

# 第10回 HLA-QC ワークショップレポート

## 第10回 HLA-QC ワークショップレポート —全体経過—

木村彰方, および日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会

#: 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員: 木村彰方<sup>1,2)</sup>, 赤座達也<sup>10)</sup>, 太田正穂<sup>3)</sup>, 柏瀬貢一<sup>4)</sup>, 小林賢<sup>5)</sup>, 酒巻建夫<sup>6)</sup>, 佐田正晴<sup>7)</sup>, 田中秀則<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>8)</sup>, 成瀬妙子<sup>9)</sup>, 丸屋悦子<sup>10)</sup>, 安波道郎<sup>2,11)</sup> (所属: <sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, <sup>2)</sup>東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室, <sup>3)</sup>信州大学医学部法医学, <sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部, <sup>5)</sup>日本薬科大学生物学, <sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, <sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所, <sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部, <sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系, <sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所, <sup>11)</sup>長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

### 1. ワークショップ集会までの経過

今回で通産 10 回目を迎えた HLA-QC ワークショップ (QCWS) は, 昨年度に引き続き認定制度委員会の主催で実施された。平成 17 年 9 月に QCWS 部会において今年度の QCWS の大まかな方針が討議された。昨年度から, DNA タイピング QC (DNA-QC) と抗体を用いた QC (抗体 QC) を実施している。平成 17 年 11 月に MHC 誌上と学会ホームページ上に QCWS 案内が出され, 平成 18 年 3 月の締め切りまでに 194 名 (78 施設) から参加申し込みがあった。参加申し込み, 参加者との連絡のいずれについても原則としてインターネットを利用 (HP からの申し込み, 電子メール連絡) することとして運営した。参加者数が確定した 4 月に, QCWS 部会において, 具体的なサンプルの選定, QCWS のテーマ (後述) の決定と電子媒体を用いたデータ収集の方法を決定した。ついで, 5 月に施設単位としてサンプルを送付した。平成 18 年 6 月末のデータ送付締め切りまでに, 75 施設からデータが収集された。それらのデータは各解析担当者に送付され, 8 月末まで解析された。9 月初旬に解析データを取りまとめ, QCWS 集会で用いる資料を作成した (表 1)。

### 2. QCWS のテーマ

組織適合性技術者認定制度の主旨にそった QCWS のテーマを設定することとして, 今回の QCWS のテーマを QCWS 部会で検討した結果, DNA-QC 部門は, (1) 日常的に遭遇しない珍しいタイプ, (2) ろ紙サンプル, (3) 全ゲノム増幅 (WGA) サンプル, (4) タイピング精度 (再現性) の検討をテーマとし, 抗体 QC 部門は, (1) 抗体特異性, (2) 似通った抗原エピトープの認識, (3) 方法論による特異性, 精度に関する比較, (4) B 座の鋭敏な抗体特異性の検討をテーマとした。医療業務 (臨床検査など) 以外で行われるヒト試料の解析は研究の範疇に入るため, 国が定める種々の研究指針に従って行わなければならないが, そのためには解析を行う各施設であらかじめそれぞれの倫理審査委員会に研究計画を申請し承認を受けておくか, 適切な組織によって全体の研究計画の倫理審査を受ける必要がある。そのため, 日本組織適合性学会内に倫理審査委員会を設置し, これら試料を用いた研究計画の倫理的側面を検討いただいた。今回の QCWS では, 研究倫理指針の対象外とされるヒト試料 (これまでによく研究され, 学術的な価値が明らかであり, かつ研究者が容易に手に

表1 第8回 QCWS の実施経過

平成17年9月	QCWS 部会において第9回 QCWS の方針決定 DNA-QC 部門; 1) 日常的に遭遇しない珍しいタイプ、2) ろ紙サンプル、3) 全ゲノム増幅サンプル、4) タイピング精度 (再現性) 抗体 QC 部門; 1) 抗体特異性、2) 似通った抗原エピトープの認識、3) 方法論による特異性、精度に関する比較、4) B 座の鋭敏な抗体特異性
平成17年11月	第10回 QCWS 案内の作成、 「MHC」およびHP への掲載
平成18年3月	参加申し込み; 78施設 (194名) DNA-QC 参加: 72施設、抗体 QC 参加: 43施設
平成18年4月-5月	QCWS 部会内各部門において具体的なサンプルの決定: 1) 外国人由来の細胞株、2) 細胞を貼布したろ紙の使用、 3) A2、B15 サブタイプの使用、4) 市販抗血清の使用 (25本の候補から LCT によるプレスクリーニングにより選定) QCWS 部会にて解析担当者の決定、QCWS 集会の方針決定
平成18年4月下旬-5月中旬	QCWS サンプルの配布、 倫理審査委員会での審議に基づき、同意誓約書を取得
平成18年7月上旬	データ回収締め切り
平成18年7月-8月	QCWS データ解析
平成18年9月上旬	QCWS 集会用資料配布

表2 QCWS サンプル (DNA 部門) の形態と容量

サンプルID	形態	容量
H1801	ゲノムDNA 溶液	4 $\mu$ g
H1802	ゲノムDNA 溶液	4 $\mu$ g
H1803	ゲノムDNA 溶液	4 $\mu$ g
H1804	WGA-DNA 溶液	1 $\mu$ g
H1805	ろ紙付着細胞	3 $\times$ 10 <sup>5</sup> 細胞
H1806	ろ紙付着細胞	3 $\times$ 10 <sup>5</sup> 細胞

表3 QCWS サンプル(抗体部門)の特異性

サンプルID	形状	特異性	LCT 力価	備考
SH1801	抗血清	A26	x1	x2→ A26(negative A*2603)
SH1802	抗血清	A25 A26 A66	x1-2	
SH1803	抗血清	(-)	x1	FlowPRA Scr. class I (+)class II (+)
SH1804	抗血清	B35 B53	x1-4	

入れられるもの)を用いることとしたが、具体的には、国際 HLA ワークショップ解析で広く用いられ、種々の細胞バンクに登録されている B リンパ芽球様細胞株(表2) および市販抗血清(表3)を用いた。さ

らに研究試料の目的外使用の禁止、各施設から寄せられたデータを解析することの承諾を含めて、参加者から同意誓約書の提出を受けた上で試料を配布した。なお、同意誓約書の提出がなかった施設が1施

設あったが、上述の理由から当該施設には試料を配布しなかった。

### 3. 参加者・参加施設

参加者は総数 194 名であり、以下の 78 施設に所属していた。参加者数、参加施設数とも昨年より微増であった。なお、QCWS 集会のみへの当日参加は 34 名であった。

#### 参加施設名

札幌北楡病院・臨床検査科、岩手医科大学附属病院中央臨床検査部、鷹揚郷腎研究所弘前病院 HLA 検査室、北海道大学病院 検査部、北海道赤十字血液センター、東京医科歯科大学難治疾患研究所、株式会社ベリタス・技術営業部、東京大学医学系研究科人類遺伝学分野、東邦大学医療センター大森病院輸血部、中央血液研究所研究開発部研究二課、東京都赤十字血液センター・検査三課、NPO 法人腎泌尿器疾患研究所、東京女子医大 腎センター移植免疫研究室、遺伝子検査部 遺伝子検査 G (三菱ビーシーエル)、(株)エスアールエル 遺伝子・染色体解析センター 遺伝子検査課、北里大学病院 臨床検査部、横浜市立大学附属病院・輸血部、神奈川県赤十字血液センター 検査部検査一課、東海大学医学部 教育研究支援センター、東海大学医学部基礎医学系分子生命科学、東海大学医学部付属病院・細胞移植再生医療科、千葉東病院研究検査科、千葉県赤十字血液センター検査二課、茨城県赤十字血液センター検査課、自治医科大学附属病院 輸血細胞移植部、埼玉医科大学病院 臓器移植センター、株式会社ピー・エム・エル 特殊分析部、防衛医科大学校病院・検査部研究室、長野赤十字病院 中央検査部、信州大学医学部 法医学、医学生物学研究所 応用技術部、静岡県立総合病院 検査部、名古屋第二赤十字病院 HLA 検査室、愛知県赤十字血液センター検査二課、岐阜大学病院 検査部、岐阜赤十字病院 検査部、三重県赤十字血液センター・技術課、三重大学医学部附属病院輸血部、大阪府赤十字血液センター技術部、大阪府赤十字血液センター検査二課、大阪市立大学医学部附属病院輸血部、国立循環器病センター輸血管理室、関西医科大学附属枚方病院輸血部、大

阪府立急性期総合医療センター・組織適合検査室、NPO HLA 研究所、京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部、兵庫県赤十字血液センター・検査 1 課、松江赤十字病院 検査部輸血管理室、岡山県赤十字血液センター検査課、広島県赤十字血液センター検査課、県立広島病院 輸血部、湧永製薬(株)バイオ事業開発部、山口県赤十字血液センター、香川県立中央病院中央検査部、徳島大学病院・輸血部、高知医療センター・三菱 BCL ラボ、愛媛県立衛生環境研究所 疫学情報科、九州大学病院臨床腫瘍外科、福岡大学内科学第 4、福岡赤十字病院 検査部 HLA 検査室、福岡県赤十字血液センター検査 2 課、佐賀県立病院好生館 検査科、長崎大学・熱帯医学研究所・疾病生態、国立病院機構 長崎医療センター、熊本県赤十字血液センター・検査課、大分県立病院中央検査部、沖縄県立中部病院 検査科、金沢医科大学病院・中央臨床検査部(北陸腎移植 HLA 検査センター)、石川県赤十字血液センター検査課、富山大学附属病院、立川メディカルセンター、立川総合病院 血清検査、新潟市民病院 臨床検査科、新潟県赤十字血液センター検査課、G&G サイエンス株式会社 研究開発グループ、福島県立医科大学医学部附属病院 輸血・移植免疫部、宮城県赤十字血液センター、仙台社会保険病院 研究部、山形県立中央病院 輸血部(以上のべ 78 施設、郵便番号順)

### 4. まとめ

QCWS は組織適合技術者認定制度委員会の担当となったため、昨年度に引き続き、認定制度の主旨にそった試料の構成や選択を行い、QCWS 集会の前に試料の構成を公表し、参加者自身が QCWS 集会までに結果を自身で検討できるようにした。また、あらかじめ解析資料を CDR で送付することによって、参加者が全体解析の結果も集会前に知ることを可能とした。HLA タイピング技術を向上させる上では、いかなるサンプルをどのようにタイピングするかなど、種々異なる条件を考慮してタイピング方法を選択し、タイピング結果を評価することが必要であるため、今後も認定制度の主旨を生かした QCWS を行っていく。

# 第10回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —クラス I およびクラス II 総合判定データ解析—

柏瀬貢一, 峯元睦子<sup>4)</sup>, 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#: 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員: 木村彰方<sup>1,2)</sup>, 赤座達也<sup>10)</sup>, 太田正穂<sup>3)</sup>, 柏瀬貢一<sup>4)</sup>, 小林賢<sup>5)</sup>, 酒巻建夫<sup>6)</sup>, 佐田正晴<sup>7)</sup>, 田中秀則<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>8)</sup>, 成瀬妙子<sup>9)</sup>, 丸屋悦子<sup>10)</sup>, 安波道郎<sup>2,11)</sup> (所属: <sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, <sup>2)</sup>東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室, <sup>3)</sup>信州大学医学部法医学, <sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部, <sup>5)</sup>日本薬科大学生物学, <sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, <sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所, <sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部, <sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系, <sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所, <sup>11)</sup>長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

## 1. はじめに

昨年同様, 今年度も総合判定データ解析をクラス I とクラス II を一つにまとめて行い検査報告数の多かった A, B, C および DRB1 ローカスの正解率を中心として検討を行った。

なお, 参加施設, DNA ソースの情報等は他の稿を参考願いたい。

## 2. 検討方法

以下の項目について解析を行った。

- 2.1. 検査方法別の検査結果報告施設数
- 2.2. ローカス別の検査結果報告施設数
- 2.3. 検査方法およびローカス別の検査結果報告施設数
- 2.4. 使用検査方法数別の検査結果報告施設数
- 2.5. ローカス別の正解率

## 3. 結果および考察

### 3.1. 検査方法別の検査結果報告施設数

表 1 に検査方法別の報告数を示した。データを提出した 66 施設の内, 50 の施設が SSO 法を使用していた。SSP 法は 26 施設, SBT は 10 施設, RFLP が 3 施設と昨年と同様な傾向であった。また, 昨年 2 施設で使用されていた SSCP 法による報告が今年 は 1 施設であった。

### 3.2. ローカス別検査の結果報告施設数

表 2 にローカス別の報告数を示した。今回は, データを提出した 66 施設のうち, DRB1 が 65 施設, B ローカスが 64 施設, A ローカスが 63 施設の報告があった。

### 3.3. 検査方法およびローカス別の検査結果報告施設数

表 3 に検査方法およびローカス別の報告数を示した。データを提出した 66 施設の内, 14 施設が SSO

表 1 検査方法別

検査方法	報告数
SSO	50
SSP	26
SBT	10
RFLP	3
SSCP	1

表 2 ローカス別

ローカス	報告数
A	63
B	64
C	37
DRB1	65
DRB3/4/5	34
DQA1	3
DQB1	28
DPB1	2

表3 検査方法およびローカス別

検査方法	ローカス														合計
	ABC DRB1 DRB3/4/5 DQB1	ABC DRB1 DQA1 DQB1 DPB1	ABC DRB1 DQA1 DQB1	ABC DRB1 DQB1 DPB1	ABC DRB1 DQB1	ABC DRB1 DRB3/4/5	ABC DRB1	AB DRB1 DRB3/4/5 DQB1	AB DRB1 DRB3/4/5	AB DRB1	B	DRB1 DQB1	DRB1		
SSO	1				1	2(1)		4	1	14	6	1		1	31
SSP	5					3				4			1		13
SSP+SSO	4			1		2		2							9
SSO+SBT						1		2			1				4
SBT								2(1)							2
SSO+RFLP	1						1								2
SSP+SSO+SBT	(1)		1												2
SSP+SBT	(1)														1
SSP+SSO+SSCP	1														1
SSO+SBT+RFLP						1									1
合計	14	1	1	1	1	9	1	10	1	18	7	1	1	1	66

WGA (whole genome amplification) を使用した数値を ( ) にて示した。

表4 使用検査方法数別

検査方法数	報告数
1法	46
2法	16
3法	4

表5 A ローカス・正解率

QC ID	HLA型	DNA型	Low			High/Middle			
			報告数	正解数	正解率	報告数	正解数	正解率	
A	H1801	A2	*0201 (*02)	62	62	100.0%	56	56	100.0%
		-	-						
	H1802	A210(A2)	*0210 (*02)	62	62	100.0%	56	56	100.0%
		A30	*3001 (*30)						
	H1803	A203(A2)	*0203 (*02)	62	60	96.8%	56	52	92.9%
		A29	*2901 (*29)						
	H1804	A210(A2)	*0210 (*02)	57	57	100.0%	54	54	100.0%
		A30	*3001 (*30)						
H1805	A2	*0201 (*02)	50	50	100.0%	47	47	100.0%	
	-	-							
H1806	A210(A2)	*0210 (*02)	48	48	100.0%	46	45	97.8%	
	A30	*3001 (*30)							
合計および平均			341	339	99.4%	315	310	98.4%	

だけを用いて A, B, DRB1, DRB3/4/5 の検査を行っていた。さらに、ローカスの組み合わせでは、A, B, DRB1, DRB3/4/5 が 18 施設と最も多かった。

#### 3.4. 使用検査方法数別の検査結果報告施設数

表4に使用検査方法別の報告数を示した。1法だけ行っている施設が46と最も多かった。昨年は4法以上を用いて検査を行った施設が3施設あったが、今年はゼロであった。

#### 3.5. ローカス別正解率

表5から表8にそれぞれのローカスの正解率を示した。すべてのローカスについて、高い正解率が得られた。しかしながら、H1803はSSP(JPN)法において、A\*2901が検出されないため、他のサンプルに比べ低い正解率であった。なお、H1803は昨年の本ワークショップにおいてH1702として使用されたサンプルで、昨年も同様にA\*2901がSSP(JPN)法により検出されないことが指摘されていた。

また、H1803のCローカスについてもSSP(JPN)

表6 Bローカス・正解率

QC ID	HLA型	DNA型	Low			High/Middle			
			報告数	正解数	正解率	報告数	正解数	正解率	
B	H1801	B45(B12) -	*4501 (*45) -	63	63	100.0%	56	55	98.2%
	H1802	B13	*1302 (*13)	63	63	100.0%	56	54	96.4%
		B61(B40)	*4006 (*40)						
	H1803	B7	*0705 (*07)	63	62	98.4%	56	54	96.4%
		B76(B15)	*1519 (*15)						
	H1804	B13	*1302 (*13)	59	59	100.0%	55	52	94.5%
		B61(B40)	*4006 (*40)						
H1805	B45(B12) -	*4501 (*45) -	51	51	100.0%	48	48	100.0%	
H1806	B13	*1302 (*13)	48	48	100.0%	46	44	95.7%	
	B61(B40)	*4006 (*40)							
合計および平均			347	346	99.7%	317	307	97.8%	

表7 Cローカス・正解率

QC ID	(HLA型)	DNA型	Low			High/Middle			
			報告数	正解数	正解率	報告数	正解数	正解率	
C	H1801	(Cw16) -	*1601 (*16) -	31	31	100.0%	30	29	96.7%
	H1802	Cw6	*0602 (*06)	37	37	100.0%	31	31	100.0%
		Cw8	*0801 (*08)						
	H1803	(Cw4)	*0403 (*04)	36	35	97.2%	33	31	93.9%
		(Cw15)	*1505 (*15)						
	H1804	Cw6	*0602 (*06)	30	30	100.0%	27	26	96.3%
		Cw8	*0801 (*08)						
H1805	(Cw16) -	*1601 (*16) -	25	25	100.0%	25	25	100.0%	
H1806	Cw6	*0602 (*06)	26	26	100.0%	24	24	100.0%	
	Cw8	*0801 (*08)							
合計および平均			185	184	99.5%	170	166	97.6%	

CローカスはDNA型を記載することになっているがHLA型で記載してきた施設もLowの集計対象とした

表8 DRローカス・正解率

QC ID	HLA型	DNA型	Low			High/Middle			
			報告数	正解数	正解率	報告数	正解数	正解率	
DR	H1801	DR13(DR6) -	*1301 (*13or*06) -	62	62	100.0%	56	55	98.2%
	H1802	DR7	*0701 (*07)	64	64	100.0%	59	59	100.0%
		DR9	*0901 (*09)						
	H1803	DR10	*1001 (*10)	63	62	98.4%	59	59	100.0%
		DR15(DR2)	*1502 (*15or*02)						
	H1804	DR7	*0701 (*07)	55	55	100.0%	50	50	100.0%
		DR9	*0901 (*09)						
H1805	DR13(DR6) -	*1301 (*13or*06) -	51	51	100.0%	47	46	97.9%	
H1806	DR7	*0701 (*07)	54	54	100.0%	51	51	100.0%	
	DR9	*0901 (*09)							
合計および平均			349	348	99.7%	322	320	99.4%	

法によるミスアサインにより他のサンプルに比べ低い正解率であった。

以上、各項目について解析を行ったが、紙面の関

係上詳細については方法別やテーマ別の解析データを参考願いたい。今年も表記によるミスアサインと思われるケースも少なくなかった。さらに、昨年指

摘された SSP (JPN) 法によるミスアサインについても改善されていないなど問題点が見られた。今後

も継続的にワークショップを行い、HLA タイピングの技術向上に役立てることが重要である。

## 第 10 回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —方法論別データ検討 (PCR-SSO)—

酒巻建夫, 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#: 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員: 木村彰方<sup>1,2)</sup>, 赤座達也<sup>10)</sup>, 太田正穂<sup>3)</sup>, 柏瀬貢一<sup>4)</sup>, 小林賢<sup>5)</sup>, 酒巻建夫<sup>6)</sup>, 佐田正晴<sup>7)</sup>, 田中秀則<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>8)</sup>, 成瀬妙子<sup>9)</sup>, 丸屋悦子<sup>10)</sup>, 安波道郎<sup>2,11)</sup> (所属: <sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, <sup>2)</sup>東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室, <sup>3)</sup>信州大学医学部法医学, <sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部, <sup>5)</sup>日本薬科大学生物学, <sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, <sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所, <sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部, <sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系, <sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所, <sup>11)</sup>長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

### 1. 参加施設

SSO 法を使用した施設は 49 施設あり解答を寄せた 66 施設の 74% であった。昨年は 51 施設で 70.8% であったので 2 施設減少しているが参加施設が減っているため、他の方法と比較すると相対的には増加していた。

### 2. SSO キットの使用状況

個々の SSO 法キットについては重複使用を含めダイナルリライが 23 施設で 49%, 湧永 MPH が 5 施設で 10%, ルミネックスビーズ法が 21 施設で 43%, INNO-LIPA が 2 施設で 4.1% あった。この 1 年でリライと MPH キット使用が減少しルミネックスビーズ法の使用が増加していた(表 1)。ルミネッ

クスビーズ法については別途丸屋が解析し、報告する。

単独使用について見るとリライ単独が 17 施設 17/23 (74%), 全 66 施設中では 26%, MPH 単独使用が 3 施設で 3/5 (60%), 全体のなかで 4.5%, ルミネックス法が 11 施設で 11/21 (52%), 全体のなかでは 17% であった。参考として SSP 法単独使用は 11 施設で 11/27 (40.7%), 全体のなかで 17%, SBT 法は 3 施設で 3/8 (37.5%), 全施設中で 4.5% であった。以上のことからリライやルミネックス法はその方法のみで結果が出せる方法として採用していることを示している。

リライキットではバージョンによりプローブ数が異なるので最新キットプローブ特異性に合わせデータ移動(昨年度の報告書を参照)を行い検体 (H1801-1806) ごとのグループにまとめて並び替えを行った。報告書のスペースの関係から、生データは参加施設に送付した CD-R のままで今回の報告書には記載を省略した。

表 1 SSO 法採用施設数(ルミネックス法を除く)

参加ラボ	72
回答ラボ	66
SSO法	49
Reli	23
Reli単独使用	17
MPH-2	5
イノリバ	2

### 3. ダイナルリライキットの分析

(1) リライキットを使用した施設は D-002, 003, 004, 009, 012, 015, 016, 021, 023, 024, 027, 030,

表2 Dynal Reli 生データ集計数(施設数)

検体	HLA-A	HLA-B	HLA-Cw	HLA-DRB	HLA-DQB
H1801	22	22	5	22	4
H1802	22	22	5	22	4
H1803	22	22	5	22	4
H1804	22	22	5	22	4
H1805	20	21	5	21	3
H1806	20	19	5	21	3

031, 033, 043, 052, 054, 055, 060, 063, 066, 067, 072 の 23 施設で、本キット単独使用(太字で表示)は 16 施設であった。1 施設は生データを送付して来なかったので分析から除外した。

(2) 表2にリライキットのサンプルごとに HLA アリルの生データ解析数を示した。このことから SSO 法では通常の抽出 DNA 検体、少量の WGA 検体、ろ紙サンプルにも十分に対応できることを示している。また解析アリルが HLA-A, B, DRB に多いことは日常の検査項目を反映していると考えられる。

#### (2) HLA-A 座について

22 施設が解答を寄せた。キット仕様ごとの施設数では 35 プローブキット使用施設が 2, 41 プローブキット使用施設が 1, 43 プローブキット使用施設が 19 であった。新しい 43 プローブキット使用が増加しているが、相変わらず古いキットを使用し続けている施設もあり、販売時のキットサイズが大きく、日常の検体が少ないことを示していると考えられた。

