

第6回東海北陸 HLA 研究会

日 時：2023年7月22日（土）午後1時～
会 場：日本赤十字社愛知医療センター名古屋第二病院第3病棟1階 研修ホール
〒466-8650 名古屋市昭和区妙見町2番地の9
TEL：052-832-1121（代）
当番世話人：渡井至彦（日本赤十字社愛知医療センター名古屋第二病院 移植外科）
研究会会長：小林孝彰（愛知医科大学 外科学講座（腎移植外科））
研究会事務局：愛知医科大学医学部 腎移植外科 内

特別講演

HLA epitope mismatch の意義と展望 – 臓器移植&造血細胞移植 –

小林孝彰

愛知医科大学 外科学講座 (腎移植外科)

臓器移植領域において、エピトープマッチングという言葉聞くようになって久しい。HLA レベルでは同じ 1 ミスマッチであっても、エピトープレベル (分子レベル) で適合度を詳細に判定することが可能である。ドナー選択において、より適合度の良好な組み合わせを見出すことができる。しかし、エピトープミスマッチの意義、そしてそれを臨床で具体的にどのように利用すべきか、明確になっていない。

エピトープには、B 細胞エピトープと、T 細胞エピトープがある。それぞれ、B 細胞受容体 (BCR)、T 細胞受容体 (TCR) が認識するエピトープである。これらの解析については、コンピューターアルゴリズムがウェブサイト利用可能であり、B 細胞エピトープは、HLA Matchmaker <<http://www.epitopes.net>> が、T 細胞エピトープは、Predicted Indirectly Recognizable HLA Epitopes, PIRCHE) アルゴリズム <<https://www.pirche.com>> が幅広く使われている。前者は、BCR (抗体) が認識する HLA 分子表面上の連続する、または立体構造上近傍の 3 つのアミノ酸について、ドナー、レシピエントの HLA ミスマッチエピトープの数を推定し、EPLET mismatch (MM) として表示される。後者は、TCR が認識する、レシピエント HLA が提示するペプチドの数を推定し PIRCHE score として表示される。つまりレシピエントの HLA class I, II 分子が提示するドナー HLA 由来ペプチドの総和がそれぞれ PIRCHE-I, PIRCHE-II score となる。

臓器移植では、ドナー HLA を T 細胞 (TCR) が認識する Direct Recognition Pathway は、急性 T 細胞性拒絶反応に関連する。また、レシピエント HLA class II に提示されたドナー由来ペプチドを T 細胞 (TCR) が認識する Indirect Recognition Pathway を経て、産生されたドナー由来 HLA 抗体 (DSA) は、慢性抗体関連型拒絶反応を引き起こす。ここで、PIRCHE-II score, EPLET MM が重要となる。これらが de novo DSA 産生すなわち抗体関連型拒絶反応だけでなく、T 細胞性拒絶反応にも関連しているという報告もある。これは、CD8 T 細胞による拒絶反応にも T cell help が重要であること、すなわち CD4T 細胞が Indirect Pathway を通して関与していることを示唆している。最近、私どもは Primary response は EPLET MM と PIRCHE-II score が、Memory response は PIRCHE-II score が、関連しており、B 細胞エピトープ、T 細胞エピトープの意義を報告した。

今回、T 細胞、B 細胞エピトープ解析をどのように臨床で利用すべきか、皆さんと考えたいと思います。造血幹細胞移植では、臓器移植ほど明確には報告されていないものの HLA-C, DPB1 などの EPLET MM, PIRCHE-I, II score が GVHD, 予後に関連するとの報告もあります。発表では、皆さんのご意見をいただく discussion の時間を多く取りたいと思いますので、よろしくお願ひします。

教育講演

HLAの基礎から臨床への応用

橋口裕樹

福岡赤十字病院 移植センター

Human Leukocyte Antigen ; HLA はヒト白血球抗原として 1950 年代に発見された免疫に関わる組織適合性抗原であり、その検査は移植医療において重要な情報をもたらす一方で、抗 HLA 抗体を中心とした解析においては得られる情報も多く、結果を受け取る臨床も解釈に苦慮することがある。また臓器移植においては、移植前にクロスマッチをおこなうが、これも HLA タイピング、抗 HLA 抗体と併せて総合的に判断しなければ誤った解釈となる可能性がある。本講演においては移植医療に携わる上で、必ず遭遇する単語にスポットを当て復習の意味も兼ねて進めていきたい。

