

非血縁移植のドナー・移植細胞源の選択に有用な HLA と非 HLA 遺伝子の 選択アルゴリズムの確立

研究分担者 村田 誠 名古屋大学医学部附属病院 血液内科 講師

研究要旨

臍帯血移植では拒絶の克服が重要な課題である。最近、患者血液中のドナーHLA 特異的抗体の存在と移植片拒絶との相関が統計学的に証明された。我々はドナーHLA 抗体が実際に細胞傷害活性を發揮して幹細胞の生着を阻害するのか、またその HLA を特異的に認識し細胞傷害活性を發揮する T 細胞は同時に存在するのかを明らかにするため、実際に臍帯血移植を受けて拒絶に至った患者から検体を採取し、解析を行った。この患者ではドナーのみが有する HLA-B*54:01 を抗体と T 細胞が共通認識し、臍帯血拒絶に関与したことが明らかになった。また HLA-B*54:01 特異的抗体および特異的 T リンパ球クローンは、いずれも移植前から患者血液中に存在していたことを確認した。現在、症例数を増やして確認実験を進めている。

A. 研究目的

非血縁臍帯血移植では約 20%の頻度で拒絶が発生する。その機序として、臍帯血幹細胞に対する患者の細胞性免疫応答が最も重要な役割を果していると考えられてきた。ところが最近、移植前患者血液中のドナーHLA 特異的抗体の存在と移植片拒絶との相関が統計学的に証明された。

そこで我々は、ドナーHLA 抗体が実際に細胞傷害活性を發揮して拒絶を誘導するのか否か、またその HLA を認識し細胞傷害活性を發揮する T 細胞は同時に存在するのか否かを明らかにするため、実際に臍帯血移植を受け拒絶に至った患者から検体を採取し、解析を行った。

B. 研究方法

臍帯血移植後拒絶を来した患者から同意を得て移植前後の血液を採取した(名古屋大学医学部生命倫理審査委員会承認済み)。血清を分離し、HLA 抗体の有無を、抗体ビーズを用いた FCM で検出した。また単核球を分離し、限界希釈法により T 細胞クローンを分離した。

C. 研究結果

拒絶時患者血清中からドナーのみが有する HLA-B*54:01 に対する抗体を検出した。その血清と保存患者 NK 細胞を用いた ADCC 活性により、HLA-B*54:01 を有する骨髓単核球のコロニー形成能が抑制され

ることを確認した。CDC 活性は認めなかった。

一方、拒絶時患者末梢血単核球から 2 つの独立した T 細胞クローンを分離した。いずれのクローンもドナー LCL (EBV 感作 B 細胞株) に対しては細胞傷害活性を示したが、患者 LCL に対しては示さなかった。うち 1 つのクローンは HLA-B*54:01 を認識し、かつ HLA-B*54:01 を有する骨髓単核球のコロニー形成能を抑制した。以上より、ドナーのみが有する HLA-B*54:01 を、抗体と T 細胞が共通認識し、臍帯血拒絶に関与したことが示された。

さらに移植前の患者保存血清中にも HLA-B*54:01 に対する抗体が存在していたこと、また今回分離した T 細胞クローンの T 細胞受容体 Vbeta CDR3 特異的 PCR を行うことで移植前患者血球中にも HLA-B*54:01 特異的 T リンパ球クローンが存在していたことを確認した。

D. 考察

臍帯血移植片拒絶症例において、液性免疫と細胞性免疫の両者が協働し移植片拒絶に関与していた。HLA-B*54:01 特異的抗体および細胞傷害性 T 細胞は、移植前に HLA-B*54:01 抗原に感作された際にヘルパー T 細胞を介して、同時期に産生された可能性があると考えている。

現在、HLA 抗体を有する他の症例の検体を用いて、HLA 抗体が存在する場合にはその HLA に対する特異的 T リンパ球も同時に存在するのか、その確認実験を進めている。

E. 結論

非血縁臍帯血移植における拒絶のメカニズムを解明することは、移植細胞源の選択アルゴリズムの確立に寄与すると考えている。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

論文発表

1. Murata M, et al. Clinical factors predicting the response of acute graft-versus-host disease to corticosteroid therapy: an analysis from the GVHD Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013 Aug;19(8):1183-9.
2. Murata M, et al. Allogeneic transplantation for primary myelofibrosis with BM, peripheral blood or umbilical cord blood: an analysis of the JSHCT. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Nov 25. doi: 10.1038/bmt.2013.180. [Epub ahead of print]
3. Yasuda T, Murata M, et al. Leukemic evolution of donor-derived cells harboring IDH2 and DNMT3A mutations after allogeneic stem cell transplantation. *Leukemia*. 2014 Feb;28(2):426-8.

学会発表

1. Murata M, et al. Transplantation for primary myelofibrosis using bone marrow, peripheral blood and umbilical cord blood: a retrospective analysis of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. The 39th Annual Meeting of the European Group for Blood and Marrow Transplantation, in London, UK. April 7-10, 2013.
2. Watanabe K, Murata M, et al. Anti-CD20 chimeric antigen receptor transduced T cells can recognize very

low antigen expression: determination of the lower threshold required to activate the CAR-T cells. The 55th Annual Meeting of the American Society of Hematology, in New Orleans, Louisiana. December 7-10, 2013.

3. Hanajiri R, Murata M, et al. Cord blood allograft rejection mediated by coordinated donor-specific cellular and humoral immune process. The 55th Annual Meeting of the American Society of Hematology, in New Orleans, Louisiana. December 7-10, 2013.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし。