

# 発作性夜間ヘモグロビン尿症

## 診療の参照ガイド（平成 22 年度改訂版）

発作性夜間ヘモグロビン尿症（PNH）の診断基準と診療の参照ガイド  
改訂版作成のためのワーキンググループ

### 【責任者】

金倉 讓 大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科学

### 【メンバー】

西村 純一 大阪大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科学  
木下タロウ 大阪大学学微生物病研究所免疫不全疾患研究分野  
中尾 眞二 金沢大学大学院医薬保健研究域医学系細胞移植学  
岡本真一郎 慶應義塾大学医学部血液内科  
中熊 秀喜 和歌山県立医科大学輸血・血液疾患治療部（血液内科）  
千葉 滋 筑波大学大学院人間総合科学研究科  
疾患制御医学専攻 血液病態制御医学分野  
七島 勉 福島県立医科大学 循環器・血液内科  
川口 辰哉 熊本大学医学部附属病院感染免疫診療部  
二宮 治彦 筑波大学大学院人間総合科学研究科  
疾患制御医学専攻血液病態医学分野医療科学  
金丸 昭久 近畿大学医学部 内科学教室 血液内科部門

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  
研究代表者 小澤敬也

平成 23 年（2011 年） 3 月



---

1. 緒言	103
1) はじめに	103
2) 作成法	103
(1) 構成メンバー	103
(2) 信頼度(エビデンスレベル)	103
2. 定義(疾患概念)	104
3. 診断基準	104
病型分類	104
4. 重症度分類	105
5. 疫学	106
1) 発生頻度	106
2) 臨床病歴と自然歴	107
3) 自然寛解	108
4) 死因	108
5) 生存期間	109
6) 長期予後	109
6. 病因・病態	110
1) 溶血機序	110
2) 病因遺伝子	111
3) PNHクローン拡大機序	112
7. 症状および臨床経過	114
1) 溶血(ヘモグロビン尿)および関連事項	114
2) 造血不全	114
3) 異常造血(MDSあるいは白血病への移行)	115
4) 血栓症	115
5) 感染症	117
8. 検査	117
1) フローサイトメトリー	117
(1) PNHタイプ血球の検出法	117
(2) PNHタイプ血球の推移と臨床症状	119
(3) 微少PNHタイプ血球の意義	121
9. 治療指針	122
1) 治療薬・治療法	123
(1) エクリズマブ	123
(2) 副腎皮質ステロイド薬	124
(3) 輸血療法	124
(4) 鉄剤・葉酸	124

## 目 次

---

(5) ハプトグロビン.....	125
(6) 免疫抑制剤.....	125
(7) G-CSF.....	125
(8) 蛋白同化ステロイド薬.....	126
(9) 造血幹細胞移植.....	126
(10) 血栓溶解剤・ヘパリン.....	127
(11) ワルファリン.....	127
2) 治療の参照ガイド.....	128
(1) 妊娠の参照ガイド.....	128
(2) 小児患者の参照ガイド.....	129
参考文献.....	129

## 1. 緒言

### 1) はじめに

発作性夜間ヘモグロビン尿症 (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は頻度は低い特徴的な臨床像によってとら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めざし、それをコンセンサス・ペーパーとして公表した<sup>0)</sup>。

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、その意味で我が国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、我が国の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「不応性貧血の治癒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表紙に記載した通りである。

#### (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、臨床病態等については平成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は希な疾患であり、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、保険適応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我が国を含むアジア人とでは、一定の差異を認めることも明らかにされているので、欧米からの報告を我が国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。

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

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 ( 比較研究や相関研究, 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 . 定義 ( 疾患概念 )

発作性夜間ヘモグロビン尿症 ( paroxysmal nocturnal hemoglobinuria , 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 ( クームス陰性 ) 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。血栓症は本邦例では稀ではあるが、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 ( 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、尿沈渣のヘモジデリン陽性
- 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、染色体検査等による他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。

4 . 重症度分類 ( 平成22年度改訂 )

古典的PNH

軽 症	下記以外
中等症	ヘモグロビン濃度 10 g/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 7 g/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 重症ではエクリズマブの絶対適応、中等症では相対的適応と考えられる。

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 10 g/dL未満 好中球 1,000/ $\mu$ L未満 血小板 50,000/ $\mu$ 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 7 g/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/ $\mu$ L未満 血小板 20,000/ $\mu$ 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

厚労省の平成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、わが国におけるPNHの推定有病者数は430人であった<sup>1)</sup>【 〽️】。発症頻度に関しては、中国で17,600,344人の住人に対して1975年から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名が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<sup>2)</sup>【 〽️】。性別では欧米およびわが国では男女比がほぼ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1)。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。

表1 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 2)	中国	476	400/76	5.3
Huang WX et al 3)	中国	128	96/32	3.0
Kruatrache M et al 4)	タイ	85	62/23	2.7
Hillmen P et al 5)	イギリス	80	33/47	0.7
Socie G et al 6)	フランス	220	100/120	0.8
Nishimura J et al 7)	アメリカ	176	77/99	0.8
	日本	209	118/91	1.3
Fujioka S et al 8)	日本	133	73/60	1.2

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) でアメリカが32.8歳 (range: 4-80) に対して有意に高かった(図1)<sup>7)</sup>【 〽️】。フランスの報告では33歳<sup>6)</sup>【 〽️】、イギリスの報告では42歳<sup>5)</sup>【 〽️】、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、アメリカでは10~30歳代にピークをむか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<sup>9)</sup>【 〽️】、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。

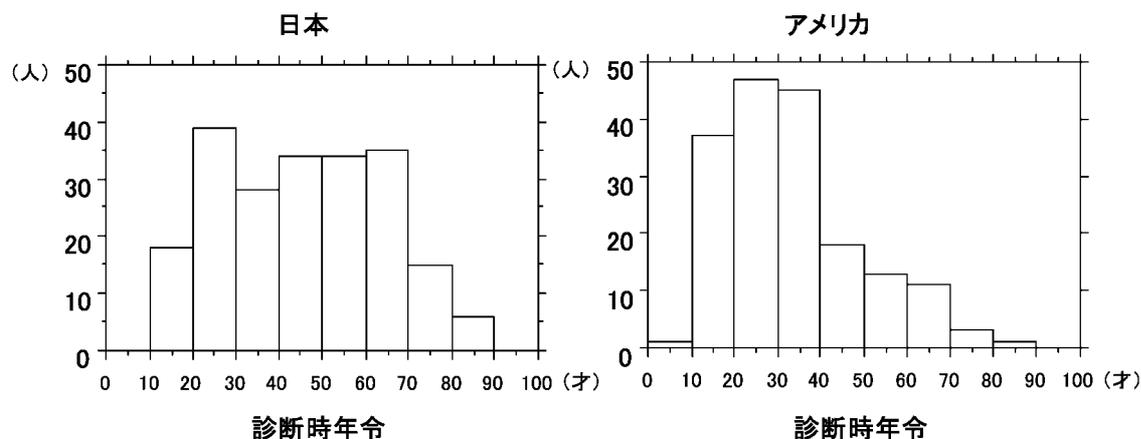


図1 日本とアメリカにおけるPNH患者の診断時年齢<sup>7)</sup>

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2に示す<sup>7)</sup> 【 】。

表2 日本とアメリカにおける診断時の臨床所見と検査所見<sup>7)</sup>

	日本	アメリカ
先行病変	症例数 (%)	症例数 (%)
再生不良性貧血	79 (37.8)	51 (29.0)
骨髄異形成症候群	10 (4.8)	9 (5.1)
初発症状		
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.	Mean ± S.E.
HGB (g/dL)	* 8.2 ± 0.2	9.7 ± 0.2
網状赤血球数 (X 10 <sup>9</sup> /L)	* 78.3 ± 6.2	195.3 ± 13.1
白血球数 ( X 10 <sup>6</sup> /L )	* 3475.3 ± 137.5	4947 ± 198.6
好中球数 ( X 10 <sup>6</sup> /L )	* 1781.6 ± 132.5	3005.1 ± 156.4
血小板数 ( X 10 <sup>9</sup> /L )	* 96.0 ± 5.8	140.1 ± 8.6
LDH (U/L)	1572.3 ± 91.7	2337.2 ± 405.6

\*; P<0.05

先行病変としてAAを伴う頻度は、日本が37.8%に対しアメリカが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、血栓症はアメリカで有意に高かった。

診断時検査所見も同様に、造血不全を反映するヘモグロビン、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、溶血を反映する網状赤血球、LDHはアメリカ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3に示す<sup>7)</sup>【 〇】。

表3 日本とアメリカにおける臨床経過<sup>7)</sup>

	日本	アメリカ
合併症	症例数 (%)	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)
骨髄異形成症候群	8 (3.8)	6 (3.4)
白血病	6 (2.9)	1 (0.6)
腎不全	22 (10.5)	16 (9.1)

\*;  $P < 0.05$

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アメリカに多かったものの、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得るというのも特徴の一つであるが、その頻度に関しては、イギリスの15%という非常に高い報告もあるものの<sup>5)</sup>【 〇】、フランスの報告<sup>6)</sup>【 〇】でも当班の日米比較調査<sup>7)</sup>【 〇】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。イギリスの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<sup>5)</sup>。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<sup>8)</sup>。

### 4) 死因

当班の日米比較調査による死因別統計を表4に示す<sup>7)</sup>【 〇】。

表4 日本とアメリカにおける死因別統計<sup>7)</sup>

	日本	アメリカ
死因	症例数 (%)	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)

\*;  $P < 0.05$

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）<sup>2,7,9</sup>。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<sup>5-7</sup>。

