

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 班会議資料

非血縁者間骨髄移植における 許容可能な遺伝子型 HLA 型不適合組合せの検討

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

【背景】近年本研究班の成果として、日本骨髄バンクを介した非血縁者間骨髄移植 (UR-BMT) の解析により、HLA 遺伝子型不適合組合せと急性 GVHD のリスク及び予後の関連を報告した (Blood 2007)。この報告で重症急性 GVHD 発症リスクを有意に上昇させる 16 の HLA 不適合組合せ(高リスク不適合組合せ)が明らかとなった。さらに、これらの不適合を幾つ有するかは重症急性 GVHD の発症・移植予後に相関し、HLA 一部不一致ドナー選択の際の重要な情報となっている。この解析では高リスク不適合組合せ以外の不適合組合せの中に統計解析上の制限により、許容不可能組合せが残存する可能性を残していた。今回許容可能な不適合組合せを検討することを目的に解析を行った。【方法】JMDPを介したUR-BMT5210 例を多変量解析の手法を用い、高リスク不適合組合せ群を基準とし、HLA 一致群および各不適合組合せの重度急性 GVHD 発症リスク(Hazard ratio (HR)) および 95%信頼区間 (95%CI) を算出した。さらに、HLA 一致群と各不適合組合せの HR、95%CI を比較検討し、許容可能な HLA 不適合組合せを検討する事を試みた。【結果】HLA-A 座では HLA 一致群が HR=0.38 (95%CI: 0.28-0.52) あるのに対し、A2402_2420(ドナーが HLA-A*2402、患者が HLA-A*2420 を持つ不適合組合せ)で HR=0.32 (95%CI: 0.16-0.66) (P=0.002)、A2601_2602 で HR=0.36 (95%CI: 0.14-0.89) (P=0.028)と、許容可能な不適合組合せの候補となり得る組合せが 2 組存在した。HLA-B, C, DRB1, DQB1, DPB1 座でも同様に検討した結果、同様の組合せが計 23 組存在した。【結語】今回の解析で許容可能な不適合組合せを提示し得る事が示唆された。今後、本解析結果をもとに、移植予後に関する解析も合わせて検討し、許容可能な遺伝子型 HLA 不適合組合せに対するコンセンサスを形成し、HLA 一部不一致ドナー選択のアルゴリズムを再構築することにより、移植適合ドナーを拡大させる事ができると考えられた。

平成21年6月20日

「非血縁者間骨髄移植を受けた患者より分離した不適合 HLA-Cw 特異的 CTL の臨床的意義の検討」

名古屋大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学

杉本恭子、村田 誠

HLA-A, B, DRB1 遺伝子型適合ドナーからの非血縁者間骨髄移植における HLA-Cw 不適合は、重症急性 GVHD の発症危険度を上昇させる一方、白血病の再発率を低下させることが報告されている。GVHD および GVL 効果などの同種移植後免疫反応は、主としてドナー T リンパ球によって誘導される。しかし HLA-Cw 抗原は一般に細胞表面上の発現レベルが低く、従ってその抗原性は低いと考えられている。事実、HLA-Cw 不適合移植を受けかつ実際に GVHD または GVL 効果が認められた患者の体内において、不適合 Cw 分子に対する T リンパ球免疫応答が誘導されているかどうかについて詳細な解析はまだなされていない。

我々は、HLA-A, B, DRB1 適合、Cw1 座不適合（患者 Cw*0303、ドナー Cw*0801）の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 CTL クローンを分離し、*in vitro* 解析を行った。前回、これらの CTL クローンは、この不適合 HLA-Cw*0303 分子をペプチド依存性に認識していることを報告した。今回、これらの CTL と GVHD あるいは GVL 効果との関連について解析し、臨床的意義の検討をさらに加えたので報告する。

日本列島人の HLA-A~DPB1 アリル型ハプロタイプ頻度
==血液腫瘍患者および家族の HLA 組み換え率は高いか?==

佐治博夫、丸屋悦子

HLA 研究所

造血幹細胞移植における適合性は、HLA の一致だけではなく、ハプロタイプ一致も重要である(森島聡子ら)。NK KIR リガンドや移植成績の観点から HLA-C 適合性が重視されるようになり、HLA-DPB1 適合性が移植予後に与える影響が注目されている。また、血液腫瘍(白血病など)細胞は高率に組み換えや転座などの染色体異常が認められ、これらの患者または家族は、遺伝子組み換え率が高い可能性が示唆される。患者を含む HLA 家族データからハプロタイプ頻度と、組み換え率、遺伝子間距離などを計算し、白血病患者および家族において HLA 座間組み換え率が高いかどうかを検証する。

【作業仮説(帰無仮説)】

1、血液腫瘍患者家族の HLA ハプロタイプ頻度は健常人群と異なる。2、血液腫瘍患者家族の HLA 座間組み換え率は高い。3、血液腫瘍患者はその同胞より HLA 座間組み換え率が高い。4、精子と卵子の HLA 座間組み換え率は差がない。

【材料・方法】

造血幹細胞移植ドナー検索を目的とした HLA タイピングを実施した家系のうち、ハプロタイプ頻度(直接カウント法)に用いたのは、HLA-A,C,B,DRB1: 1,389 家系、HLA-A, C, B, DRB1, DQB1, DPB1: 727 家系である。

組み換え率については 1、血液腫瘍患者を含む同胞 3 名以上が得られた家族データ(A-DRB1: 480 家系、A-DPB1: 401 家系)からハプロタイプ頻度を、既報健常人群ハプロタイプ頻度と比較。2、座間組み換え率、遺伝子間距離(cM)を計算し、既報データと比較。3、患者/健常同胞間および卵子/精子間の組み換え率を比較した。

【結果・考察】 (R=DRB1、Q=DQB1、P=DPB1)

- 1、ハプロタイプ頻度、HLA-A-R 座で 1,389 家系(5,308 haplotypes, 1,552 種)、HLA-A-P 座で 727 家系(2,826 haplotypes, 1,460 種)のアリル型ハプロタイプ頻度解析の結果、トップ 15 を表 1(A-R)と表 2(A-P)に示す(次ページ)。当研究所のホームページにハプロタイプ頻度とアリル頻度を公開している。<http://www.hla.or.jp/hapro/top.html>。今後もデータを蓄積し定期的に更新したい。
- 2、A-Q ハプロタイプ頻度(別演題で提示)は既報健常人ハプロタイプと有意差ない。A-P, Q-P ハプロタイプ頻度は比較対象なく差違は不明である。
- 3、遺伝子距離(cM): A-C: 0.47 (0.6-0.8), A-B: 0.57 (0.7-0.9), A-R(Q): 1.35 (1.5-2.0), A-P: 2.74 (2.7-3.1), C-B: 0.10 (0.1), B-R(Q): 0.78 (0.9-1.0), B-P: 2.06 (2.2-2.5), R(Q)-P: 1.28 (1.4-1.5)。既報値と有意差を認めない。()内は既報値。
- 4、患者/健常同胞 組み換え率 Odd ratio: A-P: 0.957 (p=0.896), A-R: 2.05 (p=0.08), R-P: 0.242

