

原 著

HLA 適合造血細胞移植におけるマイナー組織 適合抗原不一致の重要性

佐藤 英洋¹⁾ 近藤 静佳²⁾ 加藤 留美²⁾
安江 静香¹⁾ 中尾 眞二³⁾ 塩原信太郎¹⁾

¹⁾金沢大学医学部附属病院輸血部

²⁾同 医学部保健学科

³⁾同 大学院医学系研究科細胞移植学

(平成 15 年 5 月 19 日受付)

(平成 15 年 8 月 5 日受理)

EFFECT OF MINOR HISTOCOMPATIBILITY ANTIGEN INCOMPATIBILITIES IN ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANTATION FROM HLA-IDENTICAL DONORS

Hidehiro Sato¹⁾, Shizuka Kondo²⁾, Rumi Kato²⁾, Shizuka Yasue¹⁾,
Shinji Nakao³⁾ and Shintaro Shiobara¹⁾

¹⁾Division of Transfusion Medicine, Kanazawa University Hospital

²⁾Faculty of Health Science, Kanazawa University School of Medicine

³⁾Cellular Transplantation Biology, Kanazawa University Graduate School of Medical Science

Mismatches of minor histocompatibility antigens (mHas) between HLA-identical stem cell donors and recipients are known as a major risk factor for graft-versus-host disease (GVHD). We determined alleles of 9 mHas for 40 patients who had undergone stem cell transplantation from HLA-identical donors and investigated the association of their mismatches with relapse rate and GVHD. We observed a tendency toward a higher incidence of GVHD and lower relapse rate in patients with at least one or more incompatibilities of mHas than in patients without incompatibilities. In particular, relapse rate was significantly lower in a group of patients grafted from HLA-identical sibling donors with mHa-incompatibilities ($p = 0.05$). In addition, no relapse was observed in at least one or more mHa-incompatible patients who developed GVHD. We conclude that mHas contribute to the development of the graft-versus-leukemia effect and may potentiate the graft-versus-leukemia effect in incompatible patients who develop GVHD.

Key words : mHa, GVHD, relapse, graft-versus-leukemia effect

はじめに

マイナー組織適合抗原 (mHa) は HLA 一致の造血細胞移植例において、移植免疫反応を惹起する組織適合性抗原の総称である。Goulmy らによって先駆的に研究された HA-1 は HLA-A*0201 に

拘束性で、血液細胞上にのみ発現するペプチドとして同定分離された¹⁾。移植片対宿主方向に HA-1 が不一致な患者においては移植片対宿主病 (GVHD) の発症率が高いことが報告されている²⁾⁻⁴⁾。また、佐治・丸屋らは GVHD 発症と接着

分子の多型性との関係を検討し、いくつかの多型性が immunodominant な mHa である可能性を報告している⁵⁾。最近、この mHa の不一致が再発予防効果においても重要であり、特に血液細胞上に発現している mHa は、白血病細胞を除去し再発を予防する抗白血病効果の標的抗原ではないかと考えられている⁶⁾。

そこで我々は、GVHD 発症の標的抗原としてこれまで報告されている検査可能な 5 種類の mHa と、性別と HLA から推定可能な 4 種類の Y 染色体特異抗原(H-Y 抗原)の合計 9 種類の mHa アレルを決定し、アレルの不一致の有無が抗白血病効果と GVHD 発症に与える影響を検討した。

対象と方法

対象は金沢大学骨髓移植班で施行した造血細胞移植例で、血清学的な方法を用いて HLA-A, HLA-B, HLA-DR 抗原を検査し適合したドナーから移植を受けた計 40 症例(男性:28 例,女性:12 例,血縁者間移植例:29 例,非血縁者間移植例:11 例)であった。観察期間は死亡 1 例を除いて全例で 24 カ月以上(中央値:103 カ月)であった。診断名は ALL 10 例,AML 6 例,ANLL 3 例,CML 14 例,HD 1 例,NHL 2 例,MDS 1 例であり、幹細胞のソースは骨髓 32 例,末梢血幹細胞 8 例であった(Table 1)。サンプルの採取前に、mHa の DNA タイピングについて患者、ドナーの双方に十分な説明をしたのち同意を得た患者、ドナーの爪または末梢血白血球から DNA を抽出し、佐治・丸屋らの方法に準じて、mHa (CD31 codon 125,CD31 codon563,CD49b,CD62L,HA-1)のアレルを決定した。それぞれのプライマーを 20 pmol, DNA 10ng を用いて、最終反応液 50 μ l として各遺伝子を増幅した。増幅条件は 98 5 分、次に 96 1 分、58 1 分の 2 step を 35 サイクル後 72 5 分(DNA サーマルサイクラー PJ2000,タカラ)とした。次に PCR 産物 10 μ l にそれぞれの mHa に対応した制限酵素(Mva I, Bfa I, Mnl I, Hph I, Tsp45 I) 5 単位を加え、Tsp45 I では 65 度で一晩、その他の制限酵素では 37 度で 4 時間反応させた。最後に 10% ポリアクリルアミドゲルを使用し 150V, 1 時間電気泳動後エチジウムプロマ

