

MHC

日本組織適合性学会誌

Major Histocompatibility Complex

Vol. 18 No. 1, 2011

Contents

日本組織適合性学会からのお知らせ	
追悼文 柏木登先生を偲んで	1
第 20 回 日本組織適合性学会大会のご案内	4
認定制度委員会試験問題検討部会からのお詫びと訂正	8
平成 23 年度 認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ	9
日本組織適合性学会 技術認定制度委員会 QCWS 部会名簿 (2011 年)	10
第 14 回 HLA-QC ワークショップレポート	
—全体経過およびサンプルの総合結果—	田中秀則, 中島文明, QCWS 部会 11
—検査法別解析: DNA タイピング: Luminex 法—	石井博之 14
—検査法別解析: DNA タイピング: SBT 法—	吉川枝里 16
—検査法別解析: DNA タイピング: SSO, SSP 法—	橋口裕樹 17
—検査法別解析: 抗体検査: FlowPRA 法—	佐藤 壯 20
—検査法別解析: 抗体検査: LIFT 法および FCXM の検査状況の解析—	宮崎 孔 22
—検査法別解析: LABScreen による抗体解析—	高 陽淑 23
—検査法別解析: 抗体検査: WAKFlow & ICFA 法—	関根みゆき 25
—部門別解析: DNA-QC および結果評価—	田中秀則 27
—部門別解析: 抗体 QC および結果評価—	中島文明 29
〔シリーズ: 各臓器移植についての拒絶反応の解説・移植の新しい治療法の紹介〕	
第 4 回	
移植における液性免疫制御の重要性と HLA 血清学	
—直接クロスマッチから HLA タイプ&スクリーンへ—	佐治博夫 31
第 9 回日本組織適合性学会近畿地方会 抄録集	47
日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定	75
編集後記	78

● Contents ●

日本組織適合性学会誌 第 18 巻第 1 号 平成 23 年 4 月 30 日発行

日本組織適合性学会からのお知らせ

追悼文 柏木登先生を偲んで.....	1
第 20 回 日本組織適合性学会大会のご案内.....	4
認定制度委員会試験問題検討部会からのお詫びと訂正.....	8
平成 23 年度 認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ.....	9
日本組織適合性学会 技術認定制度委員会 QCWS 部会名簿 (2011 年).....	10

第 14 回 HLA-QC ワークショップレポート

—全体経過およびサンプルの総合結果—.....	田中秀則, 中島文明, QCWS 部会	11
—検査法別解析: DNA タイピング: Luminex 法—.....	石井博之	14
—検査法別解析: DNA タイピング: SBT 法—.....	吉川枝里	16
—検査法別解析: DNA タイピング: SSO, SSP 法—.....	橋口裕樹	17
—検査法別解析: 抗体検査: FlowPRA 法—.....	佐藤 壯	20
—検査法別解析: 抗体検査: LIFT 法および FCXM の検査状況の解析—.....	宮崎 孔	22
—検査法別解析: LABScreen による抗体解析—.....	高 陽淑	23
—検査法別解析: 抗体検査: WAKFlow & ICFA 法—.....	関根みゆき	25
—部門別解析: DNA-QC および結果評価—.....	田中秀則	27
—部門別解析: 抗体 QC および結果評価—.....	中島文明	29

[シリーズ: 各臓器移植についての拒絶反応の解説・移植の新しい治療法の紹介]

第 4 回

移植における液性免疫制御の重要性と HLA 血清学

—直接クロスマッチから HLA タイプ&スクリーンへ—.....	佐治博夫	31
----------------------------------	------	----

第 9 回日本組織適合性学会近畿地方会 抄録集.....	47
------------------------------	----

日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定.....	75
--------------------------	----

編集後記.....	78
-----------	----

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

JSHI

日本組織適合性学会誌 MHC 編集委員会

編集委員長

高原 史郎 大阪大学大学院医学系研究科先端移植基盤医療学

編集委員

赤座 達也 特定非営利活動法人 HLA 研究所
一戸 辰夫 京都大学医学部付属病院血液腫瘍内科
江川 裕人 東京女子医科大学消化器病センター外科
木村 彰方 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野
佐治 博夫 特定非営利活動法人 HLA 研究所
佐田 正晴 国立循環器病センター研究所再生医療部移植外科
下嶋 典子 奈良県立医科大学細菌学教室
椿 和央 近畿大学医学部奈良病院血液免疫内科
成瀬 妙子 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野
難波 行臣 桜橋医誠会クリニック

編集協力者

安藤 麻子 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学
石川 善英 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所研究開発部
石谷 昭子 奈良県立医科大学法医学教室
猪子 英俊 東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門
太田 正穂 信州大学医学部法医学教室
大谷 文雄 北里大学医学部免疫学講座
小河原 悟 福岡大学病院腎臓・膠原病内科
小幡 文弥 北里大学医療衛生学部免疫学
柏瀬 貢一 東京都赤十字血液センター検査部
小林 賢 日本薬科大学 生物学研究室
酒巻 建夫 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室
杉谷 篤 藤田保健衛生大学医学部臓器移植再生医学講座
千住 覚 熊本大学大学院医学薬学研究部免疫識別学分野
田中 秀則 東京都赤十字血液センター検査部
田邊 一成 東京女子医科大学泌尿器科
徳永 勝士 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野
中島 文明 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部
永尾 暢夫 神戸常盤短期大学衛生技術科
西村 泰治 熊本大学大学院医学薬学研究部免疫識別学講座
平山 謙二 長崎大学熱帯医学研究所環境医学部門疾病生態分野
森島 泰雄 愛知県がんセンター中央病院
安波 道郎 長崎大学熱帯医学研究所国際連携研究戦略本部
屋部登志雄 東京都赤十字血液センター製剤部

柏木登先生を偲んで



日本組織適合性学会の発足にご尽力され、第1回本学会大会の大会長を務められました柏木登先生（北里大学名誉教授）は、ご病気療養中でしたが、2010年3月29日に永眠されました。

柏木先生は、千葉大学医学部をご卒業後、同第二外科を経て、1966年から9年間、アメリカ Colorado 大学で、臓器移植の先駆者である Dr. T. Starzl のもとで移植医療と研究に携わりました。この間、Drs. K. Ishizaka, G. Möller, H. Festenstein など世界中の多くの免疫学者と親交を深められました。1975年に帰国後、北里大学医学部教授として赴任されてからは、日本における移植医療を推進するための HLA 抗原系および新しい免疫抑制法の研究を展開されました。本学会の前身である日本組織適合性研究会においては、相沢幹、辻公美、笹月健彦各先生らと共に、日本における HLA 研究の創生期を担った研究者・指導者の1人として活躍されました。

1987年の10th International Histocompatibility Workshop and Conference (IHWC) で、次回の11th IHWCを1991年に日本で開催することが決定されたのを契機として、日本組織適合性研究会は一回り大きな学会組織となる必要性が認識されました。先生は、学会設立準備委員の1人として、IHWC開催に間に合わせるべく会則等の整備を進め、1991年の日本組織適合性学会の発足に大きな貢献を果たされました（初代会長：相沢幹先生）。1992年7月には、柏木登大会長のもと、第1回日本組織適合性学会大会が東京で成功裏に開催され、今日に至る本学会の基礎が固まりました。その時の先生の回顧録が、学会ホームページに掲載されておりますのでご覧いただければ幸いです。

私は1978年から柏木研究室に所属し、HLA 遺伝子の解析と DNA タイピングの確立に携わりました。また、移植免疫を理解するためには、HLA 抗原を認識する T 細胞側の研究も必須であるとの先生のご指導で、移植に関わる T 細胞レセプターの研究も行いました。11th IHWC では、先生との co-chairman で T cell component を担当し、世界中の研究者と一緒にアロ反応性 T 細胞レセプターの多様性を解析しました。今でも、11th IHWC の舞台となった横浜パシフィコを訪れると、当時のことが鮮明に思い出されます。

柏木先生は、いろいろな雑務にも拘わらず、常に最先端の知識を得る努力を惜しまず、大学図書館を最も頻繁かつ夜遅くまで利用される教授でした。時折、未知の問題に対するご自分の考えを披露され、我々教員に意見を求めることがありました。我々が満足な知識と考えを持っていないことがわかると、寂しそうな微笑を浮かべ

ていたことが思い出されます。また、昼食を一緒にとった際には、先生はやおら食堂のナプキンにT細胞やB細胞の図を書き、延々ディスカッションしたこともありました。さらに先生は、我々がなんとなく使用している各種統計計算の意味や、細胞表面積と蛍光強度との関係を数式で解説されたり、T細胞レセプターの類似性を評価する独自のコンピュータアルゴリズムを考案されたりしたこともありました。このように柏木先生は、免疫学はもちろんのこと、研究に関連するあらゆる分野を妥協することなく理解され、さらには、教授室に並んでいた多くの和・洋書から推察されましたように、およそ生物学全般に対するあくなき探求心を持たれていました。その姿勢は、退任後も全く変わることはなく、2年前に体調をくずされた後も、依頼原稿を仕上げるために精力的に資料を分析しておられたお姿が目には浮かびます。

柏木先生は、ご家族との長い海外生活中、また帰国後も、超多忙ななかを奥様と3人のご子息をととても大切にされておられました。5年前に先立たれました奥様に残された時間が少ないとわかった時、先生がおっしゃった言葉が忘れられません。「実は最近、料理の勉強を始めたんです。これからは妻に精一杯つくして恩返ししますよ。」今頃は天国でお二人幸せにお過ごしのことでしょう。心よりご冥福をお祈り申し上げます。

平成 22 年 8 月 31 日
北里大学医療衛生学部免疫学 小幡文弥

お詫び

「柏木登先生を偲んで」追悼文を小幡文弥先生にご執筆頂きましたことをお礼申し上げますとともに、編集委員会の不手際により掲載が遅くなりましたこと、小幡先生をはじめ会員の皆様方に心よりお詫び申し上げます。

MHC 編集委員会委員長 高原 史郎

第 20 回 日本組織適合性学会大会のご案内

第 20 回日本組織適合性学会大会

大会長 五條堀 孝

(国立遺伝学研究所 生命情報・DDBJ 研究センター)

皆様におかれましては益々ご清祥のこととお慶び申し上げます。

まずは今回の東北関東震災で犠牲になられた方々に哀悼の意を表すとともに、被災された方々には心よりお見舞い申し上げます。

この震災の影響で、東京電力管内の電力不足を受けた「計画停電」が実施されております。

当初、第 20 回日本組織適合性学会大会開催予定地でありました三島市民会館も、その対象となっており、原則的に 4 月で計画停電を打ち切る方向で検討されていることが発表されましたが、大会実行に万全を期すということで、同じ静岡県内でも、中部電力管内で、こたまだけでなくひかりも頻繁に停まり、三島市から新幹線ではさほど遠くない静岡市に開催地を変更することが決定致しました。

本大会は「集団内多様性や進化」をテーマとして、MHC 研究の基礎から臨床まで多様な視点から最新の成果を取り上げたいと考えていますので、組織適合性の基礎・臨床に関わる多数の方々の演題のご応募とご参加をお待ちしております。

開催場所の詳細は、決定し次第、ホームページにて掲載させていただきます。何卒、ご理解、ご了承の程、よろしくお願い申し上げます。

会 期： 平成 23 年 8 月 28 日 (日)～30 日 (火)

会 場： 静岡県静岡市 (会場未定)

[大会ホームページ]

<http://www.aeplan.co.jp/hla2011/>

[大会内容 (予定)]

◆ 8 月 28 日 (日)

1. 教育講演 (HLA 技術者研修会)
2. QCWS 部会
3. QCWS 集会
4. 認定制度試験
5. 認定制度委員会

◆ 8 月 29 日 (月)

1. シンポジウム I MHC からみた種内多様性と進化
2. シンポジウム II ゲノム科学から切り拓く新時代のライフサイエンス
3. 学術奨励賞および一般口演
4. ポスターセッション
5. 懇親会

◆ 8 月 30 日 (火)

1. シンポジウム III HLA と創薬
2. シンポジウム IV MHC を見据えた臨床医学

[海外招待講演者 (予定)]

- ・ Luca Cavalli-Sforza (交渉中)
Morrison Institute for Population and Resource Studies Herrin Labs, Room 467
Stanford University
- ・ Silvana Gaudieri (交渉中)
School of Anatomy and Human Biology and Centre for Forensic Science
University of Western Australia
- ・ Paul Teraseki
University of California, Los Angeles
- ・ Dominique Charron (交渉中)
Centre Hospitalier, Universitaire Saint-Louis

[事前参加登録]

事前参加登録は大会ホームページ (<http://www.aeplan.co.jp/hla2011/>) にて申込み可能です。
事前参加登録をされる方は、2011年7月28日(木)までに事前参加登録をお願いいたします。

[参加費]

●事前参加費 (2010年8月12日まで)		●当日参加費	
◆理事・評議委員・非会員	¥10,000	◆理事・評議委員・非会員	¥12,000
◆会員	¥8,000	◆会員	¥10,000
◆学生	¥5,000	◆学生	¥6,000

[一般演題募集要項]

1. 発表形式

口頭またはポスターでの発表です。

発表形式(口頭またはポスター)の決定に関しましては、プログラム委員会に一任下さい。

2. 応募資格

筆頭演者は本学会員である事が必要です。

非学会員の方は、日本組織適合性学会ホームページ (<http://jshi.umin.ac.jp/index.html>) から入会手続きを行って下さい。

3. 申込方法

1) 演題のお申込みの前に事前参加登録をお願いいたします。

- ・事前参加登録を完了させますと、事前参加登録の確認メールが届きます。その確認メールに事前参加受理番号が記載されます。この番号が演題申込みの際に必要となります。

2) 演題の申込みは、E-Mailのみでお受けいたします。

- ・E-Mailの件名は「20JSHI 一般演題」として下さい。
- ・①演題申込書、②要旨の2つのファイルを添付して、20jshi@aeplan.co.jp宛にお送り下さい。

3) 演題申込書ファイルの作成

- ・第20回日本組織適合性学会大会ホームページ (<http://www.aeplan.co.jp/hla2011/>) から「演題申込書」をダウンロードし、必須項目(事前参加受理番号、演題カテゴリー番号、演題名、演者、所属、代表者の連絡先住所、電話番号、Fax、E-Mail)をご記載下さい。

- ・ファイル名は「応募者演題申込書.xls」として下さい。(例 五條堀孝演題申込書.xls)
- ・演題カテゴリーは、下記のカテゴリーよりお選び下さい。(それぞれ基礎および臨床を含みます。)

演題カテゴリー

- | | |
|------------|------------|
| 1. 臓器移植 | 6. 免疫 |
| 2. 造血幹細胞移植 | 7. 技術・方法 |
| 3. 細胞・組織移植 | 8. 疫学・統計解析 |
| 4. 再生医療 | 9. 動物 MHC |
| 5. 疾患 | 10. その他 |

4) 要旨形式

- ・要旨は、Microsoft Office の Word 形式の 2003 以上で保存し、ファイル名は、「応募者抄録.doc」として下さい。(例 五條堀孝抄録.doc)
- ・下記の記載例をご参照の上、「演題名、演者、所属、本文」の順に記載して下さい。
 - ⇒演者は、発表者に○印を付けて下さい。また、各縁者の後に上付き文字で所属番号を入れて下さい。
 - ⇒所属の正式名称が長い場合は、省略所属名で記載して下さい。
 - ⇒本文は、MS 明朝 11 ポイントで作成して下さい。800 文字以内を厳守し、【目的】・【方法】・【結果・考察】などに分類して下さい。英数字は半角を使用し、2 文字で 1 字とカウントして下さい。

※要旨記載例

大会ホームページ (<http://www.aeplan.co.jp/hla2011/>) の「演題申込」のページの「要旨記載例」を参考に作成をお願いします。

(ご注意)

申込者ご本人が入力したデータをそのまま抄録集に使用しますので、タイプミス等あっても、そのまま印刷されます。ご注意下さい。

また、要旨の修正は、締切日以降に受付することも出来ませんので、ご注意下さい。

4. 演題申込締切

2011 年 5 月 19 日 (木) 必着

5. 採択通知

演題をお申込いただいたのち、確認のメールをお送りいたします。もしも、演題お申込確認メールが届かない場合は、運営事務局 (20jshi@aeplan.co.jp) まで、ご連絡下さい。採択に関しましては、2011 年 8 月上旬に演題発表形式 (講演 / ポスター) および発表日時を記載しました採択通知を E-Mail にて連絡代表者へ通知いたします。

[懇親会]

日 時: 2011 年 8 月 29 日 (月) 19:00~ (予定)

会 場: 静岡県静岡市 (会場未定)

参加費: 一般 ¥5,000 学生 ¥3,000

[宿泊・交通のご案内]

本大会の宿泊・交通に関しましては、各自でご手配をお願いします。

[2011 年度学術奨励賞]

第 20 回日本組織適合性学会大会の一般演題に応募された中から、特に優秀と認められた演題の筆頭演者に学術奨励賞が授与されます。応募希望者は別途の手続きが必要です。詳細は日本組織適合性学会ホームページおよび MHC 誌 Vol. 17 No. 3 に記載されている「2011 年度学術奨励賞の募集について」をご参照下さい。

[大会事務局]

〒411-8540 静岡県三島市谷田 1111

国立遺伝学研究所 生命情報・DDBJ 研究センター 遺伝情報分析研究室

第 20 回 日本組織適合性学会大会 事務局

[運営事務局]

〒101-0051 東京都千代田区神田神保町 3-2-8

昭文館ビル 3F (株式会社エー・イー企画内)

第 20 回日本組織適合性学会大会

運営事務局 担当: 衛藤 匡

Tel: 03-3230-2744 FAX: 03-3230-2479

E-mail: 20jshi@aeplan.co.jp

認定制度委員会試験問題検討部会からのお詫びと訂正

平成 22 年度・認定 HLA 検査技術者試験問題の間 32 において、問題の表現に不備があり、解答の選択肢が 2 問生じたため、不適切問題とさせていただきます。

今後このようなことが無いように、尚一層注意深く検討し問題作成にあたりますので宜しくお願い致します。

問 32 臓器移植と HLA, ABO 血液型について誤りはどれか。

- a. 免疫抑制療法の進歩により、移植成績が向上し HLA 適合度の重要性は軽減している。
- b. HLA-A, B, DR ゼロミスマッチの生存予後は、ミスマッチ陽性に比して著しく良好である。
- c. 親族からの肝移植では、GVHD 防止のため、レシピエントの HLA ホモ接合体のチェックは必須である。
- d. 献腎移植では、ドナー、レシピエントの ABO 血液型を一致、または適合させる必要がある。
- e. ABO 型適合とは、ドナー O 型からレシピエント A, B または AB 型、ドナー A 型からレシピエント AB 型、ドナー B 型からレシピエント AB 型の組み合わせである。

本問題の正解は b としましたが、b に加え c も誤った記述であることから正解と致します。

すなわち、ドナーの HLA ホモ接合体は、GVHD ハイリスクであることから、肝臓移植や脳死肝移植の場合にはドナーがホモであるかどうかをチェックすることが望ましいとされています。

組織適合性技術者認定制度委員会試験問題検討部会

組織適合性検査技術者認定制度
平成 23 年度・認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ

組織適合性検査技術者認定制度委員会
委員長 田中 秀則
組織適合性検査技術者認定制度委員会教育部会
部会長 西村 泰治

日 時：平成 23 年 8 月 28 日（日曜日）10:00～12:00

会 場：第 20 回・日本組織適合性学会 大会会場

三島市民文化会館（ゆうゆうホール：静岡県三島市）

テキスト：テキストは講習会の約 1 ヶ月前に、学会ホームページ上に掲載します。会場でのテキストの販売は
いたしませんので、必要に応じて印刷し、ご持参下さい。

受講証明書：認定制度に関わる受講証明は、会場入口の受付にて受講者 1 人につき 1 枚を発行いたします。

内 容：各講習とも質疑応答を含めて、35 分を予定しています。講演の抄録につきましては、MHC Vol. 18,
No. 2 大会案内号（2011 年 8 月上旬発刊予定）に掲載いたします。

- (1) 非古典的 MHC クラス I 分子の多様な機能
笠原 正典（北海道大学 大学院医学研究科 分子病理学分野）
- (2) 臓器移植での HLA 検査の現状と問題点
橋口 裕樹（福岡赤十字病院 検査部 HLA 検査室）
- (3) iPS 細胞バンク構想における HLA タイピング
木村 貴文（京都大学 iPS 細胞研究所 規制科学部門）

この講習会は、今後 HLA 検査技術者認定を取得、あるいは更新しようとする者を対象に実施されます。従来
のように、事前に受講希望届けを提出し、事前登録していただく必要は、ございません。

なお本講習会は、第 20 回・日本組織適合性学会大会の教育講演を兼ねておりますので、大会参加者の方々に
は、自由に御聴講をいただけます。

日本組織適合性学会 技術認定制度委員会 QCWS 部会名簿 (2011 年)

担 当	氏 名	所 属
部 会 長:	田中秀則	日本赤十字社 中央血液研究所 中央骨髓データセンター
副 部 会 長:	中島文明	日本赤十字社 中央血液研究所 研究開発部
副 部 会 長:	成瀬妙子	東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子病態分野
・企画解析部門		
臓器移植分野:	佐藤 壯	札幌北楡病院 臨床検査課
造血幹移植分野:	森島泰雄	愛知県がんセンター中央病院・血液細胞療法部
輸血分野:	高 陽淑	大阪府赤十字血液センター
・試料管理部門		
DNA-QC 担当:	安波道郎	長崎大学 熱帯医学研究所
抗体-QC 担当:	中島文明	日本赤十字社 中央血液研究所 研究開発部
・部 会 員:		
	太田正穂	信州大学 医学部
	木村彰方	東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子病態分野
	佐田正晴	国立循環器病センター 再生医療部
	宮崎 孔	北海道血液センター 検査三課
	橋口裕樹	福岡赤十字病院
	山本 賢	国立循環器病センター 臨床検査部

事 務 局: 日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所内

第14回 HLA-QC ワークショップレポート

第14回 HLA-QC ワークショップレポート —全体経過およびサンプルの総合結果—

田中秀則, 中島文明 (日本赤十字社 血液事業本部 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 部会員: 田中秀則¹⁾, 太田正穂²⁾, 木村彰方³⁾, 高陽淑⁴⁾, 佐田正晴⁵⁾, 佐藤 壯⁶⁾, 中島文明¹⁾, 成瀬妙子³⁾, 橋口裕樹⁷⁾, 宮崎 孔⁸⁾, 森島泰雄⁹⁾, 安波道郎¹⁰⁾, 山本 賢¹¹⁾
(所属: ¹⁾日本赤十字社中央血液研究所, ²⁾信州大学医学部, ³⁾東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, ⁴⁾大阪府赤十字血液センター, ⁵⁾国立循環器病センター再生医療部, ⁶⁾札幌北榆病院臨床検査課, ⁷⁾福岡赤十字病院, ⁸⁾北海道赤十字血液センター, ⁹⁾愛知県がんセンター中央病院・血液細胞療法部, ¹⁰⁾長崎大学熱帯医学研究所, ¹¹⁾国立循環器病センター臨床検査部)

1. ワークショップの経過

平成22年2月から今年度の方針についてQCWS部会で討議を行い, DNA-QC及び抗体QCに用いる試料の選択を行った。また, 昨年度から行っている臨床部門別での解析を今年度も実施することとし, 参加申込の際に①輸血, ②臓器移植, ③造血幹細胞移植, ④その他(研究等)の4部門におけるQCWSの結果解析を行うこととした。

平成22年1月からQCWS開催及び参加申込みの案内を学会誌及びホームページ(以下, HP)に掲載し, 平成22年3月12日までに69施設(集会のみ参加を含む), 181名から参加申し込みがあった(平成21年度: 68施設, 172名)。4月7日に試料を, 4月20日に結果入力用シートをCDにて配布し, 結果提出締切りを5月28日とした。参加者との連絡及びデータ収集は, 各施設の連絡者を通じ, 電子メールで行った。

最終的に, 63施設(DNA-QC: 58施設, 抗体QC: 41施設)からデータ提出があり, 生データ及び取りまとめた結果を各解析担当者に送付し, 8月下旬まで解析を行った。解析結果は, 例年のどおり学会HP

に順次掲載し, 参加者が必要に応じてダウンロード出来る形式とした。

2. QCWSのテーマ及び試料選択について

DNA-QCのテーマを①正確なDNAタイピング出来ること, ②DNAタイピング結果が正しく表記されていること, ③DNAタイピング結果に対応したHLA抗原型を正確に読替えることの3点とした。また, 試料については, 前年度QCWS部会で協議した「日本人由来の細胞で, ある程度高頻度で見られるHLAアリルであること」, 「HLA-B*15及びB*40アリルを含む検体であること」の要件に合う細胞を4種類購入し抽出したDNAを配布することとした。

抗体QCのテーマは, 昨年同様, 通常検査で検出される抗体で①エピトープと許容抗原により正確な抗体特異性解析が行えること, ②非特異成分(反応)の排除が適切に行なえること, ③HLA-C座抗原に対する抗体特異性が検出可能であることとし, テーマに沿った4検体を選択し, 配布することとした。また, ①IgGとIgMのHLA抗体が含まれること, ②HLA以外にMIC抗体の特異性を含むことも試料選

択の要件とした。交差適合試験については、アンケート調査で細胞も準備して欲しいとの希望もあったが、対応が困難なため、配布検体の一部を使った任意参加によるデータ収集を行い、クロスマッチ試験の現状把握を行った。

3. 参加者数及び参加施設

参加者数は209名(事前参加:181名, QCWS集会当日参加:28名), 参加施設数は69施設(集会のみ参加を含む)であった(表1)。

4. 解析方法

検査法別解析は, DNA-QCでは①SSO法(Luminex), ②SSP法及びSSO法(Luminexを除く), ③SBT法について, 抗体QCでは, ①LABScreen, ②WAKFlow・ICFA, ③FlowPRA, ④LIFT(抗体)の4法について解析を行った。部門別解析は, 昨年, 各参加部門(輸血・臓器移植・造血幹細胞)で同様の解析を行い, 結果報告を行ったため, 報告内容が重複していた。今年度は, DNA-QCと抗体QCでの部門別の検査状況と問題点について解析し, 施設別結果の評価を併せて行った(結果評価については, 「HLA-QCワークショップ結果評価の基準」参照)。解析分担項目と解析担当者(所属)は, 以下のとおりである。

1) DNA-QC

- ① Luminex (SSO) 法について: 石井博之(大阪府血液センター)
- ② SBT法について: 吉川枝里(東海大学医学部)
- ③ DNA 検査法解析(Luminex, SBT以外): 橋口裕樹(福岡赤十字病院)

2) 抗体QC

- ① Flow PRA法の検査状況の解析: 佐藤 壯(札幌北楡病院)
- ② LIFT法およびFCXMの検査状況の解析: 宮崎 孔(北海道血液センター)
- ③ Lab Screenによる抗体検査: 高 陽淑(大阪府血液センター)
- ④ WAK Flow およびICFA法による抗体検査: 関根みゆき(東京都血液センター)

3) 部門別解析

- ① DNA-QC(表記法含む): 田中秀則(中央血液研究所)
- ② 抗体QC: 中島文明(中央血液研究所)

5. QCWS サンプルの総合結果

各施設の精度管理, 技術訓練に役立つよう, 本ワークショップで解析されたデータに中央血液研究所で精査した結果を合わせ, DNA および抗体試料の総合結果を示す。

DNA-QCの試料は, SBTデータを基準にSSOなど他法の結果を参考に総合的にリアサインを行った。HLA-A, B, C, DRB1でAmbiguityとなるアリルが存在する場合, 1本鎖DNAに調製することにより塩基配列を確定しAmbiguityを回避した結果を示す。解析解像度は, IMGT/HLA Database Sequence Alignments based on Release 3.0.0 (Apr-2010), 表記は本学会HLA標準化委員会の表記ルール(2003年度版)に則り記載した(表2)。また, 抗体QCの試料は, LABScreen Single Antigen 試薬の結果を基準として検査方法別に各抗原に対する反応状態を簡略化して示した(表3)。

