

第 11 回日本組織適合性学会近畿地方会 抄 録 集

会 期：2013 年 2 月 2 日（土）

会 場：参天製薬株式会社

大阪市東淀川区下新庄 3-9-19

TEL: 06-6321-7000

世話人：椿 和央

近畿大学医学部奈良病院血液内科

〒 630-0293 生駒市乙田町 1248 番-1

TEL: 0743-77-0880（代表）

E-mail: tubaki@nara.med.kindai.ac.jp

共 催：財団法人 大阪腎臓バンク

【参加費】

1. 正会員：2,000 円
2. 学 生：1,000 円
3. 世話人：3,000 円

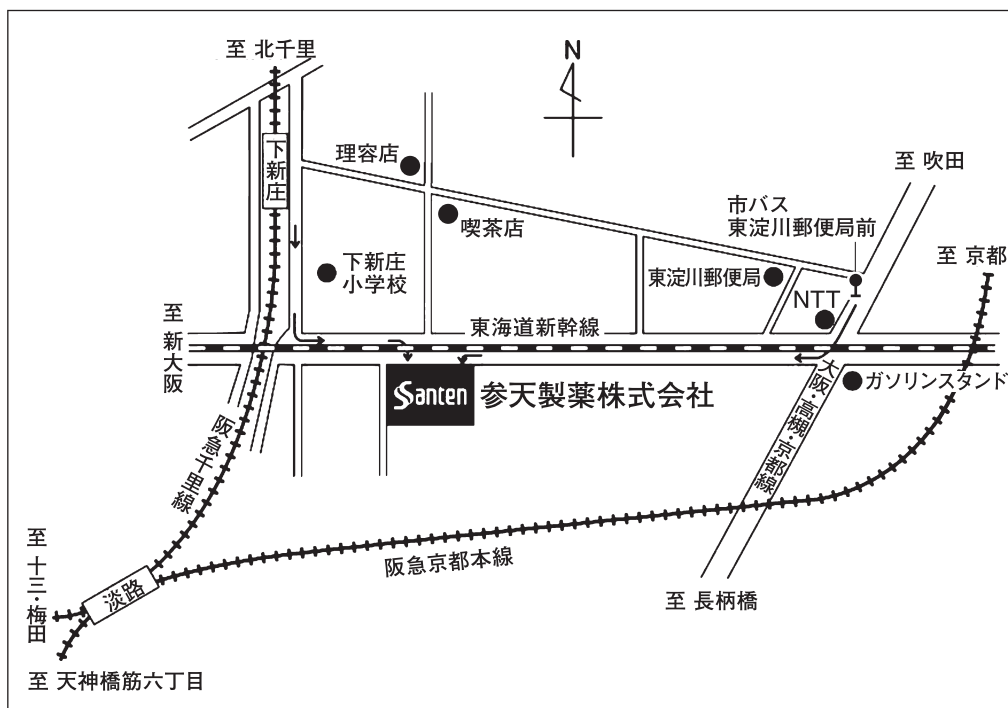
【会議等】

1. 総 会：2月2日（土）13:50～14:00
2. 世話人会：2月2日（土）12:30～13:50
3. 意見交換会：2月2日（土）17:00～

【会場地図】

参天製薬株式会社 本社案内図

大阪市東淀川区下新庄 3-9-19 TEL 06-6321-7000



新大阪駅より（所要時間：約 30 分）

地下鉄御堂筋線・新大阪駅よりなかもず行きに乗車し、一駅目の西中島南方駅で下車。阪急千里線に乗換え、南方駅より北千里行きに乗車、下新庄駅下車。下新庄駅から徒歩 5 分。

地下鉄堺筋線日本橋、北浜方面より（地下鉄と阪急が相互乗り入れ）

北千里行きに乗車し、下新庄駅下車。下新庄駅から徒歩 5 分。

JR 大阪駅、阪神・地下鉄・阪急 梅田方面より

阪急電車・梅田駅から北千里行きに乗車し、下新庄駅下車。下新庄駅から徒歩 5 分。

プログラム

9 時 30 分

受付開始

【午前の部】

10 時～ 11 時

オープニングセミナー

座長：谷 慶彦（近畿ブロック血液センター研究部）

1) 「HPA 抗原系」

高 陽淑（近畿ブロック血液センター検査三課）

2) 「新生児同種免疫性血小板減少症（NAIT）」

峯 佳子（近畿大学医学部附属病院輸血・細胞治療センター）

11 時～ 12 時 30 分

一般演題（1）

11 時～ 11 時 50 分

座長：坊地義浩（兵庫県赤十字血液センター 学術課）

1) 「血小板輸血不応（PC-HLA 依頼）患者の HLA 抗体スクリーニングの現状」

○福森泰雄，高 陽淑，西海真弓，西宮紘子，稲葉洋行，入江與利子，松山宣樹，尼岸悦子，西澤果苗，石井博之，松倉晴道，河 敬世

（日本赤十字社 近畿ブロック血液センター 検査部）

2) 「当施設における PC-HLA ドナーの DNA タイピング結果について」

○中村仁美，黒田ゆかり，中山みゆき，田原大志，井上純子，永吉裕二，中村 功，久田正直，入田和男，清川博之
（日本赤十字社 九州ブロック血液センター）

3) 「Quick Step[®] による献血者 HLA 抗体スクリーニングの試行と男性献血者 HLA 抗体陽性者の解析」

○入江與利子¹⁾，勝田通子¹⁾，福森泰雄¹⁾，高 陽淑¹⁾，松倉晴道¹⁾，河 敬世¹⁾，岡崎 仁²⁾

（日本赤十字社近畿ブロック血液センター検査部¹⁾，日本赤十字社中央血液研究所²⁾）

4) 「LABScreen による HLA Class II 抗体の特異性解析について」

○菱田理恵¹⁾，万木紀美子¹⁾，平位秀世¹⁾，吉澤 淳²⁾，丹羽紀実¹⁾，竹川良子¹⁾，三浦康生¹⁾，吉岡 聡³⁾，芦原英司⁴⁾，
上本伸二²⁾，前川 平¹⁾

（京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部¹⁾，同 肝胆膵・移植外科²⁾，同 血液腫瘍内科³⁾，京都薬科大学 生命薬学系病態生理学分野⁴⁾）

5) 「Luminex 法による HLA 抗体検出反応の特性解析」

○小島裕人¹⁾，二神貴臣¹⁾，辻野貴史¹⁾，林 晃司¹⁾，楠木靖史¹⁾，藤井直樹¹⁾，末上伸二¹⁾，池田奈未¹⁾，西川美年子¹⁾，
小川公明²⁾，赤座達也¹⁾，佐治博夫¹⁾

（公益財団法人 HLA 研究所¹⁾，NPO 法人 白血病研究基金を育てる会²⁾）

一般演題 (2)

11 時 50 分～12 時 30 分

座長：芦田隆司（近畿大学医学部 血液・膠原病内科）

6) 「HLA-DPB1 抗体陽性 (DSA) 患者に対する臍帯血移植」

○佐藤 壯¹⁾, 佐藤蘭子¹⁾, 荒 隆英²⁾, 小笠原励起²⁾, 太田秀一²⁾, 小林直樹²⁾

(社会医療法人北楡会 札幌北楡病院 臨床検査科¹⁾, 同 血液内科²⁾)

7) 「さい帯血バンク出庫前検査としての交差適合試験と患者 HLA 抗体スクリーニング」

○福森泰雄¹⁾, 高 陽淑¹⁾, 稲葉洋行¹⁾, 小島芳隆¹⁾, 石井博之¹⁾, 南 明美¹⁾²⁾, 松本加代子¹⁾²⁾, 松倉晴道¹⁾, 河 敬世¹⁾

(日本赤十字社 近畿ブロック血液センター¹⁾, 日本赤十字社 近畿さい帯血バンク (旧 京阪さい帯血バンク)²⁾)

8) 「DSA 陽性腎移植 3 例におけるクロスマッチ検査及び抗体値推移の検討」

○西村憲二¹⁾, 橋本光男¹⁾, 木下朋子¹⁾, 岸川英史¹⁾, 秋山幸太郎¹⁾, 吉田康幸¹⁾, 上田倫央¹⁾, 平井利明¹⁾, 市川靖二¹⁾

(兵庫県立西宮病院腎疾患総合医療センター¹⁾)

9) 「HLA に遺伝的選択はあるか？」

○池田奈未¹⁾, 小島裕人¹⁾, 二神貴臣¹⁾, 辻野貴史¹⁾, 林 晃司¹⁾, 楠木靖史¹⁾, 藤井直樹¹⁾, 末上伸二¹⁾, 西川美年子¹⁾,
小川公明²⁾, 赤座達也¹⁾, 佐治博夫¹⁾

