍容性も良好で、PNH の溶血に対して極めて有効な薬剤であると言える。Eculizumab は PNH の溶血を抑制するだけでなく、血栓症や腹痛、嚥下困難、勃起不全等の平滑筋緊張症状も緩和されることが期待されるので、本邦における早期の導入は PNH の患者さんに多くの福音をもたらすものと思われる。

3. 不応性貧血

(1) 「骨髄異形成症候群に対する病態解明・治療法の開発に関する研究」班（三谷班）と連携し、症例登録システムを継続した。

(2) 再不貧、MDS の前方視的症例登録・セントラルレビュー・追跡調査に 47 例が登録され、うち 31 例でセントラルレビューが行われた。異形成の評価に診断確度区分を用いることで、再不貧と MDS の鑑別診断、さらには MDS における再現性の高い WHO 分類に基づいた病型診断が可能となることが示された。

(3) 中央診断された小児 MDS 多数例の予後が明らかになった。今後はこのデータをもとに治療方針を決定していく予定である。

(4) 造血不全の診断に約 1/4 の症例では骨髄生検は実施されていなかったこと、MDS での骨髄生検の実施率は 40% にすぎないこと、胸骨での骨髄穿刺を実施するか否かは、施設間の差が著しいことなど、AA/MDS 等の造血不全の診断に実施されている骨髄検査の実態が明らかになった。

(5) 日本と中国の RA 症例は臨床像に共通点が多く見られ、アジア人と欧米人の FAB-RA 患者の臨床的特徴は異なっていることが示唆された。

(6) 今回我々は MDS-L における lenalidomide の影響として、特に形態学的変化を中心に検討した。これらの分子生物学的基盤や 5q- との関連性、MDS-L 選択性の評価など今後解明しなければならない課題は多いが、5q- を有する MDS に対して著効を示す lenalidomide の作用機序を考慮する上で興味深い所見であると考えられる。

(7) MDS 関連遺伝子 AML1 による NF- κ B シグナル伝達経路の制御機構が明らかになった。

(8) 腫瘍細胞における WT1 発現は GATA1、ないし GATA2 転写因子が WT1 3' enhancer に直接結合することが実際の mRNA レベルの調節に重要である。

4. 骨髄線維症

1999 年から 2008 年の 10 年間に、432 例の原発性

骨髄線維症の新規発症例の臨床情報を集積した。谷本らの分類、Cervantes の分類を用いると、本邦の原発性骨髄線維症の予後を、高リスク群、低リスク群に分類可能である。

5. その他

(1) NIH 慢性 GVHD 診断基準は一部の単独臓器が侵される場合を除いて、その重要な臨床像を網羅したものであることが確認された。今後は prospective な validation に加えて、ここの臓器に関する重症度の validation が不可欠である。

(2) 骨髄不全症候群患者における鉄過剰症に関する臨床研究を開始した。本研究は依然詳細が分かっていないこれらの患者における鉄代謝制御機構について有用な知見を提供することが期待される。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Mochizuki K, Sugimori C, Qi Z, Lu X, Takami A, Ishiyama K, Kondo Y, Yamazaki H, Okumura H, Nakao S. Expansion of donor-derived hematopoietic stem cells with PIGA mutation associated with late graft failure after allogeneic stem cell transplantation. *Blood*. 2008;112: 2160-2162
- 2) Takamatsu H, Espinoza JL, Lu X, Qi Z, Okawa K, Nakao S. Anti-moesin antibodies in the serum of patients with aplastic anemia stimulate peripheral blood mononuclear cells to secrete TNF-alpha and IFN-gamma. *J Immunol*. 2009;182: 703-710
- 3) Hirokawa, M., Sawada, K., Fujishima, N., Kawano, F., Kimura, A., Watanabe, T., Arai, A., Matsui, T., Nakao, S., Urabe, A., Omine, M. and Ozawa, K. Acquired pure red cell aplasia associated

