

D. 考察

以上の結果より、外国人から日本人への移植では、日本人から日本人への移植と比較して、急性移植片対宿主症の頻度、重症度は有意に増すが、生存率、無病生存率は両者に有意差は無いことが、現時点では、明らかとなった。これは、GVHD に伴う GVL 効果によって、再発率が低下することが一因であるかもしれない。今回対象とした海外ドナーからの移植例では、症例数が少なく、視察率期間も比較的短いので、最終的な結論を得る為には引き続き症例の蓄積とフォローアップが必要と考えられる。また、GVHD のより効果的な制御法の確立もその成績向上には、不可欠であることが示唆された。

本邦においては、Class I allele disparity が、非血縁者間骨髄移植後の急性 GVHD の発症率および生存率と有意に相関し、一方、Class II allele disparity は、予後と相関しないことも多数例の解析で明らかにされている。今回の検討では、海外ドナーを用いた移植で急性 GVHD の発症の危険因子であり、さらに海外ドナーからの移植例のみを対象とした多変量解析では、Class II allele disparity が GVHD 発症の独立した危険因子として同定された。今回、Class I allele disparity については、データが十分に解析されていないので、この結果のみから Class II allele 適合の重要性を結論することは出来ない。しかし homogeneous な日本人間の移植と異なり、外国人から日本人という民族学的には、より heterogeneous なドナーレシピエントペアにおいては、異なる allele が移植免疫反応に重要な役割を果す可能性が示唆されたと考える。

今後は、症例と詳細な allele typing の結果を

蓄積し、この点を明らかにする予定である。

E. 結論

海外骨髄バンクドナーを用いた移植について検討を加え、外国人から日本人への移植では、急性 GVHD の頻度、重症度は危険因子となるが、現時点では生存率、無病生存率に有意な影響を与えないことが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表

Y Ogawa, S. Okamoto, Y Ikeda et al.: Dry eye after haemotopoietic stem cell transplantaion. Br. J Ophthalmology, 83 (10), 1125-1130, 1999

M Wakui, S Okamoto A Ishida, Y Ikeda et al: Prospective evaluation for upper gastrointestinal tract acute graftversus-host disease after hematopoietic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 23, 573-578, 1999

Patient's Characteristics (患者背景)(N=56)

○ Mean age (平均年齢)	○ Diseases (疾患)	
27 (1 - 50)	Standard-risk leukemia* (標準リスク白血病)	18
○ Sex (性別)	High-risk leukemia** (高リスク白血病)	27
M (男性): 39 F (女性): 17	Myelodysplastic Syndrome (骨髄異形成症候群)	7
○ Race (人種)	Lymphoma (リンパ腫)	1
Japanese (日本人): 54	Severe Aplastic Anemia (重症再生不良性貧血)	2
Philippino (フィリピン人): 1	Others (その他)	1
Chinese (台湾人): 1		

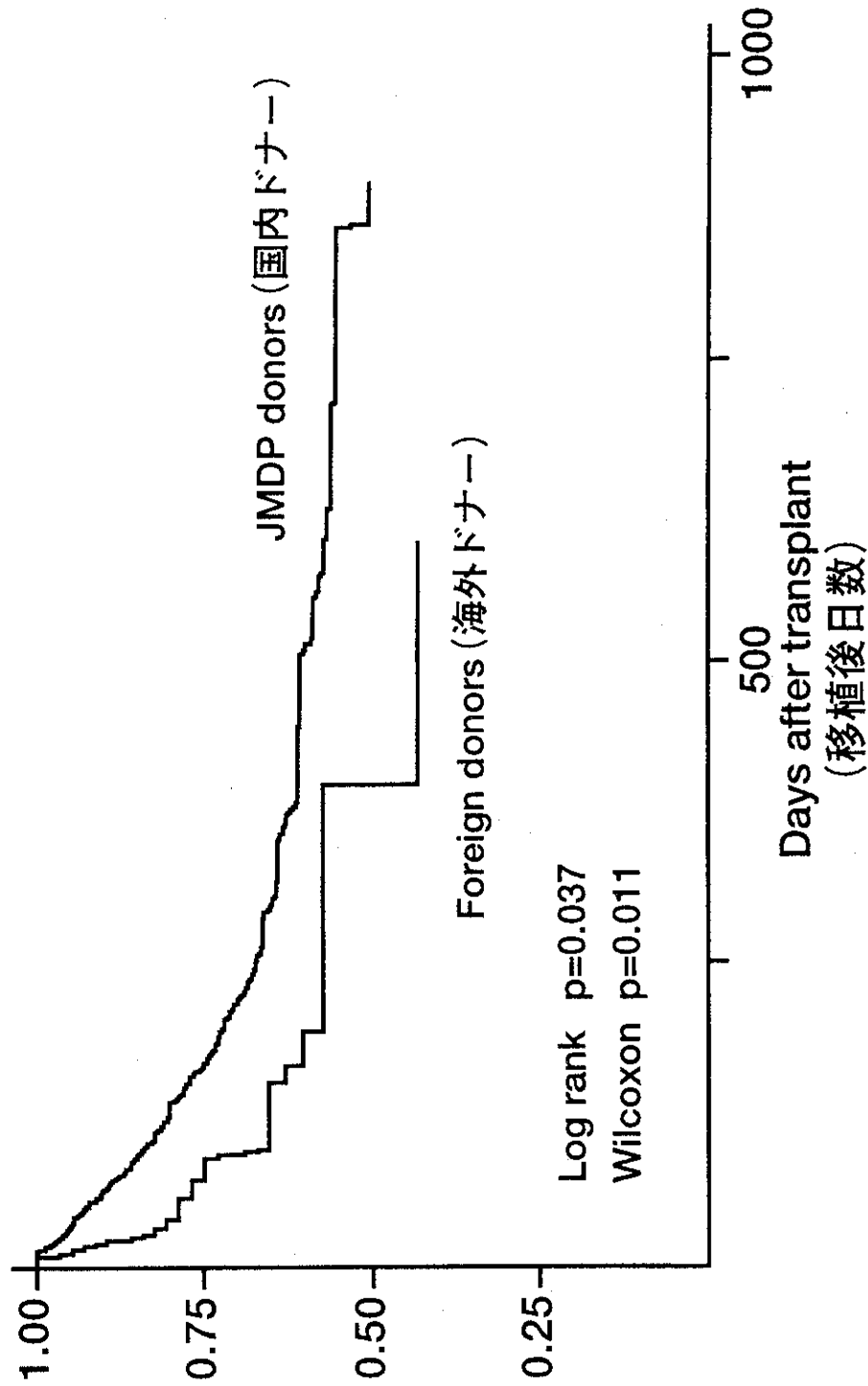
* CML in CP, AL in CR

** CML > CP AL not in CR

表1

Overall Survival after Allogeneic BMT Using either Foreign (N=56) or JM DP Donors (N=568)

