

の施設で CyA が第一選択薬になっていることが明らかとなった。また、初診時スクリーニング検査としては胸部 X 線、CT、パルボウイルス B19 抗体、末梢血顆粒リンパ球数、末梢血 CD4/CD8 比測定が広く行われていることが明らかとなり、スクリーニング検査の標準化に際して参考になるデータと考えられる。

③溶血性貧血 (PNH)

アンケート回答結果から、溶血抑制に対する eculizumab への期待が高いことが明らかになった。また、一部に病態について誤った認識を示唆する回答が認められており、PNH について病態が必ずしも理解されていない可能性が示唆された。病態についての啓蒙が必要と思われる。

④溶血性貧血 (AIHA)

ほとんどの施設でステロイドが第一選択薬であり、治療方針に施設差は見られなかった。難治症例への rituximab の適応拡大を求める意見が極めて多く、今後の重要課題と考えられた。

⑤不応性貧血 (MDS)

今回の調査では、治療法について回答が大きくばらついた。これは、症例を主に IPSS で分類して治療法についての回答を依頼したが、様々なケースが考えられたために必ずしも明確な回答ができなかったためと考えられる。今後同様な調査を行う場合、アンケートフォームについて検討が必要と考えられた。

高齢者以外の低リスク MDS では、診断当初は経過観察や蛋白同化ホルモンなどで治療するケースが多いが、最終的には移植を行わざるを得ないと考えている施設が多いことが明らかとなった。高齢者低リスク症例でも (移植は適応外だが) 同様の傾向が認められた。一方、高リスク症例では若年者の場合早期に移植を検討している。高齢者の場合は化学療法が中心となるが、メチル化阻害剤への期待の高さが目立った。

⑥原発性骨髄線維症

低リスク患者では基本的に経過観察が多く、治療を行う場合でも蛋白同化ホルモンを選ぶ施設が多いことが明らかとなった。高リスク患者では、移植可能年齢の場合造血幹細胞移植を行う施設が多い一方、高齢者では有効な治療が存在しないため経過観察を行わざるを得ない実態も明らかとなった。thalidomide、lenalidomide に期待する意見も認められた。

⑦輸血後鉄過剰症

昨年度に輸血後鉄過剰症についての参照ガイドの策定を行い、今回の調査ではその際問題となった点について意見を聞いた。その結果、概ね現場の臨床医の意見としては参照ガイド通りでよいとの意見が多かったが、より適切な治療を行うため、今後も臨床研究を含めたデータの蓄積が必要である。

E. 結論

全国の血液疾患診療施設にアンケートを送付し、当班に關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重要な意見として役立てたい。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Harada H, Watanabe M, Suzuki K, Yanagita S, Suzuki T, Yoshida Y, Kimura A, Tsudo M, Matsuda A, Tohyama K, Taniwaki M, Takeshita K, Takatoku M, Ozawa K. Lenalidomide is active in Japanese patients with symptomatic anemia in low- or intermediate-1 risk myelodysplastic syndromes with a deletion 5q abnormality. Int J Hematol. 2009 Oct;90(3):353-60.
- Sanada M*, Suzuki T*, Shih LY*, 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 HP, Ogawa S. (* These authors contributed equally to this work) Gain-of-function of mutated C-CBL tumour suppressor in myeloid neoplasms. *Nature*. 2009 Aug 13;460(7257):904-8.

● Yokoyama Y, Suzuki T, Sakata-Yanagimoto M, Kumano K, Higashi K, Takato T, Kurokawa M, Ogawa S, Chiba S. Derivation of functional mature neutrophils from human embryonic stem cells. *Blood*. 2009 Jun 25;113(26):6584-92.

● Oka S, Muroi K, Matsuyama T, Sato K, Ueda M, Toshima M, Suzuki T, Ozaki K, Mori M, Takubo T, Nagai T, Hanafusa T, Ozawa K. Correlation between flow cytometric identification of CD33-positive cells and morphological evaluation of myeloblasts in bone marrow of patients with acute myeloblastic leukemia. *Hematology*. 2009 Jun;14(3):133-8.

2. 学会発表

● 上原英輔、鈴木隆浩、岡部寛、上田真寿、永井正、真田昌史、小川誠司、小澤敬也：c-Cbl の細胞骨格シグナルを介した骨髄への骨髄造血細胞のホーミング制御；第 71 回日本血液学会学術集会，2009 年 10 月 23 日～25 日，京都。

● Uehara E., Suzuki T., Okabe H., Ueda M., Ngai T., Sanada M., Ogawa S., Ozawa K.: c-Cbl regulates interaction of immature hematopoietic cells with the bone marrow microenvironment by Rac GTPase-mediated cytoskeletal signals.: The American Society of Hematology 51st Annual Meeting, December 5-8, 2009. New Orleans, Louisiana, USA

骨髓異形成症候群に対する骨髓非破壊的同種造血幹細胞移植に関する研究

研究協力者 谷本光音（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻腫瘍制御学教授）

研究要旨

岡山大学において、高齢または合併症のために骨髓破壊的移植前治療を用いる同種造血幹細胞移植の適応とならない骨髓異形成症候群（MDS）患者に対する reduced intensity stem cell transplantation (RIST) の治療成績を検討した。32例中18例が生存を続け、高齢や合併症のために骨髓破壊的移植前治療を用いた同種造血幹細胞移植の適応とならない overt leukemia を含めた MDS 患者においても治療成績を向上できる可能性があることが示唆された。

