

200936009A

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21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小澤 敬也

平成22（2010）年5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21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小澤 敬也

平成22（2010）年5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 敬也	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	1 9
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	石川 隆之	2 1
3. 成人骨髄異形成症候群の移植適応に関する検討	岡本 真一郎	2 3
4. 本邦 PNH 患者におけるヒト化抗マウス C5抗体 (eculizumab) の有用性に関する研究	金倉 譲	2 9
5. MDS 関連遺伝子 AML1/Runx1 による NF- $\kappa$ B シグナルの制御とその異常	黒川 峰夫	3 1
6. 赤芽球癆の標準的治療の確立に関する研究	澤田 賢一	3 3
7. 巨核球減少性血小板減少症における PNH 型血球検出の意義	中尾 眞二	3 5
8. 小児の骨髄不全と骨髄異形成症候群に関する研究	中畑 龍俊	3 8
9. 骨髄異形成症候群の国際的予後因子検討事業	宮崎 泰司	4 0
10. JAK2V617F 変異によるアポトーシスならびに細胞周期関連タンパクへの影響	村手 隆	4 2
11. 再生不良性貧血の臨床調査個人票の改訂案の提案	杉田 稔	4 4

### III. 研究協力者報告書

1. 骨髄に対する移植片対宿主反応:ドナーCD4 陽性T細胞による造血ニッチ障害	今村 雅寛	4 7
2. 本態性血小板血症で認められた新規 MPL 変異の解析	大橋 春彦	4 9
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	5 1
4. 赤血球結合 IgG の年齢別正常値の推定	梶井 英治	5 3
5. ハイリスク MDS に対する寛解導入療法の無作為比較試験 (JALSG MDS200)	金丸 昭久	5 5
6. 発症に <i>RUNX1</i> 遺伝子の欠失が疑われた Familial platelet disorder with propensity to develop myeloid malignancies (FPD/MM) の 1 家系	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.	後天性赤芽球癆における T-cell clonality と subset の解析	木村 昭郎	6 1
9.	血清非トランスフェリン結合鉄 (NTBI) およびヘプシジンの定量	高後 裕	6 3
10.	小児再生不良性貧血、骨髄異形性症候群および先天性造血不全症候群 に対する中央診断システムの確立	小島 勢二	6 5
11.	血液疾患における FOXO3A の機能解析	小松 則夫	6 8
12.	造血不全症の診療に関する診断・治療状況調査	鈴木 隆浩	7 0
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 4
14.	骨髄不全症におけるテロメア長短縮化症例を検索することの重要性	檀 和夫	7 6
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: 造血不全症例における解析	千葉 滋	7 8
16.	骨髄像検査における全有核細胞 (ANC) と非赤芽球系細胞 (NEC) の解釈 および細胞比率算定方法についてのアンケート調査	通山 薫	8 0
17.	発作性夜間血色素尿症 (PNH) 患者の造血障害と NKG2D 免疫	中熊 秀喜	8 2
18.	FAB 分類の不応性貧血患者の WHO 分類 2008 での日独比較	松田 晃	8 4
19.	ファンconi 貧血 (FA) と損傷乗り越え DNA 合成 (Translesion DNA synthesis, TLS)	山下 孝之	8 6

#### IV. 造血不全症の診療に関する診断・治療状況調査

#### 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再生不良性貧血の臨床調査個人票の記載について再評価を行い、これにより客観的で有用な資料とするための改訂案を提案した。②症例の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。今年度より日本小児血液学会と連携して小児科領域でも中央診断システムを開始した。③PNH 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の結果解析を行った。④巨核球減少性血小板減少症における PNH 型血球検出の意義について検討した。⑤小児に発生する骨髄不全症について臨床調査を行い、国内での発生状況を把握した。⑥再生不良性貧血の 1 亜型である慢性赤芽球癆の治療実態について全国調査を行い、標準的治療に関する考察を行った。

溶血性貧血領域の自己免疫性溶血性貧血については、赤血球結合 IgG の年齢別正常値の再評価を行い、高齢者では RBCIgG がやや高値を示すことを再確認した。発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）については、新規治療薬エクリズマブ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。また、PNH の発症要因の一つとされる HGMA2 遺伝子について検討を行った。

不応性貧血の領域では、①骨髄異形成症候群（MDS）、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造血不全の診断のため行われている骨髄検査の細胞比率算定方法についてアンケート調査を行い、今後の診断標準化作業に向けて基本的なデータを収集した。③MDS の予後予測として広く使用される IPSS の国際的改訂事業に参加した。④FAB 分類で不応性貧血とされた日本とドイツの患者を WHO 分類 2008 で再分類し、病型について日独比較を行った。⑤成人 MDS の造血幹細胞移植適応についてわが国の移植関係医師へのアンケート調査を計画した。⑥MDS 関連遺伝子 AML1/Runx1 による NF- $\kappa$ B シグナル抑制機序を検討し、AML1 変異による NF- $\kappa$ B シグナル異常が MDS 発症に与える影響について検討した。

原発性骨髄線維症の領域では、1999 年から 2009 年の 10 年間に、466 例の原発性骨髄線維症の新規登録があった。これらの症例で前方視的に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。また、骨髄線維症の原因である JAK2V617F 変異が Bcl-XL の発現上昇と p27 の発現低下をきたすことを明らかにした。

その他、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継続した。鉄過剰症の病態理解に重要と考えられる血清非トランスフェリン結合鉄（NTBI）およびヘプシジンの測定システムの構築を行い、患者検体におけるこれらマーカーの測定研究を開始した。また、当研究班では来年度「診療の参照ガイド」の改訂を予定しているが、改訂作業の参考とするため、班員施設に当研究班の対象とする疾患について診療実態アンケートを依頼し、結果を集計した。

<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

石川 隆之

京都大学大学院医学研究科医学専攻内科学講座  
血液・腫瘍内科学 講師

岡本真一郎

慶應義塾大学医学部内科 血液内科 教授

金倉 譲

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  
血液・腎臓病・膠原病内科学分野 教授

中尾 眞二

金沢大学医薬保健研究域医学系  
細胞移植学 教授

中畑 龍俊

京都大学 物質-細胞統合システム拠点  
iPS 細胞研究センター 医療応用技術開発部門  
疾患解析学分野 教授

宮崎 泰司

長崎大学医学部・歯学部附属病院  
血液内科学 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）である eculizumab の開発がされ、我が国でも臨床試験が実

