

第7回 関東HLA研究会記録

会 期：2024年5月18日（土曜日）

会 場：東京大学医科学研究所1号館・講堂

開催方法：ハイブリッド形式

担当幹事：椎名 隆

東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学領域

特別講演

造血細胞移植 ～臍帯血移植の成績向上，および適応拡大に向けた研究～

高橋 聡

東京大学医科学研究所 臨床精密研究基盤社会連携研究部門

分子標的薬や遺伝子・免疫療法の臨床開発に伴い、多くの造血器悪性疾患は現在、治療可能な疾患となっているが、そのためには最終的に造血幹細胞移植が必要となる患者がいまだに多いのも現状である。一方で移植可能な患者年齢の上限が徐々に高くなるとともに、移植ドナー・細胞ソースの多様化により、近年は移植が必要な患者のほとんどが移植を受けることが可能となっている。依然として、HLA一致同胞が最善ドナーということになっているが、それ以外のいわゆる代替ドナーからの移植成績の向上が著しく、全体の生存率向上の大きな要因の一つとなっている。その中で臍帯血は現在わが国ではHLA一致・不一致血縁ドナーを含めても最も多く使用されているドナーソースとなっており、その移植成績の向上も著しい。

臍帯血移植は、ドナーへの負担がほぼ皆無であり、慢性GvHDのリスクが低いことによる移植後QOLが良好である点、GvL反応がより強化されることに起因されると思われる移植後再発のリスクが低いなどの利点があり、すぐに入手できることにより最適な時期での移植が可能であることと相まって良好な移植成績の要因となっている。一方で、他の移植法に比べて造血・免疫系の移植後回復の遅延が以前から問題になっており、その改善がなされれば全ての中で最善な移植法となりえる。本講演では造血幹細胞の増幅、抗原特異的免疫細胞による細胞療法などの臨床開発に加え、機械学習法を用いた大規模コホートの解析による移植後好中球の回復に関与する因子の解析など、最近取り組んできた研究成果も含めた概説を予定する。

教育講演

子宮移植は新しい医療技術となり得るか？

木須伊織

慶応義塾大学医学部 産婦人科学教室

近年、生殖補助医療技術の発展により多くの不妊夫婦に福音がもたらされているが、先天性もしくは後天性の子宮性不妊女性の挙児は困難である。最近、これらの子宮性不妊女性が児を得るための1つの選択肢として「子宮移植」という新たな生殖補助ならびに移植医療技術が考えられている。海外では既に臨床応用がなされ、これまでに100例以上の子宮移植が実施され、60名以上の児が誕生し、急速に臨床展開されてきている。

子宮移植には医学的、倫理的、社会的課題が内包される。医学的課題は、生体ドナー手術の侵襲性をはじめとして、周術期合併症や拒絶反応の回避、免疫抑制薬による感染症対策、ハイリスク妊娠管理、新生児のフォローなど多岐にわたる課題も存在する。倫理的課題は、生ま

れた子の福祉の尊重、ドナー・レシピエント・児のリスク、生命に関わらない臓器の移植の許容、養子制度や代理懐胎などの他の代替手段との対比、臓器売買やその斡旋などが主な論点として挙げられる。社会的課題は、子宮性不妊患者が児を得るための手段として、子宮移植が社会のニーズとして真に求められているか、社会的価値を検証せねばならない。

子宮移植にはこれまでの医療技術にはない新たな臨床倫理的課題が多く存在するが、その実施を望む子宮性不妊女性からの声も多く、国内での臨床展開が大いに期待されている。本講演では子宮移植の現状や課題に触れながら、本技術の将来の可能性について議論したい。

ワークショップ「ケーススタディ」

造血移植・輸血分野から 前島理恵子（帝京大学医学部附属病院 輸血・細胞治療センター）
臓器移植分野から 祖父江晃基（東邦大学医療センター大森病院 輸血部）

本ワークショップでは、造血幹細胞移植、輸血、臓器移植の各分野において、日常の検査現場でしばしば遭遇しうるであろう「取りこぼしてはいけない」あるいは「判断に悩む」症例を選択肢形式の設問とともに提示します。その設問に対してご参加の皆様とともに対応を考え、パネリストが解説するというケーススタディ方式で進めま