国内および海外ドナーを用いた同種骨髄移植後の生存率(全症例)



Transplant Outcome Affected by the Use of Foreign Donors

(海外ドナーを用いることが移植結果に及ぼす影響)

Method (方法) : Cox proportional - hazard model

Factors Analyzed (解析因子) : Age, Sex, Donor's origin

Conditioning, GVHD Prophylaxis, Disease / Stage, HLA disparity

Outcome (移植成績)	Hazard Ratio (95% CI)	P value
Overall Survival (生存率)	1.06 (0.44 - 2.52)	0.887
Disease Free Survival (無病生存率)*	1.29 (0.60 - 2.76)	0.508

* Leukemia only (白血病のみ)

表2

Transplant Outcome Affected by the Use of Foreign Donors

(海外ドナーを用いることが移植結果に及ぼす影響)

Method (方法) : Logistic model

Factors Analyzed (解析因子) : Age, Sex, Donor's origin Conditioning, GVHD Prophylaxis, Disease / Stage, HLA disparity

Outcome (移植成績)	Hazard Ratio (95% CI)	P value
Grade II - IV GVHD	2.24 (1.05 - 4.78)	0.035
Grade III - IV GVHD	2.52 (1.09 - 5.86)	0.031

Transplant Outcome Affected by the Disparity of HLA Class II Allele in Transplant Using Foreign Donors (N=56)

Method : Logistic model

Factors Analyzed (解析因子) : Age, Sex, HLA Class II disparity Conditioning, GVHD Prophylaxis

Outcome (移植成績)	Hazard Ratio (95% CI)	P value
Grade II - IV GVHD	5.89 (1.22 - 28.5)	0.027
Grade III - IV GVHD	9.45 (1.52 - 59.0)	0.016

分担研究報告

HLA の DNA タイピングの普及に関する研究

分担研究者 笹月 健彦 (九州大学生体防御医学研究所・教授)

班員外協力者 絹川 直子、能瀬 善明 (九州大学医学部附属病院医療情報部)

研究要旨

骨髄移植の予後に対する HLA クラス II 遺伝子 (HLA-DRB1、DQB1) の寄与を検討する目的で、これまでに HLA DNA タイピングが終了した、血清学的に HLA-A、B、DR が一致した移植例 980 組に関して、HLA-A、B が DNA レベルで一致した症例における、DRB1 および DQB1 の不一致が生存および GvHD 発症に与える影響を解析した。その結果、DRB1、DQB1 不一致は 3 年生存において有意差に到らず (各々 $p=0.066$ 、 0.040)、若干の差を認めたのみであったが、GvHD 発症に関しては、DRB1 不一致が有意差 ($p=0.004$) を示し、GvHD 発症の危険因子となることが示唆された。

A. 研究目的

骨髄移植は、造血系の悪性腫瘍および遺伝性疾患の有効な治療法である。しかし、骨髄移植においては、しばしば致死性 GvHD を発症することから、GvHD を中心とした予後に対する HLA の寄与を詳細に把握することが最重要である。我々はこれまでに公的骨髄バンクを利用した非血縁者間骨髄移植が行われた、血清学的に HLA-A、B、DR が一致した移植例 440 組に関して HLA 型の DNA レベルでの解析を行い、死亡に関して HLA クラス I、特に HLA-A の DNA レベルでの不一致が死亡に関して重要な危険因子となることを明らかにした。これに対し、HLA-DRB1、DQB1 の不一致は有意差には到らなかったが、若干の差を認めた。本年度は新たに DNA レベルでの解析が終了した 540 組を加え、HLA クラス II の DNA レベルでの不一致が生存および GvHD 発症におよぼす影響を 980 組を対象として検討することを目的とした。

B. 研究方法

これまでに集積した 980 組の移植例の

HLA-A、B、DRB1、DQB1 の DNA レベルでの解析結果に関し、HLA-A、B ともに DNA レベルで一致する症例を対象として、DRB1、DQB1 の不一致が生存および GvHD 発症に及ぼす影響を検討した。(倫理面への配慮)

検体に関する個人識別情報を含む情報の保護を図るため、本研究の研究遂行者は匿名化された検体を実験に用いた。

C. 研究結果

(1) HLA-A、B DNA 型一致症例における、HLA-DRB1、DQB1 マッチングと生存

これまでの解析により、HLA-A の DNA レベルでの不一致が死亡に関して重要な危険因子となること、HLA-B の DNA レベルでの不一致は弱いながら同様に危険因子となることを明らかにした。今回、980 組の HLA DNA タイピングが終了したことから、HLA クラス II のマッチングが生存に及ぼす影響を検討する目的で、HLA-A、B DNA 型一致症例間における DRB1 および DQB1 マッチングと生存と

の関連を解析した。図 1、2 に各々の Kaplan-Meier 曲線を示したが、HLA-A、B DNA 型が一致した 643 症例における 3 年生存率は DRB1、DQB1 とともに、一致症例と不一致症例間で有意な差を認めなかった (DRB1:P=0.066、DQB1:P=0.040)。これにより、DRB1、DQB1 のマッチングは少なくとも HLA-A、B の DNA 型が一致した非血縁者間骨髄移植の 3 年生存率に対して大きな影響を与えないことが示唆された。

