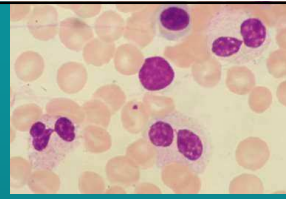
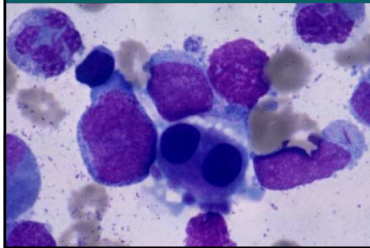


第2回
北摂・北河内
血液セミナー
2011.3.4



骨髓異形成症候群(MDS)

～ 難解な疾患へのアプローチ ～



川崎医科大学検査診断学
同 附属病院中央検査部
川崎医療短期大学臨床検査科

とお やま
通山 薫

研究室ホームページ エルエイチ
<http://www.kawasaki-m.ac.jp/lh/>

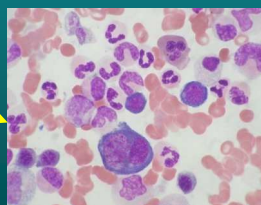
骨髓異形成症候群 (myelodysplastic syndrome; MDS) は、骨髓中に生じた異常クローンによる無効造血の結果としておこる後天性造血障害で、血球形態異常(異形成像)で特徴づけられる。

骨髓細胞は一見保たれているが、次第に貧血・血球減少をきたしてしばしば骨髓不全に陥る一方、急性骨髓性白血病へ移行しやすい前白血病的性格を併せ持つ予後不良の骨髓疾患である。



正常骨髓細胞

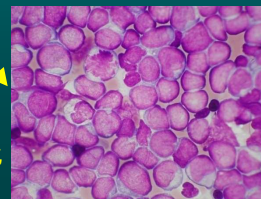
遺伝子
変異



MDS発症
形態異常を伴う血球減少

遺伝子変異が蓄積

血球減少による
骨髓不全



白血病化

本邦における有病率 ～ 3/10万人(増加傾向)
患者年齢中央値 65歳、男女比 ほぼ2/1

MDSの病型分類 (WHO分類2008年版から改変引用)		
病型	末梢血所見	骨髄所見
Refractory cytopenia with unilineage dysplasia (RCUD) Refractory anemia (RA) Refractory neutropenia (RN) Refractory thrombocytopenia (RT)	1~2系統の血球減少 芽球(-)またはごくわずか(1%未満)	1系統のみで10%以上の細胞に異形成 芽球5%未満 環状鉄芽球は全赤芽球の15%未満
Refractory anemia with ring sideroblasts (RARS)	貧血 芽球(-)	赤芽球系の異形成のみ 環状鉄芽球は全赤芽球の15%以上 芽球5%未満
Refractory cytopenia with multilineage dysplasia (RCMD)	1~3系統の血球減少 芽球(-)またはごくわずか(1%未満) Auer rod(-) 単球 $1 \times 10^3 / \mu\text{l}$ 未満	2系統以上で10%以上の細胞に異形成 芽球5%未満 Auer rod(-) 環状鉄芽球15%以上の場合もRCMDとする
Refractory anemia with excess blasts-1 (RAEB-1)	血球減少 芽球5%未満* Auer rod(-) 単球 $1 \times 10^3 / \mu\text{l}$ 未満	1~3系統に異形成 芽球5~9%* Auer rod(-)
Refractory anemia with excess blasts-2 (RAEB-2)	血球減少 芽球5~19% Auer rod(±)** 単球 $1 \times 10^3 / \mu\text{l}$ 未満	1~3系統に異形成 芽球10~19% Auer rod(±)**
MDS, unclassifiable (MDS-U)	血球減少*** 芽球1%以下または1%台****	異形成有意でないがMDS示唆する細胞遺伝学的異常 芽球5%未満
MDS with isolated del(5q), 5q- syndrome	貧血 血小板数は正常または増加 芽球(-)またはごくわずか(1%未満)	低分葉核をもつ巨核球が増加 芽球5%未満 del(5q)の単独異常 Auer rod(-)

* 骨髄中芽球<5%で末梢血中の芽球比率が2~4%の場合はRAEB-1とする。
** Auer rodが見られる場合は芽球の多寡にかかわらずRAEB-2とする。
*** 1系統のみの細胞に異形成があって汎血球減少を呈する症例はMDS-Uとする。
**** 骨髄中芽球<5%で末梢血中の芽球比率が1%台の場合はMDS-Uとする。

MDSのWHO-2008分類 (Blue book 第4版)

Refractory cytopenia with unilineage dysplasia (RCUD):

単一細胞系列の異形成を伴う一血球または二血球減少

Refractory anemia
Refractory neutropenia
Refractory thrombocytopenia

RARS

RCMDとRCMD-RSの統合: 予後が同じで、区別する意味がない

RAEB-1: BM芽球5~9%、またはPB芽球2~4%

RAEB-2: BM芽球10~19%、またはPB芽球5~19%、またはAuer rodの存在

5q- Syndrome

MDS-U:

- ・異形成は各系列の10%未満だが、MDS関連の細胞遺伝学的異常を伴う場合
- ・単一細胞系列のみに異形成があるが、汎血球減少を呈する場合
- ・RCUD, RCMDの病像であるが、PB芽球が1%台検出された場合

Childhood MDS

Hypoplastic MDS

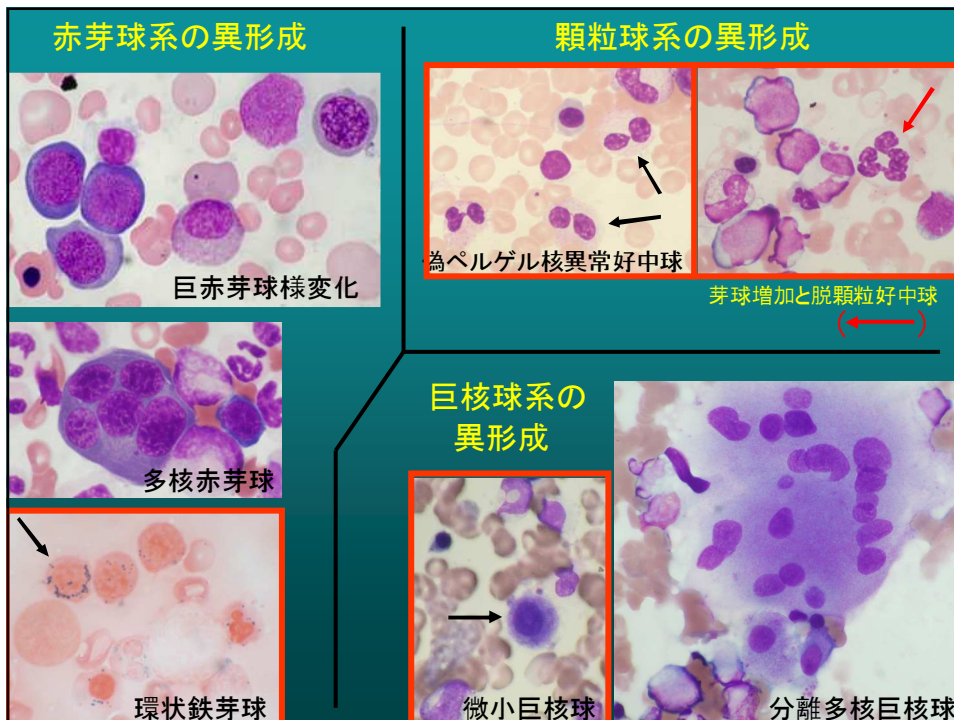
MDS with myelofibrosis: RAEB with fibrosis (RAEB-F)として記載

Idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS): 6ヶ月以上持続する原因不明の血球減少で、MDSに合致する形態や染色体異常がない。Follow up対象

WHO分類第4版におけるMDS診断のポイント

- ・ 血球減少 (Hb <10g/dL, Neutrophil <1,800/μL, Plt <10,000/μL)
ただしこの数値に該当しない場合でも診断を考慮してよい
- ・ 経過は緩徐である
- ・ 骨髓中、末梢血中のいずれでも芽球比率 < ANCの20%
- ・ 血球異形成所見
- ・ MDSに相応しい染色体異常
- ・ AML特異的(反復性)染色体異常[t(8;21), t(15;17), inv(16)]が見られた場合は、芽球比率が低くてもAMLと診断する

5



MDSに見られる主な異形成所見

赤芽球系異形成	顆粒球系異形成	巨核球系異形成
核周囲不整	小型あるいは大型好中球	微小巨核球
核間架橋	低分葉(偽Pelger) 核好中球	単核巨核球
核破砕像	過分葉核好中球	円形分離多核巨核球
多核赤芽球	脱顆粒好中球	
巨赤芽球様変化	偽Chediak-Higashi 顆粒	
環状鉄芽球	(輪状核好中球)	
空胞化	(ペルオキシダーゼ陰性好中球)	
PAS染色陽性赤芽球	Auer小体	

特発性造血障害調査研究班: 不応性貧血診療の参照ガイド: 臨床血液47(1), 2006を改変引用

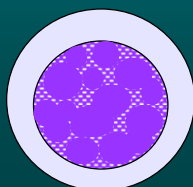
はIWG-MDSにて重視された異形成
(輪状核好中球) (ペルオキシダーゼ陰性好中球)はWHO-2008で取り上げられていない

7

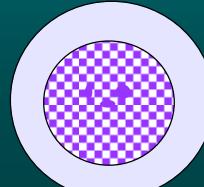
赤芽球の鑑別



正常な多染性赤芽球
核クロマチンが凝集塊となっ
ていく

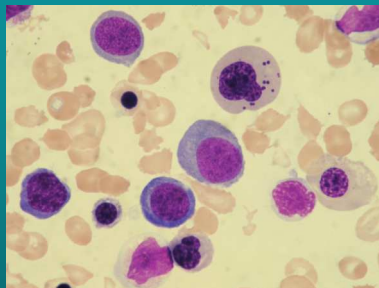


多染性巨赤芽球
細胞質の成熟のわりに、繊細な網目状
or スポンジ様の核網に注目!
N/C比は小さめ

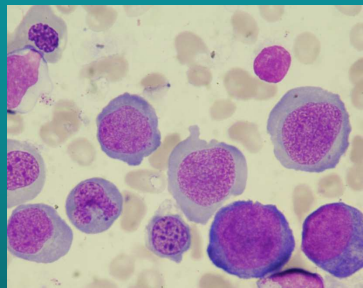


8

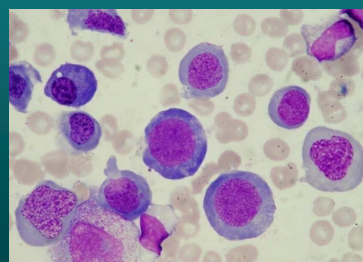
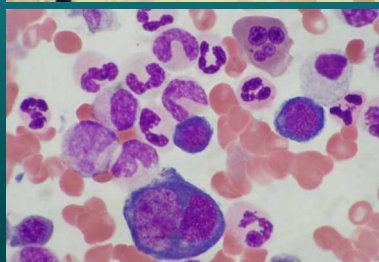
巨赤芽球様変化をどう捉えるか？



多彩な異形成 → MDS

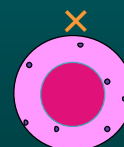
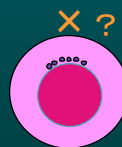
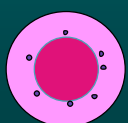
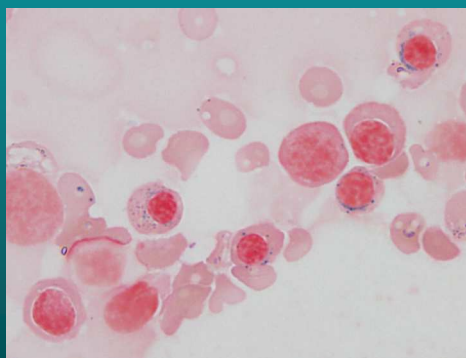
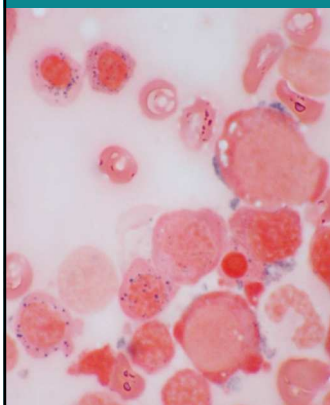


均一な異形成 → MDS以外の
巨赤芽球性貧血

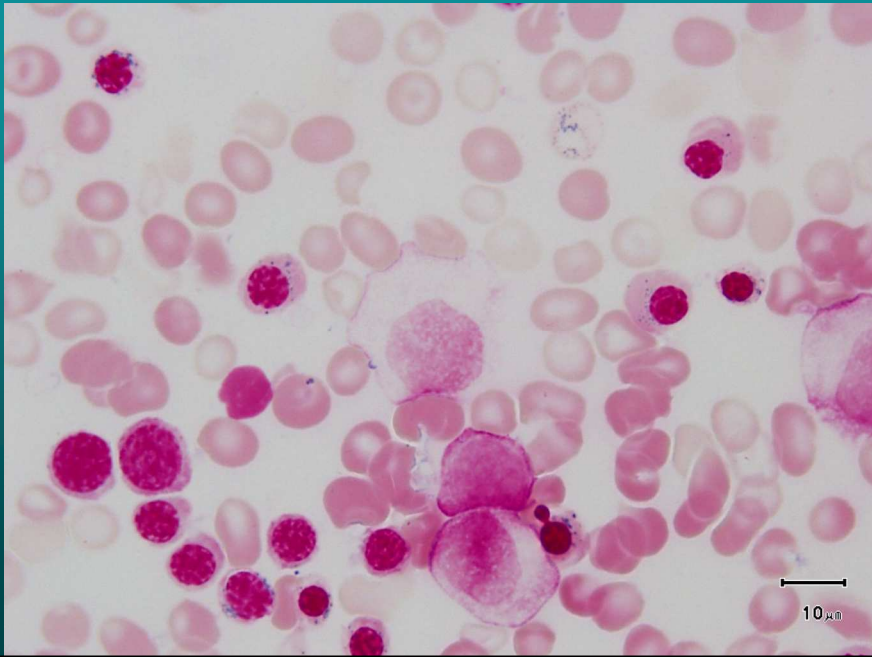


環状鉄芽球 Ring sideroblasts とは？

- ・核周囲または核近傍に (WHO分類第4版では核周囲3分の1以上の規定残っている)
- ・5個以上の鉄染色陽性顆粒
- ・100個以上検鏡して頻度を求める (赤芽球の15%以上ならば有意)

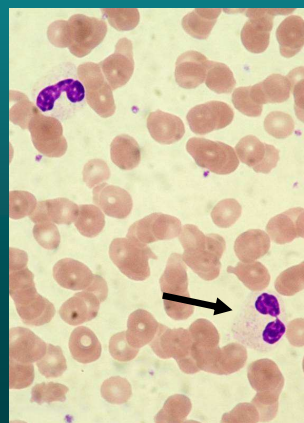
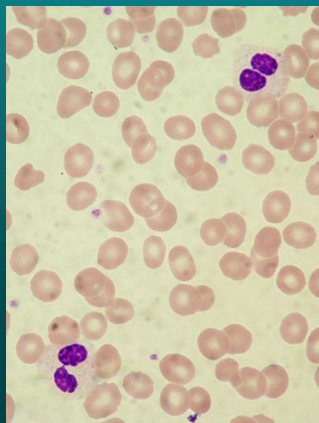


