

主論文の要旨

**Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and telomere length
predicts response to immunosuppressive therapy in
pediatric aplastic anemia**

〔 小児再生不良性貧血における微小PNHクローンと
リンパ球テロメア長による免疫抑制療法予後予測モデル 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 健康社会医学専攻
発育・加齢医学講座 小児科学分野

(指導：小島 勢二 教授)

成田 敦

【緒言】

再生不良性貧血 (Aplastic anemia; AA) は骨髄低形成および汎血球減少を特徴とするまれな血液疾患である。細胞障害性T細胞が造血幹細胞を攻撃することがその病因であると考えられており、HLA一致血縁ドナーからの骨髄移植が第一選択の治療法であるが、ドナーが得られない患者は抗胸腺細胞グロブリン (Anti thymocyte globulin; ATG) とシクロスポリン (Cyclosporine A; CyA) による免疫抑制療法 (Immunosuppressive therapy; IST) が標準的治療法となっている。現在、AA患者に対する免疫抑制療法の治療奏効率は42-74%で、長期生存率は約90%である。しかし、ISTを受けるAA患者のうち、およそ30~60%の患者は反応が得られないまま、ATGとCyAの強力な免疫抑制作用により重症感染症に罹患するリスクがあり、その後の代替ドナーからの造血幹細胞移植の成功率にも負の影響を与える。このことから、AA患者においてISTの反応性を予測することができるバイオマーカーの開発が望まれている。過去の研究では、患者の年齢・性別・診断から治療までの期間・白血球数・好中球数・リンパ球数・網状赤血球数・微小発作性夜間血色素尿症 (Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria; PNH) 型血球・リンパ球テロメア長などが予後予測因子であることが報告されているが、残念ながらいずれの因子を用いても実臨床においてISTを行う必要がない患者であると判断するには不十分である。そこで我々は、これまでそれぞれ単独で報告されたバイオマーカーであるPNH型血球とテロメア長の両方をISTで治療された小児AA 113例において測定し、ISTの反応性に対する影響を検討した。

【対象及び方法】

2001年7月より2013年11月に国内で後天性AAと診断された小児患者113例 (男児63例、女児50例) を対象とした。ISTとして、49例はウマ抗胸腺細胞グロブリン (ATG) を5日間、64例はウサギATGを5日間投与し、全例にシクロスポリンAを180日以上投与した。PNH型血球はフローサイトメトリーを用いて測定し、 $CD13^+CD55^-CD59^-$ 顆粒球 $>0.005\%$ およびグリコフォリンA $^+CD55^-CD59^-$ 赤血球 $>0.010\%$ の場合をPNH型血球陽性と判定した。末梢血リンパ球のテロメア長は、flow-FISH with telomere PNA kitsを用いて測定し、年齢調整後の相対値を求め、 $-1.21SD$ 未満をテロメア長短縮群とした。PNH型血球陽性とテロメア長短縮のカットオフ値はROC (Receiver Operating Characteristic) 曲線を用いて定義した。テロメア長が $-2.5SD$ 未満であった9症例に対してHiseq 2000 (Illumina, San Diego, CA, USA) を用いてTarget gene sequencingを実施したが、テロメア関連遺伝子 (*DKC1*, *TERT*, *TERC*, *TINF2*, *NHP2*, *NOP10*, *C16orf57*, *CTC1*, *RTEL1*, *WRAP53*, *POT1*, *TERF2IP*) の変異を認めなかった。

【結果】

113例の年齢の中央値9.6歳であり、病因は特発性が99例、肝炎後が14例であった。重症度は中等症36例、重症37例、最重症40例であった。IST後6ヵ月時点の奏効率は53%であり、反応群と不応群において年齢、性別、病因、重症度、ATGの種類 (ウサギ vs.

ウマ)に有意差を認めなかった (Table 1)。微小PNH血球は47例 (42%)で陽性であり、IST後6ヵ月時点の奏効率は、微小PNH型血球陽性群が陰性群と比較して有意に良好であった (77% vs. 36%、 $p < 0.001$) (Figure 1A)。年齢調整後の相対テロメア長の中央値は $-0.99SD$ であり、IST後6ヵ月時点の奏効率は相対テロメア長の長い群が相対テロメア長の短縮している群と比較して優位に良好であった (71% vs. 33%、 $p < 0.001$) (Figure 1B)。多変量解析の結果、微小PNH型血球陰性、相対テロメア長の短縮、診断時の網状赤血球低値が独立した予後不良予測因子であった (Table 2)。そこで、微小PNH型血球陰性かつ相対テロメア長が短縮している患者を反応不良群 (37例)、その他を反応良好群 (76例)に分類したところ、反応良好群は反応不良群に比べてIST後6ヵ月時点の治療反応率が有意に良好であった (70% vs. 19%、 $p < 0.001$) (Figure 2)。また、 Kaplan-Meier解析では、累積再発率、累積クローン進化率、全生存率には両群間に有意な差を認めなかったが、治療奏功維持生存率 ($p < 0.001$)、移植回避生存率 ($p = 0.003$)は反応良好群で有意に良好であった (Figure 3、4)。

【考察】

本検討から微小PNH型血球陰性かつ相対テロメア長が短縮している患者では免疫抑制療法への奏効率が低いことが示された。近年、再生不良性貧血に対する非血縁ドナーおよびHLA不一致の血縁ドナーからの造血幹細胞移植の治療成績は飛躍的に向上しており、全生存率は70-80%と報告されている。とりわけAA発症1年以内に造血幹細胞移植を実施した若年者において良好な治療成績が得られており、ヨーロッパ骨髄移植学会からの報告では、小児の特発性重症AAに対して非血縁ドナーからの骨髄移植を第一選択とした場合の治療成績は、HLA一致同胞ドナーのそれと同等であった。本研究の結果より小児AA患者においてISTに対する治療反応不良と考えられる群を抽出することで、不必要な免疫抑制療法を回避し、代替ドナーからの造血幹細胞移植を第一選択とする治療戦略がなりたつ可能性がある。

【結語】

微小PNH型血球および相対テロメア長を組み合わせることで、AAに対するIST反応性を鋭敏に予測できることが示された。これら2つのマーカーを用いたAAの新たな治療アルゴリズムの構築が期待される。