

Genomics. 2008 May;91(5):451-7.

6: Gotoh K, Tanaka Y, Nishikimi A, Inayoshi A, Enjoji M, Takayanagi R, Sasazuki T, Fukui Y. Differential requirement for DOCK2 in migration of plasmacytoid dendritic cells versus myeloid dendritic cells. *Blood*. 2008 Mar 15;111(6):2973-6.

7: Yabe T, Matsuo K, Hirayasu K, Kashiwase K, Kawamura-Ishii S, Tanaka H, Ogawa A, Takanashi M, Satake M, Nakajima K,

Tokunaga K, Inoko H, Saji H, Ogawa S, Juji T, Sasazuki T, Kodera Y, Morishima Y; Japan Marrow Donor Program. Donor killer immunoglobulin-like receptor (KIR) genotype-patient cognate KIR ligand combination and antithymocyte globulin preadministration are critical factors in outcome of HLA-C-KIR ligand-mismatched T cell-replete unrelated bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008 Jan;14(1):75-87.

## 全ゲノム関連解析による GVHD 関連遺伝子座の探索

分担研究者 小川 誠司 東京大学医学部附属病院がんゲノミクスプロジェクト 特任准教授

### 研究要旨

移植片対宿主病 (GVHD) は同種造血幹細胞移植におけるもっとも重要な合併症の一つである。GVHD はドナーとレシピエントの遺伝学的相違によって発症し、また、それぞれの遺伝学的背景によっても影響される。本研究では日本骨髄バンク (JMDP) を通じて非血縁移植が行われた 1600 例の HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 適合移植について大規模 SNP タイピングによる全ゲノム関連解析の手法により、GVHD の発症に影響を及ぼす遺伝的背景について探索を行った。ドナー・レシピエント間で定義されるアレルミスマッチに基づく解析の結果、HLA-DPB1 領域のミスマッチが GVHD の発症リスクとして同定され、本解析手法の有効性が確認された。また、HLA 拘束に基づく関連解析においても GVHD の発症に関わる可能性のある多数の遺伝子座が同定された。

### A. 研究目的

同種造血幹細胞移植は現時点で難治性造血器腫瘍に対する最も強力な治療手段の一つと考えられている。その治療効果の主体をなすのは、生着した T 細胞によって担われる腫瘍細胞に対するアロ免疫反応であるが、同様の免疫反応はレシピエントの正常組織に対しても惹起され GVHD として知られる重篤な合併症を誘発する。通常の HLA 一致移植においては、アロ免疫反応の分子標的となるのはマイナー組織適合性抗原と呼ばれるアロ抗原で、多くはドナーとレシピエント間で異なる SNP により規定される。一方、GVHD の発症にはこれらのマイナー抗原の不適合が必須であるが、移植前処置や GVHD 予防法といった環境要因や、ドナーないしレシピエントにおける免疫反応の腸節に関与する遺伝子の多型も GVHD の発症に関与すると考えられる。そこで GVHD の病態解明と予防の観点からは、GVHD の標的となるこのようなマイナー抗原の同定と、その発症に関わるその他の多型を同定することが際名重要である。本研究では、近年の分子遺伝疫学の格段の進歩を背景として、JMDP コホート試料を用いた全ゲノム関連解析により GVHD の発症に関与する遺伝子多型のゲノムワイドな探索を行った。

### B. 研究方法

#### (1) 移植症例

本解析では、H16 年までに JMDP を通じて行われた約 7800 件の同種骨髄移植のうち、HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 遺伝子座が DNA レベルで完全に一致し、GVHD 予防として calcineurin 阻害剤と MTX の併用が行われ、かつドナー・レシピエントのゲノム DNA および GVHD に関する臨床情報が利用可能な 1600 件の移植を解析の対象とした。

#### (2) SNP タイピング

上記移植のドナー・レシピエントに関する保存ゲノム DNA 試料を Affymetrix GeneChip 500K アレイを用いて解析し、各試料について 50 万 SNP のタイピングを行った。タイピングには Chiamo を使い、HapMap Phase II のデータに基づいて未観測 SNP の imputation を行ったのち、Hardy-Weinberg 平衡を満たし call rate が 95% を超える common な SNP (アレル頻度 > 0.05) について関連解析を行った。

#### (3) 関連解析

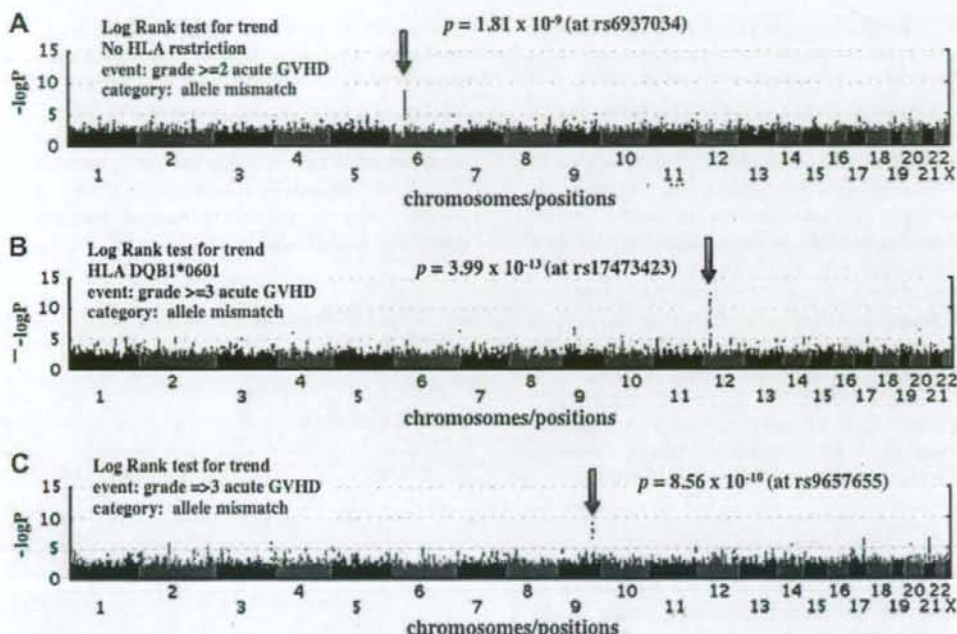
まず、GVHD については grade II-IV ないし grade II-IV の GVHD の発症を event として解析し、各 SNP 座について通常の方法に基づいて定義される GVHD 方向のアレルミスマッチの数と GVHD の発症に関して Log-rank 統計量を算出した。1000 回の permutation において同様に統計量を算出することによりゲノムワイドな第 1 種の過誤の確率が 5% となる統計量の値を算出して閾値して用いた。上記の解析は、全移植症例ないし 300 移植以上を含む特定の HLA を共有する症例群について解析を行った。

