

第 10 回日本組織適合性学会近畿地方会 抄 録 集

会 期：2012 年 2 月 11 日（土）

会 場：参天製薬株式会社
大阪市東淀川区下新庄 3-9-19
TEL: 06-6321-7000

世話人：池亀 和博
兵庫医科大学血液内科
〒 663-8501 西宮市武庫川町 1 番 1 号
TEL: 0798-45-6111（代表）
E-mail: kame@hyo-med.ac.jp

共 催：財団法人 大阪腎臓バンク

【参加費】

1. 正会員：2,000 円
2. 学 生：1,000 円
3. 世話人：3,000 円

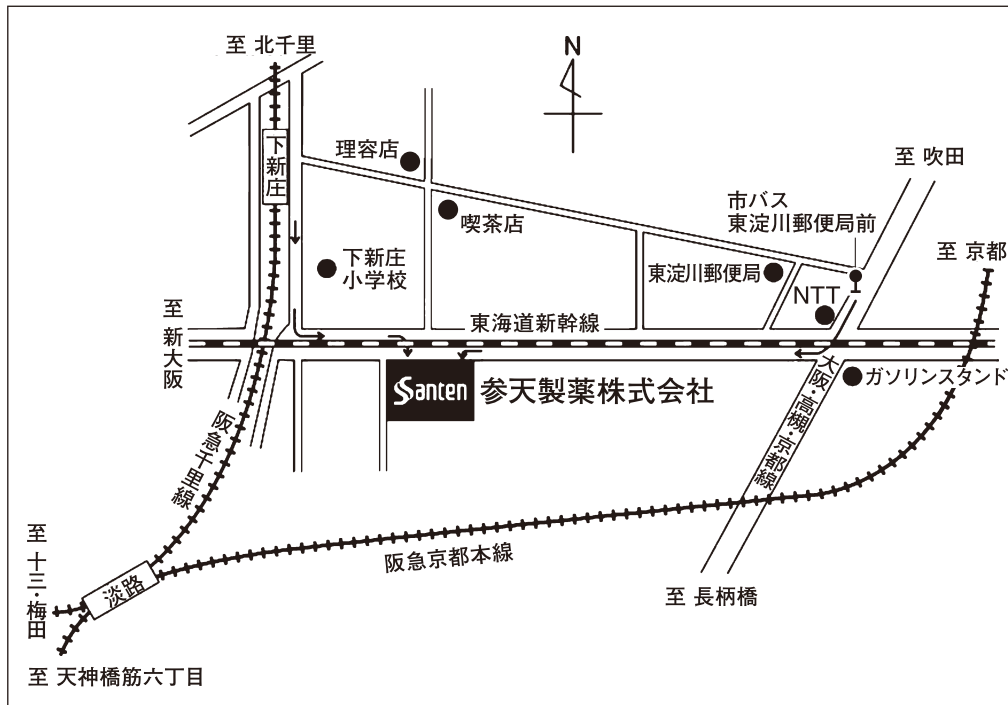
【会議等】

1. 世話人会：12:00～13:00
2. 総 会：13:00～13:20
3. 意見交換会：17:00～

【会場地図】

参天製薬株式会社 本社案内図

大阪市東淀川区下新庄 3-9-19 TEL: 06-6321-7000



新大阪駅より（所要時間：約 30 分）

地下鉄御堂筋線・新大阪駅よりなかもず行きに乗車し、一駅目の西中島南方駅で下車。阪急千里線に乗換え、南方駅より北千里行きに乗車、下新庄駅下車。下新庄駅から徒歩 5 分。

地下鉄堺筋線日本橋，北浜方面より（地下鉄と阪急が相互乗り入れ）

北千里行きに乗車し、下新庄駅下車。下新庄駅から徒歩 5 分。

JR 大阪駅，阪神・地下鉄・阪急 梅田方面より

阪急電車・梅田駅から北千里行きに乗車し、下新庄駅下車。下新庄駅から徒歩 5 分。

プログラム

9時30分

受付開始

【午前の部】

10時～11時

オープニングセミナー

座長：椿 和央（近畿大学医学部奈良病院血液内科）

- 1) 顆粒球抗原（HNA）遺伝子導入細胞株による GIFT 確認試験
保井一太（大阪府赤十字血液センター研究部研究二課）
- 2) HPA 関連
林 智也（大阪府赤十字血液センター研究部研究三課）

11時～12時

一般演題

座長：高 陽淑（大阪府赤十字血液センター検査三課）

1. Luminex 法による HLA LOH/6p-UPD の検出

○末上伸二¹⁾，二神貴臣¹⁾，小島裕人¹⁾，辻野貴史¹⁾，林 晃司¹⁾，楠木靖史¹⁾，藤井直樹¹⁾，西川美年子¹⁾，
小川公明²⁾，赤座達也¹⁾，佐治博夫¹⁾
NPO HLA 研究所¹⁾，NPO 白血病研究基金を育てる会²⁾

