

厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）
成人 T 細胞性白血病(ATL)の根治を目指した細胞療法の確立および
そのHTLV-1抑制メカニズムの解明に関する研究（鶴池班）
(H22-がん臨床-一般-028)

1. 鶴池班の概要

ATL の治癒の可能性を求めて、われわれは同種幹細胞移植療法を前方視的に検証してきた。患者の高齢化に伴い、得難くなってきた同胞ドナーに引き続き、JMDP バンクドナー骨髄を用いた骨髄非破壊的前処置同種移植療法（RIST）を NST-1、2（I 相試験）および NST-3（第 II 相試験）を施行し、おのおの登録を終了した。NST-2 の長期フォローアップの結果、34%の症例が QOL 良好な状態で長期生存しえることが判明した（*BMT 2010*）。一般に移植療法のうちでは予後不良とされている非血縁臍帯血を用いた RIST を高齢者 ATL に応用する臨床第 I 相試験（NST-5）も現在登録を開始した。このようにいかに安全に ATL 患者が移植療法を甘受する機会を増やすかが、この研究班の大きな柱のひとつである。ATL に対する RIST の研究の中で明らかになってきた HTLV-1 排除機構（移植後の HLA 拘束性の HTLV-1tax エピトープ特異的 CTL の存在）を解明し、それに基づく新たな免疫療法（樹状細胞ワクチン療法）の開発し、現在東京医科歯科大学で登録を開始している。予備実験（*ex vivo*）で、健康正常人末梢血単核細胞から分離した樹状細胞を成熟培養し、HTLV-1tax 特異的ペプチドでパルスしたところ、形態的・表面マーカー的・機能的にも、十分な HTLV-1tax ペプチド特異的な樹状細胞が誘導可能であった。さらに石田班員らによって新規抗 CCR4 抗体治療による ATL の免疫学的動態の変化にも注目し、これらの新規薬剤と移植療法とをうまく組み合わせることによって、ATL の治癒への道が少しずつ近づいている。

2. Tax 特異的樹状細胞ワクチン療法仮登録第 1 例目

ATL に対する Tax 特異的樹状細胞ワクチン療法の仮登録第 1 例目における適応評価基礎解析の結果を報告する。症例：67 歳女性。2011 年 12 月 ATL acute type の診断。mEPOCH 療法 4 コース施行後 PR。2012 年 4 月臨床試験仮登録後、遺伝子学的、免疫学的適応検査で 1. TAX 遺伝子発現 2. エピトープ部位のアミノ酸配列 3. tetramer 陽性細胞の機能低下に関する検討ではすべて適応基準に合致、患者の同意も得られ本登録に進むことになった。しかし、病状の増悪に伴い結果的に本登録に至らなかった（血小板数が本登録基準である 10 万まで回復しなかった）。患者の希望により、5 月 30 日よりモガムリズマブを投与した（単剤、weekly 投与）。CCR4 は ATL の約 90%の症例に発現を認めるが、正常な免疫系細胞でも Treg、Th2 に選択的に発現している。一方腫瘍組織での Treg の存在が宿主の腫瘍免疫応答を抑制していると言われており、免疫療法の効果が上がらない一因となっている。本症例では、モガムリズマブ投与後、速やかに血中の CCR4 陽性 ATL 細胞、CCR4 陽性制御性 T 細胞 (Treg) の減少が認められた。Treg の制御は腫瘍免疫の効率増強に繋がることが期待される。一方、同種移植後症例への同薬剤の投与は GVHD の悪化にも関与する可能性があり、今後、とくに移植後投与例や免疫療法施行例での同薬剤投与による抗腫瘍効果と免疫動態の検証が重要であると考えられる。

難治性疾患等克服研究事業（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）
「移植細胞源を異にする非血縁造血細胞移植の組織適合性に基づく成績向上と移植選択
アルゴリズムの確立に関する研究」森島班（H23-免疫一般-010）

平成24年度第1回研究会議プログラム

平成24年7月8日午後2時～午後3時30分 名古屋第一赤十字病院

司会 森島泰雄

1. 我が国における急性 GVHD の発症頻度とその治療成績
村田 誠（名古屋大学医学部附属病院 血液内科）
2. KIR リガンド不適合が移植成績に及ぼす影響の検討
田中淳司（北海道大学）、森島泰雄（愛知県がんセンター）、神田善伸（自治医大
さいたま医療センター）、日本造血細胞移植学会「HLA と移植成績」WG
3. 本邦における血縁者間ドナー・レシピエントの DNA バンクの設立について
宮村耕一（名古屋第一赤十字病院血液内科）

司会 小川誠司

4. 非血縁者間骨髄移植における HLA ハプロタイプ適合性の意義
森島聡子¹⁾、小川誠司²⁾、佐藤亜以子²⁾、柏瀬貢一³⁾、笹月健彦⁴⁾、森島泰雄⁵⁾
藤田保健衛生大学 血液内科¹⁾ 東京大学医学部附属病院 がんゲノミクスプロ
ジェクト²⁾ 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター³⁾ 九州大学生体防御医
学研究所⁴⁾ 愛知県がんセンター研究所⁵⁾
5. マイクロサテライト多型による急性 GVHD 関連遺伝子解析、移植後肺合併症と遺伝子
多型解析 鬼塚真仁（東海大学血液腫瘍内科）、Christian Harkensee.

司会 高梨美乃子

6. Luminex 法による HLA 抗体検出反応の特性解析
小島裕人、佐治博夫（HLA 研究所）
7. 非血縁者間骨髄移植における保存検体の HLA タイピング
柏瀬貢一、東史啓、屋部登志雄、高梨美乃子、佐竹正博（日本赤十字社関東甲信
越ブロック血液センター）、鬼塚真仁（東海大学血液腫瘍内科）、森島泰雄（愛知
県がんセンター研究所）
8. さい帯血移植成績に関与する多型遺伝子に関する研究の進捗状況
さい帯血移植組織適合性共同研究グループ

司会 村田 誠

9. 第16回国際組織適合性ワークショップ（リバプール）からの最新報告
 - 1) 造血細胞移植ワーキンググループでの話題から
一戸辰夫（佐賀大学血液・呼吸器・腫瘍内科）小島裕人（HLA 研究所）
 - 2) HLA 研究の進歩
森島聡子（藤田保健衛生大学血液内科）

