

C: 研究結果

1) 多型調査

今までに報告された日本人におけるクラス I アリルおよび非血縁者間骨髄移植が実施された初期 440 例の DNA タイピング結果により、A 座では A3、A11 および A24、B 座は B13、B17、B27、B44、B55、および B56 について抗原内に多型が存在した。さらに、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ところ、A11 (80:1) および A24 (1,332:1) において高い比率が認められた (表 1-3)。

2) DNA タイピング

1) の結果より、A11 および A24 はドナーとレシピエント間の不一致になる確立が低いと考えられるため、今回は DNA タイピングを実施しなかった。DNA タイピングを行った A3、B13、B17、B27、B44、B55 および B56 の内、B17 を除くすべての抗原に多型が存在した (表 5)。また、ドナーとレシピエント間のアリルレベルの不一致例が A3、B27、B44 および B55 に認められた (表 6)。

D: 考察

A3、B27、B44 および B55 において 11 組のクラス I アリルレベルの不一致例が存在した。A3 の不一致例は 16 組中 2 組 (12.5%)、B55 は 77 組中 4 組 (5.19%) であった。A3 については A 座が B 座および DR 座と離れているため、ドナーかレシピエントの一方で遺伝子組換えが起こり、不一致になったと考えられた。また、B55 については他の抗原に比べて連鎖不平衡の強いハプロタイプが存在しないことから、不一致の割合が高かったと

思われた。今回、多型がありながら DNA タイピングを実施しなかった A11 および A24 についてはアリルレベルでドナーとレシピエント間が不一致になる組み合わせは最大で 11.2 組 (それぞれ 8.5 組、2.7 組) になると推定された (計算方法など詳細は省略)。

現在、非血縁者間骨髄移植のクラス I 確認検査については、一部の抗原のみ DNA タイピングが実施されている。今回の解析から B55 などに多型が存在し、ドナーとレシピエント間の不一致例が認められた。骨髄移植において HLA の適合度を高めることは移植成績の向上につながることから、高精度でより広範囲にタイピング法が可能な SBT 法などにより確認検査を行うことが望まれる。

E. 健康危険情報

特になし

F. 文献

- 1) Tokunaga K, Ishikawa Y, Ogawa A, et al. Sequence-based association analysis of HLA class I and II alleles in Japanese supports conservation of common haplotypes. *Immunogenetics*; 46, 199-205, 1997.
- 2) Saito S, Ota S, Yamada E, et al. Allele frequencies and haplotypic associations defined by allelic DNA typing at HLA class I and class II loci in the Japanese population. *Tissue Antigens*; 56, 522-529, 2000.
- 3) Tanaka H, Akaza T, Juji T. Report of

the Japanese central bone marrow data center. Clinical Transplants; 139-144, 1996.

- 4) Nakajima F. Nakamura J. Yokota T. Analysis of HLA haplotypes in Japanese, using high resolution allele typing. MHC; Vol.8, 1-32, 2001.

F. 知的所有権の出願・取得状況
なし

表1 HLA-A Locusのアリル頻度

抗原	アリル	笹月班	徳永	斉藤	田中	中島	平均	比率
	N=	892	117	371	493	523	2,396	
A1	A*0101	0.48	1.8	0.9	0.2	0.62	0.58	
	A*0201		10.6	11.5	10.9	10.71		
	A*0206		8.4	7.7	10.4	8.99		
A2	A*0207		4.0	2.2	3.4	2.87		
	A*0210		0.0	0.7	0.1	0.76		
	A*0301	0.22	0.0	0.4	0.8	0.59	0.44	22:1
	A*0302	0.00	0.0	0.1	0.0	0.00	0.02	
A11	A*1101	6.67	11.1	8.2	8.1	9.27	7.98	80:1
	A*1102	0.17	0.0	0.1	0.1	0.00	0.10	
A24	A*2402	45.46	32.7	37.9	35.6	37.79	39.96	1332:1
	A*2404	0.05	0.0	0.1	0.0	0.00	0.03	
	A*2601		6.2	8.1	9.8	11.28		
	A*2602		1.3	2.3	2.2	0.00		
A26	A*2603		1.3	2.4	2.1	1.91		
	A*2605		0.0	0.1	0.0	0.00		
A30	A*3001	0.00	0.4	0.1	0.3	0.21	0.14	
A31	A*3101	6.78	9.3	7.1	7.7	8.86	7.60	
A33	A*3303	8.02	12.8	9.7	7.9	7.48	8.37	

既にタイピングが行われている抗原は網掛け表示した

表2 HLA-B Locusのアリル頻度-①

抗原	アリル	笹月班	徳永	斉藤	田中	中島	平均	比率
B7	B*0702	8.18	5.2	6.5		3.63	6.41	
B13	B*1301	1.01	1.3	1.5	0.9	1.91	1.27	6:1
	B*1302	0.00	0.4	0.3	0.1	0.57	0.21	
B62	B*1501		6.5	8.7	7.2			
	B*1507		0.0	0.7	0.7			
B75	B*1502		0.0	0.1		0.00		
	B*1511		0.4	0.4		0.96		
B70(71)	B*1518	0.62	1.7	1.5		1.72	1.16	
B27	B*2704	0.00	0.0	0.3		0.38	0.3	3:1
	B*2705	0.00	0.0	0.1			0.1	
B35	B*3501	7.62	7.8	7.6		8.80	7.95	
B37	B*3701	0.45	1.3	1.3		0.76	0.75	
B38	B*3802	0.00	0.4	0.1		0.00	0.04	
B39	B*3901		3.5	4.4	4.0	4.02		
	B*3902		0.9	0.5	0.2	0.38		
	B*3904		0.0	0.1	0.2	0.19		
B60	B*4001	4.43	6.1	4.2		5.35	4.74	
B61	B*4002		6.1	8.6	8.2	8.41		
	B*4003		0.0	0.3	1.1	0.38		
	B*4006		4.8	3.9	5.3	4.78		