#### 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<sup>7</sup>【 表5】。

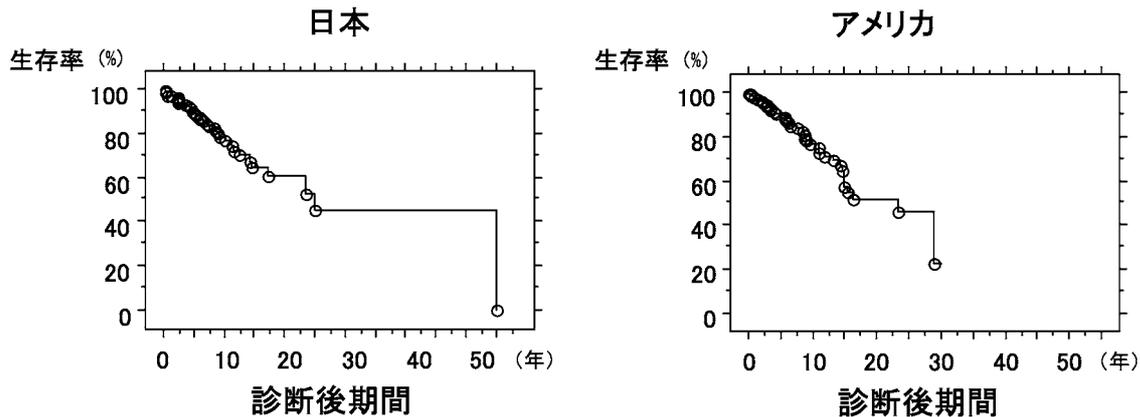


図2 日本とアメリカにおける診断後の生存率曲線（Kaplan-Meier法）<sup>7</sup>【 表5】

診断後の平均生存期間は、日本が32.1年とアメリカの19.4年に対し長かったが、50%生存期間では、日本が25.0年、アメリカが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）<sup>6</sup>【 表5】、イギリス（10.0年）<sup>5</sup>【 表5】、日本（16.0年）<sup>9</sup>【 表5】、アメリカ小児例（13.5年）<sup>10</sup>【 表5】）。

#### 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、血栓症の発症（相対死亡危険率（RR）=10.2）、汎血球減少症への進展（RR=5.5）、MDS/急性白血病（acute leukemia, AL）の発症（RR=19.1）、診断時年齢55才以上（RR=4.0）、複数の治療必要症例（RR=2.1）、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<sup>6</sup>【 表5】。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剤により一旦造血能が回復しており、その後PNHクローンが出現してることが多く、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得るのだろうと推察される。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ほど血栓症が多くなく、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、診断時年齢50才以上、診断時重症白血球（好中球）減少症、重症感染症の合併であった（表5）<sup>7</sup>【 表5】。米国例のみの因子は、診断時血栓症の既往、診断時MDSの既往、血栓症の発症で、本邦例のみの因子は、MDSの発症、腎不全の発症

であった。血栓症は本邦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。

表 5 日本とアメリカにおける生命予後不良因子<sup>7)</sup>

	日本		アメリカ	
	P 値	寄与度	P 値	寄与度
診断時				
50 才以上	<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
骨髄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
骨髄異形成症候群	0.03	4.6	0.9	1.4
腎不全	0.003	7.7	0.4	0.5

## 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<sup>11)</sup>、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<sup>12)</sup>。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<sup>13)</sup>、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<sup>14,15)</sup>、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<sup>16,17)</sup>、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<sup>18)</sup>、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) <sup>19,20)</sup>。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<sup>21)</sup>。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<sup>22)</sup>。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<sup>23)</sup>。

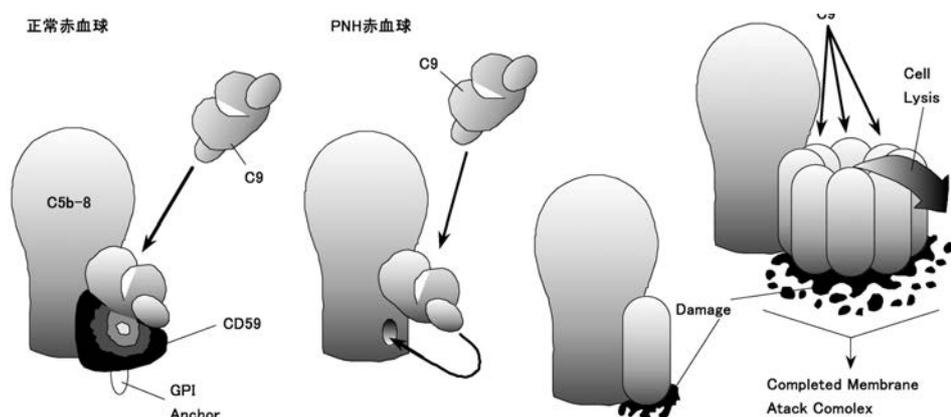


図3 補体溶血のメカニズム

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<sup>24)</sup>、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。これら誘因の中でも、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事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おこすと説明されている<sup>25)</sup>。

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CO<sub>2</sub>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<sup>26) 27)</sup>、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<sup>28)</sup>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glycosylphosphatidylinositol (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) 全てが欠落していることが判っていたが、個々のGPI-APの構造遺伝子は正常であったので<sup>29) 30)</sup>、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関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リンパ芽球株の詳細な解析から<sup>31)</sup>、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Class Aの変異であることを突き止め<sup>32) 32a) 32b)</sup>、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<sup>33-35)</sup>。現在までに報告された各国のPNH147例全例で、178の*PIG-A*変異が同定されている（図4）<sup>36)</sup>。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6）。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6）。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判った（表6）。

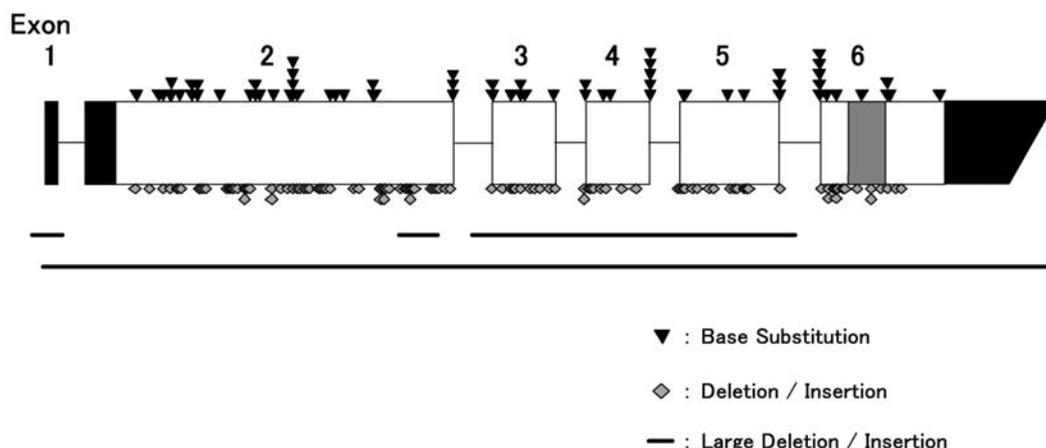


図4 各国のPNH患者147例で同定された178の*PIG-A* 遺伝子変異の分布<sup>36)</sup>

表6 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<sup>36)</sup>

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		Four	2
Insertion		deletion/insertion	4		
1 nt	20				
2 nt	3				
3 nt	8				
Others	11				
<b>Total</b>	<b>178</b>	<b>Total</b>	<b>178</b>	<b>Total</b>	<b>144</b>

nt=nucleotide

### 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<sup>37-41)</sup>。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<sup>42)</sup>。従来長期生存が不可能であった重症AAに、抗胸腺細胞グロブリン (antithymocyte globulin: ATG)、抗リンパ球グロブリン (antilymphocyte globulin: ALG) 等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<sup>43-49)</sup>【 〇 】。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良好に起こっていることが最近示されているが<sup>50)</sup>、これだけではPNHクローンは拡大せずPNHの症状も見えてこない。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渡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加わり、さらなる増加を誘導し最終的に骨髄、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上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DR 2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<sup>51)</sup>【 〇 】。さらに、七島らは、日本のPNH 21症例を調べ、

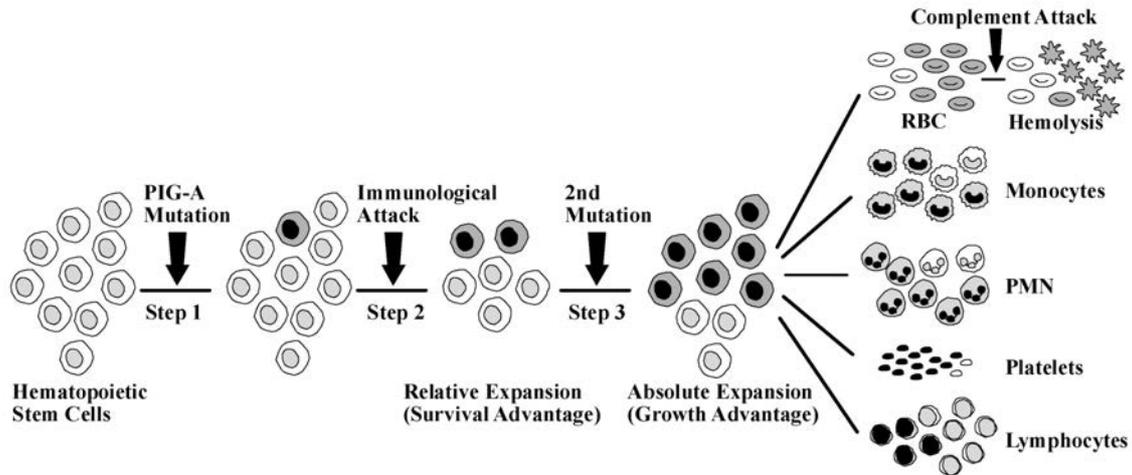


図5 PNHクローンの拡大機序 - 多段階説

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

DR 2 に含まれる遺伝子型のうちDRB 1 \*1501とDRB 1 \*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<sup>52)</sup>【 〽️】。また、これらの症例のうち、13例はDRB 1 \*1501-DQA 1 \*0120-DQB 1 \*0602のハプロタイプを持っていた。中尾らは、0.003%以上のGPI陰性細胞をもつMDS (RA) 症例21例のうち、19例がDRB 1 \*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<sup>53)</sup>【 〽️】。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細胞が関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<sup>54)</sup>。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<sup>55)</sup>。このNK攻撃の標的分子としてGPI-APのULBPが候補に挙げられ<sup>55a)</sup>、さらにULBPおよびMICA/Bを認識するNKG 2 D受容体陽性免疫細胞による造血障害が提唱されている<sup>55b)</sup>。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<sup>56)</sup>、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みえたが<sup>57)</sup>、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<sup>58, 59)</sup>。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<sup>60)</sup>、この点についても未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<sup>52)</sup>【 〽️】。さらにPNHクローンの増殖 (生存)

