

令和 5 年 5 月 6 日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17550

研究課題名（和文）One-way HLA matchingによる肝移植後GVHDの発症機構の解明

研究課題名（英文）Impact of one-way HLA matching on GVHD following liver transplantation

研究代表者

木口 剛造（Kiguchi, Gozo）

藤田医科大学・医学部・研究員

研究者番号：00740672

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：HLAホモ接合型のドナーから1ハプロタイプを共有するHLAヘテロ接合型レシピエントへの肝移植はDonor dominant one-way HLA matching（DDOM）と呼ばれ肝移植後GVHDのリスクとなる。後方視的臨床研究からHLA-A/B/DR 3座のDDOMがGVHD発症に関連しHLA-C/DQ/DPの関連は小さいことが判明した。しかしA/B/DR 3座のDDOMであってもGVHDを発症しないこと、DDOMと無関係なGVHD発症があることも同時に判明した。他施設における肝移植後GVHD発症例の検討からも本結果の妥当性が確かめられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝移植後のGVHDは稀だが確立された治療法がなく致死的である。HLAホモ接合型のドナーから1ハプロタイプを共有するHLAヘテロ接合型レシピエントへの肝移植はDonor dominant one-way HLA matching（DDOM）と呼ばれ、GVHDのリスクとされてきたが、HLAのローカスごとの意義については明らかにされてこなかった。本研究によりHLA-A, B, DR三座のDDOMは極めてリスクが高いため、そのような組み合わせとなるドナーは避けるべきであることが判明した。また、HLA-C, DQ, DPのDDOMの意義は乏しいと考えられた。

研究成果の概要（英文）：Donor-dominant one-way matching at three human leukocyte antigen (HLA) loci (HLA-A/B/DR) has been suggested to be associated with the development of GVHD, but the exact significance of HLA matching involving HLA-C/DQ/DP remains unclear. In 75% of cases with GVHD, donor-dominant one-way HLA matching was identified at three loci, HLA-A/B/DR. These cases also showed donor-dominant one-way HLA matching at HLA-C/DQ/DP. 50% of cases with donor-dominant one-way HLA matching at the three HLA-A/B/DR loci developed GVHD. Regardless of HLA-C/DQ/DP matching status, none of the cases with donor-dominant one-way HLA matching at one or two loci of HLA-A/B/DR developed GVHD. To prevent GVHD, it is better not to match donors and recipients with donor-dominant one-way HLA matching at the HLA-A/B/DR 3 locus. HLA-C/DQ/DP have no confirmed effect on GVHD.

研究分野：移植外科

キーワード：肝移植 GVHD HLA

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肝移植後の合併症としてGraft-Versus-Host-Disease (以下GVHD)がある。肝移植後GVHDは0.1-2%と稀だが、一度発症すれば死亡率85-90%と致死的であるため予防が重要である。発症要因として、HLAホモ接合をもつドナーとハプロタイプを共有するヘテロ接合のレシピエントとの移植で生じるone-way HLA matching (以下one-way)があり、これは、レシピエントの免疫状態によらない発症因子とされる。この概念は、輸血後GVHDの発症因子として同定された。one-wayは、閉鎖された島国で形成され、ハプロタイプ頻度に偏りがあり、ハプロタイプがホモ接合になりやすい日本人で特に起きやすく、海外での検討は症例報告のみである。現在、肝移植ではHLA-A, B, DRの3ローカス全て(MHC classI,II)でone-wayである場合、不適格ドナーとされているが、2ローカス(MHC classIのみ)でone-wayでもGVHDが生じる例が報告されており、全ローカスでone-wayだけでなく各ローカスでのone-wayを考える必要があるのか、HLA-C, DQ, DPとの関連はあるのか、MHC classIとIIの違いが発症に関わるのか、に関して詳細は明らかでない。輸血後GVHDでも2ローカスのone-wayで発症した例はあるものの、2000年以降放射線照射により輸血後GVHDが根絶され、one-wayによるGVHD発症要因に関しての検討はなされておらず、不明なままである。

2. 研究の目的

本研究は、one-way HLA matchingによる肝移植後GVHDの発症機構を解明することを目的とする。今日までに肝移植後GVHD発症例の全国集計はなく、関連論文は症例報告を除けば2012年まで遡る。さらに、HLA-A, B, DR以外のC, DQ, DPとの関連や、血清型タイピング(2桁レベル)ではない、より詳細な遺伝子型タイピング(4桁レベル)を含めた検討は前例がない。上記の点を明らかにすることは独自性が高いといえる。one-way HLA matchingとGVHD発症機構の関連が明らかになると、その組み合わせとなるドナーを不適格として除外でき、GVHD予防につながる。