#### (倫理面への配慮)

検討に用いた検体は、JMDP を通じて研究への許諾が得られている試料を、JMDP の試料検討委員会および東京大学医学部の設置する倫理委員会の承認を経て行われた。

### C. 結果

全症例におけるアレルミスマッチと GVHD の解析においては、grade II-IV の GVHD の発症と強く関連する統計的に有意な唯一のピークとして、HLA-DPB1 領域に一致する 6 番染色体短腕のピークが確認された。HLA-BPB1 のアレルミスマッチと GVHD の関



連は独立な移植セットにおいても確認された。一方、マイナー抗原の免疫学的な提示は特定の HLA 分子を通じて行われる(マイナー抗原提示に関する HLA 拘束)ことから、GVHD 関連マイナー抗原を標的とする関連解析においては、コホートに含まれる主要な HLA タイプについて、これを共有するサブグループについて同様な関連解析を行った。その結果、日本人で最も頻度の高いハプロタイプである、HLA A\*2402/B\*5201/Cw\*1201/DRB1\*1501/DQB1\*0601 に関する解析において、grade III-IV GVHD と関連する統計的に有意なアレルミスマッチが 12 番染色体短腕に同定された。また、二番目に頻度の高いハプロタイプである HLA A\*3303/B\*4403/Cw\*1403 に関する解析においても、9 番染色体長腕に有意なピークが確認された。

#### D. 考察

HLA A, B, C, DRB1, DQB1 まですべて一致させた全移植症例を対象としたアレルミスマッチの解析において、HLA DPB1 遺伝子座が唯一の統計的に有意なピークとして検出されたことは、本解析手法が有効であることを示すとともに、HLA 拘束を考慮しない場合には、HLA 遺伝子座以上にその不適合が GVHD のリスクとなるような遺伝子座は存在しないことが示唆された。

一方、GVHD 関連マイナー抗原の同定を念頭においた、HLA 拘束に基づくアレルミスマッチの解析では、日本人で最も高頻度に認

められるハプロタイプの HLA タイプと関連して、grade III-IV の GVHD と関連する遺伝子座が同定された。これらの遺伝子座のミスマッチは重症 GVHD の発症に関して高い Hazard 比を示しており、これらが臨床的に重要なマイナー抗原座が示唆される。本解析では多数回の permutation により genome-wide な第 1 種の過誤を評価することにより、統計的有意差の検討を行ったが、極端な多重解析による疑陽性については、今後、独立な移植セットを用いた復元解析により、有意性の検証を行う必要と考えられる。

#### E. 結論

1600 例の JMDP 試料について 50 万 SNP のタイプングを行うことにより、GVHD の発症リスクとなるアレルミスマッチの解析をおこなった。解析の結果、HLA DPB1 のアレルミスマッチと grade III-IV GVHD の有意な相関が検出され、本手法の有用性が確認された。また、HLA 拘束を考慮にいたった解析により、日本人の主要なハプロタイプに関連した GVHD 関連マイナー抗原の候補遺伝子座を同定した。

#### F. 研究発表

##### 論文発表

- Ogawa S, Matsubara A, Onizuka M, Kashiwase K, Sanada M, Kato M, Nannya Y, Akatsuka Y, Satake M, Takita J, Chiba S, Saji H, Maruya E, Inoko H, Morishima Y, Kodera

Y, Takehiko S. Exploration of the genetic basis of GVHD by genetic association studies. Biol Blood Marrow Transplant. 15:39-41, 2008.

2. Kawase T, Nanya Y, Torikai H, Yamamoto G, Onizuka M, Morishima S, Tsujimura K, Miyamura K, Kodera Y, Morishima Y, Takahashi T, Kuzushima K, Ogawa S, Akatsuka Y. Identification of human minor histocompatibility antigens based on genetic association with highly parallel genotyping of pooled DNA. Blood. 111:3286-3294, 2008

3. Kamei M, Nannya Y, Torikai H, Kawase T, Taura K, Inamoto Y, Takahashi T, Yazaki M, Morishima S, Tsujimura K, Miyamura K, Ito T, Togari H, Riddell SR, Kodera Y, Morisima Y, Kuzushima K, Ogawa S, Akatsuka Y. HapMap scanning of novel human minor histocompatibility antigens. Blood, 2008.

#### 学会発表

1. Ogawa S, Matsubara A, Onizuka M, Kashiwase K, Sanada M, Kato M, Nannya Y, Akatsuka Y, Satake M, Takita J, Chiba S, Saji H, Maruya E, Inoko H, Morishima Y, Kodera Y, Sasazuki T, Exploration of the Genetic Basis of GVHD by Genetic Association Studies, America Society for Blood and Marrow Transplantation Tampa, Florida, 2009.

2. Ogawa S, Matsubara A, Kashiwase K, Onizuka M, Sanada M, Kato M, Nannya Y, Akatsuka Y, Kawase T, Satake M, Takita J, Morishima Y, Chiba S, Saji H, Inoko H, Kodera Y, Sasazuki T. Genome-Wide Association Studies of Genetic Incompatibility That Is Relevant to the Development of GvHD in Unrelated Bone Marrow Transplantation. ASH Annual Meeting Abstracts. 112:715-,2008.

3. Nannya Y, Kamei M, Torikai H, Kawase T, Taura K, Inamoto Y, Takahashi T, Yazaki M, Morishima S, Miyamura K, Ito T, Kodera Y, Morishima Y, Takahashi T, Kuzushima K, Ogawa S, Akatsuka Y. HapMap Scanning of Novel Human Minor Histocompatibility Antigens. ASH Annual Meeting Abstracts. 112:3908-,2008.

4. Masashi S, Yung SL, Suzuki T, Kato M, Sakata MY, Kumano K, Kawamata N, Takita J, Mori H, Kurokawa M, Chiba S, Omine M, Koeffler HP, Ogawa S. Genome-Wide Analysis of MDS/MPD Disclosed Frequent Homozygous C-Cbl mutations Tightly Associated with 11q-UPD. 50<sup>th</sup> ASH Annual Meeting. Abstracts. 112:855-,2008.

