

IV

発作性夜間ヘモグロビン尿症

資料 診療の参照ガイド

1. 緒言

1) はじめに

発作性夜間ヘモグロビン尿症 (paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : PNH) は、昭和 49 (1974) 年に溶血性貧血が特定疾患に指定されたことに伴い研究対象疾患として取り上げられ、「溶血性貧血調査研究班」(班長 三輪史朗) によって組織的な研究が開始された。それから今日に至る 30 年間にわたって歴代班長により疫学、病因、病態、診断、治療、予後など幅広い領域に関する調査研究が重ねられてきた。PNH は頻度は低いが特徴的な臨床像によって捉えられ定義づけられてきた。溶血性貧血の一病型としてのみでなく、骨髄不全をきたす幹細胞異常としての側面を併せ持つ。平成 5 (1993) 年の木下らのグループによる PIG-A 遺伝子変異の発見とそれに引き続く分子生物学的な研究は、この謎に満ちた疾患の理解を一変させたといつてよいであろう。平成 13 (2001) 年には国際シンポジウム「PNH と近縁疾患：分子病態の視点から」が東京で開催され、世界の代表的研究者が一堂に会し、国際協調の気運が生まれた。平成 15 (2003) 年には、Duke Symposium on PNH が持たれ、国際研究協力を目的とした国際 PNH 専門家会議 (International PNH Interest Group : I-PIG) が組織された。I-PIG はまず、国際的に共通する診断基準と診療ガイドラインの作成を目指し、それをコンセンサス・ペーパーとして公表した¹⁾。

この「PNH の診療の参照ガイド」は、このような

国際的な潮流と同調する形で作成された経緯があるが、平成 11 年度～16 年度に行われた「厚生労働科学研究 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」(小峰班) の 6 年間の調査研究活動を総括する意味合いも併せ持っており、その意味で日本独自のものでもある (平成 17 年 3 月)。その後、小澤班に引き継がれ (平成 17 年度～22 年度)、平成 20 年 3 月の部分改訂を経て、6 年間の調査研究活動を総括する意味合いも込めて平成 23 年 3 月に全面改訂を行うものである。

2) 作成法

厚生労働科学研究「特発性造血障害に関する調査研究班」(班長 小澤敬也) の研究者を中心に、日本の PNH 研究者の参加を得て、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を編成し、evidence-based medicine (EBM) の考え方に沿ってできるだけ客観的なエビデンスを抽出するように文献評価作業を進めた。

ワーキンググループで作成された案は、上記研究班と重点研究「不応性貧血の治療率向上を目指した分子・免疫病態研究班」(班長 小川誠司) との平成 22 年度合同班会議総会に提示され、検討のうえ改訂された。

(1) 構成メンバー

PNH 診療の参照ガイド作成のためのワーキンググループのメンバーは本書冒頭 (v 頁) に記載したとおりである。

表 1 AHRQ (Agency for Healthcare Research and Quality) の Evidence Level の定義

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 1 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 1 つの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 1 つのほか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

(2)信頼度 (エビデンスレベル)

引用した文献は、Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ) のエビデンスレベルの定義 (表 1) に従い、該当する本文中に注記した。

また、「4. 疫学」に関しては、厚生労働省 疫学班 (班長 大野良之) による平成 10 年度全国調査の成績を用い、臨床病態などについては平成 11 年度に開始した日米比較調査研究の成績を中心に用いた。

PNH は稀な疾患であり、これまでにエビデンスレベルの高い臨床研究は極めて少ないことに留意が必要である。治療に記載されている薬剤には、保険適用外使用が含まれていることにも留意頂きたい。また、PNH の臨床像は欧米白人例と日本を含むアジア人とは、一定の差異を認めることも明らかにされているので、欧米からの報告を日本の症例にそのまま適用するのは不適切である可能性が残される。

2. 定義 (疾患概念)

PNH は、PIG-A 遺伝子に後天的変異を持った造血幹細胞がクローン性に拡大した結果、補体による血管内溶血 (Coombs 陰性) を主徴とする造血幹細胞疾患である。再生不良性貧血 (aplastic anemia : AA) を代表とする後天性骨髄不全疾患としばしば合併・相互移行する。血栓症は日本では稀ではあるが、PNH に特徴的な合併症である。また稀ではあるが、急性白血病への移行もある。

3. 診断基準

表 2 に示す。

4. 重症度分類

表 3、表 4 に示す。

表 2 発作性夜間ヘモグロビン尿症の診断基準 (平成 22 年度改訂)

1. 臨床所見として、貧血、黄疸のほか肉眼的ヘモグロビン尿 (淡赤色尿～暗褐色尿) を認める。ときに静脈血栓、出血傾向、易感染性を認める。先天発症はないが、青壮年を中心に広い年齢層で発症する。
2. 以下の検査所見がしばしばみられる。
 - 1) 貧血および白血球、血小板の減少
 - 2) 血清間接ビリルビン値上昇、LDH 値上昇、ハプトグロビン値低下
 - 3) 尿上清のヘモグロビン陽性、尿沈渣のヘモジテリン陽性
 - 4) 好中球アルカリホスファターゼスコア低下、赤血球アセチルコリンエステラーゼ低下
 - 5) 骨髄赤芽球増加 (骨髄は過形成が多いが低形成もある)
 - 6) Ham (酸性化血清溶血) 試験陽性または砂糖水試験陽性
3. 以下の検査所見によって診断を確実なものとする。
 - 1) グリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) アンカー型膜蛋白の欠損血球 (PNH タイプ血球) の検出と定量
 - 2) 骨髄穿刺、骨髄生検、染色体検査などによるほかの骨髄不全疾患の判定
4. 以下によって病型分類を行う。
 - 1) 臨床的 PNH (溶血所見がみられる)
 - (1)古典的 PNH
 - (2)骨髄不全型 PNH
 - (3)混合型 PNH
 - 2) PNH タイプ血球陽性の骨髄不全症 (溶血所見は明らかでない PNH タイプ血球陽性の骨髄不全症は、下記のように呼び、臨床的 PNH とは区別する)
 - (1)PNH タイプ血球陽性の再生不良性貧血
 - (2)PNH タイプ血球陽性の骨髄異形成症候群
 - (3)PNH タイプ血球陽性の骨髄線維症、など
5. 参 考
 - 1) PNH は溶血性貧血と骨髄不全症の側面を併せ持つ造血幹細胞異常による疾患である。骨髄不全型 PNH は、再生不良性貧血・PNH 症候群によって代表される。
 - 2) PNH タイプ血球の検出と定量には、抗 CD55 および抗 CD59 モノクローナル抗体または FLAER を用いたフローサイトメトリー法が推奨される。PNH タイプ好中球比率はしばしば PNH タイプ赤血球のそれより高値を示す。
 - 3) 溶血所見として、肉眼的ヘモグロビン尿、網赤血球増加、血清 LDH 値上昇、間接ビリルビン値上昇、血清ハプトグロビン値低下が参考になる。PNH タイプ赤血球が 1～10% であれば、溶血所見を認めることが多い。

表3 重症度分類：古典的PNH

軽 症	下記以外
中等症	ヘモグロビン濃度 10g/dL 未満があり 恒常的に肉眼的ヘモグロビン尿を認めたり溶血発作を繰り返す あるいは 血栓症の既往がある
重 症	ヘモグロビン濃度 7g/dL 未満があり 定期的な赤血球輸血を必要とする あるいは 血栓症の合併がある

注1：繰り返す溶血発作とは発作により輸血が必要となったり入院が必要となる状態を指す。

注2：定期的な赤血球輸血とは毎月2単位以上の輸血が必要なときを指す。

注3：重症ではエクリスマブの絶対適応、中等症では相対的適応と考えられる。

表4 重症度分類：骨髄不全型PNH

軽 症	下記以外
中等症	以下の2項目以上を満たす ヘモグロビン濃度 10g/dL 未満 好中球 1,000/ μ L 未満 血小板 50,000/ μ L 未満
重 症	以下の2項目以上を満たす ヘモグロビン濃度 7g/dL 未満または定期的な赤血球輸血を必要とする 好中球 500/ μ L 未満 血小板 20,000/ μ L 未満

注1：定期的な赤血球輸血とは毎月2単位以上の輸血が必要なときを指す。

5. 疫 学

1) 発生頻度

厚生省の平成10年度疫学調査班(大野班)の層化無作為抽出法によるアンケート調査によると、日本におけるPNHの推定有病者数は430人であった²⁾【II】。発症頻度に関しては、中国で17,600,344人の住人に対して1975~1984年の10年間にわたり追跡された調査によると、この間に22例がPNHを発症し、100万人あたりの発症頻度は1.2人(range:0~2.8)、罹患率は6.93人と推定された³⁾【II】。性別では欧米および日本では男女比がほぼ1:1であるが、中国やタイなどのアジア諸国では圧倒的に男性に多いと報告されている(表5)。これらの地域はAAの多発地帯でもあり、これらの病因(環境、経済要因を含む)と何らかの関連があるのかもしれない。

診断時(初診時)年齢は、特発性造血障害に関する研究班の共同研究「PNH患者における臨床病歴と自然歴の日米比較調査」のデータによると、日本が45.1歳(range:10~86)で米国が32.8歳(range:4~80)に対して有意に高かった(図1)⁸⁾【III】。フランスの報告では33歳⁷⁾【II】、英国の報告では42歳

で⁶⁾【III】。日本も一応この範疇には入っている。診断時年齢分布は、日本では20~60歳代にまんべんなく発症するのに対し、米国では10~30歳代にピークを迎えその後徐々に減少する。この差はおそらく、欧米の青少年期のPNHの多くはAAから移行してくる例が多いこと¹⁰⁾【III】。またアジア症例では血栓症をはじめとするPNH症状が著明でないために診断が遅れやすいのではないかと考えられる。

2) 臨床病歴と自然歴

当班の日米比較調査による診断時の臨床所見と検査所見の比較を表6に示す⁸⁾【III】。

先行病変としてAAを伴う頻度は、日本が37.8%に対し米国が29.0%と日本がやや高かったが、骨髄異形成症候群(myelodysplastic syndrome:MDS)の頻度は5%前後で差はなかった。

診断時初発症状の頻度は、造血不全症状と考えられる貧血、白血球(好中球)減少、血小板減少は日本で有意に高かったが、PNHの古典的症状と考えられるヘモグロビン尿、感染症、血栓症は米国で有意に高かった。

診断時検査所見も同様に、造血不全を反映するへ

表5 PNH 発症の地域的性差の比較

著者	国	症例数	男性数 / 女性数	男女比
Le X et al ³⁾	中国	476	400/76	5.3
Huang WX et al ⁴⁾	中国	128	96/32	3.0
Kruatrache M et al ⁵⁾	タイ	85	62/23	2.7
Hillmen P et al ⁶⁾	英国	80	33/47	0.7
Socie G et al ⁷⁾	フランス	220	100/120	0.8
Nishimura J et al ⁸⁾	米国	176	77/99	0.8
	日本	209	118/91	1.3
Fujioka S et al ⁹⁾	日本	133	73/60	1.2

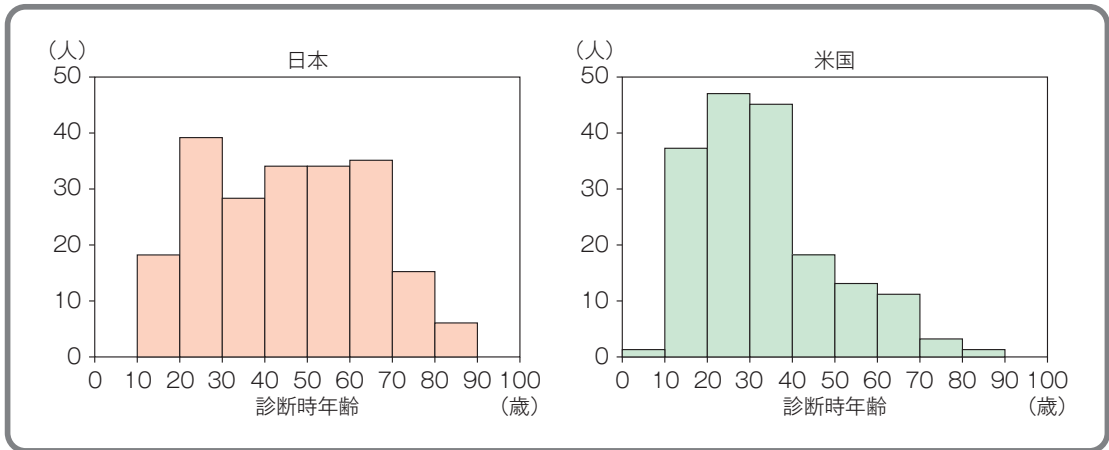


図1 日本と米国におけるPNH患者の診断時年齢
(文献8より引用)

モグロビン、白血球数、好中球数、血小板数は日本でより異常低値の傾向を示したのに対し、溶血を反映する網赤血球、LDHは米国でより異常高値の傾向を示した。

当班の日米比較調査による臨床経過の比較についても同様に表7に示す⁸⁾【III】。

経過中の合併症としては、PNHの古典的症状である血栓症、重症感染症は有意に米国に多かったものの、造血不全の頻度には差はなかった。

以上のことは、アジア症例では造血不全症状が主体であるのに対し、欧米例では古典的なPNH症状が前面に出ていることを示しているものと思われた。

3) 自然寛解

PNHでは自然寛解が起こりうるというのも特徴の

ひとつであるが、その頻度に関しては、英国の15%という非常に高い報告もあるものの⁶⁾【III】、フランスの報告⁷⁾【II】でも当班の日米比較調査⁸⁾【III】でもせいぜい5%までであった。これは、診断基準の曖昧さとあいまって、さらに寛解基準の曖昧さが事を複雑にしており、これらの国際的な基準の整備が急務である。英国の80例の報告では、自然寛解と診断された12例について可能な限り詳細に解析して、赤血球や好中球でPNHタイプ細胞が消失しても、少数のPNHタイプ細胞がリンパ球には残ることが指摘されている⁶⁾。おそらくこれは、リンパ系細胞の寿命が長いために、PNH幹細胞クローンが死滅しても、リンパ系PNHクローンは生き残るものと理解される⁹⁾。

表 6 日本と米国における診断時の臨床所見と検査所見

	日本	米国
先行病変 [症例数 (%)]		
再生不良性貧血	79 (37.8)	51 (29.0)
骨髓異形成症候群	10 (4.8)	9 (5.1)
初発症状 [症例数 (%)]		
ヘモグロビン尿*	70 (33.5)	88 (50.0)
貧血*	197 (94.3)	155 (88.1)
白血球 (好中球) 減少*	151 (72.3)	80 (45.5)
血小板減少*	132 (63.2)	92 (52.3)
感染症*	7 (3.4)	24 (13.6)
血栓症*	13 (6.2)	34 (19.3)
検査所見 [Mean ± S.E.]		
HGB (g/dL) *	8.2 ± 0.2	9.7 ± 0.2
網赤血球数 (×10 ⁹ /L) *	78.3 ± 6.2	195.3 ± 13.1
白血球数 (×10 ⁶ /L) *	3475.3 ± 137.5	4947 ± 198.6
好中球数 (×10 ⁶ /L) *	1781.6 ± 132.5	3005.1 ± 156.4
血小板数 (×10 ⁹ /L) *	96.0 ± 5.8	140.1 ± 8.6
LDH (U/L)	1572.3 ± 91.7	2337.2 ± 405.6

* : $p < 0.05$
(文献 8 より引用)

表 7 日本と米国における臨床経過

	日本	米国
合併症 [症例数 (%)]		
造血不全	76 (36.4)	58 (33.0)
血栓症*	9 (4.3)	56 (31.8)
重症感染症*	19 (9.1)	32 (18.2)
骨髓異形成症候群	8 (3.8)	6 (3.4)
白血病	6 (2.9)	1 (0.6)
腎不全	22 (10.5)	16 (9.1)

* : $p < 0.05$
(文献 8 より引用)

4) 死 因

当班の日米比較調査による死因別統計を表 8 に示す⁸⁾【Ⅲ】.

死因別統計の内訳はアジアと欧米では大きく異なっており, アジア症例では出血が多く(10~40%), 血栓症が少ない(10%未満)^{3,8,10)}. 一方欧米例では,

血栓症が多く(30%以上), 出血が少ない(20%未満)という特徴がある^{6~8)}.

