

令和4年度厚生労働科学研究費補助金(移植医療基盤整備研究事業)
分担研究報告書
「良質な臍帯血の効率的な採取と調製保存並びに移植に用いる臍帯血の選択と
安全性に関わる運用に関する研究」

分担研究課題：全国臍帯血バンクを介したさい帯血移植成績の解析
：より有効な臍帯血ユニットの同定と供給を目指して
—臍帯血移植特有なHLA適合度の解析—

研究分担者 森島 泰雄 中部さい帯血バンク・理事長

研究要旨

昨年度は全国臍帯血バンクを介した単一臍帯血移植の共同研究により、良好な移植成績を得られる選択臍帯血ユニットとして有核細胞数 (TNC)/kg よりもCD43/kgとCFU-GM/kg、ならびにドナーと患者のHLA適合度が重要であることを報告した。

今年度は、ドナーと患者のHLA適合につき詳細に解析した。その結果、特異的なHLA適合数とHLA抗原別適合数が生着、白血病の再発 (GVL効果)、急性GVHD、慢性GVHDに影響を与えていることが明らかになった。

A. 研究目的

我が国の臍帯血バンクを介した移植成績を解析し、

- 1) 移植成績の概要、とくに最新の臍帯血バンクの成績を解析し、造血細胞移植のドナー選択における臍帯血の選択アルゴリズムを明らかにする。
- 2) 良好な生着と生存を得るための臍帯血の調製と選択を明らかにする。
- 3) 臍帯血移植におけるHLA適合性の成績を解析し、その意義を明らかにする。

B. 研究方法

1) 症例：1996年～2019年に全国の臍帯血バンクを介して初回単一臍帯血移植が実施された13,502症例のTRUMP臍帯血移植データを用いた。

2) 解析方法：移植後の全生存 (5年生存) と移植後の生着不全 (末梢血好中球数500/ μ l到達) を第1目標とし、疾患 (白血病) の再発と急性GVHD、慢性GVHDのリスクを第2目標として、Cox regression法、Competing risk regression法、Kaplan-Meier法などの多変量解析をSTATA解析ソフトを用いてそのリスクを実施した。変数としてHLA適合度、臍帯血有核細胞数/kg, CD34細胞数/kg、コロニー形成細胞数/kg, HLA-A, B, C, DRB1アレル適合数、HLA抗原別適合度、移植年、患者年令、ドナーと患者のgender適合度、疾患、移植時白血病の病態、HCTCI point、GVHD予防法、移植前治療法等を用いた。

(倫理面への配慮)

人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (令和3年文部科学省・厚生

労働省・経済産業省告示第1号)に基づき当バンクの倫理審査委員会の承認を得ている。

(共同研究施設)

一般社団法人中部さい帯血バンク

近畿臍帯血バンク/日本赤十字社近畿ブロックセンター

関東甲信越臍帯血バンク/日本赤十字社関東甲信越ブロックセンター

公益NPO法人兵庫さい帯血バンク

九州臍帯血バンク/日本赤十字社九州ブロックセンター

北海道臍帯血バンク/日本赤十字社北海道ブロックセンター

日本赤十字社血液事業本部

C. 研究結果

1) 患者と臍帯血間のHLA不適合数 (HLA-A, B, C, DRB1アレルレベル) と生存 (死亡) および移植免疫反応との関連解析

不適合数を5群に層別化した場合、0-1不適合数の症例は、より不適合数が多い症例に比べ良好な生着 (HVG方向)、白血病の再発 (GVH方向) が高率、急性GVHDが低率、慢性GVHDが低率であり、生存 (死亡) リスク (GVH方向 and HVG方向) は5群間に有意差はなかった。(Table 1)

不適合数が2以上の症例では生着、白血病再発、急性GVHD、慢性GVHDともに不適合数が増えても悪化することはなかった。

上記結果を図式化した (Figure 1)

不適合数をグループ化せず解析した場合、適合数0と1の間で生着率と再発率では $P < 0.05$ で有意差があったが、その他の結果は不適合数を5群に層別化した場合と同じであ

