

厚生労働科学研究費補助金

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 移植医療研究分野)

**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**

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 森島 泰雄

平成 26 年 (2014) 年 3 月

目 次

．総括研究報告

- 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 ----- 1

．分担研究報告

- 1．非血縁者間移植における HLA-DPB1 アリル不適合な組み合わせの移植免疫反応への影響
森島泰雄 ----- 8
- 2．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
村田誠 ----- 16
- 3．ゲノムワイド関連解析による GVHD の遺伝学的背景の解析
-網羅的解析により検出された急性 GVHD 関連 SNP の新規コホートでの検証-
小川誠司 ----- 19
- 4．移植免疫反応に関与する NK 細胞関連遺伝子とその多型の同定
屋部登志雄 ----- 21
- 5．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
鬼塚真仁 ----- 24
- 6．移植免疫反応と遺伝子多型の解析：抗酸化ポリフェノールによる同種免疫効果増強の試み
高見昭良 ----- 26
- 7．非血縁者間骨髄移植におけ HLA ハプロタイプの意義
森島聡子 笹月健彦 ----- 29
- 8．HLA 適合度に基づく非血縁ドナー移植と臍帯血移植の比較
熱田由子 ----- 31
- 9．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 ----- 35
- 10．移植後免疫抑制剤としての calcineurin 阻害剤の選択と移植成績
南谷泰仁 ----- 38

11 . 非血縁者間骨髄移植における新たなドナー選択アルゴリズムについての 研究海外ドナーからの造血幹細胞移植の成績 一戸辰夫	----- 41
12 . HLA に基づく臍帯血移植データベースの基盤整備と関連解析 高梨美乃子 松本加代子	----- 43
13 . 血縁者間ドナー・レシピエントの DNA バンク設立のための調査に関する研究 宮村耕一	----- 47
14 . アジア地域の同種移植データベース構築とその解析 飯田美奈子	----- 54
. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 57
. 研究成果の刊行物・別刷	----- 58

厚生労働科学研究費補助金 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 移植医療研究分野)

(H23-免疫-一般-010)

総括研究報告書

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 愛知県がんセンター研究所 研究員

非血縁者間造血細胞移植症例とさい帯血移植症例の良く整備されたデータと試料を蓄積し、精緻な遺伝学的な手法を用いHLAと非HLA遺伝子を解析することにより、組織適合性にもとづく移植法選択のアルゴリズムを構築することが可能になってきた。

研究分担者

森島泰雄	愛知県がんセンター研究所 疫学・予防部 研究員	熱田由子	名古屋大学医学部大学院 講師
		田中淳司	東京女子医大血液内科 主任教授
村田誠	名古屋大学血液内科 講師	南谷泰仁	東京大学附属病院 講師
小川誠司	京都大学腫瘍生物学講座 教授	一戸辰夫	広島大学原医研血液腫瘍内科 教授
屋部登志雄	日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター 係長	松本加代子	日本赤十字社近畿ブロック血液センター 課長
鬼塚真仁	東海大学医学部血液内科 講師	高梨美乃子	日本赤十字社血液事業本部 主幹
笹月健彦	九州大学高等研究院特別 主幹教授	宮村耕一	名古屋第一赤十字病院血液内科 部長
高見昭良	金沢大学附属病院輸血部 准教授		
森島聡子	藤田保健衛生大学血液内科 講師	飯田美奈子	愛知医科大学医学部 助教

A. 研究目的

日本骨髄バンク (JMDP) からの非血縁者間骨髄移植が 14000 例以上、日本さい帯血ネットワークからの移植が 10000 例以上実施されているが、長期生存例は約半数に留まり満足すべきものではない。成績を悪化させる主な要因は重症移植片対宿主病 (GVHD) の発症、移植片の拒絶と移植後の再発であり、ドナー・臍帯血と患者との組織適合性抗原の違いがこれら移植免疫反応と生存に大きく関与す

ることが、これまでの厚生労働科学研究班により次第に明らかになってきた。

本研究は、これら研究成果をさらに発展させ移植の現場に導入すべく、現在我が国の同種造血幹細胞移植が直面している研究課題につき組織適合性を基盤にして取り組んでいる。

第1の課題は、ドナー・移植細胞源選択に有用な HLA と非 HLA 遺伝子の同定である。JMDP やさい帯血移植の検体を用いて、より精緻な細胞遺伝学的な手法 (HLA とその分子解析、

HLA ハプロタイプ解析、HLA 遺伝子以外の多型解析 (Whole genome SNPs、マイクロサテライト、サイトカイン受容体、NK 細胞受容体) により移植免疫反応に影響を与える HLA と HLA 以外の組織適合性抗原とその多型を同定するとともに、これらの多型の中でどれが臨床成績に影響があるかの重み付け解析 (統合解析) を共通の基盤で実施し、適切なドナー選択の個別化アルゴリズムを構築することである。

第 2 は、組織適合性に基づく骨髄移植、末梢血幹細胞移植ならびにさい帯血移植成績の解析による最適移植法の選択である。非血縁骨髄移植をコントロールとして、さい帯血移植と H22 年度から JMDP で開始された末梢血幹細胞移植の臨床成績を共通の HLA データに基づき比較検討し、どのような HLA 適合度のどの移植法を選択することが患者にとり最適を示す選択アルゴリズムを確立することである。このためにはさい帯血移植・末梢血幹細胞移植・さい帯血移植のアリルレベルの HLA が同定されたデータベース作りが不可欠である。

第 3 は、非血縁者間移植の人種別比較成績に基づく国際間移植ドナーの効率的運用である。人種間で移植免疫反応の程度が大きく異なっていることが明らかになってきた。白人やアジアにおける人種間の違いを共通データベースにより解析することにより、海外バンクからの移植の位置付けと国際間移植の促進に資する。

B. 方法 C. 結果

1. HLA-DPB1適合の重要性

JMDPを介した非血縁移植患者とドナーのペア一検体を後方視的にHLA-A, B, C, DRB1, DQB1,

DPB1アリルを検査し、臨床情報を加えて多変量解析することによりHLAアリル適合性に効果を検証している。2010年までの7951ペアの解析が可能となり、今年度はHLA-DPB1適合につき中心的に解析した。HLA-DPB1はドナー選択時の検査HLA座には含まれていないため、選択バイアスの影響を受けることなく、移植免疫反応への生物学的な影響につき明らかにすることが可能であった。HLA-DPB1不適合は急性GVHDを生じさせるが、慢性GVHDの発症には関与しなかった。さらにHLA-DPB1不適合によるGVL効果は慢性GVHDによるGVL効果とは独立したものであった。HLA-DPB1適合度は他のHLA座の適合度と異なった形で移植成績に関与し、HLA-DPB1タイピングは非血縁移植の臨床に有用と考えられた。

2. HLAのアリルとHLAハプロタイプそのものの重要性

HLA領域のmulti-SNPの解析により、HLA-A~DQB1のハプロタイプ(HP)520種類を同定し、そのSNPsコンセンサスシーケンス(CS)を決定することができた。このCSを用いて個人の所有するHLAアリルまたはHLA-HPとUR-BMTの急性GVHDの関連性を解析すると、急性GVHD2-4度のリスクと関連するHLAアリルは複数認められたが、その中でも特にHLA-DPB1*04:02に強い関連が認められた(HR 1.63; P=0.001)。HLA-DPB1*04:02を有する主なHPの中で、DRB1*01:01-DQB1*01:01-DPB1*04:02には弱い関連が認められたが(HR 1.39; P=0.043)、DRB1*04:05-DQB1*04:01-DPB1*04:02には強い関連が認められたことより(HR 2.13; P<0.001)、急性GVHDと関連する責任遺伝子は後者のHP上に存在することが示唆された。複数の異なるHPグループで同一のHLAアリルを所有する場合でも、アリル周囲の共有する範囲はグループ間で異なり、特定のHLAアリルと連鎖する領域を検討する際には、HLAハプロタイプの構造を考

慮する必要がある。

3 . 非血縁骨髄移植の移植免疫反応に関する非HLA遺伝子の解析

1) 現在までに JMDP 等の解析結果や文献により GVHD・生存に関する可能性のある HLA アリル以外の 72SNPs を選択し、その多型解析を TagMan 法にて実施している。第 1 次解析として HLA-A から DPB1 まで完全適合し T 細胞非除去 GVHD 予防法を用いた白血病 400 ペアという均一なコホートを対象に解析した。患者、ドナー、患者とドナー不適合のいずれかで有意な SNPs 多型有する 26 抗原を見出し、現在 HLA-DPB1 不適合 800 ペア用いた validation 検査が終了し、データを解析中である。

2) HLA 12/12 アリル一致非血縁者間骨髄移植を受けた前移植歴のない血液がん患者とドナー 393 組を解析し、移植後生存率と有意な関連を示した患者側 SNP は、CCL2_2、CCL_3、CD53、IL23RIL12RB2_1、IL23RIL12RB2_2、NLRP3_1、PTPN22 の 7 種類であった。スコア化し、good risk (142 例) intermediate risk (122 例) high risk (127 例) へ層別化したところ、5 年生存率はそれぞれ 56%、48%、34% (p=0.003) であった。複数の患者側 SNP が独立して移植後転帰に影響する可能性が示唆された。またドナー側 PTPN22 は有意な予後因子であり、ドナー PTPN22 遺伝子多型解析は、最適なドナーを選ぶのに役立つ可能性がある。

4 . さい帯血移植におけるHLA適合の関与

世界的に見てもさい帯血移植をHLAアリルレベルで解析した報告はほとんどない。現在までに全国7つのさい帯血バンクの協力により約2000症例ペアのDNA検体を収集し、HLA-A -B -C -DR座のアリル再タイピング作業を終了した。

さい帯血移植はHLA 8/8一致非血縁ドナーが

いない場合の良好な第二代替ドナー・幹細胞であり、本邦でのさい帯血移植とHLAの関連研究において、小児患者においては欧米からの報告と同様にHLA一致度を上げることの重要性が示唆された。一方成人患者においてはHLA一致度を上げることによる生存へのpositiveな影響は認められなかった。

5 . さい帯血移植におけるNK細胞受容体適合度の臨床成績に及ぼす影響の解析

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おり、ヨーロッパのグループは 80%の症例に ATG を併用する完全寛解期 AML, ALL における KIR の GVH 方向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。しかし、本邦において臍帯血移植に ATG することはほとんどないため KIR GVH 方向ミスマッチ移植の有効性は認められず、一方で HVG 方向ミスでは臍帯血移植の生着に関わる不安定性とあいまって、生着を悪化させたものと推測された。

6 . さい帯血移植における拒絶のメカニズムを解明

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られた。

7 . 国際的移植データベースによる人種の遺伝的背景が移植免疫反応と移植成績に及ぼす影響

国際組織適合性ワークショップ (IHWG) で収集された非血縁者間造血細胞移植症例の解析で日本人間移植は白人間移植に比べ急性

GVHDの発症リスクは有意に低く、予想外に移植後の白血病の発症率も有意に低く、その結果として移植後の生存率は良好であった

(BBMT 19(8)1197-203, 2013)。

D. 考察

造血移植免疫反応に関与するHLA以外の遺伝子多型の結果を統合し、臨床に応用すべき遺伝子多型を明らかにすることが重要であろう。今後、臍帯血移植におけるHLAアリルや非HLA遺伝子多型、NK細胞レセプターとHLAハブ

ロタイプを解析することにより、より精緻に組織適合性に基づく非血縁者間移植との比較が可能になろう。

E. 結論

非血縁者間造血細胞移植症例とさい帯血移植症例の良く整備されたデータと試料を蓄積し、精緻な遺伝学的な手法を用いHLAと非HLA遺伝子を解析することにより、組織適合性にもとづく移植法選択のアルゴリズムを構築することが可能になってきた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1: Atsuta Y, Suzuki R, Yamashita T, Fukuda T, Miyamura K, Taniguchi S, Iida H, Uchida T, Ikegame K, Takahashi S, Kato K, Kawa K, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Sakamaki H, Koderu Y; Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Continuing increased risk of oral/esophageal cancer after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults in association with chronic graft-versus-host disease. *Ann Oncol*. 2014 Feb;25(2):435-41.

2: Tanaka J, Morishima Y, Takahashi Y, Yabe T, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Onishi Y, Miyamura K, Kanamori H, Aotsuka N, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. Effects of KIR ligand incompatibility on clinical outcomes of umbilical cord blood

transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission. *Blood Cancer J*. 2013 Nov 29;3:e164.

3: Murata M, Nishida T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Fukuda T, Mori T, Kobayashi H, Nakaseko C, Yamagata N, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Atsuta Y, Suzuki R, Naoe T. 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]

4: Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Takatsuka Y, Eto T, Miyazaki Y, Hidaka M, Uike N, Miyamoto T, Tsudo M, Sakamaki H, Morishima Y, Suzuki R, Utsunomiya A. Impact of graft-versus-host disease on allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T cell leukemia-lymphoma focusing on preconditioning regimens: nationwide

- retrospective study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013 Dec;19(12):1731-9.
- 5: Kanda J, Nakasone H, Atsuta Y, Toubai T, Yokoyama H, Fukuda T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Eto T, Miyamura K, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Murata M. Risk factors and organ involvement of chronic GVHD in Japan. *Bone Marrow Transplant*. 2014 Feb;49(2):228-35.
- 6: Kanamori H, Mizuta S, Kako S, Kato H, Nishiwaki S, Imai K, Shigematsu A, Nakamae H, Tanaka M, Ikegame K, Yujiri T, Fukuda T, Minagawa K, Eto T, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Suzuki R, Sakamaki H, Tanaka J. Reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation for patients aged 50 years or older with B-cell ALL in remission: a retrospective study by the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Nov;48(12):1513-8.
- 7: Nakao M, Chihara D, Niimi A, Ueda R, Tanaka H, Morishima Y, Matsuo K. Impact of being overweight on outcomes of hematopoietic SCT: a meta-analysis. *Bone Marrow Transplant*. 2014 Jan;49(1):66-72.
- 8: Nakasone H, Onizuka M, Suzuki N, Fujii N, Taniguchi S, Kakihana K, Ogawa H, Miyamura K, Eto T, Sakamaki H, Yabe H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Fukuda T. Pre-transplant risk factors for cryptogenic organizing pneumonia/bronchiolitis obliterans organizing pneumonia after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Oct;48(10):1317-23.
- 9: Morishima Y, Kawase T, Malkki M, Morishima S, Spellman S, Kashiwase K, Kato S, Cesbron A, Tiercy JM, Senitzer D, Velardi A, Petersdorf EW; International Histocompatibility Working Group in Hematopoietic Cell Transplantation. Significance of ethnicity in the risk of acute graft-versus-host disease and leukemia relapse after unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013 Aug;19(8):1197-203.
- 10: Murata M, Nakasone H, Kanda J, Nakane T, Furukawa T, Fukuda T, Mori T, Taniguchi S, Eto T, Ohashi K, Hino M, Inoue M, Ogawa H, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Yabe H, Morishima Y, Sakamaki H, Suzuki R. 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.
- 11: Tanaka J, Kanamori H, Nishiwaki S, Ohashi K, Taniguchi S, Eto T, Nakamae H, Minagawa K, Miyamura K, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishimoto N, Oba K, Masauzi N.

