

ールマウスに比べて減少しているものの、血球減少は認められず、骨髄では Lin⁻Sca1⁺c-Kit⁺ (LSK) 分画、Common Myeloid Progenitor、Myeloid Progenitor, Granulocyte-Macrophage Progenitor の増加が認められたが、CD34⁺LSK や CD150⁺CD48⁺LSK などの未分化造血幹細胞分画に変化は見られなかった。また、鉄過剰マウスおよびコントロールマウスより 1×10^6 個の骨髄細胞を正常マウスに移植したところ、その造血再建能については移植後 8 週間にわたって差は認められなかった。

逆に、正常マウスより 1×10^6 個の骨髄細胞を採取し、これらを鉄過剰マウスおよびコントロールマウスに移植したところ、移植後 2 週間では全血球、移植後 4 週間においても白血球と血小板の回復が鉄過剰マウスにおいて有意に遅延しており、鉄過剰マウスでは造血支持環境が障害されていることが示唆された。

そこで、骨髄より非血液細胞 (CD45⁻Ter119⁻細胞) を分離し、マイクロアレイおよび定量的 PCR 解析により造血支持分子の発現を解析したところ、鉄過剰マウスでは、CXCL12、VCAM-1、Kit-ligand、IGF1 の発現が有意に低下していた。また、鉄過剰マウスにおいては、血清 EPO 濃度や肝臓での TPO 発現量が有意に低下しており、これらの造血支持分子の低下が造血回復遅延に影響しているものと考えられた。

骨髄における活性酸素種 (Reactive Oxygen Species; ROS) 量を 2,7-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFDA) によって測定したところ、鉄過剰マウスでは有意に増加していた。また、肝臓における malondialdehyde (MDA) も増加しており、鉄過剰マウスでは酸化ストレスが増加していることが示された。

D. 考察

鉄キレート療法後に血球が回復することは、過剰鉄が造血に対して負に作用することを示唆する。

しかし本モデルマウスでは当初の予想と異なり、過剰鉄による血球減少は認められなかった。また、骨髄内の未分化造血幹細胞分画に変化は見られず、骨髄移植実験でも造血幹細胞活性の低下は認められなかった。従って、少なくとも今回我々が用いた鉄投与系では、造血幹細胞は過剰鉄に対して耐性を示すものと考えられる。

一方、鉄過剰マウスでは骨髄移植後の造血回復が有意に遅れることが明らかとなった。鉄過剰マウスの骨髄では CXCL12 や Kit-ligand、IGF1 など造血幹細胞の維持、増殖、分化に必須な分子の発現が著明に低下しており、さらに血中 EPO 濃度や肝臓での TPO 産生も有意に減少していたことから、これらの骨髄微小環境の障害、肝臓・腎臓におけるサイトカイン産生障害が赤血球や血小板の回復遅延に影響している可能性が示唆された。

そして、これらの臓器では有意に活性酸素量が増加していたため、組織障害は過剰鉄によって産生された活性酸素が原因である可能性が高いと考えられる。

本研究では鉄過剰症による造血幹細胞への直接影響について証明することはできなかったが、過剰鉄が骨髄ストローマ細胞および腎臓・肝臓における造血支持分子産生を抑制することにより、造血に負の影響を与えていることが明らかとなった。なお、実際に行われる造血幹細胞移植では、移植前フェリチン高値患者における生着不全のエビデンスは無い。これは実際の移植では十分量の造血幹細胞が移植されているためと考えられる。

E. 結論

鉄過剰症は骨髄における造血微小環境を障害し、腎臓、肝臓における EPO や TPO など重要なサイトカイン産生を抑制することによって造血に負の影響を与えている可能性が考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Hanawa, S., Akimoto, T., Uehara, E., Inoue, M., Imai, T., Kotoda, A., Yoshizawa, H., Matsuyama, T., Ueda, M., Saito, O., Hamano, Y., Yumura, W., Ozawa, K., Muto, S., Kusano, E.: Renal failure caused by plasma cell infiltration in multiple myeloma. *Clin Exp. Nephrol.* 15(4): 586-90, 2011.
- Hirata, Y., Kishino, K., Onozaki, F., Nakaki, Y., Fujiwara, S., Yamamoto, C., Sato, K., Matsuyama, T., Ozaki, K., Mori, M., Ozawa, K., Muroi, K.: Use of cryoprotectant-depleted allogeneic peripheral blood stem cells for transplantation. *Hematology* 16(4): 221-4, 2011.
- Kobayashi, Y., Sakamaki, H., Fujisawa, S., Ando, K., Yamamoto, K., Okada, M., Ishizawa, K., Nagai, T., Miyawaki, S., Motoji, T., Usui, N., Iida, S., Taniwaki, M., Uoshima, N., Seriu, T., and Ohno, R.: Lack of non-hematological cross intolerance of dasatinib to imatinib in imatinib-intolerant patients with Philadelphia chromosome positive chronic myeloid leukemia or acute lymphatic leukemia: a retrospective safety analysis. *Int J Hematol.* 93: 745-749, 2011.
- Matsuyama, Y., Nagashima, T., Honne, K., Kamata, Y., Iwamoto, M., Okazaki H, Sato, K., Ozawa, K., Minota, S.: Successful treatment of a patient with rheumatoid arthritis and IgA- κ multiple myeloma with tocilizumab. *Intern. Med.* 50(6): 639-42, 2011.
- Meguro, A., Ozaki, K., Hatanaka, K., Oh, I., Sudo, K., Ohmori, T., Matsu, H., Tatara, R., Sato, K., Sakata, Y., Nakae, S., Leonard, W.J., Ozawa, K.: Lack of IL-21 signal attenuates graft-versus-leukemia effect in the absence of CD8 T-cells. *Bone Marrow Transplant.* 46(12): 1557-65, 2011.
- Miyawaki, S., Ohtake, S., Fujisawa, S., Kiyoi, H., Shinagawa, K., Usui, N., Sakura, T., Miyamura, K., Nakaseko, C., Miyazaki, Y., Masuya, M., Nagai, T., Yamane, T., Taniwaki, M., Takahashi, M., Yagasaki, F., Kimura, Y., Asou, N., Sakamaki, H., Handa, H., Honda, S., Ohnishi, K., Naoe, T., and Ohno, R.: A randomized comparison of 4 courses of standard-dose multiagent chemotherapy versus 3 courses of high-dose cytarabine alone in postremission therapy for acute myeloid leukemia in adults: the JALSG AML201 Study. *Blood* 117: 2366-2372, 2011.
- Nakamae H, Shibayama H, Kurokawa M, Fukuda T, Nakaseko C, Kanda Y, Nagai T, Ohnishi K, Maeda Y, Matsuda A, Amagasaki T, Yanada M.: Nilotinib as frontline therapy for patients with newly diagnosed Ph+ chronic myeloid leukemia in chronic phase: results from the Japanese subgroup of ENESTnd. *Int J Hematol.* 93: 624-632, 2011.
- Ohtake, S., Miyawaki, S., Fujita, H., Kiyoi, H., Shinagawa, K., Usui, N., Okumura, H., Miyamura, K., Nakaseko, C., Miyazaki, Y., Masuya, M., Nagai, T., Yamane, T., Taniwaki, M., Takahashi, M., Yagasaki, F., Kimura, Y., Asou, N., Sakamaki, H., Handa, H., Honda, S., Ohnishi, K., Naoe, T., and Ryuzo Ohno.: Randomized study of induction therapy comparing standard-dose idarubicin with high-dose daunorubicin in adult patients with previously untreated acute myeloid leukemia: the JALSG

AML201 Study. Blood 117: 2358-2365, 2011.