2. HLA ハプロ半合致移植後の上皮細胞に HLA LOH/6p-UPD がみられた症例（予報）

○小島裕人¹⁾，小沼正栄²⁾，二神貴臣¹⁾，辻野貴史¹⁾，林 晃司¹⁾，楠木靖史¹⁾，藤井直樹¹⁾，末上伸二¹⁾，
西川美年子¹⁾，小川公明³⁾，赤座達也¹⁾，佐治博夫¹⁾
NPO HLA 研究所¹⁾，東北大学医学部附属病院 小児科²⁾，NPO 白血病研究基金を育てる会³⁾

3. GVHD 予防をステロイドで強化した HLA 半合致移植における，CMVpp65 抗原特異的 T 細胞の検討

○加藤るり
兵庫医科大学 血液内科

4. HLA 不適合ハプロ半合致移植症例における HLA 抗体の検出率

○林 晃司¹⁾，小島裕人¹⁾，藤井直樹¹⁾，二神貴臣¹⁾，辻野貴史¹⁾，楠木靖史¹⁾，末上伸二¹⁾，西川美年子¹⁾，
吉原 哲²⁾，谷口享子²⁾，小川啓恭²⁾，赤座達也¹⁾，佐治博夫¹⁾
NPO HLA 研究所¹⁾，兵庫医科大学病院 血液内科²⁾

5. 造血幹細胞移植後に頬粘膜細胞がドナータイプに置き換わった2例

○辻野貴史¹⁾, 道下吉広²⁾, 浜之上聡³⁾, 小島裕人¹⁾, 二神貴臣¹⁾, 林 晃司¹⁾, 楠木靖史¹⁾, 藤井直樹¹⁾,
末上伸二¹⁾, 西川美年子¹⁾, 小川公明⁴⁾, 赤座達也¹⁾, 佐治博夫¹⁾
NPO HLA 研究所¹⁾, 秋田大学医学部附属病院²⁾, 神奈川県立こども医療センター³⁾,
NPO 白血病研究基金を育てる会⁴⁾

12時～13時

昼食・世話人会

13時00分～13時20分

総 会

【午後の部】

13時30分～15時30分

シンポジウム

移植医療の最新知見

座長：芦田隆司（近畿大学 血液内科）
池亀和博（兵庫医科大学 血液内科）

- 1) KIR 適合性と造血細胞移植成績：最近の知見から
屋部登志雄（東京都赤十字血液センター）
- 2) 造血幹細胞移植領域における HLA 抗体の役割
吉原 哲（兵庫医科大学 血液内科）
- 3) graft versus GVHD
石井慎一（兵庫医科大学 血液内科）
- 4) 腎移植と MICA・MICB について
水谷一夫（名古屋大学医学部 泌尿器科）

15時30分～15時40分

休憩

15時40分～16時40分

特別講演

座長：岡 芳弘（大阪大学 呼吸器・免疫アレルギー内科学）

悪性腫瘍のペプチド免疫療法 一なりたちと展望一

宇高恵子（高知大学 免疫学講座）

17時～

懇親会

(10:00 ~ 11:00)

オープニングセミナー

座長：椿 和央（近畿大学医学部奈良病院血液内科）

- 1) 顆粒球抗原（HNA）遺伝子導入細胞株による GIFT 確認試験
保井一太（大阪府赤十字血液センター研究部研究二課）
- 2) HPA 関連
林 智也（大阪府赤十字血液センター研究部研究三課）

1. 顆粒球抗原 (HNA) 遺伝子導入細胞株による GIFT 確認試験

保井一太

大阪府赤十字血液センター研究部研究二課

輸血によってひきおこされる副作用の報告は年間約 2,000 例に及び、その約 90% は非溶血性輸血反応 (NHTR) である。輸血関連急性肺障害 (TRALI) は NHTR のうち最も重篤な症状を示す一つで、輸血医療にとって解決しなければならない重要課題の一つとなっている。ヒト白血球抗原 (HLA) やヒト好中球抗原 (HNA) などに対する抗体は、時に血液製剤中に存在し TRALI 発症に関与する。このうち HLA 抗体に関しては確立された検査法が存在し、その同定には大きな障害はない。一方、HNA 抗体検査には標準法がなく、また国際的に認知された HNA-1 ~ HNA-5 以外にも TRALI に関与する好中球抗原の存在も示唆されており、まだ多くの問題が存在する。大阪センターではヒト好中球抗体を GIFT 法の変法である 5 cell-lineage IFT 法でスクリーニングし、特異性同定は遺伝子導入により HNA-1a,