2012年7月8日 於：名古屋第一赤十字病院

我が国における急性 GVHD の発症頻度とその治療成績

名古屋大学医学部附属病院血液内科
村田 誠

Grade (G) II 以上の急性 GVHD に対する一次治療の成績は、諸外国より 40%～50%程度と報告されているが、我が国からのまとまった報告はない。そこで我が国における急性 GVHD の発症頻度とその治療成績を明らかにするため、TRUMP 2010 のデータから、同種移植、初回移植、好中球が生着、急性 GVHD 発症の有無が明らか、G が明らかなを条件に症例を抽出し、解析を行った。

23,900 例が抽出された。16 歳未満、16 歳以上 50 歳未満、50 歳以上に分類した場合の GII 以上および GIII 以上の急性 GVHD 発症頻度は、それぞれ 34%と 15%、37%と 14%、43%と 16%だった。また 16 歳未満では、GII 以上、GIII 以上ともに、MRD (HLA 適合血縁) -BMT は MUD (HLA 適合非血縁) -BMT よりも有意に発症頻度が低く、CBT は MUD-BMT と同等だった。16 歳以上 50 歳未満では、GII 以上、GIII 以上ともに、MRD-BMT は MUD-BMT よりも頻度が低く、MRD-PBSCT は MUD-BMT と同等、CBT は MUD-BMT よりも頻度が高かった。50 歳以上では、MRD-PBSCT は MUD-BMT よりも GIII 以上の頻度が高く、CBT は MUD-BMT よりも GII 以上、GIII 以上いずれの頻度も高かった。次に、GII 以上の急性 GVHD を発症した 9,037 例のうち、急性 GVHD に対する一次治療の有無が明らかで、かつ一次治療の内容と転帰が明らか 4,546 例を抽出し、解析を行った。選択された一次治療法は、ステロイド全身投与 (78%)、外用ステロイド (3%)、Tac 増量 (2%)、CsA 増量 (1%)、治療なし (12%) などだった。ステロイド全身投与の有効率は 64%で、より高い有効率と相関を示したのは CBT、16 歳以上 50 歳未満、d15 以降発症急性 GVHD だった。またステロイド全身投与が無効だった群は有効だった群と比べて、非再発死亡率が有意に高く、全生存率が有意に低かった。

我が国の急性 GVHD 発症頻度とその治療成績を後方視的に解析した。急性 GVHD に関する臨床研究を計画する際の基礎データになりうると考えられる。

「移植細胞源を異にする非血縁者間造血細胞の組織適合性に基づく成績向上と移植選択アルゴリズムの確立に関する研究」班（森島班）平成24年7月8日（日）

「KIR リガンド不適合が移植成績に及ぼす影響の検討」

田中淳司（北海道大学）、森島泰雄（愛知県がんセンター）、神田善伸（自治医大さいたま医療センター）、日本造血細胞移植学会「HLA と移植成績」WG

【背景】

KIR リガンド不適合が移植成績に及ぼす影響については、その前処置、対象疾患などによって有効性が認められるという報告と反対に効果が認められないという報告が混在しているのが現状であり、一定の見解が得られていない。このため我が国における KIR リガンド不適合移植成績の現状を正確に把握し、どのような条件下であれば KIR リガンド不適合移植が移植成績を向上させうるかを明らかにする必要がある。また臍帯血移植では HLA 不一致が多くその移植成績と KIR 適合度の関連が注目されている。ヨーロッパのグループ (Willemze et al. Leukemia 23: 492, 2009) は 80% の症例に ATG を併用する完全寛解期 AML, ALL における KIR ミスマッチ移植が特に AML の生存率を有意に改善することを報告している。

【対象と方法】

- ・ 1993～2009 年に臍帯血移植を施行した全年齢
- ・ HLA-A, B, C 遺伝子型の判明している症例でかつ完全寛解期に移植された ALL (219 例), AML (297 例)
- ・ KIR リガンドとして HLA-C の GVHD 方向、HVG 方向ミスの有無と OS, DFS, Relapse, NRM, aGVHD, 生着などとの相関を患者年齢、性別、性不適合、PS、前処置 (RIC/MAC) などとともに解析した。

【結果と考察】

臍帯血移植において KIR リガンドとして HLA-C の GVHD 方向、HVG 方向ミスの有無と OS, DFS, Relapse, NRM, aGVHD, 生着などには有意な相関は認められなかった。今回の我々の解析では ATG 使用例がわずかに 6 例 (ALL 2 例、AML 6 例でしかも KIR リガンド一致症例のみ) しか含まれていなかったこともその結果に関連しているものと推測された。

厚生労働省科学研究「移植細胞源を異にする非血縁造血細胞移植の組織適合性に基づく成績向上と移植選択アルゴリズムの確立に関する研究」森島班（H23-免疫-一般-010）

宮村耕一

血縁者間 DNA バンク設立のための調査への協力をお願い

背景

1. 非血縁者間骨髄移植における患者、ドナーの DNA バンクは現在約 9000 検体が利用可能であります。これらを利用した研究は本邦における移植成績の向上に大きな貢献をしてきました。
2. 最近臍帯血移植においても同様な取り組みが進み、体制が整えられ現在までに約 1300 の検体が集められています。
3. 血縁者間移植においても SNP 解析が比較的少数の検体を使い解析されています (Onizuka et.al. Br J Hematol139,2007)。しかし血縁者間移植においては、全国的な DNA バンクはなく、一部の施設で保存していると考えられますが、その全体像は不明です。
4. SNP 研究だけでなく、全ハプロ解析などにおいて、バックグラウンドの少ない血縁ペアの検体は重要な情報をもたらし、移植医療の成績向上に寄するものと考えられます。
5. 保存の有無、保存の形態、検体数などについて、調査のための簡単なアンケートを施行しますので、よろしく願いいたします。

一次アンケート

質問 1

貴施設において血縁者間移植において、ドナー・レシピエントの細胞、DNA の保存をしているでしょうか。

質問 2（以下質問 1 で「はい」を選択した施設にお伺いします。

どのような形態で保存しているでしょうか。（すべてに○をつけてください）

細胞（DMSO、ペレット、ライン化）、DNA、RNA

質問 3

ドナー・レシピエントのペアーとして保存しているものは、何組あるでしょうか？

難治性疾患等克服研究事業（免疫アレルギー疾患等予防・治療研究事業）
「移植細胞源を異にする非血縁造血細胞移植の組織適合性に基づく成績向上と移植選択
アルゴリズムの確立に関する研究」森島班（H23-免疫一般-010）
平成 24 年度第 1 回研究班会議