- Tataru, R., Ozaki, K., Kikuchi, Y., Hatanaka, K., Oh, I., Meguro, A., Matsu, H., Sato, K., Ozawa, K.: Mesenchymal stromal cells inhibit Th17 but not regulatory T-cell differentiation. *Cytotherapy* 13(6): 686-94, 2011.
 - Yagi, H., Ogura, T., Mizukami, H., Urabe, M., Hamada, H., Yoshikawa, H., Ozawa, K., Kume, A.: Complete restoration of phenylalanine oxidation in phenylketonuria mouse by a self-complementary adeno-associated virus vector. *J. Gene. Med.* 13(2): 114-22, 2011.
 - Yoshida, K., Nagai, T., Ohmine, K., Uesawa, M., Sripayap, P., Ishida, Y., Ozawa, K.: Vincristine potentiates the anti-proliferative effect of an aurora kinase inhibitor, VE-465, in myeloid leukemia cells. *Biochem. Pharmacol.* 82(12): 1884-90, 2011.
 - Yoshida, T., Sato, K., Ozaki, K., Matsuyama T., Ozawa, K.: Bone involvement in a patient with Hodgkin lymphoma producing granulocyte colony stimulating factor: PET imaging. *Br. J. Haematol.* 154(4): 424, 2011.
 - 藤原慎一郎、佐藤一也、平田裕二、山本千鶴、松山智洋、尾崎勝俊、森 政樹、柳沼かおり、菅野直子、中木陽子、岸野光司、小澤敬也、室井一男：自家末梢血幹細胞採取における標準的中心静脈カテーテルの使用. *日本輸血細胞治療学会誌* 57: 283-288, 2011.
2. 学会発表
- 岡部 寛他. 鉄過剰マウスにおける骨髄微小環境の機能障害. 第35回日本鉄バイオサイエンス学会学術集会. 2011.9.11. 徳島
 - 森 政樹他. 鉄過剰を伴う造血幹細胞移植後

晚期肝障害に対する Deferasirox 使用経験. 第73回日本血液学会学術集会. 2011.10.14. 名古屋.

- 尾崎勝俊. A novel strategy for GVHD treatment: Possible use of mesenchymal stem cells and interleukin-21. 第73回日本血液学会学術集会. 2011.10.14. 名古屋.
- 上原英輔他. Rac を介する細胞骨格シグナルによって c-Cbl は骨髄細胞の骨髄ホーミングを制御する. 第73回日本血液学会学術集会. 2011.10.14. 名古屋.
- 岡部 寛他. 鉄過剰マウスでは骨髄微小環境の機能が障害される. 第73回日本血液学会学術集会. 2011.10.14. 名古屋.
- Sripayap Piyanuch 他. アザシチジン耐性細胞株の樹立と耐性機序の検討. 第73回日本血液学会学術集会. 2011.10.14. 名古屋.
- Okabe H, Suzuki T, Uehara E, Ueda M, Nagai T, Ozawa K. The Bone Marrow Hematopoietic Microenvironment is Functionally Impaired in Iron-overloaded Mice. The American Society of Hematology 53rd Annual Meeting, 2011.12.10-13, SanDiego, CA, USA.

G. 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。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

新規補体阻害剤（エクリズマブ）治療のPNH患者における血管外溶血顕在化の解析

研究分担者：金倉 讓（大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科学講座 教授）

研究要旨

PNH 溶血に対する治療薬としてヒト化抗マウス C5 抗体（エクリズマブ）が開発され、顕著な溶血抑制効果が示されたが、その一方で LDH が正常上限付近にとどまり、貧血の改善が十分でない症例が存在し、新たに血管外溶血が顕在化した可能性が示唆されている。エクリズマブ投与中の PNH 症例 6 例全例において、程度の差こそあれ PNH 型血球上に C3b の蓄積を認め、経時的に増加することを確認した。今後は、C3b の蓄積に加え、C3b の分解調節因子である H 因子、CR1 等の発現量も注意深くモニターしていくことが重要であると考えられた。

A. 研究目的

エクリズマブにより PNH の血管内容血は著明に抑制されるものの、LDH が正常上限付近にとどまり、貧血の改善が十分でない症例が存在する。赤血球膜のオプソニン化によって血管外溶血が顕在化している可能性が示唆されており、オプソニン化に関与する C3b の赤血球膜への蓄積を経時的に検討した。

B. 研究方法

エクリズマブ投与中（4 例）または投与予定（2 例）の PNH 症例、エクリズマブ非投与の PNH 症例（5 例）、健常コントロール（5 例）を対象に、赤血球膜上への C3b の蓄積を検討した。抗体は、FITC-conjugated anti-C3 Ab、PE-conjugated anti-CD59 Ab を用いた。

（倫理面への配慮）

研究にあたっては、説明の上、同意（インフォームド・コンセント）を得て行っている。

C. 研究結果

健常人では CD59 陰性細胞（PNH 型血球）はなく、C3b の蓄積も認めない（図 1）。エクリズマブ非投与の PNH 症例（投与前の PNH 症例）では、CD59 陽性細胞と陰性細胞いずれにおいても C3b の蓄積を認めな

かった。投与症例では、程度の差はあるものの全例において、CD59 陰性細胞分画中に C3b の蓄積が確認された（1.8–39.8%）。

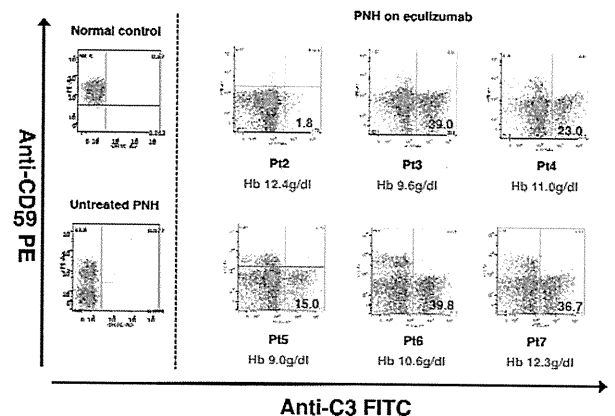


図 1. エクリズマブ投与中患者における赤血球上 C3b 蓄積

投与前から経過観察できた 2 例では、投与後から経時的に CD59 陰性分画中に C3b の蓄積が増強することが確認された（図 2A）。さらに、投与中の症例も含めた 6 例について、15 ヶ月の間隔をあけて解析したところ、全例で CD59 陰性分画中における C3b 蓄積が増加していた（図 2B）。

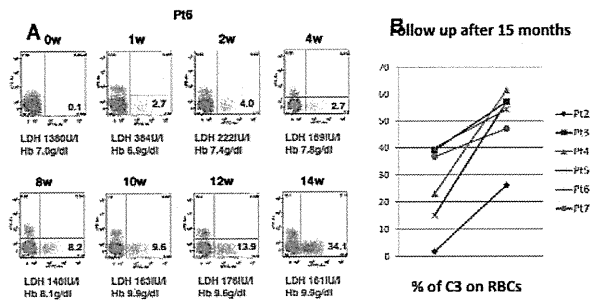


図2. エクリズマブ投与開始後の赤血球上C3蓄積の推移
(A) 投与前から後にかけての経時的経過 (Pt6)
(B) 投与経過中における15ヶ月後の推移

D. 考察

エクリズマブ投与により、オプソニン化に重要な C3b が、PNH 症例全例で、かつ経時的に CD59 陰性分画中の赤血球膜に蓄積していくことが確認された。C3b の分解調節因子としては、CD55 (DAF) が重要であるが、PNH 血球では欠損している。エクリズマブにより C5 以降の補体経路をブロックしたことで、顕在化したものと思われる。C3b の分解調節因子としては、H 因子、complement receptor type 1 (CR1) 等も重要で、これらの分子の発現量も解析する必要があると思われた。

E. 結論

新規治療薬であるエクリズマブは、PNH の溶血を著明に抑制するが、C3b が PNH 血球に蓄積したことによる血管外溶血という新たな病態が明らかとなった。幸い当院のエクリズマブ投与症例 6 例では、臨床上の問題には至っていない。ただ C3b の蓄積は、経時的に増加するので、今後の経過を注意深くフォローする必要がある。また、他院の症例で血管外溶血が臨床上問題となっている症例がみつかれば、C3b の蓄積に加え、H 因子、CR1 等の発現量も解析することが重要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