【HLA タイピング】 ambiguity, ローカス, 区域, ミスマッチ, ハプロタイプ

HLA の“型”を調べる抗原検査であり、試薬の分解能によっては ambiguity (否定出来ない組み合わせ) があり、頻度から推定される型を結果とする。HLA のローカス (遺伝子座) には -A, -B, -C, -DR, -DQ, -DP 等がありローカス名の後に数字を付与して分類する (第 1 区域: HLA 型)。更に第 1 区域を細分化するには同様に数字を付与していく (第 2 区域: アレル型)。移植においては第 2 区域 (4 桁の数字) までが臨床的に重要とされている。ドナーとレシピエントの HLA 型を比較し、違いを ミスマッチ数としてカウントし、レシピエントになくドナーにあるミスマッチ HLA が抗体産生の原因となる。HLA は片親から受け取る異なる遺伝子座のセットを ハプロタイプと呼び、メンデルの法則に従い遺伝する。

【抗 HLA 抗体】 DSA, 感作歴, MFI, エピトープ解析

抗体関連型拒絶の原因となる donor Specific antibody ; DSA は、移植時と移植後の検査で保険収載され多くの施設で実施されている。抗体検査は検出感度に優れ、クロスマッチで検出出来ない低抗体価の DSA も検出可能である一方、感作歴 (移植, 妊娠, 輸血) がないにも関わらず非特異的に抗体を検出する場合もある。抗体量の目安として MFI (蛍光強度) を指標とするが、MFI は定量性に乏しく目安程度にとどめておいた方が良い。近年、抗 HLA 抗体の エピトープ解析も専用ソフトの登場で簡便となった。エピトープレベルでのミスマッチ確認や、抗体特異性同定試験で検出された抗体をエピトープ解析することで詳細な情報を得ることが期待される。

【クロスマッチ】 PXM, CDC 法, FCXM 法, VXM

ドナーリンパ球 (抗原) とレシピエント血清 (抗 HLA 抗体) を反応させ、DSA の存在を間接的に確認できる physical crossmatch ; PXM には complement dependent cytotoxicity ; CDC 法及び flow cytometry crossmatch ; FCXM 法がある。感度は CDC < FCXM であり、CDC 陽性は移植可否のひとつの目安として捉えられている。使用するドナー T 細胞 (-A,-B,-C の DSA 検出), B 細胞 (-A,-B,-C,-DR,-DQ の DSA 検出) によって検出可能な抗体が違うのも注意が必要である。ドナー HLA タイピングとレシピエントの抗体結果より免疫学的な適合性の評価を行う virtual crossmatch ; VXM は海外で取り組まれている手法であるが、本邦導入にあたり統一したルールでの運用が望まれる。

What's Hot

What's Hot: アメリカ・欧州組織適合性学会や海外の Topics レポート

横沢佑弥, 山本 希, 藤原千恵, 益尾清恵

株式会社ベリタス

本講演では 2022 年 5 月にアムステルダムで開催された第 18 回国際ワークショップ (International HLA & Immunogenetics Workshop: IHIWS) 及び 2022 年 9 月にアメリカ・ラスベガスで開催された ASHI (アメリカ組織適合性学会) で得られた Hot な情報を中心にお届けする。

昨今, 各種学会等で Epitope という単語を耳にすることも多いと思うが, IHIWS では Immunogenic Epitope が大いに議論されていた。数ある Epitope の中で臨床的に重要な Epitope は何か? を様々な角度からデータを取得し, 分析がされてきていることについて現状を共有したい。

Virtual Crossmatch も幾つかのセッションで議論がされていた。欧米各国ではどのような方針で臨床応用を進めているのか? どのような課題があるのか? 実際にどのようなアウトカムが得られているのかをまとめて報告する。

また新技術という側面においては NGS が HLA タイピングだけでなく, 移植後モニタリングに応用されている例も紹介したい。現在, 移植後のモニタリングでは抗 HLA 抗体スクリーニングが一般的に行われているが, 更に早い段階で発見を可能にする cfDNA (Cell-Free DNA) モニタリングや造血幹細胞移植後のキメラリズムへの応用例も紹介する予定である。