5) 生存期間

当班の日米比較調査による診断後の生存率曲線(Kaplan-Meier 法)を図 2 に示す⁸⁾【Ⅲ】.

表 8 日本と米国における死因別統計

	日本	米国
死因 [症例数 (%)]		
出血	9 (23.7)	4 (10.5)
重症感染症	14 (36.8)	14 (36.8)
血栓症*	3 (7.9)	16 (42.1)
骨髄異形成症候群 / 白血病	6 (15.8)	3 (7.9)
腎不全	7 (18.4)	3 (7.9)
癌	2 (5.3)	2 (5.3)
原因不明	0	2 (5.3)

* : $p < 0.05$
(文献 8 より引用)

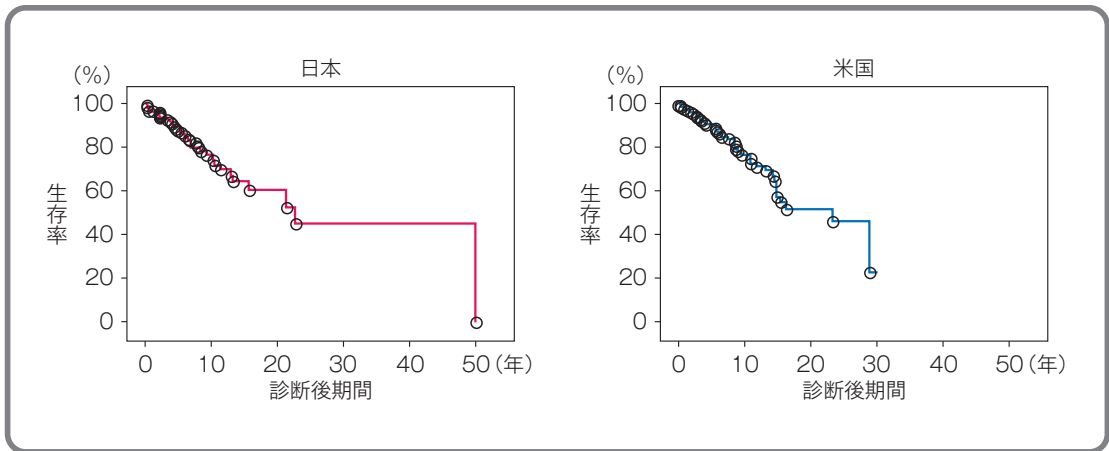


図 2 日本と米国における診断後の生存率曲線 (Kaplan-Meier 法)

(文献 8 より引用)

診断後の平均生存期間は、日本が 32.1 年と米国の 19.4 年に対し長かったが、50% 生存期間では、日本が 25.0 年、米国が 23.3 年と差はなく、Kaplan-Meier の生存曲線でも統計的に有意差はなかった。しかしながら、これまでに報告された 50% 生存期間と比べると、比較的長いものであった [フランス (14.6 年)^{7) 【II】}, 英国 (10.0 年)^{6) 【III】}, 日本 (16.0 年)^{10) 【III】}, 米国小児例 (13.5 年)^{11) 【III】}].

6) 長期予後

フランスの予後因子の多変量解析 (220 例) によると、①血栓症の発症 [相対死亡危険率 (RR) = 10.2], ②汎血球減少症への進展 (RR = 5.5), ③MDS/急性白血病 (acute leukemia : AL) の発症 (RR = 19.1), ④診

断時年齢 55 歳以上 (RR = 4.0), ⑤複数の治療必要症例 (RR = 2.1), ⑥診断時の血小板減少 (RR = 2.2) の 6 項目が予後不良因子として示された^{7) 【II】}. また一方で、AA から発症の PNH は予後良好であった (RR = 0.32). これらの患者は典型的には免疫抑制薬によりいったん造血能が回復しており、その後 PNH クローンが出現してくることが多く、クローンの比率は総じて低い。すなわち PNH 症状、造血不全症状いずれも緩徐な経過をとりうるのだらうと推察される。また診断時に既に血栓症の既往のある患者の 4 年生存率は 40% と低く、このような症例では診断時から造血幹細胞移植 (hematopoietic stem cell transplantation : HST) を念頭にドナー検索を開始することが推奨される。しかしながらアジア例では欧米例

表9 日本と米国における生命予後不良因子

	日本		米国	
	p 値	寄与度	p 値	寄与度
診断時				
50 歳以上	< 0.0001	9.5	< 0.0001	14.4
重症白血球(好中球)減少症	< 0.0001	16.3	< 0.0001	30.5
血栓症	0.2	1.3	0.0072	6.1
骨髓異形成症候群の既往	0.7	0.1	0.005	7.7
合併症				
血栓症	0.052	3.6	0.004	5.4
重症感染症	0.0007	10.1	0.03	3.7
骨髓異形成症候群	0.03	4.6	0.9	1.4
腎不全	0.003	7.7	0.4	0.5

(文献8より引用)

ほど血栓症が多くなり、その一方で造血不全症状が強いなどの特徴があり、欧米の報告をそのまま適応できないことも頭の片隅に入れておかなければならない。

当班の日米比較調査によると、日米に共通する予後不良因子は、①診断時年齢50歳以上、②診断時重症白血球(好中球)減少症、③重症感染症の合併であった(表9)⁸⁾【III】。米国例のみの因子は、①診断時血栓症の既往、②診断時MDSの既往、③血栓症の発症で、日本例のみの因子は、①MDSの発症、②腎不全の発症であった。血栓症は日本例においても重篤な合併症であるが、頻度が低く予後不良因子として検出するには至らなかったと思われる。

6. 病因・病態

1) 溶血機序

PNHの最初の報告は、1866年のGullにさかのぼり¹²⁾、1882年Strübingによって就寝後の血管内溶血によるヘモグロビン尿症としての疾患概念が確立された¹³⁾。その後、Hamにより患者赤血球の補体に対する感受性亢進が指摘されたが¹⁴⁾、溶血の詳細な機序は長らく不明であった。1983年になり補体制御因子であるCD55(decay-accelerating factor:DAF)が患者赤血球で欠損していることが明らかになり^{15,16)}、続いて補体活性化の後期段階を制御しているCD59(membrane inhibitor of reactive lysis:MIRL)の欠損も判明し^{17,18)}、PNHの溶血は補体制御因子の欠損

によることが判明した。CD55はC3/C5転換酵素の崩壊を促進することによって補体活性化経路の前半の段階を調節するのに対し¹⁹⁾、CD59はC9に作用して膜侵襲複合体(membrane attack complex:MAC)の形成を阻害する(図3)^{20,21)}。CD55の遺伝的な欠損症(Inab表現型)で、CD59の正常な個体においては補体感受性亢進による溶血はみられない²²⁾。また、逆にCD59の先天性欠損症で、CD55が正常な個体ではPNHと識別できない溶血症状がみられる²³⁾。これらのことから、PIG-A変異によりCD55とCD59の両者が欠損するPNH血球の溶血にはCD59欠損が決定的な役割を果たすと考えられる。PNH患者で、たまたまC9欠損を伴った患者ではPNH赤血球が95%であっても溶血症状を伴わなかったこともこのことを支持する²⁴⁾。

このように、補体に弱いPNH血球の膜異常の詳細は明らかにされたが、補体溶血を誘導する補体活性化機構については不明な点が多い。患者では、平常でもわずかな補体活性化による持続的な溶血がみられるが、感染症、睡眠、手術、妊娠、ビタミンC大量摂取²⁵⁾、鉄剤投与、輸血など様々な誘因により強い補体活性化が起こると、短時間で大量溶血(溶血発作)をきたす。これら誘因のなかでも、臨床的にしばしば問題となるのは感染症である。補体活性化の程度は必ずしも感染症の重症度とは関係なく、軽い上気道炎や胃腸炎でも重篤な溶血発作が誘発されることがあり注意を要する。この感染症誘発性溶血は、感染に伴う赤血球膜抗原の変化から隠蔽抗原

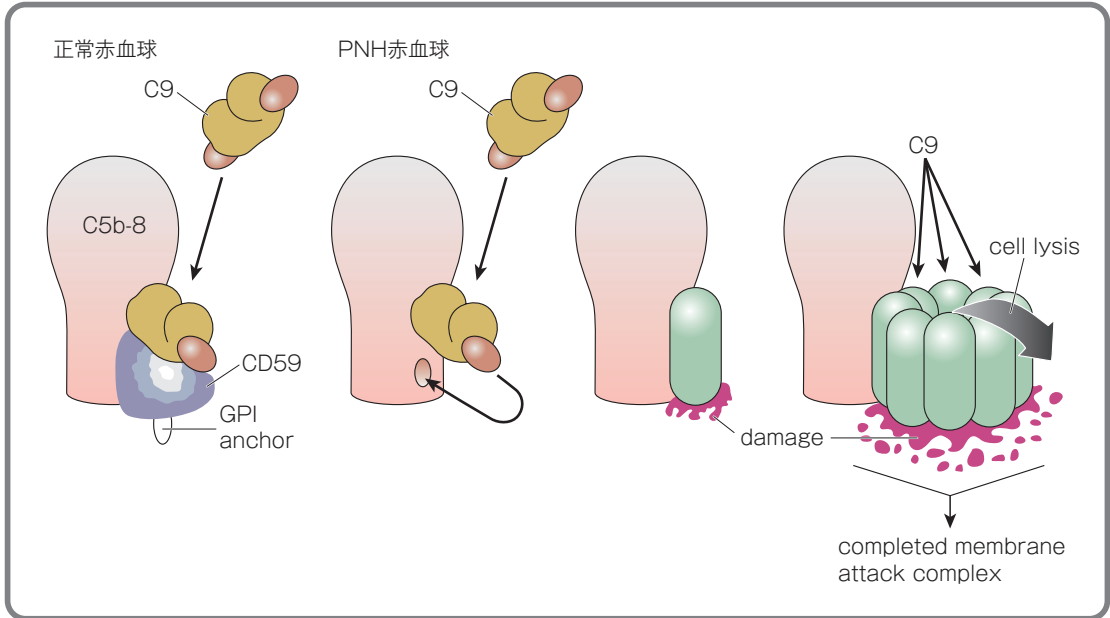


図3 補体溶血のメカニズム

が露出され、これに対する自己血清中の自然抗体が結合することで補体の古典経路が活性化されるためにPNH血球が選択的溶血を起こすと説明されている²⁶⁾。

夜間の溶血亢進に関しては、睡眠中の呼吸数減少により血中CO₂が蓄積し酸性に傾くために補体が活性化されるという説や^{27,28)}、夜間の腸蠕動運動低下によりlipopolysaccharide (LPS) などエンドトキシン吸収が増大し、これが補体を活性化するという説²⁹⁾で説明されてきた。また、鉄剤投与による溶血亢進は、血管内溶血による鉄欠乏状態で鉄剤を投与すると造血が促進され、補体に弱いPNH赤血球が増大するためであると理解される。

2) 病因遺伝子

PNH血球ではグリコシルホスファチジルイノシトール (GPI) といわれる糖脂質を利用して細胞膜に結合するGPIアンカー型蛋白 (GPI-AP) すべてが欠落していることがわかっていたが、個々のGPI-APの構造遺伝子は正常であったので^{30,31)}、PNH血球におけるGPI-AP欠損の原因はアンカー部分の合成にかかわる遺伝子変異と考えられた。木下らは、PNH患者から樹立したBリン芽球株の詳細な解析から³²⁾、PNHの異常はホスファチジルイノシトールにN-アセチルグルコサミンを付加する最初のステップに異常を持つ相補性クラスAの変異であることを突き止

め^{33~35)}、発現クローニング法を用いこの異常を相補する遺伝子 *phosphatidylinositolglycan-classA (PIG-A)* をPNHの責任遺伝子として報告した^{36~38)}。現在までに報告された各国のPNH 147例全例で、178のPIG-A変異が同定されている (図4)³⁹⁾。1塩基置換と1塩基挿入・欠失が多く、2塩基までの異常が82%を占めた (表10)。変異様式は多種多様で翻訳領域とスプライス部位に広く分布し hot spot は存在せず、変異の結果フレームシフトを起こす例が57%と大部分を占めた (表10)。23例で複数の異常クローンを認め、うち2例では4種の異常クローンが同一患者から同定され、PNHは従来理解されていたような単クローン性というよりはむしろオリゴクローン性の疾患であることがわかった (表10)。

3) PNH クローン拡大機序

PIG-A変異を持ったPNH造血幹細胞クローンが拡大してはじめてPNH特有の様々な症状を発現するわけであるが、マウス相同遺伝子 *Pig-a* を破壊したPNHモデルマウスを作成し、長期間観察しても異常クローンの拡大は観察されないことから、PNHの発症にはPIG-A変異だけでは不十分だと考えられる^{40~44)}。PNHは汎血球減少を示す例が多く、何らかの造血不全を伴っている。AAの経過中にPNHの発症をみるAA-PNH症候群は古くから知られ、AAとPNHの関連が指摘されてきた⁴⁵⁾。従来長期生存が不

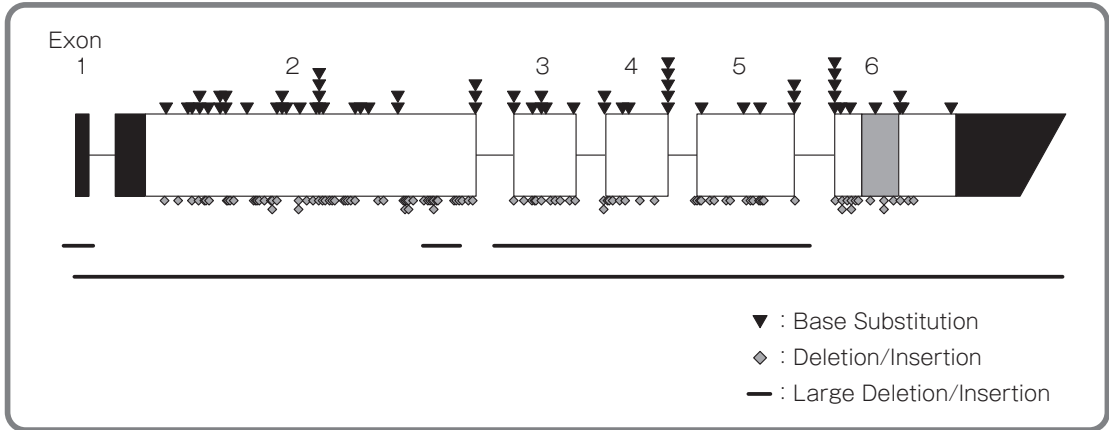


図4 各国のPNH患者147例で同定された178のPIG-A遺伝子変異の分布
(文献39より引用)

表10 各国のPNH患者147例で同定された178のPIG-A遺伝子変異サマリー

I. type		II. consequence		III. clonality	
type	number	consequence	number	clonality	number
base substitution	65	frameshift	102	mono	121
deletion		missense	32	oligo	
1 nt	48	nonsense	18	two	19
2 nt	10	altered splicing	22	three	2
3 nt	13	in-frame deletion/insertion	4	four	2
insertion					
1 nt	20				
2 nt	3				
3 nt	8				
others	11				
total	178	total	178	total	144

nt : nucleotide
(文献39より引用)

可能であった重症AAに、抗胸腺細胞グロブリン (anti-thymocyte globulin : ATG)、抗リンパ球グロブリン (anti-lymphocyte globulin : ALG) などの免疫抑制療法が開発され、長期生存可能となった。これらのAA患者は免疫学的機序により幹細胞が傷害を受け造血不全が生じたと考えられるが、これらの患者の多くは(13~52%)、PNH血球(1%以上)を持っていることが1990年代に入り相次いで報告されている⁴⁶⁻⁵²⁾【Ⅲ】。このことから、PNHクローンは免疫学的障害を受けにくく相対的に増加すると考えられた。