優位性を説明し得る遺伝子として、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<sup>61)</sup>、Wareらは*human A1*、*hHR23B*、*Mcl-1*、*RhoA*遺伝子をそれぞれ報告している<sup>62)</sup>。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<sup>63)</sup>。さらに20症例の好中球を解析した結果約40%の症例で*HMGA2*遺伝子の高発現が見られた<sup>63a)</sup>。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<sup>64)</sup>、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でてきた。

## 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みとめる。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%であるのに対し本邦例では34%と低率であった (表2)<sup>7)</sup>【 表2】。

PNHでは高頻度に貧血を認める。先の日米比較調査では、本邦での貧血の頻度は94% (米国88%)、ヘモグロビン濃度は平均 8.2 g/dl (米国9.7 g/dL) であった。米国に比べ本邦のPNHは貧血傾向が強いが、これは本邦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<sup>65)</sup>。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Sildenafil (Viagra) 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、ヘモグロビン尿を来している時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の他、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<sup>65a)</sup>。

### 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<sup>42)</sup>。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判ってきた。

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<sup>66)</sup>、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<sup>67-69)</sup>。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<sup>43-45)</sup>。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<sup>46-48)</sup>。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<sup>49,70)</sup>。

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、血小板減少とともに本邦例に多かった(表2)<sup>7)</sup>【 〽️】。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、その一方晩期の造血不全の合併頻度には差がなかった(表2)。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<sup>71)</sup>【 〽️】。

### 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)を見いだした<sup>72)</sup>【 〽️】。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<sup>53)</sup>【 〽️】。

日米比較によると、MDSからの移行率(5%前後)(表2)ならびにMDSの合併率(3-4%)(表3)ともに日米間で差はなかった<sup>7)</sup>【 〽️】。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と<sup>73)</sup>【 〽️】。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関わらず、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3)<sup>7)</sup>【 〽️】。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。経過の追うことのできた1760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<sup>74)</sup>【 〽️】。染色体検査が行われた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

血栓症は他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、

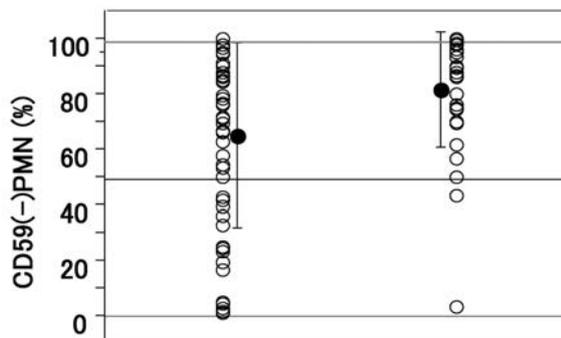
特殊な部位（皮膚静脈、副睾丸静脈）にも起こる。日米比較によると、米国例では初発症状の19%が血栓症であるのに対して、本邦例では6%に過ぎなかった（表2）。発症後の合併症ならびに死因を含めた全経過でも、米国例の38%に対して、本邦例は10%と有意に低頻度であった（表7）。

表7 日本とアメリカにおける血栓症の頻度

	アメリカ (%)	日本 (%)	P値
Evidence of thrombosis	66/176 (37.5)	21/209 (10.0)	<0.0001
Thrombosis at diagnosis	34/176 (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

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いえない。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得る<sup>75)</sup>。また、血小板自身もCD59等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<sup>76)</sup>。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<sup>77)</sup>。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）<sup>77)</sup>【 〽️】。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<sup>78,79)</sup>。それでは本邦例ではどうかということ、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易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等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<sup>107,109)</sup>【 〽️】。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。



全経過における血栓症の既往

-

+

図6 アメリカPNH患者の好中球CD59欠損率と血栓症<sup>77)</sup>

## 5) 感染症

発症時に感染症を呈することは比較的低頻度（本邦で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（本邦で9.1%、米国で18.2%）<sup>7</sup>【 〽️】。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（pH6.5～7.0）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<sup>80</sup>。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<sup>81</sup>。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試験の方が特異性は高く、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（CDA II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<sup>82</sup>、かなりの症例で補体感受性赤血球（type II）と正常赤血球（type I）との中間の感受性を持つ赤血球（type III）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<sup>36</sup>。

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<sup>14,15</sup>、続いてCD59の欠損も判明し<sup>16,17</sup>、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全て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8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<sup>83,84</sup>。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、リンパ球の順に欠損細胞の割合が高いと報告されている<sup>85</sup>。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）<sup>7</sup>【 〽️】。アメリカでは好中球で $68.6 \pm 3.3\%$ （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

表 8 PNH血球で欠損しているGPI-AP

蛋白	発現分布
<b>補体制御因子</b>	
Decay accelerating factor (DAF, CD55)	A11
Membrane inhibitor of reactive lysis (MIRL, CD59, MAC1F, HRF20)	A11
<b>酵素</b>	
Acetylcholinesterase (AchE)	E
Neutrophil alkaline phosphatase (NAP)	G
5'-ectonucleotidase (CD73)	L
ADP ribose hydrase (CD157, Ecto-enzyme)	Str, G, Mo
<b>レセプター</b>	
Fcγ receptor IIIB (CD16B)	G
Urokinase-type plasminogen activator receptor (UPAR, CD87)	G, Mo
Endotoxin binding protein receptor (CD14)	Mo, Ma
<b>接着因子</b>	
Lymphocyte function-associated antigen-3 (LFA-3, CD58)	E, G, L
Blast-1 (CD48)	L, Mo
CD66b (formerly CD67), CD66c	G
CD108 (JHM blood group antigen)	E
GPI-80	G
<b>その他</b>	
Campath-1 (CD52)	L, Mo
CD24	G, L
Thy-1 (CD90)	Stm
CD109	L, P
p50-80	G
GP500	P
GP175	P
Eosinophil-derived neurotoxin	G
Cellular prion protein	G, Mo, P

(A11: 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)

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、日本とアメリカを比較すると赤血球と好中球においてアメリカが有意に高かった(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とらえ、一般的にPNHタイプ血球は、骨髄細胞、末梢血白血球、赤血球の順に出現すると報告している<sup>86)</sup>。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上でも推奨される。

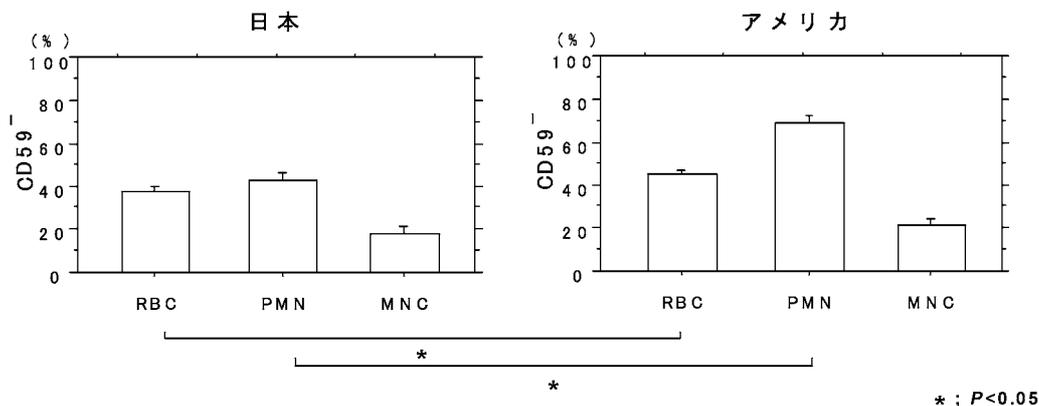


図 7 日本とアメリカのPNH患者における初回解析時のCD59欠損率<sup>7)</sup>

ある貧血または骨髄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、ある患者の骨髄不全が、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<sup>53, 86a, b)</sup>。これは、PNHタイプ顆粒球陽性骨髄不全症例における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<sup>86c)</sup>。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(例えば顆粒球では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、健常コントロールと「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<sup>86b)</sup>。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GPI-APのアンカー部分に特異的に結合する<sup>0, 86d-g)</sup>。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、もっとも頻度が高いのはGEMパターンである。PNHタイプ血球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にのみ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とで、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)<sup>7)</sup>【 1】。

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)<sup>7)</sup>【 1】。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 $39.6 \pm 3.7\%$  (n=56)と $40.0 \pm 8.3\%$  (n=22)、最終解析時が $40.5 \pm 4.5\%$  (P=NS)と $50.7 \pm 8.6\%$  (P=NS)と有意な増減は示さなかった(図9)。アメリカの赤血球と好中球においても、それぞれ初回解析時が $55.3 \pm 4.0\%$  (n=52)と $75.2 \pm 4.2\%$  (n=42)、最終解析時が $58.3 \pm$