一般演題 1

再発難治中枢神経原発胚細胞腫瘍が臍帯血移植の同種免疫反応により長期寛解に至ったと考えられる一例

横田裕史¹⁾, 岩田 哲¹⁾, 牛島洋子¹⁾, 大岡史治²⁾,
若林俊彦²⁾, 葉名尻良¹⁾, 島田和之¹⁾, 石川裕一¹⁾,
寺倉精太郎¹⁾, 梶口智弘³⁾, 清井 仁¹⁾

名古屋大学医学部附属病院 血液内科¹⁾,

同 脳神経外科²⁾

公立陶生病院 血液・腫瘍内科³⁾

【症例】25歳、男性、11歳時に松果体卵黄囊腫瘍と診断され、繰り返す再発に対して化学療法（イホマイド、シスプラチン、エトポシド、パクリタキセル）、ガンマナイフ治療が施行されていた。汎血球減少を生じ、t(16;21)(q24;q22)を伴う治療関連急性骨髄性白血病(tAML)と診断された。tAML診断時の頭部MRIにおいて卵黄囊腫瘍の再発巣の存在も確認された。寛解導入療法にてtAMLの完全寛解が得られたものの、卵黄囊腫瘍はtAML治療経過中に増大がみられ、ガンマナイフ治療を要した。寛解後療法の後、第一寛解期にKIRリガンドミスマッチを有する臍帯血ドナーからFlu/Bu/Melを前処置とした同種造血幹細胞移植を行った。移植後tAMLは完全寛解を維持したのに加え、卵黄囊腫瘍も寛解に至り、いずれも移植後3年間無病生存を維持している。

【考察】t(16;21)(q24;q22)を伴う成人tAMLでは良好な化学療法への反応性が一部で報告されているが、germinoma以外の再発難治性の中枢神経原発胚細胞腫瘍(NGGCT)では自家造血幹細胞移植を併用したThiotepaを含む大量化学療法実施例でも極めて予後不良とされている。本症例では臍帯血移植後にいかなる化学療法でも得られなかった卵黄囊腫瘍の長期寛解を達成した。化学療法抵抗性のNGGCTに臍帯血移植による同種免疫反応が奏功した可能性が示唆された。

一般演題 2

当院において3回目の同種造血幹細胞移植を実施した7例の経験

内藤知希, 宇野友梨, 久保篤史, 中谷記衣, 石際康平,
土門洋祐, 福岡翔, 加賀谷裕介, 後藤辰徳, 森下喬允,
西田徹也

日本赤十字社愛知医療センター名古屋第一病院 血液内科

【目的 / 方法】血液領域において複数回の移植が行われることは少なくない。当院にて2010年1月から2023年6月までに3回目の移植を実施した7例の経験を報告する。【結果】移植時年齢は56(25-61)歳、男性 / 女性 = 3/4例、移植理由は移植後再発 / 生着不全 = 4/3例であった。疾患は急性白血病 / 慢性骨髄性白血病 / 骨髄異形成症候群 = 4/1/2例であった。非血縁者間骨髄 / 血縁者間末梢血 = 2/5例で、血縁者間末梢血は全てHLA半合致移植であり、3例は移植後シクロフォスファミド法によるHLA半合致移植(PTCy Haplo)、2例は抗胸腺細胞グロブリン(ATG)を用い、非血縁者間骨髄移植も1例はHLA不適合であった。GVHD予防はTac+MTX/Tac+mPSL+ATG/PTCy=2/2/3例で、急性GVHDを3例、慢性GVHDを2例認めた。移植後2年の生存率は68%(95%CI 20-90%)、非再発死亡率は17%(0.4-56%)、累積再発率は17%(0.5-55%)、死亡原因は再発 / 慢性GVHD / 多臓器不全 = 2/1/1であった。PTCy Haploに限れば、非再発死亡率は0%(0-0%)であった。

【結論】3回目の移植は代替ドナーからの移植が多く、非再発死亡率が高い。代替ドナーとしてPTCy Haploは非再発死亡率が比較的lowく、3回目の移植において安全性が高いと推測される。