非血縁者間骨髄移植における HLA ハプロタイプ適合性の意義

森島聡子¹⁾・小川誠司²⁾・佐藤亜以子²⁾・柏瀬貢一³⁾・笹月健彦⁴⁾・森島泰雄⁵⁾

- 1) 藤田保健衛生大学医学部 血液内科学
- 2) 東大医学部附属病院 ゲノミクスプロジェクト
- 3) 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター
- 4) 九州大学高等研究院
- 5) 愛知県がんセンター研究所 疫学予防部

【目的】HLA 一致非血縁者間骨髄移植(UR-BMT)において、患者とドナーの HLA ハプロタイプ(HP)上の座の連鎖が異なる場合(HP 不適合)、重症急性 GVHD のリスクが有意に高くなることがシアトルから報告されたが(PLoS Med. 2007; 4: e8)、日本人では不明である。本研究では、multi-SNP による HLA-HP の long-range-phasing (LRP)を試み、UR-BMT における HP 適合性の意義を検証した。

【方法】JMDP を介した移植例で HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 一致の患者・ドナー1593 ペアについて、Affymetrix 500K array による SNP タイピングを施行後、HLA-A から DQB1 までの約 3.0 Mb を解析。日本人で高頻度な 3 つの HLA-HP (P1, P2, P3)のホモ接合体から 3.0 Mb のコンセンサス配列(CS)を決定 (Blood. 2010; 115: 4664)。P1, P2, P3 と同じ HLA 座と CS を有する個人の相を推定(step1)。Step1 で推定した対立 HP の配列を基に、残りの個人の相を推定 (step2)。HP 適合性と急性 GVHD との関係を Cox regression model で解析した。

【結果】3186 人中 2808 人(88.1%)で 3.0 Mb 領域の相が推定できた。1593 ペアの中で、HP 適合ペアは 1260、不適合が 42、不確定が 291 であった。急性 GVHD のリスクは 2-4 度、3-4 度ともに 3 群間での有意差は認めなかった。

【考察】UR-BMT の本データセットでは、common HLA-HP の頻度が一般集団より著明に高く、Clark 法に準じた方法で LRP が可能となった。日本人の HLA 適合 UR-BMT では HP 不適合の頻度や急性 GVHD に対する影響は少なく、人種間で差がある可能性がある。ドナーと患者の HLA-HP の相が推定できたことより今後さらに詳細な解析が可能となる。

2012年7月8日

5) マイクロサテライト多型と急性 GVHD 関連遺伝子解析、移植後肺合併症と遺伝子多型解析

東海大学血液腫瘍内科 鬼塚真仁

東海大学分子生命科学 Christian Harkensee

① マイクロサテライト多型と急性 GVHD 関連遺伝子多型解析

方法と対象集団

造血幹細胞移植後の急性 GVHD は造血幹細胞移植の成否を決定する重要な合併症である。我々は、Christian Harkensee を中心に骨髄移植推進財団を介して施行された 4 歳から 40 歳までの急性リンパ性白血病、急性非リンパ性白血病症例を対象に、1993 年から 2005 年までの症例を対象にマイクロサテライト多型を用いて GVHD 関連遺伝子解析を行った。

Discovery cohort として 460 ペア、Confirmatory cohort として 462 ペアの造血幹細胞移植症例を対象として解析を行った。

Discovery cohort では GVHD の重症度により grade 0-I 群と II-IV 群に分類し、それぞれ一定量の DNA を混注しプール DNA を作成した。それぞれのプール DNA に対して 2855 の遺伝子を網羅することが可能な 4321 のマイクロサテライトマーカーを用いて、GVHD 関連遺伝子を 2 つの cohort で確認される遺伝子を抽出した。

さらに、これらの遺伝子においてプール DNA ではなく、個々の症例におけるマイクロサテライト多型、SNP を用いて最終的に GVHD 関連遺伝子を見いだすことができた。

考察

すでに、41 のすでに報告されている GVHD 関連遺伝子に関して、SNP を用いた Validation 解析を行い、急性 GVHD 発症に強く関連している遺伝子多型を見いだし、報告してきている (Blood 2012 in press)。マイクロサテライト多型を用いた今回の結果も併せて、今後の我が国における造血幹細胞移植において、これらの結果をどのように利用してゆくか、検討する必要がある。

②移植後肺合併症と遺伝子多型解析

造血幹細胞移植後の非感染性肺合併症は、比較的まれな合併症であるが、致死率が高く、有効な治療方法が存在しない合併症である。さらには、発症のメカニズム、病態生理について依然として解明されていない部分が多い合併症である。これまでに我々は2つの独立した日本人集団における非感染性移植後肺合併症の発症に ACE (angiotensin converting enzyme) 遺伝子の In/del 多型が関係することを報告してきたが、前回の班会議に引き続き Fred Hutchinson Cancer Research Center (FHCRC) における移植症例について、遺伝子多型解析の続報を報告する。

方法と対象集団とこれまでの結果

FHCRC において施行された 816 例の造血幹細胞移植症例のうち移植後 100 日以内に発症した IPS (idiopathic pneumonia syndrome) 症例を対象とし、ACE, AGT, SFTPB, CCL5, DARC, MCP1, TNF α , TNFR2 を対象遺伝子として、同コホートに対して施行された Affymetrix-GeneChip5.0 および Illumina 社の SNP array により得られた SNP 情報を元にして、遺伝子多型解析を施行した。その結果、angiotensinogen を code する AGT 遺伝子において IPS 発症と強い関連を認めた。

これらの、IPS 関連遺伝子多型が angiotensinogen の発現量に影響するかどうかを確認するために、FHCRC で移植が行われた 243 症例の、移植前の血漿において、IPS 関連遺伝子多型と angiotensinogen 血中濃度と関連があるかどうかを確認した。

結果

IPS 発症と関連を認めた AGT 遺伝子の SNP では、Risk となる遺伝子多型を有している症例では、有意に angiotensinogen の血中濃度が低いことが判明した。この結果から、IPS 発症に関して、angiotensinogen は何らかの役割を果たしており、少なくとも血中濃度が低いことが IPS の発症に関連する可能性があることが示された。