A 座では全般的に陽性プローブ、陰性プローブに対して良好な反応を示した。H1806 検体については偽陰性のプローブ反応が一部の施設で見られたが、PCR 増幅がうまく行われなかった可能性を示している。このことは試料として送られたろ紙から各施設が抽出をした DNA に何らかの問題があることを示唆するものである。

全般的に陽性コントロールの反応がスコアー 1 や 2 などの施設が多く認められた。このことは元来キットのライン状に結合してあるプローブ量が少なく、洗浄発色過程などで施設間での差異が大きく出

たのか、反応の強さを判定する側の基準の相違によるものか考えられる。

一部の施設では反応パターンから解答として表記されたアリルの特異性が正確には決められないようなケースも認められた。転記ミスや他法のデータを参照した可能性がある。

アリルの記載方法については、一部では未記入だったり学会が提唱する標準的な方法とは異なったりする施設が認められた。

#### (3) HLA-B 座について

B 座用のキットでは 22 施設が 62 プローブキットを使用していたが、残りの 2 施設では 56 プローブキットを使用していた。全般的に偽陽性や偽陰性の反応が少なくおおむね良好な結果を示した。D-030 の施設では H1802 および H1806 検体で B\*1302 の取り漏れが生じた。56 プローブを使用した施設では B\*1512/19 の検体について B\*1501 との区別が付かない結果であった。読み替えでは前者が B76 であるのに対して B62 ととるので 2 桁レベルの区別ができないことになる。

#### (4) HLA-C 座について

D-003, 018, 022, 034 の 4 施設が参加した。キットはポジティブコントロールを含め 37 プローブで判定するようになっている。生データは各施設ともほぼ一致し、アリルの結果は H1801, H1803, H1805 で一致していた。H1802, H1804, H1806 の検体では 2 桁レベルのアンビギュイティが存在していた。

## (5) HLA-DRB について

プローブ数 54 のキット使用施設が 18, 45 プローブキット使用施設が 4 であった。昨年に比較すると記載する施設が増加したが、相変わらず DRB1 のアレル報告はしていても DRB3-5 遺伝子の結果報告をしない施設が認められた。このことは解析ソフトを使用した場合に DRB1 アレルについては可能性のある組み合わせを表示するが DRB3-5 アレルについては詳細を表示しないのでマニュアル判定になるためと考えられる。アレル報告も空欄や、4 桁レベルのアンビグイティ報告ではなく 2 桁レベルの報告をした施設が認められた。D-027 の施設ではアレルの表記法が正しく行われていなかった。

H1801 の検体について生データの反応値はほぼ全施設で一致した。HLA 型(血清対応型, 読替型)が正解であるのにも拘わらず解答アレル表記は多様であった。解析ソフトが施設間で異なるためと考えられる。

H1802 検体では DRB4 アレルについて同じ特異性を 2 つ記載している施設が多いが、DRB1 アレルが 2 つあっても DRB4 アレルについては同じ特異性であれば片方のみを記載して、一方はブランクとすべきものと考えられる。

H1803 検体は昨年の H1702 検体と同一検体であった。DRB1\*1501 と DRB1\*1502 がリライのジェネリック増幅 DRB キットでは判定できず、DRB1\*1502 と判定しているところは DRB5\*0102 の連鎖不平衡から判定していると考えられた。昨年同様に 1 施設では DRB1\*1502 が含まれないアレル記載をしていた。

H1804 の検体は H1802 と H1806 と同一の細胞株由来の検体であり、WGA を行った産物として配布されたものであった。生データの反応値はほぼ一致していた。

H1805 の検体は H1801 と同一の検体であり、ろ紙付着細胞として配布されたものである。各施設とも生データはほぼ一致していた。むしろ H1801 検体よりも反応値はきれいに分かれている印象がある。

H1806 の検体は H1802 と H1804 と同一の細胞株由来の検体であり、ろ紙付着細胞として配布されたものであった。各施設の生データはほぼ一致して

いた。プローブ #36 では非特異的な反応が見られやすいので弱く発色したものは陽性には取らないなど注意する必要がある。

今回の QCWS ではヘテロザイゴウトの検体が少なく、ジェネリックな増幅をかけて判定する上であまり困難がなかったが、通常のヘテロザイゴウトの検体ではアレル数が増加すると DRB1 遺伝子、DRB3-5 遺伝子、DR2 関連イントロンなどの遺伝子産物が対象となるのでアレル特異性の判定に困難が生じてくる。すでに DR52 関連遺伝子では DRB1 と DRB3 遺伝子の類似性から様々な組み合わせが考えられるが、現時点でも DR52 関連抗原が重複したような時には適切に DRB1 遺伝子のみを増幅する必要があるだろう。

## (6) HLA-DQB1 について

D-004, 016, 024, 027 の 4 施設が参加した。プローブの反応は各々の施設でよく一致していた。D-027 の施設では生データの記載やアレル表記のルールが守られていなかった。

## (7) リライキットのまとめ

1) 生データを解析すると概ね各施設間のバラツキも少なく、良好な反応を示していた。

2) 通常の DNA 検体であれ、WGA 産物であれ、ろ紙付着細胞サンプルであれ、十分に対応することが可能であった。

3) HLA 型(血清型)への読替には問題がないが、最終的なアレルの記載では施設間(判定者)にバラツキが認められた。最新のアレル情報に対応した解析ソフト使用が望まれる。

## 4. ワクナガ MPH-2 キットの分析

(1) MPH-2 キットを使用した施設は D-017, 035, 045, 048, 070 の 5 施設であった。昨年の 9 施設と比較してほぼ半減していた。

(2) 従来同様に生データの報告桁数が OD 値, 100 倍 OD 値とあり、スコア化データへの変換が行われていないためにプローブの陽性, 陰性の判定が不明であった。発色の OD 値が各施設間で大きくばらつき、メーカー側の基準としているカットオフ値で

は判定できない状況であった。このことはマイクロプレートを用いた MPH 法での反応，洗浄や温度管理などの難しさの表れと考えられる。

## 5. INNO-LIPA キットの分析

このキットを使用した施設は D-017 と 064 の 2 施設であった。DR のみの参加や他法との併用であり，参加施設が少ないために生データ分析の対象からは除外した。本キットの原理はリライと同様にプローブ数も多く，結果報告の精度も同等であった。

## 6. SSO キットを使いこなすために

QCWS では検体の送付がすでに抽出された DNA の形状として，あるいは抽出するとしてもろ紙からの抽出方法が限られているために，テンプレート DNA 自体の量や質という面ではあまり問題になることはない。しかし各施設が血液などから抽出した DNA の質が悪ければ PCR 反応が全くかからないこともあるし，対立遺伝子の片方がうまく増幅できないこともある。質がよければ少量であっても WGA を利用して増幅し，さらに SSO キットを用いてタイピングすることも可能である。市販 SSO キット

では多様な DNA サンプルからでも PCR 反応が十分に増幅されるようにプライマーの工夫やプロトコルの充実が諮られている。プローブとの反応では時間，温度管理や試薬の調整が守られれば大きな失敗はない。問題は各プローブの発色反応を陽性と取るか陰性と取るかである。いくらメーカー側が使用するプローブの長さや量を調整したキットであっても強く出るプローブ，弱く出るプローブ，他の特異性に対して多少の交差が出やすいプローブなど存在する。この点では QCWS の意義として他の施設がどのようなスコア判定しているかが非常に参考となる。世界標準となっているキットでは日本人の特異性では反応しないプローブがあり，人種の違う HLA 検体では思わぬところに擬陽性反応が出るようなことがある。私たちは様々な特異性のテストを経験することで精度を向上させることができる。QCWS では DNA を取り扱うことから倫理委員会の承認があるのが現状である。QCWS での DNA 検体の取り扱い，一般の研究とは異なるもので，タイピングの精度管理として倫理委員会での制約が小さくなることを期待するものである。

# 第 10 回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) — 方法論別データ検討報告 (いわゆる Luminex 法) —

丸屋悦子，日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#：日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員：木村彰方<sup>1,2)</sup>，赤座達也<sup>10)</sup>，太田正穂<sup>3)</sup>，柏瀬貢一<sup>4)</sup>，小林賢<sup>5)</sup>，酒巻建夫<sup>6)</sup>，佐田正晴<sup>7)</sup>，田中秀則<sup>4)</sup>，中島文明<sup>8)</sup>，成瀬妙子<sup>9)</sup>，丸屋悦子<sup>10)</sup>，安波道郎<sup>2,11)</sup> (所属：<sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野，<sup>2)</sup>東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室，<sup>3)</sup>信州大学医学部法医学，<sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部，<sup>5)</sup>日本薬科大学生物学，<sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室，<sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所，<sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部，<sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系，<sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所，<sup>11)</sup>長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

## 1. はじめに

第 9 回 QCW に比べ今回は Luminex 法を使用し

た施設の増加が見られた(表 1)。解析ポイントを施設別・キット別での総合精度評価にしぼった。

表1 使用キット別参加施設一覧

施設名	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	Total	
	D005	D007	D010	D013	D014	D019	D020	D025	D029	D032	D034	D036	D040	D042	D044	D047	D056	D058	D068	D069		
★	○	○	○			○	○	○			○	○	○		○		○	○				12
◆	○											○	○		○	○	○					6
▲				○	○	○			○	○		○		○					○	○		9

## 2. 評価方法

1) PCRの増幅効率と精度(増幅領域を過不足なく増幅する)

2) プローブの反応性(実験条件の整備状況の把握)

上記2点について、使用されたHLA-typing kitは3社(★・◆・▲)、これらのkitを用いて提出された生データを解析し、総合的な評価を試みた。

3) 配布DNA6種のHLA typing (A, B, C, DR) 判定結果の比較

今回配布された6種のDNAは3種の細胞由来(H1801 = H1805, H1802 = H1804 = H1806, H1803)である。参加施設を使用kit別に分類し、kit別の判定結果を表2-5に示す。

### 2-1. HLA-A座

問題点: DNA H1802 = H1804 = H1806の判定で、★キット使用施設においてA2アレルの判定に不一致(25%)があった。日本人においてA2アレル多型の正確なタイピングは必須であり注意を要する。

### 2-2. HLA-B座とC座

参加施設の回答に表記方法など多少の違いはあるが、根本的な問題点と考えられる相違はなかった。

### 2-3. HLA-DR座

問題点その1: DNA H1803の判定で★キット使用の1施設において一方の抗原検出ができなかった。陽性コントロールの蛍光値は他施設とほぼ同程度で問題はなかった。このような過誤を起こす原因のひとつとしてハイブリダイゼーション温度調節不良が考えられる。各プローブにはそれぞれ最適なハイブリダイゼーション温度があり、多数のプローブを同

一のハイブリダイゼーション温度(最大公約数の温度)でおこなうキットでは正確な温度管理が重要と考えられる。

問題点その2: DNA H1801 = H1805の判定で▲キット使用の4施設(44%)で抗原レベルの不一致があった。原因の特定は困難であったが、他キットを使用した施設の判定結果からも、この4施設にはなんらかの問題があったと考えられる。

## 3. 施設別総合評価

表6に施設別総合評価を示す。評価項目はPCR精度とHybridization法の精度を用いた。

### 【PCR精度】

HLA-class Iの場合、exon 2と3を増幅し、タイピングに用いる。多型を検出するprobeは両領域に散在し、senseまたはanti-senseの塩基配列をターゲットとする。ゆえに増幅は両exonとそれぞれのsense, anti-senseがバランス良くおこなわれることが必須である。バランスの良いPCRをおこなう技術が精度の高さに反映される。増幅効率のバランス(R)を以下の計算式で求め、各施設に得点を与えた。

$$R = (\text{exon 2 positive control (PC) の蛍光値}) / (\text{exon 3 PC の蛍光値})$$

各exonのsense, anti-senseに対するpositive controlを有するキット(精度管理をおこなうために非常に有用なコントロールである)は以下の二通りの計算式により、R, Rex2, Rex3を求めた。

$$R = [\text{exon2 (sense PC + anti-sense PC)} / \text{exon3 (sense PC + anti-sense PC)}]$$

$$\text{Rex2} = (\text{exon2 sense PC} / \text{exon2 anti-sense PC})$$

$$\text{Rex3} = (\text{exon3 sense PC} / \text{exon3 anti-sense PC})$$

R, Rex2, Rex3の値が0.8-1.2 = 5点, 0.49 <

表2 HLA-A 座判定結果一覧

HLA-A locus	H1801		H1802		H1803		H1804		H1805		H1806			
	使用キット	LoI 座コード	DNA型	HLA型	DNA型	HLA型	DNA型	HLA型	DNA型	HLA型	DNA型	HLA型		
★	1	3 1 8 D007	A*020101L094+	A2	A*0203	A*020101L029+	A203 A29	A*0210	A*020101L044+	A210 A30	A*0210	A*020101L041S	A210 A30	
	2	J3 1 8 D010	A*020104098+	A2	A*0203	A*020101N029+	A203 A29	A*0210	A*020104098+	A210 A30	A*0210	A*0201041S	A210 A30	
	3	7 1 8 D019	A*020104077+		A*020301	A*020102044+		A*0206010251+	A*020104077+		A*0206010251+	A*02010814+		
	4	7 1 8 D020	A*020104077+	A2	A*0203	A*020102044+	A2 A29	ND	A*020104077+	ND	ND	ND	A2 A30	
	5	7 1 8 D025	A*020104077+	A2	A*0203	A*020102044+	A203 A29	A*0206010251+	A*020104077+	A2 A30	A*0206010251+	A*02010814+	A2 A30	
	6	3 1 8 D034	A*020104077+	A2	A*0203	A*020101L029+	A203 A29	A*0210	A*020101L044+	A210 A30	A*0210	A*0201041S	A210 A30	
	7	3 1 8 D040	A*020101L044+	A02	A*0203	A*020101L044+	A203 A29	A*0210	A*020101L044+	A02	A*0210	A*0201041S	A210 A30	
	8	3 1 8 D044	A*020104098+	A2	A*020301	A*020102044+	A2 A29	A*0210	A*020104098+	A2	A*0210	A*0201041S	A2 A30	
	◆	1	F1 1 8 D005	A*020104098+	A2	A*0203	A*0201	A2 A29	A*0210	A*020104098+	A2 A30	A*0210	A*0201041S	A2 A30
		2	F1 1 8 D036	A*020104098+	A2	A*0203	A*0201	A203 A29	A*0210	A*020104098+	A210 A30	A*0210	A*0201041S	A210 A30
		3	E3 1 8 D040	A*020101L044+	A02	A*0203	A*020102044+	A203 A29	A*0210	A*020101L044+	A02	A*0210	A*0201041S	A210 A30
		4	E6 1 8 D044	A*020104098+	A2	A*0203	A*0201	A2 A29	A*0210	A*020104098+	A2 A30	A*0210	A*0201041S	A2 A30
		5	F04 1 8 D047	A*020104098+	A2	A*0203	A*0201	A203 A29	A*0210	A*020104098+	A2 A30	A*0210	A*0201041S	A2 A30
		6	E3 1 8 D056	A*020104098+	A2	A*0203	A*0201	A203 A29	A*0210	A*020104098+	A2 A30	A*0210	A*0201041S	A210 A30
▲		1	14 1 8 D013	A*020104098+	A2	A*0203	A*020102044+	A203 A29	A*0210	A*020101L044+	A2 A30	A*0210	A*0201041S	A2 A30
		2	13 1 8 D014	A*020104098+	A2	A*0203	A*020102044+	A2	A*0210	A*020104098+	A2 A30	A*0210	A*0201041S	A2 A30
		3	14 1 8 D029	A*020104098+	A2	A*0203	A*020102044+	A203 A29	A*0210	A*020104098+	A210 A30	A*0210	A*0201041S	A210 A30
		4	14 1 8 D032	A*02010101	A2	A*020301	A*02010101	A203 A29	A*0210	A*02010101	A210 A30	A*0210	A*0201041S	A210 A30
		5	14 1 8 D036	A*020104098+	A2	A*0203	A*020102044+	A203 A29	A*0210	A*020104098+	A210 A30	A*0210	A*0201041S	A210 A30
		6	14 1 8 D042	A*020104098+	A2	A*0203	A*020102044+	A203 A29	A*0210	A*020104098+	A210 A30	A*0210	A*0201041S	A210 A30
		7	14 1 8 D068	A*020104098+		A*0203	A*020102044+	A203 A29	A*0210	A*020104098+	A210 A30	A*0210	A*0201041S	A210 A30
		8	14 1 8 D069	A*020104098+	A2	A*0203	A*020102044+	A2 A29	A*0210	A*020104098+	A2 A30	A*0210	A*0201041S	A2 A30

配列DNAの由来番号は3種、H1801 = H1805 : H1802 = H1804 = H1806 = H1803  
 他の座位と判定が異なり、相違がかなり重要と考えられる場合

表3 HLA-B 座判定結果一覧

HLA-B Typing 使用キット	lot	海抜コード	H1801		H1802		H1803		H1804		H1805		H1806	
			DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型		
★	1	3JPN 18D005	B*4501/03/05/07	B*1302/08	B*4006	B*0705/06	B*1512/19	B*1302/08	B*4006	B*4501/03/05/07	B*1302/08	B*4006	B*1302/08	B*4006
	2	10 18D007	B*4501/03/04/+	B*1301/02/08	B*4004/06/53	B*0705/06	B*1512/19	B*1301/02/08	B*4004/06/53	B*4501/03/04/+	B*1301/02/08	B*4004/06/53	判定不能	B*4006/53
	3	3JPN 18D010	B*4501/03/07	B*1302/08	B*4006/53	B*0705/06	B*1512/19	B*1302/08	B*4006/53	B*4501/03/07	B*1302/08	B*4006/53	B*1302/08	B*4006/53
	4	9 18D020	B*4501/03/04/+	B*1301/02/07/+	B*4004/06/53	B*0705/06	B*1512/19	B*1301/02/07/+	B*4004/06/53	B*4501/03/04/+	B*1301/02/07/+	B*4004/06/53	B*1301/02/07/+	B*4006/53
	5	9 18D025	B*4501/03/04/+	B*1301/02/07/+	B*4004/06/53	B*0705/06	B*1512/19	B*1301/02/07/+	B*4004/06/53	B*4501/03/04/+	B*1301/02/07/+	B*4004/06/53	B*1301/02/07/+	B*4006/53
	6	3JPN 18D034	B*4501/03/04/+	B*1302/08	B*4006/53	B*0705/06	B*1512/19	B*1302/08	B*4006/53	B*4501/03/04/+	B*1302/08	B*4006/53	B*1302/08	B*4006/53
	7	3JPN 18D040	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006/53	B*0705/06	B*1512/19	B*1302/08	B*4006/53	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006/53	B*1302/08	B*4006/53
	8	3JPN 18D044	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006/53	B*0705/06	B*1512/19	B*1302/08	B*4006/53	B*4501/03/04/+	B*1302/08	B*4006/53	B*1302/08	B*4006/53
	9	3JPN 18D058	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006/53	B*0705/06	B*1512/19	B*1302/08	B*4006/53	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006/53	B*1302/08	B*4006/53
◆	1	F001B 18D005	B*4501/03/05/07	B*1302/08	B*4006	B*0705/06	B*1512/19	B*1302/08	B*4006	B*4501/03/05/07	B*1302/08	B*4006	B*1302/08	B*4006
	2	F001B 18D036	B*4415/4501/+	B*1302/08	B*4006	B*0705/46/53/+	B*1501/12/14/+	B*1302/08	B*4006	B*4415/4501/+	B*1302/08	B*4006	B*1302/08	B*4006
	3	F001B 18D040	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006	B*0705/06	B*1501/12/14/+	B*1302/08	B*4006	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006	B*1302/08	B*4006
	4	F0038 18D044	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006	B*0705/06	B*1501/12/14/+	B*1302/08	B*4006	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006	B*1302/08	B*4006/53
	5	F001B 18D047	B*4415/4501/+	B*1302/08	B*4006	B*0705/06/46/05	B*1501/12/14/+	B*1302/08	B*4006	B*4415/4501/+	B*1302/08	B*4006	B*1302/08	B*4006
	6	F0038 18D056	B*4415/+	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006	B*0705/+	B*1501/12/14/+	B*1302/08	B*4006	B*4415/+	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006
▲	1	0 1 4 18D013	B*45	B*1302/08	B*4006	B*0705/06	B*1512/19	B*1302/08	B*4006	B*45	B*1302/08	B*4006	B*1302/08	B*4006
	2	s 1 3 18D014	B*4501/03/05/07	B*1302/08	B*4006	B*0705/06	B*1512/19	B*1302/08	B*4006	B*4501/03/05/07	B*1302/08	B*4006	B*1302/08	B*4006
	3	0 0 9 6 18D019	B*4501/04	B*1302	B*4006/27/18	B*0705/06/08/+	B*1501/12/14/+	B*1302	B*4006/27/18	B*4501/04	B*1302	B*4006/27/18	B*1302	B*4006/27/18
	4	0 1 4 18D029	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006	B*0705/06	B*1512/19	B*1302/08	B*4006	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006	B*1302/08	B*4006
	5	0 1 4 18D032	B*4501	B*1302	B*4006/01/01	B*0705	B*1512	B*1302	B*4006/01/01	B*4501	B*1302	B*4006/01/01	B*1302	B*4006/01/01
	6	0 1 4 18D036	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006	B*0705/06	B*1512/19	B*1302/08	B*4006	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006	B*1302/08	B*4006
	7	0 1 4 18D042	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006	B*0705/06	B*1512/19	B*1302/08	B*4006	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006	B*1302/08	B*4006
	8	0 1 4 18D058	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006	B*0705/06	B*1512/19	B*1302/08	B*4006	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006	B*1302/08	B*4006
	9	0 1 4 18D069	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006	B*0705/06	B*1512/19	B*1302/08	B*4006	B*4501/03/05/+	B*1302/08	B*4006	B*1302/08	B*4006

