

20020456

厚生労働科学研究費補助金

ヒトゲノム・再生医療等研究事業

非血縁者間同種末梢血造血幹細胞移植に関する研究

平成 14 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 森島泰雄

平成 15 (2003) 年 4 月

## 目 次

### I. 総括研究報告

非血縁者間同種末梢血造血幹細胞移植に関する研究・・・・・・・・・・・・・1

森島泰雄

(資料 同種末梢血幹細胞移植のための健常人ドナーからの末梢血幹細胞  
動員・採取に関するガイドライン 2002年 改訂第3版(案))

(資料 骨髄バンクにおけるHLA検査のあり方)

### II. 分担研究報告書

1. 非血縁者間同種末梢血造血幹細胞移植と組織適合性に関する研究・・・・・・・・・・・・・7

森島泰雄

1) 非血縁者間移植におけるHLAクラスI遺伝子と移植免疫反応との関連  
: GVHD 予防法別の解析

2) HLA クラスI アリルの多型性に関する研究

3) HLA-E の多型が非血縁者間移植に及ぼす影響

2. 同種末梢血幹細胞移植の有用性に関する研究・・・・・・・・・・・・・27

原田実根

3. HLA-DNA タイピングの意義の確立に関する研究・・・・・・・・・・・・・35

笹月健彦

4. ゲノムワイドな組織適合性遺伝子の検索に関する研究・・・・・・・・・・・・・39

猪子英俊

5. 非血縁者ドナーHLA 適合性検査法の確立に関する研究・・・・・・・・・・・・・45

石川善英

1) サイトカイン遺伝子多型の非血縁者間骨髄移植成績への影響に関する研究

2) マイナー抗原 HA-8 の非血縁者間骨髄移植成績への影響

III. 研究成果の刊行に関する一覧表・・・・・・・・・・・・・61

IV. 研究成果の刊行物・別冊・・・・・・・・・・・・・63

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
総括研究報告書

研究課題：非血縁者間同種末梢血造血幹細胞移植に関する研究

主任研究者 森島泰雄 愛知県がんセンター 部長

研究要旨

非血縁者間移植にとり最も重要な因子であるドナーと患者との組織適合性の解析を基盤として、末梢血造血幹細胞を用いた新しい移植法である同種末梢血幹細胞移植を非血縁者間移植に導入し、さらなる成績の向上を目的とした。日本骨髄バンクを介した非血縁者間移植患者とドナーの詳細な HLA 遺伝子型を同定し、ドナーと患者間の HLA のクラス I 抗原の違いが移植成績に大きな影響を与えていることが明らかになった。GVHD 予防法別に解析した結果、新しい GVHD 予防法であるタクロリムス+メトトレキサート法では従来からのシクロスポリン+メトトレキサート法とは異なる HLA のバリアーが存在する可能性が示唆された。さらに、また、急性 GVHD の発症に NK 細胞の KIR を介した発症機序が明らかになった

非血縁者間同種末梢血造血幹細胞移植実施のためには、末梢血幹細胞採取ドナーの安全性確保と採取体制の整備ならびに HLA 適合性を基盤とする臨床プロトコールの作成と実施が不可欠である。

分担研究者

原田実根

九州大学大学院医学研究院 教授

笹月健彦

国立国際医療センター研究所 研究所長

猪子英俊

東海大学医学部分子生命科学系 教授

石川善英

東京都赤十字血液センター 課長

A. 研究目的

末梢血造血幹細胞を用いた新しい移植法である同種末梢血幹細胞移植を非血縁者移植に導入し、非血縁者間移植成績の一層の向上を図る。非血縁者間移植では、ドナーと患者との組織適合性が最も重要な因子であり、移植免疫反応に関与する組織適合性抗原の同定とこの同種末梢血幹細胞移植における HLA の役割りを明らかにする。さらに、非血縁者からの末梢血幹細胞採取の安全性の確保と採取システムの検討、より効率的で有効な HLA 検査法を確立するとともに、

この治療法の有効性・安全性を検証するための臨床研究を推進する。

B. 研究方法

1) 血縁者ドナーからの末梢血幹細胞採取に関する研究

日本造血細胞移植学会による同種末梢血幹細胞採取によるドナーの短・中・長期の安全性フォローアップとその安全性に関するデータを解析し、非血縁ドナーからの末梢血採取の妥当性を検証する。

2) 同種末梢血幹細胞移植の有効性の検討

わが国において実施された血縁者間末梢血幹細胞移植症例の臨床データを集積し、本移植法の特徴と改善すべき点を明らかにする。

3) 非血縁者間同種末梢血幹細胞移植のプロトコールの作成と臨床試験の実施

日本骨髄バンクを介した非血縁者末梢血幹細胞移植のプロトコールを作成して臨床試験を実施する。本移植法と骨髄移植法とを比較し、その有効性・安全性ならびに本移植法における至適 GVHD 予防法などを検証する。

#### 4) ドナー選択のためのHLA検査法の確立

現行の日本骨髄バンクにおいて実施されているドナー選択のためのHLA検査法を見直し、血清学的検査に代わるより効率的で精度の高い検査体制と検査法、および対象HLA抗原につき検討し、日本骨髄バンクに提言する。HLA遺伝子型同定法としてsequence based typing (SBT)の検討を含める。

#### 5) 非血縁者間移植における許容HLA抗原座とHLA抗原型の役割に関する解析

HLA-A, B, C, DR, DQ, EのDNAタイピングをドナーと患者の検体を用いて実施し、HLA-DNAタイピングの意義を確立する。主な解析項目は①HLA-DRとHLA-DQ抗原の移植免疫反応に対する役割。

②HLA-C抗原の移植片対白血病効果への影響

③HLA-E抗原特異性の移植免疫反応に対する影響

④特定のHLA型の不適合の組み合わせが移植免疫反応に及ぼす効果を検索し、移植許容HLA抗原を同定する。国際組織適合性抗原ワークショップに参加し、海外データも含め解析を進める。

#### 6) 造血細胞移植に関与する新しい組織適合性抗原の同定

①DNAチップによりマイクロサテライト多型を検索するとともに、上記結果と移植成績との相関を検討する中でGVHD、拒絶等の原因遺伝子を同定する。

②近年解析が可能になったNK細胞の受容体であるKiller-cell Ig-like receptor (KIR)の遺伝子解析を実施し、移植免疫反応との関連を検索する。

(倫理面への配慮)

対象となる患者及びドナーに対し説明し文書による同意を得てから実施すること並びに、研究に参加する研究者の施設において施設倫理審査委員会の承認を得てから実施した。特に骨髄バンクを介して行われた非血縁者間移植患者・ドナーの保存検体(末梢血リンパ球)を用いたHLA等の遺伝子解析に当っては、平成13年3月29日付け「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に基づき、従来からの保存資料はB群に該当するので主任研究者並びに分担研究者の属する遺伝子倫理審査委員会の承認を得ることとするとともに、今後の資料はA群資料に適合格とするべく、同意書を改訂することとした。