Luminex 法による HLA 抗体検出反応の特性解析

○小島裕人、佐治博夫
一般財団法人 HLA 研究所

<背景・目的>

近年、免疫抑制剤の進歩等によって HLA 不適合移植症例が増加傾向にあり、移植前後における HLA 抗体検査がますます重要視されている。しかしながら、Luminex 法による HLA 抗体検査は標準化が困難であり、本年の 5 月に開催された 16th International HLA and Immunogenetics Workshop (IHIW) の HLA 抗体のセッションにおいても、MFI (Median Fluorescence Intensity) が特に低い領域で個人差、施設間差にばらつきがあるとの報告がなされた。また、エピトープによる解析も有効であるが、自然抗体や非特異反応などについては説明がつかない場合がある。検査結果の解釈をより正確に判断するために、当研究所において 2011 年に LABScreen Single Antigen (LS, Onelambda 社) を用いた抗体検査で陽性と判定した例から HLA 抗体検出反応の傾向を解析したので報告する。

<材料・方法>

2011 年に当研究所で LS を用いて行った Luminex 法の検査結果から、MFI $\geq 1,000$ を示した症例 (HLA-Class I : 252 例, HLA-Class II : 147 例) で、造血幹細胞移植、臓器移植などの患者を対象とした。同一患者で複数検査した場合は最初に検査したものを採択した。

<結果・考察>

ある集団から無作為に選択された患者に対して allo 免疫の機会があり、患者が別の HLA にさらされる確率を考えると、HLA の表現頻度 x にドナーが患者の HLA とは異なる確率 $(1 - x)$ を掛け合わせたものとなる。この単純計算の式からいくと、全体では集団の抗体検出頻度は HLA の表現頻度が 0.5 を最大値とした曲線を描くことになり、ランダムな allo 免疫を考慮しても日本人の集団では HLA 抗体の検出頻度と HLA の表現頻度が正の相関性をもつと考えられる。

今回の結果で A locus を例にすると、検出頻度の高い順から A*11:02 (72 / 252, 28.6%)、A*25:01 (72 / 252, 28.6%)、A*68:02 (71 / 252, 28.2%) となり、アレル頻度との相関性はみられなかった。このような現象がおこる原因として、HLA の免疫原性の差異、allo 抗体の交差反応 (allo 抗体反応)、non-allo、つまりウイルスなどの病原体などに対する抗体との交差反応 (自然抗体)、LS Beads にコーティングされた精製抗原特有の反応 (不完全な分子、特に $\beta 2$ -ミクログリンが欠落した長鎖との非特異反応) が挙げられる。Luminex 法は非常に感度がよいが、微弱な反応でも MFI が上がるという一面がある。

全体の反応からできるだけモノクローナルな反応を集められるように、陽性 Beads 数 5 個以下の症例に注目すると抗-A*11:02 は 14 例が該当し、そのうちの 4 例は単独の反応であった。さらに 14 例のうち 10 例の MFI が 3,000 以下であり、抗-A*11:02 は抗原-抗体反応の結合力が弱く、単独で反応する傾向にある。それに対して、抗-A*25:01 は 5 個以下に限定した場合には 4 例のみで、単独の反応例はなかった。MFI も 4 例のうちの 1 例のみが 3,000 以下であった。このことは抗-A*25:01 が抗-A*11:02 のように単独のエピトープと反応するのではなく、他抗原と

の共通エピトープと反応することを意味する。血清学的には A25 と A26 が交差反応することが知られており、A*25:01 陽性の 72 例のうち 40 例は A*26:01 が陽性である。

また、各 locus ごとの全陽性反応から MFI が 10,000 以上の割合を解析したところ、Class I は A locus (417 / 1,486, 28.0%)、B locus (1,164 / 3,164, 36.8%) に比べ C locus (52 / 467, 11.1%) が、Class II は DR locus (320 / 1,149, 27.9%)、DQ locus (169 / 709, 23.8%) に比べ DP locus (74 / 503, 14.7%) において頻度が低い、つまり C locus、DP locus は他の locus と比べて全体的に MFI が低値の傾向にあり、抗原性 (免疫原性) が低いか、交差反応が少ないか、精製 Beads の抗原量が少ないなどの可能性が想定される。

< 結論 >

今回の解析の結果、Luminex 法で用いられている精製 HLA 抗原結合 beads と検体との反応にはそれぞれの抗原毎に挙動の特徴があることが確認された。Luminex 法による HLA 抗体検査の結果の解釈には各 Beads の特性についての十分な理解が不可欠である。

Beads	アレル頻度	陽性症例数(%)	各陽性Beads数における症例数					陽性Beads数≧5かつ MFI≧3,000の症例数	
			5	4	3	2	1		
A*11:02	0.226%	72(28.6%)	3	5	1	1	4	10	
A*25:01	Not Found	72(28.6%)	1	1	1	1	0	1	
A*68:02	0.005%	71(28.2%)	1	2	2	1	0	4	
A*32:01	0.032%	61(24.2%)	0	0	1	0	0	1	
A*66:02	Not Found	61(24.2%)	1	1	0	1	0	2	
B*57:01	Not Found	98(38.9%)	0	1	1	0	1	1	
B*45:01	Not Found	97(38.5%)	5	1	1	2	2	6	
B*15:12	Not Found	97(38.5%)	6	1	0	1	1	3	
B*57:03	Not Found	94(37.3%)	0	1	1	0	0	2	
B*82:01	Not Found	84(33.3%)	2	1	1	2	2	5	
C*17:01	0.016%	95(37.7%)	2	4	4	8	3	17	
C*15:02	3.051%	39(15.5%)	0	2	1	0	0	3	
C*02:02	0.039%	32(12.7%)	1	1	1	1	0	3	
C*07:02	12.464%	29(11.5%)	0	0	1	1	0	1	
C*06:02	0.812%	29(11.5%)	0	2	0	1	1	4	
DRB1*04:03	2.953%	64(43.5%)	3	2	3	1	4	13	
DRB1*09:01	14.130%	54(36.7%)	0	2	0	1	0	3	
DRB1*04:01	0.908%	53(36.1%)	3	1	1	0	0	5	
DRB1*04:02	0.005%	49(33.3%)	2	0	0	0	0	2	
DRB1*04:04	0.230%	48(32.7%)	2	2	1	0	1	5	
DQB1*03:01	DQA1*05:03	11.538%	53(36.1%)	3	2	3	1	2	9
DQB1*03:01	DQA1*02:01	11.538%	38(25.9%)	1	0	0	0	0	0
DQB1*03:01	DQA1*05:05	11.538%	36(24.5%)	2	0	0	0	0	1
DQB1*03:01	DQA1*03:01	11.538%	31(21.1%)	1	0	0	0	0	0
DQB1*03:01	DQA1*06:01	11.538%	30(20.4%)	1	0	0	0	0	0
DPB1*19:01	DPA1*01:03	0.738%	27(18.4%)	0	0	0	0	0	0
DPB1*02:01	DPA1*01:03	24.111%	23(15.6%)	0	0	0	0	0	0
DPB1*10:01	DPA1*02:01	Not Found	22(15.0%)	0	0	1	0	1	2
DPB1*14:01	DPA1*02:01	1.476%	22(15.0%)	0	1	0	0	1	2
DPB1*28:01	DPA1*02:01	Not Found	22(15.0%)	0	0	0	0	0	0