(2) HLA-A、B DNA 型一致症例における HLA-DRB1、DQB1 マッチングと GvHD

(1) と同様に HLA クラス II のマッチングが GvHD に及ぼす影響を検討した。図 3、4 に示したように、HLA-A、B DNA 型が一致した 641 症例において、重症 GvHD の発症は DRB1 不一致群では有意に高かったが (P=0.004)、DQB1 では差を認めなかった (P=0.093)。これにより、DRB1 の不一致が HLA-A、B の DNA 型が一致した非血縁者間骨髄移植における GvHD 発症の危険因子となることが示唆された。

D. 考察

これまでに HLA-A、B、DR が血清学的に一致した非血縁者間骨髄移植 440 組を対象とした解析によって、生存および GvHD 発症に HLA クラス I の DNA レベルでの不一致が危険因子となることが示されている。これに基づき、骨髄バンクにおいても 1996 年 8 月以降 HLA-A、B の DNA レベルでのタイピングが始まり、より適合度の高い移植が行われている。一方、欧米では HLA クラス II のマッチングの重要性が示されており、本年度は、新たに HLA DNA タイピングが終了した 540 組を加え、980 組を対象として、HLA-DRB1、DQB1 のマッチングと生存、GvHD 発症との関連を検討した。HLA-A、B が生存、GvHD 発症に影響を与えるこ

とから、HLA-A、B の DNA 型一致症例を 980 組より抽出し、これらにおける DRB1、DQB1 のマッチングと生存、GvHD 発症との関連を解析したが、結果に示したように、3 年生存においては DRB1、DQB1 とともに有意差は示さなかった。これに関しては、1 年生存、2 年生存、あるいは疾患別での詳細な解析を行うことが、今後重要であると考えられる。

一方、急性 GvHD の発症においては、DRB1 の不一致が有意差を示した。よって、HLA-A、B の DNA 型一致症例間の非血縁者間骨髄移植では、DRB1 の不一致が GvHD 発症の危険因子となることが示唆された。DRB1 の不一致が統計学的に GvHD の危険因子となるが、3 年生存においては危険因子とはならない点を含め、今後さらに詳細な統計解析を加えることにより、より高い生存率の期待できる非血縁者間骨髄移植が可能となると考えられる。

E. 結論

HLA-A、B の DNA 型が一致した非血縁者間骨髄移植において、統計学的に DRB1、DQB1 のマッチングは 3 年生存に強い影響を与えないこと、DRB1 の不一致は急性 GvHD 発症の危険因子となること、DQB1 の不一致は急性 GvHD 発症に強い影響を与えないことが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Kawamura K, Yamamura T, Yokoyama K, Chui DH, Fukui Y, Sasazuki T, Inoko H, David CD, Tabira T.: Induction of autoimmune encephalitis by proteolipid protein 95-116-specific T cells from HLA-DR2 (DRB1*1502) transgenic mice. *J. Clin. Invest.*, in press

Shirasawa S, Arata A, Onimaru H, Roth K, Brown G, Horning S, Arata S, Okumura K, Sasazuki T and

Korsmeyer S: *Rx*-deficiency results in congenital central hypoventilation. **Nature Genetics**, in press

Hamaguchi K, Kimura A, Seki N, Higuchi T, Yasunaga S, Takahashi M, Sasazuki T, Kusuda Y, Okeda T, Itoh K, Sakata T.: Analysis of tumor necrosis factor- α promoter polymorphism in type 1 diabetes: HLA-B*08:01 and -DRB1 alleles are primarily associated with the disease in Japanese.

Tissue Antigens, 55:10-16, 2000

Kodera Y, Morishima Y, Kato S, Akiyama Y, Sao H, Matsuyama T, Kawa K, Sakamaki H, Nakagawa S, Hirabayashi N, Dohji H, Okamoto S, Hiraoka A, Gondo H, Tsuchida M, O H, Harada M, Asano S, Juji T, Sasazuki T, and Takaku F for the Japan Marrow Donor Program.: Analysis of 500 bone marrow transplants from unrelated donors (UR-BMT) facilitated by the Japan Marrow Donor Program: confirmation of UR-BMT as a standard therapy for patients with leukemia and aplastic anemia. **Bone Marrow Transplantation**, 24: 995-1003, 1999

Djoulah S, Busson M, Sasazuki T, Maillere B, Yasunaga S, Kimura A, Charron D, Hors J.: A new predictive model for insulin-dependent diabetes mellitus susceptibility based on combinations of molecular HLA-DRB1 and HLA-DQB1 pockets. **Tissue Antigens**, 54: 341-348, 1999

Juji T, Watanabe Y, Ishikawa Y, Fujiwara K, Tonami H, Tanaka H, Satake M, Akaza T, Tadokoro K, Kodera Y, Sasazuki T, Morishima Y, Takaku F: Human platelet alloantigen (HPA)-5a/b mismatch decreases disease-free survival in unrelated bone marrow transplantation. **Tissue Antigens**, 54: 229-234, 1999

Matsuki N, Ogasawara K, Takami K, Namba K, Takahashi A, Fukui Y, Sasazuki T, Iwabuchi K, Good RA, Onoe K: Prevention of infection of influenza virus in DQ6 mice, a human model, by a peptide

vaccine prepared according to the cassette theory. **Vaccine**, 17: 1161-1168, 1999

Yoshitake S, Kimura A, Okada M, Yao T, Sasazuki T: HLA class II alleles in Japanese patients with inflammatory bowel disease. **Tissue Antigens**, 53: 350-358, 1999

Sano T, Yamamoto K, Fukui Y, Sasazuki T: Spontaneous clustering of Thy-1 antigens on CD4⁺ CD8⁺ thymocytes lacking TCR engagement by MHC/peptide complexes. **Eur. J. Immunol** 29:403-412, 1999

