

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 23 日現在

機関番号：18001

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461455

研究課題名(和文) 同種造血幹細胞移植におけるHLAハプロタイプに基づく移植免疫反応の解析

研究課題名(英文) HLA haplotype effects in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation

研究代表者

森島 聡子 (MORISHIMA, Satoko)

琉球大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：40463195

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、HLA領域のSNPデータを用いて日本人の主なHLAハプロタイプの構造を解明した。また、非血縁者間骨髄移植(UR-BMT)において移植片対宿主病(GVHD)のリスクとなるHLAアリルとハプロタイプを同定した。特に患者のHLA-C\*14:02が不適合となっていることが重症急性GVHDと移植後死亡の最も高いリスク因子となった。これまで日本人のUR-BMTにおいて重症GVHDのハイリスク因子と考えられてきたNK細胞受容体リガンド不適合の中で、リスクとなるのは患者のHLA-C\*14:02が不適合の場合で、UR-BMTにおける患者の不適合HLA-C\*14:02は許容できないことを示した。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated the structure of Japanese common HLA haplotypes using multi-SNP data in HLA region of 1500 patient-donor unrelated bone marrow transplantation (UR-BMT) pairs.

We also identified high-risk HLA alleles and haplotypes for severe acute graft-versus-host disease (aGVHD) using database of 6967 UR-BMT pairs from the Japan Marrow Donor Program. The patient and/or donor HLA-B\*51:01 and patient HLA-C\*14:02 were significantly associated with an increased risk of severe aGVHD. Furthermore, patient mismatched HLA-C\*14:02 showed the highest risk of severe aGVHD and overall mortality among all patient mismatched HLA-C alleles. KIR2DL-ligand mismatch has been considered as high-risk HLA-C mismatch in Japanese UR-BMT, however our data demonstrated that the effect of KIR2DL-ligand mismatch was attributable to patient HLA-C\*14:02 and donor HLA-C\*15:02 mismatch combination. Patient mismatched HLA-C\*14:02 should be considered a non-permissive HLA-C mismatch in donor selection for UR-BMT.

研究分野：血液内科学

キーワード：同種造血幹細胞移植 HLA HLAハプロタイプ 急性GVHD

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 日本骨髄バンク (JMDP) からの非血縁者間骨髄移植が 14000 例以上、日本さい帯血ネットワークからの移植が 10000 例以上実施されているが、長期生存例は約半数に留まり満足すべきものではない。成績を悪化させる主な要因は重症移植片対宿主病 (GVHD) の発症、移植片の拒絶と移植後の再発であり、ドナー・臍帯血と患者との組織適合性抗原、とくに HLA 型の違いがこれら移植免疫反応と生存に大きく関与する。

(2) HLA ハプロタイプ (HLA-HP) とは HLA 領域で同一染色体上にのっている各遺伝子座のアリルの組み合わせである。HLA 領域には免疫と関連した遺伝子が集中して存在し、HLA 型や HLA-HP と自己免疫疾患、感染症、悪性腫瘍などの疾患感受性の関連が数多く報告されている。しかしながら、同種造血幹細胞移植においては、移植免疫反応により生じる GVHD や移植後の再発抑制効果 (移植片対白血病効果: GVL 効果) と患者やドナーの HLA 型や HLA-HP そのものとの関連はほとんど明らかにされていないのが現状であった。

### 2. 研究の目的

本研究は、非血縁者間骨髄移植を施行したドナーと患者の HLA アリル型や HLA-HP と移植後の GVHD や移植成績との関連を解析し、従来患者とドナーの HLA 座の不適合という視点で行われてきた多くの解析とは異なるアプローチで HLA と移植免疫の関連を解析することを目的とした。

さらに、日本人の主要な HLA-HP の構造を明らかにし、GVHD や移植免疫反応と関連する HLA 領域の責任部位を同定することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) HLA アリルや HLA-HP が移植免疫反応に及ぼす影響の解析

日本骨髄バンク (JMDP) を介して実施された非血縁者間骨髄移植ペアで HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1 のアリルが後方視的に retyping された 6967 ペアのデータベースを用いた。EM アルゴリズムを用いて A-C-B-DRB1-DQB1-DPB1, A-C-B-DRB1-DQB1, C-B-DRB1, C-B, DRB1-BQB1-DPB1 など様々なローカスの組み合わせで HLA-HP の頻度を算定し、頻度が 5% 以上の HLA-HP と HLA アリル型をドナーと患者別に選択し、HLA-HP または HLA アリル型を所有することと急性 GVHD のリスクの関連を解析した。統計学的解析法として competing risk regression 法を用い、変数として臨床因子と HLA 座適合度により調整した。

(2) HLA-HP のブロック構造の同定

JMDP 症例でゲノムワイド関連解析が実施された 1500 ペアの HLA 領域の約 900 個の SNP データを用いた。日本人で頻度の高い HLA-HP のホモ接合体で得られたコンセンサス配列

を基にしてヘテロ接合体における対照 HLA-HP の SNP 配列を Clark 法に準じて順次同定した。日本人の主要な HLA-HP を複数比較することにより、各 HP が共有する領域を同定した。