表 1. 第 14 回 QCWS 参加施設

(受付日付順)

1	大阪市立大学医学部附属病院	輸血部	36	山形県立 中央病院	輸血部
2	富山大学附属病院	輸血・細胞治療部	37	県立広島病院	臨床研究検査科
3	公立大学法人 横浜市立大学附属病院	輸血・細胞治療部	38	北海道赤十字血液センター	検査部 検査三課
4	医療法人 立川メディカルセンター 立川総合病院	臨床検査科	39	財団法人 鷹揚郷腎研究所	化学実験室
5	福島県立医科大学附属病院	輸血・移植免疫部	40	広島大学病院	輸血部
6	日本赤十字社 中央血液研究所	研究開発部	41	長野赤十字病院	臨床検査科
7	香川県立中央病院	中央検査部	42	大阪府赤十字血液センター	検査部 検査三課
8	姫路赤十字病院	検査部	43	名古屋第二赤十字病院	医療技術部 組織適合検査室
9	広島県赤十字血液センター	製剤課	44	株式会社エスアールエル	臨床検査事業品質保証部 品質保証企画グループ
10	NPO法人腎泌尿器疾患研究所		45	国立病院機構千葉東病院	研究検査科
11	大阪府立急性期・総合医療センター	組織適合性検査室	46	東海大学医学部付属病院	診療技術部 移植免疫
12	新潟市市民病院	臨床検査科 輸血室	47	九州大学病院	遺伝子・細胞療法部
13	広島県赤十字血液センター	技術部 検査課	48	株式会社 ベリタス	技術営業部
14	北里大学病院	臨床検査部 DNA検査室	49	三菱化学メディエンス株式会社	遺伝子検査部 細胞性免疫グループ
15	自治医科大学附属病院	輸血・細胞移植部	50	東京女子医科大学	腎センター移植免疫研究室
16	関西医科大学附属病院	輸血部	51	京都大学医学部附属病院	輸血細胞治療部
17	日本赤十字社 九州血液センター	検査二課	52	東京都赤十字血液センター	検査部 検査三課
18	徳島大学病院	輸血部	53	山形県立 救命救急センター	輸血部内 山形県移植検査センター
19	北海道大学病院	検査・輸血部	54	岡山県赤十字血液センター	検査課
20	近畿大学医学部附属病院	輸血部	55	虎の門病院	輸血部
21	獨協医科大学病院	臨床検査部	56	熊本大学医学部附属病院	中央検査部
22	三重県赤十字血液センター	学術課	57	愛知県赤十字血液センター	検査二課
23	仙台社会保険病院	検査部	58	岩手医科大学附属病院	中央臨床検査部
24	高知医療センター	MCM検査室 HLA検査	59	宮城県赤十字血液センター	技術部検査一課
25	大分県立病院	輸血部	60	筑波大学	医学系技術室
26	株式会社ビー・エム・エル	特殊分析部 ゲノム検査2課	61	株式会社 保健科学研究所	特殊分析センター 染色体遺伝子関連・細胞検査グループ
27	福岡赤十字病院	検査部 HLA検査室	62	社会保険中京病院	検査部
28	静岡県立総合病院	輸血・細胞治療室	63	株式会社 リプロセル	FCM・検査部門
29	札幌北楡病院	臨床検査科	64	国立循環器病センター	臨床検査部 輸血管理室
30	岐阜大学病院	検査部	65	東海大学	医学部基礎医学系分子生命科学
31	湧永製薬株式会社	バイオ事業開発部	66	特定非営利活動法人 HLA 研究所	
32	佐賀県唐津保健福祉事務所	検査室	67	株式会社 医学生物学研究所	応用技術部
33	岐阜赤十字病院	検査部 検査課	68	東京大学医学部附属病院	輸血部
34	金沢医科大学病院	北陸腎移植HLA検査センター	69	東海大学医学部	教育研究支援センター
35	山田赤十字	輸血検査室			

表 2. HLA specificity of the 14th. QCWS DNA samples

ID	HLA-A		HLA-B		HLA-C		HLA-DRB1	
H2201	A*02:06:01	A*02:07	B*46:01:01	B*59:01	C*01:02:01	-	DRB1*04:05:01	DRB1*08:03:02
	A2	A2	B46	B59	Cw1	-	DR4	DR8
H2202	A*24:02:01:01	-	B*15:01:01:01	B*15:18:01	C*01:02:01	C*07:04:01	DRB1*08:02:01	DRB1*14:05:01
	A24	-	B62	B71	Cw1	Cw7	DR8	DR14
H2203	A*11:01:01	A*31:01:02	B*40:02:01	B*40:06:01:01	C*03:04:01:01	C*08:01:01	DRB1*04:05:01	DRB1*04:10
	A11	A31	B61	B61	Cw10	Cw8	DR4	DR4
H2204	A*11:01:01	A*24:02:01:01	B*15:01:01:01	B*51:01:01	C*04:01:01:01	C*14:02:01	DRB1*04:06:01	DRB1*14:03:01
	A11	A24	B62	B51	Cw4	-	DR4	DR1403

ID	HLA-DRB345		HLA-DQA1		HLA-DQB1		HLA-DPB1	
H2201	DRB4*01:03:01:01	-	DQA1*03:01:02/03	DQA1*01:03	DQB1*04:01:01	DQB1*06:01:01	DPB1*02:01:02	DPB1*04:02/105:01
	DR53	-	nd	nd	DQ4	DQ6	DPw2	nd
H2202	DRB3*02:02:01	-	DQA1*03:01:02/03	DQA1*01:01/04/05	DQB1*03:02:01	DQB1*05:03:01	DPB1*05:01:01	DPB1*04:02/105:01
	DR52	-	nd	nd	DQ8	DQ5	DPw5	nd
H2203	DRB4*01:03:01:01	-	DQA1*03:02/03	-	DQB1*04:01:01	DQB1*04:02	DPB1*02:01:02	DPB1*04:02/105:01
	DR53	-	nd	nd	DQ4	DQ4	DPw2	nd
H2204	DRB3*01:01:02	DRB4*01:03:01:01	DQA1*05:03/07	DQA1*03:01	DQB1*03:01:01	DQB1*03:02	DPB1*02:01//+	DPB1*05:01//+
	DR52	DR53	nd	nd	DQ7	DQ8	nd	nd

Upper (Italic): Allele type
Lower (Bold): HLA type

nd: No assignment

表 3. Anti-HLA specificity of the 14th. QCWS serological samples

	HLA specificity																								MICA												
	IgG																								IgM	IgG	IgM										
SH2201	A23	A24	A25	A32	B13	B27	B38	B44	B47	B49	B51	B52	B53	B57	B58	B59	B63	B72	B75	B78	A29	A31	A33	A34	B8	B64	B65	B76	CW9	CW10	DPw1	B8	CW12				
LS-SA	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	1	1	
FP-SA	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8			
WAKFlow	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8			
ICFA	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8			
LIFT	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8			
AHG-LCT	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8			
LCT	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4			
MPHA	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8			
SH2202	B62	B75	B76	B77	B35	B53	B63	DR11	DR13	DR14	DR17	DR18	DQ7	DQ8	DQ9	DQ2	DQ4	B8	A11	CW6	CW17	DR12	DR13	DR14	DR17	DR53											
LS-SA	8	8	8	8	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	8	4	4	4	4	4	4	4	4											
FP-SA	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8											
WAKFlow	8	4	8	8	1	1	8	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1											
ICFA	8	1	8	8	1	1	8	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1											
LIFT	4	1	8	8	1	1	8	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1											
AHG-LCT	4	1	8	8	1	1	8	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1											
LCT	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1											
MPHA	8	8	8	8	1	1	8	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1	1	1	1	1	1	1	1	1											
SH2203	A30	A31	B46	B76	DQ7	DQ8	DQ9	DQ2																													
LS-SA	8	8	8	8	8	4	4	4	4																												
FP-SA	8	8	8	8	8	8	8	8	8																												
WAKFlow	1	8	1	8	1	1	1	1	1																												
ICFA	1	1	1	1	1	1	1	1	1																												
LIFT	1	1	1	1	1	1	1	1	1																												
AHG-LCT	1	1	1	1	1	1	1	1	1																												
LCT	1	1	1	1	1	1	1	1	1																												
MPHA	1	1	1	1	1	1	1	1	1																												
SH2204	CW2	CW4	CW5	CW6	CW15	CW17	CW18	CW9	CW10	CW14:03	CW12																										
LS-SA	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	4																										
FP-SA	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	1																										
WAKFlow	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1																										
ICFA	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4																										
LIFT	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4																										
AHG-LCT	4	4	8	8	8	8	8	8	8	8	1																										
LCT	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	1																										
MPHA	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1																										

8 Strong positive
 4 Weak or several posi.
 1 Negative
 No data

LS-SA : LABScreen Single Antigen
 FP-SA : FlowPRA Single Antigen
 MICA : using LABScreen Mixed

第 14 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 DNA タイピング Luminex 法—

石井 博之

大阪血液センター検査三課

1. 概況

Luminex 法の参加施設は、解答を寄せた 58 施設中、29 施設 (50%) あり、昨年より 4 施設増加した。使用されたキットは、ワンラムダ社製 LABType (LABType HD を含む) が 9 施設 (31.0%)、湧永製薬製 WAKFlow が 14 施設 (48.3%)、医学生物学研究所製ジェノサーチが 6 施設 (20.7%) であった。タイピング実施ローカスは、全施設が HLA-A, B,

DRB1 を実施しており、その他 HLA-C (24 施設, 82.8%), DRB3/4/5 (2 施設, 6.9%), DQA1 (4 施設, 13.8%), DQB1 (12 施設, 41.4%), DPB1 (5 施設, 17.2%) の報告があった。

2. 解析方法

解析方法については、以下の 5 項目について解答のあった全ローカスを対象に行った。

- ・Luminex 法の結果表記
- ・コントロールビーズ蛍光値の平均値とばらつき (%CV)
- ・各プローブの Pmin/Nmax 値 (P/N 値) の比較
- ・アサインミス
- ・各施設のカットオフ値の変更状況

なお、詳細なデータについては、学会ホームページに掲載の「14回 QC ワークショップ報告集」を参照されたい。

3. 結果と考察

3.1. Luminex 法の結果表記

結果の表記法については、多数の施設で不備が見られた。特に、多く見られたのは、Null allele の表記 (N) である。その他、“*”マークの記入漏れ等、以前より指摘のあった不備も多く、さらなる確認が必要である。また今回の QCWS から新しい表記法での報告であったが、ローカス名 (Cw → C)、アリル名 (DPB1) が旧表記の施設も見られた。

3.2. コントロールビーズ蛍光値の平均値とばらつき (%CV)

各施設の陽性及び陰性コントロールビーズ蛍光値の平均値 (4 検体分) 及びばらつき (%CV) を求め、施設間 (キット及びローカス別) で比較した。特に陽性コントロールビーズ蛍光値のばらつき (%CV) が大きい施設やクラス I キットにおける Exon2, 3 の増幅バランス (WAKFlow では、各エクソンの sense, anti-sense の増幅バランス) が悪い施設は、PCR の状態が良好でないことが考えられる。

3.3. 各プローブの Pmin/Nmax 値の比較

Pmin/Nmax 値は、各プローブにおける蛍光値の陽性最小値 (Pmin) と陰性最値 (Nmax) の比率で、比率が大きいほど陰性・陽性の区別が明瞭となり良好と考えられる。Pmin/Nmax 値を 4 種類 (3 未満, 3 以上 10 未満, 10 以上 50 未満, 50 以上) に分類し、その割合を施設間 (キット及びローカス別) で比較した。各施設共通して Pmin/Nmax 値の低いプローブについては、もともと性能の低いプローブと考えら

れるが、他施設と比較して、3 未満または 3 以上 10 未満の Pmin/Nmax 値の割合が多い施設は、技術的なことも含むタイピング環境の見直しが必要と考えられる。

3.4. アサインミス

Luminex 法におけるアサインミスは 6 件 (HLA-B: 1 件, HLA-C: 2 件, HLA-DRB1: 1 件, HLA-DQB1: 1 件, HLA-DPB1: 1 件) あった。その内 2 件は、転記ミスと考えられ、データ自体に問題は見られなかった。他の 4 件については、1 つのプローブの反応が false positive によるものが 2 件、false negative によるものが 2 件あった。この 4 件の内 2 件については同一施設の HLA-C であったが、全体的に反応性が悪く、判定が困難であり、再検査等の必要性があったのではないかと考える。他の 2 件についても、判定の段階で各プローブの反応性を丁寧に確認していけば防げたミスである。

3.5. 各施設のカットオフ値の変更状況

各施設の判定結果をもとに、カットオフ値 (メーカー指定の値を基準とした) の変更状況を確認した。7 施設においては、タイピング実施ローカスすべてカットオフ値の変更なく正しい結果をアサインしていた。もっとも多い施設では、1 つのローカスの判定において、9 個のプローブのカットオフ値を変更しており、全体的に反応性が悪いことがうかがえる。メーカーのカットオフ値はあくまで参考値であり、カットオフ値の変更を余儀なくされる場合もあるが、その値が大きく外れる場合や多数のプローブのカットオフ値を変更する場合は、やはり注意が必要である。

4. まとめ

各参加施設のデータを比較では、概ね良好であったが、一部の施設で PCR の増幅不良およびプローブとの反応性が悪い等の反応データでの不備が見られた。このような場合、HLA タイプの判定が困難となり、アサインミスの原因になる。参加各施設では、他の施設のデータと比較していただき、問題点を改善することが望まれる。

第14回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 DNA タイピング SBT 法—

吉川 枝里

東海大学医学部

1. はじめに

今回のQCWSでSBT法の参加施設は全6施設で、昨年より3施設減少した。全ての施設がSBT以外の2法以上を併用し、使用されたキットはAllele SEQR (abbott)のみであった。これまで販売されてきたAllele SEQR DRB1キット (abbott)は、第2エクソン配列の一部を対象としていたが、新たにプライマーが改良され、以前よりも広い範囲の第2エクソン配列を対象としたタイピングが可能なキットが販売された。今回のQCWSにおいて、この2種のキットが使用されたため、施設によってDRB1の結果に違いが生じたが、どちらのキットの結果も正解とした。

2. 解析結果と考察 (HP掲載結果: 表2, 3)

1) 表記法における不正解

今回以下の3例で表記ミスが認められた。

- (1) H2204のHLA-Aと-DQB1およびH2202のHLA-Bにおいて、代表的な候補のみを結果入力枠に記載し、他の候補をコメント欄に記載した施設があった。複数の候補が得られた場合は、スラッシュ(/)を入れ判別出来ない他の候補も枠内に記載することが原則である。
- (2) H2204のHLA-Bは、第1区域で絞り込めない組み合わせが複数存在するアンビグイティーのため、HLA-B*15:01//+, HLA-B*51:01//+が正解となる。1施設のみがHLA-B*15:01/04/08/+, HLA-B*51:01//+と記載し、不正解となった。
- (3) HLA-DPB1のH2201, 02, 03は、第1区域

で絞り込めない候補が複数存在するアンビグイティーとなる。(2)の組み合わせによるアンビグイティーとは異なり片側の枠のみのアンビグイティーであるため、HLA-DPB1*04:02/105:01, HLA-DPB1*05:01と記載するのが正解となる。1施設が、HLA-DPB1*04:02//+, HLA-DPB1*05:01と記載し不正解となった。

2) 候補アリの絞り込みにおける不正解

誤った絞り込みを行った施設が1施設あった。この施設は、第2, 3, 4エクソンの塩基配列全てが一致したアリのみを候補としていたため、H2202のHLA-B, H2204のHLA-Aおよび-C, において、IMGTデータベース上に第4エクソンの配列情報が登録されていないアリを候補から削除していた。しかし、配列情報がないという理由だけでは可能性を否定できず、候補から除外することは出来ないため不正解となった。

3) リファレンスの更新

キット販売会社から提供される解析ソフトのための判定用パターンファイル(リファレンス)は定期的(3~4ヶ月に一度)に更新されている。登録アリ数は年々増加しているため、リファレンスによって判定結果が異なる。よって、解析する際は、最新のリファレンスをダウンロードし最新の情報による判定を行う必要がある。今年のQCWSで用いられるべき最新のリファレンスは、Assign 3.5™ソフトではIMGT/HLA 15/01/2010, Assign 3.5+™ソフトではIMGT/HLA 01/04/2010となる。どちらのリファレンスを用いても同様の結果が得られたため、その

結果を正解とした (HP 掲載結果: 表 1)。解析の結果, 6 施設中 4 施設がリファレンスの更新を行っていないことが明らかになった。最新のリファレンスを使用していない場合は, タイピングを行う環境が整っていないと判断されるため, 不正解と判定した。

3. まとめ

毎年, 不正解の主な原因として挙げられる表記法

のミスタイプは, アンビギュイティーにおける表記ミスがほとんどである。6桁以上のタイピングが可能な高精度タイピング法である SBT 法においては, 特に注意すべき点である。また今年議題となったリファレンスの更新は, 年々増加する新規アレル情報のみでなく, 既知アレルの新たな配列情報を得るなど, 最新の情報をもとにタイピングを行うためには, 必要な作業である。

第 14 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 DNA タイピング SSO, SSP 法—

橋口 裕樹

福岡赤十字病院検査部 HLA

1. 参加施設

14thDNA-QC 参加数は, 昨年同様に 58 施設で

表 1 使用方法の内訳

方法	(n)	(%)
SSP	23	39.7
SSO	19	32.8
Other	16	27.5
参加施設	58	

あった。参加施設の方法及び部門内訳は, 下記に示す通りである (表 1, 表 2)

表 2 参加施設の部門内訳



2. SSP 法

SSP 法は試薬キットが多数発売されており、その多くは One Lambda 社 Micro SSP であり、他に in-vitrogen UniTray, 自家製を使用した施設も数施設あった(表 3)。

表 3 キット構成及びローカス別の使用数 (#2201-2204 の合計数)

商 品 名	A	B	C	DR	DQ	DP
Micro SSP JPN	45	45	45	45	45	0
Micro SSP ABDR	8	8	0	8	8	0
Micro SSP 1L/2L	4	4	4	4	4	0
Micro SSP specific	11	12	11	16	9	0
UniTray	6	3	4	0	0	4
All set Gold	0	0	1	5	2	3
自家製	0	0	0	4	0	0
Total	74	72	65	78	68	7

また SSP 法の使用目的では、主なタイピング法として使用する以外に、他法との併用及び一部の HLA 座の確認用として補助的に使用している施設もあった(表 4)。

表 4 使用目的

目的	施設数
SSP 法を主なタイピング法としてアレル判定に使用	13
SSP 法, 他法 (SSO 法等) の両方をアレル判定に使用	6
SSP 法を補助としてアレル判定に使用	4

各施設から頂いたスコアデータは製品別に並び替えを行っている。但し、同一製品でもロット番号が異なるものがあり、今回各ロット評価までには至っていない。単純に反応の強弱だけで比較できないが、データを比較すると疑陽性 (False positive), 疑陰性 (False negative) と思われる反応が散見している。これが原因で正解アレルを含まないアレル表記, HLA 型の判定ミス, 判定保留になる可能性もある。各施設にて自施設が使用している製品のスコアデータを他施設と比較して頂きたい。

3. SSO 法

SSO 法の中で 19 施設が invtrogen (Dynal) RELI を使用した。ローカス別の参加施設数は下記に示した通りである(表 5)。

表 5 ローカス別参加施設数 (#2201-#22004)

A	B	C	DR	DRB3, 4, 5	DQ
19/19	19/19	6/19	19/19	16/19	3/19

4. キット構成

各施設の多くはロットの異なる試薬キットを使用している状況であった(表 6)。比較的、短期間でロット変更が行われる RELI は、各施設にて解析ソフトのバージョンアップ, ロット変更など、管理を確実に行う必要がある。

また、キット添付書類に疑陽性 (False positive), 疑陰性 (False negative) が発生しやすいプローブ情報が掲載されてあるので、使用しているキットの特徴を確認しておく必要があると思われる。全体的に反応性が弱い施設も散見され、反応条件 (ハイブリ温度) の確認を行う必要がある。

表 6 試薬キットの内訳

	A	B	B	C	DR	DQ
使用施設数	19	16	3	6	19	3
キットプローブ数	48	62	113	37	54	41
ロット種類	13	10	2	4	13	2

5. 結果報告

今年より命名規則の変更に伴い、新規則でのアレル表記となった。詳細は、学会ホームページを参考にして頂きたい。数施設において記載不備が今回も見受けられた。また、アレル表記の記載がない施設 (22D48), HLA 型の記載がない施設 (22D29) もあり、減点の対象とした(表 7)。

表 7 ミスアサイン / 施設別

Sample	Lab. No	方法	結果		正解	
			アレル表記	HLA 型	アレル表記	HLA 型
#2201	22D33	SSO	<u>C*01:16</u>	Cw*1	C*01:02	Cw1
#2201	22D20	SSP	-	-	DQB1*06:01	DQ6
#2202	22D33	SSO	<u>A*24:88</u>	A24	A*24:02	A24
#2202	22D19	SSO	<u>C*01:01/06/07/+</u>	Cw1	Cw*0102	Cw1
#2202	22D18	SSO	<u>DRB1*08:09/21</u>	DR8	DRB1*0802	DR8
#2202	22D29	SSO	-		DRB1*0802	DR8
#2203	22D50	SSO	<u>B*40:19</u>	B61	B*4002	B61
#2203	22D44	SSO	<u>C*03:10/29</u>	Cw3	Cw*0304	Cw10
#2203	22D47	SSP	C*08:01/02/03/+	<u>Cw6</u>	Cw*0801	Cw8
#2203	22D19	SSO	<u>DRB1*04:03</u>	DR4	DRB1*04:05, 04:10	DR4
#2203	22D29	SSO	<u>DRB1*04:05/08/11/+</u>		DRB1*04:05, 04:10	DR4
#2204	22D50	SSO	<u>A*11:23/24</u>	A11	A*1101	A11
#2204	22D29	SSO	<u>B*35//+</u>		B*5101	B51
#2204	22D50	SSO	<u>B*35:43/67/79</u>	B35	B*5101	B51
#2204	22D50	SSO	<u>B*52:01/09</u>	B52	B*1501	B62
#2204	22D50	SSO	<u>DRB1*04:07/20/47/+</u>	DR4	DRB1*0406	DR4
#2204	22D29	SSO	<u>DRB1*03:02/27</u>		DRB1*1403	DR14
#2204	22D29	SSO	<u>DRB1*04:58</u>		DRB1*0406	DR4

6. サンプル DNA

今回より、SSP用にDNA量を200 μ Lに増量した検体配布の配布が行われた。結果として、SSPを使用している施設は例年より量的に検査し易かったと思われる。RELIの施設では、配布された濃度では

濃く、5倍程度に希釈して使用しなければならなかったと思われる。使用試薬に応じて必要なDNA量および濃度があることはよく知られている。これらの条件を把握し使用する必要がある(表8)。

表 8 配布サンプル DNA (#2201-#2204) と、主な試薬キットの必要 DNA 濃度及び量

キット名	配布資料 a	配布資料 b	SSP (MicroSSP-JPN)	SSO (RELI)
DNA 濃度	100ng/ μ L	100ng/ μ L	100ng/ μ L (25-200)	13-15ng/ μ L
配布量	100 μ L	200 μ L	111 μ L/test	15 μ L/locus

第14回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 抗体検査 FlowPRA 法—

佐藤 壯

札幌北楡病院

1. はじめに

3年連続で FlowPRA 解析を担当することになった。データ提出用ファイルに添付される histogram は各施設でそのスケールや表示方法が統一されていないため、昨年からのデータ提出時に FCS ファイル (LABScreen 法における CSV ファイルと同様のファイル) の提出をお願いしている。

今年は各施設のご協力もあり全施設からファイルをお送りいただけたので、それらの FCS ファイルを FCS ファイル解析ソフトウェア FlowJo (Tree Star, USA) で解析し、統一的なスタイルで表示・比較することが可能となった。

レポート図表や集計結果は、学会ホームページの QCWS から「第14回 QCWS 解析報告集」(http://square.umin.ac.jp/JSHI/qcws/14QCWS/13qc_report.html) の「FlowPRA 法の検査状況の解析」(14 QC_Ab_FlowPRA_2.pdf) を参照していただきたい。この本文では図表が掲載されているページ数のみを表示する。

2. 参加施設と測定項目・機器

昨年までは参加施設を医療機関、血液センター、検査センターに区分して表示していたが、施設名が特定される可能性もあることから今年は参加部門、測定項目のみを2ページに表示している。同様の理由から FCM についてもメーカー名のみを表示している。今年の参加施設は合計23施設(前年比3増)で、区分としては医療機関が15施設(4増)、血液センター6施設(1減)、検査センター2施設(増減なし)であった。

Screening Test (以下 SC) は全施設が測定し、この

うち class I 抗体のみ測定が3施設だった。なお、22S30 施設は class II 抗体測定を IgG+IgM 抗体で測定しているために class II 抗体に関しては今回の解析対象から除外している。IgM 抗体を測定したのは6施設(増減なし)、Single Antigen (以下 SA) を測定したのは6施設(3減)であった。

測定機器はベクトン・ディッキンソン社(以下 BD)が12施設、ベックマン・コールター社(以下 BC)が11施設だった。

3. 測定結果

1) SC

今回の配布検体は4種類で、IgG class I 抗体はすべての検体、IgG class II 抗体は SH2202, SH2204 で陽性だった。陽性検体を8と判定、陰性検体を1と判定したものを一致と見なして集計したのが5, 6ページである。histogram は7~20ページで生データと FlowJo 変換データを交互に示した(class II の SH2201 と SH2203 は生データのみ)。結果が一致していなかったのは class I 抗体の SH2204 で3施設、class II 抗体の SH2201 で1施設、SH2204 で7施設だった。class II 抗体の SH2201 で4と判定した施設に確認したところ、再検して陰性だったので修正した結果を送付したが締め切りを過ぎていたため変更が認められなかったということで、実質的に判定が一致していなかったのは SH2204 検体のみであった。

IgM 抗体は class I 抗体が SH2201, SH2202, SH2203 で、class II 抗体は SH2202, SH2203 で陽性だった。25ページの結果、26, 27ページの histogram を参照していただきたいが、class I 抗体のほうが class II 抗体と比較して不一致率が高かった。

2) SA

測定した6施設中1施設がclass II抗体のみを測定している。ほとんどの施設がG1~4のみを測定していた(判定スコアは30~32ページ, plotは33~40ページ)。2施設においてPE蛍光の最も弱いピーズが陽性となった際に上にずれるか下にずれてplot上から消失する場合があります, Compensation不良のプロットが認められた。

1施設で最終結果の記入が検体間で入れ違っており(29ページ), それを修正するとおおむね各施設同様の結果が得られていた。

4. 考察

今回議論の対象となるのはSH2204検体についてである。

SH2204検体のIgG class I抗体に関して4と判定したのが1施設, 1と判定したのが2施設であった。また, IgG class II抗体については4と判定したのが1施設, 1と判定したのが6施設で, class I抗体の3施設と重複していた。4, 1と判定した7施設は, BD使用施設が3, BC使用施設が4であった(20ページ)。各施設のhistogramをより強い陽性ピークが得られる順番に並び替えたのが21ページで, 10施設で明らかな陽性ピークが認められない(3施設は右肩の膨らみ方で陽性と判定している)一方で3施設ではサードピークが認められた。