- Reduced-intensity vs myeloablative conditioning allogeneic hematopoietic SCT for patients aged over 45 years with ALL in remission: a study from the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). *Bone Marrow Transplant.* 2013 Nov;48(11):1389-94.
- 12: Hirokawa M, Fukuda T, Ohashi K, Hidaka M, Ichinohe T, Iwato K, Kanamori H, Murata M, Sakura T, Imamura M, Adachi S, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H; PRCA Collaborative Study Group. Efficacy and long-term outcome of treatment for pure red cell aplasia after allogeneic stem cell transplantation from major ABO-incompatible donors. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013 Jul;19(7):1026-32.
- 13: Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Recent decrease in non-relapse mortality due to GVHD and infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in non-remission acute leukemia. *Bone Marrow Transplant.* 2013 Sep;48(9):1198-204.
- 14: Nakasone H, Kanda J, Yano S, Atsuta Y, Ago H, Fukuda T, Kakihana K, Adachi T, Yujiri T, Taniguchi S, Taguchi J, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Mori T, Murata M; GVHD Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. A case-control study of bronchiolitis obliterans syndrome following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transpl Int.* 2013 Jun;26(6):631-9.
- 15: Nakasone H, Kurosawa S, Yakushijin K, Taniguchi S, Murata M, Ikegame K, Kobayashi T, Eto T, Miyamura K, Sakamaki H, Morishima Y, Nagamura T, Suzuki R, Fukuda T. Impact of hepatitis C virus infection on clinical outcome in recipients after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Am J Hematol.* 2013 Jun;88(6):477-84.
- 16: Harkensee C, Oka A, Onizuka M, Middleton PG, Inoko H, Nakaoka H, Gennery AR, Ando K, Morishima Y; Japan Marrow Donor Programme (JMDP). Microsatellite scanning of the immunogenome associates MAPK14 and ELTD1 with graft-versus-host disease in hematopoietic stem cell transplantation. *Immunogenetics.* 2013 Jun;65(6):417-27.
- 17: Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Maeda Y, Ichinohe T, Ohashi K, Fukuda T, Miyamura K, Iida H, Mori T, Iwato K, Eto T, Kawa K, Morita S, Morishima Y. Impact of a single human leucocyte antigen (HLA) allele mismatch on the outcome of unrelated bone marrow transplantation over two time periods. A retrospective analysis of 3003

- patients from the HLA Working Group of the Japan Society for Blood and Marrow Transplantation. *Br J Haematol*. 2013 May;161(4):566-77.
- 18: Kako S, Morita S, Sakamaki H, Iida H, Kurokawa M, Miyamura K, Kanamori H, Hara M, Kobayashi N, Morishima Y, Kawa K, Kyo T, Sakura T, Jinnai I, Takeuchi J, Miyazaki Y, Miyawaki S, Ohnishi K, Naoe T, Kanda Y. The role of HLA-matched unrelated transplantation in adult patients with Ph chromosome-negative ALL in first remission. A decision analysis. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Aug;48(8):1077-83.
- 19: Nishiwaki S, Miyamura K, Ohashi K, Kurokawa M, Taniguchi S, Fukuda T, Ikegame K, Takahashi S, Mori T, Imai K, Iida H, Hidaka M, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Tanaka J; Adult Acute Lymphoblastic Leukemia Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Impact of a donor source on adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia: a retrospective analysis from the Adult Acute Lymphoblastic Leukemia Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Ann Oncol*. 2013 Jun;24(6):1594-602.
- 20: Atsuta Y, Kanda J, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Ohashi K, Ohno Y, Onishi Y, Aotsuka N, Nagamura-Inoue T, Kato K, Kanda Y; HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Different effects of HLA disparity on transplant outcomes after single-unit cord blood transplantation between pediatric and adult patients with leukemia. *Haematologica*. 2013 May;98(5):814-22.
- H . 知的財産権の取得状況
なし

厚生労働科学研究費補助金 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 移植医療研究分野)
分担研究報告書

非血縁者間移植における HLA-DPB1 アリル不適合な組み合わせの移植免疫反応への影響

研究分担者 森島泰雄 愛知県がんセンター研究所
研究協力者 柏瀬貢一 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター
東 史啓 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

研究要旨：ドナーと患者の HLA 遺伝子型の判明した 2010 年までの非血縁者間骨髄移植ペアを多変量解析にて再解析することにより、HLA-DPB1 不適合は急性 GVHD の発症率を増加させるだけでなく、移植後の白血病再発率の低下、すなわち GVL 効果を得ることが確認された。また、HLA-DPB1 アリル不適合な組み合わせの移植免疫反応への影響を HLA-A~DQB1 適合ペアで解析すると、GVL 効果が強い組み合わせ、GVHD が生じやすい組み合わせなど 7 組み合わせが有意となった。これらの知見は、非血縁者間造血幹細胞移植において、HLA-DPB1 の適合性を考慮に入れたドナー選択が治療成績向上のためには重要であることを示唆している。

A. 研究目的

HLA-DPB1 抗原座はクラス II 抗原である HLA-DRB1 や HLA-DQB1 抗原座よりもセントロメア側に位置しており、古くは primed lymphocyte test (PLT) により同定されていた。ドナー・患者間の HLA-DPB1 アリルのミスマッチは非血縁者間造血細胞移植症例の約 3 分の 2 に認められ、移植免疫反応や移植成績への影響が解析されてきた。JMDP の解析では HLA-DPB1 ミスマッチで急性 GVHD の発症頻度が有意に高くなり (NEJM 339:1177, 1998)。その後 HLA-DPB1 ミスマッチ症例では移植後の白血病再発のリスクが低くなること (graft-versus-leukemia effect (GVL)) を明らかにした (Blood 113:2851, 2009)。海

外でも、HLA-DPB1 ミスマッチの GVHD や生存への影響が解析され、関与する HLA-DPB1 エピトープも報告されている

本研究の目的は、研究班において後方視的に解析された HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1 のアリルデータに基づき、非血縁者間骨髄移植における HLA-DPB1 適合度の慢性 GVHD・GVL 反応への影響をより詳細に検討し、HLA-DPB1 をドナー選択のアルゴリズムに導入するための基盤データを構築することである。

B. 研究方法

症例：日本骨髄バンクを介したドナーから 1993 年～2010 年に移植された非血縁者間骨髄移植症例の中で、本研究班において後

方視的に HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1 遺伝子型が retyping されたドナー・患者ペアの中から以下の基準を満たす症例を選択した。

1. 上記 HLA アリル型が判明している HLA-A ~ DQB1 アリル適合症例。

2. GVHD 予防法として T 細胞非除去法、ATG 未使用例。

3. 移植後 7 日以上生存例

年代別では 1993 年-2000 年 2331 症例、2001 年-2005 年 3113 症例、2006 年-2010 年 2507 症例であった。

白血病再発解析は AML, ALL, CML 症例を用いた。

統計：Competing risk regression/Cox regression model を用い臨床因子と他の HLA 座の適合度を cofounder として調整した。

C. 研究結果

1) HLA-DPB1 不適合 (GVH 方向) の急性 GVHD の発症に与える影響

表 1 に急性 GVHD () の HLA 座別の hazard risk (HR)を示したが、DPB1 不適合のリスクは適合に比べ 1.36 と有意 ($P<0.001$) に高かった。急性 GVHD () の DPB1 不適合の HR リスクは 1.23 と有意 ($P=0.001$) に高かった。

2) HLA-DPB1 不適合 (GVH 方向) の慢性 GVHD の発症に与える影響

表 1 に慢性 GVHD の HLA 座別の hazard risk (HR)を示した。

HLA-C 不適合のリスクは適合に比べ 1.24 と有意 ($P<0.001$) に高かった。

HLA-DQB1 不適合のリスクは 1.15 ($p=0.018$)と有意であることが明らかになった。HLA-DPB1 の不適合のリスクは 1.04

($P=0.367$)と有意でなく、DPB1 の不適合は慢性 GVHD の発症に影響を与えないことが確認された。

3) HLA-DPB1 不適合 (GVH 方向) の白血病再発の発症に与える影響

移植後 100 日以上生存例を解析した。表 2 に白血病再発の HLA 座別の hazard risk (HR)を示したが、HLA-C 不適合のリスクは適合に比べ 0.70 と有意 ($P<0.001$) に低かった。さらに、HLA-DPB1 不適合のリスクは適合に比べ 0.69 と有意 ($P<0.001$) に低いことが再確認できた。

4) HLA-DPB1 アリル不適合な組み合わせの移植免疫反応への影響を HLA-A ~ DQB1 適合ペアで解析すると、GVL 効果が強い組み合わせ、GVHD が生じやすい組み合わせなど 7 組み合わせが有意となった (表 4)。

D. 考察

非血縁移植においては HLA-A, B, C, DRB1 の遺伝子型の適合度に基づきドナーの選択が行われるため、HLA-DPB1 適合度の移植免疫反応に対する影響の解析においては、移植前の主治医への information バイアスがないと考えられ、biological な効果を客観的に natural cohort study として解析することが可能であった。今回の再解析の結果、2008 年までの日本骨髄バンクを介した症例解析で得られた結果である HLA-DPB1 不適合により急性 GVHD の発症率が高くなることが確認できた。また、HLA-C の不適合と HLA-DPB1 の不適合で白血病の再発は低くなる移植片対白血病効果 (GVL effect) も確認できた。新知見として、HLA-DPB1 アリル不適合な組み合わせの移植免疫反応への影響を明らかにすることができた。これらの組み合わせの中には GVL 効

果を高め、急性 GVHD を増悪させない組み合わせも含まれており、ドナー選択に有用な知見と考えられた。

E. 結論

HLA 遺伝子型の判明した多数例の非血縁者間骨髄移植ペアを多変量解析にて解析することにより、HLA-DPB1 不適合は急性 GVHD の発症率を増加させるだけでなく、移植後の白血病再発率の低下、すなわち GVL 効果を得ることが明確となった。また、HLA-DPB1 アリル不適合な組み合わせの移植免疫反応への影響を明らかにすることができた。これらの知見は、非血縁者間造血幹細胞移植において、HLA-DPB1 の適合性を考慮に入れたドナー選択が治療成績向上のためには重要であることを示唆している。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 論文発表

1: Atsuta Y, Suzuki R, Yamashita T, Fukuda T, Miyamura K, Taniguchi S, Iida H, Uchida T, Ikegame K, Takahashi S, Kato K, Kawa K, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Sakamaki H, Koderu Y; Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Continuing increased risk of oral/esophageal cancer after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults in association with chronic graft-versus-host disease. *Ann Oncol*. 2014 Feb;25(2):435-41.

2: Tanaka J, Morishima Y, Takahashi Y,

Yabe T, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Onishi Y, Miyamura K, Kanamori H, Aotsuka N, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. Effects of KIR ligand incompatibility on clinical outcomes of umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission. *Blood Cancer J*. 2013 Nov 29;3:e164.

3: Murata M, Nishida T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Fukuda T, Mori T, Kobayashi H, Nakaseko C, Yamagata N, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Atsuta Y, Suzuki R, Naoe T. 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]

4: Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Takatsuka Y, Eto T, Miyazaki Y, Hidaka M, Uike N, Miyamoto T, Tsudo M, Sakamaki H, Morishima Y, Suzuki R, Utsunomiya A. Impact of graft-versus-host disease on allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T cell leukemia-lymphoma focusing on preconditioning regimens: nationwide retrospective study. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013 Dec;19(12):1731-9.

5: Kanda J, Nakasone H, Atsuta Y, Toubai T, Yokoyama H, Fukuda T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Eto T, Miyamura K,

- Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Murata M. Risk factors and organ involvement of chronic GVHD in Japan. *Bone Marrow Transplant*. 2014 Feb;49(2):228-35.
- 6: Kanamori H, Mizuta S, Kako S, Kato H, Nishiwaki S, Imai K, Shigematsu A, Nakamae H, Tanaka M, Ikegame K, Yujiri T, Fukuda T, Minagawa K, Eto T, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Suzuki R, Sakamaki H, Tanaka J. Reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation for patients aged 50 years or older with B-cell ALL in remission: a retrospective study by the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Nov;48(12):1513-8.
- 7: Nakao M, Chihara D, Niimi A, Ueda R, Tanaka H, Morishima Y, Matsuo K. Impact of being overweight on outcomes of hematopoietic SCT: a meta-analysis. *Bone Marrow Transplant*. 2014 Jan;49(1):66-72.
- 8: Nakasone H, Onizuka M, Suzuki N, Fujii N, Taniguchi S, Kakihana K, Ogawa H, Miyamura K, Eto T, Sakamaki H, Yabe H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Fukuda T. Pre-transplant risk factors for cryptogenic organizing pneumonia/bronchiolitis obliterans organizing pneumonia after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Oct;48(10):1317-23.
- 9: Morishima Y, Kawase T, Malkki M, Morishima S, Spellman S, Kashiwase K, Kato S, Cesbron A, Tiercy JM, Senitzer D, Velardi A, Petersdorf EW; International Histocompatibility Working Group in Hematopoietic Cell Transplantation. Significance of ethnicity in the risk of acute graft-versus-host disease and leukemia relapse after unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013 Aug;19(8):1197-203.
- 10: Murata M, Nakasone H, Kanda J, Nakane T, Furukawa T, Fukuda T, Mori T, Taniguchi S, Eto T, Ohashi K, Hino M, Inoue M, Ogawa H, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Yabe H, Morishima Y, Sakamaki H, Suzuki R. 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.
- 11: Tanaka J, Kanamori H, Nishiwaki S, Ohashi K, Taniguchi S, Eto T, Nakamae H, Minagawa K, Miyamura K, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishimoto N, Oba K, Masauzi N. Reduced-intensity vs myeloablative conditioning allogeneic hematopoietic SCT for patients aged over 45 years with ALL in remission: a study from the Adult ALL Working Group of the

- Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). Bone Marrow Transplant. 2013 Nov;48(11):1389-94.
- 12: Hirokawa M, Fukuda T, Ohashi K, Hidaka M, Ichinohe T, Iwato K, Kanamori H, Murata M, Sakura T, Imamura M, Adachi S, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H; PRCA Collaborative Study Group. Efficacy and long-term outcome of treatment for pure red cell aplasia after allogeneic stem cell transplantation from major ABO-incompatible donors. Biol Blood Marrow Transplant. 2013 Jul;19(7):1026-32.
- 13: Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Recent decrease in non-relapse mortality due to GVHD and infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in non-remission acute leukemia. Bone Marrow Transplant. 2013 Sep;48(9):1198-204.
- 14: Nakasone H, Kanda J, Yano S, Atsuta Y, Ago H, Fukuda T, Kakihana K, Adachi T, Yujiri T, Taniguchi S, Taguchi J, Morishima Y, Nagamura T, Sakamaki H, Mori T, Murata M; GVHD Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. A case-control study of bronchiolitis obliterans syndrome following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. Transpl Int. 2013 Jun;26(6):631-9.
- 15: Nakasone H, Kurosawa S, Yakushijin K, Taniguchi S, Murata M, Ikegame K, Kobayashi T, Eto T, Miyamura K, Sakamaki H, Morishima Y, Nagamura T, Suzuki R, Fukuda T. Impact of hepatitis C virus infection on clinical outcome in recipients after allogeneic hematopoietic cell transplantation. Am J Hematol. 2013 Jun;88(6):477-84.
- 16: Harkensee C, Oka A, Onizuka M, Middleton PG, Inoko H, Nakaoka H, Gennery AR, Ando K, Morishima Y; Japan Marrow Donor Programme (JMDP). Microsatellite scanning of the immunogenome associates MAPK14 and ELTD1 with graft-versus-host disease in hematopoietic stem cell transplantation. Immunogenetics. 2013 Jun;65(6):417-27.
- 17: Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Maeda Y, Ichinohe T, Ohashi K, Fukuda T, Miyamura K, Iida H, Mori T, Iwato K, Eto T, Kawa K, Morita S, Morishima Y. Impact of a single human leucocyte antigen (HLA) allele mismatch on the outcome of unrelated bone marrow transplantation over two time periods. A retrospective analysis of 3003 patients from the HLA Working Group of the Japan Society for Blood and Marrow Transplantation. Br J Haematol. 2013 May;161(4):566-77.
- 18: Kako S, Morita S, Sakamaki H, Iida H,

- Kurokawa M, Miyamura K, Kanamori H, Hara M, Kobayashi N, Morishima Y, Kawa K, Kyo T, Sakura T, Jinnai I, Takeuchi J, Miyazaki Y, Miyawaki S, Ohnishi K, Naoe T, Kanda Y. The role of HLA-matched unrelated transplantation in adult patients with Ph chromosome-negative ALL in first remission. A decision analysis. Bone Marrow Transplant. 2013 Aug;48(8):1077-83.
- 19: Nishiwaki S, Miyamura K, Ohashi K, Kurokawa M, Taniguchi S, Fukuda T, Ikegame K, Takahashi S, Mori T, Imai K, Iida H, Hidaka M, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Tanaka J; Adult Acute Lymphoblastic Leukemia Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Impact of a donor source on adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia: a retrospective analysis from the Adult Acute Lymphoblastic Leukemia Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Ann Oncol. 2013 Jun;24(6):1594-602.
- 20: Atsuta Y, Kanda J, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Ohashi K, Ohno Y, Onishi Y, Aotsuka N, Nagamura-Inoue T, Kato K, Kanda Y; HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Different effects of HLA disparity on transplant outcomes after single-unit cord blood transplantation between pediatric and adult patients with leukemia. Haematologica. 2013 May;98(5):814-22.
- H. 知的財産権の取得状況**
なし

表 3

Effect of HLA locus matching on Survival

		Survived >6 days								
HLA		All pairs				HLA-A, B, DR sero match pairs				
		N	SHR	[95% CI].	P	N	SHR	[95% CI].	P	
A	M	7,096				6,313				
	MM*	855	1.29	1.17	1.42	<0.001	772	1.30	1.17	1.43
B	M	7,525				6,726				
	MM	426	1.27	1.11	1.45	<0.001	359	1.31	1.13	1.51
C	M	5,605				5,081				
	MM	2,346	1.21	1.13	1.30	<0.001	2,004	1.22	1.13	1.32
DRB1	M	5,919				5,778				
	MM	2,032	1.09	0.98	1.21	0.125	1,307	1.06	0.95	1.19
DQB1	M	5,724				5,525				
	MM	2,227	1.08	0.97	1.19	0.145	1,560	1.07	0.96	1.19
DPB1	M	2,619				2,357				
	MM	5,332	1.03	0.96	1.11	0.349	4,728	1.03	0.96	1.11

* Mismatch in GVH direction

表 4. High Risk HLA-DPB1 Mismatch Combination for A-GVHD, Relapse and Survival

HLA-DPB1 allele		AML ALL CML HLA-A ~ DQB1 match Compared with DPB1 match in GVH direction									
Donor	Patient	N	Relapse		A-GVHD(2-4)		A-GVHD(3-4)		Mortality		
			HR	P	HR	P	HR	P	HR	P	
02:01	05:01	793	0.75	0.016	1.24	0.006	1.04	0.853	0.95	0.472	
03:01	05:01	150	0.69	0.101	1.44	0.006	2.14	0.021	0.90	0.454	
05:01	02:01	776	0.68	0.003	1.19	0.035	1.07	0.756	0.95	0.466	
05:01	04:02	244	0.85	0.387	1.32	0.023	0.88	0.714	0.91	0.390	
05:01	09:01	150	0.89	0.585	1.61	0.001	2.44	0.001	1.28	0.051	
09:01	05:01	147	0.82	0.390	1.43	0.013	1.13	0.733	0.88	0.389	
04:02	05:01	241	0.45	0.002	1.07	0.599	0.75	0.458	1.01	0.946	

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。

ゲノムワイド関連解析による GVHD の遺伝学的背景の解析
-網羅的解析により検出された急性 GVHD 関連 SNP の新規コホートでの検証-

研究分担者 小川 誠司 京都大学大学院医学研究科腫瘍生物学講座 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最大の合併症であるが、その遺伝的要因は不明な部分が多い。これまでに本研究では、1993 年-2005 年に日本骨髄バンク (JMDF) を通じて移植が実施された症例についてゲノムワイドな関連解析を行い、急性 GVHD と強い関連をもつ 3 座位を検出した。当該座位の SNP について新たに 2005 年以降の JMDF の移植コホートを用いて関連解析をしたが、いずれの座位も急性 GVHD 発症との有意な関連が認められなかった。この結果は、網羅的解析を行ったコホートと新規コホートにおける、移植・GVHD 治療法の時代的相違に基づく集団特性の差に起因する可能性があり、引き続き特定の条件の移植での関連や、他の遺伝的要因についても検討を行う。

A. 研究目的

同種幹細胞移植最大の合併症である GVHD の低減は、移植成績向上を目指す上で不可欠であるが、その成因は不明な点が多い。本研究の目的は、ゲノムワイドな関連解析から GVHD 発症に寄与する遺伝子多型を同定することである。GVHD は、ドナーと患者それぞれの遺伝的背景(多型)や、その相違が原因となることが判っているが、HLA 以外の多型の相違については、現段階では知見に乏しい。

B. 研究方法

1993-2005 年に JMDF を通じて造血幹細胞移植が実施された計 1589 移植のドナー・患者については、既に高密度 SNP アレイによる SNP タイピングが実施されている。ゲノムワイドな関連解析の結果、急性 GVHD と関連が示唆される 3 座位が同定された。これらの結果を 2005 年以降のコホート、計 1800 検体を用いて新たに検証を実施した。ジェノタイピングには、TaqMan PCR 法を用いた。

(倫理面への配慮)

本研究で用いた試料は、JMDF を通じて研究への許諾が得られており、JMDF の試料検討委員会および京都大学医学部の設置する倫理委員会の承認を経て研究が実施された。

C. 研究結果

2005 年以降のコホート (N=1840) のドナー・レシピエントのタイピング結果に基づき関連解析を行ったところ、いずれの座位も急性 GVHD 発症との有意な関連が認められなかった。

D. 考察

網羅的解析を行ったコホートと新規コホート間には、移植・GVHD 治療法の時代的相違による、集団特性の大きな差があると考えられる。新規コホートでは当該 SNP が及ぼす急性 GVHD 発症へ影響が緩和された可能性がある。引き続き特定の条件に絞った関連解析や、他の遺伝的要因についても検討を行う。

E. 結論

網羅的解析で急性 GVHD との関連が認められた3座位について、新規コホートでは関連が認められなかった。

F. 研究発表

1.論文発表 投稿準備中 / 2.学会発表 なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1.特許取得 なし / 2.実用新案登録 なし

/

3.その他 なし

厚生労働科学研究費補助金 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 移植医療研究分野)
分担研究報告書

移植免疫反応に関与する NK 細胞関連遺伝子とその多型の同定

研究分担者 屋部登志雄 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター検査部
研究協力者 柏瀬貢一 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター検査部
研究協力者 東史啓 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター検査部
研究協力者 平安恒幸 大阪大学免疫学フロンティア研究センター

研究要旨 他分担研究者とともに臍帯血移植における組織適合性遺伝子の移植成績への影響のレトロスペクティブ解析のため、全国の臍帯血バンクと協力して DNA 検体収集、DNA 増幅、HLA タイピング、検体保存およびデータベース作成を行った。それらの検体について KIR 遺伝子解析を行い移植成績への影響について検討した。

A. 研究目的

造血幹細胞移植成績への NK 細胞関連遺伝子型の影響が報告されているが、その効果ははっきりとは定まっていない。研究分担者らは以前の研究班において JMDP の骨髄移植症例の KIR 遺伝子解析を担当してきたが、本研究班においても解析を継続している。今年度はさらに臍帯血移植症例検体の KIR 遺伝子型およびリガンド HLA タイピングを行い、移植成績への影響解析を行う。

研究代表者森島および松尾による組織適合性遺伝子統合解析プロジェクトに協力して、検体準備と解析の一部を分担する。また臍帯血移植における組織適合性遺伝子の移植成績への影響のレトロスペクティブ解析のため、当班分担研究者である松本、高梨らとともに全国の臍帯血バンクと協力して DNA 検体収集、調製および遺伝子多型解析を行う。

B. 研究方法

(1) さい帯血バンクより収集した移植ペア DNA 検体を全ゲノム増幅(WGA)したのち、KIR 遺伝子型を蛍光ビーズ法による PCR-SSO 法にてタイピングを行う。HLA タイピングデータより KIR リガンド型を判定する。移植成績と得られた KIR 遺伝子型、リガンド型との関連について統計解析を行う。

(2) 統合解析プロジェクト用 DNA 検体の抽出、WGA、バーコード付記容器での試料管理、解析用プレートの作成を行う。

(3) 他分担研究者高梨、松本らの全国臍帯血移植症例検体の収集、全ゲノム増幅(WGA)および HLA 遺伝子型タイピング作業に協力する。

(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) 臍帯血移植約 650 症例ペア 1300 検体の *KIR* 遺伝子型を判定した。これらのうち移植成績および HLA タイピングデータの得られている 350 症例について成績との関連統計解析を行った。*KIR* 遺伝子型は 16 個の各 *KIR* 遺伝子型、ハプロタイプ型 (A,B) および Centromere 側、Telomere 側に分けたモチーフ (Cen, Tel モチーフ A,B) について、*KIR* リガンド型としては *HLA-C* 座の C1,C2、*HLA-A,B* 座の Bw4、*HLA-A* 座の A3,A11 の 4 型を考慮した患者、ドナー間 *KIR* リガンド不適合性について、生存率、白血病再発率、重症 GVHD 発症率との関連を解析した。*KIR* 遺伝子型モチーフ Tel-B 陽性ドナーからの移植では急性重症 GVHD (2 - 4 度) の発症率が高かった。生着症例のみ解析では *KIR* リガンド不適合移植での白血病再発率の抑制効果が認められた。

(2) 統合解析用 *HLA-A ~ DQB1* 一致 *HLA-DPB1* 不一致約 1000 症例ペア検体の SNP 解析用プレートを作成した。(3) 全国さい帯血バンク移植症例の DNA 検体収集、DNA 増幅、HLA タイピング、検体保存およびデータベース作成作業に協力した。本年度は 1476 症例ペア検体を収集した。

D. 考察

骨髄移植、末梢血幹細胞移植症例において *KIR* 遺伝子型の移植成績への影響が報告されているが臍帯血移植成績との関連はまだ報告されていない。今回の解析から *KIR*

モチーフ Tel-B 陽性ドナー移植での急性 GVHD 発症との関連が見出された。海外の骨髄、末梢血幹細胞移植症例で示されているような Tel-B の AML 症例での有意な再発抑制効果は見いだせなかった。AML の症例数 (141 例) が少ないことによる可能性もあり、今後さらに解析数を増やして検討する必要がある。やはり AML の再発率に強く影響することが骨髄、末梢血幹細胞移植症例で示されているドナー Cen-B/Cen-B 陽性者、ドナー *KIR2DS1* 陽性 - C2/C2 陽性者については日本人集団における頻度が低い (Cen-B/Cen-B, C2/C2 それぞれ 1%未満) ために評価ができなかった。欧州で報告された臍帯血移植症例での *KIR* リガンド不適合の白血病再発抑制効果は生着症例のみの解析で同様な傾向がみられたが全症例解析では有意な差は認められなかった。

E. 結論

臍帯血移植症例の *KIR* 遺伝子解析を行い移植成績への影響について検討した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Harkensee C, Oka A, Onizuka M, Middleton PG, Inoko H, Hirayasu K, Kashiwase K, Yabe T, Nakaoka H, Gennery AR, Ando K, Morishima Y; Japan Marrow Donor Program. Single nucleotide polymorphisms and outcome risk in unrelated mismatched hematopoietic stem cell

transplantation: an exploration study.

Blood. 2012 ;119(26):6365-72.

2) Hirayasu K, Ohashi J, Kashiwase K, Hananantachai H, Naka I, Ogawa A, Takanashi M, Satake M, Nakajima K, Parham P, Arase H, Tokunaga K, Patarapotikul J, Yabe T. Significant association of KIR2DL3-HLA-C1 combination with cerebral malaria and implications for co-evolution of KIR and HLA. *PLoS Pathog*. 2012;8(3):e1002565.

2.学会発表

なし

H. 知的財産権の出願、登録状況

なし

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

研究分担者 鬼塚 真仁 東海大学医学部 講師

研究要旨

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

A. 研究目的

我々は HLA 以外に移植成績に影響を与える因子の存在として、マイナー組織適合抗原およびサイトカイン・ケモカインなどの移植後免疫応答に深く関わるタンパクの遺伝子多型性を解析し、HLA 以外の新たな造血幹細胞移植関連因子の探求を目的として研究をおこなっている。

特に、今年度は薬剤代謝関連遺伝子多型と白血球治療成績の解析を重点的に解析した。

B. 研究方法

1. 急性骨髄性白血病治療に必須治療薬であるシタラビンの代謝に関係するタンパクに注目し、タンパクをコードする遺伝子の遺伝子多型解析を行った。シタラビン代謝経路における代表的な7つの遺伝子 (*SLC29A1*, *CDA*, *NT5C2*, *DCTD*, *DCK*, *RRM1*, *CTPS*) を対象とし、日本人に minor allele frequency が 0.3 以上存在する SNP を抽出し、TaqMan プローブ法により Genotype を確定した。

2. SLC29A1 遺伝子型を確定した健常人を対象として、末梢血有核細胞膜上の SLC29A1 の発現量をフローサイトメトリーにて評価した。

3. シタラビンと同様の代謝経路を有する骨髄異形成症候群に使用する薬剤のアザシチジン

ンについて、治療効果を検討した。アザシチジンが投与された骨髄異形成症候群 26 症例を対象に、全生存率、再発率について評価した。

4. 被験者からは遺伝子多型解析を行うことを文章で説明し、同意書を得ている。

C. 研究結果

SLC29A1の発現解析；治療成績と統計学的に有意な関係を認めたSNPsでフローサイトメトリーにより細胞表面上のSLC29A1発現量に有意な差を認めた。大量シタラビン療法で再発率が有意に上昇したSNPsでは発現量が低値であった。逆にこのSNPsは中等量シタラビン療法群においては再発率が有意に低値であった。すなわち、24時間持続投与の中等量シタラビン療法では、細胞表面上のSLC29A1の発現量が高い方が再発のリスクが高いことが判明した。

また、寛解導入不良については、*RRM1*に存在するSNPが関係した。

骨髄異形成症候群に対するアザシチジン治療成績；骨髄異形成症候群では治療成績に影響する薬剤代謝関連遺伝子はCTPSであった。治療成功期間、全生存率ともにCTPSに存在する遺伝子多型が統計学的な有意差を認めた。

D. 考察

今回の結果から、SLC29A1の発現量に影響するSNPsでシタラピン治療による予後が左右される可能性が示唆された。アザシチジンにおいてはCTPSの遺伝子多型が有意差をもって骨髄異形成症候群の治療に影響し、CTPSにおけるこのSNPの機能解析を今後進めることとする。

E. 結論

薬剤代謝遺伝子多型が化学療法の治療成績に影響することが判明した。造血細胞移植においても、前処置に使用する薬剤代謝に関する遺伝子多型は、移植成績に何らかの影響を与えることが示唆され、さらに研究を深めることとする。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Mitsuki Miyamoto, Makoto Onizuka, Shinichiro Machida, Masako Toyosaki, Jun Amaki, Yasuyuki Aoyama, Hidetsugu Kawai, Ai Sato, Naoki Hayama, Yoshiaki Ogawa, Hiroshi Kawada, Kiyoshi Ando. ACE deletion polymorphism is associated with a high risk of non-infectious pulmonary complications after stem cell transplantation. *Int J Hematol* 2013 99(2), 175-83.

2. Nakasone H, Onizuka M, Suzuki N, Fujii N, Taniguchi S, Kakihana K, Ogawa H, Miyamura K, Eto T, Sakamaki H, Yabe H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Fukuda T. Pre-transplant risk factors for cryptogenic organizing pneumonia/bronchiolitis obliterans organizing pneumonia after hematopoietic

cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 48, 1317-1323, 2013.

3. Christian Harkensee, Akira Oka, Makoto Onizuka, Peter G. Middleton, Hidetoshi Inoko, Hirofumi Nakaoka, Andrew R. Gennery, Kiyoshi Ando, Yasuo Morishima. Microsatellite scanning of the immunogenome associates MAPK14 and ELTD1 with graft-versus-host disease in hematopoietic stem cell transplantation. *Immunogenetics* 65, 417-427, 2013.