どれを環状鉄芽球とみなしますか？



ペルゲル核異常好中球 Hypossegmented mature neutrophils (pseudo-Pelger-Huet) とは？

- ・核は2分葉(分葉部分の幅は3分の1以下に狭小化)
- ・クロマチンは凝集・粗大化
- ・100個以上検鏡してその頻度を求める(10%以上ならば有意)



好中球のPelger-Huet 核異常

Familial (1000から1万人に1人; homozygoteは骨格や心臓奇形合併)

分葉異常だけでなくクロマチンの粗剛化が見られる

核膜裏打ち蛋白 Lamin B に対する receptor 遺伝子変異の発見

Hoffman K, et al: Mutation in the gene encoding the Lamin B receptor produce an altered nuclear morphology in granulocytes (Pelger-Huet anomaly).
Nature Genetics 31: 410-414, 2002

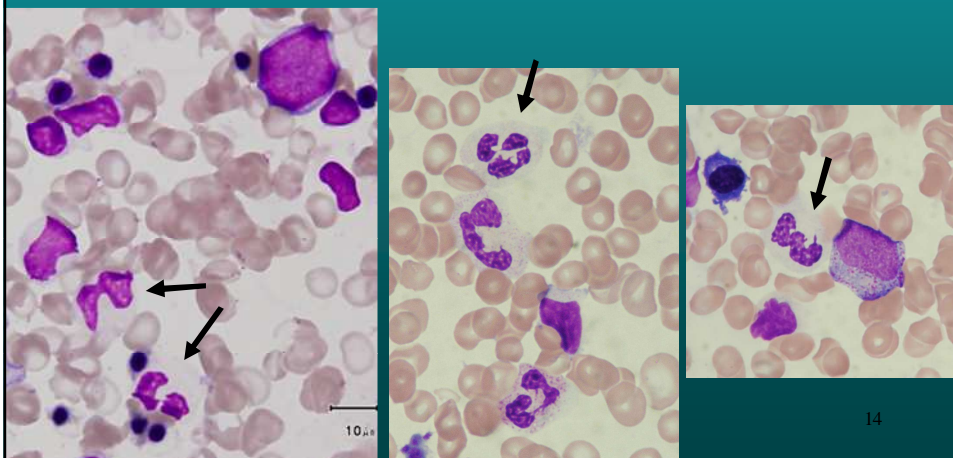
↓
Lamin - Lamin receptor 系に分子異常がおこると、核分葉形態に異常をきたす

↓
果たしてMDSではどうなっているのか？

Lamin 関連異常の報告はない・・・

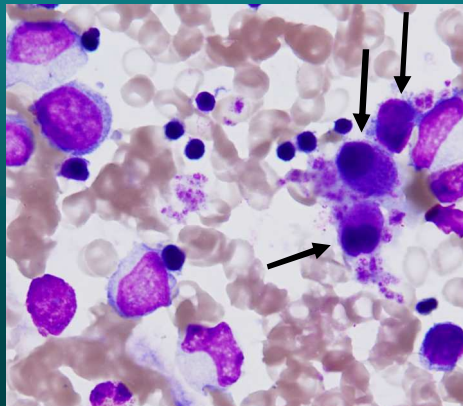
脱顆粒好中球 Degranulation of neutrophils (Agranular/hypogranular neutrophils) とは？

- ・無顆粒または80%以上の顆粒減少
- ・染色条件に伴うartifactに注意！（複数視野、末梢血でも要確認）
- ・100個以上検鏡してその頻度を求める（10%以上ならば有意）



微小巨核球 Micromegakaryocytes とは？

- ・単核または2核で、成熟している（巨核芽球と区別）
- ・サイズは前骨髄球以下
- ・25個以上検鏡してその頻度を求める
（10%以上ならば有意、25個検鏡できない場合は mMgk が3個以上あれば有意とする）



日本版MDS形態診断基準案を作成（特発性造血障害調査研究班、2008）

血球減少をきたす他の疾患・病態を除外することが前提

カテゴリーA: 偽Pelger核好中球、脱顆粒好中球、微小巨核球、環状鉄芽球

カテゴリーB: 上記以外の形態異常

（赤芽球系の異常は環状鉄芽球を除いてすべてB）

定量的判定に基づく異形成の程度区分

High:

1. 偽Pelger $\geq 10\%$ または 脱顆粒 $\geq 10\%$ 、かつ 微小巨核球 $\geq 10\%$
または
2. 環状鉄芽球 $\geq 15\%$

Intermediate:

- 2～3系統で異形成(カテゴリーAとBの合計) $\geq 10\%$

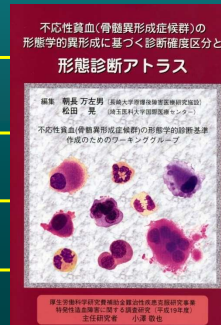
Low:

- 1系統で異形成(カテゴリーAとBの合計) $\geq 10\%$

Minimal:

- 1～3系統で異形成(カテゴリーAとBの合計) 1～9%

日本検査血液学会HPからダウンロード可能→



芽球増加の捉えかた・・・

芽球比率による病型区分(WHO分類2008年版)

病型	RCUD, RCMD	MDS-Uの一型	RAEB-1	RAEB-2	AML
末梢血芽球	<1%	1%台	2~4%	5~19%	≥20%
	and	and	or	or	or
骨髄中芽球	<5%	<5%	5~9%	10~19%	≥20%
	and	and	and	or	and
Auer rod	—	—	—	+	±

17

診断時にMDSで認められる染色体異常 (WHO-2008分類)

染色体異常	原発性MDS	治療関連MDS
不均衡型		
+8*	10%	
-7 or del(7q)	10%	50%
-5 or del(5q)	10%	40%
del(20q)*	5~8%	
-Y*	5%	
i(17q) or t(17p)	3~5%	
-13 or del(13q)	3%	
del(11q)	3%	
del(12p) or t(12p)	3%	
del(9q)	1~2%	
dic(X)(q13)	1~2%	
均衡型		
t(11;16)(q23;p13.3)		3%
t(3;21)(q26.2;q22.1)		2%
t(1;3)(p36.3;q21.2)	1%	
t(2;1)(p21;q23)	1%	
inv(3)(q21;q26.2)	1%	
t(6;9)(p23;p34)	1%	

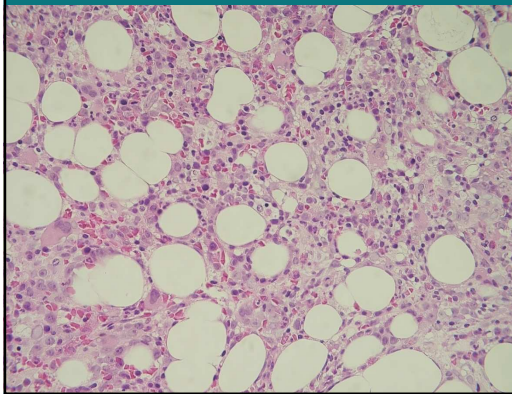
* 形態学的基準を満たさない場合は、これらの染色体異常の単独の存在のみではMDSと診断できない。持続する原因不明の血球減少に加えて、遺伝子異常などMDSを示唆する所見が診断に必要となる。

18

MDS with (myelo) fibrosis

MDSの約10～15%に見られる。

細網線維が骨髓中にび慢性に拡大し(膠原線維の増加は問わない)、かつ複数血球系に異形成がある場合が該当するが、明確な定義はない。



多くの場合骨髓芽球の増加を伴っていてRAEBに相当することから、RAEB with fibrosis (RAEB-F) という。骨髓線維化をきたす他疾患との鑑別を要する。

19

International Prognostic Scoring System (IPSS)

	スコア				
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
骨髓中芽球 (%)	< 5	5~10	—	11~20	21~30
核型異常	good	int	poor		
血球減少	0/1	2/3			

核型異常: good--- 正常核型, -Y, del(5q), del(20q) どれかひとつ
 poor--- 7番染色体異常, 3箇所以上の染色体異常
 intermediate--- good、poor以外のもの

血球減少: ヘモグロビン濃度 < 10g/dl; 好中球数 < 1,800/μl;
 血小板数 < 100,000/μl
 但し末梢白血球数 > 12,000/μlを呈するCMMLを除く

判定	Low	Int-1	Int-2	High
	0	0.5~1.0	1.5~2.0	≥ 2.5

(Greenberg P, et al: Blood, 1997)

WHO Classification-based Prognostic Scoring System (WPSS)

ポイント	0	1	2	3
WHO-2001 病型	RA, RARS 5q- Synd	RCMD RCMD-RS	RAEB-I	RAEB-II
輸血の必要性	なし	定期的に必要な*		
核型の重篤度 (IPSSと同じ)	good	intermediate	poor	

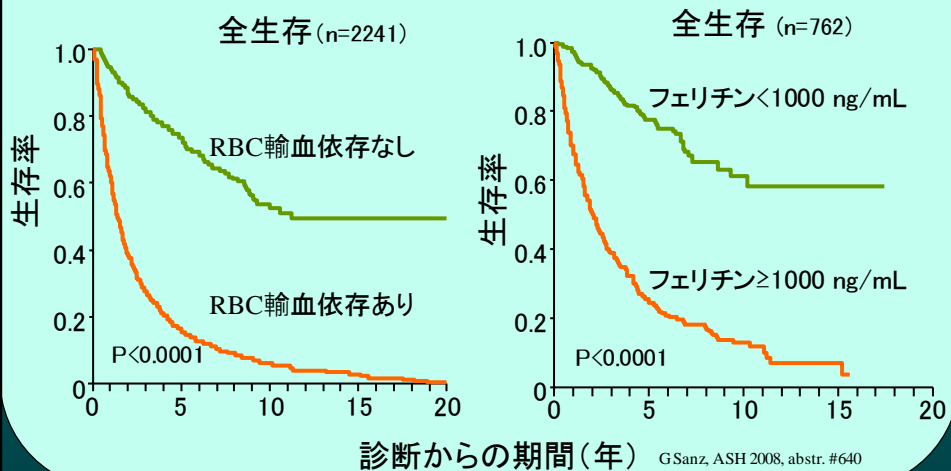
* 少なくとも濃厚赤血球1単位を8週毎に必要

リスクスコア:	極低リスク	0
	低リスク	1
	中等度リスク	2
	高リスク	3~4
	極高リスク	5~6

(Malcovati L, et al: J Clin Oncol 2007)

輸血依存および鉄過剰症の全生存率への影響

WPSS以外の因子を加えた多変量解析において、
輸血依存と鉄過剰症はIPSSとは独立した予後因子であった。



輸血後鉄過剰症の診断基準

(特発性造血障害に関する調査研究班)

- 1: 総赤血球輸血量が20単位(小児の場合、ヒト赤血球濃厚液50mL/体重kg)以上
 - 2: 血清フェリチン値が500 ng/mL以上
- 上記の2項目の両方にあてはまる場合を輸血後鉄過剰症と診断する。

輸血後鉄過剰症の重症度基準

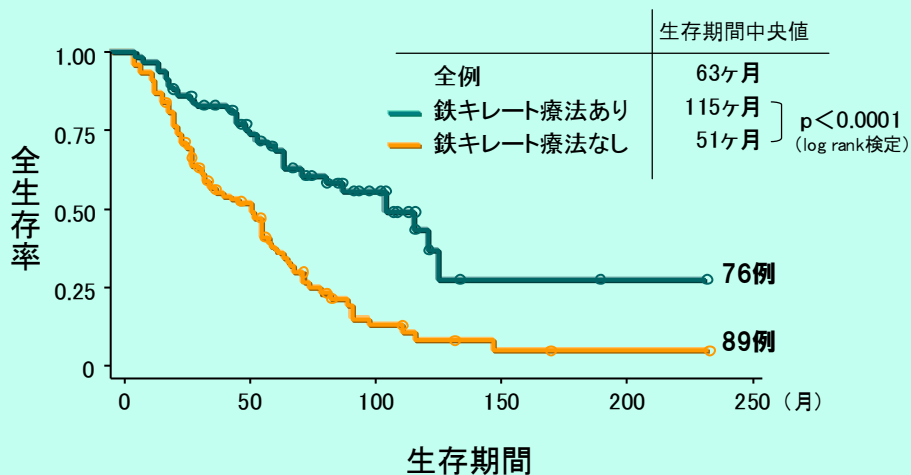
(特発性造血障害に関する調査研究班)

- Stage 1: 血清フェリチン値>500 ng/mL
Stage 2: 血清フェリチン値>1,000 ng/mL
Stage 3: 血清フェリチン値>2,500 ng/mL
Stage 4: 血清フェリチン値>5,000 ng/mL

鉄過剰症によると考えられる臓器障害なし:A
鉄過剰症によると考えられる臓器障害あり:B

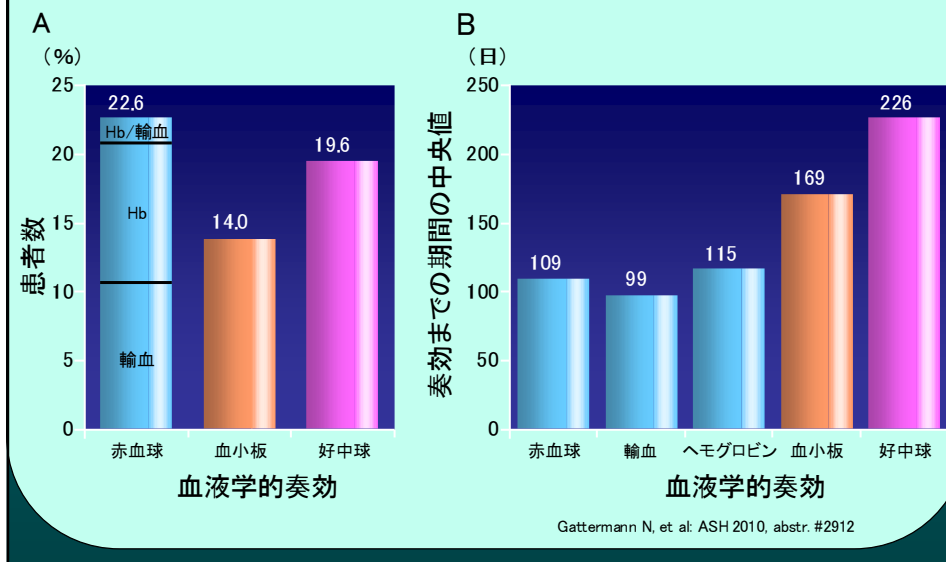
23

輸血依存性MDS患者の予後における鉄キレート療法の効果



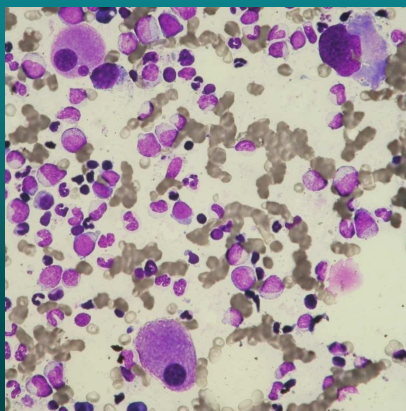
C. Rose, ASH 2007, abstr. #249

(A) 血液学的奏効を認めた患者の割合と
(B) 血液学的奏効までの期間の中央値



5q- Syndrome

(WHO分類)