(p=0.039)。

5、精子/ 卵子 組み換え率 Odd ratio: A-P: 0.33 (p<0.001), R-P: 0.10 p<0.001)。

【結論】

- 1、日本列島人に進化的に保存されている(頻度上位の)、HLA - A,C,B,R ハプロタイプ頻度は、既報健常人ハプロタイプ頻度と大差なく、仮説 1 は棄却される。よって、得られたハプロタイプ頻度は、日本列島人の頻度として利用できる。ただし、Q-P ハプロタイプについては、既報健常人データがなく今後の課題となる。
- 2、血液腫瘍患者家族群の HLA 座間遺伝子距離は、既報と差がなく(むしろ低値)、仮説 2 は棄却できる。よって、血液腫瘍患者の家族における HLA 座間組み換え率は高いとはいえない。
- 3、血液腫瘍患者とその同胞間の A-P 組み換え率は差がない。仮説 3 は棄却される。家族内において患者の HLA 座間組み換え率が高いとはいえない。ただし Q-P 組み換え率は、健常群において高い (p<0.05)。今後の検討課題である。
- 4、卵子は、精子より組み換え率が有意に高い (p<0.001)。よって、仮説 4 は棄却され、HLA 座間組み換えハプロタイプは、母由来ハプロタイプに起こりやすい。

表 1 n=1,389

順	HLA-A,C,B,DRB1	頻度%
1	*2402-*1202-*5201-*1502	8.57
2	*3303-*1403-*4403-*1302	4.31
3	*2402-*0702-*0702-*0101	3.50
4	*2402-*0102-*5401-*0405	2.43
5	*0207-*0102-*4601-*0803	1.98
6	*1101-*0401-*1501-*0406	1.28
7	*2402-*0102-*5901-*0405	1.06
8	*1101-*0102-*5401-*0405	0.77
8	*2601-*0304-*4002-*0901	0.77
10	*2402-*1402-*5101-*0901	0.72
11	*2402-*0801-*4006-*0901	0.68
12	*3101-*1402-*5101-*0802	0.66
13	*2402-*0102-*4601-*0803	0.56
14	*0206-*0801-*4006-*0901	0.55
15	*1101-*0702-*3901-*0803	0.53

表 2 n=727

順	HLA-A,C,B,DRB1,DQB1,DPB1	頻度%
1	*2402-*1202-*5201-*1502-*0601-*0901	6.90
2	*3303-*1403-*4403-*1302-*0604-*0401	2.83
3	*2402-*0702-*0702-*0101-*0501-*0402	2.62
4	*2402-*0102-*5401-*0405-*0401-*0501	1.98
5	*1101-*0102-*5401-*0405-*0401-*0501	0.92
6	*0207-*0102-*4601-*0803-*0601-*0501	0.89
7	*2402-*1202-*5201-*1502-*0601-*0201	0.78
8	*1101-*0401-*1501-*0406-*0302-*0201	0.71
9	*2402-*0102-*5901-*0405-*0401-*0402	0.67
10	*0207-*0102-*4601-*0803-*0601-*0202	0.60
11	*2402-*0702-*0702-*0101-*0501-*0501	0.50
12	*2601-*0304-*4002-*0802-*0302-*0501	0.46
13	*1101-*0401-*1501-*0406-*0302-*0501	0.46
13	*2402-*1202-*5201-*1502-*0601-*0501	0.46
13	*3303-*1403-*4403-*1302-*0604-*0201	0.46

Multi-SNP 解析による HLA haplotype の保存性の検討

森島聡子(1), 小川誠司(2), 柏瀬貢一(3), 笹月健彦(4), 森島泰雄(1)

(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)国際医療センター

【背景】

前回の班会議にて、我々は JMDP の HLA タイピングデータ及び HLA 領域 4.9Mb 範囲の multi-SNP データを用いて、日本人に頻度の高い HLA ハプロタイプは非血縁者間においても HLA allele 以外の領域も含めて高度に保存されていることを示した。さらに、HLA ハプロタイプに由来する genetic background が急性 GVHD の発症と関係する可能性を示した。

今回、さらに multi-SNPs データの解析範囲を広げ、HLA ハプロタイプの保存性を再検討した。

【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 6 番染色体短腕の 20 – 46 Mb 領域の 1310 SNPs を Affymetrix GeneChip mapping 500K array で同定した。Homozygous な common HLA HP 持つ個人(HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1 が全て homozygous allele) を抽出し、SNPs の homozygosity 検討した後に、各 HP における SNP の consensus sequence を決定した。さらに、HLA allele 型から同定した少なくとも one copy の HP を持つ個人が consensus sequence を連続性に有するかどうか検討した。

【結果】

もっとも頻度の高い homozygous HP-P1 (HLA-A*2402 -Cw*1202 -B*5201 -DRB1*1502 -DQB1*0601 -DPB1*0901) 72 人の homozygosity を検討したところ、65 人は HLA-A から HLA-DPB1 の 3.3Mb で連続性の homozygous SNP を有し、さらに 32 人は 6.9Mb に渡って (HLA-A より 3.6Mb telomere 側まで)、homozygous SNP を連続性に有していた。この 32 人全てで、nucleotide 29414635 (HLA-A の 0.6Mb telomere 側)から nt 33187790 (HLA-DPB1 の 2.4kb centromere 側)までは同じ allele を有していた。Nt 29414635 から telomere 側は 2 つの subtype に clear に分けることができ、32 人のうち 24 人は subtype A を、6 人は subtype B の HP であった。Homozygous HP-P2 (HLA-A*3303 -Cw*1403 -B*4403 -DRB1*1302 -DQB1*0604 -DPB1*0401) の 10 人のうち 9 人は、7.6Mb の範囲で一致した連続性の homozygous SNP を有していた。homozygous HP-P3 (HLA -A*2402 -Cw*0702 -B*0702 -DRB1*0101 -DQB1*0501 -DPB1*0402)は 8 人中 5 人で 3.3Mb の範囲で連続性の homozygous SNP を有していた。そのうちの 1 人で 25.4Mb に及ぶ長い領域で homozygosity を認めた。この結果より決定した各 HP に