既にタイピングが行われている抗原は網掛け表示した

表3 HLA-B Locusのアリル頻度-②

抗原	アリル	笹月班	徳永	斉藤	田中	中島	平均	比率
B44	B*4002	0.39	0.0	0.4	0.4	0.38	0.50	16:1
	B*4003	8.13	12.2	8.7	6.9	6.69	7.85	
B46	B*4601	4.48	6.1	3.6		3.44	4.12	
B48	B*4801	1.68	4.3	3.0		5.54	3.16	
B51	B*5101	7.46	7.0	7.7		6.88	7.32	
B5102	B*5102	0.06	0.4	0.1		0.19	0.12	
B5103	B*5103	0.00	0.0	0.1		0.00	0.02	
B52	B*5201	18.72	10.4	10.7		10.9	14.50	
B54	B*5401	7.34	7.0	7.7		7.07	7.32	
B55	B*5502	1.40	2.2	1.9		2.87	1.95	12:1
	B*5504	0.00	0.0	0.3		0.38	0.16	
B56	B*5601	0.34	1.3	0.5		0.38	0.44	2.4:1
	B*5603	0.00	0.0	0.1		0.57	0.18	
B17	B*5701	0.00	0.0	0.0	0.1	0.00	0.02	15:1
	B*5801	0.22	0.0	0.4	0.6	0.19	0.30	
B59	B*5901	1.91	0.9	1.8		1.72	1.77	
B67	B*6701	0.78	1.7	1.1		0.76	0.89	

表4 アリルの推定(ハプロタイプおよびサブタイプより)

抗原	研究班 未検査数	アリル	ハプロタイプ又はサブタイプ	RD	該当数	タイピング数
A3	32	A*0301	A*0301-B*4402-DRB1*1301	1.0	22	10
		A*0302				
B13	85	B*1301	B*1301-DRB1*1202	0.8	69	8
		B*1302	B*1302-DRB1*0701	1.0	8	
B27	2	B*2704				2
		B*2705				
B44	677	B*4402	B*4402-DRB1*1301	1.0	32	69
		B*4403	B*4403-DRB1*1302	0.8	579	
B55	156	B*5502	B55.1		31	124
		B*5504	B55.2		1	
B56	63	B*5601				63
		B*5603				
B17	44	B*5701				5
		B*5801	B*5801-DRB1*1302	1.0	39	
合計	1059					282

RD: relative linkage disequilibrium

表5 DNAタイピング結果

抗原	アリル	n
A3	A*0301	26
	A*0302	6
B13	B*1301	77
	B*1302	10
B27	B*2704	1
	B*2705	1
B44	B*4402	34
	B*4403	644
B55	B*5502	149
	B*5504	4
B56	B*5601	55
	B*5602	8
B17	B*5701	0
	B*5801	44

表6 アリルレベルでの不一致の内訳

抗原	不一致アリル	n	%
A3	0301 vs 0302	2	12.50
B27	2704 vs 2705	1	100.00
B44	4402 vs 4403	4	1.19
B56	5502 vs 5504	4	5.19

非血縁者間の同種末梢血幹細胞移植実施のための基盤整備

分担研究者 原田実根 九州大学大学院医学研究院

研究要旨

研究要旨：非血縁者間同種末梢血幹細胞移植（PBSCT）実施のための基盤整備を目的として、同種骨髄移植（BMT）と同種 PBSCT の前方視的無作為比較試験（第Ⅲ相臨床試験）を計画した。対象は同種造血幹細胞移植が適応とされる成人白血病症例で、ドナーは HLA 一致同胞とし、主たる評価項目は time-to-event 解析による無病生存期間及び全生存期間、副次的評価項目は急性及び慢性 GVHD の頻度と重症度、移植後 100 日以内の全死亡および非再発期死亡とする。本研究によって、同種 BMT に比べて同種 PBSCT の有利な点、不利な点が明らかになり、非血縁ドナー同種 PBSCT 実施に向けた基盤データの集積が期待される。

九州大学大学院医学研究院病態修復内科
権藤久司 九州大学医学部第一内科講師
下田和哉 “ 助手
長藤宏司 “ 助手
宮本敏浩 “ 助手

A. 研究目的

造血幹細胞移植は造血幹細胞の採取源やドナーの違いによって多様化しているが、日本骨髄バンクを介する非血縁ドナー骨髄移植（unrelated donor bone marrow transplantation, UD-BMT）は、白血病などの造血器腫瘍に対する治療法として既に確立されている従来の血縁ドナー骨髄移植（related donor BMT, RD-BMT）と同程度の長期生存率が得られ、治癒的治療法として確立されつつある。一方、自己末梢血幹細胞移植（peripheral blood stem cell transplantation, PBSCT）は、従来の自家骨髄移植に比べて、1) 移植後の好中球や血小板の生着が極めて速やかである、2) 造血幹細胞採取に全身麻酔を必要としない、など有利な点が指摘され、ほぼ 100% 自家骨髄移植にとって替わっている。この有利な点を考慮して、同種 PBSCT も積極的な臨床応用が行われ、同種 BMT の代替法として急速に普及しており、期待できる成績が得られつつある。そこで、次に検討すべきものとし

て、非血縁ドナーからの PBSCT が最重要課題として考えられ、既に欧米では臨床応用が開始されている。したがって、同種 BMT と同種 PBSCT を比較検討し、それぞれ有利な点、不利な点を明らかにし、それぞれの適応を明確にしていく必要がある。この比較検討によってエビデンスを得るためには、前方視的無作為比較臨床試験（第Ⅲ相臨床研究）が不可欠である。また、同種 BMT 及び同種 PBSCT の成績を向上させるための検討もさらに必要である。

B 研究方法

同種 BMT と同種 PBSCT の臨床第Ⅲ相非盲検無作為割付比較試験

1. 目的：同種造血幹細胞移植を受ける患者及びドナーを対象に無病生存率、全生存率、急性 GVHD 及び慢性 GVHD の頻度と重症度を主要評価項目として、同種造血幹細胞移植が適応とされる成人白血病症例を対象に HLA 一致同胞をドナーとする同種 BMT と同種 PBSCT の有効性と安全性を比較する。