### C. 研究結果

#### 1) 日本骨髄バンクを介した非血縁者間移植におけるHLA抗原の役割

厚生科学研究班において現在までにHLA-A, B,

C, DR, DQ座の遺伝子(DNA)型が同定された2097症例につき、各抗原座のドナーと患者間の違いとその移植免疫反応、臨床成績との関連を解析し以下の知見を得ることができた。

HLA-A, B, DR血清型適合移植においてHLA-A B C DRB1 DQB1の遺伝子型不適合症例が56%存在することが判明した。HLA-Aでは20.4%が、Bでは11.2%、HLA-Cでは35.3%がDNA型不適合であった。HLA1座不適合は8.8~10.8%に、2座不適合は3.5~8.8%に、3座不適合は4.4%に認められた。

急性GVHDの頻度はHLA-DNA型完全適合症例では11.8%であったが、HLA-A/BのDNA型の不適合では27.8%と著しく増加していた。HLA-Cの不適合はC単独では20.6%とABほどではないが有意に増加していた。さらにHLA-CにはCの不適合に他の抗原の不適合が加わるとそれぞれ37.0%、30.9%と付加的に重症GVHDの頻度が増加していた。HLA-DR/DQのDNA型の不適合では16.1%と有意の増加は見られなかった。HLA3抗原座以上の不適合では42.1%と高率であった。HLA-A/BのDNA型不適合で有意に慢性GVHDの発症率が高かった。

HLA完全適合症例での生着不全率は1.7%と低率であった。HLA不適合抗原座の数が増すほど生着不全率は高くなり、3抗原座以上の不適合では10.6%であった。白血病スタンダードリスク、ハイリスク別に白血病の再発率を解析した結果では、HLA抗原適合度との有意の相関は認められていない。

移植後の生存率はHLA-A BのDNA型単独不適合例はHLA適合症例に比べて明らかに移植後の生存率は低下している。この主な原因は高率な重症GVHDによる移植関連死の増加による。これに反し、HLA-CおよびHLA-DRB1の単独不適合は生存に影響を及ぼしていなかった。

#### 2) GVHD予防法によるHLAのバリアーの違いの検討

GVHD予防法としてシクロスポリンとメトトレキセート併用療法を用いた1349症例の解析結果は上記1)と同様であった。新しいGVHD予防法であるタクロリムスとメトトレキセート併用療法ではHLA不適合症例(175例)での重症GVHDの頻度は14.9%と低率である可能性が示された。今後、症例数を増して、明確な成績を示す必要がある。

#### 3) 新しいHLAクラスI遺伝子であるHLA-E多型の解析

患者のHLA-Eの多型は重症急性GVHDの発症・生存率などに有意には関連していなかった。

#### 4) NK細胞受容体(KIR)の解析

急性 GVHD の発症に NK 細胞の KIR を介した発症機序が存在する可能性を示した。

#### 5) 新しい組織適合性抗原の同定

HLA 適合症例で急性 GVHD 発症例と非発症例を選択して、約 30,000 個のマイクロサテライト解析を開始した。現在、ドナー・患者間でマイクロサテライト多型に相違が見られた領域を中心に候補遺伝子の領域を約 100kb 以内にしぼりこんでいる。

#### 6) 日本骨髄バンクにおける HLA 検査のあり方についての検討

HLA 遺伝子型検査法の進歩に伴い HLA 検査のあり方を変更する必要があるとあり、HLA 専門家を交えた本研究班においても討議し、早期からの HLA 遺伝子型検査と照合を基本とすることでコンセンサスが得られた。

#### 7) 非血縁者間末梢血造血幹細胞移植の基盤整備

日本造血細胞移植学会における同種末梢血幹細胞採取ドナー登録はほぼ 100% なされており、現在短期フォローアップと長期フォローアップがなされている。さらに、ドナー採取ガイドラインの改訂作業が行われており、本研究班においてもこれらの情報に基づき、安全なドナー採取とその体制につき討議している。

日本における血縁者間末梢血幹細胞移植症例の全国調査により、骨髄移植に比べ急性 GVHD と慢性 GVHD の頻度が増加することが示された。非血縁者間末梢血幹細胞移植は前記した骨髄移植とは異なる HLA のバリアーが生じる可能性が高い。このため、日本骨髄バンクを介した非血縁者間末梢血幹細胞移植開始と同時に、その安全性と有効性を早期に検証する臨床試験を HLA の適合性を基盤として実施する必要があり、このためのプロトコール作りの検討を開始した。

#### D. 考察

日本骨髄バンクを介した非血縁移植症例は 2002 年 12 月現在 4500 例余りに達しているが、研究班におけるこれら症例とドナーの詳細な HLA 遺伝子型の同定は平成 14 年度には 375 ペアが追加され、現在までに 2500 ペア実施されたが、今後年間約 1,000 ペアの解析が必要になる。新しい移植抗原の検索として、今年度から NK 細胞受容体、HLA-E およびマイクロサテライト多型の遺伝子解析が移植症例を用いて開始された。今後、症例数を増して臨床データとの関連を詳細に検討する必要がある。

血縁者間移植のドナーと患者に関する臨床データを集積したが、今後同種末梢血幹細胞移植と末梢血幹細胞採取に対する非血縁ドナーの安全性の検証と採取体制の整備については、客

観的なドナーの末梢血採取の安全性の検証に基づき、骨髄バンクを介した非血縁者からの末梢血幹細胞の採取を可能にすることが肝要であり、同種末梢血幹細胞移植が実施できることにより、提供ドナーの選択枝（骨髄か末梢血か）が広がり、ドナー提供者の拡大がはかれるものと考えられる。非血縁者間末梢血幹細胞移植における HLA 適合度の解析と新しい組織適合性抗原の同定については、非血縁者間移植において HLA クラス I 抗原 (A, B, C) の重要性の指摘は世界で最初の知見であり、その成果が迅速に臨床に生かされ高い評価を得ている。さらに、欧米での非血縁者間移植では HLA クラス II 抗原 (DR, DQ) の重要性が指摘されており、わが国の研究結果と異なっている。したがって、本研究により独創性の高い研究成果が得られ、適切な HLA 適合度のドナーを選択することによりわが国の非血縁者間移植の成績向上に寄与するものと考えられる。さらに、HLA や臨床データの整備された日本骨髄バンクを介した非血縁者間移植症例を解析することにより、世界に先駆けて新しい臨床的に有用な組織適合性抗原を同定できる可能性を示した。

今後、日本骨髄バンクにおける非血縁者からの末梢血造血幹細胞採取についての開始判断の検討結果を踏まえつつ、非血縁者間同種末梢血幹細胞移植の臨床研究を準備する。非血縁移植では組織適合性抗原の適合が必須であり、これら移植法における HLA ならびに新たに見出される組織適合性抗原の臨床的意義について検討し移植成績の向上を目指す。