(公益財団法人 HLA 研究所¹⁾, NPO 法人 白血病研究基金を育てる会²⁾)

12 時 30 分～13 時 50 分

昼食・世話人会

13 時 50 分～14 時 00 分

総会

【午後の部】

14 時 00 分～ 16 時 00 分

シンポジウム

「組織適合性の将来」

座長：石谷昭子（奈良県立医科大学 法医学教室）

池亀和博（兵庫医科大学 血液内科）

- 1) 「疾患感受性と薬剤応答性：ゲノムからのアプローチ」
徳永勝士（東京大学 医学系研究科人類遺伝学分野）
- 2) 「がん抗原ペプチドを用いたワクチン治療の原理・現況・将来展望
—WT1 ペプチドがんワクチンをそのモデルとして—」
岡 芳弘（大阪大学 呼吸器・免疫アレルギー内科）
- 3) 「iPS 細胞」
木村貴文（京都大学 iPS 細胞研究所 規制科学部門）
- 4) 「心臓移植における抗体関連型拒絶反応」
佐藤琢真（国立循環器病研究センター 移植部）

16 時 00 分～ 17 時 00 分

特別講演

座長：椿 和央（近畿大学医学部奈良病院 血液内科）

「造血幹細胞移植と組織適合性の将来」

一戸辰夫（広島大学原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍内科研究分野）

17 時～

懇親会

(10:00 ~ 11:00)

オープニングセミナー

座長：谷 慶彦（近畿ブロック血液センター研究部）

1) HPA 抗原系

高 陽淑（日本赤十字社 近畿ブロック血液センター 検査三課）

2) 新生児同種免疫性血小板減少症（NAIT）

峯 佳子（近畿大学医学部附属病院 輸血・細胞治療センター）

1) HPA 抗原系

高 陽淑

(日本赤十字社 近畿ブロック血液センター 検査三課)

【背景】ヒト血小板膜上の同種抗原 (HPA: Human platelet antigen) は, GPIa, GPIb, GPIIb, GPIIIa 等の血小板膜タンパクに局在し現在までに 27 種類が報告されている。各抗原は 2 つの対立する抗原によって成り立っており, その抗原性の違いは殆ど一塩基置換によるアミノ酸配列の違いに起因する。また, 抗原頻度は人種によって偏りがあり, たとえば白人と日本人では HPA-1a 抗原, HPA-4b 抗原, HPA-5b 抗原において特徴的な違いを認めることが知られている。

一方, これらの抗原に対する抗体 (HPA 抗体) はしばしば妊娠や輸血によって産生され, 血小板輸血不応状態 (PTR) や, 新生児血小板減少症 (NAIT) の原因になることから, HPA 抗原系についての知見を得る事は臨床的意義があると言える。

中でも NAIT についてはその重篤度は様々であり, 特に NAIT を発症した患児の出産経験がある妊婦の (次回の) 出産については, 医療機関との連携および事前の適合血小板の準備が必要になる場合もある。そのため NAIT 症例については HPA の抗体および抗原の検査を正確に行い, その抗原頻度を把握しておく事は非常に重要である。近畿ブロック血液センターでは昨年度までに NAIT 疑いの症例について 234 件の依頼について検査を実施し, 患

児の母親血清から 69 例 (29.5%) の血小板抗体を検出した。また, 国内外での NAIT 症例報告やワークショップ等での周知活動により, その認知度は高まってきたことを反映して同様の依頼は年々依頼件数が増加傾向にある。

【新しい抗原の発見と検査システムの確立】HPA 発見の歴史を振り返ると, そのほとんどが PTR や NAIT の原因となった抗体の検出が発端である。言い換えれば未知の HPA を発見するためには, Private な抗体を検出することが重要である。そこで, 我々は, HPA 抗体検出用の血小板パネルの安定確保を目的とした遺伝子導入細胞の樹立と, 従来の MPHA 法だけでは検出し得なかった新しい抗体の検出および同定をするための検査システムを構築した。そして, その効果により 2007 年には HPA-7ver 抗体を検出し, その結果 HPA-7 の新しいアリルを発見した。また, 日本人家系で初報告となる HPA-21bw 抗体を血縁関係ではない 2 家系から検出し, NAIT 症例における HPA-21bw 抗体の関与を明らかにすることができた。本学会では, 現在の近畿ブロック血液センターにおける NAIT 症例の検査システムの紹介と, それによって検出した稀な抗体の性状及び抗原頻度について報告する。

2) 新生児同種免疫性血小板減少症 (NAIT)

峯 佳子

(近畿大学医学部附属病院 輸血・細胞治療センター)

【NAIT とは】 HPA (Human Platelet Antigen) に対する抗体は妊婦でしばしば認められ、新生児同種免疫性血小板減少症 (Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia: NAIT) の原因となる临床上重要な抗体である。HPA 抗体の関与する NAIT の発症頻度は 1000 ~ 2000 分娩に 1 例とされている。血小板型不適合により産生された IgG 抗体は、胎盤を通過し、児の血小板と反応し、単球貪食系により破壊され血小板減少を引き起こす。加えて点状出血、紫斑などの臨床症状を伴う場合は新生児同種免疫性血小板減少性紫斑病 (Neonatal Alloimmune Thrombocytopenic purpura: NAITP) と診断される。必要に応じ、 γ -グロブリンの投与や適合血小板輸血などの治療がおこなわれる。重篤な場合は、頭蓋内出血、水頭症を起こす場合もあり、妊婦におけるスクリーニング検査は重要であると考えられる。また HLA 抗体による NAIT の報告もある。母血清中より移行した HLA 抗体は胎盤や胎児組織によりそのほとんどは中和されると考えられているので頻度は少ないが、胎盤機能不全や胎児仮死がある場合には NAIT を発症する事があり注意が必要である。

【当院における NAIT 症例】 当院では 1991 年より妊娠後期 28 週前後での血小板抗体スクリーニングを導入している。抗体検出頻度、および当院で経験した症例につい

て報告する。

【対象および方法】 1991 年 8 月 ~ 2011 年 12 月に当院において妊婦検診を実施した 5892 名を対象とした。方法は日本血小板型・顆粒球型ワークショップでスタンダードにおこなわれている Mixed Passive Hemagglutination test (MPHA) を用い、HLA・HPA 抗体の鑑別のためクロロキン処理法を併用した。抗原パネルは自家製 5 ~ 7 種類と、anti-HPA・MPHA・スクリーン (ベックマン・コールター・バイオメディカル株式会社) を組み合わせて使用した。

【結果】 HPA 抗体は 41 例 (0.7%)、HLA 抗体は 774 例 (13.1%) で陽性であった。HPA 抗体陽性症例のうち HPA-4b で 3 例、HPA-5b で 1 例、HPA-15b で 1 例の NAIT が発症し、2 例で HPA-5b 抗体による NAIT が疑われた。また 11 例で HLA 抗体による NAIT が疑われた。

【考察】 NAIT は臨床症状がなければ見過されていることもある。妊婦の HLA・HPA 抗体スクリーニングをおこなうことにより、出生時の NAIT の危険性を予測することができ、発症後の迅速な対応が可能である。また NAIT を経験したことの無い産科医師も多く、臨床へ関与し貢献していくことは重要であると考えられる。

(11:00 ~ 11:50)

一般演題 (1)

座長：坊地義浩 (兵庫県赤十字血液センター 学術課)

演題番号 1) ~ 5)

1) 血小板輸血不応 (PC-HLA 依頼) 患者の HLA 抗体スクリーニングの現状

○福森泰雄, 高 陽淑, 西海真弓, 西宮紘子, 稲葉洋行, 入江與利子,
松山宣樹, 尼岸悦子, 西澤果苗, 石井博之, 松倉晴道, 河 敬世

(日本赤十字社 近畿ブロック血液センター 検査部)

【はじめに】血液センターでは 1986 年より, HLA 抗体による血小板輸血不応の患者に対し, 医療機関の依頼により HLA 適合血小板 (PC-HLA) を供給している。ここ数年の PC-HLA 依頼患者の HLA 抗体検査結果の現状についてまとめたので紹介する。

【材料・方法】2008 年度から 2011 年度までの 4 年間に PC-HLA 供給のために検査依頼のあった輸血患者について解析し, 集計を行った。HLA 抗体検査は WAKFlow-HLA (湧永製薬) を基本とし, 必要に応じ LABScreen Single Antigen I (ワンラムダ社) を使用した。