7施設について詳細に検討したところ, SH2204のclass I抗体についても明確なマルチプルピークが得られていないことがわかった(22ページ)。SH2204検体は他の検体と比較して, class I抗体, class II抗体共に陽性ピークの蛍光強度がそれほど強くなく機器設定の善し悪し(Compファイル等)がより強く影響したのかもしれない。機器別に見るとBDの1施設はhistogramが左端に貼り付いて明らかにCompensation不良と思われるので改善をお願いしている。1施設は今年から参加した施設で初期設定に問題があり7月に設定を変更して改善が認められている(23ページ)。残る1施設も流路系の洗浄により改善されている(24ページ)。BCの4施設は多くがEpics

を使用している施設で一部設定条件の変更で改善が認められるものの(23ページ), 他のEpics使用施設でもhistogramの形状にクリアさがいささか欠ける傾向が見受けられた。Epicsの場合条件設定がやや難しい可能性があり, これについてはBCの担当者にも結果を伝えて機器設定の変更について検討を依頼している。

昨年は試薬の劣化が関係している可能性を指摘したが, その後の測定でそれほど大きな影響がないことがわかった(複数施設での検討)。今回の結果を見る限り一昨年指摘した機器設定の問題に立ち返ることになる。いくつかの施設からCompファイルを送っていただき検討したが設定数値には大きな隔たりがあり, 結局わかったことは, 「機器毎に最適なCompファイルを設定する」しかないということであった。現在メーカーの担当者も交えてどのような設定マニュアルが望ましいのか検討中である。

次に, 今回の解析で気づいたのは, 取り込みEvent数の問題である。総数としては問題ないものの, class Iピーズとclass IIピーズのEvent数に大きな隔たりがある施設がいくつか見受けられた(4ページ)。元々全般的にclass IIピーズの取り込み数が多くなる傾向はあったものの, 2倍以上違うのは設定に何らかの問題がある可能性がある。各施設でも検討していただきたい。

5. まとめ

3ページにも示したがSCの参加施設数に大きな増減はないものの今回SAの参加施設は減少している。一方でLABScreenを使用する施設が増加している。おそらくSCはFlowPRAで, SAはLABScreenでという傾向が今後ますます強まることが予想される。そのためにもSCで抗体の有無を確実にチェックすることはますます重要となる。

報告集の最後にまとめているが, 機器設定とメンテナンスの重要性を再確認していただきたい。またそのためにQCWS検体を有効に利用していただければ幸いである。

第14回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 抗体検査 LIFT 法および FCXM の検査状況の解析—

宮崎 孔

北海道赤十字血液センター

はじめに

LIFT法の参加施設は計6施設、抗体スクリーニングは4施設、FCXMは5施設であった。6施設のうち、IgM抗体を単独で測定している施設が1カ所、HLA class-II抗体を測定している施設も1カ所しか無かったため、ここではclass-IのIgG抗体のみを解析対象とした。

結果の解析は各施設から提出されたLIFT法の結果(score)を用い、本ワークショップでLABScreen Single Antigen (LABSA)を実施した18施設の平均蛍光値を基準として評価した。評価のポイントは、LIFT法で検出可能と考えられるLABSAの平均蛍光値が5,000以上の抗体特異性を検出できること、および偽陽性の有無に注目した。加えて、各施設の判定方法を検証するため、提出データを全て同じ基準で再判定した。

1. HLA 抗体検査

4施設でのHLA抗体スクリーニングの結果は、SH2201～SH2204の4検体のうち、SH2203以外は全ての施設でHLA抗体陽性と判定された。SH2203については施設によって陽性と陰性に分かれた(HP 5ページ)。

各検体の特異性は、LABSAの平均蛍光値が5,000以上の反応性の強いものに限定すると、SH2201は、A24+B13+B27+B35+B37+B38+B44+B46+B51+B52+B56+B58+B59+B62+B71+B75+Cw9+Cw10 (=Bw4+B35+B46+B56+B62+B71+B75+Cw9+Cw10)、SH2202はB62+B75、SH2203はA30+A31、SH2204はCw4+Cw5+

Cw6+Cw9+Cw10+Cw15となる。LIFT法では検査に使用するパネルリンパ球の数によって特異性を確認できるHLA抗原数が異なるため、施設によって確認できた数は異なるが、上記の抗原は概ね検出できている。この中で明らかに検出できなかった特異性はSH2201のCw9+Cw10、SH2203のA30+A31のみである(HP 6～9ページ)。このうち、SH2203はA31リンパ球で吸収してもLABSAでのA31に対する反応性が減弱しないため、自然抗体様のHLA抗体と考えられ、いずれの施設でもA31との反応は陰性であった。しかし、施設によってはA31以外の反応(偽陽性)が認められ、これが施設間不一致の原因となった。また、LABSAの平均蛍光値が少し低い1,000～5,000の抗体特異性としてSH2201でA33、B54、SH2202でB35、B51、SH2204でCw12が認められたが、いずれもLIFTは陰性であった(HP 10ページ)。

HLA抗体の特異性解析では検査に用いるパネルリンパ球数が重要になり、パネル数が少なければ判定保留であるscore 4が多くなり、抗体特異性、許容抗原を決めることはできない。また、偽陽性や偽陰性が発生する可能性も高くなる。実際にSH2203についてはLIFT法ではHLA抗体陰性と判定されるはずであるが、パネル数が少ない施設(22S16、22S30)では偽陽性を否定できなかったため、HLA抗体スクリーニング陽性と判定された。使用するパネル数が検査精度に直結するため、より多くのパネルを使用すること、さらに多検体を処理できるLIFT法のプロトコルを採用することが重要である。

各施設の提出データを再判定をしたところ、判定

ミスがいくつか認められた。多かったのは判定保留 (score 4) を陽性、あるいは陰性と判定しているものである。特異性の判定は、抗原別に各パネルとの反応を解析するため複雑な作業となり、十分な注意が必要となる。

2. FCXM

5施設での検体 SH2201 を用いたクロスマッチの結果は、LABSA での HLA 抗体の特異性から予測される結果 (抗 Bw4+B35+B46+B56+B62+B71+B75+Cw9+Cw10) とほぼ一致した (HP 11~12 ページ)。不一致が認められたのは抗体検査で偽陰性を示した Cw9, Cw10 に対する反応で、クロスマッチでも陰性を示した。各施設の判定基準は異なっているが、平均蛍光値のデータが提出された3施設 (22S02, 22S04, 22S24) の結果を S/N 値 (サンプルの蛍光値/NC の蛍光値) で評価すると、ほぼ同様な値を示しており、プロトコールが異なってもほ

ぼ同じ結果であることが示された。前年のワークショップでは施設間の判定不一致が認められていたが、本年度は全施設で一致した結果が得られた。ただし、施設によっては陰性となるクロスマッチの組み合わせが無かったため、適切な評価ができない場合もあった。クロスマッチの検査精度の評価には陽性および陰性となるの組み合わせが必要になるため、次回からは全ての施設で陽性・陰性のクロスマッチデータの提出が望まれる。

LIFT 法は FlowPRA や LABSA に比べると抗体検出感度が若干低いが、臨床的な意義が無いと考えられる自然抗体様の反応を検出しないというメリットがある。安全で有効な移植・輸血のためには高感度な抗体スクリーニング検査と直接クロスマッチの組み合わせがベストであると考えられるため、今後もより多くの施設が FCXM の QC ワークショップに参加することを期待する。

第14回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 LABScreen による抗体解析—

高 陽 淑

大阪血液センター検査三課

はじめに

本稿では、項目ごとの要旨について述べる。詳細データについては、日本組織適合性学会のホームページに掲載された解析結果を参照されたい。

1. LABScreen での検査状況について

今回 LABScreen 法による検査実施施設は 20 施設 (臓器 11, 造血 13, 輸血 11: 重複あり) であった。また使用した試薬については昨年と同様で、Single antigen がクラス I 抗体で 18 施設、クラス II 抗体で 13 施設と非常に多かった一方で、PRA は 4 施設と

少なかった。今回の QCWS の抗体部門参加が 41 施設、そのうち抗体特異性解析まで実施している 31 施設中の 58% が LABScreen single antigen を用いていることから抗体特異性解析の手段としては最も支持されているようであった。

2. 抗体有無判定結果の比較

抗体の有無についてはクラス I では SH2003 が、クラス II では SH2001, 2003, 2004 が 100% 一致にはならなかった。その原因は、結果の記入ミス、Mixed のみで判定、single antigen の Lot 間差や判定基準の

施設間差が考えられた。

3. サンプルの特徴と抗体特異性結果の比較

LABScreen single antigen によって抗体特異性を決定した施設の各々の結果を比較して75%以上一致した特異性を各サンプルの「Consensus results」とし、各施設の判定結果が陰性、陽性共に75%未満となりConsensusが得られなかった特異性を「判定保留」と位置づけた上で各サンプルの反応性の特徴と不一致の原因を調査した。

- ① 強い抗体を広範囲に保有するが陽性と陰性の境界が比較的判断しやすいサンプル〔SH2001 (クラス I)〕: 4種類のサンプル中、Consensus results が最も多く求められた。判定保留となる原因は、反応性の施設間差や allele 違い beads の反応性差に対する判断の違いであった。
- ② 強い抗体は一部であるが弱い反応がだらだら続くサンプル〔SH2002 (クラス I & II)〕: 4種類のサンプル中、判定保留が最も多かった。その原因としては、多くの beads の反応性が BNV (Baseline Normalized Value) 2000~500 前後の範囲に含まれてカットオフの設定が困難になること、一部の抗原において Lot 間差が見られたことなどが考えられた。また、クラス II では DQ 抗原 beads の反応性を解析する際に、DQA1, DQB1 allele の違いについても考慮しているか否かで最終判定に差がみられた。
- ③ 反応は一部の抗原に限定しているサンプル〔SH2003, SH2004 (クラス I)〕: SH2003 については A30, A31 に反応性は限定しており、single antigen を用いた施設は100%の一致率であった。しかしながら Mixed では1施設を除いて陰性反応となり、Mixed のみで最終判定を出した3施設が不一致となった。また、SH2004 が保有する C ローカス抗体については、single antigen を用いることで殆どの施設が正確に検出することができていた。
- ④ 全体に反応性が弱いサンプル〔SH2004 (クラス II)〕: 4種類中、全体の反応性が最も低いサンプルで唯一 Consensus results が得られなかった。「抗体無し」とした3施設と「抗体有り」とした施設の Lot が違うことから Lot 間差も影響していると

考えられた。

- ⑤ 抗体の有無の判断が困難なサンプル〔SH2003 (クラス II)〕: このサンプルを「クラス II 抗体有り」と判定したのは single antigen のみを実施していた2施設で、他の施設は Mixed, PRA II あるいは Flow PRA などの他法でスクリーニングを実施し、その結果も考慮して「クラス II 抗体無し」と判定していた。一方、このサンプルについては single antigen を実施した6施設中同じ Lot を用いた5施設の反応性には大差を認めなかったことから single antigen はあくまでも抗体特異性の解析に用いる試薬であり、抗体の有無を判断する場合においては、スクリーニング試薬での測定が重要であると考えられた。

4. 総合評価

各サンプルの抗体有無の結果が75%以上一致する判定を「正解」とした場合、参加した20施設のうち全て正解となった施設は5施設(20%)であった。クラス別にみると、クラス I については全体に一致率が高かったが、クラス II については、輸血部門が抗体の解析を実施していない施設が多い一方で、臓器部門の正解率が高い傾向を認めた。

また、抗原別判定結果の比較では、参加施設間で陰性/陽性の判断が大きく分かれてしまう(Consensus が得られない)ケースを除くと全体的に一致率は高く、結果が保留(スコア4を記載)や不一致になるのは特定の施設に限定されていた(詳細はホームページの施設別判定結果集計を参照)。

5. まとめ

結果の不一致の原因を大別すると以下のように集約される。

- ① 反応性の違い(試薬の選択, 施設間差, Lot 間差)
- ② 判定基準の違い(allele 違いの beads の反応性の判断, 低い蛍光値領域での判断)

この①, ②について全ての施設で完全に一致することは不可能であるが、QCWSでの自施設のデータを他施設の結果と比較するなどの考察をすることで差異を縮める事は可能であり、判定基準については、あくまでも部門ごとに模索していく必要があると考える。

第14回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 抗体検査 WAKFlow & ICFA 法—

関根みゆき

東京都赤十字血液センター

1. WAKFlow HLA 抗体クラス I & II (MR)

1.1. はじめに

WAKFlow HLA 抗体検出試薬 (以下 WAK-MR) は 9 施設が使用し、その中で 7 施設がクラス I と II 両方、2 施設がクラス I のみの使用であり、前年度と同様であった。試薬ロットは J002 と K001 の 2 種が多くを占めていた (HP 掲載: 表 1)。血清中の非特異成分を除去する WAK-MR 専用の血清処理試薬は、4 施設が全サンプル、他の 4 施設が一部のサンプルについて使用し、1 施設は未使用であった (HP 掲載: 表 2)。

1.2. 結果と考察

1) 各ビーズの反応性の比較

SH2201 及び試薬キット添付の陰性対照血清におけるバックグラウンドビーズの Median 値 (以下 BB 値) は、ロット J002 よりロット K001 の方が低い傾向であった (HP 掲載: 図 1, 2)。

一方、精製 HLA を結合した各 HLA ビーズの Median 値にロット差は認められなかった。Index 値は計算式の分母である BB 値に影響され、BB 値が高いロット J002 の Index 値平均はロット K001 より低い傾向になり、ロットによって検出される抗体特異性に相違を生じさせる可能性が考えられた。(HP 掲載: 図 3a-d)。

施設 16 では、陰性対照血清と SH2201 の双方において、BB 値と陽性コントロールビーズの Median 値が共に他施設と比較して低値を示し、洗浄など操作上の問題が考えられた。

2) 各サンプルのセログラフ解析

各施設が設定した cut off 値に基づくビーズ毎の

Index 値をスコア化し、セログラフを作成した (HP 掲載: 図 4)。

SH2201 のセログラフから、HLA-A24, Bw4 及び B15 関連に対する広範囲の反応を認め、陰性反応ビーズの HLA 情報から容易に許容抗原を決定可能であった (HP 掲載: 図 5)。

SH2202 は、本試薬において高いバックグラウンドを示し、血清処理試薬の使用が有効であった。血清処理試薬使用群・未使用群のセログラフを作成し、使用群では、HLA-B62 の反応が明瞭であった (HP 掲載: 図 6a, b)。ロット別のセログラフ解析では、ロット J002 では HLA-B62 の反応しか認めなかったが、ロット K001 ではさらに B75, B35, B38 に対する反応も認め、BB 値のロット差が解析結果に影響を及ぼすと考えられた。LABScreen Single Antigen (以下 LS-SA) ではこれらの抗体特異性のうち HLA-B38 の反応は認められなかった (HP 掲載: 図 7a, b, 表 3)。

SH2203 のセログラフでは、WAK-MR で HLA-A31 に対する反応が認められ、LS-SA では HLA-A30, A31 とともに高い蛍光強度を示した。生細胞を用いた検査法 (LCT 法, AHG-LCT 法, LIFT 法, ICFA 法) では反応を認めなかった (HP 掲載: 図 8, 表 4)。WAK-MR と LS-SA で検出された反応は、細胞膜上に存在している状態の HLA 分子とは反応を示さず、本来の HLA 特異性ではなく自然抗体などのクロス反応と推測された。

SH2204 のセログラフでは、明確な特異性は認められなかった。LS-SA で検出できた HLA-C 座の抗体特異性を基に作成した WAK-MR のセログラフからも同定困難であり、WAK-MR は HLA-C 座抗体

の検出性能が不十分であることを確認した (HP 掲載: 図 9a, b, 表 5)。

一方, HLA クラス II 特異性において, SH2202 でセログラフの抗原指定を HLA-DR あるいは DQ どちらでも判定可能であり, 抗体特異性を確定することはできなかった。ただし, 陰性反応ピーズの HLA 情報から許容抗原は決定可能であった (HP 掲載: 図 10a, b)。

以上より, WAK-MR は許容抗原を確定する性能を有すること, 血清処理試薬の使用が有効であること, BB 値が原因となるロット間の整合性に問題があること, HLA-C 座に対する反応が不十分であることを解析した。

2. ICFA 法

2.1. はじめに

ICFA 法は 8 施設が使用し, その中で 3 施設がクロスマッチのみの参加であった。前年度の 5 施設 (クロスマッチのみ 3 施設) より, 3 施設の増加であった。全施設が WAKFlow HLA 抗体クラス I (ICFA) 試薬を使用し, 1 施設は自家調整 ICFA 試薬の併用であった (HP 掲載: 表 6)。

2.2. 結果と考察

各サンプルの Index 値をスコア化し, セログラフを作成した (HP 掲載: 図 11)。

SH2201 では, HLA-A24, Bw4 及び B15 関連を含む広範囲の反応を認め, WAK-MR で検出できな

かった HLA-B22 抗原グループの弱い反応を確認した (HP 掲載: 図 12)。

SH2202 では, WAK-MR と同様に HLA-B62 の反応を認めた。さらに WAK-MR で検出できなかった B75 では一部反応を示し, LS-SA の測定蛍光値で認められる B*15:02 と B*15:11 の反応強度の差を反映していることが推測されるが, パネル細胞の遺伝子型情報が不明のため断定はできない (HP 掲載: 図 13, 表 7)。

SH2203 では, WAK-MR の項目で述べたとおり, 精製 HLA 試薬で検出した HLA-A30, A31 を持つすべての細胞で陰性であった。(HP 掲載: 表 8, 9)。

SH2204 では, LS-SA でいくつかの HLA-C 座のピーズに対する測定蛍光値が 10,000 以上であり, ICFA 法ではこれらの抗原に対して一部を除き反応が確認された。LS-SA の HLA-Cw14 (HLA-C*14:02) のピーズに対する反応は陰性であるのに対し, ICFA 法では一部の HLA-Cw14 抗原に対して反応が認められ, 反応を示した細胞のアリルは B 座との関連で HLA-C*14:03 と推測したが, この結果からは不明であった。ICFA 法では, HLA-C 座に対する抗体を検出していたが, 弱い反応性であった (HP 掲載: 図 14, 表 10, 11)。

以上より, ICFA 法は WAK-MR より HLA 抗体の検出性能に優れていること, 特に HLA-C 座に対する抗体が検出可能なこと, 自然抗体などの非特異反応を検出しないことが確認され, クロスマッチに適した検査法であるといえる。

第14回 HLA-QC ワークショップレポート —部門別解析 DNA-QC および結果評価—

田中 秀則

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

DNA-QC には、58 施設の参加があり昨年と同数の施設数であった。輸血部門 27 施設、臓器移植部門 36 施設、造血幹移植部門 20 施設、その他 4 施設であり、うち 21 施設で重複がみられた。

以下に部門別解析および試行的に行った各施設の結果評価について概説する。本文中の図表については、MHC 誌紙面の都合上、学会ホームページに掲載されているので、そちらを参考にして頂きたい。

1. 部門別解析

1.1. 使用タイピング法について

各参加部門で使用しているタイピング法は、輸血、造血幹移植、その他の部門で、Luminex 法（蛍光ビーズ法）が、臓器移植部門では、SSP 法または RELI が一般的に使用されているタイピング法であった（表 1）。また、各タイピング法別の参加部門別の占有率は、RELI が臓器移植部門で約 70% 以上を占めていた（表 2）。

各タイピング法での解像度を比較するために、変異検出数（プローブまたはプライマー数）を表 3 に示した。SSP 法では 20 ヶ所以下であるが、他のタイピング法（LabTypeHD を除く）では、RELI で若干少ないものの大きな差はないと思われる。また、国産試薬の場合は日本人で一般的なアレルを出来るだけ絞り込むことが容易なプローブ構成となっている。各タイピング法で、タイピング対象となった HLA 座を表 4～表 7 に示した。各タイピング法、各参加部門でも HLA-A, B, DRB1 座は 100% 実施されていたが、HLA-C 座については RELI での実施率は 10～50% と低かった。

1.2. 表記法について

1987 年から HLA 分子をコードする HLA アレルを識別するために、4 桁の数字による命名規則が施行されたが、4 桁での管理が困難になり、2010 年 4 月から HLA アレルの命名規則を変更することとなった。新表記法では“:”（コロン）を用いて HLA アレルを規定する数字の表記区域を 4 つに分けることにより、固定した桁数の制限を取り除いた。これに伴い、当学会では「HLA タイピング結果のアレル表記法と結果報告の原則（2010 年度版）」（以下、表記法）により新表記法に対応を行った。

QCWS における DNA 型表記の問題点としては、① アレル名の接尾符号である“N”（Null），“L”（Low）等は、Ambiguity を記載する場合に付記しないこと（例：A*02:01/07/15N では“N”を付記しない）しているが、付記されている例があった。② HLA-C 座のローカス名の表記が、今回の命名規則変更でアレルを表記する場合は“Cw”から“C”に変更された（例：Cw*0102→C*01:02）が、旧ローカス名でのアレル表記が見られた。③ その他、アレル表記には“*”（アスタリスク）が必要であるが記載されていない等の問題点があった（表 8 参照）。

QCWS での HLA 型（HLA 抗原型）の表記では、表記法で規定されていない幾つかの問題点があった。DNA 型を Ambiguity で表記した際、対応 HLA 型が複数の場合の HLA 型の表記法が規定されていない。例えば、DNA 型が DRB1*14:03/12/18⁺ の場合、HLA 型は DR1403 または DR14 の可能性があり、HLA 型表記は DR14/1403 と表記する必要がある。また、HLA-C 座の HLA 型は、HLA-Cw1～Cw10 は公認抗原であるが、HLA-C*12～18 に対応

する HLA 型は公認されておらず、今後の HLA-Cw12~18 の HLA 型を QCWS として使用するべきかが問題点として上げられた (表 9 参照)。これらの問題点については、今後標準化委員会で協議し解決する必要がある。

タイピング結果評価を行う際に、以下の 3 点の問題点が見出された。① SBT 法で最新のライブラリーを使用していない、② Ambiguity があるはずなのに、結果に代表的なアリルだけを記載している、③ SBT 法で、第 3 区域まで絞り込めているはずだが、結果は第 2 区域までしか表記していない。また、表記法の規定に不備があることから問題となる例があった。例として、HLA-A*24:02/07/10/+ と結果を表記されていたが、HLA-A*24:02/03/07/+ が正しい表記であった。現在の表記法の規定では、「最も小さい数を最初を書く」と規定されているが、Ambiguity となるアリルを数字の小さい順に記載するという規定はなく、今後検討する必要がある (表 10 参照)。

2. 結果評価

2.1. 概要

これまで QCWS の結果については、その状況を報告するだけで各施設の結果について評価を行っていなかった。今回試行的に、HLA-DNA タイピングの QCWS (以下、DNA-QC) 結果を、① 判定結果、② 結果表記、③ 試験・検査状況の 3 項目について評価を行った。詳細は「HLA-QC ワークショップ結果評価の基準」(学会ホームページ「14 回 QCWS 報告書」に掲載)を参照されたい。

2.2. 評価内容 (試行)

判定結果については、基準にもあるように「各 HLA タイピング法での判定結果が妥当であること」、「各 HLA タイピング法の判定結果と総合判定結果に祖語がないこと」について各解析担当での評価を

行った。これら 2 項目については、各タイピング法別に、検体別、タイピング実施座別に両方の基準が適合している場合を 60 点、何れか片方が適合しない場合は 0 点と採点し、各採点の平均点数をその施設の評価点とした。今回参加した全施設の平均点は、56.7 点であった (表 12 参照)。また、結果表記の評価基準は、「提出結果が、日本組織適合性学会で規定している表記法に従って記載されていること」とし、参加全施設の平均点は、37.3 点となった (表 13 参照)。

判定結果と結果表記の評価の合計点の分布を表 14 に示した (平均点: 94.0 点)。総合的な判定区分として、判定結果と結果表記の評価の合計点から 100 点を“A: 良好”, 60~100 点未満を“B: 要確認”, 0~60 点未満を“C: 要改善”とした。各判定区分での施設数は、A 評価が 23 施設、B 評価が 34 施設、C 評価が 1 施設であった。

試験・検査状況の評価については、「HLA タイピング実施時に得られた試験結果 (データ) が適切であること、また判定が適切に行われていること」とした評価であるが、① 試験結果が全て妥当である場合を“A”, ② 反応データの一部に不備がある場合を“B”とし、この場合の「一部」とは半数以下を基準とした。③ 反応データのほとんどが不備である場合を“C”とし、この場合の「ほとんど」とは半数以上を基準とした。各方法別の評価結果の分布を表 15 に示した。

2.3. 結語

評価結果については、既に各施設に報告してある。今後この評価結果を基に検査施設での改善が図ることが出来れば QCWS での評価も意味があることと考える。また、評価基準については参加施設からの意見を頂き、より良い基準作りを行ってゆく予定である。

第14回 HLA-QC ワークショップレポート —部門別解析 抗体 QC および結果評価—

中島 文明

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

1. 部門別解析

1.1. 概要

抗体 QC は昨年度より 5 施設増え 41 施設の参加があった。輸血部門 22 施設、臓器移植部門 24 施設、造血幹移植部門 16 施設、その他 2 施設であり、うち 16 施設に重複がみられる。

単一部門施設のみで検査方法別に比較すると、従来、輸血部門=LABScreen, 臓器移植部門=FlowPRA という傾向があったが、現在の状況は均一化の方向にある。赤十字血液センターでは LCT 法から蛍光ビーズ法への移行が進行しており、LCT 法は減少し、WAKFlow, ICFA 法が増加している。輸血部門は、血小板抗体の検出を必要とするため、MPHA など関連した方法が残っている。これらは、HLA 抗体の検出は補足的にできるものであり、本ワークショップの方向とは若干異なるが、施設の経済状況などでその検査法しか採用できない事情も考慮し除外対象とはしていない。

1.2. 部門別解析

抗体検査の部門別解析について考察する。輸血部門では、病院輸血部と赤十字血液センターとで両極を成しており、前者は抗体検出、後者は許容抗原決定とクロスマッチの判定を主な業務とする。輸血副作用調査では、抗体特異性とクロスマッチを必要とする。臓器移植部門では、抗体検出とクロスマッチの判定が重要と思われる。輸血部門=MPHA, LABScreen, 臓器移植部門=FlowPRA という傾向は、各部門が求める方法を反映した結果である。近年は、測定機器の整備と試薬の充実でその傾向は崩れつつある。造血幹移植部門は、仮想クロスマッチの機会が

多くなるため、抗体特異性が重要となる。その他、検査センターや試薬開発では特殊な試験方法を含めさまざまな方法が要求されると思われる。

今後、施設認定を視野に入れた場合、各部門に必要とされる項目が何であるかが評価要素となる。しかし、幾つかの問題点も存在し、まず、多くの施設が複数部門に重複していること。同一部門でも業務範囲が異なるケースがあること。関連して、求める HLA 座や検出するイムノグロブリンサブクラスが異なること。検査センターや試薬開発では一律に括れないなど、部門単位で一定の対応が困難な実情がある。部門の分類方法を根本的に見直す必要がある。

1.3. クロスマッチ

クロスマッチは昨年と同様な方法で試行し、臓器移植部門の参加もあり、若干の増加傾向にある。11 施設の参加があり、検査方法は LCT, AHG-LCT, FCM, ICFA で実施された。部門別では、輸血部門は、詳細な許容抗原決定とダイレクトクロスマッチの実手技、臓器移植部門はダイレクトクロスマッチの実手技、造血幹移植部門は詳細な抗体特異性検出と仮想クロスマッチが解析ポイントと考える。クロスマッチは部門別解析の重要な位置づけになり、施設評価の要素にもなるため、今後、多くの参加を希望する。

2. 結果評価

2.1. 概要

施設認定の指標となる抗体 QC 結果評価を試行した。詳細は「HLA-QC ワークショップ結果評価の基準」を参照されたい。抗体 QC では、移植や輸血な

ど異なった分野，採用する検査方法，判定基準など様々な要因で一律に評価することが極めて困難である。抗体検出，抗体特異性，結果提出方法を評価基準の柱とし，部門別要件は施設認定する際に勘案するという形とした。したがって，抗体 QC の結果評価には部門別要因は加味されていない。