す。各パネリストから提示される設問に、ご参加の皆様はPCまたはスマートフォンから回答入力フォームにアクセスいただき、回答を入力してください。皆様の回答の集計結果をリアルタイムで公表し、座長・パネリストとディスカッションします。

シンポジウム「NGS-HLA タイピングの新たな展開」

1. ハイブリッドキャプチャー法による HLA タイピングとその応用

細道一善

東京薬科大学生命科学部 ゲノム情報医学研究室

ハイブリッドキャプチャー法はゲノム上のターゲット領域に特異的なビオチン化プローブとサンプル DNA とのハイブリダイゼーションにより、ゲノム関心領域を捕捉し、磁気プルダウンにより分離する手法である。HLA 遺伝子群をターゲットとして本手法を適用することで遺伝子網羅的に HLA タイピングすることが可能となる。本手法における NGS を用いた一般的な HLA タイピング手法との違いは HLA 遺伝子の特異的増幅ステップを用いないことであり、PCR 増幅が困難であったサンプルの解析が可能であること、構造多型を有する遺伝子についてコピー数を反映したタイピング結果が得

られること、多検体検査の実施のために自動分注機に適用することが容易であることなど、多くの優位性を有する。本講演ではハイブリッドキャプチャー法による HLA タイピング手法を実際の解析データとともに紹介する。さらに、その応用例として、セルフフリー DNA、FFPE 由来 DNA、古代人骨 DNA、1 細胞 RNA などの質的または量的に特殊なサンプルへの適用と研究における解析例についても紹介したい。また、ハイブリッドキャプチャー法の精度管理のための取り組みとしてすすめている機械学習による精度評価方法についても議論したい。

2. NGS-HLA タイピング法の有用性評価プロジェクト
～その背景と研究計画～

椎名 隆

東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学領域

NGS に基づく HLA DNA タイピング法 (NGS-HLA 法) は、HLA II 座のアレルを遺伝子全長レベルで高精度に判定する検査技術であり、従来の PCR-SBT 法や PCR-rSSO 法などの短所を補うことから、移植成績の向上が期待される標準 HLA タイピング法として国際的に普及しつつある。わが国においても、2016 年 11 月 15 日以降、NGS-HLA 法検査結果をもって JMDP に登録された患者は、登録後の PCR-SBT 法による患者確認検査が不要になった。その後、2020 年 3 月 3 日より JMDP を介した骨髄・末梢血幹細胞移植における患者 HLA 確認検査やドナー HLA オプション検査が PCR-SBT 法から NGS-HLA 法に変更された。ところが、NGS-HLA 法の導入により、従来法と比して、①どの程度の新規アレ

ルが同定されるか、②どの程度の移植後のリスクになりうる新規アレルが含まれるか、③それらが移植成績にどのような影響を与えるか、等についてはその基礎となる解析結果が未だ存在しない。そこで演者らグループでは、NGS-HLA 法の有用性を評価し、移植成績と直結する有益な情報を見出す計画を、日本骨髄バンクを介する非血縁者間造血細胞移植症例を用いて進めており、その情報をドナー選択アルゴリズムの提案や移植成績の向上にフィードバックすることに重要な意義を有するものと考えている。本シンポジウムでは、この有用性評価プロジェクトの計画に至った経緯からその計画について、海外からの最新情報を含めて紹介したい。

一般演題1

HLA 適合血小板献血者における SSO 法と NGS 法の判定結果の比較検討

内田みゆき¹, 清水まり恵¹, 鎌田裕美¹, 阿部和真¹, 中野 学², 鈴木友菜³, 小原琢巳⁴, 小林洋紀⁵, 竹内奈由美⁶, 高 陽淑⁷, 谷川桃子⁸, 首藤笑里⁹, 高橋大輔¹, 宮田茂樹¹, 谷 慶彦¹, 佐竹正博¹