### 4. 研究成果

(1) HLA アリルや HLA-HP が移植免疫反応に及ぼす影響の解析

JMDP を介して移植が行われた患者とドナー-6967 ペアの HLA アリルのリタイピングデータと臨床データを用いて解析した。患者とドナーの HLA-A\*33:03, -C\*14:03, -B\*44:03, -DRB1\*13:02, -DQB1\*06:04 は有意に急性 GVHD 2-4 度のリスクが低いこと関連し、一方、患者とドナーの HLA-B\*51:01 と患者の HLA-C\*14:02 は有意に急性 GVHD 3-4 度のリスクが高いことと関連することを示した。更に、患者の HLA-C\*14:02 が不適合となっていることが重症急性 GVHD (図 1) と移植後死亡 (図 2) の最も高いリスク因子となっていることを明らかにした。

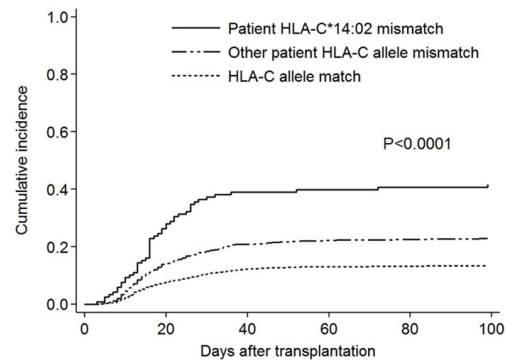


図 1: 患者不適合 HLA-C と重症急性 GVHD

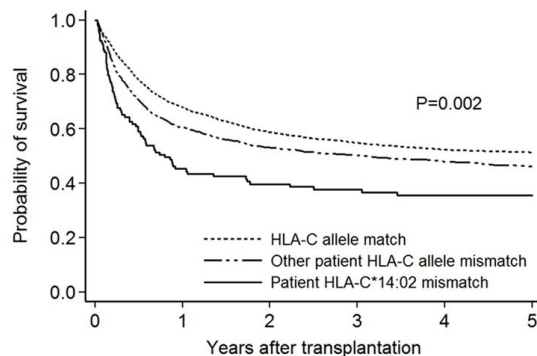


図 2: 患者不適合 HLA-C と移植後生存

日本人に特徴的なハプロタイプである HLA-C\*14:02-B\*51:01 を患者が有し、HLA-C\*15:02-B\*51:01 をドナーが有して HLA-C の不適合になっている場合、NK 細胞受容体リガンドの GVH 方向不適合となり、重症急性 GVHD のリスクが非常に高いことが判明した。これまで日本人の非血縁者間骨髄移植において重症 GVHD のリスク因子であると考えられてきた NK 細胞受容体リガンド GVH 不

適合の中で重症 GVHD のリスクとなるのは患者の HLA-C\*14:02 が不適合となっている場合であることを明らかにし、患者の不適合 HLA-C\*14:02 が許容できない不適合であることを示した。

## (2) HLA-HP のブロック構造の同定

JMDP を介して移植が行われ、ゲノムワイド関連解析を施行した患者とドナー1500 ペアの SNP データを用い、日本人の主要な HLA ハプロタイプの共通領域を決定した。

日本人に頻度の高い HLA-A\*24:02 を有するハプロタイプは、HLA-A 領域周囲の長い領域を共通領域として所有していることが判明した(図3)。この共通領域の範囲は、HLA アリル毎に大きく異なっていた。移植免疫反応と関連する責任遺伝子の解明に当たっては、HLA ハプロタイプブロックを考慮した解析が必要と考えられた。

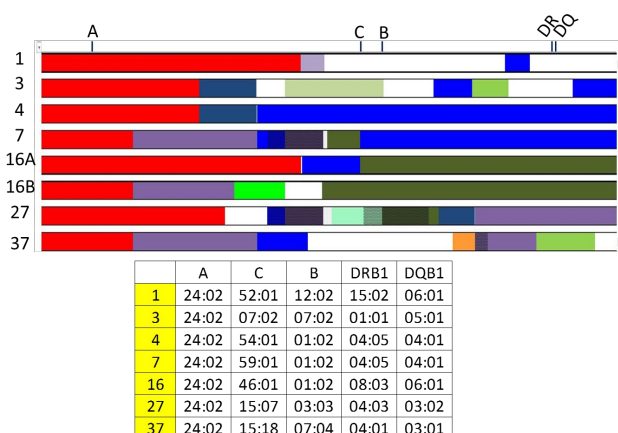


図3: HLA-A24 を所有する HLA-HP の構造

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 7 件)

Morishima S, Kashiwase K, Matsuo K, Azuma F, Yabe T, Sato-Otsubo A, Ogawa S, Shiina T, Satake M, Saji H, Kato S, Kodera Y, Sasazuki T, Morishima Y. High-risk HLA alleles for severe acute graft-versus-host disease and mortality in unrelated donor bone marrow transplantation. *Haematologica*. 2016;101:491-8. 査読有  
DOI: 10.3324/haematol.2015.136903