った。(Table 2)

2) 患者と臍帯血間のHLA座ごとのHLA不適合数 (HLA-A, B, C, DRB1アレルレベル) と生存 (死亡) および移植免疫反応との関連解析 (Table 3)

HLA座の適合度解析では有意なリスクのあるHLA座が認められた。HLA-B座では生着リスクは適合に比べ1アレル不適合ではHR 0.92 ($p=0.004$) 2アレル不適合ではHR 0.81 ($p < 0.001$)と不良であり、重症GVHD (III-IV度) リスクは適合に比べ1アレル不適合ではHR 1.53 (< 0.001) 2アレル不適合ではHR 1.34 ($p=0.044$)と高かった。

HLA-DRB1座では適合に比べ不適合は有意に生着が不良、急性GVHDが高率、慢性GVHDが高率、白血病再発が低率であった。

死亡のリスクは適合と不適合間にすべてのHLA座において有意差はなかった (HLA-A-B座の2座不適合HR 1.14 ($P=0.048$ を除く)。

上記結果を図式化した。(Figure 1)

3) 患者と臍帯血間のHLA座ごとのHLA不適合数 (HLA-A, B, C, DRB1アレルレベル) と生存 (死亡) および移植免疫反応との関連解析: HLAアレル単一不適合 (他のHLA座は適合) (Table 4)

上記2)の解析ではアレルの不適合数が3以上の症例が多いため、HLAアレル単一不適合の効果を検証した (他のHLA座は適合)。

急性GVHD (II-IV度) ではHLA-C不適合で低率、急性GVHD (III-IV度) でHLA-B不適合がHR 2.59 ($p=0.005$)と高率であっ

た。慢性GVHDではHLA-C不適合で低率であった。白血病再発はHLA-AとHLA-D RB1不適合で低率であった。

4) 白血病病型別のHLAアレル不適合の再発低下効果の検証

上記の解析で、白血病におけるHLA適合度との関連が明らかになったので、白血病病型 (AML, ALL, MDS) 別に解析を進めた。(Table 5)

AMLではHLAアレル不適合数、HLA-A座2不適合、HLA-DRB1座1と2不適合で上記と同じ結果を示した。ALLとMDSではHLAアレル不適合数が同様な傾向を示した。

D. 考察

臍帯血移植におけるHLA適合数が0-1不適合症例では移植免疫反応が2以上の不適合とは異なっていた。HLA不適合数2以上では適合数が増えても移植免疫反応の程度は変わらなかった。このHLA耐性機序は非血縁者間骨髄移植では見られず、臍帯血移植に特徴的なものと考えられた。

さらに、HLA座毎にHLA適合度が移植免疫反応に与える影響が異なることが明らかになり、より詳細なHLAによる臍帯血ユニット選択の資料となった。

E. 結論

我が国における単一臍帯血移植において、従来のHLA抗原 (HLA-A, B, DR) に基づく解析結果が生存にはHLA適合度は関連ないと示されたことから、HLA適合度は重要視されてこなかった。しかしながら、今回の報告に示したようにHLAアレル (HLA-

Cも含めた) 解析の結果から、単一臍帯血移植においてHLAの適合度はその成績に深くかかわっていることが明らかになった。昨年度報告した臍帯血ユニットCD34+細胞数/kgとCFU-GM数/kgにHLAの適合度を加えて臍帯血ユニット選択基準を設定し、これに基づき臍帯血ユニットを選択することにより臍帯血移植成績の向上が計られると考えられた。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Morishima Y, Petersdorf EW, et al. Race and Survival in Unrelated Hematopoietic-cell Transplantation. *Transplant Cell Ther.* 2022 Jul;28(7):357. e1-357. e6

2. Suzuki S, Morishima Y, Shiina T. et al. Sequence Variations Within *HLA-G* and *HLA-F* Genomic Segments at the Human Leukocyte Antigen Telomeric End Associated With Acute Graft-Versus-Host Disease in Unrelated Bone Marrow Transplantation. *Front Immunol* 2022 Jul 21;13:938206

3. Kanda Y, Morishima Y, Kodera Y. et al. Effect of Cryopreservation in Unrelated Bone Marrow and Peripheral Blood Stem Cell Transplantation in the Era of the COVID-19 Pandemic: An Update from the Japan Marrow Donor Program. *Transplant Cell Ther.* 2022 Oct;28(10):677. e1-677. e6.

