

第5回日本組織適合性学会・近畿地方会 プログラム

会 期： 2007年2月3日(土) 10:00~18:00

会 場： 参天製薬株式会社本社(大阪市東淀川区下新庄3-9-19)

世話人： 甲斐 俊朗(兵庫医科大学輸血部)

【オープニングセミナー】

- 1) HLA-Fの膠原病, 移植への応用に向けて

座長： 佐田正晴(国立循環器病センター)

○石谷 昭子¹⁾, Ni Lee²⁾, 下嶋 典子¹⁾, Daniel E. Geraghty²⁾

1) 奈良県立医科大学法医学, 2) Fred Hutchinson Cancer Research Center

- 2) 造血幹細胞移植とドナー/レシピエント適合性

座長： 能勢 義介(兵庫県血液センター)

○丸屋 悦子

NPO 法人 HLA 研究所

- 3) 好中球, 単球, T/B リンパ球, 血小板を対象とした免疫蛍光抗体法

(5-cell lineage IFT) を用いた白血球抗体の検出

座長： 永尾 暢夫(常磐短期大学)

○松山 宣樹, 保井 一太, 平山 文也, 小島 芳隆, 谷上 純子, 石井 博之,

福森 泰雄, 谷 慶彦, 柴田 弘俊

大阪府赤十字血液センター

【シンポジウム】

『HLA 不適合造血幹細胞移植』

—HLA 適合血縁 / 非血縁ドナーがない場合の選択—

座長： 椿 和央(近畿大学附属奈良病院)

佐治 博夫(NPO 法人 HLA 研究所)

- 1) HLA 不一致非血縁者間骨髓移植 —JMDP での成績から—

—戸 辰夫(京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科)

- 2) IPA/NIMA 移植の利点と課題

島崎 千尋(京都府立医科大学血液・腫瘍内科)

魚嶋 伸彦(松下記念病院血液科)

吉原 隆夫(松下記念病院小児科)

3) T細胞非除去 HLA2-3 抗原不適合移植

小川 啓恭 (兵庫医科大学 内科学講座血液内科)

4) HLA 非適合非血縁者間臍帯血移植

長村登紀子 (東京大学医科学研究所 セルプロセッシング・輸血部)

5) HLA 抗体と臍帯血移植

荒木 延夫 (兵庫県赤十字血液センター)

【特別講演】

座長: 甲斐 俊朗 (兵庫医科大学病院)

『NK 細胞と造血幹細胞移植』

田中 淳司 (北海道大学血液内科)

● 一般演題 ●

1) 口腔内粘膜細胞からの DNA 分離法の検討

○小島 裕人, 二神 貴臣, 大沼 豪, 辻野 貴史, 林 晃司,
落合 直也, 丸屋 悦子, 赤座 達也, 佐治 博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所

【はじめに】

造血幹細胞移植のドナー検索用組織適合検査の検体採取法として、スワブで採取した口腔内粘膜細胞を用いることは、採血よりも被験者にとって痛みを伴わず、輸送も簡便で安価である。NMDP では2006年より検体採取をフィルター血痕からスワブ採取と郵送に切り替えている。当研究所でも口腔内粘膜細胞による検査依頼数が血液検体による依頼数と同等になってきている。今回、市販 DNA 分離キットを用いた口腔内粘膜細胞からの最良の DNA 分離法を求め検討をおこなったので報告する。

【材料・方法】

口腔内粘膜細胞: 職員と一般依頼検査用検体

口腔内粘膜採取キット: Whatman 社, Sterile foam tipped applicator

口腔内粘膜細胞からの DNA 分離キット: JetQuick (Genomed 社), Clean Columns (Nexttec 社),

QuickGene (FujiFilm 社)

- 検討項目: ① 口腔内粘膜細胞の採取方法: 採取前のうがいの有無
② 口腔内粘膜細胞の溶解方法
③ DNA の収量と純度, HLA 検査の再検率
④ 分離所要時間

