

第30回造血幹細胞移植委員会（平成20年6月16日） 資料

愛知県がんセンター中央病院 森島泰雄

HLA-Cの移植に与える影響と日本骨髄バンクにおけるHLA-C検査の必要性

I. 背景とまとめ

日本骨髄バンク(JMDP)を介した非血縁者間骨髄移植 (UR-BMT) は平成19年末には8965例に達している。UR-BMTにおいてはドナーと患者間のHLAの適合が移植成績に大きな影響があり、JMDP発足と同時にHLA適合度と移植成績との関連を研究する厚生労働省研究班が発足し解析がなされている。この結果、ドナーと患者におけるHLA-DRB1のDNA検査の導入、引き続き1995年にはHLA-A、HLA-BのDNA検査の導入、2005年にはHLA-A, B, DRB1のDNA検査がドナー（初回登録ならびにre-typingとして）と患者に適用された。2006年にはレトロスペクティブにHLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1のDNA型が同定された患者・ドナーのペアは6000例に達し、多変量解析により、従来のHLA-A, B, DRB1に加えて、HLA-Cw (Cと略)の移植成績に与える影響がより明確になった。

骨髄移植推進財団HLA委員会(委員長 森島泰雄)においてこの結果を検討し、JMDPとしてHLA-Cを必須検査として導入すべきとの結論を得た。

さらに、HLAのDNA型の検査法の進歩は著しく、HLAの配列を決定するSBT法に加えて蛍光ビーズ法が開発され、日本人において0.1%以上認められるHLAのDNA型の同定が蛍光ビーズ法で可能になり、2005年からドナーのHLA-A, B, DRB1検査に導入されている。HLA委員会では、HLA-C検査においても蛍光ビーズ法を用いて高頻度アリルを同定することが可能であることを確認し、HLA検査法としての精度、ならびに検査費用の面から、HLA-C型を蛍光ビーズ法で検査することを推奨することが答申された。

II. HLA-C座の適合度が臨床成績に与える影響について

HLA-A, B, DRの血清型が適合した5210症例につき解析した。解析は多変量解析(Cox regression model)を用い、変数として表1に示した臨床的な因子を加え補正し、各HLA座の適合度が重症GVHDと生存に与える影響を解析した。

1. HLA-C座が不適合である割合(表1)

HLA座の不適合の割合は表1に示すが、HLA-Cが不適合な割合は29.2%である。すなわち、現行のHLA-A, B, DRB1のDNA検査が必須検査として実施され、

HLA-C 検査が実施されない場合、3 割の患者は HLA-C 不適合のドナーから移植を受けることになる。

2. HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1 の DNA 型の不適合が重症 GVHD の発症と生存(死亡)に与える影響 (表 2)。

1) HLA-A, B, C 座の不適合は有意に重症急性 GVHD の発症頻度を高め生存率を悪くした。

HLA-A, B と同等か同等以上に HLA-C 検査が重要であることを示している。

2) HLA-DRB1 の適合度は急性 GVHD と生存に関連しなかった。

これは、HLA-DR 血清型適合症例における結果であり、血清型不適合例では関連して (2007 年度 JMDP 移植成績報告書) おり、HLA-DRB1 検査は不可欠な検査である。

3) HLA-DPB1 座の不適合は、相対危険率 (HR) は HLA-A, B, C に比べ高くないが、重症 GVHD の発症と生存に関与していた。

HR が 1.1 と HLA-A, B, C に比べ高くなく、現時点では HLA-DPB1 検査を必須検査として導入する順位は低い。

3. HLA-A, B, DRB1 の DNA 型適合症例において HLA-C 不適合が重症 GVHD と生存(死亡)に与える影響 (表 3-1)

1) HLA-C 不適合は 22.0%の症例に認められた。

2) HLA-C の単独不適合でも明らかに重症 GVHD の頻度が高く、生存率が低下していた。

現行の必須検査である HLA-A, B, DRB1 が適合していれば、HLA-C 検査を実施しなくてもよいのではないかという質問への回答の根拠になる結果であるが、適合例の 2 割強は HLA-C が不適合であり、不適合では有意に重症 GVHD の頻度が高く、死亡率が高くなる。したがって HLA-C 検査は患者・ドナー候補の全ペアに必要である。