現在考えられているPNHクローンの拡大機序を図5に示す。まず造血幹細胞にPIG-A変異が起こる(step 1)。これは健常人でも比較的好く起こっている

ことが最近示されているが⁵³⁾、これだけではPNHクローンは拡大せずPNHの症状もみえてこない。そこにAAで起こるような免疫学的攻撃が加わると、おそらくGPI陰性幹細胞はこの攻撃から逃れ、PNHクローンの全体に占める割合は相対的に増加する(step 2)。しかしながら、AAから発症してきたPNHや高度な造血不全を伴うPNHではPNH細胞の割合がせいぜい30%くらいまでで、その後も急激な増加をすることもなく長期にわたり安定している例がほとんどであることを考えると、これだけでは古典的なPNH (florid PNH) を説明することは不十分である。おそらく、step 2で相対的に増加したPNH幹細胞が造血を支持するために増殖を繰り返す過程で、良性腫瘍的に増殖を誘導するような付加的な異常が

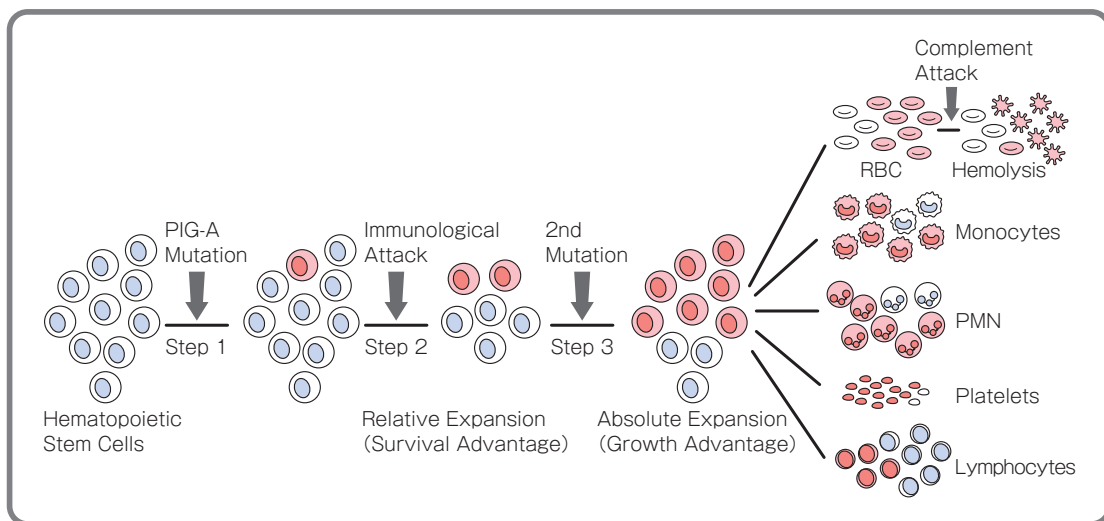


図5 PNH クローンの拡大機序 — 多段階説

PNH クローンが拡大して症状を呈するには複数の step が必要である。

step 1: PIG-A 変異が造血幹細胞に起こる

step 2: 免疫学的攻撃による正常幹細胞の減少と PNH 幹細胞の相対的増加

step 3: 第2の異常による PNH 幹細胞のクローン性拡大

加わり、さらなる増加を誘導し最終的に骨髓、末梢血ともに PNH 細胞に凌駕されて病態は完成する (step 3)。

造血障害を引き起こす免疫学的傷害のターゲットとして GPI-AP を介していれば、GPI-AP を発現する正常幹細胞は傷害されるのに対し、GPI-AP を欠損する幹細胞はこの傷害を免れることになり、PNH クローンの拡大機序を説明するうえで大変魅力的な説である。

Maciejewski らは、PNH だけでなく GPI 陰性細胞を持つ AA や MDS において、MHC クラス II の DR2 型を持つ症例の頻度が健常者と比較して高いことを報告した⁵⁴⁾【III】。さらに、七島らは、日本の PNH 21 症例を調べ、DR2 に含まれる遺伝子型のうち DRB1*1501 と DRB1*1502 遺伝子型をそれぞれ 13 例と 6 例の PNH 症例が持つことを報告した⁵⁵⁾【III】。また、これらの症例のうち、13 例は DRB1*1501-DQA1*0120-DQB1*0602 のハプロタイプを持っていた。中尾らは、0.003% 以上の GPI 陰性細胞を持つ MDS (RA) 症例 21 例のうち、19 例が DRB1*1501 または 1502 遺伝子型を持ち、シクロスポリン療法に対し反応性であることを報告した⁵⁶⁾【III】。

以上より、PNH, AA, MDS において、GPI 陰性細胞が免疫学的な機序により増加する原因の遺伝的背景に、MHC クラス II 遺伝子型の関与があり、それらを認識する CD4 陽性 T 細胞がかかわっている可

能性が示唆された。

木下らは、標的細胞の抗原が GPI-AP の場合と GPI-AP がコファクターとして機能している場合についてのモデル実験を組み立て、GPI 欠損細胞は、GPI-AP 由来のペプチドを効率よく MHC クラス II の上に呈示できないこと、GPI 欠損細胞は、コファクターである未知の GPI-AP が欠損するために、陽性細胞に比し CD4 陽性の細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) に対して抵抗性であることを示した⁵⁷⁾。一方、中熊らは自己細胞傷害性リンパ球として NK 細胞を想定し、GPI 陰性細胞は陽性細胞に比し NK 細胞による傷害を受けにくいことを示した⁵⁸⁾。この NK 攻撃の標的分子として GPI-AP の ULBP が候補にあげられ⁵⁹⁾、さらに ULBP および MICA/B を認識する NKG2D 受容体陽性免疫細胞による造血障害が提唱されている⁶⁰⁾。しかしながら、CTL に対して GPI 陰性細胞と陽性細胞の間で差がないという報告もあり⁶¹⁾、GPI-AP 陰性幹細胞が CTL に対して抵抗性であるかどうかについては結論が出ていない。

Brodsky らにより、GPI 陰性細胞は陽性細胞に比しアポトーシス耐性であるとの報告がなされ、この現象は解決されたかにもえたが⁶²⁾、その後、耐性の程度は GPI-AP 発現の有無には関係なく、このアポトーシス耐性は PNH クローン特有のものではなく AA や MDS など造血不全症候群に共通の現象であるとの報告が相次いだ^{63,64)}。その後、アポトーシス耐性

についても、PNH 患者細胞と健常人細胞との間で差がないとの報告もあり⁶⁵⁾、この点についてもいまだ混沌としている状態である。

また、七島らはウィルムス腫瘍遺伝子 (Willms' tumor gene: *WT1*) がPNH 患者の骨髓細胞において、健常者およびAA 患者と比較して有意に高発現していることを見出した⁵⁵⁾【III】。さらにPNH クローンの増殖(生存)優位性を説明しうる遺伝子として、Schubert らは *early growth response factor 1 (EGR-1)* 遺伝子と *TAX-responsive enhancer element binding protein (TAXREB107)* 遺伝子を⁶⁶⁾、Ware らは *human A1, hHR23B, Mcl-1, RhoA* 遺伝子をそれぞれ報告している⁶⁷⁾。井上らは、12 番染色体異常を有し、PNH 細胞のクローン性拡大のみられた患者の詳細な解析から、この拡大には良性腫瘍の原因遺伝子として知られている *HMGA2* 遺伝子の異所性発現が関与している可能性を示した⁶⁸⁾。さらに20 例の好中球を解析した結果約40%の症例で *HMGA2* 遺伝子の高発現がみられた⁶⁹⁾。興味深いことに、これらの遺伝子のうち、*EGR-1* 遺伝子と *HMGA2* 遺伝子が *RhoA* 遺伝子により調節されているという報告がなされ⁷⁰⁾、個別に候補遺伝子として同定されていた3つの遺伝子が1つの現象としてつながる可能性も出てきた。

7. 症状および臨床経過

1) 溶血(ヘモグロビン尿)および関連事項

古典的な記載では、早朝の赤褐色尿(ヘモグロビン尿)が特徴とされる。溶血が軽度の場合は尿の着色のみで無症状のこともあるが、大量の溶血では急性腎不全を起こし透析が必要となる場合もある。また、肉眼的ヘモグロビン尿を認める患者でも、その程度は変化する。溶血の重症度は異常赤血球の絶対量と補体活性化の程度に依存し、溶血量は血清LDHに反映される。間接型ビリルビン優位の軽微な黄疸を認める。感染症などが溶血発作の誘因となることもある。日米比較によると、診断時にヘモグロビン尿を呈する例は米国例では50%であるのに対し日本例では34%と低率であった(表6)⁸⁾【III】。

PNHでは高頻度に貧血を認める。先の日米比較調査では、日本での貧血の頻度は94%(米国88%)、ヘモグロビン濃度は平均8.2g/dL(米国9.7g/dL)であった。米国に比べ日本のPNHは貧血傾向が強いが、これは日本での症例で造血不全の合併頻度が高いことを反映していると考えられる。

血管内溶血により放出される遊離ヘモグロビンは、PNHの様々な症状に少なからず影響している。PNH患者が嚥下困難と上胸部の痛み(食道痙攣)を

訴えることがあり、しばしば溶血発作(ヘモグロビン尿)と連動する。従来は上部消化管の微小血栓によると理解されてきたが、現在では溶血による遊離ヘモグロビンが一酸化窒素(NO)を吸着するためと考えられている。NOには平滑筋を弛緩させる作用があるが、溶血によりヘモグロビンが遊離すると、大量のNOを容易に吸着し、その結果として平滑筋の収縮をもたらすわけである⁷¹⁾。事実、このような患者では食道内圧の上昇が確認されている。NOの供給源となるニトログリセリン製剤やNO産生を促進するシルデナフィル(バイアグラ)の投与によって症状が軽快する症例が多いことから、NO原因説は支持される。また男性患者によく尋ねてみると、ヘモグロビン尿をきたしているときに勃起障害になっていることが多い。これも遊離ヘモグロビンによるNOの吸着が原因と考えられる。

補体性溶血に起因するPNH赤血球膜変化や遊離ヘモグロビンによるNO吸着は、後述の血栓症の発症の病因としても重要である。PNHのほか、鎌型赤血球症や血栓性血小板減少性紫斑病など血管内溶血性疾患における易血栓性にはNO欠乏の機序が関与していると考えられる⁷²⁾。

2) 造血不全

PNHにおける造血障害は古くから知られており、DacieとLewisはAAとして発症し、その経過中にPNHに特徴的な症状を示す症例が少なからず存在することに注目し、これをAA-PNH症候群と命名した⁴⁵⁾。免疫抑制療法の進歩に伴い長期生存が可能となったAA患者の多くは、晩期合併症としてPNHを発症してくることがわかってきた。

井上が、1988年から1990年の間に報告された3編の論文内容を検討したところ⁷³⁾、総計700例を超すAA患者の4~9%が古典的診断法によるPNHに進展していた^{74~76)}。1994年から1995年になるとフローサイトメトリーによるPNH細胞の同定法が普及したが、この方法を用いて行われた118例(3報告の合計)の検討では、経過観察中、1%以上のPNH血球(好中球ないしは赤血球)を有するAAの割合は35~52%と非常に高いことが明らかになった^{46~48)}。1998年から1999年にも同様に検討されているが、この報告では15~29%というものであった^{49~51)}。さらに最近になり、微少PNHタイプ細胞を検出するための鋭敏な方法(0.003~1%を微少PNH細胞陽性と判定)を用いると、67~89%の未治療AA患者がPNHタイプ細胞を有していると報告されている^{52,77)}。

日米比較によると、診断時にAAの既往のある症例は、診断時の白血球(好中球)減少、血小板減少と

表 11 日本と米国における血栓症の頻度

	米国 (%)	日本 (%)	p 値
Evidence of thrombosis	66/176 (37.5)	21/209 (10.0)	< 0.0001
Thrombosis at diagnosis	36/176 (19.3)	13/209 (6.2)	< 0.0001
Thrombosis as a complication	56/176 (31.8)	9/209 (4.3)	< 0.0001
Thrombosis as a cause of death	16/38 (42.1)	3/38 (7.9)	0.0006

ともに日本の症例に多かった(表 5)⁸⁾【Ⅲ】。このことはアジア症例では AA との関連性がより深いという従来の報告と一致するものであるが、その一方で晩期の造血不全の合併頻度には差がなかった(表 5)。西村らによる 9 例の PNH 症例における PNH クローンの 6~10 年後の追跡調査によると、晩期造血不全を伴う症例の経過観察期間はその他の症例に比して有意に長く、PNH タイプ細胞の割合も低下していた。したがって、晩期の造血不全は PNH クローンの増殖寿命が尽きた果ての終末像と考えられる⁷⁸⁾【Ⅲ】。

3) 異常造血 (MDS あるいは白血病への移行)

朝長らは 40 例の自験 MDS 症例を解析し、4 例(10%)に明らかな PNH 赤血球および好中球(10%以上)を見出した⁷⁹⁾【Ⅲ】。中尾らは上述の鋭敏法(0.003%以上)を用いて検索したところ、119 例の MDS (RA) 症例中 21 例(17.6%)に PNH タイプ細胞を検出した⁵⁶⁾【Ⅲ】。

日米比較によると、MDS からの移行率(5%前後)(表 6)ならびに MDS の合併率(3~4%)(表 7)ともに日米間で差はなかった⁸⁾【Ⅲ】。Araten らは 46 例の自験 PNH 症例を後方視的に解析したところ、11 例(24%)に染色体異常を認めた⁸⁰⁾【Ⅲ】。しかしながら、この 11 例のうち 7 例では経過とともに染色体異常クローンの割合は減少していった。さらに、*de novo* MDS と比較すると程度は軽いものの、染色体異常の有無にかかわらず、大多数の PNH では骨髓造血細胞に形態異常が認められた。また、これらの症例から白血病に移行したものはなかった。以上のように、PNH における MDS 所見は必ずしも悪性を意味するものではないようである。その一方で、PNH から白血病への移行も多いわけであるが、PNH における形態異常と白血病進展との関連ははっきりしない。

PNH からの白血病への進展については、これまで 5~15%程度と考えられてきたが、日米比較ではいずれも 3%程度と従来の報告より低率であった(表 7)⁸⁾【Ⅲ】。Harris らによる、1962 年以降に報告された

PNH から白血病を発症した 119 例のまとめによると、うち 104 例が非リンパ性と圧倒的に多かった。経過を追うことのできた 1,760 例の PNH 症例のうち、白血病を発症したのは 16 例(1%)で、死亡した 288 例中白血病死は 13 例(5%)であった⁸¹⁾【Ⅲ】。染色体検査の行われた 32 例中、染色体異常を持つものは 7 例で、この 7 例中 5 例が PNH クローンであった。PNH からの白血病発症例では、白血病細胞は GPI 陰性であることが多く、PNH 赤血球の消失がまず先行し、一定期間の骨髓異形成期が同定できる例が多かった。

4) 血栓症

血栓症はほかの溶血性貧血にはない PNH に特異的な合併症で、その多くは深部静脈血栓症の形をとる。頻度が高く重篤な血栓部位としては、腹腔内(Budd-Chiari 症候群、腸間膜静脈)や頭蓋内(脳静脈)であるが、特殊な部位(皮膚静脈、副睾丸静脈)にも起こる。日米比較によると、米国例では初発症の 19%が血栓症であるのに対して、日本の症例では 6%に過ぎなかった(表 6)。発症後の合併症ならびに死因を含めた全経過でも、米国例の 38%に対して、日本の症例は 10%と有意に低頻度であった(表 11)。

血栓症発症の機序については、今のところ十分に解明されているとは言い難い。赤血球が溶血すると、phosphatidyl serine (PS) が露出し血栓形成の引き金となりうる⁸²⁾。また、血小板自身も CD59 などの補体制御因子を欠損しており、血小板表面で補体が活性化されると容易に血栓傾向に傾く⁸³⁾。さらに、PNH の単球や好中球では GPI-AP であるウロキナーゼ・レセプターが欠損するが、その反面可溶型のウロキナーゼ・レセプターが血中に増加しており、これが競合的に働き線溶系を抑制し、血栓傾向に傾くという報告もある⁸⁴⁾。また、PNH を代表とする血管内溶血性疾患では遊離ヘモグロビンの血中増加が NO の吸着を介して易血栓性に寄与していると考えられる。以上のどれもがおそらく正しいと思われる