【結果・考察】

- ① 口腔内粘膜細胞の採取方法の検討: 口腔内粘膜細胞採取前のうがいの有無による影響を5人の左右の頬を用い、JetQuick 法で検討した結果、回収される細胞数にあきらかな差はないが、DNA 濃度はうがいのない群が若干良好であった。
② 口腔内粘膜細胞の溶解方法の検討: 各キットにつき細胞溶解液の最大の能力を検出するため細胞沈査の量で検討した結果すべてのキットで1

mm の沈査を溶解することができた。

- ③ DNA の収量と純度: DNA の純度は Luminex 法による HLA-class I, II の再検査率で判断した。以下に各キットの収量と再検査率を示す。
 JetQuick (総分離件数: 228 件), 平均 DNA 収量 600 ng, 再検査率 24%
 Clean Columns (総分離件数: 154 件), 平均 DNA 収量 720 ng, 再検査率 27%
 QuickGene (総分離件数: 106 件), 平均 DNA

収量 700 ng, 再検査率 0%

- ④ 分離所要時間: 各キットともに 1 時間 30 分と同等であった。
 以上の結果より QuickGene による分離法が最適であることが分かった。キットのコストは 235 円~409 円と差があるが, コストパフォーマンスは得られることもわかった。口腔内粘膜細胞は造血幹細胞移植ドナー検索用組織適合性検査の検体としてもっとも有用なソースとなり得る。

2) HLA Class I とサルコイドーシスの臨床

○立花 暉夫¹⁾, 小野 明子²⁾, 石井 博之³⁾, 福森 泰雄²⁾, 谷 慶彦²⁾

- 1) 大阪簡易保険総合健診センター
 2) 大阪府赤十字血液センター

【研究目的, 方法】

- サルコイドーシス 74 症例の HLA Class I DNA typing を実施し,
 - サルコイドーシスの疾患感受性と HLA Class I allele との関連性を検討した。
 - サルコイドーシス症例を経過良好例, 経過不良例にわけて, サルコイドーシスの臨床経過と HLA Class I allele との関連性を検討した。さらに, サルコイドーシスの全身性病変の中で最も重要な心病変と HLA Class I allele との関連性を検討した。
- 既にイタリア, チェコ症例で報告されているサルコイドーシス疾患感受性や臨床経過と HLA Class I allele の関連性とも比較検討した。

【成績】

- HLA-B*1301, HLA-B*5502 は健康人に比してサルコイドーシス患者に高頻度で, HLA-C*0401 は健康人に比してサルコイドーシス患者に低頻度であった。
 - 前回報告したサルコイドーシス経過不良例で

経過良好例に比して高頻度な HLA Class II allele (HLA-DRB1*0803) のような allele, HLA Class II ハプロタイプ (HLA-DRB1*0803-HLA-DQB1*0601) のようなハプロタイプは HLA Class I では認めなかった。また, サルコイドーシス心病変に高頻度な HLA-DQB1*0601 のような HLA Class I allele も認めなかった。

- イタリア, チェコのサルコイドーシス症例でも高頻度な HLA-B8 は我々の症例では認めなかった。またチェコ症例で経過良好例に比し, 経過不良例に高頻度な HLA- A1, B13, B27 は我々の経過不良例で特に高頻度でなかった。

【結論】

- 我々の検討で, HLA-B*1301, HLA-B*5502 はサルコイドーシスに感受性の allele であり, HLA-C*0401 はサルコイドーシスに抵抗性の allele であった。サルコイドーシス経過不良例で, 良好例に比して高頻度な HLA Class I allele, HLA Class I ハプロタイプは認めなかった。心