2.2. 評価内容（試行）

前述のとおり，抗体 QC 結果に正解は存在しない。そこで，抗体 QC 結果で3分の2（67%）以上の施設で共通となる結果を評価基準とした。各施設では，複数の検査方法を採用することもあり，総合判定結果を評価対象とした。抗体特異性については，日本骨髄バンクが公表する HLA 遺伝子頻度 0.1% 以上の抗原を対象とした。それぞれの評価点を ABC 評価に置き換え評価結果とした。さらに，結果提出ルールや記入方法から外れる場合を減点対象とした。

HLA 抗体検出を日常実施する施設とその担当者の集まりである本 QC ワークショップにおいて3分の2以上で共通となる結果は，国内において最も信頼性の高い結果であり，そこに評価基準を求めることは極めて妥当性が高いと考える。また，抗体特異性は便宜上，反応した抗原名を列挙して表現するが，実際は各抗原の共通エピトープに対する反応（アロ血清

はその集合体）であるので，国内でほとんど検出されない抗原名を表記することは混乱するだけで意味をなさない。さらに，検出感度の低い方法や反応させる抗原種類が不十分な場合は必然的に評価点が低下する。

今回，試行した評価別構成比をグラフに示す。抗体検出では 85.4%，抗体特異性では 66.7% が A 評価であり，良好な結果と思われる。B 評価は改善が見込まれる位置づけであり，ワークショップの解析結果を精査・再確認して問題点の解決を図っていただきたい。C 評価は検査方法を含めた根本的な解決策を望む。

2.3. 結 語

今後は，参加者の意見を反映しながら，QC ワークショップ部会で検討を重ね，施設認定として適切な内容の評価に近づけたい。また，クロスマッチを導入してその結果も評価対象としたい。クロスマッチは直接，医療行為に結びつく検査であり，抗体検出より重要度は高い。しかし，その実態は十分に把握されていない。理想的には共通となる細胞を配布したいが実情として困難である。これまで2年間実施した方法での参加状況を考慮しながら組み込めなにか検討していくこととする。

● 総 説 ●

[シリーズ：各臓器移植についての拒絶反応の解説・移植 の新しい治療法の紹介]

第 4 回

移植における液性免疫制御の重要性と HLA 血清学 — 直接クロスマッチから HLA タイプ & スクリーンへ —

佐治 博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所,

はじめに：HLA の発見とその後の進展は血清学に負うところが大きい。抗血清とデータの交換と国際ワークショップによるデータ解析により、HLA の全容が明らかにされた歴史がある。そのころの HLA 血清学は HLA 抗原決定が主目的であり、そのために抗体（抗血清）の収集と特異性の解析が行われた。HLA が遺伝子タイピングで行われるようになると、わが国の HLA 血清学は衰退の危機に瀕した。臓器移植の直接クロスマッチなどに継承されたが、移植の症例数は諸外国の 10～100 分の一であり、まさに細々と受け継がれた感がある。当時の造血幹細胞移植は HLA 一致が前提であったため、血清学的クロスマッチは行われなかった。抗血清収集で得られた HLA 血清学の経験値（HLA アロ抗体の特性）は貴重で、それを次世代へ伝える努力がいま求められている。

近年になって HLA 血清学のルネッサンスがはじまった。Terasaki¹⁾ によって臓器移植の超急性拒絶から急性拒絶と慢性拒絶に至るすべてに HLA 抗体が関わることが明らかされた。それがきっかけで HLA 血清学の重要性が浮上した。HLA 液性免疫の制御が重視されるようになり、HLA 抗体の検出が臨床に欠くべからざる手段となったのである。加えて造血幹細胞移植の領域で、臍帯血バンクからの HLA ミスマッチ移植や、血縁間ハプロ半合致移植などが行われるようになり、この領域でもクロスマッチが必要になった。輸血の領域では血小板輸血不応や非溶血性副作用への対応に HLA 血清学が必要である。さらに HLA 抗体検出法の技術的な革新が HLA 血清学の再興に寄与した。

直接クロスマッチは技術的問題や標準化の問題はさておいても、ドナーリンパ球の確保と搬送というロジスティック（兵站学）問題がその実施の障害となっている。HLA 抗体検出法はすでに第 4 世代法に突入していて、ロジスティックな問題解決が可能になったのでそれを提案したい。「HLA タイプ & スクリーン (HLA T & S)」またはバーチャル・クロスマッチである。

キーワード：HLA 抗体、移植後モニタリング、抗体減弱法

1. 検査法

1. HLA 抗体検出法

1-1. 第1世代

Terasaki の「リンパ球細胞障害試験 (LCT)」と「抗ヒトグロブリン付加リンパ球細胞障害試験 (AHG-LCT)」はいまでも Golden Standard とされている。生きたリンパ球が必要で、その入手と準備に手間とコストがかかり、高い技術力 (経験) が必要とされる。

1-2. 第2世代

「ELISA 法」である。マイクロプレートまたはテラサキトレーに固相化した抽出 HLA 抗原に、検体血清を反応させ、洗浄後に結合した HLA 抗体を酵素標識抗-ヒトグロブリンで検出するものである。ドナーの HLA 抗原を用いるべき直接クロスマッチには適さないのが普及しなかった。

1-3. 第3世代

「フローサイトメトリー (FCM) 法」は臓器移植領域では直接クロスマッチの標準法になっている。感度が高いこと、臨床成績との相関が高いことから多くの国で採用されている。また、FCM に適したビーズに HLA 抗原を固相化した試薬も市販されている (FlowPRA Screening, FlowPRA Single Antigen, OneLambda 社)。機器の設定や判定にコツが要り、客観的判定が意外に難しい。

1-4. 第4世代

「ルミネックス法」は Luminex® beads (ルミネックス・ビーズ) をプラットフォームとする方法である。100 色の蛍光色調を認識するビーズ上に精製 HLA 抗原 (クラス I またはクラス II) が固相化してある。このビーズ群に検体血清を反応させ、洗浄後 PE 標識抗-ヒトグロブリンで蛍光標識して、フロー系 (LAB-Scan 100®) に流し、ビーズの 100 色を片方のレーザーで識別し、PE 蛍光をもう片方のレーザーで検出測定する。HLA 抗原ごとに PE 蛍光値 (IFI) が得られるので適切なカット・オフ値を設定して判定する。

HLA 抗体スクリーニング用キットが 2 社から市販されている (LABScreenPRA®, OneLambda 社。WAKFlow®, 湧永製薬)。培養細胞から免疫化学的に HLA クラス I またはクラス II 抗体を抽出精製して、ルミネックス・ビーズに固相化したものである。直接クロスマッチ法として藤原らにより immunocom-

plex capture fluorescence analysis (ICFA) 法が提案され²⁾ キットが市販されている (WAKFlow® HLA 抗体クラス I & II (ICFA), 湧永製薬)。生きたリンパ球が必要であるが、精製 HLA 抗原の問題点 (後述) をカバーする方法として注目される。

HLA 抗体の特異性同定には Single Antigen Beads 法が開発されている。遺伝子工学的手法で、単一の HLA 抗原のみを発現する培養細胞を作成し、有意の頻度である HLA 抗原をライン・アップする。培養細胞を溶解し、アフィニティー・クロマトグラフィーなどの手法で、単一の HLA 抗原を抽出・精製する (リコンビナント・HLA 抗原)。ルミネックス・ビーズへ固相化して、一つの蛍光スペクトラムをもつビーズ毎に、固相化する HLA 抗原を選択する。100 種の蛍光スペクトラムのビーズが用意できる。いまは OneLambda 社の独占的市場である (LAB-Screen Single Antigen®)。

2. 精製 HLA 抗原固相化法の留意点

精製された HLA 抗原は、細胞上にある膜貫通蛋白としての HLA 抗原と異なる抗原性 (エピトープ) をもっている。HLA Class I 分子は HLA 長鎖と $\beta 2$ ミクログロブリンのヘテロ・ダイマーで、抗原ペプチドが載っている。Class II 分子は HLA α 鎖と β 鎖のヘテロ・ダイマーである。そうした HLA 完全分子以外の長鎖蛋白や、 α 鎖または β 鎖分子も抗原として固相化されている。HLA 完全分子とは異なるエピトープが固相化されていることになる。

2-1. 「HLA 自然抗体」非 HLA 抗体

発見者 (Nadim EL-Awa) が「HLA Natural Antibody」と記載したので日本語訳の「HLA 自然抗体」が慣用語になっている。正確には非 HLA 非 allo 抗体と呼ぶべきものである。精製 HLA 抗原が固相化されたルミネックス法は非常に高感度を与えるゆえに、HLA 以外のウイルスや食物に対する抗体との交差反応をも検出する。以下は主として経験値から述べる。

2-1-1. 低力価の非 HLA 抗体

Single Antigen Beads 法では非常に高頻度 (70%) で、低力価の非 HLA 抗体が検出される。通常は蛍光値にして、1,000~2,500 程度であり、臨床的意義はほとんどない。細胞膜上の HLA 抗原との反応性につ

表 1 「HLA 自然抗体」の特異性(％＝検出割合)

A locus			B locus			C locus			DR locus		DQ locus		DP locus	
spec	%		spec	%		spec	%		spec	%	spec	%	spec	%
	MEX	JPN		MEX	JPN		MEX	JPN		MEX		MEX		MEX
A*1102	4.4	10.6	B*8201	10.6	15.9	Cw*1701	10.4	24.2	DRB1*0404	5.1	DQA1*0503,DQB1*0301	10.6	DPA1*0201,DPB1*0101	20.6
A*8001	8.6	8.3	B*4501	5.8	9.8	Cw*0403	NT	14.4	DRB1*1202	1.9	DQA1*0601,DQB1*0301	10.2	DPA1*0201,DPB1*2301	2.8
A*0101	5.6	7.6	B*1402	0.9	9.8	Cw*0702	1.2	8.3	DRB1*1601	1.9	DQA1*0303,DQB1*0301	9.3	DPA1*0401,DPB1*1301	2.3
A*6602	6.7	6.8	B*1512	10.6	8.3	Cw*0202	4.9	6.8	DRB5*0101	1.9	DQA1*0505,DQB1*0301	8.3	DPA1*0201,DPB1*1801	2.1
A*2501	5.8	6.1	B*4402	6.3	6.8	Cw*0602	3.7	6.8	DRB1*0302	1.4	DQA1*0301,DQB1*0301	6.0	DPA1*0201,DPB1*0202	1.9
A*3601	2.1	5.3	B*1516	10.0	4.5	Cw*0102	3.7	5.3	DRB1*0403	1.2	DQA1*0501,DQB1*0201	3.5	DPA1*0103,DPB1*0401	1.6
A*3101	11.3	4.5	B*5801	2.5	4.5	Cw*1802	3.0	5.3	DRB1*1001	1.2	DQA1*0102,DQB1*0502	3.2	DPA1*0103,DPB1*0402	1.6
A*4301	6.0	4.5	B*8101	4.9	3.8	Cw*0303	3.9	3.8	DRB3*0202	0.9	DQA1*0102,DQB1*0609	2.8	DPA1*0201,DPB1*0901	1.2
A*6601	6.0	4.5	B*6701	3.5	3.8	Cw*0302	4.4	3.0	DRB1*1201	0.9	DQA1*0301,DQB1*0302	2.8	DPA1*0103,DPB1*0201	0.9
A*3401	6.9	3.8	B*0702	3.5	3.8	Cw*0501	3.9	3.0	DRB4*0103	0.9	DQA1*0101,DQB1*0501	2.5	DPA1*0201,DPB1*1401	0.9
A*0203	4.4	3.8	B*3701	7.4	3.0	Cw*1402	2.8	3.0	DRB1*1502	0.7	DQA1*0401,DQB1*0402	2.3	DPA1*0201,DPB1*1901	0.9
A*2601	3.7	3.8	B*5601	3.9	3.0	Cw*0304	1.4	3.0	DRB1*0301	0.7	DQA1*0302,DQB1*0303	2.3	DPA1*0201,DQB1*1501	0.9
A*2902	2.8	3.8	B*5703	3.0	3.0	Cw*1502	3.5	1.5	DRB1*0401	0.7	DQA1*0103,DQB1*0603	2.1	DPA1*0201,DPB1*0501	0.7
A*2403	3.5	3.0	B*0801	4.2	2.3	Cw*1203	2.5	0.8	DRB1*1501	0.7	DQA1*0201,DQB1*0303	1.9	DPA1*0201,DPB1*1101	0.7
A*2301	2.5	3.0	B*4403	2.3	2.3	Cw*0801	2.1	0.8	DRB3*0101	0.7	DQA1*0301,DQB1*0304	1.9	DPA1*0201,DPB1*1701	0.7
A*3402	2.3	3.0	B*5701	2.1	2.3	Cw*1601	1.4	0.8	DRB1*0901	0.5	DQA1*0303,DQB1*0401	1.6	DPA1*0103,DPB1*0301	0.2
A*2901	2.1	3.0	B*5001	1.2	2.3				DRB5*0202	0.5	DQA1*0201,DQB1*0402	1.2	DPA1*0201,DPB1*1101	0.2
A*6901	0.9	3.0	B*4001	0.7	2.3				DRB1*0101	0.5	DQA1*0103,DQB1*0601	1.2		
A*3002	18.3	2.3	B*1401	0.0	2.3				DRB1*0801	0.5	DQA1*0102,DQB1*0602	0.5		
その他			その他						その他					
A*2402	A*3303		B*5401	B*4601					DRB1*1602		DQA1*0102,DQB1*0604			
A*0201	A*7401		B*4201	B*5501		Normal males			DRB1*0102		DQA1*0201,DQB1*0401			
A*1101	A*3201		B*4801	B*4101		JPN=Japanese # =132			DRB1*0402		DQA1*0301,DQB1*0201			
A*3301	A*6801		B*2705	B*5901		MXN=Mexican # =424			DRB1*0405		DQA1*0101,DQB1*0602			

いては不明である。健常男性の血清中に「HLA 自然抗体」として高頻度に検出される HLA 特異性を表 1 に示す。

2-1-2. 中～高力価の HLA 自然抗体

古典的な LCT 法でも健常男性血清中に HLA 自然抗体が検出されていた。有名なものに抗-B8, 抗-A11.2 (A*1102) や抗-B37 などがある。日本人男性に検出される抗-B8 は免疫原が HLA-B8 抗原とは考えられないので、自然抗体とされている。抗-A11.2 は多くが IgM 抗体で、IgG 抗体が共存する。抗-B37 を含め非常に狭い特異性を示す。臨床的意義は不明であるが、日本列島人からドナーを得る場合はほとんど問題にならない(クロスマッチが不適合になることはあまりない)。

2-1-3. 精製抗原特異的に反応する抗体

古典的な LCT 法や細胞膜上の HLA 分子を抗原とする方法 (LIFT, ICFA) では検出されないが、精製 HLA 抗原とのみ反応する抗体である。有名なものに抗-B45 (B44, ときに B49, B50 や B59 または B37 と交差反応する), 抗-B76 (B*1512) (ときに B46 と交差反応) などが知られている。しばしば高力価 (IFI 5,000~20,000) を呈する。免疫化学的手法のみで精製された抗原 (PRA 法) には反応しにくい、遺伝子工学的に精製された抗原 (Single Antigen Beads 法) では強く反応する傾向がある。おそらく、不完全 HLA 抗原; HLA 長鎖抗原などへの反応と考えられ

る。臨床的意義はないが、検査結果の判断に影響するので無視できない。

3. Single Antigen Beads 法の留意点

前述のとおり、高感度であるがゆえに検出される「いわゆる HLA 自然抗体」が高頻度に検出され、遺伝子工学で得られた精製抗原独特のエピトープへ反応する抗体がある。よってそれらを臨床的に有意な HLA アロ抗体と区別することが大事になる。それ以外に次の 2 点を留意したい。

3-1. プロゾーン現象: 血清不活化の必要性

抗原抗体反応 (血清学) の宿命である。古典的には抗原過剰域で抗体力価が低下または偽陰性になることを意味するが、抗体過剰域での現象を含めてプロゾーンと呼んでいる。ルミネックス法では極微量の精製抗原によって抗体を検出するので、抗体過剰域でプロゾーンが起こることを予想していた。最近になっていくつかの例が発見された (未発表および学会発表のみ)。意外にも補体が関与するプロゾーン現象であった。すなわち、EDTA 血漿を検体とすると IFI 値が 20,000 を超える高力価抗体であるのに、血清化すると IFI 値が 5,000 以下に下がるという現象である。もう一度 EDTA を加えて Ca^{++} をキレートしたり、加熱して不活化すると、IFI 値が復活する。補体 C1q (巨大分子) による抗体グロブリンの結合障害が推察される。

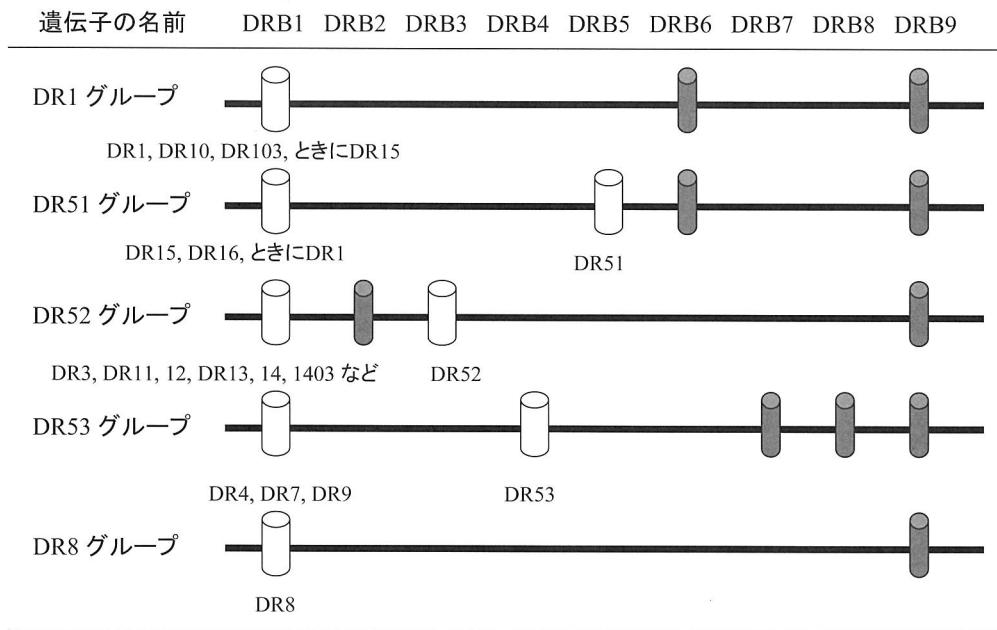


図1 HLA-DRB 領域の構造

DR1 グループや DR8 グループは発現遺伝子として DRB1 のみをもつが、DR51, 52, 53, グループは発現遺伝子として、それぞれ DRB5, DRB3, DRB4 をもっている。偽遺伝子の種類と数もグループによって異なっている。● 発現遺伝子 ■ 偽遺伝子

血清を検体とするときは 56°C 30 分加熱して不活化する前処置が必要であり、EDTA 血漿を用いる方が無難といえる。とくに臨床症例の抗体価の推移を見るときは注意を要する。

3-2. 連鎖の考慮とくに HLA クラス II 抗体特異性の判断

他のドナー抗原や免疫化学的に得られた PRA 抗原と異なり、遺伝子工学により人工的に得られた単一 HLA 抗原であることを念頭に置く。すなわち、遺伝子が近接して連鎖する抗原が、別々に精製されてビーズに固相化されているので「連鎖」の概念なしに結果を判断してはならない。最も留意しなければならないのは、HLA Class II のパネルである。とくに DR 抗原 (*DRB1* 産物) と DR51 (*DRB5* 産物), DR52 (*DRB3* 産物), DR53 (*DRB4* 産物) の関係性である。これらは *DRB* 領域に近接して存在し、非常に強い連鎖不平衡が成立している。培養パネル細胞から HLA クラス II 分子を抽出精製すると、連鎖する DR 抗原がすべて抽出される。これらを固相化した「抗体スクリーニング」用のビーズには「連鎖する抗原」の全てが含まれる。これに対して Single Antigen Beads

は単一の抗原が固相化されている。例えば、DR15 (*DRB1*1502*) と連鎖する DR51 (*DRB5*0102*) は、抗体スクリーニング用のビーズでは同じビーズに固相化されるが、Single Antigen Beads では、DR15 ビーズと DR51 ビーズが別に作成されている。ドナー候補の有するミスマッチ抗原が DR15 であるときは、レシピエントに抗-DR15 が検出されないことを確認すると同時に、抗-DR51 の存在をも否定しなければ、バーチャル・クロスマッチ適合とはいえない。逆にいえば、抗-DR51 が検出されるときは、連鎖する DR15, DR16 も (抗-DR15, -DR16 が検出されなくても) バーチャル・クロスマッチ (次項) 不適合とみなす必要がある。DRB 領域の遺伝子構造を図 1 に示す。

臨床的には HLA-A, B, DR 座しかタイプされていないドナーが多い。レシピエントに抗-HLA-C があるとき、HLA-C 座の連鎖を予測してドナー特異的 HLA 抗体 (DSA (donor specific antibody)) を推測することが求められる。同様に抗-DQ や抗-DP が検出されたときは、DR 座との連鎖で DQ 座を推測して DSA かどうかを判断したり、ときには DPB1 タ

表 2 移植 Graft や輸血血球における HLA 分子の座位別抗原の表現

Graft	HLA-A	HLA-B	HLA-Cw	HLA-DR	HLA-DQ	HLA-DP	文献
腎・末梢血管内皮	+	+	+	+	0	+	Muczynski etal (2003)(3) (2001)(4)
造血幹細胞	+	+	?	+	0	+	Ottmann etal(1988) (5) Piacibello etal (1987) (6)
血液腫瘍細胞	+	+	+~0	+	+	+	Aglietta etal (1986) (8) Falkenburg etal (1986) (9)
血小板	+	+	+	0	0	0	省略
顆粒球	+	+	?	+	?	?	
T 細胞	+	+	+	0	0	0	
活性 T 細胞	+	+	+	+	?	+	
B 細胞	+	+	+	+	+	+	
単球	+	+	+	+	0	+	

イピングが必要になる。

II. 移植臨床

HLA 抗体の臨床的意義を知るには、その標的となる HLA 抗原が移植臓器・組織・細胞に存在するかどうか第一義の問題である。HLA 座位別の抗原の有無を表 2 に示す。ついで抗体の力価 (カットオフ値) が議論になる。HLA 抗体の存否を決めるカットオフ値と、臨床的意義を決めるカットオフ値は乖離してよい。

1. 臓器移植

クロスマッチの高感度への転換と、移植後の高感度 HLA 抗体モニタリングの実施が肝要である。

1-1. 移植後 HLA 抗体モニタリングの重要性

アメリカにおける 1960 年代から 70 年前半、献腎移植後 1 年生着率は 40% に過ぎなかったが¹⁰⁾、いまや 90% を超えるようになった。免疫抑制剤の進歩のほかに、HLA 抗体の検出や直接クロスマッチ技術の改善によって、超急性拒絶や急性拒絶 (100 日まで) を防ぐことができるようになったことが要因である。しかしながら、生着腎の half-life は、1966–1975 年で 7.5 年¹⁰⁾、1987–1995 年で 7.5 年¹¹⁾ と変化なく、1996–2006 年でも 8.1 年¹¹⁾ と大きな改善は見られない。すなわち、HLA 抗体検出技術の進歩は、長期生着にはほとんど貢献していないといえる。細胞性免疫抑制剤 (cyclosporine, tacrolimus (FK-506), sirolimus, mycophenolate mofetil (MMF) その他) の使

用も長期生着に関する限り有意の相関は得られていない。さらに Bortezomib 投与による Clonal deletion プロトコールによる腎生着が、免疫抑制剤なしで得られているので (後述)、移植免疫において液性免疫が細胞性免疫を凌駕する主役であるとするコンセプトは確かなものになりつつある。

肝臓を含め (Ashihara ら)¹²⁾ 多くの移植臓器の慢性拒絶の原因が、移植後に産生される HLA 抗体であることは、膨大なデータによって証明された¹³⁾。つまり、長期生着率を高め、臓器の half-life を延長させるには、原因である HLA 抗体をモニタリングし、液性免疫を制御することが求められる。移植後 1 年以内に de novo の DSA が検出されると、拒絶が早く起こり、それ以後に検出される場合は、拒絶が遅延する。移植後 1 年以内は 3 ヶ月ごと (3, 6, 9, 12 ヶ月の 4 回)、以後、6 ヶ月～1 年ごとの HLA 抗体モニタリングが推奨される。モニタリングは HLA クラス I とクラス II 抗体スクリーニングで行う。HLA 抗体が検出されたときは、特異性を同定し、DSA かどうかを判断し抗体価の推移を見る。心臓移植ではクラス I 抗体が重視されるように、臓器によって異なる戦略があっても良い。移植後の DSA はグラフトによって、吸収されるので血清中には極わずかしが残らない。高感度な抗体スクリーニング法が必要である。IgG サブクラスのうち、IgG3 抗体が重要であるという知見が出始めている (Terasaki 私信)。

DSA が検出されたときは HLA 抗体の除去または産生を制御することが求められる。その方法につい

ては、III章で詳述する。

臨床的意義のある抗体力価については、臓器の種類、移植前か移植後かによって異なるカットオフ値が設定されるべきで、現在は議論中である。

1-2. HLA抗体保有者へのロジスティックス(兵站学)

臓器移植の待機者リストは増加の一途をたどっている。とくにHLA抗体保有者への、臓器ロジスティック問題(後述)は国際的に議論が多い。待機者のHLA抗体の有無、そのHLA抗体の特異性がわかっているならば、HLAタイプ&スクリーン(後述)など打つ手はありそうである。HLA抗体を保有する待機者の抗体同定検査を定期的に行うことを提案する。費用が問題になるが、希望者へのオプション検査(有料)であれば実施可能と考える。

2. 造血幹細胞移植

免疫系がドナー細胞によって再構築されるので、臓器移植とは異なる視点が求められる。造血幹細胞移植はもともとHLA一致のドナーからの移植が主流であり、HLA抗体の影響はほとんどなかった。かねてより血縁間HaploidenticalでHLA1座ミスマッチ移植は標準選択とされ、その後、臍帯血バンクの成立によって非血縁間臍帯血ミスマッチ移植が普及し、さらにケモリフラクトリー患者へのハプロ半合致(HLA2座以上ミスマッチ)の適用がコンセンサスを得るなど、HLAミスマッチ造血幹細胞移植が日常的に行われるようになった。

2-1. 臍帯血・HLAミスマッチ移植

当初は慣習からクロスマッチは行われず、「HLAミスマッチ移植は、とくに臍帯血移植は拒絶率が高い」ことがクローズアップされた。その中にはHLA抗体による拒絶が含まれていることは容易に推測されたが、ときまさにEBMかまびすしい時期であり、データの蓄積が要望されるままに過ぎた時期でもあった。それに先立ち、東京大学医科学研究所の臍帯血移植グループは、HLA抗体保有者への臍帯血移植を自粛する方針を出した。東京都赤十字血液センター臍帯血バンクの高梨や、兵庫臍帯血バンクの荒木らは臍帯血移植におけるHLA抗体の関与についてデータを収集し始め、ようやく2008年Takanashiら¹⁴⁾は、臍帯血移植における拒絶の主因はHLA抗体で

あり、DSAがあるときは、50%の確率で拒絶が起こることを明らかにした。その後、同じCohortで藤原ら¹⁵⁾はICSF法でDSAを検出する(4/8)とき、全例(4例)に拒絶が起こることを報告した。