● 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,

Khursigara G, Ozawa K, Omine M.; Safety and efficacy of the terminal complement Inhibitor Eculizumab in Japanese patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: The AEGIS clinical trial. *Int. J. Hematol.* 2011; 93(36-46)

● Murakami Y, Inoue N, Shichishima T, Ohta R, Noji H, Maeda Y, Nishimura JI, Kanakura Y, and Kinoshita T: Deregulated expression of HMGA2 is implicated in clonal expansion of PIGA deficient cells in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br. J. Haematol.* 2012; 156(383-387)

2. 学会発表

● Kanakura Y. Recent advance in pathophysiology and treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH): the efficacy and safety profiles of eculizumab in Japanese patients with PNH. The Taiwan Society of Hematology, 2011.4.16-19, Taipei/Taoyuan County, Taiwan

● Kanakura Y. Recent advance in the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH): Japanese experience on eculizumab. The 52nd Spring Meeting of the Korean Society of Hematology, 2011.5.27-28, Seoul, Korea

G. 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」

「DNAメチル化酵素阻害剤治療効果に関わる因子の探索」
に関する研究

研究分担者 直江 知樹 名古屋大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科学 教授

研究要旨

骨髄異形成症候群（MDS）に対するアザシチジン（DNAメチル化酵素阻害剤）治療が日本においても施行可能となった。本剤の治療に感受性を示し、血球減少の改善や芽球数の減少を認める症例が経験される一方で、約6割の症例においては治療効果が確認されず、治療効果の発現の確認にも数ヶ月の経過観察を要する。本研究においては、アザシチジンに対して感受性を示す患者をより早期に抽出することを目的とし、経時的に採取された末梢血遊離DNAを用いたエピゲノム解析を行った。まず、MDS患者の血漿、血清より遊離DNAを抽出し、グローバルなメチル化の指標となる*LINE-1*遺伝子プロモーターのCpGメチル化状態についてバイサルファイト・パイロシーケンス法を用いて定量した。次にアザシチジン治療前後に経時的に採取された末梢血より遊離DNAを抽出して上記部位のメチル化状態の定量解析を施行したところ、アザシチジン投与3日目以降にメチル化割合の低下が確認され、血漿遊離DNAにおけるメチル化割合の低下は、末梢血単核球や血清遊離DNAに比べて、より早期に鋭敏に検出されることが確認された。アザシチジン投与後早期におけるメチル化割合変化率とアザシチジン感受性との関連性については、今後の検討課題と考えられる。

A. 研究目的

MDS患者に対するアザシチジン治療の反応性を、治療開始前もしくは開始後のより早期に予測しうる因子を探索する。

B. 研究方法

MDS患者より採取された血漿及び血清から遊離DNAを抽出し、アガロースゲル電気泳動にてその状態を確認した。また、血漿・血清遊離DNAと末梢血単核球から採取されたゲノムDNAを用いて、*LINE-1*遺伝子プロモーターCpG部位のメチル化解析を行った。*LINE-1*プロモーターのメチル化状態は細胞内のグローバルメチレーションの程度を反映すると報告されている。抽出された遊離DNAをバイサルファイト処理後にパイロシーケンスを施行し、特定CpG部位のメチル化を定量化し、経時的に採取された検体間における変化の割合を統計解析した。複数の患者検体を用いて同様の解析を施行し、病勢進行やアザシチジン治療効果との関連性を検討した。

（倫理面への配慮）

検体採取とその保存、研究目的使用に関する同意を文書により取得した後に検討を行った。患者検体は連結可能匿名化され、匿名化表は研究室内で厳重に保管された。

C. 研究結果

MDS患者から得られた血漿、血清遊離DNAをアガロースゲル電気泳動法にて解析したところ、DNAはラ

ダー状となって検出され、ゲノムDNAが断片化され、クロマチン構造をある程度反映する状態であることが示唆された。また、DNA濃度はそれぞれの患者の芽球数に比例する傾向が示唆され、また、血漿における遊離DNA濃度の方が血清DNAに比べて概して高い傾向が確認された。

アザシチジン治療を受けた複数のMDS患者より経時的に採取された末梢血より、血漿・血清遊離DNAを採取し、*LINE-1*プロモーター特定部位のCpGについてのメチル化定量解析を行った。血漿遊離DNAを用いた解析では、アザシチジン投与開始後3-4日目において、メチル化割合の有意な低下が確認された。末梢血単核球を用いた同様の検討では、治療開始後6日目でメチル化割合の低下が有意となり、血漿遊離DNAを用いた検討の方がより早くメチル化割合の変化をとらえることが可能であった。また、メチル化割合は、治療開始後約2週間かけて低下傾向を示し、その後4週間までに再度上昇することが確認された。

D. 考察

末梢血遊離DNAにおけるアザシチジン投与後のメチル化割合の変化は、末梢血単核球に比べて血漿遊離DNAにおいてより鋭敏に検出されることが示唆された。MDSにおける異常血球は、正常血球に比べてより脆弱であることが予想され、抗腫瘍薬の投与によってアポトーシスを来した細胞から末梢血中に容易にDNAが放出されること

が予想される。このため、MDSクローンにおけるエピジェネティックな変化を、末梢血遊離DNAはより鋭敏に反映する可能性が考察される。よって、末梢血遊離DNAにおけるメチル化割合がより大きく変化する症例において、アザシチジンに対する感受性がより高い可能性も考慮され、この末梢血遊離DNAにおけるメチル化割合の変化が治療効果を予測する因子となりうる可能性がある。今後、さらに症例数を蓄積し、臨床症状とリンクした解析が望まれる。

E. 結論

末梢血遊離DNAを用いて、MDSのエピゲノム解析が可能である。血漿遊離DNAを用いたアザシチジン投与後のLINE-1プロモーターメチル化割合の減少は、単核球を用いた検討に比べてより鋭敏であり、MDSクローンにおける変化を反映している可能性がある。

F. 健康危険情報 特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Sugimoto T, Tomita A, Abe A, Iriyama C, Kiyoi H, and Naoe T. Chimeric antisense RNA derived from chromosomal translocation modulates target gene expression. *Haematologica*. 2012. (in press)
- (2) Iriyama C, Tomita A, Hoshino H, Adachi-Shirahata M, Furukawa-Hibi Y, Yamada K, Kiyoi H, Naoe T. Using peripheral blood circulating DNAs to detect CpG global methylation status and genetic mutations in patients with myelodysplastic syndrome. *Biochem Biophys Res Commun*. 2012;419:662-9.
- (3) Tomita A, Shirasugi Y, Ito T, Tsurumi H, Naoe T. Extravascular hemolytic attack after eculizumab therapy for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Ann Hematol*. 2011 Nov 15. (in press)
- (4) Goto E, Tomita A, Hayakawa F, Atsumi A, Kiyoi H, Naoe T. Missense mutations in PML-RARA are critical for the lack of responsiveness to arsenic trioxide treatment. *Blood*. 2011;118:1600-9.