病変症例に高頻度な HLA Class I allele も認めなかった。

2. イタリア, チェコのサルコイドーシス症例でも高頻度な HLA Class I allele は, 我々の症例では認めなかった。またチェコ症例で, 経過不

良例に高頻度な HLA Class I allele も我々の経過不良例で特に高頻度でなかった。HLA Class I とサルコイドーシスの関連, 臨床経過との関連で人種差がみられた。

3) 母親の自己の HLA 抗体が原因と推定される NAIT 症例

○西村 千恵¹⁾, 稲葉 洋行¹⁾, 荒木 延夫¹⁾, 能勢 義介¹⁾, 井本 しおん¹⁾,
三戸 壽¹⁾, 井上 進²⁾, 森田 庄治²⁾, 前田 真治³⁾

- 1) 兵庫県赤十字血液センター
2) 埼玉県赤十字血液センター
3) 兵庫県立塚口病院小児科

【目的】

NAIT (新生児血小板減少症)は HPA 抗体や稀には HLA 抗体が原因となる。今回, 母親の自己の HLA 抗体が原因と推定される NAIT 症例を経験した。

【症例, 方法】

患児は第 1 子, 血小板数 11,000/ μ L, NAIT の疑い。患児, 母の HLA 抗体検査は LABScreen PRA, LABScreen Single Antigen, HPA 抗体検査は MPHA 法(血小板抽出抗原; n = 8), MACE (modified antigen capture ELISA) 法を実施。母と父の交差試験は LCT 法, AHG-LCT 法, MPHA 法(インタクト血小板)を使用した。

【結果】

出生時の患児, 母血清中共に HLA クラス I 抗体は 55 ビーズ中 1 ビーズ (A2, A32, B42, B58, Cw10, Cw17) がスコア 4 の弱陽性。クラス II 抗体は患児が 35 ビーズ中 30 ビーズにスコア 4 または 6 の陽性, 母が 35 ビーズ中 33 ビーズにスコア 4 または 6 の陽性。HPA 抗体は患児, 母共に陰性。リンパ球交差試験は陰性, 血小板交差試験は母血清原液で陰性,

2~8 倍希釈で 1+, 16~128 倍希釈で 2+ のプロゾーン現象を観察(母の自己対照は陰性)。インタクト血小板 (n = 18) による population study は 18 セル中 16 セルがプロゾーン現象による陽性, 2 セルは陰性を示し, クロロキン処理により反応性に減弱もしくは消失が認められた。

そして, 出生半年後の母血清中に HLA クラス I 抗体が HLA-A2+A11+B76+B77+ α , クラス II 抗体が DR15+DR16+DR11+DR13+DR1+ α を検出した。また, HPA 抗体は血小板抽出抗原 8 セル中 3 セルに陽性を示し, クロロキン処理により 8 セル中 2 セルの反応性が失活した。なお, HPA 抗体の反応性は A2, A11 の特異性は示さなかった。HLA タイプは患児が HLA-A*0206, A*2605, B*5101, B*5101, Cw*1402, Cw*1502, DRB1*1302, DRB1*1401, 父が HLA-A*0206, A*2402, B*5101, B*5201, Cw*1202, Cw*1402, DRB1*1302, DRB1*1502, 母が HLA-A*0206, A*2605, B*1301, B*5101, Cw*0304, Cw*1502, DRB1*1401, DRB1*1501。HPA タイプは患児が HPA-1a/1a, 2a/2a, 3a/3b, 4a/4a, 5a/5a, 6a2/a2, Naka+, 父が HPA-

1a/1a, 2a/2a, 3a/3a, 4a/4a, 5a/5a, 6a2/a2, Naka+, 母が HPA-1a/1a, 2a/2a, 3b/3b, 4a/4a, 5a/5a, 6a2/a2, Naka+.

