

は142.1ヵ月、147.8ヵ月であった。これら3病型の生存期間は有意差がなかった。

再発に免疫抑制療法の効果を初回寛解導入療法の奏効と比較すると、特発性および胸腺腫関連赤芽球癆において、再発時に治療の奏効率が低下することが判明した。

単変量解析により死亡リスク因子として寛解導入療法に対する奏効が抽出され ($p=0.002$)、病因には有意差を認めなかった。免疫抑制療法有効例における死亡リスクとして貧血の再燃が抽出された ($p<0.001$)。治療奏効および寛解後の再燃はいずれも時間依存性変数であるため Mantel-Byar 法による生存時間分析を行ったところ、寛解導入療法に対する奏効および寛解後の再発はいずれも生存時間に影響を与えていることが明らかにされた。

死亡は22例に観察され、死因は感染症7例、臓器不全7例、胸腺腫の進行1例、悪性腫瘍2例、糖尿病1例、脳血管障害1例、不明3例であった。

D. 考察

特発性、胸腺腫関連および大顆粒リンパ球性白血病関連赤芽球癆における死亡リスク因子は免疫抑制療法不応および免疫抑制療法奏効例における再発であることが明らかとなった。本研究の結果は、後天性慢性赤芽球癆の予後を改善するために、免疫抑制療法が奏効した後の寛解維持療法と感染症の管理が重要であることを示唆するものと考えられる。免疫抑制療法に伴う易感染性、輸血後鉄過剰症による臓器不全が死因に関連していることが推察されるが、適切なマネジメントによって予後が改善するかどうかを明らかにするためには前向き登録試験研究が必要である。

E. 結論

特発性、胸腺腫関連および大顆粒リンパ球性白血病関連赤芽球癆における免疫抑制療法不応および貧血の再燃は死亡リスクとなることが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

● Hirokawa M, Sawada K, Fujishima N, Teramura M, Bessho M, Dan K, Tsurumi H, Shinji Nakao, Akio Urabe, Shin Fujisawa, Yonemura Y, Kawano F, Oshimi K, Sugimoto K, Matsuda A, Karasawa M, Ayako Arai, Komatsu N, Harigae H, Omine M, Ozawa K, Kurokawa M: Long-term outcome of patients with acquired chronic pure red cell aplasia following immunosuppressive therapy: A final report of the nationwide cohort study in 2004/2006 by the Japan PRCA collaborative study group. *Brit J Haematol* (in press)

● 廣川誠、澤田賢一：赤芽球癆。新戦略による貧血治療（金倉 譲ほか）、中山書店、東京、pp. 249-256、2014

● 廣川誠：赤芽球癆の治療指針。EBM 血液疾患の治療 2015-2016（金倉 譲ほか）、中外医学社、東京、pp. 13-17、2014

● 廣川誠：赤芽球癆の診断と病態・治療の進歩。最新医学。2014；69（2111-2118）

2. 学会発表

● Noji H, Ohnishi Y, Kimura S, Takahashi S, Kimura H, Hamanaka S, Yamaguchi K, Murai K, Mita M, Suzuki I, Saitoh Y, Katuoka Y, Nara M, Fijishima

N, Kanbayashi H, Takada K, Yokoyama H, Saitoh S, Kameoka J, Tohyama Y, Nagamachi Y, Omoto E, Ogawa K, Shichishima A, Kato J, Ishida Y, Harigae H, Sawada K, Takeishi Y, Shichishima T: Relationship between thrombosis and coagulation markers in patients with PNH. 第 76 回日本血液学会学術集会 (教育講演)、2014 年 10 月 31 日-11 月 2 日、大阪

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（難治性疾患政策研究事業）

「特発性造血障害に関する調査研究」

分担研究報告書

本邦の原発性骨髄線維症の臨床像

研究分担者：赤司 浩一（九州大学病態修復内科学・教授）

研究要旨

本邦の原発性骨髄線維症 718 例の臨床情報を集積、解析した。生存期間の中央値は 3.9 年で、3 年生存率 59%である。国際的な予後スコアリングシステムである DIPSS-Plus (Dynamic International Prognostic Scoring System for PMF-Plus)は、本邦の症例においても、診断時および経過中の任意の時点において予後不良群の抽出が可能で、予後指標として有用であった。

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)

臨床調査は、患者名を匿名化して行っている。

C. 研究結果

273 施設より計 718 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 2.0:1 である。Hb 10g/dl 未満の貧血を 68%に、血小板数 10 万/ μ L 未満を 35%に、50 万/ μ L 以上を 12%に認めた。末梢血への芽球の出現は 57%に認めている。JAK2 変異の検索は 185 例に施行されており、変異が 52%に認め

られた。生存期間の中央値は 3.9 年であり、3 年生存率は 59.0%であった。死因は感染症、白血化の順に多く見られた。

国際予後スコアリングシステムを用いて 1999 年以降 2014 年までに前向きに経過観察している本邦の原発性骨髄線維症の予後を診断時のリスク因子を用いて分類した。DIPSS-Plus (Dynamic International Prognostic Scoring System for PMF-Plus)では、長期の生存期間が予想される低リスク群、中間-1 リスク群と、造血幹細胞移植の適応を考慮する中間-2 リスク群、高リスク群の層別化が可能であった。DIPSS-Plus は、診断時だけでなく、臨床経過中の任意の時点においても、中間-1 リスク群と中間-2 リスク群以上の高リスク群の分離が可能であった。

D. 考察

現時点で本邦において診断時の予後予測には、DIPSSplus の適応が最もよいと思われる。また、移行期を抽出する dynamic model も本邦の患者にもよく合致し、血小板 <5 万/ μ L、芽球 $\geq 10\%$ 、17 番染色体異常の 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であった。