一方でハプロ半合致移植におけるHLA抗体の影響については兵庫医科大学でデータが蓄積され、Yoshiharaらは移植前にDSAがあるとき、25~40%に生着不全が招来されることを明らかにした(投稿中)。2010年にはNMDP(全米骨髄バンク)のデータが明らかにされ、DSAがあるとき、拒絶のOdds ratioは22倍になんなんとすると報告された¹⁶⁾。われわれは多施設共同研究により、DSA陽性のハプロ半合致移植20例を解析し、DSAがClass I抗体であるとき25%、Class II抗体であるとき18%に拒絶を認めた。またIFIが3,800を超えるDSAは拒絶率50%、それ以下では拒絶を認めなかった。興味あることにClass II抗体のみが検出された4例にIFIの高値を含め拒絶はなかった(自家データ・学会発表のみ)。臨床的なカットオフ値を3,500にすべきかもしれない。

移植前に直接クロスマッチやHLAタイプ&スクリーン(後述)が陽性(不適合)になり、そのドナーを選択せざるを得ないときは、移植直前に血小板(ドナー候補の血小板が最適)輸血によってHLA抗体を吸収し、残存または新たに分化する抗体産生細胞をBortezomibによって除去することが薦められる(後に詳述)。血漿交換のHLA抗体の除去効果は意外に得られない。

2-2. 移植後モニタリング

移植前にHLA抗体が検出されるレシピエントは、移植後のHLA抗体モニタリングが推奨される。早期に抗体が減弱・消失すれば予後は良好なことが多い。抗体が長期に持続するときは、免疫抑制剤の減量によるGVH効果を図ることが薦められる。抗体の持続はレシピエントの免疫細胞が(ひいては腫瘍細胞)が残存している証拠と考えられるからである。実際レシピエント由来抗体が持続する症例の予後は例外なく悪い(自家データ)。

2-3. HLA抗体陽性ドナー

ドナーがHLA抗体を持っているとき、移植後にドナー由来のHLA抗体が検出されることがある(自家データ4例と学会発表データ)。ドナーの形質細胞が

レシピエント内で抗体を産生した結果と推定される。血小板輸血不応からその現象が発見された例もある(万木ら, 学会発表)。以上のことから, 移植後にドナーの免疫担当細胞がHLA抗体を産生することは普通と考えてよい。HLAミスマッチや血縁間ハプロ半合致移植のときは, ドナー由来のHLA抗体が, レシピエントのミスマッチHLA抗原と反応するとき, GVH反応を起こす可能性を否定できない。HLA不適合移植後は, 臓器移植と同様にHLA抗体モニタリングが必要な時代が来るかもしれない。ドナー由来のHLA抗体がどの程度持続するか, 臨床への影響などは今のところ不明である。

3. 輸血臨床

血小板輸血と顆粒球輸血のみ述べる。白血球除去輸血が日常的に行われるようになって, HLA適合血小板輸血の適応は依然としてあるし, 顆粒球輸血が重症再生不良性疾患(SAA)や造血幹細胞移植後などの重症感染の救命に適用される。顆粒球機能に異常がある慢性肉芽腫性疾患(CGD)への適応もある。

3-1. HLA適合血小板輸血

受血者のHLA抗体をDSAとしない血小板ドナーを選択することになる。その際, Single Antigen Beads法を用いると, 速やかにドナーの選択が可能である。Single Antigen Beads法は高感度であるゆえに, どの程度のIFIをカットオフ値とすべきか議論のあるところである。暫定的であるが3,000~5,000をカットオフ値にすることが提唱されている(高ら, 私信)。通常は血液センターに保管されたドナーリンパ球と直接クロスマッチをして出庫されるが, リンパ球の保存にはロジスティックな問題が付きまとう。クロスマッチを繰り返すうちに凍結リンパ球を費消してしまうこともある。その際は後述する「HLA T&S」を採用することがよい。いずれその方向を目指すべきかも知れない。

3-2. 顆粒球輸血¹⁷⁾

HLA抗体を有する受血者への顆粒球輸血についてコンセンサスは得られていない。出血予防のための血小板輸血と異なり, 目的の多くが感染の治療であり, 血球数を維持することではないからである。32名のSAA患者に顆粒球輸血が行われた経験が報告さ

れている(2009)¹²⁾。多くはATGとCyAの投与を受けており, 1/4はHLA抗体を持っていた。半数は細菌, 残りは真菌感染で, 平均9(2-43)回の顆粒球輸血を受け, 生存率は58%であった。輸血後の顆粒球数は予後およびHLA抗体の有無で差はなかった。過去の多くの報告もHLA抗体の影響はないとするものが多いが, HLA適合をすすめるものもある¹⁹⁾。

CGDへの顆粒球輸血は正常顆粒球によるNADPH酸化酵素の補充であり, 活性酸素による殺菌効果を得るためである。よって輸血顆粒球のrecoveryは重要である。Heimら(2010)²⁰⁾によれば, CGDにおける輸血顆粒球のrecoveryはHLA抗体があるとき $19.7 \pm 17.4\%$ (n=15), ないとき $0.95 \pm 1.59\%$ (n=16)であり有意差(p<0.01)があった。HLA抗体の有無により呼吸困難などの輸血副作用頻度にも有意差があり, HLA抗体があつて, 効果のない顆粒球輸血は避けるべきとしている。顆粒球recoveryはNADPH酸化酵素のマーカーであるdihydrorhodamine 123を用いたサイトメトリーで測定している点がおもしろい。CGDへの顆粒球輸血は造血幹細胞移植後の重症感染にも奏功している²¹⁾。

4. クロスマッチからHLA T&Sへ

脳死ドナーからの臓器移植, 臍帯血バンクからの造血幹細胞移植, HLA適合血小板輸血などにおける直接クロスマッチには, ドナーリンパ球の入手が困難なことが多い。いわゆるドナーリンパ球のロジスティック問題がある。移植におけるロジスティクス(兵站学)は, もともと高度にアロ免疫を受け広範囲HLA抗体を保有する登録レシピエントへ, 献腎臓器などが提供できない状況に発した用語であり, 臍帯血移植や, 血小板輸血にも同様の問題がある。レシピエントは主治医・移植医の保護下にあり容易に検体入手できるし, 必要な検体は血清または血漿であり保存や運搬も容易にできる。しかしながらドナーのリンパ球検体は, 血縁や家族を除き, 採取が困難なことが多いし, 運搬や保存に手間を要し, 時には入手が不可能なこともある(臍帯血移植など)。さらには脳死臓器移植ではドナーリンパ球がグラフトと同時に搬送され, 時間的制約が厳しいことも多い。移植施設のHLAラボは24時間体制をとるのが

世界の趨勢であり、専門スタッフの確保も課題であった（わが国では症例数の関係でそれほどの問題にはなっていない）。すなわち、直接クロスマッチ実施にはドナー検体の採取と、入手までの時空間的問題があり、これをドナーリンパ球のロジスティック（兵站学）問題とよび、移植領域の直接クロスマッチ実施に大きな障害となっている。つまるところ、入手しやすいレシピエントの血清だけでクロスマッチに代替できる方法論が待望されてきた。

輸血の分野では待機手術などのためのクロスマッチは、直接クロスマッチを省略して、「タイプ & スクリーン (T & S)」をするシステムが導入されて久

しい。レシピエントとドナーの ABO と Rho をタイプし、レシピエントの血清中の不規則抗体をスクリーニングしておく。不規則抗体が陰性のときはクロスマッチを省略できる。不規則抗体が陽性のときは抗体の特異性を同定して、その抗体が反応する抗原が陰性の血液を用意する。

この思想を移植の世界に導入しようというのが「HLA タイプ & スクリーン (T & S)」で、手順の概要は次のとおりである（図 2）。

- ① レシピエントとドナー候補の HLA をタイプして（または臍帯血バンクの HLA リストと照合して）、拒絶方向のミスマッチ抗原を同定する。

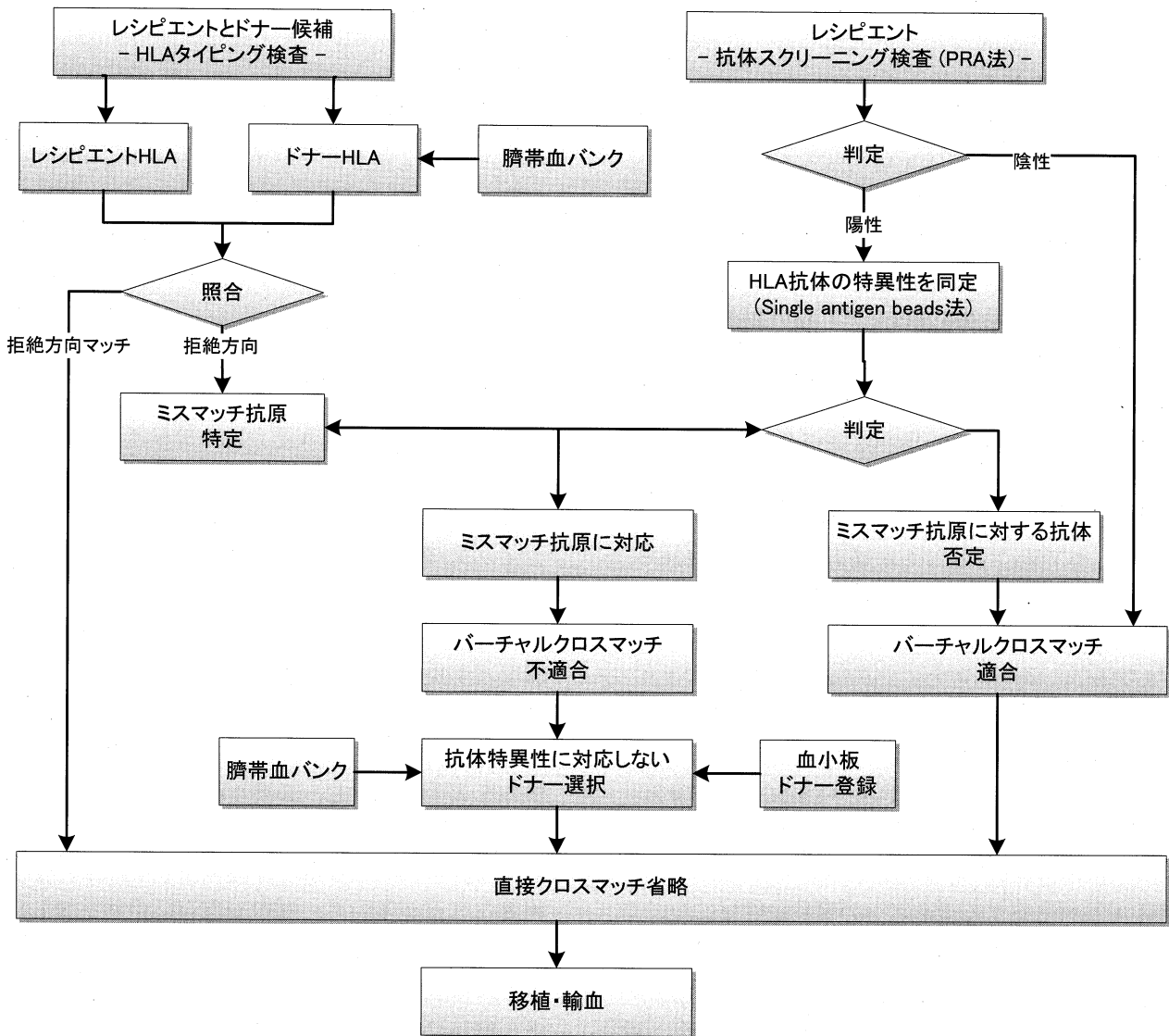


図 2 HLA タイプ & スクリーン (バーチャル・クロスマッチ)

- ② レシピエント血清中のHLA抗体スクリーニング検査を行う。
- ③ HLA抗体が陰性のときは、クロスマッチ適合と判断してこれを省略する。
- ④ HLA抗体が陽性の時は、その抗体の特異性をSingle Antigen Beads法で同定する。
- ⑤ 抗体の特異性を、同定された拒絶方向ミスマッチ抗原と比較対照する。または臍帯血バンクやHLA適合血小板ドナープールのHLAリストから適合者を検索する。
- ⑥ ドナー候補の有するミスマッチ抗原に反応する抗体が否定されるときは、クロスマッチ適合と判断して直接クロスマッチを省略する。
- ⑦ 抗体の特異性がミスマッチ抗原に対応するときは、クロスマッチ不適合と判定する。
- ⑧ 抗体の特異性に対応しないミスマッチ抗原を持つドナーを選択する。

HLAタイプ&スクリーンは筆者の造語で、最近ではアメリカなどで「Virtual Crossmatch」と称して、一部の分野(屍体臓器と臍帯血移植など)に導入されつつある²²⁾²³⁾²⁴⁾²⁵⁾。わが国でもハプロ半合致移植や臍帯血移植で一部採用され始めた。輸血分野で20年前に採用されたシステムが、移植の世界で採用できなかったのはテクノロジーのせいであり、HLA遺伝子タイピングとルミネックス法による抗体検査の迅速化と高精度・高感度が実現されて導入可能になった。

III. HLA液性免疫制御

Medawarが細胞性免疫を解明し定義して以来、移植免疫は細胞性免疫と同義であった。免疫抑制剤も細胞性免疫の制御を目的として開発された。Medawarの弟子であるTerasaki Ichiroは液性免疫の臨床的重要性に早くから注目し、精力的に臨床データを蓄積し、HLA抗体すなわち、HLA液性免疫が移植の成否、生着期間に第一義的に重要であることを明らかにした。HLA抗体検査の開発と革命にも関与してきたことは周知のことであり、彼こそがHLA血清学のルネッサンスをもたらしたといってよい。

しかるに市販の免疫抑制剤では液性免疫の制御は困難である。免疫抑制剤のカクテル(FK506と

MMF)や、MMFの大量投与や²⁶⁾、Rituximab(リツキサン[®])によるB細胞から形質細胞への転換を抑制²⁷⁾、などが試みられている。物理的な抗体除去(血漿交換や抗体除去フィルター)が行われているが、一時的な臨床効果しか得られない。多発性骨髄腫の治療薬として市販されているBortezomib(ベルケード[®] ヤンセンファーマ、武田薬品)はプロテアソーム阻害剤であり、活性化された形質細胞や活性化T細胞など細胞周期の短い細胞に働いてアポトーシスを誘導することが知られている(Everyら)²⁸⁾。HLAアロ抗体の除去効果²⁹⁾³⁰⁾の他、マウスの実験でGVLを阻害せずGVHDを予防する効果があることも注目されている(2004)³¹⁾。Korethら(2009)³²⁾は23例の非血縁間HLAミスマッチ移植にGVHD予防剤として、Bortezomib, FK-506, Methotrexateを適用した。Bortezomib関連毒性はほとんどなく、II-IV急性GVHDを3例に認め、day 180における累積頻度は13%であった。慢性GVHDは9例に認め1年累積頻度は41%であった。非再発TRMはなく、再発率は29%、全・非再発・event free生存率はそれぞれ75%、64%、59%であった。慢性GVHD治療効果もありそうである³³⁾³⁴⁾。本章ではBortezomibを中心に述べる。

1. Bortezomibの作用機序と移植への応用

プロテアソーム阻害剤で、骨髄腫治療薬として販売されている。プロテアソームは細胞内の異常構造の蛋白質や、不要蛋白質を分解する酵素を有する細胞内構造で、細胞周期に重要な役割を担っている。細胞内にある不要な蛋白質はユビキチンで標識され、ユビキチン・蛋白質は、プロテアソームに運ばれ酵素分解される(ユビキチン・プロテアソーム経路)。骨髄腫細胞をはじめ腫瘍細胞は、細胞周期に関連したこのプロテアソームに何らかの異常があり、正常細胞よりもプロテアソーム阻害に対する感受性が高いと考えられている。腫瘍は正常細胞に比べて細胞増殖が非常に早い(細胞周期が短い)ので、蛋白質の合成も正常細胞より盛んに行われ、構造異常蛋白質が過量になる。プロテアソーム阻害により、この構造異常蛋白質が分解されないと、細胞機能は低下し、アポトーシスへと誘導される。

B細胞が活性化し、抗体産生細胞：形質細胞へ分化すると細胞周期が短く増殖速度が速くなるので、Bortezomibによってアポトーシスが誘導される。抗原刺激を与えてB細胞クローンを可及的に形質細胞へ分化させた後にBortezomibを投与すると、その抗原に対するB細胞クローンが激減し、Clonal deletionに近い状態を招来させることが可能である。同様の機序がT細胞においても起こりえるので、造血幹細胞移植におけるGVHD予防への適用が示唆される。動物実験ではあるが、GVL効果を阻害しないGVHD予防法として注目されている³¹⁾。ひとつにはBortezomib自身が抗腫瘍効果(腫瘍細胞のアポトーシス)を発揮するからであろう。

2. 抗体除去(減弱)法としてのBortezomib投与

移植前にHLA抗体を保有する症例のDSA除去(クロスマッチ陰性化の狙い)や、移植後HLA抗体モニタリングで、DSAが検出されたときは、抗体除去か減弱が求められる。

Bortezomibは1回1.3 mg/m², Day 1, 4, 8, 11に投与を1クールとし、10日間の休薬後に2クール目を開始することが推奨されている。中力価抗体の減弱には1クールで効果があるが、高力価抗体には2~3クールが必要とされている。HLA抗体(IgG)の半減期は、ほぼ1ヶ月ありBortezomibの投与のみでは即効性を期待できない。造血幹細胞移植のレシピエントの場合は、血小板輸血によるHLA抗体の吸収後にBortezomibを投与することが良いと考える。血小板はドナー候補の血小板が最適で、ランダム血小板でもよい。免疫刺激により活性化する形質細胞をBortezomibで制御すれば、DSA産生クローンの除去につながるかもしれない。臓器移植では血小板輸血の代わりに血漿交換でHLA抗体を減弱させることが推奨されている。

3. Bortezomib単独による腎移植

Terasakiら³⁵⁾(私信)はすでにBortezomib投与による「Clonal Deletion」プロトコールを開発し、血縁者間腎移植に適用し、無投薬(2例)かステロイド以外の免疫抑制剤を使用しない17症例に2年以上の生着、約100症例(うち2例は無投薬)に1年以上

の生着を得ている。ときにサイクロスポリンやMMFを要する症例もあるが、多くはステロイドのみで経過している。このインドにおける臨床治験の結果を得て、アメリカでもサンフランシスコとニューヨークで治験が始まるという(Terasaki私信)。今後の発展が期待される。

4. 形質細胞除去は抗ウイルスを抑制しない

EveryとTerasakiら(2010)³⁶⁾は、移植後にDSAが検出された13例の生体腎移植のレシピエントにBortezomibを式どおり投与し、HLA抗体をSingle Antigen Beads法で1週ごとにモニターし、同時に麻疹と破傷風抗体を定量した。全員に50%以上のDSA減量を認め、10/13例に完全なDSAの消失を見た。1年後も減量効果は持続していた。しかるに抗麻疹IgGと破傷風トキソイドは1年後も変化なく、効果域にとどまったと報告している。細胞質内のreticulumへの蛋白質の蓄積が多いときは(活性化形質細胞)、プロテアソーム阻害によって細胞のアポトーシスが起るが、蛋白質の蓄積が少ないとき(ウイルスワクチンで感作されたメモリーB細胞や形質細胞)ではアポトーシスが起らず生きつづけると仮説している。

IV. HLA抗原エピトープ

HLA抗体の最も特徴的な性質は「多様な交差反応」である。HLAはアレル間のgene conversion(遺伝子交換)様の変異で進化してきた。ただし、DPB1は例外的にpoint mutationが主たる進化要因である。よって、DP座以外のHLA抗原はアミノ酸配列を共有する抗原群があり、これがエピトープとなり得るものを「交差反応抗原群」cross reactive group(CREG)として分類してきた(図3)。それを詳細に解析し発展させたのがエピトープ解析である。初期にはHLAのアミノ酸配列から共通項を見出して、仮想エピトープとして交差反応を説明していた。われわれは免疫原となる抗原が特定できる妊婦血清を得て、Single Antigen Beads法を用いてエピトープ解析を行った。輸血歴のない妊婦にHLA抗体が検出される時、その免疫原はハプロ共有の児に存在する父由来HLA抗原(inherited paternal antigens)に限

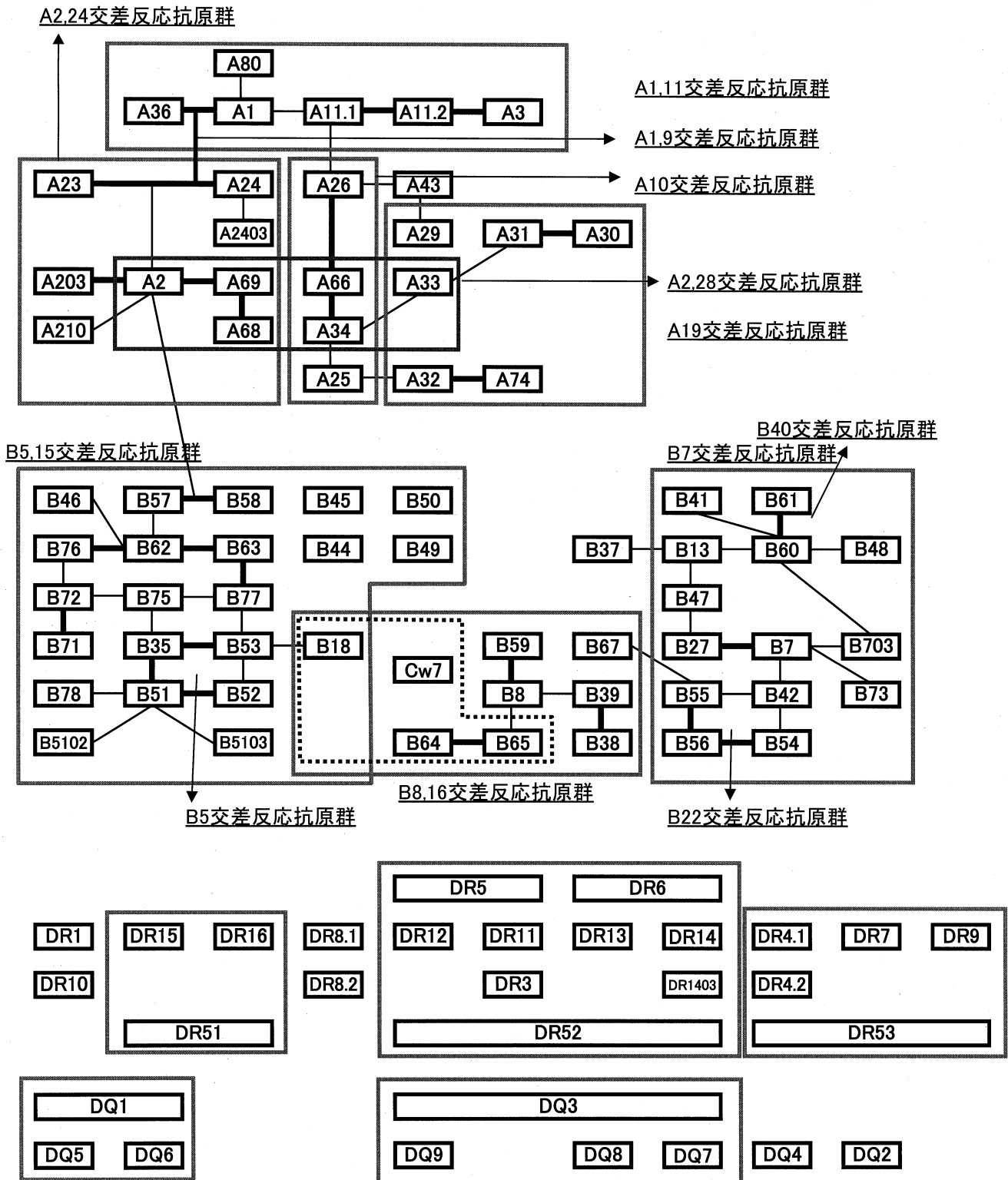


図 3 交差反応抗原群の相関図, Cross Reactive Map

表 3 HLA クラス I 抗体が認識するエピトープ図 4 を参照

仮の 名称	アミノ酸の位置						アミノ酸	エピトープをもつHLA allele										
	1	2	3	4	5	6		7	8	+α	1	2	3	4	5	6	7	8
I-0101	35	45	46				RMA	B*1301	B*1501	B*1502	B*1512	B*1513	B*1516	B*4601	B*5701			+1
I-0201	41	46	65				AAQ	B*1501	B*1502	B*1512	B*1513	B*4601						
I-0301	43	62					QR	A*2501	A*2601	A*3301	A*3303	A*3401	A*6601	A*6602	A*6801			+2
I-0302	43	69					PA	B*0702	B*1516	B*2705	B*2708	B*4201	B*5401	B*5501	B*5601			+7
I-0303	43	69	76				PAE	B*0702	B*1516	B*2705	B*2708	B*4201	B*5401	B*5501	B*5601			+6
I-0401	45	62	65	66	69	71	TRQITT	B*1801	B*3501	B*3701	B*5101	B*5102	B*5201	B*5301	B*7801			
I-0501	62	63					GE	A*0201	A*0203	A*0206	A*0207	B*5701	B*5703	B*5801				
I-0502	43	62	66	76	79		QGKVG	A*0201	A*0203	A*0206								
I-0601	65	66	69				QIA	B*0702	B*2705	B*2708	B*4201	B*5401	B*5501	B*5601	B*6701			+3
I-0602	65	66	69	70			RKAH	A*0201	A*0203	A*0206								
I-0603	65	66	69	70			QIAQ	B*0702	B*4201	B*5401	B*5501	B*5502	B*5601	B*6701	B*8101			+1
I-0604	65	66	70				GKH	A*2301	A*2402	A*2403								
I-0605	65	66	70				RNH	A*0101	A*2501	A*2601	A*3101	A*3201	A*3301	A*3303	A*3601			+3
I-0606	65	69	70	73			QRQT	B*4601	C*0102	C*0202	C*0302	C*0303	C*0304	C*0501	C*0801			+3
I-0607	66	69	70				KAH	A*0201	A*0203	A*0206	A*2301	A*2402	A*2403					
I-0608	65	69	80				QTI	B*1513	B*3801	B*4901	B*5101	B*5102	B*5201	B*5301	B*5901			
I-0701	67	163					FT	B*5901	B*0801									
I-0801	69	80	82	83			TNRG	B*0801	B*1401	B*1402	B*1501	B*1502	B*1503	B*1510	B*1512			+13
I-0901	73	76	77				TEN	A*2301	A*2402	A*2403	B*1301	B*1513	B*1516	B*3801	B*4402			+10
I-0902	73	76	77				TVS	B*4601	C*0102	C*0302	C*0303	C*0304	C*0801	C*1402	C*1601			
I-0903	73	76	77				TAN	A*0101	A*1101	A*1102	A*2501	A*2601	A*2901	A*2902	A*3401			+9
I-0904	73	76	77				IVD	A*3101	A*3301	A*3303								
I-0905	76	77	80				ENI	A*2301	A*2402	A*2403	B*1513	B*1516	B*3801	B*4901	B*5101			+7
I-0906	76	77	80				ANT	A*0101	A*2601	A*2901	A*2902	A*3601	A*4301	A*8001				
I-0907	79	80					RI	A*2301	A*2402	A*2403	A*2501	A*3201	B*1513	B*1516	B*3801			+9
I-1001	76	163					EE	B*0702	B*1301	B*2705	B*2708	B*4001	B*4002	B*4701	B*4801			+1
I-1101	80	90					IA	A*2301	A*2402	A*2403	A*3201	B*1513	B*1516	B*3801	B*4901			+8
I-1102	82	83					LR	A*2301	A*2402	A*2403	A*2501	A*3201	B*1301	B*1513	B*1516			+15
I-1103	90						D	A*0101	A*1101	A*1102	A*2501	A*2601	A*3401	A*3601	A*4301			+7
I-1201	109	163					LT	B*0801	B*1401	B*1402	B*1801	B*3701	B*3801	B*3901	B*3905			+16
I-1301	127						K	A*0201	A*0203	A*0206	A*2301	A*2402	A*2403	A*6801	A*6802			+1
I-1401	138	142	144	145	149		MTKHA	A*0201	A*0203	A*0206	A*6801	A*6802	A*6901					
I-1402	142	143	144				ISQ	B*4001	B*4801	B*8101	C*1701							
I-1403	144	145	149				QRT	A*2501	A*2601	A*3401	A*4301	A*6601	A*6602					
I-1501	149	150	151				AAH	A*0201	A*0203	A*0206	A*0301	A*1101	A*1102	A*2402	A*2403			+3
I-1502	150	151	152				AHA	A*1101	A*1102									
I-1503	150	151	152				AHV	A*0201	A*0206	A*2402	A*2403	A*6801	A*6802	A*6901				
I-1504	150	151	152				ARE	B*0702	B*1401	B*1402	B*1501	B*1502	B*1503	B*1510	B*1512			+25
I-1601	163	166	167				EEW	A*6602	B*0702	B*1301	B*2705	B*2708	B*4001	B*4002	B*4701			+5
I-1602	163	166	167				LEW	B*1501	B*1502	B*1503	B*1510	B*1513	B*1516	B*3501	B*4005			+15
I-1603	163	166	167				REW	A*1101	A*1102	A*2501	A*2601	A*4301	A*6601					
I-1604	166	167					DG	A*0101	A*2301	A*2402	A*8001	B*1512						
I-1605	163						R	A*0101	A*1101	A*1102	A*2501	A*2601	A*4301	A*6601				
I-1701	177	178					DK	B*0702	B*4001	B*4801	B*8101							
I-1801	184	207					AS	A*0201	A*0203	A*0206	A*2501	A*2601	A*2901	A*2902	A*3101			+12
I-1901	267	268					PE	C*0102	C*0202	C*0302	C*0303	C*0304	C*0401	C*0501	C*0602			+6
I-1902	267	268					QE	B*7301	C*0702	C*1701								