-1b, -1c, -2a, -4a, -4b, -5a, -5b 抗原のみをそれぞれ恒常的に発現する細胞株を用い、日々の検査を行っている。また、非溶血性輸血副作用が報告された血液製剤 (副作用検体) 中における白血球抗体を上記方法で検査したところ、顆粒球表面上の抗原とは結合するが、既知の HLA, HNA には特異性を示さない抗体が多数存在した。さらに、これら抗体が結合する分子の一つとして、われわれは Siglec-14 を同定した。Siglec-14 分子はシアル酸含有糖鎖を認識するレクチン分子群に属し、その発現は顆粒球および単球表面上に限られ、健常人でのタンパク質レベルの欠損が報告されている。今回のセミナーでは、HNA 抗原発現細胞株の特性と同細胞株を用いた HNA 抗体検査法を中心にわれわれが得たこれら HNA 抗体検査に関する知見について報告したい。

2. HPA 関連

林 智也

大阪府赤十字血液センター研究部研究三課

ヒトの血小板膜上には ABO 血液型抗原, HLA, HPA, Naka 抗原等, 様々な分子が存在する。輸血・妊娠・自己免疫疾患・骨髄移植等をきっかけとして, これらの分子に対する抗体が産生されると, 血小板減少の症状が現われる。輸血後紫斑, 血小板輸血不応や新生児血小板減少症等, これらの症状を引き起こす原因として, 患者の産生する HLA 抗体が主な物であるが, 一部 HPA 抗体の関与が報告されている。これらの病態の理解や予防のために抗体の特異性を決定する必要がある。HLA 抗体のスクリーニング及び特異性の解析は, 検査キットが市販されており, 簡易に検討することが出来る。一方, HPA 抗体の検出方法については, フローサイトメーターを用いた方法や MPHA 法をはじめ, MAIPA 法などが開発され, 検出感度, 特異性の向上が図られてきた。これらの方法は血小板を使用することから, 低頻度 HPA 発現血小板の準備が困難なこと等, 実施する際に種々の問題がある。我々は HPA に対する抗体検査における諸々の問題点を解決する方法を模索しており, それらを紹介したい。

【HPA について】

HPA はヒト血小板抗原 (Human Platelet Antigen) の略であり, 赤血球の血液型に対応するものとして, 血小板型ともよばれている。それらはわずか 6 種類の血小板膜タンパク質に局在しており, 多くは一塩基置換による一アミノ酸変異による多様性である。 α IIb β 3 上に存在する HPA が最も多く 15 種類存在し, α 2 β 1 に 3 種類, GPIbIXV に 2 種類, CD109 に 1 種類存在している。これらの頻度は, 人種や型により大きく異なり, 非常に稀な型も存在する。現在, 国際ワークショップでは 21 種類の体系が血小板抗原

として認められているが, 新規抗原候補が毎年報告されており, 今後, 増えていくと思われる。

【新規 HPA 抗体検査について】

HPA に対する抗体検査の問題点を解決する方法として, 我々は血小板を用いない検査法の確立を目指してきた。まず, 特異的な血小板抗原を長期間・安定的に発現する細胞を分子生物学的手法により作製する方法を考案した。次に, 樹立した細胞を血小板抗体検査法に応用することを試みた。その結果, 一部の血小板抗体を除いて, 細胞株パネルが様々な血小板抗体検査に応用可能であることが示された。現在, 14 種類の細胞を樹立しており, それぞれの細胞の特徴と血小板抗体検査への応用について言及したい。

【HPA の DNA タイピングについて】

患者さんの HPA の型を知ることは, 抗体産生のリスクや血小板抗体による血小板減少の予防に役に立つ。また, 血小板抗体検査に用いる血小板は, 特異的な HPA を発現している必要がある。HPA の型を調べる方法として, 遺伝子検査が有効である。HPA の DNA タイピングは, PCR-SSP 法等で行なわれてきたが, PCR-SSO を応用して Luminex beads を用いる方法が確立された。この方法では, 一度に複数種類の HPA を決定できる。しかし, 新しく追加された HPA に適応するには, プローブの配列やその他の条件検討が必要となる。我々はこの問題を解決できる可能性のある方法を試みている。

【HPA 抗体の将来展望】

輸血や妊娠において, HPA の不適合が認められ

る場合でも HPA 抗体の産生が起りやすい場合と、起りにくい場合がある。これらは、HLA の型が関与しているとの報告がある。従って、血小板抗体による血小板減少症の予防には、HPA の型に加えて、HLA の型を調べ、これらの組み合わせを調査していく事が今後重要になってくる。

抗体医薬品やリコンビナント医薬品において、糖

鎖構造が活性に重要である事は周知の事実である。実際に HPA 抗体においてもシアル酸付加による抗体活性への影響が報告されている。しかしながら、糖鎖構造解析は抗体活性に係る因子の 1 つにすぎない。今後、糖鎖構造の違いを含め、実際の患者体内での HPA 抗体の動態を定量的に解析できる方法が望まれる。

(10:40 ~ 11:15)

一般演題

座長：高 陽淑（大阪府赤十字血液センター検査三課）

演題番号 1～5

1. Luminex 法による HLA LOH/6p-UPD の検出

○末上伸二¹⁾, 二神貴臣¹⁾, 小島裕人¹⁾, 辻野貴史¹⁾, 林 晃司¹⁾, 楠木靖史¹⁾,
藤井直樹¹⁾, 西川美年子¹⁾, 小川公明²⁾, 赤座達也¹⁾, 佐治博夫¹⁾

