

再生不良性貧血診療の参照ガイド 2018年改訂

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班
主任研究者 荒井俊也

再生不良性貧血の診断基準と診療の参照ガイド 作成のためのワーキンググループ

中尾眞二（金沢大学）
小島勢二・濱 麻人（名古屋大学）
大橋春彦（トヨタ記念病院）
小原 明（東邦大学）
臼杵憲祐（NTT 関東病院）
猪口孝一（日本医科大学）
鈴木隆浩（北里大学）
小原 直（筑波大学）
小笠原洋治（慈恵医大）
太田晶子（埼玉医科大学）
島田直樹（国際医療福祉大学）
黒川峰夫（東京大学）

平成 22 年 7 月 26 日改定初版
平成 22 年 12 月 12 日改訂第 2 版
平成 22 年 12 月 27 日改訂第 3 版
平成 22 年 12 月 30 日改訂第 4 版
平成 23 年 1 月 8 日改定第 5 版
平成 23 年 1 月 15 日改定第 6 版
平成 26 年 1 月 22 日改訂
平成 27 年 2 月 22 日改訂
平成 29 年 3 月 28 日改訂
平成 30 年 5 月 13 日改訂

目 次

<p>1. 疾患の特徴・定義</p> <p>2. 診断基準</p> <p>3. 病型分類</p> <p>4. 重症度基準</p> <p>5. 疫 学</p> <p>6. 病因・病態発生</p> <p> 1) 先天性</p> <p> (1) Fanconi 貧血</p> <p> (2) Dyskeratosis congenita (DC)</p> <p> 2) 後天性</p> <p> (1) 特発性</p> <p> a. 幹細胞自身の異常</p> <p> b. 免疫学的機序による造血の抑制</p> <p> (2) 薬剤性再生不良性貧血</p> <p> (3) 肝炎後再生不良性貧血</p> <p> (4) PNH を伴うもの</p> <p>7. 症 候</p> <p> 1) 自覚症状</p> <p> 2) 他覚症状</p> <p>8. 検査所見</p> <p> 1) 末梢血</p> <p> 2) 骨髓穿刺および骨髓生検</p> <p> 3) 染色体分析</p> <p> 4) 血液生化学・血清検査所見</p> <p> 5) 胸腰椎の MRI</p> <p> 6) フローサイトメトリーによる GPI アンカ一膜蛋白陰性 (PNH タイプ) 血球の検出</p> <p>9. 鑑別診断</p> <p> 1) 低形成の RA</p> <p> 2) 骨髓不全型の PNH</p> <p> 3) 有毛細胞白血病</p> <p>10. 病 理</p> <p>11. 治 療</p> <p> 1) 支持療法</p> <p> (1) 輸血</p> <p> a. 赤血球輸血</p> <p> b. 血小板輸血</p> <p> c. 顆粒球輸血</p> <p> (2) 造血因子</p>	<p> (3) 鉄キレート療法</p> <p>2) 造血回復を目指した薬物療法</p> <p> (1) stage 1 および 2 (軽症と、輸血を必要としない中等症)</p> <p> (2) 重症度が stage 3 以上の再生不良性貧血 (旧分類の中等症のうち輸血を必要とする例と重症例)</p> <p> a. 40 歳未満で HLA 一致同胞のいない患者と 40 歳以上の患者</p> <p> a-1. CsA を併用することの重要性</p> <p> a-2. 併用するプレドニゾロンの投与量</p> <p> a-3. エルトロンボパグの併用</p> <p> a-4. G-CSF の併用</p> <p> a-5. 抗菌薬・抗真菌薬・抗ウイルス薬の投与</p> <p> b. 40 歳未満で HLA 一致同胞を有する患者</p> <p> b-1. 移植前処置</p> <p> b-2. 移植細胞ソース</p> <p> c. 初診時より好中球が 0 に近く、G-CSF 投与後も好中球が増えない劇症型</p> <p> d. 免疫抑制療法無効例に対する治療</p> <p> d-1. 二度目の ATG 療法</p> <p> d-2. 蛋白同化ステロイドの追加投与</p> <p> d-3. 非血縁ドナーからの骨髓移植</p> <p> d-4. その他の代替ドナーからの骨髓移植</p> <p> d-5. 免疫抑制療法が有効であったがその後再発した患者</p> <p>12. 予 後</p> <p> 1) ヘモクロマトーシス</p> <p> 2) 二次性のクローン性異常</p> <p>13. 今後に残された問題点と将来展望</p> <p> 1) 疫 学</p> <p> 2) 診 断</p> <p> 3) 治 療</p> <p>参考文献</p>
---	---

1. 疾患の特徴・定義

再生不良性貧血は、末梢血でのすべての血球の減少（汎血球減少）と骨髄の細胞密度の低下（低形成）を特徴とする一つの症候群である。実際にはこれらの検査所見を示す疾患は数多くあるため、その中から、概念がより明確な他の疾患を除外することによって初めて再生不良性貧血と診断することができる。病気の本態は「骨髄毒性を示す薬剤の影響がないにもかかわらず、造血幹細胞が持続的に減少した状態」ということができる。

2. 診断基準

わが国では平成 14（2002）年度に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班」によって改訂された診断基準が特定疾患の認定に用いられてきた。平成 23（2011）年 1 月同班によって提案された改訂診断基準案を表 1 に示す。

国際的にはヘモグロビン $<10\text{g/dl}$ 、好中球 $<1,500/\mu\text{l}$ 、血小板 $<5\text{万}/\mu\text{l}$ の 3 項目のうち二つ以上を満たし、骨髄が低形成の場合にのみ再生不良性貧血と診断されている¹。2 項目だけを満たす場合でも通常は血小板減少を含んでいる。欧米では、上記の診断基準を満たさず、骨髄に形態異常を認めない血球減少例は idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS) に分類される傾向がある²。血小板減少のために ICUS と診断される例のうち、骨髄巨核球が低下している例の多くは、再生不良性貧血と同じ免疫病態を持っている可能性がある³。また、当初は血小板減少だけを認め、その後再生不良性貧血に進展する例もある⁴。

表 1. 再生不良性貧血の診断基準（平成 28 年度改訂）

-
1. 臨床所見として、貧血、出血傾向、ときに発熱を認める。
 2. 以下の 3 項目のうち、少なくとも二つを満たす。
①ヘモグロビン濃度； 10.0g/dl 未満 ②好中球； $1,500/\mu\text{l}$ 未満 ③血小板； $10\text{万}/\mu\text{l}$ 未満
 3. 汎血球減少の原因となる他の疾患を認めない。汎血球減少をきたすことの多い他の疾患には、白血病、骨髄異形成症候群、骨髄線維症、発作性夜間ヘモグロビン尿症、巨赤芽球性貧血、癌の骨髄転移、悪性リンパ腫、多発性骨髄腫、脾機能亢進症（肝硬変、門脈圧亢進症など）、全身性エリテマトーデス、血球貪食症候群、感染症などが含まれる。
 4. 以下の検査所見が加われば診断の確実性が増す。
 - 1) 網赤血球や未成熟血小板割合の増加がない。
 - 2) 骨髄穿刺所見（クロット標本を含む）は、重症例では有核細胞の減少がある。非重症例では、穿刺部位によっては有核細胞の減少がないこともあるが、巨核球は減少している。細胞が残存している場合、赤芽球にはしばしば異形成があるが、顆粒球の異形成は顕著ではない。
 - 3) 骨髄生検所見で造血細胞割合の減少がある。
 - 4) 血清鉄値の上昇と不飽和鉄結合能の低下がある。
 - 5) 胸腰椎体の MRI で造血組織の減少と脂肪組織の増加を示す所見がある。
 - 6) 発作性夜間血色素尿症形質の血球が検出される。
 5. 診断に際しては、1.、2. によって再生不良性貧血を疑い、3. によって他の疾患を除外し、4. によって診断をさらに確実なものとする。再生不良性貧血の診断は基本的に他疾患の除外による。ただし、非重症例では骨髄細胞にしばしば形態異常がみられるため、芽球・環状鉄芽球の増加や染色体異常がない骨髄異形成症候群との鑑別は困難である。このため治療方針は病態に応じて決定する必要がある。免疫病態による（免疫抑制療法がききやすい）骨髄不全かどうかの判定に有用な可能性がある検査所見として、PNH 型血球・HLA クラス I アレル欠失血球の増加、血漿トロンボポエチン高値（ 320 ng/ml ）などがある。
-

3. 病型分類

成因によってまず先天性と後天性に分けられる(表 2)。先天性の再生不良性貧血のうちもっとも頻度が高いのが Fanconi 貧血である。Fanconi 貧血は常染色体劣性の遺伝性疾患で、骨髄低形成に加えて骨格系の奇形、低身長、性腺機能不全などの奇形を特徴とする。また、悪性腫瘍を合併しやすい。通常は 14 歳までに汎血球減少症を発症するが、中には 30 歳を過ぎて発症する例もある。また、ほとんど奇形を認めない例もあるため、小児および若年成人の再生不良性貧血では Fanconi 貧血を否定するために染色体脆弱性を必ず調べる必要がある⁵⁾。

後天性の再生不良性貧血には原因不明の特発性(一次性)と、様々な薬剤や放射線被爆・ベンゼンなどの化学物質による二次性がある。わが国では大部分が特発性とされている。再生不良性貧血との関連性がこれまでに報告されている薬剤、化学物質を表 3、表 4 に示す¹⁾。特殊なものとして肝炎に伴って発症する肝炎関連再生不良性貧血と発作性夜間ヘモグロビン尿症(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: PNH)に伴うもの(再生不良性貧血-PNH 症候群)が分類されているが、実際の病態は後述の免疫病態による再生不良性貧血と同じである。

特発性再生不良性貧血は、汎血球減少が急速に進行したと考えられる急性型と、再生不良性貧血と診断されるまでに汎血球減少がゆっくり進行したと考えられる慢性型に分けることができる。急性型は、好中球、血小板、網赤血球の減少が高度な割に貧血が軽度であり、骨髄はほぼ完全に脂肪髄化している。その結果、発熱や出血症状が目立ち重症度も高い。MCV は正常であることが多い。

一方、慢性型では進行が緩徐であるため貧血が高度であっても症状が乏しく、好中球数は比較的保たれている。白血球減少や貧血の程度に比べて血小板減少の程度が強く、MCV は通常高値を示す。骨髄には部分的に造血巣が残存しているが、その場合でも巨核球は例外なく減少している。全身倦怠・息切れなどの貧血症状で発症するか、無症状のまま検診で発見されることが多く、重症度もステージ 4 までの例が大部分を占める(未発表データ)。

4. 重症度基準

再生不良性貧血は重症度によって予後や治療方針が大きく異なるため、血球減少の程度によって重症度を判定する必要がある。平成 10 年度の改定後、わが国では最重症、重症、やや重症、中等症、軽症の 5 段階に重症度が分けられている(表 5)。国際的には Camitta らの分類⁶⁾が用いられている。好中球数が $200/\mu\text{l}$ 未満の例は重症感染症や出血のリスクが高いため最重症型(very severe form)と呼ばれている。最重症型の中には、顆粒球コロニー刺激因子(granulocyte colony-stimulating factor, G-CSF)に反応して好中球がある程度増える例と、G-CSF 投与にまったく反応せず、実質的には好中球が 0 の「劇症型」が存在する⁷⁾。

表 5 再生不良性貧血の重症度基準(平成 29 年度修正)

stage 1	軽 症	下記以外で輸血を必要としない。
---------	-----	-----------------

表 3. 再生不良性貧血の原因となりうる薬剤³⁾

抗生物質	クロラムフェニコール
	スルホンアミド
	ペニシリン
	テトラサイクリン
抗リウマチ薬	金製剤
	ペニシラミン
抗炎症薬	フェニルブタゾン
	インドメタシン
	ジクロフェナク
	ナプロキセン
	ピロキシカム
抗痙攣薬	フェニトイン
	カルバマゼピン
抗甲状腺薬	チオウラシル
抗うつ薬	フェノチアジン
経口糖尿病薬	クロルプロパミド
抗マラリア薬	クロロキン

表 4. 再生不良性貧血の原因となりうる化学物質³⁾

ベンゼン
有機塩素を含む殺虫剤
クロロフェノール(防腐剤)
裁断油
メチレンデオキシメタンフェタミン(覚醒剤)

表 2. 再生不良性貧血の病型分類

- I. 先天性
 - 1. Fanconi 貧血
 - 2. dyskeratosis congenita
 - 3. その他
- II. 後天性
 - 1. 一次性(特発性)
 - 2. 二次性
 - a. 薬剤
 - b. 化学物質
 - c. 放射線
 - d. 妊娠
 - 3. 特殊型
 - a. 肝炎関連再生不良性貧血
 - b. 再生不良性貧血-PNH 症候群

stage 2	中等症	以下の 2 項目以上を満たし、 a 赤血球輸血を必要としない。 b 赤血球輸血を必要とするが、その頻度は毎月 2 単位未満。 網赤血球 60,000/ μ l 未満 好中球 1,000/ μ l 未満 血小板 50,000/ μ l 未満
stage 3	やや重症	以下の 2 項目以上を満たし、毎月 2 単位以上の赤血球輸血を必要とする 網赤血球 60,000/ μ l 未満 好中球 1,000/ μ l 未満 血小板 50,000/ μ l 未満
stage 4	重症	以下の 2 項目以上を満たす 網赤血球 40,000/ μ l 未満 好中球 500/ μ l 未満 血小板 20,000/ μ l 未満
stage 5	最重症	好中球 200/ μ l 未満に加えて、以下の 1 項目以上を満たす 網赤血球 20,000/ μ l 未満 血小板 20,000/ μ l 未満

5. 疫学

わが国の患者数は 1993 年の全国疫学調査で約 5000 人と推定されている。同調査による人口 100 万人あたりの年間粗罹患率は 21 人であった⁸。ただし、これらの中には再生不良性貧血以外に骨髓異形成症候群 (myelodysplastic syndrome, MDS) や PNH などの類縁疾患が含まれていた可能性がある。わが国の医療受給者数 (有病数) は、2014 年で約 11,000 人、有病率 8.7 (/人口 10 万対) である。受給申請時に提出される臨床調査個人票による調査では、2004 年～2012 年の 9 年間の罹患数は約 9,500 (年間約 1,000 人)、罹患率は 8.2 (/100 万人年) と推計された⁹。罹患率の性比 (女/男) は 1.16 であり、男女とも 10～20 歳代と 70～80 歳代でピークが認められ、高齢のピークの方が大きかった。欧米諸国の罹患率は、1.5～2.5 (/100 万人年) と報告されており^{10,11}、上記わが国の罹患率は、これらに比べて高い。これまで、アジアにおける罹患率は 4～5 (/100 万人年) と報告されており¹²、欧米諸国に比べ 2～3 倍高いことが知られている。

6. 病因・病態発生

1) 先天性

(1) Fanconi 貧血

患者の血液細胞では、健常者の細胞に比べて diepoxybutane やマイトマイシン C のような DNA 架橋剤への曝露により著しい染色体断裂が起こる。このため Fanconi 貧血の病態は、DNA2 本鎖架橋に対する修復機構の障害と考えられている。Fanconi 貧血は遺伝的に多様な疾患であり、現在までに 19 の責任遺伝子が同定されている (Fanconi 貧血診療の参照ガイド)。FANCD2 が、DNA に障害が生じた際に、乳がん抑制遺伝子である BRCA1 と共局在することは¹³、FANCD2 蛋白が DNA 修復に関わっていることを示す有力な証拠と考えられる。Fanconi 貧血の造血幹細胞はこれらの遺伝子異常のためにアポトーシスに陥りやすい。

(2) Dyskeratosis congenita (DC)

皮膚の網状色素沈着、爪の萎縮、粘膜上皮の白板症を特徴とする。中央値で 7 歳までに白血球減少、貧血、血小板減少、再生不良性貧血などを発症する。中には 20 歳を過ぎてから発症する例もある。多くは伴性劣性遺伝を示すが、一部は常染色体優性に遺伝する。Fanconi 貧血と同様に DNA 修復に異常があると考えられている。常染色体優性遺伝例ではテロメラーゼ RNA 遺伝子に変異があり、そのためにテロメア長の短縮がみられる。特発性と考えられていた再生不良性貧血例の一部に、テロメラーゼ RNA 遺伝子の異常が認められる¹⁴。