A. 研究目的

岡山大学病院で行った高齢者または臓器障害を有する MDS に対する RIST の成績を解析し、安全性と有効性を検討する。

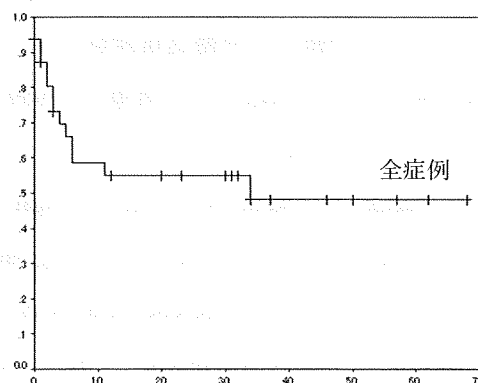
B. 研究方法

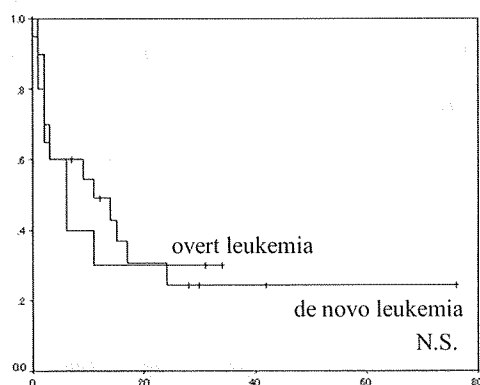
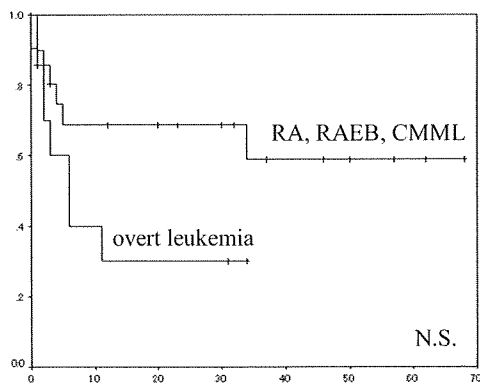
原則として、HLA 一致同胞からの移植では移植前治療として fludarabine (25 mg/m²/day x 5 days) + cyclophosphamide (30 mg/kg/day x 2 days) (Flu/Cy)、GVHD 予防として cyclosporine A と methotrexate (CyA/MTX) を用いた。非血縁骨髓ドナーからの移植では Flu (30 mg/m²/day x 6 days) + busulfan (4 mg/kg/day x 2 days) (Flu/Bu)、CyA/MTX を用いた。また、臍帯血移植においては Flu (30 mg/m²/day x 6 days) + Cy (25 mg/kg/day x 2 days) + 全身放射線照射 (2Gy) (Flu/Cy/TBI 2Gy)、CyA/Mycophenolate Mofetil (MMF) を用いた。

C. 研究結果

2000年11月から2010年2月までに32名

に RIST を行った。診断から移植までの期間の中央値は10カ月。生着不全を6例（18％）に認め、そのうちの5例が敗血症あるいは原病悪化で早期死亡した。また、1例が肺炎により、2例が急性 GVHD により、2例が原病の再発により死亡した。観察期間の中央値は36カ月であるが、予測生存率は56％であった。また、GVHD 発症の有無、移植前血清フェリチン値(境界値 1,000 ng/ml)で生存率を比較したが、有意な差は得られなかった。





D. 考察

overt leukemia 例は生存率が低い傾向にあったが有意な差はなく、白血化した症例にも十分適応可能と考えられた。

E. 結論

高齢者または臓器障害を有する MDS に對する RIST は、安全に行え、overt leukemia を含めた MDS の予後の改善を期待できる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Kubonishi S, Kikuchi T, Yamaguchi S, Tamamura H, Fujii N, Watanabe T, Arenzana-Seisdedos F, Ikeda K, Matsui T, Tanimoto M, Katayama Y : Rapid hematopoietic progenitor mobilization by

sulfated colominic acid. Biochemical and Biophysical Research Communication 355:970-975,2007

- Kikuchi T, Kubonishi S, Shibakura M, Namba N, Matsui T, Fukui Y, Tanimoto M, Katayama Y : Dock2 participates in bone marrow lympho-hematoiesis Biochem Biophys Res Commun 367:90-96,2007

- Kobayashi K, Maeda Y, Hara Y, Nishie M, Nishimoro H, Sugiyama H, Namba N, Kubonishi S, Niiya M, Shinagawa K, Ikeda K, Tanimoto M : Clinical outcomes of unrelated donor umbilical cord blood transplantation for 30 adults with hematological malignancies Anticancer Research 29:1749-1754, 2009

2. 学会発表

- 小林孝一郎, 片岡美由紀, 原 嘉孝, 久保西四郎, 前田嘉信, 新谷勝美, 品川克至, 池田和眞, 谷本光音 : 当科における同種骨髄非破壊的移植(RIST)の治療成績、第30回日本造血細胞移植学会総会 ; 2008.3.1、大阪

- Kubonishi S, Ohnishi N, Kondoh S, Ennishi D, Hara Y, Aoyama K, Kondoh E, Maeda Y, Niiya M, Shinagawa K, Ikeda K, Tanimoto M : Reduced intensity stem cell transplantation for elderly MDS patients: a single-center experience, 第71回日本血液学会 ; 2009.10.23、京都

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

研究協力者 ○檀 和夫 (日本医科大学 血液内科 教授)

山口博樹 (日本医科大学 血液内科 講師)

研究要旨

骨髄不全症(BMF)において、テロメア制御遺伝子異常が原因で発症したと考えられる症例が約3%存在し、これらは免疫抑制療法(IST)に不応性であった。そこでテロメア長の短縮化を検索することにより、臨床 BMF と診断された不全型の Dyskeratosis congenita(DKC)の症例や、IST 抵抗性の再生不良性貧血(AA)をスクリーニング出来るか否かを臨床的に AA と診断された 28 症例において検討した。テロメア長が短縮した症例群では IST に反応が認められた症例は 1 症例(14.3%)のみであった($p=0.005$)。しかしテロメア制御遺伝子の変異が明らかとなった症例を除外すると、IST の反応性とテロメア長の短縮化には明らかな関連性は認められなかった。BMF にいてテロメア長の検索は不全型の DKC をスクリーニングするには有用であるが、IST 抵抗性の AA をスクリーニングすることは難しい。