NPO HLA 研究所¹⁾, NPO 白血病研究基金を育てる会²⁾

【はじめに】

造血幹細胞移植において HLA 領域での LOH/6p-UPD は、移植後のみならず移植前の腫瘍細胞や再生不良性貧血などの自己免疫疾患にみられ、ドナー選択や治療方針の決定の際に考慮されるようになり、近年、LOH/6p-UPD の検出を受託する機会が増えてきた。また、Luminex 法による HLA タイピング検査において LOH/6p-UPD がミスタイプを誘導する可能性がある。当研究所での経験例から注意すべき点を紹介したい。

【材料と方法】

Luminex 法 (WAKFlow) を用いて、LOH/6p-UPD を検出した血液検体。

【結果】

Luminex 法で LOH/6p-UPD を検出した検査の結果は、次の 3 パターンに分けられた。パターン①片方のアレルの Signal 強度が低値だが、heterozygote と判定される。

パターン②片方のアレルの一部の Signal 強度が低値で、タイピングの判定が不可能。

パターン③片方のアレルの Signal 強度が極めて低値で、homozygote と判定される。

【考察】

3 パターンの Signal の強弱は検体に含まれる LOH/6p-UPD 細胞数の割合に相関するものと考えられ、LOH/6p-UPD 検出目的の場合はパターン①のように heterozygote で判定されることがあり、腫瘍細胞をセレクション (CD34+ など) した検体を用いるのがよい。HLA タイピング目的の場合は、パターン③のように homozygote として判定されることがあるため、腫瘍細胞の割合が高い検体を用いることは望ましくない。体細胞 DNA 検体を用いるか、両親などの HLA タイピング検査を行い確認をするほうがよい。さらに、患者の HLA ハプロタイプが homozygote、特に稀なタイプの homozygote の場合は LOH/6p-UPD を考慮すべきである。

また、タイピングの判定が難しいときはパターン②のように片方のアレルの一部の Signal 強度が低値の場合があり、その場合も LOH/6p-UPD を考慮すべきである。

2. HLA ハプロ半合致移植後の上皮細胞に HLA LOH/6p-UPD がみられた症例（予報）

○小島裕人¹⁾, 小沼正栄²⁾, 二神貴臣¹⁾, 辻野貴史¹⁾, 林 晃司¹⁾, 楠木靖史¹⁾,
藤井直樹¹⁾, 末上伸二¹⁾, 西川美年子¹⁾, 小川公明³⁾, 赤座達也¹⁾, 佐治博夫¹⁾

NPO HLA 研究所¹⁾, 東北大学医学部附属病院 小児科²⁾, NPO 白血病研究基金を育てる会³⁾

【背景】

近年, HLA ハプロ半合致造血幹細胞移植後の血液腫瘍細胞において HLA 領域での LOH/6p-UPD が確認され, 予後が悪いことから新たな話題となっている。今回, 血液腫瘍細胞のみならず, 体細胞にも LOH/6p-UPD がみられた一例を紹介する。

【臨床経過】

14歳の男児。AML (M2) と診断され, 2007年2月に臍帯血移植するも, 2008年5月に再発。治療抵抗性, non CR で2008年12月に2回目の臍帯血移植。2010年7月に再発し, non CR で父をドナーとした HLA ハプロ半合致 PBSCT を実施。2011年7月に末梢血に blast がみられたため DLI を考慮し, LOH/6p-UPD の確認をおこなった。

Recipient : A*24:02/*02:06, C*01:02/*08:01, B*54:01/*40:06, DRB1*14:03/*15:01

3rd Donor (父) : A*24:02/-, C*01:02/*08:03, B*54:01/*48:01, DRB1*14:03/*15:01

【材料・方法】

3rd 移植後 day 289 の腫瘍細胞, Buccal, Nail, Hair の HLA 領域は Luminex 法 (WAK Flow) を,

それ以外はマイクロサテライト多型性検査を行った。

【結果】

マイクロサテライト多型性検査ではアンバランスはみられず, Luminex 法ではミスマッチの HLA-A, B, C 座の Signal 強度が, 移植前と比較して Nail はほぼ同等, 腫瘍細胞, Buccal, Hair はそれぞれ 1%, 1%, 10% 程度であった。DR 座は全検体, 同等の強度。

【考察】

3rd 移植後 day 289 の腫瘍細胞, Buccal, Hair の HLA-A, B, C 座の領域において LOH/6p-UPD がみられた。Nail にみられなかったことも考慮にいと, 程度に差はあるが, Buccal や Hair が Donor の強烈的な GVH 攻撃を受け, (上皮) 幹細胞クローンとして存在していた LOH/6p-UPD 細胞が生き残り, 進化的に選択されて増殖したと考えられる。結果としてドナー免疫から回避することになり, このことは臓器を含めた移植全般において, 患者がドナーの免疫を寛容するメカニズムを解明するブレイクスルーとなりうる。