E. 結論

本邦の原発性骨髄線維症 718 例の臨床情報を集積した。国際予後スコアリングシステムの DIPSS-Plus は、本邦の予後予測に有用である。また、血小板 <5 万/ μ L、芽球 $\geq 10\%$ 、17 番染色体異常の 3 項目は、造血幹細胞移植の適応を考慮する必要のある移行期の診断に有用である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Shimoda K, Takenaka K, Kitanaka A, Akashi K. Clinical aspects of primary myelofibrosis in Japan. *Rinsho Ketsueki* 55: 289-294, 2014
- Yuda J, Kato K, Kikushige Y, Ohkusu K, Kiyosuke M, Sakamoto K, Oku S, Miyake N, Kadowaki M, Iino T, Tanimoto K, Takenaka K, Iwasaki H, Miyamoto T, Shimono N, Teshima T, Akashi K. Successful treatment of invasive zygomycosis based on a prompt diagnosis using molecular methods in a patient with acute myelogenous leukemia. *Intern Med* 53: 1087-1091, 2014
- Takashima S, Miyamoto T, Kadowaki M, Ito Y, Aoki T, Takase K, Shima T, Yoshimoto G, Kato K, Muta T, Shiratsuchi M, Takenaka K, Iwasaki H, Teshima T, Kamimura T, Akashi K. Combination of bortezomib, thalidomide, and dexamethasone (VTD) as a consolidation therapy after autologous stem cell transplantation for symptomatic multiple myeloma in Japanese patients. *Int J Hematol* 100: 159-164, 2014
- Takashima S, Eto T, Shiratsuchi M, Hidaka M, Mori Y, Kato K, Kamezaki K, Oku S, Henzan H, Takase K, Matsushima T, Takenaka K, Iwasaki H, Miyamoto T, Akashi K, Teshima T. The use of oral beclomethasone dipropionate in the treatment of gastrointestinal graft-versus-host disease: the experience of the Fukuoka blood and marrow transplantation (BMT) group. *Intern Med* 53: 1315-1320, 2014
- Shima T, Miyamoto T, Kikushige Y, Yuda J, Tochigi T, Yoshimoto G, Kato K, Takenaka K, Iwasaki H, Mizuno S, Goto N, Akashi K. The ordered acquisition of Class II and Class I mutations directs formation of human t(8;21) acute myelogenous leukemia stem cell. *Exp Hematol* 42: 955-965, 2014
- Kato K, Ohno Y, Kamimura T, Kusumoto H, Tochigi T, Jinnouchi F, Kohno K, Kuriyama T, Henzan H, Takase K, Kawano I, Kadowaki M, Nawata R, Muta T, Eto T, Iwasaki H, Ohshima K, Miyamoto T, Akashi K. Long-term remission after high-dose chemotherapy followed by auto-SCT as consolidation for intravascular large B-cell lymphoma. *Bone Marrow Transplant* 45: 1543-1544, 2014
- Kato K, Choi I, Wake A, Uike N, Taniguchi S, Moriuchi Y, Miyazaki Y, Nakamae H, Oku E, Murata M, Eto T, Akashi K, Sakamaki H, Kato K, Suzuki R, Yamanaka T, Utsunomiya A. Treatment of Patients with Adult T Cell Leukemia/Lymphoma with Cord Blood Tr

ansplantation: A Japanese Nationwide Retrospective Survey. Biol Blood Marrow Transplant 20: 1968-1974, 2014

2. 学会発表

●赤司浩一：「Cancer Stem Cell」第87回日本内分泌学会学術総会（教育講演）2014年4月24日、福岡（福岡国際センター）

●赤司浩一：「造血器腫瘍幹細胞」第3回日本血液学会東海地方会（共催セミナー）2014年4月26日、名古屋（名古屋大学医学部附属病院）

●赤司浩一：「TIM-3, as a Target for Eradication of Cancer Stem Cells」The Uehara Memorial Foundation Symposium 2014年6月17日、東京（ハイアットリージェンシー東京）

●赤司浩一：「造血器腫瘍幹細胞」第101回近畿血液学地方会（特別講演）2014年6月28日、大阪（テイジンホール）

●赤司浩一：「白血病幹細胞研究のすゝめ」第76回日本血液学会学術集会（学会賞受賞講演）2014年11月2日、大阪（大阪国際会議場）

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」

国際予後スコアリングシステムを利用した国内骨髓異形成症候群の検討

研究分担者：宮崎 泰司（長崎大学原爆後障害医療研究所・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、骨髓異形成症候群(MDS)の予後予測と治療方針決定に広く用いられてきた。世界各国から収集された多数の症例データを元に改訂が行われ、改訂国際予後スコアリングシステム(Revised IPSS, IPSS-R)として発表された。IPSS-Rの国内MDS症例に対する有用性について検討した結果、IPSSより優れた予後予測が可能であると思われたが、欧米と本邦のMDSの病態には差がある可能性も挙がってきた。また、WT-1発現定量はMDSの診断補助に有用であると思われた。

A. 研究目的

骨髓異形成症候群(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、治療方針決定に必要な予後予測には病型分類のみでは不十分である。1997年に発表されたIPSSの改訂のために国際共同研究としてより多くの症例データが収集され、改訂IPSS(IPSS-R)が策定された。こうした予後予測スコアが本邦の症例にも適応可能であるかは、国内のMDS診療において極めて重要である。これまでの検討でIPSS-Rも国内症例に適応可能であることが示されつつあるが、一方でこうした多数例のデータを解析することで欧米と本邦のMDS病態に差がある可能性もあがってきている。これは、より適切な治療を考えるうえで重要な情報であり、IPSS-Rのために袖手されたデータをもちいて本邦のMDSの特徴を明らかにすべく、検討を行った。また、MDSの診断は境界領域症例では時に困難である。そのため、分子マーカーであるWT-1

の発現がMDS診断に有用であるかどうかについて当科の症例を対象として検証した。

B. 研究方法

IPSS-R作製のために収集された症例データを日本人(全体の約3%)とその他とに分け、日本人(アジア人)と欧米人(コーカシアン)の種々のデータを比較解析した。その中からセンター効果を超えて有意差を持つものがないか検討した。

WT-1の有用性に関する研究は、当科を受診した患者を対象に実施され、WT-1の値と診断との関連を検討した。

(倫理面への配慮)

国内症例のデータは長崎大学が取りまとめてIPSS-R作製に提供した。その内容は長崎大学データ、埼玉医科大学データ、特発性造血障害班データである。埼玉データと特発性造血障害班データは連結表の無い状態で長崎大学に提