全検体(Class I : 252例、Class II : 147例)における陽性数の各locusのTop 5を表に示す。

※DQ,DPのアレル頻度についてはそれぞれDQB1,DPB1の頻度を記載。

7. 非血縁者間骨髄移植における保存検体の HLA タイピング

柏瀬貢一¹⁾、東史啓¹⁾、屋部登志雄¹⁾、高梨美乃子¹⁾、佐竹正博¹⁾、鬼塚真仁²⁾、森島泰雄³⁾

1) 日本赤十字社 関東甲信越ブロック血液センター

2) 東海大学血液内科

3) 愛知県がんセンター研究所

国内の非血縁者間骨髄移植における遺伝子多型の与える影響を研究するため、移植ドナー・患者ペアの移植前検体の収集、DNA抽出が1993年より骨髄移植推進財団ならびに厚生労働研究班によって行われてきた。さらに、HLA-DNA タイピングの意義に関する研究のため、これら保存検体の HLA アリルレベルタイピングも行われている。

1993年から2005年までの笹月班・小寺班・森島班研究で収集された12,376検体、ならびに2006年以降の検体保存事業において収集された8,134検体について、保存血液試料からのDNA抽出とWhole Genome Amplification (WGA) による核酸増幅を行ったのちに、蛍光ビーズ法によってA座、B座、C座、DRB1座、DQB1座およびDPB1座の合計6座のHLAアリルタイピングを実施済み、あるいは実施中である。

このようにして得られた保存検体のHLA 6座のタイピング結果を用いた移植ドナー・患者HLA適合性と移植成績との関連解析から、移植成績に関与する要因が見いだされ、これまでに研究班より数多くの報告が発表されてきた。主な成果としては、第1に、ドナーと患者のHLAが血清型レベルで適合していてもアリルレベルでの相違があれば急性重症GVHD発症が有意に上昇する組み合わせがあり、またA/B/DRB1座だけでなくC座適合性も移植成績に関与していること^{1),2)}、第2に、急性GVHDの発症を有意に増加させるハイリスクなアリルレベル相違の組み合わせがある³⁾一方で、急性GVHDの発症率は増加せずに再発を抑制し得るアリルレベル相違の組み合わせがあること⁴⁾、そして第3にC座をはじめとするKIRリガンドの適合性や*KIR*遺伝子型が移植成績に影響すること^{5),6)}などの知見が挙げられる。こうした研究報告により、非血縁者間骨髄移植におけるHLAのアリルレベルでのタイピングの重要性が認識され、DRB1のDNAタイピングに引き続き、A座およびB座でもDNAタイピングが実施されるようになり、2009年にはドナー登録時のC座DNAタイピングも開始されて現在に至っている。また、保存検体を用いたマイクロアレイによるHLA遺伝子座領域周辺、あるいはgenome-wide association studies (GWAS) 解析により、HLAハプロタイプと急性GVHDの関連⁷⁾や、DPB1座や非HLA遺伝子の多型が移植成績へ及ぼす影響⁸⁾なども報告されている。

さらに、これらのHLAタイピングの最新の知見として、従来(2005年以前)と近年(2006年以降)での移植ペア間におけるHLA適合度は、A座とB座ではアリルレベルでの適合率が上昇している一方で、DRB1座とDQB1座では逆に、血清型レベル・アリルレベルともに適合率が近年は低下してき

ているという状況が確認された。これは DR 座の適合が、A/B/C 座に比べて生存率にあまり関連しないという過去の報告^{1), 2)}が影響したことが考えられた。一方で、C 座と DPB1 座の適合度については従来と近年で変化がなかった。

また、さい帯血移植症例についても、本研究班において非血縁者間骨髄移植症例と同様に移植前さい帯血、患者 DNA 検体の収集と HLA アリルタイピングを、さい帯血バンクと共同で開始している。

References:

- 1) Sasazuki T, Juji T, Morishima Y, et al. Effect of matching of class I HLA alleles on clinical outcome after transplantation of hematopoietic stem cells from an unrelated donor. *N Engl J Med.* 1998;339(17):1177-85.
- 2) Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H, et al. 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;99(11):4200-6.
- 3) Kawase T, Morishima Y, Matsuo K, et al. High-risk HLA allele mismatch combinations responsible for severe acute graft-versus-host disease and implication for its molecular mechanism. *Blood.* 2007;110(7):2235-41.
- 4) Kawase T, Matsuo K, Kashiwase K, et al. HLA mismatch combinations associated with decreased risk of relapse: implications for the molecular mechanism. *Blood.* 2009;113(12):2851-58.
- 5) Morishima Y, Yabe T, Matsuo K, et al. Effects of HLA allele and killer immunoglobulin-like receptor ligand matching on clinical outcome in leukemia patients undergoing transplantation with T-cell-replete marrow from an unrelated donor. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2007;13(3):315-28.
- 6) Yabe T, Matsuo K, Hirayasu K, et al. 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;14(1):75-87
- 7) Morishima S, Ogawa S, Matsubara A, et al. Impact of highly conserved HLA haplotype on acute graft-versus-host disease. *Blood.* 2010;115(23):4664-70.
- 8) Ogawa S, Matsubara A, Onizuka M, et al. Exploration of the genetic basis of GVHD by genetic association studies. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2009 ;15(1 Suppl):39-41. Review.