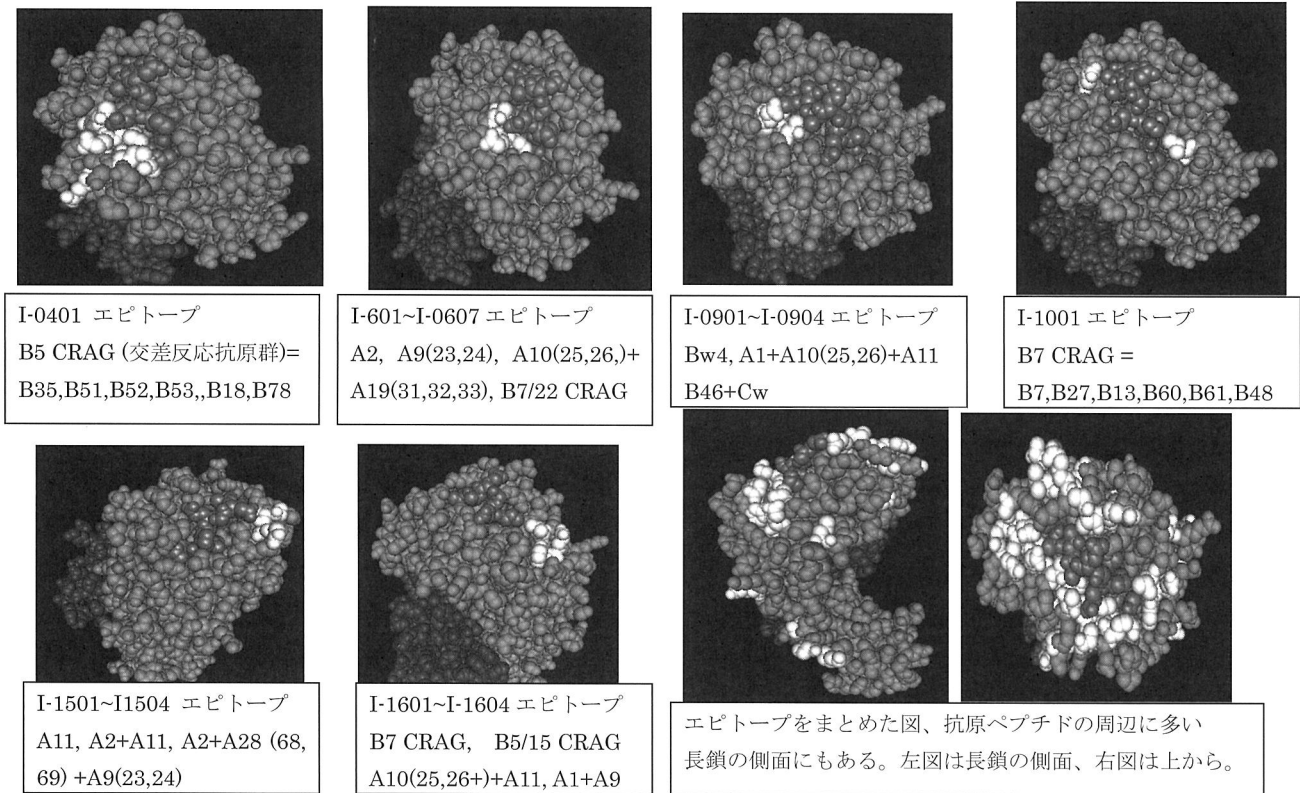


図4 HLA クラス I 抗原のエピトープ。アミノ酸と特異性は表4参照, 同位置で複数のエピトープ特異性が表現される

定され、座位あたり最大1抗原である。反応陽性となる allele/ 抗原群と免疫原 HLA との共通エピトープを「赤座 Epigraph ソフトウェア (エクセル・マクロ)」(赤座達也の好意による) で解析した。その結果を表3にまとめその一部を図4に図示する³⁷⁾。抗原エピトープはペプチドを受容する位置の α -Helix 周辺に集中して存在することがわかる。また、分子の同じ位置に複数以上のエピトープが表現されることも理解でき、交差反応の概念も整理できる。多クローンである高度免疫アロ抗体を単一 HLA 抗原で吸収後に、解離抗体 (おそらく単クローン抗体) を得て、Single Antigen Beads 法でその特異性を判定し、エピトープを推定するという解析も行われている³⁸⁾。

われわれは HLA エピトープ解析をすすめ、抗体産生につながりやすい免疫優性エピトープ (Immunodominant Epitope) を解明し、HLA の組み合わせによって液性免疫が刺激されやすいものと、抗体レスポンスが起りにくい組み合わせを予知できるようにしたいと考えている。これにより、移植の予後推

測が期待されるからである³⁷⁾。

参考文献

1. Terasaki PI, Cai J. Human leukocyte antigen antibodies and chronic rejection: from association to causation. *Transplantation* 2008; 86: 377-83.
2. Fujiwara K, Shimano K, Tanaka H, et al: Application of bead array technology to simultaneous detection of human leukocyte antigen and human platelet antigen antibodies. *Vox Sang*, 2009. **96**: 244-251,
3. Muczynski KA, Cotner T, Anderson SK.: Unusual expression of human lymphocyte antigen class II in normal renal microvascular endothelium. *Kidney Int.* 2001 Feb; 59(2): 488-97.
4. Muczynski KA, Ekle DM, Coder DM, Anderson SK: Normal human kidney HLA-DR-expressing renal microvascular endothelial

- cells: characterization, isolation, and regulation of MHC class II expression. *J Am Soc Nephrol*. 2003 May; 14(5): 1336–48.
5. Ottmann OG, Nocka KH, Moore MA, Pelus LM.: Differential expression of class II MHC antigens in subpopulations of human hematopoietic progenitor cells. *Leukemia*. 1988 Oct; 2(10): 677–86.
 6. Busch FW, Langer M, Pawelec G, Ziegler A, Wernet P, Bühring HJ, Meyer P, Müller C.: A-class II antigens on human hematopoietic progenitors. *Blut*. 1987 Mar; 54(3): 179–88.
 7. Piacibello W, Aglietta M, Stacchini A, Spinelli P, Salvetti L, Kerim S, Malavasi F, Infelise V, Resegotti L, Gavosto F.: Expression of HLA class II determinants by normal and chronic myeloid leukemia progenitors. *Leuk Res*. 1987; 11(3): 285–90.
 8. Aglietta M, Piacibello W, Stacchini A, Dezza L, Sanavio F, Malavasi F, Infelise V, Resegotti L, Gavosto F.: Expression of HLA class II (DR, DQ) determinants by normal and chronic myeloid leukemia granulocyte/monocyte progenitors. *Cancer Res*. 1986 Apr; 46(4 Pt 1): 1783–7.
 9. Falkenburg JH, Fibbe WE, Veenhof WF, Konig F, van Eeden G, Voogt PJ, Jansen J.: Selective removal of clonogenic neoplastic B cells from human bone marrow using anti-HLA-DQ antibodies and complement. *Exp Hematol*. 1986 Feb; 14(2): 101–7.
 10. Fifteen years of HL-A: what is the importance of HL-A compatibility for clinical outcome of renal transplantations? *Vox Sang* 1978. 34: 171–88.
 11. Kaneku HK, Terasaki PI. Thirty year trend in kidney transplants: UCLA and UNOS Renal Transplant Registry. *Clin Transpl* 2006: 1–27.
 12. Ashihara E, Tsuji H, Sakashita H, Haga H, Yurugi K, Kimura S, Egawa H, Manabe T, Uemoto S, Maekawa T.: Antidonor antibody in patients receiving ABO-identical and HLA mismatched living donor liver transplants: effect on survival. *Transplantation*. 2007; 83(4): 506–9.
 13. Everly MJ., Terasaki PI: Monitoring and treating posttransplant human leukocyte antigen antibodies. *Human Immunology* 2009. 70: 655–659.
 14. Takanashi M, Fujiwara K, Tanaka H, Satake M, Nakajima K.: The impact of HLA antibodies on engraftment of unrelated cord blood transplants. *Transfusion*. 2008 Apr; 48(4): 791–3.
 15. 藤原孝記, 高梨美乃子, 田中秀則, 柏瀬貢一, 佐竹正博, 中島一格: 非血縁者間臍帯血移植におけるレシピエントHLA抗体と生着の関連性について; HLA ミスマッチ移植におけるICFA法を用いた交差試験の有用性. *MHC* 2010 17(1). 39–46.
 16. Spellman S, Bray R, Rosen-Bronson S, Haagen-son M, Klein J, Flesch S, Vierra-Green C, Anasetti C. The detection of donor-directed, HLA-specific alloantibodies in recipients of unrelated hematopoietic cell transplantation is predictive of graft failure. *Blood*. 2010 Apr 1; 115(13): 2704–8.
 17. Massey E, Paulus U, Doree C, Stanworth S. Granulocyte transfusions for preventing infections in patients with neutropenia or neutrophil dysfunction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009 Jan 21; (1): CD005341.
 18. Quillen K, Wong E, Scheinberg P, Young NS, Walsh TJ, Wu CO, Leitman SF. Granulocyte transfusions in severe aplastic anemia: an eleven-year experience. *Haematologica*. 2009 Dec; 94(12): 1661–8.
 19. Atallah E, Schiffer CA. Granulocyte transfusion. *Curr Opin Hematol*. 2006 Jan; 13(1): 45–9.
 20. Heim KF, Fleisher TA, Stroncek DF, Holland SM, Gallin JI, Malech HL, Leitman SF. The relationship between alloimmunization and post-transfusion granulocyte survival: experience in

- a chronic granulomatous disease cohort. *Transfusion*. 2010 Dec 22. doi: 10.1111/j.1537-2995.
21. Bielorai B, Toren A, Wolach B, Mandel M, Golan H, Neumann Y, Kaplinisky C, Weintraub M, Keller N, Amariglio N, Paswell J, Rechavi G. Successful treatment of invasive aspergillosis in chronic granulomatous disease by granulocyte transfusions followed by peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*. 2000 Nov; 26(9): 1025–8.
 22. Tambur AR, Ramon DS, Kaufman DB, et al: Perception versus reality?: Virtual crossmatch — how to overcome some of the technical and logistic limitations. *Am J Transplant*. 2009. 9: 1886–93.
 23. Gutman JA, McKinney SK, Pereira S, et al: Prospective monitoring for alloimmunization in cord blood transplantation: “virtual crossmatch” can be used to demonstrate donor-directed antibodies. *Transplantation*. 2009. 287(3): 415–8.
 24. Zachary AA, Sholander JT, Houp JA, Leffell MS.: Using real data for a virtual crossmatch. *Hum Immunol*. 2009. 70: 574–9.
 25. Bingaman AW, Murphey CL, Palma-Vargas J, Wright F.: A virtual crossmatch protocol significantly increases access of highly sensitized patients to deceased donor kidney transplantation. *Transplantation*. 2008. 86: 1864–8.
 26. Rebellato LM, Zadeh S, Ozawa M, et al. Mycophenolic acid may reduce donor specific HLA antibody strength in kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2009; 9: (Suppl 2): 641 (Abstract).
 27. Becker YT, Becker BN, Pirsch JD, Sollinger HW. Rituximab as treatment for refractory kidney transplant rejection. *Am J Transplant* 2004; 4: 996–1001.
 28. Everly MJ, Everly JJ, Susskind B, Brailey P, Arend LJ, Alloway RR, Roy-Chaudhury P, Govil A, Mogilishetty G, Rike AH, Cardi M, Wadih G, Tevar A, Woodle ES. Bortezomib provides effective therapy for antibody- and cell-mediated acute rejection. *Transplantation*. 2008 Dec 27; 86(12): 1754–61.
 29. Perry DK, Burns JM, Pollinger HS, Amiot BP, Gloor JM, Gores GJ, Stegall MD. Proteasome inhibition causes apoptosis of normal human plasma cells preventing alloantibody production. *Am J Transplant*. 2009 Jan; 9(1): 201–9.
 30. Diwan TS, Raghavaiah S, Burns JM, Kremers WK, Gloor JM, Stegall MD. The impact of proteasome inhibition on alloantibody-producing plasma cells in vivo. *Transplantation*. 2011 Mar 15; 91(5): 536–41.
 31. Sun K, Welniak LA, Panoskaltis-Mortari A, O’Shaughnessy MJ, Liu H, Barao I, Riordan W, Sitcheran R, Wysocki C, Serody JS, Blazar BR, Sayers TJ, Murphy WJ. Inhibition of acute graft-versus-host disease with retention of graft-versus-tumor effects by the proteasome inhibitor bortezomib. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004 May 25; 101(21): 8120–5.
 32. Koreth J, Stevenson KE, Kim HT, Garcia M, Ho VT, Armand P, Cutler C, Ritz J, Antin JH, Soiffer RJ, Alyea EP 3rd. Bortezomib, tacrolimus, and methotrexate for prophylaxis of graft-versus-host disease after reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation from HLA-mismatched unrelated donors. *Blood*. 2009 Oct 29; 114(18): 3956–9.
 33. Mateos-Mazon J, Pérez-Simón JA, Lopez O, Hernández E, Etxebarria J, San Miguel JF. Use of bortezomib in the management of chronic graft-versus-host disease among multiple myeloma patients relapsing after allogeneic transplantation. *Haematologica*. 2007 Sep; 92(9): 1295–6.
 34. Koreth J, Alyea EP, Murphy WJ, Welniak LA. Proteasome inhibition and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a review. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009 Dec; 15(12): 1502–12.

35. Trivedi HL, Kaneku H, Terasaki PI et al: Clonal Deletion Using Total Lymphoid Irradiation with No Maintenance Immunosuppression in Renal Allograft Recipients. *Clinical Transplants* 2009, 265–280.
36. Everly MJ, Terasaki PI, Hopfield J, Trivedi HL, Kaneku H. Protective immunity remains intact after antibody removal by means of proteasome inhibition. *Transplantation*. 2010 Dec 27; 90(12): 1493–8.
37. Maruya E, Sasaki N, El-Awar N, Akaza T, Kitawaki J, Saji H, and Paul. Terasaki PI: Immunogenic HLA Class I Epitopes Identified by Humoral Response to Pregnancies. *Clinical Transplants* 2008, 215–227
38. Nadim El-Awar N, Terasaki PI, Nguyen A, Sasaki N, Morales-Buenrostro, LE, Saji H, Maruya E, Poli F: Epitopes of human leukocyte antigen class I antibodies found in sera of normal healthy males and cord blood. *Human Immunol.* 2009. 70: 844–853.

第9回日本組織適合性学会近畿地方会 抄 録 集

会 期：2011年2月5日(土)

会 場：参天製薬株式会社
大阪市東淀川区下新庄 3-9-19
TEL：06-6321-7000

世話人：永尾 暢夫
神戸常盤大学 保健科学部医療検査学科
〒653-0838 神戸市長田区大谷町2丁目6-2
TEL：078-611-1821 FAX：078-643-4361
E-mail：n.1121nagao@kobe-tokiwa.ac.jp

共 催：財団法人 大阪腎臓バンク

【参加費】

1. 正会員：2000円
2. 学 生：1000円(学生証提示)
3. 世話人：3000円

全て懇親会費も含まれます。

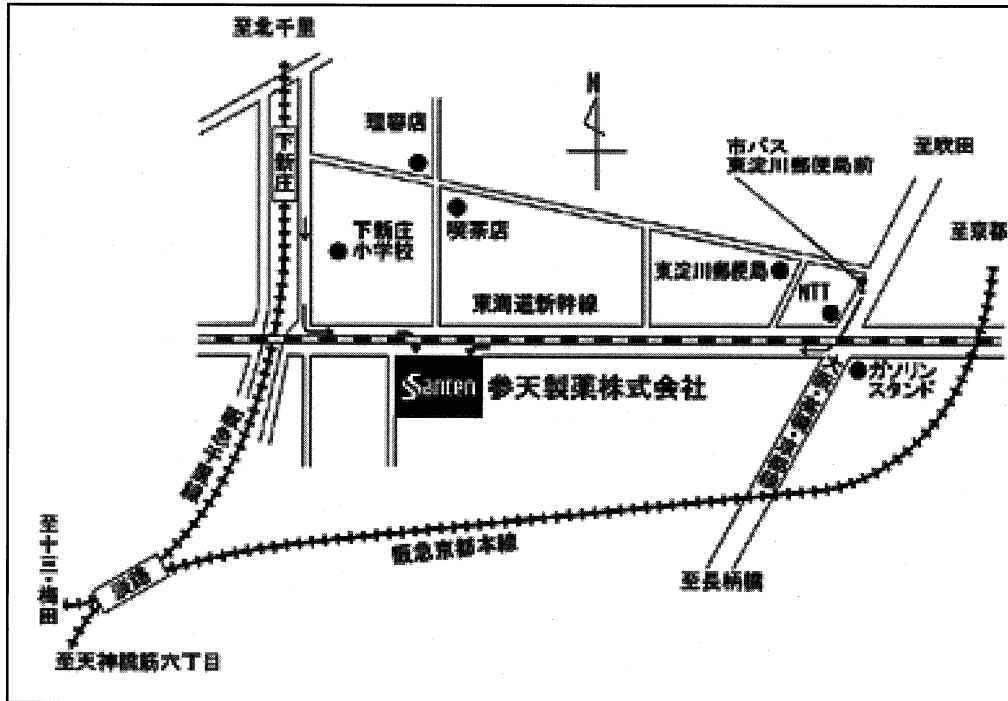
【会議等】

1. 世話人会：12時00分～13時00分
2. 総 会：13時00分～13時20分
3. 意見交換会：17時00分～

【会場地図】

参天製薬株式会社 本社案内図

大阪市東淀川区下新庄 3-9-19 TEL 06-6321-7000



新大阪駅より (所要時間: 約 30 分)

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

地下鉄堺筋線日本橋、北浜方面より (地下鉄と阪急が相互乗り入れ)

北千里行きに乗車し、下新庄駅下車。下新庄駅から徒歩 5 分。

JR 大阪駅、阪神・地下鉄・阪急 梅田方面より

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

プログラム

9時30分

受付開始

10時00分～10時30分

オープニングセミナー

座長 谷 慶彦 (大阪府赤十字血液センター)

「新しいHLA適合血小板関連検査法の紹介」

高陽淑 (大阪府赤十字血液センター 検査三課)

10時40分～11時20分

一般演題 (1)

座長: 佐藤 壯 (札幌北榆病院)

1. 蛍光ビーズ法 (Luminex 法) における dithiothreitol 処理 (DTT) の影響について
○大沼 豪¹⁾, 林 晃司¹⁾, 丸屋 悦子¹⁾, 佐治 博夫¹⁾, 吉原 哲²⁾, 谷口 享子²⁾, 小川 啓恭²⁾
特定非営利活動法人 HLA 研究所¹⁾, 兵庫医科大学附属病院²⁾
2. LABScreen Single Antigen におけるプロゾーン現象への補体の関与
○黒田 ゆかり¹⁾, 小田 秀隆¹⁾, 浅尾 洋次¹⁾, 中山 みゆき¹⁾, 平田 康司²⁾, 井上 純子¹⁾,
永吉 裕二¹⁾, 大熊 重則²⁾, 迫田 岩根¹⁾, 友成 洋子¹⁾, 佐藤 博行¹⁾, 清川 博之¹⁾
日本赤十字社九州血液センター 技術部¹⁾,
岡山県赤十字血液センター 検査課²⁾
3. HLA 抗体検査に使用する血漿と血清の測定値の違いについて
○藤井 直樹¹⁾, 林 晃司¹⁾, 丸屋 悦子¹⁾, 佐治 博夫¹⁾, 吉原 哲²⁾, 谷口 享子²⁾, 小川 啓恭²⁾
特定非営利活動法人 HLA 研究所¹⁾, 兵庫医科大学附属病院²⁾
4. DSA 陽性 HLA ミスマッチ造血幹細胞移植における IgG 型及び IgM 型抗体について
○林 晃司¹⁾, 藤井 直樹¹⁾, 大沼 豪¹⁾, 吉原 哲²⁾, 谷口 享子²⁾, 吉田 喬³⁾, 丸山 裕之³⁾,
石山 賢一⁴⁾, 萬納寺 聖仁⁵⁾, 丸屋 悦子¹⁾, 佐治 博夫¹⁾, 小川 啓恭²⁾
特定非営利活動法人 HLA 研究所¹⁾, 兵庫医科大学附属病院²⁾,
富山県立中央病院³⁾, 高槻赤十字病院⁴⁾, 川崎医科大学附属病院⁵⁾

11時20分～12時00分

一般演題(2)

座長：荒木 延夫(兵庫県赤十字血液センター)

5. 患者がHLA抗体を保有した生体肝移植症例

○山岡 学¹⁾, 大西 修司¹⁾, 山本 菜美¹⁾, 井上 まどか¹⁾, 寺島 由香利¹⁾, 大西 哲司¹⁾, 阿部 操²⁾,
森 眞一郎¹⁾, 野村 昌作¹⁾
関西医科大学附属枚方病院 輸血部¹⁾, 関西医科大学香里病院 臨床検査部²⁾

6. 血小板輸血における患者抗HLA抗体と非溶血性輸血副作用の関係

○荒木 延夫, 坊池 義浩, 馬淵 理
兵庫県赤十字血液センター

7. 口腔内粘膜細胞検体の保存方法の検討

○末上 伸二, 大沼 豪, 二神 貴臣, 小島 裕仁, 辻野 貴史, 林 晃司, 吉田 喬, 藤井 直樹,
西川 美年子, 丸屋 悦子, 赤座 達也, 佐治 博夫
特定非営利活動法人HLA研究所

8. 造血幹細胞移植後に体細胞の一部がドナータイプに置き換わった一例

—検査に与える影響も含めて—

○小島 裕人¹⁾, 浜之上 聡²⁾, 二神 貴臣¹⁾, 辻野 貴史¹⁾, 林 晃司¹⁾, 楠木 靖史¹⁾, 吉田 喬¹⁾,
藤井 直樹¹⁾, 末上 伸二¹⁾, 西川 美年子¹⁾, 丸屋 悦子¹⁾, 赤座 達也¹⁾, 佐治 博夫¹⁾
特定非営利活動法人HLA研究所¹⁾, 神奈川県立こども医療センター²⁾

12時00分～13時00分

昼食・世話人会

13時00分～13時20分

総会

13時30分～15時30分

シンポジウム

「臓器移植の最近の話題」

座長 一戸 辰夫 (京都大学医学部附属病院)
岡 芳弘 (大阪大学大学院医学系研究科)

- 1) 造血幹細胞移植における KIR 適合性
一戸辰夫 (京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科)
- 2) HLA 半合致造血幹細胞移植について
池亀和博 (兵庫医科大学血液内科)
- 3) iPS 細胞による再生医療の現状と展望 —iPS 細胞バンクについて—
木村貴文 (京都大学 iPS 細胞研究所・規制科学部門)
- 4) 腎移植と HLA
橋本光男 (県立西宮病院・腎疾患総合医療センター)
- 5) がん免疫応答解析における HLA 型解析の重要性
西川博嘉 (大阪大学免疫学フロンティア研究センター)

15時30分～15時40分

休憩

15時40分～16時40分

特別講演

座長 永尾 暢夫 (神戸常盤大学保健科学部)

「次世代シーケンサーを用いた HLA 領域のリシーケンシングによる多型解析」

猪子 英俊 (東海大学医学部基礎医学系分子生命科学)

17時～

懇親会

(10:00~10:30)

オープニングセミナー

座長 谷 慶彦 (大阪府赤十字血液センター)

「新しい HLA 適合血小板関連検査法の紹介」

高 陽淑

大阪府赤十字血液センター 検査三課

新しいHLA 適合血小板関連検査法の紹介

高 陽淑

大阪府赤十字血液センター 検査三課

【背景】

患者の血小板数をコントロールすることは、血小板減少を伴う血液疾患や悪性腫瘍の化学療法等において非常に重要な要素である。しかし、輸血や母児不適合等でHLA抗体を産生した輸血患者においては血小板輸血の効果がなくなるケースも散見されてきた。

一方、1986年から全国の赤十字血液センターにおいて成分献血が新しい献血方法の一つとして導入され、一人の献血者から高単位の血小板製剤を得る事が出来るようになった。これを契機に大阪府赤十字血液センターでは対象患者13名(特定医療機関)、HLAタイピング済の血小板登録ドナー2,363名での試行的なHLA適合血小板供給を開始した。

1990年に濃厚血小板HLA「日赤」(PC-HLA)として薬価に収載され正式な製品となってからは、対象患者は年々増加し24年後の2010年11月までに累計約1400名となった。また、その患者群に対応するHLAタイピング済み成分献血登録ドナーは累計約31,000名(いずれも検査部門統合後の管内センター分を含む)となりPC-HLAの安定供給に貢献する事ができた。

【新たな問題点】

開始当初より血小板登録ドナーのHLAタイピング、患者のHLA抗体スクリーニング、およびPC-HLA供給時の交差適合試験法においてはLCT、AHG-LCT法を標準法として用いてきた。しかし、抗体の検出感度が低いためにHLA抗体を産生初期の

段階では見逃す可能性があり、結果としてPC-HLAを輸血しても効果が得られない事例があること、また、この方法に必要な試薬等の特殊性からその確保が困難な状況になってきたことなどが新たな問題点として浮上してきた。

【方法変更への過程】

そこで平成19年から日赤内の白血球ワークショップ等において次世代の標準法として患者のHLA抗体検査には精製HLA抗原蛍光ビーズ法、交差適合試験にはImmunocomplex Capture Fluorescence Analysis (ICFA法)の導入について検討してきた。これらの方法は抗体の検出感度も非常に高く、さらに測定は蛍光ビーズ測定装置(Luminex200)、使用試薬は市販キットを用いるために測定データの客観性や試薬管理の容易さにおいても有用で、これまで以上に安全で有効なPC-HLA輸血が期待できる検討結果が得られた。また、成分献血登録ドナーのHLAタイピングも2010年4月よりDNAタイピング(Luminex法)に変更しており、2010年12月15日で全てが新検査法に移行している。