2) 後天性

(1) 特発性

造血幹細胞が減少する機序として造血幹細胞自身の質的異常と、免疫学的機序による造血幹細胞の傷害の二つが重要と考えられている¹⁵。かつては骨髄支持細胞の異常も発症に関与していると考えられていた。しかし、同種造血幹細胞移植後の再生不良性貧血患者では支持組織がレシピエント由来であるにもかかわらず¹⁶、ほとんどの例でドナー由来の造血が回復する。このため、骨髄支持細胞の異常が再生不良性貧血の発症に関与している可能性は低い。

a. 造血幹細胞自身の異常

これは以下の所見から推測されている。

- ① 再生不良性貧血と診断された患者の中に、細胞形態に目立った異常がないにもかかわらず染色体異常が検出される例¹⁷や、のちにMDS・急性骨髄性白血病に移行する例¹⁸がある。
- ② Fanconi 貧血のように特定の遺伝子異常によって発症する再生不良性貧血が存在する。
- ③ 一部の再生不良性貧血患者の顆粒球にクローン性細胞集団（クロナリティ）¹⁹が認められる。また、439 症例の標的シーケンスにより、36%に相当する 156 症例で 249 の体細胞遺伝子変異が検出されている。中でも *BCOR*, *BCORL1*, *PIGA*, *DNMT3A*, *ASXL1* 変異が高頻度に認められる²⁰。
- ④ 特発性の再生不良性貧血と思われていた例の中にヒトテロメラーゼ RNA 遺伝子異常やテロメラーゼ逆転写酵素遺伝子などのテロメア制御遺伝子に変異が検出される¹⁴。

b. 免疫学的機序による造血の抑制

免疫担当細胞による造血幹細胞の傷害を示唆する臨床的所見には以下のようなものがある。

- ① 再生不良性貧血患者に対して一卵性双生児の健常ドナーから移植前処置無しに骨髄を移植した場合、約半数にしか造血の回復が得られない。一方、同種骨髄移植に準じた免疫抑制的な移植前処置後に再度骨髄を移植するとほとんどの例に回復がみられる。したがって、患者の体内には、正常造血幹細胞を傷害する免疫機構が存在すると考えられる²¹。
- ② 抗ヒト胸腺細胞免疫グロブリン anti-thymocyte globulin (ATG) やシクロスポリンなどの免疫抑制療法によって再生不良性貧血患者の約 7 割に寛解が得られる^{22, 23}。
- ③ シクロスポリンによって造血が回復した一部の患者は、シクロスポリンの減量によって再生不良性貧血が再燃し、増量によって再寛解に至る²⁴。

また、免疫学的機序を示唆する検査所見として以下の所見が挙げられる。

- ① 再生不良性貧血では HLA-DRB1*1501 の頻度が高く²⁵、またこの DRB1*1501 を持つ患者はシクロスポリンに反応して改善する確率が高い²⁶。

いくつかの臓器特異的自己免疫疾患では、特定の HLA クラス II 遺伝子が疾患の感受性を規定している。わが国の再生不良性貧血患者では、DRB1*1501 と DRB1*1502 の頻度が健常者対照群と比べて有意に高い²⁷。ただし、免疫抑制療法に対する高反応性と関連しているのは DRB1*1501 だけである。したがって、免疫病態による再生不良性貧血の発症には DRB1*1501 そのものか、あるいはこのアレルと連鎖不平衡にある別の遺伝子に関与していると考えられる。

- ② 再生不良性貧血患者の末梢血に、PNH に特徴的なグリコシルホスファチジルイノシトール(GPI)アンカー膜蛋白欠失血球（PNH 型血球）がしばしば検出される²⁸。

感度の高いフローサイトメトリーを用いて再生不良性貧血患者の末梢血顆粒球や赤血球を調べると、約 50%の患者で少数の PNH 血球が検出される²⁹。PNH 形質の赤血球や顆粒球は健常者においてもごく少数存在するが、これらは造血前駆細胞に由来する血球であるため短命であり、同じクローンが検出され続けることはない^{30, 31}。再生不良性貧血患者において PNH 型血球の増加がしばしばみられるのは、GPI アンカー型の膜蛋白を欠失している PNH 型造血幹細胞が正常幹細胞に比べて免疫学的な攻撃を受けにくく、また活性化されやすいためと考えられている³²。

- ③ 再生不良性貧血患者の骨髄では抗原特異的な T 細胞の増殖が顕著である。

T 細胞レセプター β 鎖の CDR3 サイズ分布解析を行うと、再生不良性貧血患者の骨髄ではいくつかの T 細胞ファミリーにおいて、抗原特異的な T 細胞の増殖を示す CDR3 サイズ分布パターンの偏りが検出され、免疫抑制療法が奏効すると偏りは解消する^{33, 34}。また、CDR3 サイズ分布の偏りが骨髄に認められる患者でも、末梢血の T 細胞では明らかな偏りは認められないことから、偏りの原因となっている T 細胞は骨髄中の何らかの抗原に反応して増殖していると考えられる。

- ④ 一部の再生不良性貧血患者の血清中に、造血幹細胞が高発現している蛋白に対する抗体が検出される。

再生不良性貧血患者の血清と造血幹細胞由来の cDNA ライブラリーを用いた serological

identification of antigens by expression cloning (SEREX) 法により、kinectin³⁵、diazepam-binding protein-related sequence (DRS)-1³⁶、モエシン³⁷、などに対する自己抗体が検出されている。ただし、これらの抗原に対する免疫反応が再生不良性貧血の発症に関与しているかどうかは明らかではない。

⑤ 再生不良性貧血患者の約 13%において、6 番短腕の uniparental disomy (6pUPD) によって特定の HLA クラス I アレルは欠失した白血球が検出される³⁸。

これは元々骨髄中に存在していた 6pUPD 陽性造血幹細胞が、自己抗原を提示できないために細胞傷害性 T 細胞 (cytotoxic T lymphocytes, CTL) の攻撃を免れて生き残り、造血を支持するようになったと考えられる。HLA-A アレルがヘテロ接合体の新規発症患者を抗 HLA-A アレル抗体を用いて検索すると、HLA-A アレル欠失血球は全体の 25%に検出される³⁹。

以上の所見から、ウイルス感染や環境毒への暴露などをきっかけとして、造血幹細胞が高発現している自己抗原に対する寛容が破綻し、その結果、造血幹細胞に対する CTL が誘導されるのではないかと考えられる。しかし、その CTL の標的となる自己抗原はまだ同定されていない。

(2) 薬剤性再生不良性貧血

表 3 にあげた薬剤のうち、再生不良性貧血との因果関係が明らかなものはクロラムフェニコールである。その他の薬剤についてはチャレンジテストによって因果関係が確認されているわけではないので、再生不良性貧血の誘因であるという確証はない。鎮痛薬、抗生薬、免疫抑制剤などによる再生不良性貧血では、その投薬のきっかけとなった感染症や自己免疫疾患が発症に関与した可能性もある。例えば、潰瘍性大腸炎に対するペントサ投与後に発症する再生不良性貧血が「ペントサによる再生不良性貧血」として報告されているが^{40,41}、このような例ではしばしば PNH タイプ血球が検出される(未発表データ)。したがって、このような例はペントサが原因というよりも、潰瘍性大腸炎に合併した免疫病態による再生不良性貧血であった可能性が高い。実際に、「薬剤性」の再生不良性貧血であっても、特発性の再生不良性貧血と同様に免疫抑制療法によって改善することがしばしば報告されている。したがって、ある再生不良性貧血が「薬剤性」であるかどうかの判断は慎重に行う必要がある。

(3) 肝炎関連再生不良性貧血

A, B, C, などの既知のウイルス以外の原因による急性肝炎発症後 1~3 ヶ月で発症する⁴²。必ずしも肝炎後とは限らず、肝炎と同時に発症することもある。若年の男性に比較的多く重症であることが多い。最近の EBMT の報告によれば肝炎関連再生不良性貧血は全再生不良性貧血の 5%を占め、治療成績は肝炎に関連しない通常の再生不良性貧血と同様であった⁴³。日本の小児グループの報告でも同様の傾向が認められている⁴⁴。未知の肝炎ウイルスまたは変性肝細胞に対して誘導された免疫反応が、造血幹細胞上の類似抗原を攻撃するために発症すると想像されている。基本病態は免疫異常による骨髄不全である。

(4) PNH を伴うもの

これには、①再生不良性貧血の経過中に PNH に移行する例と、②再生不良性貧血の発病時から PNH による溶血症状を呈するものがある。これらをまとめて再生不良性貧血-PNH 症候群と呼ぶことがある。①は続発性の PNH であり、治療は溶血の管理が主体となる。一方、②は骨髄不全型 PNH であり、治療は通常の再生不良性貧血と変わらない。

PNH タイプ血球の増加を認めるものの、明らかな溶血を認めない再生不良性貧血患者 (subclinical PNH, PNHsc⁴⁵) において PNH タイプ血球が徐々に増加した場合、どの時点から PNH と呼ぶかについては明確な基準はない。過去の報告では、LDH が正常上限の 1.5 倍を超えた場合としているものが多い。貧血が主に造血不全ではなく溶血によって起こるようになった時点とするならば、網赤血球数が 10 万/ μ L 以上に増加していながら貧血が改善しない状態を PNH への移行とするのが妥当と考えられる。

PNH 形質の造血幹細胞が増えるきっかけは、前述した造血幹細胞に対する免疫学的な攻撃からのエスケープ説が有力である。その後の PNH クローンの著しい増殖に関与する遺伝子異常として *HMGA2*⁴⁶、*JAK2*⁴⁷、*BCR-ABL*⁴⁸ が同定されている。ただし、PNH タイプ血球陽性例を長期間観察した最近の成績では、PNH タイプ血球の割合は個々の患者によって様々な推移を取り、全体の 15%を占める「増加例」においても *PIG-A* 変異クローンの拡大速度は病初期から一定であった⁴⁹。したがって PNH クローンの増殖は *PIG-A* 変異を起こした造血幹細胞が本来持っている増殖能力に依存しており、PNH クローンが拡大する場合でも、二次的な遺伝子異常は必ずしも必要ではない可能性がある。PNH 型顆粒球を次世代シーケンサーで検索した最近の報告でも、腫瘍性増殖に関連する遺伝子の続発性変異はほとんど検出されていない⁵⁰。

7. 症 候

1) 自覚症状

主要症状は労作時の息切れ・動悸・めまい、などの貧血症状と、皮下出血斑・歯肉出血・鼻出血などの出血傾向である。好中球減少の強い例では感染に伴う発熱がみられる。軽症・中等症例や、貧血の進行が遅い重症例では無症状であるため、検診でたまたま血球減少を発見されることもある。

2) 他覚症状

顔面蒼白、貧血様の眼瞼結膜、皮下出血、歯肉出血などがみられる。血小板減少が高度の場合、眼底出血による視力障害を認めることがある。

8. 検査所見

1) 末梢血

赤血球、白血球、血小板のすべてが減少する。ただし、軽症・中等症例では貧血と血小板減少のみしかみられないこともある。また、さらに病初期では血小板だけが減少しているため、特発性血小板減少性紫斑病（ITP）との鑑別が困難な例もある⁴。中等症では網状赤血球比率が低下していないこともあるが、貧血にみあった網赤血球数の増加がみられない。未成熟血小板割合は例外なく低下している。貧血は急性型では通常正球性であるが、汎血球減少の進行が遅い慢性型ではしばしば大球性を示す。慢性型の赤血球では大小不同をみることがある。白血球の減少は顆粒球減少が主体であるが、重症例では多くの場合リンパ球も減少する。

2) 骨髄穿刺および骨髄生検

有核細胞数の減少、とくに幼若顆粒球・赤芽球・巨核球の著明な減少がみられる。赤芽球が残存している場合には2核の赤芽球、巨赤芽球性変化などの軽度の異形成をしばしば認める。軽症・中等症例では部分的に造血巣が残っていることが多いため、たまたま造血巣から骨髄が吸引された場合には骨髄像が正または過形成を呈する⁵¹。ただし、このような場合でも再生不良性貧血であれば巨核球は減少している。この点が、ITPや骨髄異形成症候群（MDS）との間で鑑別する上で重要である。骨髄の細胞密度を正確に評価するために、腸骨からの骨髄生検は必須である。ただし、生検を行ったとしても、病理学的に検索できるのはごく一部の骨髄に限られるので、全身の造血能を評価するためには下記のMRIを併用することが望ましい。s

3) 染色体分析

細胞形態に異常を認めない典型的な再生不良性貧血であっても全体の4~11%に染色体異常が認められる¹⁷。頻度の高い染色体異常は8トリソミー⁵²、7モノソミー⁵³、del(13q)⁵⁴、6番染色体の異常⁵⁵などである。分裂細胞のうち異常核型が占める割合は通常50%以下である。このうち7番染色体の異常は難治性の急性骨髄性白血病に移行するリスクが高いため、異常クローンが少ないうちにできるだけ早く同種造血幹細胞移植を行う必要がある⁵³。一方、それ以外の染色体異常については通常の再生不良性貧血と同様に免疫抑制療法に反応し、寛解例の中には染色体異常が消失する例もある⁵⁴。特にdel(13q)単独陽性例ではPNH型血球が100%陽性であり、免疫抑制療法に対する反応性が正常核型の再生不良性貧血よりも高い⁵⁶。

4) 血液生化学・血清検査所見

鉄の利用が低下するため血清鉄、鉄飽和率は上昇する。慢性型ではフェリチンが上昇している例もある。ネガティブフィードバックのため血中エリスロポエチン値、G-CSF、トロンボポエチン値などが上昇する。抗核抗体や抗DNA抗体などの膠原病でみられる自己抗体は通常陰性である。

5) 胸腰椎のMRI

典型的な重症再生不良性貧血では脂肪髄化のため T1 強調像では均一な高信号となる。造血能を正確に評価するためには脂肪抑制画像を同時に評価することが望ましい。脂肪抑制法には 1. 選択的脂肪抑制法 (CHESS 法など)、2. 非選択的脂肪抑制法 (STIR 法)、3. 水/脂肪信号相殺法の 3 種類がある。近年は 1 を第一選択とする施設が多い。ただし、アーチファクトが入りやすいため、2 の STIR 法が適している場合もある。このためどの撮影法を選択するかについては放射線科医と相談することが望ましい。

骨髓造血能の STIR 画像による分類として楠本らは以下の 4 型を提唱している⁵⁷。

- 1 型. 高信号域が極めて少ないもの
- 2 型. 高信号域が椎体周辺にみられる正常パターンと考えられるもの
- 3 型. 高信号域の分布が正常パターンを取らず不均一なもの
- 4 型. 高信号域が増加し分布が均一なもの

1 型は典型的な脂肪髄で、4 型は典型的な細胞髄である。重症再生不良性貧血は 1 型を、骨髓異形成症候群は 3、4 型を取ることが多い。しかし低形成性 MDS は 1 型を取ることがもあり、また中等症再生不良性貧血の多くは 3 型を取るため、MRI によって両者を鑑別することは困難である。

6) フローサイトメトリーによる GPI アンカー膜蛋白陰性 (PNH 型) 血球の検出

PNH と再生不良性貧血を鑑別するためには、抗 CD55 抗体と抗 59 抗体などの抗 GPI アンカー膜蛋白抗体を用いた通常のフローサイトメトリーで十分である。ただし、従来の方法では健常者でも 1%前後の CD55⁺CD59⁺細胞が検出されるため、1%未満の PNH 型血球を正確に評価するためには精度の高いフローサイトメトリーを用いる必要がある。PE で標識した抗 CD11b 抗体 (顆粒球分画) または抗グリコフォリン A 抗体 (赤血球) と、FITC 標識抗 CD55 および抗 CD59 抗体などを用いた 2 カラーフローサイトメトリーで 10 万個以上の細胞を調べれば、0.01%前後のわずかな PNH 型血球を正確に検出することができる。抗 GPI-アンカー膜蛋白抗体の代わりに fluorescent aerolysin (FLAER) を用いれば、より高精度に PNH 型顆粒球を検出することができる⁵⁸。

他の陽性検体の混入を避け、死細胞を含まないように十分な注意を払うことによって、健常者との間の域値を顆粒球で 0.003%、赤血球で 0.005%まで下げることができる。この閾値以上の PNH タイプ血球が検出される再生不良性貧血例は、検出されない例に比べて免疫抑制療法に対する反応性が高く²⁹、クローン性造血を示す頻度が低い¹⁹ことが後方視的解析で示されている。PNH 型血球陽性例の免疫抑制療法に対する高反応性はロシア (成人) の前方視的検討⁵⁹や、カナダ (小児)⁶⁰、日本 (小児)⁶¹の後方視的検討でも高反応性が確認されている。

9. 鑑別診断

表 6 は、汎血球減少の鑑別すべき疾患名を骨髓の細胞密度別に示している。これらの中で鑑別が特に重要なのは、MDS、idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS)、骨髓不全の程度が強い PNH、欧米型の有毛細胞白血病などである。MDS で問題となるのは芽球の少ないタイプである。WHO2008 年分類では refractory cytopenia with unilineage dysplasia (RCUD)、refractory cytopenia with multilineage dysplasia (RCMD) が、2016 年分類では MDS with single lineage dysplasia (MDS-SLD)、MDS with multilineage dysplasia (MDS-MLD) が主に挙げられる。

- 1) RCUD、RCMD (WHO2008 年分類)、MDS-SLD、MDS-MLD (WHO2016 年分類) および idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS) (以下、WHO2016 年分類で記載する)

これまでの定義に従うと、2 系統以上の血球が一定値未満 (日本では Hb < 11g/dL、好中球 < 1500/ μ L、血小板 < 10 万/ μ L、国際的には Hb < 10g/dL、好中球 < 1500/ μ L、血小板 < 5 万/ μ L) でなければ再生不良性貧血と診断することができない。このため、この基準を満たさない血球減少は、減少している血球の種類や形態異常の有無によって、MDS-SLD、MDS-MLD、ICUS のいずれかに分類せざるを得ない。