2. 学会発表

1. 森島聡子、森島泰雄、椎名隆 他。非

血縁者間骨髄移植におけるHLA発現量の意義。第84回日本血液学会学術総会。2022年10月14日 福岡市

2. 鈴木艶枝、森島泰雄 他。臍帯血中の有核細胞数とCD34⁺細胞数の分布と相関。第45回日本造血・免疫細胞療法学会総会。2023年2月10日 名古屋市

3. 吉村美千子、森島泰雄 他。臍帯血採取バック変更によるバッグ内凝固抑止効果の検討。第45回日本造血・免疫細胞療法学会総会。2023年2月10日 名古屋市

4. 松本加代子、森島泰雄 他。国内6か所の公的骨髄バンクにおける調整保存状況と稟質向上のための取り組み。第45回日本造血・免疫細胞療法学会総会。2023年2月10日 名古屋市

H. 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

Table 1. Effect of HLA allele mismatch number on transplant-related outcomes.

	Overall survival (mortality)*					Engraftment**					Relapse (AML, ALL, MDS)***				
	N	HR	95% C.I.		p	N	HR	95% C.I.		p	N	HR	95% C.I.		p
HLA-A, B, C, DRB1 allele mismatch number															
0 - 1	1,007	0.98	0.89	1.08	0.670	1,335	1.20	1.12	1.29	<0.001	881	1.27	1.10	1.46	0.001
2	1,285	0.94	0.86	1.03	0.189	1,458	1.05	0.98	1.13	0.136	1,046	0.96	0.83	1.11	0.616
3	2,659	1.00				2,483	1.00				1,823	1.00			
4	1,967	0.93	0.86	1.01	0.091	1,780	0.99	0.92	1.05	0.706	1,330	0.95	0.83	1.08	0.420
5 - 8	1,705	0.96	0.88	1.04	0.318	1,485	0.97	0.91	1.04	0.379	1,128	0.90	0.78	1.03	0.126
		A-GVHD (II - IV)***				A-GVHD (III - IV)***				C-GVHD***					
	N	HR	95% C.I.		p	HR	95% C.I.		p	N	HR	95% C.I.		p	
0 - 1	1,261	0.73	0.64	0.83	<0.001	0.51	0.40	0.66	<0.001	980	0.77	0.65	0.92	0.004	
2	1,487	0.98	0.88	1.09	0.667	0.95	0.78	1.14	0.554	1,133	0.92	0.79	1.07	0.301	
3	2,503	1.00				1.00				1,845	1.00				
4	1,800	1.03	0.94	1.14	0.504	0.95	0.80	1.14	0.593	1,325	1.03	0.90	1.18	0.690	
5 - 8	1,464	1.09	0.98	1.21	0.102	1.08	0.90	1.29	0.392	1,062	1.15	1.00	1.33	0.050	

C.I. = confidence interval; AML = acute myeloblastic leukemia; ALL = acute lymphoblastic leukemia; MDS = myelodysplastic syndrome; HR = hazard ratio. *GVH and HVG direction. **HVG direction. ***GVH direction.

Table 2. HLA-allele mismatch number and clinical outcomes.