2. 学会発表

- (1) Takashi Tokunaga, Akihiro Tomita, Junji Hiraga, Takumi Sugimoto, Kazuyuki Shimada, Keiki Sugimoto, Tomohiro Kinoshita, Tomoki Naoe. CD20 Protein

Immunohistochemistry-Positive / Flow Cytometry-Negative Diffuse Large B-Cell Lymphoma- Analyses of the Molecular Mechanisms and Rituximab Effectiveness. The American Society of Hematology, 53th Annual Meeting, Dec. 11, 2011, San Diego, CA, USA

- (2) Chisako Iriyama, Akihiro Tomita, Takashi Tokunaga, Keisuke Sugiyama, PJunji Hiraga, Tomohiro Kinoshita, Tomoki Naoe. Clinical Significance of Genetic Mutations of *CD79B*, *CARD11*, *MYD88*, and *EZH2* Genes in Diffuse Large B-Cell Lymphoma Patients. The American Society of Hematology, 53th Annual Meeting, Dec. 11, 2011, San Diego, CA, USA
- (3) Chisako Iriyama, Akihiro Tomita, Hideki Hoshino, hitoshi Kiyoi, Tomoki Naoe. Genetic Mutations And Promoter Methylation in MDS Patients Can Be Detected In The Circulating DNA By Pyrosequencing Strategy. JSH International Symposium, Apr. 23, 2011, Nagasaki, Japan
- (4) 後藤絵美、富田章裕、早川文彦、渥美晃秀、清井仁、直江知樹、PML-RARAのミスセンス変異は亜ヒ酸治療抵抗性に関与する、第71回 日本血液学会総会、(口演)、2011年10月16日、名古屋
- (5) 徳永隆之、富田章裕、島田和之、杉本匠、平賀潤二、中村栄男、木下朝博、直江知樹、CD20 IHC(+)/FCM(-) Bリンパ腫細胞の分子生物学的意義とリツキシマブ治療の妥当性の検討、第71回 日本血液学会総会、(口演)、2011年10月16日、名古屋
- (6) 入山智沙子、富田章裕、徳永隆之、杉山恵亮、平賀潤二、木下朝博、直江知樹、DLBCLにおける*EZH2*, *CD79B*, *CARD11*遺伝子変異の意義、第71回 日本血液学会総会、(口演)、2011年10月16日、名古屋

F. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得
該当無し。
2. 実用新案登録
該当無し。
3. その他
なし。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

HLA-A アレル欠失血球と HLA クラス I アレルの偏りからみた
肝炎関連再生不良性貧血の特殊性

研究分担者：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）

研究要旨：肝炎関連再生不良性貧血（hepatitis-associated aplastic anemia、HAA）における免疫病態を明らかにするため、HAA17例を対象として、6番染色体短腕のuniparental disomy（6pUPD）によるHLA-Aアレル欠失血球の存在と、欠失HLAハプロタイプに高頻度に含まれる4つのクラスIアレル（HLA-A*02:01、A*02:06、A*31:01、B*40:02）の保有頻度を検討した。HLA-A欠失血球陽性例の頻度は、特発性AAでは311例中40例（13%）であったのに対して、HAAでは、17例中5例（29%）と有意に高率であった。一方、上記4アレルの少なくとも一つを保有している例の割合は、AAでは311例中190例（61%）、HAAでは26例中19例（73%）と、AAで保有率が高い傾向がみられた。また、それぞれの保有率が健常対照者（4091例中1491例、36%）よりも有意に高値であった。したがって、HAAにおいては、ハイリスクアレルによって提示される造血幹細胞抗原に特異的な細胞傷害性T細胞が、発症に特に強く関与していることが示唆された。

A. 研究目的

肝炎関連再生不良性貧血（hepatitis-associated aplastic anemia、HAA）は、A、B、C、D、Eなどの既知のウイルス以外の原因による肝炎に関連した再生不良性貧血（aplastic anemia、AA）である。原因は不明であるが、免疫抑制療法に対する反応性は特発性AAと変わらないことから、何らかの免疫学的機序による骨髄不全と考えられている。免疫異常として、CD4陽性細胞の低下による免疫不全状態が強いことが特徴であり、その発症の引き金は、肝細胞と造血幹細胞に共通する抗原を標的とした自己免疫反応であろうと想像されているが、詳細は不明である。

われわれは、再生不良性貧血患者の約13%において、6番染色体短腕のuniparental disomy（6pUPD）によるHLA-Aアレル欠失血球が検出されることを最近見出した。6pUPDによって欠失するHLAハプロタイプにはHLA-A*02:01、A*02:06、A*31:01、B*40:02の4つのHLAクラスIアレルが高頻度に含まれており、さらにこれらのハイリスク4アレルは、AAの疾患感受性HLA遺伝子であることも明らかになった。これらの所見は、特定のHLAクラスIアレルによって提示されやすい造血幹細胞抗原特異的な細胞傷害性T細胞（cytotoxic T cell、CTL）がAAの発症に関与していること、また、元々骨髄中に存在していた6pUPD陽性幹細胞が、そのCTLの攻撃

を免れて造血に寄与するようになったことを示唆している。

特発性AAとは異なり、HAAの病態は均一と考えられることから、もしこの仮説が正しいとすれば、HAAでは、通常のAAよりもHLA-Aアレル欠失血球が高頻度に検出されるはずである。そこで、HAA患者におけるHLA-Aアレル欠失血球検出頻度とハイリスクアレルの保有頻度を検討した。

B. 研究方法

2010年3月以降、当科を受診し、HLA-Aアレル欠失血球の有無がSNPアレイまたはフローサイトメトリーで検索された328症例を対象とした。このうち、特発性AAは311例、HAAは17例であった。全例でHLAアレルを決定した。HLAアレル頻度の比較対照として、日本骨髄バンクに登録された健常ドナーのHLAデータを用いた。

（倫理面への配慮）

SNPアレイによるゲノム解析、HLAタイピング、フローサイトメトリーによるHLA欠失血球の検出のそれぞれについて、金沢大学ヒトゲノム解析研究倫理審査委員会の審査を受け、承認を得た。患者との連絡が可能であったすべての患者から同意を取得し、患者との連絡が取れない過去の検体については、連結不可能匿名化した上で研究に供し

た。

C. 研究結果

HLA 欠失血球陽性例の頻度は、AA では 311 例中 40 例 (13%) であったのに対して、HAA では 17 例中 5 例 (29%) と有意に高頻度であった ($P=0.05$)。一方、HLA-A*02:01、A*02:06、A*31:01、B*40:02 の 4 アレルの少なくとも一つを保有している例の割合は、AA では 311 例中 190 例 (61%)、HAA では 26 例中 19 例 (73%) と、HAA で保有率がより高い傾向がみられた。また、それぞれが健常対照者 (4091 例中 1491 例、36%) よりも有意に高値であった ($P<0.001$)。したがって、HAA においては、ハイリスクアレルによって提示される造血幹細胞抗原に特異的な CTL が、骨髄不全の発症に特に強く関与していることが示唆された。また、免疫抑制療法の前後で経過を観察できた 2 症例において、HLA 欠失顆粒球割合の推移を見たところ、造血が回復したにもかかわらずその割合は不変であった。したがって、造血幹細胞抗原特異的 CTL は再不貧血症の初期相においてのみ造血幹細胞の減少に関与しており、その後の造血抑制に関与しているのはサイトカインのような非特異的な因子であると考えられた。

D. 考察

均一な免疫病態によると考えられる HAA において、HLA-A 欠失血球が高頻度に検出されたことから、この血球の存在は、CTL による造血幹細胞の傷害という、AA の免疫病態を示唆するものであることが裏付けられた。

一方、HAA では、先行する肝炎のピークが過ぎてから骨髄抑制が発症することが知られているが、この時差が見られる機序は不明であった。今回の検討により、この再不貧血症の「遅れ」は、肝細胞と造血幹細胞の両者を認識する CTL が、まず肝炎と造血幹細胞プールの縮小を引き起こすが、造血抑制はその後に産生されるサイトカインによって引き起こされるためであることが示唆された。

E. 結論

HAA では、ハイリスクアレルによって提示される造血幹細胞抗原に特異的な CTL が発症に強く関与している。この CTL は AA 発症の初期相において肝細胞と造血幹細胞を同時に傷害するが、その後の病像形成に関与しているのはサイトカインのような非特異的なメカニズムであると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1). Ohata K, Iwaki N, Kotani T, Kondo Y, Yamazaki H, Nakao S: An Epstein-Barr virus-associated leukemic lymphoma in a patient treated with rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine for hepatitis-associated aplastic anemia. *Acta Haematol* 2011;127 (96-99)
- 2). Katagiri T, Sato-Otsubo A, Kashiwase K, Morishima S, Sato Y, Mori Y, Kato M, Sanada

M, Morishima Y, Hosokawa K, Sasaki Y, Ohtake S, Ogawa S, Nakao S: Frequent loss of HLA alleles associated with copy number-neutral 6pLOH in acquired aplastic anemia. *Blood*. 2011; 118 (6601-6609)

- 3). Takamatsu H, Yagasaki H, Takahashi Y, Hama A, Saikawa Y, Yachie A, Koizumi S, Kojima S, Nakao S: Aplastic anemia successfully treated with rituximab: the possible role of aplastic anemia-associated autoantibodies as a marker for response. *Eur J Haematol*. 2011; 86 (541-545)

2. 学会発表

- 1) Takamasa Katagiri, Aiko Sato-Otsubo, Koichi Kashiwase, Satoko Morishima, Yusuke Sato, Yuka Mori, Motohiro Kato, Masashi Sanada, Yasuo Morishima, Shigeki Ohtake, Seishi Ogawa, Shinji Nakao: Frequent loss of HLA alleles from hematopoietic stem cells in patients with hepatitis-associated aplastic anemia. Session Type: Poster Session, #2407: The American Society of Hematology 53rd Annual Meeting, December 12, 2011. San Diego, California, USA.