表 6. 汎血球減少の鑑別診断

●骨髓が低形成を示すもの
再生不良性貧血
低形成の骨髓異形成症候群
発作性夜間ヘモグロビン尿症の一部
有毛細胞白血病の一部
低形成性白血病
●骨髓が正～過形成を示すもの
一次性の血液異常
骨髓異形成症候群
発作性夜間ヘモグロビン尿症の一部
急性前骨髓球性白血病の一部
有毛細胞白血病の一部
骨髓線維症
二次性の血液異常
全身性エリテマトーデス
脾機能亢進症 (Banti 症候群、肝硬変など)
血球貪食症候群
ビタミン B ₁₂ または葉酸の欠乏
敗血症などの重症感染症
アルコール依存症

一方、明らかな免疫病態によると思われる非クローン性の骨髄不全（再生不良性貧血）であっても、残存する造血巣が穿刺された場合には、赤芽球や顆粒球にしばしば異形成がみられる。ただし、このような場合でも再生不良性貧血と同じ免疫病態であれば巨核球は減少している。また、再生不良性貧血では他の血球減少に比べて血小板減少の程度が強い。したがって、芽球の少ないタイプの MDS または ICUS が疑われる症例において、巨核球増加を伴わない血小板減少がみられる場合には、再生不良性貧血と同じ免疫病態による骨髄不全の可能性を考えた方が良い⁶²。ただし、巨核球が低形成の MDS-MLD であっても、好中球に著しい脱顆粒や pseudo-Pelger 核異常などが 10% を超える場合や、骨髄芽球が 3% を超える場合にはクローン性造血障害が疑われる⁶³。

再生不良性貧血とこれらの疾患の定義には、病因論的な側面と形態学的な側面があり、前者に関わる所見（PNH 血球、染色体異常の有無など）と後者に関わる所見（骨髄細胞数、形態異常の有無）は症例によっては必ずしも一致しない。また、同一症例で免疫病態と腫瘍性（クローン性）病態が共存する可能性もある。鑑別が難しい症例については単一の側面だけではなく、臨床データに基づいて総合的に判断し、治療を選択する必要がある。これらを鑑別するもっとも簡便な指標は血漿トロンボポエチン（TPO）値である。TPO 値は骨髄巨核球数と逆相関を示すため、巨核球数の多い進行期の MDS では低値（ $< 320 \text{ pg/mL}$ ）を示す。逆にこれが 320 pg/mL 以上であれば形態異常があったとしても再生不良性貧血の可能性が高い⁶²。

2) 骨髄不全型の PNH

再生不良性貧血患者の多くの例で PNH 型血球の増加が検出されることから、再生不良性貧血と PNH は共通の免疫病態をもつ類縁疾患と考えられる。PNH における造血障害・汎血球減少は古くからよく知られており、かつアジアに多いとされる。再生不良性貧血の経過中に PNH を発症することは稀ではない。

その中でも古典的（あるいは溶血型）PNH は、骨髄に対する免疫学的な攻撃を経ずに選択された PIGA 変異造血幹細胞が、それ自身が持つ高い増殖能力のためにクローン性に増殖するか⁶⁴、または二次性のドライバ遺伝子変異のためにクローン性に増殖した結果、血小板や白血球の減少なしに溶血のみを来す状態と考えられる⁴⁶。PNH に対してはエクリズマブや鉄の補充など、再生不良性貧血とは異なるケアが必要となる。このため網赤血球の増加（ $> 10 \text{ 万}/\mu\text{L}$ ）、 400 IU/L を超える LDH の著増、間接ビリルビンの上昇、血色素尿などがみられる場合には古典的 PNH と同様に管理する必要がある。

3) 有毛細胞白血病

欧米に比べて日本では少ないが、再生不良性貧血の重要な鑑別疾患である。とくに発病早期で脾腫が目立たない段階では中等症再生不良性貧血と間違われやすい。さらに、免疫抑制療法によってある程度改善することがあるため、再生不良性貧血として長期間管理されている例もある⁶⁵。骨髄生検で細網線維の増加がみられた場合には、骨髄中の小リンパ球の表面マーカーをフローサイトメトリーで検索し、 $\text{CD}20^+ \text{CD}11c^+ \text{CD}25^+ \text{CD}103^+ \text{CD}5^-$ 細胞の増加がないかどうかを調べる必要がある。血清中の可溶性インターロイキン 2 レセプター値が著増していることも重要な特徴である。末梢血中に単球がほとんど見られないことも特徴とされている¹。

10. 病 理

腸骨からの骨髄生検では細胞成分の占める割合が全体の 30% 以下に減少し、脂肪細胞の割合が増加する。腸骨における造血巣の割合は小児では 80% 前後であるが年齢と共に低下し、高齢者では健常であっても 30% 近くに低下することがある。このため低形成の診断には年齢を加味する必要がある。細網線維の増加がみられた場合には再生不良性貧血ではなく骨髄線維症、有毛細胞白血病、骨髄線維化を伴う MDS などを考える。

11. 治 療

治療内容の末尾に示す【 】内の数字は、以下の基準にしたがったエビデンスレベルを示している。

AHRQ (Agency for Healthcare Research and Quality) の Evidence Level 定義

Level of Evidence Study Design

Level Ia	複数のランダム化比較試験のメタ分析によるエビデンス
Level Ib	少なくとも一つのランダム化比較試験によるエビデンス
Level IIa	少なくとも一つがよくデザインされた非ランダム化比較試験によるエビデンス
Level IIb	少なくとも一つの他のタイプがよくデザインされた準実験的研究によるエビデンス
Level III	よくデザインされた非実験的記述的研究による（比較研究や関連研究、ケースコ

	ントロール研究など) エビデンス
Level IV	専門家委員会の報告や意見, あるいは権威者の臨床経験によるエビデンス

なお、ここに記載する治療薬のうちアンダーラインで示す薬剤は保険適応外であることに留意が必要である。それらの治療薬の使用が必要と判断される場合には、当該薬剤について臨床試験等を行っている施設に患者を紹介するなどの対応を考慮することが望まれる。

1) 支持療法

(1) 輸血

貧血や血小板減少の程度が強い場合、あるいはそれに伴う中等度以上の臨床症状を認める場合には輸血を考慮する。ただし、輸血は未知の感染症や、血小板輸血に対する不応性を招く危険性があるうえ、同種造血幹細胞移植時の拒絶のリスクを高めるので必要最小限にとどめるべきである。

a. 赤血球輸血

貧血に対する赤血球輸血の施行はヘモグロビン値を 7 g/dl 以上に保つことが一つの目安になる。ただし、貧血症状の発現には個体差があり、7 g/dl 未満であっても輸血を必要としない場合もある。輸血の適応はヘモグロビン値だけではなく、患者の自覚症状や頻脈、心肥大、浮腫などの他覚所見、および社会生活の活動状況によって決める必要がある。

b. 血小板輸血

致命的な出血を避けるためには血小板数を 1 万/ μ l 以上に保つことが望ましい。しかし、予防的な血小板輸血は抗 HLA 抗体の産生を促し、血小板輸血に対する不応性を誘発する。このため、血小板数が 5 千/ μ l 以上あって、出血症状が皮下出血程度の軽微な場合には血小板輸血の適応とならない。ただ、血小板数が 1 万未満の場合、通常の血球計測器では血小板数の変動を正確に評価できないことが多い。赤血球造血能は血小板産生能と相関するので、網赤血球数は、血小板数が 1 万未満の場合にその変動を評価する上で参考になる【IV】。

血小板数が 5 千/ μ l 前後ないしそれ以下に低下し、出血傾向が著しい場合には重篤な出血を来す可能性があるため、出血傾向をみながら予防的な血小板輸血を行う。なお、発熱や感染症を合併している場合は出血傾向が増悪することが多いので、血小板数を 2 万/ μ l 以上に保つように計画的に血小板輸血を行う。

血小板の破壊が亢進する病態である ITP や播種性血管内凝固症候群 (DIC) とは異なり、再生不良性貧血では通常血小板輸血を行うことにより血小板数は上昇する。輸血後の血小板上昇が予想よりも少ないときには血小板輸血終了後 1 時間目の血小板数を調べる必要がある。血小板数が上昇していない場合は抗 HLA 抗体の有無をチェックし、陽性であった場合には HLA 適合ドナーからの血小板輸血を手配する。

c. 顆粒球輸血

かつての顆粒球輸血は感染症のコントロールには無力であったが、G-CSF によって末梢血に動員した大量の顆粒球を輸血した場合には効果があることが示されている⁶⁶。健常者に G-CSF を投与することの安全性が確立されていないことや、顆粒球採取を目的とした G-CSF の使用に保険適応がないことなどの問題はあがあるが、最重症患者が重症感染症を起こし、適切な抗生剤・抗真菌剤投与に反応しない場合には考慮すべき治療法である⁶⁷。好中球が 0 で G-CSF を投与してもまったく反応がみられない激症型再生不良性貧血では、治療を開始する段階でほぼ例外なく重症感染症を合併しているため、これを沈静化させるための顆粒球輸血は特に重要である【IV】。ただし、ドナーの安全性を考慮し、顆粒球採取は日本造血幹細胞移植学会の認定した非血縁者間末梢血幹細胞採取認定施設もしくはそれに準じる施設で、臨床試験として行われるべきである

(2) 造血因子

好中球が 500/ μ l 以下の場合には重症感染症の頻度が高いので G-CSF 投与の適応がある。G-CSF 投与後はほとんどの例で好中球が増加するが効果は通常一時的である。エリスロポエチンは一部の例で赤血球輸血の頻度を減らす効果のあることが示されているが保険適応はない。稀ではあるが、G-CSF の長期投与によって 2 系統以上の血球が回復した例が報告されている^{68,69}。ただし、G-CSF の長期投与は 7 番染色体のモノソミーを伴う MDS や急性骨髄性白血病の発症を促す可能性がある⁷⁰。

これまでの ATG/CsA 併用療法における G-CSF の有用性を検討したランダム化比較試験では、G-CSF 併用・非併用両群間で MDS/急性骨髄性白血病 (AML) の発症頻度に違いは認められていない⁷¹。ただし、G-CSF が晩期の MDS/AML 発症に影響を及ぼすか否かを明らかにするためには 10 年以上の経過観察が必要

要であることから、この研究では観察期間が短すぎる可能性がある。最近のメタ解析でも、G-CSF は免疫抑制療法後の再発率を有意に低下させるものの、治療反応性や予後には影響しないとされている⁷²。したがって、G-CSF の使用は感染症合併時にとどめるべきと考えられる。

(3) 鉄キレート療法

従来用いられていたメシル酸デフェロキサミン（デスフェラル）は半減期が短いため、効率よく鉄を除去することは困難であった。2008 年より使用が可能となった経口鉄キレート薬デフェラシロクス（エクジェイドまたはジャドニユ）は 10-30mg/kg を 1 日 1 回内服するだけで数 10 mg の余剰鉄が便中に排泄されるため、鉄過剰症を効率よく改善させることができる⁷³。再生不良性貧血を対象とした臨床試験でも、効率よく鉄をキレートし、臓器障害を軽減することが示されている⁷⁴。また、デフェラシロクスにより 3 血球系統の回復が得られた例も報告されている^{75,76}。

2) 造血回復を目指した薬物療法

造血回復を目指す治療として①免疫抑制療法、② 蛋白同化ステロイド療法、③造血幹細胞移植がある。図 1、2 は重症度別の治療指針を示している。

(1) stage 1 および 2a（軽症と、輸血を必要としない中等症）

この重症度の患者は日常生活に支障を来すことがなく、また血球減少が自然に回復する例があることから、従来は無治療経過観察が勧められてきた。また、従来の診断基準では再生不良性貧血とも MDS とも診断できない ICUS についても、注意深く経過を観察することが勧められている。しかし、実際には何らかの明らかな誘因がない限り、血球減少が自然に回復することは稀である。一方、長期間の血球減少期を経て輸血依存性となった患者が免疫抑制療法によって改善する可能性は非常に低い。日本やヨーロッパの小児非重症再生不良性貧血を対象とした報告でも、無治療で経過を観察した輸血非依存性再生不良性貧血例の多くはその後輸血が必要となり、その時点で免疫抑制療法を施行しても改善が得られないことが示されている^{77,78}。

一般に自己免疫疾患では発病から治療までの期間が短ければ短いほど寛解率が高いことが知られている。例えば慢性関節リウマチでは、発症後 12 週間以内に免疫調整薬で寛解導入療法を行うことが、関節破壊を防ぐ上で重要とされている。したがって、血球進行のない例であっても、血小板減少が優位であり、骨髓巨核球が減少しているタイプの再生不良性貧血に対しては、シクロスポリン（CsA）を 3.5mg/kg 前後で開始し、反応の有無を見ることを勧められる【IV】（図 1）^{4,79}。末梢血中に PNH 型血球がわずかにでも増加している例や、血漿トロンボポエチン（TPO）が上昇している例では高い奏効率が期待できる。8 週間投与後に血小板や網赤血球の増加がみられなかった場合、血球減少の進行や自覚症状がなければ無治療で経過を観察するか、メテノロンの効果をみる【IV】。一方、血球減少が進行し、輸血が必要になった場合には、ステージ 2b 以上の重症度の例に対する治療指針にしたがって治療をする。輸血までは不要だが、血球減少が進行する場合は、TPO レセプター作動薬のエルトロンボパグ（EPAG）を併用する【IV】。16 週以内に反応がみられなかった場合は、メテノロンまたはダナゾール（保険適応外）の追加を考慮する。ただし、この重症度の患者に対する治療の有用性についてはほとんどエビデンスがないため、今後臨床試験により明らかにする必要がある。

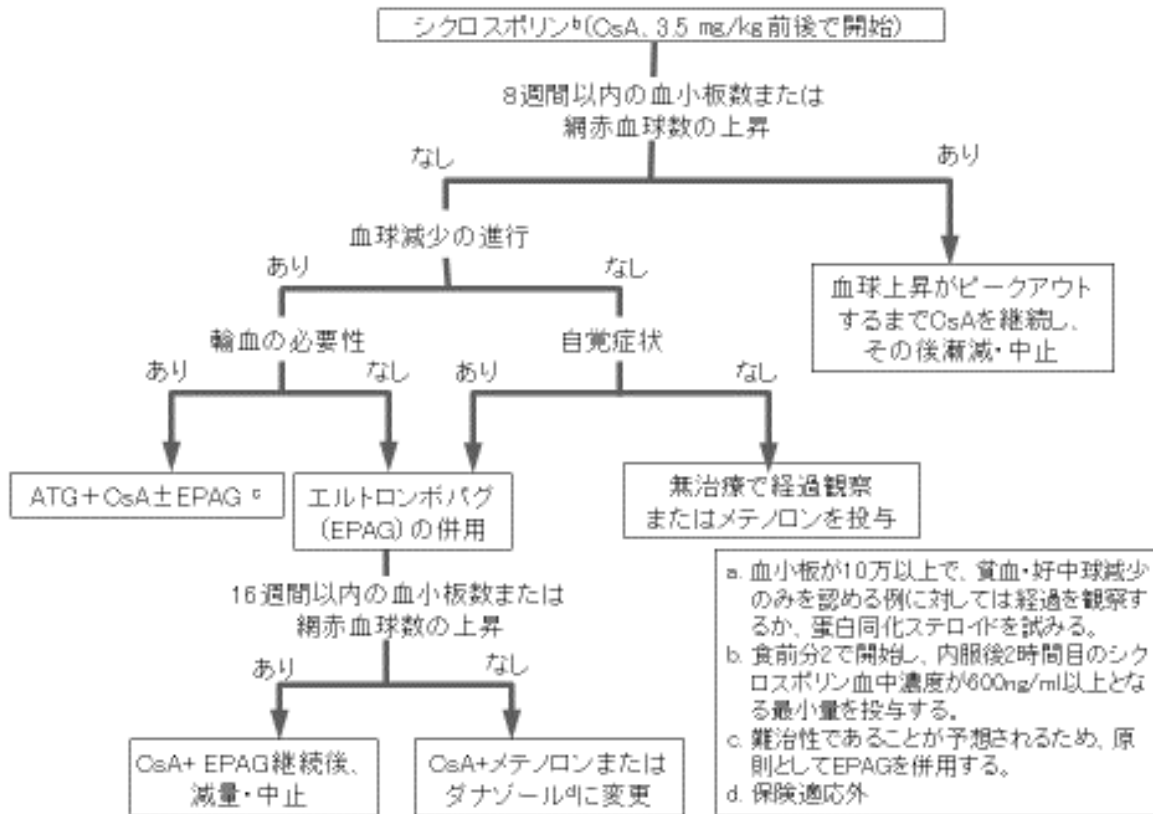


図1. 輸血不要の軽症(ステージ1)及び中等症(ステージ2a)に対する治療指針^a

CsAの投与量は、腎機能障害を防ぐため、従来は血中トラフ濃度が150~250 ng/mlとなるように調整されてきた。ただし、トラフ濃度がこの範囲に達していても、リンパ球内のカルシニューリン抑制に必要なピークレベルに達していない可能性がある。腎機能障害はクレアチニンの上昇の有無で判断できるので、CsAの血中濃度は、トラフ濃度だけでなく、AUCにもっともよく相関する内服2時間後の血中濃度(C2)も測定し、これが600ng/mLとなるように投与量を増量する【IV】。内服は食後よりも食前とした方が、同じ用量でも高いC2が得られやすい【IV】。CsA投与直後は血清クレアチニンを1-2週間に1回に測定し、投与前値の150%以上に上昇した場合には投与量を半量または4分の3量に減量する。その他、高血圧、間接ビリルビン・LDH・尿酸の上昇などにも注意を要する。網赤血球か血小板数の上昇は、CsA開始後遅くとも8週以内に現れる。これらの反応が見られなかった場合は漫然と投薬を続けることは避け、治療方針の変更を考慮すべきである。