5. Kato M, Nakazaki K, Sato Y, Takeuchi K, Sanada M, Asakura Y, Muto S, Chen Y, Takita J, Hayashi Y, Igarashi T, Watanabe T, Tobinai K, Ishikawa Y, Mori S, Kurokawa M, Yoshino T, Kobayashi Y, Ogawa S. Genome-Wide Analysis of B Cell Non-Hodgkin's Lymphoma Disclosed Frequent Involvement of Genes in NFkB Pathway. 50<sup>th</sup> ASH Annual Meeting Abstracts. 112:807-,2008.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得  
なし。
2. 実用新案登録  
なし。
3. その他  
なし。

HLA 不適合移植における免疫反応の *in vitro* 解析および  
ドナー選択アルゴリズムの構築

分担研究者 村田 誠 名古屋大学医学部附属病院 血液内科 助教

研究要旨

HLA-A, B, DRB1 一致、Cw 1 座不一致の非血縁ドナーから骨髄移植を受け、移植片対宿主病および移植片対腫瘍効果を認めた急性リンパ性白血病患者の末梢血から、7 つの細胞傷害性 T リンパ球クローンを分離した。それらは全て、患者のみが有する HLA-Cw\*03 分子をその分子上に提示されているペプチドとともに認識していた。

A. 研究目的

同種造血幹細胞移植後の移植片対宿主病 (GVHD) および移植片対腫瘍 (GVL) 効果などの同種免疫反応は、主として T リンパ球によりもたらされる。その標的は腫瘍抗原と組織適合性抗原であり、後者はさらに HLA とマイナー組織適合性抗原 (マイナー抗原) とに分類される。同種造血幹細胞移植は HLA の一致したドナーから行うのが基本であり、従ってその場合は組織適合性抗原のうちマイナー抗原が T リンパ球の標的となる。

しかし、近年我が国の同種造血幹細胞移植を取り巻く環境は大きく変化し、同種移植全体に占める HLA 一致同胞間移植の割合は、2006 年にはわずか 3 割程度まで減少した。当然のことながら、全ての HLA が一致した非血縁者ドナーを見いだすことは、まず不可能である。

ところで、HLA 不適合移植における T リンパ球応答のメカニズムは、実はまだ十分に解明されていない。かつて行われていた非自己 HLA

(MHC) に対する T リンパ球応答の研究は、MHC 不適合マウス間の移植モデルを用いて行われたものが多く、またヒトでの研究の場合も、HLA 不一致の二者の血液細胞を試験管内で反応させる MLC 試験を実験モデルとして用いたものが多い。即ち、実際に同種造血幹細胞移植を受けたヒトから分離した非自己 HLA 特異的 T リンパ球について詳細な検討を行った報告はほとんど存在しない。

そこで我々は、HLA 不適合非血縁ドナーから骨髄移植を受け GVHD および GVL 効果を認めた急性リンパ性白血病患者の末梢血から、同種免疫応答に関与したと考えられる T リンパ球クローンを分離し、その標的抗原などについて解析を行った。この研究は、非血縁者間移植後の T リンパ球応答のメカニズムを解明し、続いて新しい免疫療法の開発を行うことを目的としたものである。

B. 研究方法

HLA-A, B, DRB1 一致、Cw 1 座不

一致の非血縁ドナーより骨髄移植を受けた患者から、急性 GVHD 発症時に末梢血単核球を採取・培養し、限界希釈法により T リンパ球クローンを分離した。T 細胞受容体可変領域の塩基配列を決定することによりクローン性を確認した。CD3、CD4、CD8 などの細胞表面マーカーの発現をフローサイトメリーにより評価した。尚、臨床検体の収集に際しては、利用目的、利用方法、残存検体を保存すること、匿名化とともにデータベース化されることなどを文書により説明し、かつ文書による同意を得た上で行った。

### C. 研究結果

7つの T リンパ球クローンを分離することに成功した。HLA-Cw の型判定を行ったところ、いずれもドナーのみが持つ Cw\*08 を有していたことから、分離した T リンパ球は全てドナー由来であることが確認された。また、EB ウイルスを感作させた B リンパ球株 (EBV-LCL) を標的として Cr 放出試験を行ったところ、すべての T リンパ球クローンは患者由来 EBV-LCL を傷害し且つドナー由来 EBV-LCL を傷害しないことが分かった。これらの結果は、いずれの T リンパ球クローンも、患者のみが有する何らかの抗原を認識していることを意味する。

それらの表現型を確認したところ、CD4 陽性 T リンパ球、CD8 陽性 T リンパ球の他に CD4/CD8 両陽性 T リンパ球も含まれていた。そこでまず、標的抗原が比較的容易と考えられた CD8 陽性の 2 つの細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) クローンに着目した。第三者由来 EBV-LCL を標的とした細胞傷害性

試験を行ったところ、2 つのクローンとも患者のみが有する HLA-Cw\*03 を抗原認識している可能性が示唆された。そこで、HLA-Cw\*03 分子を遺伝子導入した 721.221 細胞や、同じく HLA-Cw\*03 分子を導入したドナー細胞を標的とした細胞傷害性試験を行い、また HLA-Cw\*03 導入 COS 細胞による IFN-gamma 放出試験を行うことで、7 つのクローン全てが、患者のみが有する HLA-Cw\*03 分子を認識していることを確認した。

さらに、ペプチド結合ポケット部位のアミノ酸を置換した変異型 HLA-Cw\*03 分子を COS 細胞に遺伝子導入し、IFN-gamma 放出試験を行うことにより、各 CTL クローンは HLA-Cw\*03 分子を認識する際には、その分子上に提示されているペプチドも共に認識していることを確認した。

### D. 考察

HLA-A, B, DRB1 一致、Cw 1 座不一致の非血縁ドナーより骨髄移植を受けた患者から分離された 7 つの CTL クローンは、全て不適合 HLA-Cw 分子をペプチド依存性に認識していた。また、マイナー抗原特異的 CTL クローンは 1 つも分離されなかった。

川瀬らは、日本骨髄バンクを介した非血縁者間骨髄移植の臨床データを解析し、患者 HLA とドナー HLA の間で、ある特定のアミノ酸部位の相違 (抽出されたものの多くは Cw のペプチド結合部位を構成するアミノ酸相違だった) があると急性 GVHD の発症頻度が有意に高くなることを報告した (Blood 2007)。今回の我々の研究結果は、彼らの統計

学的解析結果を生物学的に裏付ける  
ものであると考える。

#### E. 結論

我が国で行われている同種造血幹細胞移植の中で多くを占める HLA 不適合造血幹細胞移植後の同種免疫反応には、マイナー抗原特異的 T リンパ球応答ではなく、不適合 HLA 分子特異的 T リンパ球応答が強く関与している。

#### F. 健康危険情報

なし。

#### G. 研究発表

論文発表

1. Sugimoto K, Murata M, et al. Clinical characteristics of chronic graft-versus-host disease following umbilical cord blood transplantation for adults. *Bone Marrow Transplant.* 41:729-736, 2008.
2. Narimatsu H, Murata M, et al. Potential role of a mismatched HLA-specific CTL clone developed pre-transplant in graft rejection following cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 14:397-402, 2008.
3. Sugimoto K, Murata M, et al. Decreased risk of acute graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with the 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase 677TT genotype. *Int J*

*Hematol.* 87:451-458, 2008.

4. Narimatsu H, Murata M, et al. High incidence of graft failure in unrelated cord blood transplantation using a reduced intensity preparative regimen consisting of fludarabine and melphalan. *Bone Marrow Transplant.* 41:753-756, 2008.
5. Murata M, et al. Donor cell leukemia after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation: a case report and literature review. *Int J Hematol.* 88:111-115, 2008.
6. Abe A, Murata M, et al. Retention but significant reduction of BCR-ABL transcript in hematopoietic stem cells in chronic myelogenous leukemia after imatinib therapy. *Int J Hematol.* 88:471-475, 2008.