おける consensus sequence を one copy の HP を持つ個人が有するかどうかを検討した結果を Fig.1 に示す。

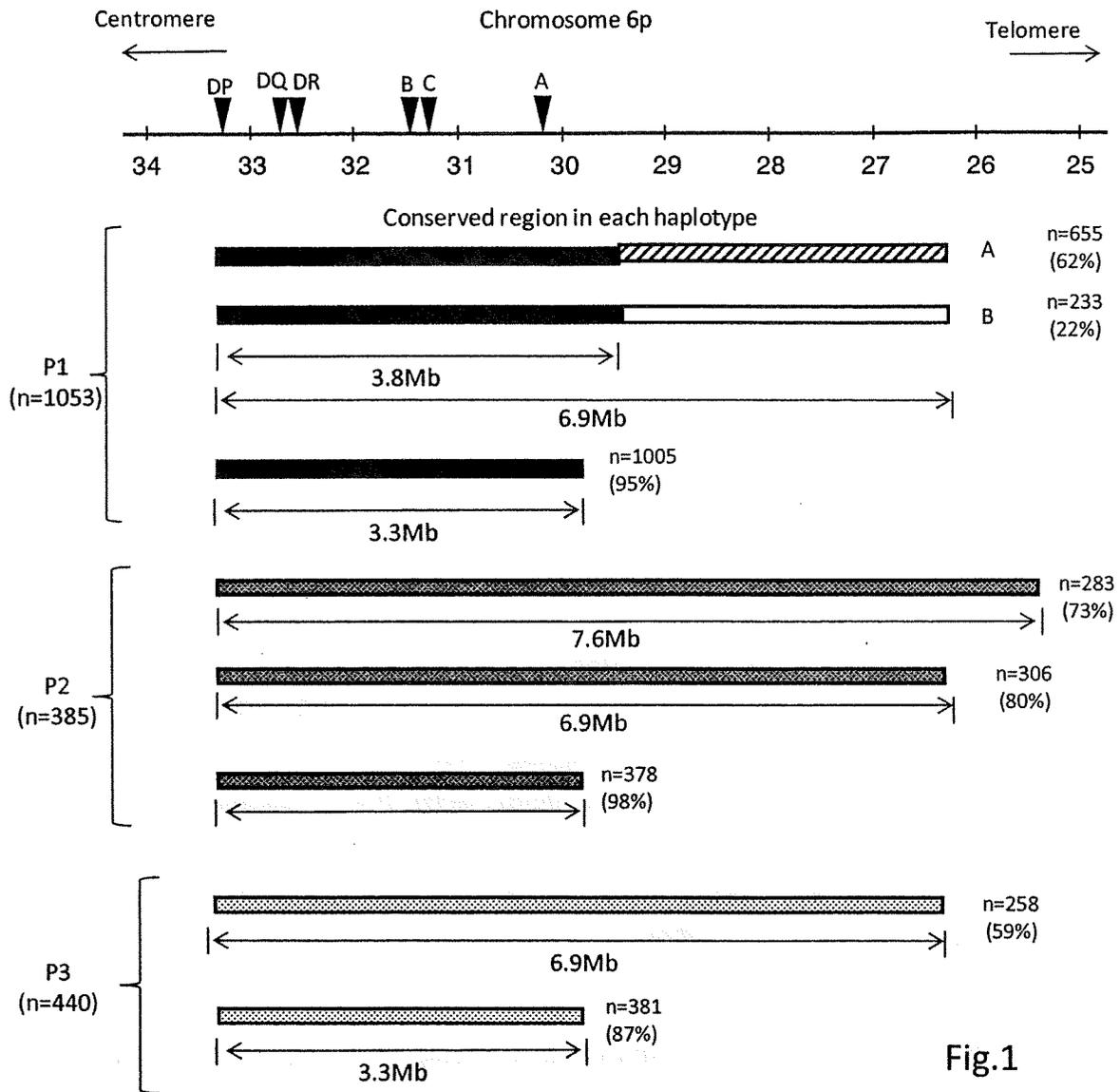


Fig.1

【まとめと考察】

- 1) 日本人に頻度の高い HLA haplotype は、少なくとも HLA-A から HLA-DPB1 の 3.3Mb の範囲では HLA allele 以外の領域も含めて大多数で保存されており、さらに保存されている領域は、HLA-A の telomere 側に長く存在することが明らかとなった。
- 2) HP-P1 の telomere 側の領域は、主に 2 つの haplotype に分けられることが今回の解析で初めて明らかとなった。
- 3) 今後、GVHD の発症も含めた疾患感受性と HLA haplotype 上の責任遺伝子との関係を検討する際には、長く保存された領域も含めた解析が重要である。

Screening of the immunogenome with microsatellite markers in pooled DNA for non-HLA genetic associations with GVHD: Preliminary results)

Christian Harkensee, Makoto Onizuka, Akira Oka, Hidetoshi Inoko

Division of Molecular Life Sciences, Tokai University, Isehara, Kanagawa

Background

Graft-versus-Host Disease (GVHD) remains the most important barrier to successful haematopoietic stem cell transplantation (HSCT), leading to significant morbidity and mortality. While clinical factors (i.e. conditioning regimen, age, gender, GVHD prophylaxis regimen) play an important role in GVHD pathogenesis; these factors act on a genetic background that is not only determined by matching of the HLA antigens between recipient and donor, but also by genetic variations in immune response genes.

To date, around fifty non-HLA genes have been implicated with GVHD or other HSCT outcomes, using the candidate gene approach. This study aims to undertake a more comprehensive analysis of the immunogenome (the gene set of the immune system) in relation to GVHD following HSCT in Japanese patients with acute leukaemia.

Methodology

The methodology has been described and presented before (JMDP meeting 17 January 2009 in Tokyo). In summary, we are studying 1220 donor and recipient pairs for genetic association with GVHD using a three-step screening and confirmation process. The first screening step, which has been completed, involved 460 pooled recipient-donor pairs, which were typed for 4000 microsatellite markers. Analysis included intrinsic risk of recipient and risk from donor for severe GVHD, as well as risk from mismatch between donors and recipients. The second screening step, which is currently in progress, replicates the first step, but independently on a separate set of 460 recipient-donor pairs, typing only markers that were significantly associated with GVHD during the first screening. The third, confirmatory step (on 400 pairs) will study the associated microsatellite loci applying individual typing of SNP markers.

Results

Here we are presenting the results of the first screening step, representing the preliminary results of our study before confirmation by second pooled screening and individual typing.

In the first screening, each of the four directions of analysis (comparing each recipients with GVHD 0-I with recipients GVHD II-IV, their donors accordingly, and mismatch between donors and recipients GVHD 0-I and GVHD II-IV) yielded a rate of approximately 20% positive markers. This high proportion is expected because no multiple testing correction was applied in order to achieve a high sensitivity for potentially associated loci in the first screening. Hence, a total of 1994 GVHD-associated markers are currently re-typed in the second screening, which will provide the required specificity by the independent testing on a separate set of 460 recipient-donor pairs, and application of multiple testing statistics.

We will present indicators for validity of the first screening results, which include highly significant p-values, clustering of marker associations at specific gene loci, and individual SNP typing of selected loci.

移植免疫反応と遺伝子多型の解析

Jルイス・エスピノーザ 高見昭良 中尾眞二



金沢大学

背景

■ NKG2Dは、遺伝子多型により、高NK活性型(NKG2D-HNK1)・低NK活性型(NKG2D-LNK1)がある¹。

■ HLAアレル一致非血縁者間骨髄移植の解析で、HNK1陽性ドナーから移植を受けた患者の生存率(OS)・移植関連死亡率(TRM)は有意に優れていた(図1-2)²。

1. T. Hayashi *et al.*, *Cancer Res* 66, 563 (Jan 1, 2006).
2. J. L. Espinoza *et al.*, *Haematologica* (in press), (2009).

図1. ドナーNKG2D多型とOS

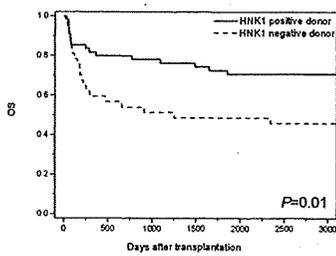
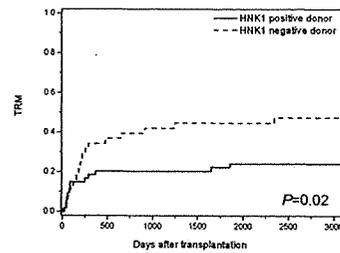


図2. ドナーNKG2D多型とTRM



目的と方法

■ 移植免疫におけるNKG2D遺伝子多型の影響を検討するため、NK細胞の機能解析を行った。

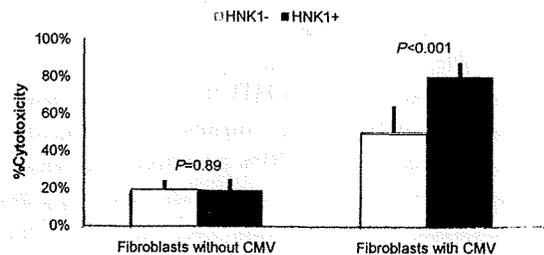


図3. hCMV感染線維芽細胞に対するNK細胞の細胞傷害活性
健康人のNK細胞をエフェクターとして、ヒトCMV感染線維芽細胞に対する細胞傷害活性を検討した。HNK1陽性NK細胞は、HNK1陰性NK細胞に比べ、高い細胞傷害活性を示した。