2. 学会発表

特記事項なし

H. 知的財産権の出願、登録状況

1. 特許取得

特記事項なし

2. 実用新案登録

特記事項なし

3. その他

特記事項なし

移植免疫反応と遺伝子多型の解析：抗酸化ポリフェノールによる同種免疫効果増強の試み

研究分担者 高見昭良 金沢大学附属病院 血液内科・輸血部 准教授

研究要旨

レスベラトロールは、抗動脈硬化、抗がん、抗ウイルス、寿命延長効果など多彩な機能を有する抗酸化ポリフェノールである。レスベラトロールが抗酸化作用や NK 活性増強効果誘導能を有することは、実験的に証明されている。レスベラトロールによる同種免疫効果増強を視野に、安全性と抗酸化作用、NK 活性増強効果を検証した。第 I 相臨床試験では、レスベラトロール内服中グレード 1 の下痢を 2 名で認めたが、レスベラトロール内服継続したまま症状は改善した。レスベラトロール内服中抗酸化能は経時的に増加した。また、血漿中 MCP-1、FLT3-L、CXCL10、TNF- α は一過性に増加した。これらの効果は、白血病などに対する同種免疫効果や抗ウイルス効果増強に役立つ可能性が示唆された。

A. 研究目的

レスベラトロールは、赤ワインなど食品や植物に含まれる抗酸化ポリフェノールで、以前より動脈硬化予防効果が知られている。高脂肪食を好むフランス人に、冠動脈硬化性疾患が少ない「フレンチパラドックス」は、赤ワインを通じレスベラトロールを十分摂取しているためとの有名な説がある。また、インドネシアの伝承民間薬として関節炎、気管支炎、喘息などの治療に用いられる裸子植物メリンジョ胚乳の主成分もレスベラトロールである。さらに、レスベラトロールには、認知症やがんの予防効果など、多彩な有効性が報告されている。レスベラトロールには抗ウイルス活性もあり、ヘルペスウイルスやインフルエンザウイルス感染に対する有効性が報告されている。私はこれまで、免疫不全リンパ腫の原因となる EB ウイルスにレスベラトロールが抗ウイルス活性を發揮すること、レスベラトロールが抗白血病効果を持つことを報告してきた。レスベラトロールによる抗ウイルス効果・抗白血病効果は、NK 細胞機能増強（活性化レセプター NKG2D 発現増加、細胞傷害活性増強）を通じてみられる。以上から、

レスベラトロールが、がん患者や免疫不全患者の NK 細胞機能を高め、日和見ウイルス感染予防や抗腫瘍活性増強に役立つ可能性が示唆された。レスベラトロールが試験管内だけでなく、生体でも同様の効果を持つかは不明であった。そこでレスベラトロールによる同種免疫効果増強を視野に、レスベラトロールの安全性および NK 細胞機能増強効果、抗酸化作用を検証した。

B. 研究方法

臨床試験と試料：

20 歳から 60 歳で自覚症状がない、飲酒習慣が週 3 回以下、最近 1 年以内に検診を受け肝腎機能正常が確認されている、説明文書・同意文書による同意が得られている、以上 4 条件を全て満たした健常者 15 名 (29 歳から 50 歳、中央値 39 歳、男 7 名、女 3 名) を対象とした。学部学生・大学院生は対象から除外した。単量体レスベラトロール (RVT) のトランスマックス (TRM) 500 mg/日内服群、2 量体レスベラトロールのメリンジョ (MEL) 340 mg/日内服の 2 群へ無作為に割り付けた。RVT 4 週間内服後 8 週間観察

し、2週間毎に末梢血を採取し血漿分離後解析まで冷凍保存した。試験期間中被検者は健康状態など被験者日誌を記録し、定期的に担当医師の診察を受けた。

方法：

血漿中の活性RVT濃度、抗酸化能、免疫調整蛋白濃度を経時的に測定した。活性RVT (trans-RVT)濃度測定には、超高速液体クロマトグラフィー (HPLC)法を用いた。抗酸化能測定には、ABTS法を用いた。さらに、免疫調整蛋白(MCP-1、FLT3-L、CXCL10、TNF- α 、FLT3-L、IL-1Ra)測定には、蛍光マイクロビーズアレイ・マルチプレックス法を用いた。

倫理的事項

本研究は、金沢大学の倫理委員会で審査・承認を受け、実施された。

C. 研究結果

RVT 毒性

RVT内服中グレード1の下痢を2名認めしたが、RVTを内服したまま症状は改善し、被験者全員が減量、中止することなく試験を完遂した。内服後も毒性はなかった。以上からレスベラトロールの安全性は高いことが示された。

RVT 血漿中濃度

TRM群・MEL群いずれも血漿中活性RVT濃度は経時的に増加し、試験管内で効果が期待できる血中trans-RVT濃度に達した。

抗酸化能への影響

MEL群は内服開始後抗酸化能が経時的に増加する傾向が見られ、4週間の内服終了後も2週間持続した。TRM群は内服開始後抗酸化能が有意に亢進した。以上から、単量体(TRM)2量体(MEL)ともに、レスベラトロールは血清の抗酸化能を高めることが示された。

免疫調整蛋白濃度

レスベラトロール内服後、MCP-1、FLT3-L、CXCL10、TNF- α は一過性に増加した。FLT3-L、IL-1Raは有意な影響はみられなかった。

D. 考察

第1相臨床試験結果から、単量体・2量体いずれもレスベラトロール内服による生体の抗酸化能亢進作用が示された。レスベラトロール内服開始直後15例中2例にグレード1の下痢がみられたが、レスベラトロールを減量・中断を要せず、短期間で自然軽快した。したがって、4週間のレスベラトロール内服は安全に抗酸化能を高める効果が期待できると考えられた。これまでの血管障害、炎症モデル実験から、レスベラトロールは免疫調整蛋白発現に対し、抑制的に作用すると考えられていたが、今回は全く逆の結果であった。定常状態の場合、レスベラトロールは組織傷害を起こさない程度に免疫調整蛋白発現を亢進させ、免疫監視能亢進に寄与するのかもしれない。レスベラトロールによるMCP-1、FLT3-L、CXCL10、TNF- α の誘導効果は、白血病などに対する同種免疫効果や抗ウイルス効果増強に役立つ可能性が示唆された。

E. 結論

今後レスベラトロールを安全かつ有効に臨床応用するには、レスベラトロールが生体内で抗酸化能や免疫調整能を高める機序をより詳細に明らかにする必要がある。レスベラトロールは極めて安全性が高く、臨床応用は十分可能と考える。がんや血液難病、免疫不全、感染症の治療、あるいは予防薬としての有用性の確立を強く望む。

F. 健康危険情報

該当無し

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Zaimoku Y, Takami A, et al. IgM anti-recipiant ABO antibodies predict acute graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol.* 2013 Jul;98(1):96-101.
2. Takami A. The role of non-HLA gene polymorphisms in graft-versus-host disease. *Int J Hematol.* 2013 Sep;98(3):309-18.
3. Takami A. Guest editorial: new basic and clinical aspects of graft-versus-host disease: what can we do without 'Doc' Brown's help? *Int J Hematol.* 2013 Sep;98(3):273-4.
4. Seiki Y, Sasaki Y, Hosokawa K, Saito C, Sugimori N, Yamazaki H, Takami A, Nakao S. Increased plasma thrombopoietin levels in patients with myelodysplastic syndrome: a reliable marker for a benign subset of bone marrow failure. *Haematologica.* 2013 Jun;98(6):901-7.
5. Quoc Trung L, Espinoza JL, Takami A, Nakao S. Resveratrol induces cell cycle arrest and apoptosis in malignant NK cells via JAK2/STAT3 pathway inhibition. *PLoS One.* 2013;8(1):e55183.
6. Nakata K, Takami A, et al, Japan Marrow Donor P. The recipient CXCL10 + 1642C>G variation predicts survival outcomes after HLA fully matched unrelated bone marrow transplantation. *Clin Immunol.* 2013 Feb;146(2):104-11.
7. Luis Espinoza J, Takami A, et al. Ataxia-telangiectasia mutated kinase-mediated upregulation of NKG2D ligands on leukemia cells by resveratrol results in enhanced natural killer cell susceptibility. *Cancer Sci.* 2013 Jun;104(6):657-62.
8. Espinoza JL, Takami A, et al, Japan

Marrow Donor P. Recipient PTPN22 -1123 C/C genotype predicts acute graft-versus-host disease after HLA fully matched unrelated bone marrow transplantation for hematologic malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013 Feb;19(2):240-6.

2. 学会発表

1. Yokoyama H, Takami A, et al. Influence Of Donor Source On Relapse and Survival In Patients With Acute Myeloid Leukemia After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: A Retrospective Analysis From The Japan Society For Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT) AML Working Group. *Blood.* 2013 November 15, 2013;122(21):3361.
2. Takami A, et al. The cellular mechanism underlying the anti-leukemia effects of resveratrol. *Resveratrol 2013 Regional Meeting.* 2013 October 7, 2013.
3. Nakamae H, Takami A, et al. Gvhd Prophylaxis With Mycophenolate Mofetil and Calcineurin Inhibitor In Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation From HLA-Matched Siblings Or 7- 8/8 HLA-Matched Unrelated Volunteer Donors: A Japanese, Multicenter, Phase II Trial. *Blood.* 2013 November 15, 2013;122(21):4586.

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

研究成果の刊行

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻	ページ	出版
Zaimoku Y, Takami A, et al	IgM anti-recipient ABO antibodies predict acute graft-versus-host disease following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation	Int Hematol	J98	96-101	2013
Quoc Trung L, Espinoza JL, Takami A, Nakao S	Resveratrol induces cell cycle arrest and apoptosis in malignant NK cells via JAK2/STAT3 pathway inhibition	PLoS One	8	e55183	2013

非血縁者間骨髄移植における HLA ハプロタイプの意義

研究分担者 森島 聡子 藤田保健衛生大学医学部血液内科 講師
笹月 健彦 九州大学高等研究院 特別主幹教授

研究要旨：

非血縁者間骨髄移植が行われた患者とドナーの多数例の HLA 領域の multi-SNP データを用いて、日本人の主要な HLA ハプロタイプのブロック構造を解析し、同一の HLA アリルを所有する複数の HLA ハプロタイプ間で共通の領域は異なっていることが明らかとなった。さらに、HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1, -DPB1 が完全一致したドナーから移植を受けた患者で、HLA アリル型及び HLA ハプロタイプと急性 GVHD との関連を解析し、特定の HLA ハプロタイプが急性 GVHD のリスクと関連していることが判明し、HLA アリルやハプロタイプの情報が急性 GVHD の予測因子になる可能性が示された。

A. 研究目的

HLA 領域には免疫と関連した遺伝子が集中して存在し、自己免疫疾患、感染症、悪性腫瘍などの疾患感受性との関連が数多く報告されている。

同種造血幹細胞移植においては急性 GVHD とドナーと患者の HLA 適合度の関連は重要であるが、患者やドナーの HLA 型や HLA ハプロタイプそのものに由来する遺伝学的背景因子との関連は明らかではない。本研究は、日本人の HLA ハプロタイプとそのブロック構造を multi-SNP データを用いて明らかにするとともに、非血縁者間骨髄移植 (UR-BMT) における HLA ハプロタイプ (HLA-HP) や HLA アリル自体と移植免疫反応との関連を解析した。

B. 方法

JMDP を介して移植が行われた患者とドナーの Affymetrix GeneChip Mapping 500K array でタイピングした multi-SNP データを用いて明らかにされた日本人で頻度の高い 3 つの HLA-HP (P1, P2, P3) (Blood. 2010; 115: 4664) のホモ接合体の SNP シークエンスを基に、HLA-A から DQB1 にわたる約 3.0 Mb の領域で、患者とドナーの HLA ハプロタイプの

相の推定し、同じ HLA アリルを持つ HLA-HP をグループ化して、主要な HLA-HP グループのコンセンサス配列を同定した。次に HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1 のアリルが完全一致した非血縁ドナーより移植を受けた患者 731 例を対象とし、HLA アリルの genotype から EM アルゴリズムを用いて、様々な HLA アリルの組み合わせによるハプロタイプを推定し、所有率が 3% 以上のアリル及び HLA-HP と急性 GVHD との関連を competing risk regression model で解析した。

C. 結果

HLA ハプロタイプ構造：HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 一致の患者・ドナー 1593 ペア (3186 人) の中で、2808 人 (88.1%) で相の推定ができた。その中から、同じ HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 のアリルの組み合わせを有する HP をグループとして保存性を検討すると、保存の度合いは HP グループごとに様々であった。その中で、SNP 配列が均一でコンセンサス配列の決定が容易であった 25 の HP グループについて、グループ間のコンセンサス配列を比較することで、異なる HP が共有するブロック構造を捉えることが可能となった。

個人の所有するHLAアリルまたはHLA-HPとUR-BMTの急性GVHDの関連性:急性GVHD2-4度のリスクと関連するHLAアリルは複数認められたが、中でも特にHLA-DPB1*04:02に強い関連が認められた(HR 1.63; P=0.001)。HLA-DPB1*04:02を有する主なHPの中で、DRB1*01:01-DQB1*01:01-DPB1*04:02には弱い関連が認められたが(HR 1.39; P=0.043)、DRB1*04:05-DQB1*04:01-DPB1*04:02には強い関連が認められたことより(HR 2.13; P<0.001)、急性GVHDと関連する責任遺伝子は後者のHP上に存在することが示唆された。

D. 考察

複数の異なるHPグループで、同一のHLAアリルを所有する場合でも、アリル周囲の共有する範囲はグループ同志で異なり、HLAアリルと連鎖する領域を検討する際には、HLAハプロタイプの構造を考慮することが必要と考えられた。さらに、移植免疫反応と関連する責任遺伝子の解明には、HLAハプロタイプの構成を考慮する必要がある。

E. 結論

HLAハプロタイプ自体が急性GVHDに関与しており、HLAハプロタイプとそのブロックの重要性を示すことができた。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

論文発表

1. Morishima Y, Kawase T, Malkki M, Morishima S, Spellman S, Kashiwase K, Kato S, Cesbron A, Tiercy JM, Senitzer D, Velardi A, Petersdorf EW, International

Histocompatibility Working Group in Hematopoietic Cell T. Significance of ethnicity in the risk of acute graft-versus-host disease and leukemia relapse after unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2013;19(8):1197-1203.

2. Moran D, Morishima S, Malkki M, Petersdorf EW. Identification of the MICA*070 allele by sequencing and phasing. *Hum Immunol.* 2013;74(5):557-561.