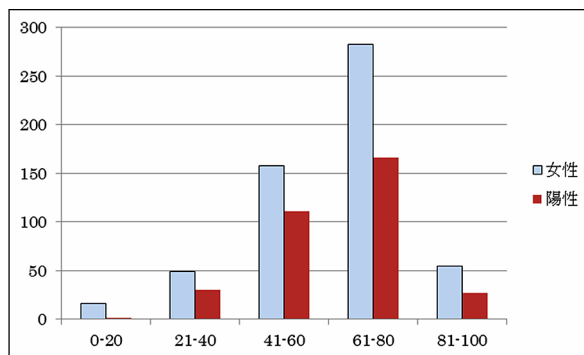
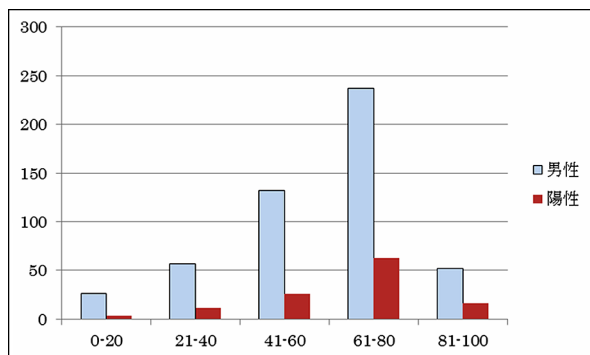
【結果・考察】4 年間の男女別, センター別依頼者数, 陽性者頻度を下表に示す。

各センターごとの集計では特に差は見られなかった。依頼患者の男女比は 1.17 であったが, HLA 抗体陽性患者比は 2.85 と女性が多かった。大阪センター分は年齢別

分布についても調査した。下図にその年齢別陽性者数のグラフを示す (左: 男性, 右: 女性)。21-80 歳までの女性は 60% 以上の抗体陽性率を示すことが分かった。年齢別陽性比は男性では 0-20 歳代の 10% から 80-100 歳代の 30% まで, 徐々に上昇したが, 女性では 41-60 歳代の 70% をピークに 81-100 歳代の 49% まで徐々に減少していた。

疾患別については約 80% が血液疾患, 残りが固形がん・その他であった。血液がんでは抗体陽性率が骨髄系のがん患者 (AML: 47%, MDS: 52%) は, リンパ系の患者 (ALL: 28%, 悪性リンパ腫: 11%) と比べより高い傾向が見られ, リンパ系の血液がんの方が輸血量が少ないか, 免疫細胞系への影響によるのか, その他の患者より抗体陽性率が低かった。

| | 依頼男性 | 依頼女性 | 依頼合計 | 陽性男性 (%) | 陽性女性 (%) | 陽性合計 (%) |
|-----|------|------|------|----------|----------|----------|
| 滋賀 | 34 | 53 | 87 | 8 (24) | 29 (55) | 37 (43) |
| 京都 | 75 | 89 | 164 | 15 (20) | 56 (63) | 71 (43) |
| 大阪 | 430 | 483 | 913 | 99 (23) | 277 (57) | 376 (41) |
| 兵庫 | 100 | 125 | 225 | 26 (26) | 75 (60) | 101 (45) |
| 奈良 | 40 | 51 | 91 | 14 (35) | 27 (53) | 41 (45) |
| 和歌山 | 26 | 21 | 47 | 5 (19) | 12 (57) | 17 (36) |
| 合計 | 705 | 822 | 1527 | 167 (24) | 476 (58) | 643 (42) |



2) 当施設における PC-HLA ドナーの DNA タイピング結果について

○中村仁美, 黒田ゆかり, 中山みゆき, 田原大志, 井上純子,
永吉裕二, 中村功, 久田正直, 入田和男, 清川博之

(日本赤十字社 九州ブロック血液センター)

【はじめに】日本赤十字社では, PC-HLA の HLA DNA タイピングを 2010 年 4 月から PCR-SSO を原理とした Luminex 法に変更した。当施設でこれまでに確認された, 日本人集団における Rare allele (遺伝子頻度 GF 0.1% 未満) について報告する。

【方法】2010 年 4 月より 2012 年 8 月までに Luminex 法 (WAKFlow) を用いて HLA タイピングを実施した 5,598 検体を対象とした。結果は, 専用解析ソフトを用いて判定した。

【結果】Rare allele と判定された症例は, HLA-A ローカス 20 種 71 例, HLA-B ローカス 27 種 62 例および HLA-C ローカス 7 種 40 例の計 54 種 173 例(検出率 0.52%) が確認された (表 1)。また, 同一検体で複数の Rare

allele を保有する検体が 12 例 (A, B ローカス 1 例, B, C ローカス 4 例, A, B, C ローカス 7 例) 認められた (表 2)。さらに, B ローカスの両 allele が Rare allele であった検体が 1 例あった。A*02:03 (16 例), A*26:05 (14 例), B*15:02 (13 例), B*27:05 (12 例) および C*07:01 (13 例) は, 中央骨髄データセンターにおいて Rare allele (GF 0.050%, 0.064%, 0.040%, 0.061%, 0.053%) であるが, 当施設では 0.143%, 0.125%, 0.116%, 0.107%, 0.116% と 0.1% 以上の遺伝子頻度を示した (表 3)。

【考察】Rare allele を複数のローカスで保有する検体から, 連鎖不平衡の状態にあるハプロタイプが推定された。また Rare allele の地域特異性があることが示唆された。

表 1 当施設で検出された Rare allele と遺伝子頻度 N=5,598

| HLA-A | | | HLA-B | | | HLA-C | | |
|----------------------|----|-------|------------------------|----|-------|---------|----|-------|
| HLA-A | n | GF(%) | HLA-B | n | GF(%) | HLA-C | n | GF(%) |
| A*02:03 | 16 | 0.143 | B*15:02 | 13 | 0.116 | C*07:01 | 13 | 0.116 |
| A*26:05 | 14 | 0.125 | B*27:05 | 12 | 0.107 | C*12:03 | 10 | 0.089 |
| A*26:06 | 6 | 0.054 | B*15:28 | 5 | 0.045 | C*08:02 | 4 | 0.036 |
| A*03:02 | 5 | 0.045 | B*07:05 | 4 | 0.036 | C*15:05 | 4 | 0.036 |
| A*32:01 | 4 | 0.036 | B*40:07 | 3 | 0.027 | C*02:02 | 3 | 0.027 |
| A*68:01 | 4 | 0.036 | B*14:01 | 2 | 0.018 | C*03:23 | 5 | 0.045 |
| A*02:18 | 3 | 0.027 | B*40:50 | 2 | 0.018 | C*07:02 | 1 | 0.009 |
| A*24:08 | 3 | 0.027 | B*08:01 | 1 | 0.009 | | | |
| A*29:01 | 3 | 0.027 | B*15:38 | 1 | 0.009 | | | |
| A*30:04 | 2 | 0.018 | B*39:23 | 1 | 0.009 | | | |
| A*26:04 | 2 | 0.018 | B*51:03 | 1 | 0.009 | | | |
| A*02:15N | 1 | 0.009 | B*14:02 ^{注2)} | 1 | 0.009 | | | |
| A*02:42 | 1 | 0.009 | B*14:02 ^{注3)} | 1 | 0.009 | | | |
| A*11:13 | 1 | 0.009 | B*15:25 | 1 | 0.009 | | | |
| A*11V ^{注1)} | 1 | 0.009 | B*15:93 | 1 | 0.009 | | | |
| A*26:01 | 1 | 0.009 | B*27:06 | 1 | 0.009 | | | |
| A*30:02 | 1 | 0.009 | B*35:03 | 1 | 0.009 | | | |
| A*31:05 | 1 | 0.009 | B*35:08 | 1 | 0.009 | | | |
| A*31:11 | 1 | 0.009 | B*35:64 | 1 | 0.009 | | | |
| A*33:01 | 1 | 0.009 | B*39:05 | 1 | 0.009 | | | |
| | | | B*39:41 | 1 | 0.009 | | | |
| | | | B*40:49 | 1 | 0.009 | | | |
| | | | B*46:35 | 1 | 0.009 | | | |
| | | | B*50:01 | 1 | 0.009 | | | |
| | | | B*52:01 | 1 | 0.009 | | | |
| | | | B*55:12 | 1 | 0.009 | | | |
| | | | B*56:05 | 2 | 0.018 | | | |

点線より下の allele は, 中央骨髄データセンターで遺伝子頻度 0.005% 未満
 注 1) V: variant New allele のため申請登録中 注 2) B*14:02:01 注 3) B*14:02:02