- with malignant lymphomas: a nationwide cohort study in Japan for the PRCA Collaborative Study Group. *Am J Hematol.* (in press)
- 4) Sawada, K., Hirokawa, M., Fujishima, N. Diagnosis and Management of Acquired Pure Red Cell Aplasia. *Hematol Oncol Clin N.* (in press)
 - 5) Sawada, K., Fujishima, N., Hirokawa, M. Acquired pure red cell aplasia: updated review of treatment. *Br J Haematol.* 142,505-514,2008
 - 6) Fujishima, N., Sawada, K., Hirokawa, M., Oshimi, K., Sugimoto, K., Matsuda A., Teramura, M., Karasawa, M., Ara, A., Yonemura, Y., Nakao, S., Urabe, A., Omine, M., Ozawa, K. PRCA Collaborative Study Group. Long-term response and outcome following immunosuppressive therapy in large granular lymphocyte leukemia-associated pure red cell aplasia: a nationwide cohort study in Japan by the PRCA collaborative study group. *Haematologica.* 93,1555-1559,2008.
 - 7) Hirokawa, M., Sawada, K., Fujishima, N., Nakao, S., Urabe, A., Dan, K., Fujisawa, S., Yonemura, Y., Kawano, F., Omine, M., Ozawa, K.; for the PRCA Collaborative Study Group. Long-Term response and outcome following immunosuppressive therapy in thymoma-associated pure red cell aplasia: a nationwide cohort study in Japan for the PRCA collaborative study group. *Haematologica,* 93, 27-33, 2008.
 - 8) Kamesaki T, Oyamada T, Omine M, Ozawa K, Kajii E. Cut-off value of red-blood-cell-bound IgG for the diagnosis of Coombs-negative autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol.* 2009; 84(2):98-101.
 - 9) Kanakura Y, Ohyashiki K, Shichishima T, Okamoto S, Ando K, Ninomiya H, Kawaguchi T, Nakao S, Nakakuma H, Nishimura J, Kinoshita T, Bedrosian C, Valentine ME, Ozawa K, Omine M.; Safety and efficacy of the terminal complement Inhibitor Eculizumab in Japanese patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: Aegis phase II clinical study results. *Blood.* 2008Nov; 112(11):1179a.
 - 10) Mori Y, Iwasaki H, Kohno K, Yoshimoto G, Kikushige Y, Okeda A, Uike N, Niiro H, Takenaka K, Nagafuji K, Miyamoto T, Harada M, Takatsu K, Akashi K.; Identification of the human eosinophil lineage-committed progenitor: revision of phenotypic definition of the human common myeloid progenitor. *J Exp Med.* 2009 Jan;206(1):183-93.
 - 11) Kikushige Y, Yoshimoto G, Miyamoto T, Iino T, Mori Y, Iwasaki H, Niiro H, Takenaka K, Nagafuji K, Harada M, Ishikawa F, Akashi K.; Human Flt3 is expressed at the hematopoietic stem cell and the granulocyte/macrophage progenitor stages to maintain cell survival. *J Immunol.* 2008 Jun;180(11):7358-7367.
 - 12) Kohgo Y, Ohtake T, Ikuta K, Suzuki Y, Torimoto Y, Kato J; Dysregulation of systemic iron metabolism in alcoholic liver diseases. *J Gastroenterol Hepatol.* 2008 Mar;23 Suppl 1:S78-81.
 - 13) Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J; Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Hematol.* 2008 Jul;88(1):7-15.
 - 14) Fujiwara, S., Yamashita, Y., Nakamura, N., Choi, Y.L., Ueno, T., Watanabe, H., Kurashina, K., Soda, M., Enomoto, M., Hatanaka, H., Takada, S., Abe, M., Ozawa, K., and Mano, H.: High-resolution analysis of chromosome copy number alterations in angioimmunoblastic T-cell lymphoma and peripheral