4. HLA-C 不適合の場合、NK 細胞受容体 (KIR2DL)リガンドが不適合の場合、とくに重症 GVHD の頻度が高く、生存率が低下する (表 3-2)。

NK 細胞受容体の一つである KIR2DL (KIR) は、標的細胞の HLA-C 分子上の特定のアミノ酸配列 (エピトープ) と反応する。この機序により HLA-C 不適合移植で GVHD と生存に悪影響を及ぼしている (Biology of Blood and Marrow Transplantation (2007) 13:315-328.)。

表 3-2 は、上記 KIR リガンドが適合していても HLA-C 型の不適合そのもので重症 GVHD が生じ、生存が悪くなること、すなわち HLA-C 不適合の意

義が少数の KIR 不適合症例だけでないことも示している。

5) 重症 GVHD 発症曲線と生存曲線 (図 1 - 3)

上記 1) - 4) では、多変量解析による発症危険率 (HR) を示したが、臨床的な解析でよく用いられる重症 GVHD 発症曲線と生存曲線として示すことにより、HLA-C の影響を視覚的に解り易くした。なお、この解析は Kaplan-Meire 法による単変量解析である。

5. HLA-C 型の不適合な組み合わせが、重症 GVHD と生存に与える影響 (表 4)

どの HLA 型の組み合わせの不適合があると急性 GVHD や生存に影響があるかを上記 5210 症例につき解析した。

HLA-C においても表 4 に示すように、7 つの HLA-Cw 型の組み合わせの違いがとくに急性 GVHD を生じやすいことが明らかになった (Blood 2007; 110:2235-2241)。

6. HLA-DR (血清型不適合) が、重症 GVHD と生存に与える影響 (表 5、図 4、5)

HLA-DR (血清型) 不適合症例は、重症 GVHD を高率に生じやすく、生存を悪くしていることが、HLA-A, B, C DNA 型適合症例の解析で明らかになった。このことは、HLA-DRB1 検査が不可欠な検査であることを示している。

[参考]

米国骨髄バンク (NMDP) における HLA-C 適合度の移植成績に与える影響。

2004 年に 1879 症例の解析結果が BLOOD 誌に発表されている (104 : 1923-1930)。そのタイトルは、Impact of HLA class I and class II high-resolution matching on outcomes of unrelated donor bone marrow transplantation : HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplantation outcome. であり HLA-C 適合の重要性が強調されており、NMDP ではこの結果に基づき HLA-C 検査を必須な確認検査としている。HLA-C 不適合の適合に比した HR は、重症 GVHD で 1.19 p=0.05, 死亡で 1.21 P=0.005 であった。さらに、2007 年に NMDP は最新の解析結果を発表しており、HLA-C に関して同様な結果が得られている。 High-resolution donor-recipient HLA matching contributes to the success of unrelated donor marrow transplantation. Blood, Dec 2007; 110: 4576 - 4583.

Ⅲ. HLA-C 検査法について

1. 日本人にみられる HLA-C 型の頻度 (表 5)

アリル名、遺伝子頻度、抗原名（血清型）などを日本組織適合性学会のホームページから引用した。日本人にみられるアリル（DNA 型）は、遺伝子頻度が記載されているのは 13 アリルで、低頻度によりこの調査で検出されなかったアリルを r として 4 アリル、さらに低頻度と思われるものを vr として 1 アリルである。

2. 蛍光ビーズ法で同定可能な HLA-C 型

現在の蛍光ビーズ法のキットを用いた検査で、1 で記載した r, vr も含めた全て 18 アリルの同定が日本人における高頻度アリルとして可能である。さらに、全米骨髄バンク (NMDP) における 0.1% 以上検出されたのは 22 アリル (表 6) についても、現在の蛍光ビーズ法のキットを用いた検査で、高頻度アリルとして同定が可能である。

3. 蛍光ビーズ法を用いた HLA-C アリルタイピング結果 (表 7)

厚生労働省研究班において、JMDP 移植ドナーと患者の HLA-C タイピングが蛍光ビーズ法を用いて実施された。総計 12373 検体のタイピングが実施され、表 5 に示すように、1 に記載した 18 アリルすべてが同定できた。さらに、2 に記載した NMDP で検出されたアリルに対しても同定が可能であった。

以上 1-3 のデータに基づき、HLA-C 必須検査法として蛍光ビーズ法を推奨する。

Ⅳ. HLA-C 検査のタイミングについて

1. ドナー必須検査法としての HLA-C 検査のタイミングは以下の順を推奨する。

1 位（最優先）：患者と適合ドナー候補数名が選定され確認検査実施時
(年間約 5500 検体を予測)