A. 研究目的

再生不良性貧血(aplastic anemia: AA)は造血幹細胞の減少に基づく骨髄機能低下によって発症する骨髄不全症(BMF)の一つである。BMF にはその他にも骨髄異形成症候群(myelodysplastic syndrome: MDS)や、Dyskeratosis congenita(DKC)などの遺伝性の BMF などが含まれる。典型的な AA は免疫機序を介した病態により発症し免疫抑制療法(immunosuppressive therapy: IST)が有効である。また臨床的に MDS と診断された中でも IST が有効な症例が認められることがある。

染色体 3' 末端のテロメアに局在するテロメラーゼ複合体や Shelterin 複合体は、テロメア配列を伸長、補修、構造形成の保護をすることでテロメアを介した細胞分裂能および染色体の安定性を維持している。近年 DKC の原因遺伝子である上述のテロメア制御遺伝子の変異が、一部の AA や MDS に認められ、不全型の DKC の存在が明らかになった。不全型の DKC は臨床的に AA や MDS と診断されても IST の効果は

得られない。以上より BMF の臨床診断にテロメア制御遺伝子異常の検索は重要であると考えられた。

しかしテロメア関連遺伝子変異の検索は煩雑で、実際の臨床のスクリーニングには不向きである。この理由として以下のことが考えられる。①対象となる遺伝子が多く、また遺伝子変異に hot spot がないためこれらの遺伝子の全長を検索しなくてはならない。②発見された塩基変異がテロメア長制御に影響をあたえるか否かは機能解析を行わなければならない。③約 1/3 の DKC は原因遺伝子が不明であり、既知の遺伝子変異検索では不完全である。

そこでテロメア長の短縮化を検索することが、臨床 BMF と診断された不全型 DKC や、IST 抵抗性の AA をスクリーニングするのに有用でないかを検討した。

B. 研究方法

対象は臨床的に AA、MDS の不応性貧血(RA)と診断された 28 症例。テロメラーゼ複合体遺伝子である

DKC1、*TERC*、*TERT* と、Shelterin 複合体遺伝子である *TINF2* 各遺伝子に関して direct sequence 法にて遺伝子配列を決定し変異を検索した。また Southern blot 法にてテロメア長を測定し、age-match 正常コントロールと比較することでテロメアの短縮化の検討を行った。

C. 研究結果

1. 臨床的に AA、MDS と診断された症例のテロメア長

臨床的に AA、MDS と診断され 28 症例に対してテロメア長を測定し正常コントロールと比較したところ、7 症例にテロメア長の短縮化が認められ、その内 3 症例にテロメア制御遺伝子群の変異が認められた (*TERT* E280K、*TINF2* R282C、*TINF2* Del n871-874)。

2. テロメア長の短縮化と免疫抑制療法の反応性

テロメア長が短縮した症例群では IST に反応が認められた症例は 1 症例(14.3%)のみであったが、短縮が認められなかった症例群では 16 症例(84.2%)に IST の反応が認められた ($p=0.005$)。

また IST の反応性によって症例を比較すると、不応症例群は、反応が得られた症例群と比較してややテロメア長が短い傾向が認められた($p=0.056$)。しかしテロメア制御遺伝子の変異が明らかとなった 3 症例を独立させて比較すると、これらは有意差をもってテロメア長の短縮化が認められたが($p=0.017$)、IST 不応症例群と反応群とではテロメア長の有意な違いは認められなかった ($p=0.448$)。

D. 考察

テロメア長が短縮した症例の中で IST に反応が認められた 1 症例のテロメア長は、正常下限よりわずかに短い程度の短縮であった。テロメア長は個人差があり、また BMF のような血球の減少が著しい場合

は測定が難しい。今後はテロメア長の短縮の定義を検討する必要があると思われる。またテロメア長が短縮した症例の中で、テロメア制御遺伝子群の変異が認められなかった症例は、新規の遺伝子変異の存在を示唆していると思われる。

E. 結論

BMF にいてテロメア長の測定は不全型 DKC をスクリーニングするには有用であるが、IST 抵抗性の AA をスクリーニングすることは難しいと考える。

F. 研究発表

1. 論文発表

● Hiroki Yamaguchi, Koiti Inokuchi, Junko Takeuchi, Hayato Tamai, Yoshio Mitamura, Fumiko Kosaka, Hinh Ly and Kazuo Dan. Identification of the *TINF2* and *SBDS* gene mutations in adult Japanese patients with acquired bone marrow failure syndromes. *Haematologica*. submitted

● 山口博樹。遺伝子異常による造血不全。最新医学 2009; 64(7): 1603-1609。

2. 学会発表

● 竹内純子、山口博樹、玉井勇人、三田村佳勇(yoshio)、小坂文子、猪口孝一(koiti)、檀 和夫：本邦の骨髄不全症における *TINF2* 遺伝子異常の検索；第 71 回日本血液学会、2009 年 10 月 23 日～25 日、京都。

● 山口博樹、檀 和夫：テロメア関連遺伝子異常による骨髄不全症；第 71 回日本血液学会、2009 年 10 月 23 日～25 日、京都。

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

研究協力者 千葉 滋 (筑波大学血液内科 教授)