供された。長崎大学データは連結可能匿名化された後連結表を除き、埼玉医科大学データ、特発性造血障害班データとともに IPSS-R 作製に提供した。この研究は長崎大学の倫理委員会にて審査を受け、承認されている。IPSS-R のデータ利用に当たっては IPSS-R データ利用委員会の許可を得た。解析のための原データは IPSS-R データ利用委員会が指定する統計解析担当者のみが取り扱う事が出来る。長崎大学は、IPSS-R の原データは一切保持していない。WT-1 の MDS 診断における有用性の検討は、長崎大学病院の倫理審査および承認を得た実施した。

C. 研究結果

IPSS-R で収集された様々な臨床データを欧米人、日本人において比較検討したところ、いくつかの因子において両群間に有意差が見られた。下記はその一部である。

(1) 年齢、(2) 染色体以上 del15q 頻度、(3) 染色体 del16q 頻度、(4) 血小板数、(5) 好中球実数、(6) IPSS および IPSS-R におけるリスク群、(7) 全生存期間など。

いずれも $P < 0.005$ で統計学的有意差を認めた。しかし、欧米人と日本人の差、欧米センター間でのデータの差、日本データベース間の差を比較するとそれぞれのパターンは異なっていた。低リスク MDS では一般に異形成は軽度であり、診断に苦慮する症例も少なくない。WT1 mRNA は、AML や MDS で高発現することが報告されている。MDS では病期の進展にしたがって WT1 mRNA の発現が高くなることが示されており、MDS の診断、経過観察に用いられている。しかし、WT1 mRNA が MDS と他の造血不全症との鑑別に有用であるかどうかについては、症例が少なく、十分な検討が行なわれていない。今回、MDS56 例とその他の造血

不全症 47 例において骨髄の WT1 mRNA 発現を後方視的に比較検討したところ、有意差を認めた。低リスク MDS や、低形成 MDS でも有意差を認めた。WT-1 mRNA は MDS の鑑別診断の一助となりうる可能性がある。

D. 考察

MDS 病態が民族間で差を持つかどうかは、本邦の MDS 症例に対して国際的な予後予測スコア IPSS, IPSS-R を適応することの有用性、治療選択における判断に大きく影響を与える。今回の予備検討で MDS の予後に大きなインパクトを持つとされる幾つかの因子で有意差があったことは、今後、より詳細な検討が必要なことを示している。

MDS 診断においては WT-1 発現量が鑑別に有用な可能性を示すことが出来た。より確実な MDS 診断法確立のために検討を続ける必要がある。

E. 結論

MDS 病態に民族間差がある可能性が示された。また、MDS 診断における WT-1 遺伝子発現定量の有用性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Baba M, Hata T, Tsushima H, Mori S, Sasaki D, Turuta K, Hasegawa H, Ando K, Sawayama Y, Imanishi D, Taguchi J, Yanagihara K, Tomonaga M, Kamihira S, Miyazaki Y: The level of bone marrow WT1 message is a useful marker to differentiate myelodysplastic syndromes with low blast percentage from cytopenia due to other reasons. *Int Med in press.*
- Hata T, Imanishi D, Miyazaki Y: Lessons from the Atomic Bomb About Secondary MDS. *Curr Hematol Malig*

Rep. 2014; 9 (407-411)

2. 学会発表

● Matsuo M, Iwanaga M, Ando K, Sawayama Y, Taguchi J, Imanishi D, Imaizumi Y, Hata T, Miyazaki Y: Clinical characteristics of myelodysplastic syndromes in Nagasaki atomic bomb survivors. 第76回日本血液学会学術集会 2014年10月31日-11月2日 大阪市

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（難治性疾患政策研究事業）

「特発性造血障害に関する調査研究」

分担研究報告書

再生不良性貧血、骨髄異形成症候群の前方視的症例登録・
セントラルレビュー・追跡調査に関する研究

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）

研究協力者：通山 薫（川崎医科大学 検査診断学 教授）

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

本研究は、再生不良性貧血（再不貧）と骨髄異形成症候群（myelodysplastic syndromes, 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。平成 26 年 12 月までの通算登録症例数は 315 例で、このうち骨髄芽球が 5 %未満の症例については末梢血標本および骨髄標本のセントラルレビューを行った。登録された症例について毎年追跡調査を実施し、2014 年末時点で 247 例の追跡情報が得られている。再不貧の診断時年齢中央値は 57.5 歳、男女比はほぼ半々で、約 3 分の 2 に免疫抑制療法が行われていた。MDS の発症年齢の中央値は 68 歳で、男女比は 1.8 対 1 であった。診断からの全生存曲線は、改訂国際予後スコア化システム（Revised International Prognostic Scoring System, IPSS-R）による 5 つのリスク群できれいに分れた。65 歳以下の高リスク MDS 患者では約 7 割で造血幹細胞移植が行われていた。66 歳以上の高リスク MDS 患者では 2 年を超える生存例は無かった。さらなる症例の集積と追跡調査の継続によってデータベースの充実を図り、これをさまざまな研究に活用し、成果を広く公開していくことが重要と考えられる。

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（myelodysplastic syndromes, MDS）の臨床像と治療成績の把握、診断一致率の向上、ならびに本邦における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。

症患者を前方視的に登録し、追跡調査を行った。骨髄の芽球比率が 5%未満の症例については、骨髄・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。登録時の臨床情報、セントラルレビューの結果、および、最大 10 年分の追跡情報は、ファイルメーカーを元に作成したデータベース内に一元的に管理した。

B. 研究方法

本研究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

（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基づき、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た。患者情報は連結可能匿名化を行った。

C. 研究結果

(1) 症例登録とセントラルレビュー

2014年には34例の登録があり、累計で315例の登録数となった。このうち2015年1月までに294例の中央診断が行われた。内訳は、再不貧が62例、MDS 191例、急性骨髄性白血病 10例、意義不明の特発性血球減少症 (idiopathic cytopenias of undetermined significance, ICUS) 9例などとなっている。中央診断においても診断不能または診断保留となったものが17例あり、このうち7例は標本不良とされた。

再不貧の診断時年齢中央値は57.5歳、男女比は1対1.07とほぼ半々で、診断時の病期は軽症が11例、中等症17例、やや重症12例、重症17例、最重症5例であった。発作性夜間血色素尿症 (Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH) 型血球は、調べられている34例中21例(62%)で検出された。染色体異常は10例に認められ、このうちクローン性の定義を満たすものは、-Yが3例、-Xが1例、del(20q)が1例、add(1p)とadd(13q)の2つの異常も有する症例が1例であった。