2 位：ドナー初回登録時 (年間約 35,000 検体を予測)

最終的に：HLA-A, B, DR 血清型同定ドナープールの HLA-A, B, DRB1 の DNA 型
再検時(150,000 人を予測) 但し、再検体制が整備されれば 2 位となる

2. 患者は JMDP 登録後 HLA DNA 検査実施時 HLA-C 検査も実施する。

以上

HLA抗原とその適合度

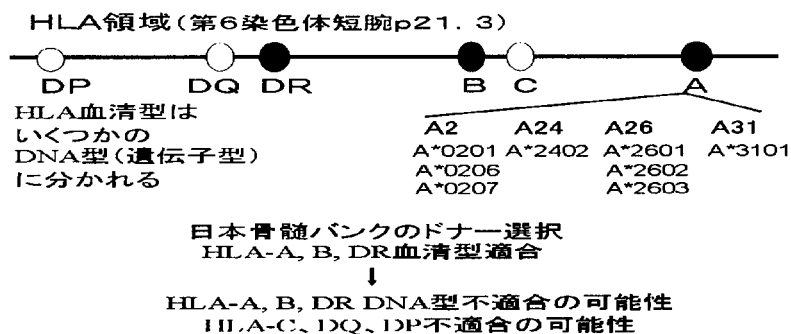


表1 JMDPを介した非血縁者間骨髄移植 5210症例の背景

年齢 中央値 30歳

疾患

急性リンパ性白血病 1301例 急性骨髄性白血病 1405例、慢性骨髄性白血病 887例
骨髄異形性症候群 597例 悪性リンパ腫 453例 再生不良性貧血 302例

GVHD予防法

ATG使用 400例 ATG未使用 4810例

シクロスポリン使用 2733例 タクロリムス使用 2437例

移植前治療：全身放射線照射 4021例 非照射 1189例 全例骨髄破壊的全治療実施

HLA座不適合の割合 (GVH方向)

HLA-A 13.4% HLA-B 6.4% HLA-C 29.2%

HLA-DRB1 19.6% HLA-DQB1 22.5% HLA-DPB1 65.7%

表2 HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1のDNA型の不適合が重症GVHDの発症と生存(死亡)に与える影響

Cox hazard modelによる多変量解析

5210症例 不適合HLA座*	%	重症GVHD		移植後の死亡	
		起こり易さ	P	起こり易さ	p
HLA-A **	13	1.41倍	<0.001	1.31倍	<0.001
HLA-B **	6	1.50倍	<0.001	1.30倍	0.001
HLA-C	29	1.93倍	<0.001	1.25倍	<0.001
HLA-DRB1**	20	1.08倍	0.424	1.03倍	0.624
HLA-DQB1	23	1.10倍	0.315	1.08倍	0.195
HLA-DPB1	66	1.25倍	0.001	1.11倍	0.021

**HLA血清型適合

表 3-1 HLA-A, B, DRB1 の DNA 型適合症例において HLA-C 不適合が重症 GVHD と生存 (死亡) に与える影響

HLA-A B DRB1 遺伝子型適合症例						
HLA-Cw 遺伝子型適合度	重症GVHD			移植後の死亡		
	N	Hazard Ratio	p	N	Hazard Ratio	p
適合	2827	1		2865	1	
1座不適合	752	1.97倍	<0.001	760	1.26倍	<0.001
2座不適合	44	2.57倍	0.001	44	1.84倍	0.002

表 3-2 HLA-A, B, DRB1 の DNA 型適合症例において HLA-C 不適合が重症 GVHD と生存 (死亡) に与える影響

HLA-A B DRB1 遺伝子型適合症例						
HLA/KIR* 適合度	n	重症GVHD		移植後の死亡		
		起こり易さ	p	起こり易さ	p	
HLA-C適合	2761	1		1		
HLA-C不適合 KIR適合	726	1.68倍	<0.001	1.21倍	0.004	
HLA-C不適合 KIR不適合	136	3.52倍	<0.001	1.42倍	<0.001	