表2 ハプロタイプの推定

| Rare alleleのローカス | ハプロタイプ | n |
|------------------|-----------------------------|---|
| A, B, C | A*29:01 - C*15:05 - B*07:05 | 3 |
| | A*30:04 - C*08:02 - B*14:01 | 2 |
| | A*33:01 - C*08:02 - B*14:02 | 1 |
| | A*30:02 - C*08:02 - B*14:02 | 1 |
| A, B | A*03:02 - C*07:02 - B*08:01 | 1 |
| B, C | A*26:01 - C*02:02 - B*27:05 | 1 |
| | A*26:01 - C*02:02 - B*27:05 | 1 |
| | A*26:02 - C*15:05 - B*07:05 | 1 |

表3 A*02:03, A*26:05, B*15:02, B*27:05およびC*07:05の九州各県の遺伝子頻度

| | | 福岡 | 佐賀 | 長崎 | 熊本 | 大分 | 宮崎 | 鹿児島 | 沖縄 | 九州 | 中央骨髄 |
|---------|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|----|-------|----------------------|
| | | N | | | | | | | | | |
| A*02:03 | n | 4 | | 1 | 1 | 3 | 1 | 6 | | 16 | |
| | GF | 0.145 | | 0.126 | 0.115 | 0.718 | 0.083 | 0.220 | | 0.143 | 0.050 |
| A*26:05 | n | 4 | 2 | 1 | 2 | | 3 | 2 | | 14 | |
| | GF | 0.145 | 0.162 | 0.126 | 0.230 | | 0.250 | 0.073 | | 0.125 | 0.064 |
| B*15:02 | n | 1 | 2 | 1 | | | 3 | 6 | | 13 | |
| | GF | 0.036 | 0.162 | 0.126 | | | 0.250 | 0.220 | | 0.116 | 0.040 |
| B*27:05 | n | 5 | 2 | 2 | 1 | | 1 | 1 | | 12 | |
| | GF | 0.181 | 0.162 | 0.253 | 0.115 | | 0.083 | 0.037 | | 0.107 | 0.061 |
| C*07:01 | n | 4 | 2 | 1 | 3 | | 1 | 2 | | 13 | |
| | GF | 0.145 | 0.162 | 0.126 | 0.345 | | 0.083 | 0.073 | | 0.116 | 0.053 ^{注1)} |

注1) 中央骨髄データのHLA-CのみN=88,205

3) Quick Step[®] による献血者 HLA 抗体スクリーニングの試行と 男性献血者 HLA 抗体陽性者の解析

○入江與利子¹⁾, 勝田通子¹⁾, 福森泰雄¹⁾, 高 陽淑¹⁾, 松倉晴道¹⁾, 河 敬世¹⁾, 岡崎 仁²⁾

(日本赤十字社近畿ブロック血液センター検査部¹⁾, 日本赤十字社中央血液研究所²⁾)

【はじめに】輸血用製剤に含まれる HLA 抗体は、輸血関連急性肺障害 (TRALI) などの重篤な輸血副作用の原因の一つである。そこで、今回、最近の献血者の HLA 抗体保有状況を調査するため、および、HLA 抗体スクリーニングキットの候補の一つとして ELISA を使用した比較的安価な Quick Step[®] の使用検討するため、献血者検体に対し HLA 抗体スクリーニングを試行的に実施したので報告する。また、HLA 抗原に感作されていない男性献血者の一部も HLA 抗体を自然抗体の形で持つことが知られているが、クラス II 抗体についてはあまり報告がない。そこで、HLA 抗体陽性男性献血者の HLA 抗体特異性も解析したので、併せて報告する。

【材料・方法】近畿エリアの献血者血液を用いて、HLA 抗体スクリーニングを実施した。HLA 抗体検査キットは Quick Step[®] (Gene Probe 社) を使用した。また、陽性検体は可能な限り、LABScreen Single Antigen I & II (SA) を使用して抗体特異性を解析した。

【結果】Quick Step[®] を用いた HLA 抗体陽性者頻度 (%) は、クラス I: 女性 (8.3), 男性 (3.2), クラス II: 女性 (9.0), 男性 (4.0) であった。年齢別陽性率は下記の表に示す。男性 HLA 抗体陽性者に対し、SA を用いた抗体特異性の解析では、クラス I: A68, B67, クラス II: DR1, DR4, DR16, DQ7, DP10, DP19 が高頻度に認められた。

【考察】献血者の HLA 抗体陽性率は我々が以前 LCT 法で行っていた HLA 抗体 (2 次) スクリーニングの結果: 女性 (0.87), 男性 (0.24) と比べ 10 倍近い開きがあったが方法による感度の違いと考えられる。また、男性抗体陽性者のクラス I およびクラス II 抗体解析結果から、男性の持つクラス I 抗体は、日本人集団の持つ HLA 抗原の抗原頻度から考えてほとんど影響しないと推察された。これらの抗体は常在菌やウイルスなどの抗原刺激による自然抗体であろうと推察されたが、既報告のメキシコ人男性献血者の持つ抗体特異性と比べ、アレルレベルでみると、多少の違いが見られた。

| | 年齢 | 女性献血者 | | | | | 男性献血者 | | | | |
|--------|---------|-------|-------|-------|------|-----|-------|-------|-------|-----|-----|
| | | ~29 | 30~39 | 40~49 | 50~ | 合計 | ~29 | 30~39 | 40~49 | 50~ | 合計 |
| クラス I | 検査数 | 166 | 166 | 166 | 166 | 664 | 166 | 166 | 166 | 166 | 664 |
| | 陽性数 | 12 | 19 | 12 | 12 | 55 | 8 | 4 | 5 | 4 | 21 |
| | 陽性率 (%) | 7.2 | 11.4 | 7.2 | 7.2 | 8.3 | 4.8 | 2.4 | 3.0 | 2.4 | 3.2 |
| クラス II | 検査数 | 155 | 155 | 155 | 155 | 620 | 155 | 154 | 155 | 155 | 619 |
| | 陽性数 | 12 | 11 | 14 | 19 | 56 | 10 | 8 | 3 | 4 | 25 |
| | 陽性率 (%) | 7.7 | 7.1 | 9.0 | 12.3 | 9.0 | 6.4 | 5.1 | 1.9 | 2.5 | 4.0 |

4) LABScreen における HLA Class II 抗体の特異性解析

○菱田理恵¹⁾, 万木紀美子¹⁾, 平位秀世¹⁾, 吉澤 淳²⁾, 丹羽紀実¹⁾, 竹川良子¹⁾,
三浦康生¹⁾, 吉岡 聡³⁾, 芦原英司⁴⁾, 上本伸二²⁾, 前川 平¹⁾

(京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部¹⁾, 肝胆膵・移植外科²⁾,
血液腫瘍内科³⁾, 京都薬科大学 生命薬学系病態生理学分野⁴⁾)

【はじめに】京大病院では臓器移植の術前・術後に HLA 抗体検査を実施して、ドナー特異 HLA 抗体 (DSA) の検討を行っている。HLA Class II 抗体は移植後に高頻度に検出され、判定ソフト (Fusion) の解析では、自己 HLA 型に対する抗体と判定される場合がある。われわれは、このような場合に、同一 HLA 型ビーズでも陽性となるビーズと陰性のビーズが存在することを見出した。肝臓移植症例で検出した抗体の特異性と固相化されている抗原の関連について詳細に解析し、その原因について検討したので報告する。

【方法】2010.4.1 ~ 2012.11.30 に HLA 抗体検査の依頼のあった肝臓移植症例 1128 検体について LABScreen Mixed Beads で HLA 抗体のスクリーニングを行い、陽性が疑われるものは Single Antigen Beads にて抗体の有無及び特異性を決定した。

【結果】肝臓移植症例の移植前検体では Class II 抗体の陽性率が 7.1% (27/381 件) であったが、移植後では 32.3% (241/747 件) と高頻度であった。Class II 抗体陽性検体の内、DR 抗体では 268 件中 6 件 (2.2%) が自己 HLA 型に対する抗体と判定された。自己 HLA 型に対する DR 抗体が陽性と判定された検体すべてが、患者と同一アレルのビーズには反応が認められなかった。DQ 抗体は 268 件中 38 件 (14.1%) が自己 HLA 型に対する抗