2. 被験者：HLA 一致血縁者間同種造血幹細胞移植のドナーおよびレシピエント。

レシピエントの選択基準は、

- 1) 同種 BMT が適応になる急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病の患者で病期は問わない、
- 2) 年齢が 15 歳以上かつ 50 歳以下で移植の支

障となる臓器障害がない、

3) 年齢が10歳以上かつ55歳以下のHLA一致同胞ドナーの選択基準は、

- 1) HLA一致の同胞、
- 2) 年齢10歳以上65歳以下の者、
- 3) ドナー又は代諾者が骨髄採取またはG-CSF投与後のアフエーシスのいずれかに無作為に割り付けられることに文書による同意が得られていること、
- 4) 全身麻酔下の骨髄採取およびG-CSF後のアフエーシスを施行することに支障となる障害を有さないこと、である。

3. 被験者の登録と無作為化の方法：中央割付方式による無作為化（ランダムイゼーション）を行い、原疾患の再発や治療関連死に与える影響を考慮し、原疾患の再発リスクおよび年齢を層とした層別化を行う。

4. 治療計画：ドナー及びレシピエントの両者から同意を得た後、登録被験者は骨髄移植群（BMT群）または末梢血幹細胞移植群（PBSCT群）に無作為に割り付ける。移植前治療としてはBU/CYもしくはCY/TBIレジメンを用いることを原則とする。その他の治療法を用いる場合には引用可能な論文として公表されている、骨髄破壊的治療を行うこととする。

1) PBSCT群：ドナーにG-CSFを10 μ g/kgもしくは400 μ g/m²を1日1回あるいは2回に分割して連続4-6日間皮下投与し、4-6日目に1-2日間末梢血幹細胞をアフエーシスで採取し、レシピエントに輸注する。移植に必要なCD34陽性細胞数はレシピエント体重当たり 2×10^6 /kg以上を目標とする。

2) BMT群：ドナーから全身麻酔下に骨髄穿刺を行い骨髄液を採取し、レシピエントに輸注する。移植に必要な有核細胞数はレシピエント体重当たり 2×10^8 /kg以上を目標とする。移植後の免疫抑制はcyclosporine＋短期methotrexateの統一したレジメンで実施する。

5. 評価項目

主たる評価項目：time-to-event解析による無病生存期間（leukemia-free survival）及び全生存期間（overall survival）

副次的評価項目：

- ① 急性GVHDの頻度と重症度、
- ② 慢性GVHDの頻度と重症度、
- ③ 移植後100日以内の全死亡（day 100 mortality）及び非再発期死亡（treatment-related mortality）

6. 目標症例数：以下の設定根拠により登録期間2年間で1群170例、全340例を

目標とし、最終症例の登録後2年間の追跡観察を行うこととする。尚、以下の設定根拠に用いた変数の不確実性と、研究全体の安全性、倫理性を考慮し、200症例目が6ヶ月の観察を終了した時点で中間解析を実施する。この時、両群のoverall survivalに差がないとする帰無仮説を検定し、これが棄却された場合、本研究の症例登録は中止とする。

研究実施期間：2年間。最終登録症例の移植後100日間が経過した時点で副次的評価項目に関する最終解析を行う。最終症例登録後2年間の追跡評価を行い、主たる評価項目についての最終解析を行う。

C. 研究結果

「成人白血病に対するHLA一致同胞ドナーからの同種BMTと同種PBSCTの臨床第Ⅲ相非盲検無作為割付比較試験（phaseⅢ；confirmatory study）」の試験実施計画書の策定を終了し、症例報告書（CRF）も完成し、症例登録を開始した。シアトルで実施された多数例の無作為化比較試験（Bensinger WJ, et al. N Engl J Med 344:175-181, 2001）、白血病患者の2年生存期待率は同種PBSCT群66%に対し、同種骨髄移植では54%（hazard ratio 1.61; confidence interval 0.98-2.63）であり、無病生存（DFS）はそれぞれ65%対45%（hazard ratio 1.67; confidence interval 1.05-2.63）であった。これらの結果から本試験ではtime-to-event analysisにおいてtwo-tailed $\alpha=0.05$ 、 $\beta=0.2$ としてhazard ratio =1.6-1.7の差を検出できる症例数を設定することとした。本邦におけるHLA一致同胞間の同種骨髄移植による2年生存率を60%と仮定すると、hazard ratio =1.6-1.7となる同種末梢血幹細胞移植の2年生存率は72.7-74.0%に相当する。また、同様に同種骨髄移植群の2年無病生存割合が50%とすると、同種末梢血幹細胞移植群では64.8-66.5%に相当する。これらの推定から、症例登録期間を2年間とし、最終症例の登録後2年間観察を行うと、必要症例数は全生存で1群131-161例、DFSで106-132例と計算される。実際には、これらの推定値に脱落症例や解析不能例を10%程度上乗せした症例数が必要とされる。そこで、本試験計画書では、主たる評価項目にはtime-to-event解析による無病生存期間および全生存期間、副次的評価項目は急性GVHDと慢性GVHDの頻度と重要度及び移植後100日以内の全死亡及び移植に関連した非再

発死亡とすることにした。目標症例数は登録期間2年で1群170例、全340例を目標と設定した。

D. 考察

同種PBSCTは、2000年4月の保険適用以来急速に普及し、1ヶ月で50-60例、1年で600例以上に実施され、2002年3月までに1,300例以上に実施されるものと予想されている。一方、UD-BMTも既に3,000例以上に実施され、その成績も血縁ドナーBMTと遜色無いことが明らかにされており、白血病に対する有力な治癒的治療法と位置づけられている。このように、同種BMT(1年間400-500例)よりも同種PBSCTがより多く実施されているが、同種PBSCTが同種BMTに比べて、有利な点、不利な点はまだ充分明らかにされていない。したがって、同種BMTと同種PBSCTのprospective randomized studyは極めて重要な意義を有し、その成績は非血縁ドナーPBSCTを実行可能にするためにも不可欠な判断根拠となりうる。これまで欧米で行われた同種BMTと同種PBSCTの無作為化比較試験では、同種PBSCTにおける速やかな生着については一致した結果が得られているが、急性及び慢性GVHDの頻度や重症度については一致した成績は得られていない。欧米の成績を日本のケースに当てはめる場合、生着のスピードは遺伝的、生理学的に人種的差の影響を受けにくいと考えられ、このことを否定する報告はない。一方、同種免疫反応であるGVHDの頻度や重症度に人種的差の影響があることは明白であり、欧米人で得られたデータの外挿可能性は低い。特に急性GVHDの頻度については海外データにおいても結論が出たとは言い難く、適切な対象を置き、よく管理された臨床試験がわが国においても必要である。また、移植片拒絶、移植細胞数の影響、造血能・免疫能の長期維持、小児患者における有用性、費用対効果など同種PBSCTに関してはまだ充分明らかにされていない。