「移植細胞源を異にする非血縁造血細胞移植の組織適合性に基づく成績向上と移植選択アルゴリズムの確立に関する研究（H23-免疫一般-010）」班
平成24年度第1回班会議（平成24年7月8日名古屋第一赤十字病院）

8. さい帯血移植成績に関与する多型遺伝子に関する研究の進捗状況

さい帯血移植組織適合性共同研究グループ

1. 解析打ち合わせ会開催（平成24年1月8日）

共同研究に参加する全国7施設のさい帯血バンク担当者（共同研究者、検体試料等担当者計14名）により、研究概要、進捗状況、今後の進め方についての報告、討議を行った。

議題：検体収集、HLAデータ収集、倫理審査、解析手順、保存方法など

当面提供可能な保有検体数：約1700症例（今後さらに追加する予定）

2. 研究計画概要の改訂

解析打ち合わせ会での論議および日本赤十字社血液センター、さい帯血バンクの組織変更等に伴い計画概要の一部を変更する（改訂第2版、平成24年7月予定）

主な改訂部分（下線部）

【研究組織】

主任研究者 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター 屋部登志雄

研究事務局 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター 検査開発課

研究実施施設：日本赤十字社関東甲信越ブロックセンターおよび共同研究者の所属施設

共同研究施設：検体、移植データ提供の同意が得られた国内さい帯血バンク等

日本赤十字社北海道さい帯血バンク、日本赤十字社関東甲信越さい帯血バンク、東海大学さい帯血バンク、東海臍帯血バンク、日本赤十字社近畿さい帯血バンク、兵庫さい帯血バンク、日本赤十字社九州さい帯血バンク

【方法と手順】

1、各さい帯血バンクで保存されているさい帯血検体、患者血検体、HLAデータ、および移植データの中で以下の条件を満たすものを選択し、検体を主任研究者施設へ送付し、同施設にて遺伝子解析用に調製後HLAタイピングを行い、研究用解析セット化して保存する。

3. 実施状況（平成24年6月25日現在）

検体DNAの収集、核酸増幅（WGA）、HLAタイピングおよび保存

4施設のさい帯血バンクより1533症例（3066検体）の患者、臍帯血DNAが主任研究者施設に送付された。うち667症例についてはWGAを行い2Dバーコード付きジャケットチューブに保存した。主任研究者施設の保有検体367症例については、蛍光ビーズ法によりHLAアレルタイピングを行いHLA-A～DPB1まで6座12アレルデータを得ている。

NK細胞受容体 *KIR* 遺伝子タイピング

667症例について蛍光ビーズ法により患者、臍帯血の16個の*KIR* 遺伝子の有無を判定した。サイトカイン遺伝子

367症例について抑制性サイトカイン *IL-10*、*IL-19*、*IL-10* 受容体 SNP を判定した。

厚生労働科学研究費補助がん臨床研究事業
「再発等の難治性造血器腫瘍に対する同種造血幹細胞移植を用いた効果的治療法確立に関する研究」
平成24年度第1回班会議

造血幹細胞移植療法に重要な薬剤を果たす免疫抑制剤等薬剤の
PK/PD理論に基づいた投与量適正化に関する研究

**造血幹細胞移植の血球減少期における
バンコマイシン塩酸塩の体内動態**

国立がん研究センター中央病院 薬剤部
渡部 大介, 小井土 啓一, 深田 英嗣, 山本 弘史

造血幹細胞移植後におけるVCM投与

- 移植後の感染症コントロールが治療成否の鍵
- 深刻なグラム陽性菌感染症の高リスク
 - 遷延した好中球減少
 - 皮膚粘膜バリアの障害
 - 留置カテーテル

⇒ VCM投与にて経験的治療が求められる

Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: A consensus review of the American Society of Health-System Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists

MICHAEL P. REAK, BEN LAMASTER, JOHN C. RAYSCHEAFER, ROBERT MOELLERING JR., WILLIAM CROOK, MARIANNE BILLETIER, JOSEPH P. DALOVISIO, AND DONALD P. LEVINE
Am J Health-Syst Pharm. 2009; 66:82-98.

最適なトラフ濃度 $\geq 10\mu\text{g/mL}$ を常に保つこと

- 耐性化進展の防止
- $\text{AUC/MIC} \geq 400$ を達成が重要
(MIC $1\mu\text{g/mL}$ では、最低 $15\mu\text{g/mL}$ を超える必要あり)

VCMのTDM

投与開始後4~5回目 投与法変更後4~5回目

直前 終了1時間後 直前 終了1時間後

60min点滴 60~120min点滴

薬物速度論的パラメータの算出
目標血中濃度の設定
投与計画の立案

前回予測値と実測値の比較

- 1点の測定値 - Bayesian推定法
- 2点の測定値 - Sawchuck-Zaske法

VCMの薬物速度論的パラメータ

動態モデル	薬物速度論的パラメータ
Matzke GR, et al	1-compartment CL = $0.689 \times \text{CLcr} + 0.2196$ Kel = $0.01383 \times \text{CLcr} + 0.0044$
Grasela TH, et al	1-compartment CL = $0.58 \times \text{CLcr}$ Vd = $0.72 \times \text{Wt}$
Ducharme MP, et al	1-compartment CL = $0.771 \times \text{CLcr} + 1.134$ Vd = $0.29 \times \text{age} + 0.32 \times \text{Wt}$
Rodvold KA, et al	2-compartment CL = $0.75 \times \text{CLcr} + 0.003 \times \text{Wt}$ K12 = 1.12 K21 = 0.48 Vdc = $0.21 \times \text{Wt}$
Yasuhara M, et al	2-compartment CL = $0.797 \times \text{CLcr}$ K12 = 0.525 K21 = 0.213 Vdss = 60.7

造血幹細胞移植患者を対象とした報告は見当たらない

目的

- 造血幹細胞移植後の血球減少期におけるVCMの薬物速度論的パラメータを明らかにすること
- 既存(Matzkeらの報告)の薬物速度論的パラメータと比較検討すること