- T-cell lymphoma, unspecified, with single nucleotide polymorphism-typing microarrays. *Leukemia* 22(10): 1891-1898, 2008
- 15) Suzuki T, Tomonaga M, Miyazaki Y, Nakao S, Ohyashiki K, Matsumura I, Kohgo Y, Niitsu Y, Kojima S, Ozawa K. Japanese epidemiological survey with consensus statement on Japanese guidelines for treatment of iron overload in bone marrow failure syndromes. *Int J Hematol.* 2008 Jul;88(1):30-5.
- 16) Yoshida, K., Kirito, K., Yongzhen, H., Ozawa, K., Kaushansky, K., and Komatsu, N.: Thrombopoietin (TPO) regulates HIF-1 α levels through generation of mitochondrial reactive oxygen species. *Int J Hematol.* 88(1): 43-51, 2008.
- 17) Oka, S., Muroi, K., Toshima, M., Nagai, T., Kanai, N., Morita, T., and Ozawa, K.: Amyloidosis and myelodysplastic syndrome. *Intern Med.* 47(2): 123-124, 2008.
- 18) Nagai, T., Kikuchi, S., Ohmine, K., Miyoshi, T., Nakamura, M., Kondo, T., Furuyama, K., Komatsu, N., and Ozawa, K.: Hemin reduces cellular sensitivity to imatinib and anthracyclins via Nrf2. *J. Cell. Biochem.* 104(2): 680-691, 2008
- 19) Tamai, H., Yamaguchi, H., Hamaguchi, H., Yagasaki, F., Bessho, M., Kobayashi, T., Akiyama, H., Sakamaki, H., Takahashi, S., Tojo, A., Ohmine, K., Ozawa, K., Okumura, H., Nakao, S., Arai, A., Miura, O., Toyota, S., Gomi, S., Murai, Y., Usui, N., Miyazawa, K., Ohyashiki, K., Takahashi, N., Sawada, K., Kato, A., Oshimi, K., Inokuchi, K., and Dan, K.: Clinical features of adult acute leukemia with 11q23 abnormalities in Japan: a co-operative multicenter study. *Int. J. Hematol.* 87(2):195-202, 2008
- 20) Kawahara M, Hori T, Chonabayashi K, Oka T, Sudol M, Uchiyama T. Kpm/Lats2 is linked to chemosensitivity of leukemic cells through the stabilization of p73. *Blood* 112(9): 3856-3866, 2008.
- 21) Yamashita K, Miyoshi T, Arai T, Endo N, Itoh H, Makino K, Mizugishi K, Uchiyama T, Sasada M. Ozone production by amino acids contributes to killing of bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105(44): 16912-16917, 2008.
- 22) Tasaka T, Tohyama K, Kishimoto M, Ohyashiki K, Mitani K, Hotta T, Kanamaru A, Okamoto S, Karasawa M, Kimura A, Tomonaga M, Uchiyama T and Ozawa K. Myelodysplastic syndrome with chromosome 5 abnormalities: a nationwide survey in Japan. *Leukemia* 22: 1874-1881, 2008.
- 23) Masunaga A, Mitsuya T, Kadofuku T, Iwamoto S, Manabe A, Zaike Y, Tsuchida M, Nakahata T: Mutation analysis of AML 1 gene in pediatric primary myelodysplastic syndrome and juvenile myelomonocytic leukemia. *Leuk Res.* 2008; 32:995-997,
- 24) Yabe M, Sako M, Yabe H, Osugi Y, Kurosawa H, Nara T, Tokuyama M, Adachi S, Kobayashi C, Yanagimachi M, Ohtsuka Y, Nakazawa Y, Ogawa C, Manabe A, Kojima S, Nakahata T: A conditioning regimen of busulfan, fludarabine, and melphalan for allogeneic stem cell transplantation in children with juvenile myelomonocytic leukemia. *Pediatr Transplant.* 2008;12:862-867
- 25) Kosaka Y, Sano K, Kobayashi R, Ayukawa H, Kaneko T, Yabe H, Tsuchida H, Mugishima M, Ohara A, Morimoto A, Otsuka Y, Ohga S, Bessho F, Nakahata T, Tsukimoto I, Kojima S.: Prospective multicenter trial comparing repeated immunosuppressive therapy with stem cell