E. 結論

本研究は、造血幹細胞領域では本邦における最大規模の臨床試験のひとつであり、この領域における臨床研究体制の確立につながり、さらにアジア地域における幹細胞ソース選択のための科学的エビデンス作りとなる。そして、非血縁ドナーからの同種PBSCT実施に向けた基礎データが蓄積される。

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学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。同種造血細胞移植ドナーは健常者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PBSCT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、PBSCT採取約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。PBSCT採取と急性骨髄性白血病発症の因果関係は現時点では明らかでない。今後PBSCTドナーフォローアップを確実にし、重篤な合併症の有無を慎重に検討する。日本骨髄移植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。同種末梢血幹細胞移植のための末梢血幹細胞の動員・採取を受ける健常人ドナーは比較的高用量のG-CSF投与や大量の血液体外循環によるアフエーシスが必要であり、安全確保のために日本造血細胞移植学会と日本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. 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
2. Nakase K, Ishimaru F, Fujii K, Tabayashi T, Kozuka T, Sezaki N, Matsuo Y, Harada M: Overexpression of novel short isoforms of Helios in a patient with T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Exp Hematol* 30:313-317, 2002
3. Yakushiji K, Gondo H, Kamezaki K, Shigematsu K, Hayashi S, Kuroiwa M, Taniguchii S, Ohono Y, Takase K, Numata

- A, Aoki K, Kato K, Nagafuji K, Shimod K, Okamura T, Kinukawa N, Kasuga N, Sata M, Harada M : . Bone Marrow Transplant 29:599-606, 2002
4. Fujii N, Hiraki A, Ikeda K, Ohmura Y, Nozaki I, Shinagawa K, Ishimaru F, Kiura K, Shimizu N, Tanimoto M, Harada M : Expression of minor histocompatibility antigen, HA-1, in solid tumor cells .Transplantation 73:1137-1141, 2002
5. 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
6. 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
7. 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
8. Nagano S, Otsuka T, Niho H, Yamaoka K, Arinobu Y, Ogami E, Akahoshi M, Inoue Y, Miyake K, Nakashima H, Niho Y, Harada M : Molecular mechanisms of LPS-induced COX-2 expression in human neutrophils. Involvement of MAPK pathway and regulation by anti-inflammatory cytokines. Int Immunol 14:733-740, 2002
9. Fujii N, Ikeda T, Ikeda K, Hiraki A, Kawakami K, Masuda K, Maeda Y, Hatake K, Motoyoshi K, Harada M, Tanimoto M : Differentiation of monoblastic cell line UG3 into leukemic dendritic cells. Int Oncol 21:617-620, 2002
10. Makita M, Hiraki A, Azuma T, Tsuboi A, Oka Y, Sugiyama H, Fujita S, Tanimoto M, Harada M, Yasukawa M : Antitumor effect of WT1-specific cytotoxic T lymphocytes. Clin Cancer Res 8:2626-2631, 2002
11. Yoshino T, Nakamura S, Suzumiya J, Niitsu N, Oshima K, Tsuchiyama J, Shinagawa K, Tanimoto M, Sadahira Y, Harada M, Kikuchi M, Akagi T : Expression of cutaneous lymphocyte antigen is associated with a poor outcome of nasal-type natural killer-cell lymphoma. Br J Haematol 118:482-487, 2002
12. Shibakura M, Niiya K, Kiguchi T, Shinagawa K, Isimaru F, Ikeda K, Namba M, Nakata Y, Harada M : Simultaneous induction of matrix metalloproteinase-9 and interleukin 8 by all-trans-retinoic acid in human PL-21 and NB4 myeloid leukaemia cells. Br J Haematol 118:419-425, 2002
13. Shimoda K, Kamesaki K, Numata A, Aoki K, Matsuda T, Oritani K, Tamiya S, Kato K, Imamura R, Yamamoto T, Miyamoto T, Nagafuji K, Gondo H, Nagafuji S, Nakayama K, Harada M : TyK2 is required for the induction and nuclear translocation of Daxx which regulates IFN- α -induced suppression of B lymphocyte formation. J Immunol 169:4707-4711, 2002
14. 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, Niiyake, 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 42:1514-1522, 2002
15. Sakugawa T, Yoshino T, Mannami T, Munemasa M, Ichimura K, Okada H, Mizuno M, Tanimoto M, Harada M, Akagi T : Correlation between histological evaluation and PCR-based clonality analysis of gastric MALT lymphomas treated by eradication of Helicobacter pylori. J Clin Exp Hematopathology 42:61-66, 2002
16. Fujii N, Ikeda K, Takahashi N, Kojima K, Kobayashi Y, Ashiba A, Takenaka K, Fukuda S, Shinagawa K, Ishimaru F, Niiya K, Miura

1. Tanimoto M, Harada M: Multilineage involvement in hypereosinophilic syndrome terminating in granulocytic sarcoma and leukaemic transformation with trisomy 8. *Br J Haematol* 119:716-719, 2002