施され、2010年4月に承認された。これまで有効な治療法を欠いていた骨髄線維症についても、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／重症度基準の見直し・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。さらに必要があれば有用性をより高めるため、臨床調査個人票の改訂を提案する。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諸学

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の記載について再評価を行い、これをより客観的で有用な資料とするための改訂案を提案した。(2) 症例の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。今年度より日本小児血液学会と連携して小児科領域でも中央診断システムを開始した。(3) 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の結果解析を行った。(4) 巨核球減少性血小板減少症におけるPNH型血球検出の意義について検討した。(5) 小児に発生する骨髄不全症について臨床調査を行い、国内での発生状況を把握した。(6) 再生不良性貧血の1亜型である慢性赤芽球癆の治療実態について、今年度は特にABO major不適合同種造血幹細胞移植後の赤芽球癆について全国調査を行い、考察を加えた。

### 2. 溶血性貧血：

(1) 自己免疫性溶血性貧血(AIHA)に関しては、赤血球結合IgGの年齢別正常値の再評価を行った。(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。また、PNHクローン拡大に関与する遺伝子として同定された、HMGA2遺伝子について患者検体における発現量に

ついて検討した。

### 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) 登録患者の追跡調査を行った。また、(4) 造血不全の診断のため行われている骨髄検査の細胞比率算定方法についてアンケート調査を行うことで、今後の診断標準化作業に向けて基本的なデータを収集した。さらに、国際的観点から(5) MDS の予後予測として広く使用される IPSS の国際的改訂事業に参加し、(6) FAB 分類で不応性貧血とされた日本とドイツの患者を WHO 分類 2008 で再分類し、病型について日独比較を行った。その他、(7) 成人 MDS の造血幹細胞移植適応についてわが国の移植関係医師へのアンケート調査を計画した。また、(8) AML1/Runx1 の NF- $\kappa$ B のシグナル抑制機序について検討を行った。

### 4. 骨髄線維症：

原発性骨髄線維症の症例登録作業を継続し、1999 年から 2009 年の間に登録された 466 例の症例について、前方視的に予後解析を行った。また、骨髄線維症の原因となる JAK2V617F 変異がアポトーシス関連分子に与える影響について検討を行った。

### 5. その他：

(1) 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」を継続した。そして同時に、血清 NTBI およびヘプシジン測定システムの国内構築を行った。

(2) 本研究班では来年度「診療の参照ガイド」の改訂を予定しており、改訂作業の参考とするため、班員

施設に当研究班の対象とする 4 領域疾患について診療実態アンケートを依頼し、結果を集計した。

（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、患者個人情報の守秘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勧告に従った。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) 平成 20 年度の我々の研究結果を基に、記載項目の見直し、申請方法の改善など臨床調査個人票の改訂項目を抽出した。次に、本研究班に所属する再生不良性貧血に造詣の深い 13 名を対象として改訂項目に関するアンケート調査を実施した。その結果を基にして臨床調査個人票の改訂案を作成した。その結果、網赤血球数と好中球数の実数記載、MCV の記載を新たに求めることとし、十分な記載にかかる時間を考慮して、医療費の公費負担は申請日ではなく診断日にさかのぼって支給されることを求めることとした。

(2) 再生不良性貧血と骨髄異形成症候群の鑑別につ

いて検討するため、合同鏡見会を定期的（年2回）施行した。また、本年度より小児科領域でも再生不良性貧血の中央診断システムを稼働させ、開始から12ヶ月間で186例のレビューを行い、再生不良性貧血75例、骨髄異形成症候群25例、若年骨髄単球性白血病(JMML)20例、先天性骨髄不全症候群11例、急性白血病14例、その他41例が診断された。

(3) 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のまとめを行い、6ヶ月間の前方視的調査では微小PNH型血球の存在は免疫抑制療法の効果には関連しないことが判明した。

(4) 巨核球減少性血小板減少症におけるPNH型血球検出の意義についての検討では、期間中に72例の患者が同定され、そのうち22例(31%)でPNH型血球が検出された。72例中28例(PNH血球陽性例18例、陰性例10例)で免疫抑制療法が施行された。CsA単独療法を受けた22例中、PNH型血球陽性例14例の有効率は71%、陰性例8例における有効率は38%、抗ヒト胸腺細胞ウマ免疫グロブリン(ATG)を含む免疫抑制療法を受けた例全体の有効率はそれぞれ72%、50%と、いずれにおいてもPNH型血球陽性例の奏効率が陰性群に比べて高かったが、両群間に有意差はみられなかった。

(5) 小児に発生する骨髄不全症についての臨床調査では、2009年11月にアンケートを発送し、2010年1月末までに70%の施設から回答が得られ、DBA132例、DC34例、遺伝性鉄芽球性貧血5例、CDA17例が把握された。

(6) 再生不良性貧血の1重型である慢性赤芽球癆の治療実態についての全国調査では、ABO不適合造血幹細胞移植に伴う赤芽球癆について調査を行った。その結果、ABO major不適合のドナーから同種造血幹細胞移植を受けた患者は血縁者間626例、非血縁者間1,038例、臍帯血1,182例であった。登録データ

から移植後PRCAが疑われる症例を抽出し、その結果145例のコホートが作成された。

## 2. 溶血性貧血：

(1) AIHAについて：非AIHA症例におけるRBCIgG量は、全年齢並びに各年齢とも対数正規分布を示した。1-9歳、1-19歳、20-49歳、50-69歳、70歳以上の各年齢層での平均(95%信頼区間)は47(31-72)、45(35-57)、35(27-46)、42(33-54)、56(50-68)であり、20-49歳と70歳以上の2群間において有意差が認められた。網赤血球とRBCIgGの間の相関を見るとクームス陰性AIHAでは明らかな相関が認められなかったが、非AIHA群では負の相関傾向が認められた。

(2) PNHについて：溶血の指標である血清LDH値(中間、正常103-223)は、eculizumab投与前1814単位/Lと高値であったが、投与12週後には244単位/Lに低下し( $P<0.001$ )、38週後でも232単位/Lと安定していた( $P<0.001$ )。また、輸血量(平均)は、治療前38週14.7単位/患者であったが、治療期間中38週に5.3単位/患者と著明に改善した( $P=0.004$ )。血中Hb(中間)は、治療前7.5g/dLから治療後12週9.0g/dLと増加し( $P<0.001$ )、38週でも9.75g/dLとさらに増加した( $P<0.001$ )。疲労に関してFACIT-Fatigue法を用いると、治療前41ポイント(中間)から12週に43ポイントに回復し( $P=0.04$ )、38週ではさらに47ポイントまで回復した( $P<0.001$ )。安全性については、死亡例はなく、血栓症(既往5例)、髄膜炎菌性髄膜炎も38週時点で報告されていない。

また、PNHクローン拡大の原因候補であるHMG2遺伝子については、PNH患者24人、正常人11人の両者の末梢血において、3'UTRを欠く短いsplice variantが優位に発現していたが、そのうちPNH患者16人が正常人より有意に高い発現量を示した(relative mRNA expression > control +2SD)。そして、マイクロアレイ解析ではWnt signalに関連する遺伝子の発現がPNH患者で亢進しており、実際骨髄

サンプルの定量PCRで Wnt5a と cyclinD1 の発現が亢進していることを確認した (relative mRNA expression: Wnt5a は PNH  $2.3 \pm 1.7$  vs normal  $0.4 \pm 0.1$ ,  $p < 0.005$ , cyclinD1 は PNH  $1.8 \pm 0.9$  vs normal  $0.6 \pm 0.2$ ,  $p < 0.005$ )。

### 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) 年2回セントラルレビュー合同会議を開催し、問題症例について検討を行った。平成21年には再不貧8例、MDS 21例、診断不能2例の登録がなされており、うち28例でセントラルレビューが行われた。本年の登録例において、セントラルレビューでは再不貧とMDSに関する施設診断との不一致例は見られなかったが、FAB/WHO分類別のMDSの病型に関しては3例で施設診断との不一致が確認された。

(3) 平成16年より埼玉医科大学の松田晃らにより行われた再不貧の前方視的登録 (旧登録) に参加した42例を含め、2008年12月までに診断された例を対象として、アンケートによる追跡調査を行った。旧登録においては試験計画書に追跡調査の記載がなかったため、新たに同意の取得が必要であり、実際に情報が得られたのは16例であった。旧登録に参加した患者のうち、死亡例は調査対象となっていないという限界はあるが、追跡可能であった重症ならびに最重症の再不貧13例のすべてにATGを用いた免疫抑制療法が行われ、9例で奏効した。複数回のATG使用は2例に見られ、ATG投与後造血回復に1.5年を要した例も見られた。MDSは32例に追跡調査が行われ、FAB分類でのRAEBならびにRAEB-tでは同種移植施行例においてのみ長期生存が確認された。芽球増加を伴わないMDS例では、1例でPNHを併発した他、1例でMDSとの施設診断(セントラルレビューではRA, possible)をPNHに変更された例が見ら

れた。新WHO分類でRCUD、MDS-Uに該当する7例は全例病型移行を認めなかった一方、RCMD例では9例中2例でAMLに移行した。

(4) 骨髄検査の細胞比率算定方法について班研究参加施設を中心にアンケート調査を実施し、52施設から回答を得た。ANCを非骨髄系細胞を含むすべての有核細胞とみなしている施設は38施設、それらを除いた細胞とみなしている施設は14施設であった。同様に赤芽球比率50%というのは非骨髄系細胞を含むすべての有核細胞を分母として算出している施設が38施設と多数を占めた。

(5) IPSSの国際的改訂事業については、2009年12月に米国で研究者グループによる会議が開かれ進捗報告と今後の方針が話し合われた。2009年12月の時点で10グループより8800例を超える症例データが提出されている。染色体に関しても、予後の異なる5グループに層別可能な染色体リスクの原案が提唱された。

(6) FAB分類で不応性貧血とされた日本とドイツの患者のWHO分類2008での再比較研究では、日本例ではドイツ例と比較して、1系統に異形成を伴う不応性血球減少症(RCUD)が高頻度 (日本: 45%、ドイツ: 19%、 $P < 0.001$ )、汎血球減少を伴う型分類不能型MDS (MDS-U (RCUD/pancytopenia type)) が高頻度 (日本: 29%、ドイツ: 3%、 $P < 0.001$ )、多血球系異形成を伴う不応性血球減少症(RCMD)が低頻度 (日本: 25%、ドイツ: 58%、 $P < 0.001$ )、5q-症候群が低頻度 (日本: 3%、ドイツ: 20%、 $P < 0.001$ ) であった。RCUDの中の不応性血小板減少症(RT)は、日本例では46例中11例、ドイツ例では37例中4例で、日本例にRTの頻度が高かった。

各病型での日本例とドイツ例の臨床像の比較では、血小板数は、RCUD、RCMDで日本例が低値 (RCUD:  $P < 0.001$ , RCMD:  $P = 0.03$ )、ヘモグロビン濃度はMDS-U (RCUD/pancytopenia type)、RCMDで日

本例が低値であった (MDS-U (RCUD/pancytopenia type):  $P=0.036$ , RCMD:  $P=0.016$ )。好中球数は、各病型間で日独例に有意差はなかった。5q-単独の染色体異常を有する例の頻度が日本例で有意に低かったため ( $P<0.001$ )、WHO 分類 2008 で分類できた症例全体での染色体異常を有する例の頻度は、日本例はドイツ例と比較し低かった ( $P<0.001$ )。日本例の MDS-U (RCUD/pancytopenia type)は、日本例の他の病型より年齢が若く、血球減少が高度であった。ドイツ例においても、MDS-U (RCUD/pancytopenia type) はドイツ例の他の病型より年齢が若く、血球減少が高度であった。WHO 分類 2008 で分類できた症例全体では、日本例はドイツ例と比較して、OS、LFS が良好であった(OS: $p<0.001$ , LFS:  $p=0.011$ )。RCMD の OS、LFS は日本例とドイツ例で共通して、他の病型よりも不良であった。

(7) 成人 MDS の造血幹細胞移植適応についてのアンケート調査については、年齢、性別、MDS の病期、臓器障害、造血幹細胞ソースから 8 症例を提示し、移植を適応とするか否か、もし移植を適応とするのであれば骨髓破壊的移植か RIST/ミニ移植かを選択する設問とした。アンケート調査は平成 22 年度に行う予定である。

(8) AML1/Runx1 の NF- $\kappa$ B のシグナル抑制機序については、AML1 は NF- $\kappa$ B の構成分子 p65 の核内移行を阻害することが明らかとなった。そして AML1 は IKK のキナーゼ活性を阻害した。MDS 症例に見られる変異型 AML1 の一部は、IKK のキナーゼ活性の抑制能を失い、p65 の核内移行を抑制しなかった。MDS 症例から発見された 3 種類の NF- $\kappa$ B 阻害能力を欠く AML1 変異体についてコロニーアッセイを行ったところ、コロニー形成能を有し造腫瘍性が示唆された。

#### 4. 骨髓線維症 : 1999 年から 2009 年の 11 年間に、466 例の原発性

骨髓線維症の新規登録があった。発症年齢中央値は

65 歳、男女比は 1.96:1 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/ $\mu$ L 未満が 33%、50 万/ $\mu$ L 以上が 12%であった。染色体検査では 154 例は正常核型であったが、104 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。

334 例 (72%) に対し治療が行われており、蛋白同化ホルモンが 147 例に、サリドマイドが 27 例に投与されていた。抗腫瘍剤やステロイドが使用された症例もある。輸血は 200 例に行われていた。5 年生存率は 38%であった。観察期間中に 216 例の死亡が確認されており、感染症 59 例、白血化 33 例が原因として多い。

これまで知られている予後不良因子をもとに本邦で前向きに集積中のコホート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するが、谷本らの分類、Cervantes の分類では高リスク群、低リスク群を区別することが可能であった。また、染色体異常の有無は、多変量解析では予後不良因子としては抽出されないものの、13q-, 20q-以外の染色体異常を有する例の予後は、それ以外の症例と較べ不良であった。

また、JAK2 変異とアポトーシスの関連を検討したところ、JAK2 変異型導入株でのアポトーシス関連タンパクでは Bcl-XL の発現上昇を、細胞周期関連タンパクでは p27 の発現の低下を認めた。さらに Bcl-XL では転写亢進とその 5'プロモーター領域に STAT 転写因子結合領域を同定し、p27 については p27 そのものの調節機序は JAK2 野生株、変異株共に差異はなく、変異株においてユビキチン E3 リガーゼのサブユニットである Skp2 mRNA ならびにタンパクの発現が上昇し、p27 タンパクの分解が促進されることが、この p27 の発現レベルの低下の原因であることを明らかにした。

## 5. その他：

(1) 「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」を継続した。

また、血清 NTBI、ヘプシジン測定システムの国内構築を行っており、健常人検体を用いた validation を終了した。健常人血清 NTBI 濃度は、男性  $0.206 \pm 0.091 \mu\text{M Fe}$  ( $0.065 - 0.346 \mu\text{M Fe}$ ,  $n=20$ )、女性  $0.212 \pm 0.095 \mu\text{M Fe}$  ( $0.011 - 0.387 \mu\text{M Fe}$ ,  $n=16$ )であった。これらの値は、年齢、血清フェリチン値、トランスフェリン飽和率などとは明らかな相関を認めなかった。一方、健常人血清ヘプシジン濃度は、hepc-20：男性  $3.767 \pm 2.565 \text{ ng/ml}$  ( $n=21$ )、女性  $1.387 \pm 1.882 \text{ ng/ml}$  ( $n=19$ )、hepc-22：男性  $1.212 \pm 0.574 \text{ ng/ml}$ 、女性  $0.102 \pm 0.519 \text{ ng/ml}$ 、hepc-25：男性  $16.240 \pm 12.940 \text{ ng/ml}$ 、女性  $8.159 \pm 13.830 \text{ ng/ml}$  であった。血清フェリチン値とは、3 isoforms ともいずれも正の相関を示した。各 isoform 間では hepc-22/hepc-20, hepc-25/hepc-20, hepc-25/hepc-22 のいずれも正の相関を示し、これらの isoforms が単一の分子からの truncated form の可能性が示唆された。また、hepc-20 のみ creatinin/hepc-20： $R^2=0.5395$  と血清クレアチニンと正の相関を示した。

(2) 当研究班が扱う造血障害 6 疾患と輸血後鉄過剰症について、班員施設を中心とする全国の血液科診療 68 施設に診療の実際についてアンケート用紙を送付し、期間内に 41 施設より回答を得ることができた。その結果、再生不良性貧血においては、造血幹細胞移植や ATG 療法の適応、MDS においては選択薬剤の違いなど、各疾患の診療（検査・治療）における施設間の様々なばらつきが明らかとなった。

## D. 考察

### 1. 再生不良性貧血：

(1) 本研究により、再生不良性貧血の臨床調査個人票の改訂案を提案することができた。今後、この改訂案について本研究班の班員から意見を求め、必要な修正を加えた上で厚生労働省健康局疾病対策課に改訂を申し入れる予定である。

この改訂案が採用されれば、再生不良性貧血の臨床調査個人票の記載にかかる主治医の負担が軽減され、かつ認定審査が改善されることが期待される。さらに、記載項目の見直しにより、より正確な臨床疫学的特徴の把握が可能になることが期待される。

(2) 小児骨髄不全症候群の領域では、再生不良性貧血の診断において、赤芽球が残存している場合にはしばしば軽度の異形成を認めることがあり、低形成性 MDS との鑑別が問題になる。改訂版 WHO 分類 (2008 年) において小児における芽球の増加を伴わない MDS を refractory cytopenia of childhood (RCC) と定義しているが、RCC の診断には骨髄生検は必須であり、骨髄の細胞密度、赤芽球、顆粒球、巨核球の異形成や分布の異常、CD34 陽性細胞の増加の有無などを評価する必要がある。RCC をどのように扱うべきかは、治療方針も含めて、臨床上、重要な問題であり、初診時に中央診断を行い、免疫抑制療法への反応性、染色体異常の出現および MDS/AML への移行などを前向きに評価するとともに、分子生物学的手法を用いて両疾患の独立性を明らかにする必要があると考えられた。

(3) PNH 型血球の有無と免疫抑制療法については、今回の前向き研究では PNH 型血球の有無と免疫抑制療法の効果が必ずしも相関しないというデータが得られたが、これは治療後 6 ヶ月段階での結果であり、再燃の有無などさらに長期間に亘って追跡を続ける必要があると考えられた。

(4) 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応性貧血には、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。前年度の検討により、慢性的な血小板減少症患者の中にPNH型血球陽性の骨髄不全が隠れていることが明らかになったが、今回の検討により、巨核球減少性の血小板減少症患者の中に、PNH型血球陽性の軽症再生不良性貧血病態の患者が約30%含まれていることが示唆された。さらに、PNH型血球が陰性であっても、PNH型血球陽性例ほどではないものの、CsAによって改善する例があることも明らかになった。今回の検討によって、血球減少の程度が軽くても血小板減少が目立つ巨核球減少性の骨髄不全に対しては、PNH型血球の有無によらずCsAを投与してその反応をみることが重要と考えられた。

(5) 小児科領域における骨髄不全症の調査は現在、各症例についての詳細な二次調査ならびに遺伝子検索が開始されたところであるが、本研究により、本邦における先天性骨髄不全の全体像が初めて明らかになると考えられる。その結果に基づき、国内における先天性骨髄不全の取り扱いが決定されるであろう。

2009年2月に開始された小児血液学会の中央診断を組み込んだ骨髄不全および骨髄異形成症候群の全例登録研究は順調に登録数が増加し、早くも190例を超えている。上記の遺伝子検索研究と融合させることにより、これらの症例の前方視的な診断・追跡が可能となるであろう。

(6) ABO mismatch PRCAについては日本造血細胞移植学会との協力体制により、ABO major 不適合移植後PRCAの発症が疑われる国内外最大のコホートが作成された。移植施設に対する二次調査によりPRCAの発生状況と治療実態が明らかにされ、移植後PRCAに対する標準的治療の確立に貢献することが期待される。

## 2. 溶血性貧血：

(1) AIHAについて：正常域のRBCIgGには、自然

自己抗体として老化赤血球に結合して除去する生理的機能があるとされている。今回行った正常値に関する結果は、過去に報告されているものとほぼ一致していた。また、今回検討したデータは20年前の健診検体で行ったデータと平均値と信頼区間はほぼ一致しており、データの再現性が確認された。また、非AIHA例において、網赤血球高値例でRBCIgG量が低下傾向を示したことから、幼若赤血球でのRBCIgG量は低値を示すことが推測された。

高齢者でRBCIgGが高値を示す原因として、高齢者に特有な骨髄機能異常や脾機能の低下による老化赤血球の蓄積が関与している可能性が推測された。

(2) PNHについて：eculizumabの使用により、溶血の指標である血清LDH値は、これまでの報告と同様に投与後速やかに下降し、38週まで効果は持続した。血中Hb濃度は、12週で有意に増加し、38週でさらに増加した。疲労（FACIT-Fatigue法）に関しても、12週～38週と継続して改善効果を認めた。eculizumabは安全性に関しても、これまでの報告と同様に、安全かつ忍容性も良好と判断された。

また、HMGA2は良性の間葉系腫瘍の発症に関わることが知られている。末梢血でHMGA2の発現が亢進していることから、異常クローンが良性腫瘍様増殖を起こし、PNH発症に関与する可能性が示唆された。実際のクローン拡大の場である骨髄では有意差が認められなかったが、これはHMGA2が造血中には一定レベル発現しているためにPNHクローンでの発現亢進がマスクされているためと考えられる。マイクロアレイ解析ではWnt signalの亢進がPNH患者で見られた。Wnt signalは多くの骨髄性増殖疾患で亢進していることが知られているが、PNHにおいてもその関与が示唆された。

## 3. 不応性貧血： （1）（2）（3）

(1, 2, 3) セントラルレビューに継続的に参加している施設では、再生不良性貧血とMDSに関する診断一

致率が年々高まっている。診断一致率の向上において平成 19 年度に作成された「MDS の形態学的異形成に基づく診断確度区分」の果たした役割は大きい。今後セントラルレビュー参加施設をさらに増やしていくことと、MDS 病型分類の一致率を高めていくことが望まれる。特に MDS においては観察期間が短い例が多いことから、追跡調査の結果の評価は時期尚早であるが、登録例の増加と追跡期間の延長に伴い、再生不良性貧血と MDS における優れたデータベースとなることが期待される。

(4) ANC を、非骨髄系細胞を含むすべての有核細胞とみなしている施設は 38 施設、それらを除いた細胞とみなしている施設は 14 施設であった。同様に、赤芽球比率 50% というのは非骨髄系細胞を含むすべての有核細胞を分母として算出している施設が 38 施設と多数を占めた。改訂 FAB 分類によると ANC はリンパ球や形質細胞のごとき非骨髄系細胞を含まないとされているが、それに則って厳密なカウントを実施している施設はむしろ少数であった。

この問題に関して海外の専門家の意見は分かれており、ANC はリンパ球や形質細胞のごとき非骨髄系細胞を含まないという意見がある一方で、基本的にすべての有核細胞を指すと解釈する意見もある (WHO2008 など)。どちらの算定方法が適切かつ国際的に通用する方法か議論のうえで統一が必要であるが、今後は WHO2008/ICSH ガイドラインに則って算定をおこなうことが妥当な選択肢ではないかと考えられる。

(5) MDS は症例ごとの臨床像が大きく異なり、その対応は個々の例で大きく異なる。今回の IPSS 改訂では、これまで大きな問題点とされてきた染色体異常の取り扱いを改めることが予定されている。今回の世界的な症例集積による予後予測システムの作成は、多数例に基づきつつ新たな因子を加えるによって、より正確で細やかな対応が可能になると期待される。

(6) 日本の FAB-RA の欧米例と異なる臨床的特徴(年齢が若い、血球減少が強い、染色体異常を有する頻度が低い、OS と LFS が良い) は、日本例では、年齢が若く、血球減少が強い MDS-U (RCUD/pancytopenia type) が高頻度で、予後が不良である RCMD が低頻度であること、5q-症候群が低頻度であることに起因する可能性が示唆された。