Nishimura H, Washizu J, Naiki Y, Hara T, Fukui Y, Sasazuki T, Yoshikai Y: MHC class II-dependent NK1.1⁺ $\gamma\delta$ T cells are induced in mice by Salmonella infection. **J. Immunol.**, 162:1573-1581, 1999

2. 学会発表

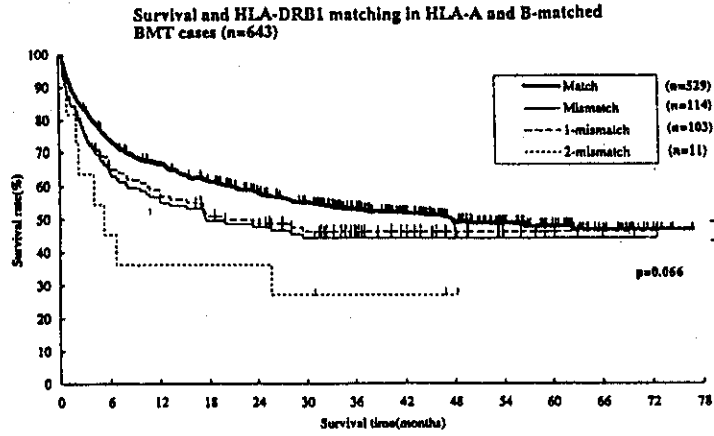
笹月 健彦：免疫システム枠組み決定機構とがん免疫第58回日本癌学会総会 1999年9月29日～10月1日、広島

笹月 健彦、その他：非血縁者間骨髄移植における HLA 遺伝子マッチングの影響—厚生科学研究感覚器及び免疫・アレルギー等研究事業「造血細胞移植と免疫応答に関する研究」共同研究—日本人類遺伝学会第44回大会 1999年11月17日～19日、仙台

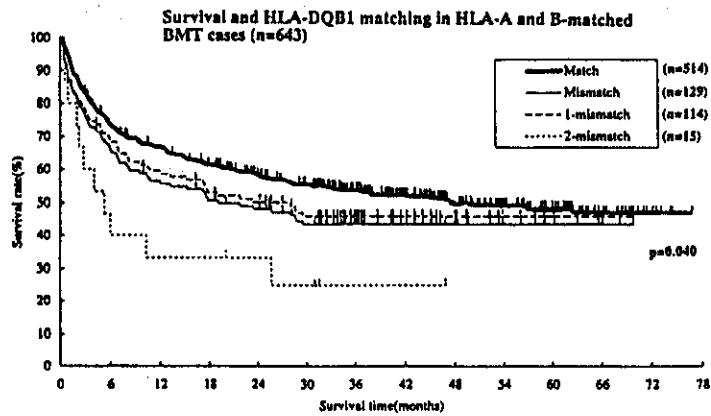
笹月 健彦、その他：非血縁者間骨髄移植における HLA 遺伝子マッチングの影響—厚生科学研究感覚器及び免疫・アレルギー等研究事業「造血細胞移植と免疫応答に関する研究」共同研究—第29回日本免疫学会総会・学術集会 1999年12月1日～3日、京都

笹月 健彦、その他：MHC の多型性および TCR の多様性と寄生体の戦略
第22回日本分子生物学会年会 1999年12月7日～10日、福岡

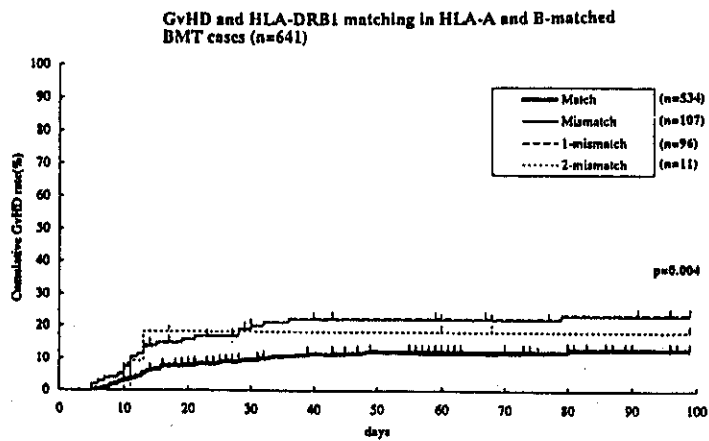
☒ 1



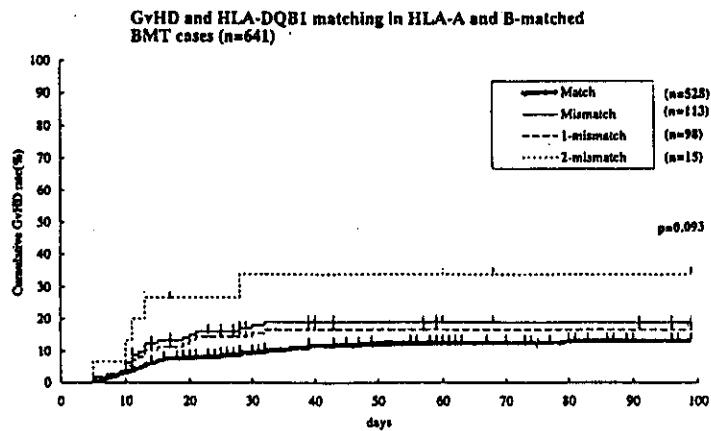
☒ 2



☒ 3



☒ 4



分担研究報告

HLA 以外のヒトアロ抗原に関する研究

分担研究者 十字猛夫 日本赤十字社中央血液センター所長

HLA 適合移植において血小板抗原 HPA-5、顆粒球抗原および MICA 不適合の影響を解析した。

血小板抗原 HPA-5 不適合により移植後生存率の低下が認められることはすでに報告した。今回症例数を 304 ペアーから 521 ペアーに増やして再解析し、前回の結果同様、移植後生存率の低下が確認された。しかし生存率の低下と重篤な急性 GVHD の発症とは関連しなかった。顆粒球抗原(NA1/NA2)不適合の影響について HPA-5 と同様の解析を行ったが移植成績への影響は認められなかった。MICA は HLA-B と強く関連しているため HLA 適合移植において MICA 不適合が検出されたのは 4 例のみであり、移植への影響を明らかにするにはいたらなかった。