学会発表

1. 原田実根：先端医療としての造血幹細胞移植、シンポジウム「がん治療開発の課題とその克服：臨床現場からの提言」、第40回日本癌治療学会総会、2002年10月16日、東京都
2. 吉岡 聡、谷本哲也、平林憲之、笠井正晴、笠井雅信、山崎 聡、金 成元、樋口雅一、原田実根、高上陽一：非ホジキンリンパ腫（NHL）に対する骨髄破壊の前処置を用いた同種造血幹細胞移植治療成績。第25回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002年10月24-25日、大阪
3. 水谷朋恵、吉田 喬、山崎 聡、大野裕樹、谷口修一、小川啓恭、林 真、高上洋一、原田実根、峯石 真：血縁者間HLA遺伝子型GVH方向2座以上不一致同種造血幹細胞移植の有効性に関する検討、第25回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002年10月24-25日、大阪
4. 谷本哲也、斉藤明子、田中祐次、亀崎健次郎、鳥野隆博、岸 健二、森嶋聡子、森慎一郎、高上洋一、原田実根：末梢血幹細胞（PBSCT）と骨髄移植（BMT）の後方視的比較研究：急性および慢性移植片対宿主病（GVHD）の臨床像、第25回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002年10月24-25日、大阪
5. 飯野忠史、長藤宏司、権藤久司、宮元敏浩、加藤光次、下田和哉、原田実根：2度目のK色をミニ移植で行った症例、第25回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002年10月24-25日、大阪
6. 長藤宏司、加藤光次、飯野忠史、平安山英穂、青木健一、宮本敏浩、権藤久司、

原田実根：cidofovirによるadenovirus出血性膀胱炎の治療、第25回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002年10月24-25日、大阪

7. 森 毅彦、森慎一郎、神田善伸、薬師寺和昭、権藤久司、原田実根、田野崎隆二、峯石 真、岡本信一郎：同種造血幹細胞移植後のcytomegalovirus（CMV）胃腸炎発症例におけるCMV antigenemiaの推移、第25回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002年10月24-25日、大阪
8. 河野徳明、権藤久司、飯野忠史、青木健一、上村智彦、宮本敏浩、長藤宏司、林真、大塚輝久、原田実根：ウイルス感染症を契機に慢性GVHDが発症した3症例、第25回日本造血細胞移植学会総会—バリアを超えて—、2002年10月24-25日、大阪
9. Shimoda K, Kamesaki K, Numata A, Aoki K, Matsuda T, Oritani K, Kato K, Takase K, Imamura R, Miyamoto T, Nagafuji H, Gondo H, Nakayama K, Harada M. Tyk2 is required for the induction and nuclear translocation of daxx which regulates Interferon- α -induced suppression of B lymphocyte formation. *American Society of Hematology, November 24-25, 2002, Philadelphia, U. S. A.*
10. T Tanimoto M, Saito A, Tanaka Y, Numata A, Kasai M, Mori T, Kasai M, Yamasaki S, Sakai M, Miyazaki Y, Uike N, Yamashita T, Mori S, Takaue Y, Harada M: 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 24-25, 2002, Philadelphia, U. S. A.*
11. Kamimura T, Nagafuji K, Gondo H, Hayashi S, Taniguchi S, Takamatsu Y, Matsuishi E, Fujisaki T, Miyamoto T,

- Harada M: Autologous peripheral blood stem cell transplantation with granulocyte-colony stimulating factor combined preparative regimen for acute promyelocytic leukemia in first remission. American Society of Hematology, November 24-25, 2002, Philadelphia, U. S. A.
12. 石川文彦、小川真紀夫、原田実根：新しいヒト幹細胞アッセイを用いた造血幹細胞由来肝細胞の証明、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 13. 上村智彦、林 真、長藤宏司、権藤久司、谷口修一、高松 泰、藤崎智明、大野裕樹、宮本敏浩、原田実根：急性前骨髄球性白血病 (APL) に対する自己末梢血幹細胞移植 (auto-PBSCT) の治療成績、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 14. 沼田晃彦、下田和哉、亀崎健次郎、青木健一、加藤光次、高瀬 謙、波呂 卓、宮本敏浩、長藤宏司、権藤久司、岡村 孝、原田実根：SHP1 の CML 急性転化での変化とその役割、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 15. 加留部謙之輔、大島孝一、土屋健史、山口隆広、原田実根、菊池昌弘：NK リンパ芽球性リンパ腫、Myeloid/NK 未熟リンパ腫、CD7⁺幹細胞リンパ腫の臨床病理的検討、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 16. 樋口雅一、Downing James R、原田実根：1-MTG8 (ETO) 発現誘導マウスにおける顆粒球系腫瘍、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 17. 加藤光次、下田和哉、織谷健司、青木健一、沼田晃彦、亀崎健次郎、加藤謙、石川文彦、長藤宏司、宮本敏浩、権藤久司、岡村孝、原田実根：IFN- α による造血抑制作用における Tyk2 の機能解析、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 18. 藤井敬子、石丸文彦、子塚輝彦、本多宗次、小島研介、品川克至、池田和真、新谷憲治、谷本光音、原田実根：G-CSF による末梢血幹細胞動員に伴う血清中 HGF 値の上昇、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 19. 長藤宏司、飯野忠史、加藤光次、宮本敏浩、権藤久司、原田実根：当科における骨髄非破壊的前治療による同種末梢血幹細胞移植の成績、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 20. 松石英城、原田実根：成人 T 細胞性白血病/リンパ腫に対する同種造血幹細胞移植、第 64 回日本血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 21. 岡村 孝、薬師寺和昭、橋口道俊、関 律子、加藤光次、長藤宏司、高瀬 謙、土持典子、吉本幸治、緒方秀章、宮本敏浩、下田和哉、権藤久司、原田実根、佐田通夫：T 細胞受容体 δ 鎖遺伝子再構成を示した mulcyineage acute leukemia の 2 例、第 44 回日本臨床血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 22. 河野徳明、上村智彦、重松宏和、林 真、下田和哉、権藤久司、大塚輝久、原田実根：インターフェロンが奏功したフィラデルフィア染色体陰性 (TEL/ABL による) 慢性骨髄性白血病の 1 例第 44 回日本臨床血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 23. 筒井俊英、加藤光次、下田和哉、森 泰雄、飯野忠史、宮本敏浩、長藤宏司、権藤久司、原田実根：肺胞蛋白症を合併した骨髄異型性症候群の一例、第 44 回日本臨床血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 24. 吉原達也、加藤光次、長藤宏司、飯野忠史、宮本敏浩、下田和哉、権藤久司、原田実根：急性移植片対宿主病に対するミコフェノール酸モフェチル (MMF) の使用経験、第 44 回日本臨床血液学会、2002 年 9 月 12-15 日、横浜
 25. 山本和彦、原田実根、谷本光音：Fanconi 貧血原因遺伝子 FANCG は相同組換えによる DNA 修復遺伝子である、第 64 回日本血

- 液学会、2002年9月12-15日、横浜
26. 今村理恵、宮本敏浩、平安山英穂、飯野忠史、加藤光次、長藤宏司、権藤久司、原田実根、稲葉頌一、G-CSFにより動員される造血前駆細胞の解析、第64回日本血液学会、2002年9月12-15日、横浜
 27. 亀崎健次郎、下田和哉、波呂卓、沼田晃彦、石川文彦、高瀬謙、青木健一、宮本敏浩、長藤宏司、権藤久司、原田実根：サイトカイン依存性細胞株におけるアポトーシスの検討、第64回日本血液学会、2002年9月12-15日、横浜
 28. 山崎聡、平安山英穂、大野裕樹、飯野忠史、黒岩美佳、河野徳明、宮本敏浩、長藤宏司、下田和哉、林真、谷口修一、権藤久司、大塚輝久、原田実根：同胞間HLA完全一致G-CSF動員同種末梢血幹細胞移植片中細胞分布の解析と慢性GVHDに対する影響、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
 29. 土持典子、加藤光次、長藤宏司、今村理恵、宮本敏浩、飯野忠史、下田和哉、権藤久司、原田実根：auto-allo(non-myceloablative)で肝中心静脈閉塞症(VOD)を発症した治療抵抗性悪性リンパ腫、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
 30. 吉本五一、飯野忠史、長藤宏司、下田和哉、宮本敏浩、権藤久司、原田実根、谷本一樹：乾癬罹患患者に発症した急性骨髄性白血病に対し同種HLA不適合移植を施行した一例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
 31. 飯野忠史、長藤宏司、宮本敏浩、吉本五一、下田和哉、権藤久司、谷本一樹、原田実根：臍帯血移植後再発した急性骨髄性白血病に対し母親からHLA不適合ミニ移植を施行した一例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
 32. 波呂卓、大野裕樹、原田実根：人工呼吸管理下のAPL患者にNasal-Gastric tubeにてATRAを投与し完全寛解に至った症例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
 33. 薬師寺和昭、関律子、大坪維範、今村理恵、橋口道俊、吉本幸治、緒方秀章、南野隆一、岡村孝、佐田通夫：Imatinib短期投与にて著明な骨髄低形成とPh1陰性化が得られた骨髄線維症合併慢性白血病の一例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
 34. 青木健一、平安山英穂、横山俊宏、久保田晃、岡村精一、竹下盛重：Blastic NKリンパ腫に対して自己末梢血幹細胞移植を施行した一例、第44回日本臨床血液学会、2002年9月12-15日、横浜
 35. Harada M, Matsuo K, Hamajima N, Morishima Y: Risk factors for early post-transplant mortality In UR-BMT Japan: The analyses of data from Japan Marrow Donor Program. 29th World Congress of the International Society of Hematology, August 24-28, 2002, Seoul, Korea
- H. 知的財産権の出願・登録状況なし

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

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（国立国際医療センター研究所・所長）

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、747 検体の HLA-DQB1 DNA タイピングを実施した。また、これまでに HLA DNA タイピングが終了し生存が追跡調査された 2097 組に関して以下の解析結果が得られた。1) HLA-A、B が DNA レベルでマッチした症例において、DRB1、DQB1 ミスマッチは生存において有意差に到らなかった (各々 $p=0.128$ 、 0.195)。2) HLA-A、B が DNA レベルでマッチした症例において、DRB1、DQB1 ミスマッチは急性 GvHD 発症に関して有意差 (各々 $p=0.0002$ 、 0.019) を示し、クラス II のミスマッチが 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、しばしば致命的 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 がマッチした移植例 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 レベルでのミスマッチが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 のミスマッチは有意差には到らなかったが、若干の差を認めた。HLA クラス II の DNA レベルでのミスマッチが生存および GvHD 発症におよぼす影響を解析数を増やして検討することを目的とし、本年度は新たに 727 検体の HLA-DNA タイピング (HLA-DQB1) を実施し、これまでに終了した 2097 組の症例に対し、統計遺伝学的解析を加えた。

B. 研究方法

HLA タイピングは DQB1 を特異的プライマーにて PCR 増幅後ダイレクトシーケンスを行いアレルを決定した。これまでにタイピングが終了した 2097 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 とともに DNA レベルでマッチする症例を対象として、DRB1、DQB1 ミスマッチが生存および GvHD 発症に及ぼす影響を Kaplan-Meier 曲線によって検討した。

C. 研究結果

急性 GvHD を解析した症例のうち、DRB1 のタイピングが利用可能で HLA-A、B とともにマッチしていた症例は、計 1600 例であった。このうち、DRB1 がマッチしていた症例が 1302 例、ミスマッチ症例が 298 例であった。Kaplan-Meier 曲線による解析では、両者の間に統計学的有意差を認め ($P=0.0002$)、急性 GvHD 発症に関して、HLA-A、B マッチ例におけ

る DRB1 マッチングの重要性が示された。DQB1 においては、HLA-A, B ともにマッチしていた 1548 例中、マッチ症例が 1161 例、ミスマッチ症例が 387 例であり、DRB1 と同様に両者の間に統計学的有意差を認めた ($P=0.0187$)。DRB1 と DQB1 は強い連鎖不平衡にあるため、どちらの影響が重要かを明らかにする目的で、HLA-A, B, DQB1 マッチ 1161 例における DRB1 の影響を解析した。このうち DRB1 ミスマッチ症例は 73 例と少数であったが、マッチ例との間で有意差を認めず (DQB1 についての同様の解析においても有意差なし)、少なくとも DRB1 かつ DQB1 のミスマッチが急性 GvHD 発症の危険因子となることがあらためて示された。

