

## 第 15 回日本組織適合性学会近畿地方会 抄録集

会 期：2017 年 2 月 4 日（土）

会 場：大阪府赤十字血液センター 7 階会議室  
大阪市城東区森之宮 2 丁目 4 番 43 号  
TEL 06-6962-7001

世話人：野村 昌作

〒 573-1191 大阪府枚方市新町 2-3-1  
関西医科大学附属病院 血液腫瘍内科  
TEL 072-804-0101

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】

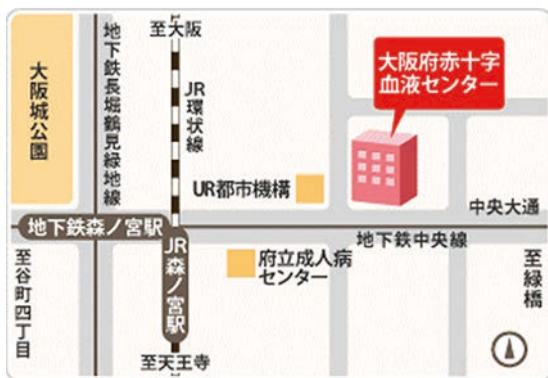
1. 総 会：2月4日（土）13:30～13:40
2. 世話人会：2月4日（土）12:30～13:30
3. 意見交換会：2月4日（土）17:00～

【会場地図】

大阪府赤十字血液センター 7階会議室  
大阪市城東区森之宮2丁目4番43号  
TEL 06-6962-7001



♥ 施設の詳しい地図



JR 環状線・地下鉄中央線・地下鉄長堀鶴見緑地線，森ノ宮駅下車東へ 350 m

## プログラム

9 時 30 分～10 時 30 分 HLA 基礎講習会（事前登録者対象）

### 【午前の部】

10 時 45 分～10 時 50 分

#### 開会の挨拶

10 時 50 分～11 時 20 分

#### オープニングセミナー

座長：谷 慶彦

（大阪府赤十字血液センター）

1) ASHI レポート：小島裕人（HLA 研究所）

#### 一般演題（1）

11 時 20 分～11 時 50 分

座長：石井博之

（日本赤十字社近畿ブロック血液センター）

1) *WAKFlow*<sup>®</sup> HLA 抗体 クラス I & II (ICFA) の改良検討

○白水隆喜<sup>1)</sup>, 尾串雄次<sup>1)</sup>, 小川貴裕<sup>1)</sup>, 川井信太郎<sup>1)</sup>, 中島文明<sup>2)</sup>, 井手健太郎<sup>3)</sup>, 大段秀樹<sup>3)</sup>

湧永製薬株式会社 試薬・診断薬事業部<sup>1)</sup>, 日本赤十字社 血液事業本部 中央研究所<sup>2)</sup>, 広島大学病院 消化器・移植外科<sup>3)</sup>

2) Common Well Documented を用いた DNA タイピングの有用性

○横沢佑弥<sup>1)</sup>, 益尾清恵<sup>1)</sup>, 小林貴弘<sup>1)</sup>, 奥平裕子<sup>2)</sup>, 榊屋安里<sup>2)</sup>, 朝治桜子<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>4)</sup>

株式会社ベリタス<sup>1)</sup>, ジェノダイブファーマ株式会社<sup>2)</sup>

3) PCR を用いない新しい KIR の DNA タイピングの開発—NGS キャプチャー法—

○猪子英俊<sup>1)</sup>, 奥平裕子<sup>1)</sup>, 榊屋安里<sup>1)</sup>, 朝治桜子<sup>1)</sup>, 田嶋 敦<sup>2)</sup>, 細道一善<sup>2)</sup>

ジェノダイブファーマ (株)<sup>1)</sup>, 金沢大学医薬保健研究域医学系<sup>2)</sup>

#### 一般演題（2）

11 時 50 分～12 時 30 分

座長：木村貴文

（日本赤十字社近畿ブロック血液センター）

4) 新鮮凍結血漿を輸血後に移行した HPA-5b 抗体が約 1 か月間検出された一例

○山田麻里江<sup>1)2)4)</sup>, 山田尚友<sup>1)2)</sup>, 中尾真実<sup>1)2)</sup>, 東谷孝徳<sup>1)</sup>, 久保田寧<sup>2)3)</sup>, 木村晋也<sup>3)</sup>, 末岡榮三朗<sup>1)2)</sup>

佐賀大学医学部附属病院検査部<sup>1)</sup>, 佐賀大学医学部附属病院輸血部<sup>2)</sup>, 佐賀大学医学部附属病院血液・呼吸器・腫瘍内科<sup>3)</sup>, 佐賀大学大学院医学系研究科博士課程医科学専攻<sup>4)</sup>

5) 慢性骨髄性白血病におけるチロシンキナーゼ阻害剤の効果は KIR アリルと相関する

○嬉野博志<sup>1)</sup>, 進藤岳郎<sup>1)2)</sup>, 楠木靖史<sup>3)</sup>, 宮崎有紀<sup>3)</sup>, 小島裕人<sup>3)</sup>, 田中秀則<sup>3)</sup>, 佐治博夫<sup>3)</sup>, 川口 淳<sup>4)</sup>, 木村晋也<sup>1)</sup>

佐賀大学医学部血液・呼吸器・腫瘍内科<sup>1)</sup>, 京都大学大学院医学研究科血液・腫瘍内科<sup>2)</sup>, 公益財団法人 HLA 研究所<sup>3)</sup>, 佐賀大学医学部地域医療科学教育センター<sup>4)</sup>

## 6) 移植グラフト肝類洞内皮における HLA-DR 発現の変化

○上田大輔<sup>1)</sup>, 吉澤 淳<sup>1)</sup>, 金城昌克<sup>1)</sup>, 八木真太郎<sup>1)</sup>, 秦浩一郎<sup>1)</sup>, 岡島英明<sup>1)</sup>, 海道利実<sup>1)</sup>, 鶴山竜昭<sup>2)</sup>, 上本伸二<sup>1)</sup>

京都大学大学院医学研究科外科学講座<sup>1)</sup>, 京都大学大学院医学研究科附属総合解剖センター<sup>2)</sup>

## 7) 関東甲信越さい帯血バンクが提供した臍帯血移植における HLA-DPA1 適合度について

○高田慎之介<sup>1)</sup>, 東 史啓<sup>1)</sup>, 屋部登志雄<sup>1)</sup>, 大村和代<sup>1)</sup>, 峯元睦子<sup>1)</sup>, 鈴木雅治<sup>1)</sup>, 中島一格<sup>1)</sup>  
日本赤十字社 関東甲信越ブロック血液センター<sup>1)</sup>

12 時 30 分～13 時 30 分

**昼食・世話人会**

13 時 30 分～13 時 40 分

**総会**

**【午後の部】**

**一般演題 (3)**

13 時 40 分～14 時 30 分

座長：佐藤 壯

(札幌北楡病院)

## 8) HLA 抗体保有患者の HLA 半合致同種末梢血幹細胞移植

○山岡 学<sup>1)</sup>, 阿部 操<sup>1)</sup>, 佐能もも香<sup>1)</sup>, 榎本梨沙<sup>1)</sup>, 大澤真輝<sup>1)</sup>, 井上まどか<sup>1)</sup>, 寺嶋由香利<sup>1)</sup>, 大西修司<sup>1)</sup>, 伊藤量基<sup>1)</sup>, 野村昌作<sup>1)</sup>

関西医科大学附属病院 輸血・細胞療法部<sup>1)</sup>

## 9) アログラフト生検材料からの移植腎組織内吸着 DSA 検出の試み

○渡部清子<sup>1)</sup>, 今西 唯<sup>1)</sup>, 中村緑佐<sup>2)</sup>, 原田俊平<sup>2)</sup>, 増田康史<sup>2)</sup>, 堀池重夫<sup>1)</sup>, 吉村了勇<sup>2)</sup>