(7) MDS の移植適応は移植以外の治療法が限られていることから、従来は移植以外の支持療法による生存予測率 (IPSS スコア) と実際の MDS 病型別に見た移植後生存率の比較によってその適応が決定されてきた。しかし、移植可能年齢が高齢者に広がるにつれ、臓器障害や QOL を考慮した移植適応の決定が重要となった。さらに最近では、メチル化阻害剤の導入によって移植前の病勢のコントロールがある程度可能となりつつある。また、一方で、MDS の分類は形態学的基準を軸として変貌し続けている一方で、最新の形態学的分類から見た移植成績に関する十分なデータが蓄積されていないという問題がある。

最近示された JSHCT の移植適応に関するガイドラインが、移植の practice に及ぼす影響を検討することは極めて重要である。これまでこのような outcome research は殆ど施行されていないが、本研究はガイドラインが提示されて 1 年が経過した時点での practice variation と JSHCT のガイドラインとの違いを詳細に検討することによって、標準的 practice としてガイドラインなどで普及を図るべき項目、臨床研究が強く推奨される practice を明らかにできるとともに、地域性や医師の経験などの practice variation に影響を及ぼす non-patient factors を抽出することによって、移植医療の質と医療経済効率の向上を目指した、具体的なガイドラインの改訂点や重点的普及対象を明らかにすることが期待できると考える。

(8) AML1 はこれまで知られていた転写因子としての機能のほか、IKK $\gamma$  との蛋白質結合を介して細胞増殖

に関わる NF- $\kappa$ B シグナルの制御因子として働くことが明らかになった。

#### 4. 骨髄線維症：

原発性骨髄線維症の予後は、5年生存率 38%と不良である。低 Hb、持続する全身症状、末梢血への骨髄芽球の出現、男性（谷本ら）、あるいは、低 Hb、持続する全身症状、末梢血への骨髄芽球の出現（Cervantes ら）のリスクファクターの数により、本邦の原発性骨髄線維症の予後が予測可能である。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進め、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。

また、JAK2 とアポトーシスの関連について、今回の解析により JAK2V617F によるサイトカイン非依存性増殖には Bcl-XL, p27 の発現調節の変化がその主因であることが明らかになった。

#### 5. その他：

(1) 健常人血清 NTBI 値が血清クレアチニン値、血清フェリチン値、トランスフェリン飽和率のいずれとも相関を示さなかったため、体内鉄動態を把握する新しい指標としての可能性が考えられた。また健常人血清ヘプシジン 3 isoforms 測定に関しては、hepc-20 が腎機能と関連しうる結果なども出てきており、鉄代謝異常の病態把握、診断、疾患のモニタリングへの有用性への期待が持たれる。

(2) 骨髄不全症診療アンケートの結果から、疾患・患者状態によっては施設毎に検査や治療法にかなりばらつきがあることが判明した。本調査の結果は、来年度行われる診療ガイド改訂作業にあたり、診療現場から伝えられた貴重な意見として役立つと期待される。

#### E. 結論

##### 1. 再生不良性貧血：

(1) 再生不良性貧血に関して、平成 20 年度の研究結果とその領域の専門家に対するアンケート調査を基に、記載項目の見直し、申請方法の改善からなる臨床調査個人票の改訂案を提案した。この改訂案により、より正確な臨床疫学像の把握が可能になることと再生不良性貧血の認定審査が改善されることが期待される。

(2) 内科領域に加え、小児科領域でも AA、MDS および CBFS を対象とした中央診断を行うことにより、必ずしも診断が容易ではないこれらの疾患の診断の精度があがったと考えられる。

(3, 4) 巨核球増加がみられない血小板減少症の中には、PNH 型血球陽性の「前再生不良性貧血状態」が含まれている。これらの患者は免疫抑制療法に対する反応性が特に高いことから、輸血が不要であっても積極的に CsA を施行することが勧められる。

(5) 小児に発生する骨髄不全症を対象とする本研究により、国内における先天性骨髄不全の取り扱いが決定される見通しが立ったと考えられる。

(6) ABO major 不適合同種造血幹細胞移植症例 2846 例から PRCA が疑われる 145 例のコホートが作成された。

##### 2. 溶血性貧血：

(1) AIHA について：20 年前の RBCIgG 正常値の再現性が確認された。高齢者では AIHA 診断カットオフ値以下で有意に高値を示した。非 AIHA 例において、網赤血球高値例で RBCIgG 量が低下傾向を示したことから、幼若赤血球での RBCIgG 量は低値を示すことが推測された。

(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。この効果と安全性は 38 週にわたって持続し、多くの福音をもたらすものと期待される。また、染色体異常のない PNH 症例においても、その 3 分の 2 の発症に HMG42 の亢進が関与している可

能性があることがわかった。

### 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た。

(2, 3) セントラルレビューと追跡調査を含む前方視的症例登録研究により得られた情報は、近い将来両疾患の臨床像と治療成績の把握を介して診療の質の向上に役立つと共に、新規治療法の開発や新規薬剤の臨床試験に際して有用性の高いものとなることが期待される。

(4) 本邦では ANC を非骨髄系細胞を含むすべての有核細胞とみなして算定している施設が多数を占めていた。また国際的潮流からも WHO2008/ICSH ガイドラインに則って NDC の算定をおこなうことが妥当ではないかと考えられた。

(5) 新たな MDS 予後予測システム作成 (IPSS) に対して、国内を代表して本班からの貢献が重要である。

(6) 日本例とドイツ例で、WHO 分類 2008 の各病型の頻度に差が認められた。FAB-RA 症例における日本例とドイツ例と異なる臨床的特徴は、病型頻度の違いと、MDS-U (RCUD/pancytopenia type) のユニークな臨床像に起因する可能性が示唆された。

(7) 日本造血幹細胞移植学会から 2009 年に発表された MDS の移植適応ガイドラインに基づいた移植適応に関するアンケート調査を通して、practice variation と JSHCT のガイドラインとの比較、移植医療の質と医療経済効率の向上を目指して標準的 practice としてガイドラインなどで普及を図るべき項目、臨床研究が強く推奨される practice、practice variation に影響を及ぼす non-patient factors 等を明らかにすることによって移植医療の質の向上を期待できる。

(8) 変異型 AML1 による NF-kB シグナルの恒常的活性化が、MDS の発症機構の一つであると考えられる。

また、NF-kB が AML1 変異陽性 MDS における新たな治療標的候補として同定された。

### 4. 骨髄線維症

1999 年から 2009 年の 11 年間に、466 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。低 Hb、持続する全身症状、末梢血への骨髄芽球の出現、男性（谷本ら）、あるいは、低 Hb、持続する全身症状、末梢血への骨髄芽球の出現（Cervantes ら）のリスクファクターの数が、本邦の原発性骨髄線維症の予後予測に有用である。また、骨髄増殖性疾患における JAK2 V617F のもたらす分子病態とその機序が明らかになった。

### 5. その他

(1) 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継続した。また、NTBI とヘプシジンの国内測定系の開発を行い、NTBI 測定には non-metal HPLC システムを、ヘプシジン測定には LC-MS/MS システムを導入し、信頼性の高い高感度測定システムの構築が完成した。NTBI 測定は特に低濃度領域の安定した測定が可能となり、ヘプシジンは 3 種類の isoforms 同時定量が可能となった。健常人の血清 NTBI 値やヘプシジン濃度を基に、本臨床研究で病態と鉄代謝の関係について世界的に新しい貴重な情報を生み出す準備が整った。

(2) 全国の血液疾患診療施設にアンケートを送付し、当班に関係する各種骨髄不全疾患（および鉄過剰症）について現在の診療内容等について調査を行った。

41 施設より回答を得たが、疾患・患者状態によっては施設毎に検査や治療法にかなりばらつきがあることが判明した。本調査の結果は、来年度行われる診療ガイド改訂作業にあたり、診療現場から伝えられた貴重な意見として役立てたい。

### F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- Yoshimoto G, Miyamoto T, Jabbarzadeh-Tabrizi S, Iino T, Rocnik JL, Kikushige Y, Mori Y, Shima T, Iwasaki H, Takenaka K, Nagafuji K, Mizuno SI, Niuro H, Gilliland GD, Akashi K.; FLT3-ITD upregulates MCL-1 to promote survival of stem cells in acute myeloid leukemia via FLT3-ITD-specific STAT5 activation. *Blood*. 2009; 114:5034-43.
- Hidaka T, Shide K, Shimoda H, Kameda T, Toyama K, Katayose K, Kubuki Y, Nagata K, Takenaka K, Akashi K, Okamura T, Niho Y, Mizoguchi H, Omine M, Ozawa K, Harada M, Shimoda K.; The impact of cytogenetic abnormalities on the prognosis of primary myelofibrosis: a prospective survey of 202 cases in Japan. *Eur J Haematol*. 2009; 83:328-33.
- Kanda J, Mizumoto C, Kawabata H, Ichinohe T, Tsuchida H, Tomosugi N, Matsuo K, Yamashita K, Kondo T, Ishikawa T, Uchiyama T.; Clinical significance of serum hepcidin levels on early infectious complications in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009 Aug;15(8):956-962.
- Mizumoto C, Kanda J, Ichinohe T, Ishikawa T, Matsui M, Kadowaki N, Kondo T, Imada K, Hishizawa M, Kawabata H, Nishikori M, Yamashita K, Takaori-Kondo A, Hori T, Uchiyama T. Mycophenolate mofetil combined with tacrolimus and minidose methotrexate after unrelated donor bone marrow transplantation with reduced-intensity conditioning. *Int J Hematol*. 2009 May;89(4):538-545.
- Wang Y, Ogawa Y, Dogru M, Tatematsu Y, Uchino M, Kamoi M, Okada N, Okamoto S, Tsubota K; Baseline profiles of ocular surface and tear dynamics after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with or without chronic GVHD-related dry eye. *Bone Marrow Transplant*. 2009 Nov 9.
- Mori T, Tanaka-Taya K, Satoh H, Aisa Y, Yamazaki R, Kato J, Ikeda Y, Okamoto S. Transmission of chromosomally integrated human herpesvirus 6 (HHV-6) variant A from a parent to children leading to misdiagnosis of active HHV-6 infection. *Transpl Infect Dis*. 2009 Dec;11(6):503-6.
- Mori T, Aisa Y, Kato J, Nakamura Y, Ikeda Y, Okamoto S. Drug interaction between oral solution itraconazole and calcineurin inhibitors in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation recipients: an association with bioavailability of oral solution itraconazole. *Int J Hematol*. 2009 Jul;90(1):103-7.
- 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.; Chronic renal insufficiency in Japanese patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH): Improvement with Eculizumab treatment in the long-term follow-up of the AEGIS study. *Blood*. 2009 Nov; 114(22):783a.
- Shimabe M, Goyama S, Watanabe-Okochi N, Yoshimi A, Ichikawa M, Imai Y, and Kurokawa M. Pbx1 is a downstream target of Evi-1 in hematopoietic stem/progenitors and leukemic cells. *Oncogene*, 10: 4364-4374, 2009.
- Goyama S, Nitta E, Yoshino T, Kako S, Watanabe-Okochi N, Shimabe M, Imai Y, Takahashi K, and Kurokawa M. EVI-1 interacts with histone methyltransferases SUV39H1 and G9a for transcriptional repression and bone marrow immortalization. *Leukemia*, 24: 81-88, 2010.
- Kataoka K, Nannya Y, Hangaishi A, Imai Y, Chiba S,