学会発表

1. Inamoto Y, Murata M, et al. Donor Single Nucleotide Polymorphism in the CCR9 Gene Affects the Incidence of Acute Skin Graft-Versus-Host Disease. The 50th annual meeting of the American Society of Hematology, in San Francisco, CA. December 2008.
2. Sugimoto K, Murata M, et al. Characterization of Cytotoxic T Lymphocyte Clones Isolated from Bone Marrow Transplant Recipient with HLA-Cw-Mismatched Donor. The 50th annual meeting of the American Society of Hematology,

- in San Francisco, CA. December 2008.
3. Abe A, Murata M, et al. Retention but Significant Reduction of BCR-ABL Transcript in Hematopoietic Stem Cells in Chronic Myelogenous Leukemia after Imatinib Therapy. The 50th annual meeting of the American Society of Hematology, in San Francisco, CA. December 2008.
  4. Murata M, et al. Characteristics of CTL clones isolated from bone marrow transplant recipient with HLA-Cw-mismatched donor. 2009 BMT Tandem Meetings, in Tampa, FL. February 2009.
  5. Inamoto Y, Murata M, et al. Clinicopathological manifestations and treatment of intestinal transplant-associated microangiopathy (I-TAM). 2009 BMT Tandem Meetings, in Tampa, FL. February 2009.
  6. 村田 誠, 他. 成人血液悪性疾患に対する減量強度前治療を用いた骨髄内臍帯血移植法の有効性に関する研究. 第 70 回日本血液学会総会、京都、2008 年 10 月.
  7. 杉本恭子、村田 誠、他. 不適合 HLA-Cw 分子を認識する細胞傷害性 T 細胞 (CTL) クローン. 第 70 回日本血液学会総会、京都、2008 年 10 月.
  8. 稲本賢弘、村田 誠、他. 小腸特異的ケモカイン受容体遺伝子 CCR9 の一塩基多型は皮膚急性 GVHD 発症と相関する. 第 70 回日本血液学会総会、京都、2008 年 10 月.
  9. 村田 誠. 骨髄内臍帯血移植. 第 31 回日本造血細胞移植学会総会、札幌、2009 年 2 月.
  10. 柳澤真弓、村田 誠、他. 深在性真菌症を有する患者に対する新規抗真菌薬を併用した同種造血幹細胞移植. 第 31 回日本造血細胞移植学会総会、札幌、2009 年 2 月.
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
特許申請なし。



造血幹細胞移植における NK 細胞受容体、サイトカイン遺伝子多型の影響  
および HLA タイピング法の構築と検証

分担研究者 屋部登志雄 東京都赤十字血液センター  
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** 骨髄バンク（JMDP）ドナー登録時における HLA-C 座検査導入のために、高精度 DNA タイピング法による検査法について比較検討した。さらに今後の解析用試料確保を目的に、これまでに保存されていた DNA の全ゲノム増幅（WGA）系の構築と検証作業および解析希望検体セットを作成、配布する系の構築作業を行った。JMDP を介した非血縁者間骨髄移植において患者、ドナー間の NK 受容体 KIR (Killer Ig-like Receptor) および HLA 抗原 KIR リガンド型組合せの移植成績への影響を明らかにするために、KIR 遺伝子多型の少量 DNA 検体からの多数検体迅速解析系の構築と検証を行った。LILR 受容体のうち抑制型 *LILRB2* の遺伝子多型と移植成績との関連解析を開始した。抑制性サイトカインである *IL-10* 遺伝子のプロモーター領域 SNP および *IL-10* 受容体 遺伝子 SNP と移植成績について解析し、患者 *IL-10* 遺伝子プロモーター SNP ハプロタイプが急性 GVHD 重症化および無病生存率と関連することを明らかにした。

A. 研究目的

造血幹細胞移植成績に HLA 適合性が大きく影響している。本課題は患者、ドナーの HLA 型の迅速で正確なタイピングのために有効な HLA 検査法の構築と検証を第一の目的とする。JMDP ではドナー登録時における HLA-C 座検査導入が検討されているので、本年度は高精度 DNA タイピング法による HLA-C 検査法について比較検討する。また後方視的研究のため 6000 症例以上の患者、ドナー DNA が保存されているが、一部の検体では大規模な解析に必要な量の不足をきたしている。そこで今後の遺伝子解析に十分量の試料確保のために、近年開発された全ゲノム増幅（WGA）法が JMDP 検体 DNA 増

幅に適用可能かを検証することが第二の目的である。HLA クラス I は抗体、T 細胞受容体に加え、NK 受容体の KIR (Killer Ig-like Receptor) および LILR (Leukocyte Ig-like Receptor) からも認識される。NK は腫瘍細胞や感染細胞に対して傷害性をもち GVL 効果や移植関連感染症防御に関与し細胞治療での効果が期待されている。NK のアロ反応性を考慮した HLA の KIR リガンド型の組み合わせ（KIR 適合性）および KIR、LILR 遺伝子型多型と移植成績との関連を調べることで、より適切なドナー選択の可能性を明らかにする。また急性 GVHD はサイトカインストームにより重篤化するので、抗炎症作用をもつサイトカイン IL-10 は GVHD 抑制効

果が期待される。そこで *IL-10* およびその受容体遺伝子多型と移植成績との関連を調べその効果を解析する。これら *HLA* および *HLA* 以外の遺伝子多型が移植免疫反応に与える影響を網羅的、総合的に明らかにし、より適切なドナー選択を行い成績向上させることが第三の目的である。

## B. 研究方法

(1) 健常者 503 人を対象として最も高精度とされる SBT 法 (自家製) と現在 *HLA-A, -B, -DR* 検査に用いられている蛍光ビーズ法「WAKFlow *HLA* タイピング試薬 *HLA-C* (湧永製薬)」とによる大規模 *HLA-C* 頻度調査を実施し、両方法を比較検討した。

(2) JMDF を介した *HLA-A, -B, -DR* 血清型一致非血縁者間骨髄移植のうち T 細胞除去例を除いた造血系悪性疾患 (AML, CML, ALL, MDS, non-Hodgkin lymphoma) で T 細胞非除去、ATG 非投与、GVHD 予防法として Cyclosporine と短期 Methotrexate 投与を行った症例を解析対象とした。

(2) *KIR* リガンド型は *HLA-A, -B, -C* アリル型をもとに判定した。*KIR* 遺伝子多型解析には従来の *KIR* 遺伝子型 16 種類を判定する PCR-SSP 法に加えてその改良法および蛍光ビーズ法による PCR-SSO 法を用いて検査し、結果について各方法を比較検討した。

