様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９　（共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

令和　７ 年　 ９ 月 ３０ 日現在

機関番号：８２６８５
研究種目：若手研究
研究期間：2022～2024
課題番号：２２Ｋ１５６１５

研究課題名（和文）難治性造血器腫瘍における移植片対白血病(GVL)効果予測検査法の開発に関する研究

研究課題名（英文）Predicting the effect of graft-versus-leukemia (GVL) effect for refractory hematological malignancy

研究代表者
名島　悠峰（Najima, Yuho）

地方独立行政法人東京都立病院機構東京都立駒込病院（臨床研究室）・血液内科・医長

研究者番号：８０７５０４７１

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、難治性血液腫瘍に対する同種造血幹細胞移植後再発の免疫逃避機序であるHLA遺伝子欠失を高感度に検出する解析系を整備した。単施設後方視的解析で再発検体を解析し、HLA欠失の頻度・出現時期・関連因子を明らかにした。研究室レベルで検出系を確立したが、臨床への迅速返却体制は未達で今後の課題である。得られた知見は移植後モニタリング、DLI導入、再移植ドナー選択に応用可能性を示す。2022～2025年度に査読付英文論文7報（うち3報は本課題関連）を公表し、学会発表10件を行った。関連論文1報はLeukemia ResearchでMajor Revision中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義
本研究は、同種造血幹細胞移植後再発の主要機序であるHLA遺伝子喪失に着目し、高感度分子解析系を整備して再発メカニズムの解明に寄与した。得られた知見は移植後モニタリング強化、ドナーリンパ球輸注や再移植ドナー選択の指針改善に資する基盤となる。2022～2025年度に査読付英文論文7報（うち3報は本課題関連）、学会発表10件を通じて成果を発信し、関連論文1報はLeukemia ResearchでMajor Revision中である。これらの成果は安全かつ効果的な移植医療の標準化と予後改善に貢献する。

研究成果の概要（英文）：This study developed a high-sensitivity molecular pipeline using targeted NGS and custom array CGH/SNP to detect HLA gene loss, a key immune escape mechanism in relapse after allogeneic stem cell transplantation for refractory hematologic malignancies. In a single-center retrospective analysis, relapse specimens were assessed to clarify the frequency, timing, and associated factors of HLA loss. The pipeline was established at the laboratory level, but a practical system for timely clinical reporting has not yet been achieved and remains a future challenge. These findings suggest potential applications in post-transplant monitoring, donor lymphocyte infusion, and donor selection for retransplantation. Between FY2022-2025, seven peer-reviewed papers were published (including three directly related to this project) and ten conference presentations were delivered. One related manuscript is currently under major revision in Leukemia Research.

研究分野：血液学

キーワード：同種造血幹細胞移植　移植後再発　HLA欠失　免疫逃避機構　次世代シーケンシング(NGS)　分子モニタリング　クローン進化

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様　式　Ｃ－１９、Ｆ－１９－１、Ｚ－１９（共通）

１．研究開始当初の背景

造血幹細胞移植（特に HLA 半合致移植：ハプロ移植）では、強力な移植片対白血病（GVL）効果が期待される一方で、依然として移植後再発が主要な課題である。再発の一因として、白血病細胞がアロ免疫反応から逃避する免疫エスケープがあり、HLA 領域の獲得性片親性ダイソミー（aUPD/cnLOH）や HLA Class II 発現低下など、HLA に関わる遺伝学的/発現異常が重要な機序とされている。本研究は、この HLA 関連免疫エスケープを臨床検体で高感度に捉え、GVL 効果の予測とドナー選定に資する実用的検査系を構築する必要性から出発した。

２．研究の目的

【主目的】白血病細胞における HLA 遺伝子異常（コピー数異常、aUPD/cnLOH、SNV/indel）および発現低下を、臨床検体で高感度に検出する分子解析手法を開発・標準化し、その結果を移植前後のドナー選定や再発予測に活用可能な形で臨床へ迅速に返却する。

【副目的】(1) HLA 領域 5 Mbp に焦点を当てたカスタム aCGH/SNP アレイの設計・最適化、(2) HLA ターゲット NGS（One Lambda AllType＋Illumina）による塩基レベル異常の同定と解析パイプライン整備（HLA-VBSeq、GATK、LOHHLA 等）、(3) HLA Class II 発現低下評価のための 1 細胞 RNA 発現解析のフィージビリティ検証、(4) 検査報告フォーマットと院内返却フローの確立（Turnaround time, TAT 短縮を含む）。

３．研究の方法

【デザイン・対象】単施設での前向き/後方視的解析。対象は難治性造血器腫瘍に対して同種移植を受けた成人症例。診断時および移植後再発時の骨髄単核球（余剰検体）を中心に解析し、臨床情報・MRD 所見と統合する。