FAB分類でMDSに該当する症例は198例あり、これらの発症年齢の中央値は68歳で、男女比は1.8対1と男性に多かった。これらのWHO分類での病型の内訳は、RCUD 36例、RCMD 79例、RAEB-1が23例、RAEB-2が17例、MDS-Uが11例、CMMLが8例などであった。このうち抗がん剤または放射線治療歴が29例(15%)でみられた(治療関連MDS)。PNH型血球は、調べられている35例中11例(31%)に検出された。染色体異常は、調べら

れている195例中105例(54%)で認められた(表)。3個以上の異常を伴う複雑核型は、特発性のMDSの16%にみられたのに対し、治療関連MDSでは30%と高頻度であった。4個以上の異常を伴う高度複雑核型では、そのほとんどで極めて予後不良とされるモノソーマル核型を認めた。

表 MDSで高頻度に認められた染色体異常

染色体異常	例数	頻度
+8	25	12.8%
del(20q)	18*	9.2%
del(5q)	14	7.2%
-Y	11	5.6%
-7	11	5.6%
der(1;7)	9	4.6%
-18	8	4.1%
+1	8	4.1%
del(7q)	8*	4.1%

* クローン性の定義を満たさない1症例ずつを含む。

(2) 追跡調査研究

診断から1年以上を経過して登録された症例は、前方視的研究の趣旨に鑑みて、追跡調査から除外した。また、診断から4週未満で転医などのために追跡終了となった症例も、追跡調査の対象から除外した。これらを除くと、2014年末時点で247例についての追跡情報が得られている。

再不貧では、追跡情報の得られた47例のうち、30例(64%)で免疫抑制療法、3例で同種造血幹細胞移植が行われていた。生存者の追跡期間中央値が2年で、2年生存率は90%以上と良好であった(図1)。

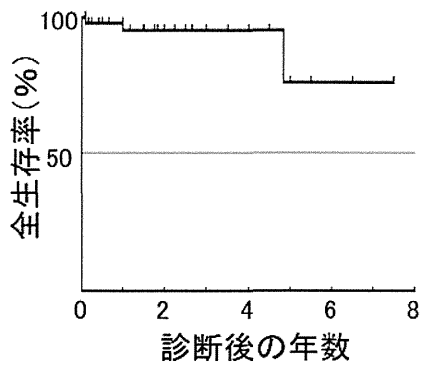


図1 再不貧の診断後の生存期間(カプランマイヤー法)。

MDS では、追跡調査適格は 160 例で、生存者の追跡期間中央値は 2 年であった。改訂国際予後スコア化システム (Revised International Prognostic Scoring System, IPSS-R) による MDS の予後解析では、5 つのリスク群で生存曲線がきれいに分離された (図 2)。生存期間中央値は、Intermediate 群で 49 ヶ月、High 群で 19 ヶ月、Very high 群で 11 ヶ月であった。

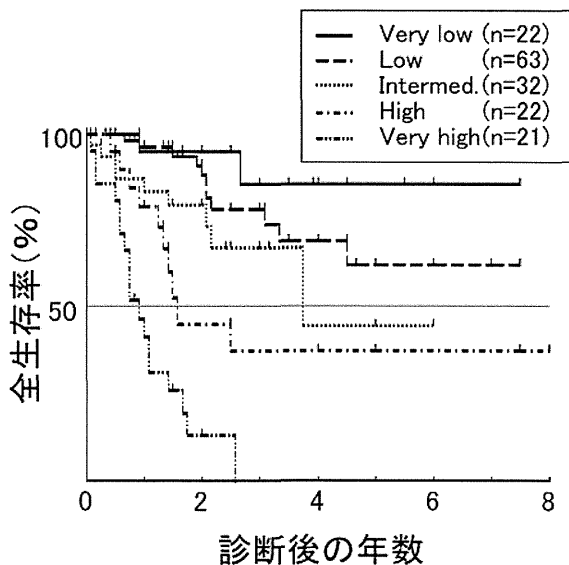


図2 MDS および AML/MRC 症例の IPSS-R 別の全生存率 (カプランマイヤー法)。

IPSS-R で High および Very high に該当する高リスク MDS の治療に関する解析を行っ

た。4 週間以上の追跡情報のある高リスク MDS の 43 例のうち、診断から 6 ヶ月以内に 11 例でアザシチジン、6 例で造血幹細胞移植、4 例で通常量の抗がん剤治療が行われていた。65 歳以下の高リスク MDS の 26 症例中、最終的には 18 症例 (69 %) で造血幹細胞移植が行われていた。診断から移植までの期間の中央値は 229 日で、移植後の死亡の多くは 1 年以内に見られた (図 3)。66 歳以上の高リスク MDS では、生存期間中央値が 9 ヶ月で、2 年以上の生存者は見られなかった。

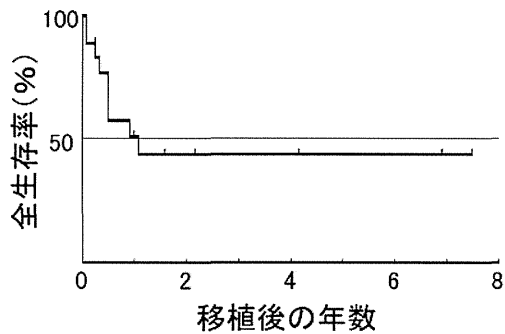


図3 同種造血幹細胞移植を受けた高リスク MDS 患者 18 例の移植後の全生存率 (カプランマイヤー法)。

D. 考察

再不貧は、主として免疫学的な異常により造血幹細胞の絶対数が減少する造血不全である。一方、MDS は、造血幹細胞に蓄積した遺伝子の異常とクローン性の増殖による造血不全である。さまざまな診断技術を駆使しても、しばしばこれらの鑑別が困難な症例が経験される。本研究では、セントラルレビューによる中央診断によって、両者の鑑別に関する知見の集積を行っている。また、年に 2 回の合同検鏡会の開催によって、全国の血液内科医に対する形態診断技術の啓蒙を行っている。