¹ 日本赤十字社 血液事業本部中央血液研究所, ² 日本赤十字社 北海道ブロック血液センター,

³ 日本赤十字社 東北ブロック血液センター, ⁴ 日本赤十字社 関東甲信越ブロック血液センター埼玉製造所,

⁵ 日本赤十字社 関東甲信越ブロック血液センター, ⁶ 日本赤十字社 東海北陸ブロック血液センター,

⁷ 日本赤十字社 近畿ブロック血液センター, ⁸ 日本赤十字社 中四国ブロック血液センター,

⁹ 日本赤十字社 九州ブロック血液センター

【目的】SSO 法は、簡便で処理能力が高い検査法であるが、判定結果にはアンビギュイティが数多く存在する。今回、SSO 法で判定困難であった検体について、解像度の高い NGS 法との比較を行ったので報告する。

【方法】SSO 法は WAKFlow HLA タイピング (湧永製薬) を用い、専用のソフトウェアによる自動判定結果を使用した。NGS 法は AllType NGS (One Lambda) を用い、判定には TSV (TypeStream Visual Software) を使用した。HLA 適合血小板献血者 83,451 検体について SSO 法を実施し、No Pattern や低頻度アレルを理由として判定保留となった 420 検体 (0.5%) を対象とし、その中で NGS 法と不一致を認めた検体について詳細に解析を行った。対象はクラス I とし、第 2 区域までを比較した。

【結果】420 検体中 79 (18.8%) で不一致を認めた。アレル毎の集計では 83 アレル (A:18, B:28, C:37) に不一致を認めた。SSO 法における保留理由の内訳は、低頻度アレルが 51 アレル、No Pattern が 32 アレルであった。NGS 法との不一致理由は、2 法で異なる低頻度アレルの検出例 (22) が最も多く、次いで新規アレル (20)、プローブの反応不良による誤判定 (12)、イントロン変異による増幅不良 (10)、その他 (19) の順であった。

【考察】SSO 法による自動判定では、正しい HLA 型を同定することは難しい場合がある。特に SSO 法で低頻度アレルあるいは No Pattern と判定された場合は、NGS 法など他法での確認が望ましいと考える。

一般演題2

PC-HLA 供給検査の依頼状況と HLA 抗体の関連性

續橋雅子, 田原綾乃, 増田英敏, 石本裕子, 安藤 萌, 山口陽平, 吉田芳生, 新国 駿, 礪波 薫,
小林洋紀, 津野寛和, 室井一男

日本赤十字社 関東甲信越ブロック血液センター

【背景・目的】HLA 適合血小板 (PC-HLA) は血小板輸血不応 (PTR) の患者に HLA 抗体が検出された際に適応となる血液製剤である。当施設では、医療機関から免疫学的機序による PTR が疑われた患者の HLA 抗体検査依頼を受ける際、検体と共に検査依頼書の提出を要請している。今回、検査依頼書における患者情報の記載項目を集計し HLA 抗体の関連性を調査した。

【方法】2021 年 4 月から 2023 年 3 月の期間に当施設が依頼を受けた 1043 件 (135 施設) を対象に、妊娠歴や臨床症状等の患者情報と HLA 抗体陽性率を集計した。

【結果】対象の 1043 件中 432 件 (41%) が HLA 抗体陽性で、陽性率は男性より女性に有意に高く、妊娠歴がある女性

では 66.7% と高値を示した。HLA 抗体陽性率は、女性は 30 代から 90 代までが 60% 程度と高く、男性は 90 代 (50%) に次いで 20 代 (35%) が高かった。10 代以下は 7% と低かった。疾患別では血液疾患が 85.4% を占め、リンパ系の血液悪性疾患群の陽性率は 22% と低かった。その他の記載項目は HLA 抗体陽性群と陰性群で差がなかった。輸血効果については記入率が 6 割程度だったが、実際に CCI 値を算出できる症例は 2 割程度だった。

【考察】今回の結果から、女性の HLA 抗体陽性率と妊娠歴の関連性は強く、リンパ系の血液悪性疾患では男女ともに HLA 抗体陽性率が低い特徴があることが示唆された。

一般演題3

抗 HLA 抗体に関する血清凍結融解の影響について

細羽恵美子¹, 石塚 敏¹, 笹野まゆ¹, 小林悠梨¹, 安尾美年子¹, 石田英樹²

¹ 東京女子医科大学 中央検査部移植関連検査室, ² 東京女子医科大学 移植管理科

【背景】臓器移植において術前のリンパ球細胞傷害試験 (CDC-XM) は、術後早期の液性拒絶を回避する有用な検出法の一つである。公益社団法人 日本臓器移植ネットワークでは、CDC-XM Tcell が陰性であればレシピエント候補に成り得る選定基準である。しかし、待機患者によっては複数回レシピエント候補に選定され、マイナス 80℃ 保存血清はその都度凍結融解を繰り返すことになる。今回われわれは、レシピエント血清の凍結融解が抗 HLA 抗体の力価にどの程度影響を及ぼすか基礎的検討を行ったので報告する。