学会発表

1. Morishima S, Kashiwase K, Azuma F, Yabe T, Sato-Otsubo A, Ogawa S, Shiina T, Satake M, Hiroo S, Kato S, Kodera Y, Sasazuki T, Morishima Y. Impact of HLA allele and haplotype on acute graft-versus-host disease and survival in hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donor. 55th Annual Meeting of American Society of Hematology (口演, New Orleans, USA, 2013).
2. 森島聡子. 同種造血幹細胞移植におけるHLAハプロタイプの意義. 第22回日本組織適合性学会大会. (シンポジウム, 福島, 2013)
3. 森島聡子, 松尾恵太郎, 小林武, 森毅彦, 鬼塚真仁, 日高道弘, 福田隆浩, 井上雅美, 田中淳司, 熱田由子, 神田善伸, 森島泰雄. HLA一致同朋間移植におけるHLA型およびHLAハプロタイプが急性GVHDに及ぼす影響. 第36回日本造血細胞移植学会総会. (口演, 沖縄, 2014)

H. 知的財産権の取得状況

なし

HLA 適合度に基づく非血縁ドナー移植と臍帯血移植の比較

研究分担者 熱田 由子 名古屋大学大学院医学系研究科

研究要旨

造血幹細胞移植が必要な患者での第二代替ドナー・幹細胞として位置づけられる HLA 不適合非血縁ドナーからの骨髄移植 (UBMT) と非血縁ドナーからの臍帯血移植 (UCBT) の比較研究を行い、論文発表を行った (Atsuta et al. BBMT 2012)。背景因子で補正を行った補正比較解析で、UCBT は DRB1 1 座不一致 UBMT と同等の生存成績を示した。本研究では、UCBT が DRB1 1 座あるいはその他の 1 座不一致 (7/8) UBMT と類似の生存成績を示し、良好な第二代替ドナー・幹細胞であることを示した。さらに、UCBT における HLA 一致度が移植成績に与える影響に関する検討を行った。16 歳未満の小児患者においては、HLA 一致度を上げることにより重度の GVHD の発症および移植関連死亡を減らし生存成績を向上させることを示し、成人患者においては HLA 一致度と生存成績との関連を認めなかったことを示した。

A. 研究目的

造血幹細胞移植が必要な患者での第一選択ドナーである HLA 一致同胞が見つかる可能性は 30%未満である。そのため、70%以上の患者において代替ドナーを探す必要がある。代替ドナー選択のアルゴリズムに重要な知見を登録データ (日本造血細胞移植学会全国調査データ) を用いて検討することを本研究の目的とする。

現在の第一代替ドナー・幹細胞は HLA-A, -B, -C および -DRB1 一致の非血縁ドナーであり、本邦ではこれまでは骨髄に限られていた。第二代替ドナー・幹細胞としては、HLA 不適合非血縁ドナー、非血縁ドナーよりの臍帯血、HLA 不適合血縁ドナーが挙げられる。近年本邦では、年間約 3000 件の同種造血幹細胞移植が実施されており、そのうちの約 65-70%は非血縁者ドナーからの移植 (非血縁者間骨髄移植: 非血縁者間臍帯血移植=1100: 1000 程度) である。第二代替ドナー・幹細胞に位置づけられる HLA 不適合非血縁ドナーからの骨髄移植

(UBMT) と非血縁ドナーからの臍帯血移植 (UCBT) の比較を行った。さらに、UCBT における HLA 一致度が移植成績に与える影響に関する検討を行った。

B. 研究方法

日本造血細胞移植学会、日本小児血液学会、骨髄移植推進財団 (骨髄バンク)、日本さい帯血バンクネットワークが協力して造血細胞移植登録の一元化・電子化を 2006 年より行っている造血細胞移植登録一元管理プログラム (TRUMP) データベースを用いて研究を実施した。主評価項目は、いずれの研究も全生存とした。UBMT と UCBT との比較研究では HLA-DRB1 1 座ミスマッチ UBMT と HLA-A, -B low resolution, -DRB1 high resolution で 2 座までのミスマッチの UCBT の比較を主比較とし、HLA Class I (HLA-A, -B, もしくは -C) 1 座ミスマッチのあるいは II 座ミスマッチの UBMT は参考数値として表示した。UCBT の HLA 研究に関しては、単一ユニット UCBT を対象とし、16 歳未満の小児

と 16 歳以上の成人に分けて HLA-A, -B low resolution, -DRB1 high resolution で一致度が 6/6, 5/6, 4/6 および 3/6 のものを 6/6 を指標として検討した。

統計解析に関しては、競合リスクイベントを含んだアウトカムの解析に関しては Cumulative incidence 法を用いて時間における頻度を求める単変量解析およびその曲線を描出し、多変量解析は Fine and Gray's model を用いた。その他のアウトカムに関しては、Kaplan-Meier 法で時間における生存率の算出および生存曲線の描出、また多変量解析では Cox proportional hazard model を用いた。補正生存曲線の描出は Cox proportional hazard model を用いて描出した。

C. 研究結果

UBMT と UCBT の比較研究

補正比較解析で、UCBT は DRB1 1 座不一致 UBMT と同等の生存成績を示した (relative risk [RR] = 0.85, 95% confidence interval [CI], 0.68-1.06, P = 0.149)。DRB1 1 座不一致 UBMT に比べ、UCBT では、好中球回復が劣ったが (RR = 0.50, 95% CI, 0.42-0.60, P < 0.001)、II から IV 度の急性 GVHD のリスクが有意に低く (RR = 0.55, 95% CI, 0.42-0.72, P < 0.001)、移植関連死亡が低かった (RR = 0.68, 95% CI, 0.50-0.92, P = 0.011)。再発リスクでは有意な違いは認めなかった (RR = 1.28, 95% CI, 0.93-1.76, P = 0.125)。本研究の解析結果に関しては、2012 年に論文発表を行った。

UCBT HLA 研究

補正比較解析で、小児患者においては 4/6 一致 (2 座ミスマッチ) において 6/6 に比べ有意に全死亡リスク (relative risk [RR]=1.61, P=0.042) および移植関連死亡リスク (RR=3.55, P=0.005) の増加が認められた。6/6 一致に比べ II から IV 度の急性 GVHD のリスクが 5/6 一致 (RR=2.18,

P=0.003) および 4/6 一致 (RR=2.51, P=0.001) において有意に高かった。小児患者においては、HLA 不一致度による再発の影響は認めなかった。一方成人患者においては HLA 不一致の死亡リスクへの影響は認めなかった (RR=0.98, P=0.924 for 5/6, RR=0.88, P=0.423 for 4/6, and RR=0.95, P=0.746 for 3/6)。成人においては 4/6 一致 UCBT 患者において有意に再発リスクの低下を認めた (RR=0.67 P=0.029)。本研究の解析結果に関しては、国内外で 2 回の学会発表を行い、文献 1 で報告した。

D. 考察

UCBT は、HLA 8/8 一致 UBMT ドナーがない場合の良好な第二代替ドナー・幹細胞であると考えられる。HLA 7/8 一致 UBMT との比較では、UCBT を優先して選択するという結果にはならなかったが、本邦で第二代替ドナー・幹細胞の第一選択として検討されることの多い DRB1 1 座不一致 UBMT に比べ、急性 GVHD および移植関連死亡が低いという結果が得られた。申込から幹細胞受け取りまでの時間の短さからよりよい疾患病期に移植できるメリットを生かし、状況に応じて積極的に UCBT を第二代替ドナー・幹細胞として選択することを支持する結果であったと考える。成人における UCBT は、欧米では複数臍帯血移植の実施件数が増加している。一方、本邦においては、単一ユニットを用いた UCBT が年間 1,000 件以上行われており、その 8 割以上が成人患者対象である。ことに単一ユニットの UCBT として多くの輸注細胞数が期待できる小児患者においては、HLA 一致度を上げることにより、HLA 8/8 一致 UBMT と同等の、あるいはそれ以上の移植成績が得られる可能性が欧米の研究結果より示唆されている。本邦での UCBT HLA 研究においても、小児患者においては欧米からの報告と同様に HLA 一致度を上げることの重要性が示唆された。一方成人

患者においては HLA 一致度を上げることによる生存への positive な影響は認められなかった。成人患者では myeloid malignancy が多いこと、あるいは輸注細胞数が小児患者、成人患者間で大きく違うことなどが影響していると考えられる。

E. 結論

本研究では、UCBT が DRB1 1 座あるいはその他の 1 座不一致 (7/8) UBMT と類似の生存成績を示し、良好な第二代替ドナー・幹細胞であることを示した。さらに、UCBT においては、16 歳未満の小児患者においては、HLA 一致度を上げることにより重度の GVHD の発症および移植関連死亡を減らし生存成績を向上させることを示し、成人患者においては HLA 一致度と生存成績との関連を認めなかったことを示した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Atsuta Y, Suzuki R, Yamashita T, Fukuda T, Miyamura K, Taniguchi S, Iida H, Uchida T, Ikegame K, Takahashi S, Kato K, Kawa K, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Sakamaki H. and Kadera Y.: Continuing increased risk of oral/esophageal cancer after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults in association with chronic graft-versus-host disease. *Ann Oncol*. 2014 ;25(2):435-41.
2. Kanda J, Nakasone H, Atsuta Y, Toubai T, Yokoyama H, Fukuda T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Eto T, Miyamura K, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Murata M. Risk factors agannd or involvement of chronic GVHD in Japan. *Bone Marrow Transplant*.

2014 ;49(2):228-35

3. Tanaka J, Morishima Y, Takahashi Y, Yabe T, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Onishi Y, Miyamura K, Kanamori H, Aotsuka N, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. Effects of KIR ligand incompatibility on clinical outcomes of umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission. *Blood Cancer J*. (in press)
4. Atsuta Y, Kanda J, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Ohashi K, Ohno Y, Onishi Y, Aotsuka N, Nagamura-Inoue T, Kato K, Kanda Y. Different effects of HLA disparity on transplant outcomes after single-unit cord blood transplantation between pediatric and adult patients with leukemia. *Haematologica*. 2013 ;98(5):814-22.
5. Kanda J, Atsuta Y, Wake A, Ichinohe T, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Ohashi K, Ohno Y, Aotsuka N, Onishi Y, Kato K, Nagamura-Inoue T, Kanda Y. Impact of the direction of HLA mismatch on transplant outcome in single unrelated cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013;19(2):247-54.
6. Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Changes in incidence and causes of non-relapse mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with acute leukemia/myelodysplastic syndrome: an analysis of the Japan Transplant Outcome Registry. *Bone*

Marrow Transplant. 2013;48(4):529-36.

2. 学会発表

1. 熱田由子 造血幹細胞移植後の二次性固形腫瘍および晩期死亡, 第75回日本血液学会学術集会 2013年10月13日,札幌
2. 熱田由子 非血縁者間臍帯血とHLA不一致非血縁者間骨髄移植における移植成績の比較, 第35回日本造血細胞移植学会総会, 2013年3月9日、金沢
3. Yoshiko Atsuta, Ritsuro Suzuki, Takuya Yamashita, Takahiro Fukuda, Koichi Miyamura, Shuichi Taniguchi, Hiroatsu Iida, Toshiki Uchida, Kazuhiro Ikegame, Satoshi Takahashi, Koji Kato, Keisei Kawa, Tokiko Nagamura-Inoue, Yasuo

Morishima, Hisashi Sakamaki, and Yoshihisa Kodera, for the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation; Continuing increased risk of oral/esophageal cancer after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in adults in association with chronic graft-versus-host disease.18th Congress of the Asia-Pacific Blood Marrow Transplant Group,November 2nd, 2013, Vietnam

H. **知的財産権の出願・登録状況**
なし

KIR リガンド不適合が移植成績に及ぼす影響の検討

研究分担者 田中淳司 東京女子医科大学血液内科学講座 主任教授

研究要旨 本邦におけるATGを使用しない、Single cordによる臍帯血移植においてKIRリガンドのGVHD方向ミスは生存率や再発などの移植成績に大きな影響を与えていなかったが、HVG方向ミスは生着に悪影響を与えていた。

A. 研究目的

近年、NK細胞の抑制性受容体でありHLA class I分子をリガンドとするKIR (Killer cell immunoglobulin-like receptor) と患者HLAの不適合が移植成績に及ぼす影響について注目されている。しかし、その影響については移植細胞源、移植前処置、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る。

本研究においては、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るかを明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

2001～2010年に臍帯血移植を施行した全年齢の患者で、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(286例)、AML(357例)を対象とした。

KIRリガンドとしてHLA-A, B, CのGVH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。

(倫理面への配慮)

本研究は北大病院IRBの承認のもとに行った。

C. 研究結果

臍帯血移植においてKIRリガンドとしてHLA-A, B, CのGVH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。しかし、ALLにおいては、HLA-A, B, CのHVG方向ミス

は生着を悪化させていた(HR 0.66, 95%CI 0.47-0.91, $p=0.013$)。またAMLにおいては有意ではなかったが悪化する傾向にあった(HR 0.78, 95%CI 0.59-1.08, $p=0.15$)。

D. 考察

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おり、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のGVH方向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。しかし、本邦において臍帯血移植にATGすることはほとんどないためKIR GVH方向ミスマッチ移植の有効性は認められず、一方でHVG方向ミスでは臍帯血移植の生着に関わる不安定性とあいまって、生着を悪化させたものと推測された。

E. 結論

本邦におけるATGを使用しない、Single cordによる臍帯血移植においてKIRリガンドのGVHD方向ミスは移植成績に影響を与えないが、HVG方向ミスは生着に悪影響を及ぼす可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Imahashi N, Suzuki R, Fukuda T, Kikihana K, Kanamori H, Eto T, Mori T, Kobayashi N, Iwato K, Sakura T, Ikegami K, Kurokawa M, Kondo T, Iida H, Sakamaki H, Tanaka J, Kawa K, Morishima Y, Atsuta Y, Miyamura K. Allogeneic

- hematopoietic stem cell transplantation for intermediate cytogenetic risk acute myeloid leukemia in first complete remission. *Bone Marrow Transplant* 48(1):56-62, 2013.
2. Kanda J, Ichinohe T, Kato S, Uchida N, Terakura S, Fukuda T, Hidaka M, Ueda Y, Kondo T, Taniguchi S, Takahashi S, Nagamura-Inoue T, Tanaka J, Atsuta Y, Miyamura K, Kanda Y. Unrelated cord blood transplantation vs. related transplantation with HLA 1-antigen mismatch in the graft-versus-host direction. *Leukemia* 27(2):286-294, 2013.
 3. Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Morishima Y, Tanaka J, Sakamaki H, Fukuda T. Changes in incidence and cause of non-relapse mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with acute leukemia/myelodysplastic syndrome. *Bone Marrow Transplant* 48(4):529-536, 2013.
 4. Nishiwaki S, Miyamura K, Ohashi K, Kurokawa M, Taniguchi S, Fukuda T, Ikegame K, Takahashi S, Mori T, Imai K, Iida H, Hidaka M, Sakamaki H, Morisima Y, Kato K, Suzuki R, Tanaka J. Impact of donor source on adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia: a retrospective analysis from the Adult Acute Lymphoblastic Leukemia Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Ann Oncology* 24:1594-1602, 2013.
 5. Wakao H, Yoshikiyo K, Koshimizu U, Furukawa T, Enomoto K, Matsunaga T, Tanaka T, Yasutomi Y, Yamada T, Minakami H, Tanaka J, Oda A, Sasaki T, Wakao R, Lantz O, Udagawa T, Sekiya Y, Higuchi K, Harada N, Nishimura K, Ohtaka M, Nakanishi M, Fujita H. Expansion of Functional Human Mucosal-Associated Invariant T Cells via Reprogramming to Pluripotency and Redifferentiation. *Cell Stem Cell*. 12(5):546-558, 2013.
 6. Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Recipient decrease in non-relapse mortality due to GVHD and infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in non-remission acute leukemia. *Bone Marrow Transplant*. 48:1198-1204, 2013.
 7. Torimoto Y, Sato K, Ikuta K, Hayashi T, Hirayama Y, Inamura J, Kobayashi H, Kobayashi R, Koda K, Kurosawa M, Mori A, Ota S, Sakai H, Shigematsu A, Shindo M, Shinzaki H, Takahashi F, Takimoto R, Tanaka J, Yamamoto S, Kohgo Y, Fukuhara T. A retrospective clinical analysis of Japanese patients with peripheral T-cell lymphoma not otherwise specified: Hokkaido Hematology Study Group. *Int J Hematol*. 2013 Aug;98(2):171-178.
 8. Tanaka J, Morishima Y, Takahashi Y, Yabe T, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Onishi Y, Miyamura K, Kanamori H, Aotsuka N, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. Effects of KIR-ligand incompatibility on clinical outcomes of umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission. *Blood Cancer Journal* 3, e164; 2013. doi:10.1038/bcj.2013.62
 9. Tanaka J, Kanamori H, Nishiwaki S, Ohashi K, Taniguchi S, Eto T, Nakamae H, Minagawa K, Miyamura K, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishimoto N, Oba K, Masauzi N. Reduced-intensity versus myeloablative conditioning allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for patients aged over 45 years with acute lymphoblastic leukemia (ALL) in remission: A study from the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). *Bone Marrow Transplant*. 48:1389-1394, 2013.
 10. Kanamori H, Mizuta S, Kako S, Kato H, Nishiwaki S, Imai K, Shigematsu A, Nakamae H, Tanaka M, Ikegame K, Yujiri T, Fukuda T, Minagawa K, Eto T, Nagamura-Inoue T, Morishima Y, Suzuki R, Sakamaki H, Tanaka J. Reduced-intensity allogeneic stem cell transplantation for patients aged 50 years or older with B-cell ALL in remission: a retrospective study by the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 48:1513-1518,

2013.