一方、生存に対する DRB1、DQB1 マッチングの影響は、これまでの結果と同様に有意差を認めず (HLA-A, B マッチ例における DRB1 マッチング： $P=0.1280$ 、HLA-A, B マッチ例における DQB1 マッチング： $P=0.1949$ 、HLA-A, B, DQB1 マッチ例における DRB1 マッチング： 0.5174 、HLA-A, B, DRB1 マッチ例における DQB1 マッチング： 0.3797) 生存においてクラス II ミスマッチは危険因子として採択されなかった。

D. 考察

これまでに、生存および GvHD 発症に HLA クラス I の DNA レベルでのミスマッチが危険因子となることが示されている。これにより、骨髄バンクにおいても 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。欧米でのこれまでの研究では、むしろクラス II マッチングの重要性が指摘され、また、本研究班でのこれまでの解析でも、クラス II の影響も弱いながら認められたため、今回、クラス II のマッチングが生存および GvHD 発症に及ぼす影響を、約 2000 例を対象に解析した。HLA-A, B マッチ症例におけ

る解析により、DRB1、DQB1 の DNA レベルでのミスマッチが GvHD 発症に関する重要な危険因子であることが示されたが、一方、生存においては危険因子としては同定されなかった。よって、クラス II 遺伝子のミスマッチによって誘導される GvHD がクラス I 遺伝子のミスマッチによって誘導されるそれとは、臨床診断においては同じ GvHD と診断されるものの、免疫学的な発症機序を含め質的に異なることが示唆され今後の課題である。

E. 結論

非血縁者間骨髄移植における HLA クラス II マッチングの影響を解析し、1) HLA-A, B が DNA レベルでマッチした症例において、DRB1、DQB1 ミスマッチは生存において有意差に到らなかった。2) HLA-A, B が DNA レベルでマッチした症例において、DRB1、DQB1 ミスマッチは GvHD 発症に関して有意差を示し、クラス II のミスマッチが GvHD 発症の危険因子となることが示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Long IS, Han K, Li M, Shirasawa S, Sasazuki T, Johnston M, Tsao MS. Met Receptor Overexpression and Oncogenic Ki-ras Mutation Cooperate to Enhance Tumorigenicity of Colon Cancer Cells in Vivo. *Mol Cancer Res.* 2003 Mar; 1 (5): 393-401.

Kaburagi Y, Satoh S, Yamamoto-Honda R, Ito Y, Akanuma Y, Sekihara H, Yasuda K, Sasazuki T, Kadowaki T, Yazaki Y. Protection of insulin receptor substrate-3 from staurosporine-induced apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003 Jan 10; 300 (2): 371-377.

- Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, Geraghty DE, Hansen JA, Mach B, Mayr WR, Parham P, Petersdorf EW, Sasazuki T, Schreuder GM, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI. Nomenclature for factors of the HLA system, 2002. *Tissue Antigens*. 2002 Nov; 60 (5): 407-464
- Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, Geraghty DE, Hansen JA, Mach B, Mayr WR, Parham P, Petersdorf EW, Sasazuki T, Schreuder GM, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI. Nomenclature for factors of the HLA system, 2002. *Hum Immunol*. 2002 Dec; 63 (12): 1213-1268.
- Yoshida K, Martin T, Yamamoto K, Dobbs C, Munz C, Kamikawaji N, Nakano N, Rammensee HG, Sasazuki T, Haskins K, Kikutani H. Evidence for shared recognition of a peptide ligand by a diverse panel of non-obese diabetic mice-derived, islet-specific, diabetogenic T cell clones. *Int Immunol*. 2002 Dec; 14 (12): 1439-1447.
- Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, Geraghty DE, Hansen JA, Mach B, Mayr WR, Parham P, Petersdorf EW, Sasazuki T, Schreuder GM, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI. Nomenclature for factors of the HLA system, 2002. *Eur J Immunogenet*. 2002 Dec; 29 (6): 463-515.
- Tsunoda T, Inokuchi J, Baba I, Okumura K, Naito S, Sasazuki T, Shirasawa S. A novel mechanism of nuclear factor kappaB activation through the binding between inhibitor of nuclear factor-kappaBalpha and the processed NH(2)-terminal region of Mig-6. *Cancer Res*. 2002 Oct 15; 62 (20): 5668-71.
- 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): 4200-4206.
- 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): 569-575.
2. 学会発表
- Ken Yamamoto, Masayuki Aoki, Kenji Sakai, Takehiko Sasazuki (2002, 11/21) Genome-wide scan for gastric cancer susceptibility genes 25th Annual Meeting of Korean Society of Medical Genetics, Seoul, Korea
- Koichi Furugaki, Senji Shirasawa, Haruhito Harada, Tomoko Tsuchiya, Iwai Baba, Naofumi Ishikawa, Kunihiko Ito, Sumihisa Kubota, Kanji Kuma, Naofumi Akamizu, Kenji Sakai, Ken Yamamoto, Takehiko Sasazuki (2002, 11/21) Identification of a susceptibility gene for Hashimoto thyroiditis on chromosome 8q23-q24 25th Annual Meeting of Korean Society of Medical Genetics, Seoul, Korea
- Takehiko Sasazuki, Ken Yamamoto (2002, 11/6-11/8) Analysis of Genetic Factors Involved in Gastric Cancer in the Japanese Population
US-Japan Seminar on Migration and Cancer

古垣浩一、白澤専二、原田晴仁、土屋朋子、馬場
賀、石川直文、伊藤公一、伊藤国彦、窪田純久、
隈寛二、赤水尚史、酒井健司、山本健、笹月健彦
「橋本病の疾患感受性遺伝子の同定- 8q23-q24 を
中心として」第 47 回日本人類遺伝学会、2002 年
11 月 13-15 日、ヒルトン名古屋

古垣浩一、白澤専二、原田晴仁、土屋朋子、馬場
賀、石川直文、伊藤公一、伊藤国彦、窪田純久、
隈寛二、赤水尚史、酒井健司、山本健、笹月健彦
「橋本病の疾患感受性遺伝子の同定- 8q23-q24 を
中心として」第 9 回日本遺伝子診療学会、2002 年
10 月 18-19 日、京都国際会館