蛋白同化ステロイドに関するこれまでの臨床試験成績はほとんどが1~5 mg/kgという大量投与に関するものである。この量を投与された患者では約30%に効果がみられるとされている⁸⁰。保険で認められている酢酸メテノロンの最大投与量(20 mg/日)の治療効果をみた報告はないが、実際には5~20 mg/日の投与量であっても有効例では十分な効果が得られる【IV】。また、男性患者の場合この投与量で、肝障害を始めとする深刻な副作用が起こることは稀である。ただし、女性患者では10 mg/日以上投与を長期間続けると不可逆的な男性化が起こりうるため、投与前に副作用に関する十分な説明を行い、同意を得る必要がある。また、アンドロゲン依存性肝腺腫を誘発することがあるので、定期的に腹部エコーまたは腹部CTを行うことが望ましい。

(2) 重症度がstage 2a以上の再生不良性貧血(輸血を必要とする中等症例と重症例)

a. 40歳未満でHLA一致同胞のいない患者と40歳以上の患者

ウサギATG(サイモグロブリン、2.5-3.75 mg/kg 5日間)、シクロスポリン(5 mg/kg)、EPAG(75 mg/日)の併用療法を行う【Ib】。これまでATG製剤としてはウマATGが主として使用されていたが、ウマATGの製造中止に伴い本邦でも2008年からウサギATG(サイモグロブリン)が使用されている。しかし、従来のウマATG製剤に比べてウサギATGの治療成績が劣るという成績がアメリカ、ヨ

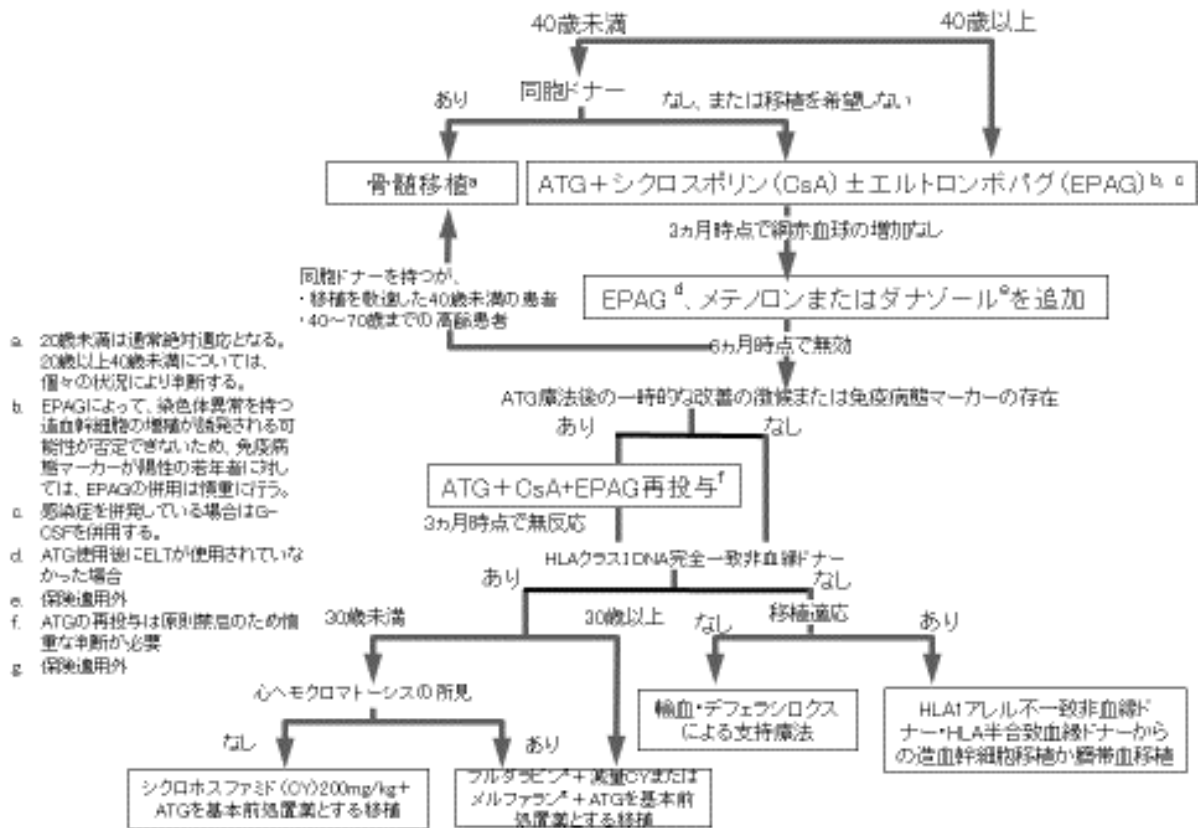


図2. ステージ2のうち輸血が必要な例(ステージ2b)とステージ3~5に対する治療指針

ヨーロッパ、日本(小児)から相次いで報告されている⁸¹⁻⁸³。ただし、韓国・スペイン・中国・タイや日本の成人患者の検討では、ウマATGと遜色ない成績も報告されている⁸⁴⁻⁸⁵⁻⁸⁸⁻⁸⁹。

ATGによるアレルギーを防ぐため、ATG投与中はメチルプレドニゾロンまたはプレドニゾロン 1~2 mg/kg/日を併用し、以後漸減する。シクロスポリン開始後は速やかに血中濃度を測定し、トラフ濃度が150~250 ng/ml、C2が600 ng/ml以上となるように投与量を調整する。この治療によって約50%が輸血不要となり、90%に長期生存が期待できる。

40歳以上の患者では、HLA一致同胞ドナーからの骨髄移植であっても長期生存率が70%前後にとどまっている^{90,91}。このため免疫抑制療法が優先される【IV】。

a-1. CsAを併用することの重要性

重症再生不良性貧血においては、ATGは単剤で投与するよりもCsAを併用した方が寛解導入率が高く、かつfailure-freeの生存率も高い⁹²【Ib】。ただし、CsA併用の効果は非重症例では確認されていない。したがって、ATGとCsAの併用療法は、骨髄移植の絶対適応例を除く重症再生不良性貧血における標準的な治療方法であるが、stage3よりも重症度の低い非重症例においてはATG単剤でもよい可能性がある。

CsAは5mg/kg/日をATGの投与初日から開始し、前述のようにC2が600ng/mL以上となる最少必要量を6ヶ月以上経口投与する【IV】。食前内服の方が食後よりもC2>600ng/mLを達成しやすい。従来のEBMTの報告では、CsA依存性のためATG+CsA療法後にCsAを中止できない例が全体の40%あるとされていたが、最近の報告では、CsAをゆっくり減量することによって再生不良性貧血の再発率を7.6%まで下げられることが示されている⁹³。血球数が回復傾向にある間は投与を続け、血球数の上昇が頭打ちとなり、3ヶ月以上変化が見られない場合には1 mg/kg減量する。3ヶ月経過をみて血球数の低下がみられない場合にはさらに同量を減量する。このようにして減量すれば、大部分の例で寛解を維持したままCsAを中止することができる【IV】。

a-2. 併用するプレドニゾロンの投与量

プレドニゾロンの併用量は1 mg/kgと5 mg/kgの比較試験が行われ、1 mg/kgで十分であることが示されている⁹⁴【Ib】。2 mg/kg/日のメチルプレドニゾロンをday 1~5に投与した場合、その後はプレドニゾロン経口1 mg/kgをday6~day14、0.5 mg/kgをday15~day21、0.2 mg/kgをday22~day28の

ように投与する【IV】。血清病の徴候がみられた際には減量の速度を落とす。

ただし、ウサギ ATG は T 細胞除去作用がウマ ATG よりも強いいため、このステロイド投与量では、EB ウイルス再活性化による B リンパ球増殖性疾患のリスクが高まる可能性がある。図 3 に示す減量法を用いることによってこのリスクを減らせる可能性がある。

a-3. EPAG の併用

EPAG は難治性再生不良性貧血の 44%に血球数回復をもたらすことが 2012 年に NIH の臨床研究によって報告された^{95,96}。その後、ウマ ATG+CsA との併用療法の有用性が NIH で検討され、全体の 87%に部分奏効以上の反応が得られることが示された⁹⁷。これは、同じ施設で行われた過去のウマ ATG+CsA 療法の有効率 (63%) に比べて優れた成績であった。日本では 2017 年 8 月より、既存治療で効果不十分な再生不良性貧血と、初めて ATG 療法を受ける再生不良性貧血例に対して保険適応が認められた。EPAG を併用することによって、これまで 50%前後とされてきたウサギ ATG+CsA 療法の治療成績が大幅に向上することが期待される。

EPAG は ATG との相互作用による肝毒性の増強を避けるため、当初は ATG 開始後 day 15 から併用されたが、その後 day 1 からの併用の安全性が確認され、さらに早期に開始した方が、完全反応が得られやすい傾向がみられたため、NIH の研究者は day 1 からの投与を推奨している。日本の EPAG 治験では、day 15 からの併用の有用性が検討されたため、保険診療上 EPAG は、ATG 投与後一定期間経過してから開始する必要がある。

一方、EPAG による染色体異常陽性細胞の誘発リスクについて NIH グループは、EPAG 併用群で 11.9%であり、ヒストリカルコントロールの 12.9%と比べて明らかな差はなかったと報告している⁹⁷。ただし、観察期間が十分に長いとは言えないため、若年患者に対して EPAG を併用するか否かは、ベネフィットとリスクのバランスを考慮して症例ごとに判断する必要がある。例えば PNH 型血球や HLA クラス I アレル欠失血球が陽性で網赤血球数が 2 万/ μ L 以上に保たれているステージ 4 までの若年者であれば、EPAG 併用は不要の可能性もある (図 2)。

a-4. G-CSF の併用

前述のように、ATG 療法における G-CSF 併用の明らかな有用性は示されていない。したがって感染症の合併時以外は、G-CSF を積極的に使用する必要はない。ただし、G-CSF を併用すると、ATG が有効な場合には網状赤血球よりも先に好中球が上昇する。このため ATG 療法が有効かどうかを早く判断することができるというメリットがある。また、ATG/CsA 併用療法に G-CSF を併用することの有用性を調べた日本のランダム化試験では、G-CSF 投与群の方が非投与群よりも 6 か月時点の奏効率が高く、再発率も低いことが報告されている²³。この再発率の低下はメタアナリシスによっても示されている⁷²。ただし、ATG/CsA の治療後にルーチンに G-CSF を長期間投与することは、前方視的臨床試験以外では推奨できない。

a-5. 抗菌薬・抗真菌薬・抗ウイルス薬の投与

ATG 投与後 1~2 ヶ月はリンパ球減少のため、真菌、ニューモシスチス・イロヴェチ、結核、帯状疱疹ウイルス、サイトメガロウイルスなどの感染症を起こしやすい。特にサイモグロブリンはリンフォグロブリンよりも免疫抑制作用が強いため、治療後の免疫不全が深く、また遷延することが知られている。EBMT グループでは、ATG 療法の際に抗菌薬・抗真菌薬・抗ウイルス薬 (バルトレックス) などが予防的に投与されている。しかし日本ではこれらの薬剤の予防的投与は認められていない。このため、サイモグロブリン投与後はこれらの病原体による感染症の有無を頻回にモニターし、感染の徴候がみられた場合には直ちに治療を開始する必要がある。ただし、サイモグロブリン投与後 CMV 抗原血症が陽性化しても CMV 感染症を発症することは稀とされている⁹⁸。また、EB ウイルスの再活性化は、サイモグロブリン投与後はほぼ全例で起こり、その程度もウマ ATG に比べて強いが、EBV 関連リンパ増殖性疾患 (EBV-related lymphoproliferative disorder, EBV-LPD) を発症することはやはり稀とされている⁹⁸。ただし日本の市販後調査では、初回のサイモグロブリン療法後に致死的な EBV-LPD を発症した例が報告されている (未発表データ)。したがって、細胞性免疫能がもっとも強く抑制されるサイモグロブリン投与 2~4 週後は可能な限り頻回に血中の EBV 量をモニタリングし、 10^4 コピー/ 10^5 細胞以上に EBV コピー数が上昇し、発熱、リンパ節腫大などの臨床症状がみられた場合にはリツキシマブ投与を考慮する。

図3. ATGに併用する副腎皮質ステロイドの早期減量
一般的に用いられている副腎皮質ステロイドの投与量と、減量レジメンにおける投与量を示している。mPSL、メチルプレドニゾロン; PSL、プレドニゾロン

<従来法>	<減量レジメン>
mPSL 2mg/kg iv day1-7	mPSL 2mg/kg iv day1-5
PSL 1mg/kg iv day8-14	mPSL 1mg/kg iv day6
PSLは以後day28までに漸減中止。	PSL(0.5mg/kg) p.o day8,10,12,14,16,18,20
総投与量 26.6mg/kg	総投与量 14.5mg/kg

b. 40歳未満でHLA一致同胞を有する患者

この年齢層の患者では、骨髄移植後の生存率が80%以上である。免疫抑制療法によってもこれに近い生存率が報告されているが、免疫抑制療法の場合、再発、輸血、MDSへの移行などの問題なしに生存する確率は50%前後である。したがってこの年齢層の患者ではHLA一致同胞からの骨髄移植が第一選択の治療である【IV】。ただし、治療関連死亡のリスクは移植の場合10~20%と免疫抑制療法より明らかに高いことから、20歳以上40歳未満の患者であっても、個々の患者の事情によって免疫抑制療法を選択することもあり得る。

b-1. 移植前処置

ヨーロッパではシクロホスファミド (CY) 大量 (50mg/kg/日を4日間) 単独、またはウサギATG (rATG: サイモグロブリン 3.75mg/kgを3日間)、ウサギALG (ゼットブリン、30mg/kgを3日間または4日間) との併用が用いられている⁹⁹。最近のガイドラインでは、30歳未満の若年者に対するHLA一致同胞ドナーからの骨髄移植では、CY 200mg/kg+ATGまたはCY 200mg/kg+アレムツズマブが推奨されている¹⁰⁰。再生不良性貧血に対する移植前処置としてもっとも強いエビデンスを持っているATGはアブジョン社のウマATG (hATG:ATGAM) である。シアトルグループは、このhATG 30mg/kgを3日間 (計90mg/kg) 使用することにより、拒絶率を4%に下げることができたと報告している¹⁰¹。ただし、国際骨髄移植登録による多数症例の解析では、CY 200mg/kgにATGを併用することの有用性は確認されていない¹⁰²。サイモグロブリンの投与量としては11.25mg/kgが標準的とされているが、これだけの量のサイモグロブリンが、重症GVHDの少ない日本人患者において必要かどうかは不明であり、今後サイモグロブリンの至適投与量を臨床試験によって決定する必要がある。一方、ヒト化抗CD52モノクローナル抗体のアレムツズマブは、ATGよりも強いGVHD抑制効果を示すため、海外では再不貧に対する骨髄移植の前処置にも使用されている¹⁰³。特に慢性GVHDの頻度が低いことが特長とされている¹⁰⁴。日本でも臨床試験が終了し、現在承認申請中である¹⁰⁵。

EBMTの報告により、30歳以上の患者においては従来のCY大量+ATGよりも、フルダラビン (Flu 30mg/m²×4日) + CY (300mg/m²×4日) +rATG (サイモグロブリン 3.75 mg/kg×4日) の減量CYレジメンの方が、長期生存率が高いことが示された¹⁰⁶、ガイドライン上もFlu+CY+ATGまたはFlu+CY+アレムツズマブが推奨されている¹⁰⁰。CYの量については、小児再生不良性貧血治療研究会の臨床試験で用いられている750mg/m²×4日 (計3g/m²) であっても毒性は低いことが示されている (未発表データ)。また、EBMTでは100mg/kgと150mg/kgの比較試験が現在進行中である (第52回アメリカ血液学会教育講演)。我が国の成人においても、Fluとの併用する場合は、50~60mg/kg×2日 (計100mg/kg、約3.6g/m²) が適当と考えられる。

日本の小児再生不良性貧血治療研究会の検討ではCY+rATG (サイモグロブリン) の前処置を用いた場合、拒絶や混合キメラが高頻度に起こることが明らかにされている。これに対して、平成16年度に「特発性造血障害に関する調査研究班」において岡本らにより行われた成人再生不良性貧血患者の全国調査では、CY+ATGとCY+照射レジメンとの間で拒絶の頻度に有意差はみられていない。