【対象】東京女子医科大学 移植管理科に腎移植目的で来

院された患者のうち、抗 HLA 抗体陽性の 2 症例を対象とした。

【方法】LABScreen single antigen および C1qScreen を測定し、HLA Class I 抗体について蛍光強度 (normalized MFI) を確認した。そして、被検血清を 10 回まで凍結融解を繰り返し、それぞれ 2 倍連続希釈系列を作成した。CDC-XM は、C1qScreen 陽性の HLA 特異性が一致する第三者リンパ球 (Tcell) を用いた。

【結果】本研究の結果より、LABScreen single antigen, C1qScreen および CDC-XM の 3 法において凍結融解による影響が少ないことを確認した。

一般演題4

フローサイトクロスマッチと抗HLA抗体検査の比較分析

大菅貴寛¹, 祖父江晃基¹, 石橋瑞樹¹, 齋藤光平¹, 佐瀬千佳¹, 奥田 誠¹, 村松真樹²,
酒井 謙², 高橋 浩之¹

¹ 東邦大学医療センター大森病院 輸血部, ² 東邦大学医学部 腎臓学講座

【はじめに】腎移植前の組織適合性検査として実施されるフローサイトクロスマッチ (FCXM) および Single Antigen Beads (SAB) を用いた抗HLA抗体特異性同定検査は、検査の特性上の違いから結果に乖離が見られることがある。今回、FCXMとSABの結果を後方視的に比較分析したので報告する。

【対象および方法】2022年6月～2023年12月にFCXMとSABを実施した55例を対象とした。SABはnMFI \geq 1000, FCXMは患者血清と陰性コントロールの中央値の比がT cell \geq 1.4, B cell \geq 1.7を陽性とした。SABの結果を基準としてFCXMの結果を、陰性・陽性・偽陰性・偽陽性に分類した。さらに結果が乖離した症例のうち偽陰性群について分析した。

【結果】55例のうち陰性25例、陽性9例、偽陰性6例、偽陽性15例であった。偽陰性群のうち4例はDSAのnMFI $>$ 2000であった。2例はDSAのnMFI:3741 (Cw14)の腎移植歴がある症例と、nMFI:5048 (A2)の妊娠歴のある症例であった。

【考察】偽陽性群の原因としてSABで検出できないnonHLA抗体や非特異反応が考えられた。また偽陰性群の原因としてFCXMとSABの検出感度差が考えられた。

【結語】FCXMとSABの一致率は約60%であった。それぞれの検査特性を十分に理解し、複数の検査結果を総合的に考慮して判断することが重要である。

一般演題5

HLA エピトープ不一致が臍帯血移植の治療成績に与える影響の解析

岩田紫乃¹, 吉川枝里¹, 重成敦子², 白岩佐和子¹, 豊崎誠子¹, 町田真一郎¹, 椎名 隆², 鬼塚真仁¹

¹ 東海大学医学部 内科学系血液腫瘍内科, ² 東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学領域

【目的】実臨床では造血幹細胞移植におけるドナー検索でHLA-A, B, C, DRB1の8抗原を利用する。HLA mismatchesが許容される臍帯血移植では mismatches HLA由来のエピトープの存在が治療成績に影響する可能性が高い。すでに、一般臨床で測定する8抗原HLAの mismatches由来のエピトープ数が臍帯血移植成績に影響を与えることが報告されている。そこで、我々は一般臨床では測定しないHLA-DPA1, DPB1, DQA1, DQB1をタイプニングし、合計18抗原のHLA mismatches由来のエピトープ数が臍帯血移植成績に与える影響を解析した。