【考察】

今回の症例は出生時の母血清は血小板抽出抗原では陰性、インタクト血小板ではプロゾーン現象が観

察され、また、クロロキン処理により反応性が減弱した。そして、出生半年後の母血清中に母の自己抗体と思われる HLA-A2 様抗体が出現した。また、血小板抽出抗原で陽性を示し、クロロキン処理により反応性が減弱した。母親由来の自己の HLA-抗体? が NAIT の原因と推定される。

4) 心臓移植患者においてレトロスペクティブに DSA (Donor-Specific Antibody) を認めた 1 症例

○山本 賢¹⁾, 百富 麻美²⁾, 角谷 勇実¹⁾, 佐野 隆宏¹⁾, 佐藤 清²⁾, 佐田 正晴³⁾, 永谷 憲歳³⁾, 鎌倉 史郎²⁾, 中谷 武嗣⁴⁾

1) 国立循環器病センター 輸血管理室

2) 同 臨床検査部

3) 同 再生医療部

4) 同 臓器移植部

【はじめに】

当センターでは心臓移植患者の液性免疫能を評価するため、Flow PRA を用いて HLA 抗体の推移をモニタリングしている。しかし、日常検査では HLA 抗体スクリーニング検査のみを実施しているため、ドナー特異抗体 (DSA: Donor Specific Antibody) の確認ができず、治療を有する液性拒絶の把握が遅れ、臓器生着に影響する可能性がある。今回、Flow PRA が陽性であった症例について、レトロスペクティブに Flow PRA Single Antigen を用い HLA 抗体特異性を確認したところ、移植前後に DSA を認めた症例を経験したので報告する。

【対象】

心臓移植手術を受けた 40 代男性。LVAS 装着後 3 年待機し、輸血を施行して %PRA 上昇を認めた。ドナー発生時、LCT (Lymphocyte Cytotoxicity Test) 法による direct crossmatch が陰性だったため移植を施行した。免疫抑制療法は OKT3 導入を行い、その後、タクロリムス、MMF (Mycophenolate Mofetil)、

ステロイドの 3 剤併用療法を行った。

【方法】

HLA 抗体スクリーニング検査は FCM による Flow PRAI & IIScreening Test (One Lambda) を用い、Negative Control から右方に推移した % を %PRA とした。また HLA 抗体特異性はレトロスペクティブに心臓移植直前、移植後 5, 10, 15, 39, 119 日後の検体について Flow PRA Single Antigen (One Lambda) を用い測定した。分析機器は FACS Calibur、測定解析ソフトは Cell Quest を使用した。

【結果】

心臓移植時に HLA class I 抗体が検出され (%PRA: 40% 以上)、移植翌日には 10% 以下となり陰性化した。移植 5 日目から %PRA が急激に上昇。その後約 1 ヶ月間は 80% 前後で推移していたが、35 日目で降徐々に低下し始め、173 日目には陰性であった。HLA 特異性については移植直前、移植後 5 日目に DSA である HLA-B61 抗体が検出され、CREG (Cross Reactivity Group) も同時に検出された。10

日目を降 DSA は消失したが、CREG は認められた。心筋バイオプシー所見では治療を必要とする細胞性および液性拒絶を認めなかった。

【考察】

レトロスペクティブに移植前後に DSA を認めた症例を経験した。HLA 抗体、特に DSA は移植予後に大きな影響を与え、超急性あるいは急性拒絶を引き起こすリスクも高い。本症例では LCT 法による

直前の direct crossmatch 陰性を確認し移植が行われたが DSA による超急性拒絶は認められなかった。同種抗体に対し、高応答性を示す移植患者において、HLA 抗体の検出感度の高い FCM 法を用いた HLA 抗体有無や特異性の推移を把握することは、免疫抑制療法を含む移植後管理に重要な情報を与えられ考えられる。