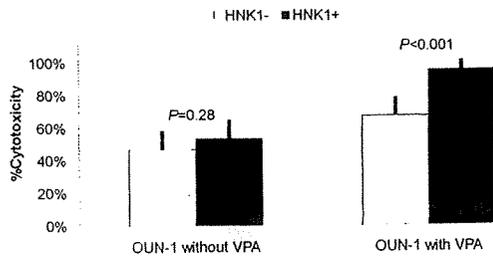


図4. AML細胞株に対するNK細胞の細胞傷害活性

AML細胞株(OUN-1)をVPAで処理しNKG2Dリガンドを誘導したところ、HNK1陽性NK細胞は有意に高い殺細胞活性を示した。

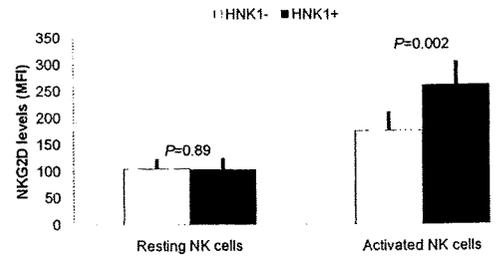


図5. NK細胞上のNKG2D発現

HNK1陽性NK細胞は、活性化に伴い、細胞表面上にNKG2Dを高発現した。なお、他の活性化レセプター(NK p44, NK p46, NK p30)の発現に差はなかった。

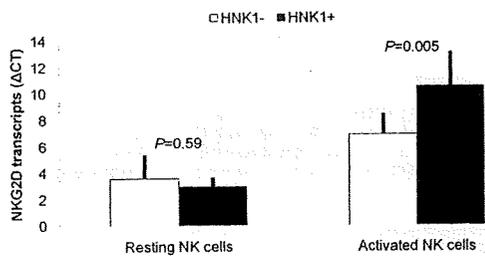


図6. NK細胞のNKG2D mRNA発現

HNK1陽性NK細胞は、活性化に伴い、NKG2D mRNAを高発現した。

まとめ

- NKG2D遺伝子多型が、NK細胞の感染・抗腫瘍免疫に影響する可能性が示された。
- HNK1陽性NK細胞は、活性化に伴いNKG2Dを高発現し、これにより高い抗CMV・AML活性を発揮すると考えられた。
- HNK1陽性ドナーは、同種造血幹細胞移植に有利と考えられた。

分担研究課題

**NK細胞受容体等の解析及び
HLAタイピング法の構築と検証**

東京都赤十字血液センター

屋部登志雄、平安恒幸、峯元睦子、柏瀬貢一

1

平成21年度解析計画

1. NK受容体とリガンド遺伝子型適合性

2. サイトカインと受容体遺伝子多型

共同研究者:

東海大学 鬼塚真仁、Christian Harkensee、猪子英俊
HLA研究所 丸屋悦子、佐治博夫

3. HLAタイピング法の構築と検証
及び検体保存事業協力

2

1. NK受容体とリガンド遺伝子型適合性

KIR解析

これまでJMDPのHLA-C抗原不一致症例についてC抗原をリガンドとするKIR2DLおよび2DS遺伝子型と移植成績についての解析を行ってきた。今年度はHLA-Bw4、A3、A11特異性を認識するKIR3DLおよび3DS遺伝子について同様に解析を行っている。またHLA一致症例におけるKIRリガンド型、KIR遺伝子型、ハプロタイプ型の影響についても解析を行う予定である。

LILR解析

HLAクラスI抗原をリガンドとするLILRファミリー分子は急性GVHD重症化との関連が報告されたマウスPIR分子のヒトホモログである。健康者のLILRB2、LILRA3遺伝子解析から機能的多型を見出したので、これらと移植成績との関連を解析している。

3

2. サイトカインと受容体遺伝子多型

急性GVHD発症にはサイトカインストームが重要な役割を果たしている。炎症性サイトカインが反応を亢進する一方、抑制性サイトカインはアロ反応や炎症反応を抑えGVHDの発症を制御すると推定される。

JMDPのHLA6座一致移植症例の解析から抑制性サイトカインIL-10遺伝子プロモーター領域3か所のSNPハプロタイプと急性重症GVHD発症と無病生存率とが関連することを昨年度報告した。海外での血縁者間移植症例での報告と現象としてほぼ同様な結果だが、関連するハプロタイプは全く異なっていたことから、近傍に責任領域が存在すると考えられる。そこでさらに周辺領域のSNPおよびマイクロサテライト多型解析を東海大学と共同で行っている。

IL-10受容体の多型解析についても同様に先行プロモーター多型との組み合わせ効果について検討している。

4

3. HLAタイピング法の構築と検証
及び検体保存事業協力

★HLAタイピング法の構築と検証

- ・蛍光ビーズ法によるHLA-C座遺伝子タイピング
(SBT法の比較検証)

★検体保存事業への協力

- ・ゲノムDNA抽出
- ・HLAタイピング(HLA-A,B,C,DRB1,DQB1,DPB1)
- ・全ゲノム増幅(WGA)及び解析検体セット化

5

HLA-Cタイピング系の検証

【方法】

健康者503人を対象として、自家製SBT試薬にてHLA-C座のタイピングを実施した。また、蛍光ビーズ法による「WAKFlow HLAタイピング試薬HLA-C(湧永製薬)」のタイピングも併せて実施した。

【結果・考察】

503件中、1例に新規アリルが検出された(Cw*0303V)。Cw*0303Vは非同義置換を伴うアリルで「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示唆された。

allele	N	GF(%)	allele	N	GF(%)
Cw*0102	157	15.6	Cw*0702	143	14.2
Cw*0103	2	0.2	Cw*0704	9	0.9
Cw*0302	7	0.7	Cw*0801	78	7.8
Cw*0303	125	12.4	Cw*0803	14	1.4
Cw*0303V	1	0.1	Cw*1202	130	12.9
Cw*0304	116	11.5	Cw*1218	1	0.1
Cw*0401	42	4.2	Cw*1402	59	5.9
Cw*0501	5	0.5	Cw*1403	75	7.5
Cw*0602	4	0.4	Cw*1502	38	3.8

6

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
(研究代表者 森島泰雄)

平成 21 年度第 2 回班会議プログラム

2010 年 1 月 30 日 (土) 午後 4 時～6 時
会場 東京医科歯科大学 5 号館 4 階講堂

座長 村田 誠

(演題 発表 10 分 討議 2 分)

1. 非血縁者間移植の人種別比較成績
森島泰雄 川瀬孝和 森島聡子 E. Petersdorf
International Histocompatibility Workshop Group
2. ゲノムワイド関連解析による GVHD 関連遺伝子座の探索-Update (10 分)
松原亜以子、柏瀬貢一、鬼塚真仁、赤塚美樹、森島泰雄、小寺良尚、笹月健彦、
小川誠司
東京大学医学部附属病院 キャンサーボード がんゲノム 他
3. 同種造血幹細胞移植における Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 遺伝子多型の影響
村瀬未帆、西田徹也、村田 誠
名古屋大学大学院 血液・腫瘍内科
4. 非血縁者間骨髄移植における免疫関連遺伝子多型解析
高見昭良 Jルイス・エスピノーザ 中尾真二
金沢大学附属病院 輸血部

座長 屋部登志雄

(演題 発表 10 分 討議 2 分)

5. Single nucleotide polymorphisms in immunoregulatory genes associate with HSCT outcomes in a Japanese population.
C. Harkensee, A. Oka, P.G. Middleton, M. Onizuka, H. Inoko, Y. Morishima,
T. Yabe, K. Hirayasu, K. Kashiwase, A.R. Gennery, for JMDP.
Toukai University
6. A systematic scanning of the immunogenome with microsatellite markers in a Japanese HSCT population reveals multiple genetic risk loci for graft-versus-host Disease
C. Harkensee, A. Oka, P.G. Middleton, M. Onizuka, H. Inoko, Y. Morishima,
A.R. Gennery, for JMDP.
Toukai University
7. ドナー由来のT細胞から見たHLA-Cの適合度とNK細胞受容体(KIR2DL ligand)適合度に基づいた治療成績の分析
川瀬孝和 柏瀬貢一 森島泰雄
愛知県がんセンター 東京都赤十字血液センター
8. NK 細胞受容体、サイトカイン遺伝子多型解析および検体保存事業協力
屋部登志雄、平安恒幸、中本貴之、峯元睦子、柏瀬貢一
東京都赤十字血液センター
9. 検体保存事業：進捗報告
鬼塚真仁 東海大学

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
平成22年1月30日

1. 非血縁者間移植の人種別比較成績

IHWG Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

Impact of Donor-Recipient Ethnicity on Risk of Acute GVHD, Leukemia Relapse and Survival in HSCT from HLA-Compatible Unrelated Donors.