11. Mori N, Ohwashi M, Yoshinaga K, Mitsuhashi K, Tanaka N, Teramura M, Okada M, Shiseki M, Tanaka J, Motoji T.

L265P Mutation of the MYD88 Gene Is Frequent in Waldenström's Macroglobulinemia and Its Absence in Myeloma. *PLoS ONE* 8:e80088, 2013.

12. Nishiwaki S, Atsuta Y, Tanaka J. Allogeneic hematopoietic cell transplantation from alternative sources for adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia:

What should we choose when no HLA-matched related donor is available? *Bone Marrow Transplant* 48:1369-1376, 2013.

13. Kobayashi R, Tanaka J, Hashino S, Ota S, Torimoto Y, Kakinoki Y, Yamamoto S, Kurosawa M, Hatakeyama N, Haseyama Y, Sakai H, Sato K, Fukuhara T. Etoposide-containing conditioning reg-

imen reduces the occurrence of hemophagocytic lymphohistiocytosis after SCIT. *Bone Marrow Transplant*. 2013 Sep 16. doi: 10.1038/bmt.2013.145. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

1. Tanaka J, Takahashi Y, Yabe T, Morishima Y, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Ohnishi Y, Miyamura K, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. KIR-ligand incompatibility in the graft-versus-host direction did not affect outcomes of single umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission. 18th Congress of European Hematology Association (EHA) 2013.6.13-16, Stockholm, Sweden.

H . 知的財産権の出願・登録状況 なし

厚生労働科学研究費補助金 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 移植医療研究分野)
分担研究報告書

移植後免疫抑制剤としての calcineurin 阻害剤の選択と移植成績

研究分担者 南谷 泰仁 東京大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科 講師

研究要旨: 標準リスクの造血器疾患に対する造血幹細胞移植後の免疫抑制剤として CsA と FK506 の成績の比較を行った。全体として GVHD 発生率に差を認めないが、GVHD 低リスク群においては FK506 群の方が重症 GVHD の抑制を通じて全生存率を向上させた。CsA 群は血中濃度と GVHD 発症の間に相関を認め、GVHD 低リスク群における MTX の減量使用が calcineurin 阻害剤の抑制に必要な濃度を高めている可能性が示唆された。

A . 研究目的

造血幹細胞移植は難治性造血器腫瘍性疾患および造血不全症候群に対する有効な治療法である。同種造血幹細胞移植における免疫抑制剤の使用は、short term MTX + calcineurin 阻害剤(CNI)が基本となっている。しかし、CNI の使い分けや至適血中濃度は明らかでない。複数の比較試験により、FK506 は cyclosporin A (CsA) よりも重症急性 GVHD が少ないことが示されているが、従来の試験では FK506 の濃度は高く、一方 CsA の目標濃度が必要と考えられる濃度よりも低く設定されてきたため、適切な比較とはいえなかった。そこで、CsA、FK506 をそれぞれ最適な血中濃度で使用した場合の免疫抑制効果、合併症、移植成績を後方視的に比較・検討することを目的とした。

B . 研究方法

当院では、再発低リスク造血器疾患(再発低リスクの定義は急性白血病第1、第2寛解期、慢性骨髄性白血病第一慢性期、芽球の増殖のない骨髄異形成症候群、化学療法感受性のある悪性リンパ腫)に対する同種造血幹細胞移植の免疫抑制剤を、2008年5月より CsA(持続投与の目標濃度 500 ng/ml)から FK506(同 15 ng/ml)に変更した。その際に MTX

の使用法、calcineurin 阻害剤の減量方法に変更はない。CsA から FK506 への変更前後で、GVHD の発生率、非再発死亡率、再発率、全生存率、無再発生存率、副作用を後方視的に解析した。

(倫理面への配慮)

本研究の対象者には、データの利用に対する同意を文章で取得している。

C . 研究結果

111名の患者(CsA 76名、FK506 35名)を対象として、解析を行った。背景因子に差は診られなかった。患者群全体では全生存率(OS)、非再発生存率(RFS)、再発率、非再発死亡率(TRM)、grade2-4急性GVHD、grade3-4急性GVHD、慢性GVHD、extended型慢性GVHDの頻度にFK506群とCsA群の間に有意な差は見られなかったが、FK506群の方がOS、RFSにおいて良好な傾向を示した。しかし、患者をGVHDの低リスク群(HLA一致同胞と臍帯血移植)と高リスク群に分けて解析を行ったところ、OS(p=0.048)、RFS(p=0.043)は有意にFK506群の方が良好であった。一方、GVHD高リスク群において、OS(p=0.70)、RFS(p=0.74)ともに、両群の差は全く見られなかった。その原因を調べてみると、GVHD低リスク群で

は NRM が FK506 群の方が低い傾向があり ($p=0.09$)、grade 3-4 の重症 GVHD が抑制されていることがその理由と考えられた。急性 GVHD の発症と免疫抑制剤の血中濃度を調べてみると、GVHD 低リスク群では移植後 2~3 週目の CsA の濃度と GVHD の発症の間に相関を認められたが、FK506 群ではこのような相関は見られなかった。また GVHD 高リスク群でもこの相関は見られなかった。さらに calcineurin 阻害剤の合併症について調べたところ、血栓性微小血管障害は有意に CsA の方が多く認められた。その他腎障害などの合併症に差は見られなかった。

D . 考察

本研究では、再発低リスクの患者における移植後免疫抑制剤としての calcineurin 阻害剤として、FK506 を用いた群が CsA を用いた群よりも生命予後が良いこと、その理由は重症 GVHD が少ないことによる TRM の減少であることを示した。本研究は後方視的研究であり、2008 年以前と以降の移植に関する支持療法の進歩が及ぼす影響が否定できない。GVHD 低リスクにおいては CsA 群においてのみその血中濃度が GVHD の発症と相関しており、その理由として、以下のようなメカニズムを想定する。FK506 が 10ng/mL 以上の濃度に到達していれば、それ以上の濃度の高低によって GVHD の発症への影響は少ないのに対して、CsA は 300~500ng/ml の濃度の差が GVHD の発症へ影響する事が報告されている。GVHD 高リスク群では MTX を十分に用いているため、MTX と calcineurin 阻害剤を合わせた免疫抑制能は GVHD の抑制に必要とされる強さをカバーしており、CsA の濃度依存性に影響されることはない。一方、GVHD 低リスク群では MTX をシアトル原法の半分程度しか用いていないため (45mg 対 24mg)、GVHD 抑制に必要とされる免疫抑制能の減少よりも MTX の減量による免疫抑制作用の減少の方が大きく、その結果 MTX と calcineurin 阻害剤を合わせた免疫抑制能は CsA 濃度に影響を受ける程度まで減少してしまう。本邦で頻用される GVHD 低リスク群に対する MTX の減量使用は、CsA と組み合わせた

場合には濃度依存性を受けられる可能性があるため、十分な濃度を確保することが重要と思われる。

E . 結論

本研究の結果は、再発低リスク群の造血器疾患に対する幹細胞移植の免疫抑制剤の選択において、CsA の濃度目標を 500ng/ml と設定した場合でも、FK506 の方が重症 GVHD をより効果的に抑制することで TRM を減らし、OS を改善する傾向があること、そしてその効果は GVHD 低リスク群においてより顕著である事を示した。今後、大規模な解析を行うことで、さらにいろいろな因子について移植成績に対する影響の解析を進めていくことが肝要である。そのため、今後、骨髓移植推進財団に登録された各種データの利用を行い、解析する因子と症例数を拡大し、包括的な解析を行っていく予定である。

F . 研究発表

1. 論文発表

1. Favorable outcomes of tacrolimus compared with cyclosporine A for GVHD prophylaxis in HSCT for standard-risk hematologic diseases Ryo Nasu, Yasuhito Nannya, Akihito Shinohara, Motoshi Ichikawa, Mineo Kurokawa Ann Hematol, In press, 2014
2. Serial Profile of Vitamins and Trace Elements during the Acute Phase of Allogeneic Stem Cell Transplantation. Nannya Y, Shinohara A, Ichikawa M, Kurokawa M. Biol Blood Marrow Transplant. In press 2013
3. Prediction model for CD34 positive cell yield in peripheral blood stem cell collection on the fourth day after G-CSF administration in healthy donors. Yoshizato T, Watanabe-Okochi N, Nannya Y, Ichikawa M, Takahashi T, Sato T, Masuda A, Yatomi Y, Tsuno NH, Kurokawa M, Takahashi K. Int J Hematol. 98(1):56-65, 2013.
4. A case of Schizophyllum commune sinusitis following unrelated cord blood transplantation for acute lymphoblastic leukemia. Toya T, Shinohara A, Tatsuno K, Seo S, Nannya Y, Ichikawa M, Makimura K, Moriya K, Kurokawa M. 98(2):261-3, 2013.

2. 学会発表

- 第35回日本造血細胞移植学会総会 石川 2013.3.7-9 同種造血幹細胞移植後急性期のビタミン・微量元素に関する前向き観察研究 南谷泰仁、篠原明仁、市川幹、黒川峰夫
- 第35回日本造血細胞移植学会総会 石川 2013.3.7-9 再発低リスク血液疾患に対する

同種造血幹細胞移植時のCsAとFK506の免疫抑制効果の後方視的比較解析 那須涼、南谷泰仁、篠原明仁、市川幹、黒川峰夫

第110回日本内科学会総会 東京 2013.4.12-14 The prospective observational study of vitamins and mineral microelements during acute phase allogeneic hematopoietic stem cell transplantation 南谷泰仁、篠原明仁、市川幹、黒川峰夫

第110回日本内科学会総会 東京 2013.4.12-14 再発低リスク血液疾患に対する同種造血幹細胞移植時のCsAとFK506の免疫抑制効果の後方視的比較解析 那須涼、南谷泰仁、篠原明仁、市川幹、黒川峰夫

第75回日本血液学会学術集会 札幌 2013.10.12-14 Retrospective comparison of CyA and FK506 in allo-SCT for low-risk hematological malignancies 那須涼、南谷泰仁、篠原明仁、市川幹、黒川峰夫

G . 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

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

厚生労働科学研究費補助金 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 移植医療研究分野)
分担研究報告書

非血縁者間骨髄移植における新たなドナー選択アルゴリズムについての研究

研究分担者 一戸辰夫 広島大学原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍内科研究分野 教授
研究協力者 大島久美 広島大学原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍内科研究分野 講師
骨髄移植推進財団 HLA 委員会

研究要旨:成人非血縁者をドナーとする造血幹細胞移植においては、HLA アリルの適合性のみならず、ABO 適合性、ドナーの年齢、ドナーとレシピエントの性差など HLA 以外の因子が移植後の成績に影響を与えている可能性が示唆されている。しかし、現在わが国で用いられているドナー選択アルゴリズムでは HLA 以外の因子に関する評価と HLA に関する評価の重みが著しく異なるため、優先されるドナーの選択順位を適切に評価できていない可能性がある。そこで、本研究ではわが国における非血縁者間造血幹細胞移植の成績のさらなる向上のため、ドナー選択時に評価する HLA 適合性以外の因子が移植成績に与える影響を明らかにするとともに、それぞれの因子の影響の大きさの重みづけを HLA 適合度と比較し、再評価することを計画した。

A. 研究の背景と目的

わが国における非血縁者間骨髄移植の実施件数は 2013 年末までに 16,000 件を超え、その成績は着実に向上しているが、依然として移植片対宿主病 (GVHD) に代表される免疫学的合併症の克服が大きな課題とされている。最近の研究により、このような免疫学的合併症の発症には、ドナーとレシピエントの間における HLA の適合性に加え、ABO 血液型や性別の不一致等も関与し得ることが報告されているが、それらのドナー選択アルゴリズムにおける位置づけは十分に明らかにされていない。一方、HLA のアリルレベルでの適合性評価法や GVHD 予防法の進歩により、一部の

HLA 不適合の影響は克服可能となっており、比較的アリル適合性の良い移植の場合には、HLA 以外の因子の重み付けが大きくなってきている可能性も想定される。

そこで、本研究においては、現在、わが国の骨髄バンクにおいてドナーの選択時に用いられている、ドナーの年齢・体重、ABO 血液型、性の不一致等が HLA アリルの不適合と比較して、どの程度の重みをもって移植成績に影響を与うるかについて、急性白血病などの比較的均一な疾患群を対象として検討することを目的とする。

B. 研究方法

2000 年から 2011 年までの間に、骨髄移植推進財団を介して非血縁者間骨髄移植が行われた造血器疾患の患者を対象として、

ドナー年齢、ドナーとレシピエントの性別の組み合わせ、ドナーとレシピエントの血液型の組み合わせ、ドナーとレシピエントの体重差が、移植成績に及ぼす影響を検討する。解析の対象は、急性白血病（急性骨髄性白血病または急性リンパ性白血病）、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群、悪性リンパ腫、再生不良性貧血に対して行われた初回移植に限定するものとし、ドナー年齢、ドナーとレシピエントの性別の組み合わせ、ドナーとレシピエントの血液型の組み合わせ、ドナーとレシピエントの体重差が、全生存率とともに、急性移植片対宿主病（GVHD）、慢性GVHDの発症、移植関連死亡または再発に及ぼす影響に関して、単変量および多変量解析を行って検討する。また、それぞれの因子同士の交絡に関しての詳細な検討を行う。最終的に、全生存に及ぼす影響の大きさに基づき、これらの因子の重み付け（スコアリング）を行った上で、ドナー選択のための新たなアルゴリズムを策定する。

C. 研究結果

D. 考察

E. 結論

本研究の実施のため、現在、日本造血細胞移植学会が設置する造血細胞移植登録一元管理委員会にデータ利用申請の準備中であり、承認を受け次第、次年度中には解析を終了する予定である。

F. 健康危険情報

特記すべき内容はない。

G. 研究発表

論文発表

Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Maeda Y, Ichinohe T, Ohashi K, Fukuda T, Koichi Miyamura K, Iida H, Mori T, Iwato K, Eto T, Kawa K, Morita S, Morishima Y. Impact of a single HLA allele mismatch on the outcome of unrelated bone marrow transplantation over two time periods. A retrospective analysis of 3003 patients from the HLA Working Group of the Japan Society for Blood and Marrow Transplantation. *Br J Haematol.* 161:566-577, 2013.

Hirokawa M, Fukuda T, Ohashi K, Hidaka M, Ichinohe T, Iwato K, Kanamori H, Murata M, Sakura T, Imamura M, Adachi S, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H; PRCA Collaborative Study Group. Efficacy and long-term outcome of treatment of pure red cell aplasia after allogeneic stem cell transplantation from major ABO-incompatible donors. *Biol Blood Marrow Transplant.* 19:1026-32, 2013.

小島裕人、一戸辰夫：第16回国際組織適合性ワークショップの報告。日本組織適合性学会誌 MHC. 20:57-61, 2013.

学会発表

Ichinohe T. The expanding role of long-term fetal/maternal microchimerism in allogeneic hematopoietic cellular therapy. Symposium on chimerism, Graz, Austria, May 30, 2013.