G. 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

ABO-major 不適合ドナーからの同種造血幹細胞移植後に発症する赤芽球癆の
後方視的疫学研究

研究分担者 澤田賢一（秋田大学大学院医学系研究科 血液・腎臓・膠原病内科学 教授）
廣川誠（秋田大学医学部附属病院 腫瘍センター 准教授）

研究要旨

ABO-major 不適合ドナーからの同種造血幹細胞移植後に発症する赤芽球癆に対する標準的治療を確立するため、全国的な後方視的疫学研究を行った。日本造血細胞移植学会のデータベースから赤血球造血回復遅延症例 145 例を抽出し、46 例の移植後赤芽球癆のコホートが得られた。輸血以外の治療として免疫抑制薬の急速減量、副腎皮質ステロイドあるいは免疫抑制薬の追加などが 22 例に実施されていた。これらの治療による奏効率は 54.5%であったが、網赤血球数回復に要する日数および総輸血量は治療介入の有無により差がみられなかった。多変量解析により移植後赤芽球癆症例の生存率に負の影響を与える因子として、移植後赤芽球癆に対する治療介入が抽出された。以上の結果は ABO-major 不適合移植後に発症する赤芽球癆に対して輸血以外の治療は利益をもたらさないことを示唆している。

A. 研究目的

ABO-major 不適合ドナーからの同種造血幹細胞移植後に発症する赤芽球癆に対する標準的治療は確立されていない。同病態に対する診療ガイドを作成することを目的として、後方視的疫学研究を全国規模で行った。

B. 研究方法

日本造血細胞移植学会が管理するデータベース (TRUMP) に登録されている 2,846 例の ABO-major 不適合移植症例から赤血球造血回復遅延症例 145 例を抽出し、当該移植施設へ診断の確認と 2 次アンケート調査に関する協力依頼を行った。研究協力の同意の得られた施設に調査票を送付し、回答の得られた 46 例の移植後赤芽球癆のコホートが確立された。

(倫理面への配慮)

本研究計画は秋田大学倫理委員会および日本造

血細胞移植学会移植登録一元管理委員会において審査され、実施の承認を得た。本研究は疫学研究指針に基づいて実施された。

C. 研究結果

輸血以外の治療として免疫抑制薬の急速減量、副腎皮質ステロイドあるいは免疫抑制薬の追加などが 22 例に実施されていた。これらの治療による奏効率は 54.5%であったが、網赤血球数回復に要する日数および総輸血量は治療介入の有無により差がみられなかった。移植後赤芽球癆症例の生存率に負の影響を与える因子として、男性患者、重症急性 GVHD、慢性 GVHD、原病の悪化および赤芽球癆に対する治療介入の 5 因子が単変量解析により抽出されたが、多変量解析により移植後赤芽球癆に対する治療が唯一生存に影響を与える有意な因子であることが判明した。赤芽球癆に対する治療介入群 (22 例) および非介入群 (24 例) における死亡はそれぞれ 11 例、2 例であり、介入群に

おける死因は 11 例中 7 例が感染症に関連していた。

D. 考察

重症急性 GVHD の発症が治療介入群により多くみられたため、治療介入と予後における交絡因子として作用している可能性があるが、多変量解析では有意な因子として抽出されなかった。免疫抑制薬による治療介入は感染症を誘発し、予後不良に関連している可能性が示唆された。

E. 結論

ABO-major 不適合移植後に発症する赤芽球癆に対して、輸血以外の治療介入の利益は証明されなかった。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表

● Hirokawa M, Sawada K, Fujishima N, Fukuda T, Akiyama H, Imamura M, Adachi S, Urabe A, Okamoto S, Suzuki R, Tanimoto M, Nakao S, Sugita M, Morishima Y, Sakamaki H and Ozawa K. Efficacy and long-term outcome of intervention for pure red cell aplasia (PRCA) following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from major ABO-incompatible donors. 16th Congress of European Hematology Association, 2011.6.9-12, London, United Kingdom.

● 廣川 誠、澤田賢一、藤島直仁、福田隆浩、秋山秀樹、今村雅寛、足立壮一、浦部晶夫、岡本真一郎、鈴木律朗、谷本光音、中尾眞二、杉田 稔、森島泰雄、坂巻 壽、小澤敬也。ABO 主不適合ドナーからの同種造血幹細胞移植後赤芽球癆に対する治療介入の効果と長期予後。第 73 回日本血液学会総会、2011.10.14-16、名古屋。

G. 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

本邦の原発性骨髄線維症の臨床像

研究分担者：赤司浩一（九州大学・教授）

研究要旨

本邦の原発性骨髄線維症 553 例の臨床情報を集積、解析した。5 年生存率 41%である。経過中に血小板 <5 万/ μ L、芽球 $\geq 10\%$ 、17 番染色体異常のいずれかの所見を示した場合、それ以降の平均生存期間は 0.8 年であった。この 3 項目は、診断時のみならず、経過観察中の原発性骨髄線維症患者の治療方針を決定する指標となる。

A. 研究目的

本邦における原発性骨髄線維症の臨床像、予後を明らかにする。予後不良因子を同定し、治療成績向上をはかる。

B. 研究方法

日本血液学会認定施設を対象に、原発性骨髄線維症と新規診断した症例をアンケート調査により集積した。1999 年以降の診断例に関し、予後調査を行った。臨床情報、予後をもとに、原発性骨髄線維症のリスクファクター、予後予測の検討をおこなった。

（倫理面への配慮）

臨床像の調査は、患者名を匿名化して行っている。

C. 研究結果

553 例の原発性骨髄線維症の新規症例を集積した。発症年齢中央値は 66 歳、男女比は 2.03:1 である。Hb 10g/dl 未満の貧血を 69%に、血小板数 10 万/ μ L 未満を 32%に、50 万/ μ L 以上を 11%に認めた。末梢血への芽球の出現は 55%に認めている。JAK2 変異の検索は 102 例に施行されており、変異が 55%に認められた。5 年生存率は 40.7%であった。観察期間中に 249 例の死亡が確認されており、死因は感染症 67 例、白血化 41 例である。

原発性骨髄線維症の現時点での治癒的治療法は造血幹細胞移植であるため、経過観察、あるいは薬物療法を選択した場合、どの時点で再び治療法の変更、再検討を必要とするかの指標が望まれている。経過観察中にはじめて血小板 <5 万/ μ L、芽球 $\geq 10\%$ 、17 番染色体異常のいずれかの項目を満たした場合、それ以降の平均生存期間は 0.8 年であった。いずれも該当しない場合は 5.2 年である。