森島聡子. 非血縁同種造血幹細胞移植における HLA-DPB1 ミスマッチと急性移植片対宿主病 (GVHD). 血液内科 Vol.72, 2016, pp.344-350. 査読無

Sasazuki T, Inoko H, Morishima S, Morishima Y. Gene Map of the HLA Region, Graves' Disease and Hashimoto

Thyroiditis, and Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Adv Immunol*. 2016;129:175-249. 査読有  
DOI: 10.1016/bs.ai.2015.08.003

Sato-Otsubo A, Nannya Y, Kashiwase K, Onizuka M, Azuma F, Akatsuka Y, Ogino Y, Satake M, Sanada M, Chiba S, Saji H, Inoko H, Kennedy GC, Yamamoto K, Morishima S, Morishima Y, Kodera Y, Sasazuki T, Ogawa S, Japan Marrow Donor P. Genome-wide surveillance of mismatched alleles for graft-versus-host disease in stem cell transplantation. *Blood*. 2015;126:2752-2763. 査読有  
DOI: 10.1182/blood-2015-03-630707.

Ozaki Y, Suzuki S, Kashiwase K, Shigenari A, Okudaira Y, Ito S, Masuya A, Azuma F, Yabe T, Morishima S, Mitsunaga S, Satake M, Ota M, Morishima Y, Kulski JK, Saito K, Inoko H, Shiina T. Cost-efficient multiplex PCR for routine genotyping of up to nine classical HLA loci in a single analytical run of multiple samples by next generation sequencing. *BMC Genomics*. 2015;16:318. 査読有  
DOI: 10.1186/s12864-015-1514-4

Morishima S, Nakamura S, Yamamoto K, Miyauchi H, Kagami Y, Kinoshita T, Onoda H, Yatabe Y, Ito M, Miyamura K, Nagai H, Moritani S, Sugiura I, Tsushita K, Mihara H, Ohbayashi K, Iba S, Emi N, Okamoto M, Iwata S, Kimura H, Kuzushima K, Morishima Y. Increased T-cell responses to Epstein-Barr virus with high viral load in patients with Epstein-Barr virus-positive diffuse large B-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma*. 2015;56:1072-1078. 査読有  
DOI: 10.3109/10428194.2014.938326

Morishima Y, Kashiwase K, Matsuo K, Azuma F, Morishima S, Onizuka M, Yabe T, Murata M, Doki N, Eto T, Mori T, Miyamura K, Sao H, Ichinohe T, Saji H, Kato S, Atsuta Y, Kawa K, Kodera Y, Sasazuki T, Japan Marrow Donor P. Biological significance of HLA locus matching in unrelated donor bone marrow transplantation. *Blood*. 2015;125:1189-1197. 査読有  
DOI: 10.1182/blood-2014-10-604785

〔学会発表〕(計 6 件)

森島聡子、椎名隆、森島泰雄、他. 急性

GVHD 発症に關与する系統樹に基づく HLA-DP2/DP5 group の同定と HLA-DPB1 T-cell epitope matching との關連. 第 25 回日本組織適合性学会大会. 2016 年 10 月 22-24 日. 北海道大学 (北海道札幌市).

Morishima S, Shiina T, Morishima Y, et al. Evolutionary basis of HLA alleles effects acute GVHD in unrelated donor stem cell transplantation. 第 78 回日本血液学会學術集會. 2016 年 10 月 13-15 日. パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市).

森島聡子、柏瀬貢一、森島泰雄、他. 非血縁者間骨髄移植において重症急性 GVHD のリスクが高い HLA アリルの同定. 第 38 回日本造血細胞移植学会總會. 2016 年 3 月 3-5 日. 名古屋國際會議場 (愛知県名古屋市).

Morishima S, Kashiwase K, Morishima Y, et al. High risk HLA allele for severe acute graft-versus-host disease and mortality in unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation. BMT Tandem Meeting 2016 (國際学会). 2016 年 2 月 18 日-22 日. Honolulu, USA.

Morishima S, Kashiwase K, Morishima Y, et al. Effect of HLA-DPB1 T-cell epitope matching in unrelated donor bone marrow transplantation: The Japan Marrow Donor Program analysis. The 20<sup>th</sup> Annual Congress of Asia-Pacific Blood and Marrow Transplantation (國際学会). 2015 年 10 月 30 日-11 月 1 日. 万国津梁館 (沖縄県).

森島聡子、柏瀬貢一、東史啓、屋部登志、笹月健彦、森島泰雄. 日本骨髄バンクの非血縁者間骨髄移植における HLA-DPB1 T-cell epitope matching の影響. 第 24 回日本組織適合性学会大会. 2015 年 9 月 10-12 日. ホテルレイクビュー水戸 (茨城県水戸市).

〔その他〕

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

森島 聡子 (MORISHIMA, Satoko)  
琉球大学・大学院医学研究科・准教授  
研究者番号：40463195

### (2) 研究分担者

森島 泰雄 (MORISHIMA, Yasuo)  
愛知県がんセンター研究所・研究員  
研究者番号：20220056

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)