A. 研究目的

非血縁者間骨髄移植において HLA のアリルレベルでの適合が重要であることが明らかとなっている。しかし HLA 適合移植においても成績不良の症例があり、HLA 以外のアロ抗原の関与が考えられる。すでに HLA 適合移植において血小板抗原 HPA-5(a/b)の不適合により移植後生存率が低下することを報告した。今回症例数を増やし、HPA-5 不適合の影響を再解析すると共に、さらに顆粒球抗原、MICA の不適合の影響について検討した。

B. 研究方法

患者およびドナーの末梢血から調製した genomic DNA を用いた。HPA-5(a/b)、顆粒球抗原(NA1/NA2)はそれぞれのアリルの標準 DNA をプローブとした PCR-PHFA 法によりタイピングした。MICA は HLA-B と強く関連しているが、HLA-

B39、B48 はいくつかの MICA アリルとハプロタイプを組み合わせることが分かっている(発表論文1)。そこで B39 あるいは B48 陽性の移植ペアーを選び、PCR-SSCP 法によりタイピングを行った。

C. 研究結果

1. 血小板抗原 HPA-5 不適合の影響

前回の 304 例の HLA-A,B,DRB1 アリル適合ペアーを用いた解析では、HPA-5 不適合により移植後生存率は低下したが、急性 GVHD 発症率に差は認められなかった。今回症例数を 521 ペアーに増やした解析では生存率が A24 陽性例で HPA-5 不適合により有意に低下することは同様であったが、急性 GVHD 発症率も増加する傾向がみられた(図.1)。しかし GVHD を発症した症例をその程度から 2 度以下と 3 度以上に分けて比較すると、生存率が低下しているのは 2 度以下のグループ

であり(図.1-c,d)、HPA-5 不適合による生存率の低下は重篤な GVHD 発症によるものとは考えにくい。

HPA-5 不適合による移植成績の低下への免疫系の関与を考察する目的で、HPA-5 特異的 T 細胞の誘導を試みた。前回の解析において HPA-5 不適合の影響が強く現れていたハプロタイプ(A24-B52-DRB1*1502)陽性の健常人から調製した樹状細胞に HPA-5b 特異的アミノ酸配列を元に合成した 17mer のペプチド(RVYLF~~T~~IKK~~G~~ILGQH~~Q~~F)および自己の T 細胞を共培養した。この結果 HPA-5b ペプチド特異的に増殖する CD4 陽性 T 細胞が誘導された(図.2)。この T 細胞は HLA-DRB1*1502 陽性で HPA-5b を発現している細胞に対しても増殖し、この増殖は抗 HLA-DR モノクローナル抗体で抑制された。

2. 顆粒球抗原(NA1/NA2)不適合の影響

表 1 に顆粒球抗原のタイピング結果を示した。この結果をもとに顆粒球抗原不適合の生存率、急性 GVHD への影響、HLA クラス I およびクラス II 拘束性を解析したが、有意な影響は認められなかった。また顆粒球抗原の本体は Fc γ IIIb レセプターであり、抗原性の原因であるアミノ酸変異により Fc γ レセプターの機能に変化が生じている可能性もある。そこで NA1 陽性グループ、NA2 陽性グループ間でも比較を行ったが、有意な差はみられなかった。

3. MICA 不適合の影響

HLA が適合している HLA-B39 陽性の

22 ペアー、B48 陽性の 18 ペアーを対象として MICA アリルのタイピングを行った。この内 MICA アリル不適合は B39 グループで 1 例、B48 グループで 3 例のみであった。合計 4 例のうち 3 例が死亡していた。

D. 考察

HPA-5 不適合の移植成績への影響については急性 GVHD の発症率に変化はないが移植後生存率が低下することはすでに報告した。今回症例数を増やした解析では生存率の低下だけでなく 3 度以上の急性 GVHD 発症率の増加が認められた。しかし生存率の低下は GVHD によるものではないことが確認された。これまでに報告されているマイナー抗原の多くは移植後 GVHD 発症症例から同定され、また統計的にマイナー抗原の不適合により GVHD 発症率が増加することが報告されている。しかしマイナー抗原不適合による生存率の低下についての報告はない。したがって HPA-5 は従来考えられているマイナー抗原とは異なる機作により生存率の低下を引き起こしているものと考えられた。輸血、妊娠時に血小板抗体に対する抗体が産生され、血小板輸血不応状態、新生児血小板減少性紫斑病の原因となることが知られている。骨髄移植における HPA-5 不適合も抗体が産生され、骨髄の生着不良あるいは全身性の緩慢な障害により生存率を低下させている可能性がある。HPA-5 不適合による生存率の低下の原因を明らかにするためには移植後の抗体産生の有無も検討する必要があると思われた。

顆粒球抗原不適合による移植成績への明らかな影響は認められなかった。ほぼ全身に分布している血小板抗原 HPA-5 とは異なり、顆粒球抗原(Fc γ RIIIb)の発現は好中球に限られているため、顆粒球抗原がアロ抗原として認識されたとしても臨床症状としては現れにくいと思われる。

MICAはHLA-Bと強く関連しているため HLA が適合している移植においてはそのほとんどは MICA も適合していることになる。今回の解析で MICA 不適合 4 例のうち 3 例が死亡していたが、MICA 不適合の影響について結論を出すためにはさらに症例数を増やす必要がある。

E. 結論

HLA-A,B,DRB1 アリル適合移植において、血小板抗原 HPA-5、顆粒球抗原、MICA 不適合の影響を解析した。

HPA-5 不適合による移植後生存率低下が確認された。この低下の原因は重篤な GVHD の発症では説明できなかった。HPA-5b 特異的 T 細胞が誘導されたことから HPA-5 不適合が免疫系に認識されることが確認された。

顆粒球抗原不適合は移植成績には影響しないものと考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Komatsu-Wakui M, Tokunaga K, Ishikawa Y, Kashiwase K, Moriyama S, Tsuchiya N, Ando H, Shiina T, Geraghty DE, Inoko H and Juji T: MIC-A polymorphism in Japanese and a

MIC-A-MIC-B null haplotype. *Immunogenetics*. 49:620-628, 1999.