再不貧の診療は、免疫抑制療法や造血幹細胞移植の普及によって予後が改善し、病期や年齢

に応じて標準化されつつある。一方、MDS の診療は、WHO 分類の改訂、IPSS-R などの予後予測システムの開発、骨髄非破壊的前処置による造血幹細胞移植や免疫抑制療法、脱メチル化薬、レナリドミドなどの治療選択肢の増加によって、大きな変化を遂げつつある。こういった中で、本邦における再不貧や MDS の診療実態を明らかにすることは、わが国における診療指針の作成上、極めて重要である。

今回の解析では、AA および MDS 患者の初期治療の実態がある程度把握された。また、本邦における MDS 患者の予後が、IPSS-R による予後予測にかなり合致していることが示された。高リスク MDS では、造血幹細胞移植が唯一の長期生存をもたらさる治療法であるが、移植後 1 年以内の死亡例が多いことも示された。

現在、本データベースには、300 例を超える再不貧、MDS などの造血不全症患者の登録時データと、このうち 240 余例の追跡調査データが蓄積されている。登録施設が大規模病院に偏っており、日本全体の疫学的な特徴を必ずしも反映していない可能性があるが、セントラルレビューにより診断が担保されている点で貴重なデータベースである。一部の症例情報は 2012 年度まで継続的に集積されてきた MDS の骨髄検体や SNP アレイのデータとリンクされている。

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てきた。今後、さらなる症例登録と追跡調査によって本邦における両疾患の特徴を分析し、これに基づいた診療指針を作成し公開していくことが重要と考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

●Arai Y, Kondo T, Kitano T, Hishizawa M, Yamashita K, Kadowaki N, Yamamoto T, Yano I, Matsubara K, Takaori-Kondo A: Monitoring mycophenolate mofetil is necessary for the effective prophylaxis of acute GVHD after cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2015;50 (312-314)

●Arai Y, Yamashita K, Mizugishi K, Kondo T, Kitano T, Hishizawa M, Kadowaki N, Takaori-Kondo A: Risk factors for hypogammaglobulinemia after allo-SCT. *Bone Marrow Transplant* 2014;49 (859-861)

● Rhyasen GW, Wunderlich M, Tohyama K, Garcia-Manero G, Mulloy JC, Starczynowski DT: An MDS xenograft model utilizing a patient-derived cell line. *Leukemia* 2014; 24 (1142-1145)

● Hayashi K, Tasaka T, Hirose T, Furukawa S, Kohguchi K, Matsushashi Y, Wada H, Tohyama K, Sugihara T: Delayed false elevation of circulating tacrolimus concentrations after cord blood transplantation in a patient with myelodysplastic syndrome. *Intern. Med.* 2014; 53 (2635-2638)

● Okamura D, Matsuda A, Ishikawa M, Maeda T, Tanae K, Kohri M, Takahashi N, Kawai N, Asou N, Bessho M: Hematologic improvements in a myelodysplastic syndromes with myelofibrosis (mds-f) patient treated with azacitidine. *Leuk Res Rep* 2014;3 (24-27)

● 通山 薫: [特集 難治性貧血 - 診断と病態・治療の進歩 -] 骨髄異形成症候群の病態解

明と診断の進歩. 最新医学 2014; 69 (2125-2133)

- ● 松田晃:骨髄異形成症候群の治療の進歩. 最新医学 2014; 69 (2134-2141)
- ● 松田晃: MDSの形態異常と遺伝子異常. 病理と臨床 2015; 33 (145-149)
- ● 川端浩, 高折晃史. 治療可能な疾患となった骨髄異形成症候群の初期診療のすすめかた. Medical Practice. 2015;32 (247-252)
- ● 川端浩, 高折晃史.骨髄異形成症候群の診断と臨床的予後予測 2014年Update. 血液フロンティア. 2014;24 (1463-1471)

2. 学会発表

- Sugino N, Kawahara M, Suzuki T Nagai Y, Shimazu Y, Fujii S, Yamamoto R, Hishizawa M, Takaori-Kondo A. The pharmacological inhibition of KDM1A displays preclinical efficacy in AML and MDS by inducing myelomonocytic differentiation. The American Society of Hematology 56th Annual Meeting, 2014.12.5-8, San Francisco, CA, USA
- Arai Y, Yamashita K, Mizugishi K, Takaori-Kondo A. Presepsin (soluble CD14 subtype) is secreted from human monocytes after phagocytosis – in vitro analyses and a retrospective cohort study in patients with allogeneic stem cell transplantation. The American Society of Hematology 56th Annual Meeting, 2014.12.5-8, San Francisco, CA, USA
- Takeda J, Kawabata H, Aoki K, Shiga S, Kawahara M, Kitawaki T, Hishizawa M, Kondo T, Kitano T, Yonetani N, Tabata S, Hiramoto N, Matsushita A, Hashimoto H, Ishikawa T, Kadowaki N, Takaori A.

Clinical impact of complex karyotype, monosomal karyotype and acquisition of chromosomal abnormalities in patients with myelodysplastic syndromes. The American Society of Hematology 56th Annual Meeting, 2014.12.5-8, San Francisco, CA, USA

- Okamura D, Matsuda A, Ishikawa M, Maeda T, Kohri M, Takahashi N, Kawai N, Miitsu N, Asou N: Long-term treatment with azacitidine induced a complete remission and improved myelofibrosis in an MDS with myelofibrosis (MDS-F) patient. ; The 5th JSH International Symposium 2014, 2014年5月24日～26日, 浜松.