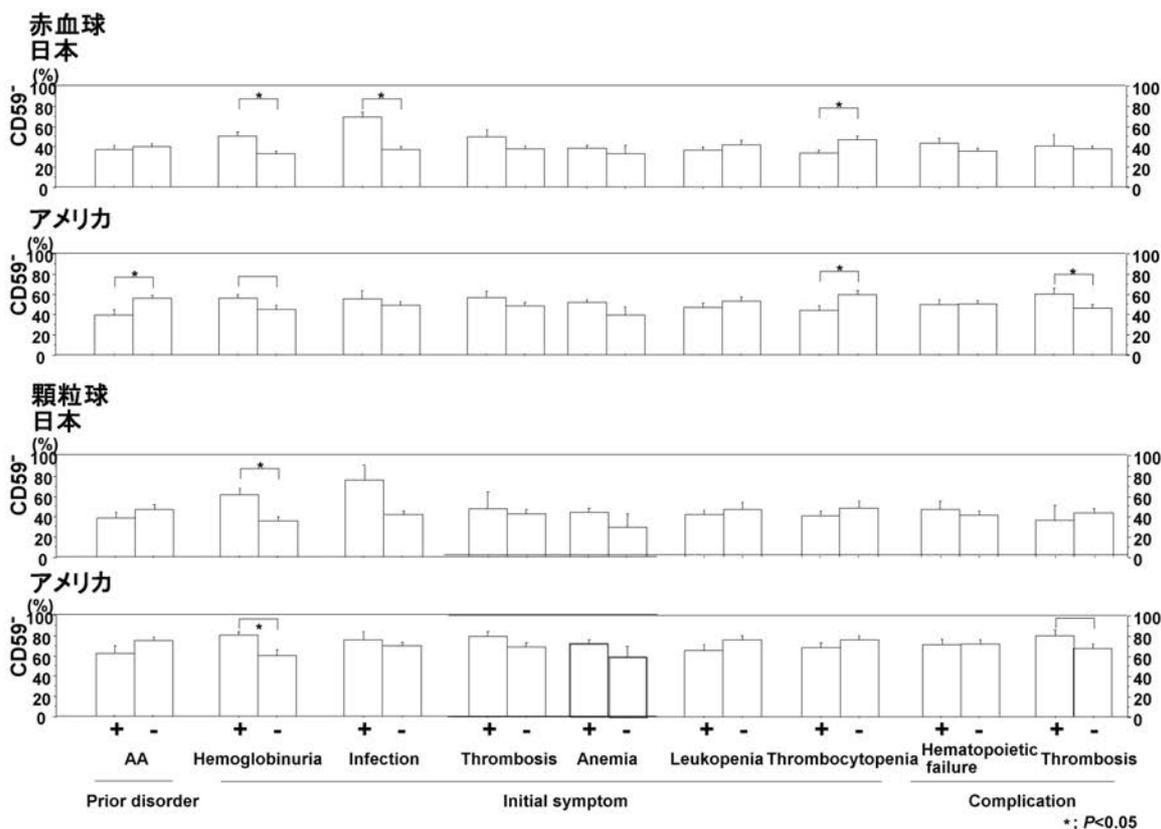


図8 日本とアメリカにおけるCD59欠損率と各種臨床所見<sup>7)</sup>

4.3% (P=NS) と  $74.1 \pm 4.7\%$  (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%増加したのものから99%減少したのものまで、好中球で98%増加したのものから99%減少したのものまでであった。

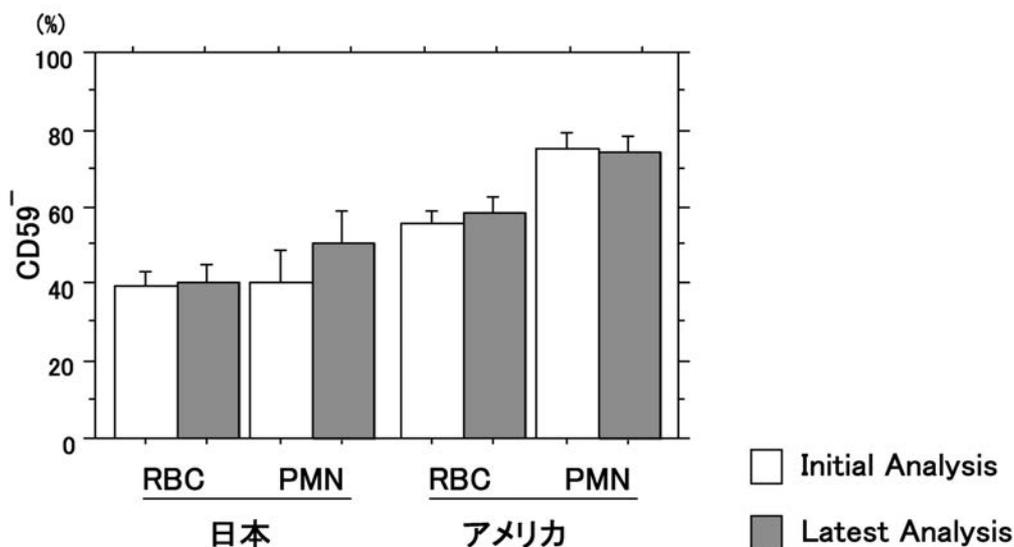


図9 日本とアメリカにおけるPNH患者のCD59欠損率の変遷<sup>7)</sup>

PNHタイプ血球は、患者全集団で見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) に分けて比較した時、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、アメリカで $14.7 \pm 8.3\%$  (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、アメリカで $5.0 \pm 3.1\%$  増加した (図10)<sup>7)</sup>【 〽️】。またこの2群の増減の間には、日本 (P=0.02) とアメリカ (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<sup>7)</sup>。

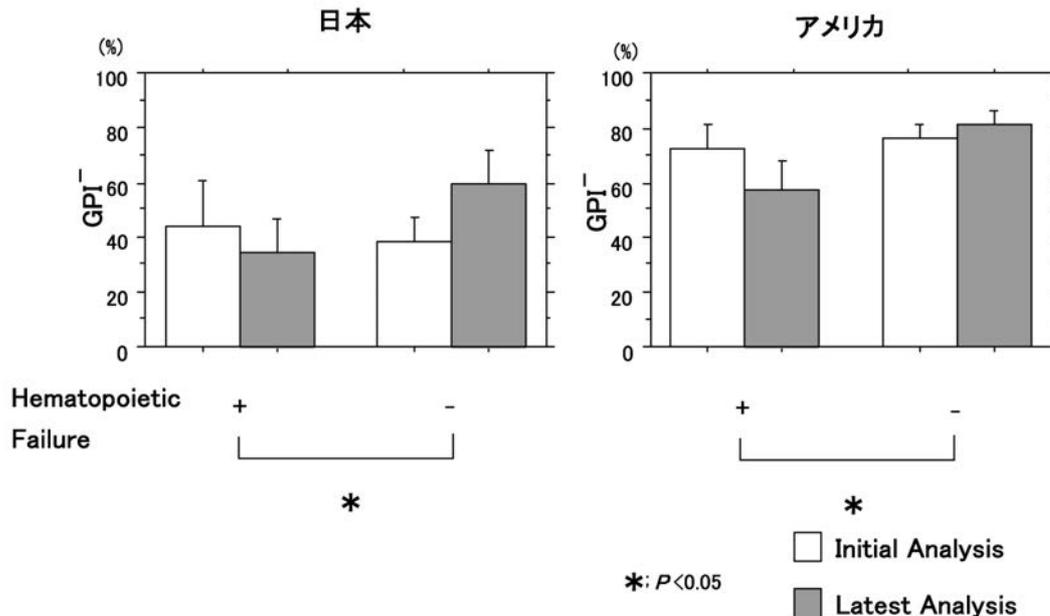


図10 日本とアメリカのPNH患者における造血不全合併の有無とCD59欠損率の変遷<sup>7)</sup>

### (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<sup>42)</sup>。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判っていた<sup>43-49)</sup>。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人の健常人から平均 $22/10^9$ 細胞のGPI陰性細胞を検出した<sup>50)</sup>【 〽️】。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、健常人に存在するPIG-A変異細胞の中にも、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型の異常血球は健常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<sup>86h)</sup>。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、元々骨髓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する考えもある<sup>86c)</sup>。

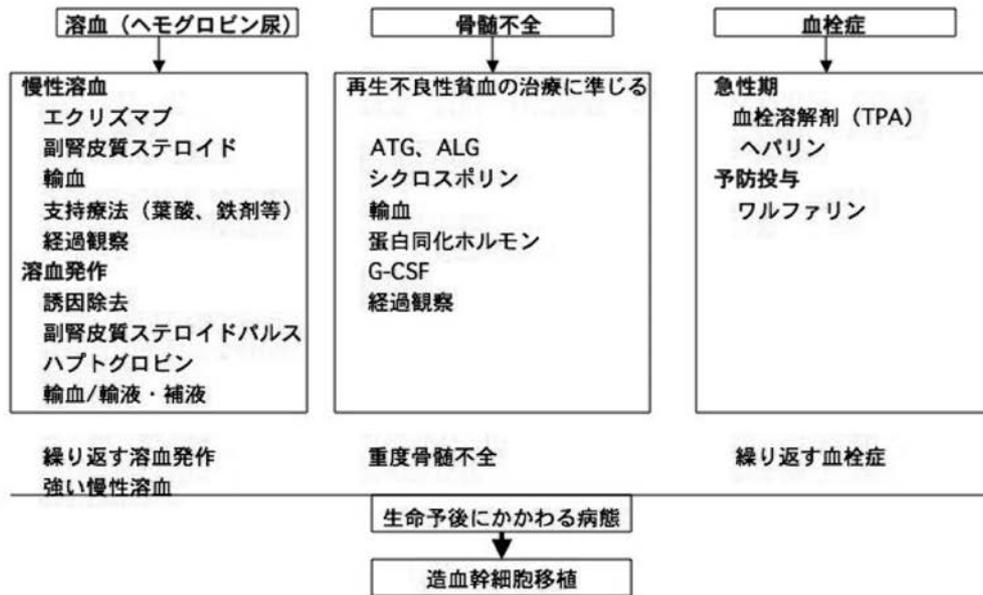
実際に、0.001%レベルの微少PNH血球を検出できる高感度のフローサイトメトリーを用いると、再生不良性貧血患者の50%、RAまたはRCMD患者の15%に0.003%以上のPNH型血球が検出される<sup>86a, c)</sup>。しかし、造血

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<sup>53)</sup>。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<sup>86)</sup>。

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年以上に渡ってPNHタイプ顆粒球の割合は不変であった<sup>86)</sup>。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・不変の何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、免疫病態による良性の骨髄不全を迅速に診断できる、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）、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、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）



PNHの病態別治療方針

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事があるので、使用に当たっては十分に注意する必要がある。

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ヶ月は、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週間後からは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<sup>107)</sup>、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TRIUMPH<sup>110)</sup>、97例を対象としたオープンラベルの第III相試験SHEPHERD<sup>111)</sup>、国内の29例を対象としたオープンラベルの第I相試験(AEGIS)<sup>112)</sup>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抑制効果を、血清LDHの変化として図11に示した。TRIUMPH試験では、投与前に平均2000 U/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。この顕著な溶血抑制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抑制効果および患者QOLの改善効果は、全ての臨床試験で再現された【Ib】。さらに、一部の症例では血栓症発生リスクの軽減<sup>109)</sup>、慢性腎機能障害の改善<sup>113)</sup>、潜在的肺高血圧症の改善<sup>114)</sup>などの副次的効果が期待されることも明らかとなった。