ATGの使用が保険診療として認められていなかったため、わが国ではCYに加えて全リンパ節照射 (total lymphoid irradiation: TLI)¹⁰⁷ や少量の全身放射線照射 (total body irradiation: TBI) がしばしば用いられてきた。しかし、フランスやアメリカの検討により、放射線照射レジメンを受けた患者では固形腫瘍のリスクが、非照射レジメンを受けた患者に比べて有意に高いことが示されている¹⁰⁸。このため、照射レジメンを用いる際には、発癌のリスクについて十分に説明し同意を得る必要がある。ただし、日本の小児再生不良性貧血治療研究会の検討では、照射レジメン後に固形腫瘍を発症した例は観察されていない。また、前述の成人患者を対象とした「特発性造血障害に関する研究班」の全国調査でもCY+ATG後、CY+照射レジメン後の二次発がんの頻度はそれぞれ3.3%、2.0%と有意差はみられなかった。ただし観察期間が短いため、頻度が低く出ている可能性がある。日本人ではGVHDの発症率・重症度が低い分、拒絶や混合キメラの頻度が高い傾向がみられるので、輸血量の多い患者に対しては少量のTBIを追加した方が良い可能性がある。

以上のように、HLA一致同胞からの移植における至適前処置はまだ定まっていないが、最近の報告と日本の保険診療の状況を踏まえて、30歳未満の患者で輸血回数が少ない例に対してはCY 200mg/kg + サイモグロブリン 2.5-5.0mg/kg、輸血回数が多い例に対してはこれにTBI 2Gyを追加、30歳以上の患者に対してはFlu 30mg/m²×4 + CY 50~60mg/kg×2 + サイモグロブリン 2.5-5.0mg/kgが推奨される【IV】。TLIはTBIに比べて正確性に欠けるという欠点はあるが、毒性が低く、日本の調査では二次発がんもほとんど報告されていない。このため、拒絶や混合キメラのリスクが高い例に対しては3Gy程度のTLIを上記に加えることも推奨される【IV】。

b-2. 移植細胞ソース

末梢血幹細胞移植 (PBSCT) には、造血回復が早いことや十分な幹細胞数を確保しやすいことなどのメリットはあるが、ヨーロッパ骨髄移植グループ (EBMT) および国際骨髄移植登録 (IBMTR) の解析によると、20 歳以下の末梢血幹細胞移植患者は、骨髄移植に比べて慢性 GVHD の頻度が増えるため生存率が有意に低下すると報告されている¹⁰⁹。また、日本造血細胞移植学会に登録された 16 歳以上 40 歳未満の再生不良性貧血患者の解析においても、PBSCT を受けた 78 例の 5 年生存率 (74.9%) は、骨髄移植を受けた患者 482 例の 5 年生存率 (87.0%) に比べて低い傾向がみられた。したがって、①ドナーの骨髄採取が困難な場合、②ドナーの体重が患者体重と比較して著しく軽い場合、③移植後早期に重症感染症を発症する可能性が極めて高い場合、などを除き、再生不良性貧血に対する移植には末梢血幹細胞ではなく骨髄を用いるべきである【Ⅲ】。

c. 初診時より好中球が 0 に近く、G-CSF 投与後も好中球が増えない劇症型

この重症度の患者は通常来院時から感染症を合併している。抗菌薬や抗真菌薬によって感染症を抑えられた小児例では、免疫抑制療法により約 6 割に寛解が得られる【Ⅳ】⁷。しかし、成人患者では感染症の制御が困難であるため免疫抑制療法に踏み切れないことが多い。感染症を抱えながら ATG を受けた結果、早期死亡を来した例も散発的に報告されている。したがって、一定期間 G-CSF を投与したのちも好中球がまったくみられず、感染症をコントロールできない場合には顆粒球輸血により感染症を終息させたいうえで、代替ドナーからの移植を含めた reduced-intensity stem cell transplantation (RIST) も考慮する必要がある【Ⅳ】⁶⁷。非血縁者間移植はほとんどの場合間に合わないため、臍帯血¹¹⁰か、HLA ハプロタイプ半合致移植¹¹¹を選ぶことになる。最近では移植後大量 CY 投与による HLA ハプロタイプ半合致移植の有用性が報告されている¹¹²。

d. 免疫抑制療法と EPAG 無効例に対する治療

HLA 適合同胞を持つも移植を敬遠した 40 歳未満の患者および 40-70 歳までの高齢患者では、HLA アリル適合非血縁ドナーがいれば移植を考慮する。日本の非血縁骨髄移植のデータでは、16 歳未満の 5 年生存率 87.5%、16 歳以上 40 歳未満で 68.8%、40 歳以上で 57.6%であり、特に若年者で同種骨髄移植が勧められる⁹¹。HLA 適合の同胞や非血縁ドナーのいない患者では、臍帯血移植や HLA 半合致移植が考慮されるが、その適応については十分な検討のうえ臨床試験として実施されるべきである。

年齢や合併症により造血幹細胞移植の適応がない患者や移植を敬遠した患者に対しては、2 回目の免疫抑制療法 (IST: ATG+CsA) を考慮する。2 回目の ATG 療法の奏効率については報告により違いがあるが、初回の ATG 無効例は奏効後の再発例に比べると低い傾向にあり、初回 IST に反応後の再発患者でより積極的に考慮する¹¹³。しかし、特に 60 歳以上の高齢者では IST の奏効率が若年者に比較すると低いだけでなく、ATG 療法に伴う感染、出血、心不全、不整脈発生のリスクも高く、生存率も低いことなどから、その適応については個々の症例で慎重に検討する必要がある¹¹⁴。また、ATG 再投与は原則禁忌とされているので、やむを得ず再投与する場合にはアナフィラキシーショックなどに対する十分な注意が必要である。また、単一施設のトライアルではなく、多施設による臨床試験として実施し、有効性と毒性を明らかにすることが望ましい。

2 回目の ATG 療法の有効率が成人も含めて低い可能性がある日本では、無効例に対して早めに次の手を打つことが望まれる。ATG+CsA 療法有効例の約 8 割は 3 ヶ月までに何らかの改善の徴候を示すので、それまでに網赤血球や好中球の増加が全くみられない例に対してはプリモボラン 10mg~20mg/日を併用する【Ⅵ】。男性化のため蛋白同化ステロイドを使用しにくい女性患者に対しては、状況が許せばダナゾール (保険適応外) 200~300mg/日を投与する。

トロンボポエチン受容体作動薬であるエルトロンボパグの免疫抑制療法不応性重症再生不良性貧血への適応が既に承認されている。Clonal evolution への影響が懸念されているが、今後日本でも承認されることが期待されている。

d-1. 二度目の ATG 療法

ヨーロッパの検討では、初回のウマ ATG (hATG) 後 3 ヶ月までに反応が得られなかった患者に対して 2 回目のリンフォグロブリン¹¹⁵またはウサギ ATG (rATG: サイモグロブリン)¹¹⁶を投与することにより、それぞれ 64%、77%の患者に寛解が得られることが示されている。一方で、米国からは hATG+CsA 不応例に対する rATG+CsA の奏効率は 30%と報告されており、初回 hATG 療法に効果が認められた再発例に対する rATG 療法の奏効率 65%に比べて低いことが指摘されている¹¹³。

日本では、初回 ATG+CsA 無効例に対する ATG 再投与と非血縁ドナーからの移植の生存率が小児再生

不良性貧血治療研究会で比較され、ATG 再投与例の 5 年生存率 (9.5%) は URBMT 後の生存率 (83.9%) に比べて有意に低かった¹¹⁷。また、「特発性造血障害に関する研究班」参加施設を対象として浦部らが行った全国調査でも、初回 ATG 無効例における ATG 再投与の有効率は 17% (2/12) であった。一方、ゼットブリンの市販後調査では、リンフォグロブリン無効例におけるゼットブリンの有効率も同様に 17% (3/18) と低値であった。したがって、サイモグロブリン無効例に対して二度目の ATG 療法を行う際には、初回 ATG 療法後に何らかの改善の徴候が見られた例を対象として、臨床試験として実施すべきである【IV】。初回の免疫抑制療法では ATG 後 3 ヶ月までに奏効の徴候がみられる例が多いが、rATG では最初の改善の徴候がみられるまでに 3 ヶ月以上かかる例もかなりあるので、二度目の ATG を行うまで少なくとも 6 ヶ月は待つべきである【IV】。

d-2. 蛋白同化ステロイドの追加投与

前述したように ATG 後 3 ヶ月までに改善の徴候が全くなかった例では、その後寛解が得られる可能性は低いので、遅くとも 4 ヶ月目からプリモボラン 10~20mg/日を併用することが勧められる【VI】。ただし、非重症例の治療で述べた男性化の副作用があるため、女性患者に対しては十分な説明が必要である。免疫抑制療法不応性または遅反応性の再生不良性貧血における蛋白同化ステロイドの効果についてはまとまった成績は存在しない。

状況が許せばダナゾール 300mg/日分 3 (保険適外) を投与する【IV】。ダナゾールには、プリモボランに比べて男性化の副作用が弱く、効果発現までの期間が短いという特長がある。金沢大学病院と関連施設における経験では、免疫抑制療法が無効であった女性患者における有効率は約 50%であった。「特発性造血障害に関する研究班」における臨床試験では、評価可能な 12 例中男性患者 2 例 (17%)、女性患者 3 例 (100%)、全体では 42%に血球数の上昇がみられた。12 週間の投与期間中、重篤な副作用はみられなかった¹¹⁸。

d-3. 非血縁ドナーからの骨髄移植

わが国では 10 歳未満の小児例を除いて HLA 一致非血縁ドナーからの骨髄移植の成績は 70%前後にとどまっている。ただし、発症から移植までの期間が短い例では生存率が高い傾向がみられている。特に発病後 2 年以内に移植を受けた例では、2 年以上経過した例に比べて有意に生存率が高い¹¹⁹。このため、これまでに述べた治療のすべてが無効と判断され、年齢や全身状態が許す場合には速やかにドナー検索を開始し、ドナーが得られれば移植を考慮する【IV】。

ドナーは、HLA の 8 座が DNA レベルですべて一致していることが望ましい【IV】。ただし、我が国の骨髄バンクを介した非血縁者間移植成績の解析によると、HLA 一致ドナーが見出せない場合でも、1 アレル不適合か、C, DRB1 及び DQB1 内のいずれか複数のアレルが不適合のドナーであればドナーとして許容できることが示されている¹²⁰。

移植前処置は標準的なものは存在しないが、患者が 40 歳以下で、赤血球と血小板の輸血回数が 20 回以下の (ヘモクロマトーシスがな) 場合には、これまでは主にシクロホスファミド 200mg/kg と ATG に低線量の TBI や TLI を追加したレジメンが用いられてきた¹²¹。しかし、至適な ATG の種類や量、TBI、TLI の量などについては十分には検討されていない。

日本人では移植後の急性 GVHD の頻度が低い分、拒絶のリスクが高いため、欧米で必要十分とされている 2Gy¹⁰⁸ の TBI では拒絶を防げない可能性がある。小児再生不良性貧血治療研究会では CY (200 mg/kg) + TBI (5 Gy) + ATG が用いられてきた。ただし、前述した岡本らの調査によると、日本人成人に対する CY + ATG 後の HLA 適合同胞間移植では、拒絶や混合キメラに至る頻度が小児ほど高くはないようである。2 Gy を超える TBI は成人患者では毒性が強いため、至適照射線量については今後慎重に検討していく必要がある。また、アレムツズマブの追加は、非血縁ドナーからの移植であっても GVHD をほぼ完全に抑制できる可能性が示されている¹²²。

最近では治療関連毒性を減らすためにフルダラビンをを用いることにより CY を減らすレジメンが、非血縁ドナーからの移植においても主流となっている。最近の EBMT の報告では、14 歳未満の患者では Flu (120mg/m²) + CY (1200mg/m²) + サイモグロブリン (7.5mg/kg)、14 歳以上の例に対してはこれに TBI (2 Gy) を加えた移植前処置の有用性が検討され、それぞれ 73%、79%の長期生存率が報告されている¹¹⁹。最近のイギリスのガイドラインでは、HLA DNA タイピングで 10/10 一致 (HLA-A, B, C, DRB1, DQB1) の非血縁ドナーの場合、Flu 120mg/m² + CY 1200 mg/m² + ATG + TBI 2Gy または Flu 120mg/m² + CY 1200mg/m² + アレムツズマブ、9/10 一致の場合は Flu + CY + アレムツズマブ にも TBI 2Gy 追加することが推奨されている¹⁰⁰。

日本では、再生不良性貧血に対する移植前処置として Flu の使用が承認されていないため、40 歳未満で輸血回数が少なく、ヘモクロマトーシスの所見が乏しい低リスク症例に対しては CY 200mg/kg + サ

イモグロブリン 2.5-5.0g/kg+TBI 2Gy が勧められる。しかし、40 歳以上またはヘモクロマトーシス所見を伴う高リスク症例に対しては FlU レジメンを考慮すべきである。FlU (25mg/m²)+CY (100mg/kg)+TBI 2Gy を用いた小児再生不良性貧血治療研究会の経験では、完全なドナーキメラが得られていながら、晩期の生着不全に陥る頻度が高いことが報告されている (未発表データ)。日本人成人でも、CY を 100 mg/kg を用いた FlU レジメンでは、混合キメラを含めた晩期生着不全の頻度が高い傾向がみられている (未発表データ)。

一方、アメリカで行われた FlU 120mg/m²+CY+ATG (rATG 9mg/kg または hATG 90mg/kg)+TBI 2Gy レジメンにおける CY の至適用量に関する臨床試験では、150mg/kg の CY 投与は臓器毒性による治療関連死亡が高率であったため、この量のアームは中止され、50mg/kg または 100mg/kg の CY 投与が適切であると報告されている¹²³。これに対して、韓国の FlU 移植では CY 60 mg/kg 2 日間が用いられており、これによる心毒性の増加や生着率の低下は報告されていない¹²⁴。このため、日本人成人に対しては FlU (25 mg/m²×4 日)+CY (60mg/kg×2 日)+TBI 2Gy にサイモグロブリン 2.5mg/kg×2 日の追加が勧められる【IV】。ただし、サイモグロブリン 2.5mg/kg×2 日 (計 5 mg/kg) の day-3、day-2 投与は、日本人ではドナー T 細胞の *in vivo* パージングが強くなりすぎるため、EB ウイルスによるリンパ増殖疾患やその他の重篤なウイルス感染症を誘発する可能性がある¹²⁵。このため、投与量の減量や、day-5、day-4 などへの投与日の前倒しを考慮すべきであろう【VI】。

d-4. その他の代替ドナーからの骨髄移植

HLA 一致同胞や HLA アリル一致非血縁ドナーが得られない場合の代替ドナーとして臍帯血が考慮され、日本の全国調査報告書によると再生不良性貧血に対する臍帯血移植の 5 年生存率は、16 歳未満で 72.5%、16 歳以上 40 歳未満で 75.2%、40 歳以上で 44.5%と報告されている¹⁾。臍帯血を用いた FlU 前処置移植の成績は、急性発症の再不貧血においては向上しつつあるが^{110,126}、罹病期間の長い再不貧血例における治療成績は不明である。イギリスのガイドラインでも前処置についてコンセンサスはないとされるが、Flu+CY 120mg/kg+ATG+TBI 2Gy+Rituximab×1 (day+5) が推奨されている¹⁰⁰。また臍帯血は特に成人の場合、体重あたりの細胞数が少なく拒絶のリスクが高くなる。EBMT のデータでは凍結保存前の移植総有核細胞数 3.9×10⁷/kg 以上が生着率と生存率に重要であるとされ¹²⁷、細胞数の確保のため複数の臍帯血を用いた移植も試みられているが、慢性 GVHD のリスクが高く一般的ではない¹²⁸。日本からの報告では、劇症型を含む重症再生不良性貧血 12 例に対して FlU 125mg/m²+melphalan 80mg/m²+TBI 4Gy と RIC としては強い前処置を用いてシングルユニットの臍帯血移植を行い、移植総有核細胞数中央値 2.50×10⁷/kg、CD34 陽性細胞中央値 0.76×10⁵/kg と細胞数はやや少ないにもかかわらず 11 名に生着が得られ、3 年生存率 83.3%と良好な結果が得られている¹¹⁰。

一方、近年 HLA 半合致移植が造血器腫瘍を中心に行われるようになってきている。前述したように、移植後大量 CY 法による HLA 半合致移植を受けた造血器悪性腫瘍患者では、HLA 一致同胞ドナーからの移植後と遜色ない生着率が得られていることから、再生不良性貧血のような良性的疾患に対しても今後試みられていく可能性がある¹¹²。イギリスからの報告では IST 不応 3 名、再発 1 名、Graft failure 4 名 (HLA 一致非血縁 3 名、臍帯血 1 名) の計 8 名に対して、Flu 150mg/m²+CY 29mg/kg+TBI 2Gy を前処置後、中央値で 6.2×10⁶/kg の CD34 陽性細胞を含む末梢血幹細胞を移植し、GVHD 予防として移植後 day+3、+4 に CY 50mg/kg/日を投与するとともに tacrolimus と mycophenolate を用いた。ドナー HLA に対する抗体を持っていた 2 名を除く 6 名に生着が得られ、観察期間中央値 12.2 ヶ月ながら生着した 6 名全員が生存しており、急性 GVHD も grade II が 1 名に認められたのみであった¹¹²。前処置についてまだコンセンサスが得られているものはないが、イギリスのガイドラインでは上記の前処置が推奨されている¹⁰⁰。造血幹細胞ソースとしては骨髄と T 細胞除去のない末梢血幹細胞で急性 GVHD の発症率 (33% vs 25%) と慢性 GVHD の発症率 (13% vs 13%) に差はなく、1 年無再発死亡率にも有意差はない (12% vs 22%) ことから、どちらを選択しても良いとされている¹²⁹。