The International Histocompatibility Workshop Group

Yasuo Morishima¹, Takakazu Kawase¹, Satoko Morishima¹,
Mari Malkki², Steve Spellman³, Andrea Velardi⁴,
and Effie W. Petersdorf²

1. Aichi Cancer Center and Japan Marrow Donor Program, Japan,
2. Fred Hutchinson Cancer Research Center, USA,
3. Center for International Blood and Marrow Transplant Research, USA,
4. European Group for Blood and Marrow Transplantation, Italy.



IHWG Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

Purpose

- Comparison of the incidence of acute GVHD, leukemia relapse and survival between ethnic groups
based on the same background
 1. HLA allele matched transplant.
 2. GVHD prophylaxis
: T cell replete stem cell source
 3. Large scale IHWG HCT database
- 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.



IHWG Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

Patients and Methods

5555 unrelated transplants

1 HLA-A, B, C, DRB1 and DQB1 allele match donor
HLA-DPB1 match 1367 1 mismatch 1935 2 mismatch 1005

2. GVHD prophylaxes : Non-T cell depleted stem cell
tacrolimus base 1987 cyclosporine base 3173
other regimen 71

3. Disease ALL 1310 AML 1930 AL 11 CML 1438 MDS866

Risk of relapse high 1019 intermediate 3236 low 1001

Conditioning regimen myeloablative 4423
non-myeloablative 617

Acute GVHD, Leukemia relapse, Survival*

*Kaplan-Meire Method, Multivariate analysis: Cox regression model

Patient ~ Donor Ethnicity

Patient	Donor	No. of Pairs
Asian/Pacific	Asian/Pacific	2062
(Japanese)	(Japanese)	(2039)
Caucasian	Caucasian	2419
Black	Black	39
Hispanic	Hispanic	21
Native American	Native American	2
Mismatch race pair (in non-JMDP)		268
Unknown donor ethnicity		744



IHWG Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

Acute GVHD and ethnicity

Ethnic combination	Donor / Patient	n	Incidence of acute GVHD	
			Grade 2-4	Grade 3-4
Asian / Asian		2062	39.2%	15.0%
Cauc. / Cauc.		2414	55.2%	21.9%
Black / Black		39	48.7%	30.8%
Hisp. / Hisp.		21	47.6%	23.8%
Mismatch ethnicity*		268	56.0%	22.8%



IHWG Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

Acute GVHD and ethnicity Multivariate analyses

Ethnic combination Donor / Patient	n	aGVHD 2-4		aGVHD 3-4	
		HR (95% CI)	p	HR (95% CI)	p
Asian / Asian	2062	1.00 (Ref.)		1.00 (Ref.)	
Cauc. /Cauc.	2414	1.63 (1.48-1.8)	<0.001	1.54 (1.31-1.79)	<0.001
Black / Black	39	1.27 (0.8-2.01)	0.309	2.16 (1.2-3.88)	0.01
Hisp. /Hisp.	21	1.39 (0.74-2.6)	0.3	1.84 (0.78-4.46)	0.179
Mismatch ethnicity*	268	1.59 (1.33-1.91)	<0.001	1.62 (1.22-2.18)	0.001

* in non-JMDP

Other significant clinical factor (p<0.01)
HLA-DPB1 matching
GVHD prophylaxis
Donor Age



IHWG Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

A-GVHD in patients with common HLA Haplotype (HLA-A – DQB1)patient

						EUR_freq
Cauc. HPO1	A*01:01	Cw*07:01	B*08:01	DRB1*03:01	DOB1*02:01	7,408
Cauc. HPO2	A*03:01	Cw*07:02	B*07:02	DRB1*15:01	DOB1*06:02	3,547
Cauc. HPO3	A*02:01	Cw*06:01	B*44:02	DRB1*04:01	DOB1*03:01	2,436
Cauc. HPO4	A*02:01	Cw*07:02	B*07:02	DRB1*15:01	DOB1*06:02	2,341
						JAP_freq
Asian HPA1	A*24:02	Cw*12:02	B*52:01	DRB1*15:02	DOB1*06:01	3,451
Asian HPA2	A*33:03	Cw*14:03	B*44:03	DRB1*13:02	DOB1*09:04	2,935

Incidence of acute GVHD

Common HP	n	Grade 2-4	Grade 3-4
Cauc. HPO1	707	54.2%	21.6%
Cauc. HPO2	410	50.8%	18.9%
Cauc. HPO3	239	48.7%	22.5%
Cauc. HPO4	263	49.9%	17.8%
Asian HPA1	764	36.3%	13.8%
Asian HPA2	390	33.6%	11.9%



IHWG Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

Relapse and Survival multivariate analysis

Ethnic combination Donor / Patient	n	relapse		mortality	
		HR (95% CI)	p	HR (95% CI)	p
Asian / Asian	2062	1.00 (Ref.)		1.00 (Ref.)	
Cauc. /Cauc.	2414	1.81 (1.4-1.85)	<0.001	1.51 (1.39-1.66)	<0.001
Black / Black	39	1.94 (1.03-3.65)	0.041	2.59 (1.77-3.8)	<0.001
Hisp. /Hisp.	21	2.18 (0.9-5.29)	0.084	2.25 (1.32-3.82)	0.003
Mismatch ethnicity*	268	1.75 (1.36-2.26)	<0.001	1.69 (1.43-2.01)	<0.001

* in non-JMDP

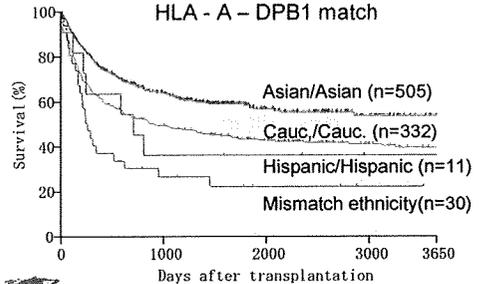
Other clinical factor (p<0.01)
HLA-DPB1
Leukemia risk
Disease
GVHD prophylaxis
Leukemia risk
Patient age
Disease



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 compatible donor with non-T cell depleted GVHD prophylaxis.
- 1. Asian/Pacific (=Japanese) showed apparently lower incidence of acute GVHD, leukemia relapse and mortality than Caucasian.
- 2. Asian/Pacific (=Japanese) showed possibly lower incidence of acute GVHD and mortality than Black and Hispanic.