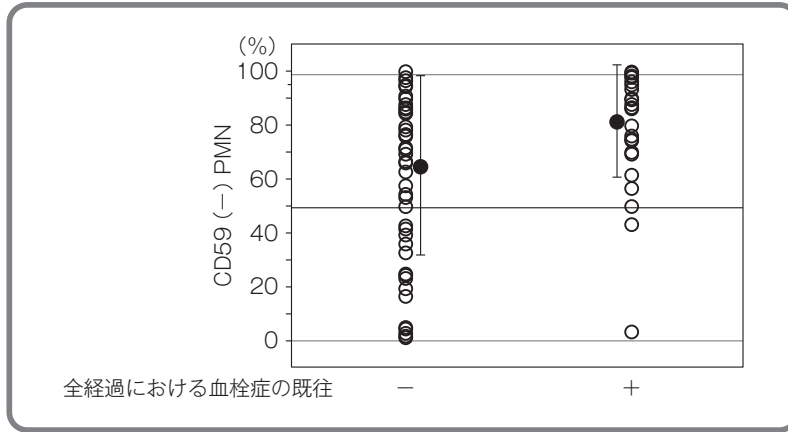


図6 米国PNH患者の好中球CD59欠損率と血栓症
(文献8より引用)

が、今回の日米比較により、血栓症を経過中に発症した米国例では発症しない例に比べ、明らかに赤血球と好中球分画のPNH細胞の割合が高かった(図6)⁸⁾【Ⅲ】。血栓症を発症した例のほとんどは50%以上の異常好中球を有する症例であり、同様の結果が別々の施設からも報告されている^{85,86)}。それでは日本の症例ではどうかというと、50%以上の異常好中球が存在しても、決して血栓症を起こしやすいということはなく、おそらく人種間で血栓症関連遺伝子群の先天性変異などによりリスクに違いがあるものと思われる。

臨床的にエクリズマブ(ソリリス)のPNH症例への投与が溶血のみならず血栓症の発症リスクを低下させることが報告された^{87,88)}【Ⅲ】。このことは、補体活性化とそれに伴う血管内溶血が血栓症の発症に深く関与していることを示していると考えられる。

5) 感染症

発症時に感染症を呈することは比較的低頻度(日本で3.4%, 米国で13.6%)ながら、経過中に重症感染を発症することがある(日本で9.1%, 米国で18.2%)⁸⁾【Ⅲ】。顆粒球や単球におけるGPI-AP(FcγR-ⅢやCD14)の欠失は顆粒球や単球の機能的な異常を示唆しているものの、多くの症例においては白血球の数的減少が感染症の合併リスクとしては重要であると考えられている。

8. 検査

1) フローサイトメトリー

(1) PNHタイプ血球の検出法

PNHタイプ赤血球(補体感受性赤血球)の検出には、Ham試験(酸性化血清溶血試験)と砂糖水試験(または蔗糖溶血試験)が主に用いられてきた。Ham試験は、酸性化(pH 6.5~7.0)することにより補体を活性化した血清を用い、補体による溶血度を測定する検査である⁸⁹⁾。砂糖水試験というのは、イオン強度を下げることにより赤血球に吸着された補体と赤血球膜との結合性を高め、補体溶血を測定する検査である⁹⁰⁾。いずれも、5~10%以上の溶血で陽性と判定し、古典的なPNH症例の場合は10~80%の溶血を示す。Ham試験のほうが特異性は高く、砂糖水試験では、巨赤芽球性貧血、自己免疫性溶血性貧血などで偽陽性を示すことがある。また、hereditary erythroblast multinuclearity associated with a positive acidified serum test (HEMPAS)という極めて稀な先天性貧血(CDAⅡ型)でHam試験陽性、砂糖水試験陰性を呈することは有名である。これは、患者赤血球がHEMPAS抗原を持ち、健常者血清中にはHEMPAS抗体(IgM)が存在するため、自己血清か、自己赤血球で吸着した血清を用いると反応は陰性化するので、PNHとは鑑別可能である。

上記と同様の原理で、希釈血清補体系列を用いた溶血反応により得られた補体溶血感受性曲線を解析する補体溶血感受性試験(complement lysis sensitivity test: CLSテスト)が、Rosse & Dacieにより開発され⁹¹⁾、かなりの症例で補体感受性赤血球(typeⅢ)

表 12 PNH 血球で欠損している GPI-AP

蛋白	発現分布
補体制御因子	
Decay accelerating factor (DAF, CD55) Membrane inhibitor of reactive lysis (MIRL, CD59, MACIF, HRF20)	All All
酵素	
Acetylcholinesterase (AChE) Neutrophil alkaline phosphatase (NAP) 5'-ectonucleotidase (CD73) ADP ribose hydrase (CD157, Ecto-enzyme)	E G L Str, G, Mo
レセプター	
Fcγ receptor III B (CD16B) Urokinase-type plasminogen activator receptor (UPAR, CD58) Endotoxin binding protein receptor (CD14)	G G, Mo Mo, Ma
接着因子	
Lymphocyte function-associated antigen-3 (LFA-3, CD58) Blast-1 (CD48) CD66b (formerly CD67), CD66c CD108 (JHM blood group antigen) GPI-80	E, G, L L, Mo G E G
その他	
Campath-1 (CD52) CD24 Thy-1 (CD90) CD109 p50-80 GP500 GP175 Eosinophil-derived neurotoxin Cellular prion protein	L, Mo G, L Stm L, P G P P G G, Mo, P

All: 全血球系統, E: 赤血球, G: 顆粒球, L: リンパ球, Mo: 単球, Ma: マクロファージ, P: 血小板, Stm: 骨髄幹細胞, Str: 骨髄ストローマ

と正常赤血球 (type I) との中間の感受性を持つ赤血球 (type II) が存在することが示された。このことは PNH がオリゴクローン性の疾患であることを示唆するものであるが、実際に *PIG-A* 遺伝子変異の解析からもこのことが支持されている³⁹⁾。

上述のように PNH 赤血球では補体感受性が亢進していることが古くからわかっていたが、なぜ補体感受性が亢進するのかという機序は長らく不明であった。1983 年になり補体制御因子である CD55 が患者赤血球で欠損していることが明らかになり^{15,16)}、続いて CD59 の欠損も判明し^{17,18)}、PNH の溶血は補体制御因子の欠損によることが判明した。ほぼ同時期に、PNH 血球ではこれらの蛋白のみならず様々な蛋白が欠損していることが相次いで判明し、これら

の欠損蛋白はすべて GPI といわれる糖脂質を介して細胞膜に結合する GPI-AP と呼ばれる蛋白群であった。PNH 血球で欠損している GPI-AP を表 12 に示す。

これらの蛋白に対する標識抗体を用いて PNH タイプ血球を検出するフローサイトメトリー法が、1990 年代に入り普及し、世界的に診断の主流となりつつある。用いる抗体としては、CD55 と CD59 が全血球に発現しており、汎用されている。七島らと Rosse らのグループはそれぞれ、これらの抗体を用いて、CLS テストで検出される type II 赤血球とほぼ対応する中間型発現赤血球が検出されることを示した^{92,93)}。GPI 欠損細胞の割合は各血球系統でまちまちであるが、一般的には好中球、赤血球、リンパ球の

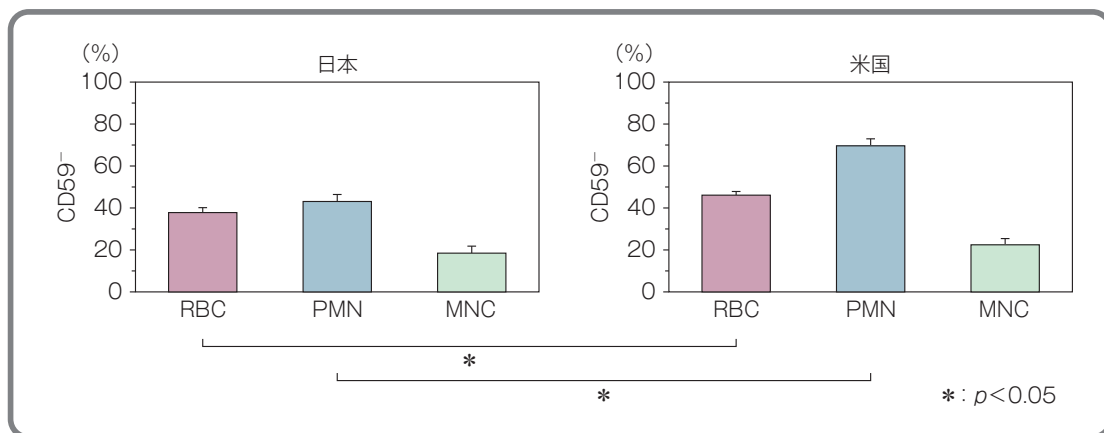


図7 日本と米国のPNH患者における初回解析時のCD59欠損率

(文献8より引用)

順に欠損細胞の割合が高いと報告されている⁹⁴⁾。実際に日米比較でも、初回解析時(診断時)のCD59の欠損率は、日本では好中球で $42.8 \pm 3.7\%$ ($n=90$)、赤血球で $37.8 \pm 2.4\%$ ($n=151$)、リンパ球で $18.1 \pm 3.3\%$ であった(図7)⁸⁾【Ⅲ】。米国では好中球で $68.6 \pm 3.3\%$ ($n=98$)、赤血球で $45.0 \pm 2.3\%$ ($n=164$)、リンパ球で $21.6 \pm 2.7\%$ であった。各血球系統別に欠損率を比較してみると、日米いずれにおいても、好中球、赤血球、リンパ球の順に高かったが、日本と米国を比較すると赤血球と好中球において米国が有意に高かった(赤血球： $p=0.03$ 、好中球： $p<0.0001$)。また中熊らは、AAからPNHを発症したまさにその瞬間を捉え、一般的にPNHタイプ血球は、骨髓細胞、末梢血白血球、赤血球の順に出現すると報告している⁹⁵⁾。すなわち、PNHタイプ血球を早期に検出するためには、末梢血好中球を用いることが推奨される。さらに、好中球は輸血の影響を受けないので、PNHタイプ血球の比率を経過観察するうえでも推奨される。

ある貧血または骨髓不全患者において明らかな溶血所見がみられる場合、それがPNHによるものかどうかを診断するために行うフローサイトメトリーは、検査会社で委託検査として行われている従来法で十分である。一方、ある患者の骨髓不全が、PNHタイプ血球の増加を伴うものか、そうでないかを判断するためには、0.01%前後のPNHタイプ血球を正確に定量できる高精度法を用いる必要がある^{56,96,97)}。これは、PNHタイプ顆粒球陽性骨髓不全症例におけるPNHタイプ顆粒球割合の中央値が0.2%前後であり、陽性と判定される症例の約8割では、PNHタイプ顆粒球の割合が1%に満たないためである⁹⁸⁾。

PNHタイプ顆粒球が1%以上検出される場合にのみ「陽性」と判定する従来法では、これらのPNHタイプ血球陽性症例が「陰性」と判定されてしまう。

血球系統に特異的なマーカー(たとえば顆粒球ではCD11b、赤血球ではグリコフォリンA)に対する抗体と、抗CD55および抗CD59に対する抗体を用い、死細胞を除いて慎重にゲーティングすれば、健康コントロールと「PNHタイプ顆粒球増加例」「PNHタイプ赤血球増加例」との境界をそれぞれ0.003%、0.005%まで下げることができる。ただし、採血から時間が経過した検体では、CD11bやグリコフォリンAの発現レベルが低い「偽」のCD55陰性CD59陰性血球が左上の分画に出ることがある。この偽PNHタイプ血球は、系統マーカーの発現レベルが均一であるためドットがほぼ水平に並ぶ真のPNHタイプ血球とは異なる分布パターンを示す。このため習熟した検査担当者であれば容易に除外することができる。この偽PNH型血球の出現は、抗GPI-AP蛋白抗体の代わりにfluorescent-labeled inactive toxin aerolysin (FLAER)を用いることによって大幅に軽減することができる⁹⁷⁾。このFLAERは、遺伝子組換えアエロリジンと呼ばれる蛍光細菌蛋白で、細胞表面上のGPIAPのアンカー部分に特異的に結合する^{1,99-102)}。ただし、FLAERはそれ自身が溶血を起こすため、赤血球の解析には使えないという難点がある。

PNH形質の血球は、1%以下の場合でも通常は顆粒球(G)、赤血球(E)、単球(M)、T細胞(T)、B細胞(B)、NK細胞(NK)、血小板(P)など多系統の血球に、種々の組み合わせで検出されるが、最も頻度が高いのはGEMパターンである。PNHタイプ血球

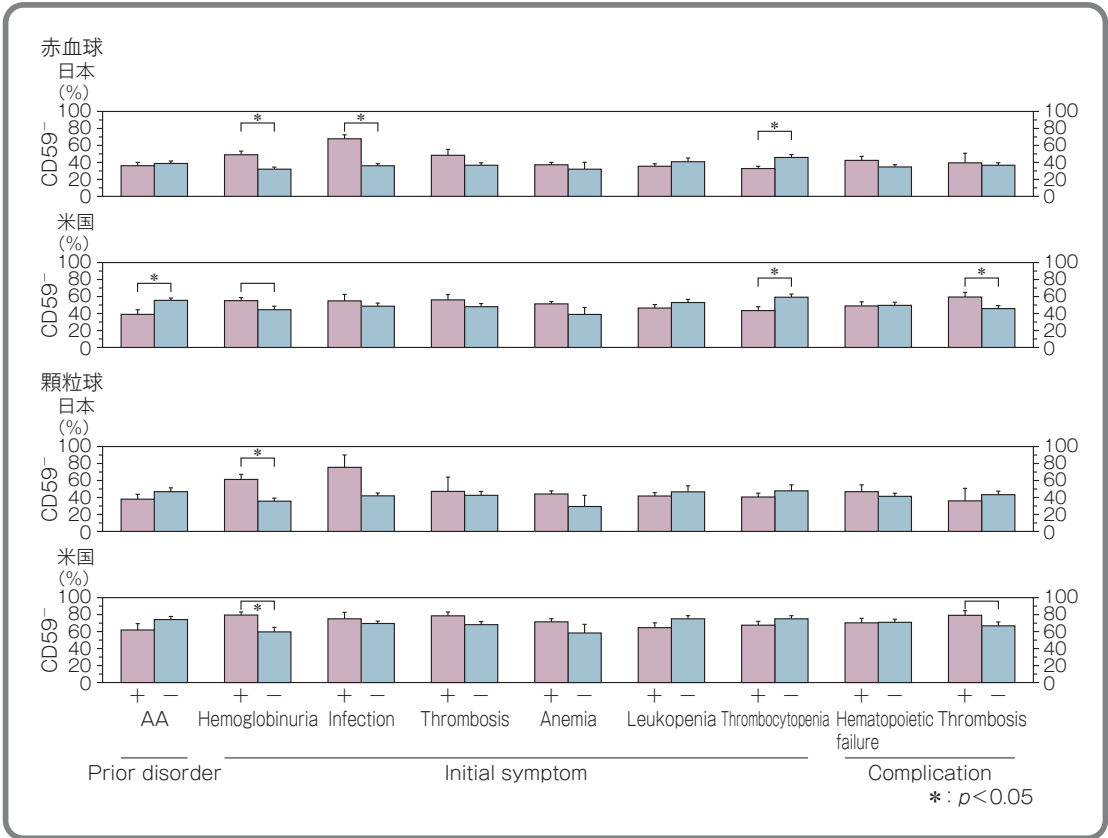


図8 日本と米国におけるCD59欠損率と各種臨床所見

(文献8より引用)

の増加の有無を決定する場合、少なくともGEの2系統は同時に調べる必要がある。GEの片側だけが陽性であった場合は、別に再度検体を採取し、採血から48時間以内に再検する。同じ結果が得られた場合のみPNHタイプ血球陽性と判定する。赤血球だけが陽性の場合、通常は単球にもPNHタイプ血球が認めらるので、再検の際にCD33をマーカーとして単球も同時に検索するようにする。

(2) PNHタイプ血球の推移と臨床症状

日米比較において、先行病変、初発症状、合併症などの諸症状を伴うものと伴わないもので、赤血球と好中球における初回解析時のCD59欠損率を比較したところ、造血不全症状と考えられるAAの先行、初発時白血球減少、血小板減少を伴う症例は欠損率が低い傾向にあり、一方、PNHの古典的症状と考えられる初発時ヘモグロビン尿、感染症、血栓症、貧血や血栓症合併例では欠損率が高い傾向を認めたが、診断時年齢や造血不全の合併には、明らかな傾向は認めなかった(図8)⁸⁾【Ⅲ】。