H. 知的財産権の出願状況

該当なし

厚生労働科学研究費補助金 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 移植医療研究分野)
分担研究報告書

HLA に基づく臍帯血移植データベースの基盤整備と関連解析

研究分担者	高梨美乃子	日本赤十字社血液事業本部、関東甲信越さい帯血バンク
	松本加代子	日本赤十字社近畿ブロック血液センター、近畿さい帯血バンク
研究協力者	柏瀬貢一	日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター
研究協力者	東史啓	日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター
研究協力者	石井博之	日本赤十字社近畿ブロック血液センター
研究協力者	中村文明	日本赤十字社近畿さい帯血バンク、東京大学大学院

研究要旨: 臍帯血移植データベースの構築を目的としてさい帯血バンクを経由した移植症例患者、臍帯血ペアの検体および移植臨床成績、HLA データの収集を行い、検体の DNA 調製、保存および HLA タイピング作業を行った。

A . 研究目的

当研究班は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源および遺伝子型選択アルゴリズムの確立を目指している。本分担研究においては臍帯血移植を担当し、臍帯血バンク経由移植症例検体 DNA 試料および臨床データを収集して、HLA 6 座 12 抗原アリル型を含む HLA 領域および非 HLA 領域の組織適合性抗原遺伝子タイピングを行い、それら遺伝子多型の移植臨床成績への影響について総合的な解析を行って、詳細な臍帯血移植データベースを構築し臍帯血移植成の向上を目指している。

B . 研究方法

1、分担研究者屋部らと共同研究グループを組織して全国のさい帯血バンクから検体を収集する。解析対象として血液系悪性疾患、初回移植、単数臍帯血移植、臍帯

血と患者の DNA 検体あるいは血液検体がペアで揃うという条件に該当する症例を選択し、各バンクで抽出した検体の送付を受け、必要なものは検体より DNA を抽出し、全検体で遺伝子多型解析のため全ゲノム DNA 増幅 (WGA) を行う。2、さい帯血バンクより各症例の移植成績臨床データおよび HLA-A, -B, -C, -DRB1 タイピングデータを入手し、必要なものについてはさらに HLA アリルタイピングを実行し、患者、臍帯血ペアの HLA 6 座 (-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1, -DPB1) 12 抗原のアリルデータを揃える。3、HLA 領域および非 HLA 領域の組織適合性遺伝子の多型を TaqMan 法、ルミネックス蛍光ビーズ法、遺伝子シーケンシング法などによりタイピングしてデータベースを作成する。4、得られた HLA 型、遺伝子型と臨床移植成績との関連解析を行う(図 1)。(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および造血細胞移植学会倫理指針に基づき、日本さい帯血バンクネットワーク倫理委員会、近畿さい帯血バンク倫理委員会、日本赤十字社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

全国7か所のさい帯血バンクより共同解析の快諾を得て研究グループを構築して、検体の収集作業を行った。これまでに2145症例ペア(4290検体)を収集し、DNA抽出、WGAおよび、HLA-A, -B, -DR座のアリル再タイピングとHLA-C座のタイピングした。今回新たに578症例のHLA-Cアリルデータが得られ、合計2090症例で4座のアリルデータを確定できた。これらについて、各バンクでのタイピング結果と照合可能であったものについて相違を調べたところ、アリルレベルでの不一致率は約1%で、主にambiguityと検査法の違いによるものであった(図2)。HLAデータを現在までに得られている移植成績データと結合したところ1633症例の解析データセットを作成することができた。これらよりHLA-C座および4座のアリルレベルの適合性が移植成績に及ぼす影響について関連統計解析を開始している。

D. 考察

HLA-A, -B, -C, -DRB1の4座のアリルレベルデータと移植成績データを揃えた臍帯血移植組織適合性遺伝子解析用データセットを作成することができた。以前当センターで骨髓バンクを経由した非血縁者間骨髓移植症例の再タイピングを行った際に、タイピング方法の進歩に伴い、元のデータとの間にかなりの相違がみられたため、今回の臍帯血検体についてもHLA-A, -B, -DRB1に

ついて再タイピングを行った。移植時の各バンクのタイピングと再タイピングの相違点は約1%と大変低いものであった。これは今回収集した検体の9割近くは2005年以降の移植症例であり、その殆どが蛍光ビーズ法によるHLAアリルタイピングを行っているためと考えられる。今回はHLA-C座のアリルタイピングを終え、HLA-C座適合性と移植成績との関連および、HLA4座8抗原のアリルレベル適合性と移植成績との関連解析に着手している。当初目標としていたHLA-DQ, -DP座を含めた6座12抗原アリルレベルまでのデータを今年度までに作成することはできなかった。作成した解析セットが今後新たな組織に引き継がれ、HLA-DQ, -DP座を含めたHLA領域、非HLA領域の組織適合性遺伝子、免疫関連遺伝子の多型解析と移植成績との統合的な関連解析が進み、より充実した各種免疫遺伝情報と移植成績からなる臍帯血移植データベースが作成されることで、新たな非血縁者間移植ドナー源選択アルゴリズム構築が行われて、移植成績の向上に貢献することができると考える。

E. 結論

臍帯血移植症例に関するデータベース作成の基盤整備として全国さい帯血バンクより移植患者、ドナー検体収集、DNA増幅、HLA-A, -B, -DR座アリル再タイピングおよびHLA-C座タイピングを行い、組織適合性遺伝子解析用データセットを作成した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1). Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Fuji S, Maeda Y, Ichinohe T, Takanashi M, Ohashi K, Fukuda T, Miyamura K, Mori T, Sao H, Kobayashi N, Iwato K, Sawada A, Mori S;

- HLA working group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Changes in the Clinical Impact of High-Risk Human Leukocyte Antigen Allele Mismatch Combinations on the Outcome of Unrelated Bone Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2014; S1083-87 91(14)00017-2
- 2). van der Meer PF, Reesink HW, Panzer S, Wong J, Ismay S, Keller A, Pink J, Buchta C, Compernelle V, Wendel S, Biagini S, Scuracchio P, Thibault L, Germain M, Georgsen J, Bégué S, Dernis D, Raspollini E, Villa S, Rebullà P, Takanashi M, de Korte D, Lozano M, Cid J, Gulliksson H, Cardigan R, Tooke C, Fung MK, Luban NL, Vassallo R, Benjamin R. Should DEHP be eliminated in blood bags? *Vox Sang*. 2014;106(2):176-95. .
- 3). Yamaguchi R, Takanashi M, Ito M, Ogawa A, Hashimoto M, Ishii Y, Mazda T, Tadokoro K, Nakajima K, Minami M. Plasticizer concentration in cord blood cryopreserved with DMSO. *Bone Marrow Transplant*. 2014;49(1):157-8.
- 4). Pamphilon D, Selogie E, McKenna D, Cancelas-Peres JA, Szczepiorkowski ZM, Sacher R, McMannis J, Eichler H, Garritsen H, Takanashi M, van de Watering L, Stroncek D, Reems JA. Current practices and prospects for standardization of the hematopoietic colony-forming unit assay: a report by the cellular therapy team of the Biomedical Excellence for Safer
- Transfusion (BEST) Collaborative. *Cytotherapy*. 2013;15(3):255-62.
- 5). Atsuta Y, Kanda J, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Ohashi K, Ohno Y, Onishi Y, Aotsuka N, Nagamura-Inoue T, Kato K, Kanda Y. Different effects of HLA disparity on transplant outcomes after single-unit cord blood transplantation between pediatric and adult patients with leukemia. *Hematologica*. 2013;98:814-22.
- 6). Eichler H, Schrezenmeier H, Schallmoser K, Strunk D, Nystedt J, Kaartinen T, Korhonen M, Fleury-Cappellesso S, Sensebé L, Bönig H, Rebullà P, Giordano R, Lecchi L, Takanashi M, Watt SM, Austin EB, Guttridge M, McLaughlin LS, Panzer S, Reesink HW. Donor selection and release criteria of cellular therapy products. *Vox Sang*. 2013;104(1):67-91.
- 7). Kanda J, Atsuta Y, Wake A, Ichinohe T, Takanashi M, Morishima Y, Taniguchi S, Takahashi S, Ogawa H, Ohashi K, Ohno Y, Aotsuka N, Onishi Y, Kato K, Nagamura-Inoue T, Kanda Y; HLA Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. Impact of the Direction of HLA Mismatch on Transplantation Outcomes in Single Unrelated Cord Blood Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2013 ;19(2):247-54.

2. 学会発表

1) 中村文明、畑中一生、松本加代子、魚嶋伸彦、井上雅美、石川淳、谷慶彦、河敬世
 「臍帯血移植の100日死亡割合は経年的に増加している」 第36回日本造血細胞移植

学会総会(2014年3月、宜野湾市)

H. 知的財産権の出願・登録状況
 なし

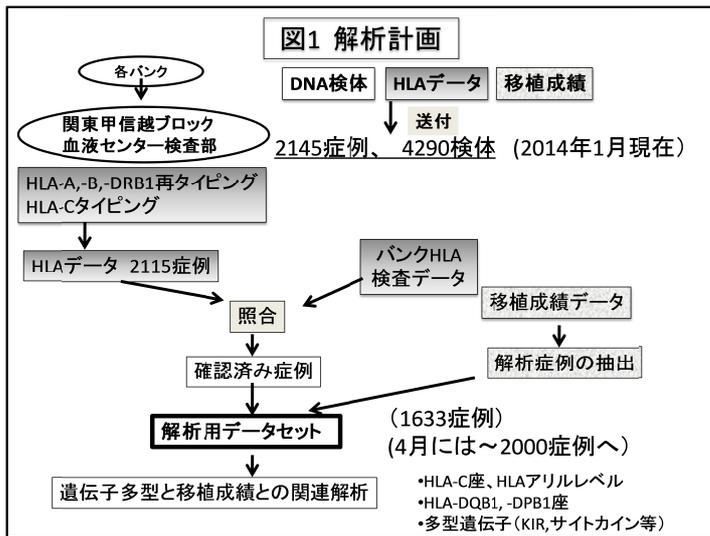


図2 再タイピングデータとバンク検査データとの照合

解析数	2956検体
DNA不良	56検体
タイピング済み	2900検体
HLAデータ照合終了	2654検体
↓	
照合結果が異なったもの	29検体 (1.1%)
判別困難(ambiguity)	13検体
チューブ取り違え、記載ミス	7検体
データの相違	
アリルミスタイプ	2検体
検査法差による相違	6検体
不明(精査中)	1検体

血縁者間ドナー・レシピエントの DNA バンク設立のための調査に関する研究

研究分担者 宮村 耕一 名古屋第一赤十字病院 血液内科部長

研究要旨

本邦には非血縁者移植における患者、ドナーの DNA バンクはあるが、血縁者間移植においては、その実態は不明である。SNP 研究だけでなく、全ゲノム解析などにおいて、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すと考えられる。今回の調査で少なくとも全国 10 施設で造血幹細胞移植ドナー・レシピエントの 690 ペアの検体が保存されていることがわかった。保存時の説明と同意方法や保存方法は施設により違っており、今後も継続的な議論が必要であると考えられる。

A. 研究目的

非血縁者移植における患者、ドナーの DNA バンクは約 9000 検体、臍帯血では約 1300 の検体が利用可能である。しかし血縁者間移植においては、各施設で保存していると考えられるが、その実態は不明である。SNP 研究だけでなく、全ゲノム解析などにおいて、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すと考えられる。

存をしているでしょうか。

はい 11
 いいえ 30

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)

B. 研究方法

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、日本の現状について明らかにする。平成 23 年に同種造血幹細胞移植を 20 例以上施行している施設を中心に 47 施設にアンケートを送付した。12月26日までに 41 施設から回答を得た。

細胞 8
 DMSO 6
 ペレット 1
 セルライン化 0
 セルバンカー 1

核酸 6
 DNA 6
 RNA 0

C. 研究結果

質問 1 貴施設において血縁者間移植において、研究に用いることの同意が得られたドナー・レシピエントの細胞、DNA の保

重複あり

D. 考察

今回の施設を限定したプレリミナリーな調査の結果、少なくとも全国10施設で造血幹細胞移植ドナー・レシピエントの690ペアの検体が保存されていることがわかった。保存時の説明と同意については、施設により違っていた。多数例での網羅的遺伝子解析を行うための基盤を作るためには、継続的な議論が必要であると考えられる。

E. 結論

本邦には非血縁者移植（骨髄、末梢血幹細胞、臍帯血）における患者、ドナーのDNAバンクはあるが、血縁者間移植においては不明であるため今回のその実態調査を行ったところ、少なくとも全国10施設で造血幹細胞移植ドナー・レシピエントの690ペアの検体が保存されていることがわかった。これらバックグラウンドの少ない血縁ペアの検体はSNP研究だけでなく、全ゲノム解析などにおいて、重要な情報をもたらすと考えられる。今回の調査で保存時の説明と同意については、施設により違っていた。多数例での網羅的遺伝子解析を行うための基盤を作るためには、継続的な議論が必要であると考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yanada M, Ohtake S, Miyawaki S, Sakamaki H, Sakura T, Maeda T, Miyamura K, Asou N, Oh I, Miyatake J, Kanbayashi H, Takeuchi J, Takahashi M, Dobashi N, Kiyoi H, Miyazaki Y,

Emi N, Kobayashi Y, Ohno R, Naoe T. The demarcation between younger and older acute myeloid leukemia patients: a pooled analysis of 3 prospective studies. *Cancer* 2013; **119**(18): 3326-33.

2. Tanaka J, Morishima Y, Takahashi Y, Yabe T, Oba K, Takahashi S, Taniguchi S, Ogawa H, Onishi Y, Miyamura K, Kanamori H, Aotsuka N, Kato K, Kato S, Atsuta Y, Kanda Y. Effects of KIR ligand incompatibility on clinical outcomes of umbilical cord blood transplantation without ATG for acute leukemia in complete remission. *Blood Cancer J* 2013; **3**: e164.

3. Tanaka J, Kanamori H, Nishiwaki S, Ohashi K, Taniguchi S, Eto T, Nakamae H, Minagawa K, Miyamura K, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishimoto N, Oba K, Masauzi N. Reduced-intensity vs myeloablative conditioning allogeneic hematopoietic SCT for patients aged over 45 years with ALL in remission: a study from the Adult ALL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation (JSHCT). *Bone Marrow Transplant* 2013; **48**(11): 1389-94.

4. Nishiwaki S, Miyamura K, Ohashi K, Kurokawa M, Taniguchi S, Fukuda T, Ikegame K, Takahashi S, Mori T, Imai K, Iida H, Hidaka M, Sakamaki H,

- Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Tanaka J. Impact of a donor source on adult Philadelphia chromosome-negative acute lymphoblastic leukemia: a retrospective analysis from the Adult Acute Lymphoblastic Leukemia Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. *Ann Oncol* 2013; **24**(6): 1594-602.
5. Nakata K, Takami A, Espinoza JL, Matsuo K, Morishima Y, Onizuka M, Fukuda T, Kodera Y, Akiyama H, Miyamura K, Mori T, Nakao S. The recipient CXCL10 + 1642C>G variation predicts survival outcomes after HLA fully matched unrelated bone marrow transplantation. *Clin Immunol* 2013; **146**(2): 104-11.
6. Nakasone H, Onizuka M, Suzuki N, Fujii N, Taniguchi S, Kakihana K, Ogawa H, Miyamura K, Eto T, Sakamaki H, Yabe H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Fukuda T. Pre-transplant risk factors for cryptogenic organizing pneumonia/bronchiolitis obliterans organizing pneumonia after hematopoietic cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2013; **48**(10): 1317-23.
7. Nakasone H, Kurosawa S, Yakushijin K, Taniguchi S, Murata M, Ikegame K, Kobayashi T, Eto T, Miyamura K, Sakamaki H, Morishima Y, Nagamura T, Suzuki R, Fukuda T. Impact of hepatitis C virus infection on clinical outcome in recipients after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Am J Hematol* 2013; **88**(6): 477-84.
8. Muroi K, Miyamura K, Ohashi K, Murata M, Eto T, Kobayashi N, Taniguchi S, Imamura M, Ando K, Kato S, Mori T, Teshima T, Mori M, Ozawa K. Unrelated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells for steroid-refractory acute graft-versus-host disease: a phase I/II study. *Int J Hematol* 2013; **98**(2): 206-13.
9. Miyamura K. [Increasing options of stem cell sources]. *Rinsho Ketsueki* 2013; **54**(2): 145-55.
10. Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Changes in incidence and causes of non-relapse mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation in patients with acute leukemia/myelodysplastic syndrome:

an analysis of the Japan Transplant Outcome Registry. *Bone Marrow Transplant* 2013; **48**(4): 529-36.

11. Kurosawa S, Yakushijin K, Yamaguchi T, Atsuta Y, Nagamura-Inoue T, Akiyama H, Taniguchi S, Miyamura K, Takahashi S, Eto T, Ogawa H, Kurokawa M, Tanaka J, Kawa K, Kato K, Suzuki R, Morishima Y, Sakamaki H, Fukuda T. Recent decrease in non-relapse mortality due to GVHD and infection after allogeneic hematopoietic cell transplantation in non-remission acute leukemia. *Bone Marrow Transplant* 2013; **48**(9): 1198-204.