- Takahashi T, and Kurokawa M. Influence of pretransplantation serum ferritin on nonrelapse mortality after myeloablative and nonmyeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 15: 195-204, 2009.
- Kataoka K, Takahashi T, Iwata H, Seo S, Hangaishi A, Kumano K, and Kurokawa M. Fulminant cytomegalovirus myocarditis after allogeneic bone marrow transplantation: successful cytomegalovirus therapy and mechanical circulatory support for bridge to recovery. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 16: 129-130, 2010.
  - Kataoka K, Seo S, Ota S, Takahashi T, and Kurokawa M. Positron emission tomography in the diagnosis and therapeutic monitoring of posttransplant lymphoproliferative disorder after cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, in press.
  - Sawada, K., Hirokawa, M. and Fujishima, N. Diagnosis and management of acquired pure red cell aplasia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 23, 249-59, 2009.
  - 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.* 84, 144-8, 2009.
  - Sugimori C, Mochizuki K, Qi Z, Sugimori N, Ishiyama K, Kondo Y, Yamazaki H, Takami A, Okumura H, Nakao S: Origin and fate of blood cells deficient in glycosylphosphatidylinositol-anchored protein among patients with bone marrow failure. *Br J Haematol* 147:102-112, 2009.
  - Espinoza JL, Takamatsu H, Lu X, Qi Z, Nakao S: Anti-moesin antibodies derived from patients with aplastic anemia stimulate monocytic cells to secrete TNF-alpha through an ERK1/2-dependent pathway. *Int Immunol* 21:913-923, 2009.
  - 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* 182: 703-710, 2009
  - Hasegawa D., Manabe A., Yagasaki H., Ohtsuka Y., Inoue M., Kikuchi A., Ohara A., Tsuchida M., Kojima S., Nakahata T.: Treatment of Childhood MDS Study Group Trial (MDS99). *Pediatr. Blood Cancer* 53:1011-1015,2009.
  - Muramatsu H, Makishima H, Jankowska AM, Cazzolli H, O'Keefe C, Yoshida N, Xu Y, Nishio N, Hama A, Yagasaki H, Takahashi Y, Kato K, Manabe A, Kojima S, Maciejewski JP. Mutations of E3 ubiquitin ligase Cbl family members but not TET2 mutations are pathogenic in juvenile myelomonocytic leukemia. *Blood*, in press
  - Sakai M, Miyazaki Y, Matsuo E, Moriuchi Y, Hata T, Fukushima T, Imaizumi Y, Imanishi D, Taguchi J, Iwanaga M, Tsushima H, Inoue Y, Takasaki Y, Tsuchiya T, Komoda M, Ando K, Horio K, Moriwaki Y, Tominaga S, Itonaga H, Nagai K, Tsukasaki K, Tsutsumi C, Sawayama Y, Yamasaki R, Ogawa D, Kawaguchi Y, Ikeda S, Yoshida S, Onimaru Y, Tawara M, Atogami S, Koida S, Joh T, Yamamura M, Matsuo Y, Soda H, Nonaka H, Jinnai I, Kuriyama K, Tomonaga M.: Long-term efficacy of imatinib in a practical setting is correlated with imatinib trough concentration that is influenced by body size: a report by the Nagasaki CML Study Group. *Int J Hematol.* 2009Apr;89(3):319-25.

- Matsuda A, Germing U, Jinnai I, Araseki K, Kuendgen A, Strupp C, Iwanaga M, Miyazaki Y, Hata T, Bessho M, Gattermann N, Tomonaga M : Differences in the distribution of subtypes according to the WHO classification 2008 between Japanese and German patients with Refractory Anemia according to the FAB classification in Myelodysplastic Syndromes. *Leukemia Res.* 2009 Dec 16.
- Morita Y, Kanamaru A, Miyazaki Y, Imanishi D, Yagasaki F, Tanimoto M, Kuriyama K, Kobayashi T, Imoto S, Ohnishi K, Naoe T, Ohno R : Comparative analysis of remission induction therapy for high-risk MDS and AML progressed from MDS in the MDS200 study of Japan Adult Leukemia Study Group. *Int J Hematol*, 2010Jan;91(1):97-103.
- Furuhashi A, Kimura A, Shide K, Shimoda K, Murakami M, Ito H, Gao S, Yoshida K, Tagawa Y, Hagiwara K, Takagi A, Kojima T, Suzuki M, Abe A, Naoe T, Murate T. p27 deregulation by Skp2 overexpression induced by the JAK2V617 mutation *Biochem Biophys Res Commun.* 2009 Jun 383(4):411-416.
- 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.
- Yoshida H, Ishida H, Yoshihara T, Oyamada T, Kuwana M, Imamura T, Morimoto A. Complications of Evans' syndrome in an infant with hereditary spherocytosis: a case report. *J Hematol Oncol.* 10(2):40-44,2009.
- Hosoki T, Ikuta K, Shimonaka Y, Sasaki Y, Yasuno H, Sato K, Ohtake T, Sasaki K, Torimoto Y, Saito K and Kohgo Y ; Heterogeneous expressions of hepcidin isoforms in hepatoma-derived cells detected using simultaneous LC-MS/MS. *Proteomics- Clinical Applications* - 2009; 3(11) : 1256-1264
- Makishima H, Cazzolli H, Szpurka H, Dunbar A, Tiu R, Huh J, Muramatsu H, O'Keefe C, Hsi E, Paquette RL, Kojima S, List AF, Sekeres MA, McDevitt MA, Maciejewski JP. Mutations of E3 Ubiquitin Ligase Cbl Family Members Constitute a Novel Common Pathogenic Lesion in Myeloid Malignancies. *J Clin Oncol.* 2009 Dec;27(36):6109-16.
- Yagasaki H, Kojima S, Yabe H, Kato K, Kigasawa H, Sakamaki H, Tsuchida M, Kato S, Kawase T, Muramatsu H, Morishima Y, Kodera Y. Tacrolimus/Methotrexate versus cyclosporine/methotrexate as graft-versus-host disease prophylaxis in patients with severe aplastic anemia who received bone marrow transplantation from unrelated donors: results of matched pair analysis. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009 Dec;15(12):1603-8.
- Villalobos IB, Takahashi Y, Akatsuka Y, Muramatsu H, Nishio N, Hama A, Yagasaki H, Saji H, Kato M, Ogawa S, Kojima S. Relapse of leukemia with loss of mismatched HLA due to uniparental disomy following haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* in press
- Sanada, M., Suzuki, T., Shih, L.Y., Otsu, M., Kato, M., Yamazaki, S., Tamura, A., Honda, H., Sakata-Yanagimoto, M., Kumano, K., Oda, H., Yamagata, T., Takita, J., Gotoh, N., Nakazaki, K., Kawamata, N., Onodera, M., Nobuyoshi, M., Hayashi, Y., Harada, H., Kurokawa, M., Chiba, S., Mori, H., Ozawa, K., Omine, M., Hirai, H., Nakauchi, H., Koeffler, H.P., and Ogawa, S.: Gain-of-lyf-function of mutated c-CBL tumour suppressor in myeloid neoplasms. *Nature* 460(7257): 904-908, 2009.
- Mori, M., Nakamoto, S., Akifuji, Y., Tanaka, T.,