Table 1 Patient characteristics

Sex	
male	28
female	12
Diagnosis	
ALL	10
AML	6
ANLL	3
CML	14
HD	1
NHL	2
MDS	4
Bone marrow transplantation	
from a sibling	29
from an unrelated donor	11
Source of stem cells	
BM	32
PBSC	8

イドにて染色し mHa のアレルを決定した。また 4 種類の Y 染色体特異的 H-Y 抗原は性別と HLA よりアレルを推定した。これらのデータからドナーにないアレルをホストが保有している場合に、移植片対宿主方向に mHa のアレル不一致があると判定した。個々の患者について grade II 以上の急性 GVHD, 慢性 GVHD および再発の有無を調査し、mHa の不一致の有無との関係を Fisher's exact probability 検定により評価し、 $p < 0.05$ を統計学的に有意とした。

結 果

mHa のアレルの不一致頻度は 42% で、内訳は H-Y:21%, CD62L:13%, HA-1:6%, CD31(codon 125 と codon 563 の 2 種類):12%, CD49b:0% であった。少なくとも一つの mHa の不一致がある 15 例では再発率は 13%, 急性 GVHD 発生頻度は 66%, 慢性 GVHD 発生頻度は 80% であったのに対し、不一致がない 25 例では再発率は 40%, 急性 GVHD 発生頻度は 40%, 慢性 GVHD 発生頻度は 56% と、mHa の不一致例において GVHD 発生頻度が高く、再発率が低い傾向が見られた(Table 2)。血縁例と非血縁例とに分けて同様の検討を行ったところ、血縁例 29 例では mHa の不一致がある例では一致例と比べて急性 GVHD および慢性 GVHD の発症頻度が高い傾向がみられた

Table 2 Incidence of GVHD and relapse rate after transplantation¹⁾

	n	relapse	acute GVHD	chronic GVHD
mHa-incompatible	15	13%(2)	66%(10)	80%(12)
mHa-compatible	25	40%(10)	40%(10)	56%(14)

- 1) A total of 40 cases were studied.
- 2) Numbers in parentheses show the number of cases studied.

Table 3 Incidence of GVHD and relapse rate in recipients receiving transplants from a sibling donor¹⁾

	n	relapse ³⁾	acute GVHD	chronic GVHD
mHa-incompatible	10	10%(1)	50%(5)	80%(8)
mHa-compatible	19	47%(9)	36%(7)	47%(9)

- 1) A total of 29 cases were studied.
- 2) Numbers in parentheses show the number of cases studied.
- 3) P=0.05

が有意差は認められなかった。しかし再発率は、mHa の不一致がある 10 例では 10%、不一致がない 19 例では 47% と有意差 (p=0.05) が認められた (Table 3)。非血縁者間移植例 11 例では mHa の不一致の有無にかかわらず急性 GVHD および慢性 GVHD の発症頻度が高く、かつ mHa の不一致の有無にかかわらず再発率が低いため、mHa の不一致と GVHD 発症、抗白血病効果との関連は認められなかった (Table 4)。そこで有意差が認められた血縁例 29 例を mHa の不一致の有無により二群に分け、各群について GVHD と再発との関係を検討したところ、mHa の不一致群 10 例では、GVHD を合併した 8 例中の再発は 0% であったのに対し、GVHD を発症しなかった 2 例のうち 1 例が再発した (Table 5)。また mHa の一致群 19 例においては GVHD 発症例 11 例中再発が 6 例 (54%)、GVHD を発症しなかった 8 例中再発は 3 例 (37%) であった (Table 6)。

考 察

検査可能な 5 種類の mHa と、HLA と性別から

Table 4 Incidence of GVHD and relapse rate in recipients receiving transplants from an unrelated donor¹⁾

	n	relapse	acute GVHD	chronic GVHD
mHa-incompatible	5	20%(1)	100%(5)	80%(4)
mHa-compatible	6	16%(1)	50%(3)	83%(5)

- 1) A total of 11 cases were studied.
- 2) Numbers in parentheses show the number of cases studied.