#### E. 結論

非血縁移植にとりドナーと患者の HLA の適合が成績向上のために最も重要であり、さらに、新しい臨床的に意味のある組織適合性抗原が同定されつつある。ドナーの安全性の確保と採取体制の確立、組織適合性に基づいた臨床試験プロトコールの作成が今後実施予定の非血縁者間末梢血幹細胞移植の基盤整備にとり重要である。

#### F. 健康危険情報

同種末梢血幹細胞ドナーに関わる有害事象につき海外情報をも含めた文献的検討を行った結果、海外において少なくとも 8 例の死亡事例が存在することが明らかになった。いずれも、同種造血末梢血幹細胞ドナーは健康人でなければならないという原則を逸脱したものであった。わが国で行われた同種末梢血幹細胞移植のためのドナー登録では 2000 年 4 月から 2002 年 12 月までの間に登録された 2000 人以上のドナーで、採取後 1 年後に、急性骨髄性白血病を発症し死亡した 1 症例が報告された。末梢血幹細胞

採取と白血病発症の因果関係は現時点では明らかでない。今後、末梢血幹細胞採取ドナーフォローアップを確実にを行い、重篤な合併症の有無を慎重に検討する。日本骨髄バンクを介する非血縁者間骨髄移植においては、全身麻酔下での骨髄採取を受けるボランティアドナーの安全性確保が十分考慮され、定期的な安全基準の見直しやドナーのフォローアップ体制が整備されている。同種末梢血移植のための末梢血動員・採取を受ける健康人ドナーは比較的高容量の顆粒球増殖因子投与や大量の血液体外循環による成分採血が必要であり、安全確保のために日本造血細胞移植学会と輸血学会により示されているガイドラインを遵守する。ガイドラインは2003年中に改定され、よりドナー安全を重視したものとなる。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H, Juji T, Akaza T, Yamamoto K, Ishikawa Y, Kato S, Sao H, Sakamaki H, Kawa K, Hamajima N, Asano S, Kodera Y. The clinical significance of human leukocyte antigen (HLA) allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically HLA-A, HLA-B, and HLA-DR matched unrelated donors. *Blood*. 2002 Jun 1;99(11):4200-6.
2. Akatsuka Y, Kondo E, Taji H, Morishima Y, Yazaki M, Obata Y, Kodera Y, Riddell SR, Takahashi T. Targeted cloning of cytotoxic T cells specific for minor histocompatibility antigens restricted by HLA class I molecules of interest. *Transplantation*. 2002 Dec 27;74(12):1773-80.
3. Akatsuka Y, Goldberg TA, Kondo E, Martin EG, Obata Y, Morishima Y, Takahashi T, Hansen JA. Efficient cloning and expression of HLA class I cDNA in human B-lymphoblastoid cell lines. *Tissue Antigens*. 2002 Jun;59(6):502-11.
4. Kuzushima K, Hayashi N, Kudoh A, Akatsuka Y, Tsujimura K, Morishima Y, Tsurumi T. Tetramer-assisted identification and characterization of epitopes recognized by HLA A\*2402-restricted Epstein-Barr virus-specific CD8+ T cells. *Blood*. 2003 Feb 15;101(4):1460-8.
5. Kondo E, Topp MS, Kiem HP, Obata Y, Morishima Y, Kuzushima K, Tanimoto M, Harada M, Takahashi T, Akatsuka Y. Efficient generation of antigen-specific cytotoxic T cells using retrovirally transduced CD40-activated B cells. *J Immunol*. 2002 Aug 15;169(4):2164-71.
6. Kojima S, Matsuyama T, Kato S, Kigasawa H, Kobayashi R, Kikuta A, Sakamaki H, Ikuta K, Tsuchida M, Hoshi Y, Morishima Y, Kodera Y. Outcome of 154 patients with severe aplastic anemia who received transplants from unrelated donors: the Japan Marrow Donor Program. *Blood*. 2002 Aug 1;100(3):799-803.
7. Hamaguchi M, Yamada H, Gondo H, Takemoto Y, Morishima Y, Kodera Y. Retrospective study on the impact of hepatitis B and hepatitis C virus infection on hematopoietic stem cell transplantation in Japan. *Int J Hematol*. 2002 Apr;75(3):324-31.
8. Ishikawa Y, Kashiwase K, Akaza T, Morishima Y, Inoko H, Sasazuki T, Kodera Y, Juji T. Polymorphisms in TNFA and TNFR2 affect outcome of unrelated bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2002 Apr;29(7):569-75.
9. Nishimori M, Yamada Y, Hoshi K, Akiyama Y, Hoshi Y, Morishima Y, Tsuchida M, Fukuhara S, Kodera Y. Health-related quality of life of unrelated bone marrow donors in Japan. *Blood*. 2002 Mar 15;99(6):1995-2001.
10. Yamaguchi M, Seto M, Okamoto M, Ichinohasama R, Nakamura N, Yoshino T, Suzumiya J, Murase T, Miura I, Akasaka T, Tamaru J, Suzuki R, Kagami Y, Hirano M, Morishima Y, Ueda R, Shiku H, Nakamura S. De novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma: a clinicopathologic study of 109 patients. *Blood*. 2002 Feb 1;99(3):815-21.
11. Shimoda K, Tsutui H, Aoki K, Kato K, Matsuda T, Numata A, Takase K, Yamamoto T, Mukina H, Hoshino T, Asano Y, Gondo H, Okamura T, Okamura S, Nakayama K, Nakanishi K, Niho Y, Harada M. Partial impairment of IL-12 and IL-18 signaling in Tyk2-deficient mice. *Blood* 99:2094-2099, 2002
12. Yakushiji K, Gondo H, Kamezaki K, Shigematsu K, Hayashi S, Kuroiwa M, Taniguchi S, Ohono Y, Takase K, Numata A, Aoki K, Kato K, Nagafuji K, Shimoda K, Okamura T, Kinukawa N, Kasuga N, Sata M, Harada M. Monitoring of cytomegalovirus reactivation after allogeneic stem cell transplantation: comparison of an antigenemia assay and quantitative real-time polymerase chain reaction. *Bone Marrow Transplant* 29:599-606, 2002
13. Ota S, Ono T, Morita A, Uenaka A, Harada M, Nakayama E. Cellular processing of a multibranch lysine core with tumor antigen peptides and presentation of peptide epitopes recognized by cytotoxic T lymphocytes on antigen-presenting cells. *Cancer Res* 62:1471-1476, 2002
14. Numata A, Simoda K, Gondo H, Kato K,

Aoki K, Ito Y, Takase K, Asano Y, Okamura T, Niho Y, Harada M. Therapy-related chronic myelogenous leukaemia following autologous stem cell transplantation for Ewing's sarcoma. *Br J Haematol* 117:613-616, 2002

15. Nakashima H, Miyake K, Inoue Y, Shimizu S, Akahoshi M, Tanaka Y, Otsuka T, Harada M. Association between IL-4 genotype and IL-4 production in the Japanese population. *Genes and Immunity* 3:107-109, 2002

16. Okamoto K, Makino S, Yoshikawa Y, Takaki A, Nagatsuka Y, Ota M, Tamiya G, Kimura A, Bahram S, Inoko H. Identification of IkBL as the second Major Histocompatibility Complex-Linked susceptibility locus for rheumatoid arthritis. *Am J Hum Genet.* 72: 303-312, 2003.