京都府立医科大学 輸血・細胞医療部<sup>1)</sup>, 京都府立医科大学大学院 移植再生外科学<sup>2)</sup>

## 10) DQA1 タイピング結果を用いた DSA の解析

○高山智美<sup>1)</sup>, 蔦原宏一<sup>2)</sup>, 平瀬裕美<sup>1)</sup>, 小林 茜<sup>1)</sup>, 三好由真<sup>1)</sup>, 岩田和友子<sup>1)</sup>

大阪府立急性期・総合医療センター移植支援検査センター<sup>1)</sup>, 大阪府立急性期・総合医療センター泌尿器科<sup>2)</sup>

## 11) 抗体関連型拒絶反応発症例における classII de novo DSA と C3d との関連性の検討

○西村憲二<sup>1)</sup>, 木下朋子<sup>1)</sup>, 橋本光男<sup>1)</sup>, 田中 亮<sup>1)</sup>, 富山栄輔<sup>1)</sup>, 米本佐代子<sup>1)</sup>, 山中和明<sup>1)</sup>, 中川勝弘<sup>1)</sup>, 岸川英史<sup>1)</sup>

兵庫県立西宮病院腎疾患総合医療センター<sup>1)</sup>

## 12) 肝移植患者の抗ドナー特異的 HLA 抗体が肝臓に及ぼす影響と HLA 抗原の関係

○金城昌克<sup>1)</sup>, 吉澤 淳<sup>1)</sup>, 上田大輔<sup>1)</sup>, 八木真太郎<sup>1)</sup>, 秦浩一郎<sup>1)</sup>, 岡島英明<sup>1)</sup>, 海道利実<sup>1)</sup>, 鶴山竜昭<sup>2)</sup>, 上本伸二<sup>1)</sup>

京都大学大学院医学研究科外科学講座<sup>1)</sup>, 京都大学大学院医学研究科附属総合解剖センター<sup>2)</sup>

14 時 30 分～ 15 時

休 憩

15 時～ 17 時

シンポジウム

「GVHD」

座長：野村昌作（関西医科大学附属病院 血液・腫瘍内科）

椿 和央（日本赤十字社中四国ブロック血液センター）

1) 制御性 T 細胞から考える GVHD 制御

佐竹敦志

（関西医科大学附属病院 血液・腫瘍内科）

2) 間葉系幹細胞（MSC；テムセル HS 注）による造血細胞移植後 GVHD 治療

安井昌博

（大阪府立母子総合医療センター 血液・腫瘍科）

3) 移植後シクロホスファミドを用いた HLA 半合致移植

杉田純一

（北海道大学大学院医学研究科内科学講座血液内科学分野）

17 時～ 意見交換会

(10:50 ~ 11:20)

---

**オープニングセミナー**

座長：谷 慶彦  
(大阪府赤十字血液センター)

- 1) ASHI レポート：小島裕人 (HLA 研究所)

## アメリカ組織適合性学会 (ASHI) レポート

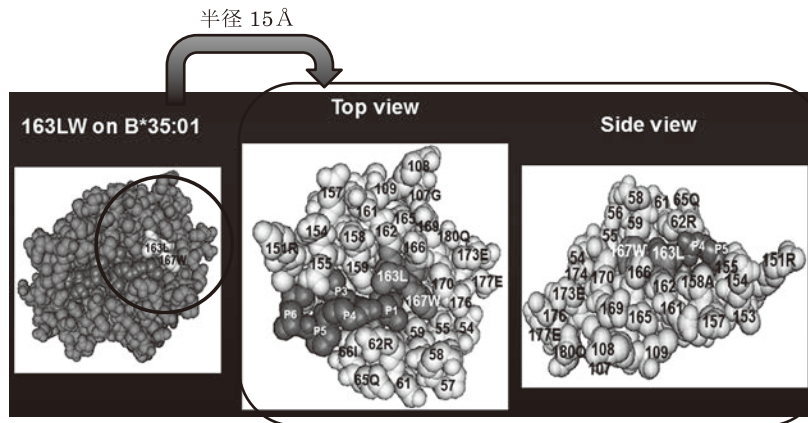
小島裕人<sup>1)</sup>

公益財団法人 HLA 研究所<sup>1)</sup>

2016年9月にミズーリ州・セントルイスで開催されたアメリカ組織適合性学会に参加したので報告する。内容として、エピトープによるHLA抗体検査結果の解釈、臓器移植ドナー選定基準の変遷、NGSに焦点をあてる。

今回の参加で最も状況の変化を感じたのはHLA抗体

に対する考え方であり、第16回の国際ワークショップで加速したエピトープデータベースの蓄積に伴って、MFI (Median Fluorescence Intensity) 値からエピトープへの視点変更の傾向が強まっている。エピトープとは、HLA分子上に存在する抗体認識部分のことで、構成因