2) Juji T, Watababe Y, Ishikawa Y, Fujiwara K, Tonami H, Tanaka H, Satake M, Akaza T, Tadokoro K, Kodera Y, Sasazuki T, Morishima Y and Takaku F: Human platelet alloantigen (HPA)-5a/b mismatch decreases disease-free survival in unrelated bone marrow transplantation. *Tissue Antigens*. 54, 229-34, 1999.

3) Fujiwara K, Watanabe Y, Mitsunaga S, Oka T, Yamane A, Akaza T, Tadokoro K, Tokunaga K, Shibata Y and Juji T: Determination of granulocyte-specific antigens on neutrophil Fc γ receptor IIIb by PCR-preferential homoduplex formation assay, and gene frequencies in the Japanese population. *Vox Sang* 77, 218-222, 1999.

2. 学会発表

1) 岡井 幹、賛田美江、西村元子、石川善英、赤座達也、十字猛夫：血小板抗原 HPA-5b に特異的な CD4 陽性インデューサー T 細胞の確立。日本組織適合性学会 1999.

2) 涌井美紀、徳永勝士、石川善英、柏瀬貢一、安藤等、椎名隆、猪子英俊：MICA-MICB null ハプロタイプと簡便な MICA deletion の検出。日本組織適合性学会 1999.

図1 HPA-5不適合の移植成績への影響

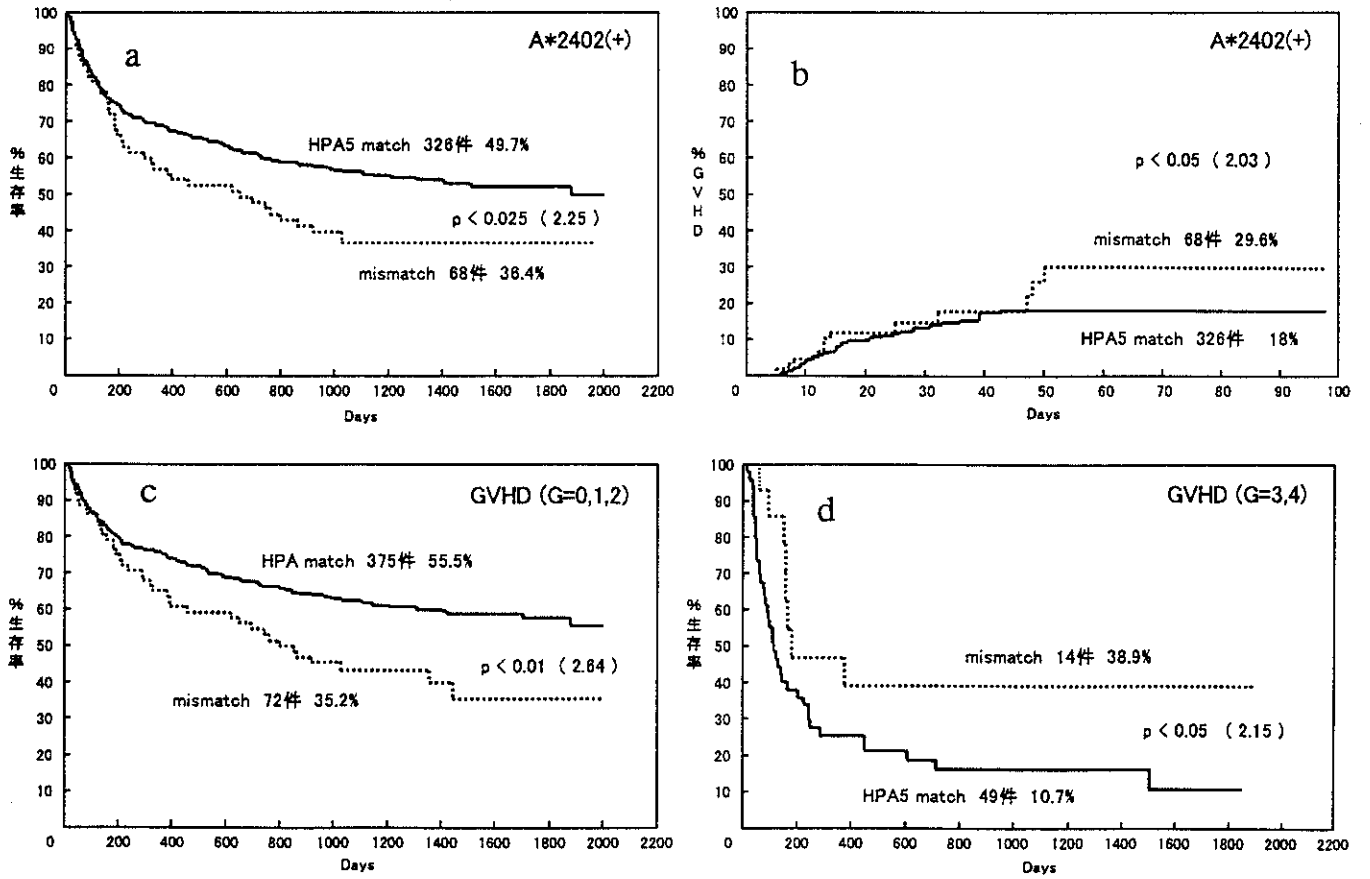
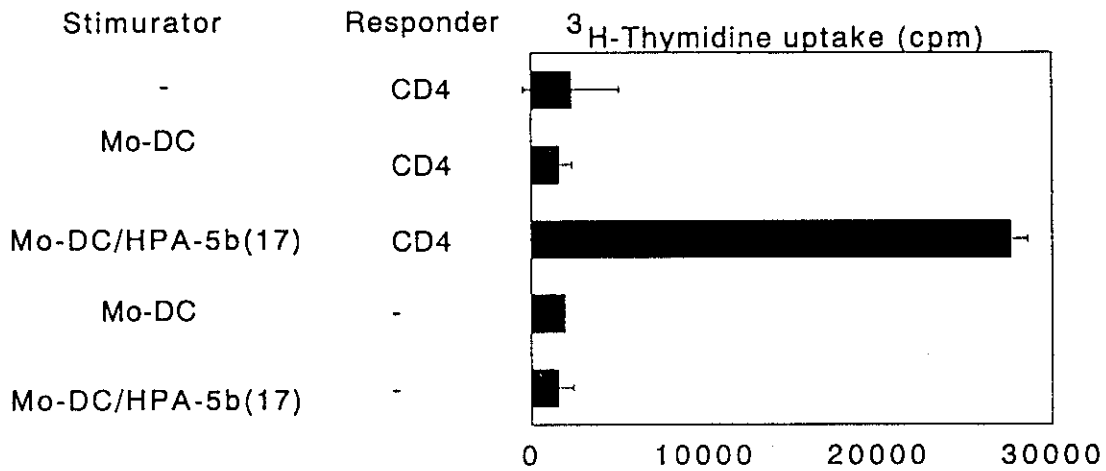