17. Suemizi H, Radosavljevic M, Kimura M, Sadahiro S, Yoshimura S, Bahrama S, Inoko H. A basolateral sorting motif in the MICA cytoplasmic tail. *Proc Natl Acad Sci USA* 99 : 2971-2976, 2002.

18. Kulski JK, Dunn DS, Hui J, Martinez P, Romphruk AV, Leelayuwat C, Tay GK, Oka A, Inoko H. Alu polymorphism within the MICB gene and association with HLA-B alleles. *Immunogenetics* 53 :975-979, 2002.

19. Abi-Rached L, Gilles A, Shiina T, Pontarotti P, Inoko H. Evidence of en bloc duplication in vertebrate genomes. *Nature Genetics* 31 : 100-105, 2002.

20. Moribe T, Hirai H, Kimura M, Inagawa A, Nakatani S, Kaneshige T, Inoko H. Rapid and simultaneous HLA class I (-A, -B and -C loci) DNA typing using the microtitre plate-reverse hybridization assay (MRHA). *European Journal of Immunogenetics* 29: 191-204, 2002.

21. Naruse TK, Kawata H, Inoko H, Isshiki K, Yamano K, Hino M, Tatsumi N. The HLA-DOB gene displays limited polymorphism with only one amino acid substitution. *Tissue Antigens* 59: 512-519, 2002.

22. Kulski JK, Shiina T, Anzai T, Kohara S, Inoko H. Comparative genomic analysis of the MHC: The evolution of class I duplication

blocks, diversity and complexity from shark to man. *Immunology Reviews* 190: 95-122, 2002.

23. Kozuka T, Ikeda K, Teshima T, Kojima K, Matsuo K, Bessho A, Sunami K, Hiramatsu Y, Maeda Y, Noguchi T, Yamamoto K, Fujii N, Imai T, Takenaka K, Shinagawa K, Ishimaru F, Niiya K, Koide N, Tanimoto M, Harada M. Predictive value of circulating immature cell counts in peripheral blood for timing of peripheral blood progenitor cell collection after G-CSF plus chemotherapy-induced mobilization. *Transfusion* 42, 1514-22, 2002

## 2. 学会発表

1. Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H, Ishikawa Y et al. The clinical significance of HLA allele compatibility in patients transplanted with marrow from a serologically HLA-A, B and DR matched unrelated donor. The 13<sup>th</sup> International Congress of Histocompatibility and Immunogenetics. May 2002 USA.

2. Inoko H: HLA to human genome diversities: Genomewide scan of disease genes by association analysis using microsatellites, Plenary session in the 16th European Histocompatibility Conference EFI Meeting, 2002

3. Tanimoto M, Harada M, et al. Comparison of chronic graft-versus-host disease (GVHD) following allogeneic bone marrow (BMT) vs peripheral blood stem cell transplantation (PBSCT) in Japanese patients. American Society of Hematology, November 2002, USA.

4. 森島泰雄。シンポジウム。移植医療と HLA : 造血幹細胞移植。第 11 回日本組織適合性学会大会 平成 14 年 9 月埼玉

5. 森島泰雄。ワークショップ。白血病治療の新展開 : 造血幹細胞移植 -HLA のバリアーの克服と細胞治療に向けて-。第 40 回日本癌治療学会総会 平成 14 年 10 月東京

G. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む。)  
なし

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
分担研究報告書

非血縁者間移植における HLA クラス I 遺伝子と移植免疫反応との関連  
—GVHD 予防法別の解析—

分担研究者 森島泰雄 愛知県がんセンター  
研究協力者 尾山 卓 愛知県がんセンター

研究要旨：日本骨髄バンクを介した非血縁者間移植においてドナーと患者間の HLA のクラス I 抗原の違いが移植成績に大きな影響を与えていることが本研究班での解析で明らかになってきた。どの HLA クラス I 抗原が関連しているかを明確にするために、GVHD 予防法別に移植免疫反応を解析した。新しい GVHD 予防法であるタクロリムス+メトトレキセート法（F+M 法）では従来からのシクロスポリン+メトトレキセート法（C+M 法）とは異なる HLA のバリアーが存在する可能性が示唆された。すなわち、急性 GVHD の中等症以上の頻度は HLA の適合度と良く相関し、このため生存に影響している可能性が示唆された。現在、実施されることが多くなった F+M 法での HLA のバリアーを明らかにすることが臨床成績の向上のために必要であり、今後症例数を増しての解析が必要である。

**A. 研究目的**

どの HLA クラス I 抗原が移植免疫反応に関連しており、生存に影響しているかを明確にする。

**B. 研究方法**

HLA-A, B, C, DR, DQ, E の DNA タイピングをドナーと患者の検体を用いて実施した。2097 症例の中から GVHD 予防法としてシクロスポリン（C）+メトトレキセート（M）：C+M 法ならびにタクロリムス（F）+M 法が実施された症例を抽出し、その重症 GVHD ならびに生存への影響につき解析した。さらに、JMDP にてタイピングされ HLA-A, B, DR DNA 型が判明している症例 3000 例につい

ても同様に解析した。

**C. 研究結果**

1) HLA 適合度：HLA-A、B、DR 血清型適合移植において HLA-A B C DRB1 DQB1 の遺伝子型不適合症例が 56%存在することが判明した。HLA-A では 20.4%が、B では 11.2%、HLA-C では 35.3%が DNA 型不適合であった。HLA1 座不適合は 8.8~10.8%に、2 座不適合は 3.5~8.8%に、3 座不適合は 4.4%に認められた。

2) GVHD 予防 C+M 実施 1409 症例の解析（表 1）：重症急性 GVHD の頻度は HLA-DNA 型完全適合症例では 12.3%であったが、HLA-A/B の DNA 型の不適合では 26.8%と著しく増加



していた。HLA-C の不適合は C 単独では 18.9%と A B ほどではないが有意に増加していた。さらに HLA-C には C の不適合に他の抗原の不適合、A/B か DR/DQ が加わるとそれぞれ 39.1%、31.0%と付加的に重症 GVHD の頻度が増加していた。HLA-DR/DQ の DNA 型の不適合では 13.4%と有意の増加は見られなかった。HLA 3 抗原座以上の不適合では 42.6%と高率であった。