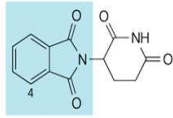


- 女性に多い
- 大球性貧血で多くは輸血依存性
- 血小板数は正常～増加
- 巨核球の核は低分葉
- 染色体異常は de(5q) のみ
- 骨髓中芽球 < 5%
- 白血病への移行少ない
- レナリドミドが劇的に奏効

Thalidomide はMDSにおける輸血依存性を解除する (Raza, et al: Blood 2001)

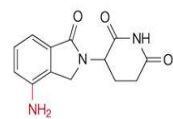
MDSにおけるlenalidomide の有用性. (List, et al: NEJM 2005)

Thalidomide



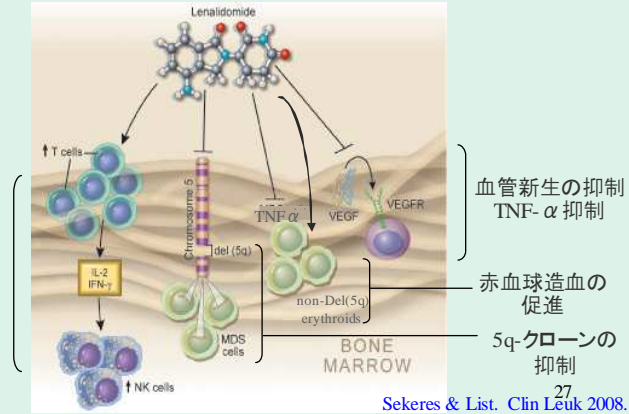
Phthaloyl ring

Lenalidomide



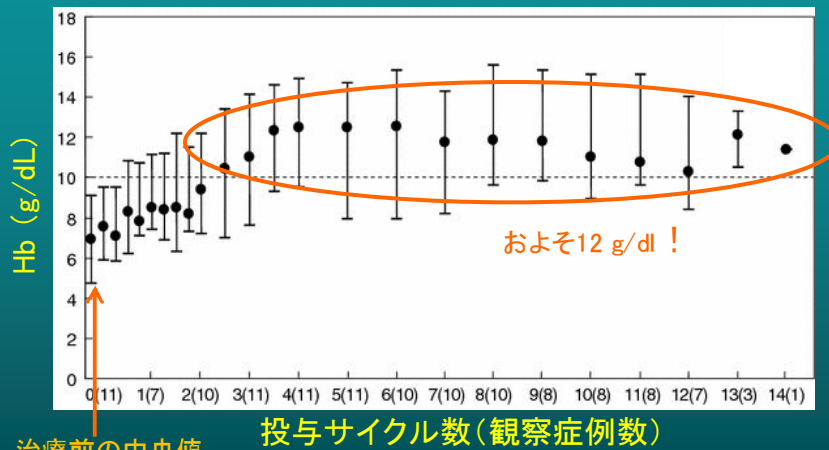
免疫調節作用

MDSの前駆細胞と骨髄微小環境における Lenalidomide の作用機序



レナリドミドの血中ヘモグロビン値に対する効果

(染色体異常5q-を有する日本人MDS患者11例)



治療前の中央値
6.9 g/dl

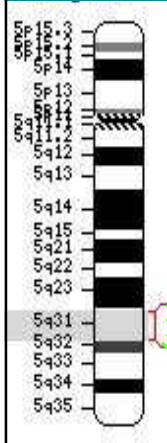
投与サイクル数 (観察症例数)

(Harada H, et al: Int J Hematol 90:353-360, 2009)

11例中7例で異常染色体5q-が消失または減少した!

→ レナリドミドは5q-のあるMDSにおいて分子標的治療薬かも?

MDSと関連の深い染色体異常5q-の標的遺伝子の検索



~5q31: AML/t-MDS

5q32-33: 5q-syndrome

CTNNA-1 (α -カテニン):

5q-患者造血幹細胞やHL60細胞株で、プロモーター領域修飾のために発現低下している遺伝子 (Liu TX, et al: Nat Med, 2007)

EGR-1 (*early growth response-1*):

transcriptional regulator. ヘテロKOマウスが骨髄増殖性疾患を発症 (Joslin JM, et al: Blood, 2007)

SPARC (*secreted protein acidic and rich in cysteine*):

matrix-associated protein that elicits changes in cell shape, inhibits cell-cycle progression. 5q-症候群患者で発現低下しているが、患者由来赤芽球をレナリドミド存在下に培養して発現回復する遺伝子 (Pellagatti A, et al: PNAS, 2007)

RPS14 (*ribosomal subunit protein 14*):

RNA干渉法を用いた遺伝子発現抑制スクリーニングの結果、赤芽球分化の抑制がおこる遺伝子 (Ebert B, et al: Nature, 2008)