配布DNAの由来組織は3重、H1801 = H1805 : H1802 = H1804 = H1806 : H1803

表 4 HLA-C 座判定結果一覧

HLA-C 使用キット	No 16	Lot	施設コード	H1801		H1802		H1803		H1804		H1805		H1806	
				DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型		
★	1	6	18D007	Cw*1601/08	-	Cw*0602/09/10/+	Cw*0801/08/11	Cw*0403	Cw*1505/06/09	Cw*0602/09/10/+	Cw*0801/08/11	Cw*1601/08	-	Cw*0602/09/10/+	Cw*0801/08/11
	2	5	18D010	Cw*1601	-	Cw*0602/10/12/+	Cw*0801/08	Cw*0403	Cw*1505/06/09	Cw*0602/10/12/+	Cw*0801/08	Cw*1601	-	Cw*0602/10/12/+	Cw*0801/08
	3	6	18D020	Cw*1601	-	Cw*0602/09/10/+	Cw*0801/08/11	Cw*0403	Cw*1505/06/09	N.D.	N.D.	Cw*1601	-	Cw*0602/09/10/+	Cw*0801/08/11
	4	5	18D025	Cw*1601	-	Cw*0602	Cw*0801	Cw*0403	Cw*1505/09	Cw*0602/09/10/+	Cw*0801/08/11	Cw*1601	-	Cw*0602/09/10/+	Cw*0801/08/11
	5	3	18D040	Cw*1601	-	Cw*0602/09/12/+	Cw*0801/08/11	Cw*0403	Cw*1505	Cw*0602/09/12/+	Cw*0801/08/11	Cw*1601	-	Cw*0602/09/12/+	Cw*0801/08/11
◆	1	FO01	18D040	Cw*1601	-	Cw*0602/09/12/+	Cw*0801/08/11	Cw*0403	Cw*1505	Cw*0602/09/12/+	Cw*0801/08/11	Cw*1601	-	Cw*0602/09/12/+	Cw*0801/08/11
	2	FOA	18D044	Cw*160101	-	Cw*0602/07/09	Cw*0801/08	Cw*0403	Cw*1505	Cw*0602/07/09	Cw*0801/08	Cw*1601/06	-	Cw*0602/07/09	Cw*0801/08
	3	FOA	18D047	Cw*1601	Cw*1601/06	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+	Cw*0403	Cw*1505	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+	Cw*1601	Cw*1601/06	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+
	4	FO01	18D056	Cw*1601	Cw*1601/06	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+	Cw*0403	Cw*1505	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+	Cw*1601	Cw*1601/06	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+
▲	1	14	18D013	Cw*1601/06	-	Cw*06	Cw*08	Cw*0403	Cw*1505	Cw*06	Cw*08	Cw*1601/06	-	Cw*06	Cw*08
	2	10	18D019	Cw*160101	-	Cw*0602/09/11	0801/08/10/+	Cw*0403	Cw*1505	Cw*0602/09/11	Cw*0801/08/10/+	Cw*1601/06	-	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+
	3	14	18D029	Cw*1601/06	-	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+	Cw*0403	Cw*1505	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+	Cw*1601/06	-	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+
	4	14	18D032	Cw*160101	-	Cw*0602	Cw*080101	Cw*0403	Cw*150501	Cw*0602	Cw*080101	Cw*160101	-	Cw*0602	Cw*080101
	5	14	18D036	Cw*1601/06	-	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+	Cw*0403	Cw*1505	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+	Cw*1601/06	-	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+
	6	14	18D042	Cw*1601/06	-	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+	Cw*0403	Cw*1505	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+	Cw*1601/06	-	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+
	7	14	18D068	Cw*1601/06	-	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+	Cw*0403	Cw*1505	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+	Cw*1601/06	-	Cw*0602/07/09/+	Cw*0801/08/10/+

配布DNAの由来細胞は3種、H1801 = H1805 : H1802 = H1804 = H1806 : H1803



表6 施設別総合評価(第10回 QCW DNA 部門)

施設名	HLA-class I				HLA-class II				総合評価
	キット	PCR 精度	P/N	評価	キット	PCR 精度	P/N	評価	
D005	★	3.7	4.8	8.5	★	3.0	5.0	8.0	17.5(16)
	◆	4.8(4.2)	4.8	9.6(9)					
	総合	4.6(4.1)	4.9	9.5(9)					
D007	★	3.0	4.9	7.9	★	3.0	3.8	6.8	14.7
D010	★	3.2	4.8	8.0	★	3.2	4.8	8.0	16.0
D013	▲	3.6	4.7	8.3	▲	4.2	4.9	9.1	17.4
D014	▲	3.0	5.0	8.0	▲	4.8	4.9	9.7	17.7
D019	★	1.3	3.9	5.2	★	3.7	5.0	8.7	15.6
	▲	2.5	4.9	7.4	▲	4.8	4.3	9.1	
	総合	2.1	4.5	6.6	総合	4.3	4.7	9.0	
D020	★	3.4	4.2	7.6	★	4.7	4.6	9.3	16.9
D025	★	3.2	4.9	8.1	★	4.7	4.7	9.4	17.5
D029	▲	3.3	4.9	8.2	▲	5.0	4.9	9.9	18.1
D032	▲	3.2	5.0	8.2	▲	3.7	4.8	8.5	16.7
D034	★	3.6	4.8	8.4	★	4.6	4.6	9.2	17.6
D036	▲	3.2	4.9	8.1					18.1(17.8)
	◆	4.5(3.6)	4.9	9.4(8.5)					
	総合	3.7(3.4)	4.9	8.6(8.3)	★	4.7	4.8	9.5	
D040	★	4.4	4.7	9.1	★	3.5	4.6	8.1	17(16.7)
	◆	3.6(3)	4.7	8.3(7.7)	◆	4.2	4.7	8.9	
	総合	4.0(3.7)	4.7	8.7(8.4)	総合	3.7	4.6	8.3	
D042	▲	3.2	4.8	8.0	▲	4.5	4.9	9.4	17.4
D044	◆	3.6(3.5)	4.7	8.3(8.0)	◆	2.7	4.1	6.8	16.9(15.5)
	★	3.8	4.6	8.4	★	3.7	3.8	7.5	
	総合	3.7(3.3)	4.7	8.4(8.0)	総合	3.2	4.3	7.5	
D047	◆	4.4(4.1)	5.0	9.4(9.0)	◆	3.3	5.0	8.3	17.7(17.3)
D056	◆	3.4(3.0)	4.9	8.3(7.9)	★	3.3	5.0	8.3	16.6(16.2)
D058	★	3.3	1.0	4.3					評価不能
D068	▲	3.2	4.9	8.1	▲	4.7	4.9	9.6	17.7
D069	▲	2.8	4.9	7.7	▲	3.0	4.9	7.9	15.6
平均		3.4	4.6	8.0		3.9	4.7	8.6	17.0
SD		0.7	0.8	1.1		0.7	0.4	0.9	3.9

## 評価法

PCR精度： HLA-class Iの場合exon 2と3を増幅し、タイピングに用いる。probeは両方の領域に存在し、かつsense側またはanti-sense側をターゲットとしている。精度良い検査を行うには両方のexonがバランスよく増幅されかつ、各exonのsense、anti-senseの増幅もバランスが保たれていることが望ましい。PCRの精度を評価するため、exon2とexon3の陽性コントロール比を用いた〔sense、anti-senseに対するコントロールが含まれるキットは次の計算式を用いた：exon2 (sense+antisense)÷exon 3 (sense+antisense)〕。得られた比が0.8-1.2 =5点、0.49< >0.79=3点、1.21<>1.51=3点、それ以外を1点と得点を与えた。施設ごとに得点を計算し加算後、実施検体数で割り施設の得点とした。

Sense、anti-senseに対するコントロールがあるキットでは〔〕内に各exonのsenseとantisenseの比とexon2と3の比を総合評価した場合の得点を示している。

P/N：Hybridization法の評価のため、施設ごとのP/N〔計算法は前年度と同様、全検査検体で陽性と陰性を示したprobeが評価可能なprobeであり、(陽性と判定された蛍光値の最小値)÷(陰性と判定された蛍光値の最大値)=P/N〕値を算出し、P/N>4.9 =5点 1-4.9 =3点 1> = 1点と得点を与えた。施設ごとに評価できるprobeのP/Nの得点を加算し、平均値を得点とした。得点率が平均値以上を影塗りしている。

0.79 = 3点, 1.21 < 1.51 = 3点, それ以外を1点とした。施設ごとに検体ごとの得点を加算し, 実施検体数で割った得点を施設得点とした。表6の( )内の得点は Rex2 と Rex3 を用いて計算した場合の得点である。Sense, anti-sense についてのコントロールがないキットと並べる場合は( )外の数字が妥当である。正確な PCR 精度を評価するには sense, anti-sense それぞれに対する common probe (PC) を有するキットが望ましい。

HLA-class II の場合 exon2 の増幅産物のみを用いるため, 各キットともに PC は1種類である。よって同一キットを使用した施設の PC の蛍光値の平均値と各施設 PC の比 (R) を求め,  $R > 1 = 5$  点,  $1 - 0.5 = 3$  点,  $0.5 > = 1$  点と評価した。検体ごとの得点を加算し, 実施検体数で割った得点を施設得点とした。

#### 【Hybridization 法の精度】

数多くの probe を同一の hybridization 温度でおこなうには, hybridization 温度の調節や洗浄技術などが検査精度を左右する因子である。総合的な影響が probe の反応性として現れる。いわゆる probe のメリハリぐわいを評価するため, 昨年同様 P/N 比を求め,  $> 4.9 = 5$  点,  $1 - 4.9 = 3$  点,  $< 1 = 1$  点とした。施設ごとに評価できる probe の P/N 比の得点を加算し, その平均値を施設得点とした。

$$\text{P/N 比} = \frac{\text{生データの中で陽性と判定されたデータの最小値}}{\text{生データの中で陰性と判定されたデータの最小値}}$$

表6の欄外に各施設の得点の平均値を示した。参加施設の半数以上が平均点を上回る良い成績であった。HLA-class I, II ともに Hybridization 法の精度は参加施設のほとんどが4点以上でほぼ問題はないが, PCR 精度は3点台の施設が多く, 今後の焦点は PCR の精度の向上と維持である。

#### 4. キット別総合評価

表7にキット別総合評価を示す。評価方法は施設別の場合と同様の方法でおこなった。PCR 精度評価からはキットで使用されているプライマーの設計や PCR 条件設定の良・不良がわかる。Hybridization 法の精度評価から probe の設計や Hybridization 条件設定および実験の操作性の良・不良がわかる。HLA 座ごとの結果をまとめる。

HLA-A typing キット: 3種のキットのうちの2種(▲・◆)のキットが総合評価点9以上の良い成績であった。★キットも PCR 精度で4点に満たないものの総合得点は8以上, すべてのキットが優良である。

HLA-B typing キット: ◆のキットが最優秀で得点9以上, 他のキットは得点数が低く, 特に▲は PCR 精度を高める改良をお願いしたい。プローブの評価はすべてのキットで良好であった。

HLA-C typing キット: ▲・★キットが総得点数8以上で優秀, 特に▲キットは PCR 精度も Hybridization 法も4点を獲得しバランスの良いキットと考えられる。すべてのキットで probe の評価は4.8と優秀である。

HLA-DR typing キット: ▲キットが得点数9と最も優秀であり, PCR 精度も Hybridization 法も4点以上を獲得しバランスの良いキットと考えられる。すべてのキットで Hybridization 法の評価は4点以上を獲得し優秀であった。

#### 5. まとめ

昨年の QC と比較し各施設の成績が向上し, キットとして問題となるものは無く良好な結果が得られた。来年度への目標は PCR 精度をより高める工夫と考えられる。来年も良い精度評価が得られることを期待する。

# 第10回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —方法論別データ検討 (SSP 法)—

小林 賢, 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#: 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員: 木村彰方<sup>1,2)</sup>, 赤座達也<sup>10)</sup>, 太田正穂<sup>3)</sup>, 柏瀬貢一<sup>4)</sup>, 小林賢<sup>5)</sup>, 酒巻建夫<sup>6)</sup>, 佐田正晴<sup>7)</sup>, 田中秀則<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>8)</sup>, 成瀬妙子<sup>9)</sup>, 丸屋悦子<sup>10)</sup>, 安波道郎<sup>2,11)</sup> (所属: <sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, <sup>2)</sup>東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室, <sup>3)</sup>信州大学医学部法医学, <sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部, <sup>5)</sup>日本薬科大学生物学, <sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, <sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所, <sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部, <sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系, <sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所, <sup>11)</sup>長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

## 1. はじめに

QC ワークショップが第6回大会から開催され、今回で10回目を迎えることになる。この間にアリルの数が増え、結果を判定するのにかなり苦慮するようになってきている。また、方法論についても PCR-RFLP 法から PCR-SSP 法にシフトしてきたが、このような観点から、これも PCR-SSO 法へと移行しようとしている。このような中で、今回の QC ワークショップにおける PCR-SSP 法がどのような結果になったのか述べることにする。

## 2. 解析結果

One Lambda 社製の JPN 以外のキット(表1, 2, 4, 5)については、どの施設においても反応性に問題となるような偽陽性反応や偽陰性反応がほとんど見られなかった。それに対し、JPN キット(表3)では少

数の施設であるが、偽陰性反応や偽陽性反応がかなり見受けられた。JPN は1組のプライマーセットでアリルを決定していることが多く、常にパーフェクトな反応性が要求されるキットである。言い換えれば、反応性の悪い DNA 溶液や Taq DNA ポリメラーゼなどを使用した場合に結果が異なることを意味している。今までも色々といわれていることであるが、方法論の異なる2種類以上の検査法で HLA アリルをタイピングすることが患者さん達の利益に繋がるということを理解していただけたらと思う。

PCR-SSP 法の反応性については、年々向上してきているものの、判定結果の記入法についてはほとんど改善されていないのが現状である。「DNA タイピング結果表記と HLA 型表記」を参照し、今後の参考にして正しい表記法で記入されることを期待する。





Table 4 Reactivity for the One Lambda Micro SSP Allele Specific HLA Class II (DQB1) Typing Tray

Lab #	Lot #	Sample #	1				2				3				4				HLA class II allele		
			F	E	D	C	B	A	D	B	A	D	B	B	A	D	B	B	HLA-DRB1	HLA-DRB3/B4/B5	HLA-DQB1
18D016	03A	H1801	1	1	1	1	1	1	1	1	8	8	1	8	1301/51				0603		
18D020	04A	H1801	1	1	1	1	1	1	1	1	8	8	1	8	1301/52/59	-	DRB3*0101/11		0603/26	-	
18D016	03A	H1802	8	8	8	8	1	1	1	1	8	1	8	1	0701/09	0901/04			0201	0303	
18D020	04A	H1802	8	8	8	8	1	1	1	1	8	1	8	1	0701/08	0901/03	DRB4*0103/04/05		0202	030302	
18D020	04A	H1803	1	1	1	1	8	8	8	1	1	1	1	1	100101	1502/14	DR5*0102/03		0501	0502	
18D016	004	H1804	8	8	8	8	1	1	1	1	8	1	8	1	0701/09	0901/04			0201	0303	
18D020	04A	H1804	8	8	8	8	1	1	1	1	8	1	8	1	0701/08	0901/03	DRB4*0103/04/05		0202	030302	
18D016	004	H1805	1	1	1	1	1	1	1	1	8	8	1	8	1301/51				0603		

Table 5 Reactivity for the One Lambda Micro SSP Generic HLA Class II Typing Tray

Lab #	Lot #	Sample #	1			2			3			4			HLA class II allele								
			E	E	D	G	E	D	C	B	A	H	G	F	E	B	HLA-DRB1	HLA-DRB3/4/5	HLA-DQB1				
18D022	#05A	H1801	1	8	8	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	1	1	DRB1*1301/02/03/+	-	N.T.	N.T.	DQB1*0601/02/03/+	-
18D057	004	H1801	1	8	8	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	1	1	DRB1*1301/02/03/+	-	DRB3*01/02/03	-	DQB1*0601/02/03/+	-
18D060	#05A	H1801	1	8	8	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	1	1	*1301/02/03/+	-	B3*01/02/03	-	*0601/02/03/+	-
18D022	#05A	H1802	1	1	1	8	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	DRB1*0701/02/03/+	DRB1*0901/02/03/+	N.T.	N.T.	DQB1*0201/02/03/+	DQB1*0303/06/12/+
18D057	004	H1802	1	1	1	8	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	DRB1*0701/03/04/+	DRB1*0901/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+	-	DQB1*0201/02/03/+	DQB1*0303/06/12/+
18D060	#05A	H1802	1	1	1	8	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	*0701/03/04/+	*0901/02/03/+	B4*0101/02/03/+	-	*0201/02/03	*0303/06/12/+
18D022	#05A	H1803	8	1	1	1	1	1	8	8	1	1	1	1	8	1	1	DRB1*1001	DRB1*1501/02/03/+	N.T.	N.T.	DQB1*0501/02/03/+	-
18D057	004	H1803	8	1	1	1	1	1	8	8	1	1	1	1	8	1	1	DRB1*1001	DRB1*1501/02/03/+	DRB5*01/02	-	DQB1*0501/02/03/+	-
18D060	#05A	H1803	8	1	1	1	1	1	8	8	1	1	1	1	8	1	1	*1001	*1501/02/03/+	B5*01/02	-	*0501/02/03/+	-
18D022	#05A	H1804	1	1	1	8	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	DRB1*0701/02/03/+	DRB1*0901/02/03/+	N.T.	N.T.	DQB1*0201/02/03/+	DQB1*0303/06/12/+
18D041	05A	H1804	1	1	1	8	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	DRB1*0701/03/04/+	DRB1*0901/02/03	DRB4*0101/02/03/+	-	DQB1*0201/02/03	DQB1*0303/
18D071	005	H1804	1	1	1	8	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	DRB1*07	DRB1*09	DRB4*01	-	DQB1*02	DQB1*03
18D022	#05A	H1805	1	8	8	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	1	1	DRB1*1301/02/03/+	-	N.T.	N.T.	DQB1*0601/02/03/+	-
18D022	#05A	H1806	1	1	1	8	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	DRB1*0701/02/03/+	DRB1*0901/02/03/+	N.T.	N.T.	DQB1*0201/02/03/+	DQB1*0303/06/12/+

# 第10回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門)

## —方法論別データ検討 (SBT, RFLP)—

成瀬妙子, 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#: 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員: 木村彰方<sup>1,2)</sup>, 赤座達也<sup>10)</sup>, 太田正穂<sup>3)</sup>, 柏瀬貢一<sup>4)</sup>, 小林賢<sup>5)</sup>, 酒巻建夫<sup>6)</sup>, 佐田正晴<sup>7)</sup>, 田中秀則<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>8)</sup>, 成瀬妙子<sup>9)</sup>, 丸屋悦子<sup>10)</sup>, 安波道郎<sup>2,11)</sup> (所属: <sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, <sup>2)</sup>東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室, <sup>3)</sup>信州大学医学部法医学, <sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部, <sup>5)</sup>日本薬科大学生物学, <sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, <sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所, <sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部, <sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系, <sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所, <sup>11)</sup>長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

### 1. はじめに

Luminex 法の改良や普及によって効率よい遺伝子

型決定が行えるようになったことで, QC ワークショップにおけるその他の方法として前回採用され

表1 解析法の組み合わせ(単位:施設)

SBT単独	SSO+SBT	SSP+SBT	SSO+SSP+SBT	SSO+RFLP+SBT
3	4	1	1	1

表2 使用した SBT キット(単位:施設)

AlleleSEQR	8
Gene kit (VISIBLE)	1
SeCore (DYNAL)	2
自家製	1

ていた SSCP (single strand conformation polymorphisms) 法は姿を消し, SBT (sequencing based typing), RFLP (restriction fragment length polymorphisms) の2法のみ回答が寄せられた。本稿ではこれら各方法での解析結果についてまとめた。

## 2. SBT 法

### 2.1 概況

参加施設は全9施設で, クラス I が8施設, クラス II は9施設と, 昨年より1施設増加した。クラス I ではほとんどの施設が A, B, C 遺伝子にて採用していたが, クラス II では DRB1 遺伝子に集中しており, DRB1 以外の参加は1施設のみであった。

採用状況は全9施設のうち3施設が単独での使用で, 他は SSO (主に Luminex) 法との併用であった(表1)。試薬の使用状況を表2にまとめたが, 前年と比較すると自家製が3施設から1施設に減少した。また, AlleleSEQR は, 複数の会社から異なった時期に発売されていたもので, 表では1種として扱ったが, ロットは各施設ごとに異なっていた。

### 2.2 結果

各施設から寄せられた A, B, C, DRB1 遺伝子タイピングの解答を表3に示した。表記や記述については施設からの回答のままとした。表記上の問題を除いても, 各施設間で表記に多少の違いがみられるが, これは各施設で使用したキットや判定ソフトが異なっているため, 解析可能な塩基配列の位置や長さ, 組み合わせが異なることの反映である。

全体的にはほとんどのラボで4桁, 6桁レベルで

の対立遺伝子の同定(特定)を行っており, また一致率も高く, やはり SBT 法が他法と比して高精度な遺伝子型の同定に極めて有効であることが確認された。ただ, 今回2桁表記で assign をした施設がみられた。これは, SBT 法が塩基配列を直接認識できる唯一の方法であるという特性を活かしきれておらず, 非常に残念である。また, 濾紙サンプルについては前回同様, SBT に用いるに十分な DNA 量が得られず, PCR で増幅の増幅不良, 判定不能となったものが多くみられた。

HLA-B 遺伝子の H1803, H1804 での誤判定は同一の施設であるが, PCR 増幅産物の純度に問題があり波形の解析が困難であったことによる。この施設は SBT 単独でのタイピングを行っており, SBT 単独での遺伝子タイピングは困難とのコメントであったが, 単独で同様のキットを用いていた他施設では対立遺伝子の特定が問題なく行われていたことから, 方法論については問題ないと思われる。

RDB1 遺伝子での誤判定のあった施設は rSSO (reverse-sequence specific oligonucleotide) 法との併用であったが, rSSO でも誤判定となっていた。

## 3. RFLP 法

### 3.1 概況

RFLP 法への参加は前回より1施設減少し4施設となった。クラス II は DRB1 に3施設, DQB1 に2施設, DQA1 に1で, クラス施設 I は C 遺伝子に1施設のみ参加があった。ほとんどが他法, 特に SSO 法との併用で, 一部の遺伝子や組み合わせを識別するための部分的使用が多くみられた。試薬は全施設が自家製であった。

### 3.2 結果

参加数が少ないため解析を行うことが難しいが, 得られた回答は他方での結果とよく一致していた。ただし, 2つある対立遺伝子のうち1つのみをタイピングし, 片方みの結果を解答欄にそのまま記入

表3 遺伝子タイピング解答(SBT法)

A

Lab.	H1801	H1802	H1803	H1804	H1805	H1806
18D004	0201,-				0201,-	
18D014	02010101,-	0210,300101	020301,290101	0210,300101	判定不能	0210,300101
18D018	*020101,*020101	*0210,*3001	*0203,*29	*3001,nd	*020101,*020101	増幅不良
18D019-2	020101,-	0201/06/10/+,3001/08	020301,290101	判定不能	判定不能	判定不能
18D019-3	020101,-	0201/06/10/+,3001/08	020301,290101	判定不能	020101,-	0201/06/10/+,3001/08
18D020	020101,-	0210,300101	020301,290101	N.D.	020101,-	0210,300101
18D032	02010101,-	0210,300101	020301,290101	判定不可		
18D044	020101,-	0210,300101	020301,290101	0210,300101	not define	not define
18D062	*020101,-	*0210,*300101	*020301,*290101	*0210,*300101	*020101,-	*0210,*300101

B

Lab.	H1801	H1802	H1803	H1804	H1805	H1806
18D004	4501,-				4501,-	
18D014	4501,-	1302,40060101	0705/06,1519	1302,40060101	判定不能	1302,40060101
18D018	*4501,*4501	*1302,*4006	*07,*05	*0602,*0801	増幅不良	増幅不良
18D019-2	4501,-	1302,4006	0705/06,1519	判定不能	4501,-	判定不能
18D019-3	4501,-	1302,4006	0705/06,1519	1302,4006	4501,-	判定不能
18D020	4501,-	1302,400601	0705/06,1519	1302,400601	N.D.	1302,400601
18D032	4501,-	130201,40060101	070501,1519	130201,40060101		
18D044	4501,-	1302/14/,4006/53	0705/06,1519	1302/14/,4006/53	not define	not define
18D062	*4501,-	*1302,*400601	*0705/06,*1519	*1032,*400601	*4501,-	*1032,*400601