発症後のPNHタイプ血球の拡大過程を検証するために、初回解析と最終解析の期間が少なくとも1年以上(range:1~9年)あいている症例についてCD59欠損率の増減を比較した(図9)⁸⁾【Ⅲ】。日本の赤血球と好中球における欠損率は、それぞれ初回解析時が39.6±3.7%(n=56)と40.0±8.3%(n=22)、最終解析時が40.5±4.5%(p=NS)と50.7±8.6%(p=NS)と有意な増減は示さなかった(図9)。米国の赤血球と好中球においても、それぞれ初回解析時が55.3±4.0%(n=52)と75.2±4.2%(n=42)、最終解析時が58.3±4.3%(p=NS)と74.1±4.7%(p=NS)と有意な増減は示さなかった(図9)。しかし、症例ごとにPNH細胞の割合は様々で、その増減も赤血球で72%増加したのから99%減少したのまで、好中球で98%増加したのから99%減少したのまでであった。

PNHタイプ血球は、患者全集団でみるとこれまでの予想に反して発症後には拡大傾向を示さなかったため、図8と同様の先行病変、初発症状、合併症な

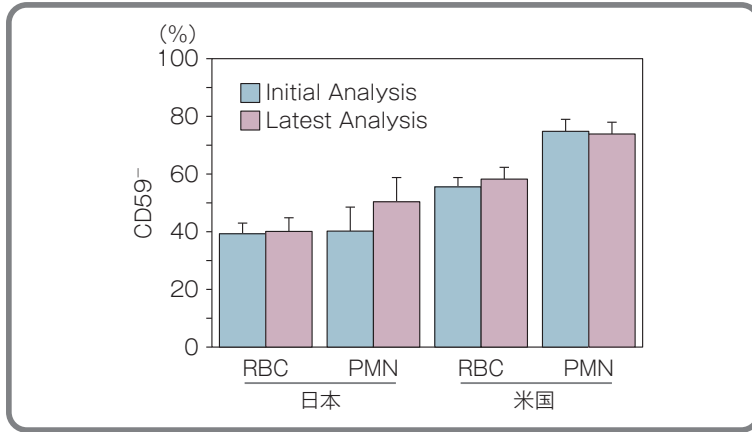


図9 日本と米国におけるPNH患者のCD59欠損率の変遷
(文献8より引用)

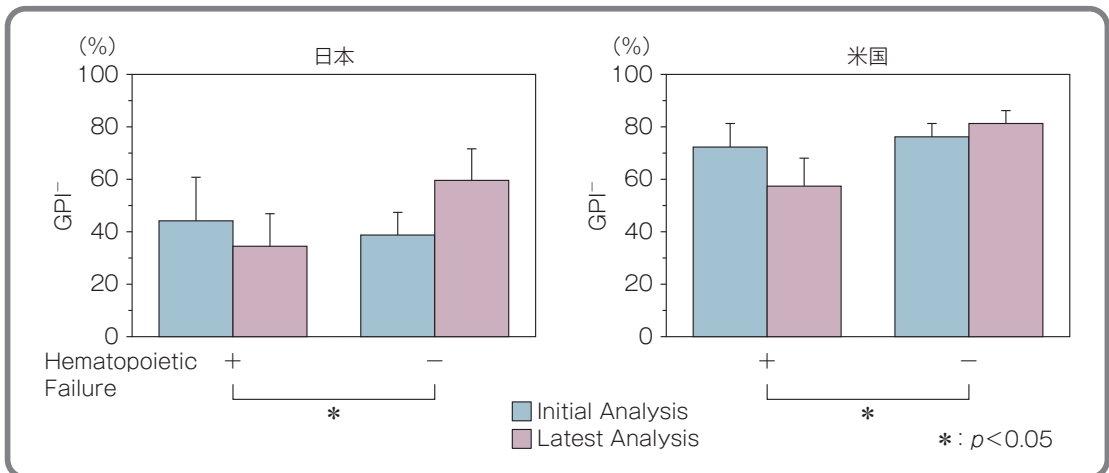


図10 日本と米国のPNH患者における造血不全合併の有無とCD59欠損率の変遷
(文献8より引用)

どの因子別にPNHタイプ血球のCD59欠損率の増減を比較した。

すると、経過中に造血不全を合併した症例 (hypo PNH) とそうでない症例 (*de novo* PNH) に分けて比較したとき、好中球における欠損率の増減は、hypo PNHでは日本で $8.9 \pm 10.1\%$ ($n=22$)の減少、米国で $14.7 \pm 8.3\%$ ($n=42$)と減少したのに対し、*de novo* PNHでは日本で $21.8 \pm 9.7\%$ の増加、米国で $5.0 \pm 3.1\%$ 増加した(図10)⁸⁾【Ⅲ】。またこの2群の増減の間には、日本 ($p=0.02$)と米国 ($p=0.04$)とともに有意な差を認めた(図10)。このことは、一般的にはPNHタイプ血球は緩やかな増加傾向を示すが、

その終末像として造血不全を伴ってくると逆に減少傾向を示し、全体としては横ばいになるものと理解される⁷⁸⁾。

(3) 微少PNHタイプ血球の意義

これまで述べてきたように、AAの経過中にPNHの発症をみるAA-PNH症候群は古くから知られ、AAとPNHの関連が指摘されてきた⁴⁵⁾。治療法の進歩に伴い長期生存が可能となったAA患者の多く(13~52%)は、1%以上のPNH血球を持っていることがわかってきた^{46~52)}。Aratenらは、血球系統のマーカー(顆粒球ではCD11b、赤血球ではグリコフォリンA)とCD59とDAF・CD59の二重染色法を用い

たより鋭敏なフローサイトメトリー法を確立し、9人の健康人から平均22/109細胞のGPI陰性細胞を検出した⁵³⁾【Ⅲ】。比較的PIG-A遺伝子変異の頻度の高いエクソン2と6のみの解析で、9例中6例にPIG-A変異を同定した。そのうちの1例では、164日後にも同じ遺伝子変異が確認されたことから、健康人に存在するPIG-A変異細胞のなかにも、長期にわたって造血を支持できる造血幹細胞があることが示唆される。一方、Huらによるその後の検討では、PNH型の異常血球は健康者の末梢血中にもごくわずかに存在するが、これらは正常造血幹細胞の増殖・分化の過程で発生したPIG-A変異造血前駆細胞由来であるため、一定の割合(0.003%)以上に増えることはなく、また短命であることが示されている¹⁰³⁾。しかし、正常造血幹細胞に対する免疫学的な傷害が存在する環境においては、もともと骨髄中に存在する静止期のPIG-A変異幹細胞が、何らかの機序によって活性化された結果、造血に寄与するようになるという考えもある⁹⁸⁾。

実際に、0.001%レベルの微少PNH血球を検出できる高感度のフローサイトメトリーを用いると、再生不良性貧血患者の50%、RAまたはRCMD患者の15%に0.003%以上のPNH型血球が検出される^{96,98)}。しかし、造血幹細胞異常の存在が確実なRARSやRAEBなどで検出されることはほとんどない。このようなPNH血球増加RA・RCMD例は非増加例に比べてCsA療法の奏効率が高く、白血病への移行率が低い傾向がみられる⁵⁶⁾。また、PNH型血球陽性の再生不良性貧血は陰性の再生不良性貧血に比べてATG・CsA併用療法の奏効率が有意に高く、また長期予後も良好であることが示されている¹⁰⁴⁾。

骨髄不全患者75例におけるPNHタイプ顆粒球の推移を長期間観察した最近の報告では、全体の約15%で徐々に拡大(このうち半数が溶血型PNHに移行)、約20%で徐々に減少・消失、残りの6割強の患者では5年以上にわたってPNHタイプ顆粒球の割合は不変であった⁹⁸⁾。PNHタイプ顆粒球割合は免疫抑制療法に対する反応性とは無関係に推移し、また診断時からPNHタイプ血球陰性であった症例が経過中に陽性化する例はほとんどなかった。ある陽性患者のPNHタイプ顆粒球が増大・縮小・不変のいずれのパターンを取るかは、診断後1~2年の推移をみることによって予想可能であった。

したがって、骨髄不全患者を対象としてPNHタイプ血球を検出することには、①免疫病態による良性の骨髄不全を迅速に診断できる、②若年でHLA一致同胞ドナーを有する患者において、移植を積極的に勧める根拠となる(PNHタイプ血球陰性の場合、

免疫抑制療法後の長期予後は不良)、③初回ATG療法不応例に対してATGの再投与を行うか否かの判断の指標となる可能性がある、④溶血型PNHに移行するリスクが明らかになる、などの臨床的意義があると考えられる。

9. 治療指針(フローチャート)(図11)

1) 治療薬・治療法

(1) エクリズマブ

エクリズマブ(ソリリス)は、補体C5に対するヒト化単クローン抗体であり、終末補体活性化経路を完全に阻止することで溶血を効果的に防ぐことができる【Ib】。エクリズマブ治療は、溶血のため赤血球輸血が必要と考えられ、今後も輸血の継続が見込まれる患者が対象となる。治療開始の基準となる明確な値は設定されていないが、GPI欠損赤血球クローン(PNHタイプⅢ)が10%以上のPNH症例で、補体介在性の溶血所見(LDH値が基準値上限の1.5倍以上)を有し、溶血のため赤血球輸血の必要性が見込まれる患者に投与されることが望ましい。エクリズマブ投与により、髄膜炎菌による感染症のリスクが高まるため、少なくとも治療開始2週間前までに髄膜炎菌ワクチンを接種する(保険未収載)。エクリズマブの投与方法は、導入期となる最初の1ヵ月は、毎週1回600mgを25~45分かけて独立したラインより点滴静注する(計4回)。さらに1週間からは1回900mgに増量し、これを維持量として隔週で投与する。

2002年の11例を対象としたパイロット試験以来⁸⁷⁾、国内外で3つの主要な多施設共同臨床試験(87例を対象とした二重盲検の第Ⅲ相試験TRIUMPH¹⁰⁵⁾、97例を対象としたオープンラベルの第Ⅲ相試験SHEPHERD¹⁰⁶⁾、国内の29例を対象としたオープンラベルの第Ⅱ相試験(AEGIS)¹⁰⁷⁾が実施された。それぞれの試験におけるエクリズマブの溶血阻止効果を、血清LDHの変化として図12に示した。TRIUMPH試験では、投与前に平均2,000U/L台であったLDH値は、初回投与後から急速に減少し、2回目投与以降は基準値を若干上回る300U/L前後で安定し、26週まで維持された。26週までのLDHの平均曲線下面積をプラセボ群と比較すると、エクリズマブ投与群では実に85.8%の減少を示した。この顕著な溶血阻止効果により溶血発作回数や輸血回数が減少し、遊離ヘモグロビンによる一酸化窒素(NO)除去作用に伴う平滑筋攣縮関連の臨床症状(嚥下困難、腹痛、呼吸困難、勃起不全など)も改善した。このようなエクリズマブによる良好な溶血阻止効果および患者

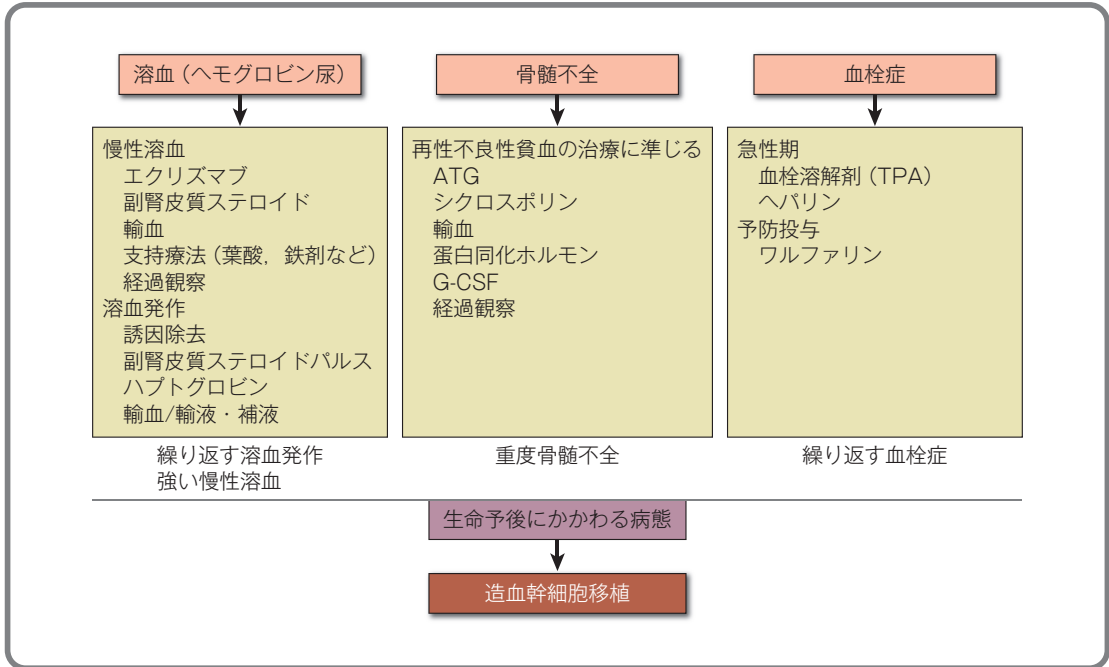


図 11 PNH の病態別治療方針 (フローチャート)

注 1 溶血に対して副腎皮質ステロイドは一定の効果が期待できるが、信頼できる明確なエビデンスはない。溶血に対して副腎皮質ステロイドを軸にするか、輸血にて対処するかは議論の分かれるところである。感染症が溶血発作の原因の場合、副腎皮質ステロイドの使用が感染症を増悪させることがあるので、使用にあたっては十分に注意する必要がある。

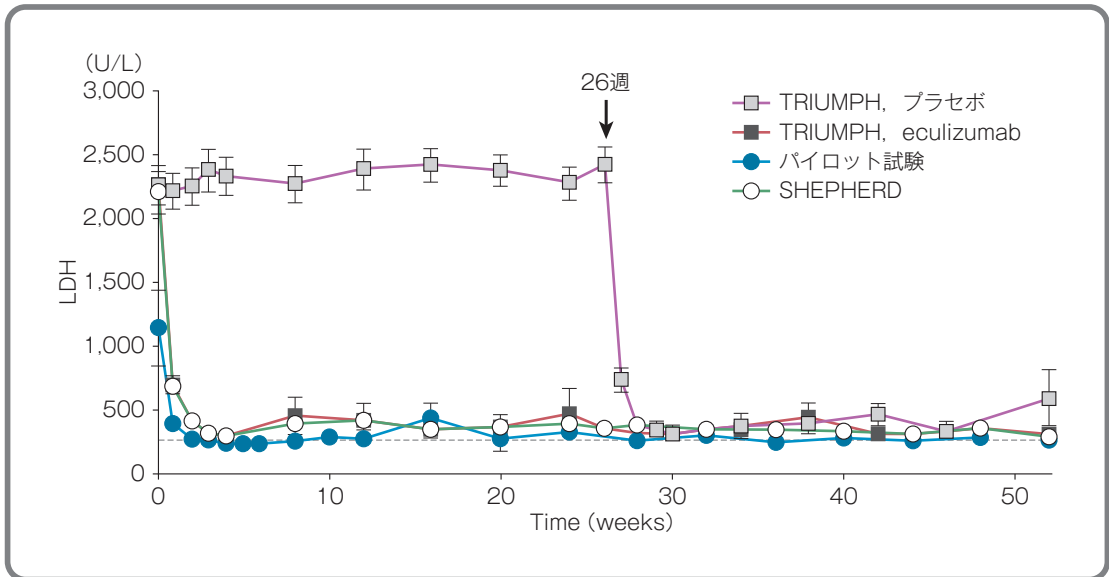


図 12 エクリズマブによる血管内溶血 (LDH) 抑制効果

QOLの改善効果は、すべての臨床試験で再現された【IIb】。さらに、一部の症例では血栓症発生リスクの軽減⁸⁸⁾、慢性腎機能障害の改善¹⁰⁸⁾、潜在的肺高血圧症の改善¹⁰⁹⁾などの副次的効果が期待されることも明らかとなった。

副作用に関しては、頭痛(約5割)、鼻咽頭炎(約4割)、悪心(約2割)などが比較的高頻度に認められる。海外では、ワクチン接種にもかかわらず、重篤な髄膜炎菌感染症の合併患者が報告されており注意が必要である。