(3) *IL-10* 遺伝子解析では *HLA-A~DP* 6 座アリル一致移植症例患者、ドナーの *IL-10* 遺伝子プロモーター領域-1082, -819, -592 の 3 箇所の SNP ハプロタイプについて蛍光ビーズを用いた PCR-SSO 法により決定した *IL-10* 受容体 SNP (*IL-10R2*, rs2834167) も同様に解析した。

(4) 遺伝子多型と移植成績との関連につ

いて Cumulative Incidence および Kaplan-Meier 法による単変量解析と Cox Regression Test による多変量解析を用いた解析を行った。

## (倫理面への配慮)

本研究はヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づき、骨髄移植推進財団データ・試料管理委員会および日本赤十字社、愛知県がんセンターの倫理委員会の承認を得てその規定に従って行った。

## C. 研究結果

(1) *HLA-C* タイピングでは 503 件中、1 例に新アリル Cw\*0303V が検出された。Cw\*0303V は非同義置換を伴う新アリルで WAKFlow *HLA* タイピング試薬 *HLA-C* では通常の Cw\*0303 と判定された。この 1 例を除き蛍光ビーズ法で得られた結果と SBT 法との結果はすべて一致した (一致率 99.8%)。このことから、SBT 法と比べ多数検体処理能に優れた蛍光ビーズ法においても、*HLA-C* 座の検査が可能であることが確認された。

(2) 市販の WGA キット 3 種類を用いて全ゲノム増幅効率と増幅前後検体による *HLA* タイピング結果を比較し、最適な系 (約 1 万倍の増幅率) を決定し、東海大学と協力して同系を用いて患者ドナー保存検体の増幅作業を開始した。また解析希望検体セットをロボットシステムで作成、配布する系の構築作業中である。

(3) 以前の研究班において、*HLA-C* 抗原の *KIR* リガンド不適合の成績悪化効果はドナーの活性化型 *KIR* 遺伝子 *KIR2DS2* の有無が重要であること、および T 細胞活性を強力に抑制する ATG の患者への投与により

KIR リガンド不適合の悪化効果が大幅に軽減されるとの結果を得た。一方海外の解析からは KIR リガンド不適合は著しい成績向上効果を示すとの報告が続いており、JMDP においてさらに多数検体の詳細な KIR 遺伝子解析を行うとともに KIR 以外の関連する要因の解析が重要と考えた。これまで約 600 検体の KIR 遺伝子型を解析するのに数年を要したのは、多量のジェノミック DNA 検体を必要としたことと PCR-SSP 解析操作に大変な手間を要するためであった。そこで本課題では多数検体の迅速な KIR 遺伝子解析系構築のための条件検討を行い、より少量検体 DNA で新規に発見されたアリルも判定可能な PCR-SSP 法の系を作成した。また多数検体の迅速な測定が可能となる蛍光ビーズによる PCR-SSO 法でも KIR 遺伝子タイピングが可能であることを確認した。両方法とも WGA 増幅検体でもほぼ遜色なく判定することができた。これにより次年度以降の大規模な患者、ドナーの KIR 遺伝子タイピングを行う準備を整えた。もう一つの HLA クラス I 認識受容体 LILR については *LILRB2* 遺伝子座多型の多数スクリーニング系を完成させ日本人健康者集団のアリル頻度を明らかにして、患者、ドナー数百検体のタイピングを開始した。次年度以降にさらに解析数を増やしたのちに骨髄移植成績との関連解析を行う予定である。

(4) *IL-10* 遺伝子プロモーター領域について *HLA-A~DP6* 座一致ペア (N=271) 解析から患者 SNP ハプロタイプ ACC 陽性の場合に急性重症 GVHD (2-4) 発症軽減 ( $P=0.00011$ ) および無病生存率向上 ( $P=0.037$ ) していることが判明した。多変量解析においてもそれぞれ有意な関連が得ら

れた《急性重症 GVHD (2-4) ;  $HR=0.391$  (95%CI : 0.237-0.646),  $P<0.0005$ 、無病生存率 ;  $HR=1.697$  (95%CI : 0.988-2.916),  $P=0.055$ 》。一方 *IL-10* 受容体 SNP は患者、ドナー共に移植成績との有意な関連は見られなかった。これらについては次年度に *HLA-A~DQ5* 座一致 DP 不一致ペアを含めた解析症例数をさらに増やし詳細な検討を行う予定である。

#### D. 考察

今回 SBT 法と直接比較することで多数検体処理能に優れた蛍光ビーズ法が JMDP ドナー登録時の *HLA-C* 座検査に有効であることが確認された。また WGA による DNA 増幅系が確立し JMDP 保存検体の増幅作業を開始できたことから、今後大規模な遺伝子解析が可能となった。森島らが報告してきたように JMDP では KIR リガンド不適合は成績悪化効果が顕著だが、白人集団解析では急性白血病での著しい再発率の低下と生存率の向上効果の報告があり、それらに基づき NK のアロ反応性を利用した細胞治療も試行されている。従って国内外でのこれらの KIR リガンド不適合効果の相違の原因を明らかにすることが重要と考えられる。今年度 KIR 遺伝子多型の多数検体解析系を構築できたので、次年度以降、数千検体レベルの解析データが得られるのでより詳細に KIR リガンド不適合効果について検討が期待できる。また患者 *IL-10* プロモーター領域多型が急性 GVHD 重症化軽減のみならず無病生存率向上とも有意に関連したことは、米国血縁 HLA 一致移植での報告と同様な結果であり、造血幹細胞移植における *IL-10* の重要性を改めて示唆するものであるが、一方で関連

する SNP ハプロタイプが異なることから集団間での遺伝的背景の相違がその効果に関わることが明らかとなった。HLA のみならず HLA 以外の遺伝子解析においても、JMDP 症例で日本人集団独自の解析を行うことの必要性和、それらの結果を他集団における結果と詳細に比較検討をすることが重要であろう。

#### E. 結論

健康者約 500 名の HLA-C 抗原型タイピングを行い多数検体処理能に優れた蛍光ビーズ法により SBT 法と同等な結果が得られた。WGA による DNA 増幅系を比較検討し最適な方法により JMDP 保存検体の増幅作業を開始した。多数検体の迅速な KIR 遺伝子解析のためにジェノミック DNA および WGA 増幅 DNA を用いて PCR-SSP 法、PCR-SSO 法の構築、検討を行った。非血縁者間造血幹細胞移植においても患者 *IL-10* 遺伝子プロモーター SNP ハプロタイプ多型が移植成績に影響していることが判明した。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1). Yabe T, Matsuo K, Hirayasu K, Kashiwase K, Kawamura-Ishii S, Tanaka H, Ogawa A, Takanashi M, Satake M, Nakajima K, Tokunaga K, Inoko H, Saji H, Ogawa S, Juji T, Sasazuki T, Koderu Y and Morishima Y for the Japan Marrow Donor Program. Donor killer immunoglobulin-like receptor (*KIR*)

genotype and anti-thymocyte globulin (ATG) pre-administration are critical factors in outcome of HLA-C-KIR ligand mismatched T cell-replete unrelated bone marrow transplantation. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* 14:75-87, 2008.