	OK6H12	Eplet:	163LW		Polymorphic surface residues within 15 Å of 163LW										
			163	167	62	65	66	107	109	151	173	177	180		
	Sequence position		L	W	R	Q	I	G	L	R	E	E	Q		
MFI=高い	IMM	B*15:03	L	W	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	OLMFI	PANEL	L	W	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	8125	B*15:01	L	W	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	8972	B*15:02	L	W	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
7638	B*15:03	L	W	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
~~~~~															
MFI=中間	3087	B*57:03	L	W	G	R	N	-	-	-	-	-	-		
	3554	B*58:01	L	W	G	R	N	-	-	-	-	-	-		
	2055	B*15:16	L	W	-	-	N	-	-	-	-	-	-		
MFI=低い	111	B*46:01	L	W	-	-	K	-	-	-	-	-	-		
	796	C*03:02	L	W	-	-	K	-	-	-	K	-	-		
	438	C*03:03	L	W	-	-	K	-	-	-	K	-	-		
	554	C*03:04	L	W	-	-	K	-	-	-	K	-	-		

(自己より高い)

### 結果の解釈

MFI=高い：免疫原となる抗原との構造差異が、抗体認識に重要ではない。

MFI=中間：免疫原となる抗原と eplet の異なる部分 (アミノ酸番号：62, 65, 66) は存在するが、抗体反応にあまり影響しない。

MFI=低い (自己より高い)：免疫原となる抗原と eplet の異なる部分 (アミノ酸番号：66, 173) に対する反応が弱い。

MFI=低い (自己と同程度か低い)：免疫原となる抗原と eplet を共有しない。

### 図. エピトープ (抗原性) の考え方

エピトープワークショップ講義 @Hong Kong Society for Histocompatibility and Immunogenetics, Aug 2015 (<http://www.epitopes.net/education.html>) より、一部抜粋, 改変。

子として eplet と呼ばれる並列なアミノ酸構造が定義されている。抗体の特異性としては 15 Å (オームストロング) 内の eplet が対象となり (図), 自身の保持する eplet に対応する特異性の抗体は産生しないことがわかっている。つまり, エピトープを有するかどうか (抗原性) と, エピトープがミスマッチになるかどうか (免疫原性) が抗体産生の要因となる。

抗体特異性の議論は, 米国では臓器移植分野において活発である。例えば, 2014 年 12 月より全米臓器配分ネットワーク (UNOS, United Network for Organ Sharing) が移植臓器調達システム (KAS, Kidney Allocation System) を設立当初以来, 約 20 年ぶりに改正を実施しているが, 患者年齢や移植の地域性に加えて, PRA (Panel Reactive Antibody) (%) が考慮されている。ただし, MFI を特定の閾値で陽性と陰性の判定を行うと, 非特異反応が陽性と判定される場合が多くなる可能性があるため, 基準

値としては cPRA (calculated PRA) を用いる。cPRA は, PRA 算出の際に検出感度 (%PRA) に依存せず, 2007 年 1 月から 2008 年 12 月までのドナー情報から HLA 抗原頻度から, 許容できない HLA 抗原の割合を算出した数値である。

遺伝子型検査の面では, NGS (Next Generation Sequencing) での検査が普及している状況において, HLA 領域の網羅的解析が進みつつある。例えば, DP 座の 3'-UTR 内の特定 SNP (rs9277534) は, HLA 分子発現との相関が報告されている。このような従来法で検出されていない領域の SNPs が, HLA の機能的側面のみならず, 疾患との関連や人類遺伝学での応用も期待されている。また, NGS を用いた造血細胞移植後のキメラ状態の確認や, がん領域で注目されている neoantigen (癌特異的抗原) の検索など, シーケンサーによる HLA 遺伝子型検査以外の使用も幅広くなってきている状況である。



(10:40 ~ 11:10)

---

**一般演題 (1)**

座長：石井博之

(日本赤十字社近畿ブロック血液センター)

**演題番号 1 ~ 3**

## 1) WAKFlow<sup>®</sup> HLA 抗体 クラス I & II (ICFA) の改良検討

○白水隆喜<sup>1)</sup>, 尾串雄次<sup>1)</sup>, 小川貴裕<sup>1)</sup>, 川井信太郎<sup>1)</sup>, 中島文明<sup>2)</sup>, 井手健太郎<sup>3)</sup>, 大段秀樹<sup>3)</sup>

湧永製薬株式会社 試薬・診断薬事業部<sup>1)</sup>, 日本赤十字社 血液事業本部 中央研究所<sup>2)</sup>,  
広島大学病院 消化器・移植外科<sup>3)</sup>

### 【背景】

WAKFlow HLA 抗体 クラス I & II (ICFA) [以下, ICFA (I & II)] は, Luminex ビーズに固定した抗 HLA モノクローナル抗体により, HLA 分子とアロ抗体の複合体を特異的に検出することができる試薬である。第 24 回日本組織適合性学会において, 検出抗体ビーズを追加することによる ICFA (I & II) の検出感度向上について報告を行った。今回, 下記 1). 及び 2). について検討を実施したため, その結果について報告する。

#### 1). DR 及び DP 特異的検出抗体ビーズ追加検討

第 24 回日本組織適合性学会で報告したクラス II 追加ビーズ (class II-2 ビーズ及び class II-3 ビーズ) は DQ 抗体の検出感度向上を目的としたビーズである。今回, DR 及び DP 特異的検出抗体ビーズの追加を検討した。

#### 2). DR53 抗体の検出検討

これまで ICFA (I & II) による DR 抗体の検出において, DR51, DR52 及び DR53 といった DRB1 以外の抗原に対する抗体の検出例は少ない。今回, DR53 抗体陽性, DR4, DR7 及び DR9 抗体陰性の血清を入手したため, ICFA (I & II) による DR53 抗体の検出が可能であるか評価した。また, 1). で検討した DR 特異的検出抗体ビー

ズによる DR53 抗体の検出についても評価した。

### 【結果】

#### 1). DR 及び DP 特異的検出抗体ビーズ追加検討

新たに DR 検出抗体ビーズの追加と DP 検出抗体ビーズの追加を検討した結果, それぞれの検出抗体ビーズが DR 抗体と DP 抗体を特異的に検出可能であることが示唆された。今回の検討結果から, DR 及び DP 特異的検出抗体ビーズを製品に搭載することによって, ICFA (I & II) によるクラス II DSA の検出において, DR, DQ 及び DP 抗体それぞれの特異的検出が可能となることが示唆された。今後, 該当ビーズの製品への追加を目指し検討を進めていく予定である。

#### 2). DR53 抗体の検出検討

DRB1\*04:05 をもつ血液検体と DR53 抗体陽性, DR4 抗体陰性の血清の組み合わせによる ICFA (I & II) を実施した結果, DR53 抗体を検出可能であることを確認した。さらに, 1). で検討した DR 特異的検出抗体ビーズによる検出では, 従来 class II ビーズより高感度で検出が可能であることが示唆された。

## 2) Common Well Documented を用いた DNA タイピングの有用性

○横沢佑弥<sup>1)</sup>, 益尾清恵<sup>1)</sup>, 小林貴弘<sup>1)</sup>, 奥平裕子<sup>2)</sup>, 榎屋安里<sup>2)</sup>, 朝治桜子<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>4)</sup>