3. 研究の方法

臨床研究として後方視的に以下の対象と方法によりデータを集積し、解析した。1990年6月から2019年6月までに京都大学病院で施行された生体肝移植症例(成人と小児を含む)1851例のうち、ドナーとレシピエント両方のHLAタイピングが判明している1759例を対象に、全ドナー、レシピエントの臨床データ(HLAタイピング、GVHD発症の有無)を後ろ向きに集積した。対象症例数は、1759例であるが、one-wayとGVHD発症の有無との関連を検討する上で、十分な症例数と判断した。HLAタイピングについては、京都大学病院輸血細胞治療部に保存されているそれぞれの患者血液検体を用いて、HLA-A, B, C, DR, DQ, DP 6ローカスの遺伝子型タイピングを新たに実施した。

まずはGVHD発症例のHLA-A, B, C, DR, DQ, DP 6ローカスの遺伝子型タイピング(4桁レベル)からそれぞれのローカスでのHLAの組み合わせ(one-way/identical/mismatch)を明らかにした。次に、全対象ドナーとレシピエントのHLA-A, B, C, DR, DQ, DP 6ローカスを比較し、one-wayとなるローカスをもつ症例を抽出する。さらに、HLA-A, B, DRの3ローカス全てでone-way症例、2ローカスでone-way症例を抽出し、その症例の中でHLA-C, DQ, DPの3ローカスがどのような組み合わせか(one-way/identical/mismatch)を明らかにする。GVHD発症例と非発症例の組み合わせの違いを比較することでone-wayとGVHD発症の関連を明らかにする。また、MHC classI(HLA-A, B, C)とclassII(HLA-DR, DQ, DP)に分けた場合、その組み合わせの違いでGVHD発症

に関連があるかを明らかにする。また、既報でのGVHD発症例と同じHLAの組み合わせをもつ症例を抽出し、それらの症例にGVHDが発症しているかに加え、それぞれのローカスでのHLAの組み合わせ (one-way/identical/mismatch) を明らかにする。実臨床においてどのような組み合わせでGVHDが発症しているかが明らかになる。

4. 研究成果

2000年3月までの468例は血清学的タイピング(抗原レベル)、2000年4月から2009年6月までの823例はPCR-SSP法(抗原レベル)、2009年7月から2019年6月までの468例はPCR-SSOP法(アレルレベル)でタイピングされていた。A/B/DR3座のうち、1座以上でone-way HLA matchingを持つ症例を抽出し、C/DQ/DP座も含めGVHDとの相関性を解析した。抽出した症例のうち、保存DNAの存在する56例はアレルレベルで再タイピングを行った。

研究対象者を、成人と小児(18歳未満)に分けた。成人群および小児群の症例のうち、それぞれ68%および96%が、両親、兄弟、子供などの近親者をドナーとしたものであった。

1,759例のうちGVHDを発症したのは4例だった。これら4例のうち、3例がドナー優位のone-way HLA matchingであり、ドナーはすべてHLAホモ接合体であった。1例目と2例目はGVHDが原因で死亡したため、2000年3月よりHLA-A、-B、-DRの3座でドナー優位のone-way HLA matchingとなる移植を除外した。その後、1,300例以上の症例のうち、3例目と4例目を除き、GVHDを発症した症例はなかった。症例#3では、GVHDの危険性を認識していたが、代替ドナー候補がいなかったため、肝移植を実施していた。症例#4では、すべてのHLA座でミスマッチであったため、ドナー優位のone-way HLA matchingとGVHDの関連性は認められなかった。全例が急性発症であった。

まず、全例についてHLA-A、-B、-C、-DR、-DQの抗原レベルでのHLA適合度を解析し、HLA-A、-B、-DRがone-way HLA matchingである症例を抽出した。次に、これらの症例をHLA-A、-B、-DRにおけるone-way HLA matching座の数によって分類した。HLA-A、-B、-DRの1つの遺伝子座でone-way HLA matchingの症例については、他の2つの遺伝子座の両方でidenticalのもの、他の2つの遺伝子座のいずれかでホモ接合体-ホモ接合体のidenticalの組み合わせを持つものを選んだ。