研究要旨

未熟網赤血球は、赤血球造血のよい検査指標である。また、トランスフェリン受容体 (CD71) は赤芽球から未熟網赤血球で発現しその後消退する。造血不全症患者 23 例において、CD59/CD71/CD45 のマルチカラーフローサイトメトリーで未熟網赤血球の形質を解析した。網赤血球数が非常に少ない患者も含め、23 例中 9 例の患者で本法により CD59 (-) 血球を検出した。少数例の後方視的検討であるが、免疫抑制療法の効果については CD59 (-) 血球陽性群と CD59 (-) 血球陰性群間で優位差は認めなかった。発症から長期間経過した例、免疫抑制療法にて寛解した例でも CD59 (-) 血球が検出できる症例が存在した。CD59/CD71/CD45 マルチカラーフローサイトメトリーは鋭敏に CD59 (-) 血球を捕らえることが可能である可能性がある。

A. 研究目的

再生不良性貧血 (AA) や骨髄異形成症候群 (MDS) 患者の中で免疫抑制療法の有効性を判定するマーカーを同定することは本研究班の中で重要なテーマの一つである。我々はこのマーカーの同定を目的とした研究を進めている。CD71 は赤芽球から未熟網赤血球で発現する。一方、AA や MDS の患者において、CD59 (-) 血球が出現することがあり、そのような患者は免疫抑制剤への反応や予後である可能性が示唆されている (Sugimori C *et al.*, *Blood*, 2006)。我々はこれまで RNA/CD59 の 2 カラーフローサイトメトリー (FCM) によって、全赤血球のみならず網赤血球中の CD59 (-) 血球を鋭敏に検出し解析する方法を報告してきた。さらに、昨年度の研究で、RNA/CD71 の 2 カラー、および CD59/CD71/CD45 のマルチカラー FCM を用いて PNH 患者の CD59 (-) 血球や未熟網赤血球を鋭敏かつ定量的に検出できることを報告した (Sato, *et al.* *Int J Lab Haematol*, 2010)。

今年度は AA や MDS の患者において、より鋭敏に CD59 (-) 血球を捉え、また免疫抑制療法への反応性についての解析を行う目的で、マルチカラー

FCM を用い以下の研究を行った。

B. 研究方法

筑波大学附属病院で 1985 年から 2009 年までに AA、MDS-RA、赤芽球癆 (PRCA) と診断され、解析可能な 23 例の末梢血を用いた。PE 標識抗 CD71 抗体と、RNA 結合性を有する蛍光色素 CD4K530 による 2 カラー (CD71/RNA)、および FITC 標識抗 CD59 抗体、PE 標識 CD71 抗体、PRE-Cy5 標識抗 CD45 抗体によるマルチカラー FCM で解析した。

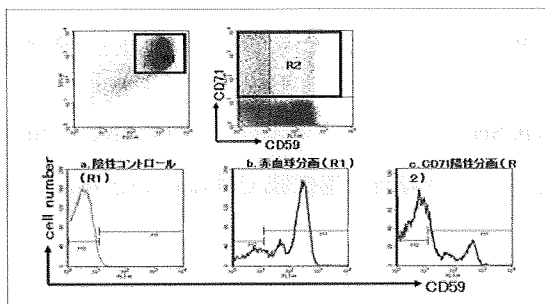
(倫理面への配慮)

本研究計画は筑波大学の倫理委員会の審査を受け、承認された。検体採取にあたり説明を行い、同意を得て行った。個人情報の保護について配慮した。

C. 研究結果

対象症例に対し、CD71 陽性未熟赤血球及び全赤血球中の CD59 (-) 血球比率について検討を行った (図)。対象症例 23 例の内訳は、AA 10、MDS-RA 12、PRCA 1 である。全赤血球を母集団とした解析 (従来法) で CD59 (-) 血球を認めたのは 23 例中 11 例、

CD71 陽性未熟網赤血球を母集団とした解析（今回法）で CD59 (-) 血球を認めたのは 9 例であった。従来法で検出したが今回法で検出できなかった例が 2 サンプルあったが、これら 2 サンプルでは検査に投入した網赤血球が極めて少数であった。対象症例のうち免疫抑制療法（シクロスポリン・ATG）を受けていたのは 14 例で、そのうち初発例・未治療例は 5 例であった。CD59 (-) 血球陽性群（今回法；以下同様）の中で免疫抑制療法を受けた症例は 8 例、陰性群では 5 例であった。免疫抑制療法が有効（PR 以上）であったのは CD59 (-) 血球陽性群では 8 例中 4 例、陰性群では 5 例中 3 例であった。CD59 (-) 血球陽性例と陰性例で免疫抑制療法の効果に有意差は認めなかった。



CD59/CD71/CD45 マルチカラーFCM

D. 考察

造血不全症では一般に網赤血球数が少ないことが多いが、網赤血球を対象とした今回法でも検出することができた。ただし網赤血球数が極めて少ない症例では従来法で検出できても今回法で検出できず、今回の解析では感度の点では優位性を示すことができなかった。しかしながら、従来法では陰性だが、今回法でシグナルは認めた症例もあった。今回これらの症例では細胞数があまりに少数であるために陰性とせざるをえなかったが、解析血球数を増やすことで感度を上げることができると示唆された。すなわち、従来法で成熟 CD59 (-) 血球は寿命が短縮している可能性があるが、網赤血球を検出するこ

とでより鋭敏に造血不全における CD59 (-) 血球を検出できる可能性があり、より精密に治療効果予測を検索できる可能性がある。また、診断から長時間経過した症例や治療中でも CD59 (-) 血球が検出できる症例があることも明らかとなり、治療経過の追跡などへの応用が今後考えられる。今後、感度を上げるため、解析する細胞数を増やした検出系の確立、症例数の積み増し、正常人検体を用いてカットオフ値の決定なども行う予定である。