【測定系】(A) カスタム aCGH/SNP アレイ：HLA 遺伝子群（chr6:29–34 Mb）に高密度プローブを配置し、コピー数異常と aUPD/cnLOH を同時検出。(B) HLA ターゲット DNA シークエンス：既知の患者・ドナーHLA タイピング情報と芽球率を踏まえ、MiSeq で配列取得、HLA アリル参照へマッピングし、SNV/indel とアリル頻度の変化を移植前後で比較解析。(C) HLA 発現評価：1 細胞 RNA 発現解析により HLA Class II のアリル特異的発現低下を探索。(D) 結果返却：標準作業手順書と報告テンプレートを整備し、院内での合議・運用を確立。

【統計】再発・無再発生存、非再発死亡、GVHD など臨床転帰と分子所見の関連を記述・探索的に評価し、再発予測に資する判定基準の暫定化を行う。

４．研究成果

（１）研究系の構築と実証

本課題では、移植後再発における免疫エスケープ機序のひとつである HLA 遺伝子喪失（獲得性片親性ダイソミー＝cnLOH など）に注目し、その高感度検出を可能とする分子解析系を整備した。具体的には、HLA 領域に特化したカスタム aCGH/SNP アレイを設計し、コピー数異常と cnLOH の同時検出を実現した。また、HLA ターゲット NGS を導入し、SNV/indel やアリル頻度の変化を捉える解析パイプラインを構築した。
これらを用いて単施設の後方視的コホート解析を行い、HLA 喪失の頻度・出現時期・関連因子を明らかにした。これにより、研究室レベルでの検出系を確立することに成功した。ただし、臨床返却体制の構築や TAT 短縮の実装には至っておらず、現時点では臨床応用は今後の課題である。

（２）学術的成果の発信

研究成果は積極的に発信し、2022～2025 年度に査読付英文論文 7 報を公表した。そのうち 3 報は本課題に直結する責任著者論文であり、Leukemia Research, Bone Marrow Transplantation, Frontiers in Immunology に掲載された。また、国内外の学会において 10 件の発表（国内 8 件、うち招待講演 2 件、国際学会 2 件）を行った。さらに、HLA 1 座不一致非血縁者間骨髄移植後における HLA 遺伝子喪失を扱った英文論文を Leukemia Research に投稿しており、現在 Major Revision に対応中である。

（３）臨床的意義と研究インパクト

本研究の成果は、HLA 関連免疫エスケープの“見える化”を通じて、移植後再発のリスク層別化や治療方針決定に資するものである。これにより、従来は発症後にしか把握できなかった免疫エスケープを分子レベルで早期に捉えることが可能となり、ドナーリンパ球輸注（DLI）の導入時期、分子標的薬や維持療法の適応判断、再移植ドナーの選択など、臨床意思決定の質を高める可能性が示された。ひいては、安全で効果的な移植医療の標準化や予後改善に寄与する知見を提供したと考えられる。

（４）限界と今後の課題

一方で、いくつかの課題が残された。まず、臨床返却体制の構築や TAT 短縮は未達成であり、実臨床での実装にはさらなる整備が必要である。また、低腫瘍量検体における検出感度の限界が明らかとなり、濃縮法や解析条件の最適化が今後の課題となった。さらに、単一細胞レベルでの HLA 発現解析については試験的に取り組んだが、ルーチン検査として実装するには技術的・コスト的なハードルが高く、追加研究が求められる。今後は、多施設共同研究や全国的な枠組みを通じて外部検証を進め、臨床応用可能な検査体制に発展させることが重要である。

５．主な発表論文等

〔雑誌論文〕　計7件（うち査読付論文　7件／うち国際共著　3件／うちオープンアクセス　3件）

１．著者名 Najima Yuho	４．巻 118
２．論文標題 Overcoming relapse: prophylactic or pre-emptive use of azacitidine or FLT3 inhibitors after allogeneic transplantation for AML or MDS	５．発行年 2023年
３．雑誌名 International Journal of Hematology	６．最初と最後の頁 169～182
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s12185-023-03596-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

１．著者名 名島 悠峰	４．巻 64
２．論文標題 FLT3変異陽性AML治療の新展開	５．発行年 2023年
３．雑誌名 臨床血液	６．最初と最後の頁 932～941
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11406/rinketsu.64.932	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 －

１．著者名 Shingai Naoki、Mizumaki Hiroki、Najima Yuho、Yamada Yuta、Tran Dung Cao、Haraguchi Kyoko、Toya Takashi、Okuyama Yoshiki、Doki Noriko、Nannya Yasuhito、Ogawa Seishi、Nakao Shinji	４．巻 14
２．論文標題 Case report: Immune pressure on hematopoietic stem cells can drastically expand glycosylphosphatidylinositol-deficient clones in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria	５．発行年 2024年
３．雑誌名 Frontiers in Immunology	６．最初と最後の頁 NA
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2023.1329403	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

１．著者名 Najima Yuho、Maeda Tomoya、Kamiyama Yutaro、et al.	４．巻 29
２．論文標題 Effectiveness and safety of granulocyte colony-stimulating factor priming regimen for acute myeloid leukemia: A systematic review and meta-analysis of the Clinical Practice Guideline for the use of G-CSF 2022 from the Japan Society of Clinical Oncology	５．発行年 2024年
３．雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	６．最初と最後の頁 899～910
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s10147-023-02461-4	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 該当する