5) Flow PRA における非特異反応の検討

○山本 賢¹⁾, 佐藤 清²⁾, 佐田 正晴³⁾, 永谷 憲歳³⁾, 鎌倉 史郎²⁾, 中谷 武嗣⁴⁾

- 1) 国立循環器病センター 輸血管理室
- 2) 同 臨床検査部
- 3) 同 再生医療部
- 4) 同 臓器移植部

【はじめに】

Flow PRA における当センターの陰性の基準としてヒストグラム (HG) がシングルピークを示し、かつ %PRA (negative control から右方に推移した %) が 10% 以下を目安としている。しかしながら、HG がシングルピークで右方にシフトし、さらにコントロールピーズの HG も右方にシフトすることがある。この場合、非特異反応によるものとして報告している。今回、心臓移植症例および 2006 年の 1 年間で Flow PRA で非特異反応を示した症例について検討したので報告する。

【対象】

当センターにおいて心臓移植を行った 20 例および 2006 年 1 月～12 月までに Flow PRA の測定を行った 44 例(心臓移植患者を除く)を対象とした。

【方法】

HLA 抗体スクリーニング検査はフローサイトメーターによる Flow PRAI & IIScreening Test (One Lambda), HLA 抗体特異性は Flow PRA Single Antigen (One Lambda) を用い測定した。非特異反

応が認められた症例については非特異物質吸着試薬 Adsorb Out を用い、患者血清を処理後、再度 Flow PRA の測定を行った。また、これらの対象患者はほとんどが手術時にヘパリンを使用しているため、この影響を確認するために患者血清にプロタミンを添加し、再度 Flow PRA の測定を実施した。分析機器は FACS Calibur, 測定解析ソフトは Cell Quest を使用した。

【結果】

心臓移植患者の 4 例 (20%), Flow PRA 測定患者の 7 例 (15.9%) に非特異反応を認めた。これら 11 例のうち 1 例において、Adsorb Out 後、特異的な HLA 抗体が検出された。残りの 10 例ではほとんど変化は認められなかった。非特異反応を示した症例についてプロタミン添加試験を行った結果、完全に非特異反応が消失した。

【考察】

今回 Flow PRA 測定で 17% (11/64) に非特異反応が認められた。HLA 抗体のモニタリングを移植後の拒絶診断や治療効果判定に応用する場合、正確な

HLA 抗体の有無と特異性の把握は必須である。今回、Adsorb Out により 1 例のみ特異抗体が検出されたが、完全に非特異反応が消失するものではなかった。また Adsorb Out により非特異反応が消失しなかった症例についてプロタミンを添加することにより、非特異反応が完全に消失した。このため検体に

混入するヘパリンが非特異反応の原因の 1 つであると考えられた。Flow PRA の測定において非特異反応が認められた場合、いかに非特異物質の影響を最小限にし、正確な測定を行うかが重要であると考えられる。

6) 新しい HLA-B48/40 系アレルについて

○二神 貴臣¹⁾, 大沼 豪¹⁾, 小川 貴裕²⁾, 小島 裕人¹⁾, 辻野 貴史¹⁾,
林 晃司¹⁾, 前川尻真司²⁾, 松下 正毅²⁾, 落合 直也¹⁾, 丸屋 悦子¹⁾,
赤座 達也¹⁾, 佐治 博夫¹⁾

1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所

2) 湧永製薬株式会社

【はじめに】

我々は造血幹細胞移植におけるドナー検索を目的として、日常業務において Luminex 法を用い、家族の HLA 型検査を 4 桁レベルで行っている。その中の一家系の HLA-B 座において新しいアレルを示唆する反応を検出した。ダイレクトシーケンスとクローニングにより変異を特定し、new allele であることを確認した。

【材料・方法】

材料として患者、父、母、兄の末梢血を使用した。

1, 患者、父、母、兄の HLA タイピングを Luminex 法 (WAKFlow) で行った。2, 患者と父の exon2 と exon3 のダイレクトシーケンスを行った。3, 患者と父の exon2 と exon3 のクローニングとシーケンスを行った。

【結果・考察】

1, WAKFlow によるタイピング結果 (ハプロタイプ解析)