移植後の生存率は HLA-A B の DNA 型単独不適合例は HLA 適合症例に比べて明らかに移植後の生存率は低下している。この主な原因は高率な重症 GVHD による移植関連死の増加による。これに反し、HLA-C および HLA-DRB1 の単独不適合は生存に影響を及ぼしていなかった。

3) GVHD 予防 F+M 実施 314 症例の解析 (表 1): 重症急性 GVHD の頻度は HLA-DNA 型完全適合症例では 9.9%と C+M 法よりもやや低率であったが、HLA-A/B の DNA 型の不適合では 20.0%と有意差は  $p=0.175$  であったが、増加する傾向が認められた。他の HLA 抗原座の違い、複数抗原座の違いでは明らかな重症 GVHD の増加傾向は認められなかったが、症例数が少なく、今後症例数を増しての解析が必要である。

4) HLA-A, B, DR DNA 型が判明しており、GVHD 予防 F+M を実施した 591 症例の解析: 重症急性 GVHD の頻度は HLA-DNA 型別の解析では明らかな有意差は認められなかったが、2 度以上の中等症以上の急性 GVHD について解析すると、A/B、DR、A/B・DR 不適合症例の GVHD 発症頻度は有意に高かった (表 2)。

5) 上記症例の移植後の生存率を F+M 法実施群で解析すると、白血病スタンダードリ

スク症例では A/B あるいは DR 不適合症例で生存率の低下が認められた (表 3)。

#### D. 考察

これまでの本研究班での解析結果は、GVHD 予防法として C+M 法を用いた解析結果を反映していることが多数例の解析から明らかになった。

新しい GVHD 予防法である F+M 法では C+M 法とは異なる HLA のバリアーが存在する可能性が示唆された。すなわち、急性 GVHD の中等症以上の頻度は HLA の適合度と良く相関し、このため生存に影響している可能性が示唆された。この点で、C+M 法における重症 GVHD との良好な相関とは異なっていた。

現在、実施されることが多くなった F+M 法での HLA のバリアーを明らかにすることが臨床成績の向上のために必要であり、今後症例数を増しての解析が必要である。

#### E. 結論

F+M 法での HLA のバリアーは C+M 法とは異なり、今後、この点を明らかにすることにより非血縁者間移植の成績は向上するものと思われる。今後症例数を増しての解析が必要である。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H, Juji T, Akaza T, Yamamoto K, Ishikawa Y, Kato S, Sao H, Sakamaki H, Kawa K, Hamajima N, Asano S, Kodera Y. The clinical significance of human leukocyte

antigen (HLA) allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically HLA-A, HLA-B, and HLA-DR matched unrelated donors. *Blood*. 2002 Jun 1;99(11):4200-6.

2. Akatsuka Y, Kondo E, Taji H, Morishima Y, Yazaki M, Obata Y, Kodera Y, Riddell SR, Takahashi T. Targeted cloning of cytotoxic T cells specific for minor histocompatibility antigens restricted by HLA class I molecules of interest. *Transplantation*. 2002 Dec 27;74(12):1773-80.

3. Akatsuka Y, Goldberg TA, Kondo E, Martin EG, Obata Y, Morishima Y, Takahashi T, Hansen JA. Efficient cloning and expression of HLA class I cDNA in human B-lymphoblastoid cell lines. *Tissue Antigens*. 2002 Jun;59(6):502-11.

4. Kuzushima K, Hayashi N, Kudoh A, Akatsuka Y, Tsujimura K, Morishima Y, Tsurumi T. Tetramer-assisted identification and characterization of epitopes recognized by HLA A\*2402-restricted Epstein-Barr virus-specific CD8+ T cells. *Blood*. 2003 Feb 15;101(4):1460-8.

5. Kondo E, Topp MS, Kiem HP, Obata Y, Morishima Y, Kuzushima K, Tanimoto M, Harada M, Takahashi T, Akatsuka Y. Efficient generation of antigen-specific cytotoxic T cells using retrovirally transduced CD40-activated B cells. *J Immunol*. 2002 Aug 15;169(4):2164-71.

6. Kojima S, Matsuyama T, Kato S, Kigasawa H, Kobayashi R, Kikuta A, Sakamaki H, Ikuta K, Tsuchida M, Hoshi Y, Morishima Y, Kodera Y. Outcome of 154 patients with severe aplastic anemia who received transplants from unrelated donors: the Japan Marrow Donor Program. *Blood*. 2002 Aug 1;100(3):799-803.

7. Hamaguchi M, Yamada H, Gondo H, Takemoto Y, Morishima Y, Kodera Y. Retrospective study on the impact of hepatitis B and hepatitis C virus infection on hematopoietic stem cell transplantation

in Japan. *Int J Hematol*. 2002 Apr;75(3):324-31.

8. Ishikawa Y, Kashiwase K, Akaza T, Morishima Y, Inoko H, Sasazuki T, Kodera Y, Juji T. Polymorphisms in TNFA and TNFR2 affect outcome of unrelated bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2002 Apr;29(7):569-75.

9. Nishimori M, Yamada Y, Hoshi K, Akiyama Y, Hoshi Y, Morishima Y, Tsuchida M, Fukuhara S, Kodera Y. Health-related quality of life of unrelated bone marrow donors in Japan. *Blood*. 2002 Mar 15;99(6):1995-2001.

10. Yamaguchi M, Seto M, Okamoto M, Ichinohasama R, Nakamura N, Yoshino T, Suzumiya J, Murase T, Miura I, Akasaka T, Tamaru J, Suzuki R, Kagami Y, Hirano M, Morishima Y, Ueda R, Shiku H, Nakamura S. De novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma: a clinicopathologic study of 109 patients. *Blood*. 2002 Feb 1;99(3):815-21.

## 2. 学会発表

1. Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H, Ishikawa Y et al. The clinical significance of HLA allele compatibility in patients transplanted with marrow from a serologically HLA-A, B and DR matched unrelated donor. The 13<sup>th</sup> International Congress of Histocompatibility and Immunogenetics. May 2002 Seattle USA.