E. 結論

AA や MDS において CD59/CD71/CD45 マルチカラーFCM によって、未熟網赤血球中の CD59 (-) 血球を定量的にとらえることができ、病態の評価法として有用と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Sato S, Kozuma Y, Hasegawa Y, Kojima H, Chiba S, Ninomiya H.; Enhanced expression of CD71, transferrin receptor, on immature reticulocytes in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Int J Lab Haematol.* 2010 Feb;32(1):137-43
- Haraguchi K, Suzuki T, Koyama N, Kumano K, Nakahara F, Matsumoto A, Yokoyama Y, Sakata-Yanagimoto M, Masuda S, Takahashi T, Kamijo A, Takahashi K, Takanashi M, Okuyama Y, Yasutomo K, Sakano S, Yagita H, Kurokawa M, Ogawa S, Chiba S.: Notch activation induces the generation of functional NK cells from human cord blood CD34-positive cells devoid of IL-15. *J Immunol.* 2009 May;182(10):6168-78

2. 学会発表

- 該当なし

骨髓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

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

WHO2008 分類において骨髓芽球比率や赤芽球比率による病型区分が明確に定義されるようになったが、細胞カウントの基となる細胞集団として、たとえば all nucleated cells(ANC)にはリンパ球や形質細胞のごとき非骨髓系細胞が含まれるのか含まれないのか？赤白血病と MDS との境界で用いられる赤芽球比率 50%というのは、分母にどの範囲の細胞まで含めるべきか、non-erythroid cells(NEC)とは「何か」といった問題点は必ずしも施設間で統一されていない。しかしこの不一致が病型診断の不一致に直結する可能性がある。

そこでまずは実態把握を目的として、実際にどのような細胞カウントと比率算定が行われているのかを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 を非骨髓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%というのは非骨髓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。

国際的潮流に沿う算定方法を決めるにあたっては、WHO2008/ICSH ガイドラインに則り、ほぼ ANC に相当する NDC(BM nucleated differential cell count)の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た。

A. 研究目的

骨髓像検査の際に、とくに芽球比率算定のときに分母として用いられる全有核細胞 all nucleated cells (ANC)にはリンパ球や形質細胞のごとき非骨髓系細胞が含まれるのか否かについては必ずしも施設間統一がなされていない。非赤芽球系細胞 non-erythroid cells (NEC) についても同様である。

そこで今回細胞比率算定方法の実態把握を目的とした。

B. 研究方法 および C. 研究結果

下記に示すアンケート用紙を造血班参加施設および近隣病院血液検査室（対象は主として血液検査技師）に配布して回収・集計した。前者 22 施設、後者

30 施設、計 52 施設から回答をいただいた。その結果をあわせて示した。

1. 骨髓芽球比率は【骨髓芽球数÷総有核細胞数 (all nucleated cell count; ANC)】で表されますが、この場合の ANC とは貴施設ではどのような細胞群ですか？

[回答結果]

- ・リンパ球、形質細胞、肥満細胞、マクロファージを含む (38 施設)
- ・リンパ球、形質細胞、肥満細胞、マクロファージを含まない (14 施設)
- ・その他 (0 施設)

2. 次のような症例は、貴施設ではどのように病型

判定されますか？

(A) 汎血球減少で末梢血芽球 0%。骨髓は多系統異形成あり、500 個カウントにて、骨髓芽球 23 個、赤芽球 130 個、その他骨髓系細胞 247 個、リンパ球等非骨髓系 100 個。

[回答結果]

- ・ 骨髓芽球比率は $23 \div 500 \times 100 = 4.6\%$
→ RCMD と判定 (34 施設)
- ・ 骨髓芽球比率は $23 \div (500-100) \times 100 = 5.8\%$
→ RAEB-1 と判定 (14 施設)
- ・ その他 (0 施設)

(B) 汎血球減少で末梢血芽球 0%。骨髓は多系統異形成あり、500 個カウントにて、骨髓芽球 45 個、赤芽球 230 個、その他骨髓系細胞 165 個、リンパ球等非骨髓系 60 個。

[回答結果]

- ・ 赤芽球は 500 個中 230 個で、50%未満である。
∴ 骨髓芽球比率は $45 \div 500 \times 100 = 9.0\%$
→ RAEB-1 と判定 (31 施設)
- ・ 赤芽球は 500 個中 230 個で、50%未満である。
∴ 骨髓芽球比率は $45 \div (500-60) \times 100 = 10.2\%$
→ RAEB-2 と判定 (7 施設)
- ・ 赤芽球はリンパ球等非骨髓系を除く 440 個中 230 個で、50%を超える。
∴ 骨髓芽球比率は $45 \div (440-230) \times 100 = 21.4\%$
→ acute erythroid/myeloid leukemia と判定 (10 施設)
- ・ その他 (0 施設)

D. 考察

今回造血班参加施設 22 施設、近隣病院 30 施設、合計 52 施設から回答を得た。ANC を非骨髓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%というのは非骨髓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髓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見解を聞くことができたので紹介する。まず Dr. John Bennett の見解では、ANC はリンパ球や形質細胞のごとき非骨髓系細胞を含まないという解釈であった。一方 WHO 分類の中心人物である Dr. Vardiman は基本的にすべての有核細胞と解釈しており、この見解は International Council for Standardization in Hematology (ICSH) のガイドラインによる NDC (BM nucleated differential cell count) に合致するものとして国際的に承認された事項であるとの回答であった。(参考文献: Int J Lab Hematol 30:349-364, 2008)。

どのような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 NDC の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。

E. 結論

本邦では ANC を非骨髓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。

F. 研究発表

論文発表、学会発表いずれもなし。

発作性夜間血色素尿症 (PNH) 患者の造血障害と NKG2D 免疫

研究協力者 中熊 秀喜 (和歌山県立医科大学 輸血・血液疾患治療部 (血液内科) 教授)

研究要旨

日本の発作性夜間血色素尿症 (PNH) 患者の主死因をなす造血障害の発生機序に関しては、再生不良性貧血における場合と同様に免疫機序が指摘されているが分子病態は不明である。我々はストレス誘導蛋白である NKG2D リガンド (ULBP, MICA/B) の PNH 患者血球における病的発現と、この発現血球を標的とする自己リンパ球による血球傷害を見出し、少なくとも一部の造血障害の発生には NKG2D 免疫が関与していると考えている。