2). Hirayasu K, Ohashi J, Tanaka H, Kashiwase K, Ogawa A, Takanashi M, Satake M, Jia GJ, Chimge NO, Sideltseva EW, Tokunaga K, Yabe T. Evidence for natural selection on leukocyte immunoglobulin-like receptors for HLA class I in Northeast Asians. *American Journal of Human Genetics*. 2008; 82(5):1075-83

##### 2. 学会発表

1). 柏瀬貢一、峯元睦子、市原考浩、平安恒幸、屋部登志雄、内川誠、中島一格、森島泰雄「HLA-C 座における高精度 HLA DNA タイピング法の検証」第 30 回日本造血細胞移植学会 平成 21 年 2 月、札幌

#### H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

免疫アレルギー・疾患等予防・治療研究事業「組織適合性に基づく非血縁同種造血幹細胞移植の成績向上に関する研究」班 (H20-免疫一般-014)

平成 20 年度 第 1 回班会議 プログラム

2008 年 6 月 7 日 (土) 午後 3 時 15 分～午後 4 時 15 分

会場 愛知県がんセンター国際医学交流センター メインホール

1. 研究班の目的と研究課題

主任研究者 森島泰雄 (5 分)

愛知県がんセンター中央病院

2. 全ゲノム関連解析による造血幹細胞移植の遺伝学的背景の模索 (10 分)

小川誠司

東京大学病院「がんゲノミクスプロジェクト」

3. 非血縁者間骨髄移植におけるHLAハプロタイプ解析 (10 分)

森島聡子 川瀬孝和 柏瀬貢一 森島泰雄

愛知県がんセンター研究所 腫瘍免疫 疫学予防部

東京都赤十字血液センター

愛知県がんセンター中央病院

4. NK細胞受容体およびサイトカイン遺伝子多型と非血縁者間造血細胞移植成績 (10 分)

屋部登志雄 柏瀬貢一 川瀬孝和 松尾恵太郎

森島泰雄

東京都赤十字血液センター

愛知県がんセンター研究所 疫学予防部

愛知県がんセンター中央病院

5. HLA不適合移植における免疫反応の in vitro 解析 (10 分)

村田 誠

名古屋大学 血液内科

6. 造血幹細胞移植における遺伝的背景の検討—同胞間移植症例を中止に— (10 分)

鬼塚真仁 猪子英俊

東海大学血液内科

東海大学分子生命科学

7. 非HLA因子と造血幹細胞移植後GVHD、拒否、感染、薬物副作用等の関連に関する研究 (10 分)

佐治 博夫 NPO HLA研究所

免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業  
(H20-免疫-一般-014) 第1回研究会議 2008.6.7

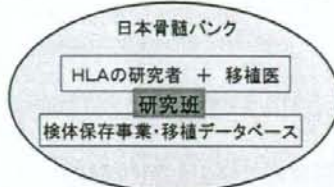
**組織適合性に基づく非血縁同種造血幹細胞  
移植の成績向上に関する研究**

主任研究者  
森島泰雄 (愛知県がんセンター中央病院)

分担研究者  
猪子英俊 (東海大学医学部 分子遺伝学)  
笹月健彦 (国立国際医療センター)  
屋部登志雄 (東京都赤十字血液センター)  
小川誠司 (東京大学 血液内科)  
村田 誠 (名古屋大学 血液内科)

研究協力者の先生方  
JMMP

日本骨髄バンク発足とともに厚生労働省研究班が発足



当初目的  
患者とドナーのHLA型(遺伝子型)と、移植後の成績との  
関連を調べることににより、どのHLA適合ドナーを選択した  
らよいかを見出す

**これまでの成果**

日本骨髄バンク 8000症例(H18年まで)  
臨床データ(99%) 保存検体事業 約7000ペア

- 第1期(440例) : HLA-A, Bの違いが生存を悪くする DRB1は影響しない。  
1996年 →HLA-A,B DNAタイピングの導入 [NEJM]
- 第2期(1298例) : HLA-C+HLA-DRB1の違いも生存を悪くする。  
2000年 →HLA-C(オプション確認検査) [BLOOD]
- 第3期(2423例) : HLA-C不適合の中でもNK細胞レセプターの不適合が生  
存を悪くする
- 第4期(2500例) : 移植片対白血病効果 [BBMT]  
2006年 急性リンパ性白血病でHLA-C不適合  
慢性骨髄性白血病でHLA-DPB1不適合
- 第5期(5210例) : HLA型不適合の組み合わせのなかに、許容できない組  
み合わせ(と許容できる組み合わせ)がある [BLOOD]  
→選択ドナーが拡大する可能性

直ちに移植の臨床(ドナー選択, GVHD予防)とバンクのHLA検査に導入

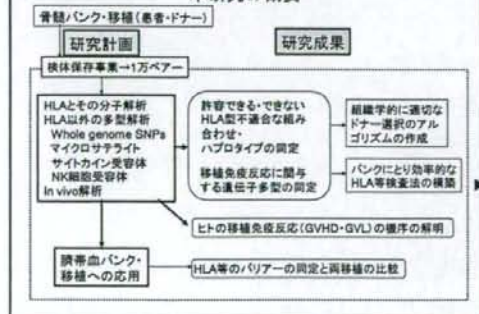
**HLA座不適合と移植成績**

Cox hazard modelによる多変量解析

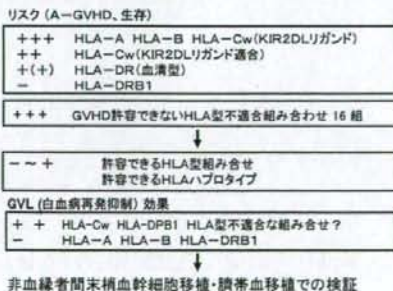
不適合HLA座*	%	重症GVHD		移植後の死亡	
		発起り率	P	発起り率	P
HLA-A **	13	1.41倍	<0.001	1.31倍	<0.001
HLA-B **	6	1.50倍	<0.001	1.30倍	0.001
HLA-C	29	1.93倍	<0.001	1.25倍	<0.001
HLA-DRB1**	20	1.08倍	0.424	1.03倍	0.624
HLA-DQB1	23	1.10倍	0.915	1.08倍	0.195
HLA-DPB1	66	1.25倍	0.001	1.11倍	0.021