2. 森島泰雄。シンポジウム。移植医療とHLA：造血幹細胞移植。第11回日本組織適合性学会大会 平成14年9月埼玉

3. 森島泰雄。ワークショップ。白血病治療の新展開：造血幹細胞移植・HLAのバリアーの克服と細胞治療に向けて。第40回日本癌治療学会総会 平成14年10月東京

## H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. GVHD 予防法別重症 GVHD の頻度 (%)

不適合抗原座	CSP+MTX (n:1409)		FK+MTX (n:314)	
全適合	12.3 (618)	-	9.9 (124)	-
A/B	26.8 ( 97)	<0.0001	20.0 ( 20)	0.175
C	18.9 (174)	0.024	6.7 ( 30)	0.575
DR/DQ	13.4 (198)	0.630	13.1 ( 55)	0.500
A/B・C	39.1 (108)	<0.0001	0 ( 19)	0.173
A/B・DR/DQ	17.6 ( 47)	0.239	18.2 ( 11)	0.389
C・DR/DQ	31.0 (104)	<0.0001	13.5 ( 39)	0.553
A/B・C・DR/DQ	42.6 ( 63)	<0.0001	12.5 ( 16)	0.710

表 2. GVHD 予防法別重症 GVHD の頻度 (%)

不適合抗原座	CSP+MTX(n:1642)		FK+MTX(n:591)	
<b>GVHD III-IV(%)</b>				
全適合	14.1 (1071)	-	13.3 (347)	-
A/B	32.7 (265)	<0.0001	16.4 ( 86)	0.450
DR	21.2 (216)	0.004	17.7 (133)	0.205
A/B・DR	34.8 ( 90)	<0.0001	16.0 ( 25)	0.688
<b>GVHD II-IV(%)</b>				
全適合	38.1 (1071)	-	30.9 (347)	-
A/B	55.4 (265)	<0.0001	45.4 ( 86)	0.013
DR	48.7 (216)	0.0009	44.8 (133)	0.002
A/B・DR	50.3 ( 90)	<0.0162	64.0 ( 25)	<0.001

表 3. 白血病リスク別生存率 (%)

不適合抗原座	CSP+MTX (n) p		FK+MTX (n) p	
<b>白血病スタンダードリスク 移植後 3 年生存率(%)</b>				
全適合	66.8 (450)	-	66.6 (151)	-
A/B	52.1 ( 88)	0.004	42.2 ( 23)	0.008
DR	59.8 ( 84)	0.156	46.5 ( 54)	0.004
A/B・DR	38.6 ( 22)	0.009	64.8 ( 9)	0.429
<b>白血病ハイリスク 移植後 3 年生存率(%)</b>				
全適合	39.4 (412)	-	20.2 (127)	-
A/B	24.5 (124)	<0.0001	32.7 ( 42)	0.573
DR	29.1 (101)	0.025	30.4 ( 66)	0.894
A/B・DR	27.6 ( 55)	0.004	22.2 ( 18)	-

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
分担研究報告書

HLA-E の多型が非血縁者間移植に及ぼす影響

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）

研究協力者 赤塚美樹（愛知県がんセンター研究所腫瘍免疫学部）

研究要旨

HLA-E は HLA クラス Ib に属する主要組織適合抗原で、NK 細胞受容体のリガンドであることから HLA 不適合移植における臨床経過への影響が考えられたが、これまで移植における HLA-E の役割についての報告はない。そこで日本骨髄バンク（JMDP）を介した非血縁者間骨髄移植を受けた 867 症例において、移植後の GVHD 発症率等へ HLA-E の多型が及ぼす影響を検討した。従来の GVHD・HVG 方向への適合性に加え、患者またはドナーの HLA-E アロタイプの観点から検討を行なったが、重症急性 GVHD 発症率、拒絶率、再発率、および生存率に対して HLA-E の多型は有意な影響を及ぼさなかった。このことは、HLA-E の多型は非血縁者間骨髄移植の予後因子ではなく、ドナーの選択にあたり、ドナー患者間の適合性のタイピングを行なう必要がないことを示唆するものである。

A. 研究目的

非血縁者間骨髄移植は、同胞あるいはその他の血縁者に造血細胞提供者が見いだせない場合の、造血器疾患に対する有用な治療法である。しかし、ドナーと患者間の主要適合抗原の遺伝子型の違いが移植成績を大きく左右することが報告された。HLA-E は非血縁者間骨髄移植においてしばしば不適合が認められ、また NK 細胞や一部の T 細胞が持つ NK 細胞受容体のリガンドであることから、移植後の成績に関与している可能性がある。そこで日本骨髄バンク（JMDP）を介して行なわれた非血縁者間骨髄移植症例を対象に HLA-E の追加タイピングを行ない、移植後の成績に及ぼす影響につき解析を行なったので報告する。

B. 研究方法

1993 年 1 月より 1998 年 4 月までの間に 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 1090 症例のうち、さらに原疾患が造血器腫瘍であり、サイクロスポリン A が移植後の免疫抑制剤として投与された 867 例を対象とした。なお、本研究は愛知県がんセンターの遺伝子倫理審査委員会の承認（許可番号：13 愛がん第 11-4 号）を受け、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 13 年 3 月 29 日 文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号）を遵守して施行されたものである。症例の内訳を表 1 に示した。HLA-E のタイピングには、初期の 430 ペアは PCR-SSP 法を、残りの 660 ペアは

TaqMan PCR 法を用いた。

### C. 研究結果

HLA-E の GVHD 方向の適合度が 3 度以上の重症急性 GVHD の発症に与える影響を、HLA-A, B, C 完全適合群と不適合群の 2 群に分けて解析した。NK 細胞が活性化が起らないと考えられる HLA-A, B, C DNA 型適合群内においても HLA-E の GVH 方向不適合は GVHD の発症に影響を与えなかった。また移植骨髄の拒絶率、白血病の再発にも影響はなかった (表 2)。

HLA-E のアロタイプは HLA-E の発現量や NK 細胞抑制効果に影響を与えるとの *in vitro* の報告があるため、患者およびドナーの各々についてアロタイプと 3 度以上の重症急性 GVHD の発症に与える影響等を、全症例および HLA-A, B, C 不適合群だけを対象にして解析した結果を示す。NK 細胞が活性化が起こりうると考えられる HLA-A, B, C DNA 型不適合群を対象とした場合、NK 細胞の抑制効果が強いとされている HLA-E のアロタイプ (107 番アミノ酸がグリシン (G) の場合) を患者がホモで有する場合でも、GVHD の発症は減少しなかった。また白血病の再発に対する HLA-E のアロタイプの影響に差は見られなかった (表 3)。また表には示さないが、いずれの解析方法でも生存率、無病生存率に対する影響は認められなかった。

HLA-E 特異的モノクローナル抗体 (クローン 3D12、フレッドハッチンソン癌研究所の Geraghty 博士より分与) を用いて、107 アミノ酸がグリシンあるいはアルギニン (R) のホモ又は、ヘテロの場合の細胞表面上の HLA-E 分子の発現を比較したが、発現量においては差は認められなかった (図 1)。