エクリズマブはPNH治療を一変させたが、課題も残されている。たとえばエクリズマブはPNHクローンを減少させることはできず、治療によりむしろPNH赤血球は蓄積・増加するため、薬剤中止により激しい溶血が起こる可能性も懸念されている。さらに、残存するPNH赤血球の膜上にはC3が蓄積することで、血管外溶血が顕性化する¹¹⁰⁾。また、骨髄不全に対する改善効果は認めず、本質的なPNH治療とはならない。患者は、定期的なエクリズマブの静脈投与を長期間にわたり受ける必要があることから、精神的負担や高額な医療費負担への配慮も必要となろう。

(2) 副腎皮質ステロイド薬

Issaragrisilらは、肉眼的ヘモグロビン尿がみられ、かつ赤血球輸血を要するPNH 19例(男性:女性=16:6、年齢中央値26歳)を対象としてプレドニゾン60mg/日の隔日投与を行った¹¹¹⁾。8例はヘモグロビン濃度の改善および赤血球輸血の非依存性を認め、3例では赤血球輸血を必要としたものの、ヘモグロビン濃度の増加を認めた。しかし、1例もヘモグロビン濃度は正常のレベルには回復しなかった。PNHの診断からプレドニゾン開始までの期間が長い症例では、血液学的効果が得られ難く、また、不応例の治療開始時の年齢は有効例と比較して高かった【III】。Shichishimaらは補体感受性赤血球の割合が50%以上で肉眼的ヘモグロビン尿を認める3例においてプレドニゾンの継続投与を行った結果、いずれの症例においても肉眼的ヘモグロビン尿の頻度が低下し、2例では補体感受性赤血球割合の減少を観察している¹¹²⁾【III】。肉眼的ヘモグロビン尿を呈するPNH症例の一部においては、プレドニゾン投与が貧血の改善や肉眼的ヘモグロビン尿の頻度の減少に有効な場合が確かにあり、副作用に対する対策を十分に行い試みられてもよい治療と思われる。しかし、一方、特に慢性期のプレドニゾンの使用に反対する専門家もいることは事実である¹⁾【IV】。

副腎皮質ホルモンの大量投与(プレドニゾン30~60mg/日)は溶血発作時において、その程度の軽

減とその期間の短縮に有用とされる^{1,113)}【IV】。ただし、溶血発作の誘因が感染症の場合、プレドニゾンの大量投与が感染症の増悪をもたらす可能性があるため、その投与には慎重に対処すべきである。

(3) 輸血療法

溶血発作時の急速なヘモグロビン低下あるいは骨髄不全のために、高度な貧血をきたす場合は輸血を要することがある。輸血の際、血漿に含まれる補体や免疫グロブリンなどを除去した洗浄赤血球輸血が用いられてきたが、通常の赤血球輸血で実際に溶血をもたらせた事例は極めて少ないとの報告があり¹¹⁴⁾【III】、洗浄赤血球輸血が本当に必要であるか疑問視されている。一般的に用いられている赤血球濃厚液(RCC)は血漿成分がわずかなので、これで支障は生じないように思われる。溶血発作のコントロールが困難で輸血が必要な場合は、輸血を比較的多量に行ってヘモグロビンレベルを一定レベル以上に上昇させれば、異常PNH血球の産生が抑制され、正常赤血球の比率が相対的に増えて、溶血が軽減する効果が期待できるという考えもあるが、適正な輸血量に関しては十分に検証されていない。

(4) 鉄剤・葉酸

溶血の強いPNHではヘモグロビン尿、ヘモジデリン尿をきたし鉄を喪失するため、多くの症例で鉄欠乏状態となっている。したがって鉄剤の経口投与は有効と考えられるが、投与後にヘモグロビン尿が増悪する可能性があるため注意が必要である。これは、鉄剤投与により補体感受性の高いPNH赤血球の産生が亢進するためと考えられる。鉄剤投与は軽症例では差し控えるのが望ましいが、経過の長い症例や重症例では輸血量を軽減することが期待されるので投与すべきと考えられる。その際は少量から開始し、溶血の誘発を慎重に観察する必要がある。鉄剤投与により溶血が誘発される場合は、輸血によって赤血球産生を抑制しながら鉄を補充していくことも試みてよい。溶血の強いPNHでは、恒常的に赤血球産生が亢進しているため、葉酸の投与も必要であろう。

(5) ハプトグロビン

PNH溶血の急性期(溶血発作時)に使用する。通常、成人では1回4,000単位を緩徐に静脈内へ点滴注射する。原則として肉眼的ヘモグロビン尿が消失するまで、連日投与する。ハプトグロビン(ベネシス)は血漿分画製剤であり、ヒトパルボウイルスB19などのウイルスを完全には不活化・除去することができないので、投与後の経過を十分に観察する。分娩後の溶血発作や溶血発作による急性腎不全に対してハプトグロビン投与が有効であったとする報告が

ある^{115,116)}【Ⅲ】.

(6) 免疫抑制薬

PanquetteらはPNH 7例(骨髄不全型3例, 古典的PNH 4例)を対象としてATG 20mg/kg/日を8日間投与し, 反応群と不応群との臨床像の特徴を検討した(観察期間は0.4~2.75年)¹¹⁷⁾. ATGに反応した3例はいずれも骨髄不全型で, 古典的PNH例では反応がみられなかった. 前者の治療前のデータは血小板数 $<30 \times 10^9/L$, 網赤血球数 $<100 \times 10^9/L$, LDH $<1,000 U/L$, 総ビリルビン $<17 \text{mmol/L}$ であり, 骨髄低形成および慢性の軽度溶血が示唆される. ATGに反応したあとも, 慢性の溶血所見は治療前と同程度に存在した【Ⅲ】. PNHの少数例でのシクロスポリン単独ないしATGとの併用での報告はいずれもほぼ同様の結果であり^{118~120)}, 免疫抑制療法によりPNHクローンの割合に変化を認めていない¹¹⁸⁾【Ⅲ】. 仲宗根らは古典的PNH 3例に対してATG 15mg/kgを5日間とシクロスポリン 6mg/kgによる免疫抑制療法を行い, 投与後1年には全例で貧血の改善を認めたものの, 2例で再燃したと報告している¹²¹⁾. また, ATG投与期間中に急激な溶血発作と血小板減少を認め, 3例とも赤血球および血小板輸血を要した【Ⅲ】. PNHに対して免疫抑制療法(特にATG/ALG)による治療を行う場合, 原因不明の重篤な溶血発作を起こすことがある点に注意すべきである¹²²⁾【Ⅲ】. たとえ骨髄不全型PNH症例であっても, 補体感受性赤血球の割合が高い際には, ATG/ALGの投与には細心の注意を払う必要がある.

Schubertらは著明な汎血球減少を伴う骨髄不全型PNH症例に対して, シクロスポリンとG-CSFとの併用療法を行い, 全例で3血球系統の改善を認めたばかりでなく, PNHクローンの割合も減少したと報告した¹²⁰⁾【Ⅲ】. 本併用療法はひとつのオプションとして考えてよいかも知れない.

骨髄不全型PNHで, かつ補体感受性赤血球の割合が10%以下の症例では, 免疫抑制療法は奏効率が高いばかりでなく, 比較的安全に行える治療法と考えられる¹²³⁾【Ⅳ】.

(7) G-CSF

Ninomiyaらは細菌感染症を合併したあるいは外科手術の感染予防のため, PNH 2例に対してG-CSFの投与を行い, 臨床的に有用であったと報告した¹²⁴⁾【Ⅲ】. Fujimiらは反復する腸炎に関連した溶血発作を伴うPNH症例にG-CSFを投与したところ, いずれの病態も改善し, T細胞数の増加とT細胞機能の正常化を観察した¹²⁵⁾【Ⅱb】. Jegoらは好中球減少に伴う反復性の感染症を合併するPNH症例に対して長期にわたりG-CSFを継続投与したところ, 感染

症は軽減し, 溶血発作も輸血が不要な程度に軽快したと報告した¹²⁶⁾【Ⅲ】. G-CSFは感染症を合併した症例や反復性の感染症を引き起こす好中球減少を伴う症例において試みてよい薬剤と思われる.

(8) 蛋白同化ステロイド薬

蛋白同化ステロイド薬は骨髄低形成を呈するPNHに有効であるといわれており, 少なくとも約50%の症例で何らかの有効性がみられている^{113,127)}【Ⅲ】. 日本の厚生省(当時)特発性造血障害調査研究班の結果では, フルオキシメステロン投与群(最初の2週間は20~30mg/日, 3~4週は15~20mg/日, それ以降は5~15mg/日)の有効率は45%であり, 無治療群と比べ有意な赤血球数の増加が認められた¹²⁸⁾【Ⅲ】.

また, 蛋白同化ステロイド薬の長期投与例においては補体感受性赤血球の割合が増加する症例があるので, その割合をモニターすることも重要である¹¹²⁾. ダナゾールは副腎皮質ステロイド薬やフルオキシメステロンが無効のPNH症例に有効だとする報告(5例中4例で貧血や血小板減少の改善)があり¹²⁹⁾【Ⅲ】. ほかの蛋白同化ステロイド薬が無効であったPNH例に対して試みる価値がある薬剤と思われるが, 今後データの集積が必要である.

(9) 同種・同系造血幹細胞移植(HSCT)

エクリズマブの使用が可能となった現時点においてもHSCTはPNHに対する唯一の根治療法であるが, これまでの治療成績を表13に示す. これまでのPNHに対するHSCTの報告のほとんどは少数例を対象としたものであり, PNHに対する移植適応・至適な移植法と造血幹細胞ソースに関しては十分なエビデンスが蓄積されていないのが現状である.

最も多数例をまとめたInternational Bone Marrow Transplantation Registry (IBMTR)のregistry dataの解析では, 骨髄破壊の前処置を用いたHLA適合血縁者間移植が大多数を占め, その2年生存率は58%である¹³⁵⁾【Ⅲ】. 生着の有無が移植後の生存率に及ぼす影響は大きく, 持続的な生着が得られた症例の生存率70%, それ以外の症例の生存率10%であった. 一方で, 非血縁者間移植を受けた7例では, 生存はわずか1例でありgraft failureを含む様々な移植関連合併症がその主な理由であった.

しかし, この成績の評価には, 移植法の多様化・様々な支持療法の進歩といった最近の移植医療の進歩が反映されていないこと, 血栓症の既往のある症例は除外して骨髄破壊の移植のみ施行されていることを考慮する必要がある. 最近では, 少数例ではあるがHLA適合同胞間移植に加えて, alternative donors(臍帯血を除く)を用いたHSCTのより良好な移植成績も報告されている¹³⁷⁾【Ⅲ】.

表 13 PNH に対する造血幹細胞移植成績

著者	患者数	ドナー	生存者数	
Szer J et al ¹³⁰⁾	4	HLA 適合同胞 一卵性同胞	3 1	3 1
Antin JH et al ¹³¹⁾	4	HLA 適合同胞	4	4
Kolb HJ et al ¹³²⁾	2	HLA 適合同胞 一卵性同胞	1 1	1 1
Kawahara K et al ¹³³⁾	9	HLA 適合同胞 一卵性同胞 HLA 非適合血縁者	6 2 1	6 2 0
Bemba M et al ¹³⁴⁾	16	HLA 適合同胞	16	9
Saso R et al ¹³⁵⁾	57	HLA 適合同胞 一卵性同胞 HLA 適合血縁者 HLA 適合非血縁者	48 2 1 6	27 2 0 1
Raiola Am et al ¹³⁶⁾	7	HLA 適合同胞	7	7
Woodard P et al ¹³⁷⁾	3	HLA 適合非血縁者	3	3
Suenaga K et al ¹³⁸⁾ *	1	HLA 適合同胞	1	1
Takahashi Y et al ¹³⁹⁾ *	5	HLA 適合同胞 HLA 適合血縁者	4 1	4 1
総計	108	HLA 適合同胞 一卵性同胞 血縁者 HLA 適合非血縁者	90 6 3 9	62 6 1 4

* : 骨髄非破壊的末梢血幹細胞移植, その他はすべて骨髄移植

HLA 適合同胞あるいは非血縁者をドナーとした reduced-intensity HSCT (RIST) / 骨髄非破壊的移植についてもいくつかの少数例での検討結果が報告されている^{138~140)}【Ⅲ】。移植前処置, 幹細胞ソースは様々であるが, ほとんどの症例で生着と PNH 細胞の根絶が達成されている。また, PNH に特徴的な合併症である血栓症を抱えての移植においても, 比較的安全に移植が施行され, 抗凝固療法が中止となり, 血栓の再発が認められないことが報告されている¹³⁹⁾【Ⅲ】。

これらの報告から現時点で結論できることは, ①若年者で血栓症やその他の合併症を認めない症例では骨髄破壊的移植か RIST, 血栓症やその他の合併症を認める症例では RIST/NMST が妥当な選択であること, ②造血幹細胞ソースとしては HLA 適合血縁者を第一選択とし, それ以外の場合は臍帯血を除く alternative ドナーからの移植も妥当な選択であること, (臍帯血に関しては十分なデータがないので, やむを得ず施行する場合は, HLA 抗体などの存在を

十分に検討して慎重に施行すべきである) である。

PNH は一部の症例を除き, 一般的に長期予後良好な疾患であり, その経過中に自然寛解することも報告されているので, 移植の適応は慎重に検討されなければならない。現時点では, 血球減少症の進行 (+ それに伴う合併症の出現 = 感染, 出血など), 溶血による頻回の輸血, そして一部の症例では繰り返す血栓・塞栓症などが PNH において移植を適応とする主な理由である。現実的には, このような長期予後不良と考えられる病態の早期に移植を位置づけることが望ましい。

しかし, エクリズマブの導入によって, この移植適応 (理由) は「エクリズマブの効果が不十分でこのような合併症が認められる症例」とすべきかもしれない。また, 若年者で life-long なエクリズマブの治療への経済的負担が大きい場合も移植の相対的適応となるかもしれない。

(10) 血栓溶解剤・ヘパリン

PNH の血栓症は, 動脈系より静脈系に起こりやす

く、エクリズマブ治験に参加した195例の治療前の評価では、動脈血栓が15%に対して、静脈血栓は85%であった⁸⁸⁾。急性の血栓イベントに対しては、ヘパリン(または低分子ヘパリン)による抗血栓療法が必要である。さらに、生命予後を左右するBudd-Chiari症候群などの重篤な血栓症に対しては、より積極的な血栓溶解療法(組換え型組織プラスミノゲンアクチベーター)を考慮する^{1,141,142)}【III】。その際、骨髄不全による血小板低下を認める場合は、出血の合併症に配慮する必要がある。

(1) ワルファリン

HallらはPNH163例において血栓症のリスクを後方視的に検討したところ、29例が血栓症を合併していたと報告した(観察期間の中央値6年)⁸⁵⁾。PNH顆粒球の割合が50%以上および50%以下の血栓症合併の10年危険率は各々、44%および5.8%であり、前者の頻度は有意性をもって高かった。ワルファリンの投与禁忌がなくかつPNH顆粒球の割合が50%以上で、初期の段階からワルファリンの予防投与を受けた39例では、血栓症の合併はまったく観察されなかったが、一方、ワルファリンの予防投与を受けなかった56例での10年血栓症発症率は36.5%であり、前者の頻度は有意性をもって低かった【IIa】。PNH顆粒球の割合が高い場合、静脈血栓症の発症の危険性が高くなるので、ワルファリンによる初期段階からの予防を要する。

しかし、Audebertら¹⁴³⁾【III】やMoyoら⁸⁶⁾【III】の報告によれば、ワルファリンおよび/ないしは抗血小板薬の投与にもかかわらず、血栓塞栓症の進行や新たな血栓塞栓症の出現が観察されることもある。また、ワルファリン投与による致死出血も含む出血傾向の出現の頻度はPNHでは約5%以上あることも報告されている^{85,143)}。

静脈血栓症に対するワルファリンの予防投与はPNHクローンの割合が高いPNH症例ではワルファリンの投与禁忌がない場合、出血傾向に十分に注意を払ってなされてよい治療と考えられる。ただ、最近のHillmenらの報告ではエクリズマブによる血栓症発症に対する予防効果はワルファリンをしのぐ効果であるとしており、その選択にはさらなるデータの集積が望まれる⁸⁸⁾【Ia】。