- 通山 薫. 教育セミナー・MDS の診断と治療. 日本血液学会中四国地方会. 2014.2.28, 徳島市
- 通山 薫. 教育講演・形態異常からわかる病態. 第76回日本血液学会学術集会. 2014.10.31, 大阪市

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。

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）

「特発性造血障害に関する調査研究」

分担研究報告書

骨髓異形成症候群(MDS)に対する造血幹細胞の 現状把握と移植の最適化に関する検討

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

造血幹細胞供給事業の効率化が図られているが、その実態は明らかにされていない。そこで、今後の供給システムの更なる改善の指標とするために現状の把握を行った。加えて MDS を対象として移植施行を決定してからの前方視的調査と cross sectional survey により、高齢化社会における MDS に対する移植の実態と至適なドナー数や移植適応症例の選択法を明らかにすることを計画した。移植適応症例の選択に関しては、最近報告された HCT-CI-age スコアの validation を行った。

A. 研究目的

様々な分子標的療法が開発・臨床応用され、多くの造血器腫瘍の治療成績は着実に向上している一方で、high-risk 骨髓異形成症候群では、同種造血幹細胞移植が最も有効かつ唯一の治療として盛んに施行されている。しかし、ここ 10 年間、その移植成績、特に高齢者における移植成績に有意な改善は認められていない。

高齢者 MDS に対する移植においては、血縁同胞も高齢となり、骨髓バンクや臍帯血バンクの造血幹細胞ドナーや保存臍帯血ユニットに依存することが多い。最近の法制化によって造血幹細胞供給事業の効率化が図られているが、その実態は明らかにされていない。患者、ドナーの高齢化が進行する中で、移植に必要な様々なリソースの最適化を図る必要がある。

本研究では、現状での進行期 MDS の診断から移植までに至る clinical practice における実態を調査とともに、至適な移植適応症例の選択

法について検討を加え、その移植成績向上に必要な因子を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

まず、最近の同種造血幹細胞移植の動向について、日本骨髓バンクおよび日本造血細胞移植データセンターの資料を用いて現状の移植の動向を検討した。

MDS に対する移植達成率の評価に関しては、前方視的コホート研究を関東造血細胞移植検討会との共同研究として進めるとともに、cross-sectional な実態調査を準備した。前者は、MDS と診断され、同種造血幹細胞移植の施行を決断した 20 歳以上の患者を対象とする。試験登録後、下記に記載する項目に関する情報を前向きに収集する。移植後の情報は主に日本造血細胞移植学会(JSHCT)の移植登録一元管理プログラム (TRUMP) データを利用する。試験登録から 1 年以上移植非実施症例(移植前死亡、

もしくは登録から 1 年以上移植実施できない場合) に関しては、移植非実施のまま 1 年が経過した時点で試験登録からそれまでの経過に関しての CRF を収集する。移植決断のタイミング、移植までの治療戦略、移植方法に関しては規定しない。移植実施症例では移植から 1 年を追跡期間とし、移植非実施症例では登録から 1 年を追跡期間とする。収集する情報は(1) 移植決定時の MDS subtypes と選択理由 (planned, ad hoc, deferred)
(2) 移植までの治療内容 (化学療法、AZA の使用の有無)、治療選択理由 (3) 移植決定時と施行時の HCT-CI で評価した臓器障害スコアの変化
(4) 移植施行時の MDS subtypes とその他の臨床像 (5) 移植を施行しなかった場合の理由 (6) 移植前治療による MDS の down staging 率、継時的に見た移植前 MDS subtypes および臓器障害 scores の変化と移植後生存率の相関を検討する。具体的な研究計画を図 1, 2 に示した。

移植を検討する高齢者 MDS の選択基準に関しては、2014 年にこれまでの HCT-CI スコアに年齢を加えた新たなスコアリングシステムが提唱された。今回は、HCT-CI スコアの validation に使用したデータセットを用いて、新規のスコアリングの妥当性についても検証を行った。

C. 研究結果

高齢者に対する同種造血幹細胞移植の件数は着実に増加していた。高齢者と定義される 65 歳以上の移植件数も 2004 年の 3.2% から 2013 年の 8.8% と着実に増加しており、この内の約 70% が MDS に対する移植であった(図 3)。一方で、日本骨髄バンクのドナー登録件数は着実に増加している一方で、移植達成率

は 2010 年頃よりほとんど増加していない。この傾向は骨髄バンクドナーだけでなく臍帯血移植においても認められている(図 4)。また、日本骨髄バンクの資料では、移植患者だけではなく、ドナー年齢の高齢化も着実に進行していることが示されており、2004 年にはドナー年齢の中央値が 30 歳であったのが、2013 年には 41 歳となっていることが確認された。

MDS に対する移植達成率の評価に関しては、前方視的コホート研究を関東造血細胞移植検討会との共同研究が進行しており、cross-sectional な実態調査に関しては調査を開始する予定である。

2014 年に Sorror らは、これまでの HCT-CI スコアに年齢を加味した新たなスコアを提唱し、従来のスコアと比較してより正確に移植患者の移植後の非再発死亡率や生存率を予測できることを示した。我々は既に HCT-CI スコアに関して、我が国における co-morbidity の頻度や内容に配慮した adjustment が必要であるとともに、年齢や PS もスコアと同時に有意な因子となることを示した。そこで、我々が用いた前向きコホートを用いて、今回提案されたスコアの validation を行った。今回検討に用いた cohort の背景を表 3 に示した。結果を図 3 に示すが、全生存率はスコア 5 以上とそれ以外の 2 群に分けられるが、スコア 5 未満での層別化は出来ず、多変量解析においてはスコア 5 以上のみが有意な因子として同定された。一方で、非再発死亡率に関してはこのスコアの有用性は明らかではなく、全生存率と非再発死亡率の両者において P S と移植細胞ソースが有意な因子として同定された。

D. 考察

高齢者の移植が着実に増加している一方で、骨髄バンクドナーや臍帯血を用いた移植達成

率は2010年からほぼ一定の割合にとどまっている。これに関しては、早急な移植を必要とする状況で移植施行までに一定の時間を要する骨髄バンクドナーではなく、血縁者(ハプロ移植)や臍帯血などの alternative donors が用いられる頻度が増加していることが示唆される。臍帯血に関しては、十分な細胞数のユニットが十分公開されていない可能性が残る。今回計画した臨床研究によってより詳細な実態が明らかになることが期待される。また、MDSの状態に応じた移植細胞ソースを明らかにしていくことも今後の重要な課題であると考えられる。また、TRUMP data を用いた、MDSの若年非血縁ドナーと高齢血縁ドナーを用いた同種移植の比較検討も今後の重要な検討課題と考えられた。