体と判定された。抗体の特異性は DQ4 抗体が 11 件、DQ7 抗体が 9 件、DQ6 抗体が 18 件であった。Single Antigen Beads 法のビーズには Class II 分子が α 鎖、 β 鎖ともに固相化されており、DQB1 抗原が同一であっても DQA1 抗原の異なるビーズが数種類存在する。DQ4、DQ7 抗体の合計 20 件では、同一 DQB1 抗原であっても反応性が大きく異なり、DQA1 抗原に対して特異性が高い事が判明した。DQ6 抗体については 18 件すべてで、患者と同一アレルのビーズには反応が認められなかった。

【考察】Fusion での解析では、DQB1 抗原に限って判定しているため、DQA1 抗原に対する反応であるにも関わらず、自己 HLA-DQ 型に対して抗体が陽性と判定される場合があると考えられる。DQ4、DQ7 抗体以外に DQ2、DQ8 抗体についても同様に DQA1 抗体が解析に影響を与えている場合があると考えられた。DR 抗体や DQ6 抗体については、アレルレベルで判定することが重要であることが示唆され、結果の解析には注意が必要である。肝臓移植後 HLA Class II 抗体は高頻度に検出されるが、Class II 抗体と臨床症状との関連は、抗体陽性症例の方が肝線維化のリスクが高まるとされている。DP 抗体についてはドナーおよびレシピエントのタイピングを実施していないが、今後検討する予定である。

5) Luminex 法による HLA 抗体検出反応の特性解析

○小島裕人¹⁾, 二神貴臣¹⁾, 辻野貴史¹⁾, 林 晃司¹⁾, 楠木靖史¹⁾, 藤井直樹¹⁾,
末上伸二¹⁾, 池田奈未¹⁾, 西川美年子¹⁾, 小川公明²⁾, 赤座達也¹⁾, 佐治博夫¹⁾

(公益財団法人 HLA 研究所¹⁾, NPO 法人 白血病研究基金を育てる会²⁾)

【目的】 HLA 抗体検査の結果解釈をより正確に判断するために、当研究所において 2011 年に実施した抗体検査のうち、陽性と判定した例から HLA 抗体検出反応の傾向を解析した。

【材料・方法】 2011 年に当研究所で LABScreen Single Antigen (LS, Onelambda 社) を用いた Luminex 法の結果から、MFI $\geq 1,000$ (MFI; Median Fluorescence Intensity) を示した症例 (HLA-Class I : 252 例, HLA-Class II : 147 例) で、造血幹細胞・臓器移植などを必要とする患者を対象とした。同一患者で複数検査した場合は初回検査を採択した。

【結果・考察】 MFI が 10,000 以上の割合は Class I では A 座 (417/1,486, 28.0%), B 座 (1,164/3,164, 36.8%) に比べ C 座 (52/467, 11.1%) が、Class II では DR 座 (320/1,149, 27.9%), DQ 座 (169/709, 23.8%) に比べ DP 座 (74/503, 14.7%) が低く、C 座, DP 座は他の locus と比べて全体的に MFI が低値の傾向にあった。抗原性 (免疫原性)

が低い、交差反応が少ない、精製 Beads の抗原量が少ないなどの可能性が想定される。

ある集団から無作為に選択された患者に対して別の HLA にさらされる確率は、HLA の表現頻度 x にドナーが患者の HLA と異なる確率 $(1-x)$ を乗じて得られる。この式からいくと、全体では集団の抗体検出頻度は HLA の表現頻度が 0.5 を最大値とした曲線を描くことになり、日本人の集団では HLA 抗体の検出頻度と HLA の表現頻度が正の相関性をもつと考えられる。ところが、解析結果では表に示すように各座位でアレル頻度との相関性がない抗原 Beads に対する反応が多く検出された。これは、免疫原性の差異の他に、① HLA 抗体の交差反応、② non HLA 抗体との交差反応 (= 自然抗体)、③ 精製抗原特有の反応が原因として挙げられる。Luminex 法による HLA 抗体検査の結果の解釈には各 Beads の特性についての十分な理解が不可欠である。

(11:50 ~ 12:30)

一般演題 (2)

座長：芦田隆司 (近畿大学医学部 血液・膠原病内科)

演題番号 6) ~ 9)

6) HLA-DPB1 抗体陽性 (DSA) 患者に対する臍帯血移植

○佐藤 壯¹⁾, 佐藤蘭子¹⁾, 荒 隆英²⁾, 小笠原励起²⁾, 太田秀一²⁾, 小林直樹²⁾

(社会医療法人北楡会 札幌北楡病院 臨床検査科¹⁾, 同 血液内科²⁾)

【緒言】 造血幹細胞移植, 特に HLA ミスマッチ移植において患者が保有するドナー特異的 HLA-A, B, DR 抗体 (DSA) は移植源の生着に影響することがすでに報告されている。しかしそれ以外の HLA 抗原に対する抗体が生着に影響するのか詳細な検討はなされていない。今回我々は HLA-DPB1 抗体 (DSA) を保有する患者に対する臍帯血移植を経験したので報告する。

【症例】 患者は 41 歳女性 (出産歴有り)。汎血球減少を主訴に来院, MDS with MF (IPSS: int-2, WPSS: high) と診断され, 治療するも症状が改善しないため造血幹細胞移植の適応と判断された。同朋と HLA が一致せず, 骨髄バンクにもドナーがいなかったため臍帯血移植を選択した。ただ, 治療後の血小板減少に対して血小板輸血不応を示し, 調べたところ HLA 抗体陽性で HLA-B, DR, DP に対する抗体が陽性であった。そのため HLA-B, DR についてはミスマッチ抗原が DSA でない CB を選択したが (有核細胞数 = $2.16 \times 10^7/\text{kg}$, CD34 陽性細胞数 = $0.58 \times 10^5/\text{kg}$), HLA-DP については情報がなかったため検討できなかった。移植後の CB バッグから DNA を抽出し HLA タイピングを行ったところ DPB1*05:01,- (患者) に対し DPB1*03:01, 04:02 (ドナー) で, 患者は DSA を保有していた (MFI=22,000, 18,000)。

【臨床経過】 移植前処置は G-CSF 先行の AraC+CY+TBI12Gr のフル移植。移植当日に脳出血を起こし 2 週間近く連日の HLA-PC 投与を要したが, day29 で白血球生着。その

後経過は比較的順調で明らかな GVHD 所見も認めていない。末梢血リンパ球分画において CD19 陽性細胞は 1.4% (day29), 1.0% (day36), 2.4% (day50) と B cell lineage の回復も認めている。また, 単球も末梢血中 27.3% (day29) と回復している。一方, HLA 抗体の蛍光強度は全般的に移植後急速に減少し, Class I で 22,000 から 13,000 強, Class II で 22,000 から 1,000 強まで低下している (day45)。

【考察】 造血幹細胞における Class II 抗原, 特に DQ 抗原, DP 抗原の発現や DQ 抗体, DP 抗体が移植源の生着に影響するかどうかは, 現在までのところ明確ではない。そこで, 本症例の経過を検討するにあたって, 末梢血単核球における Class II 抗原の発現について flowcytometry で検討した。結果は B 細胞: DR ≒ DQ ≫ DP, 単球: DR ≒ DP > DQ, B 細胞以外のリンパ球: DR ≫ DQ ≫ DP となった。造血幹細胞に DP 抗原が発現しているかどうかは不明であるが, 移植前後で DP 抗体の蛍光強度がほとんど変化しなかったこと, day29 で生着していることから, 少なくとも本症例に関してドナー特異的 DP 抗体は生着には影響しなかったと考えられる。また, 通常臍帯血移植においては患者が保有する HLA 抗体は比較的長期に残存していることを考えると, 本症例における HLA 抗体蛍光強度の急速な低下は, 移植後ホストに対してドナー細胞による何らかの免疫反応が惹起されたことを示唆している。

7) さい帯血バンク出庫前検査としての交差適合試験と患者 HLA 抗体スクリーニング

○福森泰雄¹⁾, 高 陽淑¹⁾, 稲葉洋行¹⁾, 小島芳隆¹⁾, 石井博之¹⁾,
南 明美¹⁾²⁾, 松本加代子¹⁾²⁾, 松倉晴道¹⁾, 河 敬世¹⁾

(日本赤十字社 近畿ブロック血液センター¹⁾, 日本赤十字社 近畿さい帯血バンク (旧 京阪さい帯血バンク)²⁾)

【はじめに】われわれは移植用臍帯血の出庫前検査として Luminex 法を用いた HLA タイピングの確認検査に加え、移植される患者血清の HLA 抗体スクリーニング、および同時にフローサイトメトリー (FCM) を使用して患者血清とドナー候補臍帯血白血球を用いた交差適合試験を行ってきた。それらの検査状況についてまとめたので報告する。