IHWG Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

Discussion

- Cause of different outcomes by ethnic group Asian/Pacific (=JMDP) vs. Caucasian
 1. Clinical factors : adjusted → No
 2. Transplant procedure : adjusted → No
 3. Transplant center effect : → No
 4. Genetic background
 - HLA haplotype itself, or matching
 - Minor HAs
 - Cytokine receptor polymorphism.
 5. Unknown

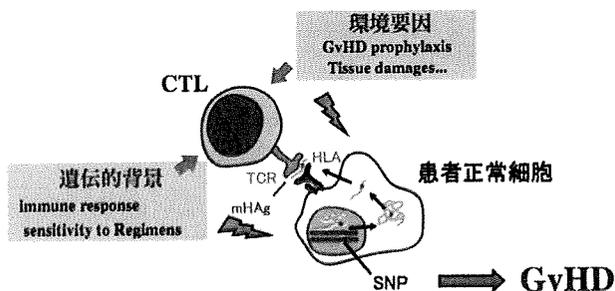


IHWG Hematopoietic Cell Transplantation Working Group

「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
 全ゲノム関連解析による
 GVHD 関連遺伝子多型のゲノムワイドな探索-Update

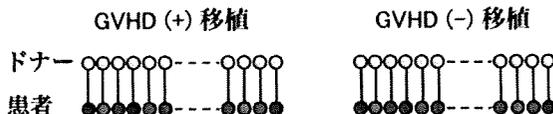
東京大学 小川誠司
 東海大学 猪子英俊 丸塚真仁
 愛知県がんセンター 森島泰雄 赤塚崇樹
 愛知医科大学 小寺貞尚
 名古屋第一赤十字病院 宮村耕一
 九州大学 山本健
 東海大学 猪子英俊
 日本赤十字東京血液センター 佐竹 正博 柏瀬 賢一
 国立国際医療センター 笹月晴彦
 日本科学技術振興機構(JST)・日本骨髄バンク

同種造血幹細胞移植におけるGvHD



- GvHDの原因となるマイナー抗原は？
- GvHDに影響を及ぼす遺伝的背景は？

GvHDに対する全ゲノム関連解析



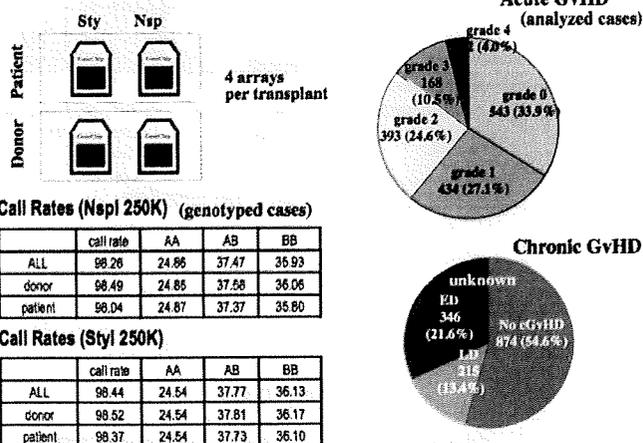
- 2004年までにJMDPを通じて行われた非血縁者間骨髄移植 (~7800)
- HLA-A, B, C, DR, DQの5座がDNAレベルで適合
- GVHD予防がCyA+MTX または Tacrolimus+MTX
- gDNA が利用可能
- acute GvHDに関する情報が得られる

- ⇒ 1600 移植
- ⇒ Affymetrix GeneChip 500K を用いてGenotypingを行った

解析の概要

- Microarray解析
 - 1600 donor/recipient samples
 - Affymetrix® 500K GeneChip
 - 各サンプルにつきcall rate >90% (DM algorithm)
- 全DataのGenotyping
 - Chiamo
- 未観測SNPのImputation
 - PhaseII HapMap のHaplotype data ⇒ ~2,500,000 SNPs
- low-performance SNPsの除外
 - call rates < 95%
 - Donor samplesでHWEからの逸脱がある
 - MAF < 5%
 - donors * recipients間のcall rateの差 3% ⇒ 1,285,694 SNPs
- ログランク統計量を計算
- permutation testを行い、genome-wide $p < 0.05$ のassociationをもつSNPを検出

Demographic Features



Candidate SNPs

category	event	HLA restriction	chromosome	position	SNP rsID	allele	Logrank test chi-square value	p-value	
acute GVHD associated									
SNPs showing strong evidence of association with acute GVHD (genome wide $P < 5\%$)									
allele mismatch	grade 2-4 acute GVHD	no restriction	6	33187744	MHC	rs6807054	AG	36.16	1.83E-09
allele mismatch	grade 2-4 acute GVHD	A 2402	6	33190974	MHC	rs3034873	CT	32.58	1.14E-08
allele mismatch	grade 2-4 acute GVHD	C 102	6	33160208	MHC	rs1431193	CT	42.27	7.89E-11
allele mismatch	grade 2-4 acute GVHD	D 102	6	22068608		rs7447336	CT	29.89	7.60E-08
allele mismatch	grade 2-4 acute GVHD	DQB1 824	6	5683024		rs1286214	AT	36.69	6.37E-09
allele mismatch	grade 3,4 acute GVHD	B 402	8	119473241		rs6921655	AT	31.62	8.50E-10
allele mismatch	grade 3,4 acute GVHD	B 501	12	26264044		rs1747423	AG	44.91*	2.05E-11
allele mismatch	grade 3,4 acute GVHD	B 501	6	16942327		rs9365584	AG	28.27	1.03E-07
allele mismatch	grade 3,4 acute GVHD	C 1202	12	25264044		rs1747423	AG	44.91*	2.05E-11
allele mismatch	grade 3,4 acute GVHD	C 1202	8	16942327		rs9365584	AG	28.27	1.03E-07
allele mismatch	grade 3,4 acute GVHD	DQB1 1922	6	119473241		rs6921655	AT	37.85	4.55E-10
allele mismatch	grade 3,4 acute GVHD	DQB1 801	12	26264044		rs1747423	AG	42.86*	7.07E-11
allele mismatch	grade 2-4 acute GVHD	---	22	31633254		rs5998746	GT	31.23	2.18E-08
patient allele	grade 3,4 acute GVHD	---	16	67101122		rs11873016	AG	30.82*	2.83E-08
SNPs showing moderate evidence of association with acute GVHD (genome wide $P < 10\%$)									
allele mismatch	grade 2-4 acute GVHD	B 401	8	11720507		rs10510109	CG	31.69	1.81E-08
allele mismatch	grade 2-4 acute GVHD	B 401	6	33162896	MHC	rs3117281	AG	31.81	1.70E-08
allele mismatch	grade 2-4 acute GVHD	B 401	4	15326071		rs17276450	AG	28.48	6.47E-08
allele mismatch	grade 2-4 acute GVHD	C 102	6	22068608		rs7447336	CT	31.15*	2.39E-08
allele mismatch	grade 2-4 acute GVHD	DQB1 105	1	18008284		rs1286219	AT	32.30	3.39E-08
allele mismatch	grade 3,4 acute GVHD	A 404	9	119473019		rs1079997	GT	32.98	3.31E-08
allele mismatch	grade 2-4 acute GVHD	DQB1 601	20	22626095		rs15042164	CG	27.54	1.54E-07
patient allele	grade 2-4 acute GVHD	---	11	1462646		rs10500796	AG	26.17	2.95E-07
patient allele	grade 3,4 acute GVHD	---	8	69437184		rs1643958	CT	26.68*	2.43E-07