A. 研究目的

PNH 患者の造血障害の発生における NKG2D 免疫の関与の有無を調べる。

B. 研究方法

PNH および PNH 関連造血障害疾患の再生不良性貧血 (AA) と骨髄異形成症候群 (MDS) の患者の血球膜における NKG2D リガンド (ULBP, MICA/B) 発現をフローサイトメトリーにて解析し、また、その発現に起因する血球傷害や造血コロニー形成障害の有無を *in vitro* で調べた。(倫理面への配慮) 学内倫理審査委員会の承認と参加者の同意を得て実施した。

C. 研究結果

NKG2D リガンドの病的発現は PNH、AA、MDS の患者の血球膜にも観察され、また PNH および AA 患者の骨髄細胞による造血コロニー形成不全は、抗 NKG2D 抗体の存在下で有意に改善した。臨床経過の前向き解析では、血球膜の病的リガンド発現、汎血球減少、免疫抑制療法効果に相関がみられた。

D. 考察

PNH および関連造血障害患者の約半数は随時採血で

も血球膜に NKG2D リガンド (細胞が癌化や病原体感染に曝された時に膜上に発現するストレス蛋白の一種) が病的に発現しており、患者血球が何らかのストレス (病因) に暴露されていると思われる。また、これらのリガンドの発現を狙う NKG2D 陽性リンパ球による血球傷害が持続的に誘導されると、造血障害が発生または助長されることが考えられる。この NKG2D 免疫は新しい分子標的療法の開発につながる可能性がある。

E. 結論

PNH および関連造血障害の患者の一部では血球膜の NKG2D リガンドの病的発現と、この発現を狙う NKG2D 免疫が造血障害の発生に関与している可能性がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Hanaoka N, Nakakuma H, Horikawa K, Nagakura S, Tsuzuki Y, Shimanuki M, Kojima K, Yonemura Y, Kawaguchi T.; NKG2D-mediated immunity underlying paroxysmal nocturnal haemoglobinuria and related bone marrow failure syndromes. *Br J Haematol.*

2009;146:538-545.

2. 学会発表

なし

FAB 分類の不応性貧血患者の WHO 分類 2008 での日独比較

研究協力者 松田 晃 (埼玉医科大学国際医療センター造血器腫瘍科 教授)

研究要旨

我々は、骨髄異形成症候群 (MDS) の FAB 分類における不応性貧血 (FAB-RA) の日本例とドイツ例の臨床像の違い (診断時の年齢が若い、血球減少が強い、染色体異常を有する頻度が低い (特に 5q-症候群が少ない)、予後 (Overall survival (OS)、Leukemia free survival (LFS)) が良いなど) を報告した。今回我々は、この解析と同じデータシートを用いて、症例を WHO 分類 2008 で再分類し、日本例とドイツ例の臨床像を比較検討した。1 系統に異形成を伴う不応性血球減少症(RCUD)と汎血球減少を伴う分類不能型 MDS (MDS-U (RCUD/pancytopenia type)) の頻度が、日本例ではドイツ例より高かった (共に $p < 0.001$)。MDS-U (RCUD/pancytopenia type) は、他の病型より診断時の年齢が若く、血球減少が高度であった。日本例とドイツ例に共通して、多血球系異形成を伴う不応性血球減少症(RCMD)の OS、LFS は他の病型より不良であったが、日本例では RCMD の頻度は低かった ($p < 0.001$)。日本例では 5q-症候群が低頻度であった ($p < 0.001$)。他の病型より診断時の年齢が若く、血球減少が高度である MDS-U (RCUD/pancytopenia type) の頻度が日本例で高いこと、予後不良である RCMD の頻度が日本例で低いこと、5q-症候群が低頻度であることが、FAB-RA の日本例とドイツ例の臨床像の違いの原因である可能性が示唆された。

A. 研究目的

我々は、FAB 分類の不応性貧血 (FAB-RA) の日本例とドイツ例の臨床像の違いを報告した (Matsuda A et al. Blood. 2005;106:2633-2640)。その報告では、日本の FAB-RA 症例はドイツ例と比較して、診断時年齢が若い、血球減少が強い、染色体異常を有する頻度が低い (特に 5q-症候群が少ない)、予後 (Overall survival (OS)、Leukemia free survival (LFS)) が良いなどが認められた。今回我々は、日独の臨床像について、WHO 分類 2008 で再分類し比較検討した。

B. 研究方法

以前の報告と同じデータシートを用いた。無作為な日独各 100 例にて検討されたデータシートの診断一致率は FAB 分類では 98.4% (κ 0.94、 $P < 0.001$)、WHO 分類 2001 は 83.8% (κ 0.73、 $P < 0.001$) であ

る。データシートの症例 (FAB-RA の連続症例、日本例 131 例、ドイツ例 597 例) を WHO 分類 2008 により再分類し、臨床像を後方視的に解析した。血球減少の定義は International Prognostic Scoring System に従った。形態学的評価は Germing らの報告 (Germing U et al. Haematologica. 2006; 91: 1596-1604) に従った。

(倫理面への配慮)

埼玉医科大学国際医療センター IRB の承認を受けた。匿名化を行なった。

C. 研究結果

日本例 102 例、ドイツ例 193 例が WHO 分類 2008 で分類できた。ドイツ例は高齢者の染色体検査施行率が低く、WHO 分類 2008 で分類できない症例が多かった。日独で WHO 分類 2008 の各病型の頻度が

異なっていた。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。

D. 考察

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。

E. 結論

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。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Matsuda A, Germing U, Jinnai I, Araseki K, Kuendgen A, Corinna Strupp C, Masako Iwanaga M, Miyazaki Y, Hata T, Masami 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. *Leuk Res.* in press.