これらの代替ドナーからの移植は多施設による臨床試験として行い、その有用性を明らかにする必要がある【IV】

d-5. 免疫抑制療法が有効であったがその後再発した患者

初回 ATG 療法が有効であった例の約 3 割に再生不良性貧血の再発が認められる。ヨーロッパの成績では、初回ウマ ATG (hATG) 後再発例に対するリンフォグロブリンの有効率は 61%であった¹³⁰。米国 NIH の成績では、初回 hATG 投与後の再発例に rATG (サイモグロブリン) 投与した場合の奏効率は 65%と無効例 (30%) と比較して良好であった¹¹³。浦部らの調査では、初回のリンフォグロブリンが有効であった 22 例の再発例のうち 10 例 (45%) にリンフォグロブリンの再投与が有効であった。一方、同じく初回のリンフォグロブリン後に再発しゼットブリンを投与された 13 例のうち寛解が得られたのは 5 例 (28%)

であった。日本臓器社の市販後調査によれば、初回リンフォグロブリン投与後の再発例におけるゼットブリンの有効率は40% (6/15) であった。ゼットブリンはウサギ血清使用例に対する投与は禁忌とされているので、サイモグロブリン療法後寛解となったのち再発した例に対してはサイモグロブリンを投与する【IV】。

d-6. 新規治療薬

前述のように EPAG は、免疫抑制療法(IST)不応性の重症再生不良性貧血に対して有効であることが示され、欧米・日本ですでに承認されている⁹⁵ ⁹⁶。米国 NIH の臨床試験では17歳から77歳の IST 不応性重症再生不良性貧血患者43名に対して EPAG50mg/日-150mg/日が投与され、投与開始後3-4ヶ月で40%(17/43)に複数の lineage の血球増加を含む反応が得られ、内服の継続により3系統すべての血球に反応が得られた症例が7例まで増加した。投与開始後16週の時点で反応が得られず内服中止となった2例は、その後に反応が得られ、最終的に44%(19/43)に血液学的反応が得られている。血球回復の良好な5例については EPAG の減量・中止試験を行っており、観察期間中央値13ヶ月で血球数はいずれの症例でも維持されている。有害事象も可逆的なトランスアミナーゼ上昇以外は、薬の減量を要するものは出現せず、深部静脈血栓症も EPAG 投与中には認められなかった。TPO 受容体作動薬の投与により危惧された骨髄線維化は認められていないが、EPAG 投与開始後3-13ヶ月で8名(19%)に染色体異常が新たに確認され、その内5名に7番染色体異常が認められている。Clonal evolution を助長している可能性があるため、投与例については長期間の経過観察が必要である⁹⁶。また、日本では別の TPO 受容体作動薬であるロミプロスチムについても難治例に対する臨床第 III 相試験が終了している。

12. 予 後

軽症・中等症の中には、汎血球減少があってもまったく進行しない例や自然に回復する例もある。かつては、重症例は汎血球減少が進行し、支持療法のみでは半年で50%が死亡するとされていた。最近では抗生物質、G-CSF、血小板輸血などの支持療法が発達し、免疫抑制療法や骨髄移植が発症後早期に行われるようになったため、約7割が輸血不要となるまで改善し、9割近くに長期生存が期待できる。ただし、好中球数0の劇症型で感染症がコントロールできない成人患者では、免疫抑制療法が施行できないまま感染症のため死亡する例が多い。

1) ヘモクロマトーシス

一部の重症例や発症後長期間を経過した患者は免疫抑制療法によっても改善せず、定期的な赤血球輸血・血小板輸血を必要とする。赤血球輸血が度重なると糖尿病・心不全・肝障害などのヘモクロマトーシスの症状が現れる。心室性の不整脈にはとくに注意が必要である。経口鉄キレート薬デフェラシロクス(エクジェイド)は余剰鉄を便中に排泄させることで輸血後鉄過剰症を改善させる薬剤であるが、再生不良性貧血を対象とした臨床試験(EPIC study)でも、血清フェリチン値の低下に伴って ALT レベルも改善することが示された⁷⁴。さらに、EPIC study に登録された患者の中で IST が同時に行われていない血液学的評価可能な24例について解析したところ、血清フェリチン値の減少が著明であった11例(45.8%)に血液学的な部分奏効(Camitta 基準)が得られ、全例が輸血非依存性となっていた。ただし血球回復を認めた患者はいずれも非重症例であった⁷⁶。デフェラシロクスによりヘモクロマトーシスによる死亡は激減することが期待されている。

2) 二次性のクローン性異常

再生不良性貧血の一部の例は経過観察中に MDS や急性骨髄性白血病に移行することが知られている。免疫抑制療法により改善した長期生存患者の約5~10%が MDS、その一部が急性骨髄性白血病(acute myelogenous leukemia, AML)に移行し、10~15%が PNH に移行するとされている^{18,131}。これに対して、わが国の小児再生不良性貧血治療研究会の成績では、109例中 MDS か AML に移行した例は観察期間の中央値72ヶ月で5例(4.9%)のみであった²²。また、小峰班で行われた免疫抑制療法施行例の後方視的検討でも、観察期間の中央値34ヶ月で MDS または AML に移行した例は199例中2例(1%)のみであった(山崎宏人ら、未発表データ)。したがってわが国の再生不良性貧血患者では欧米に比べて MDS・AML に移行する頻度が低い可能性がある。わが国の成人101例(G-CSF 非併用50例、併用51例)に対する免疫抑制療法の前方視的検討でも、観察期間中央値52ヶ月(G-CSF 非併用例)、54ヶ月(G-CSF 併用例)で MDS または AML に移行した例は3%(G-CSF 非併用例1例、G-CSF 併用例2例)のみであった²³。

免疫抑制療法前の末梢血白血球におけるテロメア長が短い例はテロメア長が長い例に比べて、7番染色体のモノソミーを含むクローン性疾患への移行率が高いことが報告されている¹³²。

二次性 MDS の中では7番染色体のモノソミーを持つ MDS は極めて予後が悪い。7番染色体の異常は、

G-CSF を長期投与された患者や、発病時に汎血球減少が高度であった患者に出現しやすい⁵³。したがって、このようなリスクの高い患者に対しては骨髄の染色体分析や、末梢血顆粒球を対象とした FISH 解析を定期的に行い、7 番染色体のモノソミーが検出された際には速やかに同種造血幹細胞移植を行う必要がある。

日米の共同研究で、後天性再生不良性貧血患者 439 名から得られた 668 検体を用いて体細胞遺伝子変異を経時的に解析し、クローン性造血の評価が行われた²⁰。IST 後 6 ヶ月時点での検体について MDS や AML で認められる変異遺伝子を含む 106 の遺伝子を調べたところ 36% の患者に変異遺伝子が検出され、その中で高頻度の遺伝子は、*BCOR* と *BCORL1* (9.3%)、*PIG-A* (7.5%)、*DNMT3A* (8.4%)、*ASXL1* (6.2%) であった。また SNP array karyotyping では、13% の患者に 6pUPD (uniparental disomy of the 6p arm) を認め、その他-7、del(13q)などが検出された。これらの結果を合わせると 47% の症例でクローン性造血が認められた。さらに経時的に採取された検体について全エクソーム解析を行い、クローン性造血の推移について評価したところ、*PIG-A*、*BCOR*、*BCORL1* 変異クローンは減少または少ないままの傾向があり、その存在は IST に対する高い反応性と良好な生存率と関連していた。一方、*ASXL1*、*DNMT3A*、*RUNX1* 変異クローンは経時的に増加傾向があり、IST 後の生存率は低かった。*PIG-A*、*BCOR*、*BCORL1* 変異や HLA ハプロタイプが欠失している 6pUPD を持つクローンの増加は自己反応性 T 細胞の攻撃からエスケープする機序の存在を示唆している³⁸。Clonal evolution の一端が明らかになってきたが、クローン性造血のダイナミクスは複雑で症例ごとに様々であり、未だ変異クローンの選択メカニズムは不明な点が多い。

13. 今後に残された問題点と将来展望

1) 疫学

わが国における再生不良性貧血の年間新患者発生数が十分に把握されていないことが問題である。これを明らかにするためには、各都道府県から特定疾患として新規に申請された再生不良性貧血症例について、臨床個人調査票と（可能であれば主治医から得た）患者情報を吟味し、診断や治療の妥当性を検討することが望まれる。また日本血液学会で行われている血液疾患登録のデータを利用した疫学調査の進展も期待される。

2) 診断

厚生労働科学研究費補助金「特発性造血障害に関する調査研究班」で行っている新規発症患者の全例登録、骨髄標本のセントラルレビューを通して診断の妥当性を検証する。また、免疫抑制療法に対する反応性や予後を推測するための新しいマーカーを同定する。

3) 治療

- ① IST におけるサイモグロブリンの至適用量を決定する。
- ② 輸血非依存性の軽症・中等症例に対する CsA 早期投与の有用性を検証する。
- ③ 免疫抑制療法不応の再生不良性貧血に対する蛋白同化ステロイドの有効性を明らかにする。
- ④ 初回 ATG 不応例および再発例に対する ATG 再投与の有効性と安全性を明らかにする。
- ⑤ 照射レジメンにより造血幹細胞移植を受けた患者における二次発がんの実態を全国調査により明らかにする。
- ⑥ フルダラビンを基本前処置薬とする骨髄移植の有用性を明らかにする。
- ⑦ 移植前処置で用いる ATG の至適投与量および投与時期を明らかにする。
- ⑧ 移植前処置、特にフルダラビンレジメンの妊孕性への影響を明らかにする。
- ⑨ 移植前処置におけるアテムツズマブの GVHD 抑制効果と安全性の検証。
- ⑩ 難治性再生不良性貧血に対する EPAG およびロミプロスチムの有用性と安全性を臨床試験によって明らかにする。

参考文献

1. Marsh JC, Ball SE, Cavenagh J, Darbyshire P, Dokal I, Gordon-Smith EC, Keidan J, Laurie A, Martin A, Mercieca J, Killick SB, Stewart R, Yin JA: Guidelines for the diagnosis and management of aplastic anaemia. *Br J Haematol* 147:43-70, 2009
2. Wimazal F, Fonatsch C, Thalhammer R, Schwarzingler I, Mullauer L, Sperr WR, Bennett JM, Valent P: Idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS) versus low risk MDS: the diagnostic interface. *Leuk Res* 31:1461-1468, 2007

3. Ando K, Tanaka Y, Hashimoto Y, Ohyashiki JH, Sugimori N, Nakao S, Ohyashiki K: PNH-phenotype cells in patients with idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS) with megakaryocytic hypoplasia and thrombocytopenia. *Br J Haematol* 150:705-707, 2010
4. Saito C, Ishiyama K, Yamazaki H, Zaimoku Y, Nakao S: Hypomegakaryocytic thrombocytopenia (HMT): an immune-mediated bone marrow failure characterized by an increased number of PNH-phenotype cells and high plasma thrombopoietin levels. *Br J Haematol* 175:246-251, 2016
5. Auerbach AD, Rogatko A, Schroeder-Kurth TM: International Fanconi Anemia Registry: relation of clinical symptoms to diepoxybutane sensitivity. *Blood* 73:391-396, 1989
6. Camitta BM, Thomas ED, Nathan DG, Santos G, Gordon-Smith EC, Gale RP, Rappeport JM, Storb R: Severe aplastic anemia: a prospective study of the effect of early marrow transplantation on acute mortality. *Blood* 48:63-70, 1976
7. Yagasaki H, Shichino H, Ohara A, Kobayashi R, Yabe H, Ohga S, Hamamoto K, Ohtsuka Y, Shimada H, Inoue M, Muramatsu H, Takahashi Y, Kojima S: Immunosuppressive therapy with horse anti-thymocyte globulin and cyclosporine as treatment for fulminant aplastic anemia in children. *Ann Hematol* 93:747-752, 2014
8. 清水弘之, 松下陽子, 溝口秀昭: 再生不良性貧血全国有病者数調査. 厚生省特定疾患特発性造血障害調査研究班 平成五年度研究業績報告書, 1994, pp 88-89. 9. 太田晶子, 島田直樹. 再生不良性貧血の罹患率の推計—臨床調査個人票の解析—. 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 25 年度総括・分担研究報告書. 2014: 77-81.
10. Mary JY, Baumelou E, Guiguet M: Epidemiology of aplastic anemia in France: a prospective multicentric study. The French Cooperative Group for Epidemiological Study of Aplastic Anemia. *Blood* 75:1646-1653, 1990
11. Montane E, Ibanez L, Vidal X, Ballarin E, Puig R, Garcia N, Laporte JR: Epidemiology of aplastic anemia: a prospective multicenter study. *Haematologica* 93:518-523, 2008
12. Issaragrisil S, Chansung K, Kaufman DW, Sirijirachai J, Thamprasit T, Young NS: Aplastic anemia in rural Thailand: its association with grain farming and agricultural pesticide exposure. *Aplastic Anemia Study Group. Am J Public Health* 87:1551-1554, 1997
13. Garcia-Higuera I, Taniguchi T, Ganesan S, Meyn MS, Timmers C, Hejna J, Grompe M, D'Andrea AD: Interaction of the Fanconi anemia proteins and BRCA1 in a common pathway. *Mol Cell* 7:249-262, 2001
14. Yamaguchi H, Baerlocher GM, Lansdorp PM, Chanock SJ, Nunez O, Sloand E, Young NS: Mutations of the human telomerase RNA gene (TERC) in aplastic anemia and myelodysplastic syndrome. *Blood* 102:916-918, 2003
15. Young NS, Calado RT, Scheinberg P: Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anemia. *Blood* 108:2509-2519, 2006
16. Awaya N, Rupert K, Bryant E, Torok-Storb B: Failure of adult marrow-derived stem cells to generate marrow stroma after successful hematopoietic stem cell transplantation. *Exp Hematol* 30:937-942, 2002
17. Appelbaum FR, Barrall J, Storb R, Ramberg R, Doney K, Sale GE, Thomas ED: Clonal cytogenetic abnormalities in patients with otherwise typical aplastic anemia. *Exp Hematol* 15:1134-1139, 1987
18. de Planque MM, Bacigalupo A, Wursch A, Hows JM, Devergie A, Frickhofen N, Brand A, Nissen C: Long-term follow-up of severe aplastic anaemia patients treated with antithymocyte globulin. *Severe Aplastic Anaemia Working Party of the European Cooperative Group for Bone Marrow Transplantation (EBMT). Br J Haematol* 73:121-126, 1989
19. Ishiyama K, Chuhjo T, Wang H, Yachie A, Omine M, Nakao S: Polyclonal hematopoiesis maintained in patients with bone marrow failure harboring a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells. *Blood* 102:1211-1216, 2003
20. Yoshizato T, Dumitriu B, Hosokawa K, Makishima H, Yoshida K, Townsley D, Sato-Otsubo A, Sato Y, Liu D, Suzuki H, Wu CO, Shiraishi Y, Clemente MJ, Kataoka K, Shiozawa Y, Okuno Y, Chiba K, Tanaka H, Nagata Y, Katagiri T, Kon A, Sanada M, Scheinberg P, Miyano S, Maciejewski JP, Nakao S, Young NS, Ogawa S: Somatic Mutations and Clonal Hematopoiesis in Aplastic Anemia. *N Engl J Med* 373:35-47, 2015
21. Hinterberger W, Rowlings PA, Hinterberger-Fischer M, Gibson J, Jacobsen N, Klein JP, Kolb HJ, Stevens DA, Horowitz MM, Gale RP: Results of transplanting bone marrow from genetically identical twins into patients with aplastic anemia. *Ann Intern Med* 126:116-122, 1997
22. Kojima S, Hibi S, Kosaka Y, Yamamoto M, Tsuchida M, Mugishima H, Sugita K, Yabe H, Ohara A, Tsukimoto I: Immunosuppressive therapy using antithymocyte globulin, cyclosporine, and danazol with or without human granulocyte colony-stimulating factor in children with acquired aplastic anemia. *Blood* 96:2049-2054, 2000
23. Teramura M, Kimura A, Iwase S, Yonemura Y, Nakao S, Urabe A, Omine M, Mizoguchi H: Treatment