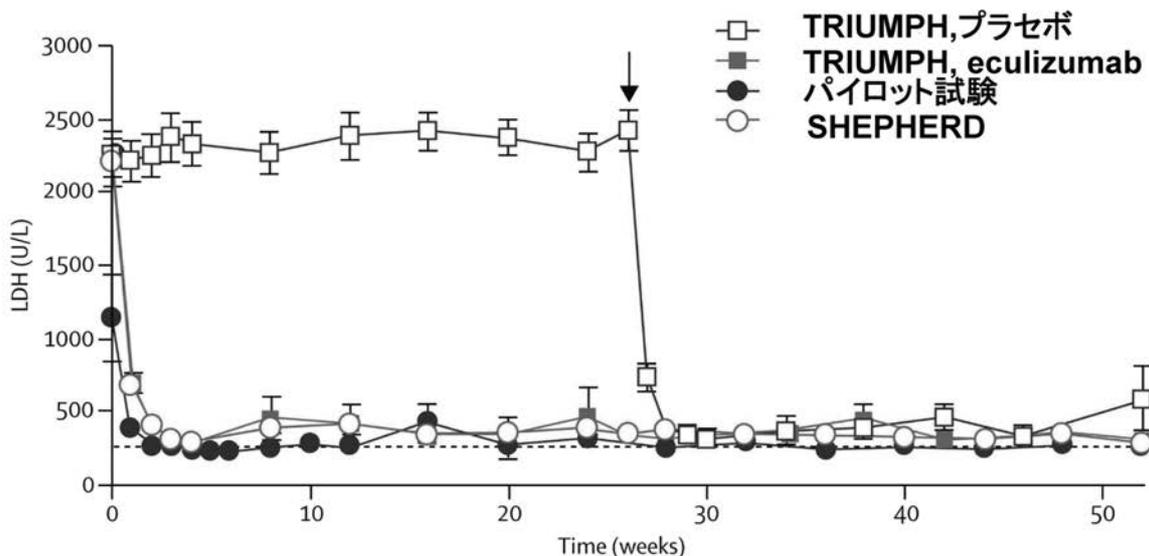


図11 エクリズマブによる血管内溶血(LDH)抑制効果

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。例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<sup>115)</sup>。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ロン 60 mg/日の隔日投与を行った<sup>87)</sup>。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ロ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【 〇】。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ロ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<sup>88)</sup>【 〇】。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、プレドニゾロ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良い治療と思われる。しかし、一方、特に慢性期のプレドニゾロンの使用に反対する専門家もいる事は事実である<sup>0)</sup>【 〇】。

副腎皮質ホルモンの大量投与（プレドニゾロン30～60 mg/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<sup>0, 89)</sup>【 〇】。ただし、溶血発作の誘因が感染症の場合、プレドニゾロ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<sup>90)</sup>【 〇】、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）は血漿成分が僅かなので、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、ヘモジデリン尿を来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4000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等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<sup>90a, b)</sup>【 〽️】。

#### (6) 免疫抑制剤

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 20 mg/kg/dayを8日間投与し、反応群と不反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）<sup>91)</sup>。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 $<30 \times 10^9/L$ 、網状赤血球数 $<100 \times 10^9/L$ 、LDH $<1,000 IU/L$ 、総ビリルビン $<17 mmol/L$ 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に反応した後も、慢性の溶血所見は治療前と同程度に存在した【 〽️】。PNHの少数例でのcyclosporine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<sup>92, 92a, b)</sup>、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<sup>92)</sup>【 〽️】。仲宗根らは古典的PNH 3例に対してATG 15 mg/kg 5日間とcyclosporine 6 mg/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<sup>92c)</sup>。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【 〽️】。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<sup>92d)</sup>【 〽️】。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、cyclosporineとG-CSFとの併用療法を行い、全例で三血球系統の改善を認めただけでなく、PNHクローンの割合も減少したと報告した<sup>92b)</sup>【 〽️】。本併用療法は一つのオプションとして考えて良いかも知れない。

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<sup>92e)</sup>【 〽️】。

#### (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<sup>92f)</sup>【 〽️】。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<sup>92g)</sup>【 〽️ b】。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<sup>92h)</sup>【 〽️】。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良い薬剤と思われる。

#### (8) 蛋白同化ステロイド薬

蛋白同化ステロイド薬は骨髓低形成を呈する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<sup>89, 93)</sup>【 〽️】。本邦の厚生省（当時）特発性造血障害調査研究班の結果では、Fluoxymesterone投与群（最初の2週間は20～30 mg/日、3～4週は15～20 mg/日、それ以降は5～15 mg/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<sup>94)</sup>【 〽️】。

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事も重要である<sup>88)</sup>。Danazoleは副腎皮質ステロイド薬やFluoxymesterone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<sup>95)</sup>【 〽️】、他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9に示す。これまでのPNHに対するHSCTの報告の殆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、骨髓破壊的前処置を用いた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<sup>96)</sup>【 〽️】。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、生存は僅か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髓破壊的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<sup>98)</sup>【 〽️】。

HLA適合同胞あるいは非血縁者をドナーとしたreduced-intensity HSCT (RIST) /骨髓非破壊的移植についても幾つかの少数例での検討結果が報告されている<sup>99-101)</sup>【 〽️】。移植前処置、幹細胞ソースは様々であるが、殆どの症例で生着と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於いても、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事が報告されている<sup>100)</sup>【 〽️】。

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髓破壊的移植か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抗体等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に於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付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。

表9 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(102)	4	HLA 適合同胞	3	3
		一卵性同胞	1	1
Antin JH et al(103)	4	HLA 適合同胞	4	4
Kolb HJ et al(104)	2	HLA 適合同胞	1	1
		一卵性同胞	1	1
Kawahara K et al(105)	9	HLA 適合同胞	6	6
		一卵性同胞	2	2
		HLA 非適合血縁者	1	0
Bemba M et al(106)	16	HLA 適合同胞	16	9
Saso R et al(96)	57	HLA 適合同胞	48	27
		一卵性同胞	2	2
		HLA 適合血縁者	1	0
		HLA 適合非血縁者	6	1
Raiola AM et al(97)	7	HLA 適合同胞	7	7
Woodard P et al (98)	3	HLA 適合非血縁者	3	3
Suenaga K et al*(99)	1	HLA 適合同胞	1	1
Takahashi Y et al*(100)	5	HLA 適合同胞	4	4
		HLA 適合血縁者	1	1
総計	108	HLA 適合同胞	90	62
		一卵性同胞	6	6
		血縁者	3	1
		HLA 適合非血縁者	9	4

\*骨髓非破壊的末梢血幹細胞移植、その他は全て骨髓移植

#### (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、エクリズマブ治療に参加した195名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<sup>109)</sup>。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<sup>0,106a,b)</sup>【III】。その際、骨髓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。

#### (11) 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）<sup>78)</sup>。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、血栓症の合併は全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【 a】。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<sup>106c)</sup>【 III】やMoyoら<sup>79)</sup>【 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事もある。また、ワルファリン投与による致死性出血も含む出血傾向の出現の頻度はPNHでは約5%以上ある事も報告されている<sup>78, 106c)</sup>。

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と禁忌がない場合、出血傾向に十分に注意を払ってなされて良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<sup>109)</sup>【 a】。

## 2) 診療の参照ガイド

### (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人の報告では、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まれであり、出生後の新生児の成長は良好のようである<sup>108)</sup>【 a】。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人のPNH妊婦が出産を経験したが、4人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人のみであった。一方、日本では8人の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人のみであった<sup>7)</sup>【 a】。

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な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、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ない。

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<sup>116)</sup>、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<sup>117,118)</sup>。ただエクリズマブは、カテゴリー 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<sup>117,119)</sup>。

## (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例のアメリカ若年(21才以下)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(アメリカ成人は50%)<sup>9)</sup>【 1】。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、アメリカ若年患者は成年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、我が国での成績はなく、本邦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

- 0) Parker C, Omine M, Richards S, Nishimura J, Bessler M, Ware R, Hillmen P, Luzzatto L, Young N, Kinoshita T, Rosse W, Socié G; International PNH Interest Group. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 106 : 3699-3709, 2005.
- 1) 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)。
- 2) Le X, Yang T, Yang X, Wang X. Characteristics of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in China. *Chinese Med J* 103 : 885-889, 1990
- 3) Huang WX. Clinical analysis of 128 cases of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Chinese J Intern Med* 23 : 359-361, 1984
- 4) Kruatrachue M, Wasi P, Na-Nakorn S. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in Thailand with special reference to an association with aplastic anemia. *Brit J Haematol* 39 : 267-276, 1978
- 5) Hillmen P, Lewis SM, Bessler M, Luzzatto L, Dacie JV. Natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 333 : 1253-1258, 1995
- 6) Socié G, Mary JY, de Gramont A, Rio B, Leporrier M, Rose C, Heudier P, Rochant H, Cahn JY, Gluckman E. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: long-term follow-up and prognostic factors. *Lancet* 31:573-577, 1996
- 7) Nishimura J, Kanakura Y, Ware RE, Shichishima T, Nakakuma H, Ninomiya H, Decastro CM, Hall S, Kanamaru A, Sullivan KM, Mizoguchi H, Omine M, Kinoshita T, Rosse WF. Clinical course and flow cytometric analysis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the United States and Japan. *Medicine* 83 : 193-207, 2004
- 8) Nakakuma H, Nagakura S, Kawaguchi T, Iwamoto N, Hidaka M, Horikawa K, Kagimoto T, Tsuruzaki R, Takatsuki K. Persistence of affected T lymphocytes in long-term clinical remission in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 84 : 3925-3928, 1994
- 9) Fujioka S, Asai T. Prognostic features of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in Japan. *Acta Hematol JPN* 52 : 1386-1394, 1989