一般演題3

血流再開直後に TMA を発症した ABO 不適合生体腎移植の 1 例

武澤雄太¹⁾, 酒徳直明¹⁾, 吉田 司¹⁾,
島 崇¹⁾, 瀬戸 親¹⁾, 篠崎康之²⁾

富山県立中央病院 泌尿器科¹⁾, 同 腎臓内科²⁾

レシピエントは 54 歳女性。39 歳時に喘息、腎障害、末梢神経障害を発症し、腎生検、末梢神経生検にて好酸球性多発血管炎性肉芽腫症と診断され、ステロイドパルス療法などの免疫抑制療法を施行された。40 歳代後半になって血管炎が再発し、腎障害も進行したため 52 歳時に血液透析導入となった。今回、夫をドナーとした ABO 不適合 (B-Rh+ → O-Rh+) 生体腎移植を施行した。術前抗 HLA 抗体は陰性だった。血流再開後 1 時間程度の時点で腎色調悪化を確認した。吻合部に異常がないか確認のため再灌流し、再吻合したが色調は変わらず、超急性期急性拒絶反応を疑って同日緊急で血漿交換療法を施行した。術後は貧血、血小板減少の進行と、ハプトグロビン低下も認めため TMA を鑑別として挙げた。術後 2 日目に 2 回目の血漿交換を施行したが Cr 値は改善せず、エコーでも拡張期血流は途絶し改善を認めなかったため、TMA と診断して術後 7 日目にエクリズマブを初回投与した。翌日から血小板増加と、エコー波形の改善が認められたが、尿量は増えず、Cr 値も改善しなかった。術後 14 日目にエクリズマブ 2 回目を投与したが、その後も改善は見られず、術後 16 日目の腎生検にてほぼ壊死組織のみとの結果であったため術後 25 日目に移植腎摘除術を施行した。移植直後から超急性期拒絶反応、TMA が疑われ、エクリズマブ投与でも腎機能改善しなかった症例を経験した。

一般演題4

DSA 陽性腎移植に対する高用量 IVIg とリツキシマブを用いた 脱感作療法

岡田 学, 鳴海俊治, 姫野智紀, 長谷川雄基,
西沢慶太郎, 二村健太, 平光高久, 後藤憲彦,
一森敏弘, 児玉寛健, 島本侑樹, 坂本慎太郎,
渡井至彦

日本赤十字社愛知医療センター名古屋第二病院 移植外科・移植内科, 組織適合検査課

【はじめに】

高用量免疫グロブリン静注療法 (IVIg) は DSA 陽性腎移植における脱感作についての有効性が報告されてきた一方で、短期間大量投与による副作用の問題もある。我々は、IVIg の効果と副作用のバランスの最適化を模索し、現在は IVIg 合計 4g/kg を 2 段階に分けて投与する脱感作プロトコルを使用している。当院における、IVIg とリツキシマブを用いた脱感作を行った DSA 陽性腎移植症例の成績について検討した

【方法】

2008 年以降の DSA 陽性腎移植について抗体関連型拒絶 (ABMR), IVIg 関連の副作用, 腎生着, 移植 3 週間後腎生検について調査した。DSA 陽性腎移植を脱感作における IVIg の有無で 2 群に分け ABMR の頻度, 腎生着, 腎生検の所見について比較した

【結果】

105 例の DSA 陽性腎移植のうち、IVIg を用いた症例 (IVIg 群) は 25 例、IVIg を用いなかった症例 (IVIg なし群) は 78 例であった。1 年以内の ABMR 発症は IVIg 群で低い傾向があった (8.0% vs. 24.4%, $P=0.086$)。また、退院時腎生検における炎症スコア (i+g+t+g+ptc) ≥ 2 の割合も IVIg 群で低い傾向があった (8.0% vs. 29.5%, $P=0.032$)。腎生着については両群で差を認めなかった。

一般演題5

HLA 拘束性細胞傷害活性モデルの確立と、がん免疫治療併用薬探索への応用

鈴木 進¹⁾, 花村一朗²⁾, 村上五月³⁾,
風岡宣暁⁴⁾, 高見昭良²⁾

愛知医科大学 研究創出支援センター¹⁾,
愛知医科大学病院 血液内科²⁾,
同 臨床腫瘍センター³⁾,
同 歯科口腔外科⁴⁾

【目的】免疫治療が第4のがん治療として認知されて久しい。現在、治療成績の向上を図るため免疫治療併用薬の探索が活発に行われている。HLA 拘束性細胞傷害活性を亢進する薬剤を簡便に評価できる in vitro 実験系の確立を試みた。