3. GVHD 予防をステロイドで強化した HLA 半合致移植における, CMVpp65 抗原特異的 T 細胞の検討

○加藤るり

兵庫医科大学 血液内科

【目的】

免疫抑制が強化された HLA 半合致移植は, サイトメガロウイルス (CMV) 再活性化の危険性が高い。CMV への免疫機能の回復を, フローサイトメトリーによる CMVpp65 抗原特異的 T 細胞を測定し検討した。

【対照】

2009 年 7 月から 2011 年 5 月施行した HLA 半合致移植のうちレシピエントかドナーの HLA-A が 0201, 0206 の骨髄破壊的移植 9 例, 骨髄非破壊的移植 24 例 (7 例は再移植) を対照。HLA-A02 (0201, 0206) は 20 症例が共有 (RD 群), 13 症例はドナーのみ (D 群), 観察期間の中央値は 190 日 (40 ~ 665) であった。

【方法】

CMV の再活性化は週 1 回の CMVpp65 抗原の測定により評価。pp65 抗原が 4 週連続での陰性を再燃の鎮静化とした。移植後, 2, 3 週目から週に 1 回, フローサイトメトリーを施行。CD3 陽性かつ CD8 陽性かつ デキストラマー 試薬 HLA-A0201

(NLVPMVATV) 陽性の細胞集団を CMVpp65 抗原特異的 T 細胞とした。

【結果】

pp65 抗原血症は 31/33 症例 (93.9%) で発症, 1 例のみ (RD 群) はサイトメガロウイルス肺炎で死亡。2 症例 (RD 群 2 例) は抗原血症なし。pp65 抗原陽転から CMVpp65 抗原特異的 T 細胞の出現までの日数の中央値は, RD 群, D 群で 14 日 (-13 ~ 31), 23 日 (0 ~ 60) であった。CMVpp65 抗原特異的 T 細胞数の観察期間中の最高値は中央値で RD 群, D 群で, 14.07 (1.3 ~ 153.7) 個/μL, 9.657 (1.09-12) 個/μL。pp65 抗原陽転から CMVpp65 抗原特異的 T 細胞数が最大となるまでの日数は中央値で RD 群 62.5 (22-247) 日, D 群 68 (35-389) 日であった。

【結語】

免疫抑制が強化された HLA 半合致移植であっても CMVpp65 抗原血症に反応して CMVpp65 特異的 T 細胞が出現, CMV 再活性化のコントロールに関与している可能性が示唆された。

4. HLA 不適合ハプロ半合致移植症例における HLA 抗体の検出率

○林 晃司¹⁾, 小島裕人¹⁾, 藤井直樹¹⁾, 二神貴臣¹⁾, 辻野貴史¹⁾, 楠木靖史¹⁾, 末上伸二¹⁾,
西川美年子¹⁾, 吉原 哲²⁾, 谷口享子²⁾, 小川啓恭²⁾, 赤座達也¹⁾, 佐治博夫¹⁾

NPO HLA 研究所¹⁾, 兵庫医科大学病院 血液内科²⁾

【目的】

近年、造血幹細胞移植における HLA 抗体に対する認識は普及し、移植前患者で DSA (Donor Specific Antibody) の有無を確認する為の HLA 抗体検査は生着不全のリスクを予測する上で必須の検査になった。検出される抗体特異性や頻度、そしてドナーの保有する HLA 抗体に関しての臨床的意義についてまだ不明な点が多い。今回、我々は HLA 不適合ハプロ半合致移植を目的とした患者及びそのドナーの HLA 抗体検査結果から、検出される抗体陽性率と抗体特異性についてまとめたので報告する。

【方法】

対象：HLA 不適合ハプロ半合致移植症例（患者：200 例，ドナー：171 例）の血漿又は血清，疾患：主に Leukemia，患者：男 105・女 95，ドナー：男 83・女 88，HLA 適合度；one haplo identical，方法：LABScreen PRA, LABScreen Single Antigen を使用，解析方法：上記 IgG 型抗体検査の結果を抗体の特異性と MFI (Median fluorescence intensity) で分類した。

【結果】

MFI \geq 3,000 で検出された HLA 抗体陽性率は患者:22.5% (n=45), ドナー:11.1% (n=19) であった。加えて患者:3.0% (n=6), ドナー:6.4% (n=11) はいわゆる自然抗体と推定される陽性反応のみが検出された。抗体陽性ドナーから移植された患者からドナー抗体産生細胞由来と思われる抗体が検出された症例は 7 例あったが、全て HLA-class I の MFI \geq 3000 であった。

【考察】

自然抗体と推察される抗体陽性検出例があるが、それらの臨床的意義はないと推察される。また、HLA 抗体が検出されたドナーから移植された患者から近似した HLA 抗体が検出される症例に関してはドナー由来の抗体産生細胞の一部が移植後の患者体内において刺激を受けている結果と推察されるが、その臨床的意義を含めて今後症例数を増やし、更に検討したいと考える。