父を a/b, 母を c/d, 患者を a/c, 兄を b/c とする。

■ IPA ハプロタイプ a: A*2402 - KYBX - C*0803 - DRB1*1406

□ NIPA ハプロタイプ b: A*2402 - B*5201 -

C*1202 - DRB1*1502

● IMA ハプロタイプ c: A*2402 - B*5201 - C*1202 - DRB1*1502

○ NIMA ハプロタイプ d: A*2402 - B*5201 - C*1202 - DRB1*1502

患者と父の B 座において、B*5201 が検出されたが、その特異性を示すプローブ以外にも exon2, exon3 で複数の強い反応を示すプローブがあるにもかかわらず既知アレルとしては特定できず、KY-BX と仮に表記した。

2, ダイレクトシーケンスの結果、B*520101 は特定できたが、片方のアレルは特定できなかった。

3, クローニングの結果、exon2 は B*4801 と一致し、exon3 について一致する既知アレルはなく、最も類似性の高いアレルが B*4059 であり、113 番目 (H → Y) · 114 番目 (D → N) · 116 番目 (S → F) でアミノ酸変異が検出された。KYBX の祖先遺伝子を考察すると 2 通りの可能性がある。① exon 2 と exon3 のはじめ (105 番目のアミノ酸付近まで) が B*4802 で、残りの exon3 が B*4801 である遺伝子、② exon2 は B*4801 又は B*4802, exon3 が B*4059 である遺伝子、どちらの場合も KYBX は 105 番目

から 130 番目のアミノ酸部位で B*1401 または B*3701 などの遺伝子と gene conversion の結果生

じたアリルと考えられる。

7) 移植後キメリズム検査における興味深い症例について —造血幹細胞移植片に多機能幹細胞が含まれるか?—

○大沼 豪, 二神 貴臣, 小島 裕人, 辻野 貴史, 林 晃司, 落合 直也,
丸屋 悦子, 赤座 達也, 佐治博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所

【はじめに】

マイクロサテライト多型を利用し, 移植後のドナー/体細胞比率を DNA キメリズム解析として感度良く検出できる。我々は日常業務(移植後キメリズム検査)において同種造血幹細胞(SCT)移植後の患者口腔内粘膜(体細胞)由来 DNA のキメリズム解析の結果, ドナータイプ(70-80%)が検出された興味深い2症例を経験した。

【材料・方法】

症例 1: DR1 座ミスマッチ (Pt vs Do: DRB1*1101 vs *1401) の妹をドナーとして骨髄移植を施行し, 移植後 10 年の移植後キメリズム検査

使用サンプル: 患者: 爪, 口腔内粘膜, 末梢血, ドナー: 末梢血

症例 2: 重症多発性骨髄腫の患者, 子からの haplo-identical, 同種末梢血幹細胞移植を施行, 移植後 9 ヶ月, 16 ヶ月の移植後キメリズム検査

使用サンプル: 患者: 爪, 移植後 9 ヶ月, 16 ヶ月の口腔内粘膜細胞, 末梢血

キメリズム解析: ドナーとレシピエントのマイクロサテライト多型性を約 15 種検査し, Chimerism に informative 遺伝子を 2-3 種選択し, 移植後レシピエント PB/BM のマイクロサテライトを PCR で増幅後, 分子量多型性の差から, そのキメリズムを観察

し, 蛍光強度より半定量をおこなった。

DNA typing: Luminex 法 (WAKFlow) でミスマッチ HLA 座につき検査した。

【結果・考察】

症例 1: 移植後 10 年の患者爪は 100% 患者型, 口腔内粘膜は 80% ドナー型, 末梢血は 100% ドナー型を示した。

症例 2: 移植後 9 ヶ月目の爪は 100% 患者型, 口腔内粘膜は約 80% ドナー型, 末梢血: 100% ドナー型であり, 16 ヶ月目の爪は 100% 患者型, 口腔内粘膜: 約 20% ドナー型, 末梢血: 100% ドナー型であった。