【材料・方法】2010 年度から 2011 年度までの 2 年間、旧京阪さい帯血バンクより出庫した臍帯血と患者の組み合わせのうち、604 例の臍帯血検体と患者検体を対象とした。HLA タイピングは HLA-A, B, C, DRB1 を Luminex 法によるキットを使用してタイピングした。HLA 抗体スクリーニングは LABScreen PRA で行い、HLA 抗体陽性であれば、さらに LABScreen Single Antigen (SA) を用いて特異性を調べた。交差試験は、FCM を用いて我々が独自に考案した 2 重染色法により、ドナー臍帯血の T, B セルに対し陽性かどうかを判定した。また、必要に応じ ICFA 法による確認を行った。

【結果】604 人の患者の内訳は、男性、352 人、女性、252 人で、年齢分布は男性のピークは 70 代で、60 代、70 代で全体の 53% を占めた。一方、女性のピークは 60

代で、60 代以上で 43% を占めた。HLA 抗体陽性率は、男性で 17%、女性で 34% と 2 倍の差があった。年齢的には男性は、30 代までは低く (10%)、40 代からほぼ 20% 弱を示した。女性は 20 代を除けば年齢とともに上昇し、25% から段階的に 50% まで上昇した。同時に実施したクロスマッチについては、クロスマッチ陽性で、HLA 抗体陽性者が 12 例 (男: 5, 女: 7) 見られた。12 例中 10 例は SA による解析でも陽性である可能性が示された。また、抗体陰性でありながら、クロスマッチ陽性が T セルで 2 例 (男: 1, 女: 1) B セルで 6 例 (男: 4, 女: 2) 見られた。HLA 抗体陰性、クロスマッチ陽性のほとんどは HLA 抗体以外の抗体であると予想された。抗体陽性者の移植取りやめ率は男女ともほぼ同じ、20% 弱であった。陰性者は約 10% であった。クロスマッチ陽性の組み合わせについては、SA の検査で対象抗原有の場合、10 例中 9 例が移植中止、対象抗原なしの例では 10 例中 3 例が移植中止であり、HLA 抗体によるクロスマッチ陽性の情報は、ドナー選択において重要な情報と言える。

現在、移植効果等についてもさらにデータを収集中である。

8) DSA 陽性腎移植 3 例におけるクロスマッチ検査及び抗体値推移の検討

○西村憲二¹⁾, 橋本光男¹⁾, 木下朋子¹⁾, 岸川英史¹⁾, 秋山幸太郎¹⁾,
吉田康幸¹⁾, 上田倫央¹⁾, 平井利明¹⁾, 市川靖二¹⁾

(兵庫県立西宮病院腎疾患総合医療センター¹⁾)

【はじめに】腎移植におけるクロスマッチ検査は 1969 年に Terasaki らから補体依存性細胞障害試験 (Complement dependent cytotoxicity; CDC) が報告されて以来, CDC 法が第一世代としてゴールドスタンダードの方法とされてきた。しかしながら CDC 法は抗体検出の感度と特異性に問題があり, 1990 年代に入り抗体検出感度の高い蛍光抗体標識法 (Flow cytometry crossmatch; FCXM) が開発された。FCXM 法は臨床成績との相関性が高く近年ではクロスマッチとして CDC 法と FCXM 法の両者を行っている施設も多い。一方, FCXM 法はその感度の高さゆえに疑陽性として non-HLA 抗体にも反応してしまうので Beads 法などの HLA 抗体検査結果を加味した上で移植の是非が検討されている。近年, クロスマッチ法と HLA 抗体検査法の両者の機能を兼ね備えた新しいクロスマッチ法である ICFA (Immunocomplex capture fluorescence analysis) 法が開発された。今回我々は DSA (Donor specific antibody) 陽性の 3 症例に対し生体腎移植を行ったが, この 3 症例に関しての臨床経過と ICFA 値と DSA 値 (molecules of equivalent soluble fluorochrome (MESF) 値) の推移に関して検討したので報告する。

【症例】症例 1: 58 歳女性。原疾患: 糖尿病性腎症。透析歴 1 年 6 ヶ月。ドナーは 61 歳男性, 夫婦間移植。HLA3 ミスマッチ。クロスマッチ (CDC B cell(-)/T cell(-), FCXM B cell(+)/T cell(+),), Flow PRA (class I(+)/class II(+))。DSA (MESF 値; A*24:02, 20072, B*54:01, 10128, DRB1*04:05, 2053), ICFA (Index; class I, 5.2(+)/class II, 1.5(-))。

症例 2: 62 歳女性。原疾患: IgA 腎症。透析歴 1 年 6 ヶ月。ドナーは 66 歳男性, 夫婦間移植。HLA3 ミスマッチ。クロスマッチ (CDC B cell(-)/T cell(-), FCXM B cell(+)/

T cell(+),), Flow PRA (class I(+)/class II(-))。DSA (MESF 値; B*15:01, 13990), ICFA (Index; class I, 3.4(+)/class II, 1.4(-))。

症例 3: 64 歳女性。原疾患: 慢性糸球体腎炎。透析歴 1 年 6 ヶ月。ドナーは 61 歳男性, 夫婦間移植。HLA3 ミスマッチ。クロスマッチ (CDC B cell(+)/T cell(+),), FCXM B cell(+)/T cell(+),), Flow PRA (class I(+)/class II(-))。DSA (MESF 値; B*54:01, 31970, B*55:01, 34495), ICFA (Index; class I, 74.2(+)/class II, 1.1(-))。全症例でタクロリムス, ミコフェノール酸モフェチル, ステロイド, 血漿交換, 大量免疫グロブリン療法による脱感作療法の末, DSA を MESF 値で 3000 以下まで低下させ移植を行った。

【結果】1. 3 症例とも DSA class I 値と ICFA class I 値はほぼ同様に推移した。

2. DSA class II に関しては, 症例 1 において, ICFA class II 値が DSA (DRB1*04:05) 値を反映しない値を取ることがあった。一方, 移植後腎機能悪化し移植腎生検で抗体関連型拒絶反応 (Antibody-mediated rejection; AMR) が確認された際の ICFA class II 値は陽性であったが DSA class II は低値のままであった。

【考察】ICFA 法には従来の FCXM 法の非特異的反応である non-HLA 抗体に反応せず, class I 抗体検出感度は DSA の MESF 値と関連し, 移植後の AMR 発症と関連しているという特徴がある。今回の 3 症例においても class I に関しては ICFA 値と DSA 値はほぼ同様に推移した。従って DSA が class I であれば経済的な観点からも ICFA 法のみでのフォローでも良い可能性がある。一方, class II に関しては DSA 値と ICFA 値の間に不一致を認める部分があり, 今後の検討を要する。

9) HLA に遺伝的選択はあるか？

○池田奈未¹⁾, 小島裕人¹⁾, 二神貴臣¹⁾, 辻野貴史¹⁾, 林 晃司¹⁾, 楠木靖史¹⁾, 藤井直樹¹⁾, 末上伸二¹⁾, 西川美年子¹⁾, 小川公明²⁾, 赤座達也¹⁾, 佐治博夫¹⁾

(公益財団法人 HLA 研究所¹⁾, NPO 法人 白血病研究基金を育てる会²⁾)

【目的】 日本列島人の HLA ハプロタイプにみられる連鎖不平衡の成因として、遺伝的選択があり得るかどうかが①各ハプロタイプの遺伝確率、② homozygote は回避されるか、③母子間 KIR リガンドミスマッチ有無の観点から解析した。

【材料・方法】 当研究所で HLA アレル型検査を実施した家族（年齢不問）を対象とした。

①ハプロタイプの遺伝確率…HLA-A, B, DR 遺伝子型検査を実施した 4,481 家族（親子 11,011 ペア）に対し、親のハプロタイプ（1 家族 4 本）が次世代（=子）に遺伝する割合を算出。② homozygote の解析…両親が同一ハプロタイプ（HLA-A, B, DR）を共有している 284 家族（親子 702 ペア）に対し、次世代が homozygote になる確率を算出。③ KIR リガンドの解析…母子ともに HLA-A, B, C 遺伝子型検査を実施した 2,025 家族（親子 4,356 ペア）に対し、KIR リガンドミスマッチの割合を算出。

【結果】 ①頻度上位 20 位までのハプロタイプの遺伝割合

の平均は 50.2% であった。②次世代が homozygote の実測値は 193, 理論値は 190.75 であった。③母子間での KIR リガンドミスマッチの実測値は 1,882, 理論値は 1,899 であった。KIR リガンドの種類や親子間のミスマッチ方向も実測値と理論値に有意な差はなかった。