*RPS14*のhaploinsufficiencyとp53の過剰な活性化

(Barlow JL, et al: Nat Med, 2010)

MicroRNA (*miR-145* and *miR-146a*):

miRNAの欠落がTIRAP→TRAF6→IL6経路を亢進させ、単核巨核球形成と血小板増加 (Starczynowski DT, et al: Nat Med, 2009)

KIF20A:

5q-MDS細胞株をレナリドミド処理したときに発現低下する分子 (Matsuoka A, et al: Leukemia, 2010)

DNA メチル化阻害剤とその薬理作用機序

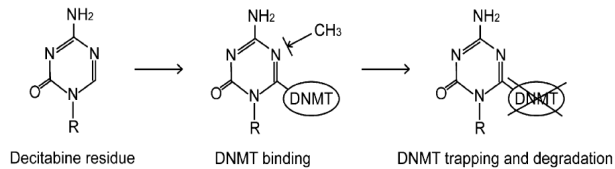
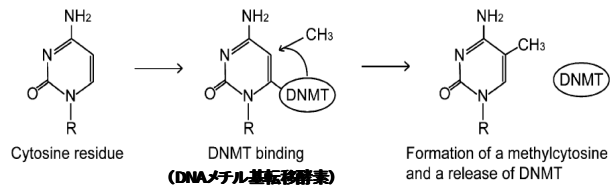
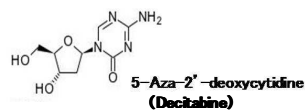
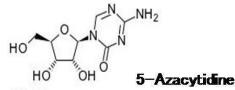
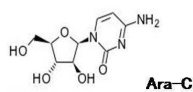
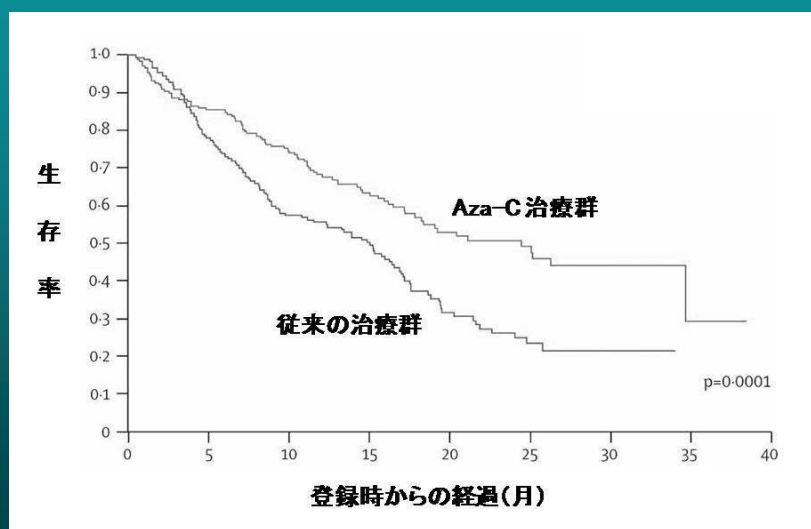


Fig. 2. Mechanisms of DNMT inhibition. Normally DNMT forms a covalent bond with the cytosine ring and transfers methyl group from S-adenosylmethionine to cytosine ring. Release of DNMT from cytosine is dependent on the addition of the methyl group. When decitabine is incorporated into DNA, DNMT forms a covalent bond with the decitabine ring, but the N group at 5' position prohibits the addition of the methyl group, thereby preventing methylation and covalently trapping DNMT.

Aza-C治療による生存期間の延長



(Fenaux P, Mufti GJ, et al. Lancet Oncology, 2009)

31

MDSの診断と治療の進歩——今後に向けて

病因・病態解明: ゲノムワイドなアプローチ ↔ 治療薬の標的分子

科学的に区分できる疾患単位の抽出(例: 免疫病態に基づく骨髄不全症候群)

MDSに特徴的な形態異常をもたらす分子メカニズムは???

診断: FAB分類 (1982) → WHO-2001分類 → WHO-2008 分類 → ?

全国的調査に基づく標準的診断法の確立と普及

予後予測: スコアリングシステムの見直し

International Prognostic Scoring System (1997):

芽球比率、核型異常の悪性度、血球減少の程度

WHO Classification-based Prognostic Scoring System (2007):

WHO病型、核型異常の悪性度、赤血球輸血依存性の有無

IPSS 改訂の計画

治療: 造血幹細胞移植の多様化

レナリドミド、DNAメチル化阻害剤、あらたな分子標的療法

経口鉄キレート剤による除鉄療法

32

MDSに対するあらたな治療戦略

- ・免疫調節剤 サリドマイド誘導体： レナリドミド[商品名レブラミド]
5q-症候群を含む5q-MDS症例において細胞遺伝学的効果！
本邦でも臨床試験にて有望な成績
→2010年8月に適応承認された
5q-以外の低リスクMDSにも有用である可能性
- ・DNAメチル化阻害剤：
AMLへの移行を遅延させる
5-アザシチジン[Vidaza] →2011年2月に適応承認された
5-アザデオキシシチジン[デシタビン; Dacogen]
- ・鉄過剰症への対策： 内服の鉄キレート剤 [商品名エクジェイド]

MDS治療の未来は明るい(かも??)