SCT 施行後の患者の口腔内粘膜細胞の大多数がドナー型を示した 2 症例を経験した。通常, 移植前検体がない場合の代用とし患者口腔内粘膜細胞を使用する場合, 数 % のドナー細胞が検出される例はある。口腔内粘膜での GVHD 発症時のドナーリンパ球の浸潤と推定し, GVHD の診断としての価値を考えていた。今回, 造血幹細胞移植のソースに多機能幹細胞が含まれることを示唆する実例を経験し, 今後, 移植後キメリズム検査時に患者体細胞検体も同時に検査することで, 造血幹細胞移植におけるドナーの多機能幹細胞の動態と, その生着・分化を知る糸口を見つけたいと考える。

8) HLA 不一致同胞間末梢血幹細胞移植例における HLA 抗体の吸収と抗体価の推移

○高 陽淑¹⁾, 小島 芳隆¹⁾, 井上なおみ¹⁾, 山口 真弓¹⁾, 岡 綾子¹⁾,
 尼岸 悦子¹⁾, 松山 宣樹¹⁾, 谷上 純子¹⁾, 福森 泰雄¹⁾, 谷 慶彦¹⁾,
 柴田 弘俊¹⁾, 渡邊 光正²⁾, 通堂 満²⁾

1) 大阪府赤十字血液センター

2) 大阪赤十字病院

【はじめに】

今回我々は、移植ドナーに対する HLA 抗体を保有する患者において、抗体産生細胞 (Bcell) を傷害する Rituximab (CD20 抗体) の投与とドナー血小板の大量輸血および末梢血幹細胞移植によりその抗体価がどのように推移するかを検討する機会を得たので報告する。

【症例および経過】

患者は骨髄異形成症候群で 30 歳の男性。当初は、PC-HLA 輸血を目的として当センターに HLA 抗体の検査依頼があった。その後、病状が進行し急性骨髄性白血病へ移行したために、HLA 2 座不一致の兄をドナーとした末梢血幹細胞移植が予定されたが、患者はドナーの抗原 (A24, B54) に対する HLA 抗体を保有していた。そこで HLA 抗体の減弱および吸収を目的とした Rituximab の投与とドナー血小板 40 単位の輸血を経て移植が施行され、移植後 14 日で生着が確認された。

【方法】

HLA 抗体スクリーニングは LCT, AHG-LCT 法, 蛍光ビーズ法 (LABScreen, One Lambda 社) で実施した。移植前後に、数回に亘って採取した患者血清を用いて、A24 抗原保有パネルセルに対する抗体価を LCT 法で測定した。また同様に A24 および B54 抗原保有パネルセルを用いてフローサイトによる全血 LIFT 法でも HLA 抗体を測定した。

【結果】

HLA 抗体スクリーニングの結果は LCT 法および AHG-LCT 法で陽性, LABScreen PRAI で陽性, PRAII で陰性であった。これらのスクリーニングの結果から患者は A24 + α (広範囲) の HLA 抗体を保有していると推定され、A24 に対する抗体価は LCT 法で 16 倍であった。また B54 抗体については AHG-LCT 法, LABScreen 法でのみ検出された。その後数回の PC-HLA 輸血を経て、10 ヶ月後に採血した検体で測定した A24 の抗体価は 4 倍, Rituximab 投与終了後には 2 倍にまで減弱していた。そして、ドナー血小板 40 単位の輸血を経た移植直前の患者検体では A24 抗原保有パネルとの反応は LCT 法で陰性, 全血 LIFT 法で陽性であった。そこで翌日、末梢血幹細胞の追加輸注が施行された。その後数回に亘って採取した検体については LCT 法, 全血 LIFT 法共にドナーの抗原 (A24, B54) に対しては陰性となった。しかし、ドナーの保有していない抗原に対する一部の抗体は移植後の患者血清中に検出された。