	N(OS)	OS_mortality*		Engraftment (neut_500)**		5y-leukemia relapse***	
		HR	p	HR	p	HR	p
HLA -A, B, C, DRB1 allele MM no.							
0	289	1		1		1	
1	718	0.97	0.750	0.88	0.036	0.77	0.036
2	1,285	0.97	0.719	0.81	0.000	0.66	<0.001
3	2,659	1.00	0.970	0.76	0.000	0.68	<0.001
4	1,967	0.94	0.488	0.75	0.000	0.64	<0.001
5	1,018	0.92	0.402	0.74	0.000	0.64	<0.001
6	529	1.05	0.638	0.75	0.000	0.56	<0.001
7	149	0.85	0.255	0.71	0.003	0.37	<0.001
		Acute GVHD (II - IV)***		Acute GVHD (III - IV)***		Chronic GVHD***	
		HR	p	HR	p	HR	p
HLA -A, B, C, DRB1 allele MM no.							
0		1		1		1	
1		1.19	0.481	1.01	0.950	1.10	0.625
2		2.07	0.001	1.34	0.006	1.40	0.049
3		2.16	<0.001	1.37	0.002	1.44	0.029
4		2.06	0.001	1.42	0.001	1.51	0.014
5		2.21	0.001	1.48	0.000	1.63	0.006
6		2.62	0.000	1.48	0.002	1.29	0.207
7		2.58	0.003	1.70	0.002	2.14	0.002

* GVH and HVG direction ** HVG direction *** GVH direction

Table 3. Effect of HLA locus mismatch in allele level on transplant-related outcomes.

HLA-allele	Mortality*			Engraftment**			Acute-GVHD (II - IV)***			(III - IV)***		Chronic-GVHD***			Relapse***			
	Mismatch no.	N	HR	p	N	HR	p	N	HR	p	HR	p	N	HR	p	N	HR	p
HLA-A																		
0	3,654	1	-	4,086	1	-	4,009	1	-	1	-	3,031	1	-	2,908	1	-	
1	4,305	0.97	0.393	3,872	0.96	0.097	3,923	1.07	0.062	1.17	0.016	2,883	1.1	0.081	2,860	0.92	0.104	
2	664	0.94	0.329	583	1.03	0.534	583	1.08	0.28	1.19	0.176	431	1.05	0.597	440	0.78	0.016	
HLA-B																		
0	2,658	1	-	2,914	1	-	2,882	1	-	1	-	2,211	1	-	2,047	1	-	
1	5,316	1.07	0.088	5,017	0.92	0.004	5,018	1.11	0.025	1.53	<0.001	3,687	0.99	0.842	3,694	0.95	0.391	
2	649	1.14	0.048	610	0.81	<0.001	615	1.1	0.243	1.34	0.044	447	1.03	0.759	467	0.92	0.407	
HLA-C																		
0	1,993	1	-	2,436	1	-	2,393	1	-	1	-	1,819	1	-	1,711	1	-	
1	4,944	0.98	0.618	4,606	0.98	0.581	4,634	0.97	0.487	0.93	0.382	3,448	0.98	0.776	3,368	0.95	0.363	
2	1,686	0.95	0.411	1,499	1.02	0.681	1,488	1.02	0.732	0.98	0.841	1,078	1.08	0.393	1,129	0.95	0.534	
HLA-DRB1																		
0	2,033	1	-	2,345	1	-	2,302	1	-	1	-	1,743	1	-	1,611	1	-	
1	5,054	0.98	0.663	4,764	0.9	<0.001	4,789	1.23	<0.001	1.19	0.03	3,545	1.15	0.038	3,505	0.83	0.001	
2	1,536	0.97	0.516	1,432	0.86	<0.001	1,424	1.35	<0.001	1.28	0.018	1,057	1.42	<0.001	1,092	0.79	0.002	
HR; hazard ratio Relapse; in acute myeloblastic leukemia, acute lymphoblastic leukemia and myelodysplastic syndrome.																		
*GVH and HVG direction. **HVG direction. ***GVH direction.																		

Table 4. Effect of a single HLA locus allele mismatch (other HLA loci are match) on transplant-related outcomes.