- 10) Ware RE , Hall SE , Rosse WF . Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with onset in childhood and adolescence .  
N Engl J Med 325 : 991-996 , 1991
- 11) Gull WW . A case report of intermittent haematuria , with remarks . Guy's Hosp Rept 12 : 381-392 , 1866
- 12) Strubing P . Paroxysmale haemoglobinurie . Deutsche Med Wochenschrift 8 : 1-3 , 1882
- 13) 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 217 : 915-917 , 1937
- 14) Nicholson-Weller A , March JP , Rosenfeld SI , Austen KF . 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 80 : 5066-5070 , 1983
- 15) 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 80 : 5430-  
5434 , 1983
- 16) Holguin MH , Fredrick LR , Bernshaw NJ , Wilcox LA , Parker CJ . 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 84 : 7-17 , 1989
- 17) Okada N , Harada R , Fujita T , Okada H . A novel membrane glycoprotein capable of inhibiting membrane attack  
by homologous complement . Int Immunol 1 : 205-208 , 1989
- 18) 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 127 : 2035-2039 , 1981
- 19) 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 104 : 633-637 , 1988
- 20) Davies A , Simmons DL , Hale G , Harrison RA , Tighe H , Lachmann PJ , Waldmann H . 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 170 : 637-654 , 1989
- 21) Telen MJ , Hall SE , Green AM , Moulds JJ , Rosse WF . Identification of human erythrocyte blood group antigens  
on decay-accelerating factor ( DAF ) and an erythrocyte phenotype negative for DAF . J Exp Med 167 : 1993-  
1998 , 1988
- 22) Yamashina M , Ueda E , Kinoshita T , Takami T , Ojima A , Ono H , Tanaka H , Kondo N , Orii T , Okada N ,  
et al . Inherited complete deficiency of 20-kilodalton homologous restriction factor ( CD59 ) as a cause of  
paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . N Engl J Med 323 : 1184-1189 , 1990
- 23) Yonemura Y , Kawakita M , Koito A , Kawaguchi T , Nakakuma H , Kagimoto T , Shichishima T , Terasawa T ,  
Akagaki Y , Inai S . Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria with coexisting deficiency of the ninth component  
of complement : lack of massive haemolytic attack . Br J Haematol 74 : 108-113 , 1990
- 24) Iwamoto N , Kawaguchi T , Horikawa K , Nagakura S , Hidaka M , Kagimoto T , Takatsuki K , Nakakuma H .  
Haemolysis induced by ascorbic acid in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria . Lancet 343 : 357 , 1994
- 25) Nakakuma H , Hidaka M , Nagakura S , Nishimura Y , Iwamoto N , Horikawa K , Kawaguchi T , Kagimoto T ,  
Takatsuki K . Expression of cryptantigen Th on paroxysmal nocturnal hemoglobinuria erythrocytes in association  
with a hemolytic exacerbation . J Clin Invest 96 : 201-206 , 1995

- 26) 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 64 : 1271-1305 , 1939
- 27) Crosby WH . Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : relation of the clinical manifestations to underlying pathogenic mechanisms . Blood 8 : 769-812 , 1953
- 28) Rosse WF ,Nishimura J .Clinical manifestations of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria:present state and future problems . Int J Hematol 77 : 113-120 , 2003
- 29) Stafford HA ,Tykocinski ML ,Lublin DM ,Holers VM ,Rosse WF ,Atkinson JP ,Medof ME .Normal polymorphic variations and transcription of the decay accelerating factor gene in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells . Proc Natl Acad Sci U S A 85 : 880-884 , 1988
- 30) Rambaldi A , Terao M , Bettoni S , Bassan R , Battista R , Barbui T , Garattini E . Differences in the expression of alkaline phosphatase mRNA in chronic myelogenous leukemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria polymorphonuclear leukocytes . Blood 73 : 1113-1115 , 1989
- 31) Ueda E , Nishimura J , Kitani T , Nasu K , Kageyama T , Kim YU , Takeda J , Kinoshita T . Deficient surface expression of glycosylphosphatidylinositol-anchored proteins in B cell lines established from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . Int Immunol 4 : 1263-1271 , 1992
- 32) Takahashi M , Takeda J , Hirose S , Hyman R , Inoue N , Miyata T , Ueda E , Kitani T , Medof ME , Kinoshita T . 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 177 : 517-521 , 1993
- 32a) Hidaka M , Nagakura S , Horikawa K , Kawaguchi T , Iwamoto N , Kagimoto T , Takatsuki K , Nakakuma H . Impaired glycosylation of glycosylphosphatidylinositol-anchor synthesis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria leukocytes . Biochem Biophys Res Commun 191 : 571-579 , 1993 .
- 32b) Hillmen P , Bessler M , Mason PJ , Watkins WM , Luzzatto L . Specific defect in N-acetylglucosamine incorporation in the biosynthesis of the glycosylphosphatidylinositol anchor in clones cell lines from patients with paroxymal nocturnal hemoglobinuria . Proc Natl Acad Sci USA 90 : 5272-5276 , 1993 .
- 33) Miyata T , Takeda J , Iida Y , Yamada N , Inoue N , Takahashi M , Maeda K , Kitani T , Kinoshita T . The cloning of PIG-A , a component in the early step of GPI-anchor biosynthesis . Science 259 : 1318-1320 , 1993
- 34) Takeda J , Miyata T , Kawagoe K , Iida Y , Endo Y , Fujita T , Takahashi M , Kitani T , Kinoshita T . Deficiency of the GPI anchor caused by a somatic mutation of the PIG-A gene in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria .Cell 73 : 703-711 , 1993
- 35) Miyata T ,Yamada N ,Iida Y ,Nishimura J ,Takeda J ,Kitani T ,Kinoshita T . Abnormalities of PIG-A transcripts in granulocytes from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . N Engl J Med 330 : 249-255 , 1994
- 36) Nishimura J , Murakami Y , Kinoshita T . Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : An acquired genetic disease . Am J Hematol 62 : 175-182 , 1999
- 37) Kawagoe K , Kitamura D , Okabe M , Taniuchi I , Ikawa M , Watanabe T , Kinoshita T , Takeda J . GPI-anchor deficient mice:Implications for clonal dominance of mutant cells in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria .Blood 87 : 3600-3606 , 1996

- 38) Rosti V , Tremmi G , Soares V , Pandolfi PP , Luzzatto L , Bessler M : 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* 100 : 1028-1036 , 1997
- 39) Murakami Y , Kinoshita T , Nakano T , Kosaka H , Takeda J . Different roles of glycosylphosphatidylinositol in various hematopoietic cells as revealed by model mice of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *Blood* 94 : 2963-2970 , 1999
- 40) Tremml G , Dominguez C , Rosti V , Zhang Z , Pandolfi PP , Keller P , Bessler M . Increased sensitivity to complement and a decreased red cell life span in mice mosaic for a non-functional Piga gene . *Blood* 94 : 2945-2954 , 1999
- 41) Keller P , Tremml G , Rosti V , Bessler M . X inactivation and somatic cell selection rescue female mice carrying a Piga-null mutation . *Proc Natl Acad Sci USA* 96 : 7479-7483 , 1999
- 42) Lewis SM , Dacie JV . The aplastic anaemia--paroxysmal nocturnal haemoglobinuria syndrome . *Br J Haematol* 13 : 236-251 , 1967
- 43) Schubert J , Vogt HG , Zielinska Skowronek M , Freund M , Kaltwasser JP , Hoelzer D , Schmidt RE . Development of the glycosylphosphatidylinositol-anchoring defect characteristic for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in patients with aplastic anemia . *Blood* 83 : 2323-2328 , 1994
- 44) Griscelli-Bennaceur A , Gluckman E , Scrobohaci 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
- 45) Schrezenmeier H , Hertenstein B , Wagner B , Raghavachar A , Heimpel H . 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* 23 : 81-87 , 1995
- 46) De Lord C , Tooze JA , Saso R , Marsh JC , Gordon-Smith EC . Deficiency of glycosylphosphatidyl inositol-anchored proteins in patients with aplastic anaemia does not affect response to immunosuppressive therapy . *Br J Haematol* 101 : 90-93 , 1998
- 47) Azenishi Y , Ueda E , Machii T , Nishimura J , Hirota T , Shibano M , Nakao S , Kinoshita T , Mizoguchi H , Kitani T . CD59-deficient blood cells and PIG-A gene abnormalities in Japanese patients with aplastic anaemia . *Br J Haematol* 104 : 523-529 , 1999
- 48) Dunn DE , Tanawattanacharoen P , Boccuni P , Nagakura S , Green SW , Kirby MR , Kumar MS , Rosenfeld S , Young NS . Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells in patients with bone marrow failure syndromes . *Ann Intern Med* 131 : 401-408 , 1999
- 49) Wang H , Chuhjo T , Yamazaki H , Shiobara S , Teramura M , Mizoguchi H , Nakao S . Relative increase of granulocytes with a paroxysmal nocturnal haemoglobinuria phenotype in aplastic anaemia patients : the high prevalence at diagnosis . *Eur J Haematol* 66 : 200-205 , 2001
- 50) 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 USA* 96 : 5209-5214 , 1999
- 51) Maciejewski JP , Follmann D , Nakamura R , Sauntharajah Y , Rivera CE , Simonis T , Brown KE , Barrett JA ,