【結語】

本学会では、HLA適合血小板供給試行的開始から四半世紀を経た現在の血液センターにおけるHLA適合血小板関連検査の流れをあらためて紹介するとともに、新検査法のなかでも特に交差適合試験として導入されたICFA法についてその特徴やAHG-LCT法との比較、実施後の状況などを報告する。

(10:40~11:20)

一般演題 (1)

座長：佐藤 壯 (札幌北榆病院)

演題番号 1~4

1. 蛍光 beads 法 (Luminex 法) における dithiothreitol (DTT) 処理の影響について

○大沼 豪¹⁾, 林 晃司¹⁾, 丸屋 悦子¹⁾, 佐治 博夫¹⁾, 吉原 哲²⁾, 谷口 享子²⁾ 小川 啓恭²⁾

NPO 法人 HLA 研究所¹⁾, 兵庫医科大学附属病院²⁾

【はじめに】

我々は HLA 抗体検査を蛍光 beads 法 (Luminex 法) で実施している。検査結果で Negative control beads (NC) の MFI (Median Fluorescent Intensity) が 3 桁以上, Positive control beads (PC) が 4 桁以下を示し, 検体 (血清 / 血漿) 中に非特異反応や阻害反応を起こす不純物質を含む場合がある。このような結果を示した検体については, 不純物質を除く目的で AdsorbOut (AO) 処理後, 検査を実施している。

Zachary [Human Immunology 71 (2010) 45–49] らは, 阻害物質を除くため dithiothreitol (DTT) を行うと PC/NC の値は高くなり, 各 beads の反応性も良くなると報告している。今回我々は, この DTT 処理の影響について検討した。

【材料・方法】

DSA 陽性の患者検体 (血清 / 血漿) で, 抗体検査の結果, AO 処理を必要としなかった 11 検体と処理を必要とした 5 検体を用い, 3 種の処理 (NT [未処理]・AO・DTT) を実施し, Single Antigen beads

(SA) で検査した。処理を必要としなかった検体の MFI を基準として, 日本人に特異的な抗原の SA に対する反応性を比較した。

【結果・考察】

- NC の MFI で 100 以下のものは AO 処理で 81%, DTT 処理で 6% であり, PC の MFI で 10000 以上のものは, AO 処理と DTT 処理では共に 100% であった。
- 陰性を示す SA の MFI は, AO 処理も DTT 処理もほとんど変化はみられなかった。
- 陽性を示す SA の MFI が向上した beads は, AO 処理で 82, DTT 処理で 54 であり, MFI が減弱した beads は, AO 処理で 0, DTT 処理で 28 (例: NT: 15,150 → DTT: 2,842)。

日本人検体では, Zachary らの報告と同様な結果と, 各 beads の反応性が悪くなる結果が得られた。DTT 処理後の検査結果の判断には注意を要する場合がある。

2. LABScreen Single Antigen における プロゾーン現象への補体の関与

○黒田 ゆかり¹⁾, 小田 秀隆¹⁾, 浅尾 洋次¹⁾, 中山 みゆき¹⁾, 平田 康司²⁾, 井上 純子¹⁾,
永吉 裕二¹⁾, 大熊 重則²⁾, 迫田 岩根¹⁾, 友成 洋子¹⁾, 佐藤 博行¹⁾, 清川 博之¹⁾

日本赤十字社九州血液センター 技術部¹⁾, 岡山県赤十字血液センター 検査課²⁾

【はじめに】

LABScreen Single Antigen (以降 LAB SA) におけるプロゾーン現象を検討していく中で, その原因に補体が関与し非働化によりプロゾーン現象を回避可能であることが判明したので報告する。

【対象】

高力価の HLA 抗体保有が推測された 4 症例を対象とした。2 症例は NAIT 確認検査依頼があった母親検体, 残り 2 症例は HLA 適合血小板適応患者検体。

【方法】

LAB SA 用 NC 血清で希釈した検体においてプロゾーン現象を確認し, その後 2 症例では新鮮血清において, 非処理通常血清, 凍結解凍血清および 56°C 30 分間非働化血清を用いて反応性を比較した。

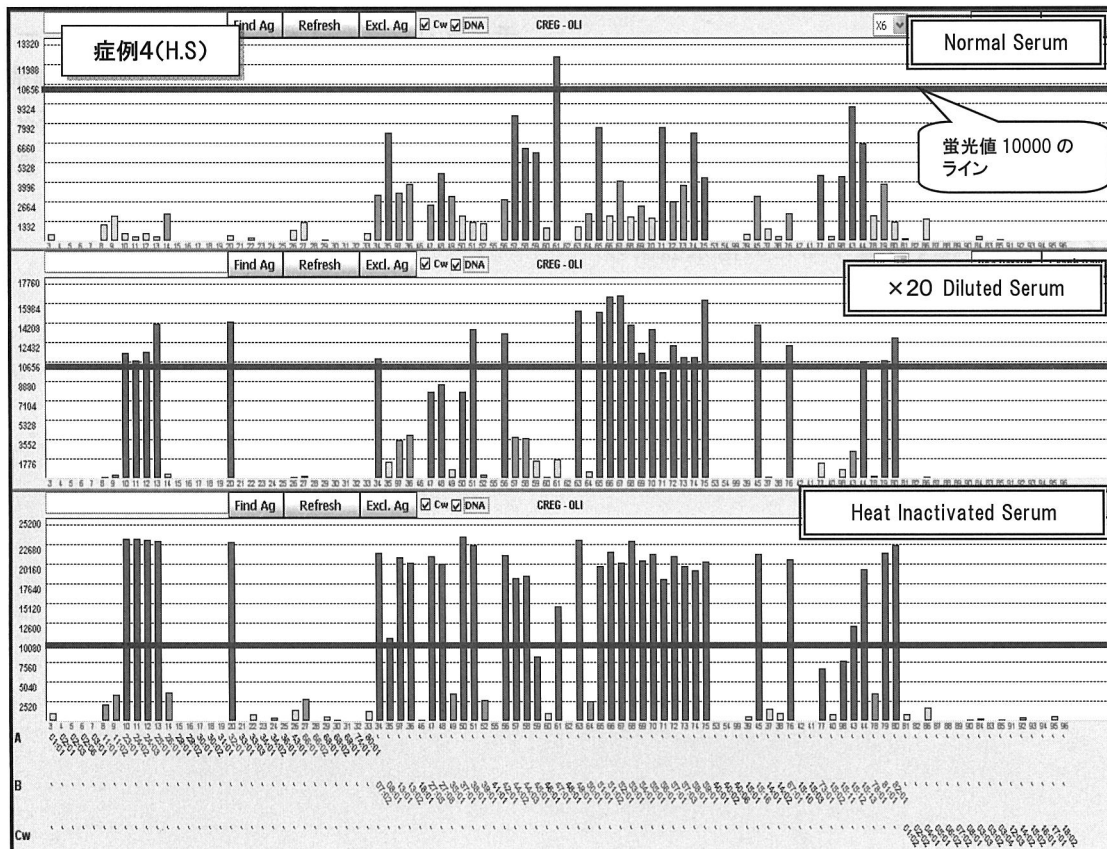
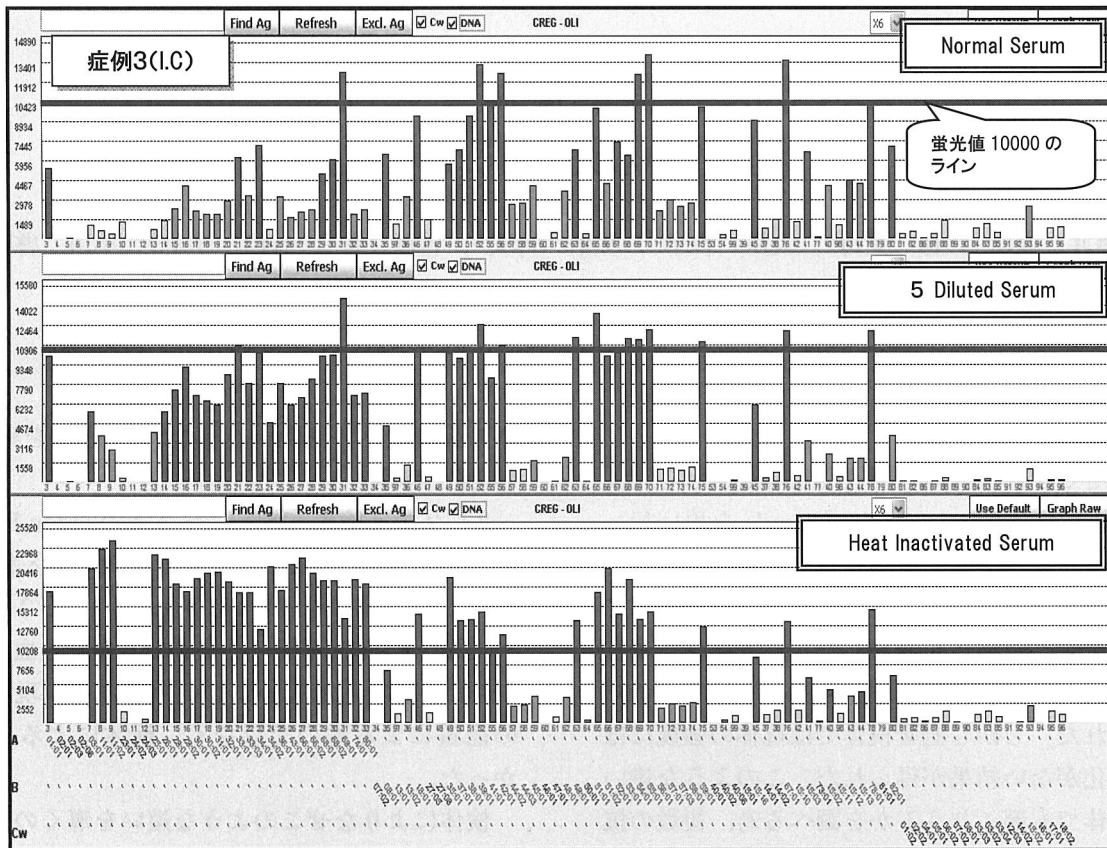
【結果】

4 症例いずれにもプロゾーン現象が確認された。同一検体では保管後に LAB SA の反応がより強くなっていた。新鮮血清が得られた 2 症例では保管血清よりも有意にプロゾーン現象を呈していた。凍結後に

解凍した血清では大きな変化は見られなかったが非働化により明らかに高い蛍光値を示すものが現れ, 通常血清で蛍光値 414 が非働化後で 23200, 通常血清 336 が非働化後で 22746 などを示した。非働化で高い蛍光値を示した抗体は, 希釈により高い蛍光値を示した抗体と相関していた。

【考察】

LAB SA ではプロゾーン現象を起こしていることがあり, 非働化によって現象が改善されることから補体の関与が示唆された。密に存在する抗原に多くの抗体が反応し, 補体成分 C1q が抗体 2 分子の CH2 に結合することで二次 (標識) 抗体が結合しにくい状態になっていると考えられた。このように 1 種類のピーズに同一抗原のみが存在している場合にプロゾーン現象が起きやすいと考えられ, 添付文書には “Test serum or plasma should not be heat inactivated, because it may give a high background in the test.” とあるが, 非働化した検体を用いることで臨床的に意義がある補体結合性の強い抗体の検出を可能にすると考えられる。



3. HLA 抗体検査に使用する血漿と血清の測定値の違いについて

○藤井 直樹¹⁾, 林 晃司¹⁾, 丸屋 悦子¹⁾, 佐治 博夫¹⁾, 吉原 哲²⁾, 谷口 享子²⁾ 小川 啓恭²⁾

NPO HLA 研究所¹⁾, 兵庫医科大学附属病院²⁾

【目的】

当研究所ではHLA抗体検査をLuminex法: LAB-Screen PRA 及び Single Antigen beads を用いている。我々が検査した抗体モニタリングの症例で同一採血日でありながら、血漿と血清で検査結果に大きな差を示した検体を経験した。血清検体では抗体強度が減弱し、抗体産生細胞の減少を示唆する結果が得られた。しかし血漿検体では抗体の強度にほとんど変化がない結果が得られた。このような違いが他の検体でも起こりうるかを調べる為、複数の抗体陽性血漿及び血清を用い比較実験を実施した。

【材料・方法】

患者移植前とドナーの中から抗体陽性の8検体を選び、同一採血日の血漿と血清(当方にて血漿を血清処理した検体)を用いてLuminex法によるLAB-Screen Single Antigenでの検査を実施した。使用KITによる違いの有無を検証するため湧永製薬の

WAKPRAを用い同一検体について検査を実施した。

【結果・考察】

8検体中2検体(25%)で、LABScreen PRAおよびSingle Antigen beadsで測定値に大きな差(血漿のMFIが常に高値を示す)があった。この2検体についてWAKPRAを用いた検査でも血漿と血清で同様の傾向が認められた。このことよりこの現象はKITの品質によるものではなく、検体によることがわかった。

検体によりなぜこのような違いを導くのか今のところ不明であるが、抗体検査を行うにあたり、抗体モニタリングだけでなく、移植前やドナーの抗体を検査する場合、用いる検査検体(血漿か血清)を統一する必要がある。またこのような現象がみられる検体についてどちらの結果がより臨床的に重要であるかを検討する必要がある。

4. DSA 陽性 HLA ミスマッチ造血幹細胞移植における IgG 型及び IgM 型抗体について

○林 晃司¹⁾, 丸屋 悦子¹⁾, 藤井 直樹¹⁾, 大沼 豪¹⁾, 吉原 哲²⁾, 谷口 享子²⁾, 吉田 喬³⁾, 丸山 裕之³⁾, 石山 賢一⁴⁾, 萬納寺 聖仁⁵⁾, 佐治 博夫¹⁾, 小川 啓恭²⁾

NPO 法人 HLA 研究所¹⁾, 兵庫医科大学附属病院²⁾, 富山県立中央病院³⁾, 高槻赤十字病院⁴⁾, 川崎医科大学附属病院⁵⁾

【はじめに】

造血幹細胞移植における HLA 抗体の重要性は臍帯血移植や非血縁間骨髄移植 (NMDP の報告) により明らかにされつつある。今回、我々はドナーミスマッチ HLA に対する抗体を保有する患者が該当ドナーから移植を受けた 20 例の HLA 不適合移植について、移植直前の DSA の強度 (MFI) と生着との関連を調べた。

【材料・方法】

- HLA 不適合造血幹細胞移植症例 (計 20 症例):
疾患: Leukemia, ♂; 3, ♀; 17, HLA 適合度; one haplo identical
- 抗体検査:
移植直前の血漿または血清を用い, LAB Screen Single Antigen Class I / Class II で, IgG 型・IgM 型抗体検査を実施
- 移植後生着確認検査:
17 種のマイクロサテライト (MS) から各ペアの

informative な MS を 2 種以上選択, 移植後の患者検体 (PB/BM) で生着の有無を判定 (検出限界 5%)。但し症例によって移植施設より生着を確認した。

【結果・考察】

DSA と拒絶の関係を HLA 抗体のクラス別に評価した。HLA-class I で 25%, class II で 18% であり, さらに HLA-class II のみ陽性の 4 例 (最大 MFI 値: 血漿で 22427) に拒絶はなかった。今回は HLA-class I 抗体と拒絶の関連に注目し MFI との関連を調べた。拒絶を起こした抗体の MFI の最低値 (血清検体: 5670) を cut off とし全症例の HLA class I-DSA を分類し, 拒絶率を比較した。MFI \geq 5670 群で拒絶率 50%, MFI < 5670 群で 0% であった (この群の最大 MFI 値は血漿検体で 2939, 血清検体で 2133)。今後, 症例数を増やし, この現象を検証し, 臨床応用可能な MFI 値を追求したい。

(11:20~12:00)

一般演題 (2)

座長：荒木 延夫 (兵庫県赤十字血液センター)

演題番号 5~8

5. 患者がHLA抗体を保有した生体肝移植症例

○山岡 学¹⁾, 大西 修司¹⁾, 山本 茉美¹⁾, 井上 まどか¹⁾, 寺嶋 由香利¹⁾, 大谷 哲司¹⁾,
阿部 操²⁾, 森 眞一郎¹⁾, 野村 昌作¹⁾

関西医科大学附属枚方病院 輸血部¹⁾, 関西医科大学香里病院 臨床検査部²⁾

【はじめに】

肝移植においても他の臓器移植と同様に患者がHLA抗体を保有する場合、移植片の液性拒絶の原因となる。今回HLA抗体保有患者の肝移植で、実施後に移植片の拒絶もなく予後良好であった2症例を経験したので報告する。

【症例 1】

69歳、女性。2002年に近医にて肝硬変を指摘され、外来経過観察となっていた。2007年11月頃より呼吸苦、嘔気を認めたため11月8日当院消化器内科に入院。肝不全と診断され、2008年1月消化器外科に転科し1月10日甥をドナーとした生体肝移植が実施された。

【結果 1】

患者、ドナーの血液型はともにB+、不規則抗体は陰性であった。HLA抗体検査はMPHA法、FCM法ともに患者が陽性、ドナーは陰性であり、直接リンパ球クロスマッチ(DCT)はLCT、AHG-LCTともに陰性であった。移植当日はPC-HLA: 35, RCC: 34, FFP: 39単位が、移植後にはそれぞれ45, 8, 0単位の輸血が実施された。移植後の経過は順調で拒絶反応も認められず2月29日軽快退院となった。

【症例 2】

71歳、女性。2006年9月腹部造影CTにて肝臓の腫瘍が指摘された。その後12月に再度CTにて腫瘍の増大が認められたため、18日にPET等含めた精査目的にて当院消化器外科に入院。2007年1月16

日、息子をドナーとした生体肝移植が実施された。

【結果 2】

患者、ドナーの血液型はともにB+、不規則抗体は患者が抗Mを保有し、ドナーは陰性であった。HLA抗体はMPHA法、FCM法ともに患者が陽性、ドナーは陰性であった。患者が保有するHLA抗体はドナータイプ(A2)と反応する特異性(DSA: Donor specific antibody) (A2+α)が認められたが、DCTはLCT、AHG-LCTともに陰性であった。移植当日はPC-HLA: 50, RCC: 26, FFP: 30単位が、移植後にはそれぞれ15, 10, 10単位の輸血が実施された。経過は順調で拒絶反応も認められず3月9日軽快退院となった。

【考案およびまとめ】

HLA抗体を保有した患者の生体肝移植を経験した。いずれの症例においても、移植後の経過はよく、移植片の拒絶反応は認められなかった。HLA抗体保有患者の移植では移植後の臓器や患者の予後に影響した症例を経験し、特にDSAの場合移植成績への関与が示唆される。しかし、症例2ではDSAと思われる抗体を保有したにも関わらず、経過は順調で拒絶反応も認められなかった。2症例とも抗体検査はLCT、AHG-LCTで陰性、MPHA、FCM法で陽性となり、DCTはLCT、AHG-LCTとも陰性であった。このことから、DCTについてもFCM法など高感度の検査法で実施し、今後も臓器移植における患者のHLA抗体については十分に注意し検討を重ねる必要があると思われる。

6. 血小板輸血における患者抗 HLA 抗体と非溶血性輸血副作用の関係

○荒木 延夫¹⁾, 坊池 義浩¹⁾, 馬淵 理¹⁾

兵庫県赤十字血液センター¹⁾

【目的】

非溶血性輸血副作用及び抗白血球抗体産生の低減などを目的として 2004 年 10 月 25 日採血分からの血小板製剤に対して、保存前白血球除去が行われ、残存白血球数が $1 \times 10^6/\text{bag}$ 以下となった。今回、PC-HLA を供給した抗 HLA 抗体陽性患者の輸血前後の非溶血性副作用の発生の有無とその種類について分析したので報告する。

【方法】

2004 年 11 月以降に PC-HLA を供給した患者 160 名を対象とし、PC-HLA 輸血前 (ランダム PC 輸血後)、輸血後の非溶血性副作用データを分析した。副作用の分類は、アレルギー、発熱、アナフィラキシー (様)、TRALI (様)、呼吸困難、その他の 6 種に分類した。

【結果】

PC-HLA 輸血前は、アレルギーが 32 名、発熱が 12 名、アナフィラキシー (様) が 6 名、アレルギー・発熱が 5 名、呼吸困難が 3 名、呼吸困難・発熱が 1 名、TRALI (様) が 1 名、その他が 1 名、副作用なしが 83 名、コメントなしが 16 名あった。次に、輸

血後の非溶血性副作用について臨床データが得られた PC-HLA 輸血前に副作用があった 48 名及び副作用のなかった 54 名の計 102 名を対象として分析した。輸血後の副作用の消失は、アレルギーが 26 名中 18 名、発熱が 7 名中 4 名、アナフィラキシー様が 5 名中 4 名、アレルギー・発熱が 5 名中 3 名、呼吸困難が 3 名中 2 名、呼吸困難・発熱が 1 名中 1 名、TRALI (様) が 1 名中 1 名であった。また、副作用なし 54 名中 4 名に副作用が出現した (図 1)。

【考察】

アレルギー、アナフィラキシーの原因としては抗血漿蛋白質抗体などが考えられ、抗 HLA 抗体の関与はほとんどないと言われている。また、残存白血球数 $1 \times 10^6/\text{bag}$ 以下では抗 HLA 抗体による発熱などの副作用は起こりにくいと考えられる。しかし、今回検討した症例では PC-HLA 輸血後に非溶血性副作用の消失が患者 48 名中 33 名 (68.8%) に認められ (図 2, 図 3)、副作用の発生に抗 HLA 抗体の関与による血小板サイトカイン (例えば、RANTES, β -TG, PF-4, TGF- β などか?) の影響が示唆された。

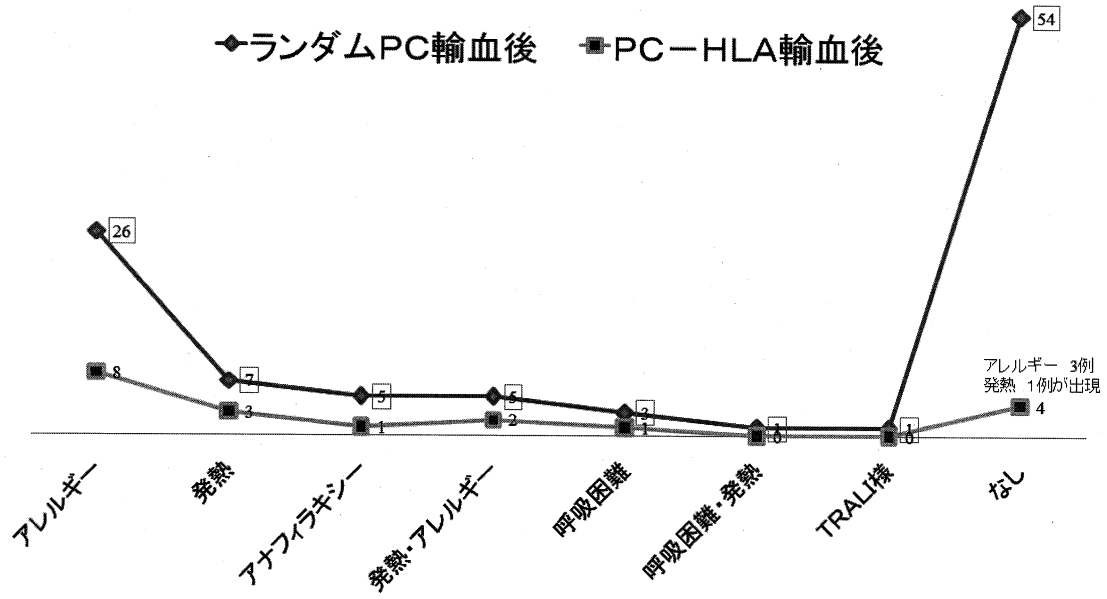
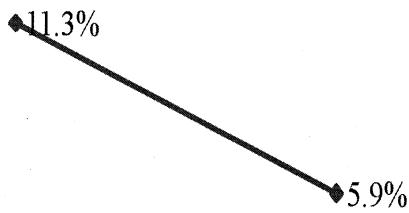
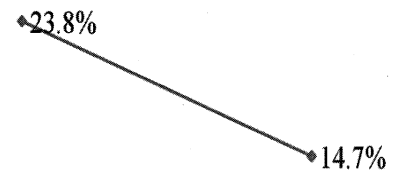


図1 ランダム PC 輸血後, PC-HLA 輸血後の非溶血性副作用発生数



ランダムPC輸血後 PC-HLA輸血後
図2 輸血後 PC の発熱発症率



ランダムPC輸血後 PC-HLA輸血後
図3 輸血後 PC のアレルギー, アナフィ

7. 口腔内粘膜細胞検体の保存方法の検討

○末上 伸二, 二神 貴臣, 大沼 豪, 小島 裕人, 辻野 貴史, 林 晃司, 楠木 靖史,
吉田 喬, 藤井 直樹, 西川 美年子, 赤座 達也, 佐治 博夫

(特定非営利活動法人 HLA 研究所)

【はじめに】

DNAを用いた検査において、検査が血液検体で行われることは慣例である。血液を採取するには医療施設へ行く必要があり、採血時に痛みを伴うのに対し、口腔内粘膜 (Buccal) の採取は患者やその家族が自宅で簡単に採取することが可能である。また、体細胞由来であるため血液腫瘍細胞の LOH (Loss of heterozygosity) 疑いの場合、判断材料の一つとなる。NMDP では 2006 年より血液検体から Buccal 検体に変えて検査を行っている。

当研究所でも年々 Buccal 検体を用いた検査が増加しており、その中で検査が困難であった経験があり、比較的高温多湿の時期に集中していた。2010 年 6, 7, 8 月が 7 検体: 0.86% (総検体数: 814 検体) に対し, 1, 11, 12 月は 1 検体: 0.13% (総検体数: 742 検体) であった。検体の保存環境により DNA の劣化, 或いは DNA 純度に影響を与えている可能性がある。そのため, Buccal 採取後の検体の保存方法について検討した。

【材料と方法】

- 口腔内粘膜細胞採取キット: Sterile Foam Tipped

Applicator (Whatman 社)

- 精製方法: QuickGene (FujiFilm 社)
- 検査方法: Luminex 法 (WAK Flow)
- 検討条件: I. 湿度 (乾燥, 湿潤)
II. 温度 (4°C, 室温, 30°C, 37°C)
III. 保存期間 (2, 4 日間)

【結果と考察】

Buccal 細胞採取後, 室温で 1 時間以上乾燥させ, 4~37°C の温度条件下で 4 日間保存した検体であれば, 検査結果に影響はみられなかった。また, 湿潤した検体であっても 4°C 保存で 4 日間, 室温保存でも 2 日間であれば検査結果に影響はみられなかった。しかしながら湿潤した検体を室温で 4 日間以上, 37°C で 2 日間以上の保存で検査不能であった。原因として, 高温多湿によるカビの発生, 或いは細菌からの DNase による DNA の切断などの可能性が考えられる。

Buccal 検体は採取法が簡便であるため, 医療施設や被験者へ推奨したいが, 一方で採取後の検体の管理には注意を促したい。

8. 造血幹細胞移植後に体細胞の一部がドナータイプに置き換わった一例 —検査に与える影響も含めて—

○小島 裕人, 浜之上 聡¹⁾, 二神 貴臣, 大沼 豪, 辻野 貴史, 林 晃司, 楠木 靖史, 吉田 喬,
藤井 直樹, 末上 伸二, 西川 美年子, 丸屋 悦子, 赤座 達也, 佐治 博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所, 神奈川県立こども医療センター¹⁾