5y-overall survival (mortality)*						
HLA	match no.	mismatch no.	Hazard ratio	95% C.I.		P
A	762	246	1.07	0.83	1.38	0.589
B	949	59	0.75	0.49	1.16	0.200
C	931	77	0.99	0.68	1.45	0.973
DRB1	661	347	0.93	0.73	1.18	0.542
Neutrophil engraftment to 500/μL**						
A	1087	265	0.90	0.77	1.06	0.212
B	1251	101	0.80	0.62	1.03	0.085
C	1247	105	0.91	0.74	1.11	0.337
DRB1	930	422	0.90	0.79	1.04	0.145
acute-GVHD (II - IV grade)***						
A	997	263	0.85	0.63	1.16	0.309
B	1171	89	1.25	0.86	1.83	0.239
C	1158	102	0.57	0.35	0.96	0.033
DRB1	839	421	1.12	0.87	1.44	0.380
acute-GVHD (III - IV grade)***						
A	999	263	1.13	0.61	2.10	0.691
B	909	90	2.59	1.32	5.07	0.005
C	1160	102	0.30	0.07	1.28	0.104
DRB1	840	422	1.13	0.66	1.95	0.658
chronic-GVHD***						
A	786	192	1.05	0.67	1.64	0.841
B	908	71	1.61	0.94	2.77	0.081
C	901	78	0.39	0.15	0.98	0.044
DRB1	653	326	1.11	0.76	1.63	0.579
5y-leukemia relapse***						
A	697	183	0.73	0.53	1.00	0.048
B	810	70	0.71	0.46	1.10	0.123
C	815	65	0.90	0.56	1.44	0.663
DRB1	584	296	0.73	0.55	0.96	0.025

*GVH and HVG direction. **HVG direction. ***GVH direction.

Table 5. Impact of HLA locus mismatch on leukemia relapse by leukemia type.

Acute myeloblastic leukemia						Acute lymphoblastic leukemia					Myelo-dysplastic syndrome				
	N	HR	95% C.I.		p	N	HR	95% C.I.		p	N	HR	95% C.I.		p
HLA-A, B, C, DRB1 allele mismatch number (GVH direction)															
0 - 1	500	1.28	1.07	1.52	0.006	267	1.33	0.97	1.83	0.077	113	1.28	0.88	1.87	0.191
2	609	0.92	0.77	1.10	0.343	271	1.25	0.91	1.72	0.163	156	0.84	0.57	1.24	0.379
3	1,125	1.00				430	1.00				264	1.00			
4	833	0.94	0.80	1.10	0.423	278	1.01	0.74	1.37	0.969	210	0.90	0.63	1.27	0.538
5 - 7	739	0.83	0.70	0.98	0.029	215	1.13	0.82	1.57	0.458	164	1.05	0.74	1.50	0.783
HLA locus mismatch number (GVH direction)															
HLA-A															
0	2,197	1.00				1,031	1.00								
1	2,317	0.93	0.82	1.04	0.209	878	0.95	0.76	1.18	0.624					
2	399	0.66	0.51	0.85	0.002	122	0.84	0.53	1.33	0.468					
HLA-B															
0	1,536					748									
1	2,959	0.94	0.82	1.09	0.425	1,125	0.92	0.72	1.18	0.532					
2	413	0.91	0.70	1.18	0.458	152	0.74	0.46	1.20	0.220					
HLA-C															
0	1,011					468									
1	2,104	0.95	0.82	1.11	0.538	769	0.94	0.73	1.22	0.661					
2	728	0.97	0.79	1.20	0.794	246	0.99	0.69	1.43	0.976					
HLA-DRB1															
0	1,291					642									
1	2,882	0.78	0.69	0.90	<0.001	1,203	0.90	0.71	1.15	0.415					
2	953	0.73	0.61	0.88	0.001	340	0.99	0.69	1.41	0.940					

Figure 1.

Effect of HLA allele mismatch on transplant related outcome.

HLA allele mismatch no.		0-1	2	3	4	5-7
Mortality	GVH & HVG	○	○	○	○	○
Engraftment	HVG	●	●	●	●	●
Leukemia relapse	GVH	●	●	●	●	●
Acute GVHD (III-IV))	GVH	●	●	●	●	●
Chronic GVHD	GVH	●	●	●	●	●

HLA locus mismatch		A	B	C	DRB1
Mortality	GVH & HVG				
Engraftment	HVG		↓		↓
Leukemia relapse	GVH	↓			↓
Acute GVHD (III-IV))	GVH	↑	↑		↑
Chronic GVHD	GVH				↑