*KIR2DLリガンド

表 4 HLA-C 型の不適合な組み合わせが、重症 GVHD と生存に与える影響

HLA型の組み合わせ ドナー - 患者	n	重症GVHD		移植後の死亡	
		起こり易さ	p	起こり易さ	p
A*0206 - A*0201	131	1.78倍	<0.001	1.41倍	0.002
A*0206 - A*0207	27	3.45倍	<0.001	1.58倍	0.009
A*2602 - A*2601	21	3.35倍	<0.001	1.58倍	0.115
A*2603 - A*2601	35	2.17倍	0.003	1.27倍	0.266
B*1501 - B*1507	19	3.34倍	<0.001	1.82倍	0.027
Cw*0304 - Cw*0801	69	3.24倍	<0.001	1.26倍	0.158
Cw*0801 - Cw*0303	80	2.32倍	<0.001	1.52倍	0.004
Cw*1402 - Cw*0304	23	3.66倍	<0.001	0.77倍	0.482
Cw*1502 - Cw*0304	27	3.77倍	<0.001	1.49倍	0.115
Cw*0303 - Cw*1502	25	3.22倍	<0.001	1.5倍	0.111
Cw*0401 - Cw*0303	42	2.81倍	<0.001	1.95倍	<0.001
Cw*1502 - Cw*1402	50	5.97倍	<0.001	1.82倍	0.001
DRB1*0405-DRB1*0403	53	2.13倍	0.003	1.19倍	0.39
DRB1*1403-DRB1*1401	23	3.19倍	<0.001	1.45倍	0.16