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

ゲノムワイドな組織適合遺伝子の検索に関する研究

分担研究者 猪子 英俊 東海大学医学部分子生命科学系 教授

研究要旨

非血縁者間骨髄移植のうち、HLA-A、-B、-C、-DR、-DQ 適合の 100 組について、HLA 遺伝子領域に設定されたマイクロサテライトマーカーを用いて、ドナーとレシピエントのマーカー一致率と、急性 GVHD の重症度との関係を解析した。その結果、今回の解析においては、9 種の各マーカーごとの一致率は、HLA-DQ 近傍の DQCAR、HLA-B 近傍の MICA、MIB など、HLA 遺伝子との距離が近い程、一致率も高値を示しており、適合度の高い遺伝子周辺ではマイクロサテライトの一致率が高く、これらのマイクロサテライトが、未知の組織適合遺伝子の一致、不一致を検索するのに有用であることを示した。

A. 研究目的

従来、造血幹細胞移植における組織適合性については、HLA と限られたマイナー組織適合抗原(mHa)が散発的に調べられているのみであった。しかしながら、HLA 一致の同種造血幹細胞移植における GVHD (graft versus host disease) 発症の要因として、レシピエントの細胞上に発現している mHa の関与が挙げられている。

そこで本研究ではゲノムワイドな組織適合遺伝子の検索法として、我々が設定した約 30,000 個の多型マイクロサテライトマーカーを遺伝マーカーとして用いたマッピング法により、全染色体レベルで造血幹細胞移植の組織適合に関与する遺伝子を系

統的に同定することを試みる。

本年度においては、HLA 遺伝子領域の多型マイクロサテライトマーカーを用いて、非血縁者間骨髄移植施行例におけるドナーとレシピエントのマーカー一致率を解析した。

B. 研究方法

日本骨髄バンクを通じて施行された非血縁者間骨髄移植について、HLA-A,B,C,DR,DQ 適合のドナーとレシピエント 321 組を選出した。このうち、DNA サンプルの入手が容易であった 100 組について、急性 GVHD 0 度～IV 度に分類し、それぞれ用いた。100 組の内訳を図に示した。

HLA 遺伝子領域におけるドナー、レシピエントの
マイクロサテライト多型の一緻度についての解析

対象 HLA-ABC DRDQ 適合の非血縁骨髄移植施行例 計 100 組

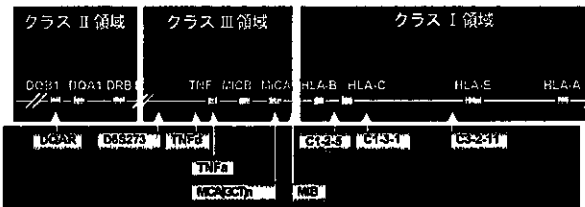
急性GVHD	患者性別	患者年齢	疾患名
0 度 25 組	男性 43 例	1 才~50 才	ALL 27 例
I 度 25 組	女性 57 例	(平均年齢 28.4 才)	ANLL 39 例
II 度 25 組			CML 34 例
III 度 17 組			
IV 度 8 組			

方法 HLA 領域に設定された 9 種のマイクロサテライトマーカーについて多型検索を行い、ドナーとレシピエントの一緻度を検索する

これら計 200 例の DNA を用いて、HLA 領域に設定された多型マイクロサテライトマーカー 9 種について解析し、ドナーとレシピエントの多型の一緻率について検討を行った。

研究方法

組織適合性遺伝子の検索
マイクロサテライト解析



マイクロサテライト (2~6 塩基の繰り返しの配列)
例) CACACACACA...
繰り返しの回数 (長さ) の違いから 2 塩基間で異なる

マイクロサテライトの多型 (長さ) を検索

(倫理面への配慮)

本研究の実施にあたっては、東海大医の倫理委員会において審議の結果、承認をえた上で実施され、試料提供者やその家族について、倫理上の配慮が十分なされた上で行われた。

C. 研究結果

急性 GVHD が 0 度、I 度、II 度、III 度及び IV 度の 4 群に分類し、HLA 遺伝子領域に設定された 9 種の多型マイクロサテライト

の、ドナーとレシピエントの一緻率を比較したところ、クラス II 領域に位置するマイクロサテライト DQCAR では、急性 GVHD 度に関係なく、92%~100%と、高い一緻率を示したが、クラス I 領域のテロメア方向に位置する C3-2-11 では、32%~56%と一緻率は低かった。しかし、マーカー多型一緻率の急性 GVHD 度による差はみられなかった。

急性 GVHD 度別マーカー一緻率

Marker	AG=0(n=25)	AG=1(n=25)	AG=2(n=25)	AG=3/4(n=25)
DQCAR	24(96%)	24(96%)	23(92%)	25(100%)
D6S273	14(56%)	18(72%)	18(64%)	16(64%)
TNFβ	18(72%)	21(84%)	19(78%)	16(64%)
TNFα	17(68%)	19(76%)	18(72%)	19(76%)
MICA	23(92%)	24(96%)	24(96%)	22(88%)
MIB	22(88%)	23(92%)	21(84%)	23(92%)
C1-2-5	19(76%)	13(52%)	20(80%)	18(72%)
C1-3-1	24(96%)	23(92%)	23(92%)	23(92%)
C3-2-11	14(56%)	11(44%)	8(32%)	13(52%)

次に、急性 GVHD の各群での慢性 GVHD 発症との関係について解析したところ、急性 GVHD I 度での多型一緻率は、慢性 GVHD 発症者群の方が高い傾向にあった。

さらに、急性 GVHD の各群における予後(生死)についても検討を行ったところ、急性 GVHD が高い II~IV 度の群では、HLA-C 遺伝子テロメア側のマイクロサテライトにおいて、死亡者群での一緻率が低い傾向がみられた。

D. 考察

HLA 一致の同種造血幹細胞移植における GVHD (graft versus host disease) 発症の要因として、レシピエントの細胞上に発現しているマイナー組織適合抗原(mHa)の関与が挙げられる。現在までに数種の mHa やその候補