2) 治療の参照ガイド

(1) 妊娠の参照ガイド

PNH患者が妊娠すると、しばしば合併症を起こす。母胎における血栓症は憂慮される問題で、自然流産も起きる。PNH患者38例の報告では、合併症のない妊娠は1/3しかないが、生命を脅かすほどの

合併症は稀であり、出生後の新生児の成長は良好なようである¹⁴⁴⁾【III】。日米の比較研究では、PNH患者の妊娠は危険であることが確認された。米国デューク大学病院では、5例のPNH妊婦が出産を経験したが、4例が妊娠中に血栓症を合併し、何も合併症を起こさなかったのはアジア(ベトナム)系の1例のみであった。一方、日本では8例のPNH妊婦から14人の赤ちゃんが生まれているが、米国の例とは対照的に、血栓症を合併したのはわずか1例のみであった⁸⁾【III】。

妊娠を希望する場合は、事前に主治医とよく相談すべきである。なぜなら、年齢、全身状態、血栓症の既往、造血障害の程度、PNH細胞の量、溶血性貧血の重症度、そして、民族性などの諸因子が妊娠後の結果を左右するからである。

もし妊娠したならば、直ちに主治医に連絡すべきである。ちなみにPNH女性患者の15%は妊娠中に診断されている。PNHの妊婦は、血液専門医の協力のもと、経験豊かな産婦人科医の診察を受ける必要がある。一般に欧米ではヘパリン(低分子ヘパリンがよい)による血栓予防の治療が妊娠後直ちに開始され、分娩まで続けられる。分娩時はいったん中止されるが、分娩後に安全が確認され次第、直ちにヘパリンが再開され、通常は6週間ほど継続される。なお、分娩後(産褥期)はヘパリンの代わりにワルファリンを使用してもかまわないとされている。日本人では血栓症の発生は少ないので、血栓予防をどの程度行うべきかは今後の課題であるが、補体感受性(PNH)赤血球の割合が高い患者さんは、欧米人の妊娠と同様の危険性を有する可能性もあり、血液専門医と十分に相談されることが望ましい。一般的には経膈分娩が推奨され、生まれた新生児には特に問題は無い。

エクリズマブが開発され血栓予防効果が期待されるとなると、血栓症のリスクが高くなる妊婦に対する使用も今後の検討課題となってきた。血栓症の既往のあるPNH妊婦に対し、妊娠後期(30週)よりエクリズマブの投与を開始し、双生児を無事帝王切開により出産したとの報告がされ¹⁴⁵⁾、その後もエクリズマブを用いた妊娠、出産の報告が相次いでいる^{146,147)}。ただエクリズマブは、米国胎児危険度分類でカテゴリCに分類される薬剤であり、現時点ではむやみに妊婦に使用すべきではない。エクリズマブの多くの成分がヒトIgG2とIgG4に置換されており、IgG2は胎盤通過性がないことから、胎児への影響は最小限にとどまることが期待されるが、今後の症例蓄積と詳細な検討が待たれる^{146,148)}。

(2) 小児患者の参照ガイド

Ware らによる、1966年から1991年の間にデューク大学を受診した26例の米国若年(21歳以下)患者のまとめによると、4例(15%)のみが診断時にヘモグロビン尿を呈していた(米国成人は50%)¹⁰⁾【III】。15例(58%)が診断時に骨髄造血不全を伴っていたが、成人では25%に過ぎなかった。26例全例が、最終的に骨髄造血不全に陥った。8例(31%)が亡くなり、中央生存期間は13.5年であった。以上のように、米国若年患者は成人患者に比し骨髄造血不全傾向が強く、重症である。したがって、早期にHSTを考慮すべきと結論しているが、日本での成績はなく、日本では必ずしもこういう傾向はないように思われる。

参考文献

- 1) Parker C, Omine M, Richards S, et al : International PNH Interest Group : Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2005 ; 106 : 3699-3709.
- 2) 大野良之 : 「特定疾患治療研究事業未対象疾患の疫学像を把握するための調査研究班」平成11年度研究業績集—最終報告書—, 平成12年3月発行(2000年).
- 3) Le X, Yang T, Yang X, et al : Characteristics of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in China. *Chinese Med J* 1990 ; 103 : 885-889.
- 4) Huang WX : Clinical analysis of 128 cases of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Chinese J Intern Med* 1984 ; 23 : 359-361.
- 5) Kruatrachue M, Wasi P, Na-Nakorn S : Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in Thailand with special reference to an association with aplastic anemia. *Br J Haematol* 1978 ; 39 : 267-276.
- 6) Hillmen P, Lewis SM, Bessler M, et al : Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 1995 ; 333 : 1253-1258.
- 7) Socié G, Mary JY, de Gramont A, et al : Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria : Long-term follow-up and prognostic factors. *Lancet* 1996 ; 31 : 573-577.
- 8) Nishimura J, Kanakura Y, Ware RE, et al : Clinical course and flow cytometric analysis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the United States and Japan. *Medicine* 2004 ; 83 : 193-207.
- 9) Nakakuma H, Nagakura S, Kawaguchi T, et al : Persistence of affected T lymphocytes in long-term clinical remission in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1994 ; 84 : 3925-3928.
- 10) Fujioka S, Asai T : Prognostic features of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in Japan. *Acta Haematol JPN* 1989 ; 52 : 1386-1394.
- 11) Ware RE, Hall SE, Rosse WF : Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with onset in childhood and adolescence. *N Engl J Med* 1991 ; 325 : 991-996.
- 12) Gull WW : A case report of intermittent haematuria, with remarks. *Guy's Hosp Rept* 1866 ; 12 : 381-392.
- 13) Strubing P : Paroxysmale haemoglobinurie. *Deutsche Med Wochenschrift* 1882 ; 8 : 1-3.
- 14) Ham TH : Chronic hemolytic anemia with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : Study of the mechanism of hemolysis in relation to acid-base equilibrium. *N Engl J Med* 1937 ; 217 : 915-917.
- 15) Nicholson-Weller A, March JP, Rosenfeld SI, et al : Affected erythrocytes of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria are deficient in the complement regulatory protein, decay accelerating factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983 ; 80 : 5066-5070.
- 16) Pangburn MK, Schreiber RD, Muller-Eberhard HJ : Deficiency of an erythrocyte membrane protein with complement regulatory activity in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983 ; 80 : 5430-5434.
- 17) Holguin MH, Fredrick LR, Bernshaw NJ, et al : Isolation and characterization of a membrane protein from normal human erythrocytes that inhibits reactive lysis of the erythrocytes of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Clin Invest* 1989 ; 84 : 7-17.
- 18) Okada N, Harada R, Fujita T, et al : A novel membrane glycoprotein capable of inhibiting membrane attack by homologous complement. *Int Immunol* 1989 ; 1 : 205-208.
- 19) Nicholson-Weller A, Burge J, Austen KF : Purification from guinea pig erythrocyte stroma of a decay-accelerating factor for the classical c3 convertase, C4b, 2a. *J Immunol* 1981 ; 127 : 2035-2039.
- 20) Sugita Y, Nakano Y, Tomita M : Isolation from human erythrocytes of a new membrane protein which inhibits the formation of complement transmembrane channels. *J Biochem* 1988 ; 104 : 633-637.
- 21) Davies A, Simmons DL, Hale G, et al : CD59, an LY-6-like protein expressed in human lymphoid cells, regulates the action of the complement membrane attack complex on homologous cells. *J Exp Med* 1989 ; 170 : 637-654.
- 22) Telen MJ, Hall SE, Green AM, et al : Identification of human erythrocyte blood group antigens on decay-accelerating factor (DAF) and an erythrocyte phenotype negative for DAF. *J Exp Med* 1988 ; 167 : 1993-1998.
- 23) Yamashina M, Ueda E, Kinoshita T, et al : Inherited complete deficiency of 20-kilodalton homologous restriction factor (CD59) as a cause of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 1990 ; 323 : 1184-1189.
- 24) Yonemura Y, Kawakita M, Koito A, et al : Paroxys-

- mal nocturnal haemoglobinuria with coexisting deficiency of the ninth component of complement : Lack of massive haemolytic attack. *Br J Haematol* 1990 ; 74 : 108-113.
- 25) Iwamoto N, Kawaguchi T, Horikawa K, et al : Haemolysis induced by ascorbic acid in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Lancet* 1994 ; 343 : 357.
 - 26) Nakakuma H, Hidaka M, Nagakura S, et al : Expression of cryptantigen Th on paroxysmal nocturnal hemoglobinuria erythrocytes in association with a hemolytic exacerbation. *J Clin Invest* 1995 ; 96 : 201-206.
 - 27) Ham TH : Studies on destruction of red blood cells : I. Chronic hemolytic anemia with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : An investigation of the mechanism of hemolysis, with observations of five cases. *Arch Intern Med* 1939 ; 64 : 1271-1305.
 - 28) Crosby WH : Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : Relation of the clinical manifestations to underlying pathogenic mechanisms. *Blood* 1953 ; 8 : 769-812.
 - 29) Rosse WF, Nishimura J : Clinical manifestations of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : Present state and future problems. *Int J Hematol* 2003 ; 77 : 113-120.
 - 30) Stafford HA, Tykocinski ML, Lublin DM, et al : Normal polymorphic variations and transcription of the decay accelerating factor gene in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988 ; 85 : 880-884.
 - 31) Rambaldi A, Terao M, Bettoni S, et al : Differences in the expression of alkaline phosphatase mRNA in chronic myelogenous leukemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria polymorphonuclear leukocytes. *Blood* 1989 ; 73 : 1113-1115.
 - 32) Ueda E, Nishimura J, Kitani T, et al : Deficient surface expression of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins in B cell lines established from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Int Immunol* 1992 ; 4 : 1263-1271.
 - 33) Takahashi M, Takeda J, Hirose S, et al : Deficient biosynthesis of N-acetylglucosaminyl-phosphatidylinositol, the first intermediate of glycosyl phosphatidylinositol anchor biosynthesis, in cell lines established from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Exp Med* 1993 ; 177 : 517-521.
 - 34) Hidaka M, Nagakura S, Horikawa K, et al : Impaired glycosylation of glycosylphosphatidylinositol-anchor synthesis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria leukocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1993 ; 191 : 571-579.
 - 35) Hillmen P, Bessler M, Mason PJ, et al : Specific defect in N-acetylglucosamine incorporation in the biosynthesis of the glycosylphosphatidylinositol anchor in clones cell lines from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 5272-5276.
 - 36) Miyata T, Takeda J, Iida Y, et al : The cloning of PIG-A, a component in the early step of GPI-anchor biosynthesis. *Science* 1993 ; 259 : 1318-1320.
 - 37) Takeda J, Miyata T, Kawagoe K, et al : Deficiency of the GPI anchor caused by a somatic mutation of the PIG-A gene in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cell* 1993 ; 73 : 703-711.
 - 38) Miyata T, Yamada N, Iida Y, et al : Abnormalities of PIG-A transcripts in granulocytes from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 1994 ; 330 : 249-255.
 - 39) Nishimura J, Murakami Y, Kinoshita T : Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : An acquired genetic disease. *Am J Hematol* 1999 ; 62 : 175-182.
 - 40) Kawagoe K, Kitamura D, Okabe M, et al : GPI-anchor deficient mice : Implications for clonal dominance of mutant cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1996 ; 87 : 3600-3606.
 - 41) Rosti V, Tremml G, Soares V, et al : Murine embryonic stem cells without pig-a gene activity are competent for hematopoiesis with the PNH phenotype but not for clonal expansion. *J Clin Invest* 1997 ; 100 : 1028-1036.
 - 42) Murakami Y, Kinoshita T, Nakano T, et al : Different roles of glycosylphosphatidylinositol in various hematopoietic cells as revealed by model mice of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1999 ; 94 : 2963-2970.
 - 43) Tremml G, Dominguez C, Rosti V, et al : Increased sensitivity to complement and a decreased red cell life span in mice mosaic for a non-functional Piga gene. *Blood* 1999 ; 94 : 2945-2954.
 - 44) Keller P, Tremml G, Rosti V, et al : X inactivation and somatic cell selection rescue female mice carrying a Piga-null mutation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 ; 96 : 7479-7483.
 - 45) Lewis SM, Dacie JV : The aplastic anaemia-paroxysmal nocturnal haemoglobinuria syndrome. *Br J Haematol* 1967 ; 13 : 236-251.
 - 46) Schubert J, Vogt HG, Zielinska Skowronek M, et al : Development of the glycosylphosphatidylinositol-anchoring defect characteristic for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in patients with aplastic anemia. *Blood* 1994 ; 83 : 2323-2328.
 - 47) Griscelli-Bennaceur A, Gluckman E, Scrobohaci ML, et al : Aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : Search for a pathogenetic link. *Blood* 1995 ; 85 : 1354-1363.
 - 48) Schrezenmeier H, Hertenstein B, Wagner B, et al : A pathogenetic link between aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria is suggested

- by a high frequency of aplastic anemia patients with a deficiency of phosphatidylinositol glycan anchored proteins. *Exp Hematol* 1995 ; 23 : 81-87.
- 49) De Lord C, Tooze JA, Saso R, et al : Deficiency of glycosylphosphatidyl inositol anchored proteins in patients with aplastic anaemia does not affect response to immunosuppressive therapy. *Br J Haematol* 1998 ; 101 : 90-93.
 - 50) Azenishi Y, Ueda E, Machii T, et al : CD59-deficient blood cells and PIG-A gene abnormalities in Japanese patients with aplastic anaemia. *Br J Haematol* 1999 ; 104 : 523-529.
 - 51) Dunn DE, Tanawattanacharoen P, Bocconi P, et al : Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells in patients with bone marrow failure syndromes. *Ann Intern Med* 1999 ; 131 : 401-408.
 - 52) Wang H, Chuhjo T, Yamazaki H, et al : Relative increase of granulocytes with a paroxysmal nocturnal haemoglobinuria phenotype in aplastic anaemia patients : The high prevalence at diagnosis. *Eur J Haematol* 2001 ; 66 : 200-205.
 - 53) Araten DJ, Nafa K, Pakdeesuwan K, et al : Clonal populations of hematopoietic cells with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria genotype and phenotype are present in normal individuals. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 ; 96 : 5209-5214.
 - 54) Maciejewski JP, Follmann D, Nakamura R, et al : Increased frequency of HLA-DR2 in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and the PNH/aplastic anemia syndrome. *Blood* 2001 ; 98 : 3513-3519.
 - 55) Shichishima T, Okamoto M, Ikeda K, et al : HLA class II haplotype and quantitation of WT1 RNA in Japanese patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2002 ; 100 : 22-28.
 - 56) Wang H, Chuhjo T, Yasue S, et al : Clinical significance of a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells in bone marrow failure syndrome. *Blood* 2002 ; 100 : 3897-3902.
 - 57) Murakami Y, Kosaka H, Maeda Y, et al : Inefficient response of T lymphocytes to glycosylphosphatidylinositol anchor-negative cells : Implications for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2002 ; 100 : 4116-4122.
 - 58) Nagakura S, Ishihara S, Dunn DE, et al : Decreased susceptibility of leukemic cells with PIGA mutation to natural killer cells in vitro. *Blood* 2002 ; 100 : 1031-1037.
 - 59) Hanaoka N, Kawaguchi T, Horikawa K, et al : Immunoselection by natural killer cells of PIGA mutant cells missing stress-inducible ULBP. *Blood* 2005 ; 107 : 1184-1191.
 - 60) Hanaoka N, Nakakuma H, Horikawa K, et al : NKG2D-mediated immunity underlying paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related bone marrow failure syndromes. *Br J Haematol* 2009 ; 146 : 538-545.
 - 61) Karadimitris A, Notaro R, Koehne G, et al : PNH cells are as sensitive to T-cell-mediated lysis as their normal counterparts : Implications for the pathogenesis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Br J Haematol* 2000 ; 111 : 1158-1163.
 - 62) Brodsky RA, Vala MS, Barber JP, et al : Resistance to apoptosis caused by PIG-A gene mutations in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 ; 94 : 8756-8760.
 - 63) Horikawa K, Nakakuma H, Kawaguchi T, et al : Apoptosis resistance of blood cells from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, aplastic anemia, and myelodysplastic syndrome. *Blood* 1997 ; 90 : 2716-2722.
 - 64) Ware RE, Nishimura J, Moody MA, et al : The PIG-A mutation and absence of glycosylphosphatidylinositol-linked proteins do not confer resistance to apoptosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1998 ; 92 : 2541-2550.
 - 65) Yamamoto T, Shichishima T, Shikama Y, et al : Granulocytes from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and normal individuals have the same sensitivity to spontaneous apoptosis. *Exp Hematol* 2002 ; 30 : 187-194.
 - 66) Lyakisheva A, Felda O, Ganser A, et al : Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : Differential gene expression of EGR-1 and TAXREB107. *Exp Hematol* 2002 ; 30 : 18-25.
 - 67) Heeney MM, Ormsbee SM, Moody MA, et al : Increased expression of anti-apoptosis genes in peripheral blood cells from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Mol Genet Metab* 2003 ; 78 : 291-294.
 - 68) Inoue N, Izui-Sarumaru T, Murakami Y, et al : Molecular basis of clonal expansion of hematopoiesis in 2 patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood* 2006 ; 108 : 4232-4236.
 - 69) Murakami Y, Inoue N, Shichishima T, et al : Wnt pathway is upregulated in blood cells from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2009 ; 114 : 786a.
 - 70) Teramoto H, Malek RL, Behbahani B, et al : Identification of H-Ras, RhoA, Rac1 and Cdc42 responsive genes. *Oncogene* 2003 ; 22 : 2689-2697.
 - 71) Reiter CD, Wang X, Tanus-Santos JE, et al : Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. *Nat Med* 2002 ; 8 : 1383-1389.
 - 72) Cappelini MD : Coagulation in the pathophysiology of hemolytic anemias. *Hematology (Am Soc Hematol Educ Prog Book)* 2007 : 74-78.
 - 73) Kinoshita T, Inoue N : Relationship between aplastic

- anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Int J Hematol* 2002 ; 75 : 117-122.
- 74) Tichelli A, Gratwohl A, Wursch A, et al : Late haematological complications in severe aplastic anaemia. *Br J Haematol* 1988 ; 69 : 413-418.
 - 75) de Planque MM, Bacigalupo A, Wursch A, et al : 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* 1989 ; 73 : 121-126.
 - 76) Najean Y, Haguenaer O : Long-term (5 to 20 years) Evolution of nongrafted aplastic anemias : The Cooperative Group for the Study of Aplastic and Refractory Anemias. *Blood* 1990 ; 76 : 2222-2228.
 - 77) Nagarajan S, Brodsky RA, Young NS, et al : Genetic defects underlying paroxysmal nocturnal hemoglobinuria that arises out of aplastic anemia. *Blood* 1995 ; 86 : 4656-4661.
 - 78) Nishimura Ji, Hirota T, Kanakura Y, et al : Long-term support of hematopoiesis by a single stem cell clone in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2002 ; 99 : 2748-2751.
 - 79) Iwanaga M, Furukawa K, Amenomori T, et al : Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria clones in patients with myelodysplastic syndromes. *Br J Haematol* 1998 ; 102 : 465-474.
 - 80) Araten DJ, Swirsky D, Karadimitris A, et al : Cytogenetic and morphological abnormalities in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 2001 ; 115 : 360-368.
 - 81) Harris JW, Koscick R, Lazarus HM, et al : Leukemia arising out of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Leuk Lymphoma* 1999 ; 32 : 401-426.
 - 82) Hugel B, Socie G, Vu T, et al : Elevated levels of circulating procoagulant microparticles in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and aplastic anemia. *Blood* 1999 ; 93 : 3451-3456.
 - 83) Wiedmer T, Hall SE, Ortel TL, et al : Complement-induced vesiculation and exposure of membrane prothrombinase sites in platelets of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1993 ; 82 : 1192-1196.
 - 84) Ronne E, Pappot H, Grondahl-Hansen J, et al : The receptor for urokinase plasminogen activator is present in plasma from healthy donors and elevated in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 1995 ; 89 : 576-581.
 - 85) Hall C, Richards S, Hillmen P : Primary prophylaxis with warfarin prevents thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH). *Blood* 2003 ; 102 : 3587-3591.
 - 86) Moyo VM, Mukhina GL, Garrett ES, et al : Natural history of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria using modern diagnostic assays. *Br J Haematol* 2004 ; 126 : 133-138.
 - 87) Hillmen P, Hall C, Marsh JC, et al : Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2004 ; 350 : 552-559.
 - 88) Hillmen P, Muus P, Duhrsen U, et al : Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2007 ; 110 : 4123-4128.
 - 89) Ham TH, Dingle JH : Studies on destruction of red blood cells : II. Chronic hemolytic anemia with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : certain immunological aspects of the hemolytic mechanism with special reference to serum complement. *J Clin Invest* 1939 ; 18 : 657-672.
 - 90) Hartmann RC, Jenkins DE : The "sugar-water" test for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 1966 ; 275 : 155-157.
 - 91) Rosse WF, Dacie JV : Immune lysis of normal human and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) red blood cells : I. The sensitivity of PNH red cells to lysis by complement and specific antibody. *J Clin Invest* 1966 ; 45 : 736-748.
 - 92) Shichishima T, Terasawa T, Hashimoto C, et al : Heterogenous expression of decay accelerating factor and CD59/membrane attack complex inhibition factor on paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) erythrocytes. *Br J Haematol* 1991 ; 78 : 545-550.
 - 93) Rosse WF, Hoffman S, Campbell M, et al : The erythrocytes in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria of intermediate sensitivity to complement lysis. *Br J Haematol* 1991 ; 79 : 99-107.
 - 94) Tseng JE, Hall SE, Howard TA, et al : Phenotypic and functional analysis of lymphocytes in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Hematol* 1995 ; 50 : 244-253.
 - 95) Nakakuma H, Nagakura S, Iwamoto N, et al : Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone in bone marrow of patients with pancytopenia. *Blood* 1995 ; 85 : 1371-1376.
 - 96) Wang SA, Pozdnyakova O, Jorgensen JL, et al : Detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in patients with myelodysplastic syndromes and related bone marrow diseases, with emphasis on diagnostic pitfalls and caveats. *Haematologica* 2009 ; 94 : 29-37.
 - 97) Borowitz MJ, Craig FE, Diguseppe JA, et al : Clinical Cytometry Society : Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* 2010 ; 78 : 211-230.
 - 98) Sugimori C, Mochizuki K, Qi Z, et al : Origin and

- fate of blood cells deficient in glycosylphosphatidylinositol-anchored protein among patients with bone marrow failure. *Br J Haematol* 2009 ; 147 : 102-112.
- 99) Diep DB, Nelson KL, Raja SM, et al : Glycosylphosphatidylinositol anchors of membrane glycoproteins are binding determinants for the channel-forming toxin aerolysin. *J Biol Chem* 1998 ; 273 : 2355-2360.
- 100) Brodsky RA, Mukhina GL, Nelson KL, et al : Resistance of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells to the glycosylphosphatidylinositol-binding toxin aerolysin. *Blood* 1999 ; 93 : 1749-1756.
- 101) Brodsky RA, Mukhina GL, Li S, et al : Improved detection and characterization of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria using fluorescent aerolysin. *Am J Clin Pathol* 2000 ; 114 : 459-466.
- 102) Mukhina GL, Buckley JT, Barber JP, et al : Multilineage glycosylphosphatidylinositol anchor-deficient haematopoiesis in untreated aplastic anaemia. *Br J Haematol* 2001 ; 115 : 476-482.
- 103) Hu R, Mukhina GL, Piantadosi S, et al : PIG-A mutations in normal hematopoiesis. *Blood* 2005 ; 105 : 3848-3854.
- 104) Sugimori C, Chuhjo T, Feng X, et al : Minor population of CD55-CD59- blood cells predicts response to immunosuppressive therapy and prognosis in patients with aplastic anemia. *Blood* 2006 ; 107 : 1308-1314.
- 105) Hillmen P, Young NS, Schubert J, et al : The complement inhibitor eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 2006 ; 355 : 1233-1243.
- 106) Brodsky RA, Young NS, Antonioli E, et al : Multi-center phase 3 study of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2008 ; 111 : 1840-1847.
- 107) Kanakura Y, Ohyashiki K, Shichishima T, et al : Safety and efficacy of the terminal complement inhibitor eculizumab in Japanese patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : The AEGIS clinical trial. *Int J Hematol* 2011 ; 93 : 36-46.
- 108) Hillmen P, Elebute M, Kelly R, et al : Long-term effect of the complement inhibitor eculizumab on kidney function in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Hematol* 2010 ; 85 : 553-559.
- 109) Hill A, Rother RP, Wang X, et al : Effect of eculizumab on haemolysis-associated nitric oxide depletion, dyspnoea, and measures of pulmonary hypertension in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 2010 ; 149 : 414-425.
- 110) Hill A, Rother RP, Arnold L, et al : Eculizumab prevents intravascular hemolysis in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and unmasks low-level extravascular hemolysis occurring through C3 opsonization. *Haematologica* 2010 ; 95 : 567-573.
- 111) Issaragrisil S, Piankijagum A, Tang-naitrisorana Y : Corticosteroids therapy in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Hematol* 1987 ; 25 : 77-83.
- 112) Shichishima T, Saitoh Y, Noji H, et al : In vivo effects of various therapies on complement-sensitive erythrocytes in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Int J Hematol* 1996 ; 6 : 291-302.
- 113) Rosse WF : Treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1982 ; 60 : 20-23. Brecher ME, Taswell HF : Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and the transfusion of washed red cells : A myth revisited. *Transfusion* 1989 ; 8 : 681-685.
- 114) Brecher ME, Taswell HF : Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and the transfusion of washed red cells : A myth revisited. *Transfusion* 1989 ; 8 : 681-685.
- 115) Shibasaki T, Matsuda H, Furuya K : Haptoglobin therapy during pregnancy for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with renal failure. *Int J Gynaecol Obstet* 2007 ; 98 : 267-268.
- 116) Hattori K, Hirano T, Oshimi K : Protease inhibitors and haptoglobin for treatment of renal failure in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Hematol* 2000 ; 63 : 61-62.
- 117) Paquette RL, Yoshimura R, Veiseh C, et al : Clinical characteristics predict response to antithymocyte globulin in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 1997 ; 96 : 92-97.
- 118) van Kamp H, van Imhoff GW, de Wolf JT, et al : The effect of cyclosporine on haematological parameters in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 1995 ; 89 : 79-82.
- 119) Stoppa AM, Vey N, Sainty D, et al : Correction of aplastic anaemia complicating paroxysmal nocturnal haemoglobinuria : Absence of eradication of the PNH clone and dependence of response on cyclosporin A administration. *Br J Haematol* 1996 ; 93 : 42-44.
- 120) Schubert J, Scholz C, Geissler RG, et al : G-CSF and cyclosporin induce an increase of normal cells in hypoplastic paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Ann Hematol* 1997 ; 74 : 225-230.
- 121) 仲宗根秀樹, 飯島喜美子, 浅野大樹, ほか : 発作性夜間ヘモグロビン尿症に対する抗胸腺細胞グロブリンおよびシクロスポリンによる免疫抑制療法. *臨床血液* 2008 ; 49 : 498-504.
- 122) Tran MH, Fadeyi E, Scheinberg P, et al : Apparent hemolysis following intravenous antithymocyte globulin treatment in a patient with marrow failure and a paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone. *Transfusion* 2006 ; 46 : 1244-1247.
- 123) 野地秀義, 七島 勉, 石川俊一, ほか : 抗胸腺グロブリン, cyclosporin A および G-CSF による三者併

- 用療法が奏効した骨髓低形成を伴う非定型発作性夜間血色素尿症. 臨床血液 1999 ; 40 : 240-243.
- 124) Ninomiya H, Muraki Y, Shibuya K, et al : Induction of Fc gamma R-III (CD16) expression on neutrophils affected by paroxysmal nocturnal haemoglobinuria by administration of granulocyte colony-stimulating factor. *Br J Haematol* 1993 ; 84 : 497-503.
- 125) Fujimi A, Matsunaga T, Kogawa K, et al : A patient with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria in whom granulocyte colony-stimulating factor administration resulted in improvement of recurrent enterocolitis and its associated haemolytic attacks. *Br J Haematol* 2002 ; 11 : 858-862.
- 126) Jégo P, Le Strat A, Girard L, et al : Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : Efficacy of prolonged treatment with granulocyte colony-stimulating factor. *Blood* 1997 ; 90 : 2841-2843.
- 127) Rosse WF : Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria--present status and future prospects. *West J Med* 1980 ; 132 : 219-228.
- 128) 藤岡成徳. ほか : 発作性夜間血色素尿症の治療と病態 (第1報) 共通プロトコールによる貧血に治療成績の分析と関連事項の検討. 厚生省特発性造血障害調査研究班昭和56年度研究業績報告書, p209, 1982.
- 129) Harrington WJ Sr, Kolodny L, Horstman LL, et al : Danazol for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Hematol* 1997 ; 54 : 149-154.
- 130) Szer J, Deeg HJ, Witherspoon RP, et al : Long-term survival after marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with aplastic anemia. *Ann Intern Med* 1984 ; 101 : 193-195.
- 131) Antin JH, Ginsburg D, Smith BR, et al : Bone marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : Eradication of the PNH clone and documentation of complete lymphohematopoietic engraftment. *Blood* 1985 ; 66 : 1247-1250.
- 132) Kolb HJ, Holler E, Bender-Gotze C, et al : Myeloablative conditioning for marrow transplantation in myelodysplastic syndromes and paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Bone Marrow Transplant* 1989 ; 4 : 29-34.
- 133) Kawahara K, Witherspoon RP, Storb R : Marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Hematol* 1992 ; 39 : 283-288.
- 134) Bemba M, Guardiola P, Garderet L, et al : Bone marrow transplantation for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 1999 ; 105 : 366-368.
- 135) Saso R, Marsh J, Cevreska L, et al : Bone marrow transplants for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* 1999 ; 104 : 392-396.
- 136) Raiola AM, Van Lint MT, Lamparelli T, et al : Bone marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Haematologica* 2000 ; 85 : 59-62.
- 137) Woodard P, Wang W, Pitts N, et al : Successful unrelated donor bone marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Bone Marrow Transplant* 2001 ; 27 : 589-592.
- 138) Suenaga K, Kanda Y, Niiya H, et al : Successful application of nonmyeloablative transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Exp Hematol* 2001 ; 29 : 639-642.
- 139) Takahashi Y, McCoy JP Jr, Carvallo C, et al : In vitro and in vivo evidence of PNH cell sensitivity to immune attack after nonmyeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2004 ; 103 : 1383-1390.
- 140) Hegenbart U, Niederwieser D, Forman S, et al : Hematopoietic cell transplantation from related and unrelated donors after minimal conditioning as a curative treatment modality for severe paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003 ; 11 : 689-697.
- 141) McMullin MF, Hillmen P, Jackson J, et al : Tissue plasminogen activator for hepatic vein thrombosis in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *J Intern Med* 1994 ; 235 : 85-89.
- 142) Hauser AC, Brichta A, Pabinger-Fasching I, et al : Fibrinolytic therapy with rt-PA in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and Budd-Chiari syndrome. *Ann Hematol* 2003 ; 82 : 299-302.
- 143) Audebert HJ, Planck J, Eisenburg M, et al : Cerebral ischemic infarction in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria report of 2 cases and updated review of 7 previously published patients. *J Neurol* 2005 ; 252 : 1379-1386.
- 144) De Gramont A, Krulik M, Debray J : Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria and pregnancy. *Lancet* 1987 ; 1 (8537) : 868.
- 145) Danilov AV, Smith H, Craig S, et al : Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and pregnancy in the era of eculizumab. *Leuk Res* 2009 ; 33 : e4-e5.
- 146) Kelly R, Arnold L, Richards S, et al : The management of pregnancy in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria on long term eculizumab. *Br J Haematol* 2010 ; 149 : 446-450.
- 147) Marasca R, Coluccio V, Santachiara R, et al : Pregnancy in PNH : Another eculizumab baby. *Br J Haematol* 2010 ; 150 : 707-708.
- 148) Danilov AV, Brodsky RA, Craig S, et al : Managing a pregnant patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the era of eculizumab. *Leuk Res* 2010 ; 34 : 566-571.