D. 考察

本邦の原発性骨髄線維症の 5 年生存率は 40.7%と不良である。経過観察中にはじめて血小板 <5 万/ μ L、芽球 $\geq 10\%$ 、17 番染色体異常のいずれかの項目を満たした場合、それ以降の平均生存期間は 0.8 年、いずれも該当しない場合は 5.2 年であり、この 3 項目は、経過観察中、あるいは薬物療法中の骨髄線維症患者の予後予測に有用である。

E. 結論

本邦の原発性骨髄線維症 553 例の臨床情報を集積した。血小板 <5 万/ μ L、芽球 $\geq 10\%$ 、17 番染色体異常の 3 項目は、経過観察中、あるいは薬物療法中の骨髄線維症患者の予後予測に有用である。

F. 研究発表

1. 論文発表

● Kikushige Y, Ishikawa F, Miyamoto T, Shima T, Urata S, Yoshimoto G, Mori Y, Iino T, Yamauchi T, Eto T, Niuro H, Iwasaki H, Takenaka K, Akashi K: Self-renewing hematopoietic stem cell is the primary target in pathogenesis of human chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Cell* 20:246-59, 2011

● Mori Y, Teshima T, Kamezaki K, Kato K, Takenaka K, Iwasaki H, Miyamoto T, Nagafuji K, Eto T, Akashi K: Validation of pretransplantation assessment of mortality risk score in the outcome of hematopoietic SCT in non-Caucasians. *Bone Marrow Transplant*, in press

● Mori Y, Miyamoto T, Kato K, Kamezaki K, Kuriyama T, Oku S, Takenaka K, Iwasaki H, Harada N, Shiratsuchi M, Abe Y, Nagafuji K, Teshima T, Akashi K: Different Risk Factors Related to Adenovirus- or BK Virus-Associated Hemorrhagic Cystitis following Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, in press

2. 学会発表

● Akashi K. Leukemic stem cells. 16th Congress of European Hematology Association, 2011.6.9-12, London, UK

● Akashi K. Transcription factor regulation in normal and malignant hematopoiesis. The American Society of Hematology 53rd Annual Meeting, 2011.12.10-13, San Diego, CA, USA

G. 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」

骨髄異形成症候群の国際予後スコアリングシステム改訂

研究分担者：宮崎 泰司（長崎大学大学院医歯薬学総合研究科・教授）

研究要旨

1997年に発表された国際予後スコアリングシステム(International Prognostic Scoring System, IPSS)は、骨髄異形成症候群の予後予測と治療方針決定に広く用いられている。今回、国際共同研究としてIPSSの改訂作業が執り行われており、日本からも本班が参加することとなった。世界各国から収集された多数の症例データを元に、改訂スコアリングシステムの因子として新たな染色体グループの設定、血液検査値の見直し、骨髄芽球割合の見直しなどが行われている。

A. 研究目的

骨髄異形成症候群(Myelodysplastic syndromes, MDS)は極めて多彩な病態を示す難治性造血器腫瘍であり、治療方針決定には症例毎に予後を予測する必要がある。1997年に発表されたIPSSは800例余りのMDS症例のデータを元にして作製され、血液データ、骨髄芽球割合、染色体核型を因子として点数化し、予後を予測するものである。世界で広く用いられてきたが、その後の研究によって染色体の重み付けなど変更が必要であると指摘されてきた。今回、より多くの症例データを収集し、IPSSの改訂作業が執り行われることとなった。国内のMDS患者に対してよりよい予後予測システムを提供することは極めて重要であり、日本を代表して本班もその作業に参加した。

B. 研究方法

世界の18データベースよりMDSデータが収集された。初発、原則無治療例のデータである。国内からは埼玉医科大学データベース、特発性造血障害調査研究班データ、長崎大学データベースから合計439例のデータが提出された。各国から収集されたデータは統計解析によって無白血病生存期間、全生存期間にかかわる因子が抽出され、それらの組み合わせによるスコアリングシステムの作製が試みられた。

(倫理面への配慮)

長崎大学症例のデータは連結可能匿名化の上、連結表は提供されない形で国際研究チームに提出された。埼玉医科大学データならびに特発性造血障害班データは長崎大学に提出される時点で連結不可能匿名化が行われた。長崎大学がそれらのデータをまとめて国際研究チームに提出した。すなわち、データ解析が行われる時点では連結不可能匿名化データ、あるいは連結可能匿名化で対応表を有さないデータであった。本研究は、長崎大学の倫理委員会にて審査が行われ、その承認を得た。

C. 研究結果

7012例のデータが解析に用いられた。染色体核型の解析と予後の関連が調べられ、これまでに用いられてきた3群のグループ分け(良好、中間、不良)から、核型によって5群に分類する方法が採用された。すなわち、Very good [del(11q),-Y], Good[正常,del(5q), del(12p), del(20q), del(5q)を含む二つの異常], Intermediate [del(7q), +8, i(17q), +19, その他の核型、その他の二つの異常], Poor [inv(3)/t(3q)/del(3q), -7, -7/del(7q)を含む二つの異常、3つの異常], Very poor[3を超える異常]である。これによって生存期間の中央値はそれぞれ60.8ヶ月、48.6ヶ月、26ヶ月、15.8ヶ月、5.9ヶ月に分離できる。

この他に因子として選ばれたのは骨髄芽球割合で、(2%以下、2%を超えて5%未満、5%以上10%以下、10%を超えて30%以下)の4群に分けられた。オリジナルのIPSSでは5%未満が2%を境にして二つに分けられたことになる。

また、血球減少もヘモグロビン、好中球、血小板の値がオリジナルのIPSSと変更になった。ヘモグロビン値は10以上、8以上10未満、8未満の3群に、好中球数は800以上と未満の2群に、血小板は10万以上、5万以上10万未満、5万未満の3群にわけられ、それぞれに点数が与えられることになる。

また、患者年齢は全生存に対して有意な因子だが、白血病化には関連しない。それをスコアとしてどのように取り扱うか検討されている。

現在これらの因子を元にして最終的なスコアリングの作製が行われている。

D. 考察

7000例を超える極めて多数のMDS症例データを用いてIPSS改訂版(Revised IPSS, IPSS-R)が作製されている。IPSS作成時の9倍以上の症例を用いた解析であり、より詳細な予後予測が可能となると期待される。その現れとして、染色体、骨髄芽球割合、血球数のカテゴリー数が以前より増える予想される。以前の単純なスコアと比して複雑にはなるが、最終版の確定とその後の臨床における評価が必要であろう。

今回、オリジナルIPSSと比べると染色体ならびに骨髄芽球割合が特に大きく変更になっている。骨

髄芽球割合は特に、施設でのばらつきが大きくなるとも考えられ、様々な点からの評価が行われる必要がある。
いずれにしても早い最終版の作製、発表が待たれる。

E. 結論

MDSの予後予測システムIPSS-R作成作業が進んでおり、これまでより詳細な予後予測が可能となる予定である。診療に役立つことが期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Tominaga-Sato S, Tsushima H, Ando K, Itonaga H, Imaizumi Y, Imanishi D, Iwanaga M, Taguchi J, Fukushima T, Yoshida S, Hata T, Moriuchi Y, Kuriyama K, Mano H, Tomonaga M, Miyazaki Y: Expression of myeloperoxidase and gene mutations in AML patients with normal karyotype: double CEBPA mutations are associated with high percentage of MPO positivity in leukemic blasts. *Int J Hematol.* 2011; 94 (81-89)
- Tsushima H, Iwanaga M, Miyazaki Y: Late effect of Atomic bomb radiation on myeloid disorders: leukemia and myelodysplastic syndromes. *Int J Hematol.* 2012; 95(232-238)
- 宮崎泰司, 飛内賢正, 鈴木憲史, 小澤敬也: 難治性血液疾患の現状と将来. *HUMAN SCIENCE* .2011; 22(4-13)
- 対馬秀樹, 宮崎泰司: 高リスクMDSに対するメチル化阻害薬の役割. *血液内科.* 2011; 63(190-194)
- 宮崎泰司: MDS/AMLに対するアザシチジンの臨床応用. *血液フロンティア.* 2011; 21(1307-1314)
- 谷本光音, 黒川峰夫, 直江知樹, 宮崎泰司: (座談会) 変貌を遂げつつある血液疾患の治療. *日本医師会雑誌.* 2011; 140(1401-1412)
- 宮崎泰司: 骨髄異形成症候群—診断と治療の新たな展開—. *日本内科学会雑誌.* 2011; 100(3346-3353)
- 糸永英弘, 宮崎泰司: 中等度～高リスク高齢MDS患者に対するdecitabineとbest supportive careの比較試験. *血液内科.* 2012; 64(37-42)
- 宮崎泰司: 骨髄異形成症候群. *臨床血液.* 2012; 53(51-58)
- 宮崎泰司: 骨髄異形成症候群に対する脱メチル化薬. *最新医学.* 2012; 67(308-313)
- 宮崎泰司: 骨髄異形成症候群. 症候群ハンドブック. 2011; (333)
- 宮崎泰司: 骨髄不全症候群. 症候群ハンドブック. 2011; (334)
- 宮崎泰司: MDSの疾患概念と病態. 骨髄異形成症候群(MDS)のマネジメント. 2011; (10-16)
- 宮崎泰司: §3 治療 1. 治療指針. 骨髄異