C

Lab.	H1801	H1802	H1803	H1804	H1805	H1806
18D014	1601,-	0602,080101	0403,1505	0602,080101	判定不能	0602,080101
18D018	*1601,*1601	*0602,*0801	*0403,*1505	*0602,*0801	*1601,*1601	*0602,*0801
18D019-1	1601,-	0602,0801	0403,1505			
18D019-3	160101,-	0602/09/11,0801	0403,1505	0602/09/11,0801	160101,-	0602/03/07/+,0801
18D020	1601,-	0602/09/11,0801/11/10	0403,1505	0602/09/11,0801/10/11	160101,-	0602/09/11,0801/10/11
18D032	160101,-	0602,080101	0403,150501	0602,080101		
18D044	160101,-	0602/09/11,0801/10/11	0403,150501/02/03	0602/09/11,0801/10/11	not define	not define
18D062	160101,-	0602/09/11,0801/10/11	0403,1505	0602/09/11,0801/10/11	160101,-	0602/09/11,0801/10/11

DRB1

Lab.	H1801	H1802	H1803	H1804	H1805	H1806
18D004	1301,-				1301,-	
18D014	130101,-	070101,090102	100101,150201	070101,090102	130101,-	070101,090102
18D018	*130101,*130101	*0701,*090102	*100101,*150201	判定不能	*130101,*130101	*0701,*090102
18D019-3	130101,-	0701/05,0901	100101,150201	判定不能	130101,-	0701/05,0901
18D020	130101,-	070101,090102	100101,150201	0701,090102	130101,-	070101,090102
18D028	*1301/02/16/67,-	*0701,*0901	*1001,*1502	*0701,*0901		
18D032	130101,-	070101,090102	100101,150201	070101,090102		
18D044	130101,-	070101,090102	100101,150101	070101,090102	not define	not define
18D062	*130101,-	*0701,*090102	*100101,*150201	*0701,*090102	*130101,-	*0701,*090102

: 誤判定

していた施設があったが、報告としては不十分であり、もう片方を nd 等で表す必要があろう。

#### 4. まとめ

SBT法は4桁、6桁レベルでの遺伝子型同定を高精度で行える、きわめて有効なタイピング法である。

また、RFLP法は一部の制限酵素を選択的に用いることで、必要な部分のみをピンポイントでタイピング可能な、実用的なタイピング法であることはすでに明らかである。これらの特性を活かして日常検査に応用して頂きたい。

# 第10回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —テーマ別検討 (WGA)—

安波道郎, 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#: 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員: 木村彰方<sup>1,2)</sup>, 赤座達也<sup>10)</sup>, 太田正穂<sup>3)</sup>, 柏瀬貢一<sup>4)</sup>, 小林賢<sup>5)</sup>, 酒巻建夫<sup>6)</sup>, 佐田正晴<sup>7)</sup>, 田中秀則<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>8)</sup>, 成瀬妙子<sup>9)</sup>, 丸屋悦子<sup>10)</sup>, 安波道郎<sup>2,11)</sup> (所属: <sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, <sup>2)</sup>東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室, <sup>3)</sup>信州大学医学部法医学, <sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部, <sup>5)</sup>日本薬科大学生物学, <sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, <sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所, <sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部, <sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系, <sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所, <sup>11)</sup>長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

## 1. はじめに—全ゲノム増幅法 (WGA) について

ヒトゲノム多様性に関する情報が急速に蓄積され, また様々な局面でその情報を有効に利用できるようになってくるに伴って, 比較的稀少な DNA サンプルからもできる限り多数の遺伝子型決定を行なうことが要請されるであろう。このような事態に対応するために, 近年いくつかの全ゲノム増幅 (Whole Genome Amplification, WGA) の方法が開発され, その有用性が広く認知されている。以下に, そのうちの代表的な方法について概略を述べる。

当初, PCR 法を応用してゲノム DNA を鋳型とし, ランダムな配列をもつプライマーを用いることで全ゲノムを増幅することが試みられた。原理的にはほぼ同じであるが, プライマーの設計や反応条件が若干異なる「DOP-PCR」法, 「PEP」法, 「I-PEP」法と名づけられた方法が知られている。これらのいずれも方法でも概ね良好な結果が得られていたが, 遺伝子座位による増幅の偏りの存在や全般的に増幅産物の断片長が小さいため増幅した DNA を用いて比較的長い遺伝子領域を単離するのが困難である等の問題を伴うことが知られていた。

バクテリオファージ  $\phi 29$  に由来する DNA ポリメラーゼは一定温度下に鋳型 DNA から次々に新しい DNA 鎖を繰り返し合成する特性があり, 近年この特性を応用した「Multiple displacement amplification (MDA)」法によって上記の PCR 法を応用した増幅法に伴う欠点はかなり克服され, その産物は種々

の遺伝子型決定法に用いられている。2006 年現在, メーカー 2 社からキットが発売されており, また  $\phi 29$  DNA ポリメラーゼ単体も別のメーカーから入手できる (表 1)。

また最近, 鋳型 DNA に特異的な配列を連結してライブラリー化して, その連結した配列をプライマーとした PCR で全ゲノムを増幅する方法 (商標名「OmniPlex テクノロジー」) を応用したキットも発売され (表 1), この方法でも以前問題となった遺伝子座位による増幅の偏りはかなり改善されたとされている。

過去数回の HLA-QC ワークショップでは, ろ紙付着試料からの DNA タイピング法の可能性を課題の一つとしてきたが, 前回 (第 9 回) HLA-QC ワークショップにおいて, 参加施設の中でろ紙付着細胞試料について WGA を施行し良好な結果を得たとの報告があった。今回の第 10 回 HLA-QC ワークショップでは, ろ紙付着細胞試料とともに, ろ紙付着細胞試料についてコントロールラボで WGA を施行した試料を供給し, WGA のタイピング精度への影響を検討することとした。

## 2. サンプル調製について

ろ紙付着細胞試料には, 第 9 回と同じく Whatman 社 FTA カードを用いた。サンプル ID, H1802, H1804, H1806 はいずれも, ある一つの細胞株由来のものであり, これらのサンプルのタイピング

表1 入手可能な WGA 用試薬

製品	商品名	メーカー
(キット)		
MDA による WGA キット	GenomiPhi	GE ヘルスケア
MDA による WGA キット	REPLI-g	Qiagen
OmniPlex による WGA キット	WGA キット	Sigma-Aldrich
(酵素単体)		
φ29DNA ポリメラーゼ England Biolab	(同左)	New
φ29DNA ポリメラーゼ Fermentas	(同左)	
φ29DNA ポリメラーゼ	RepliPhi	AR ブラウン

表2 比較対象となるサンプル

サンプル ID	形態	調製
H1802	DNA 溶液	細胞株ペレットを SDS-proteinase K 処理、フェノール抽出、イソプロパノール沈殿（塩析）後、緩衝液に溶解
H1804	WGA 産物	H1806 と同時に作製したろ紙片より Qiagen 社のキット REPLI-g を使用して増幅
H1806	ろ紙付着細胞	培養細胞株懸濁液を Whatman 社 FTA カードに滴下後風乾

結果を比較することで WGA の有効性と問題点を検討可能と考えられた(表2)。

WGA 産物である H1804 は、次のようにして調製した。H1806 と同時に並行して作製したろ紙試料から 12 片を打ち抜き、キットのプロトコール記載のスケールで 12 本独立に WGA 反応を施行後、それぞれをアガロースゲル電気泳動で増幅を確認し(図1の右側にその一部を示す)、それら全体をプールした。DNA の濃度は、アガロースゲルでの蛍光染色強度から推定した。また、この DNA から HLA-B 座位の約 2 kb の断片が増幅できることを、(現在は供給中止となっている)ABI 社の HLA-B の SBT キットを用いて確認した(図2)。そののちに、配布用容

器に分注し、各施設へ発送直前まで冷蔵保存した。

### 3. 各参加施設での WGA 施行状況

各参加施設から提出されたデータのコメント欄に WGA 施行の記載があることをもって、WGA 施行状況を把握した(表3)。WGA 施行の報告は 64 のデータ提出施設中 4 施設 (6.25%) であった。うち 1 施設は配布した 6 種類のサンプルすべてについて WGA 施行後にタイピングを行ったとのことで、この施設の H1804 については、サンプルが WGA 産物であることは伏せられていたため、図らずも一般的には推奨されていない複数回繰り返して WGA を施行した産物のタイピングとなっている。

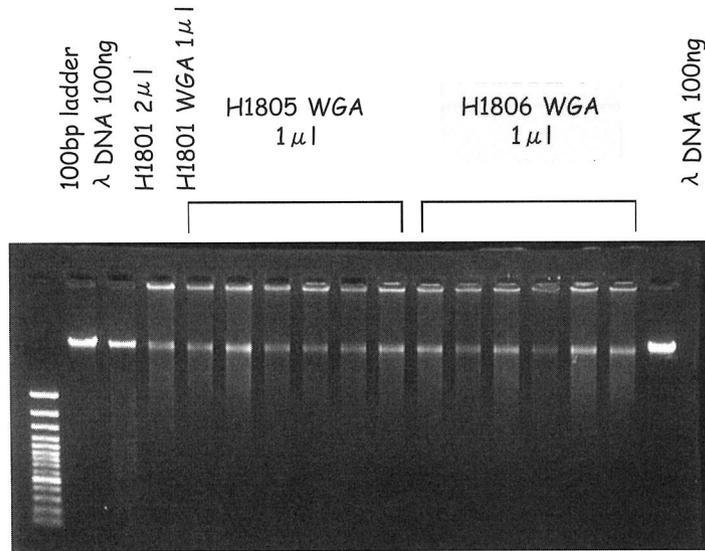


図1 WGA産物の電気泳動像

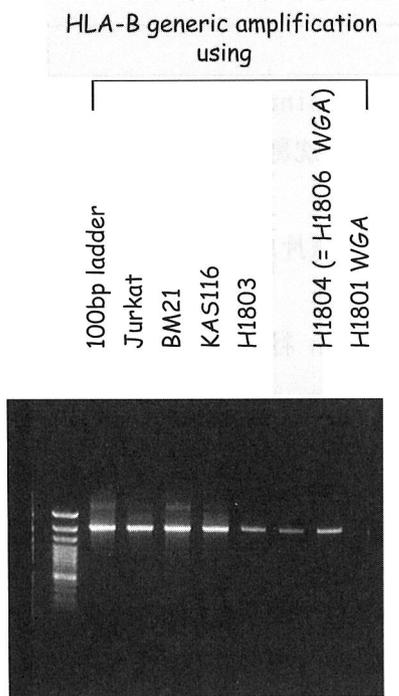


図2 HLA-B座位の約2kbの断片のPCRによるクオリティーチェック

イマーの反応性についての詳細は、方法論別解析のそれぞれの項に示されるように、若干の相違があつて型判定に際しては、何らかの調整が必要と考えられた。今回の比較は単一の細胞株に由来するものであるため、それがWGA全般にあてはまるものであるか否かには、複数の異なるサンプルのデータを集積する必要がある。

一件であるが、奇異に思われる報告があつた。Dynal社のrSSOキットのみを用いて判定しているが、コメント欄に「HLA-BではH1802, H1806でもう1つアレルが存在すると思われませんが陽性バンドのパターンが一致しないため1アレル報告のみ」との記載があり、B\*13アレルを落としている。しかし、H1804のサンプルではB\*13の見落としではなく、WGAサンプルでの判定のほうがむしろ正解に近い結果となっている。この結果からWGAをした方が通常のDNA検体を用いるよりも良いと判断するのはあまりに短絡的であり、この施設の判定については生データの解釈に問題があると思われる。

#### 4. WGAのタイピング判定への影響(コントロールラボでの増幅産物)

ほとんどの施設でH1802とH1804の型判定結果に不一致はなく(総合判定の項を参照)、WGAに内在する問題はないと言える。個々のプローブ、プラ

#### 5. WGAのタイピング判定への影響(参加施設での増幅産物)

4参加施設でのWGAについては、必ずしもすべてが良好な結果とはなっていない。特にある程度のDNA量を必要とするSSP法を採用している2施設

表3 WGA 実施状況(報告例のみ)

WGA の報告	方法 (使用キット)	施設数 (64 施設中) *
あり		4
(内訳)	GenomiPhi	3
	REPLI-g	1
	PCR-based (OmniPlex を含む)	0

\* : コントロールラボを除く

の場合、それぞれ異なる WGA キットを採用しているにもかかわらず、H1806 のクラス I のタイピングに失敗している。他の方法論を用いて判定する際には大きな問題はなさそうである。しかしながら、「H1805 と H1806 はろ紙をプロトコールに従い処理した後、GenomiPhi DNA Amplification Kit にて増幅した DNA を用いた。H1804 については、A\*0210 は A\*300101 と比較して増幅が弱く、B\*400601 は B\*1302 と比較して増幅が弱い。H1806 については、B\*400601 は B\*1302 と比較して増幅が弱い。」などのコメントがあるように、アレル間で均等に増幅

されるかという問題については、十分に注意を払う必要がある。

## 6. 総括

WGA は稀少なサンプルを取り扱う上で極めて有用な方法であり、型判定に際して概ね問題となることはないが、方法論によっては致命的な過ちに導かれる危険を伴うことに留意が必要である。増幅産物の量を吸光度で測定すると過大に見積もることになる。何らかの方法で増幅産物のクオリティをチェックすることも必須である。

# 第 10 回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —テーマ別検討(ろ紙サンプル)—

太田正穂, 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#: 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員: 木村彰方<sup>1,2)</sup>, 赤座達也<sup>10)</sup>, 太田正穂<sup>3)</sup>, 柏瀬貢一<sup>4)</sup>, 小林賢<sup>5)</sup>, 酒巻建夫<sup>6)</sup>, 佐田正晴<sup>7)</sup>, 田中秀則<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>8)</sup>, 成瀬妙子<sup>9)</sup>, 丸屋悦子<sup>10)</sup>, 安波道郎<sup>2,11)</sup> (所属: <sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, <sup>2)</sup>東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究所ゲノム多様性研究室, <sup>3)</sup>信州大学医学部法医学, <sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部, <sup>5)</sup>日本薬科大学生物学, <sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, <sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所, <sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部, <sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系, <sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所, <sup>11)</sup>長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

## 1. はじめに

今日、DNA 多型検査が血液を使わなくても簡便かつ正確に行えるキットが多くの会社から発売されている。特にろ紙に添付した微量な血液から DNA を

抽出する方法は、サンプルの保存、他施設への輸送、DNA 抽出の簡便性などの利点からその用途が広く多分野で利用されている。HLA 検査においてもこの手法は貢献度が高いと考えられ、この3年間ろ紙サン

プルからのタイピングについて検討してきた。

本年度も、昨年度使用した製品と同じWhatman社製のFTAカードを用いたHLA-DNAタイピングの解析を行った。ワークショップの手順は昨年と違い、細胞(3×10<sup>5</sup>個)を附着しカードを参加施設に送付し、HLA-DNAタイピングを行って頂き、その判定結果を集計後、この手法の有用性について検討した。

### 2. 検査試料・DNA抽出法

参加施設には、細胞(3×10<sup>5</sup>個)をFTA<sup>®</sup>カードに添付した2種類のサンプル(H1805とH1806)を配付した。DNA抽出はQCWS担当部会で推奨した標準プロトコールに従って行うことを依頼し、タイピングの手技は参加施設で使用している方法に従った。

### 3. 結果と考察

#### 1) 検査方法と施設数

ろ紙に附着した微量サンプルからHLA-DNAタイピングを成功させるには検査法の選択が必要とされる。そのためにも感度の良いSSO法の適用が期待される。今回のワークショップでは表1に示したように検査結果を提出した総施設数55のうちSSO法を用いてタイピングをしたのは49施設(89%)であった。そのなかでも最も多く利用したのはRELI法(45%)である。ついで最近普及したLuminex法であった(43%)。この方法は、昨年に比べ急速に普及しているように、高価な機器を必要とするが、この方法のもつ利点から今後HLA-DNAタイピングの主流になっていくと思われる。その他の手法として

SSP法が8施設(15%)、SBT法が7施設(13%)、RFLP法が2施設(4%)であった。

#### 2) 参加施設数と判定結果一致率

##### a) サンプルH1805

サンプルH1805ワークショップに参加した検査室と検査結果の適合率を表2に示した。今回DNAタイピングQCWSで結果を提出した施設は55施設であり、最も多くの検査結果を提出したローカスはDRB1で52施設(95%)、つづいてBローカスで52施設(78%)、Aローカスで48(87%)であった。タイピング結果の型一致率はhigh resolution levelではAローカス以外の総てのローカスで100%であった。また、low/mediumレベルではA(98%)、B(97%)、DRB1(90%)といずれのローカスも90%以

表1 検査方法と使用施設数

検査方法	施設数
SSO	49
RELI	22
Luminex	19
G&G	7
One	9
Waku	5
MPH	7
INO-LIPA	1
SSP	8
One	8
SBT	7
ATRIA	6
自家	1
RFLP	2
自家	2

表2 解析結果提出施設数と一致率(H1805)

遺伝子座	結果提出施設数		コンセンサス 遺伝子型	Low/Medium		High		総合一致率(%)	ND
	N=55	(%)		結果(%)	一致率(%)	結果(%)	一致率(%)		
HLA-A	48	87	*0201	42/48(87)	41/42(98)	6/48(13)	5/6(83)	47/48(98)	3
HLA-B	50	91	*4501	37/50(74)	36/37(97)	13/50(26)	13/13(100)	49/50(98)	3
HLA-C	25	45	*1601	10/25(40)	9/10(90)	15/25(60)	15/15(100)	24/25(96)	2
HLA-DRB1	52	95	*1301	39/52(75)	35/39(90)	13/52(25)	13/13(100)	48/52(92)	3
HLA-DRB3/4/5	23	42		18/23(78)	16/18(89)	5/23(22)	5/5(100)	21/23(91)	2
HLA-DQA1	2	4	*0103	1/2(50)	0/1(0)	1/2(50)	1/1(100)	1/2(50)	
HLA-DQB1	15	27	*0603	9/15(60)	7/9(78)	6/15(40)	6/6(100)	13/15(87)	
HLA-DPB1	2	4	*0101			2/2(100)	2/2(100)	2/2(100)	

ND: not determined

low, highは解析結果に示されたタイプに基づく

上の高い一致率を示した。

A, B, DRB1 ローカスでの誤判定は、いずれもヘテロ接合体で記載されていたものである。検査結果報告で遺伝子型を記載するのに“\*”をつけてない報告が A locus で 18/48 (38%) 見られた。同様に DRB3/4/5 の判定結果に遺伝子座を示す“3\*”の記載が漏れている施設があった。

b) サンプル H1806

サンプル H1806 についての結果は表 3 に示した。このサンプルは HLA 型がヘテロ接合体で表されるものであることから、H1805 サンプルよりも正解率は高かったようである。Low/medium レベルでのタイピング結果は、A, DQB1 ローカス以外は 100% の一致率を見ている。A ローカスで見られた 1 例のタイピングミスは A\*0201/03/07/+, A\*0203/04/17/+

と記されていた。High resolution レベルでは B ローカス以外は総て 100% の一致率を示している。2 例の誤判定は、B\*1310, B\*4005 とタイプした例と B\*4006,-とタイプした例であった。サンプル H1805 と同様に、このサンプルでも遺伝子型を意味する“\*”が記載されてない報告が多く見られた (A ローカスにおいて 15/47 (32%)。また、DRB3/4/5 の遺伝子座を示す“4\*”が記載されていない報告例があった。

ろ紙に附着させた培養細胞からの HLA-DNA タイピングは今回で 4 回目の試みであった。これまでの結果報告から現在の技術は充分精度の高い判定結果をもたらすと思われる。しかし、今まで使用してきた試料はいずれも通常の血液をろ紙に添付したものではないことから、実用性の面からも、今後努力して血液を用いた解析ができることを期待する。

表 3 解析結果提出施設数と一致率 (H1806)

遺伝子座	結果提出施設数		コンセンサス 遺伝子型	Low/Medium		High		総合一致率(%)	ND
	N=55	(%)		結果 (%)	一致率 (%)	結果 (%)	一致率 (%)		
HLA-A	47	85	*0201, *3001	38/47 (81)	37/38 (97)	9/47 (19)	9/9 (100)	47/48 (98)	5
HLA-B	47	85	*1302, *4006	40/47 (85)	40/40 (100)	7/47 (15)	5/7 (71)	45/47 (96)	6
HLA-C	25	40	*0602, *0801	23/25 (92)	23/23 (100)	2/25 (8)	2/2 (100)	24/25 (100)	2
HLA-DRB1	53	96	*0701, *090102	44/53 (83)	44/44 (100)	9/53 (17)	9/9 (100)	53/53 (100)	1
HLA-DRB3/4/5	23	42		21/23 (91)	21/21	2/23 (9)	2/2	23/23	2
HLA-DQA1	2	5		2/2 (50)	2/2	0/2 (0)		2/2	
HLA-DQB1	13	24	*02, *03	12/13 (92)	10/12 (83)	1/13 (8)	1/1 (100)	11/13 (85)	1
HLA-DPB1	2	4		1/2 (50)	1/1 (100)	1/1 (50)	1/1 (100)	2/2 (100)	

ND: not determined

low, highは解析結果に示されたタイプに基づく

# 第10回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —DNA タイピング結果表記と HLA 型表記—

田中秀則, 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#: 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員: 木村彰方<sup>1,2)</sup>, 赤座達也<sup>10)</sup>, 太田正穂<sup>3)</sup>, 柏瀬貢一<sup>4)</sup>, 小林賢<sup>5)</sup>, 酒巻建夫<sup>6)</sup>, 佐田正晴<sup>7)</sup>, 田中秀則<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>8)</sup>, 成瀬妙子<sup>9)</sup>, 丸屋悦子<sup>10)</sup>, 安波道郎<sup>2,11)</sup> (所属: <sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, <sup>2)</sup>東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室, <sup>3)</sup>信州大学医学部法医学, <sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部, <sup>5)</sup>日本薬科大学生物学, <sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, <sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所, <sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部, <sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系, <sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所, <sup>11)</sup>長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

## 1. はじめに

日本組織適合性学会では, DNA タイピングの結果表記法について「検査結果(ワークシート)記載法と結果報告書表記法およびアンビギュイティ (ambiguity) の取扱いの原則 (2003 年度版)」(以下, 表記法)で提示しており, HLA-QC ワークショップにおいても, これらの原則に従って結果を表記することとなっている。今回の HLA-QC ワークショップ(以下, QCWS)における各施設からの結果報告を基に, 結果表記の問題点について検討を行なったので報告する。

## 2. 結果および考察

各参加施設から提出結果の結果表記を, ローカスごとに集計し, 表記法とは異なる結果については表中に網掛けで示した(表 1~7)。また, 結果集計のために一部の結果表記を変更した。その内容を以下に示す。

- 1) ローカス名を追加した。
- 2) アリルを意味する “\*” (アステリスク) を追加した。
- 3) 結果欄がブランクを意味する空欄である場合に, “-” (ハイフン) を追加した。
- 4) 判定不能, 判定不可, “?” を undef と変更した。
- 5) DNA 型が未入力で, HLA 型に結果が入力されている場合は, DNA 型を “未入力” とし集計した。

## 2.1. アリル表記の問題点

### ① ローカス名およびアステリスク “\*” の表記

表記法において, ローカス名および対立遺伝子(アリル)を意味するアステリスク “\*” を入力(記載)する必要がある。しかし, これまで QCWS のデータでは, これらの表記を, 便宜的に削除していた。しかし, 今回の集計から追加することとし, より表記法に近い集計を行った。また, 今回の提出結果における HLA-A, B, DRB1 ローカスのローカス名未表記は, 約 67%, アステリスク “\*” 未表記は, 約 37% であった。また, DRB1 ローカス名の表記において, “DRB” と表記した施設があった。