図1. HLA-A, B, DRB1 DNA型適合症例における HLA-C と NK 細胞受容体リガンド適合度別重症 GVHD の発症曲線

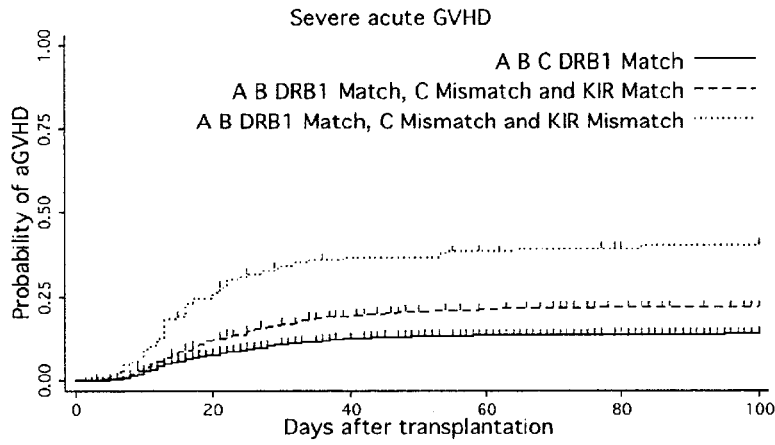


図2. HLA-A, B, DRB1 DNA型適合症例における HLA-C 適合度別生存曲線

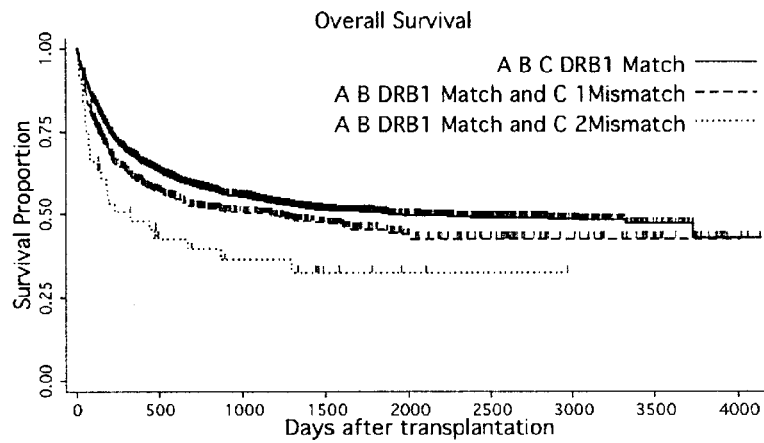


図3. HLA-A, B, DRB1 DNA型適合症例における HLA-C と NK 細胞受容体リガンド適合度別生存曲線

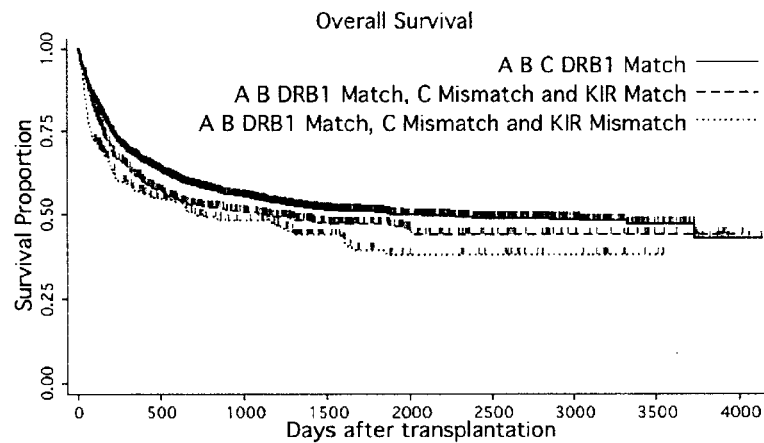


表 5. HLA-DR 血清型不適合は予後を悪くする。

HLA-A B Cw遺伝子型適合症例

HLA-DR適合度	重症GVHD			移植後の死亡		
	n	Hazard Risk	p	n	Hazard Risk	p
遺伝子型適合	2969	1		2919	1	
遺伝子型不適合 血清型適合	536	1.24倍	0.220	544	1.01倍	0.890
血清型不適合	168	1.83倍	0.007	203	1.4倍	0.011

Cox多変量解析
HLA-DQB1, DPB1, 臨床因子で調整

図 4. HLA-A, B, C DNA 型適合症例における HLA-DR 適合度別重症 GVHD

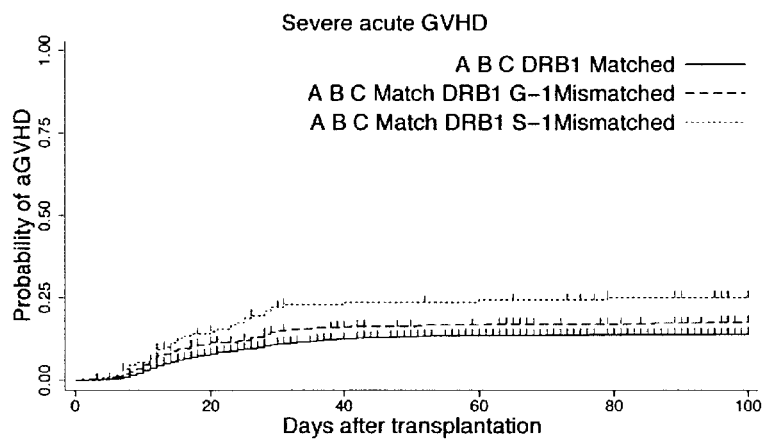


図 5. HLA-A, B, C DNA 型適合症例における HLA-DR 適合度別生存曲線

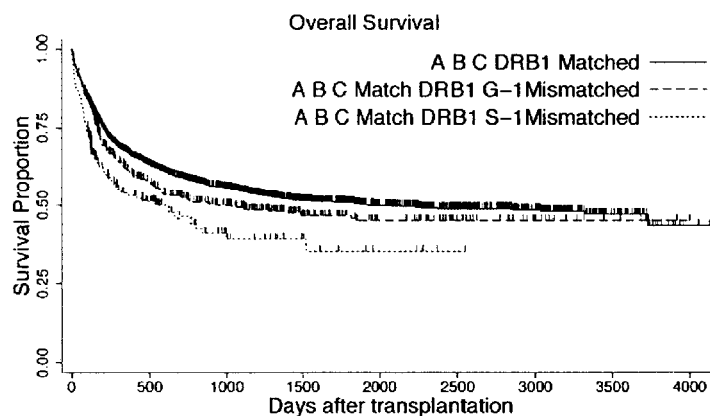


表 6. 日本人にみられる HLA-C アリルと対応抗原

(Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics. ホームページより引用)

Cw*0102	17.0	Cw1		
Cw*0103	r	Cw1	Cw1N	A*2404-Cw*0103-B*4601
Cw*0302	r	Cw10		A*3303-Cw*0302-B*5801
Cw*0303	7.8	Cw9		
Cw*03041	11.3	Cw10		
Cw*0401	6.5	Cw4		A*31012-Cw*0401-B*5601/A*1101-Cw*0401-B*1501
Cw*0501	r	Cw5		A*0301-Cw*0501-B*4402
Cw*0602	6.2	Cw6		A*0302-Cw*0602-B*1302/A*3001-Cw*0602-B*1302/A*0101-Cw*0602-B*3701
Cw*0702	11.3	Cw7		
Cw*0704	0.9	Cw7		A*?-Cw*0704-B*1518
Cw*0801	10.9	Cw8	Cw8N	
Cw*0803	2.6	Cw8		A*2402101-Cw*0803-B*4801/A*?-Cw*0803-B*5401
Cw*12022	10.4	(Cw12)	Cx52	A*2402101-Cw*12022-B*52011
Cw*1203	vr	(Cw12)		A*1102-Cw*1203-B*2704
Cw*14021	5.7	(Cw14)	Cx4451	A*31012-Cw*1402-B*51011
Cw*1403	12.2	(Cw14)	Cx44	A*3303-Cw*1403-B*44031
Cw*1502	1.7	(Cw15)	Cw6.2	
Cw*1505	r	(Cw15)		A*2901-Cw*1505-B*0705