株式会社ベリタス<sup>1)</sup>, ジェノダイブファーマ株式会社<sup>2)</sup>

### 【はじめに】

1990年代の遺伝子タイピングの開始に始まり、昨今ではNGS (Next Generation Sequencing) タイピングが導入される中でHLA New Alleleの数は増加を続けている。実際に2016年10月にリリースされたIPD-IMGT/HLA 3.26.0のデータベースでは既に15,000を超えるHLA Alleleが登録されている。

そのように増加を続けるHLAを正確にタイピングするにはNGS法が最も適した方法ではあるが、コストや検査時間、装置導入費用などの面で未だにハードルが高いのが現状である。そこで今回はCommon Well Documented データベース (バージョン 2.0.0) を用いる事でRSSO 試薬であるLABType (One Lambda 社 /Thermo Fisher Scientific グループ) によりどの精度までの解析が可能なのかを検証すると共にその有用性を検証した。

### 【方法】

One Lambda 社の複数のLABType 試薬を用いて、実際

に候補アリルがどの程度絞り込むことが出来るかを検証した。更に比較対象としてSBT法 (試薬: SeCore/One Lambda 社) 及びNGS法 (試薬: NXType/One Lambda 社) の結果も併せて評価した。

### 【結論】

今回の少数検体の検討においてCommon Well Documented (CWD) 2.0.0 データベースを用いる事で候補アリルの中からの確な回答を導き出すことが出来た。ただしCWD 2.0.0には日本人に比較的頻度の高い幾つかのAlleleが含まれていない事が判明したため、その使用に関しては注意する部分もあると考えられた。

CWD データベースを的確に使用することで、コスト及び確認検査などの時間短縮が想定される。しかしながらNGS法も一般化される事でコストが下がってきており、更に自動化へのアプローチが進んでいる事などから使用される現場において適切な試薬選択が必要になってくると思われる。

### 3) PCR を用いない新しい KIR の DNA タイピングの開発 —NGS キャプチャー法—

○猪子英俊<sup>1)</sup>, 奥平裕子<sup>1)</sup>, 榎屋安里<sup>1)</sup>, 朝治桜子<sup>1)</sup>, 田嶋 敦<sup>2)</sup>, 細道一善<sup>2)</sup>

ジェノダイブファーマ (株)<sup>1)</sup>, 金沢大学医薬保健研究域医学系<sup>2)</sup>

【はじめに】現在, KIR-DNA タイピングとして用いられているルミネックス法, SBT 法, 次世代シーケンサー法などは, いずれも PCR で増幅した産物について SSO-ハイブリダイゼーション, シーケンシングなどを行い, 多型を見出してアリル決定を行っている。しかしながら, PCR は増幅の際の間違った塩基の取り込み, PCR 酵素の染色体間や遺伝子間の乗り換えによるキメラ増幅産物の産生, PCR プライマー領域の多型による増幅の失敗 (allele drop) などのタイピングエラーが避けられない。また, 自動化に不向きな欠点もある。そこで, 本研究では, 全ゲノム断片よりハイブリダイゼーションにより KIR 遺伝子ゲノム領域を分離し, 次世代シーケンサーによりタイピングを行う, PCR 用いないキャプチャー法を開発した。

【方法】IPD-KIR データベースに多型が登録されている全ての 18 KIR 遺伝子, すなわち *KIR2DS1*, *KIR2DS2*, *KIR2DS3*, *KIR2DS4*, *KIR2DS5*, *KIR2DL1*, *KIR2DL2*, *KIR2DL3*, *KIR2DL4*, *KIR2DL5A*, *KIR2DL5B*, *KIR3DS1*, *KIR3DL1*, *KIR3DL2*, *KIR3DL3*, *KIR3DX1*, *KIR2DP1*, *KIR3DP1* のそれぞれの遺伝子に対応する 340 のゲノム領域を標的として, 総計 181 kb 塩基配列に対応するピ

オチン標識 DNA を人工合成した。これらの人工合成 DNA をプローブとして, 全ゲノム断片とハイブリダイゼーションを行い, ストレプトアビジン磁気ビーズにより, これらの KIR 遺伝子のゲノム領域を選択的に, 分離・捕捉 (capture) した。このようにして捕捉された KIR ゲノム断片について, 次世代シーケンサーによりシーケンシングを行った。KIR 型既知の 48 検体について 1 ランで解析し, それぞれ KIR ハプロタイプ並びに遺伝子型を決定した。

【結果】KIR ハプロタイプ並びに遺伝子型が問題なく, 判定された。日本人については, 数多くの非同義置換やスプライシングに関する新しい多型が見出された。また, HLA 遺伝子のキャプチャープローブを共存させることにより, 1 本のチューブで KIR 遺伝子型と HLA 遺伝子型を 1 ランで 48 検体を一度に決定可能であった。

【結語】キャプチャー法により, KIR 遺伝子と HLA 遺伝子を同時に, 多検体について, 正確, かつ安価で HLA タイピングが可能であった。自動化も容易であることから, 将来有望なタイピング法である, と考えられる。

(12:00 ~ 12:30)

---

**一般演題 (2)**

座長：木村貴文

(日本赤十字社近畿ブロック血液センター)

**演題番号 4～7**

#### 4) 新鮮凍結血漿を輸血後に移行した HPA-5b 抗体が約 1 か月間検出された一例

○山田麻里江<sup>1)2)4)</sup>, 山田尚友<sup>1)2)</sup>, 中尾真実<sup>1)2)</sup>, 東谷孝徳<sup>1)</sup>, 久保田寧<sup>2)3)</sup>, 木村晋也<sup>3)</sup>, 末岡榮三朗<sup>1)2)</sup>

佐賀大学医学部附属病院検査部<sup>1)</sup>, 佐賀大学医学部附属病院輸血部<sup>2)</sup>,  
佐賀大学医学部附属病院血液・呼吸器・腫瘍内科<sup>3)</sup>, 佐賀大学大学院医学系研究科博士課程医科学専攻<sup>4)</sup>

【はじめに】輸血用血液製剤は、感染症検査、赤血球抗原と赤血球抗原に対する不規則抗体検査を実施し、基準値内の場合に製品化される。その一方、HLA 抗体や HPA 抗体は検査されていないのが現状である。今回、新鮮凍結血漿 -LR480（以下 FFP）を輸血した患者で非溶血性輸血副作用が起り、副作用報告を行ったところ、FFP 製剤中に HLA class I 抗体と HPA-5b 抗体が検出され、製品由来の抗体が患者血清中に輸血後約 1 か月間検出された症例を経験したので報告する。

【症例】60 歳代の女性。A 型 RhD 陽性。急性リンパ性白血病の加療のため当院入院中であり、適宜輸血を行っていた。Fib 97 mg/dL と低値であったため、前投薬なしに FFP 1 バックの輸血を行ったところ、1 時間後に悪寒戦慄が出現したため FFP は投与中止された。一旦体温も 38.4°C まで上昇したが、ソル・コーテフ 100 mg 投与後に症状緩和とともに解熱した。患者は感染徴候もなく、FFP 投与に伴う輸血副作用が最も疑わしいとの判断により、血液センターへ副作用報告を行った。

【副作用報告及び検査結果】副作用関連検査では①

HLA 抗体：蛍光ビーズ法により輸血前、輸血後の患者血清及び FFP より class I 抗体が検出された。FFP から検出された抗体は、患者 HLA class I と反応する抗体ではなかった。② HPA 抗体：MPHA 法により輸血前の患者血清は陰性であったが、輸血後の患者血清と FFP から HPA-5b 抗体が検出された。③血漿タンパク質に関する検査：血漿タンパク質抗体及び欠損について異常を示す結果はみられなかった。また、自施設で行った患者の HPA 抗原は HPA-5 a/a であり、九州ブロック血液センターの追加報告から、患者血清中の移行した HPA-5b 抗体は輸血後約 1 か月間検出された。

【まとめ】輸血後非溶血性輸血副作用を起こした患者で、FFP に含まれていた HLA class I 抗体、HPA-5b 抗体が輸血により患者へ移行した症例を経験した。また HPA 抗体は輸血副作用の原因とはならない抗体であるが、輸血後約 1 か月間患者体内に残存していたことから、製品由来の抗体は次回以降の輸血不応に関与する可能性が示唆された。