### D. 考察

HLA-E は他の HLA クラス I 分子のように全ての細胞上に発現され、NK 細胞や一部の T 細胞に発現されている CD94/NKG2 受容体のリガンドである。HLA-E 上に提示されるペプチドは大部分が他の HLA クラス I 抗原蛋白質のリーダー配列であるが、それ以外のペプチドも最近報告され、結合するペプチドにより NK 細胞や T 細胞の細胞傷害活性を抑制したり、活性化することが知られている。107 番アミノ酸にのみグリシン又はアルギニンの多型が知られておりアリルは 2 種類しかないが、アルギニン多型をもつ HLA-E の細胞表面上の発現が低いとの報告がトランスフェクタントを用いた実験で示されており、従来の GVHD または HVG 方向の解析に加え、患者もしくはドナーの HLA-E 多型単独の影響も検討した。しかしながら、何れの方法でも有意な差は認められなかった。フローサイトメトリーを用いた解析では、何れのアリルの場合でも HLA-E の発現量に差はなく、今回の解析結果を裏付けるものとなったが、多型部位が NK 細胞受容体とどのような関係を持つかはまだ十分に解析されていない。しかし、少なくとも非血縁者間同種骨髄移植における HLA-E の多型は移植成績に悪影響を及ぼす可能性はほぼなく、今後 JMDP でドナーを選択する場合に HLA-E 型判定を行なう必要はないと考えられる。

### E. 結論

非血縁者間骨髄移植における HLA-E の多型の意義を検討したが、GVHD、拒絶、再発、生存率何れにも有意な影響を与えず、ドナー選択の必須条件ではないことが示唆された。

### F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Kondo E, Topp MS, Kiem HP, Obata Y, Morishima Y, Kuzushima K, Tanimoto M, Harada M, Takahashi T, Akatsuka Y. Efficient generation of antigen-specific cytotoxic T cells using retrovirally transduced CD40-activated B cells. *J. Immunol.* 2002;169:2164-71.
- 2) Kuzushima K, Hayashi N, Kudoh A, Akatsuka Y, Tsujimura K, Morishima Y, Tsurumi T. Tetramer-assisted identification and characterization of epitopes recognized by HLA A\*2402-restricted Epstein-Barr virus-specific CD8+ T cells. *Blood.* 2003;101:1460-8.
- 3) Akatsuka Y, Goldberg TA, Kondo E, Martin EG, Obata Y, Morishima Y, Takahashi T, Hansen JA. Efficient cloning and expression of HLA class I cDNA in human B-lymphoblastoid cell lines. *Tissue Antigens.* 2002;59:502-11.
- 4) Akatsuka Y, Kondo E, Taji H, Morishima Y, Yazaki M, Obata Y, Kodera Y, Riddell SR, Takahashi T. Targeted cloning of cytotoxic T cells specific for minor histocompatibility antigens restricted by HLA class I molecules of interest. *Transplantation.* 2002;74:1773-80.
- 5) Miyazaki M, Akatsuka Y, Nishida T, Fujii N, Hiraki A, Ikeda K, Tsujimura K, Kuzushima K, Morishima Y, Sato S, Ueda R, Takahashi T. Potential limitations in using minor histocompatibility antigen-specific cytotoxic T cells for targeting solid tumor cells. *Clin. Immunol.* (in press)

### 2. 学会発表

- 1) 赤塚美樹、近藤英生、田地浩史、鬼塚真仁、寺倉精太郎、森島泰雄、小寺良尚、高橋利忠：血液系細胞に特異的に発現するマイ

ナー組織適合性抗原を認識する、HLA-A\*2402 拘束性 CTL クロンの樹立とその応用性：第 50 回日本輸血学会総会 東京 2002 年 5 月

- 2) Akatsuka Y, Nishida T, Kondo E, Taji H, Iida M, Yazaki M, Kodera Y, Morishima Y, Takahashi T. : The same chromosomal region encodes two minor histocompatibility antigens presented on distinct HLA alleles：第 2 回国際マイナー組織適合抗原シンポジウム 米国シアトル 2002 年 5 月
- 3) 赤塚美樹、近藤英生、辻村邦夫、葛島清隆、高橋利忠：抗原特異的 T 細胞からの IFN- $\gamma$  の放出を利用した、HLA-A24 拘束性のマイナー組織適合抗原特異的 CTL クロンの樹立：第 6 回基盤的癌免疫研究会総会 久留米 2001 年 7 月
- 4) 赤塚美樹、西田徹也、近藤英生、田地浩史、鬼塚真人、飯田浩充、森島泰雄、小寺良尚、高橋利忠：IFN- $\gamma$  の放出を利用したマイナー抗原特異的 CTL クロンの樹立と、リンケージ解析による抗原遺伝子座の同定：第 64 回日本血液学会総会ワークショップ 横浜 2002 年 9 月
- 5) 赤塚美樹、近藤英生、田地浩史、辻村邦夫、森島泰雄、小寺良尚、葛島清隆、高橋利忠：マイナー組織適合抗原特異的 CTL クロンの樹立と、リンケージ解析を用いた抗原遺伝子座の同定：第 61 回日本癌学会 東京 2002 年 9 月
- 6) 西田徹也、赤塚美樹、近藤英生、宮崎幹規、田地浩史、辻村邦夫、森島泰雄、小寺良尚、葛島清隆、高橋利忠：マイナー組織適合抗原特異的 CTL クロンの樹立とリンケージ解析による抗原遺伝子座同定：第 25 回日本造血肝細胞移植学会総会 大阪 2002 年 10 月
- 7) 宮崎幹規、赤塚美樹、西田徹也、藤井伸治、

池田和真、葛島清隆、高橋利忠：マイナー組織適合抗原 HA-1 陽性固形腫瘍細胞株に対する、特異的 CTL による細胞傷害性の検討：第 25 回日本造血肝細胞移植学会総会 大阪 2002 年 10 月

- 8) Akatsuka Y. : Identification of a novel HLA-A\*2402 restricted minor histocompatibility

antigen and its potential therapeutic use. : 第 9 回愛知県がんセンター国際シンポジウム 名古屋 2002 年 2 月

- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

## 表1 解析症例

---

■ HLA-A, B, C, DR, DQ, E DNA 型タイピング実施	1090例
■ 造血器悪性腫瘍に対し、CyA をGVHD予防に 用いた非血縁者間初回骨髄移植症例	867例
■ 移植日: 1993年1月～1998年4月	
■ 年齢: 中央値 24歳 (1-51歳)	
■ 疾患: 急性骨髄性白血病 212例      骨髄異形成症候群 69例 急性リンパ性白血病 262例      悪性リンパ腫 29例 慢性骨髄性白血病 295例	
■ Standard risk: 急性白血病 1st CR + 慢性骨髄性白血病 1st CP	365例
High risk: standard riskより病期の進んだ白血病	404例
■ 前治療: TBI 有り 711例      TBI 無し 156例	

---



表 2 HLA-Eの適合性から見た解析

**aGVHD  $\geq$  grade III (HLA-EはGVH方向のみ解析)**

HLA-A,B,C match	compatible	49/375 (13.1%)	p=0.950
	incompatible	10/75 (13.3%)	
HLA-A,B,C mismatch	compatible	84/310 (27.1%)	p=0.437
	incompatible	32/103 (31.1%)	