【方法】対象は当院で行われた血液悪性疾患に対する臍帯血移植110症例とし、各HLA mismatches由来のエピ

トープ数をHLA matchmakerにより解析した。

【結果および考察】HLA Class IではHVG方向のエピトープ数が多い群で慢性GVHDの発症率が有意に高率であった。またClass IIの解析ではDPA1, DRB1でHVG方向のエピトープ数が多い群で再発率が有意に低率であった。さらにDPA1のエピトープ数が多い群では慢性GVHDの発症率が有意に高率であった。これらに対して、生存、急性GVHDとエピトープ数の関連は認めなかった。今回の解析から、実臨床ではタイプニングを行わないDPA1の mismatches由来のエピトープ数が臍帯血移植の成績に関連すること、また予後予測因子としてエピトープ数が有用である可能性が示唆された。

一般演題6

同種移植におけるドナー選定と免疫学的背景についての考察 —症例からみた適合性指標の有用性—

竹下昌孝^{1,2}, 小玉信之^{1,2}, 比島智子^{1,2}, 鈴木大志¹, 阿部尚美¹, 平井理泉¹, 谷村 聡¹,
工藤大輔¹, 三輪哲義^{1,2}

¹東京北医療センター 血液内科, ²国際骨髓腫先端治療研究センター

【背景と目的】 血液悪性疾患に対する同種造血幹細胞移植は再発リスクの高い疾患に対する根治的治療として選択されるが、予後を左右する移植後GVHDの抑制が課題である。我々はHLA適合性に基づき最適と思われるドナーを選択してきたもののGVHDを発症する症例は少なくない。そこで、造血幹細胞移植後GVHDに対し臓器移植を行うことでレスキューした一例について治療経過と移植時の免疫学的背景を後方視的に解析することを目的とした。

【症例】 18歳男性。Ph陽性急性リンパ性白血病に対し、HLA8/8座一致の非血縁バンクドナーより造血幹細胞移植を施行。白血病は分子生物学的寛解を得るも慢性GVHDとして閉塞性細気管支炎を発症。血縁者より生体間肺移植を施行した。

【方法と結果】 ドナー・レシピエントの免疫学的背景としてHLA, KIRについてタイピングを行った。造血幹

細胞ドナーとレシピエントはHLA (A,B,C,DRB1) が完全一致であったが、ドナーのKIRは2DS1を含むtB01ハプロを有していた。一方、2名の臓器ドナーはHLAミスマッチ (2/8, 6/8一致) を認めたが、HLA-Cの他に抑制性KIRのリガンドとしてHLA-B*46を両者とも有していた。

【考察】 本症例における2度の移植において以下の可能性が考察された。

- ・幹細胞移植時KIRステータス変化によりNK活性化を誘導しやすい状態へ遷移し、GVLのみならずGVHDも惹起された。
- ・臓器移植時偶然有したHLA-B*46により抑制性KIRに対するシグナルが増強され移植の拒絶から逃れた。

【結語】 幹細胞移植ドナー選択時、HLAだけでなくKIRステータスを加味することが有用となる可能性がある。

国際HLAワークショップ (IHIWS19) の概要

IHIWS19の進捗状況徳永勝士¹, 椎名 隆²¹ 国立国際医療研究センター研究所, ゲノム医科学プロジェクト, ² 東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学領域

第19回国際HLA・免疫遺伝学ワークショップ (The 19th International HLA and Immunogenetics Workshop: IHIWS) を日本において徳永と椎名がCo-Chairsとして開催することになった。場所や時期を検討した結果、静岡県沼津市のJR沼津駅に隣接するPlaza Verdeで2026年5月19日から24日までと決定した。なお、一日おいて5月26日から28日までアジア・パシフィック組織適合性・免疫遺伝学連合会議 (The 2026 Asia-Pacific Histocompatibility and Immunogenetics Association Conference) も開催され

る。IHIWSは世界の熱心な臨床および基礎研究者が各プロジェクトでの解析結果を持ち寄って発表し、活発な議論を行う、いわば「合宿」のような心踊る催しである。今回もおよそ20のプロジェクトが実施されることになっており (<https://ihiw19.org/>), その中には日本から提案された新しいプロジェクト「LRC structure and polymorphism」も含まれている。日本の方々が積極的に参加し、HLA・免疫遺伝学の先端に触れ、海外のHLA関係者と親しく交流するまたとない機会を活かしていただきたいと強く願っている。