Table 5 Relationship between GVHD and relapse rate in recipients receiving transplants from a mHa-mismatched sibling donor¹⁾

GVHD	n	relapse (%)
yes	8	0
no	2	1 (50)

- 1) A total of 10 cases were studied.

Table 6 Relationship between GVHD and relapse rate in recipients receiving transplants from a mHa-matched sibling donor¹⁾

GVHD	n	relapse (%)
yes	11	6 (54)
no	8	3 (37)

- 1) A total of 19 cases were studied.

検討可能な 4 種類のアレルを決定し、mHa の不一致が GVHD と再発に与える影響を検討したところ、移植片対宿主方向に mHa の不一致があると GVHD の発症頻度が高く、かつ再発率が低い傾向を認めた。この傾向は血縁者間移植例で顕著に認められ、mHa の不一致例の再発率は一致例に比べ有意に低かった。したがって GVHD 発症に關与する mHa の不一致は再発率の低下にも關与していると考えられる。しかし、非血縁例では mHa の不一致の有無にかかわらず再発率が低いため、mHa の不一致と再発率との間には相関はみられなかった。Martin ら⁷⁾は非血縁例での mHa は血縁例の 2 倍以上存在すると報告している。よって、非血縁例では血縁例と比べ再発率が低い傾向にあるのは、検討した 9 種類以外の mHa の關与している

ためと考えられる。再発率は疾患，移植方法，移植時病期などの因子により影響を受けるため，今後は症例数を増やして多変量解析を行うことが必要と考えられる。

血縁例では，mHa の不一致がありかつ GVHD を発症した例の再発率が最も低かった。しかし，mHa の一致例では GVHD の合併例でも再発率が高いことから，GVHD が抗白血病効果を直接誘導しているのではなく，mHa の不一致が抗白血病効果を惹起し同時に GVHD を発症した場合にその効果が最も強く発揮されると考えられた。

これまで抗白血病効果は GVHD によってもたらされるため GVHD の発症なしでは抗白血病効果は期待できないと考えられていた。一方で最近塩原らはドナーリンパ球輸注療法の結果から，GVHD の発症と抗白血病効果の発現とは必ずしもパラレルではないと報告している⁸⁾。今回の結果は，mHa の不適合が GVHD の発症だけではなく，抗白血病効果の発現にも寄与し，特に GVHD を合併した場合に，より強い抗白血病効果をもたらすことを示唆している。しかし本研究は対象症例が 40 例と少なく，またレトロスペクティブな研究であるため確かな証拠は得られていない。したがって今後はプロスペクティブな比較検討によりこの仮説を検証する必要がある。最後に，理想的には GVHD を回避しながら抗白血病効果を得ることが望まれるため，造血細胞上のみに発現している mHa を同定することが重要であり，mHa のアレル検索は移植後症例の再発のリスクを予測し，ドナーが複数いる場合の至適ドナーを選択する上で有用と思われる。

文 献

- 1) Joke, M.M., den, Haan., et al. : Identification of a graft versus host disease-associated human minor histocompatibility antigens. *Science*, 268 : 1476 1480, 1995.
- 2) Goulmy, E., et al. : Mismatches of minor histocompatibility antigens between HLA-identical donors and recipients and the development of graft-versus host disease after bone marrow transplantation. *N. Engl. J. Med.*, 334 : 281 285, 1996
- 3) Tseng, L.H., et al. : Correlation between disparity for the minor histocompatibility antigen HA-1 and the development of acute graft-versus host disease after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood*, 94 : 2911 2914, 1999.
- 4) Dickinson, A.M., et al. : In situ dissection of the graft-versus-host activities of cytotoxic T cells specific for minor histocompatibility antigens. *Nature Medicine*, 8 : 410 413, 2002.
- 5) Maruya, E., et al. : Evidence that CD31, CD49b, and CD62L are immunodominant minor histocompatibility antigens in HLA identical sibling bone marrow transplants. *Blood*, 92 : 2169 2176, 1998.
- 6) Mutis, T., et al. : Feasibility of immunotherapy of relapsed leukemia with Ex vivo-generated cytotoxic T lymphocytes specific for hematopoietic system-restricted minor histocompatibility antigens. *Blood*, 93 : 2336 2341, 1999.
- 7) Martin, P.J., et al. : Increased disparity for minor histocompatibility antigens as a potential causes of increased GVHD risk in marrow transplantation from unrelated donors compared with related donors. *Bone Marrow Transplant*, 8 : 217 223, 1991.
- 8) Shiobara, S., et al. : Donor leukocyte infusion for Japanese patients with relapsed leukemia after allogeneic bone marrow transplantation : lower incidence of acute graft versus host disease and improved outcome. *Bone Marrow Transplant*, 26 : 769 774, 2000.