## 5) 慢性骨髄性白血病におけるチロシンキナーゼ阻害剤の効果は KIR アリルと相関する

○嬉野博志<sup>1)</sup>, 進藤岳郎<sup>1)2)</sup>, 楠木靖史<sup>3)</sup>, 宮崎有紀<sup>3)</sup>, 小島裕人<sup>3)</sup>, 田中秀則<sup>3)</sup>, 佐治博夫<sup>3)</sup>, 川口 淳<sup>4)</sup>, 木村晋也<sup>1)</sup>

佐賀大学医学部血液・呼吸器・腫瘍内科<sup>1)</sup>, 京都大学大学院医学研究科血液・腫瘍内科<sup>2)</sup>, 公益財団法人 HLA 研究所<sup>3)</sup>, 佐賀大学医学部地域医療科学教育センター<sup>4)</sup>

【緒言】チロシンキナーゼ阻害剤 (Tyrosine Kinase Inhibitor: TKI) の登場により, 慢性骨髄性白血病 (Chronic Myeloid Leukemia: CML) の長期予後は劇的に改善した。TKI 投与中に natural killer (NK) 細胞が増加する症例の予後は良好であることから, CML に対する NK 細胞免疫の関与が考えられるが, 治療反応性は症例毎に異なり, その差異を決定する因子には不明な部分が多い。今回我々は KIR 遺伝子アリルの多型が CML の治療反応性と相関する可能性につき, 検証した。

【方法】慢性期 CML (CML-CP) 患者 76 名の末梢血由来 DNA を用いて, 次世代シーケンサーで KIR アリルのタイピングを行い, 治療効果との関連性を検証した。治療効果は international scale (IS) 法または transcription mediated amplification (TMA) 法で判定し, major molecular response (MMR) は BCR-ABL mRNA の 3-log 減少 (IS) もしくは 50 copy/0.5 µgRNA 未満までの減少 (TMA), また MR<sup>4.0</sup> は 4-log 減少 (IS) もしくは BCR-ABL 検出感度未満までの減少 (TMA) と定義した。各 MR を達成するまでの時間を評価項目として, Cox の比例ハザード回帰分析により因子との関連性を評価し, 有意水準は 5% とした。

【結果】まず, 第 2 世代 TKI (ダサチニブ・ニロチニブ) による初期治療が MMR (HR 5.807, P<0.001) および MR<sup>4.0</sup> (HR 8.340, P<0.001) と, また性別 (女性) が MR<sup>4.0</sup> (HR 2.296, P=0.002) と有意に関連する因子として抽出された。次にこれらで調整した多変量解析では, 下記 KIR アリルが予後因子として抽出された。

### 1) MMR と相関

KIR2DS4\*00301 g, \*007/010 もしくは \*015 (HR 1.773, P=0.04)

### 2) MR<sup>4.0</sup> と相関

KIR2DL4\*008 g もしくは \*011/00501 (HR 1.797, P=0.032)

KIR2DS4\*00301 g, \*007/010 もしくは \*015 (HR 2.737, P=0.001)

KIR3DL1\*00501 g (HR 2.746, P=0.003)

【考案】今回 MR<sup>4.0</sup> と相関した上記の KIR2DL4/KIR2DS4/KIR3DL1 アリルは, KIR ハプロタイプを形成することで連鎖している可能性が高いと考えられる。すなわち特定の KIR ハプロタイプが CML の予後と相関し, ひいては抗腫瘍免疫の強弱を決定している可能性が示された。

## 6) 移植グラフト肝類洞内皮における HLA-DR 発現の変化

○上田大輔<sup>1)</sup>, 吉澤 淳<sup>1)</sup>, 金城昌克<sup>1)</sup>, 八木真太郎<sup>1)</sup>, 秦浩一郎<sup>1)</sup>, 岡島英明<sup>1)</sup>, 海道利実<sup>1)</sup>, 鶴山竜昭<sup>2)</sup>, 上本伸二<sup>1)</sup>

京都大学大学院医学研究科外科学講座<sup>1)</sup>, 京都大学大学院医学研究科附属総合解剖センター<sup>2)</sup>

【目的】肝移植患者は、術後、血清中に抗ドナー特異的 HLA 抗体 (Donor Specific Antibodies, DSA) を有することがあり、主に HLA class II に対する抗体が出現する。一方、通常肝類洞内皮には HLA-DR の発現は認めないとされている。

今回、我々は再移植を要するグラフト肝不全症例のグラフト肝における HLA-DR の発現の有無とその意義について、DSA の有無、臨床経過を合わせて検討を行った。

【方法】肝移植を 2 回以上行った患者における、初回移植時のグラフト肝生検と、再移植摘出時における HLA-DR の発現を検討した。また、DR 陽性部位の解析のため、硬変肝において類洞内皮細胞に発現が認められる CD31 (PECAM) との二重染色を行った。この染色結果と臨床経過についての関係を検討する。

【結果】当院にて 2009 年 1 月から 2012 年 12 月にかけて再移植を行った患者のうち、DSA を測定した 12 人において検討した。初回移植時年齢は 13.5 歳 (中央値、

0.8–68.0)、再移植時年齢は 21.0 歳 (中央値、3.3–68.1 歳)。初回、再移植間隔は 9.7 年 (中央値、0.2–13.4 年) であった。脱落肝に対する DSA は 12 例中 4 例で陽性、non-DSA anti-HLA antibody は 4 例で陽性、陰性は 4 例であった。

移植時グラフト肝においては DR の発現は類洞内の一部に限局していたが、移植後肝不全脱落肝においては、移植時に存在しなかった HLA-DR の発現が類洞内皮の他、新生血管や嚢胞、線維化部位などに認められた。HLA-DR の発現は DSA 陽性例で有意に多かった ( $p=0.030$ )。また、HLA-DR と CD31 の二重陽性部分が移植後脱落肝類洞内皮細胞に認められた。

【結論】脱落肝類洞内皮細胞において移植時に元来存在しなかった HLA-DR の発現が認められた。DSA の存在と関連を認め、予後に影響を与えた可能性が示唆された。また、CD31 との 2 重染色により、類洞内皮細胞に HLA-DR の発現が疑われた。



## 7) 関東甲信越さい帯血バンクが提供した臍帯血移植における HLA-DPA1 適合度について

○高田慎之介<sup>1)</sup>, 東 史啓<sup>1)</sup>, 屋部登志雄<sup>1)</sup>, 大村和代<sup>1)</sup>, 峯元睦子<sup>1)</sup>, 鈴木雅治<sup>1)</sup>, 中島一格<sup>1)</sup>

日本赤十字社 関東甲信越ブロック血液センター<sup>1)</sup>

### 【目的】

臍帯血移植をはじめとする非血縁造血幹細胞移植では、HLA-A, B, C, DRB1 の 4 座に加えて DPB1, DQB1 座の適合度も成績に影響を及ぼすことが示唆されている。特に DPB1 においては不適合症例で GVL 効果が適合症例より有意に高く、再発抑制効果があるという報告がされている。また、感染症の分野では、DPA1 の多型が HBV 等のウイルスの感染成立や慢性化に関連しているとの報告が多数されている。今回、DPA1 の適合度の移植成績への影響を確認するため、過去に関東甲信越さい帯血バンクが提供した臍帯血移植症例の患者および臍帯血の DPA1 タイピングを実施したので報告する。

### 【方法】

2001 年～2010 年の間に関東甲信越さい帯血バンクから提供した臍帯血を使用した移植症例のうち、206 症例の患者および臍帯血、合計 412 検体について PCR-rSSO 法（ジェノサーチ HLA-DPA1/B1：医学生物学研究所）を用いて、DPA1 および DPB1 の DNA タイピングを実施した。

### 【結果】

206 症例中、DPA1 アリルレベル適合の移植症例は 52

症例（25.2%）であった。DPB1 アリルレベル適合症例は 29 症例（14.1%）で、DPA1 および DPB1 のどちらも適合した症例は 26 症例（12.6%）であった。今回検出された DPA1 は 3 種類であり、DPB1 の 15 種類に比べて多型性は低く、またハプロタイプの影響で DPB1 適合症例の約 90% で DPA1 も適合していた。一方で DPA1 適合症例中では、DPB1 の適合症例は 50% であった。検出された DPA1 の遺伝子頻度は \*02:02 が 45.8%、\*01:03 が 39.6%、\*02:01 が 14.7% だった（直接カウント法）。