2. 学会発表

- 荒関かやの、松田 晃、Germing U、陣内逸郎、Andrea Kuendgen A、Corinna Strupp、岩永正子、宮崎泰司、波多智子、別所正美、Norbert Gattermann、朝長万左男: 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. 第71回日本血液学会、2009年10月23日~25日、京都。

研究協力者 山下孝之 (群馬大学生体調節研究所 教授)

研究要旨

FA 蛋白群は相互作用しつつ FA 分子経路を形成し、ゲノム安定化に重要な役割を果たす。最近、FA 分子経路と TLS が協同して DNA 複製ストレスに対処する機構が注目されている。そこで私達は、TLS を行う代表的 DNA ポリメラーゼである Pol η に焦点を当て、その制御因子として Hsp90 を同定した。今後、造血細胞の DNA 複製における FA 分子経路と TLS ポリメラーゼの役割をさらに解明することが重要と考えられる。

A. 研究目的

FA 分子経路と TLS が相互作用しつつ円滑かつ安定な DNA 複製を行う機構が注目されている。TLS は特定の DNA ポリメラーゼが損傷部位を乗り越えて DNA 合成を行うことであり、DNA 損傷への耐性や変異の導入に参与する。本研究では、代表的な TLS ポリメラーゼである Pol η の制御機構の解明を目的とした。

B. 研究方法

ヒト培養細胞に安定的に発現させた Pol η あるいは内因性 Pol η を対象に、Hsp90 との結合や、Hsp90 阻害剤が蛋白の安定性、細胞内局在、相互作用、TLS 機能に与える影響を解析した。

C. 研究結果

Hsp90 は Pol η に特異的に結合し、その安定性の促進と構造制御を介して、DNA 損傷部位への Pol η の動員を促進することが判った。これに一致して、Hsp90 を阻害すると Pol η による TLS が抑制された。

D. 考察

TLS ポリメラーゼの制御因子として Hsp90 を同定した。一方、DNA 修復において TLS ポリメラーゼと

FA 蛋白が共同して作用することが示唆されているが、そのメカニズムは明らかではない。FA の病態を解明するために、さらなる解析が重要と考えられる。

E. 結論

Hsp90 は Pol η の DNA 損傷部位への動員を制御し、TLS 活性を促進する。

F. 研究発表

1. 論文発表

● Sekimoto T, Oda T, Mayca Pozo F, Murakumo Y, Masutani C, Hanaoka F, Yamashita T : The molecular chaperone Hsp90 regulate accumulation of DNA polymerase η at replication stalling sites in UV-irradiated cells. Mol Cell 37:79-89, 2010.

2. 学会発表

● Mayca Pozo F, 小田司, 関本隆志, 益谷央豪, 花岡文雄, 村雲芳樹, 山下孝之 : 分子シャペロン Hsp90 は Y-family DNA ポリメラーゼ REV1 の DNA 損傷による核内フォーカス形成を促進する; 第 32 回日本分子生物学会年会, 2009 年 12 月 9 日~12 日, 横浜

IV. 造血不全症の診療に関する

診断・治療状況調査

厚生労働省科学研究補助金
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

造血不全症の診療に関する 診断・治療状況調査

目 的

骨髄不全症候群は造血幹細胞移植以外に根本的治療がなく、しばしば治療法の選択に難渋する。

骨髄不全症候群において、各施設の先生方が現在どのような治療方針を選んでいらっしゃるのかをまとめ、将来の診療ガイド改訂の参考にしたいと考え、アンケート調査を行った。

また、同時に診療ガイドの認知度や造血障害班に希望する内容などについても御意見をいただいた。

回答に御協力いただいた施設

	施設名		施設名
1	自治医科大学 血液科	22	和歌山県立医科大学 血液内科
2	九州大学 血液・腫瘍内科・宮崎大学 消化器血液科	23	埼玉医科大学国際医療センター 造血器腫瘍科
3	京都大学 血液・腫瘍内科	24	獨協医科大学 血液科
4	大阪大学医学部 血液・腫瘍内科	25	名古屋大学医学部附属病院 血液内科
5	東京大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科	26	東京医科大学 第1内科
6	秋田大学 血液・腎臓病・膠原病内科	27	昭和大学藤が丘病院 内科血液
7	金沢大学 細胞移植学	28	熊本大学 血液内科
8	京都大学 小児科・聖路加国際病院 小児科	29	川崎医科大学 血液内科
9	長崎大学病院 血液内科	30	信州大学 血液内科
10	北海道大学 血液内科	31	小山市民病院 内科
11	名古屋医療センター 臨床研究センター	32	九州大学別府先進医療センター 免疫血液代謝内科
12	東邦大学医療センター大森病院 輸血部小児科	33	自治医科大学大宮医療センター 血液科
13	近畿大学医学部 血液内科	34	岐阜大学 血液感染症内科
14	群馬大学医学部附属病院 輸血部	35	NTT東日本関東病院 血液内科
15	広島大学病院	36	九州がんセンター 血液内科
16	旭川医科大学 消化器・血液腫瘍内科	37	三重大学 血液内科
17	名古屋大学 小児科	38	天理よろづ相談所病院 血液内科
18	山梨大学医学部 血液・腫瘍内科	39	太田西ノ内病院 血液内科
19	岡山大学 血液・腫瘍内科	40	福岡大学 第一内科
20	日本医科大学 血液内科	41	施設不明
21	筑波大学 血液内科		

再生不良性貧血(軽症)

内科

30歳代以下		40歳代-60歳代		70歳代以上	
経過観察	32	経過観察	32	経過観察	32
→同化H・CyA	18	→同化H・CyA	18	→同化H・CyA	17
同化H	1	同化H	2	同化H	1
		→CyA	1		
CyA	2	CyA	1	CyA	0
→同化H	1	→同化H	1	→同化H	
経過観察・同化H・CyA	0	経過観察・同化H・CyA	0	経過観察・同化H・CyA	2
無回答	1	無回答	1	無回答	1
合計	36	合計	36	合計	36

