

造血細胞移植推進事業フォーラム
2017年3月4日(土) 於:島根県松江市くにびきメッセ

次世代シーケンサーによるHLA タイピングの導入

一戸 辰夫

日本赤十字社 HLA委員会委員長

従来の高解像度HLAタイピング法の問題点

- 多型が集中する特定のエクソンのみを対象にタイピングを行うため、HLA遺伝子のコード領域すべてを決定できず、**一意的なアリル判定ができない**（「みなしアリル」「高頻度アリル」）。
- ルミネックス法では、新規アリルに対応するために**新しいプローブを作り続けていく必要がある**。
- Nullアリルの原因となる**他のエクソンの多型**や、HLA分子の発現量に影響を及ぼし得る**エンハンサー・プロモーター領域、イントロン、3'側非翻訳領域の遺伝子配列を検出できない**。
- 2つのアリルを個別にタイピングすることが不可能なため（phase ambiguity）**判定不能例が生じる**。

骨髄バンク登録ドナーで検出されるnullアレル

HLA-A		HLA-B		HLA-C	
アレル	遺伝子頻度	アレル	遺伝子頻度	アレル	遺伝子頻度
02:15N	0.009	15:26N	0.005	12:84N	<0.001
02:53N	0.008	15:246N	<0.001	14:35N	<0.001
02:301N	<0.001	44:61N	<0.001		
02:356N	<0.001	56:19N	<0.001		
24:11N	<0.001				
24:183N	<0.001				

HLA-DRB1	
アレル	遺伝子頻度
04:81N	<0.001

遺伝子頻度 <0.001以下 以外のNullアレル頻度の合計は、
 $0.009 + 0.008 + 0.005 = 0.022$
(02:15N) (02:53N) (15:26N)

Luminex法やSanger法での検査を用いた場合でも、登録ドナー数約45万人のうち0.022%=約100人にnullアレルが検出される→特定のエクソン以外の領域は調べられていないため、他にもまだnullアレルが存在している可能性がある。

造血幹細胞移植情報サービスHP(<http://www.bmdc.jrc.or.jp>)
骨髄バンク統計資料より抜粋

次世代シーケンサーを用いたHLAタイピング法 NGS-SBT法

- * HLA分子の構造を決定するコード領域すべての遺伝子配列を決定可能
- * HLA遺伝子の一本鎖DNAとしての配列を決定できるためphase ambiguityを解消可能
- * HLA分子の発現量に影響を与えるイントロンや非翻訳領域の遺伝子配列も決定可能。

ルミネックス法やSBT法などの従来のHLAタイピング法の欠点を克服可能

NGS-SBT法の精度評価と認証結果について

現行のSBT法とNGS-SBT法との比較

タイピング法(施設名)		完全一致率	正解を含む一致率
NGS-SBT法	Long-range系 (検査機関A)	100% (72座/72座)	100% (72座/72座)
	Short-range系 (検査機関B)	98.6% (71座/72座)	100% (72座/72座)
現行のSBT法		11.1% (8座/72座)	98.6% (71座/72座)

・NGS-SBT法と現行のSBT法との間の「正解を含む一致率」に大差はないが、従来のSBT法よりも極めて高い「完全一致率」を示すことを確認した。

⇒NGS-SBT法は現行のSBT法よりも正確なタイピング結果を提供する
有用な検査技術であることを実証

NGS-SBT法導入によって期待されるメリット

* コーディネートの期間短縮と効率向上

患者・ドナーとも「みなしアリル」ではなく、「確定アリル」を有するため最適なドナーの選択を迅速に行うことが可能となる。

* 正確なアリル判定による移植の安全性の向上

Ambiguityによる同定不可能アリルや従来見出されていなかったドナーのnullアリル保持などの原因による重篤なGVHD発症のリスクが回避可能となる。

* 国際基準とのハーモナイゼーション

NMDPをはじめとする諸外国のバンクではNGS-SBT法が標準タイピング法として急速に普及

* 将来的なタイピングコストの減少

非血縁者間造血幹細胞移植への NGS-SBT法導入に向けたロードマップ