- of severe aplastic anemia with antithymocyte globulin and cyclosporin A with or without G-CSF in adults: a multicenter randomized study in Japan. *Blood* 110:1756-1761, 2007
24. Nakao S, Yamaguchi M, Shiobara S, Yokoi T, Miyawaki T, Taniguchi T, Matsuda T: Interferon-gamma gene expression in unstimulated bone marrow mononuclear cells predicts a good response to cyclosporine therapy in aplastic anemia. *Blood* 79:2532-2535, 1992
 25. Nimer SD, Ireland P, Meshkinpour A, Frane M: An increased HLA DR2 frequency is seen in aplastic anemia patients. *Blood* 84:923-927, 1994
 26. Nakao S, Takamatsu H, Chuhjo T, Ueda M, Shiobara S, Matsuda T, Kaneshige T, Mizoguchi H: Identification of a specific HLA class II haplotype strongly associated with susceptibility to cyclosporine-dependent aplastic anemia. *Blood* 84:4257-4261, 1994
 27. Sugimori C, Yamazaki H, Feng X, Mochizuki K, Kondo Y, Takami A, Chuhjo T, Kimura A, Teramura M, Mizoguchi H, Omine M, Nakao S: Roles of DRB1 *1501 and DRB1 *1502 in the pathogenesis of aplastic anemia. *Exp Hematol* 35:13-20, 2007
 28. Griscelli-Bennaceur A, Gluckman E, Scrobahaci ML, Jonveaux P, Vu T, Bazarbachi A, Carosella ED, Sigaux F, Socie G: Aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: search for a pathogenetic link. *Blood* 85:1354-1363, 1995
 29. Sugimori C, Chuhjo T, Feng X, Yamazaki H, Takami A, Teramura M, Mizoguchi H, Omine M, Nakao S: Minor population of CD55-CD59- blood cells predicts response to immunosuppressive therapy and prognosis in patients with aplastic anemia. *Blood* 107:1308-1314, 2006
 30. Araten DJ, Nafa K, Pakdeesuwan K, Luzzatto L: Clonal populations of hematopoietic cells with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria genotype and phenotype are present in normal individuals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:5209-5214, 1999
 31. Hu R, Mukhina GL, Piantadosi S, Barber JP, Jones RJ, Brodsky RA: PIG-A mutations in normal hematopoiesis. *Blood* 105:3848-3854, 2005
 32. 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
 33. Zeng W, Nakao S, Takamatsu H, Yachie A, Takami A, Kondo Y, Sugimori N, Yamazaki H, Miura Y, Shiobara S, Matsuda T: Characterization of T-cell repertoire of the bone marrow in immune-mediated aplastic anemia: evidence for the involvement of antigen-driven T-cell response in cyclosporine-dependent aplastic anemia. *Blood* 93:3008-3016, 1999
 34. Risitano AM, Maciejewski JP, Green S, Plasilova M, Zeng W, Young NS: In-vivo dominant immune responses in aplastic anaemia: molecular tracking of putatively pathogenetic T-cell clones by TCR beta-CDR3 sequencing. *Lancet* 364:355-364, 2004
 35. Hirano N, Butler MO, Von Bergwelt-Baildon MS, Maecker B, Schultze JL, O'Connor KC, Schur PH, Kojima S, Guinan EC, Nadler LM: Autoantibodies frequently detected in patients with aplastic anemia. *Blood* 102:4567-4575, 2003
 36. Feng X, Chuhjo T, Sugimori C, Kotani T, Lu X, Takami A, Takamatsu H, Yamazaki H, Nakao S: Diazepam-binding inhibitor-related protein 1: a candidate autoantigen in acquired aplastic anemia patients harboring a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells. *Blood* 104:2425-2431, 2004
 37. Takamatsu H, Feng X, Chuhjo T, Lu X, Sugimori C, Okawa K, Yamamoto M, Iseki S, Nakao S: Specific antibodies to moesin, a membrane-cytoskeleton linker protein, are frequently detected in patients with acquired aplastic anemia. *Blood* 109:2514-2520, 2007
 38. 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* 118:6601-6609, 2011
 39. Maruyama H, Katagiri T, Kashiwase K, Shiina T, Sato-Otsubo A, Zaimoku Y, Maruyama K, Hosokawa K, Ishiyama K, Yamazaki H, Inoko H, Ogawa S, Nakao S: Clinical significance and origin of leukocytes that lack HLA-A allele expression in patients with acquired aplastic anemia. *Exp Hematol* 44:931-939 e933, 2016
 40. Otsubo H, Kaito K, Sekita T, Shimada T, Kobayashi M, Hosoya T: Mesalazine-associated severe aplastic anemia successfully treated with antithymocyte globulin, cyclosporine and granulocyte colony-stimulating factor. *Int J Hematol* 68:445-448, 1998
 41. Wiesen A, Wiesen J, Limaye S, Kaushik N: Mesalazine-induced aplastic anemia. *Am J Gastroenterol* 104:1063, 2009
 42. Brown KE, Tisdale J, Barrett AJ, Dunbar CE, Young NS: Hepatitis-associated aplastic anemia. *N Engl J Med* 336:1059-1064, 1997
 43. Locasciulli A, Bacigalupo A, Bruno B, Montante B, Marsh J, Tichelli A, Socie G, Passweg J, Severe Aplastic Anemia Working Party of the European B, Marrow Transplant G: Hepatitis-associated aplastic anaemia: epidemiology and treatment results obtained in Europe. A report of The EBMT

- aplastic anaemia working party. *Br J Haematol* 149:890-895, 2010
44. Osugi Y, Yagasaki H, Sako M, Kosaka Y, Taga T, Ito T, Yamamoto M, Ohara A, Sato T, Mimaya J, Tsukimoto I, Kojima S, Japan Childhood Aplastic Anemia Study G: Antithymocyte globulin and cyclosporine for treatment of 44 children with hepatitis associated aplastic anemia. *Haematologica* 92:1687-1690, 2007
 45. Parker CJ: The pathophysiology of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Exp Hematol* 35:523-533, 2007
 46. Inoue N, Izui-Sarumaru T, Murakami Y, Endo Y, Nishimura J, Kurokawa K, Kuwayama M, Shime H, Machii T, Kanakura Y, Meyers G, Wittwer C, Chen Z, Babcock W, Frei-Lahr D, Parker CJ, Kinoshita T: Molecular basis of clonal expansion of hematopoiesis in 2 patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood* 108:4232-4236, 2006
 47. Sugimori C, Padron E, Caceres G, Shain K, Sokol L, Zhang L, Tiu R, O'Keefe CL, Aftab M, Clemente M, Lee JM, Maciejewski JP, List AF, Epling-Burnette PK, Araten DJ: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and concurrent JAK2(V617F) mutation. *Blood Cancer J* 2:e63, 2012
 48. Tominaga R, Katagiri T, Kataoka K, Kataoka K, Wee RK, Maeda A, Gomyo H, Mizuno I, Murayama T, Ogawa S, Nakao S: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria induced by the occurrence of BCR-ABL in a PIGA mutant hematopoietic progenitor cell. *Leukemia*, 2015
 49. Sugimori N, Kondo Y, Shibayama M, Omote M, Takami A, Sugimori C, Ishiyama K, Yamazaki H, Nakao S: Aberrant increase in the immature platelet fraction in patients with myelodysplastic syndrome: a marker of karyotypic abnormalities associated with poor prognosis. *Eur J Haematol* 82:54-60, 2009
 50. Shen W, Clemente MJ, Hosono N, Yoshida K, Przychodzen B, Yoshizato T, Shiraishi Y, Miyano S, Ogawa S, Maciejewski JP, Makishima H: Deep sequencing reveals stepwise mutation acquisition in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Clin Invest* 124:4529-4538, 2014
 51. Nishimura R, Mase S, Araki R, Fujiki T, Kuroda R, Maeba H, Koizumi S, Yachie A: Massive hyper-reactive hematopoietic nests in bilateral iliac bones in a patient with mild aplastic anemia. *Pediatr Blood Cancer* 61:1903-1904, 2014
 52. Maciejewski JP, Risitano A, Sloand EM, Nunez O, Young NS: Distinct clinical outcomes for cytogenetic abnormalities evolving from aplastic anemia. *Blood* 99:3129-3135, 2002
 53. Kojima S, Ohara A, Tsuchida M, Kudoh T, Hanada R, Okimoto Y, Kaneko T, Takano T, Ikuta K, Tsukimoto I: Risk factors for evolution of acquired aplastic anemia into myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia after immunosuppressive therapy in children. *Blood* 100:786-790, 2002
 54. Ishiyama K, Karasawa M, Miyawaki S, Ueda Y, Noda M, Wakita A, Sawanobori M, Nagai H, Nakao S: Aplastic anaemia with 13q-: a benign subset of bone marrow failure responsive to immunosuppressive therapy. *Br J Haematol* 117:747-750, 2002
 55. Geary CG, Harrison CJ, Philpott NJ, Hows JM, Gordon-Smith EC, Marsh JC: Abnormal cytogenetic clones in patients with aplastic anaemia: response to immunosuppressive therapy. *Br J Haematol* 104:271-274, 1999
 56. Hosokawa K, Katagiri T, Sugimori N, Ishiyama K, Sasaki Y, Seiki Y, Sato-Otsubo A, Sanada M, Ogawa S, Nakao S: Favorable outcome of patients who have 13q deletion: a suggestion for revision of the WHO 'MDS-U' designation. *Haematologica* 97:1845-1849, 2012
 57. 楠本修也. MRIによる骨髄病変の解析-再生不良性貧血と骨髄異形成症候群について. *臨床血液* 1992;33:423-9.
 58. Borowitz MJ, Craig FE, Diguseppe JA, Illingworth AJ, Rosse W, Sutherland DR, Wittwer CT, Richards SJ: Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 78:211-230, 2010
 59. Kulagin A, Lisukov I, Ivanova M, Golubovskaya I, Kruchkova I, Bondarenko S, Vavilov V, Stancheva N, Babenko E, Sipol A, Pronkina N, Kozlov V, Afanasyev B: Prognostic value of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria clone presence in aplastic anaemia patients treated with combined immunosuppression: results of two-centre prospective study. *Br J Haematol* 164:546-554, 2014
 60. Tutelman PR, Aubert G, Milner RA, Dalal BI, Schultz KR, Deyell RJ: Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria phenotype cells and leucocyte subset telomere length in childhood acquired aplastic anaemia. *Br J Haematol* 164:717-721, 2014
 61. Narita A, Kojima S: Biomarkers for predicting clinical response to immunosuppressive therapy in aplastic anemia. *Int J Hematol* 104:153-158, 2016
 62. Seiki Y, Sasaki Y, Hosokawa K, Saito C, Sugimori N, Yamazaki H, Takami A, Nakao S: Increased plasma thrombopoietin levels in patients with myelodysplastic syndrome: a reliable marker for a benign subset of bone marrow failure. *Haematologica* 98:901-907, 2013
 63. 不応性貧血（骨髄異形成症候群）の形態学的異形成に基づく診断確度区分と形態診断アトラス. 朝長万左男、松田晃編. 不応性貧血（骨髄異形成症候群）の形態学的診断基準作成のため

のワーキンググループ. 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 19 年度) 2007

64. Dingli D, Luzzatto L, Pacheco JM: Neutral evolution in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:18496-18500, 2008
65. Sugimori C, Kaito K, Nakao S: Persistent remission after immunosuppressive therapy of hairy cell leukemia mimicking aplastic anemia: two case reports. *Int J Hematol* 77:391-394, 2003
66. Price TH, Bowden RA, Boeckh M, Bux J, Nelson K, Liles WC, Dale DC: Phase I/II trial of neutrophil transfusions from donors stimulated with G-CSF and dexamethasone for treatment of patients with infections in hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 95:3302-3309, 2000
67. Ohsaka A, Kikuta A, Ohto H, Ohara A, Ishida A, Osada K, Tasaki T, Kamitamari A, Iwai A, Kai S, Maekawa T, Hoshi Y: Guidelines for safety management of granulocyte transfusion in Japan. *Int J Hematol* 91:201-208
68. Sonoda Y, Yashige H, Fujii H, Tsuda S, Maekawa T, Misawa S, Abe T: Bilineage response in refractory aplastic anemia patients following long-term administration of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Eur J Haematol* 48:41-48, 1992
69. Bessho M, Jinnai I, Hirashima K, Saito M, Murohashi I, Ino H, Tsuji M, Fukuda M, Maruyama M, Kusumoto S, et al.: Trilineage recovery by combination therapy with recombinant human granulocyte colony-stimulating factor and erythropoietin in patients with aplastic anemia and refractory anemia. *Stem Cells* 12:604-615, 1994
70. Ohara A, Kojima S, Okamura J, Inada H, Kigasawa H, Hibi S, Tsukimoto I: Evolution of myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukaemia in children with hepatitis-associated aplastic anaemia. *Br J Haematol* 116:151-154, 2002
71. Locasciulli A, Arcese W, Locatelli F, Di Bona E, Bacigalupo A: Treatment of aplastic anaemia with granulocyte-colony stimulating factor and risk of malignancy. Italian Aplastic Anaemia Study Group. *Lancet* 357:43-44, 2001
72. Gurion R, Gafter-Gvili A, Paul M, Vidal L, Ben-Bassat I, Yeshurun M, Shpilberg O, Raanani P: Hematopoietic growth factors in aplastic anemia patients treated with immunosuppressive therapy-systematic review and meta-analysis. *Haematologica* 94:712-719, 2009
73. Nisbet-Brown E, Olivieri NF, Giardina PJ, Grady RW, Neufeld EJ, Sechaud R, Krebs-Brown AJ, Anderson JR, Alberti D, Sizer KC, Nathan DG: Effectiveness and safety of ICL670 in iron-loaded patients with thalassaemia: a randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation trial. *Lancet* 361:1597-1602, 2003
74. Lee JW, Yoon SS, Shen ZX, Ganser A, Hsu HC, Habr D, Domokos G, Roubert B, Porter JB: Iron chelation therapy with deferasirox in patients with aplastic anemia: a subgroup analysis of 116 patients from the EPIC trial. *Blood* 116:2448-2454, 2010
75. Koh KN, Park M, Kim BE, Im HJ, Seo JJ: Restoration of hematopoiesis after iron chelation therapy with deferasirox in 2 children with severe aplastic anemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 32:611-614, 2010
76. Lee JW, Yoon SS, Shen ZX, Ganser A, Hsu HC, El-Ali A, Habr D, Martin N, Porter JB: Hematologic responses in patients with aplastic anemia treated with deferasirox: a post hoc analysis from the EPIC study. *Haematologica* 98:1045-1048, 2013
77. Howard SC, Naidu PE, Hu XJ, Jeng MR, Rodriguez-Galindo C, Rieman MD, Wang WC: Natural history of moderate aplastic anemia in children. *Pediatr Blood Cancer* 43:545-551, 2004
78. Nishio N, Yagasaki H, Takahashi Y, Muramatsu H, Hama A, Yoshida N, Kudo K, Kojima S: Natural history of transfusion-independent non-severe aplastic anemia in children. *Int J Hematol* 89:409-413, 2009
79. Yamazaki H, Sugimori C, Chuhjo T, Nakao S: Cyclosporine therapy for acquired aplastic anemia: predictive factors for the response and long-term prognosis. *Int J Hematol* 85:186-190, 2007
80. Najean Y: Long-term follow-up in patients with aplastic anemia. A study of 137 androgen-treated patients surviving more than two years. Joint Group for the Study of Aplastic and Refractory Anemias. *Am J Med* 71:543-551, 1981
81. Scheinberg P, Nunez O, Weinstein B, Biancotto A, Wu CO, Young NS: Horse versus rabbit antithymocyte globulin in acquired aplastic anemia. *N Engl J Med* 365:430-438, 2011
82. Marsh JC, Bacigalupo A, Schrezenmeier H, Tichelli A, Risitano AM, Passweg JR, Killick SB, Warren AJ, Foukaneli T, Aljurf M, Al-Zahrani HA, Hochsmann B, Schafhausen P, Roth A, Franzke A, Brummendorf TH, Dufour C, Oneto R, Sedgwick P, Barrois A, Kordasti S, Elebute MO, Mufti GJ, Socie G, European B, Marrow Transplant Group Severe Aplastic Anaemia Working P: Prospective study of rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine for aplastic anemia from the EBMT Severe Aplastic Anaemia Working Party. *Blood* 119:5391-5396, 2012
83. Takahashi Y, Muramatsu H, Sakata N, Hyakuna N, Hamamoto K, Kobayashi R, Ito E, Yagasaki H, Ohara A, Kikuchi A, Morimoto A, Yabe H, Kudo K, Watanabe K, Ohga S, Kojima S, Japan Childhood