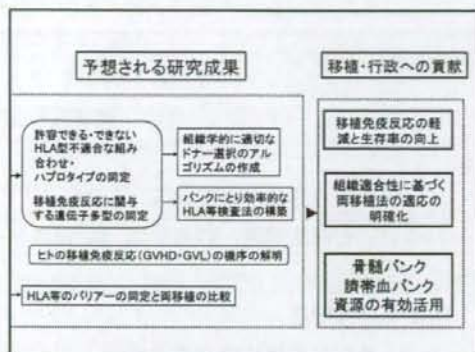
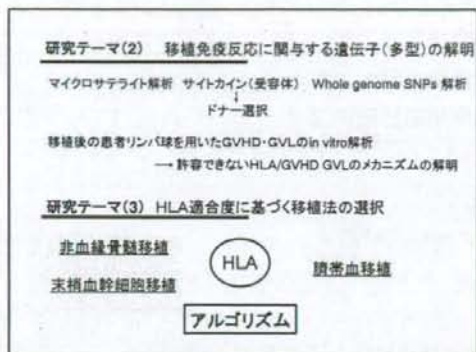
\*\*HLA血清型適合

**本研究の概要**



**研究テーマ(1) 組織適合性に基づくドナー選択**





免疫HLA-疾患等予防・治療研究事業「組織適合性に基づく非血縁者間造血幹細胞移植の  
成績向上に関する研究」班 (H20-免疫一般-014)

平成 20 年度第 2 回班会議プログラム

2009 年 1 月 17 日 (土) 午後 4 時～6 時

会場 東京医科歯科大学歯学部特別講堂

1. 研究班の目的と研究課題 (5 分)

主任研究者 森島泰雄 (愛知県がんセンター中央病院)

座長: 笹月健彦

2. 人種別非血縁移植成績の比較: 第 15 回国際組織適合性ワークショップ解析 (10 分)  
森島泰雄 川瀬孝和 (愛知県がんセンター)
3. HLA-C 型の違いと移植成績との関連: 第 15 回国際組織適合性ワークショップ解析 (10 分)  
川瀬孝和 森島泰雄 松尾恵太郎 (愛知県がんセンター)
4. 高度に保存された HLA ハプロタイプとその急性 GVHD への影響 (10 分)  
森島聡子 (愛知県がんセンター) 小川誠司 (東京大学)
5. 全ゲノム関連解析による GVHD 関連遺伝子座の探索 (10 分)  
小川誠司 (東京大学)
6. HLA-Cw 不適合非血縁者間骨髄移植を受けた患者より分離した CTL クローンの解析  
杉本恭子 村田 誠 (名古屋大学血液内科) (10 分)

特別発言 笹月健彦 (国際医療センター)

司会: 小川誠司

7. Non-HLA genetic associations with GVHD in Japanese HSCT recipients: High density screening of the immunogenome with microsatellite markers (10 min.)  
Christian Harkensee, Makoto Onizuka, Akira Oka, Hidetoshi Inoko  
Division of Molecular Life Sciences, Tokai University
8. NK 細胞受容体およびサイトカイン遺伝子多型と非血縁造血細胞移植成績 (10 分)  
屋部登志雄 柏瀬貢一 (東京都赤十字血液センター)
9. 小腸特異的αカリ受容体遺伝子 CCR9 の一塩基多型は皮膚急性 GVHD 発症と相關する  
稲本賢弘 村田 誠 勝見 章 (名古屋大学血液内科) (10 分)
10. HLA 一致造血幹細胞移植と IL-6、MBL-2 多型の関り (10 分)  
佐治博夫 丸屋悦子 (NPO HLA 研究所)
11. 移植免疫反応と遺伝子多型の解析 (10 分)  
高見明良 (金沢大学血液内科)



免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業  
「組織適合性に基づく非血縁者間造血幹細胞移植の成績向上に  
関する研究」班(H20-免疫一般-014)  
平成20年度第2回班会議2009年1月17日(土)

### 人種別非血縁移植成績の比較 : 第15回国際組織適合性ワークショップ解析

森島泰雄 川瀬孝和(愛知県がんセンター)  
JMDP



IHGW Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

### Purpose

- Comparison of the incidence of acute GVHD between ethnic groups based on the same background
  1. Large scale IHWG HCT database
  2. HLA allele matched transplant.
  3. GVHD prophylaxis : T cell replete stem cell source
- Results obtained from this analysis will become basic data for further international analysis of HLA mismatched unrelated HSCT and for donor exchange of unrelated donor.



IHGW Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

### Patients and Methods

5555 unrelated transplants  
from HLA-A, B, C, DRB1 and DQB1 allele match donor

- HLA-DPB1 match 1367 1 mismatch 1935 2 mismatch 1005
- Disease ALL 1310 AML 1930 AL 11 CML 1438 MDS 666
- Risk of relapse high 1019 intermediate 3236 low 1001
- Non-T cell depleted stem cell : All transplant.
- Stem cell source BM 2264 PBSCT 1251
- GVHD prophylaxis  
tacrolimus base 1987 cyclosporine base 3173 other regimen 71
- Conditioning regimen myeloablative 4423 non-myeloablative 617

#### Acute GVHD (2-4 degree, 3-4 degree) Survival\*

univariate analyses: chi-square test \*Kaplan-Meier Method  
multivariate analysis: logistic regression \*Cox regression model



IHGW Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

### Ethnicity

#### Patient - Donor

Asian/Pacific - Asian/Pacific	2062 pairs
(Japanese - Japanese JMDP)	2039 pairs
Caucasian - Caucasian	2419 pairs
Black - Black	39 pairs
Hispanic - Hispanic	21 pairs
Native American - Native Amer.	2 pairs
Mismatch race pair (non-JMDP)	268 pairs
Unknown donor race	744 pairs



IHGW Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

### Acute GVHD and ethnicity

Ethnicity (pL-donor)	n	Acute GVHD	
		(2-4) %	(3-4) %
A - A	2062	39.5	15.2
C - C	2419	54.7	22
	p	<0.0001	<0.0001
H - H	21	47.6	23.8
B - B	39	48.7	30.8
N - N	2	50	0
Mismatch	268	55.7	22.9
Missing	744	80	19.9

A:Asian/Pacific C:Caucasian H:Hispanic B:Black N:Native America



IHGW Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

### Acute GVHD and ethnicity

#### HLA-DPB1 match (GVH vector)

Ethnicity (pL-donor)	n	Acute GVHD	
		(2-4) %	(3-4) %
A - A	753	30.4	12.1
C - C	457	52.6	19.2
	p	<0.0001	0.01
H - H	13	53.9	23.7
B - B	3	66.6	33.3
N - N	0		
Mismatch	39	53.8	18.4
Missing	102	53.3	21.1

A:Asian/Pacific C:Caucasian H:Hispanic B:Black N:Native America



IHGW Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

### Acute GVHD and ethnicity Multivariate analysis

Ethnic group	A-GVHD II-IV		A-GVHD III-IV	
	OR (95% CI)	p	OR (95% CI)	p
CC vs AA	2.13 (1.83-2.47)	<0.001	1.73 (1.44-2.08)	<0.001
BB vs AA	1.67 (0.82-3.39)	0.154	2.81 (1.33-5.95)	0.007
HH vs AA	1.86 (0.71-4.82)	0.2	2.13 (0.74-6.09)	0.199
MM vs AA	2.21 (1.64-2.97)	<0.001	1.88 (1.34-2.64)	<0.001
NN vs AA	NE		NE	