方法

■ 対象症例:
 > 2009年1月～2010年12月において好中球減少期にVCMの経静脈投与が施行された造血幹細胞移植患者

■ デザイン:
 > 診療録による後方視的調査

■ 薬物速度論的パラメータの算出法

$$Kel (hr^{-1}) = \ln(C_p / C_1) / t_2$$

$$Vd (L) = \frac{(Dose / t_0) \times (1 - e^{-kel \times t_0})}{Kel \times (C_{max} - C_1) \times e^{-kel \times t_0}}$$

$$CL_{VCM} (mL/min) = Kel \times Vd \times 1000/60$$

$$AUC_{24hr} (\mu g \cdot hr/mL) = \left\{ (C_1 + C_{max}) \times t_0/2 + (C_{max} + C_p) \times t_1/2 + (C_p - C_1) / (\ln C_p - \ln C_1) \times t_2 \right\} \times 24/t$$

t_0 : 点投与時間
 t_1 : C_{max} から C_p になるまでの時間
 t_2 : C_p から C_1 になるまでの時間
 t : 投与間隔

患者背景 (n=96)

Age, y	Median range 46.5 (17-69)	Gender	male 64 female 32
Wt, kg	61.0 ± 12.0	Disease	leukemia 41 MDS 5 lymphoma 47 Others 3
CLcr, mL/min ※	122 ± 37.2	Regimen	CST 58 RIST 27 HDT/ASCT 11
Dose, mg/kg	16.8 ± 3.40	Source	BM 65 PBSC 28 CB 3
Interval, hr	12.4 ± 2.50		
Peak, μg/mL	34.0 ± 10.2		
Trough, μg/mL	11.1 ± 7.10		

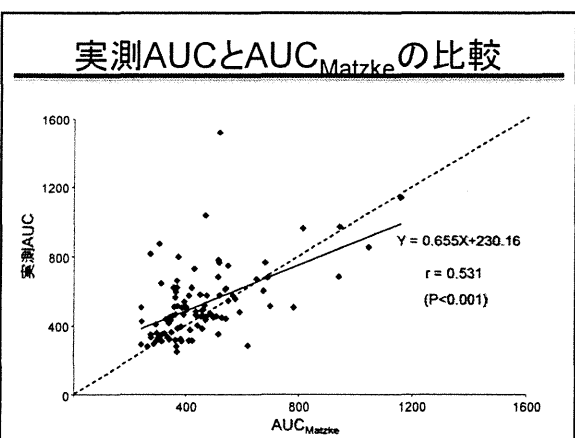
※Cockcroft-Gault式

VCMの薬物速度論的パラメーター

Pharmacokinetics	
Kel, hr ⁻¹	0.13 ± 0.05
Vd, L/hr/kg	0.56 ± 0.12
CL _{VCM} , mL/min	70.3 ± 26.1
AUC _{24hr} , μg·hr/mL	527 ± 208

Matzkeらの報告との比較

	今回の研究 (n=96)	Matzkeらの報告 (n=11)	P
Age, y	44.9 ± 13.0	46.6 ± 16.6	N.S
Male / Female, n	64 / 32	6 / 5	N.S
Wt, kg	61.0 ± 12.0	67.8 ± 5.21	0.002
CLcr, ml/min	122 ± 37.2	87.6 ± 22.3	0.010
Dose, mg/kg/day	16.9 ± 3.40	16.1 ± 3.10	N.S
Kel, hr⁻¹	0.13 ± 0.05	0.08 ± 0.02	<0.001
Vd, L/kg	0.56 ± 0.12	0.72 ± 0.35	N.S
CL _{VCM} , ml/min	70.3 ± 26.1	62.7 ± 25.3	N.S



まとめと考察

■ 造血幹細胞移植患者におけるVCMの薬物速度論的パラメータは、Matzkeらの報告と必ずしも同等ではない

■ VCMの適正使用をめざす上で、造血幹細胞移植患者を対象に「母集団薬物動態解析(PPK)」を行う意義があるかもしれない

平成24年度第2回造血細胞移植合同班会議 総合プログラム・抄録集

厚生労働科学研究 免疫アレルギー等予防・治療研究事業
神田班、森島班、池原班、熱田班、宮村班、高橋班

厚生労働科学研究 医療技術実用化総合研究事業
菊田班

厚生労働科学研究 がん臨床研究事業
福田班、鵜池班、山下班

がん研究開発費
福田班

日時：平成25年1月13日（日） 午前10時～午後7時
平成25年1月14日（月・祭） 午前8時30分～午後5時

場所：国立がん研究センター 国際交流会館（国際会議場）

平成 24 年度第 2 回造血細胞移植合同班会議 総合プログラム

場所 国立がん研究センター 国際交流会館（国際会議場）

平成 25 年 1 月 13 日（日）

午前 10 時～午後 1 時

成人難治性造血器腫瘍に対する同種造血幹細胞移植療法の治療成績向上につながる
基盤整備のための多施設共同研究（研究代表者 福田 隆浩）

本邦における造血細胞移植一元化登録研究システムの確立
（研究代表者 熱田 由子）

午後 2 時～7 時

HLA 不適合血縁者間移植の安全性および有効性向上のための包括的研究
（研究代表者 神田 善伸）

造血細胞移植における肝中心静脈閉塞症（VOD）に対する本邦未承認薬 defibrotide の国内導入のための研
究：第 I 相および第 II 相試験（医師主導治験）（研究代表者 菊田 敦）