- transplantation from an alternative donor as second-line treatment for children with severe and very severe aplastic anemia. *Blood*.2008; 111:1054-1059
- 26) Honda Y, Manabe A, Tsuchida M, Zaike Y, Masunaga A, Inoue M, Kobayashi R, Ohtsuka Y, Kikuchi A, Nakahata T: Clinicopathological characteristics of erythroblast-rich RAEB and AML M6a in children. *Int J Hematol*.2008; 88:524-529
- 27) Matsuda A, Jinnai I, Miyazaki Y, Tomonaga M; Proposals for a Grading System for Diagnostic Accuracy of Myelodysplastic syndromes. *Clinical Leukemia*. 2008. 2(2); 102-106.
- 28) Miyazawa K, Oyashiki K, Urabe A, Hata T, Nakao S, Ozawa K, Ishikawa T, Kato J, Tatsumi Y, Mori H, Kondo M, Taguchi J, Tani H, Rojkaer L, Omine M: A safety, pharmacokinetic and pharmacodynamic investigation of deferasirox (Exjade, ICL670) in patients with transfusion-dependent anemias and iron-overload: a Phase I study in Japan. *Int J Hematol*. 2008, 88(1), 73-81.
- 29) Lee SH, Erber WN, Porwit A, Tomonaga M, Peterson LC; International Council for Standardization In Hematology. :ICSH guidelines for the standardization of bone marrow specimens and reports. *Int J Lab Hematol*.2008. 30(5):349-364.
- 30) Mufti GJ, Bennett JM, Goasguen J, Bain BJ, Baumann I, Brunning R, Cazzola M, Fenaux P, Germing U, Hellström-Lindberg E, Jinnai I, Manabe A, Matsuda A, Niemeyer CM, Sanz G, Tomonaga M, Vallespi T, Yoshimi A. : Diagnosis and classification of myelodysplastic syndrome: International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndrome (IWGM-MDS) consensus proposals for the definition and enumeration of myeloblasts and ring sideroblasts. *Haematologica*. 2008, 93(11):1712-1717.
- 31) Kako S, Kanda Y, Oshima K, Nishimoto N, Sato H, Watanabe T, Hosoya N, Motokura T, Miyakoshi S, Taniguchi S, Kamiyo A, Takahashi K, Chiba S, and Kurokawa M.; Late onset of autoimmune hemolytic anemia and pure red cell aplasia after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation using in vivo alemtuzumab. *American Journal of Hematology* 2008.;83: 247-249.
- 32) Ichikawa M, Goyama S, Asai T, Kawazu M, Nakagawa M, Takeshita M, Chiba S, Ogawa S, and Kurokawa M.; AML1/Runx1 negatively regulates quiescent hematopoietic stem cells in adult hematopoiesis. *The Journal of Immunology* 2008; 180: 4402-4408.
- 33) Takeshita M, Ichikawa M, Nitta E, Goyama S, Asai T, Ogawa S, Chiba S, and Kurokawa M.; AML1-Evi-1 specifically transforms hematopoietic stem cells through fusion of the entire Evi-1 sequence to AML1. *Leukemia* 2008; 22: 1241-1249.
- 34) Sato T, Goyama S, Nitta E, Takeshita M, Yoshimi M, Nakagawa M, Nakagawa M, Kawazu M, Ichikawa M, and Kurokawa M.; Evi-1 promotes para-aortic splanchnopleural hematopoiesis through up-regulation of GATA-2 and repression of TGF- β signaling. *Cancer Science* 2008; 99: 1407-1413.
- 35) Goyama S, Yamamoto G, Shimabe M, Sato T, Ichikawa M, Ogawa S, Chiba S, and Kurokawa M.; Evi-1 is a critical regulator for hematopoietic stem cells and transformed leukemic cells. *Cell Stem Cell* 2008; 3: 207-220.
- 36) Furuhashi A, Murakami M, Ito H, Gao S, Yoshida K, Sobue S, Kikuchi R, Iwasaki T, Takagi A, Kojima

T, Suzuki M, Abe A, Naoe T, Murate T. GATA-1 and GATA-2 binding to 3' enhancer of WT1 gene is essential for its transcription in acute leukemia and solid tumor cell lines. *Leukemia* in press.