12. Kodera Y, Yamamoto K, Harada M, Morishima Y, Dohy H, Asano S, Ikeda Y, Nakahata T, Imamura M, Kawa K, Kato S, Tanimoto M, Kanda Y, Tanosaki R, Shiobara S, Kim SW, Nagafuji K, Hino M, Miyamura K, Suzuki R, Hamajima N, Fukushima M, Tamakoshi A, Halter J, Schmitz N, Niederwieser D, Gratwohl A. PBSC collection from family donors in Japan: a prospective survey. *Bone Marrow Transplant* 2013.

13. Kanda Y, Oshima K, Kako S, Fukuda T, Uchida N, Miyamura K, Kondo Y, Nakao S, Nagafuji K, Miyamoto T, Kurokawa M, Okoshi Y, Chiba S, Ohashi Y, Takaue Y,

Taniguchi S. In vivo T-cell depletion with alemtuzumab in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: Combined results of two studies on aplastic anemia and HLA-mismatched haploidentical transplantation. *Am J Hematol* 2013; **88**(4): 294-300.

14. Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, Maeda Y, Ichinohe T, Ohashi K, Fukuda T, Miyamura K, Iida H, Mori T, Iwato K, Eto T, Kawa K, Morita S, Morishima Y. Impact of a single human leucocyte antigen (HLA) allele mismatch on the outcome of unrelated bone marrow transplantation over two time periods. A retrospective analysis of 3003 patients from the HLA Working Group of the Japan Society for Blood and Marrow Transplantation. *Br J Haematol* 2013; **161**(4): 566-77.

15. Kanda J, Nakasone H, Atsuta Y, Toubai T, Yokoyama H, Fukuda T, Taniguchi S, Ohashi K, Ogawa H, Eto T, Miyamura K, Morishima Y, Nagamura-Inoue T, Sakamaki H, Murata M. Risk factors and organ involvement of chronic GVHD in Japan. *Bone Marrow Transplant* 2013.

16. Kanda J, Ichinohe T, Kato S, Uchida N, Terakura S, Fukuda T, Hidaka M, Ueda Y, Kondo T, Taniguchi S, Takahashi S, Nagamura-Inoue T,

Tanaka J, Atsuta Y, Miyamura K, Kanda Y. Unrelated cord blood transplantation vs related transplantation with HLA 1-antigen mismatch in the graft-versus-host direction. *Leukemia* 2013; **27**(2): 286-94.

17. Kanamori T, Kayukawa S, Kikuchi T, Totani H, Miyamura K, Ito M, Kataoka T. [Case report: a case of donor cell-derived diffuse large B-cell lymphoma after 24-year remission of acute myeloid leukemia followed by successful allogeneic bone marrow transplantation]. *Nihon Naika Gakkai Zasshi* 2013; **102**(3): 721-3.

18. Kako S, Morita S, Sakamaki H, Iida H, Kurokawa M, Miyamura K, Kanamori H, Hara M, Kobayashi N, Morishima Y, Kawa K, Kyo T, Sakura T, Jinnai I, Takeuchi J, Miyazaki Y, Miyawaki S, Ohnishi K, Naoe T, Kanda Y. The role of HLA-matched unrelated transplantation in adult patients with Ph chromosome-negative ALL in first remission. A decision analysis. *Bone Marrow Transplant* 2013; **48**(8): 1077-83.

19. Imahashi N, Suzuki R, Fukuda T, Kakihana K, Kanamori H, Eto T, Mori T, Kobayashi N, Iwato K, Sakura T, Ikegame K, Kurokawa M, Kondo T, Iida H, Sakamaki H, Tanaka J, Kawa K,

Morishima Y, Atsuta Y, Miyamura K. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for intermediate cytogenetic risk AML in first CR. *Bone Marrow Transplant* 2013; **48**(1): 56-62.

20. Goto T, Ikuta K, Inamoto Y, Kamoshita S, Yokohata E, Koyama D, Onodera K, Seto A, Watanabe K, Imahashi N, Tsukamoto S, Ozawa Y, Sasaki K, Ito M, Kohgo Y, Miyamura K. Hyperferritinemia after adult allogeneic hematopoietic cell transplantation: quantification of iron burden by determining non-transferrin-bound iron. *Int J Hematol* 2013; **97**(1): 125-34.

21. Espinoza JL, Takami A, Onizuka M, Morishima Y, Fukuda T, Koderia Y, Akiyama H, Miyamura K, Mori T, Nakao S. Recipient PTPN22 -1123 C/C genotype predicts acute graft-versus-host disease after HLA fully matched unrelated bone marrow transplantation for hematologic malignancies. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013; **19**(2): 240-6.

2. 学会発表

1 .脳実質内に多発性腫瘍を形成して再燃した多発性骨髄種の1例
渡壁 恭子、鴨下 園子、川島 直実、横畠 絵美、小山 大輔、金光 奈緒子、倉橋 信悟、小澤 幸泰、宮村 耕一、

第2回日本血液学会東海地方会 名古屋市
2013年4月

2. 同種造血幹細胞移植後の晩期再発に関する検討：晩期合併症とQOL Working Group による後方視的研究

山下 卓也、桑原 英幸、大橋 一輝、内田 直之、福田 隆浩、宮村 耕一、森 慎一郎、加藤 剛二、田中 淳司、足立 壮一、熱田 由子

第36回日本造血細胞移植学会総会 沖縄
2014.3

3. 非血縁者間骨髄移植におけるHLA不適合方向が移植成績に及ぼす影響

- JSHCT HLAワーキンググループによる後方視的解析

諫田 淳也、前田 嘉信、大橋 一輝、福田 隆浩、宮村 耕一、森 慎一郎、森島 泰雄、熱田 由子、神田 善伸

第36回日本造血細胞移植学会総会 沖縄
2014.3

4. 血縁者間同種移植においてGVH方向のallele不適合はGVHDのリスク因子となる

藤 重夫、諫田 淳也、池亀 和博、森島 聡子、宮本 敏浩、日高 道弘、

久保 恒明、宮村 耕一、足立 壮一、一戸 辰夫、熱田 由子、神田 善伸

第36回日本造血細胞移植学会総会 沖縄
2014.3

5. 同種臍帯血移植におけるCMV 再活性化に対しHLA 不一致が及ぼす影響

横山 寿行、加藤 俊一、近藤 英生、前田 嘉信、佐治 博夫、西田 徹也、

諫田 淳也、内田 直之、藤原実名美、宮村 耕一、片山 義雄、高橋 聡、

長村登紀子、加藤 剛二、熱田 由子、神田 善伸

第36回日本造血細胞移植学会総会 沖縄
2014.3

6. 非血縁者間骨髄移植における高リスクアレル不適合(HR-MM)の影響の再検討

神田 善伸、諫田 淳也、熱田 由子、藤 重夫、前田 嘉信、一戸 辰夫、

高梨美乃子、大橋 一輝、福田 隆浩、宮村 耕一、森 毅彦、澤田 明久、

森 慎一郎

第36回日本造血細胞移植学会総会 沖縄
2014.3

7. 再生不良性貧血における疾患感受性HLAアレルと生着不全との関係

山崎 宏人、森 毅彦、康 秀男、大西 康、賀古 真一、宮村 耕一、

小澤 幸泰、内田 直之、大橋 一輝、佐尾 浩、坂巻 壽、森島 泰雄、加藤 剛二、鈴木 律朗、中尾 眞二

第36回日本造血細胞移植学会総会 沖縄
2014.3

8. 同種造血細胞移植Day100以降の肺炎球菌感染症の特徴と予後

冲中 敬二、井上 明威、高野久仁子、藤 重夫、田島 絹子、内田 直之、

垣花 和、小川 啓恭、宮村 耕一、坂巻 壽、矢部 普正、森島 泰雄、

加藤 剛二、鈴木 律朗、福田 隆浩

第36回日本造血細胞移植学会総会 沖縄
2014.3

9. HLA-DR 血清一座ミスマッチ非血縁ドナーからの移植成績

倉橋 信悟、加賀谷裕介、加藤 実穂、鴨下 園子、川島 直実、渡壁 恭子、横畠 絵美、清水奈緒子、小澤 幸泰、宮村 耕一
第 36 回日本造血細胞移植学会総会 沖縄
2014.3

10. 同種造血幹細胞移植後における鉄過剰症の自然経過の検討

鴨下 園子、後藤 辰徳、加藤 実穂、加賀屋裕介、川島 直実、渡壁 恭子、清水奈緒子、倉橋 信悟、小澤 幸泰、宮村 耕一
第 36 回日本造血細胞移植学会総会 沖縄
2014.3

11. 同種造血幹細胞移植患者とその他血液疾患患者におけるL-AMB の安全性の比較検討

向山 直樹、池田 義明、加藤 実穂、加賀谷裕介、川島 直実、鴨下 園子、渡壁 恭子、横畠 絵美、清水奈緒子、倉橋 信悟、小澤 幸泰、宮村 耕一、野田 幸裕、森 一博
第 36 回日本造血細胞移植学会総会 沖縄
2014.3

12. 同種造血幹細胞移植患者に対する運動療法の効果

中村 和司、高木 寛人、松永 佑哉、中山 靖唯、早川 勝、上田美寿代、横畠 絵美、加藤 実穂、加賀谷祐介、川島 直美、鴨下 園子、渡壁 恭子、

清水奈緒子、倉橋 信悟、洪 淑貴、井上 英則、小澤 幸康、宮村 耕一

第 36 回日本造血細胞移植学会総会 沖縄
2014.3

13. 同種造血幹細胞移植における膝伸展筋力低下に影響を及ぼす因子の検討

高木 寛人、中村 和司、松永 佑哉、中山 靖唯、早川 勝、上田美寿代、横畠 絵美、加藤 実穂、加賀谷祐介、川島 直美、鴨下 園子、渡壁 恭子、清水奈緒子、倉橋 信悟、洪 淑貴、井上 英則、小澤 幸康、宮村 耕一
第 36 回日本造血細胞移植学会総会 沖縄
2014.3

14. 当院における高齢者同種造血幹細胞移植成績の検討

川島 直実、加藤 実穂、加賀谷裕介、鴨下 園子、渡壁 恭子、横畠 絵美、清水奈緒子、宮村 耕一
第 36 回日本造血細胞移植学会総会 沖縄
2014.3

15. 同種造血幹細胞移植後のびまん性肺胞出血に対し、ステロイドパルス療法を施行し救命に成功した1例

加賀谷裕介、加藤 実穂、鴨下 園子、川島 直実、渡壁 恭子、横畠 絵美、清水奈緒子、宮村 耕一
第 36 回日本造血細胞移植学会総会 沖縄
2014.3

アジア地域の同種移植データベース構築とその解析

研究分担者 飯田 美奈子 愛知医科大学医学部造血細胞移植振興寄附講座 助教

研究要旨

HLA を含めた組織適合性の人種による遺伝的背景を明らかにすることは、移植後の急性GVHD の発生や白血病の再発の頻度が人種により異なることの理由を解析するために重要である。本研究は、アジア太平洋地域における造血細胞移植のデータベースを構築しそのデータを解析することによって、アジアにおける人種間の違いを明らかにすることを目的として、APBMT(アジア太平洋造血細胞移植学会)参加各国から患者ごとの移植データ収集を行った。

A. 研究目的

人種間での移植免疫反応の違いについては、日本人間と欧米人間の造血幹細胞移植において急性 GVHD の発症頻度が大きく異なることが知られており、この理由が HLA を含む組織適合性の人種による遺伝的差異によるものと考えられ、研究が進んでいる。しかし、現在のところ日本以外のアジア各国における人種間の違いについては基本的な移植データもそろっておらず、データベースの構築も含めた研究が急がれている。本研究ではアジア太平洋地域におけるデータベースを構築し、これを解析することによって、全世界的な国際間のドナー選択の基準を設定することを最終目的としている。

B. 研究方法

アジア太平洋造血細胞移植学会 (Asia Pacific Blood and Marrow Transplantation Group: APBMT) に参加している国々から提出された患者個別の移植データ (APBMT Outcome Registry) は、APBMT オリジナルの Least Minimum Dataset に規定された項目に沿って各国データ提出責任者より紙または電子媒体で送付された。2013 年には一部施設から、アメリカの造血細胞移植デー

タセンター (CIBMTR) にデータを提出している情報を data transmission という形で APBMT に転送する承諾を得た。それらのデータは一旦すべて Excel に手作業で入力・データ変換され、データクリーニングが行われた。

C. 研究結果

2014 年 2 月末現在までに Outcome Registry として提出された症例はのべ 15,942 例であった。提出国および症例数の内訳は中国 1,001 例、日本 14,180 例、パキスタン 26 例、フィリピン 3 例、台湾 411 例、シンガポール 321 例であった。(付表参照)

D. 考察

現段階での APBMT における Outcome Registry へのデータ提出状況は、移植件数調査提出国 15 か国のうち 6 カ国 (40.0%) と昨年より 1 カ国増え、のべ症例数も 15,000 例を超えているが、実際のデータの 9 割近くが日本のものである。また移植年も国ごとに単年から 3 年とばらつきがあり、特に本年度は中国からのデータの停滞が追加解析を困難とした。一方新たなデータ提出先となった CIBMTR から転送されたデータは APBMT が行っている Least Minimum Dataset とは基本的なデータ構造が大きく

異なっており、転送されたデータのデータ変換には重大な労力を必要とすることが明らかとなった。

研究担当者は APBMT 事務局として各国のデータ提出責任者に個別に連絡を取り、データの提出を促しているが、各国それぞれの事情もあり一筋縄ではいかないのが現状である。各国ともデータベースの構築の重要性自体は十分理解しているが、資金およびマンパワーの問題でデータ提出に消極的な国も多く、こうした状況は発展途上にあるアジア各国の経済状態とも密接に関係していると考えられる。これらの国々は未だ National Registry を持たず、データ提出は各施設のボランティアの一人が行っている場合もあり、データ提出の継続性が保証されない場合が多い。APBMT は今後も地道にそれぞれの国にデータの蓄積の重要性を理解させデータ提出を促すこととなると

考えられるため、より一層の努力が必要となる。

E. 結論

アジア太平洋地域におけるデータ集積は今後長期にわたる努力が必要となる。

G. 研究発表

2013.11.1~3

第 18 回 APBMT ベトナム ホーチミン

business meeting (理事会) にて Activity Survey の結果および Outcome Registry の現状を報告

H. 論文発表

なし

I. 知的財産権の出願・登録状況

なし

付表：データ蓄積状況(2013 年末まで)

国名	Activity Survey			Outcome Registry	
	1986 年~2010 年 累積移植数	2011 年 移植施設数	2011 年 移植数	登録数	移植年
オーストラリア	18,921	41	1,450	0	
中国	8,360	34	1,910	991/10	2010/11
香港	2,295	2	176	0	
インド	2,131	29	877	0	
イラン	3,303	8	451	0	
日本	56,668	373	4,924	4,438/4,813/4,929	2009/10/11
韓国	15,833	43	1,900	0	
マレーシア	(1,703 until 2009)	-	-	0	
ニュージーランド	2,080	6	201	0	
パキスタン	312	2	55	3/23	2009/10
フィリピン	33	1	7	3	2010
シンガポール	1,396	4	164	73/118/130	2009/10/11
台湾	3,808	18	492	106/153/152	2009/10/11
タイ	1,517	7	72	0	
ベトナム	96	3	6	0	
Total	118,456	571	12,685	4,620/6,101/5,221	

別紙4 研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Morishima Y, et al.	Significance of ethnicity in the risk of acute graft-versus-host disease and leukemia relapse after unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation.	Biol Blood Marrow Transplant. 2013	19(8)	1197-203	2013
Murata M, Morishima Y, 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	19(8)	1183-9	2013
Harkensee C, Morishima Y, et al.	Microsatellite scanning of the immunogenome associates MAPK14 and ELTD1 with graft-versus-host disease in hematopoietic stem cell transplantation.	Immunogenetics	65(6)	417-27	2013
Atsuta Y, Morishima Y, et al.	Different effects of HLA disparity on transplant outcomes after single-unit cord blood transplantation between pediatric and adult patients with leukemia.	Haematologica	98(5)	814-22	2013