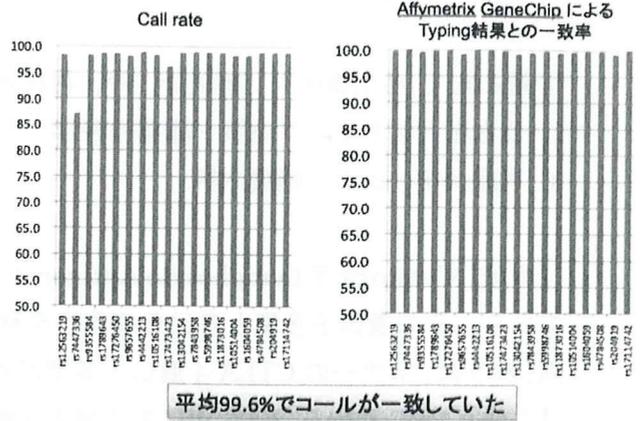
Candidate SNPs (continued)

category	event	HLA restriction	chromosome	position	SNP rsID	allele	Logrank test chi-square value	p-value	
chronic GVHD associated									
SNPs showing strong evidence of association with chronic GVHD (genome wide $P < 5\%$)									
allele mismatch	ED chronic GVHD	no restriction	16	63840072		rs1784528	CT	51.43	2.07E-08
allele mismatch	ED chronic GVHD	A 2402	18	63840072		rs1784528	CT	56.56	1.89E-09
patient allele	ED chronic GVHD	---	16	63840072		rs1784528	CT	33.79*	6.43E-08
SNPs showing moderate evidence of association with chronic GVHD (genome wide $P < 10\%$)									
donor allele	ED chronic GVHD	---	15	112530126		rs204919	GA	28.22*	1.02E-07

Validation analysis

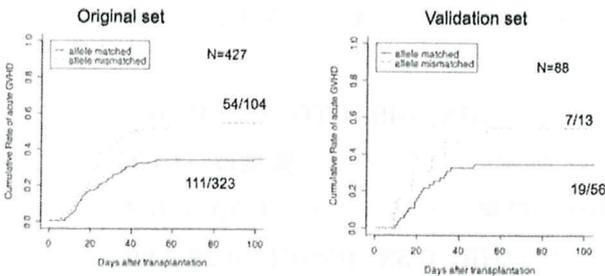
- 全ゲノム解析によって挙げた候補18SNPについて
 - Affymetrix GeneChipにより解析されたサンプル (1600移植=3200 samples)を用いたTyping Validation
 - 独立のセット(~400)を用いたReplication study
- SEQUENOM iPLEX® (MassARRAY solution for Genotyping)を用いたSNP typingを行った

iPLEX result (Validation of SNP typing)



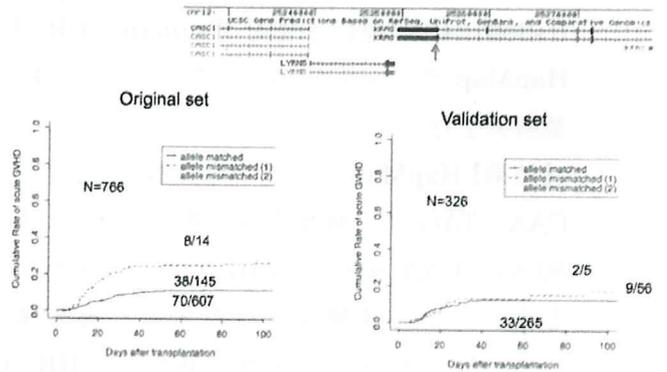
grade2-4 acute GvHDと関連のあるアレルミスマッチ (HLA Cw*0102拘束性)

Chr5 p14.3 rs7447336



grade3-4 acute GvHDと関連のあるアレルミスマッチ (HLA DQB1*0601拘束性)

Chr12 p12.1 rs17473423



Future study

- Demonstrating biological evidence
 - Expression analysis
 - Demonstrating mHag by inducing CTL from post transplant patients

Collaborators

Japan Marrow Donation Program

Japanese Red Cross Nagoya First Hospital

Yoshihisa Kodera, Koichi Miyamura



Japanese Red Cross Tokyo Metropolitan Blood Center

Masahiro Satake, Koichi Kashiwase

Tokai University School of Medicine

Hidetoshi Inoko, Makoto Onizuka



Aichi Cancer Center Research Institute

Yoshiki Akatsuka, Kazutaka Kawase, Hiroki Torikai, Satoko Morishima, Kunio Tsujimura, Yasuo Morishima, Toshitada Takahashi, Kiyotaka Kuzushima

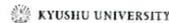
NPO HLA laboratory

Hiroo Saji, Etsuko Maruya

特定非営利活動法人 HLA研究所

Kyushu University

Ken Yamamoto



University of Tokyo

Aiko Matsubara, Yasuhito Nannya, Yasuko Ogino, Masashi Sanada, Wang Lili, Motohiro Kato, Mineo Kurokawa, Shigeru Chiba



同種造血幹細胞移植における Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 遺伝子多型の影響

村瀬未帆¹、西田徹也¹、鬼塚真仁^{2,3}、村田誠¹、宮村耕一²、猪子英俊⁴、直江知樹¹

1. 名古屋大学大学院 血液・腫瘍内科学 2. 名古屋第一赤十字病院 血液内科

3. 東海大学 血液・腫瘍内科 4. 東海大学 分子生命科学

【背景】 Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 (CTLA-4) は、T細胞の活性化を抑制する分子であり、その遺伝子多型と自己免疫疾患や移植後免疫反応との関連が報告されている。今回、我々は、ドナーの CTLA-4 遺伝子多型が同種造血幹細胞移植に及ぼす影響を検討した。

【方法】 1987年から2006年に名古屋大学病院血液内科及び名古屋第一赤十字病院血液内科にて造血器悪性疾患に対して施行された HLA 一致同胞間造血幹細胞移植のうち、短期メソトレキセートとシクロスポリンを GVHD 予防法とする非 T細胞除去移植 147例を対象とした。ドナーにおける CTLA-4 の 3つの SNP: -318 (rs5742909)、+49 (rs231775)、CT60 (rs3087243)の遺伝子型を Taqman PCR 法及びシーケンス法により決定し、日本人の HapMap データをもとにハプロタイプを決定した。Cox 比例ハザードモデルを用いて多変量解析を行った。

【結果】 HapMap データから日本人におけるハプロタイプ (-318、+49、CT60) は、CGG、CAA、TAG の 3種類のみであることがわかった。147症例のハプロタイプ頻度は、CGG 59.5%、CAA 30.6%、TAG 9.9%であった。多変量解析の結果、ハプロタイプ CAA を有するドナーから移植を受けた場合、再発率は有意に低く (HR: 0.53, 95%CI: 0.29-0.96, p=0.035)、全生存率は有意に高かった (HR: 0.60, 95%CI: 0.36-0.99, p=0.047)。また無病生存率は高い傾向が見られた (HR: 0.66, 95%CI: 0.41-1.06, p=0.085)。急性及び慢性 GVHD 発症と非再発死亡については、ハプロタイプ CAA の有無で差は認められなかった。

【考察】 HLA 一致同胞間造血幹細胞移植において、ドナーの CTLA-4 ハプロタイプ (-318、+49、CT60) が CAA の場合に、再発を抑制し生存率を向上させることが示され、ドナー選択に有用な情報となる可能性が示唆された。

移植免疫反応と遺伝子多型の 解析



金沢大学
Jルイス・エスピノーザ
高見昭良
中尾眞二

目的と方法

- がん監視機構や自己免疫疾患の疾患感受性・感染免疫・同種移植への影響が示唆され、TaqMan PCR法で解析可能な免疫関連遺伝子多型を解析し、同種移植後転帰との関連を後方視的に解析した。

対象

- JMDPを通じてHLAアリルー致非血縁者間骨髄移植を受けた血液がん患者とそのドナー(360例)。

IL-17(A)

- プロモーター領域のSNP(rs2275913, G197A)を解析。
- 患者側197A遺伝子型はIL-IV急性GVHDの有意な危険因子(HR 1.87; 95%CI 1.23-2.85; $P=0.004$)であった(図1)。
- 急性GVHD関連死亡に関与する傾向もみられた($P=0.095$)。
- 健常人の末梢血単核球をIL2とIL-15で刺激し、IL-17産生量を検討したところ、197A遺伝子型保有者の誘導能は有意に低かった(図2)。
- したがって、IL-17 197A遺伝子型を有する患者は、IL-17低誘導能の結果、急性GVHD発症率が高まる可能性が示唆された。

NKG2D

- SNP(rs1049174)に基づく、高NK活性型(NKG2D-HNK1)と低NK活性型(NKG2D-LNK1)のハプロタイプ保有を解析。
- HNK1ハプロタイプ陽性ドナーを持つ患者の移植関連死亡率(TRM)は低く、全生存率(OS)も良好であった(HR 0.44; 95% CI 0.23-0.85; $P=0.01$)(図3)。

FCGR3A

- SNP(rs396991)に基づく、高ADCC型158Vと低ADCC型158Fの保有を解析。
- 158V陽性患者のTRMは低く(図4)、OSも良好であった(HR 0.49; 95% CI 0.26-0.93; $P=0.03$)。

图1

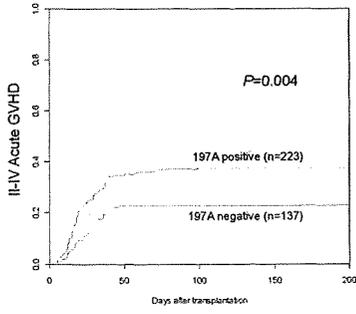


图2

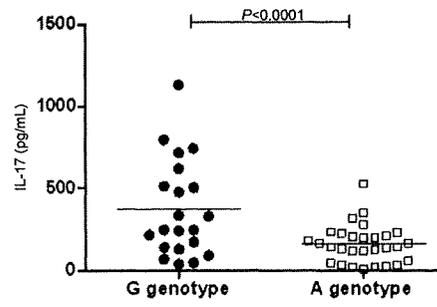


图3

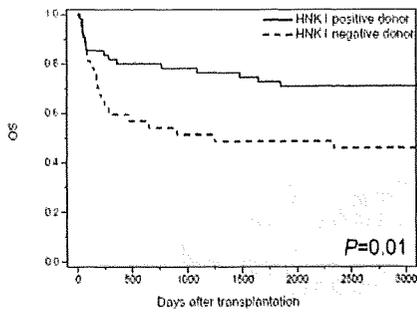


图4

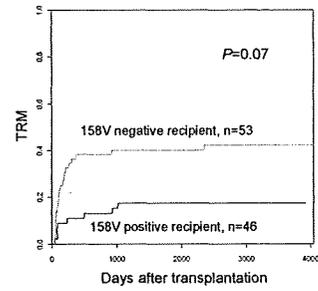


Figure 1: II-V acute GVHD incidence over 200 days. The 197A positive group (n=223) shows a significantly higher incidence rate compared to the 197A negative group (n=137) ($P=0.004$).

Figure 2: IL-17 levels (pg/mL) for G and A genotypes. The G genotype group has significantly higher IL-17 levels compared to the A genotype group ($P<0.0001$).

Single nucleotide polymorphisms in immunoregulatory genes associate with HSCT outcomes in a Japanese population

C. Harkensee (1,2), A. Oka (1), P.G. Middleton (2), M. Onizuka (1), H. Inoko (1), Y. Morishima (3), T. Yabe (4), K. Hirayasu (4), K. Kashiwase (4), A.R. Gennery (2), for the Japan Marrow Donor Programme (JMDP)

(1) Division of Molecular Life Sciences, Tokai University, Isehara, Japan; (2) Institute of Cellular Medicine, University of Newcastle upon Tyne, UK; (3) Aichi Cancer Center, Nagoya, Japan; (4) Japanese Red Cross Tokyo Metropolitan Blood Center, Tokyo, Japan

Non-HLA genetic variation associating with outcomes of haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) has been described by a large number of studies. Findings, however, are rarely consistent, as the overall effect size of the polymorphism on the outcome is often small and may be affected by variation in population and clinical characteristics (ethnicity, related/unrelated transplant, HLA matching, clinical risk factors).

The aim of this study is to identify in a robust way single nucleotide polymorphisms (SNP) that display consistent association over a longer period of time, withstanding changes in clinical characteristics of the transplantation.

We have selected 39 SNP markers in 20 immunoregulatory genes, all of these were described as being associated with HSCT outcomes in previous studies. We individually genotyped all 39 markers on a first set of 460 HSCT pairs from the JMDP registry (1993-2000) using standard or custom TaqMan assays (Applied Biosystems). Markers that showed a positive association or a trend were genotyped for confirmation on a second set of 460 HSCT pairs (from the time period 2001-2005). Both cohorts were stratified for underlying disease (acute leukaemia), age (4-40 years), conditioning regimen (myelo-ablative) and HLA matching (35% 10/12 or 12/12 match) and had no statistically significant differences of these clinical characteristics (these two cohorts are identical with the 1st and 2nd screening DNA pools of the microsatellite study). Investigated outcomes include acute Graft-versus-host disease (aGVHD), chronic GVHD (cGVHD), engraftment, relapse and survival, analysed also in a subgroup containing the 10/12 and 12/12 HLA matched pairs. Fisher's Exact Test and Kaplan-Meier analyses were performed using SPSS (v15.0). All p-values were corrected for multiple testing using Bonferroni's correction according to the number of SNP tested in each step of the study.

At the first screening step 5 SNP showed significant association or trend with HSCT outcomes (Donor: IL10-1082 AG genotype risk for survival, $p=0.0018$; recipient: CTLA4 rs231777 TT genotype risk for severe aGVHD, $p=0.0018$; TNF-1031 TT-CC genotype match risk for aGVHD grade 4, $p=0.0017$; trend for genotype mismatch with aGVHD grade 4, $p=0.0224$; FAS-670 TT genotype risk for aGVHD, $p=0.0013$; CT genotype protective against relapse, $p=0.0025$; IL2-330 GG genotype risk for aGVHD grade 4, $p=0.0014$, GT genotype protective for survival, $p=0.0021$, and a trend of the GT genotype with risk of cGVHD in the HLA subgroup only ($p=0.0391$). At the confirmatory typing, the IL2-330 GT genotype associated with cGVHD ($p=0.013$), which was even more marked in HLA-matched subgroup analysis ($p=0.0004$). The TNF-1031 TT genotype showed association with aGVHD ($p=0.0094$); and genotype mismatch correlated with aGVHD grade 4 ($p=0.0053$).

When combining the data of both screenings (920 pairs), associations of the TNF-1031 TT genotype with aGVHD ($p=0.0275$, OR 1.47) and genotype mismatch with aGVHD grade 4 ($p=0.0002$, OR 2.91), as well as the IL2-330 GT genotype association with cGVHD ($p=0.0217$, OR 1.39 overall; $p=0.00005$, OR 2.54, in HLA matched subgroup) were confirmed.

This study has identified the recipient IL2-330 GT SNP genotype (cGVHD) and TNF-1031 genotype mismatch (aGVHD) as consistent risk factors in both screening steps and combined analysis. Other associations were less consistent, suggesting that significance may depend on variation in clinical risk factors. For clinical application as a risk predictive tool, SNP associations independent of subtle changes in clinical factors would be desirable.