- Young NS . Increased frequency of HLA-DR2 in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and the PNH/aplastic anemia syndrome . *Blood* 98 : 3513-3519 , 2001
- 52) Shichishima T , Okamoto M , Ikeda K , Kaneshige T , Sugiyama H , Terasawa T , Osumi K , Maruyama Y . HLA class II haplotype and quantitation of WT 1 RNA in Japanese patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *Blood* 100 : 22-28 , 2002
- 53) Wang H , Chuhjo T , Yasue S , Omine M , Nakao S . Clinical significance of a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells in bone marrow failure syndrome . *Blood* 100 : 3897-3902 , 2002
- 54) Murakami Y , Kosaka H , Maeda Y , Nishimura J , Inoue N , Ohishi K , Okabe M , Takeda J , Kinoshita T . Inefficient response of T lymphocytes to glycosylphosphatidylinositol anchor-negative cells : implications for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *Blood* 100 : 4116-4122 , 2002
- 55) Nagakura S , Ishihara S , Dunn DE , Nishimura J , Kawaguchi T , Horikawa K , Hidaka M , Kagimoto T , Eto N , Mitsuya H , Kinoshita T , Young NS , Nakakuma H . Decreased susceptibility of leukemic cells with PIG-A mutation to natural killer cells in vitro . *Blood* 100 : 1031-1037 , 2002
- 55a) Hanaoka N , Kawaguchi T , Horikawa K , Nagakura S , Mitsuya H , Nakakuma H . Immunoselection by natural killer cells of PIGA mutant cells missing stress-inducible ULBP . *Blood* 107 : 1184-1191 , 2005
- 55b) Hanaoka N , Nakakuma H , Horikawa K , Nagakura S , Tsuzuki Y , Shimanuki M , Kojima K , Yonemura Y , Kawaguchi T . NKG 2 D-mediated immunity underlying paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related bone marrow failure syndromes . *Br J Haematol* 146 : 538-545 , 2009
- 56) Karadimitris A , Notaro R , Koehne G , Roberts IA , Luzzatto L . PNH cells are as sensitive to T-cell-mediated lysis as their normal counterparts : implications for the pathogenesis of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria . *Br J Haematol* 111 : 1158-1163 , 2000
- 57) Brodsky RA ,Vala MS ,Barber JP ,Medof ME ,Jones RJ .Resistance to apoptosis caused by PIG-A gene mutations in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *Proc Natl Acad Sci USA* 94 : 8756-8760 , 1997
- 58) Horikawa K , Nakakuma H , Kawaguchi T , Iwamoto N , Nagakura S , Kagimoto T , Takatsuki K . Apoptosis resistance of blood cells from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria , aplastic anemia , and myelodysplastic syndrome . *Blood* 90 : 2716-2722 , 1997
- 59) Ware RE , Nishimura J , Moody MA , Smith C , Rosse WF , Howard TA . The PIG-A mutation and absence of glycosylphosphatidylinositol-linked proteins do not confer resistance to apoptosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *Blood* 92 : 2541-2550 , 1998
- 60) Yamamoto T , Shichishima T , Shikama Y , Saitoh Y , Ogawa K , Maruyama Y . Granulocytes from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and normal individuals have the same sensitivity to spontaneous apoptosis . *Exp Hematol* 30 : 187-194 , 2002
- 61) Lyakisheva A ,Felda O ,Ganser A ,Schmidt RE ,Schubert J . Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria:Differential gene expression of EGR- 1 and TAXREB107 . *Exp Hematol* 30 : 18-25 , 2002
- 62) Heeney MM , Ormsbee SM , Moody MA , Howard TA , DeCastro CM , Ware RE . Increased expression of anti-apoptosis genes in peripheral blood cells from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *Mol Genet Metab* 78 : 291-294 , 2003
- 63) 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
- 63a ) Murakami Y , Inoue N , Shichishima T , Noji H , Nishimura J , Kanakura Y , Kinoshita T . Wnt pathway is upregulated in blood cells from patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . Blood 114 : 786a , 2009
- 64 ) Teramoto H , Malek RL , Behbahani B , Castellone MD , Lee NH , Gutkind JS . Identification of H-Ras , RhoA , Rac 1 and Cdc42 responsive genes . Oncogene 22 : 2689-2697 , 2003
- 65 ) Reiter CD , Wang X , Tanus-Santos JE , Hogg N , Cannon RO , 3rd , Schechter AN , Gladwin MT . Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease . Nat Med 8 : 1383-1389 , 2002
- 65a ) Cappelini MD .Coagulation in the pathophysiology of hemolytic anemias .Hematology 2007( Am Soc Hematol Educ Prog Book ) 74-78 , 2007
- 66 ) Kinoshita T , Inoue N . Relationship between aplastic anemia and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . Int J Hematol 75 : 117-122 , 2002
- 67 ) Tichelli A , Gratwohl A , Wursch A , Nissen C , Speck B . Late haematological complications in severe aplastic anaemia . Br J Haematol 69 : 413-418 , 1988
- 68 ) 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
- 69 ) Najean Y ,Haguenauer O .Long-term( 5 to 20 years )Evolution of nongrafted aplastic anemias .The Cooperative Group for the Study of Aplastic and Refractory Anemias . Blood 76 : 2222-2228 , 1990
- 70 ) Nagarajan S , Brodsky RA , Young NS , Medof ME . Genetic defects underlying paroxysmal nocturnal hemoglobinuria that arises out of aplastic anemia . Blood 86 : 4656-4661 , 1995
- 71 ) Nishimura Ji , Hirota T , Kanakura Y , Machii T , Kageyama T , Doi S , Wada H , Masaoka T , Kanayama Y , Fujii H , Inoue N , Kuwayama M , Inoue N , Ohishi K , Kinoshita T . Long-term support of hematopoiesis by a single stem cell clone in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . Blood 99 : 2748-2751 , 2002
- 72 ) Iwanaga M , Furukawa K , Amenomori T , Mori H , Nakamura H , Fuchigami K , Kamihira S , Nakakuma H , Tomonaga M . Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria clones in patients with myelodysplastic syndromes . Br J Haematol 102 : 465-474 , 1998
- 73 ) Araten DJ , Swirsky D , Karadimitris A , Notaro R , Nafa K , Bessler M , Thaler HT , Castro-Malaspina H , Childs BH , Boulad F , Weiss M , Anagnostopoulos N , Kutlar A , Savage DG , Maziarz RT , Jhanwar S , Luzzatto L . Cytogenetic and morphological abnormalities in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria . Br J Haematol 115 : 360-368 , 2001
- 74 ) Harris JW , Koscick R , Lazarus HM , Eshleman JR , Medof ME . Leukemia arising out of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . Leuk Lymphoma 32 : 401-426 , 1999
- 75 ) Hugel B , Socie G , Vu T , Toti F , Gluckman E , Freyssinet JM , Scrobahaci ML . Elevated levels of circulating procoagulant microparticles in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and aplastic anemia .Blood 93: 3451-3456 , 1999

- 76) Wiedmer T ,Hall SE ,Ortel TL ,Kane WH ,Rosse WF ,Sims PJ . Complement-induced vesiculation and exposure of membrane prothrombinase sites in platelets of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *Blood* 82 : 1192-1196 , 1993
- 77) Ronne E , Pappot H , Grondahl-Hansen J , Hoyer-Hansen G , Plesner T , Hansen NE , Dano K . The receptor for urokinase plasminogen activator is present in plasma from healthy donors and elevated in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria . *Br J Haematol* 89 : 576-581 , 1995
- 78) Hall C ,Richards S ,Hillmen P . Primary prophylaxis with warfarin prevents thrombosis in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) . *Blood* 102 : 3587-3591 , 2003
- 79) Moyo VM , Mukhina GL , Garrett ES , Brodsky RA . Natural history of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria using modern diagnostic assays . *Br J Haematol* 126 : 133-138 , 2004
- 80) 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* 18 : 657-672 , 1939
- 81) Hartmann RC , Jenkins DE . The "sugar-water" test for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *N Engl J Med* 275 : 155-157 , 1966
- 82) 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* 45 : 736-748 , 1966
- 83) Shichishima T , Terasawa T , Hashimoto C , Ohto H , Uchida T , Maruyama Y . Heterogenous expression of decay accelerating factor and CD59/membrane attack complex inhibition factor on paroxysmal nocturnal haemoglobinuria (PNH) erythrocytes . *Br J Haematol* 78 : 545-550 , 1991
- 84) Rosse WF , Hoffman S , Campbell M , Borowitz M , Moore JO , Parker CJ . The erythrocytes in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria of intermediate sensitivity to complement lysis . *Br J Haematol* 79 : 99-107 , 1991
- 85) Tseng JE , Hall SE , Howard TA , Ware RE . Phenotypic and functional analysis of lymphocytes in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *Am J Hematol* 50 : 244-253 , 1995
- 86) Nakakuma H , Nagakura S , Iwamoto N , Kawaguchi T , Hidaka M , Horikawa K , Kagimoto T , Shido T , Takatsuki K . Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone in bone marrow of patients with pancytopenia . *Blood* 85 : 1371-1376 , 1995
- 86a) Wang SA , Pozdnyakova O , Jorgensen JL , Medeiros LJ , Stachurski D , Anderson M , Raza A , Woda BA . Detection of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones in patients with myelodysplastic syndromes and related bone marrow diseases , with emphasis on diagnostic pitfalls and caveats . *Haematologica* 94 : 29-37 , 2009
- 86b) Borowitz MJ , Craig FE , Digioseppe JA , Illingworth AJ , Rosse W , Sutherland DR , Wittwer CT , Richards SJ ; Clinical Cytometry Society . Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry . *Cytometry B Clin Cytom* 78 : 211-230 , 2010
- 86c) 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
- 86d) Diep DB ,Nelson KL ,Raja SM ,Pleshak EN ,Buckley JT . Glycosylphosphatidylinositol anchors of membrane

- glycoproteins are binding determinants for the channel-forming toxin aerolysin . J Biol Chem 273 : 2355-2360 , 1998
- 86e ) Brodsky RA ,Mukhina GL ,Nelson KL ,Lawrence TS ,Jones RJ ,Buckley JT .Resistance of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria cells to the glycosylphosphatidylinositol-binding toxin aerolysin . Blood 93 : 1749-1756 , 1999
- 86f ) Brodsky RA , Mukhina GL , Li S , et al . Improved detection and characterization of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria using fluorescent aerolysin . Am J Clin Pathol 114 : 459-466 , 2000
- 86g ) Mukhina GL ,Buckley JT ,Barber JP ,Jones RJ ,Brodsky RA . Multilineage glycosylphosphatidylinositol anchor-deficient haematopoiesis in untreated aplastic anaemia . Br J Haematol 115 : 476-482 , 2001
- 86h ) Hu R ,Mukhina GL ,Piantadosi S ,Barber JP ,Jones RJ ,Brodsky RA . PIG-A mutations in normal hematopoiesis . Blood 105 : 3848-3854 , 2005
- 86i ) 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
- 87 ) Issaragrisil S , Piankijagum A , Tang-naitrisorana Y . Corticosteroids therapy in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . Am J Hematol 25 : 77-83 , 1987
- 88 ) Shichishima T ,Saitoh Y ,Noji H ,Terasawa T ,Maruyama Y . In vivo effects of various therapies on complement-sensitive erythrocytes in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . Int J Hematol 6 : 291-302 , 1996
- 89 ) Rosse WF . Treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . Blood 60:20-23 , 1982 Brecher ME , Taswell HF . Paroxysmal nocturnal hemo- globinuria and the transfusion of washed red cells . A myth revisited . Transfusion 8 : 681-685 , 1989
- 90 ) Brecher ME ,Taswell HF .Paroxysmal nocturnal hemo- globinuria and the transfusion of washed red cells .A myth revisited . Transfusion 8 : 681-685 , 1989
- 90a ) Shibasaki T , Matsuda H , Furuya K . Haptoglobin therapy during pregnancy for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with renal failure . Int J Gynaecol Obstet 98 : 267-268 , 2007
- 90b ) Hattori K ,Hirano T ,Oshimi K . Protease inhibitors and haptoglobin for treatment of renal failure in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . Am J Hematol 63 : 61-62 , 2000
- 91 ) Paquette RL ,Yoshimura R ,Veiseh C ,Kunkel L ,Gajewski J ,Rosen PJ . Clinical characteristics predict response to antithymocyte globulin in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria . Br J Haematol 96 : 92-97 , 1997
- 92 ) van Kamp H , van Imhoff GW , de Wolf JT , Smit JW , Halie MR , Vellenga E . The effect of cyclosporine on haematological parameters in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria .Br J Haematol 89:79-82 ,1995
- 92a ) Stoppa AM ,Vey N ,Sainty D ,Arnoulet C ,Camerlo J ,Cappiello MA ,Gastaut JA ,Maraninchi D . 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 93 : 42-44 , 1996
- 92b ) Schubert J , Scholz C , Geissler RG , Ganser A , Schmidt RE . G-CSF and cyclosporin induce an increase of normal cells in hypoplastic paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . Ann Hematol 74 : 225-230 , 1997
- 92c ) 仲宗根秀樹 , 飯島喜美子 , 浅野大樹 , 中村文彦 , 木田理子 , 伊豆津宏二 , 浦部晶夫 , 臼杵憲祐 . 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 49 : 498-504 , 2008