- Aplastic Anemia Study G: Rabbit antithymocyte globulin and cyclosporine as first-line therapy for children with acquired aplastic anemia. *Blood* 121:862-863, 2013
84. Shin SH, Yoon JH, Yahng SA, Lee SE, Cho BS, Eom KS, Kim YJ, Lee S, Min CK, Kim HJ, Cho SG, Kim DW, Min WS, Park CW, Lee JW: The efficacy of rabbit antithymocyte globulin with cyclosporine in comparison to horse antithymocyte globulin as a first-line treatment in adult patients with severe aplastic anemia: a single-center retrospective study. *Ann Hematol* 92:817-824, 2013
85. Vallejo C, Montesinos P, Polo M, Cuevas B, Morado M, Rosell A, Xicoy B, Diez JL, Salamero O, Cedillo A, Martinez P, Rayon C, Bone Marrow Failure Spanish Study G: Rabbit antithymocyte globulin versus horse antithymocyte globulin for treatment of acquired aplastic anemia: a retrospective analysis. *Ann Hematol* 94:947-954, 2015
86. Zhang L, Jing L, Zhou K, Wang H, Peng G, Li Y, Li Y, Li J, Ye L, Shi L, Fan H, Zhao X, Wang J, Zhang F: Rabbit antithymocyte globulin as first-line therapy for severe aplastic anemia. *Exp Hematol* 43:286-294, 2015
87. Chuncharunee S, Wong R, Rojnuckarin P, Chang CS, Chang KM, Lu MY, Hwang WL, Koh LP, Chen TY, Leung AY, Norasetthada L, Wang SC, Chang MC, Wu KH, Issaragrisil S: Efficacy of rabbit antithymocyte globulin as first-line treatment of severe aplastic anemia: an Asian multicenter retrospective study. *Int J Hematol* 104:454-461, 2016
88. Sakamoto T, Obara N, Kurita N, Sakata-Yanagimoto M, Nishikii H, Yokoyama Y, Suzukawa K, Hasegawa Y, Chiba S: Effectiveness and safety of rabbit anti-thymocyte globulin in Japanese patients with aplastic anemia. *Int J Hematol* 98:319-322, 2013
89. Suzuki T, Kobayashi H, Kawasaki Y, Okazuka K, Hatano K, Fujiwara S, Oh I, Ohmine K, Kanda Y: Efficacy of combination therapy with anti-thymocyte globulin and cyclosporine A as a first-line treatment in adult patients with aplastic anemia: a comparison of rabbit and horse formulations. *Int J Hematol* 104:446-453, 2016
90. Sangiolo D, Storb R, Deeg HJ, Flowers ME, Martin PJ, Sandmaier BM, Kiem HP, Nash RA, Doney K, Leisenring WM, Georges GE: Outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation from HLA-identical siblings for severe aplastic anemia in patients over 40 years of age. *Biol Blood Marrow Transplant* 16:1411-1418, 2010
91. Nihonzouketusaibou, 2016
92. Frickhofen N, Heimpel H, Kaltwasser JP, Schrezenmeier H: Antithymocyte globulin with or without cyclosporin A: 11-year follow-up of a randomized trial comparing treatments of aplastic anemia. *Blood* 101:1236-1242, 2003
93. Saracco P, Quarello P, Iori AP, Zecca M, Longoni D, Svahn J, Varotto S, Del Vecchio GC, Dufour C, Ramenghi U, Bacigalupo A, Locasciulli A, Bone Marrow Failure Study Group of the A: Cyclosporin A response and dependence in children with acquired aplastic anaemia: a multicentre retrospective study with long-term observation follow-up. *Br J Haematol* 140:197-205, 2008
94. Marsh JC, Zomas A, Hows JM, Chapple M, Gordon-Smith EC: Avascular necrosis after treatment of aplastic anaemia with antilymphocyte globulin and high-dose methylprednisolone. *Br J Haematol* 84:731-735, 1993
95. Olnes MJ, Scheinberg P, Calvo KR, Desmond R, Tang Y, Dumitriu B, Parikh AR, Soto S, Biancotto A, Feng X, Lozier J, Wu CO, Young NS, Dunbar CE: Eltrombopag and improved hematopoiesis in refractory aplastic anemia. *N Engl J Med* 367:11-19, 2012
96. Desmond R, Townsley DM, Dumitriu B, Olnes MJ, Scheinberg P, Bevans M, Parikh AR, Broder K, Calvo KR, Wu CO, Young NS, Dunbar CE: Eltrombopag restores trilineage hematopoiesis in refractory severe aplastic anemia that can be sustained on discontinuation of drug. *Blood* 123:1818-1825, 2014
97. Townsley DM, Scheinberg P, Winkler T, Desmond R, Dumitriu B, Rios O, Weinstein B, Valdez J, Lotter J, Feng X, Desierto M, Leuva H, Bevans M, Wu C, Larochele A, Calvo KR, Dunbar CE, Young NS: Eltrombopag Added to Standard Immunosuppression for Aplastic Anemia. *N Engl J Med* 376:1540-1550, 2017
98. Scheinberg P, Fischer SH, Li L, Nunez O, Wu CO, Sloand EM, Cohen JI, Young NS, John Barrett A: Distinct EBV and CMV reactivation patterns following antibody-based immunosuppressive regimens in patients with severe aplastic anemia. *Blood* 109:3219-3224, 2007
99. Kroger N, Zabelina T, Renges H, Kruger W, Kordes U, Rischewski J, Schrum J, Horstmann M, Ayuk F, Erttmann R, Kabisch H, Zander AR: Long-term follow-up of allogeneic stem cell transplantation in patients with severe aplastic anemia after conditioning with cyclophosphamide plus antithymocyte globulin. *Ann Hematol* 81:627-631, 2002
100. Killick SB, Bown N, Cavenagh J, Dokal I, Foukaneli T, Hill A, Hillmen P, Ireland R, Kulasekararaj A, Mufti G, Snowden JA, Samarasinghe S, Wood A, Marsh JC, British Society for Standards in H: Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia. *Br J Haematol* 172:187-207, 2016

101. Kahl C, Leisenring W, Deeg HJ, Chauncey TR, Flowers ME, Martin PJ, Sanders JE, Storb R: Cyclophosphamide and antithymocyte globulin as a conditioning regimen for allogeneic marrow transplantation in patients with aplastic anaemia: a long-term follow-up. *Br J Haematol* 130:747-751, 2005
102. Champlin RE, Perez WS, Passweg JR, Klein JP, Camitta BM, Gluckman E, Bredeson CN, Eapen M, Horowitz MM: Bone marrow transplantation for severe aplastic anemia: a randomized controlled study of conditioning regimens. *Blood* 109:4582-4585, 2007
103. Novitzky N, Thomas V, du Toit C, McDonald A: Reduced-intensity conditioning for severe aplasia using fludarabine and CY followed by infusion of ex vivo T-cell-depleted grafts leads to excellent engraftment and absence of GVHD. *Bone Marrow Transplant*, 2008
104. Marsh JC, Pearce RM, Koh MB, Lim Z, Pagliuca A, Mufti GJ, Perry J, Snowden JA, Vora AJ, Wynn RT, Russell N, Gibson B, Gilleece M, Milligan D, Veys P, Samarasinghe S, McMullin M, Kirkland K, Cook G: Retrospective study of alemtuzumab vs ATG-based conditioning without irradiation for unrelated and matched sibling donor transplants in acquired severe aplastic anemia: a study from the British Society for Blood and Marrow Transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2013
105. Kanda Y, Oshima K, Kako S, Fukuda T, Uchida N, Miyamura K, Kondo Y, Nakao S, Nagafuji K, Miyamoto T, Kurokawa M, Okoshi Y, Chiba S, Ohashi Y, Takaue Y, Taniguchi S: In vivo T-cell depletion with alemtuzumab in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Combined results of two studies on aplastic anemia and HLA-mismatched haploidentical transplantation. *Am J Hematol* 88:294-300, 2013
106. Maury S, Bacigalupo A, Anderlini P, Aljurf M, Marsh J, Socie G, Oneto R, Passweg JR: Improved outcome of patients older than 30 years receiving HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation for severe acquired aplastic anemia using fludarabine-based conditioning: a comparison with conventional conditioning regimen. *Haematologica* 94:1312-1315, 2009
107. Ramsay NK, Kim TH, McGlave P, Goldman A, Nesbit ME, Jr., Krivit W, Woods WG, Kersey JH: Total lymphoid irradiation and cyclophosphamide conditioning prior to bone marrow transplantation for patients with severe aplastic anemia. *Blood* 62:622-626, 1983
108. Deeg HJ, Amylon ID, Harris RE, Collins R, Beatty PG, Feig S, Ramsay N, Territo M, Khan SP, Pamphilon D, Leis JF, Burdach S, Anasetti C, Hackman R, Storer B, Mueller B: Marrow transplants from unrelated donors for patients with aplastic anemia: minimum effective dose of total body irradiation. *Biol Blood Marrow Transplant* 7:208-215, 2001
109. Schrezenmeier H, Passweg JR, Marsh JC, Bacigalupo A, Bredeson CN, Bullorsky E, Camitta BM, Champlin RE, Gale RP, Fuhrer M, Klein JP, Locasciulli A, Oneto R, Schattenberg AV, Socie G, Eapen M: Worse outcome and more chronic GVHD with peripheral blood progenitor cells than bone marrow in HLA-matched sibling donor transplants for young patients with severe acquired aplastic anemia. *Blood* 110:1397-1400, 2007
110. Yamamoto H, Kato D, Uchida N, Ishiwata K, Araoka H, Takagi S, Nakano N, Tsuji M, Asano-Mori Y, Matsuno N, Masuoka K, Izutsu K, Wake A, Yoneyama A, Makino S, Taniguchi S: Successful sustained engraftment after reduced-intensity umbilical cord blood transplantation for adult patients with severe aplastic anemia. *Blood* 117:3240-3242, 2011
111. O'Donghaile D, Childs RW, Leitman SF: Blood consult: granulocyte transfusions to treat invasive aspergillosis in a patient with severe aplastic anemia awaiting mismatched hematopoietic progenitor cell transplantation. *Blood* 119:1353-1355, 2012
112. Clay J, Kulasekararaj AG, Potter V, Grimaldi F, McLornan D, Raj K, de Lavallade H, Kenyon M, Pagliuca A, Mufti GJ, Marsh JC: Nonmyeloablative peripheral blood haploidentical stem cell transplantation for refractory severe aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 20:1711-1716, 2014
113. Scheinberg P, Nunez O, Young NS: Retreatment with rabbit anti-thymocyte globulin and ciclosporin for patients with relapsed or refractory severe aplastic anaemia. *Br J Haematol* 133:622-627, 2006
114. Tichelli A, Socie G, Henry-Amar M, Marsh J, Passweg J, Schrezenmeier H, McCann S, Hows J, Ljungman P, Marin P, Raghavachar A, Locasciulli A, Gratwohl A, Bacigalupo A: Effectiveness of immunosuppressive therapy in older patients with aplastic anemia. European Group for Blood and Marrow Transplantation Severe Aplastic Anaemia Working Party. *Ann Intern Med* 130:193-201, 1999
115. Tichelli A, Passweg J, Nissen C, Bargetzi M, Hoffmann T, Wodnar-Filipowicz A, Signer E, Speck B, Gratwohl A: Repeated treatment with horse antilymphocyte globulin for severe aplastic anaemia. *Br J Haematol* 100:393-400, 1998
116. Di Bona E, Rodeghiero F, Bruno B, Gabbas A, Foa P, Locasciulli A, Rosanelli C, Camba L, Saracco P, Lippi A, Iori AP, Porta F, De Rossi G, Comotti B, Iacopino P, Dufour C, Bacigalupo A, De Rossi V: Rabbit antithymocyte globulin (r-ATG) plus cyclosporine and granulocyte colony stimulating factor is an effective treatment for aplastic anaemia patients unresponsive to a first course of intensive

- immunosuppressive therapy. Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo (GITMO). *Br J Haematol* 107:330-334, 1999
117. Kosaka Y, Yagasaki H, Sano K, Kobayashi R, Ayukawa H, Kaneko T, Yabe H, Tsuchida M, Mugishima H, Ohara A, Morimoto A, Otsuka Y, Ohga S, Bessho F, Nakahata T, Tsukimoto I, Kojima S: Prospective multicenter trial comparing repeated immunosuppressive therapy with stem-cell transplantation from an alternative donor as second-line treatment for children with severe and very severe aplastic anemia. *Blood* 111:1054-1059, 2008
118. Chuhjo T, Yamazaki H, Omine M, Nakao S: Danazol therapy for aplastic anemia refractory to immunosuppressive therapy. *Am J Hematol* 83:387-389, 2008
119. Bacigalupo A, Socie G, Lanino E, Prete A, Locatelli F, Locasciulli A, Cesaro S, Shimoni A, Marsh J, Brune M, Van Lint MT, Oneto R, Passweg J: Fludarabine, cyclophosphamide, antithymocyte globulin, with or without low dose total body irradiation, for alternative donor transplants, in acquired severe aplastic anemia: a retrospective study from the EBMT-SAA Working Party. *Haematologica* 95:976-982, 2010
120. Yagasaki H, Kojima S, Yabe H, Kato K, Kigasawa H, Sakamaki H, Tsuchida M, Kato S, Kawase T, Morishima Y, Kodera Y: Acceptable HLA-mismatching in unrelated donor bone marrow transplantation for patients with acquired severe aplastic anemia. *Blood* 118:3186-3190, 2011
121. Kojima S, Matsuyama T, Kato S, Kigasawa H, Kobayashi R, Kikuta A, Sakamaki H, Ikuta K, Tsuchida M, Hoshi Y, Morishima Y, Kodera Y: Outcome of 154 patients with severe aplastic anemia who received transplants from unrelated donors: the Japan Marrow Donor Program. *Blood* 100:799-803, 2002
122. Marsh JC, Gupta V, Lim Z, Ho AY, Ireland RM, Hayden J, Potter V, Koh MB, Islam MS, Russell N, Marks DI, Mufti GJ, Pagliuca A: Alemtuzumab with fludarabine and cyclophosphamide reduces chronic graft-versus-host disease after allogeneic stem cell transplantation for acquired aplastic anemia. *Blood* 118:2351-2357, 2011
123. Tolar J, Deeg HJ, Arai S, Horwitz M, Antin JH, McCarty JM, Adams RH, Ewell M, Leifer ES, Gersten ID, Carter SL, Horowitz MM, Nakamura R, Pulsipher MA, Difronzo NL, Confer DL, Eapen M, Anderlini P: Fludarabine-based conditioning for marrow transplantation from unrelated donors in severe aplastic anemia: early results of a cyclophosphamide dose deescalation study show life-threatening adverse events at predefined cyclophosphamide dose levels. *Biol Blood Marrow Transplant* 18:1007-1011, 2012
124. Lee JW, Cho BS, Lee SE, Eom KS, Kim YJ, Kim HJ, Lee S, Min CK, Cho SG, Min WS, Park CW: The Outcome of Unrelated Hematopoietic Stem Cell Transplants with Total Body Irradiation (800 cGy) and Cyclophosphamide (120 mg/kg) in Adult Patients with Acquired Severe Aplastic Anemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 17:101-108, 2011
125. Wakabayashi S, Ohashi K, Hanajiri R, Kobayashi T, Yamashita T, Akiyama H, Sakamaki H: Rapidly progressive Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorder unpredictable by weekly viral load monitoring. *Intern Med* 49:931-935, 2010
126. Yoshimi A, Kojima S, Taniguchi S, Hara J, Matsui T, Takahashi Y, Azuma H, Kato K, Nagamura-Inoue T, Kai S, Kato S: Unrelated cord blood transplantation for severe aplastic anemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 14:1057-1063, 2008
127. Peffault de Latour R, Purtill D, Ruggeri A, Sanz G, Michel G, Gandemer V, Maury S, Kurtzberg J, Bonfim C, Aljurf M, Gluckman E, Socie G, Passweg J, Rocha V: Influence of nucleated cell dose on overall survival of unrelated cord blood transplantation for patients with severe acquired aplastic anemia: a study by eurocord and the aplastic anemia working party of the European group for blood and marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 17:78-85, 2011
128. Ruggeri A, de Latour RP, Rocha V, Larghero J, Robin M, Rodrigues CA, Traineau R, Ribaud P, Ferry C, Devergie A, Gluckman E, Socie G: Double cord blood transplantation in patients with high risk bone marrow failure syndromes. *Br J Haematol* 143:404-408, 2008
129. Castagna L, Crocchiolo R, Furst S, Bramanti S, El Cheikh J, Sarina B, Granata A, Mauro E, Faucher C, Mohty B, Harbi S, Chabannon C, Carlo-Stella C, Santoro A, Blaise D: Bone marrow compared with peripheral blood stem cells for haploidentical transplantation with a nonmyeloablative conditioning regimen and post-transplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant* 20:724-729, 2014
130. Bacigalupo A, Brand R, Oneto R, Bruno B, Socie G, Passweg J, Locasciulli A, Van Lint MT, Tichelli A, McCann S, Marsh J, Ljungman P, Hows J, Marin P, Schrezenmeier H: Treatment of acquired severe aplastic anemia: bone marrow transplantation compared with immunosuppressive therapy--The European Group for Blood and Marrow Transplantation experience. *Semin Hematol* 37:69-80, 2000
131. Socie G, Rosenfeld S, Frickhofen N, Gluckman E, Tichelli A: Late clonal diseases of treated aplastic anemia. *Semin Hematol* 37:91-101, 2000

132. Scheinberg P, Cooper JN, Sloand EM, Wu CO, Calado RT, Young NS: Association of telomere length of peripheral blood leukocytes with hematopoietic relapse, malignant transformation, and survival in severe aplastic anemia. *JAMA* 304:1358-1364, 2010