●血小板5万以下でPNH陽性ならCyA、5万以上ならば経過観察。効果がなければ同化ホルモン

再生不良性貧血(中等症)

内科

30歳以下		40歳代-60歳代		70歳代以上	
経過観察	7	経過観察	8	経過観察	13
→ 同化H・CyA	6	→ 同化H・CyA	5	→ 同化H・CyA	9
→ ATG + CyA	1	→ ATG + CyA	2	→ ATG + CyA	2
同化H	4	同化H	4	同化H	7
→ ATG + CyA	2	→ ATG + CyA	2	→ ATG + CyA	1
				→ CyA	2
CyA	8	CyA	7	CyA	9
→ 同化H	3	→ 同化H	3	→ 同化H	6
→ ATG + CyA	5	→ ATG + CyA	4	→ ATG + CyA	3
ATG + CyA	14	ATG + CyA	12	ATG + CyA	3
→ 同化H・CyA	6	→ 同化H・CyA	5	→ 同化H・CyA	0
→ SCT	4	→ SCT	3	→ SCT	0
ATG	0	ATG	0	ATG	1
SCT	1	SCT	1	SCT	0
経過観察・同化H・CyA	1	経過観察・同化H・CyA	2	経過観察・同化H・CyA	2
無回答	1	無回答	1	無回答	1
合計	36	合計	36	合計	36

- エリスロポエチン使用の場合あり
- 1st lineの移植は20歳まで
- 血小板5万以下でPNH陽性ならCyA、5万以上ならば経過観察。効果がなければ同化ホルモン
- ※ SCTは基本的に血縁移植

再生不良性貧血(やや重症)

内科

30歳以下		40歳代-60歳代		70歳代以上	
経過観察	0	経過観察	0	経過観察	2
→ 同化H・CyA		→ 同化H・CyA		→ 同化H・CyA	2
→ ATG + CyA		→ ATG + CyA		→ ATG + CyA	0
同化H	0	同化H	0	同化H	5
→ ATG + CyA		→ ATG + CyA		→ ATG + CyA	0
				→ CyA	1
CyA	1	CyA	3	CyA	12
→ 同化H	0	→ 同化H	2	→ 同化H	7
→ ATG + CyA	1	→ ATG + CyA	1	→ ATG + CyA	3
同化ホルモン・CyA	0	同化ホルモン・CyA	0	同化ホルモン・CyA	2
ATG + CyA	24	ATG + CyA	31	ATG + CyA	15
→ 同化H・CyA	7	→ 同化H・CyA	10	→ 同化H・CyA	8
→ SCT	11	→ SCT	16	→ SCT	1
SCT	11	SCT	2	SCT	0
無回答	1	無回答	1	無回答	1
合計	37	合計	37	合計	37

- HLA一致同胞ありの20歳以下は同胞SCT、60歳以下で治療に反応しない場合は非血縁SCT
- 1st lineの移植は20歳まで
- 80歳以上にはATGを使用しない
- ※ SCTは基本的に血縁移植

再生不良性貧血(重症)

内科

30歳代以下		40歳代-60歳代		70歳代以上	
経過観察	0	経過観察	0	経過観察	0
→ 同化H・CyA		→ 同化H・CyA		→ 同化H・CyA	
→ ATG + CyA		→ ATG + CyA		→ ATG + CyA	
同化H	0	同化H	0	同化H	4
→ ATG + CyA		→ ATG + CyA		→ ATG + CyA	0
				→ CyA	1
CyA	0	CyA	0	CyA	13
→ 同化H		→ 同化H		→ 同化H	4
→ ATG + CyA		→ ATG + CyA		→ ATG + CyA	7
ATG + CyA	18	ATG + CyA	30	ATG + CyA	18
→ 同化H・CyA	2	→ 同化H・CyA	4	→ 同化H・CyA	12
→ SCT	16	→ SCT	25	→ SCT	1
SCT	17	SCT	5	SCT	0
無回答	1	無回答	1	無回答	1
合計	36	合計	36	合計	36

- HLA一致同胞ありの20歳以下は同胞SCT、60歳以下で治療に反応しない場合は非血縁SCT
- 1st lineの移植は20歳まで
- 80歳以上にはATGを使用しない
- ※ SCTは基本的に血縁移植

再生不良性貧血(最重症)

内科

30歳代以下		40歳代-60歳代		70歳代以上	
経過観察	0	経過観察	0	経過観察	0
→ 同化H・CyA		→ 同化H・CyA		→ 同化H・CyA	
→ ATG + CyA		→ ATG + CyA		→ ATG + CyA	
同化H	0	同化H	0	同化H	1
→ ATG + CyA		→ ATG + CyA		→ ATG + CyA	
				→ CyA	
CyA	0	CyA	0	CyA	14
→ 同化H		→ 同化H		→ 同化H	5
→ ATG + CyA		→ ATG + CyA		→ ATG + CyA	5
ATG + CyA	15	ATG + CyA	25	ATG + CyA	19
→ 同化H・CyA	1	→ 同化H・CyA	3	→ 同化H・CyA	14
→ SCT	14	→ SCT	22	→ SCT	0
SCT	20	SCT	10	SCT	0
無回答	0	無回答	0	無回答	1
合計	35	合計	35	合計	35

- HLA一致同胞ありの20歳以下は同胞SCT、60歳以下で治療に反応しない場合は非血縁SCT
好中球ゼロの場合は代替ドナーを検討
- 1st lineの移植は20歳まで
- 80歳以上にはATGを使用しない
- ※ SCTは基本的に血縁移植