次に、これらの症例のうち、PCR-SSPでタイピングされた症例は、保存されたDNAサンプルを用いて、HLA-DP(DPB1)を含む4桁のアレルレベルでPCR-SSOPにより再タイピングした。PCR-SSOPにより抗原レベルでタイピングされた症例は、HLA-DP(DPB1)を含む4桁のアレルレベルでも再確認された。従来の血清学的HLAタイピング症例は、DNAサンプルが保存されていないため、再タイピングできなかった。最後に、ドナー優位のone-way HLA matchingがGVHDに与える影響を評価するため、対象者をドナー優位のone-way HLA matching座の数に応じて、以下の6群に分けた。

グループ1: HLA-A、-B、-DRの3座でドナー優位のone-way HLA matching

グループ2: HLA-A、-B、-DRの2座でドナー優位のone-way HLA matching、1座でidenticalの組み合わせ

グループ3: HLA-A、-Bの2座でドナー優位のone-way HLA matching

グループ4: HLA-A、-DRの2座でドナー優位のone-way HLA matching

グループ5: HLA-B、-DRの2座でドナー優位のone-way HLA matching

グループ6: HLA-A、-B、-DRの1座でドナー優位のone-way HLA matching、2座でidenticalの組み合わせ

以上の方法で、94 例を抗原レベルで抽出し、56 例をアレルレベルで再確認した。残りの 38 例は、DNA サンプルが保存されていなかったため、再タイピングはできなかった。アレルレベルで再確認された 56 例のうち、ドナー優位の one-way HLA matching に関連する 22 例について、HLA 適合度が修正された。そのうち、2 例の HLA 適合度は、ホモ接合体-ホモ接合体の identical の組み合わせからドナー優位の one-way HLA matching に修正され、残りの 20 例はドナー優位の one-way HLA matching から mismatch に修正された。

アレルレベルへの修正後、HLA-A、-B、-DR におけるドナー優位の one-way HLA matching の数により、6 群に分類された。GVHD はグループ 1 のみで発生し、グループ 2-6 では GVHD の発生例はなく、グループ 1 の 50% が GVHD を発症した。グループ 1 では、HLA-C、-DQ、-DP は、全例でドナー優位の one-way HLA matching であった。グループ 5 の 3 例は、HLA-C、-DQ、-DP の 3 座でドナー優位の one-way HLA matching が見られたが、GVHD への影響はなかった。HLA-C、-DQ、-DP が GVHD に与える有意な影響は確認されなかった。また、グループ 2 の 3 例とグループ 6 の 6 例では、ドナー優位の one-way HLA matching が、すべての HLA 座で identical の組み合わせであったが、これも GVHD への影響はなかった。

6 つのグループにおいてドナー優位の one-way HLA matching が全生存、グラフト生存に与える影響を検討した。(観察期間中央値はそれぞれ 9.98 年 (IQR、3.22 ~ 17.92)、8.48 年 (IQR、2.70 ~ 14.58))。全生存率およびグラフト生存率は、有意に層別化された (それぞれ $P = 0.01$ および 0.03)。10 年全生存率およびグラフト生存率は、それぞれグループ 1 で 17% および 17%、グループ 2 で 86% および 57%、グループ 3 で 71% および 71%、グループ 4 で 83% および 65%、グループ 5 で 71% および 71%、グループ 6 で 56% および 56% であった。グループ 1 を除いた解析では、全生存率、グラフト生存率ともに有意差はなかった。

以上の結果を以下に述べる。

HLA-C/DQ/DP 座の GVHD 発症への影響は少なく、やはり A/B/DR 3 座の one-way HLA matching となるドナーは GVHD 発症のリスクが高く、除外すべきである。A/B/DR のうち 1/2 座の one-way HLA matching となるドナーは必ずしも除外する必要はない。また、肝移植前の HLA タイピングはアレルレベルでなされることが重要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hirata Masaaki, Yagi Shintaro, Shindo Takero, Yoshizawa Atsushi, Kiguchi Gozo, Kaneshiro Masakatsu, Yurugi Kimiko, Miyachi Yosuke, Iwamura Sena, Yao Siyuan, Uemoto Shinji	4. 巻 51
2. 論文標題 Donor dominant one way matching of human leukocyte antigen A/B/DR alleles predicts graft versus host disease following living donor liver transplantation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Hepatology Research	6. 最初と最後の頁 135 ~ 148
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/hepr.13579	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	平田 真章 (Hirata Masaaki)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------