1．著者名 Kaito Satoshi、Najima Yuho、Sadato Daichi、Hirama Chizuko、Kishida Yuya、Nagata Akihito、Konishi Tatsuya、Yamada Yuta、Kurosawa Shuhei、Yoshifuji Kota、Shirane Shuichi、Shingai Naoki、Toya Takashi、Shimizu Hiroaki、Haraguchi Kyoko、Kobayashi Takeshi、Harada Hironori、Okuyama Yoshiki、Harada Yuka、Doki Noriko	4．巻 59
2．論文標題 Azacitidine and gemtuzumab ozogamicin as post-transplant maintenance therapy for high-risk hematologic malignancies	5．発行年 2024年
3．雑誌名 Bone Marrow Transplantation	6．最初と最後の頁 1169～1175
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41409-024-02311-5	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 －

1．著者名 Uchibori Yusuke、Kurosawa Shuhei、Najima Yuho、et al.	4．巻 16
2．論文標題 Changes in donor lymphocyte infusion for relapsed patients post-hematopoietic stem cell transplantation: a 30-year single-center experience	5．発行年 2025年
3．雑誌名 Frontiers in Immunology	6．最初と最後の頁 1521895
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2025.1521895	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 －

1．著者名 Kondo Kaori、Najima Yuho、Sadato Daichi、et al.	4．巻 153
2．論文標題 Pre-transplant blinatumomab and/or inotuzumab ozogamicin therapy for relapsed/refractory acute lymphoblastic and B/myeloid mixed phenotype acute leukemia in adults	5．発行年 2025年
3．雑誌名 Leukemia Research	6．最初と最後の頁 107704
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.leukres.2025.107704	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10件（うち招待講演　2件／うち国際学会　2件）

1．発表者名 Najima Yuho
2．発表標題 Outcomes after Hematopoietic Cell Transplantation for T-Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia and Lymphoma: A Cooperative Study from the Adult Acute Lymphoblastic Leukemia Working Group and the Adult Malignant Lymphoma Working Group of the Japanese Society for Transplantation and Cellular Therapy
3．学会等名 The 65th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition（国際学会）
4．発表年 2023年

１．発表者名 Sadaga Yasutaka
２．発表標題 A Novel Scoring System Using Geriatric Nutritional Risk Index, C-Reactive Protein, and Disease Status Predicts Survival after Second Allogeneic Stem Cell Transplantation
３．学会等名 The 65th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition（国際学会）
４．発表年 2023年

１．発表者名 名島 悠峰
２．発表標題 FLT3変異陽性AML治療の新展開　教育講演 EL2-3-5
３．学会等名 第85回日本血液学会学術集会（招待講演）
４．発表年 2023年

１．発表者名 古城 凱利
２．発表標題 非血縁者間骨髄移植後再発時にレシピエント特異的HLAの欠失を認めた急性骨髄性白血病
３．学会等名 第46回日本造血・免疫細胞療法学会総会
４．発表年 2024年

１．発表者名 名島 悠峰
２．発表標題 Outcomes after Hematopoietic Cell Transplantation for T-Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia and Lymphoma: A Cooperative Study from the Adult Acute Lymphoblastic Leukemia Working Group and the Adult Malignant Lymphoma Working Group of the Japanese Society for Transplantation and Cellular Therapy
３．学会等名 第46回日本造血・免疫細胞療法学会総会
４．発表年 2024年

１．発表者名 加藤 千賀
２．発表標題 急性骨髄性白血病/骨髄異形成症候群に対して同種移植後に維持療法としてベネトクラクスを使用した20例(02-10B-4)
３．学会等名 第86回日本血液学会学術集会
４．発表年 2024年

１．発表者名 名島 悠峰
２．発表標題 QuANTUM-First: FLT3-ITD-specific MRD clearance is associated with improved overall survival(01-5B-1)
３．学会等名 第86回日本血液学会学術集会
４．発表年 2024年

１．発表者名 名島 悠峰
２．発表標題 BMT-CTN1506追加解析：移植後のGilteritinibとFLT3-ITD MRDの意義(02-10B-1)
３．学会等名 第86回日本血液学会学術集会
４．発表年 2024年

１．発表者名 名島 悠峰
２．発表標題 クリニカルディベート： 70歳前後の初発FLT3+AMLに対して、DNR/AraC/QUIZAあるいはVEN/AZAいずれを用いるべきか(CD1-1-2)
３．学会等名 第86回日本血液学会学術集会（招待講演）
４．発表年 2024年

１．発表者名 稲井 一貴
２．発表標題 末梢血WT1-mRNAと骨髄NPM1変異によるMRDに乖離が生じたFLT3-ITD変異陽性急性骨髄性白血病の一例(P-077)
３．学会等名 第47回日本造血・免疫細胞療法学会
４．発表年 2025年

〔図書〕　計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

特記すべきことなし。

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

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