形成症候群(MDS)診療up-to-date. 2011; (90-101)

- 宮崎泰司: §1 総論 1. 造血器腫瘍の分類 A. WHO分類による骨髄系腫瘍の分類. *白血病・リンパ腫・骨髄腫—今日の診断と治療.* 2011; (2-6)
- 宮崎泰司: 10 血液疾患 骨髄異形成症候群. *今日の治療指針2012年版.* 2012; 54(576-577)
- 宮崎泰司: 3 骨髄異形成症候群に対する脱メチル化薬. *Annual Review 血液2012.* 2012; (65-70)

2. 学会発表

- T. Hata, H. Tsushima, M. Baba, M. Iwanaga and Y. Miyazaki: Prognostic Impact of Blood Transfusion in Japanese Myelodysplastic Syndromes Patients. *The 2nd JSH International Symposium 2011 in Nagasaki, 2011.4.23-24, Nagasaki, Japan*
- P. Greenberg, H. Tuechler, J. Schanz, F. Sole, J.M. Bennett, G. Garcia-Manero, A. Levis, L. Malcovati, M. Cazzola, G. Sanz, J. Cervak, C. Fonatsch, M. LeBeau, M. Slovak, O. Krieger, M. Luebert, S. Magalhaes, Y. Miyazaki, M. Pfeilstocker, M. Sekeres, J. Maciejewski, R. Stauder, S. Tauro, A. van de Loosdrecht, U. Germing, P. Fenaux, D. Haase: Revised International Prognostic Scoring System (IPSS-R), developed by the International Prognostic Working Group for Prognosis in MDS (IWG-PM). *11th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (MDS), 2011.5.18-21, Edinburgh, UK*
- M. Iwanaga, Y. Miyazaki, T. Hata, H. Tsushima, J. Taguchi, D. Imanishi, Y. Imaizumi, T. Fukushima, K. Tsukasaki, M. Tomonaga: Chromosomal complexity in primary myelodysplastic syndromes (MDS) in Nagasaki atomic bomb survivors. *11th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (MDS), 2011.5.18-21, Edinburgh, UK*
- A. Kuendgen, J.-H. Lee, A. Matsuda, T. Hata, Y. Miyazaki, K.-H. Lee, J.-H. Lee, N. Gattermann, R. Haas, U. Germing: A comparison of clinical characteristics and the role of prognostic markers in 1757 MDS patients from Japan, Korea, and Germany. *11th International Symposium on Myelodysplastic Syndromes (MDS), 2011.5.18-21, Edinburgh, UK*
- 宮崎泰司: 貧血と周辺疾患について. 島原市医師会: 長崎医学会例会. 2011. 7. 23, 島原市
- Yasushi Miyazaki: MDS among Atomic Bomb survivors. *The XXV Symposium of the International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Diseases, 2011.9.15-17, Tokyo, Japan*

G. 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」

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

研究分担者 高折 晃史（京都大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科学講座 教授）

研究要旨

本研究は、再生不良性貧血（再不貧）と骨髄異形成症候群(MDS)の臨床像と治療成績の把握を目的とした前方視的症例登録・追跡調査研究と、これらの疾患の診断一致率の向上を目指したセントラルレビューからなる。登録例数は、平成22年以前の110症例に加えて、平成23年に31例、平成24年には3月末までに27例の登録があり、総計168例のデータベースとなった。これらの登録症例のうち、骨髄芽球が5%未満の症例についてはセントラルレビューを行い、データベースの診断確度を担保すると同時に各参加施設への診断情報の還元を行っている。平成23年末には3回目の追跡調査を実施し、これまでに116例についての生存期間を含めた臨床情報が得られている。今年度は特に再不貧とMDSの境界領域、すなわちICUS（意義不明の特発性血球減少症）とされた症例や診断困難例について、臨床像、治療の実態、予後などに関する解析を行った。

A. 研究目的

本研究は、再生不良性貧血（再不貧）と骨髄異形成症候群（MDS）の臨床像と治療成績の把握、診断一致率の向上、ならびに標準的治療法の開発のための基礎資料の作成を目的としている。

B. 研究方法

本研究班参加施設において新規に診断された再不貧、MDS、ならびに診断困難な血球減少症を前方視的に登録し、1年ごとに追跡調査を行っている。登録例のうち骨髄の芽球割合が5%未満の症例については、骨髄ならびに末梢血塗抹標本と病理組織標本のセントラルレビューを行った。

（倫理面への配慮）

本研究の施行においては、疫学研究に関する倫理指針にもとづき、各参加施設での倫理審査委員会での承認を受け、患者登録に際しての文書による同意を取得している。患者情報は連結可能匿名化がなさ

れている。

C. 研究結果

＜症例登録＞患者登録数は、平成22年以前の110例に加えて、平成23年に31例、平成24年には3月末までに27例が登録され、総登録数は168例となった。施設診断別登録数は、再不貧38例、MDS113例、診断不能・その他16例であった。

＜セントラルレビュー＞本年度からは、登録症例数の増加に対応できるようにセントラル・レビュー担当施設を2施設から6施設（埼玉医科大学、川崎医科大学、長崎大学、東京大学医科学研究所、自治医科大学、京都大学）に拡大した。それぞれの症例について2施設の専門家が形態診断を行い、診断が一致しない症例については年に2回行われる合同顕鏡会にて最終診断を行った。平成24年3月末までに103例のセントラルレビューが終了し、その結果は各施設に随時報告されている。

<追跡調査>

平成 23 年末に、登録症例の追跡調査を行い、116 例についての追跡情報が得られている。施設診断による全生存期間は図 1 の通りである。

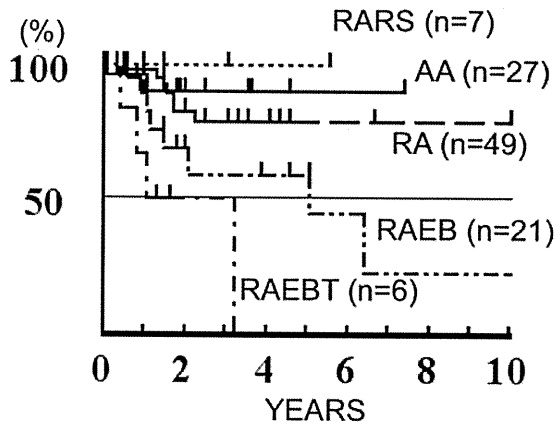


図 1 施設診断別の全生存率。カプランマイヤー法にて解析。AA: 再生不良性貧血。

施設診断で再不貧あるいは低リスク MDS とされてセントラルレビューが行われた症例のうち 5 例が ICUS (意義不明の特発性血球減少症)、7 例が再不貧と MDS との判別困難とされた。これら ICUS+ 診断困難症例 (ICUS+) の臨床的な特徴について、再不貧 (n=25) および芽球増加を伴わない MDS である RCMD (n=28) と比較した。ICUS+ の発症年齢中央値は 71 歳で、これは再不貧の 57 歳、RCMD の 62.5 歳と比べて高かった。ICUS+ と RCMD は男性優位であったのに対して、再不貧は女性に多かった。また、ICUS+ と RCMD は診断時の血球減少の程度が再不貧に比較して軽度であった。これらの特徴から、診断時の ICUS+ は再不貧よりも RCMD に近い臨床像を呈していることが示された。PNH 血球陽性例は、これら 3 つのいずれの分類でもみられた。染色体異常は RCMD では半数以上にみられたが、ICUS+ および再不貧では各 1 例にみられたのみであった。ICUS+ の 12 例中、11 例で平均 2.5 年間の追跡情報が得られた。ICUS+ に対する治療は、7 例で