2. 学会発表

- 1) 望月果奈子、杉盛千春、山崎宏人、高見昭良、中尾眞二：再生不良性貧血患者に見られる微小PNH型顆粒球は単一のPIG-A変異クローンに由来する；第69回日本血液学会・第49回日本臨床血液学会合同総会、2007年10月11日～13日、横浜。
- 2) 関本隆志、小田 司、Franklin Mayca Pozo、村雲 芳樹、益谷 央豪、花岡 文雄、山下 孝之：分子シャペロンHSP90はPolymerase- η (Pol- η)の複製フォークスへの集積と損傷乗越えDNA合成(TLS)を促進する；第31回日本分子生物学会年会 第81回日本生化学会大会 合同大会、2008年12月9日～12日、神戸
- 3) 山下孝之、小田 司、関本隆志：Fanconi貧血の分子病態—最近の進歩；第70回日本血液学会、2008年10月10日～12日、京都
- 4) 廣川誠、澤田賢一、藤島直仁、河野文夫、木村昭郎、渡辺隆、新井文子、松井利充、中尾眞二、浦部晶夫、小峰光博、小澤敬也：悪性リンパ腫に合併した赤芽球癆の臨床病理学的特徴：特発性造血調査研究班による全国調査報告。第70回日本血液学会総会、京都、2008。
- 5) 亀崎豊実、小山田隆、梶井英治。Coombs陰性自己免疫性溶血性貧血診断における赤血球結合IgGカットオフ値。第70回日本血液学会総会、2008年10月11日、京都。
- 6) 高橋裕志、池田和彦、高橋直人、亀岡淳一、田嶋克史、村井一範、玉井佳子、七島晶子、阿久津和子、野地秀義、岡本正俊、木村秀夫、小山田隆、亀崎豊実、梶井英治、竹石恭知、佐々木毅、澤田賢一、七島勉。後天性骨髄不全症候群症例における血清ハプトグロビン値の意義。第70回日本血液学会総会、2008年10月11日、京都。
- 7) 奥誠道、熊野孝、竹中克斗、栗山拓郎、浦田真吾、幣光太郎、下田晴子、岩崎浩己、宮本敏浩、豊嶋崇徳、長藤宏司、原田実根、下田和哉、赤司浩一：JAK2V617F変異が好中球アルカリフォスファターゼ(NAP)スコアを上昇させる；第70回日本血液学会総会、2008年10月10日～12日、京都。
- 8) 斎藤統之、石川文彦、下田和哉、河野徳明、吉田周郎、深田光敬、斎藤頼子、原田実根、赤司浩一：特発性骨髄線維症幹細胞の異種移植によるモデルマウス作成とその解析；第70回日本血液学会総会、2008年10月10日～12日、京都。
- 9) Aisa Y, Mori T, Okamoto S: Chronic GVHD—Recent progress and controversy—The validation of NIH Consensus；第31回日本造血細胞移植学会総会、2009年2月5日～6日、札幌。
- 10) 藤田晴之、近藤忠一、山下浩平、菱澤方勝、錦織桃子、川端浩、一戸辰夫、高折晃史、門脇則光、石川隆之、内山卓：当科における治療関連MDS/AML 22症例の検討；第70回日本血液学会総会、2008年10月10日～12日、京都。
- 11) 朝長万左男：S27-1 遺伝子診断時代における血液細胞形態学の進化；第113回日本解剖学会総会・全国学術集会、2008年3月27日～29日、大分。
- 12) 鶴田一人、宮崎泰司、波多智子、濱崎典子、松野貴子、本村裕実子、山本梨絵、朝長万左男、山田恭暉、上平 憲：S-III-4 骨髄異形成症候群(MDS)の形態学的異形成に基づく診断確度区分—分類の変遷と検査室の対応— MDSの診断当院の対応；第9回日本検査血液学会学術集