5. 造血幹細胞移植後に頬粘膜細胞がドナータイプに置き換わった2例

辻野貴史¹⁾, 道下吉広²⁾, 浜之上聡³⁾, 小島裕人¹⁾, 二神貴臣¹⁾, 林 晃司¹⁾, 楠木靖史¹⁾,
藤井直樹¹⁾, 末上伸二¹⁾, 西川美年子¹⁾, 小川公明⁴⁾, 赤座達也¹⁾, 佐治博夫¹⁾

NPO HLA 研究所¹⁾, 秋田大学医学部附属病院²⁾, 神奈川県立こども医療センター³⁾, NPO 白血病研究基金を育てる会⁴⁾

【目的】

我々は、臍帯血移植後に口腔内粘膜細胞がドナータイプに置き換わる症例を2例経験した。移植ソースの挙動を知る手掛かりとするため、2例を比較・検討したので報告する。

【方法】

1. 移植後キメリズム検査は14種のマイクロサテライトを用い、レシピエントの移植後の末梢血・口腔内粘膜細胞・爪・毛髪（2例目のみ）の多型性を確認した。
2. HLA タイピングには、Luminex 法（WAKFlow）を用いた。

【結果・考察】

1. 第1例においては、口腔内粘膜細胞のみならず爪においてもドナータイプが100%近くを占め

た。しかし、第2例では爪・毛髪は患者タイプのままであり、体細胞がドナータイプに置き換わるのは人や組織・部位によって異なるといえる。2例とも graft は臍帯血であったことから、このような現象が臍帯血移植に特異的に起こるかを今後確認していく。

2. 第2例のマイクロサテライト多型性は口腔内粘膜細胞と爪・毛髪とで異なった。移植ソースに間葉系幹細胞が含まれ、口腔内粘膜細胞がドナータイプに置き換わったとき、爪に関しては患者タイプのままである場合がある。GVHD の標的となる口腔内粘膜細胞はドナータイプ細胞がGVH 反応を逃れて選択されることで局所的な免疫寛容が成立していると考えられる。移植後免疫寛容の成立機作として注目すべき現象といえる。

(13:30 ~ 15:30)

シンポジウム

移植医療との最新知見

座長：芦田隆司（近畿大学 血液内科）

池亀和博（兵庫医科大学 血液内科）

- 1) KIR 適合性と造血細胞移植成績：最近の知見から
屋部登志雄（東京都赤十字血液センター）
- 2) 造血幹細胞移植領域における HLA 抗体の役割
吉原 哲（兵庫医科大学 血液内科）
- 3) graft versus GVHD
石井慎一（兵庫医科大学 血液内科）
- 4) 腎移植と MICA・MICB について
水谷一夫（名古屋大学医学部 泌尿器科）

1. KIR 適合性と造血細胞移植成績：最近の知見から

屋部登志雄

東京都赤十字血液センター製剤部製剤三課製剤一係長

造血幹細胞移植成績に HLA 適合性が大きく影響している。HLA クラス I は抗体、T 細胞受容体に加え、NK 細胞受容体の KIR (Killer Ig-like Receptor) にも認識される。KIR 遺伝子多型およびその HLA リガンド特異性の造血細胞移植成績への影響についてはこれまで多くの報告がされており、海外では急性白血病、特に AML における再発抑制効果の有効性が示される一方で、成績が悪化する報告例もあり、いまだにその効果がはっきりとは定まっていないのが現状である。その理由としては移植の多様性（疾

患、移植源、移植手技など）に加えて KIR 遺伝子およびそのリガンドである HLA クラス I 遺伝子型の集団差も影響していることが挙げられる。そのため各人種集団ごとにおける移植成績と KIR 遺伝子型、HLA リガンド特異性の関連解析が必要となっている。今回は海外での造血細胞移植における KIR 適合性解析の最近の知見を紹介するとともに国内の JMDP を介した非血縁者間骨髄移植症例および臍帯血移植症例における KIR 適合性の解析結果の現状についても報告する。

2. 造血幹細胞移植領域における HLA 抗体の役割

吉原 哲

兵庫医科大学 血液内科

造血幹細胞移植領域における昨年のトピックの1つは、HLA ハプロ一致血縁ドナーからの移植（ハプロ移植）が現実的な選択肢であることが示されたことであろう。BMT-CTN（米国の臨床試験ネットワーク）の第II相試験として行われた臍帯血移植とハプロ移植の比較検討結果が報告され、引き続き第III相試験を行うことが発表された（Brunstein & Fuchs, Blood 2011）。臍帯血移植、ハプロ移植、そして非血縁者間移植（バンク移植）の多くには、HLA 不適合移植であるという共通点があり、これらの移植法の普及に伴って HLA 抗体の役割も急速にクローズアップされるようになってきた。レシピエントが保有する HLA 抗体がドナー幹細胞の生着不全を増加させることは、単一ユニットの臍帯血移植（Takanashi, Blood 2009）、複数臍帯血移植（Cutler, Blood 2011）、非血縁者間移植（Spellman, Blood 2010; Ciurea, Blood 2011）、ハプロ移植（Ciurea, Transplantation 2009; Yoshihara, Bone Marrow Transplant 2011）のそれぞれの移植法において相次いで報告された。移植前に抗体レベルを低下させる