### 【考察】

今回検出された DPA1 の遺伝子頻度はこれまでの国内報告とほぼ同様であった。欧米では \*01:03 が優占しており多型性に乏しいのに対して、日本では \*02:02 がメジャー型で、3 アリルの頻度比率がおおよそ 5 : 4 : 1 であり移植で不適合が生じやすいという人種間差が見られた。また、DPA1 適合症例中での DPB1 不適合症例は約半数あり、両遺伝子の適合度の違いが移植成績に影響している可能性がある。DPB1 の適合度は GVL 効果による再発抑制に影響する事から、白血病症例における DPA1 の適合と成績との関連解析を進めている。

(12:30 ~ 13:30)

---

**昼食・世話人会**

(13:30 ~ 13:40)

---

**総会**

(13:40 ~ 14:30)

---

**一般演題 (3)**

座長：佐藤 壯  
(札幌北榆病院)

**演題番号 8 ~ 12**

## 8) HLA 抗体保有患者の HLA 半合致同種末梢血幹細胞移植

○山岡 学<sup>1)</sup>, 阿部 操<sup>1)</sup>, 佐能もも香<sup>1)</sup>, 榎本梨沙<sup>1)</sup>, 大澤眞輝<sup>1)</sup>, 井上まどか<sup>1)</sup>, 寺嶋由香利<sup>1)</sup>,  
大西修司<sup>1)</sup>, 伊藤量基<sup>1)</sup>, 野村昌作<sup>1)</sup>

関西医科大学附属病院 輸血・細胞療法部<sup>1)</sup>

【はじめに】造血幹細胞移植におけるドナー特異的抗体 (DSA) は、拒絶の原因となる重要な因子のひとつである。しかし、DSA が低力価の場合、移植する細胞数を多くする事で拒絶の回避が可能とされている。今回、DSA 保有患者の HLA 半合致移植を経験したので報告する。

【症例】50 歳代, 女性。近医から当院に紹介受診となり、精査の結果、顆粒球肉腫と診断され化学療法後寛解導入となった。しかし、同年、右上腕骨近位端に圧痛を認め、精査により再発と診断された。今回、同種末梢血幹細胞移植目的で入院となり、息子をドナーとした HLA 半合致移植が実施された。

【結果】患者は、A 型 RhD 陽性で、DSA を含む広範囲に及ぶ特異性を認める HLA 抗体 (class I) を保有したが、DSA の蛍光値 (MFI) は 1700 と低値であった。ドナーは、AB 型 RhD 陽性で、ABO 主不適合であり、HLA タイプの適合度は 4/8 であった。移植後 14 日目には好中球生着が認められ、移植後 11, 19 日目のキメリズム検査でも完全キメラであった。移植後 56 日目で DSA は FCM 法にて陰性となった。なお、移植前後とも輸血は全て、PC-HLA で実施されている。

【経過】好中球生着は認められたが、背部左膝窩部腫瘍の縮小は見られるも残存していた。移植後 3, 4 日目に GVHD 予防を目的として大量のシクロホスファミドが投与された。その結果、GVHD および感染症も認められない事から移植後 39 日目で退院となり、外来観察となった。移植後 95 日目に左膝顆粒球肉腫による左下肢疼痛を認めたため、緊急入院となり治療が実施されたが、移植後 105 日目に原病が原因で永眠された【考案およびまとめ】DSA 保有患者の HLA 半合致移植を経験した。拒絶されることなく生着が認められたのは、移植前から DSA の MFI が低値であった事や、移植細胞数が  $6.1 \times 10^6/\text{kg}$  と多かった事によると考えられた。患者は移植前から PC-HLA の輸血が実施されていたが、DSA を保有していたため移植後も継続して PC-HLA の輸血が実施された。HLA 抗体保有患者が生着後に PC-HLA からランダム PC に変更するには、HLA 抗体検査により抗体の消失を確認する事が重要であり、定期的に検査を実施する事が必要と思われた。親子による HLA 半合致移植の場合、レシピエントが DSA を保有することも多く、移植前後の抗体検査は重要である。

## 9) アログラフト生検材料からの移植腎組織内吸着 DSA 検出の試み

○渡部清子<sup>1)</sup>, 今西 唯<sup>1)</sup>, 中村緑佐<sup>2)</sup>, 原田俊平<sup>2)</sup>, 増田康史<sup>2)</sup>, 堀池重夫<sup>1)</sup>, 吉村了勇<sup>2)</sup>

京都府立医科大学 輸血・細胞医療部<sup>1)</sup>, 京都府立医科大学大学院 移植再生外科学<sup>2)</sup>

### 【はじめに】

免疫抑制剤の発展により細胞性拒絶の制御は比較的良好になったが、ドナー特異的抗 HLA 抗体 (DSA) による抗体関連拒絶 (AMR) の制御は未だ不十分である。AMR の診断には血清中の DSA (s-DSA) の同定とグラフト生検による病理学的診断が主に用いられるものの、DSA 産生が少量である場合はアログラフトへの吸着により s-DSA が検出されず、また軽微な組織損傷や多病変の混在によって病理診断が困難となる問題点が潜在する。フランスのバチュレらは生検組織から解離した抗体を Single Antigen beads で特異性を同定しアログラフトに吸着された DSA (g-DSA) を検出することで g-DSA の意義評価を試みている。今回我々は、生検材料から抗原抗体複合体を可溶化し Immunocomplex capture fluorescence analysis (ICFA) 法でアログラフト組織に吸着した g-DSA の検出を試みた。(京都府立医科大学医学倫理審査委員会承認 ERB-C-664 UMIN000023787 号)

### 【方法】

2016 年 6 月～11 月に診断目的に実施した移植腎生検組織のうち、s-DSA も同時に解析した 31 検体を対象とした。g-DSA は、16 ゲージ針による経皮的生検により

得られた組織 (3.2±0.8 mm) の一部を粉碎し得られた細胞を ICFA キット (湧永製薬) 添付の Lysis 液で可溶化した後、手順に従い Luminex を用いて HLA 抗原抗体複合体を検出した。「HLA ビーズの蛍光強度/ブランクビーズの蛍光強度」が 1.0 を超える場合に g-DSA 陽性と判定した。s-DSA は FlowPRA Screening を行い、陽性判定となった血清は LABScreen Class I, II Single Antigen (ONE LAMBDA, INC.) で抗体特異性を同定してドナー特異性を確認した。

### 【結果・考察】

31 検体中 15 例で g-DSA 陽性と判定され (Class I: 6 例, Class II: 7 例, Class I および II: 2 例), うち 10 例で s-DSA も同時に検出された。g-DSA 陰性の 16 例は全て s-DSA も陰性であった。g-陽性 s-陰性の 5 例は、クロスマッチ陽性移植後の残存抗体と考えられる 2 例と怠薬など免疫抑制剤血中濃度の不安定による抗体産生が推測できる 3 例であり、組織内のみを検出される微量の DSA を高感度にとらえたものと考えられた。ICFA 法を利用した g-DSA の検出は、非特異抗体による偽陽性反応を排除でき、AMR の組織学的診断を補完する有用な方法と考える。

## 10) DQA1 タイピング結果を用いた DSA の解析

○高山智美<sup>1)</sup>, 蔦原宏一<sup>2)</sup>, 平瀬裕美<sup>1)</sup>, 小林 茜<sup>1)</sup>, 三好由真<sup>1)</sup>, 岩田和友子<sup>1)</sup>

大阪府立急性期・総合医療センター移植支援検査センター<sup>1)</sup>, 大阪府立急性期・総合医療センター泌尿器科<sup>2)</sup>

### 【目的】

HLA Class II は  $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖のヘテロダイマーであり、DR 抗原とは異なり DQ 抗原は  $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖共に多型を認める。これまで当検査室では DQ 抗体の DSA (donor specific antibody) の判定は DQB1 のタイピング結果を用いて行っていた。今回、移植後の DQ 抗体陽性症例について DQA1 のタイピングを実施し、DSA を再解析したので報告する。

### 【方法】

2008 年 9 月から 2015 年 6 月に当院で腎移植を実施し、移植後に DQ 抗体が検出された 19 例のうち、DNA 検体が保存されていた 17 例を対象とした。DQA1 のタイピングは WAKFlow<sup>®</sup> タイピング試薬を用いて実施した。また、HLA 抗体特異性同定試薬には LABScreen Single Antigen<sup>®</sup> を用い、解析は Fusion<sup>®</sup> で実施した。