クラス I アリル頻度、ハプロタイプは柏瀬貢一、田中秀則、中島文明氏による。

遺伝子頻度 I : Tokunaga K. *et al.* Immunogenetics 1997; 46(3) 199-205 による日本人 N=114 のアリル頻度

遺伝子頻度 II : Tanaka H. *et al.* Clinical Transplants 1996; 139-144 による日本人 N=493 のアリル頻度

その他、低頻度により上記の調査で検出されなかったアリルを r とし、さらに低頻度と思われるものを vr とした。

抗原名 : WHO Nomenclature Committee による定義 (ただし () は標準化委員会による抗原名)

ローカル抗原名 : 以前提唱された抗原名

ハプロタイプ : 日本人によくみられるハプロタイプ

表7 研究班ならびに NMDP で検出された HLA-C アリル

対象数 HLA-C アリル	研究班 N=12,373		NMDP 1) N=6,233
	遺伝子頻度(%)	数	遺伝子頻度(%)
Cw*0102	17.417	4,310	4.17
Cw*0103	0.222	55	
Cw*0202	0.012	3	6.13
Cw*0302	0.513	127	0.66
Cw*0303	12.208	3,021	7.16
Cw*0304	11.856	2,934	9.67
Cw*0401	4.150	1,027	11.81
Cw*0501	0.315	78	9.29
Cw*0602	0.626	155	10.67
Cw*0701	0.028	7	4.88
Cw*0702	12.560	3,108	15.66
Cw*0704	0.788	195	0.87
Cw*0801	6.837	1,692	0.50
Cw*0803	1.192	295	3.75
Cw*1202	14.475	3,582	1.36
Cw*1203	0.040	10	3.82
Cw*1402	6.518	1,613	1.49
Cw*1403	7.625	1,887	0.14
Cw*1502	2.598	643	1.72
Cw*1505			0.29
Cw*1514	0.008	2	
Cw*1601			4.43
Cw*1602	0.004	1	0.35
Cw*1701			0.32

Reference

- 1) G. M. Th. Schreuder et. al. : Tissue Antigens 2005: 65: 1-55

骨髄移植のドナー登録時におけるC座検査の導入について

○ 経緯

- ・ 現在の登録検査では、HLA-A、HLA-B、及びHLA-DRの3座を検査し、確認検査でもこの3座を必須、HLA-Cを選択としている。HLA-Cの検査の実施率は、22%（平成19年度上半期）である。
- ・ 厚生労働科学研究班において、HLA適合度と移植成績との関連を解析した結果、従来のHLA-A、B、DRB1に加え、HLA-Cが移植成績に及ぼす影響が明確になった。
- ・ この結果を踏まえ、骨髄移植推進財団HLA委員会において、ドナー登録におけるHLA-C導入について検討がなされ、当面の対処として、確認検査における必須検査として導入すべき等との結論が得られた。
また、HLA-Cの検査においても、従来の蛍光ビーズ法を用いることが推奨された。

○ 導入することによるメリット

- ・ HLA-C不適合の場合、重症急性GVHDの発症頻度が高く、生存率が低下する。C座を適合させることによって、GVHDの発症を抑え生存率を改善することが可能

○ 論点

- ・ HLA-Cの不適合の割合は約30%である。C座検査導入によって不適合が確認されるこれらの事例は、どのように取り扱われるのか。
- ・ 現在、HLA-Bを必ず一致させており、その結果、多くの場合（約70%）でHLA-Cも一致している。必須検査にすることによりどのような効果が見込まれるのか。
- ・ HLA-Cの検査の導入は、他と比べ格段に必要性が高いと言えるか。また、HLA-Cの検査を導入する場合に、HLA-A、HLA-B、及びHLA-DRの3座の検査が引き続き必要なのか。
- ・ すでに登録済みの検体について、HLA-C検査をどうするか。