【考察】 すべての解析結果で HLA の遺伝的選択は見られなかった。年齢不問を考慮にいと、遺伝免疫学的に不利とされる homozygote が寿命に与える影響も少ないかも知れない。妊娠時に母体が子を異物として認識して NK が働く可能性について、古典的クラス I（HLA-A, B, C）における KIR リガンドミスマッチは次世代への遺伝頻度に影響を与えないと考えられ、NK の調節については非古典的クラス I（HLA-G, E）の役割が大きいと推察できる。

以上から、HLA ハプロタイプの連鎖不平衡には遺伝的選択の要因は低いといえる。

(14:00 ~ 16:00)

シンポジウム

「組織適合性の将来」

座長：石谷昭子（奈良県立医科大学 法医学教室）

池亀和博（兵庫医科大学 血液内科）

- 1) 疾患感受性と薬剤応答性：ゲノムからのアプローチ
徳永勝士（東京大学 医学系研究科人類遺伝学分野）
- 2) がん抗原ペプチドを用いたワクチン治療の原理・現況・将来展望
—WT1 ペプチドがんワクチンをそのモデルとして—
岡 芳弘（大阪大学 呼吸器・免疫アレルギー内科）
- 3) iPS 細胞
木村貴文（京都大学 iPS 細胞研究所 規制科学部門）
- 4) 心臓移植における抗体関連型拒絶反応
佐藤琢真（国立循環器病研究センター 移植部）

1) 疾患感受性と薬剤応答性：ゲノムからのアプローチ

徳永勝士

(東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野)

DNA マイクロアレイによる大規模 SNP 解析および次世代シーケンサーによる全エクソーム・ゲノムシーケンス解析を活用したゲノム全域の探索により、多数の遺伝子多型・変異が疾患発症や薬剤応答性と関連することが見出されている。特に数十万種以上の SNP を用いたゲノムワイド関連解析 (GWAS) は複合疾患 (多因子疾患) に関連する遺伝要因の同定に画期的な成果をもたらしており、我々も睡眠障害、2 型糖尿病、B 型肝炎、ネフローゼ症候群、結核などの新規感受性遺伝子、および C 型肝炎などの治療応答性遺伝子を報告してきた。本シンポジウムでは、各種疾患の感受性や薬剤応答性について、我々が見出した *HLA* 遺伝子あるいは免疫・炎症系遺伝子との関連を紹介し、その意義について考察したい。ナルコレプシーについて実施した最初の SNP based GWAS により、*HLA-DR/DQ* 領域が最も強い遺伝要因であることが確認されるとともに、新たな感受性座 *CPT1B/CHKB* を同定した (Miyagawa *et al.* Nat Genet 2008)。続いて E. Mignot ら国際共同研究グループによる GWAS により、*TCRA* および *P2RY11* といった免疫系遺伝子との関連も見出された (Hallmayer *et al.* Nat Genet 2009; Kornum *et al.* Nat Genet 2011)。さらに我々は CNV (copy number variation) 解析により、脂質代謝、免疫応答性などに関わるパスウェイ上の遺伝子群についてまれな CNV の増加を認めた (Yamasaki *et al.* submitted)。患者血清において、*TRIB2* タンパクに対する自己抗体を確認し (Toyoda *et al.* Sleep 2010)、カルニチン代謝物の異常低値を認めたことから (Miyagawa *et al.* Sleep 2011)、少なくとも 2 つの機序、すなわち自己免疫および脂肪酸の代謝異常がナルコレプシーの発症に関与すると推定さ

れる。

原発性胆汁性肝硬変 (PBC) の GWAS でも *HLA-DR/DQ* 領域が最も強い遺伝要因であることを確認するとともに、新規感受性遺伝子 *TNFSF15* および *POU2AF1* を同定した (Nakamura *et al.* Am J Hum Genet 2012)。また、ヨーロッパ系集団から報告された 20 種の非 *HLA* 感受性遺伝子のうち 5 種 (*IL7R*, *IKZF3*, *CD80*, *STAT4*, *NFKB1*) は日本人でも明瞭な関連を示した。これらより、PBC の発症には TNF シグナル伝達および B 細胞分化が関与すると推定される。以上のように、ゲノム全域探索によって多数の感受性遺伝子が同定されることにより疾患発症機序の理解が進み、新たな治療法開発の標的が見出される。GWAS により、C 型肝炎のインターフェロン α ・リバビリン併用療法への応答性と強く関連する遺伝子として予想もしなかった *IL28* (IFN- $\lambda 3$) が同定された (Tanaka *et al.* Nat Genet 2009)。その SNP 検査は論文発表の翌年には先進医療として認可され、現在では臨床および臨床治験において必須の検査となりつつあり、個の医療に直結している。この成果から新たな治療法も提案され、*IL28B* と同様にインターフェロン λ の一員である *IL29* (IFN- $\lambda 1$) の治験がすでに開始されている。

このほか、眼合併症型スティーブンス・ジョンソン症候群に関与する *HLA* ほかの免疫系遺伝子について (Ueta *et al.* PLoS ONE 2012)、また関節リウマチの大規模メタ GWAS (Okada *et al.* Nat Genet 2012) および慢性 B 型肝炎の GWAS (Nishida *et al.* PLoS ONE 2012) の成果についても紹介したい。

2) がん抗原ペプチドを用いたワクチン治療の原理・現況・将来展望 —WT1 ペプチドがんワクチンをそのモデルとして—

岡 芳弘¹⁾, 杉山治夫²⁾

(大阪大学大学院医学系研究科 呼吸器・免疫アレルギー内科学¹⁾, 機能診断科学²⁾)

これまでに多くのがん抗原分子が同定されている。ここでは、演者らが取り組んでいる *WT1* 遺伝子 (Wilms' tumor gene) 産物である WT1 タンパクを標的とした「WT1 ペプチドがんワクチン」をモデルとして、がん抗原に対する細胞性免疫応答をベースとしたがん免疫治療の原理、現況、将来展望を概説する。なお、2009 年の Clin. Cancer Res. 誌の Cheever らの総説において、WT1 は免疫療法の標的としてのがん抗原の優越性・有望性に関して第 1 位にランクされた。がん遺伝子としての機能を有する *WT1* は、さまざまな造血器腫瘍や固形がんに発現しており、WT1 を標的としたがん免疫療法は多くの種類の悪性腫瘍に適応できる。また、白血病幹細胞や腫瘍血管にも発現しているデータが示されており、これらもがん免疫療法の標的抗原としての優越性を示すものである。

核や細胞質に存在する WT1 タンパクから生成された WT1 ペプチド断片は HLA class I 分子との複合体としてがん細胞表面に提示され、その複合体は細胞障害性 T リンパ球 (cytotoxic T lymphocyte: CTL) により認識される。WT1 ペプチドワクチン (WT1 ペプチドと免疫アジュバント) を皮内または皮下注射すると、免疫アジュバントにより活性化された皮膚の樹状細胞の HLA class I 分子に WT1 ペプチドが結合し (つまり、WT1 ペプチド / HLA class I 複合体が形成され)、その活性化樹状細胞はリンパ節に移動する。そして、そこで、上記の複合体を認識する CTL を活性化し、その活性化 CTL は、細胞表面にその WT1 ペプチド / HLA class I 複合体を持つがん細胞を認識し攻撃する。

我々は、世界に先駆けて、HLA class I 拘束性のヒト WT1-CTL ペプチドの同定や WT1 を標的としたがん免疫療法のマウスモデルの構築 (それらは 2000 年に論文発表)、さらに、それらを基礎とした WT1 ペプチドワクチン療法の臨床試験を行ってきた。現在では、数百例

の症例に投与しており、我々の阪大病院を含め国内外の多くの施設より、白血病や種々の固形がんでの臨床反応例が報告されている。また、WT1 ペプチドワクチン投与による WT1 特異的免疫反応の誘導と臨床反応の出現との間に相関がみられるようであり、「WT1 ペプチドワクチン投与→WT1 特異的免疫反応誘導→臨床反応出現」という一連の反応が予想通り引き起こされていると考えられる。

WT1 ペプチドワクチンが一定の臨床反応を誘導できることは確かであると考えられる現在、そのより臨床的有用性を増強する工夫に焦点を当てることが重要である。その代表的なものが、腫瘍量の多い進行期のがんに対する化学療法併用 WT1 ペプチドワクチン投与、および、微小残存腫瘍 (minimal residual disease: MRD) にした後の WT1 ペプチドワクチン投与である。後者には、手術療法後、化学療法後、放射線療法後だけでなく、造血幹細胞移植 (hematopoietic stem cell transplantation: HSCT) 後の WT1 ワクチン投与も含まれる。また、HLA class II 拘束性の WT1-helper ペプチドの同定も我々を含むいくつかのグループから報告されており、CTL ペプチドとの併用投与による抗腫瘍活性の増強も期待される。これらの現況や将来展望について概説する。

(参考文献)

- 1) Oka Y., et al. WT1 peptide vaccine for the treatment of cancer. *Current Opinion in Immunology*, 20:211–220, 2008.
- 2) Oka Y., Sugiyama H. WT1 peptide vaccine, one of the most promising cancer vaccine: its present status and the future prospects. (Editorial) *Immunotherapy*, 2: 591–594, 2010.
- 3) 岡 芳弘. がん免疫療法の進歩と今後の展開—がんワクチン治療と補助シグナル制御を中心に—. *The Frontiers in Life Science 免疫学 Update—分子病態の解明と治療への展開—* (編集: 審良静男ら) p. 183–189, 2012.