ためのインターベンションに関する知見も増えつつある。一方、これに比べると臨床的なインパクトは小さいが、ドナーが保有する HLA 抗体の意義も明らかとなってきた。我々の検討では、HLA 抗体陽性のドナーから移植を受けた患者7例中4例において移植後早期（1週間以内）に HLA 抗体が出現し、抗体レベルは10日から2週間でピークとなりその後低下した（Taniguchi & Yoshihara, in submission）。この抗体によって血小板輸血不応も起こり得る。以上と全く異なる話題であるが、HLA class II は抗原提示細胞、活性化 T 細胞といった移植後の移植片対宿主病（GVHD）を引き起こす細胞群に比較的選択的に出現している。これを利用して、HLA-DR に対する抗体を GVHD の予防・治療に用いる基礎的検討も行われつつある（Chen, Bone Marrow Transplantation 2011）。

造血幹細胞領域における HLA 抗体検査の必要性（需要）は今後も増大していくことが予想され、検査法の標準化や保険適応の取得など環境整備も望まれるところである。

3. graft versus GVHD

石井慎一

兵庫医科大学 血液内科

同種移植後の GVHD (graft versus host disease) に対する治療法としては、様々な報告がなされてきたが、ステロイド・TNF 阻害薬・ATG (antithymocyte globulin) 等に抵抗性を示す症例がある。我々が主に行っている血縁者間 HLA 不適合移植においても、約 10% で治療に難渋する GVHD に遭遇する。このような場合に、別のドナーから同種移植を施行し、80% の確率で GVHD の寛解を得ており、かつ、PS (performance-status) を保ちながら、原疾患の寛解も得てきた。自己免疫疾患においても、自己を攻撃する宿主リンパ球の排除を目的として試みられており、これを、GVA (graft-versus-Autoimmunity) と呼ぶのに対し、ドナー由来の免疫細胞の排除を目的とした同種移植を、GvGVHD (graft-versus-GVHD) と名付けた。前処置としては、TBI を含めて、フル

ダラビンや ATG の lymphoablative な薬剤を使用し、GVHD 予防としては、タクロリムスとステロイドを使用する。第 2 ドナーの生着が得られれば、約 90% の症例で、GVHD は、速やかに寛解となった。一方、生着が得られない症例においても、約 50% の症例で GVHD の寛解が得られた。これは、前処置により、GVHD が抑制されたのではないかと考えられる。GVHD の grade が高く、PS の低下がみられる場合には、臓器障害も強く、前処置の治療毒性に耐えられない症例も存在するが、難治性 GVHD に対する治療としては、比較的毒性が低く、また、GVHD の寛解とともに、GVL (graft versus leukemia) 効果も期待でき、今後、症例数を増やしていくことで、GVHD の一つの治療戦略として、有効な手段となりうると考えている。

4. 腎移植と MICA・MICB について

水谷一夫

名古屋大学医学部泌尿器科

近年、HLA を含む各種検査や免疫抑制剤の進歩と共に臓器移植における急性拒絶反応は低下し、移植の成績は向上してきている。しかし、長期の臓器移植の成績の改善は急性期における成績の改善ほど大きくなく、慢性期における拒絶反応は臓器移植において以前より重要な問題となってきている。以前にテラサキらは臓器移植において HLA の適合性の問題を指摘、HLA の適合性を向上させることで移植の成績が向上することを示したが、近年は臓器移植した患者の約 20-30% の患者に HLA 抗体が出現すること、抗体陽性の患者では移植の成績が低下することなどを示した。特に近年の報告をみると長期における移植成績の向上のためには抗体による拒絶反応の解明と治療はさけては通れない問題となってきており、臓器移植前後または長期のフォローアップで移植関連抗体を検査・モニターすることは移植成績の向上のためには必須の検査方法のひとつであると考えられる。

更に、科学の進歩と共に今まで検査されてきた HLAA, B, DR という抗体のみでなく、他の HLA-DP/DQ という他の HLA 抗体も測定できるようにな

り HLA 抗体の数も増加してきている。同時に HLA 抗原以外を抗原とする様々な抗体の存在も報告されている。それらは一般に non-HLA 抗体と呼ばれ、今までに多くの抗体が報告されてきている。具体的には MICA/MICB (Major-histocompatibility-complex class I-related chain A/B) 抗体や抗血管内皮抗体などが報告されているが、その多様性から MICA, MICB は HLA につぐ抗原として近年注目されてきている。MICA/MICB は Non-HLA 抗体とされているが、遺伝子は HLA の近傍にあり、HLA と同様に多様性がある。現在 MICA は遺伝子として現在 80 種類、MICB は 33 種類が、蛋白としてはそれぞれ 63 種類、22 種類が報告されてきている。この MICA/B は NKG2D を介した免疫反応の一部に携わるのみならず、その多様性から HLA 抗体と同様、その抗体により移植臓器に拒絶反応を引き起こし、移植の成績を低下させると報告されている。また MICA/B 抗体は腎のみならず他の移植にも関係するという報告もあり、今後臓器移植における注目すべき抗体のひとつとして扱われている。