### 【結果】

17 例中 14 例は HLA 抗体特異性同定検査で陽性となっ

たパネルがミスマッチの DQA1 と DQB1 の組合せと一致し DSA であった。2 例は陽性のパネルがミスマッチとは一致せず Non-DSA であった。残りの 1 例は陽性のパネルとミスマッチの DQA1 だけが一致し DSA であった。

### 【考察】

陽性のパネルとミスマッチの DQA1 と DQB1 組合せが一致した 14 例は、DQB1 のタイピング結果で DSA を判定できた。しかし、ミスマッチの DQA1 だけが一致した 1 例では、ミスマッチの組合せと同じパネルがなく、DQA1 のタイピング結果がなければ DSA は判定できなかった。DRB1, DQA1, DQB1 のハプロタイプ頻度から、ドナーとレシピエントの DRB1, DQB1 のタイピング結果を用いて DQA1 を推定することが可能であるが、特に HLA 抗体特異性同定試薬にミスマッチの組合せが含まれていないことが推定される症例では、DQA1 のタイピングが必要であると考えられる。

## 11) 抗体関連型拒絶反応発症例における classII de novo DSA と C3d との関連性の検討

○西村憲二<sup>1)</sup>, 木下朋子<sup>1)</sup>, 橋本光男<sup>1)</sup>, 田中 亮<sup>1)</sup>, 富山栄輔<sup>1)</sup>, 米本佐代子<sup>1)</sup>, 山中和明<sup>1)</sup>, 中川勝弘<sup>1)</sup>, 岸川英史<sup>1)</sup>

兵庫県立西宮病院腎疾患総合医療センター<sup>1)</sup>

### 【目的】

腎移植後に発症する抗体関連型拒絶反応 (Antibody-mediated rejection; AMR) は予後不良因子である。その原因の一つとして de novo DSA (dnDSA) の出現が考えられているが、既存の DSA に比べて dnDSA としては classII の出現が多く、臨床的に重要視されている。一方で補体の活性化も AMR 発症に関連していると考えられているが、dnDSA がすべて補体結合性を有するわけではなく予後への影響に関してもはっきり判明していない。今回我々は、AMR 発症例における dnDSA と補体の一つである C3d との関連性を検討した。

### 【対象と方法】

対象は当院で施行された腎移植症例のうち、病理組織学的に AMR と診断され、その原因として dnDSA が考えられた 15 例。このうち classII 陽性症例に関して Lifecodes C3d detection kit を用いて C3d の測定を Luminex にて行い、dnDSA の種類における C3d の有無や予後への影響に関して検討した。

### 【成績】

DnDSA は DRB1:7/20 (35%), DRB3-5:10/15 (67%),

DQA/B:15/20 (75%) の陽性率で DRB1 に比べ、DRB3-5, DQA/B で陽性率が高かった。DnDSA が陽性で C3d も陽性である比率は DRB1:3/7 (42.9%), DRB3-5:9/10 (90%), DQA/B:13/15 (86.7%) で DRB3-5 と DQA/B で優位に C3d も陽性であった ( $p=0.176, 0.038, <0.001$ )。C3d の MFI 値を dnDSA の有無で検討すると、DRB1 (dnDSA 陽性:7924, dnDSA 陰性:4549), DRB3-5 (陽性:21057, 陰性:6754), DQA/B (陽性:19144, 陰性:1056) であり、C3d の MFI 値は DRB3-5 と DQA/B 陽性で優位に高かった ( $p=0.222, 0.027, 0.001$ )。予後に関しては、DRB3-5 または DQA/B で dnDSA と C3d の MFI 値が共に 5000 以上の症例 9 例中 4 例は AMR 治療後に移植腎機能悪化または廃絶しており、5000 未満の症例 (6 例中 1 例) より予後が悪い傾向にあった。

### 【結論】

AMR 発症の原因と考えられる classII dnDSA のうち、DRB3-5 と DQA/B は DRB1 に比べ陽性率が高く、C3d の結合や活性化に関連し、予後に影響している可能性が示唆された。

## 12) 肝移植患者の抗ドナー特異的 HLA 抗体が肝臓に及ぼす影響と HLA 抗原の関係

○金城昌克<sup>1)</sup>, 吉澤 淳<sup>1)</sup>, 上田大輔<sup>1)</sup>, 八木真太郎<sup>1)</sup>, 秦浩一郎<sup>1)</sup>, 岡島英明<sup>1)</sup>, 海道利実<sup>1)</sup>, 鶴山竜昭<sup>2)</sup>, 上本伸二<sup>1)</sup>

京都大学大学院医学研究科外科学講座<sup>1)</sup>, 京都大学大学院医学研究科附属総合解剖センター<sup>2)</sup>

【目的】我々は、肝移植患者において移植後に出現する抗ドナー特異的 HLA 抗体 (de novo DSA) は、主に HLA class II 抗原に対する抗体であり、肝線維化との関連があることを報告した。一方、主に免疫担当細胞に発現する HLA class II 抗原の DSA に対する役割は不明であり、そこで今回我々は、肝組織における HLA class II 抗原の発現状況を調べ、DSA や線維化との関係について検討を行った。

【方法】原疾患が胆道閉鎖症で明らかな手術的血管胆管合併症を認めない症例 21 例を対象とし、線維化の有無、DSA の有無で 4 群に群別化した。肝生検標本を用いて抗 HLA-DR 抗体による免疫染色を行い、組織中の HLA-DR 抗原の発現を門脈域、静脈域、類洞に分けて評価、スコアリングした。HLA-DR 抗原発現スコアを群別化した 4 群等で比較した。

【結果】患者の肝生検標本採取時の年齢は平均 12.3 歳であった。肝移植手術時の年齢は平均 2.4 歳で、肝移植手術日からの期間は平均 9.9 年であった。血液型不適合移植は 3 例含まれていた。DSA、線維化ともに陽性の群では、DSA は陽性だが線維化は陰性の群と比較し門脈域の HLA-DR 抗原が高発現していた ( $p=0.042$ )。また、HLA-DR 抗原が高発現している症例では多くで DSA が存在しており ( $p=0.0085$ )、線維化も進行していた ( $p=0.019$ )。静脈域の HLA-DR 抗原の発現量と ALT 値にも相関が見られた ( $p=0.041$ )。

【結論】DSA が存在する症例では HLA-DR 抗原が高発現となり、線維化との関係を認めた。また、DSA が存在するが線維化を認めない症例では、門脈域の HLA-DR 抗原の発現が少なかった。



(15:00 ~ 17:00)

---

## シンポジウム

「GVHD」

座長：野村昌作（関西医科大学附属病院 血液・腫瘍内科）  
椿 和央（日本赤十字社中四国ブロック血液センター）

1) 制御性 T 細胞から考える GVHD 制御

佐竹敦志

（関西医科大学附属病院 血液・腫瘍内科）

2) 間葉系幹細胞（MSC；テムセル HS 注）による造血細胞移植後 GVHD 治療

安井昌博

（大阪府立母子総合医療センター 血液・腫瘍科）

3) 移植後シクロホスファミドを用いた HLA 半合致移植

杉田純一

（北海道大学大学院医学研究科内科学講座血液内科学分野）

## 1) 制御性 T 細胞から考える GVHD 制御

佐竹敦志<sup>1)</sup>

関西医科大学附属病院 血液・腫瘍内科<sup>1)</sup>

造血器悪性疾患に対する根治を目的とした治療法である同種造血幹細胞移植は、近年、移植細胞ソースの多様化や支持療法の進歩により、その件数が増加している。HLA 不一致移植の増加や高齢者の移植などが増加し、GVHD ハイリスクの移植件数も増加してきている。GVHD は宿主抗原により感作されたドナー由来免疫細胞によって引き起こされる臓器障害であり、重症化するとしばしば致命的となるほか、長期生存者の QOL を低下させる。GVHD の治療としては急性、慢性ともにステロイドが第一選択となるが、ステロイド治療に抵抗性の GVHD も一定の割合で生じる。また、治療に反応する場合でもステロイドの中止や減量が困難であることもしばしばあり、長期にわたるステロイド投与による副作用や易感染性が問題となる。同種造血幹細胞移植においては GVHD を首尾よくコントロール出来るか否かは、移植の成否を左右する重要な因子である。