### ② 区分出来ないアリルの表記

例として, A\*02, A\*30, B\*15, B\*40, B\*45 など, 2桁による結果表記が数多く見られ, 2桁レベル(粗分別, low resolution) でタイピングを実施した場合の結果表記だと思われる。しかし, 試薬の特性を知るためにも, 区分できないアリルを, 表記法の「アンビギュイティ (ambiguity) の取扱いについて」に従い, 結果を表記することが必要である。

### ③ アンビギュイティ (ambiguity) の表記

“/” (スラッシュ) を用いた区分不可能なアリルの表記として間違っていた例が, 数多く見られた。以下に, その例を示す。

- 1) 3種類のアリルを記し, 最後に “/+” とするところを, 4種類以上のアリルが表記してある(例: A\*0201/04/09/17/+, B\*4501/03/05/07)。

表 1 HLA-DPB1 ローカス表記の集計

Sample :H1801(N=63)					
Allele:A*02010101					
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1	A*02	5	1	-	58
2	A*0201	4	2	A*0201/01/03/+	1
3	A*0201/01/03/+	1	3	A*0201/04/07/+	1
4	A*0201/01L/04/+	3	4	A*020101	1
5	A*0201/02/03/+	5	5	undef	1
6	A*0201/02/04/+	1	6	未入力	1
7	A*0201/04/07/+	6			
8	A*0201/04/09+	2			
9	A*0201/04/09/+	7			
10	A*0201/07	1			
11	A*0201/07/09/+	12			
12	A*0201/07/15/+	1			
13	A*0201/07/18/+	1			
14	A*0201/09/11/+	2			
15	A*0201/4/7/+	1			
16	A*0201/65/66/+	1			
17	A*0201/66/67/+	1			
18	A*020101	5			
19	A*02010101	2			
20	HLA-A*02	1			
21	未入力	1			

Sample :H1802 (N=63)					
Allele:A*0210		Allele:A*300101			
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1	A*02	4	1	A*30	4
2	A*0201/01/03/+	1	2	A*3001	22
3	A*0201/02/03/+	4	3	A*3001/02/03/+	8
4	A*0201/02/04/+	1	4	A*3001/06/14/+	1
5	A*0201/03/06/+	1	5	A*3001/08	2
6	A*0206/10	4	6	A*3001/08/14/+	2
7	A*0206/10/21	1	7	A*3001/08/14L/+	1
8	A*0206/10/21/+	18	8	A*3001/11	5
9	A*0210	26	9	A*3001/14/15	3
10	A*0210/76	1	10	A*3001/14L/15	4
11	HLA-A*02	1	11	A*3001/15	2
12	未入力	1	12	A*3001/8/13/+	1
			13	A*30010	1
			14	A*300101	4
			15	HLA-A*30	1
			16	undef	1
			17	未入力	1

Sample :H1803 (N=62)					
Allele:A*020301		Allele:A*29010101			
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1	A*02	3	1	-	5
2	A*0201/01/03/+	1	2	A*0201/01/03/+	1
3	A*0201/02/03/+	5	3	A*29	3
4	A*0203	44	4	A*2901	9
5	A*0203/25/38	1	5	A*2901/01L/02/+	2
6	A*020301	5	6	A*2901/01N/02/+	1
7	A*203	1	7	A*2901/02/03	2
8	HLA-A*02	1	8	A*2901/02/03/+	4
9	未入力	1	9	A*2901/02/04	1
			10	A*2901/02/04+	1
			11	A*2901/02/04/+	22
			12	A*2901/02/06	1
			13	A*2901/12	2
			14	A*2901/2	1
			15	A*290101	4
			16	A*29010101	2
			17	未入力	1

Sample :H1804 (N=60)					
Allele:A*0210		Allele:A*300101			
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1	A*02	3	1	A*30	3
2	A*0201/01/03/+	1	2	A*3001	22
3	A*0201/02/03/+	6	3	A*3001/02/03/+	8
4	A*0206/10	3	4	A*3001/06/14/+	1
5	A*0206/10/21	1	5	A*3001/08	1
6	A*0206/10/21/+	21	6	A*3001/08/14/+	4
7	A*0210	22	7	A*3001/08/14L/+	1
8	undef	2	8	A*3001/11	5
9	N.T.	1	9	A*3001/14/15	2
			10	A*3001/14L/15	4
			11	A*3001/15	2
			12	A*3001/8/13/+	1
			13	A*300101	4
			14	N.T.	1

Sample :H1805 (N=56)					
Allele:A*02010101					
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1	A*02	4	1	-	51
2	A*0201	1	2	A*0201/04/09/17/+	1
3	A*0201/01L/04/+	3	3	A*020101	1
4	A*0201/02/03/+	1	4	A*0203/04/17/+	1
5	A*0201/03/07/+	1	5	N.T.	2
6	A*0201/04/07/+	4			
7	A*0201/04/09+	3			
8	A*0201/04/09/+	7			
9	A*0201/04/09/17/+	1			
10	A*0201/07	1			
11	A*0201/07/09/+	14			
12	A*0201/07/15/+	1			
13	A*0201/07/18/+	1			
14	A*0201/09/11/+	1			
15	A*0201/65/66/+	1			
16	A*0201/66/67/+	1			
17	A*020101	4			
18	A*02010101	1			
19	undef	4			
20	N.T.	2			

Sample :H1806 (N=56)					
Allele:A*02010101		Allele:A*300101			
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1	A*02	2	1	-	5
2	A*0201/02/03/+	1	2	A*0203/04/17/+	1
3	A*0201/03/07/+	1	3	A*30	2
4	A*0206/10	4	4	A*3001	19
5	A*0206/10/21	1	5	A*3001/02/03/+	2
6	A*0206/10/21/+	19	6	A*3001/06/14/+	1
7	A*0210	20	7	A*3001/08	1
8	N.T.	2	8	A*3001/08/14/+	3
9	undef	5	9	A*3001/08/14L/+	1
10	増幅せず	1	10	A*3001/11	5
			11	A*3001/14/15	1
			12	A*3001/14L/15	5
			13	A*3001/15	2
			14	A*3001/8/13/+	1
			15	A*300101	4
			16	N.T.	2
			17	増幅せず	1

表 2 HLA-DPB1 ローカス表記の集計

Sample :H1801 (N=64)				
Allele:B*4501				
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 B*4415/4501/+	1	1 -	56	
2 B*45	5	2 B*41/45/47	1	
3 B*4501	17	3 B*4101/03/05/+	1	
4 B*4501/02/03/+	9	4 B*4501	1	
5 B*4501/03/04	1	5 B*4501/03/05/+	1	
6 B*4501/03/04/+	2	6 B*4501/04/05/+	1	
7 B*4501/03/05	1	7 undef	2	
8 B*4501/03/05+	1	8 未入力	1	
9 B*4501/03/05/+	10			
10 B*4501/03/05/07	1			
11 B*4501/03/07	2			
12 B*4501/04/05/+	3			
13 B*4501/05/07	1			
14 B*4501/07	7			
15 B*4501/3	1			
16 HLA-B*45	1			
17 未入力	1			

Sample :H1802 (N=64)				
Allele:B*130201		Allele:B*40060101		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 -	1	1 B*40	3	
2 B*13	5	2 B*4002/03/04/+	1	
3 B*1301/02/03/+	5	3 B*4004/06/44	1	
4 B*1301/02/07/+	2	4 B*4004/06/53	1	
5 B*1301/02/07N/+	1	5 B*4006	37	
6 B*1301/02/08	1	6 B*4006/44	7	
7 B*1301/02/08/+	1	7 B*4006/53	6	
8 B*1301/03/11	1	8 B*400601	2	
9 B*1302	10	9 B*40060101	2	
10 B*1302/03	2	10 HLA-B*40	1	
11 B*1302/08	29	11 undef	1	
12 B*1302/14	1	12 未入力	1	
13 B*1302/8	1			
14 B*130201	1			
15 HLA-B*13	1			
16 undef	1			
17 未入力	1			

Sample :H1803 (N=63)				
Allele:B*070501		Allele:B*1519		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 B*07	3	1 B*05	1	
2 B*07/15	1	2 B*15	3	
3 B*0702/03/04/+	1	3 B*15/48/95	1	
4 B*0702/04/07	1	4 B*1501/04/07/+	3	
5 B*0702/05/06/+	1	5 B*1501/04/12/+	1	
6 B*0705	6	6 B*1501/12/13/+	1	
7 B*0705/06	44	7 B*1501/12/14/+	1	
8 B*0705/06/40	1	8 B*1501/4/+	1	
9 B*0705/06/4805	1	9 B*1506/48	1	
10 B*0705/6	1	10 B*1512/14/19	5	
11 B*070501	1	11 B*1512/14/19/+	2	
12 HLA-B*07	1	12 B*1512/19	32	
13 未入力	1	13 B*1519	9	
		14 HLA-B*15	1	
		15 未入力	1	

Sample :H1804 (N=61)				
Allele:B*130201		Allele:B*40060101		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 B*0602	1	1 -	1	
2 B*13	4	2 B*0801	1	
3 B*1301/02/03/+	4	3 B*40	2	
4 B*1301/02/07/+	2	4 B*4004/06/44	1	
5 B*1301/02/07N/+	1	5 B*4004/06/53	2	
6 B*1301/02/08	2	6 B*4006	38	
7 B*1301/03/11	1	7 B*4006/44	6	
8 B*1302	8	8 B*4006/53	5	
9 B*1302/03	2	9 B*400601	2	
10 B*1302/08	30	10 B*40060101	2	
11 B*1302/14	1	11 N.T.	1	
12 B*1302/8	1			
13 B*130201	1			
14 B*1307N	1			
15 N.T.	1			
16 undef	1			

Sample :H1805 (N=57)				
Allele:B*4501				
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 B*4415/+	1	1 -	51	
2 B*4415/4501/+	1	2 B*4501/03/05/+	1	
3 B*45	4	3 B*4501/03/05/07	1	
4 B*4501	13	4 B*4506	1	
5 B*4501/02/03/+	5	5 N.T.	2	
6 B*4501/03/04	1	6 増幅せず	1	
7 B*4501/03/04/+	4			
8 B*4501/03/05	1			
9 B*4501/03/05+	1			
10 B*4501/03/05/+	10			
11 B*4501/03/05/07	2			
12 B*4501/03/07	1			
13 B*4501/05/07	1			
14 B*4501/07	6			
15 N.T.	2			
16 undef	3			
17 増幅せず	1			

Sample :H1806 (N=57)				
Allele:B*130201		Allele:B*40060101		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 -	1	1 -	6	
2 B*13	2	2 B*40	2	
3 B*1301/02/03/+	1	3 B*4004/06	1	
4 B*1301/02/07/+	2	4 B*4004/06/44	1	
5 B*1301/02/07N/+	1	5 B*4004/06/53	1	
6 B*1301/02/08	2	6 B*4005	1	
7 B*1302	8	7 B*4006	31	
8 B*1302/03	1	8 B*4006/2718	1	
9 B*1302/08	29	9 B*4006/44	1	
10 B*1310	1	10 B*4006/53	5	
11 N.T.	2	11 B*400601	2	
12 undef	6	12 B*40060101	2	
13 増幅せず	1	13 N.T.	2	
		14 増幅せず	1	

表3 HLA-DPB1 ローカス表記の集計

Sample :H1801 (N=38)				
Allele:Cw*160101				
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	-	4	1 -	31
2	Cw*1601	14	2 ?	2
3	Cw*1601/02	2	3 Cw*1209	1
4	Cw*1601/02/08	2	4 Cw*1601	1
5	Cw*1601/06	6	5 Cw*1601/06	2
6	Cw*1601/06/07/+	2	6 未入力	1
7	Cw*1601/08	1		
8	Cw*160101	4		
9	undef	2		
10	未入力	1		

Sample :H1802 (N=38)				
Allele:Cw*0602		Allele:Cw*080101		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	Cw*06	4	1 Cw*0511/0801/+	1
2	Cw*0602	4	2 Cw*08	4
3	Cw*0602/03/07/+	3	3 Cw*0801	5
4	Cw*0602/04/06/+	4	4 Cw*0801/02/03/+	7
5	Cw*0602/07	2	5 Cw*0801/03/04/+	2
6	Cw*0602/07/09/+	1	6 Cw*0801/04/08/+	2
7	Cw*0602/07/09/+	8	7 Cw*0801/08	1
8	Cw*0602/07/12/+	2	8 Cw*0801/08/10/+	1
9	Cw*0602/09/10/+	1	9 Cw*0801/08/10/+	6
10	Cw*0602/09/11	4	10 Cw*0801/08/11	2
11	Cw*0602/09/12/+	1	11 Cw*0801/10/11	3
12	Cw*0602/10/12/+	2	12 Cw*080101	2
13	HLA-Cw*06	1	13 HLA-Cw*08	1
14	未入力	1	14 未入力	1

Sample :H1803 (N=37)				
Allele:Cw*0403		Allele:Cw*150501		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	Cw*04	1	1 Cw*0314	2
2	Cw*0401	1	2 Cw*1502/03/05/+	4
3	Cw*0401/02/03/+	2	3 Cw*1502/04/05/+	1
4	Cw*0401/03/04	1	4 Cw*1502/05/06/+	1
5	Cw*0401/03/04/+	2	5 Cw*1504/05/06/+	3
6	Cw*0403	24	6 Cw*1505	15
7	Cw*0403/06	1	7 Cw*1505/06	4
8	Cw*0403/16	3	8 Cw*1505/06/09	2
9	HLA-Cw*04	1	9 Cw*1505/09	1
	未入力	1	10 Cw*150501	1
			11 Cw*150501/02/03	1
			12 HLA-Cw*15	1
			13 未入力	1

Sample :H1804 (N=33)				
Allele:Cw*0602		Allele:Cw*080101		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	Cw*06	3	1 -	2
2	Cw*0602	3	2 Cw*0511/0801/+	1
3	Cw*0602/03/04/+	1	3 Cw*08	3
4	Cw*0602/04/06/+	2	4 Cw*0801	2
5	Cw*0602/07	1	5 Cw*0801/02/03/+	4
6	Cw*0602/07/09/+	1	6 Cw*0801/03/04/+	2
7	Cw*0602/07/09/+	8	7 Cw*0801/04/08/+	2
8	Cw*0602/07/12/+	2	8 Cw*0801/08	1
9	Cw*0602/09/10/+	2	9 Cw*0801/08/10/+	1
10	Cw*0602/09/11	4	10 Cw*0801/08/10/+	6
11	Cw*0602/09/12/+	1	11 Cw*0801/08/11	3
12	Cw*0602/10/12/+	2	12 Cw*0801/10/11	3
13	Cw*1701/02/03	1	13 Cw*080101	2
14	N.T.	1	14 N.T.	1
15	undef	1		

Sample :H1805 (N=31)				
Allele:Cw*160101				
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	-	1	1 -	25
2	Cw*1601	12	2 ?	2
3	Cw*1601/02/08	1	3 Cw*1601	1
4	Cw*1601/06	7	4 Cw*1601/06	2
5	Cw*1601/06/07/+	1	5 N.T.	2
6	Cw*1601/08	1		
7	Cw*160101	3		
8	Cw1601	1		
9	N.T.	2		
10	nodetect	1		
11	undef	2		

Sample :H1806 (N=33)				
Allele:Cw*0602		Allele:Cw*080101		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	Cw*06	1	1 -	3
2	Cw*06/08	1	2 Cw*05/06	1
3	Cw*0602	3	3 Cw*0511/0801/+	1
4	Cw*0602/03/04/+	1	4 Cw*08	1
5	Cw*0602/07	2	5 Cw*0801	3
6	Cw*0602/07/09	1	6 Cw*0801/02/03/+	1
7	Cw*0602/07/09/+	1	7 Cw*0801/03/04/+	3
8	Cw*0602/07/09/+	9	8 Cw*0801/04/08/+	1
9	Cw*0602/07/12/+	1	9 Cw*0801/08	2
10	Cw*0602/09/10/+	2	10 Cw*0801/08/10/+	1
11	Cw*0602/09/11	3	11 Cw*0801/08/10/+	6
12	Cw*0602/09/12/+	1	12 Cw*0801/08/11	3
13	Cw*0602/10/12/+	1	13 Cw*0801/10/11	2
14	N.T.	2	14 Cw*080101	2
15	nodetect	1	15 N.T.	2
16	undef	2		

表 4 HLA-DPB1 ローカス表記の集計

Sample :H1601 (N=65)				
Allele:DRB1*130101				
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 DR*1301/22/28/35/51/59/61	1	1 -	54	
2 DR*1301/27/32/+	1	2 -/DRB1*0311/24/1421	1	
3 DRB1*0311/13	1	3 -orDRB1*0311/24orDRB1*1421/34	1	
4 DRB1*13	4	4 ?/DRB1*0311/24/1421	1	
5 DRB1*1301	8	5 DRB1*0302/07/12/+	1	
6 DRB1*1301/02/03/+	8	6 DRB1*11/13	1	
7 DRB1*1301/02/06/+	1	7 DRB1*13/14	1	
8 DRB1*1301/02/10/+	1	8 DRB1*1301/02/03/+	1	
9 DRB1*1301/02/16/+	3	9 DRB1*1301/02/16/+	1	
10 DRB1*1301/02/16/67	1	10 DRB1*130101	1	
11 DRB1*1301/02/22/+	1	11 DRB1*undef	1	
12 DRB1*1301/06/08/+	1	12 undef	1	
13 DRB1*1301/06/08/+	4			
14 DRB1*1301/06/09/+	1	(以下左欄からの続き)		
15 DRB1*1301/10	1	22 DRB1*1301/35/40/+	1	
16 DRB1*1301/16/28/+	7	23 DRB1*1301/51	1	
17 DRB1*1301/2	1	24 DRB1*1301/51/61	1	
18 DRB1*1301/22/28/+	2	25 DRB1*1301/68	1	
19 DRB1*1301/27/32/+	1	26 DRB1*130101	7	
20 DRB1*1301/28/35/+	3	27 HLA-DRB1*13	1	
21 DRB1*1301/28/61	1	28 undef	1	

Sample :H1803 (N=64)				
Allele:DRB1*100101		Allele:DRB1*150201		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 -	2	1 DR*1502/08/14	1	
2 DR*1001	2	2 DR*1502/11/14	1	
3 DRB1*10	2	3 DRB1*15	3	
4 DRB1*1001	49	4 DRB1*1501/02	1	
5 DRB1*1001/2	1	5 DRB1*1501/02/03/+	11	
6 DRB1*100101	7	6 DRB1*1501/02/04/+	9	
7 HLA-DRB1*10	1	7 DRB1*1501/02/08	1	
		8 DRB1*1501/02/14	1	
		9 DRB1*1501/04/05/+	1	
		(以下右欄からの続き)		
17 DRB1*1502/08/14+	1	10 DRB1*1501/2/4/+	1	
18 DRB1*1502/08/14/+	3	11 DRB1*150101	1	
19 DRB1*1502/11/15	1	12 DRB1*1502	8	
20 DRB1*1502/14	1	13 DRB1*1502/06/11/+	1	
21 DRB1*150201	6	14 DRB1*1502/08	1	
22 HLA-DRB1*15	1	15 DRB1*1502/08/11/+	4	
23 undef	1	16 DRB1*1502/08/14	5	

Sample :H1805 (N=58)				
Allele:DRB1*130101				
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 DR*1301/22/28/35/51/59/61	1	1 -	49	
2 DR*1301/27/32/+	1	2 -/DRB1*0311/24/1421	1	
3 DRB1*0311/13	1	3 -orDRB1*0311/24orDRB1*1421/34	1	
4 DRB1*0301/14/15/+	1	4 ?/DRB1*0311/24/1421	1	
5 DRB1*13	3	5 DRB1*13/14	1	
6 DRB1*1301	8	6 DRB1*1301/02/16/+	1	
7 DRB1*1301/02/03/+	2	7 DRB1*130101	1	
8 DRB1*1301/02/08/+	2	8 N.T.	2	
9 DRB1*1301/02/10/+	1	9 undef	1	
10 DRB1*1301/02/16/+	2			
11 DRB1*1301/02/22/+	1			
12 DRB1*1301/06/08/+	1	(以下左欄からの続き)		
13 DRB1*1301/06/08/+	4	19 DRB1*1301/28/61	1	
14 DRB1*1301/06/09/+	1	20 DRB1*1301/35/40/+	1	
15 DRB1*1301/10	1	21 DRB1*1301/51	1	
16 DRB1*1301/16/28/+	7	22 DRB1*130101	6	
17 DRB1*1301/22/28/+	3	23 N.T.	2	
18 DRB1*1301/28/35/+	3	24 undef	4	

Sample :H1802 (N=65)				
Allele:DRB1*070101		Allele:DRB1*090102		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 DR*0701	1	1 -	1	
2 DR*0701/03/04/+	1	2 DR*0901	1	
3 DR*0701/03/05/06/07	1	3 DR*0901/02/03/+	1	
4 DRB1*07	4	4 DRB1*09	4	
5 DRB1*0701	8	5 DRB1*09/01/04/05	1	
6 DRB1*0701/02/03/+	3	6 DRB1*0901	13	
7 DRB1*0701/03/04	1	7 DRB1*0901/02	5	
8 DRB1*0701/03/04+	1	8 DRB1*0901/02/03	9	
9 DRB1*0701/03/04/+	26	9 DRB1*0901/02/03/+	8	
10 DRB1*0701/03/05/+	10	10 DRB1*0901/02/03/¥	1	
11 DRB1*0701/05	1	11 DRB1*0901/02/04	4	
12 DRB1*0701/09	1	12 DRB1*0901/02/04/+	1	
13 DRB1*0701/09/10	1	13 DRB1*0901/03	2	
14 DRB1*0701/3/4/+	1	14 DRB1*0901/03/04	1	
15 DRB1*070101	3	15 DRB1*0901/04	2	
16 HLA-DRB1*07	1	16 DRB1*0901/04/05	4	
17 undef	1	17 DRB1*090102	6	
		18 HLA-DRB1*09	1	

Sample :H1804 (N=64)				
Allele:DRB1*070101		Allele:DRB1*090102		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 DR*0701	1	1 -	1	
2 DR*0701/03/04/+	1	2 DR*0901	1	
3 DR*0701/03/05/06/07	1	3 DR*0901/02/03/+	1	
4 DRB1*07	4	4 DRB1*09	4	
5 DRB1*0701	7	5 DRB1*09/01/04/05	1	
6 DRB1*0701/02/03/+	2	6 DRB1*0901	13	
7 DRB1*0701/03/04	2	7 DRB1*0901/02	4	
8 DRB1*0701/03/04+	1	8 DRB1*0901/02/03	8	
9 DRB1*0701/03/04/+	26	9 DRB1*0901/02/03/+	8	
10 DRB1*0701/03/05/+	10	10 DRB1*0901/02/03/¥	1	
11 DRB1*0701/09	1	11 DRB1*0901/02/04	4	
12 DRB1*0701/09/10	1	12 DRB1*0901/02/04/+	1	
13 DRB1*0701/3/4/+	1	13 DRB1*0901/03	2	
14 DRB1*070101	3	14 DRB1*0901/03/04	1	
15 N.T.	1	15 DRB1*0901/04	2	
16 undef	1	16 DRB1*0901/04/05	5	
17 未入力	1	17 DRB1*090102	5	
		18 N.T.	1	
		19 未入力	1	