(15:40 ~ 16:40)

特別講演

座長：岡 芳弘（大阪大学 呼吸器・免疫アレルギー内科学）

悪性腫瘍のペプチド免疫療法 —なりたちと展望—

宇高恵子（高知大学 免疫学講座）

悪性腫瘍のペプチド免疫療法 —なりたちと展望—

宇高恵子

高知大学 免疫学講座

悪性腫瘍の免疫療法は、丸山ワクチンに代表される自然免疫系の細胞傷害活性を利用するものから始まった。自然免疫系のエフェクターのひとつである Natural Killer (NK) 細胞はいくつかの NK レセプターを使って腫瘍細胞を正常の細胞から見分ける。活性化型 NK レセプターのひとつである NKG2D は、非古典的 MHC 分子である MICA/MICB や ULBP ファミリー分子等を標的として認識する。これらは、悪性腫瘍に限らず、ウイルス感染や老朽化により弱った細胞が発現するストレス分子である。このため、標的細胞の種類や、標的が弱った原因によらず殺すことができる点は有利であるが、殺すか殺さないかが殺される標的細胞側の要因によって決まるため、元気な腫瘍細胞は標的となりにくい点が問題である。

一方、脊椎動物以降、遺伝子組み換えによりリンパ球がクローン特異的な抗原受容体遺伝子 (T 細胞レセプター: TCR) を発現するようになると、腫瘍細胞が作るタンパク質の質的、量的変化を鋭敏に感知する細胞傷害性 T 細胞 (CTL) をエフェクターとする抗腫瘍免疫が可能になった。CTL は、標的細胞内で合成されるタンパク質の分解産物であるペプチドを MHC class I 分子が細胞内で結合し細胞表面で提示したものを認識して腫瘍細胞を見分ける。CTL が認識する抗原ペプチドが同定できれば、腫瘍細胞やウイルス感染細胞を特異的に認識する CTL を選択的に数百倍以上にも増やすことができる。こうしたペプチド免疫療法を開発する上でやっかいな問題は MHC の遺伝的多型性である。MHC 分子は、進化の過程で結合ペプチドが変わるようなアミノ酸変異をもつ対立遺伝子型 (allele: アリル)

が多数、集団に残され、異なるアリルを有する人は、より多様な抗原に対応できて子孫を残し易かったことがうかがわれる。古くに分かれたアリル間では、結合するペプチドのレパートリーが大きく異なる。

MHC class I 分子に結合するペプチドは、ランダムなアミノ酸配列の 9 アミノ酸長のペプチドの百数十個に 1 個程度存在する。標的抗原蛋白質のアミノ酸配列の中に MHC に結合するペプチドを見つけるには工夫が必要である。我々は、NEC と共同で、隠れマルコフモデルを基盤アルゴリズムとする質問学習法を使ってペプチド結合実験をデザインし、アリルごとに MHC のペプチド結合特性を調べて、任意のペプチドについて結合能を予測するプログラムを作製した。その結果、HLA-A*24:02 については 93% の的中率、60% の回収率で予想ができる。この的中率なら、まれに存在する複数のアリルに共通に結合するペプチドを見つけることもでき、日本人の大半に共通に免疫源として使える有用なペプチドをデザインすることが可能である。

このようにデザインした WT1 腫瘍抗原ペプチドを使って、抗腫瘍活性を調べている。国内外のペプチド免疫療法は、CTL 誘導ペプチドを免疫源とする第 1 世代の免疫療法が多いが、我々は第 3 者抗原である百日咳全菌体ワクチンを加えて Th1 細胞を誘導し、CTL の細胞傷害活性を高める第 2 世代ワクチンを工夫して抗腫瘍効果の向上をみた。

しかし、それでも抗腫瘍効果は限られる。その原因を探ったところ、腫瘍特異的 CTL は増えても、固形腫瘍の組織へはあまり侵入していないことがわかった。そこで、T 細胞が固形腫瘍に侵入するメカニズムを調べたところ、腫瘍組織においては血管内

皮細胞が死んだ腫瘍細胞を貪食してペプチドを MHC class II 分子に提示し、血管内を流れる腫瘍特異的 Th 細胞の腫瘍内浸潤を誘導することが明らかになった。また、Th が侵入することにより、腫瘍

特異的 CTL が大量に腫瘍内に侵入して固形腫瘍が縮小することがわかった。この原理を利用した第 3 世代の免疫療法の開発を進めている。