研究造血幹細胞ソースの多様化が進む中で、実際の移植まで(特に非血縁者間骨髄/末梢血幹細胞移植の場合)の期間短縮に関しては、既に「移植に関する造血幹細胞の適切な提供の推進に関する法律」の枠組みの中で進められている。この中ではデータセンターを充実されることに加えて、donor search/coordination の one point access が検討されている。このシステムを効率よく利用することにより、実際に移植のドナーサーチを開始した時点時から実際の移植までの期間に、どのようなことが起こっているのかを明らかにすることが可能となる。しかし、日本造血幹細胞移植学会のデータベースには診断から移植までの治療を含めた治療経過の詳細なデータはなく、この点に関しては、前向きの observational study を行うことによって、個々の MDS 症例での造血幹細胞ソースの緊急性を明らかにするとともに、幹細胞提供までの至適な治療法を明らかにする必要がある。前向き観察研究によって実態が明らかになるとともに、今後の効率化を図る基礎データを提

供することが期待される。

患者の移植時の年齢が高い MDS においては、患者年齢ではなく、移植患者の co-morbidity から移植後の非再発死亡率などを予測し、至適な移植適応患者の選定をすることが検討されてきた。代表的なスコアシステムが HCT-CI スコアである。しかし、我々の日本人移植患者を用いた前向き検討では、必ずしも米国の患者を用いて設定されたスコアが当てはまらないことを確認すると同時に、年齢および患者の PS はスコアとは独立した因子として同定された。今回検討した患者年齢をスコアに組み入れた HCT-CI-Age スコアに関して、以前の解析に使用した。その結果、年齢を加味した今回の新規スコアも日本人移植患者の非再発死亡率や生存率の予測には有用でないことが確認された。我々の解析結果からは、年齢、スコア、移植細胞ソース、移植時の病勢などの多岐に渡る因子を総合的に判断する指標が必要であることが示唆された。加えて、higher scores であっても長期生存する population の characteristics の検討が必要と考えられた。

E. 結論

法律施行後の造血幹細胞供給システムの実態を明らかにするとともに、移植達成率向上と及び造血幹細胞供給の効率化に必要な要因を明らかにすることを目的として、MDS を対象として、同種造血幹細胞移植決定から実際の施行までの過程が移植に及ぼす影響を明らかにする2つの前向き観察研究を計画した。

F. 研究発表

1. 論文発表

Nakaya A, Mori T, Tanaka M, Tomita N, Nakaseko C, Yano S, Fujisawa S, Sakamaki H, Aotsuka N, Yokota A, Kanda Y, Sakura T, Nanya Y, Saitoh T, Kanamori H, Takahashi

S, Okamoto S.Does the hematopoietic cell transplantation specific comorbidity index (HCT-CI) predict transplantation outcomes? A prospective multicenter validation study of the Kanto Study Group for Cell Therapy.Biol Blood Marrow Transplant. 2014 Oct;20(10):1553-9.

2. 学会発表
該当なし

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（難治性疾患政策研究事業）
「特発性造血障害に関する調査研究」
分担研究報告書

先天性造血不全症候群の研究

研究分担者：中畑 龍俊（京都大学 iPS 細胞研究所）

研究要旨

小児の骨髄不全として先天性あるいは家族性疾患が一定の割合を占める、中でも遺伝性骨髄不全症候群は重要なカテゴリーと考えられる。小児血液・がん学会が 2009 年から行ってきた小児 MDS・再生不良性貧血の中央診断に登録された 1000 例のうち、遺伝子検査、染色体断裂試験、テロメア長測定、臨床所見などから遺伝性骨髄不全症候群と診断された小児例について検討を行った。先天性造血不全症候群として Fanconi 貧血 (FA) : 21 例、Shwachman 症候群 (SDS) : 12 例、Dyskeratosis congenita (DC) : 8 例、Diamond-Blackfan 貧血 (DBA) : 28 例、先天性重症好中球減少症 (SCN) : 7 例、先天性血小板減少症（巨大血小板性血小板減少症、先天性無巨核球性血小板減少症など、診断困難例含む）: 21 例、その他先天性造血不全症候群疑い: 17 例が集計された。今回の結果より、いまだに診断困難な症例も数多く存在することから、今後、網羅的な診断システムを確立し、予後追跡を行って検証する必要があると思われる。

A. 研究目的

小児の MDS は、頻度は低く診断は難しく予後は不良な症候群である。2009 年に開始された小児血液・がん学会の再生不良性貧血・MDS 委員会による中央診断を用いた前方視的登録により、1000 例を超える小児例が把握された。小児の MDS の大きな特徴として、先天性疾患あるいは家族性疾患が多いことがあげられるが、新たなカテゴリーに属する疾患も明らかになってきた。本研究では病因・診断・治療・予後等に関する調査研究を推進する。その結果を各疾患の診断基準・重症度分類に反映させ、診療ガイドとして公表し、全国の医療機関で使用可能とすることにより、我が国全体の診療の標準化と診療レベルの向上が期待される。

B. 研究方法

小児血液・がん学会が 2009 年から行ってきた小児 MDS・再生不良性貧血の中央診断に登録された 1000 例のうち、遺伝子検査、染色体断裂試験、テロメア長測定、臨床所見などから遺伝性骨髄不全症候群と診断された小児例について検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究で行われる臨床試験は、

- ① ヘルシンキ宣言に則り、患者の利益を最優先に考えて実施する。
- ② 調査フィールドとなる各施設における倫理委員会で承認を得て実施する。
- ③ 患者および家族に対して面談・介入開始時に統一した説明文を用いて文書による同

意を得る。同意説明文では、調査を行う目的、介入・面談の内容、協力者に起こりうる利益・不利益について、未成年者の場合には年齢に応じた説明をする。

- ④ 協力によって得られたデータは、個人情報保護を厳重に行い、研究目的以外には利用しないことを文書による同意を得て実施する。

C. 研究結果

日本小児血液・がん学会の協力の下、1000例の中央診断がなされ、その中で先天性造血不全症候群として Fanconi 貧血 (FA) : 21 例、Shwachman 症候群 (SDS) : 12 例、Dyskeratosis congenita (DC) : 8 例、Diamond-Blackfan 貧血 (DBA) : 28 例、先天性重症好中球減少症 (SCN) : 7 例、先天性血小板減少症 (巨大血小板性血小板減少症、先天性無巨核球性血小板減少症など、診断困難例含む) : 21 例、その他先天性造血不全症候群疑い : 17 例が集計された。