非血縁者間同種末梢血幹細胞移植開始におけるドナーおよびレシピエントの安全性と移植成績向上に関す
る研究（研究代表者 宮村 耕一）

造血幹細胞移植の有効性と安全性向上のための薬剤のエビデンスの確立に関する研究
（研究代表者 福田 隆浩）

平成 25 年 1 月 14 日（月・祝）

午前 8 時 30 分～午後 0 時 30 分

灌流法により採取された骨髄細胞を用いた骨髄内骨髄移植療法：基礎から臨床へ
（研究代表者 池原 進）

移植細胞源を異にする非血縁造血細胞移植の組織適合性に基づく成績向上と
移植選択アルゴリズムの確立に関する研究（研究代表者 森島 泰雄）

適応拡大に向けた臍帯血移植の先進化による成績向上と普及に関する研究
（研究代表者 高橋 聡）

成人 T 細胞白血病(ATL)の根治を目指した細胞療法の確立およびその HTLV-1 抑制メカニズムの解明に関す
る研究（研究代表者 鶴池 直邦）

午後 1 時 30 分～3 時

再発等の難治性造血器腫瘍に対する同種造血幹細胞移植を用いた効果的治療法確立に関する研究
（研究代表者 山下 卓也）

第1日目：平成25年1月13日（日）午前

平成25年1月13日（日）

10:00～11:30 がん研究開発費・福田班

「成人難治性造血器腫瘍に対する同種造血幹細胞移植療法の治療成績向上につながる基盤整備のための多施設共同研究」（がん研究開発費 23-A-28）

研究代表者 福田 隆浩

- # 1 本研究班の目標・進行状況について
福田 隆浩／国立がん研究センター中央病院
- # 2 移植後長期フォローユニット（LTFU）体制の確立へ向けて：進捗状況
急性白血病治療後の生活の質（Quality of Life）に関する全国調査：進捗状況
福田 隆浩、黒澤 彩子、森 文子／国立がん研究センター中央病院
- # 3 「同種造血幹細胞移植後の肺炎球菌ワクチンの安全性・有効性を検討する臨床試験」進捗状況
沖中 敬二、福田 隆浩、明田 幸宏、大石 和徳／国立がん研究センター中央病院、大阪大学
微生物病研究所 感染症国際研究センター、国立感染症研究所 感染症情報センター
- # 4 急性リンパ性白血病に対する中等量 VP16/Cy/TBI 前処置を用いた造血細胞移植法の有用性の検討
重松 明男、豊嶋 崇徳、今村 雅寛／北海道大学、札幌北楡病院
- # 5 成人難治性血液悪性腫瘍に対する非血縁者間臍帯血移植の有効性に関する研究（C-SHOT 0601）
寺倉 精太郎、西田 徹也、宮村耕一／名古屋大学、名古屋第一赤十字病院
（宮村班研究）
- # 6 急性骨髄性白血病における遺伝子解析：移植適応を判断するエビデンスの確立
山口 博樹、黒澤 彩子、福田 隆浩／日本医科大学、国立がん研究センター中央病院
- # 7 造血幹細胞移植における栄養管理に関する前向き臨床試験：進捗状況
金 成元、藤 重夫／国立がん研究センター中央病院
- # 8 同種造血幹細胞移植後の血小板減少症に対する TPO-R agonists の有用性
田中 喬、福田 隆浩／国立がん研究センター中央病院

第1日目：平成25年1月13日（日）午前

平成25年1月13日（日）

11：30～13：00 熱田班

「本邦における造血細胞移植一元化登録研究システムの確立」(H23-免疫一般-013)

研究代表者 熱田 由子

11：30-12：30 本邦における造血細胞移植一元化登録研究システムの確立

座長：熱田 由子

1. 班長あいさつ（7分）

熱田 由子（名古屋大学 造血細胞移植情報管理・生物統計学）

2. 二次調査研究

二次調査研究選考に関する報告（5分）

熱田 由子（名古屋大学 造血細胞移植情報管理・生物統計学）

フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病（Ph+ALL）を対象とした造血幹細胞移植における予後因子解析（成人ALLワーキンググループ）（7分）

水田 秀一（藤田保健衛生大学病院 血液・化学療法科内科）

3. 統計解析の効率化と質の向上

EZR JSHCT 一元化データ解析も簡単に!!（7分）

神田 善伸（自治医科大学附属さいたま医療センター・血液科）

共有スクリプト使用に関する報告と統計解析セミナーの案内（7分）

熱田 由子（名古屋大学 造血細胞移植情報管理・生物統計学）

4. TRUMPによる臍帯血移植データの品質向上に向けて（7分）

長村 登紀子（東京大学医科学研究所 附属病院・講師）

加藤 剛二（名古屋第一赤十字病院小児科・第三小児科部長）

12：30-13：00 造血幹細胞移植後長期生存者におけるQOLの向上に関する研究

座長 谷口 修一

1. 本邦における同種造血幹細胞移植後長期生存成人患者におけるQuality of Lifeに関する調査研究—横断的観察研究—（12分）

大島 久美（聖路加国際病院 血液腫瘍科）、黒澤 彩子（国立がんセンター中央病院）熱田 由子（名古屋大学 造血細胞移植情報管理・生物統計学）、谷口 修一（虎の門病院 血液内科）

2. 本邦における自家および同種造血幹細胞移植後長期生存小児患者におけるQuality of Lifeに関する調査研究（12分）

石田 也寸志（聖路加国際病院小児科）、井上 雅美（大阪府立母子センター血液腫瘍科）、早川 晶（神戸大学小児科）、塩原 正明（長野こども病院血液腫瘍科）、佐藤 篤（宮城県立こども病院血液腫瘍科）、谷口 修一（虎の門病院血液内科）

第1日目：平成25年1月13日（日）午後

平成25年1月13日（日）

14：00～15：30 神田班

「HLA 不適合血縁者間移植の安全性および有効性向上のための包括的研究」
(H23-免疫-一般-009)

研究代表者 神田 善伸

1. アレムツズマブを用いた HLA 2 抗原以上不適合同種造血幹細胞移植
(自治医大さいたま医療センター 賀古真一、神田善伸)
2. HLA 不適合移植不適合移植後の HSV-TK 遺伝子導入リンパ球輸注療法の日韓共同治験
(自治医大さいたま医療センター 神田善伸)
3. 血縁者間 HLA 半合致フル移植
(兵庫医科大学 池亀和博、石井慎一、海田勝仁、小川啓恭)
4. MEK 阻害剤によるアロ反応性 T 細胞サブセットの選択的阻害効果と HLA 不適合移植への応用可能性
(佐賀大学 進藤岳郎、広島大学 一戸辰夫)
5. 再発難治性慢性移植片対宿主病に対する合成レチノイド Am80 の有効性に関する研究
(岡山大学 前田嘉信)
6. 造血幹細胞移植における間葉系幹細胞による新規治療法の安全性と有効性に関する臨床研究
(名古屋大学大学院医学系研究科小児科学 高橋義行)
7. 減量サイモグロブリンを用いた HLA 一抗原不適合移植の前方視的試験
(自治医大さいたま医療センター 諫田淳也)