図2 HPA-5bペプチドにより誘導されたCD4+T細胞の特異性



Mo-DC: monocyte-derived dendritic cell

表1 顆粒球抗原の頻度と適合度

NA type	Donor	Recipient	total
NA1	235	234	469
NA1/NA2	224	241	465
NA2	59	42	101
-/-	0	1	1
match		251(48.5%)	
mismatch		267(51.5%)	
total		518	

分担研究報告

研究課題 移植抗原と GVHD、GVL に関する研究

分担研究者 森島泰雄 (愛知県がんセンター血液化学療法部長)

研究要旨 日本骨髄バンク (JMDP) を介した非血縁者間骨髄移植において患者とドナーの HLA の違いが急性移植片対宿主病 (GVHD)、移植片対白血病効果 (GVL) に及ぼす影響につき、とくに HLA-C 抗原を中心に解析した。GVHD の頻度は HLA-C 座の不適合に加え、HLA-A, B, C, DR, DQ 座のいずれかの不適合が加わるとさらに高率になる傾向を示し、HLA-A 座とは異なる発症様式を示した。白血病の再発は HLA-C 差の不適合により低率になった。とくに、再発ハイリスク症例、急性リンパ製白血病において認められるとともに、急性 GVHD を発症していない症例においても HLA-C を介した GVL 効果が認められた。

A. 研究目的

非血縁者間骨髄移植においてはドナーと患者間の主要組織適合性抗原 (HLA) の違いが移植の成績を大きく左右している。本厚生科学研究班では日本骨髄バンク (JMDP) を介した非血縁者間骨髄移植 440 症例の HLA-DNA 型をレトロスペクティブに解析し、HLA クラス I 抗原 (HLA-A, B, C) の違いが急性 GVHD の発症や移植後の生存に関与していることを見出した (Sasazuki T. et al. New Engl J Med 339:1177 - 1185, 1998)。その後の本研究班における HLA-DNA 型の解析結果と臨床成績とを合わせて、HLA 適合度から見た急性 GVHD ならびに GVL 効果につき新たに解析を加えたので報告する。

B. 研究方法

JMDP において HLA-A, B, DR の血清型が適合したドナーから初回非血縁者間骨髄移植が実施され、かつ、本研究班の HLA 研究者によって HLA-A, B, C, DR, DQ の DNA タイピングがレトロスペクティブに実施された 963 症例を対象とした。移植後の観察期間は 490 - 2302 日 (中央値 1358 日)、患者年齢は 0 - 51 才 (中央値 23 才)、疾患は急性骨髄性白血病 (AML)209 例、急性リンパ性白血病 (ALL)259

例、慢性骨髄性白血病 (CML)286 例、骨髄異形成症候群 (MDS)67 例、悪性リンパ腫 (ML)19 例、再生不良性貧血 (AA)19 例、遺伝性疾患 (HD)27 例であった。白血病再発スタンダードリスク群 (AML と ALL の第 1 寛解期移植、CML の第 1 寛解期移植、MDS の refractory anemia) は 369 例でスタンダードリスク群より進行した病期の 452 例をハイリスク群とした。GVHD 予防法は T 細胞除去骨髄 (TCD) を移植した症例が 16 例、non-TCD 移植が 947 例でこの中で cyclosporine を基本にした予防法が 852 例、FK506 を基本にした予防法は 109 例であった。

C. 研究結果

1. 急性 GVHD

1-1 HLA-DNA 型不適合との関連 (表 1) : HLA-A, B, C, DR, DQ 抗原と GVHD との関連の可能性のある臨床データについて Cox's proportional hazard model を用いた多変量解析の結果を表 1 に示した。臨床的なデータを考慮しても、尚かつ HLA-C と HLA-A の DNA 型の違いはあきらかに独立した急性 GVHD 発症因子であった。

GVHD 予防法の cyclosporine と FK506 との比較では $p=0.08$ と有意ではなかったが、FK506 群で重症 GVHD の発症が低率である傾

向が見られた。

1-2 HLA-Cとの関連(表2) : HLA-A, B, CのDNA型適合症例においてはC座の適合、不適合によるGVHDの頻度はそれぞれ11.5%と18.7%とやや不適合移植で発症頻度が高かった。HLA-A, B, DR, DQがいずれか一つ以上不適合症例においてはGVHDの頻度はCの適合、不適合でそれぞれ21.5%、35.0% ($p=0.0039$)と有意に高率であった。

2. 白血病再発

2-1 HLA-DNA型不適合との関連(表3、4) : 再発ハイリスク症例につきHLA-A, B, C, DR, DQ抗原と再発との関連の可能性のある臨床データを用いて実施したCox's proportional hazard modelによる多変量解析の結果を表3に示した。再発に関与する独立因子として、疾患(ALLはAMLあるいはCMLに比べ高い事)、全身放射線照射(施行例は未施行例に比べ再発率が低率である事)について、HLA-Cの違いが関与している事が示された。他のHLA抗原は有意差が認められなかった(表4)。