【方法】疑似がん抗原としてサイトメガロウイルス pp65 抗原を強制発現させた口腔がん由来細胞株 HSC-2, HSC-3 及び HSC-4 と健康人末梢血単核球から誘導、増殖させた pp65 特異的細胞傷害性 T 細胞 (pp65-CTL) を共培養し、生じた細胞傷害活性を、WST-1 アッセイで測定した。また、リンパ腫由来細胞株 VAL, Farage 及び SP-49 を用いて同様に共培養し annexin V で細胞傷害活性を測定した。さらに、確立した実験系を用いて、既存薬剤の CTL 細胞傷害活性に与える影響を評価した。

【結果】HLA-A24 または、A2 拘束性 pp65-CTL は、それぞれ HLA がマッチした pp65 抗原強制発現細胞株にのみ傷害活性を生じた。作成した実験系を用いて既存薬剤の CTL 細胞傷害活性に与える影響を検討したところ、5-FU は、口腔がん由来細胞株に対する CTL の傷害活性を亢進させ、venetoclax (BCL-2 阻害剤) は、VAL に対する細胞傷害活性を亢進させることが明らかとなった。

【まとめ】HLA 拘束性細胞傷害活性を簡便に測定できる実験系を確立した。

一般演題6

ホスカルネットまたはガンシクロビルによる初回抗 CMV 先制治療後の同種造血幹細胞移植成績の比較

宮尾康太郎^{1,2)}, 寺倉精太郎³⁾, 小澤幸泰⁴⁾, 澤 正史¹⁾,
河野彰夫⁵⁾, 笠原千嗣⁶⁾, 飯田浩充⁷⁾, 伊野和子⁸⁾,
楠本 茂⁹⁾, 笠井雅信¹⁰⁾, 高見昭良¹¹⁾, 倉橋信悟¹²⁾,
梶口智弘²⁾, 森下喬允⁴⁾, 西田徹也³⁾, 村田 誠³⁾

安城更生病院 血液・腫瘍内科¹⁾, 公立陶生病院 血液・腫瘍内科²⁾, 名古屋大学大学院 血液・腫瘍内科学³⁾, 日本赤十字社愛知医療センター名古屋第一病院血液内科⁴⁾, 江南厚生病院 血液・腫瘍内科⁵⁾, 岐阜市民病院 血液内科⁶⁾, 国立病院機構名古屋医療センター 血液内科⁷⁾, 三重大学大学院 血液・腫瘍内科学⁸⁾, 名古屋市立大学大学院 血液・腫瘍内科学⁹⁾, 日本赤十字社愛知医療センター名古屋第二病院血液内科¹⁰⁾, 愛知医科大学 内科学講座 血液内科¹¹⁾, 豊橋市民病院 血液・腫瘍内科¹²⁾

【目的】

ガンシクロビル (GCV) とホスカルネット (FCN) は、サイトメガロウイルス (CMV) 再活性化時の先制治療としてどちらも有効だが、両薬剤が同種造血幹細胞移植 (allo-HSCT) のアウトカムに与える影響は十分に検証されていない。

【対象・方法】

2006年1月から2018年12月、Nagoya Blood and Marrow Transplantation Group 参加施設において、FCN または GCV を初回抗 CMV 先制治療薬として投与された、初回非血縁者間 allo-HSCT を後方視的に解析した。

【結果】

FCN 群 (86 例) と GCV 群 (446 例) の比較において、全生存率、再発率、非再発死亡率に差はなかった。GCV 群は、chronic graft-versus-host-disease (GVHD) (HR, 2.38; 95% CI, 1.28-4.39; $P = 0.006$) および extensive chronic GVHD (HR, 3.94; 95% CI, 1.43-10.9; $P = 0.008$) . 発症の高リスクであった。CMV 感染症発症率は両群で同等であった。