Sample :H1806 (N=58)				
Allele:DRB1*0701		Allele:DRB1*1104		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 DR*0701	1	1 -	2	
2 DR*0701/03/04/+	1	2 DR*0901	1	
3 DR*0701/03/05/06/07	1	3 DR*0901/02/03/+	1	
4 DRB1*07	3	4 DRB1*09	3	
5 DRB1*0701	6	5 DRB1*09/01/04/05	1	
6 DRB1*0701/02/03/+	1	6 DRB1*0901	12	
7 DRB1*0701/03/04	2	7 DRB1*0901/02	1	
8 DRB1*0701/03/04+	1	8 DRB1*0901/02/03	8	
9 DRB1*0701/03/04/+	26	9 DRB1*0901/02/03/+	8	
10 DRB1*0701/03/05+	1	10 DRB1*0901/02/04	3	
11 DRB1*0701/03/05/+	6	11 DRB1*0901/02/04+	1	
12 DRB1*0701/05	1	12 DRB1*0901/03	2	
13 DRB1*0701/09/10	1	13 DRB1*0901/03/04	1	
14 DRB1*070101	3	14 DRB1*0901/04	1	
15 N.T.	2	15 DRB1*0901/04/05	5	
16 undef	2	16 DRB1*090102	5	
		17 DRB1*090102/04/+	1	
		18 N.T.	2	

表 5 HLA-DPB1 ローカス表記の集計

Sample :H1801 (N=35)				
Allele:DRB3*0101				
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	0101/02/03/+	1	-	32
2	52	1	DRB3*0101/02/03/+	1
3	DRB3	1	DRB3*0107	1
4	DRB3*01	2	N.T.	1
5	DRB3*01/02/03	6		
6	DRB3*0101	5		
7	DRB3*0101/04/11	1		
8	DRB3*0101/02/03	1		
9	DRB3*0101/02/03/+	5		
10	DRB3*0101/03/04+	1		
11	DRB3*0101/03/04/+	1		
12	DRB3*0101/03/05	1		
13	DRB3*0101/04/05/+	2		
14	DRB3*0101/04/11	3		
15	DRB3*0101/11	1		
16	DRB3*0101/2/4/+	1		
17	N.T.	1		
18	undef	1		

Sample :H1802 (N=35)				
Allele:DRB4*0103				
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	0101/03/05/+	1	-	27
2	53	1	0101/02/03/+	1
3	DRB4	1	DRB4*01	2
4	DRB4*01	7	DRB4*0101/03/05/+	1
5	DRB4*01/02	3	DRB4*0102/04	1
6	DRB4*0101/02/03	1	DRB4*0103	2
7	DRB4*0101/02/03/+	7	N.T.	1
8	DRB4*0101/02/05/+	1		
9	DRB4*0101/03/04/+	2		
10	DRB4*0101/03/05/+	5		
11	DRB4*0101/3/5/+	1		
12	DRB4*0103	2		
13	DRB4*0103/04/05	1		
14	N.T.	1		
15	undef	1		

Sample :H1803 (N=34)				
Allele:DRB5*0102				
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	0102/03/08/+	1	-	32
2	51	1	DRB3*0107	1
3	DRB3*0101/11	1	N.T.	1
4	DRB5*01	2		
5	DRB5*01/02	10		
6	DRB5*0101/02/03/+	4		
7	DRB5*0102	5		
8	DRB5*0102/0203/+	2		
9	DRB5*0102/03.0203	1		
10	DRB5*0102/03/08/+	2		
11	DRB5*0102/03/08N	1		
12	DRB5*0102/3/8	1		
13	DRB5*0103	1		
14	N.T.	1		
15	undef	1		

Sample :H1804 (N=33)				
Allele:DRB4*0103				
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	0101/03/05/+	1	-	24
2	53	1	0101/02/03/+	1
3	DRB4	1	DRB4*01	2
4	DRB4*01	7	DRB4*0101/03/05/+	1
5	DRB4*01/02	4	DRB4*0102/04	1
6	DRB4*0101/02/03	1	DRB4*0103	2
7	DRB4*0101/02/03/+	4	N.T.	1
8	DRB4*0101/02/05/+	1	未入力	1
9	DRB4*0101/03/04/+	2		
10	DRB4*0101/03/05/+	5		
11	DRB4*0101/3/5/+	1		
12	DRB4*0103	2		
13	DRB4*0103/04/05	1		
14	N.T.	1		
15	未入力	1		

Sample :H1805 (N=28)				
Allele:DRB3*0101				
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	0101/03/04/+	1	-	25
2	52	1	0112	1
3	DRB3*01	2	DRB3*0107	1
4	DRB3*01/02/03	3	N.T.	1
5	DRB3*0101	5		
6	DRB3*0101/04/11	1		
7	DRB3*0101/02/03/+	3		
8	DRB3*0101/03/04+	1		
9	DRB3*0101/03/04/+	1		
10	DRB3*0101/03/05	1		
11	DRB3*0101/04/05/+	2		
12	DRB3*0101/04/11	3		
13	N.T.	1		
14	undef	3		

Sample :H1806 (N=28)				
Allele:DRB4*0103				
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	0101/03/05/+	1	-	20
2	53	1	0101/02/03/+	1
3	DRB4*01	7	DRB4*01	2
4	DRB4*01/02	4	DRB4*0101/03/05/+	1
5	DRB4*0101/02/03	1	DRB4*0102/04	1
6	DRB4*0101/02/05/+	1	DRB4*0103	2
7	DRB4*0101/03/04/+	2	N.T.	1
8	DRB4*0101/03/05/+	5		
9	DRB4*0103	2		
10	N.T.	1		
11	undef	3		

表 6 HLA-DPB1 ローカス表記の集計

Sample :H1801 (N=5)					
Allele:DQA1*0103					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQA1*0103	3	1	-	3
2	N.T.	1	2	DQA1*0103/06	1
3	undef	1	3	N.T.	1

Sample :H1803 (N=5)					
Allele:DQA1*0101		Allele:DQA1*0105			
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQA1*0101	1	-	-	2
2	DQA1*0101/02/04/+	2		DQA1*0101/02/04/+	1
3	N.T.	1		DQA1*0105	1
4	undef	1		N.T.	1

Sample :H1805 (N=5)					
Allele:DQA1*0103					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQA1*0103	2	-	-	2
2	N.T.	2		DQA1*0601/02	1
3	undef	1		N.T.	2

Sample :H1801(N=29)					
Allele:DQB1*0603					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQB1*06	4	1	-	23
2	DQB1*0601/02/03/+	7	2	DQB1*0601/02/03/+	1
3	DQB1*0603	9	3	DQB1*0603	1
4	DQB1*0603/07/14	1	4	DQB1*0603/26	1
5	DQB1*0603/07/14/+	1	5	DQB1*0603/26N	1
6	DQB1*0603/14	2	6	判定不可	1
7	DQB1*0603/26N	2	7	未入力	1
8	HLA-DQB1*06	1			
9	undef	1			
10	未入力	1			

Sample :H1803 (N=28)					
Allele:DQB1*050101		Allele:DQB1*050201			
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQB1*05	3	1	-	11
2	DQB1*0501	14	2	DQB1*0501/02/03/+	1
3	DQB1*0501/02/03/+	7	3	DQB1*0502	13
4	DQB1*050101	1	4	DQB1*050201	2
5	HLA-DQB1*05	1	5	未入力	1
6	undef	1			
7	未入力	1			

Sample :H1805 (N=20)					
Allele:DQB1*0603					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQB1*06	1	1	-	13
2	DQB1*0601/02/03/+	1	2	DQB1*0603/07/26N	1
3	DQB1*0603	8	3	DQB1*0603/26	1
4	DQB1*0603/07	1	4	DQB1*0603/26N	1
5	DQB1*0603/07/14	2	5	N.T.	2
6	DQB1*0603/07/14/+	1	6	未入力	2
7	DQB1*0603/14	1			
8	DQB1*0603/26N	1			
9	N.T.	2			
10	未入力	2			

Sample :H1802 (N=5)					
Allele:DQA1*0201		Allele:DQA*0302			
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQA1*0201	3	1	-	1
2	N.T.	1	2	DQA1*0301/02/03	2
3	undef	1	3	DQA1*0302	1

Sample :H1804 (N=5)					
Allele:DQA1*0201		Allele:DQA*0302			
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQA1*0201	3	1	-	1
2	N.T.	1	2	DQA1*0301/02/03	2
3	undef	1	3	DQA1*0302	1
			4	N.T.	1

Sample :H1806 (N=5)					
Allele:DQA1*0201		Allele:DQA*0302			
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQA1*0201	2	1	-	1
2	N.T.	2	2	DQA1*0301/02/03	2
3	undef	1	3	N.T.	2

Sample :H1802 (N=29)					
Allele:DQB1*0202		Allele:DQB1*030302			
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQB1*02	4	1	-	1
2	DQB1*0201	1	2	DQB1*03	3
3	DQB1*0201/02	2	3	DQB1*0303	7
4	DQB1*0201/02/03	5	4	DQB1*0303/06/12	4
5	DQB1*0201/02/03/+	5	5	DQB1*0303/06/12/+	4
6	DQB1*0201/02/04	3	6	DQB1*0303/10/12/+	1
7	DQB1*0201/2	1	7	DQB1*0303/12/15	5
8	DQB1*0202	4	8	DQB1*030302	2
9	DQB1*0302	1	9	HLA-DQB1*03	1
10	HLA-DQB1*02	1	10	未入力	1
11	undef	1			
12	未入力	1			

Sample :H1804 (N=26)					
Allele:DQB1*0202		Allele:DQB1*030302			
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	-	1	1	-	1
2	DQB1*02	4	2	DQB1*03	3
3	DQB1*0201	1	3	DQB1*0302	1
4	DQB1*0201/02	2	4	DQB1*0303	7
5	DQB1*0201/02/03	3	5	DQB1*0303/06/12	3
6	DQB1*0201/02/03/+	5	6	DQB1*0303/06/12/+	3
7	DQB1*0201/02/04	3	7	DQB1*0303/10/12/+	1
8	DQB1*0201/2	1	8	DQB1*0303/12/15	4
9	DQB1*0202	3	9	DQB1*030302	1
10	N.T.	1	10	N.T.	1
11	undef	1	11	未入力	1
12	未入力	1			

Sample :H1806 (N=20)					
Allele:DQB1*0202		Allele:DQB1*030302			
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQB1*0201/02	3	1	-	4
2	DQB1*0201/02/03	1	2	DQB1*0303	3
3	DQB1*0201/02/03/+	4	3	DQB1*0303/06/12/+	3
4	DQB1*0201/02/04	3	4	DQB1*0303/10/12	1
5	DQB1*0202	2	5	DQB1*0303/10/12/+	1
6	DQB1*0302	1	6	DQB1*0303/12/15	4
7	N.T.	2	7	DQB1*030302	1
8	undef	3	8	N.T.	2
9	未入力	1	9	未入力	1

表7 HLA-DPB1 ローカス表記の集計

Sample :H1801				
Allele:DPB1*020102		Allele:DPB1*030101		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 DPB1*0201/0801	1	1 -		1
2 DPB1*020102	1	2 DPB1*030101		1
3 N.T.	1	3 DPB1*5701/1002/+		1
4 undef	1	4 N.T.		1

Sample :H1803				
Allele:DPB1*010101				
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 DPB1*0101	1	1 -		3
2 DPB1*010101	1	2 N.T.		1
3 N.T.	1			
4 undef	1			

Sample :H1805				
Allele:DPB1*010101				
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 DPB1*0101	1	1 -		3
2 DPB1*010101	1	2 N.T.		1
3 N.T.	1			
4 undef	1			

Sample :H1802				
Allele:DPB1*1701		Allele:DPB1*1901		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 DPB1*1701	2	1 -		1
2 N.T.	1	2 DPB1*0802/1901		1
3 undef	1	3 DPB1*1901		1
		4 N.T.		1

Sample :H1804				
Allele:DPB1*1701		Allele:DPB1*1901		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 DPB1*1701	2	1 -		1
2 N.T.	1	2 DPB1*0802/1901		1
3 undef	1	3 DPB1*1901		1
		4 N.T.		1

Sample :H1806				
Allele:DPB1*1701		Allele:DPB1*1901		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 DPB1*1701	2	1 -		1
2 N.T.	1	2 DPB1*0802/1901		1
3 undef	1	3 DPB1*1901		1
		4 N.T.		1

2) 区分不可能なアリの表記で、2番目以降は2桁で表記するところを、1桁で表記している(例: A\*3001/8/13/+, B\*0705/6, B\*1501/4/+, DRB4\*0101/3/5/+).

3) 3種類のアリを表記し、最後に“/+”とするところを、2種類のアリに“/+”を付けた表記をしている(例: B\*1501/4/+).

4) 3種類のアリを表記し最後に“/+”とするところを、“+”だけで表記してある(例: Cw\*0801/08/10+, Cw\*0602/07/09+, A\*0201/04/09+).

#### ④ N (null) および L (low) の表記

表記法の「アンビギュイティ (ambiguity) の取扱いについて」では、区分出来ないアリを、最初4桁、以降2桁で表記することになっており、nullを意味する“N” および low expression を意味する“L”については、表記しない。(例: A\*2901/01N/02/+, B\*1301/02/07N/+ 等)

#### ⑤ 5桁目以降の区分出来ないアリの表記

表記法では、「5桁以上の細分化が知られているアリで、5桁以上でアリが特定できた場合のみ、その桁数でアリを記載する」とされており、5桁目以降の区分出来ないアリがある場合(例: Cw\*150501/02/03)は、4桁で表記(例: Cw\*1505)することになっている。

#### ⑥ 判定不能、判定不可、N.D., ?, nd の表記

これまでのワークショップ集会において、判定不

能および判定不可の場合の結果表記として、判定が出来なかったことを意味する undefined の略である、undef を結果として表記し、判定出来ない内容をコメント欄で説明することとされている。

しかし、この表記 (undef) の使用については、表記法で「判定されたアリが一つで、それ以外に明らかに異なるアリの存在が疑われるが、そのアリが特定出来ない場合に、“nd” と記載しても良い」という“nd”の表記と違いが明確でないこともあり、今後学会誌等で再度表記法を示すようにしたい。

#### ⑦ HLA-DRB3, DRB4 および DRB5 ローカスの表記

HLA-DRB3, DRB4 および DRB5 遺伝子座における結果表記として以下の問題点があった。

1) ローカス名 (DRB3, DRB4, DRB5) だけの結果表記

2) HLA 型 (51, 52, 53) での表記

3) ローカス名を記載していない表記 (“0102/03/08/+”)

何れも、DNA タイピングでの結果表記としては適切ではない。以前より、これらのローカスに関する表記法が適切でない例が多く見られている。次回以降、正確に意味のある表記をすることが望まれる。

#### ⑧ アリ未入力

アリ記載欄に何も結果表記をせずに、HLA 型 (抗原型) だけを表記した施設が一部に見られた。

QCWS のデータとしては、アレルも表記し、それに従って対応する HLA 型を表記するべきである。

⑨ アレルがひとつしか検出されない場合の表記  
表記法において、アレルがひとつしか検出されなかった場合、同一のアレルを後ろのカラムに表記せず、後ろのカラムには、「-」を記載することとなっている。

## 2.2. HLA 型の表記の問題点

HLA 型 (HLA 抗原型) の表記について、9 施設で HLA 型が表記されていなかった。また、2 施設でアレルが表記されず、HLA 型だけが表記されていた。QCWS では、DNA タイピングを行ない、対応する HLA 型との関係を理解するために、両方の表記をするようにしているため、DNA 型と HLA 型の関係を理解して、結果を入力する必要がある。

HLA-A ローカスの HLA 型表記では、A\*0210 および A\*0203 に対応する HLA 型が公認された A210 および A203 であることから、A2 と表記することは、間違いである。また、HLA 型をアレル表記が混同した例 (A\*203) も見られた。

B 座の HLA 型表記では、以前の QCWS におい

ても指摘したが、B15 グループのアレルと HLA 型の関係は複雑である。今回の QCWS では、B\*1512/19 または B\*1519 とタイピングされている場合の HLA 型が、B76 とするところを B62 と表記している施設があった。また、B\*15 と結果を表記し、HLA 型は B62 または B76 と表記されている施設もあった。HLA 型が、B62 または B76 と HLA 型が限定出来るのであれば、B\*15 というアレル表記は間違っている。慎重に結果の記載する必要がある。

HLA-DRB3, DRB4, DRB5 遺伝子座の HLA 型表記で、遺伝子座名である、DRB3, DRB4, DRB5 が HLA 型として使われていた。HLA-DR51, DR52, DR53 が、これら遺伝子の対応する HLA 型 (抗原型) であることを、十分認識して頂きたい。また、アレル名に基づくのか “1” と表記されている施設もあった。

HLA-DQB1 の HLA 型表記の表記として、アレル表記との混同している例が見られた、(例: HLA-DQ06, DQB1\*06 (下線部分は余分)、また、DQB1\*0303/10/12/+ の HLA 型を “8/9” と表記してあったが、DQ9 で問題ないと思われる。

# 第 10 回 HLAQC ワークショップ(抗体部門) —企画と実施内容・総合解析—

中島文明, 赤座達也, 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#: 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員: 木村彰方<sup>1,2)</sup>, 赤座達也<sup>10)</sup>, 太田正穂<sup>3)</sup>, 柏瀬貢一<sup>4)</sup>, 小林賢<sup>5)</sup>, 酒巻建夫<sup>6)</sup>, 佐田正晴<sup>7)</sup>, 田中秀則<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>8)</sup>, 成瀬妙子<sup>9)</sup>, 丸屋悦子<sup>10)</sup>, 安波道郎<sup>2,11)</sup> (所属: <sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, <sup>2)</sup>東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究所ゲノム多様性研究室, <sup>3)</sup>信州大学医学部法医学, <sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部, <sup>5)</sup>日本薬科大学生物学, <sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, <sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所, <sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部, <sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系, <sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所, <sup>11)</sup>長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

## 1. はじめに

HLA 抗体検査はさまざまな方法が混在し、施設によって採用する方法も異なる。タイピング検査と違

い、その結果は免疫刺激や治療とともに簡単に変化  
する。時には、その抗体特異性は非常に幅広く、ど  
こまで捉えればいいのか困惑することも多い。検査方

法の違いで結果の相違をきたすこともある。このように、HLA抗体検査の結果は掴みどころがなく、焦点が絞りきれない。

幸いなことに、市販の高感度試薬が充実してきて、これまで不可能とされていたところまで詳細に検出できるようになった。一方、実際の生体内の反応は、市販の高感度試薬が検出する抗体特異性すべてが関係している確証は何もない。生体材料と精製抗原の違いや、さまざまな場面における生体反応に与える抗体特異性、あるいはアイソタイプは何であるかなど、まだまだ解明すべき点はある。

今回で2回目となる抗体部門QCでは、前回と同様な目的に加え、抗体アイソタイプの解析も試みた。

## 2. 企画と実施内容

### 2.1. 目的と実施経過

このQCの最も基本的なことは「HLA抗体検査の理解と普及」であり、さまざまな方法に対する技術向上と普及を目的としている。「検査施設間の同一検査法での比較検討」と「異なった検査法間の結果の比較」といった目的に対しては、統一形式のデータファイル収集に基づき、方法別に解析担当者を選任し解析を進めた。「Igアイソタイプ別の抗体特異性解析」は、中央血液研究所でおこなった。実施経過は別表のとおりである。(表1)

表1 実施経過

平成18年3月17日	参加申込み締切り
平成18年4月	研究倫理審査申請
平成18年5月中旬	抗体検査サンプル配布
平成18年6月中旬	データ入力シート配布
平成18年6月30日	データ提出締切り
平成18年7月下旬	抗体QCデータ解析・発表希望者募集
平成18年8月下旬	解析結果送付
平成18年9月24日	QCワークショップ集会

### 2.2. サンプルの選択と配布

使用するサンプルは前回同様、倫理面の配慮から市販のヒト由来HLA抗血清を用い、参加施設においてはサンプルの受領書とこれの取扱いに関する誓約書の返送を義務付けた。LCT法でプレスクリーニングした4本を選択し、これらを必要量購入し原液のまま各施設に1mlずつ配布した。これらの選択基準は別表に内容を示す。(表2)

### 2.3. データ収集と検査方法別集計

Microsoft Excelで統一形式の検査方法別入力ファイルを配布し、必要に応じて画像データファイル、測定データファイルを集計した。参加施設は前年と比較し一割ほど減ったが、内訳はほぼ一緒であった。(表3)方法別では、PAKPLUSとLATが減り、FlowPRAとLABScreenが増え、パネル形態別で

表2 配布したHLA抗体サンプルと選定理由

QC番号	在庫量 (ml)	力価 (LCT法)	特異性 (LCT法)	コメント
SH1801	60	x1	A26	x2→A26(negative A*2603)
SH1802	60	x1-2	A25 A26 A66	
SH1803	60		(-)	FowPRA Screening HLA Class I (+)、Class II (+)
SH1804	35	x1-4	B35 B53	

- |                             |              |
|-----------------------------|--------------|
| 1. 第9回のサンプルと異なった抗体特異性       | → SH1801/2/4 |
| 2. 類似した抗原エピトープを認識している2種類の抗体 | → SH1801/2   |
| 3. LCT法で同一抗原グループの一部を欠く抗体特異性 | → SH1801     |
| 4. LCT法で反応陰性の抗体             | → SH1803     |
| 5. B座の鋭敏な抗体特異性              | → SH1804     |

上記4本をこのQC番号でSH1801-1803は原液のまま、SH1804はPBSで2倍希釈して1mlずつ配布

表3 参加施設と内訳(前回と今回の比較)

	9th		10th	
	n	%	n	%
血液センター	17	35.4%	16	37.2%
大学病院	12	25.0%	11	25.6%
検査・輸血部	11	22.9%	9	20.9%
検査センター	4	8.3%	3	7.0%
研究施設	2	4.2%	3	7.0%
その他	2	4.2%	1	2.3%
(Total)	48		43	
データ提出	44	91.7%	39	90.7%

は Single antigen type が増加した. LCT 法のパネル数は前回より増えている. (表4)

3. 総合解析

「検査施設間の同一検査法での比較検討」は各解析担当に譲るとして, ここでは「異なった検査法間の結果の比較」について HLA 抗体の検出と特異性解析について述べる.