A: Asian/Pacific C: Caucasian H: Hispanic  
MM: Mismatch race (non-JMDP) NN: Native North American



IHWG Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

### Leukemia Relapse Low and intermediate leukemia

Ethnicity (pt-donor)	n	Relapse Rate (%)
A - A	1122	17.5
C - C	1260	25.5
		p<0.0001
H - H	18	22.2
B - B	29	20.7
Mismatch	187	28.4

A: Asian/Pacific C: Caucasian H: Hispanic B: Black



IHWG Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

### Overall Survival multivariate analysis

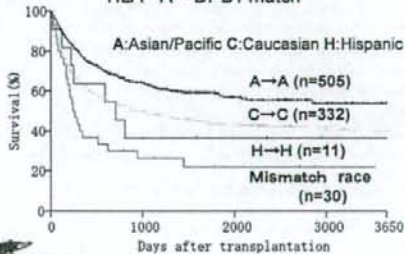
Ethnic group	Overall Survival (Mortality)	
	HR (95% CI)	p
CC vs AA	1.57 (1.43-1.73)	<0.001
BB vs AA	2.68 (1.83-3.93)	<0.001
HH vs AA	2.32 (1.36-3.94)	0.002
MM vs AA	1.75 (1.47-2.08)	<0.001
NN vs AA	1.91 (0.26-13.6)	0.517

A: Asian/Pacific C: Caucasian H: Hispanic  
MM: Mismatch race (non-JMDP)  
NN: Native North American



IHWG Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

### Survival Low and intermediate leukemia HLA - A - DPB1 match



IHWG Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

### Summary

- Ethnicity influences to clinical outcome of UR-HSCT from HLA match donor with non-T cell depleted GVHD prophylaxis.
- Asian/Pacific (=Japanese) showed apparently lower incidence of acute GVHD, leukemia relapse and mortality than Caucasian.
- Asian/Pacific (=Japanese) showed possibly lower incidence of acute GVHD and mortality than Black, Hispanic.



IHWG Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

### Discussion

Cause of different outcomes by ethnic group  
:Asian/Pacific (=JMDP) vs. Caucasian

- Clinical factors : No (adjusted)
- Transplant procedure : No (adjusted)
- Transplant center effect : No
- Biological effect
  - HLA haplotype matching ?
  - specific ethnic HLA haplotype
    - reduces A-GVHD, JMDP
  - Minor HAs ?
  - ??



IHWG Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

HLA-C 型の違いと移植成績との関連  
: 第 15 回国際組織適合性ワークショップ解析

川瀬孝和(1) 松尾恵太郎(1) 柏瀬貢一(2) 森島泰雄(3)

1. 愛知県がんセンター研究所 疫学予防部
2. 東京都赤十字血液センター
3. 愛知県がんセンター中央病院 血液・細胞療法部

これまで非血縁者間造血幹細胞移植における、HLA-A,B,C,DR,DQ,DP locus の臨床的重要性が明らかにされ、HLA 一部ミスマッチのドナー選択において有用な情報となっている。また、最近の解析により不適合 HLA 型の組み合わせと重度急性 GVHD 発症に関する臨床的意義が明らかとなり(Blood. 2007;110(7):2235-41)、ドナー選択の新たな基準となるものと期待されている。さらに、不適合 HLA 型の組み合わせと GVL の関係についても、本研究班の解析により明らかになり(Blood in press)、さらなる移植成績の向上が期待される。現在このように日本から発信されたエヴィデンスである『不適合 HLA 型の組み合わせとアロ免疫反応の関係』が海外でも注目されており、日本人以外の人種に関しては CIBMTR を中心に Validation Study が進んでいる。しかし、真に人種差を超えて高いアロ反応性を示す不適合 HLA 型の組み合わせを求めらるのであれば、同時に同様の解析手法を用いて多人種に関する解析を行い、比較検討する事が望ましい。今回我々は、第 15 回国際組織適合性ワークショップのワーキンググループの一員として、HLA-C に関して、このような多人種にわたる解析を行う機会をえた。まだプレリミナリーではあるが、解析結果に関して報告する。

## 高度に保存された HLA ハプロタイプとその急性 GVHD への影響

森島聡子(1), 小川誠司(2), 川瀬孝和(1), 松原亜以子(2) 南谷泰仁(2), 柏瀬貢一(3), 佐治博夫(4), 猪子英俊(5), 加藤俊一(5), 小寺良尚(6), 笹月健彦(7), 森島泰雄(1)  
日本骨髄バンク

(1)愛知県がんセンター (2)東京大学 (3)東京都赤十字血液センター

(4)NPO HLA 研究所 (5)東海大学 (6)愛知医科大学 (7)国際医療センター

### 【背景】

非血縁者間骨髄移植(UR-BMT)において、ドナーと患者の HLA locus のマッチングと移植成績については数多くの報告があり、JMDP の解析においてもその臨床的な重要性が明らかにされてきている。しかし、造血幹細胞移植における HLA ハプロタイプ (HP) の臨床的な意義については、これまでほとんど解明されていない。

また、日本人に高頻度の HLA HP (common HLA HP)は、HLA allele の遺伝子型の combination として家系調査 (*MHC* 2001: 8: 1-32) や非血縁者の解析 (*Immunogenetics* 1997: 46:199-205, *Tissue Antigens* 2000: 56: 522-9) で明らかにされている。しかし、これらの HP が HLA allele 以外の領域も含めてどの程度保存されているかは、まだ解明されていない。

### 【目的】

JMDP の大規模なデータを用いて、日本人の common HLA HP の保存性を検討し、さらに UR-BMT における HLA-HP の臨床的な意義を明らかにする。

### 【方法】

JMDP を介して UR-BMT が施行された 6188 ペア (12376 人)の HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1 の遺伝子型を同定した。その中で 1810 ペア (3620 人)の HLA 領域の 1310 SNPs を Affymetrix GeneChip mapping 500K array で同定した。Homozygous な common HLA HP を持つ個人(HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1 が全て homozygous allele) を抽出し、HP の均一性を SNPs データを用いて検討した後に、SNPs の consensus sequence を決定した。さらに、HLA allele 型から同定した heterozygous な HP の個人が SNP の consensus sequence を認めるか検討した。HLA 型が全て一致した 712 例 (HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1) において、HLA HP と Grade 2-4 急性 GVHD 発症の関係を cumulative incidence 法と Cox regression model で解析した。

### 【結果】

#### (1) 日本人の common HLA haplotype の保存性の検討

- ・ 12376 人の中で homozygous HP-P1 (HLA-A\*2402 -Cw\*1202 -B\*5201 -DRB1\*1502