制御性 T 細胞 (Treg) は生体内で過剰な T 細胞の活性化を抑制し、免疫寛容を維持するために必要な T 細胞サブセットである。これまでの基礎及び臨床研究の結果から、Treg による免疫抑制作用は自己免疫反応だけでなく、非自己抗原を標的とした同種免疫反応に対しても発揮される事がわかっており、Treg は GVHD に対しても抑制的に働く。Treg を利用した GVHD 制御は、従来の免疫抑制剤による免疫抑制機序と異なるため、治療抵抗性の GVHD にも効果が期待できる有望な治療法である。

Treg の維持・増幅のためには、主として Treg 以外の通常 CD4<sup>+</sup>T 細胞 (Tconv) から産生される IL-2 と、樹

状細胞 (DC) に代表される抗原提示細胞からの抗原刺激や共刺激が必要である。Treg は Tconv に比べて IL-2 に対する感受性が高いため、IL-2 を投与すると生体内で Treg の増殖を導くことができ、この性質を利用して様々な免疫疾患に対する IL-2 療法の臨床試験が行われている。GVHD に関しては、米国における第一相臨床試験でステロイド抵抗性慢性 GVHD に対する低用量 IL-2 療法の有効性が 2011 年に発表され、この結果を受けて現在日本でも臨床試験が進行中である。米国からの報告では、これまでのところ IL-2 の有効性は HLA 一致、不一致の移植で差異は認めておらず、奏功率はおおよそ 60% であった。ステロイド抵抗性の慢性 GVHD に対しては、未だ有効性の高い 2 次治療が確立されていないことから、今後は国内での臨床試験の結果が期待される。しかし、治療抵抗例が存在することや副作用により治療を中止している症例が存在することに加え、ATL のように IL-2 投与が適さないと考えられる疾患もあり、IL-2 とは別のアプローチによる Treg の増幅方法を開発できれば、治療の選択肢を広げられる可能性がある。

我々は DC の中でもとりわけ Treg の増殖促進作用が強い CD8<sup>+</sup>DC に注目し、この CD8<sup>+</sup>DC の増幅を介した Treg の増幅が GVHD 抑制効果を示すかについて検討を行った。MHC 一致慢性 GVHD マウスモデルを用いて、CD8<sup>+</sup>DC 増幅作用を有する GM-CSF を投与して、GVHD に及ぼす影響を検討した。本講演では、Treg の維持・増幅メカニズム、GVHD との関わりについて基礎的・臨床的な話題や我々の研究データを紹介しながら、Treg からみた GVHD 制御について議論したい。

## 2) 間葉系幹細胞 (MSC ; テムセル HS 注) による造血細胞移植後 GVHD 治療

○安井昌博<sup>1)2)</sup>, 樋口紘平<sup>1)</sup>, 清水真理子<sup>1)</sup>, 五百井彩<sup>1)</sup>, 中西達郎<sup>1)</sup>, 佐藤真穂<sup>1)</sup>, 澤田明久<sup>1)</sup>, 井上雅美<sup>1)</sup>

大阪府立母子保健総合医療センター 血液・腫瘍科<sup>1)</sup>, 同 輸血・細胞管理室<sup>2)</sup>

【はじめに】近年, 難治性血液・腫瘍性疾患に対して行われてきた造血細胞移植の成績は飛躍的に向上してきたが, 移植の方法や移植片の多様性のため移植片対宿主病 (GVHD) の治療も従来の治療方法とは異なるアプローチが必要になってきている。

2016 年 2 月にヒト骨髄より作製した間葉系幹細胞テムセル HS 注が JCR ファーマ株式会社より本邦で初めて販売された。現在は, 治験担当施設での使用にとどまっているが, 2017 年 4 月より一般の移植施設でも使用拡大可能となる見込みである。演者らは, これまでステロイド抵抗性 GVHD の 7 症例にテムセル HS 注を使用した。その使用経験について報告する。

【対象・方法】悪性腫瘍 3 例 (神経芽腫 1 例, 急性リンパ性白血病 2 例), 血液疾患 2 例 (先天性赤芽球癆 1 例,

再生不良性貧血 1 例), 慢性活動性 EB ウイルス感染症 2 例の計 7 例であった。男女比は 3 対 4, 年齢は 2 歳から 29 歳 (中央値 8 歳) であった。全例ステロイド抵抗性の重症 GVHD (grade III-IV) に対して使用した。投与量は体重 1kg あたり  $2 \times 10^6$  個を週 2 回で 4 週間にわたって投与した。

【結果】7 例中 4 例で完全寛解, 2 例で部分寛解となり 1 例に効果を認めなかった。有害事象としては高ビリルビン血症を 1 例に認め, 投与の中断を余儀なくされたが, その他は安全に投与可能であった。

【考察】テムセル HS 注は重症 GVHD に対する治療として有効な手段の一つである。しかしながら高価な指定再生医療等製品でもあるのでその使用に際しては従来の治療法を優先し慎重になるべきであると考えられる。

### 3) 移植後シクロホスファミドを用いた HLA 半合致移植

杉田純一<sup>1)</sup>

北海道大学大学院医学研究科内科学講座血液内科学分野<sup>1)</sup>

移植後シクロホスファミド (posttransplant cyclophosphamide, PTCy) による免疫寛容の歴史は古く、1963 年に Major histocompatibility complex (MHC) 不適合の皮膚移植のマウスモデルにおいて移植後 1-4 日後に CY を投与した場合に、皮膚移植片に対する拒絶抑制効果が最も高いことが報告されたのが最初である。その後、本邦の Mayumi らが 1980 ~ 90 年台に多くの基礎的検討を行い、移植後早期に同種抗原に应答して活性化したアロ応答性 T 細胞が選択的に傷害されることが PTCy の作用機序であることが報告された。近年は制御性 T 細胞 (regulatory T cell, Treg) が PTCy 後も比較的温存されることが報告されており、さらにマウスモデルにおいては Treg を除去した場合に PTCy の効果が打ち消されることから、PTCy の作用機序として Treg の温存も重要である可能性が示唆されている。

これらの基礎的背景をもとに Johns Hopkins グループは移植前処置として Fludarabine 150 mg/m<sup>2</sup>+CY 29 mg/kg+TBI 2 Gy を、GVHD 予防として day3, day4 に PTCy (50 mg/kg/day), day5 より Tacrolimus, mycophenolate mofetil (MMF) を用いて HLA 半合致骨髄移植の報告を行った。好中球生着 87%, II-IV 度の急性 GVHD は 27%, III-IV 度の急性 GVHD は 5%, 慢性 GVHD は 14%, 非再発死亡率は 18% と高い安全性が報告された。一方で再発率が 55% と高い点が問題であるが、Johns Hopkins の原法では前処置強度は非常に弱く、移植ソースも骨髄を使用していることから、BU または TBI を用いた骨髄破壊的

前処置を用いる試みや、末梢血幹細胞を用いる試みなど多くの試みがなされている。

我々は 2013 年より Johns Hopkins の原法に Busulfan (6.4 mg/kg) を加えた強度減弱前処置と末梢血幹細胞を用いた全国多施設共同第 II 相試験 (JSCT Haplo13) を実施し、本邦においても PTCy を用いた HLA 半合致移植は GVHD の抑制効果に優れ、非再発死亡も許容可能であることを報告した。さらに対象を初回移植症例に絞り Busulfan (12.8 mg/kg) または全身放射線照射 (12 Gy) からなる骨髄破壊的前処置を用いた Haplo14 MAC, Haplo13 に引き続き Busulfan (6.4 mg/kg) からなる強度減弱前処置を用いた Haplo14 RIC を実施し、計 134 例の症例登録を終了し現在は観察期間中である。さらに 2016 年 4 月より開始した Haplo16 では MMF の早期中止を試みるとともに、Haplo16 RIC においては PTCy の投与量を減量する新たな試みを行っている。

PTCy を用いた血縁者間 HLA 半合致移植は、HLA 半合致ドナーであればほぼすべての患者にドナーが得られる可能性があり、血縁ドナーであることから迅速な移植調整が可能であることが大きな利点である。さらに CY は入手が容易かつ安価な薬剤であるため、骨髄バンクや臍帯血バンクなどのインフラ整備や T 細胞除去を行う機器のない発展途上国も含めた世界中で実施可能な方法となりうる。PTCy はまだ臨床試験として多くの課題を解決しながら実施すべき段階ではあるが、今後の更なる発展が期待される。