3.1. HLA 抗体の検出(有無)

クラス I 抗体は 4 本ともすべて検出できた. クラ

表4 参加施設の検査方法別一覽

検査方法	抗原形態	パネル形態	測定方法	クラス I					クラス II							
				施設数	パネル数	総数	抗原種類数			施設数	パネル数	総数	抗原種類数			
							A	B	Cw				DR	DRs.	DQ	DP
LCT	リンパ球	Specific	目視, 数値	16	9-85	584	24	51	17	4	5-18	47	10	3	5	5
AHG-LCT		Specific		14	10-85	576	19	44	14	x						
MPHA	血小板抽出抗原	Screening	目視	M1/G7	3	-	3	6	4	x						
		Specific		M1/G6	3-8	48	8	13	7	x						
PAKPLUS	血小板糖蛋白	Screening	数値	M2/G3	-	-	-	-	-	x						
LAT	培養リンパ球精製抗原	Screening	目視, 数値	*G3	46	-	21	43	15	*G1	30	-	15	3	7	
		Specific		*G1	28	28	20	38	15	*G1	12	12	14	3	7	
FlowPRA	培養リンパ球精製抗原	Screening	パターン	M8/G24	30	-	20	40	15	M4/G20	30	-	15	3	7	
		Specific		G2	32	400	20	40	15	x						
		Single antigen		G6	32-80	400	21	43	16	G5	32	160	15	3	7	Mix
LABScreen	培養リンパ球精製抗原	Screening	数値	*M1/G5	42	-	21	43	15	*M1/G5	24	-	15	3	7	
		Specific		M2/G8	55	810	20	42	15	M2/G6	35	189	15	3	7	14
		Single antigen		M2/G7	38-91	810	26	50	15	M2/G5	25	189	15	3	7	
LIFT	リンパ球	Specific	パターン	G2	20-73	93	10	23	7	x						

M: 2次抗体IgM, G: 2次抗体IgG (太数字: データ提出施設数, x: データなし, \*: クラスI/II 同時検査) パネル総数は同一キットで重複あり

表5 施設別抗体検出率(有無)

	2次抗体	検査方法	Class I				Class II			
			SH1801	SH1802	SH1803	SH1804	SH1801	SH1802	SH1803	SH1804
検査方法別	IgG	LCT	94%	100%	7%	88%	33%	67%	33%	67%
		AHG	100%	100%	57%	100%				
		MPHA	88%	100%	100%	100%				
		PAKPLUS	100%	100%	0%	100%				
		LIFT	100%	100%	100%	100%				
		LAT	100%	100%	33%	100%	100%	100%	100%	0%
		FlowPRA	100%	100%	96%	100%	100%	95%	100%	0%
	LABScreen	100%	100%	100%	100%	100%	100%	100%	13%	
	IgM	MPHA	0%	0%	0%	0%				
		PAKPLUS	0%	0%	0%	100%				
FlowPRA		43%	0%	0%	0%	67%	33%	33%	0%	
LABScreen		100%	50%	50%	50%	0%	0%	0%	0%	
2次抗体別	IgG		98%	100%	89%	100%	100%	97%	100%	3%
	IgM		42%	8%	8%	17%	40%	20%	20%	0%
総合判定			100%	100%	82%	94%	88%	92%	96%	4%

ス II 抗体は SH1804 が陰性と考えられる。そのうち IgM は SH1802 と SH1804 は陰性である。方法別では SH1803 のクラス I は LCT 法, PAKPLUS, LAT で十分に検出できていない。

IgM 抗体については, LABScreen がクラス I で, FlowPRA がクラス II で非特異反応を拾っている可能性がある。二次抗体をメーカー指定品以外で使用する場合は, 検定とプロトコールの見直しが必要と考えられる。

## 3.2. HLA 抗体の特異性解析

### 3.2.1. SH1801

LCT 法によるプレスクリーニングでは A26 特異性のうち A\*2603 のパネルと反応しないことが確認されている。今回の LCT 法の結果では A26 パネルの一部が反応陰性であることが認められるが, 抗原のアサインが A26 のままなのでその違いが判らない。一方, 市販試薬には A\*2603 抗原が含まれていないので, 反応するかどうかが確認できなかった。FlowPRA や LABScreen など高感度な方法では A2, A9 関連以外の A ローカス抗原とほとんど反応し, C ローカス抗体特異性も検出している。クラス II は DR53, DQ3 などの抗体特異性が認められた。

### 3.2.2. SH1802

SH1801 と同じく A10 関連の特異性が認められた。こちらはプレスクリーニングで A\*2603 パネルの反応が確認できている。他に, B5 関連の特異性が認められ, 高感度法では B15, B40 関連以外の多くの特異性が検出されている。クラス II は DR8, DR12 に加え DR52, DQ4 なども検出された。DR8 特異性はプレスクリーニング LCT 法の感度で DRB1\*0803 と反応し, DRB1\*0802 と反応しないことが確認されている。今回の LCT 法の結果では DR8 パネルの一部が反応陰性であることが認められるが, 抗原のアサインが DR8 のままなのでその違いが確認できなかった。

### 3.2.3. SH1803

SH1803 はプレスクリーニング LCT 法で反応が

弱く特異性も明確でないが, FlowPRA でクラス I と II に反応が認められたサンプルである。基本的に A9 抗体特異性が認められ, 高感度法で B40 関連特異性が検出された。クラス II は DR2 などの他, DQ 抗原のほとんどと DP 特異性が認められた。

### 3.2.4. SH1804

SH1804 は B35, B5 関連抗原に鋭敏な反応を示し, 高感度法では A10 と C ローカスの一部との反応が検出された。クラス II 抗体特異性は認められない。(表 6)

## 4. 二次抗体 Ig アイソタイプ別の抗体特異性解析

これまで, 抗体特異性は IgG と IgM の違いまでは調べてきたが, さらに IgG1 や IgG2 などアイソタイプレベルの差はみていない。今回のサンプルについて試験的にその違いを調査した。FlowPRA Screening test で二次抗体を IgG1~IgG4 まで用意し, それぞれの反応を比較した。これらの二次抗体は感度差が出ないように検定してから使用した。このなかで, SH1801 が各アイソタイプ別のヒストグラムに差があったので, このサンプルについて FlowPRA Single Antigen test で二次抗体に IgG1~IgG4 を使用して抗体特異性を確認した。

結果は IgG1 で検出できた A33, A68 特異性が IgG3 で検出できず, また, IgG2 で検出できた Cw2, Cw4, Cw6 特異性が IgG1 で検出できなかった。IgG4 は A11, A66 以外検出できなかった。この結果を AHG-LCT 法で比較すると, 含まれる抗原の違いを考慮しても, 検出できている抗体特異性に差はなかった。ただし, C ローカス抗体特異性は検出できていない。(表 7)

このこのように, サンプルに含まれる抗体特異性は Ig アイソタイプ別にも相当多様であることが確認できた。

## 5. まとめ

市販抗体検査試薬はパネル構成など内容がさらに充実してきた。もはや, 検出不可能な抗体特異性はほとんど無い。しかしながら, 多くの検出方法が混在し, 施設によって採用する方法が異なれば, 感度面

表 6 検査方法別の HLA 抗体特異性比較

SH1801																						
LCT	A26	A66	A25																			
AHG-LCT	A26	A66	A25	A34	A11	A33	A68	A1														
MPHA	A26											A11	A33									
LIFT	A26											A11	A33	A1								
LAT (G)			A25	A34											B59	B62	B18	Cw16				
FlowPRA (G)	A26	A66	A25	A34	A43	A11	A33	A68	A69	A1	A36	A80	A29	CW5	Cw4	Cw6	Cw18	Cw2				
LABScreen (G)	A26	A66	A25	A34	A43	A11	A33	A68	A69	A1	A36	A80	A29	CW5								
SH1802																						
LCT	A26	A66	A25											A11								
AHG-LCT	A26	A66	A25											A11	A24	A1	A31	A33	B51	B52	B59	
MPHA	A26											A11							-	A31	A33	B52
LIFT	A26											A11	A24	A1	A33	B51	B52	B59				
LAT (G)	A66		A25																			
FlowPRA (G)	A26	A66	A25	A34	A43	A11	A68	A23	A24	A32	A36	A80	A1	Bローカス多数								
LABScreen (G)	A26	A66	A25	A34											A11	A68	A23	A24	A32	A36	A80	Bローカス多数
SH1803																						
LCT	A24																					
AHG-LCT	A24																					
MPHA	A24																					
LIFT	A24																					
LAT (G)	B7						B48															
FlowPRA (G)	A24	A23	B7	B27	B60	B61	B48	B81	B13	Cw2 Cw17												
LABScreen (G)	A24	A23	B7	B27	B60	B61	B48	B81	B13	B47	Cw2 Cw17											
SH1804																						
LCT	B35	B51																				
AHG-LCT	B35	B51	B52															A26				
MPHA	B35	B52																				
LIFT	B35	B51	B52											B37	B58							
LAT (G)	B35	B51	B18					A26	A25	B58												
FlowPRA (G)	B35	B51	B52	B53	B18	B78	A26	A25	A66	B37	B58	B56	Cw5	Cw6								
LABScreen (G)	B35	B51	B52	B53	B18	B78	A26	A25	A66	B37	B58	B49	Cw5	Cw6								

(G) 2次抗体IgG   強陽性反応

表 7 二次抗体 Ig アイソタイプによる反応性の違い (SH1801)

Ig isotype	A Locus Specificity													C Locus Specificity				
IgG1	A26	A25	A34	A43	A66	A11	A36	A80	A1	A68	A69	A33	A29	Cw5	Cw8			
IgG2	A26	A25	A34	A43	A66	A11	A36	A80	A68					Cw5	Cw6	Cw2 Cw4		
IgG3	A26	A25	A34	A43	A66	A11	A36	A80										
IgG4											A66	A11						
AHG-LCT	A26	A25	A34	-	A66	A11	-	-	A1	A68	-	A33	-					
LCT	A26	A25	-		A66													

- 抗原が含まれていない  
  強陽性反応

の影響も含めて全体的な精度管理は必要不可欠といえる。同じサンプルでありながら施設によって結果が異なるという事態は避けたい。

Ig アイソタイプ別の抗体特異性解析は本来の QC の目的から外れるが、使用したサンプルの精査と今

後の指標を探るという理由で行ってみた。精製抗原が捕らえる抗体と生体内で反応する抗体がまったく同一であるとはどうしても思えない。QC とは別の場で、このような結果と臨床成績のデータをリンクして調査していくことも重要と考える。

# 第10回 HLAQC ワークショップ(抗体部門) —LCT・AHG-LCT 法—

田中秀則, 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#: 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員: 木村彰方<sup>1,2)</sup>, 赤座達也<sup>10)</sup>, 太田正穂<sup>3)</sup>, 柏瀬貢一<sup>4)</sup>, 小林賢<sup>5)</sup>, 酒巻建夫<sup>6)</sup>, 佐田正晴<sup>7)</sup>, 田中秀則<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>8)</sup>, 成瀬妙子<sup>9)</sup>, 丸屋悦子<sup>10)</sup>, 安波道郎<sup>2,11)</sup> (所属: <sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, <sup>2)</sup>東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室, <sup>3)</sup>信州大学医学部法医学, <sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部, <sup>5)</sup>日本薬科大学生物学, <sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, <sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所, <sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部, <sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系, <sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所, <sup>11)</sup>長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

## 1. 概要

第10回 HLA-QC ワークショップ抗体部門(以下, QCWS)において, LCT および AHG-LCT 法での参加施設数は, クラス I が 16 施設, クラス II が 4 施設であった。提出された全パネル細胞(以下, パネル)数は, クラス I で 584 パネル, クラス II で 47 パネルであった。

各施設から提出された判定結果の概要を以下に示す。

LCT 法において, H1802 は全施設で陽性と判定されが, H1801 および H1804 は, 一部の施設で陰性と判定された。また, H1803 については, 陽性と判定されたのは 1 施設だけであった。また, AHG-LCT 法では, H1803 以外の 3 検体は, 全施設で陽性と判定されたが, H1803 については, 8 施設 (57%) で陽性, 4 施設 (29%) で陰性, 2 施設 (14%) で保留と判定された。

## 2. セログラフ解析

提出されたデータを基に, 各検体の反応性についてセログラフを用いて解析を行った。

H1801 は, LCT 法で A26 抗原に対する反応が認められたが, AHG-LCT 法では, A26 以外に A11.1, A11 および A33 抗原に対する反応が見られた。AHG-LCT 法の全提出データ (N = 577) における, A33 パネルに対する陽性率は約 50% であり, 施設別

検体	LCT 法 (16 施設)	AHG-LCT 法 (14 施設)	特異性
H1801	陽性: 15 陰性: 1	陽性: 14 陰性: 0	A1, A11, A25, A26, A33, A66 (6 種類)
H1802	陽性: 16 陰性: 0	陽性: 14 陰性: 0	A11, A24, A25, A26, A66, B35, B51, B52 (8 種類)
H1803	陽性: 1 陰性: 13 保留: 2	陽性: 8 陰性: 4 保留: 2	A24 (1 種類)
H1804	陽性: 14 陰性: 2	陽性: 14 陰性: 0	B35, B51 (2 種類)

に A33 パネルに対する反応の強さを比較したところ, 施設間差が認められた。そのため, A33 パネルに対して反応が認められない施設のデータを除外した 103 パネルのデータで, 再度解析を行ったところ,

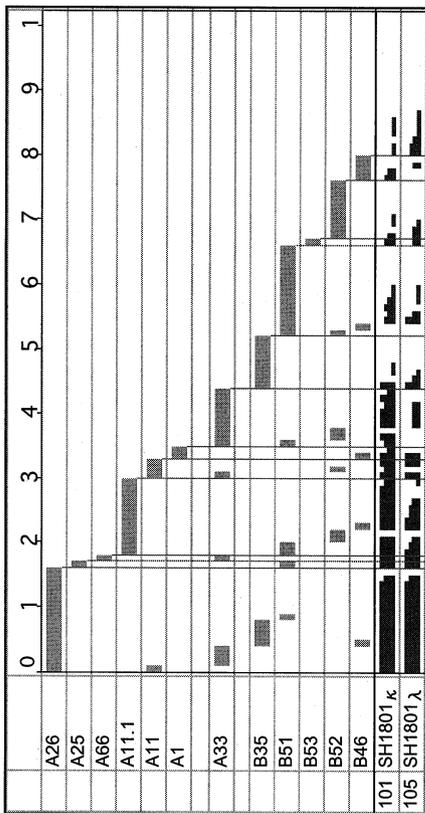


図1 H1801のAHG-LCT法におけるセログラフ(N=103)

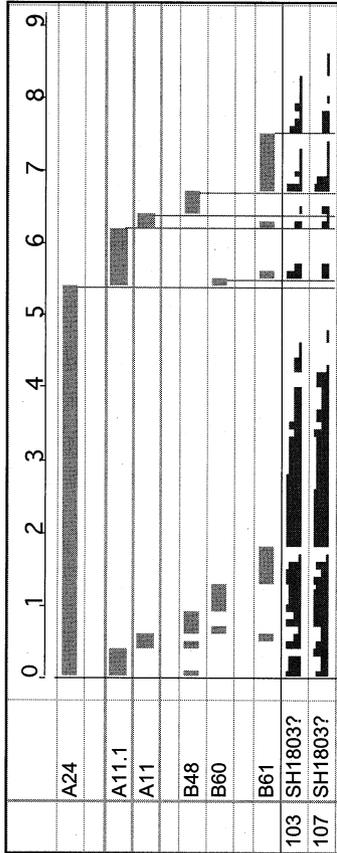


図2 H1802のAHG-LCT法におけるセログラフ(N=103)

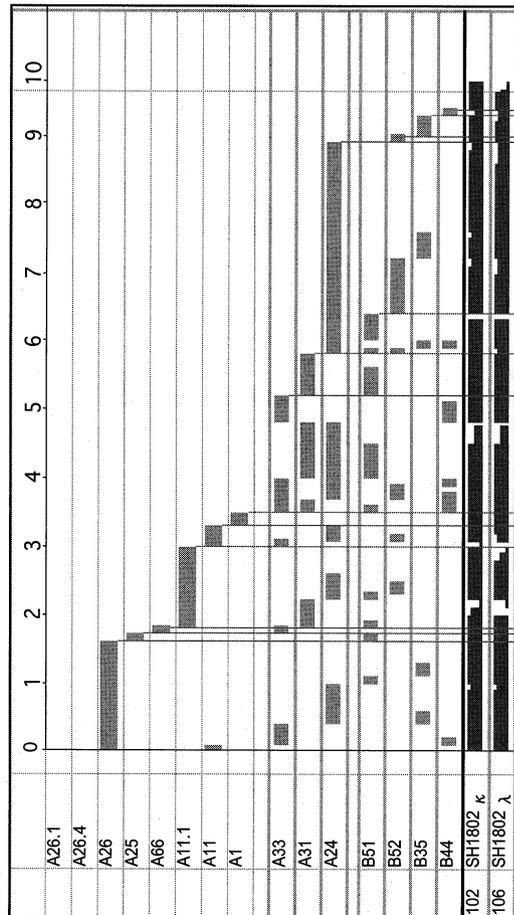


図3 H1803のAHG-LCT法におけるセログラフ(N=103)



図4 H1804のAHG-LCT法におけるセログラフ(N=103)

AHG-LCT 法 ( $\kappa$  鎖)において、ほとんどの A33, A11.1, A11, A1 パネルとの反応が確認された(図 1 参照)。

H1802 は、LCT 法では A26, A25, A66 に強い反応が、A11.1, B51 および B52 弱い反応が見られた。AHG-LCT 法では、更に A33, A31, A1, A24, B35, B44 パネルに対する弱い反応が見られた。H1801 で選択したパネルデータ (N=103) を用いた解析では、LCT および AHG-LCT 法で弱い反応と思われたパネルに対して、ほぼ陽性反応を示していることが確認された(図 2 参照)。

H1803 は、LCT 法で陽性反応を示すパネルは見られなかった。AHG-LCT 法では、A24 パネルの約 25% に反応が見られたが、選択した 103 パネルにおいては、86% の A24 パネルに反応が認められた。

H1804 は、LCT 法で B35 および B51 の一部のパネルに反応が見られた。AHG-LCT 法では、B35,

B51 以外に B52, B53, B17 および B37 等のパネルに対する反応が見られた。選択したパネル (N=244) データでは、B52 に対する反応性が、AHG $\lambda$  鎖を用いた検査でより明確になった(図 4 参照)。

クラス II 抗体については、血小板での未吸収の検体で検査を行っているデータもあったことから、特異性に関する解析は困難であった(概要は配布データ参照)。

### 3. まとめ

AHG-LCT 法では、抗体の特異性に該当するパネルとの反応の強さが、施設間で異なっており、抗体検査に使用するパネル細胞(交差抗原の組合せまたはホモタイプ)の選択、AHG 希釈倍数や洗浄の回数等を検討することで、より有効な AHG-LCT 法での抗体検出が可能と推測される。

## 第 10 回 HLAQC ワークショップ(抗体部門) —検査方法別解析 (MPHA, PAKPLUS)—

中村淳子(神奈川県赤十字血液センター検査一課),  
日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#: 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員: 木村彰方<sup>1,2)</sup>, 赤座達也<sup>10)</sup>, 太田正穂<sup>3)</sup>, 柏瀬貢一<sup>4)</sup>, 小林賢<sup>5)</sup>, 酒巻建夫<sup>6)</sup>, 佐田正晴<sup>7)</sup>, 田中秀則<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>8)</sup>, 成瀬妙子<sup>9)</sup>, 丸屋悦子<sup>10)</sup>, 安波道郎<sup>2,11)</sup> (所属: <sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, <sup>2)</sup>東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室, <sup>3)</sup>信州大学医学部法医学, <sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部, <sup>5)</sup>日本薬科大学生物学, <sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, <sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所, <sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部, <sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系, <sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所, <sup>11)</sup>長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

### MPHA

オリンパス社の MPHA 法 (Mixed Passive Hemagglutination test) キット, “anti-PLT・オリビオ・MPHAI” (ヒト血小板抽出抗原固相の 1 ウェルで判定)のデータが 7 施設より提出され, 1 施設で IgM のデータが提出された。SH1801~1804 の 4 検体とも IgG は概ね陽性となったが, ロット, 施設間差がみ

られた。(表 1) 固相されている抗原の HLA タイプが不明であり, 1 ウェルの反応で判定するので, 抗 HLA, HPA 抗体の有無を判定するには, 他法との併用が望ましい。IgM はすべて反応スコア 2 (±) 以下であった。また, MPHA 反応スコア記入シートに処理時間, 感作時間の記入欄があり, 既成キットであるが, 各施設で記入された時間に差が大きく, クロ

ロキソニン処理時間, 血清反応時間, 感作セル分注後の時間がこの2欄に混在している可能性がある。

同じくオリンパス社のMPHAキットでHLA, HPAタイプ既知の8ウェルを用いた“anti-HPA・MPHA・パネル”でのデータが同ロットで5施設から提出され, 自家製パネルを用いたデータが1施設より提出された。anti-HPA・MPHA・パネルでは, 各検体とも, 陽性パネルがあり, IgG抗体陽性と判定された。(表2)しかし, 5施設ともに強陽性, または陰性のパネルはあるが, 施設間で判定が異なるパネル(ある施設では反応スコア1が別の施設では6, 2が8等)が多数みられた。非特異反応か, 弱い反応を捕らえているのかは不明だが, MPHAは手作業での洗浄操作等, 作業に多少熟練が必要であり, 肉眼判定なので, このようならばつきがみられるのではないだろうか。HLA抗体の特異性は, 自家製パネルでのデータを加えても16パネルなので, 解析が

難しく, 各施設とも特異性判定スコアは4以下であった。他の方法で決定された特異性を基に, どこまでHLA抗体の特異性を捕らえているかみたところ, SH1801はA26に対して陽性, A11, A33が弱陽性か, SH1802はA11, A26陽性, A24, A31, B35, B58が陽性が判定不能, SH1803はA24弱陽性か, SH1804はB35陽性と推察した。クロロキソニン処理ウェルでは概ね未処理ウェル強陽性のパネルに反応がみられ, HPAに特異的な抗体は判別されなかった。1施設のIgMの反応は陰性であった。(表3)

**PAKPLUS**

血小板グリコプロテイン, HLAクラスI抗原を固相したウェルを用いたELISA法であるGTI社のキット“PAKPLUS”のデータはIgGでは3施設, そのうち2施設でIgMのデータも提出された。IgGは2種類のロットのデータにも関わらず, 3施設の

表1 anti-PLT・オリビオ・MPHAIII反応スコア

Lab.	Lot	処 未		処 未		処 未		処 未		処理時間	感作時間	備考
		1801	1802	1803	1804							
18S007	51212	1	1	1	2	1	1	1	2	2h	2h	Lot.51212は抗HLA抗体との反応が悪い。
18S012-IgG	51212	1	2	1	8	1	6	1	8	1h	4h	
18S019-IgG	60209	0	2	0	8	0	8	0	1	2h	over night	
18S020	60209	1	6	1	8	1	6	1	2	2h	4h	
18S032	51212	1	1	1	8	1	6	1	8			
18S035-IgG	60209	1	6	1	8	1	8	1	8	4h	15h	
18S038	60420	1	6	1	8	1	2	1	6			
18S012-IgM	51212	2	2	1	1	1	1	2	2	1h	4h	

表2 anti-HPA・MPHA・パネル (Lot.60322) IgG反応スコア平均値・自家製パネルIgG反応スコア (18S032)

No.	HLA						処 未				HPA														
	A(1)	A(2)	B(1)	B(2)	Cw(1)	Cw(2)	1801	1802	1803	1804	Nak	1a	1b	2a	2b	3a	3b	4a	4b	5a	5b	6a	6b		
1	24	31	60	-	4	10	1	1	2.3	8	1	6	1	1	-	+	-	+	+	+	-	+	-	+	-
2	24	26	7	71	7	8	1	6.8	2.3	8	1	4	1	2	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-
3	1	26	37	44	6	-	1.3	8	1.5	8	1	1	1	2.6	+	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+
4	2	24	44	52	1	-	1	1	2.8	8	1	6	1.3	3.8	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+
5	31	33	58	62	4	10	1	5.2	4.5	8	1	1	2.3	2	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+
6	26	-	39	54	1	7	1.3	8	4.5	8	1	1	1.3	2.2	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+
7	11	31	35	60	3	-	1	4	2.5	7.2	1	2	5.8	8	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+
8	2	-	39	-	7	-	1	1	2.8	2	1	2	1.3	1	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+	+
1	24	33	61	44	NT	NT	1	1	1	1	1	1	1	1		+	-	+	-	+	+	+	-	+	+
2	24	-	52	35	NT	NT	1	1	2	6	1	1	1	6		+	-	+	-	+	-	+	-	+	+
3	24	11	7	39	NT	NT	1	1	1	8	1	1	6	6		+	-	+	-	+	+	+	-	+	-
4	24	-	52	61	NT	NT	1	1	1	1	1	1	1	1		+	-	+	-	+	+	+	-	+	+
5	31	11	52	60	NT	NT	1	1	1	6	1	1	6	6		+	-	+	+	+	-	+	-	+	-
6	24	33	7	44	NT	NT	1	1	1	1	1	1	1	6		+	-	+	-	+	+	+	-	+	-
7	24	-	54	48	NT	NT	1	1	1	1	1	1	1	6		+	-	+	+	+	+	+	-	+	-
8	24	-	62	60	NT	NT	1	1	1	1	1	1	1	6		+	-	+	-	+	-	+	-	+	-