**Graft failure**

GVH direction	compatible	24/668 (3.6%)	p=0.182
	incompatible	10/171 (5.8%)	
HVG direction	compatible	27/664 (4.1%)	p=0.968
	incompatible	7/175 (4.0%)	

**Leukemia relapse**

GVH direction	compatible	134/686 (19.5%)	p=0.765
	incompatible	33/178 (18.5%)	
HVG direction	compatible	127/682 (18.6%)	p=0.308
	incompatible	40/182 (22.0%)	

表3 患者またはドナーのHLA-Eのアロタイプから見た解析

**aGVHD $\geq$ grade III (全症例)**

	HLA-E allotype	Incidence	
Patient	G / G	78/400 (19.5 %)	p=0.336
	G / R	80/358 (22.3%)	
	A / R	17/105 (16.2%)	
Donor	G / G	83/392 (21.2 %)	p=0.612
	G / R	68/363 (18.7 %)	
	R / R	24/108 (22.2 %)	

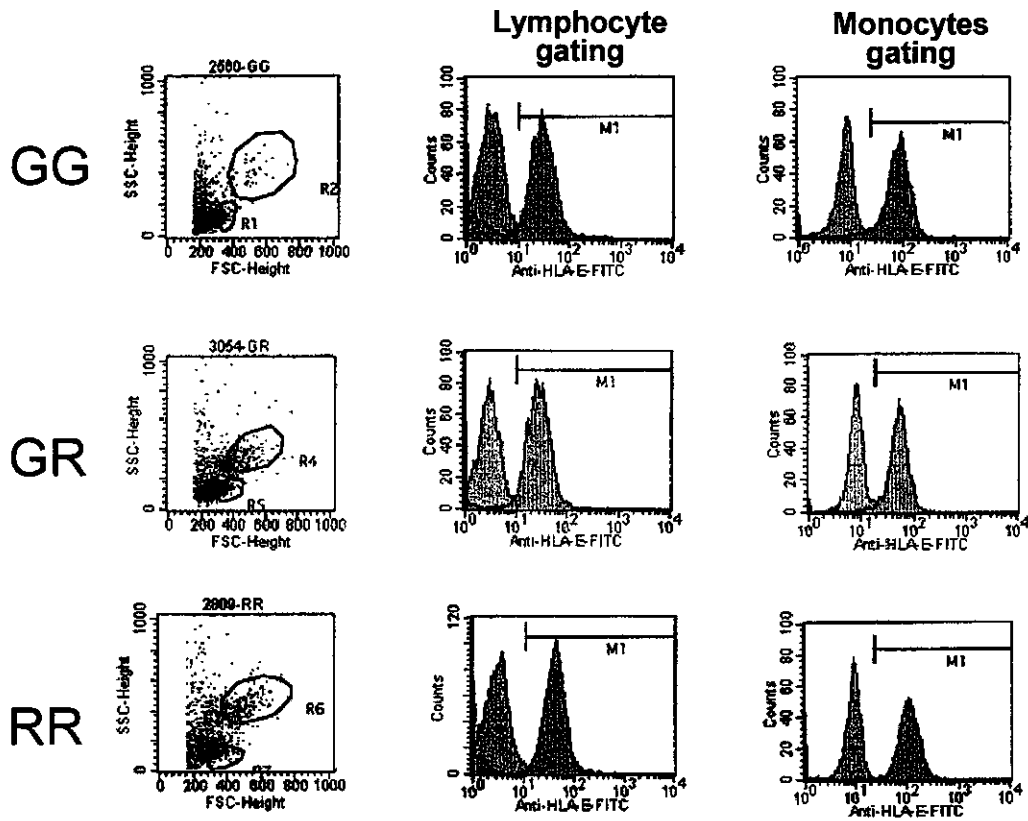
**aGVHD $\geq$ grade III (HLA-A, B, C 不適合例)**

	HLA-E allotype	Incidence	
Patient	G / G	46/178 (25.8 %)	p=0.377
	G / R or R / R	70/235 (29.8%)	
Donor	G / G	54/168 (32.1 %)	p=0.129
	G / R or R / R	62/245 (25.3 %)	

**再発率**

	HLA-E allotype	Incidence	
Patient	G / G	82/401 (20.4 %)	p=0.529
	G / R	63/359 (17.5%)	
	R / R	22/104 (21.2%)	
Donor	G / G	77/393 (19.6 %)	p=0.969
	G / R	70/363 (19.3 %)	
	R / R	20/108 (18.5 %)	

図1 HLA-E アロタイプ別（グリシンのホモ、アルギニンのホモ、両者のヘテロ）の HLA-E のリンパ球及び単球上での発現量。



厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）  
分担研究報告書

HLA クラス I アリルの多型性に関する研究

主任研究者 森島 泰雄 愛知がんセンター  
研究協力者 柏瀬 貢一 東京都赤十字血液センター

研究要旨

非血縁者間骨髄移植において、クラス I の A2、A26、B62、B75、B39 および B61 以外の抗原について、ドナーとレシピエント間のアリル（4 桁）レベルの不一致例について解析を行った。その結果、2,143 組の非血縁者間骨髄移植例において A3、B13、B17、B27、B44、B55 および B56 のうち、B17 を除くすべての抗原に多型が認められ、アリルレベルのクラス I 不一致例が 11 組存在した。

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（特に HLA-A, B）適合度が移植の予後と密接に関連することが明らかにされている。

非血縁者間骨髄移植が実施された初期 440 例のクラス I 抗原については、HLA-A、-B、-C 座すべてについてアリルレベルの DNA タイピングを行い、HLA の適合度と移植成績との関連性を解析した。しかし、それ以降に行われた移植例のクラス I 抗原については、一部の抗原についてのみタイピングを行ってきた。今回、それ以外のクラス I 抗原の多型について調査し、一部においてはアリルレベルの DNA タイピングを行い、ドナーとレシピエント間のアリルレベルの不一致例について解析を行った。

B：研究方法  
対象

平成 9 年から平成 14 年までに当研究班の対象となった非血縁者間骨髄移植例 2,143 組について解析を行った。

方法

1) 多型調査

今までに報告されている“日本人におけるクラス I アリルの頻度”を表 1-3 に示した。非血縁者間骨髄移植が実施された初期 440 例の DNA タイピング結果についても表に加え、さらに各アリル頻度の平均を求めた。また、多型が存在する抗原については、抗原内で頻度の高いアリルと低いアリルとの比率を求めた。

2) DNA タイピング

1) により多型の存在する抗原において求めた比率が低かった抗原については、ハプロタイプおよび血清学的サブタイプからアリルの推定を行い、ハプロタイプの当てはまらないものについては、アリルレベルの DNA タイピングを行った（表 4）。