2-2 急性GVHD発症と白血病再発との関連(表5) : ハイリスク例につき検討すると、急性GVHDの重症度が0-1度の場合の移植後1000日の再発率が45.6%であるのに比べ、2-3度の場合には29.5%と低率であった。4度の症例はほとんどが早期死亡していたため評価不能であった。

2-3 HLA-Cとの関連 : HLA-Cの不適合症例での再発抑制効果はALLに認められた(表6)。また、急性GVHDを発症しない症例におけるHLA適合度と再発の関連を検討すると、表7に示すようにHLA-C適合度との関連が認められた(表7)。

D. まとめと考察

今回の検討により、先ず前回までの解析で示された結果1)-3)を症例数を増して確認できた。1)HLA-A、(B)のDNA型が違くと、重症急性GVHDが高率に発症し、移植

後の生存率が悪くなる。2)HLA-DRのDNA型の違いは、急性GVHDや生存にさほど(HLA-A, Bに比べて)影響していない。3)HLA-C型が違くと、重症急性GVHDが高率に発症するが、生存率は悪くならない。

以上の知見に加えて今回の解析で以下の点が明らかになった。1)HLA-Cの違いに他のHLA抗原の違いが加わると重症GVHDはさらに高頻度に発症する。2)HLA-ABDRDQE型の違いと白血病の再発との関連は認められなかった。3)HLA-C型が異なると移植後の白血病の再発率が低くなり、この傾向はハイリスク症例、急性リンパ性白血病症例においてとくに認められた。4)中等症(II度)以上の急性GVHDが生じると再発率が低くなった。5)GVHDが生じなかった症例においてHLA-C型が違くと移植後の白血病の再発率が低くなった。

E. 結語

HLAクラスI抗原(ABC)は移植免疫反応に強く関与しており、ドナー選択にとり重要である。HLA-C抗原を介してgraft-versus-leukemia(GVL)反応が生じており、さらにHLA-C抗原を介して、GVHDが生じることなくGVL効果が生じている症例が認められる事から、GVHDとGVLの発症機序異なる可能性が示唆される。

最後に、ここで示した成果はJMMDPならびに本研究班全体の成果であることを強調したい。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Sao H, Morishima Y, Kitaori K, Shimokawa T, Kato C, Yamanishi H, Ueda R. Phase I - II trial using anti-CD6 monoclonal antibody conjugated magnetic bead for prevention of acute graft-versus-host disease in allogeneic bone marrow transplantation. Intern. J. Hematol. 69:27

2) Kodera Y, Morishima Y, Kato S, 18 other authors. Analysis of 500 bone marrow transplants from unrelated donors (UR-BMT) facilitated by the Japan Marrow Donor Program: confirmation of UR-BMT as a standard therapy for patients with leukemia and aplastic anemia. Bone

3) Shimokawa T, Morishima Y, Kitaori K, et al. Early treatment of CMV antigenemia with ganciclovir for prevention of fatal CMV disease in patients receiving marrow from HLA-matched unrelated donors. Intern. J. Hematol. 70: 119 - 126, 1999.

表 1 急性GVHD(III度以上)リスク因子

リスク因子	リスク比	p
<有意差あり>		
HLA-C (適合:不適合)	1. 62	0.0008
HLA-A (適合:不適合)	1. 71	0.0024
<有意差なし>		
GVHD予防法(CSP:FK506)	0. 60	0.085
HLA-B HLA-DRB1 HLA-DQB1 HLA-E		
疾患 リスク 患者年令 ドナー年令 TBIの有無 性適合		

表 2 急性GVHD(III度以上)の発症
HLA-Cとの関連

HLA座	適合% (n)	不適合% (n)	p
HLA-A B DR DQ 適合症例			
HLA-C	11. 5(396)	18. 7(118)	0. 0522
HLA-A B DR DQ 不適合症例			
HLA-C	21. 5(218)	35. 0(218)	0. 0039

表 3 移植後の白血病再発リスク因子
-ハイリスク452症例-

リスク因子	リスク比	P
<有意差あり>		
疾患 (ALL:ANLL)	0.48	0.004
(ALL:CML)	0.45	0.015
全身放射線照射(無:有)	0.60	0.043
HLA-C (適合:不適合)	0.63	0.050
<有意差なし>		
HLA-A B HLA-DRB1 HLA-DQB1 HLA-E		
患者年齢 ドナー年齢 性適合 GVHD予防法		

表 4 白血病再発へのHLA-Cの関与
(ハイリスク症例)

HLA座	1000日再発率(n)	p
すべて適合症例	43.3 (182)	
HLA-C不適合	28.3 (50)	0.15
HLA-A B不適合	46.2 (50)	0.49
HLA-DR DQ不適合	49.8 (42)	0.22

表 5 白血病再発への急性GVHDの関与
(ハイリスク症例)

GVHD重症度	n	1000日再発率	p
0	141	39.8%	
1	119	51.0%	
2	95	29.3%	0.174
3	45	30.8%	
4		NE	
0~1	260	45.6%	0.0008
2~3	140	29.5%	

表 6 HLA-Cの白血病再発への関与
と病型(ハイリスク症例)

病型	Cの適合(n)	Cの不適合(n)	p
急性リンパ性 白血病	52.4%(73)	23.9%(18)	0.20
急性非リンパ性 白血病	31.3%(64)	42.9%(12)	0.79
慢性骨髄性 白血病	33.9%(29)	31.5%(10)	0.70

* 移植後1000日の再発率(%)を表記。

表 7 急性GVHD非発症例における
HLAの白血病再発への関与

HLA座	症例数	再発率	P
すべて適合	113	31.1%	
A・B(DNA型)不適合	25	31.5%	0.96
C不適合	32	9.3%	0.03
DRB1 DQB1不適合	21	35.8%	0.70