表3 anti-HPA・MPHA・パネル (Lot.60322) IgM 反応スコア (18S026)

No.	HLA						処 未				HPA													
	A(1)	A(2)	B(1)	B(2)	Cw(1)	Cw(2)	1801	1802	1803	1804	Nak	1a	1b	2a	2b	3a	3b	4a	4b	5a	5b	6a	6b	
1	24	31	60	-	4	10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	24	26	7	71	7	8	1	1	1	1	1	1	1	1	2	-	+	-	-	+	-	+	+	-
3	1	26	37	44	6	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	+	+	-	+	-	+	-	+	+
4	2	24	44	52	1	-	1	1	1	1	1	1	1	1	1	+	+	-	+	-	+	+	+	-
5	31	33	58	62	4	10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	+	+	-	+	-	+	+	-	-
6	26	-	39	54	1	7	1	2	1	1	1	1	1	1	1	+	+	-	+	-	+	-	+	+
7	11	31	35	60	3	-	1	1	1	1	1	1	1	2	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+
8	2	-	39	-	7	-	1	1	1	1	1	1	1	1	+	+	-	+	-	-	+	+	-	+

表4 PAKPLUS IgG 反応スコア

	IgG		GPIIb/IIIa		GPIa/IIa		GPIb/IX	GPIV	HLA Class I	結果
	Lab.	LotNo.	HPA-1a/1a HPA-3a/3a HPA-4a/	HPA-1b/1b HPA-3b/3b HPA-4a/	HPA-5b	HPA-5a				
1801	18S012	121405-PP	1	1	1	1	1	1	8	HLA Class I (+)
	18S017	121405-PP	0	0	0	0	0	0	6	HLA Class I抗体 陽性
	18S019	021606-PP	1	1	1	1	1	1	8	HLA Class I (+)
1802	18S012	121405-PP	1	1	1	1	1	1	8	HLA Class I (+)
	18S017	121405-PP	0	0	0	0	0	0	8	HLA Class I抗体 陽性
	18S019	021606-PP	1	1	1	1	1	1	8	HLA Class I (+)
1803	18S012	121405-PP	1	1	1	1	1	1	1	(-)
	18S017	121405-PP	0	0	0	0	0	0	1	HLA Class I抗体 陰性
	18S019	021606-PP	1	1	1	1	1	1	1	
1804	18S012	121405-PP	1	1	1	1	1	1	8	HLA Class I (+)
	18S017	121405-PP	0	0	0	0	0	0	8	HLA Class I抗体 陽性
	18S019	021606-PP	1	1	1	1	1	1	8	HLA Class I (+)

表5 PAKPLUS IgM 反応スコア

	IgM		GPIIb/IIIa		GPIa/IIa		GPIb/IX	GPIV	HLA Class I	結果
	Lab.	LotNo.	HPA-1a/1a HPA-3a/3a HPA-4a/	HPA-1b/1b HPA-3b/3b HPA-4a/	HPA-5b	HPA-5a				
1801	18S012	121405-PP	1	1	1	1	1	1	1	(-)
	18S017	121405-PP	1	1	1	1	1	1	1	HLA Class I抗体 陰性
1802	18S012	121405-PP	1	1	1	1	1	1	1	(-)
	18S017	121405-PP	1	1	1	1	1	1	1	HLA Class I抗体 陰性
1803	18S012	121405-PP	1	1	8	8	1	1	1	(-)
	18S017	121405-PP	1	1	8	8	1	1	1	HLA Class I抗体 陰性 GPIa/IIaに対する反応あり 確認要
1804	18S012	121405-PP	6	1	1	1	6	6	8	HLA Class I (+) +?
	18S017	121405-PP	1	1	1	1	1	6	8	HLA Class I抗体 陽性 GPIVに対する反応あり 確認要

OD 値が近似値であり、HLA クラス I のウェルでは SH1801, 1802, 1804 が陽性と判定された。(表4) しかし、IgM では、同ロットの2施設間で OD 値の一致は見られず、SH1803, 1804 のグリコプロテインや HLA クラス I 抗原のウェルで陽性反応が

見られた。(表5) 今回のデータでは PAKPLUS の IgG は安定した値が得られたが、IgM に関しては、SH1803, 1804 がグリコプロテインに対する抗体を含むか否かは不明ではあるが、他の検査法と併用して確認することが必要と思われる。

# 第10回 HLAQC ワークショップ(抗体部門) —検査方法別解析 (FlowPRA 法)—

橋本志歩(日本赤十字社中央血液研究所), 日本組織適合性学会  
組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#: 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員: 木村彰方<sup>1,2)</sup>, 赤座達也<sup>10)</sup>, 太田正穂<sup>3)</sup>, 柏瀬貢一<sup>4)</sup>, 小林賢<sup>5)</sup>, 酒巻建夫<sup>6)</sup>, 佐田正晴<sup>7)</sup>, 田中秀則<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>8)</sup>, 成瀬妙子<sup>9)</sup>, 丸屋悦子<sup>10)</sup>, 安波道郎<sup>2,11)</sup> (所属: <sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, <sup>2)</sup>東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室, <sup>3)</sup>信州大学医学部法医学, <sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部, <sup>5)</sup>日本薬科大学生物学, <sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, <sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所, <sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部, <sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系, <sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所, <sup>11)</sup>長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

## 1. はじめに

今回, FlowPRA 実施施設は 24 施設であり, その内 2 施設が Specific を, 7 施設が Single Antigen を共に行った. FlowPRA はパネル形態別に Screening, Specific, Single Antigen の 3 種類があり, 判定方法は Screening と Specific / Single Antigen で大きく異なる. そこで, Screening は陽性方向にシフトしたビーズの割合(以下陽性率)に関して施設毎の違いを中心に, また, Specific / Single Antigen は各施設におけるゲートの設定方法を中心に解析を行った.

## 2. Screening test (表 1)

抗体の有無の判定はほぼ一致していたが, 判定の基準である陽性率は各施設間において大きな差が見られた. 差を生み出す要因として, ① カットオフ, ② 測定機器の設定, ③ 測定機種, が考えられる.

① カットオフをどの位置に持っていくかには, 二通りの方法がある. 一つは測定時使用した陰性血清のヒストグラムを基に設定する方法と, 一つはサンプル毎にヒストグラムの形から決めていく方法である. 今回の結果では後者に比べて前者の方が陽性率を低く示す傾向にあった.

また, 陰性血清のヒストグラムを基にカットオフを設定する場合は, 陰性血清のバックグラウンドの影響を受ける. 今回の参加施設の内, 3 施設が自家製の陰性血清を使用し, 残る 21 施設が市販のものを

使用していた. 自家製の陰性血清を使用した場合, 市販の製品を使用した場合と比べて, 陽性率は低い値を示していた. 自家製の陰性血清の選択には, 血清自身のバックグラウンドを考慮に入れる必要がある.

② 測定機器の設定を行う場合, 陰性血清と陽性血清を使用する. 自家製の陰性血清を使用する際, バックグラウンドが高い陰性血清を用いた場合には, サンプルによってはヒストグラムの全貌が現れてこない場合がある. SH1803 血清のクラス I (IgG) において陰性と判定している回答は, このことが関係しており, ヒストグラムの全貌が見えておらず, 正確に測定されていなかったと思われる.

③ 測定機種は二つに大別され, 14 施設がベクソンデッキンソンを, 10 施設がベックマンコールターを使用していた. 今回の結果から, 測定機器の違いは陽性率に影響を及ぼしていなかった.

## 3. Specific / Single Antigen

この二法の測定プログラム・判定方法は同様である為, 参加施設の多かった Single Antigen のデータを使用して解析を行った.

判定方法は, サイトグラムと結果から, 陰性血清と反応させたビーズの位置を基に 1~9 のビーズを個々に比較する方法と, まとめてリージョンを設定し判定する方法の二通りがあった. (表 2) それぞれの判定方法で判定結果はほぼ一致しており, ビーズ

表1 施設別陽性率

施設No.	自家製 陰性血清	測定機器	Class I				Class II			
			SH1801	SH1802	SH1803	SH1804	SH1801	SH1802	SH1803	SH1804
18S002	○	◇	53.8	72.5	5.5	18	13.1	54.8	70.4	0.2
18S003		☆	67.6	92.8	51.6	26.6	53.2	78.2	94.2	1.2
18S004	○	◇	60.6	83.3	37	38.6	26.58	37.43	76.57	0.44
18S007		◇	74.2	96.1	50.1	49.7	60.08	92.15	98.65	33.92
18S008		☆	53.6	82.8	35.8	32.6	50.3	76.25	96.14	1.64
18S012		☆	66.6	92.2	45.9	51.9	55.8	70.3	81.7	0.5
18S013		☆	68.1	87	57.7	33.4	41.1	51	95.7	0.82
18S015		☆	36.2	80.8	26.2	27.3				
18S016		◇	61	78	26	41	33	28	87	0.2
18S019		◇	60.1	94.9	42.2	39.6	50.85	72.97	94.55	0.37
18S020		◇	61.9	95.8	41.1	44.4	46.1	40	87.9	0.7
18S021	○	☆	38.3	89	13.6	21.2	15.8	49.9	71.7	0.81
18S022		◇	69	92.8	44.3	36.8	45.66	52.77	60.73	3.56
18S024		◇	60.2	89.5	30.7	35.9	21.17	52.16	85.61	0.39
18S026		◇	63.1	87.6	38.4	43.1				
18S028		◇	75.4	96.3	39.7	45.9	52.1	72	94.2	0.8
18S030		◇	57	92.2	30	33.2				
18S031		☆	65.5	92.6	27.6	43.4	15.6	62.8	29.4	0.5
18S033		☆	73	95	51	41	61	91	99	2
18S038		☆	64	87.2	30	39.8				
18S039		☆	59	93.4	28.3	36.3	44.2	76.1	92.7	1.6
18S042		◇	71.2	95.8	49.5	32.5	38.63	62.68	90.22	0.34
18S044		☆	60	90.8	20.3	28.6	50.7	69.6	93.2	1.3

☆ ベックマンコールター  
◇ ベクトンディキンソン  
----- <平均+SD  
----- >平均+SD

表2 各施設のリージョン設定方法—Single Antigen—

判定方法			ピース毎のN.C.との比較				リージョンとの比較	
グループ	パネル	スコア	18S003	スコア	18S019	スコア	18S022	
3	1 B*5101	1		1		1		
	2 B*1301	1		1		1		
	3 B*1801	4		4		1		
	4 B*3501	4		2		1		
	5 B*1501	1		2		1		
	6 B*4501	8		4		1		
	7 B*4001	4		2		1		
	8 Control	1		1		1		
	9 B*4402	1		1		1		

● リージョンの掛け方は同じでも判定が食い違っている

を個々に比較判定している方がより多く抗体の特異性を挙げていた。(表3) また, LCT・AHG-LCT法

で検出出来ている抗体特異性を, 後者の判定方法では検出できていない例があった。

表 3 FlowPRA Single Antigen の抗体特異性

SH1801	A1 A10 A11 A33 A36 A43 A68 A80 A3 A29 A69 B16 B18 B35 B45 B47 B48 B52 B54 B60 B63 B76 Cw6 Cw8 Cw2 Cw4 Cw5 Cw12
SH1802	A9 A10 A11 A32 A36 A43 A68 A80 A1 A33 A69 B5 B7 B13 B17 B18 B22 B27 B35 B37 B38 B42 B44 B47 B49 B53 B59 B63 B67 B77 B78 B82 B39 B71 B73 B81 Cw4 Cw5 Cw6
SH1803	A9 A2 A25 A32 A33 A68 A80 B7 B27 B60 B13 B18 B45 B47 B48 B61 B81 Cw2 Cw5 Cw17
SH1804	A25 A26 A66 A68 B5 B18 B35 B37 B53 B54 B58 B78 B21 B54 B56 B63 B65 B71 Cw5 Cw6

太 字 : ピーズ個々の移動をN.C.の位置と比較している施設のみ陽性としている抗体特異性  
二重下線 : LCT・AHG-LCTで陽性判定

#### 4. まとめ

判定に一番作用しているのは、ヒストグラムおよびサイトグラムの読み方の違いであることが分かった。カットオフの位置をどこに設定するか、裏付け

を見つけ各施設で共通の基準を決めなければならない。今回、判定の相違に関して、測定機器の機種の違いは否定された。測定機器の設定に関しては各施設において各々熟知する必要がある。

## 第 10 回 HLAQC ワークショップ(抗体部門) —方法論別検討 (LABscreen 法)—

丸屋悦子, 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#: 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員: 木村彰方<sup>1,2)</sup>, 赤座達也<sup>10)</sup>, 太田正穂<sup>3)</sup>, 柏瀬貢一<sup>4)</sup>, 小林賢<sup>5)</sup>, 酒巻建夫<sup>6)</sup>, 佐田正晴<sup>7)</sup>, 田中秀則<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>8)</sup>, 成瀬妙子<sup>9)</sup>, 丸屋悦子<sup>10)</sup>, 安波道郎<sup>2,11)</sup> (所属: <sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, <sup>2)</sup>東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室, <sup>3)</sup>信州大学医学部法医学, <sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部, <sup>5)</sup>日本薬科大学生物学, <sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, <sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所, <sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部, <sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系, <sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所, <sup>11)</sup>長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

#### 1. はじめに

蛍光ビーズ法 (Luminex 法) は一度に 100 種類を分別可能なビーズアレイを用い、HLA 抗原をコートしたビーズを用いた蛍光抗体法による HLA 抗体の検索や同定システムである。

迅速・簡便であるが、コストパフォーマンスについてはまだ問題が残る。HLA 抗体ワークショップの提出血清 4 種 (1801, 1802, 1803, 1804) について、10 の参加施設が Luminex 法による抗体検査・解析をおこなった。抗体解析用キットには LABscreen

mix (抗体検索用), LABscreen PRA (抗体検索と中程度の同定), LABscreen Single (抗体同定)があり, 各施設の使用キットとロットおよび使用2次抗体の種類を以下に示す。

Kit	Class	Lot	2次Ab	Lab.	Lab.	Lab.	Lab.
Mix	I & II	#10	IgG	18S011	18S012	18S03	
Mix	I & II	#11	IgG	18S033			
PRA	I	#9	IgG	18S005	18S012	18S02	18S04
PRA	I	#10	IgG	18S014	18S033	18S03	
PRA	II	#9	IgG	18S005	18S012	18S03	18S04
PRA	II	#10	IgG	18S014			
PRA	I	#9	IgG&M	18S008			
PRA	II	#9	IgG&M	18S008			
Single	I	#4	IgG	18S012			
Single	I	#5	IgG	18S005	18S011	18S04	
Single	I	#6	IgG	18S033	18S038		
Single	II	#2	IgG	18S005	18S011	18S01	
Single	II	#3	IgG	18S033	18S042		
Single	I	#6	IgG&M	18S008			
Single	I	#3	IgG	18S012			
Single	I	#5	IgG	18S005	18S011	18S04	
Single	I	#6	IgG	18S033			
Single	I	#6	IgG&M	18S008			
Single	I	#5	IgG	18S012			
Single	I	#6	IgG	18S005	18S033		
Mix	I & II	#10	IgM	18S012			
PRA	I	#9	IgM	18S012			
Single	I	#4	IgM	18S012			
Single	II	#2	IgM	18S012			
Single	I	#3	IgM	18S012			
Single	I	#5	IgM	18S012			

2. 抗体スクリーニングについての評価

- IgG 抗体について(参加全施設が回答)  
HLA-class I 抗体: 全血清について, 抗体有無の評価は全施設の結果は一致していた(一致率 = 100%)。  
HLA-class II 抗体: 1804 以外の血清について, 一致率 100% (1804 は 1 施設判定保留)であった。
- IgM 抗体について(2 施設が回答)  
HLA-class I 抗体: 一致率が 50% の血清が 3 種と大半をしめ使用 2 次抗体にも問題がありそうである。

提出血清番号

抗体の種類	2次抗体	1801	1802	1803	1804
HLA-class I	IgG	8	8	8	8
HLA-class II	IgG	8	8	8	1
HLA-class I	IgM	8	8/1	8/4	8/1
HLA-class II	IgM	1/4	4/1	4	1

8 = 陽性(有) 4 = 保留 1 = 陰性(無)

HLA-class II 抗体: 一致率が 50% の血清が 2 種 (50%)。

3. 抗体同定結果

抗体の同定をおこなった 9 施設について, 全血清についての比較データは紙面上の余裕がないため, 1 種の血清を代表として報告する。表 1 に HLA-class I 抗体特異性同定結果の比較と同一 LOT での蛍光値の比較を示す。表 2 に HLA-class II 抗体について示す。HLA-class I と class II 抗体ともに, 同一の抗原特異性を陽性と判定する施設と陰性と判定する施設があり, その判定の基準が蛍光値を基準にしたものではない施設が多く見られた。他の血清についても同様の現象が見られた(個々のデータはワークシヨップデータを参照)。

4. まとめ

今回の結果から HLA 抗体検索・同定キットである LABscreen kit について次のことが分かった。

- Cut off 値の統一が必要
- Kit 試薬の Lot による感度差がある
- Kit 化されていない 2 次抗体の感度差がある

次回 QCW の課題は Luminex 法による HLA 抗体検索・同定について, LABscreen kit の判定基準設定法の検討と考えられる。



# 第10回 HLAQC ワークショップ(抗体部門)

## —方法論別検討 (LAT・LIFT 法)—

中島文明, 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#: 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員: 木村彰方<sup>1,2)</sup>, 赤座達也<sup>10)</sup>, 太田正穂<sup>3)</sup>, 柏瀬貢一<sup>4)</sup>, 小林賢<sup>5)</sup>, 酒巻建夫<sup>6)</sup>, 佐田正晴<sup>7)</sup>, 田中秀則<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>8)</sup>, 成瀬妙子<sup>9)</sup>, 丸屋悦子<sup>10)</sup>, 安波道郎<sup>2,11)</sup> (所属: <sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, <sup>2)</sup>東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究所ゲノム多様性研究室, <sup>3)</sup>信州大学医学部法医学, <sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部, <sup>5)</sup>日本薬科大学生物学, <sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, <sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所, <sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部, <sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系, <sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所, <sup>11)</sup>長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

### 1. LAT

LAT はプレートを用い精製抗原を固相した ELISA 法であり, FlowPRA や LABScreen と同じく, スクリーニング用, 抗体特異性同定用, Single antigen type (クラス I のみ) が揃っている. 市販精製抗原試薬の中で, 最も簡便に操作できる方法といえる.

今回, LAT は 4 施設が使用しており, 3 施設がスクリーニング用(2 施設はクラス I のみ), 1 施設(クラス I と II) が抗体特異性同定用を使用した.

サンプル SH1803 のクラス I 抗体において, スクリーニング用 3 施設のうち 2 施設は測定スコア「2」で判定は「抗体無」, 1 施設は測定スコア「6」であるが判定結果が未記入であった. 同じく同定用を使用した施設は「抗体有」と判定した. サンプル

SH1804 のクラス II 抗体は, 実施した 2 施設とも「抗体無」と判定した. その他のサンプルについてはすべて検出できていた. 二次抗体はすべて IgG で, IgM の検討はなかった. (表 1)

特異性解析は 1 施設のみで, パネル数と内容が十分でないため, 確実な結果に至っていない. この施設はサンプルの希釈倍率 3 倍のところ 4 倍で操作していた. (表 2)

SH1803 の結果から, 検出感度は FlowPRA や LABScreen より低いといえる. 同じ精製抗原試薬でありながらこのような差が生じる原因は, テラサキ・プレート上の操作のため, 洗浄操作が確実に行えない点が考えられる. 温度管理も問題がありそうである.

表 1 LAT の抗体検出率

No.	Lab ID	分類	Cat code	Lot No.	2次抗体	希釈率	測定法	HLAクラス I 抗体				HLAクラス II 抗体			
								SH1801	SH1802	SH1803	SH1804	SH1801	SH1802	SH1803	SH1804
1	18S002	LAT-Mix	LATM120	#009	FITCIgG	2倍	目視	有	有	無	有				
2	18S037		LAT M10X5	009	IgG	1:2	機器	8	8	1	8	8	8	8	1
3	18S040		LATM120	9		2倍	目視	未記入							
4	18S016	LAT (Specifc)	1240	2	抗IgG	4	目視	有	有	有	有	有	有	有	無
抗体有								3	3	1	3	2	2	2	0
抗体無								0	0	2	0	0	0	0	2
陽性率								##	##	##	##	##	##	##	0%

2. LIFT

LIFTはフローサイトメーターを用い、モノクローナル抗体で目的細胞に絞り込み、リンパ球抗原とサンプル抗体の反応を蛍光標識二次抗体で検出する方法である。パネル細胞を用意する必要があるが、市販試薬と違って交差試験が可能である。

2施設がLIFTで参加しており、測定領域はクラスIのみである。二次抗体は1施設はIgG、もう1施設はIgGとIgMのミックスを使用した。サンプルSH1803のクラスI抗体は感度が低い方法では検出困難であるが、LIFTでは2施設とも検出でき

ていた。また、抗体特異性もFlowPRAやLAB-Screenに近い感度で検出できていた。ただし、抗原パターンとの関係でCローカス抗体特異性は認められていない。(表3,4)

LIFTは生体材料を抗原としているため、精製抗原試薬より生体内反応に近い状態で測定できていると考えられる。その感度もLCT法などの生体材料の方法より高く、データも数字で残せるので信頼性がある。ただし、LCT法などと比べ、操作方法が施設により一定していない。施設間の精度管理が必要となる方法の一つといえる。

表2 LATで検出した抗体特異性

判定スコアで反応が確定されたとされる抗原	
SH1801	クラスI A25 A34 B59 B62 B18 Cw16
	クラスII DR14 DQ8
SH1802	クラスI A25 A66 B58 B59 B18 B42 Cw16
	クラスII DR8 DR14
SH1803	クラスI B7 B48
	クラスII DR1 DR4 DR7 DR9 DR10 DR14 DR16 DR18 DQ4 DQ8 DQ9
SH1804	クラスI A26 A25 B35 B51 B58 B18
	クラスII -

表3 LIFTの抗体検出率

No.	Lab ID	2次抗体の品名&メ-カ-	標識抗体の品名&メ-カ-	Negative Control Serum	測定機器	細胞	HLAクラスI抗体			
							SH1801	SH1802	SH1803	SH1804
1	18S021		Jackson Immuno Research	自家	EPIX-XL	生細胞 (20パネル)	有	有	有	有
2	18S035	IgG: ベックマンコールター IgM: KPL	CD3-PC5 CD19-PE:ベックマンコールター	自家製	BD FACSCalibur	生細胞 (73パネル)	有	有	有	有
抗体有							2	2	2	2
抗体無							0	0	0	0
陽性率							## ##	## ##	## ##	## ##

表4 LIFTで検出した抗体特異性

判定スコアで反応が確定されたとされる抗原								
SH1801	クラスI	A11	A26	A1	A31	A33		
SH1802	クラスI	A11	A26	B51	B52	B59	A24	B35
SH1803	クラスI	A24	B60	B61				
SH1804	クラスI	B35	B51	B52	B37	B58		