【まとめ】

- ① 患者血清中に存在したドナーの抗原に対する HLA 抗体は Rituximab 投与およびドナー血小板大量輸血を経て LCT 法での検出感度以下となり、移植後には全血 LIFT 法でも検出感度以下となった。
- ② ドナーの抗原以外に対する一部の抗体に関しては移植後の患者検体からも検出された。

9) Host-versus-graft (HVG) 方向不一致 HLA 抗原を複数有する HLA 部分不一致血縁者からの造血幹細胞移植

○諫田 淳也¹⁾, 一戸 辰夫¹⁾, 近藤 忠一¹⁾, 石川 隆之¹⁾, 渡邊 光正²⁾, 通堂 満²⁾, 落合 直也³⁾, 丸屋 悦子³⁾, 佐治 博夫³⁾, 内山 卓¹⁾

1) 京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科

2) 大阪赤十字病院 血液内科

3) 特定非営利活動法人 HLA 研究所

【緒言】

移植適応がある高リスク造血器腫瘍に対して HLA 一致同胞あるいは HLA 一致非血縁者といった一般的なドナー候補が見出せない場合、代替ドナーとして HLA-A, -B, -DR 抗原の graft-versus-host (GVH) 方向の不一致が 1 抗原以内である HLA 不一致血縁者が選択されることがある。しかしながら host-versus-graft (HVG) 方向の不一致 HLA 抗原が複数存在する場合には、生着不全等の移植関連合併症のリスクが高まる可能性があり、そのようなドナーを一般的に選択することの妥当性に関しては十分な検討が行われていない。

【方法】

1999 年 12 月から 2006 年 8 月までの間に京都大学医学部附属病院と大阪赤十字病院において成人を対象として実施された HLA 部分不一致血縁者をドナーとする造血幹細胞移植のうち、低解像度タイピングによる HLA-A, -B, -DR の不一致が GVH 方向に 1 抗原以内であり、FK506 を含む GVHD 予防法が用いられていた 40 例を対象として、中高解像度タイピングによる HLA-A, HLA-C, HLA-B, HLA-DRB1 の HVG 方向のアリル型不一致数が生着および生存に与える影響を後方視的に検討した。

【結果】

40 例中 35 例に生着(ドナー型造血による持続的な

好中球数 $> 500/\text{mm}^3$ への回復)を認め、生着に要した日数の中央値(範囲)は 15 日(12–26 日)であった。早期死亡を 2 例に認め、残り 3 例に一次生着不全を認めたが、同一あるいは別のドナーより救援幹細胞移植が施行され 3 例とも追加移植片による生着を得た。また急性 GVHD (grade II 以上)は、評価可能な 35 例のうち 20 例(57%)に認めた。次いで、HLA-A, -C, -B, -DRB1 の HVG 方向のアリル型不一致の数が 0 から 1 個の群(0–1 アリル不一致群; 12 例)と、2 個から 4 個の群(2–4 アリル不一致群; 28 例)を比較すると、年齢や疾患などの患者背景に関して二群間に有意な差は認められなかったが、day30 における累積生着率は、2–4 アリル不一致群が有意に劣っていた(100% vs 86%, $p = 0.049$)。一方、4 年生存率に関しては 0–1 アリル不一致群と 2–4 アリル不一致群に有意な差は認められなかった(19% vs 55%, $p = 0.08$)。なお、比例ハザードモデルを用いた多変量解析では、HVG 方向の複数不一致アリルの存在のみが、生着不全の危険因子として抽出された。

【結論】

GVH 方向 HLA-A, -B, DR 一抗原以内不一致血縁者は、HVG 方向に複数の HLA アリル型不一致が存在する場合には生着不全のリスクに留意する必要があるものの、他に適切なドナーが見出されない場合には有力なドナー候補者になり得ると考えられた。