【考察】

臨床医は両薬剤を選択可能だが、その選択は chronic GVHD 発症に影響する可能性がある。

一般演題7

免疫グロブリンによる樹状細胞機能
変化はアロ免疫を活性化しうる

栗 真人¹⁾, 岩崎研太²⁾, 岡田 学³⁾, 三輪祐子²⁾,
安次嶺聡¹⁾, 石山宏平¹⁾, 小林孝彰¹⁾

愛知医科大学 腎移植外科¹⁾,

同 腎疾患・移植免疫学寄附講座²⁾,

日本赤十字社愛知医療センター名古屋第二病院 移植外科³⁾

【緒言】免疫グロブリン (Ig) は preformed donor specific HLA antibody を有する術前脱感療法の一環として使用されているが、免疫担当細胞への影響については不明確な部分が多い。本研究では Ig の dendritic cell (DC) への影響に着目しその機能解析を行った。

【方法】CD14 陽性単球系細胞を分離しドナーの末梢血単球細胞 (PBMC) 存在下でサイトカインを加え mature DC (mDC) へと分化誘導させる。1) ドナー抗原貪食 DC のアロ免疫応答の評価は FCM-CFSE で行った。2) Ig による DC の貪食能は CFSE 染色したドナー細胞を Ig の有無で混合培養し CFSE 陽性 CD14 細胞で評価した。3) Ig 存在下 (ドナー PBMC 無) で DC へ分化させた際の遺伝子発現変動を single cell RNA sequence で評価した。

【結果】1) Ig 存在下に分化誘導させた DC は有意に CD4T 細胞を増殖させた。2) CD14 陽性単球系細胞は Ig 存在下で有意に貪食能が増加した。3) DC の中でも複数の機能の異なる cluster へ分類できた。Ig により DC 上の HLA 発現上昇・PD-L1 の発現低下や遊走・走化性に関する遺伝子の減少など遺伝子レベルでの違いが見られた。

【考察】Ig による脱感作療法は有効性が見出される一方でその効果判定は不明確である。本研究では Ig により DC は遺伝子レベルでの違いが生じていること、機能変化が生じていることが観察された。single cell RNA sequence の遺伝子解析をもとに、実際に Ig 投与を行った患者の検体を用いた遺伝子発現などの評価を行っていく必要がある。

一般演題8

妊娠による抗 HLA 抗体産生とエピソードミスマッチの関係

西岡徹志, 西川晃平, 西川武友, 加藤桃子,
東真一郎, 佐々木豪, 舛井 覚, 井上貴博

三重大学医学系研究科 腎泌尿器外科学

【緒言】ドナーとレシピエントの HLA epitope のミスマッチ数 (MM) が腎移植後の de novo ドナー特異的抗体 (DSA) の産生の強いリスク因子であると報告されている。そこで今回、妊娠に関しても夫との epitope MM が夫の HLA に対する抗体産生の因子となり得るかを検討した。【方法】対象は2010年3月から2022年12月に、夫からの腎提供による生体腎移植を希望し当科を受診した患者のうち、移植歴や輸血歴がなく、ドナーとの間だけに妊娠歴を有する25例。患者と夫 (ドナー) の A, B, DRB1, DQB1 のアレルレベルのタイピングを行い、HLA 抗原および epitope (全体及び Antibody-verified) の MM を算出した。さらに、患者に対し抗 HLA 抗体スクリーニング検査 (WAKFlow MR) を施行した。陽性者に対しては抗体同定検査 (LABScreen Single Antigen) を行い、DSA の有無を評価した。尚、DSA の cutoff 値は nMFI 1000 とした。DSA の有無で、抗原および epitope の MM に差があるかを Mann-Whitney U 検定を用いて評価した。【結果】A, B, DRB1, DQB1 に対する DSA が陽性であったのは、それぞれ2 (8%), 6 (24%), 5 (20%), 3 (12%) 例であった。DSA の有無で抗原 MM に差は認めなかった。一方、全 epitope では B と DRB1 において DSA 陽性群で MM が多かった (共に p=0.03)。Antibody-verified では DRB1 において DSA 陽性群で MM が多かった (p=0.01)。

【結果】腎移植同様、妊娠でも特定の epitope の MM は抗 HLA 抗体産生のリスク因子であった。