3. iPS 細胞

木村貴文

(京都大学 iPS 細胞研究所)

人工多能性幹細胞 (iPS 細胞 : induced pluripotent stem cell) は、胚性幹細胞 (ES 細胞 : embryonic stem cell) 特有の問題、すなわち①ヒト胚の利用を必要とする倫理上の危惧及び② HLA 不適合移植による生着不全をクリアできる細胞治療用ツールとして期待されている。

当初は患者由来の iPS 細胞を用いる自家移植に話題が集中したが、iPS 細胞の樹立から移植用分化細胞の調製までに要する時間と経費の問題が、同種移植用 iPS 細胞バンク (あるいは組織幹細胞バンク) というコンセプトをあと押ししてきた。

さまざまな臨床分野での応用が期待されている iPS 細胞ではあるが、それを用いた同種細胞移植における組織適合性の意義を説明するには、まだまだ論拠に乏しい。なるほど、造血細胞移植や臓器移植の経験あるいは遺伝学

の進歩は多くの秘鑰を与えてくれる。たとえば、移植後の拒絶反応を回避するには、患者と同じハプロタイプの HLA ホモ接合体ドナーから作製した iPS 細胞を由来とする移植が理想的で、「医療用 iPS 細胞ストック構築」の理論的背景となっている。とはいえ、HLA 一致同種移植でも拒絶反応や移植片対宿主反応は起こりうることや、移植される組織や器官によってそのような免疫応答のレベルや質に差異があることはよく知られている。

iPS 細胞を用いた細胞治療の普及には、iPS 細胞や分化細胞の有効性と安全性の担保だけでは不十分である。同種移植治療として確立させるために、どのような移植関連リスクが予想され、その低減を目指してどのようにアプローチすべきか—基礎研究から臨床医療までのシームレスな議論と試みがいよいよ必要と考えられる。

4. 心臓移植における抗体関連型拒絶反応

佐藤琢真¹⁾, 宮田茂樹³⁾, 築瀬正伸¹⁾, 稗田道成¹⁾, 渡邊琢也¹⁾, 角南春樹¹⁾, 村田欣洋¹⁾,
瀬口 理¹⁾, 和田恭一²⁾, 植田初江⁴⁾, 秦 広樹¹⁾, 藤田知之¹⁾, 中谷武嗣¹⁾

(国立循環器病研究センター 移植部¹⁾, 薬剤部²⁾, 輸血管理室³⁾, 病理部⁴⁾)

心臓移植における抗体関連型拒絶反応 (antibody mediated rejection: AMR) は循環動態の破綻を伴うことがあり, 適正な診断がなされない場合は重篤な予後をもたらす。本邦における心臓移植は, 900 日に及ぶ長期の移植待機を必要とし, 9 割の症例が左心補助人工心臓装着によるブリッジ例である。そのため, 心臓移植前に手術における大量輸血や, 管理中における頻回の輸血や感染症等により感作される機会が多い。我が国の心臓移植では, 全例にダイレクトクロスマッチが行われるが, 移植に際して HLA のマッチングは考慮できない。このため, AMR 発症については慎重に観察する必要がある。近年, AMR の早期診断の重要性が指摘され, 診断法と治療法が議論されている。

AMR の自然経過, 特に臓器機能の著明な悪化を伴わない AMR によって引き起こされる組織学的, 免疫組織学的及び, 血清学的な変化が長期に及ぶ経過はいまだ不明である。しかし, 移植前, 周術期, 慢性期において抗 HLA 抗体, 特にドナー特異抗体 (donor specific antibody: DSA) の有無や, 感作されやすい患者群 (high PRA 群) を把握することで, AMR 発症例においても血行動態が悪化する前に治療介入できる可能性があり, AMR の発症予防及び治療を行う上で重要である。

AMR の診断法としては, 組織病理・免疫病理及び, 血清学の面から検討が進められている。これまで診断意義があるとされる免疫蛍光抗体法による病理検査と免疫組織化学による免疫染色 (IgG, IgM, IgA, C3d, C4d, C1q, CD68 等) に加え, パネル反応性抗体 (PRA) の測定, Single Antigen beads を用いた HLA 抗体の特異性の同定及び, DSA 保有の有無とその定量化といった血清学的検査が, 早期診断においてより重要な位置を占めるようになってきている。

当センターの移植 50 症例につき検討を行ったところ,

AMR の発症は 6 例であり, 5 例が移植後急性期であった。その内, 血行動態破綻をきたした症例はなく, 6 症例全例が無症候性発症の段階で診断された。移植直前の細胞障害性ダイレクトクロスマッチは全例陰性であったが, 1 例は移植後に施行したフローサイトクロスマッチで陽性であった。なお, 術前 PRA 陽性例は 12 例, DSA 陽性例は 5 例であった。病理学的検討において, 6 例全例で免疫組織学的変化がみられ, 内 3 例では免疫組織学的変化に加え, 組織学的変化がみられた。これら 3 例に対してはステロイドパルス, 血漿交換療法及び, 免疫グロブリン療法による治療が行われ, その後の経過は良好である。

急性期に治療が行われた AMR 症例のうち 1 例が, 移植後 4 年目に左冠動脈起始部の冠動脈狭窄進行を認め, 冠動脈バイパス術が施行された。DSA は移植後 1 年目で陰性化が確認されていたが, PRA は 40% と高値が続いており, 抗 HLA 抗体を 6 種類有していた。このため, 手術に伴う輸血による AMR 発症が懸念され, オフポンプによる最小限の手術侵襲を考慮するとともに, 用いる血液製剤として洗浄赤血球及び, HLA 適合血小板を準備した上で手術を行った。術後, PRA の上昇なく経過し, 術二か月後の心筋生検においても AMR を疑う所見はなかった。

高度に感作された心臓移植後患者において, 周術期における AMR 発症の危険性や, その後の冠動脈病変との関連性は多数報告されているが, 移植後慢性期における血液製剤使用の危険性については未だ報告がない。しかし, 高度に感作された患者においては, 慢性期においても AMR 発症に対する配慮が必要で, 血液製剤を用いる場合において, AMR 発症予防への対策は, 今後も重要な課題と考える。

(16:00 ~ 17:00)

特別講演

座長：椿 和央（近畿大学医学部奈良病院 血液内科）

「造血幹細胞移植と組織適合性の将来」

一戸辰夫（広島大学原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍内科研究分野）

造血幹細胞移植と組織適合性の将来

一戸辰夫

(広島大学原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍内科研究分野)

造血幹細胞移植における組織適合性の研究は、周知の通り、主要な HLA 抗原をできうるかぎり適合させることを目標理念としてその歴史を開始した。しかし、近年では、ドナーとレシビエント間における組織適合性の相違が腫瘍細胞に対する有効な免疫応答に寄与するという仮説に基づき、マイナー組織適合性抗原や HLA の不適合、KIR-KIR リガンドの不適合等を利用した新たな幹細胞ソース選択法の有用性が検討されている。また、いずれも前向きコホートで検証されたものではないが、網羅的

なゲノム解析を通じて HLA 以外の特定の遺伝子多型が移植成績に影響を与え得るという研究結果も多く得られている。近未来の造血細胞移植においては、これらの膨大な情報をどのように統合し、ドナー選択の指針として実臨床に導入し得るかが新たな課題となりつつある。本講演では昨年開催された第 16 回国際 HLA ワークショップでの話題も含め、今後の組織適合性研究がどこまで造血幹細胞移植のベッドサイドに近づくことができるのか、その可能性と方向性を展望してみたい。