- 92d) Tran MH , Fadeyi E , Scheinberg P , Klein HG . Apparent hemolysis following intravenous antithymocyte globulin treatment in a patient with marrow failure and a paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone . *Transfusion* 46 : 1244-1247 , 2006
- 92e) 野地秀義 , 七島 勉 , 石川俊一 , 甲斐龍幸 , 斎藤由理恵 , 丸山幸夫 . 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* 40 : 240-243 , 1999
- 92f) Ninomiya H , Muraki Y , Shibuya K , Nagasawa T , Abe T . 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* 84 : 497-503 , 1993
- 92g) Fujimi A , Matsunaga T , Kogawa K , Ohnuma T , Takahira N , Abe T , Kitaoka K , Kogawa T , Tanaka I , Morii K , Terui T , Sakamaki S , Kato J , Kura T , Maeda T , Niitsu Y . 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* 11 : 858-862 , 2002
- 92h) Jégo P , Le Strat A , Girard L , Sébillot M , Grosbois B , Le Blay R , Drénou B . Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : efficacy of prolonged treatment with granulocyte colony-stimulating factor . *Blood* 90 : 2841-2843 , 1997
- 93) Rosse WF . Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria--present status and future prospects . *West J Med* 132 : 219-228 , 1980
- 94) 藤岡成徳他 . 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
- 95) Harrington WJ Sr , Kolodny L , Horstman LL , Jy W , Ahn YS . Danazol for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *Am J Hematol* 54 : 149-154 , 1997
- 96) Saso R , Marsh J , Cevreska L , Szer J , Gale RP , Rowlings PA , Passweg JR , Nugent ML , Luzzatto L , Horowitz MM , Gordon-Smith EC . Bone marrow transplants for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria . *Br J Haematol* 104 : 392-396 , 1999
- 97) Raiola AM , Van Lint MT , Lamparelli T , Gualandi F , Benvenuto F , Figari O , Mordini N , Berisso G , Bregante S , Frassoni F , Bacigalupo A : Bone marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *Haematologica* 85 : 59-62 , 2000
- 98) Woodard P , Wang W , Pitts N , Benaim E , Horwitz E , Cunningham J , Bowman L . Successful unrelated donor bone marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *Bone Marrow Transplant* 27:589-592 , 2001
- 99) Suenaga K , Kanda Y , Niiya H , Nakai K , Saito T , Saito A , Ohnishi M , Takeuchi T , Tanosaki R , Makimoto A , Miyawaki S , Ohnishi T , Kanai S , Tobinai K , Takaue Y , Mineishi S . Successful application of nonmyeloablative transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *Exp Hematol* 29 : 639-642 , 2001
- 100) Takahashi Y , McCoy JP Jr , Carvallo C , Rivera C , Igarashi T , Srinivasan R , Young NS , Childs RW . In vitro and in vivo evidence of PNH cell sensitivity to immune attack after nonmyeloablative allogeneic hematopoietic cell transplantation . *Blood* 103 : 1383-1390 , 2004
- 101) Hegenbart U , Niederwieser D , Forman S , Holler E , Leiblein S , Johnston L , Ponisch W , Epner E , Witherspoon

- R , Blume K , Storb R . 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 11 : 689-697 , 2003
- 102 ) Szer J , Deeg HJ , Witherspoon RP , Fefer A , Buckner CD , Thomas ED , Storb R . Long-term survival after marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with aplastic anemia . Ann Intern Med 101 : 193-195 , 1984
- 103 ) Antin JH , Ginsburg D , Smith BR , Nathan DG , Orkin SH , Rapoport JM . Bone marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria : eradication of the PNH clone and documentation of complete lymphohematopoietic engraftment . Blood 66 : 1247-1250 , 1985
- 104 ) Kolb HJ , Holler E , Bender-Gotze C , Walther U , Mittermuller J , Clemm C , Bauchinger M , Gerhartz HH , Brehm G , Ledderose G , et al . Myeloablative conditioning for marrow transplantation in myelodysplastic syndromes and paroxysmal nocturnal haemoglobinuria . Bone Marrow Transplant 4 : 29-34 , 1989
- 105 ) Kawahara K , Witherspoon RP , Storb R . Marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . Am J Hematol 39 : 283-288 , 1992
- 106 ) Bemba M , Guardiola P , Garderet L , Devergie A , Ribaud P , Esperou H , Noguera MH , Gluckman E , Socie G . Bone marrow transplantation for paroxysmal nocturnal haemoglobinuria . Br J Haematol 105 : 366-368 , 1999
- 106a ) McMullin MF , Hillmen P , Jackson J , Ganly P , Luzzatto L . Tissue plasminogen activator for hepatic vein thrombosis in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria . J Intern Med 235 : 85-89 , 1994
- 106b ) Hauser AC , Brichta A , Pabinger-Fasching I , Jager U . Fibrinolytic therapy with rt-PA in a patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and Budd-Chiari syndrome . Ann Hematol 82 : 299-302 , 2003
- 106c ) Audebert HJ , Planck J , Eisenburg M , Schrezenmeier H , Haberl RL . Cerebral ischemic infarction in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria report of 2 cases and updated review of 7 previously published patients . J Neurol 252 : 1379-1386 , 2005
- 107 ) Hillmen P , Hall C , Marsh JC , Elebute M , Bombara MP , Petro BE , Cullen MJ , Richards SJ , Rollins SA , Mojciak CF , Rother RP . Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . N Engl J Med 350 : 552-559 , 2004
- 108 ) De Gramont A , Krulik M , Debray J . Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria and pregnancy . Lancet . 1 : 868 , 1987 .
- 109 ) Hillmen P , Muus P , Duhrsen U , Risitano AM , Schubert J , Luzzatto L , Schrezenmeier H , Szer J , Brodsky RA , Hill A , Socie G , Bessler M , Rollins SA , Bell L , Rother RP , Young NS . Effect of the complement inhibitor eculizumab on thromboembolism in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . Blood 110 : 4123-4128 , 2007
- 110 ) Hillmen P , Young NS , Schubert J , Brodsky RA , Socié G , Muus P , Röth A , Szer J , Elebute MO , Nakamura R , Browne P , Risitano AM , Hill A , Schrezenmeier H , Fu CL , Maciejewski J , Rollins SA , Mojciak CF , Rother RP , Luzzatto L . The complement inhibitor eculizumab in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . N Engl J Med 355 : 1233-1243 , 2006
- 111 ) Brodsky RA , Young NS , Antonioli E , Risitano AM , Schrezenmeier H , Schubert J , Gaya A , Coyle L , de Castro C , Fu CL , Maciejewski JP , Bessler M , Kroon HA , Rother RP , Hillmen P . Multicenter phase 3

- study of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *Blood* 111 : 1840-1847 , 2008
- 112 ) Hillmen P , Elebute M , Kelly R , Urbano-Ispizua A , Hill A , Rother RP , Khursigara G , Fu CL , Omine M , Browne P , Rosse W . Long-term effect of the complement inhibitor eculizumab on kidney function in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria . *Am J Hematol* 85 : 553-559 , 2010
- 113 ) Hill A , Rother RP , Wang X , Morris SM Jr , Quinn-Senger K , Kelly R , Richards SJ , Bessler M , Bell L , Hillmen P , Gladwin MT . Effect of eculizumab on haemolysis-associated nitric oxide depletion , dyspnoea , and measures of pulmonary hypertension in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria . *Br J Haematol* 149 : 414-425 , 2010
- 114 ) Hill A , Rother RP , Arnold L , Kelly R , Cullen MJ , Richards SJ , Hillmen P . Eculizumab prevents intravascular hemolysis in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and unmasks low-level extravascular hemolysis occurring through C3 opsonization . *Haematologica* 95 : 567-573 , 2010
- 115 ) Danilov AV , Smith H , Craig S , Feeney DM , Relias V , Miller KB . Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and pregnancy in the era of eculizumab . *Leuk Res* 33 : e 4 -5 , 2009
- 116 ) Kelly R , Arnold L , Richards S , Hill A , Bomken C , Hanley J , Loughney A , Beauchamp J , Khursigara G , Rother RP , Chalmers E , Fyfe A , Fitzsimons E , Nakamura R , Gaya A , Risitano AM , Schubert J , Norfolk D , Simpson N , Hillmen P . The management of pregnancy in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria on long term eculizumab . *Br J Haematol* 149 : 446-450 , 2010
- 117 ) Marasca R , Coluccio V , Santachiara R , Leonardi G , Torelli G , Notaro R , Luzzatto L . Pregnancy in PNH: another eculizumab baby . *Br J Haematol* 150 : 707-708 , 2010
- 118 ) Danilov AV , Brodsky RA , Craig S , Smith H , Miller KB . Managing a pregnant patient with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the era of eculizumab . *Leuk Res* 34 : 566-571 , 2010