は経過観察あるいは輸血のみ、3 例ではシクロスポリリン A または ATG による免疫抑制療法、1 例では輸血 + G-CSF 投与が行われていた。追跡期間中、2 例は免疫抑制療法で血球回復、2 例は自然回復、4 例は血球数が横ばい、3 例は血球減少が進行した。1 例では染色体異常が出現し、明らかな MDS へと移行した。中央診断による ICUS+、再不貧、RCUD、RCMD および RAEB-1 の全生存率を図 2 に示す。

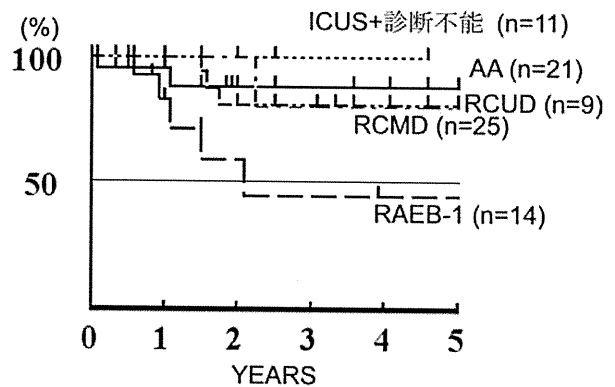


図 2 中央診断による、5 つの診断分類の全生存率の比較。カプランマイヤー法にて解析。RCMD と RCUD の生存曲線はほぼ一致した。ICUS+ 診断不能例では、追跡期間中に死亡例は無かった。

D. 考察

現在、本データベースには、引き継いだ旧再不貧の疫学研究を含めると 200 例を超える登録時データと、そのうち 120 例を超える追跡調査データが含まれており、様々な解析に用いることが可能な規模になってきた。本データベースを十分に活用して、その研究成果を広く一般に公開していくことが重要と考えられる。

セントラルレビューに関しては、データベースの診断確度の担保という意味合い以外に、診断情報の登録施設への還元という目的を果たしてきた。また、年に 2 回の合同検鏡会を開催しており、これも各施設の診断確度の向上に役立っている。

E. 結論

本研究によって、本邦における再不貧およびMDSの診断確度の高い有用なデータベースが構築されつつある。今後さらなる登録症例数の増加と追跡調査、およびデータの詳細な解析によって、実地臨床に有用な日本人における両疾患のエビデンスや指針を提供していくように研究を推進していきたい。

F. 研究発表

1. 論文発表

● Sato T, Ichinohe T, Kanda J, Yamashita K, Kondo T, Ishikawa T, Uchiyama T, Takaori-Kondo A.; Clinical significance of subcategory and severity of chronic graft-versus-host disease evaluated by National Institutes of Health consensus criteria. *Int J Hematol.* 2011 Apr;93(4):532-41.

2. 学会発表

● Uchiyama T, Kawabata H, Kanda J, Tomosugi N, Sakamoto S, Mizumoto C, Takaori-Kondo A. Serum levels of GDF15 in various hematological disorders. 第73回日本血液学会学術集会, 名古屋. 10月14-16日, 2011..

● Sakamoto S, Kawabata H, Kanda J, Uchiyama T, Mizumoto C, Kondo T, Yamashita K, Ichinohe T, Ishikawa T, Kadowaki N, Tomosugi N, Takaori-Kondo A. Impact of pre-transplant hepcidin-25 in patients undergoing allo-SCT for hematologic malignancies. 第73回日本血液学会学術集会, 名古屋. 10月14-16日, 2011.

● Ito T, Ichinohe T, Kondo T, Shindo K, Kitawaki T, Kobayashi M, Hishizawa M, Nishikori M, Yamashita K, Kawabata H, Kadowaki N, Ishikawa T, Takaori-Kondo A. A single-center retrospective study of extramedullary relapse

after allo-SCT for myeloid neoplasms. 第73回日本血液学会学術集会, 名古屋. 10月14-16日, 2011.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定も含む）

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

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

骨髄異形成症候群に対する同種造血幹細胞移植後の移植関連合併症の予測に関する研究

研究分担者：岡本 真一郎（慶應義塾大学医学部血液内科 教授）

研究要旨

骨髄異形成症候群（MDS）に対する同種造血幹細胞移植後の移植関連死亡リスクをより正確に予測するために、移植前臓器障害（co-morbidity）の総合的指標である HCT-CI スコアを用い、急性骨髄性白血病・MDS147 例を含む 244 例を prospective に 2 年間経過観察し、HCTCI スコアが移植後の生存率、非再発死亡率、再発率に及ぼす影響について検討を加えた。移植前 co-morbidity では、軽度から中等度の肺障害が最も多く、肝障害、感染症がこれに続いた。32%の症例ではスコア 0 であり、co-morbidity を認めた症例のスコアの中央値は 3 であった。急性骨髄性白血病、MDS147 例においては移植後 2 年の時点での非再発死亡率と移植前 HCT-CI スコアの間に相関は認められなかった。その理由としては、支持療法の進歩、移植医療の多様化（幹細胞ソース、前処置、適応疾患など）に加えて、各 co-morbidities の重み付け（scoring）の本邦における妥当性などが示唆された。

A. 研究目的

骨髄異形成症候群（MDS）および MDS より移行した急性骨髄性白血病においては、現時点においても同種造血幹細胞移植が唯一根治を期待できる治療法として盛んに施行されている。最近の移植前処置の進歩、支持療法の進歩、移植幹細胞ソースへの容易なアクセスは、その適応をより高齢者へと拡大している。しかし、高齢者は様々な co-morbidity を抱えることが多く、それが移植後の早期死亡や移植後後期合併症あるいは臓器障害につながる可能性が高い。従って MDS においては、これらの合併症の早期発見と management を行うこと以上に、移植前の病勢に加えて、移植前の臓器障害の程度と内容によって、移植によって生活の質を担保した治癒につながる適切な症例を選択し移植をすることが医療経済的視点からみても不可欠である。これまで、移植前の臓器障害が移植成績に及ぼす影響に関しては、後方視的にしか検討されておらず、一定の見解は得られていない。そ

こで今回は、移植前の臓器障害の程度が移植成績に及ぼす影響を前向き臨床試験として検証した中間解析結果を報告する。

B. 研究方法

2007 年 8 月から 2009 年 7 月までに、関東造血幹細胞移植共同研究グループ（KSGCT）に参加する 14 施設で同種造血幹細胞移植を施行されたすべての症例を、移植に関連する様々な情報（移植前処置、造血幹細胞ソース、GVHD 予防、移植対象疾患と病期など）とともに HCT-CI スコアとともに移植前に登録し 2 年間の経過観察を行った。研究の実施にあたっては各参加施設の承認を得た。

C. 研究結果

2 年間で 14 施設より 244 例の登録があった。内訳は急性骨髄性白血病 102 例、MDS45 例と骨髄性腫瘍が過半数を占めた。患者の平均年齢は 45.3 歳で、移植前処置は骨髄破壊的 167 例、RIST77 例であった。移植された造血幹細胞ソースは骨髄 156 例、