D. 考察

再生不良性貧血/MDS と診断された成人例における 2-4%が潜在性 DC であると報告されている (H Yamaguchi. Blood 2003 & NEJM 2005)。一方、小児の再生不良性貧血/低形成 MDS でも約 2%でテロメラーゼ複合体関連遺伝子の変異が報告されている (CA Ortmann. Haematologica 2006, J Liang, Haematologica, 2006)。小児に特有な MDS である RCC と診断された 117 例中 17 例で染色体断裂試験が陽性で、そのうち 9 例 (8%) では FA を疑わせる所見や家族歴がなかった (A Yoshimi. BJH 2012)。一方、RCC と診断された 120 例において SBDS 遺伝子を解析したが、潜在性 SDS は認められなかった (A Karow. Haematologica 2011)。

今回の結果より、いまだに診断困難な症例も数多く存在することから、今後、網羅的な診断システムを確立し、予後追跡を行って検証する必要があると思われる。

E. 結論

前方視的中央診断により、5 年間に 97 例が遺伝性骨髓不全症候群症例と診断された。DBA、DC、FA、SCN、SDS の 5 病型各々の特徴が明らかになったが、いまだに診断困難な症例も数多く存在し、今後、網羅的な診断システムを確立することが望まれる。

研究協力者

真部淳 (聖路加国際病院小児科)、小島勢二 (名古屋大学小児科)、矢部普正 (東海大学小児科)、小原明 (東邦大学小児科)

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Daifu T., Kato I., Kozuki K., Umeda K., Hiramatsu H., Watanabe K., Kamiya I., Taki T., Nakahata T., Heike T., Adachi S.: The clinical utility of genetic testing for t(8;16)(p11;p13) in congenital acute myeloid leukemia. *J Pediatr Hematol Oncol.* 36(5):e325-7. 2014 Jul doi: 10.1097/MPH.0000000000000099.
- 2) Honda Y., Tsuchida M., Zaike Y., Masunaga A., Yoshimi A., Kojima S., Ito M., Kikuchi A., Nakahata T., Manabe A.: Clinical characteristics of 15 children with juvenile myelomonocytic 1 leukemia who developed blast crisis: MDS Committee of Japanese Society of Pediatric Hematology/Oncology (JSPHO). *Br J Haematol.* 165(5):682-7. 2014 Jun, doi: 10.1111/bjh.12796. Epub 2014 Mar 4.
- 3) Hasegawa D, Chen X, Hirabayashi S, Ishida Y,

- Watanabe S, Zaike Y, Tsuchida M, Masunaga A, Yoshimi A, Hama A, Kojima S, Ito M, Nakahata T, Manabe A. Clinical characteristics and treatment outcome in 65 cases with refractory cytopenia of childhood defined according to the WHO 2008 classification. *Br J Haematol.* 166(5):758-66. 2014 Sep . doi: 10.1111/bjh.12955.
- 4) Ochi K., Takayama N., Hirose S., Nakahata T., Nakauchi H., Eto K.: Multicolor staining of globin subtypes reveals impaired globin switching during erythropoiesis in human pluripotent stem cells. *Stem Cells Transl Med.* 3(7):792-800. 2014 Jul, doi: 10.5966/sctm.2013-0216. Epub 2014 May 29.
- 5) Sakashita K., Kato I., Daifu T., Saida S., Hiramatsu H., Nishinaka Y., Ebihara Y., Feng M., Matsuda K., Saito S., Hirabayashi K., Kurata T., Le U., Nakazawa Y., Tsuji K., Heike T., Nakahata T., Koike K.: In vitro expansion of CD34+CD38- cells under stimulation with hematopoietic growth factors on AGM-S3 cells in juvenile myelomonocytic leukemia. *Leukemia* 08/2014; DOI: 10.1038/leu.2014.239
- 6) Sakaguchi H, Nishio N, Hama A, Kawashima N, Wang X, Narita A, Doisaki S, Xu Y, Muramatsu H, Yoshida N, Takahashi Y, Kudo K, Moritake H, Nakamura K, Kobayashi R, Ito E, Yabe H, Ohga S, Ohara A, Kojima S: Peripheral blood lymphocyte telomere length as a predictor of response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anemia. *Haematologica* 99:1312-6. 2014 Aug, doi: 10.3324/haematol.2013.091165.
- 7) Fukuta M, Nakai Y, Kirino K, Nakagawa M, Sekiguchi K, Nagata S, Matsumoto Y, Yamamoto T, Umeda K, Heike T, Okumura N, Koizumi N, Sato T, Nakahata T, Saito M, Otsuka T, Kinoshita S, Ueno M, Ikeya M, Toguchida J.: Derivation of Mesenchymal Stromal Cells from Pluripotent Stem Cells through a Neural Crest Lineage using Small Molecule Compounds with Defined Media. *PLoS One.* 2014 Dec 2;9(12):e112291. doi: 10.1371/journal.pone.0112291.
- 8) Moriwaki K., Manabe A., Taketani T., Kikuchi A., Nakahata T., Hayashi Y.: Cytogetics and clinical features of pediatric myelodysplastic syndrome in Japan. *Int. J. Hematol.* 100:478-484,2014.
- 9) Nemoto A., Saida S., Kato I., Kikuchi J., Furukawa Y., Maeda Y., Akahane K., *Honna-Oshiro H., Goi H., Kagami K., Kimura S., Sato Y., Okabe S., Niwa A., Watanabe K., Nakahata T., Heike T., Sugita K. and Inukai T.:* Specific anti-leukemic activity of PD0332991, a CDK4/6 inhibitor, against Philadelphia-chromosome positive lymphoid leukemia. *Cancer Res.* In press.
- 10) Suzuki N., Niwa A., Yabe M., Hira A., Okada C., Amano N., Watanabe A., Watanabe K., Heike T., Takata M., Nakahata T., Saito M.: Pluripotent cell models of Fanconi anemia identify the early pathological defect in human hemoangiogenic progenitors. *Stem Cells Translational Medicine* in press.
- 11) Yoshida M., Kitaoka S., Egawa N., Yamane M., Ikeda R., Tsukita K., Amano N., Watanabe A., Morimoto M., Takahashi J., Hosoi H., Nakahata T., Inoue H., Saito M.K.: Modeling the early phenotype at the neuromuscular junction of spinal muscular atrophy using