【はじめに】

レシピエントとドナーのマイクロサテライト多型性を利用した移植後キメリズム検査において、移植前レシピエント検体が保管されていない場合、移植後 Buccal や爪由来 DNA が代用される。近年ではこのような体細胞にドナータイプがみられる報告が多くなされている。今回、これらの体細胞が、造血幹細胞移植後早期 (day 31) にドナータイプにほぼ置き換わった興味深い症例を経験したので、検査に与える影響も含めて紹介したい。

【材料・方法】

レシピエント：女兒，AML，臍帯血移植。移植前検体，ドナー検体なし。

レシピエント検体：移植後 day 31 の口腔内粘膜，移植後 day 41 の爪，移植後 day 28 の骨髓液。

レシピエントの両親の末梢血。

移植後キメリズム検査はマイクロサテライト多型性を 14 種において PCR 増幅し，電気泳動後，分子量多型性の差から，そのキメリズムを観察した。

HLA タイピング検査は Luminex 法 (WAKFlow) を用いた。

【結果・考察】

結果 1. 移植後 day 28 の骨髓液は，移植後 day 31 の口腔内粘膜細胞，移植後 day 41 の爪と 14 種類のマイクロサテライトの多型性がほぼ同一であった。

結果 2. ミスマッチのあった HLA-B 座はすべての

検体において，ドナー由来タイプである HLA-B*35:01, B*58:01 が検出された。

結果 3. さらに，このレシピエントの両親のタイプから，マイクロサテライトの多型性を確認したところ，すべての検体において，両親に由来しない多型性が検出された。

以上から，移植後の口腔内粘膜細胞，爪，骨髓液の細胞はそれぞれ約 87%，約 90%，約 100% がドナータイプに置き換わっていることが判明した。

今回の例では，当初，結果 1. において生着不全 (No Chimerism) と誤判断をしていた。検査の際にドナー検体がない場合，爪細胞，口腔内粘膜細胞のような体細胞検体との比較においてドナータイプを推定して生着の確認をおこなうが，今回の例では重大な判断ミスをおこす可能性があり，ドナー検体または，移植前検体のいずれかとの照合が重要である。また，臨床症状や他の検査との比較も非常に重要である。

移植後の口腔内粘膜細胞，爪においては，移植ソースに含まれていた多機能幹細胞が分化したことを示唆する結果となったが，爪においては，生え変わりの期間や移植ソースが臍帯血であることを考慮にいと，ドナー由来に置き換わることの考察は非常に難しい。今回の症例は，移植されたドナー細胞がどのようにして，どのような時期に分化・生着するのかわかるうえで，興味深い。また，幼児の爪は 40 日程度で生え変わり得ることが示唆された。

(13:30~15:30)

シンポジウム

座長 一戸 辰夫 (京都大学医学部附属病院)
岡 芳弘 (大阪大学大学院医学系研究科)

「臓器移植の最近の話題」

- 1) 造血幹細胞移植における KIR 適合性
一戸 辰夫 (京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科)
- 2) HLA 半合致造血幹細胞移植について
池亀 和博 (兵庫医科大学血液内科)
- 3) iPS 細胞による再生医療の現状と展望 —iPS 細胞バンクについて—
木村 貴文 (京都大学 iPS 細胞研究所・規制科学部門)
- 4) 腎移植と HLA
橋本 光男 (県立西宮病院・腎疾患総合医療センター)
- 5) がん免疫応答解析における HLA 型解析の重要性
西川 博嘉 (大阪大学免疫学フロンティア研究センター)

1. 造血幹細胞移植における KIR 適合性

一戸 辰夫

京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科

1999年イタリアのRuggeriらは、HLA不適合血縁者間移植におけるKIRリガンド不適合(KIRリガンドとしてのHLAクラスIの不適合)が、急性骨髄性白血病の再発を抑制する効果を有するとともにGVHDの発症も抑止するというセンセーショナルな報告を行った。それ以来、造血幹細胞移植におけるKIRリガンド不適合の臨床的意義について数多くの研究が行われてきたが、その移植成績への影響については、いまだに一致した見解が得られるに至っていない。

KIRリガンド不適合による白血病の再発抑制効果は、主に純化CD34陽性細胞移植や、ATGを用いた非血縁者間骨髄移植を対象とする研究において確認されていたが、2009年Eurocord-Netcordの共同研究によって、非血縁者間さい帯血移植においても同様の効果が見られることが報告された。しかし、その後に行われたミネソタグループの研究では、さい帯血移植において、KIRリガンドの不適合は再発率の低下には寄与せず、むしろGVHD発症リスクの増加に関与するという全く相反する結果が得られている。また、わが国の骨髄バンクを介する非血縁者間骨髄移植を対象とする解析においても、KIR2DLリガンドとしてのHLA-Cの不適合は拒絶やGVHDのリスクを増加させ、移植成績の向上には寄与しないという結果が得られている。

このような矛盾の解釈については、移植片に含ま

れるT細胞の多寡との関連からも議論されているが、最近、ドイツのグループは、個体毎のNK受容体の発現様式がKIR遺伝子のハプロタイプに従って異なっている可能性を報告している。この研究の結果によれば、KIR遺伝子のハプロタイプがグループAのホモ接合(A/A)となっている個体では、その個体が発現するHLA-CをリガンドとするKIR(HLA-C1グループに対するKIR2DL3, HLA-C2グループに対するKIR2DL1)を発現するNK細胞が優位に存在しているが、グループBのハプロタイプを有する個体では、より多様なKIRの発現が認められるとともに、HLA-Cに対する拘束性も明瞭ではなかったとされている。興味深いことに、米国骨髄バンク(NMDP)を介して実施された非血縁者間移植を対象とする解析の結果、ドナーがgroup BのKIRハプロタイプ、特にそのセントロメア側のモチーフを有する場合には、それ以外のKIRハプロタイプを保有する場合と比較して、急性骨髄性白血病の再発が抑制されることが報告されている。これらの結果は、グループBのKIRハプロタイプを有する個体では、骨髄系腫瘍に対するNK alloreactivityが発揮されやすいことを示唆しているのかもしれない。わが国の非血縁者間骨髄移植においても同様の効果を確認可能なのか、さい帯血のKIRハプロタイプについても同様の傾向が見られるのか等、今後の研究の進展に大いに関心が持たれるところである。

2. HLA 半合致造血幹細胞移植について

池亀 和博

兵庫医科大学血液内科

造血器腫瘍に対する造血幹細胞移植において、血縁者をドナーとした HLA 半合致移植は、理論上、GHVD, GVL の標的抗原として HLA をターゲットにするはずである。しかし、そもそも HLA は白血病細胞のみならず、正常組織にもあまねく発現されているのであるから、これをもって腫瘍特異的ないし造血細胞特異的な免疫反応を説明することは理屈に合わない。にもかかわらず、近年の HLA 半合致移植後における非共有 HLA ハプロタイプの LOH の報告をみると、確かに不適合 HLA を標的とした腫瘍細胞に対する immunological pressure が働いていることを実感させる。

我々のグループでは過去 10 余年に渡り、血縁 HLA 不適合移植を約 300 例（骨髄破壊的 HLA 不適合移植 (haplo-full) 約 100 例, RIST による HLA 不適合移植 (haplo-mini) 約 200 例) 施行してきた。主に非寛解症例や移植後再発を対象として、30-40% の 5 年生存率であり、GVHD の発症率、重症度は HLA 一致の移植と変わらない。日々の移植臨床の現

場で血縁 HLA 不適合移植を行ってみると、確かに移植後 1 か月間の抗腫瘍効果には、HLA 一致移植では味わえない醍醐味をしばしば経験するが、その後の再発やウイルス感染症に難渋する例が存在することも確かである。さらに血縁 HLA 不適合移植後何年経ってからも、免疫抑制剤の減量により急性 GVHD 様の皮疹が出現することも常である。あるいはまた、同じ HLA 不適合移植でも臍帯血移植とは全く手ごたえが異なり、幹細胞ソースによって頭を切り替えることに苦労する。

共有 HLA ハプロタイプに提示されたマイナー抗原、非共有 HLA に対する直接認識、非共有 HLA に提示されたマイナー抗原、そしてまだ教科書には載っていない抗原認識があるかもしれない、そのそれぞれを個々の移植でつまびらかにすることはいまだ困難であるが、その総和としての血縁 HLA 不適合移植というものについて、その現状と現在の試み、次世代への挑戦について紹介させていただき、MHC の専門家である諸先生方のご意見をいただきたい。

3. iPS 細胞による再生医療の現状と展望 —iPS 細胞バンクについて—

木村 貴文

京都大学 iPS 細胞研究所・規制科学部門

2006年にマウス iPS 細胞が産声をあげ、翌 2007年にはもうヒト iPS 細胞の作製が可能となり、日米の複数の研究室から報告されました。生物学的にヒト胚性幹細胞 (hES 細胞) に酷似した多能性幹細胞である iPS 細胞には、hES 細胞の樹立や臨床応用に際しての倫理的問題を解決できる最強の治療用細胞ツールとして産学問わず大きな期待が寄せられています。

米国では 2010年に hES 細胞から分化誘導したオリゴデンドロサイトを用いた脊髄損傷患者への他家移植臨床試験 (GERON 社) がスタートしました。また、2011年1月3日には Advanced Cell Technology 社が計画していたスターガルト病に対する hES 細胞由来網膜色素上皮 (RPE) 細胞を使った移植治療も承認されました。

いっぽう、日本国内では 2010年11月1日のヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針の改訂によって hES 細胞 / iPS 細胞を用いる細胞治療がようやく認められました。この改訂をうけて、hES 細胞で口火を切った米国と異なり、iPS 細胞から分化誘導した組織細胞を用いて再生医療が計画されています。

我が国の臨床試験の進め方には二つのトラックがあります。薬事法下の「治験」と医師法による「臨床研究」です。いずれのトラックにもそれぞれハードルがありますが、その高さを規定する規制枠の速

やかな検討が喫緊の課題となっています。ロット化された細胞製剤の品質を規定する枠組みも存在しませんでしたし、iPS 細胞のような長期間の培養が必要な細胞製剤の製造工程についての基準づくりも現在進行形という状況です。

個々の医療機関とくに細胞調製施設 (セル・プロセッシングセンター) は、これら規制当局との協議や調整を通じて、もっとも安全かつ高品質な iPS 細胞あるいは iPS 細胞由来組織細胞を作製し品質評価するための文書体系や組織の構築を急がねばなりません。

医療現場からの新たなシーズの創出も、iPS 細胞の臨床応用には不可欠です。また、それらを実現するための基礎実験や非臨床試験をささえる財源の確保も必要でしょう。さらには、iPS 細胞に対する「関心」から「理解」へと多くの国民に参加してもらうための施策も忘れてはなりません。その中には、ホモ HLA ドナー由来 iPS 細胞バンク構想も含まれます。

これらの諸状況の進展によって、はじめて神戸先端医療センターで計画されている加齢黄斑変性症 (AMD) に対する自家 iPS 細胞由来網膜色素上皮 (RPE) 細胞移植や慶応義塾大学病院で予定されている亜急性期脊髄損傷患者へのホモ HLA ドナー iPS 細胞由来同種 (他家) 神経細胞移植が実現すると考えられます。

4. 腎移植とHLA

橋本 光男

兵庫県立西宮病院・腎疾患総合医療センター

2010年7月17日に「臓器の移植に関する法律の一部を改正する法律」が施行され、本人の臓器提供の意思が明確でない場合でも、家族の承認により脳死下臓器提供が可能となった。その結果、法改正後29例の脳死下臓器提供が行われ、今後さらに臓器提供件数が増加することが期待される(2010年12月31日現在、日本臓器移植NWホームページ参照)。我が国の献腎及び脳死下臓器移植(肝臓、小腸移植を除く)のレシピエント選択の適応条件は、クロスマッチ(XM)検査が陰性であることが定められている(平成13年10月10日、健発第984号改訂)。近年、脱感作療法を含めた免疫抑制治療の進歩とHLA抗体を特異的且つ高感度に検出するHLA固相化法が開発され、ドナー特異的HLA抗体(DSA)を検出することが可能となった。そしてXM陽性を全て移植禁忌とすることが疑問視されるようになり、XM検査の意義を再検討することが求められている(S. K. Takemoto, AMJT 4; 1033: 2004)。今回、著しく変貌を遂げている臓器移植に関わる分野において、日本臓器移植NW移植検査センターの現状をUNOS (United Network for Organ Sharing)の移植選択基準の変遷と比較し、現況のXM及びHLA抗体検査の臨床との関連性について検証してみたい。

1. 日本臓器移植NWの移植検査体制と選択基準に関わるXM検査の現状

現在、日本臓器移植NWのレシピエント選択基準は前述したように「リンパ球直接交叉試験(全リンパ球又はTリンパ球)が陰性」と規定され、日本臓器移植NW移植検査センターの殆どの施設はLCT法を採用している。H. M. Gebel等はリンパ球XM方法を直接法と間接法に分類し、前者にNIH基準法、Extend CDC法、Amos法、後者に2次抗体を使っ

て検出するAHG法、FCXM法を挙げている(H. M. Gebel, AMJT 3; 2488: 2003)。彼等の分類に従うと献腎、脳死下移植のXM検査はLCT法に限定されることになる。UNOSは「ASHI Standards 1994」に従い、non-HLA抗体による偽陽性反応を移植禁忌の条件から除外することを明記し、XM検査として抗体検出感度の高いFCXM法を推奨している(OPTN / UNOS board as Appendix D to Policy 3, 2004)。従って、我が国の選択基準の見直しが責務と考える。

2. XM及びHLA抗体検査の臨床との関連性

早期腎移植予後の危険因子の一つとしてDSAが注目されている。しかし、P. Amico等はDSAの臨床的意義について、DSA陽性症例の45%はAMR (Antibody Mediated Rejection)を発症しないで予後良好であることを報告している(P. Amico, AMJT 87; 1681: 2009)。DSA検査は移植前の危険因子の評価及び脱感作療法を含む免疫抑制治療の指標とされているが、必ずしもDSAの有無と臨床予後との関連性を認めず、細胞とビーズの抗原量の差による抗体反応性の相違による可能性が指摘されている(S. Vaidya, Transplantation 2008; 85: 1046)。

近年、XM検査としてcell-based assayとbead-based assayの両方の特徴を併せ持つICFA法 (Immunocomplex Capture Fluorescence Assay)が開発された(K. Fujiwara, Vox Sang 96; 244: 2009)。我々は腎移植におけるXM検査への導入を目的に検討し、ICFA法は従来のFCXM法に比べHLA抗体を特異的に検出し、さらにDSA陽性症例のAMR発症と統計的関連性を認めた(第44回日本臨床腎移植学会, 2011年)。我々はこの方法を第3世代のXM検査と捉え、臓器移植のレシピエント選択のためのXM検査に用いることを推奨する。

5. がん免疫応答解析における HLA 型解析の重要性

西川 博嘉

大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 実験免疫学

現在、がんに対する免疫療法の臨床試験が多数行われている。1991年ヒト悪性黒色腫に特異的に発現している腫瘍抗原遺伝子の存在が報告されて以来、これらの腫瘍特異抗原を標的とした免疫療法が注目を集めている。なかでも、腫瘍抗原内に存在する CD8+T 細胞認識エピトープペプチドを用いたがんワクチン療法への期待は大きい。しかし、これらのがん抗原ペプチドを用いて CD8+T 細胞を活性化することを試みた当初の臨床試験は、現在まで期待された効果をあげていない。その原因の一つとして、がん抗原特異的 CD8+T 細胞を活性化する際に、CD4+ヘルパー T 細胞の活性化が不十分なために、適切な CD8+T 細胞の活性化が誘導されないことがあげられる。これらの問題点を克服するために、抗原タンパクもしくは 20 アミノ酸程度のロングペプチドを用いた次世代のがんワクチン療法の臨床試験が新たに実施されている。これらの次世代のがんワクチン

療法の効果を検討する上で、特異的免疫応答をモニタリングすることは必須である。しかし、タンパクワクチン療法では HLA の制限がないため HLA 型情報に基づいた広範なアッセイが必要となる。

我々は、がん抗原のなかでもとりわけ免疫原性が高いことが明らかとなっている NY-ESO-1 抗原に着目し、食道癌患者を対象に NY-ESO-1 タンパクワクチン療法を施行した。ワクチン療法を実施された患者末梢血を用いて特異的 CD4+, CD8+T 細胞応答を検討した。本講演では、直接がん細胞を攻撃する特異的 CD8+T 細胞応答の検討に焦点を当てて議論したい。とりわけ、従来検討が進められてきた HLA-A*0201 もしくは HLA-A*2402 患者に加えて、2名の HLA-B*3501 を持った患者で NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞応答に関して、極めて興味深い知見を得たため、これらに焦点を絞って議論したい。

(15:40~16:40)

特別講演

座長 永尾 暢夫 (神戸常盤大学保健科学部)

「次世代シーケンサーを用いた HLA 領域の
リシーケンシングによる多型解析」

猪子 英俊

(東海大学医学部基礎医学系分子生命科学)

次世代シーケンサーを用いた HLA 領域のリシーケンシングによる多型解析

猪子 英俊

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

個人のヒト全ゲノム配列として、最初に J. Craig Venter のゲノムが 2003 年に決定されたゲノム配列 (10 人のゲノムのモザイク) を参照して、2007 年に決定された (これをリシーケンシングと言う)。その後、2008 年には James D. Watson, ついで中国人, アフリカ人, 韓国人と次々に個人のゲノムの決定がなされ、最近では 2,300 人にもものぼる全ゲノム配列が決定されている。これらは、いまや 1,000 ドル/人のいわゆるパーソナルゲノム時代の到来を告げるとともに、近い将来のテーラーメイド医療の本格的な実用化を予想させる。この背景には、言うまでもなくシーケンシング技術の革新、すなわち 1 日に 2 Gb のアウトプットを可能にする次世代シーケンサーの登場によるものである。HLA 領域はヒトゲノムの中で最も個人差 (多型性) に富み、移植や疾患発症との密接な関連性があることから、パーソナルゲノム解析の対象として最適かつ、最重要ゲノム領域と言える。

次世代シーケンサーは、DNA ビーズ法に代わるまさに次世代の HLA-DNA タイピング技術を提供する。次世代シーケンサーは 1 分子の DNA を増幅し、その増幅産物について塩基配列を決定することから、従来の HLA-DNA タイピング方法で問題となる phase ambiguity, すなわち二つの多型が染色体上のシスカ、トランスのどちらの位置関係にあるのかが不明なため、アリルを決定できないヘテロの組み合わせ、例えば (DRB1*15:01, DRB1*0405) か、(DRB1*15:02, DRB1*0410) の ambiguity 問題が解消される。また、膨大な塩基配列を決定しうることから、HLA 遺伝子のプロモーター領域、エクソン、イントロンなど周辺領域を含む遺伝子全塩基配

列の決定できることから、以前の表記法でいう 8 桁レベルのタイピングが可能であり、かつ null アリルも判定しうる、究極の DNA タイピング法といえる。

3.8 Mb からなる HLA ゲノム領域は多型に富むと同時にハプロタイプの多様性を有し、疾患感受性や移植に関係することから、HLA テーラーメイド医療の確立には、まず個々のハプロタイプの HLA ゲノム全領域を決定していく必要がある。このような解析にもまた、次世代シーケンサーは大きな威力を発揮する。我々は、HLA 領域より 447 の PCR プライマーセットを独自に設定、これを用いた HLA 領域全体 3.8 Mb のロング PCR 増幅を確立し、これらの PCR 増幅産物を次世代シーケンサーにより、日本人集団で頻度の高い複数の HLA ハプロタイプのリシーケンシングを進めている。ロング PCR 法は次世代シーケンサーのみならずサンガー法による塩基配列の確認が可能であり、数 kb までの挿入欠失も検出可能であることに加え、シーケンスによる HLA 領域の疾患関連解析の研究デザインを自由に設計できるという利点も有している。また、このロング PCR 法に、NimbleGen Sequence Capture による HLA 領域の DNA 濃縮法を組み合わせ、ハイスループットな実験系へと発展させている。次世代シーケンサーは連続して読める長さは短い (イルミナ社 Genome Analyzer IIx では 150 bp 程度しか読めない) ので、HLA 領域のような繰り返し配列の多い複雑な遺伝子領域のリシーケンシングには不正確な領域もあるが、片鎖 300 bp のペアエンドシーケンシングやサンガー法による確認を行うことで塩基配列決定の精度を高めることが可能である。これまでに日本人に頻度の高い 5 種類の HLA ハプロタイプの

ホモ接合である7種類の細胞株, AKB, TOK, T182 (A24-B52-DR15, 8.2%), HOR (A33-B44-DR13, 5.2%), SA (A24-B7-DR1, 3.6%), LKT3 (A24-B54-DR4, 2.3%), TAB089 (A2-B46-DR8, 2.2%) の塩基配列を決定し, さらに白人の HLA ホモ接合細胞株および胞状奇胎 DNA (1 倍体のみのゲノムを有するので, 直ちにハプロタイプを決定できる) のリシーケンシングを行った。塩基配列の決定より SNP データベースに登録されていない新規の多型または変異を 1 ハプロタイプあたり数百カ所検出

しており, ハプロタイプごとの多型情報として分析を進めている。特に AKB, TOK, T182 間の比較から同一 HLA ハプロタイプ間において 20 kb~40 kb に 1 カ所の SNP が存在することが確認され, HLA ハプロタイプのさらなる細分化が可能であることが示唆された。我々はこの HLA ハプロタイプの細分化への可能性をさらに追究するとともに, 多型情報をデータベースとして蓄積し, 将来的に移植や HLA 関連疾患の診断および治療のための指針へと発展させることを目指している

日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定

I. 投稿について

内容: MHCに関する基礎研究から臨床研究まで全てを対象にし、未発表の論文、他誌に投稿中でないものに限る。

資格: 著者(共著者を含む)は原則として本学会会員に限る。

倫理: ヒトおよびヒトの試料を用いた臨床研究・基礎研究の場合、1980年ヘルシンキ宣言(第18回 World Medical Assemblyにて採択)に基づくと共に、当該施設の倫理委員会の承諾を得たものでなければならない。また動物を用いた研究については「実験動物の飼育及び保管等に関する基準」(1980年日本学術会議決議)などを遵守し行われた研究でなければならない。

種類: 原著、総説、シリーズ、短報(研究速報、技術速報などを含む)、症例報告などとし、日本語、英語を問わない。

審査: 投稿論文掲載の採否は当誌編集委員会において決定し、審査は複数の査読制で行う。審査の結果を踏まえ修正、削除、加筆などをお願いする場合がある。

著作権: 本誌に掲載された論文などの著作権は日本組織適合性学会が有し、インターネットを通じて電子配信されることがある。

掲載料: 掲載は無料であるが、カラー写真など特別印刷に関わる経費は著者の実費負担とする(カラー印刷を希望の場合にはその旨明記)。

別冊: 別冊は有料とし、その経費は別冊部数やページ数による(別冊希望の場合は著者校正の際にその旨明記)。

II. 原著執筆書式

1. 執筆要項

400字詰め原稿用紙換算で30枚(刷り上がり12頁程度)以内とする。図、表、写真は1個につき原稿用紙1枚分に該当しタイトルを必ず記載し挿入箇所を本文に明記する。本文は Microsoft Word で作成し、

図、表、写真は Microsoft PowerPoint を使用する。原稿は全て CD ロムに保存し、CD ロムに A4 サイズでプリントアウトした原稿3部を添えて編集長宛に送付する。

2. 第1頁目

表紙とし「原著」を明記し、日本語と英語でタイトル、著者全員の氏名と所属を記し、脚注として連絡責任者の住所、氏名、電話、FAX、E-mail アドレスを記載する。タイトル、著者名、所属は下記の形式に従う。

Susceptibility gene for non-obstructive azoospermia in the HLA class II region: correlations with Y chromosome microdeletion and spermatogenesis. Tetsuya Takao¹⁾, Akira Tsujimura¹⁾, Masaharu Sada²⁾, Reiko Goto²⁾, Minoru Koga³⁾, Yasushi Miyagawa¹⁾, Kiyomi Matsumiya¹⁾, Kazuhiko Yamada²⁾, Shiro Takahara¹⁾

- 1) Department of Urology, Osaka University Graduate School of Medicine, Suita, Osaka, Japan
- 2) Department of Regenerative Medicine, National Cardiovascular Center, Suita, Osaka, Japan
- 3) Department of Urology, Osaka Central Hospital, Osaka, Japan

心移植における FlowPRA 法を用いた HLA 抗体検出の意義

山本 賢¹⁾, 佐藤 清¹⁾, 佐田 正晴²⁾, 永谷 憲歳²⁾, 中谷 武嗣³⁾

- 1) 国立循環器病センター臨床検査部
- 2) 国立循環器病センター再生医療部
- 3) 国立循環器病センター臓器移植部

3. 本文—1: 日本語での投稿

• 2頁目に400 words 以内の英文要旨(和文要旨必要なし)、日本語および英語のキーワード(5語以内)を記載する。尚、英文要旨作成については編集委員会

による対応も可能(希望の場合, 400字以内の日本語要旨を記載しその旨明記)。

• 3頁目より, 「はじめに」, 「材料と方法」, 「結果」, 「考察」, 「引用文献」の順に記載する。

- ① 専門用語以外は常用漢字, 新かなづかいに従い記述する。
- ② 本文中の英単語は固有名詞を除き全て小文字で統一する。
- ③ 地名, 人名, 学名は原語のまま用い, 薬品名は一般名を用い商品名は括弧内に記す。
- ④ 単位, 数量は国際単位 (cm, ml, g, Kg, pg, μ l, %, °C など) を, 数字はアラビア文字を用いる。

4. 本文—2: 英語での投稿

• 2頁目に 250 words 以内の要旨, キーワード(5語以内)を記載する。

• 3頁目より, 「Introduction」, 「Materials and Methods」, 「Results」, 「Discussion」, 「References」の順に記載する。

- ① 地名, 人名, 学名は原語のまま用い, 薬品名は一般名を用い商品名は括弧内に記す。
- ② 単位, 数量は国際単位 (cm, ml, g, Kg, pg, μ l, %, °C など) を, 数字はアラビア文字を用いる。

5. 引用文献

引用文献は本文中の引用箇所の右肩に片カッコ付きで番号を付し, 引用順に一括し記載する。著者名, 編集者名は筆頭者から3名まで列記し, 他または et al. とする。

1. Shi Y, Yoshihara F, Nakahama H, *et al.*: A novel immunosuppressant FTY720 ameliorates proteinuria and alterations of intrarenal adrenomedullin in rats with autoimmune glomerulonephritis. *Regulatory Peptides* (127): 233–238, 2005.
2. Tongio M, Abbal M, Bignon JD, *et al.*: ASH#18: HLA-DPB1. *Genetic diversity of HLA Functional and Medical Implication* (ed. Charron D), Medical and Scientific International Publisher, p. 134–

136, 1997.

3. 難波行臣, 今尾哲也, 石黒 伸 他: 既存抗体陽性生体腎移植後に生じた抗体関連型拒絶反応に対して血漿交換および免疫グロブリン大量療法 (IVIG) が奏効した1例. *血管外科* 17: 36–40, 2005
4. 佐田正晴, 高原史郎: 腎移植—組織適合と拒絶反応. 新図説泌尿器科学講座 6「腎疾患, 神経泌尿器科, 老年泌尿器科」(吉田 修 監), Medical View 社, p. 120–125, 2000.

III. 短報(研究速報, 技術速報などを含む), 症例報告執筆書式

1. 執筆要項

400字詰め原稿用紙換算で15枚(刷り上がり6頁程度)以内とする。図, 表, 写真は1個につき原稿用紙1枚分に該当しタイトルを必ず記載し挿入箇所を本文に明記する。本文は Microsoft Word で作成し, 図, 表, 写真は Microsoft PowerPoint を使用する。原稿は全て CD ロムに保存し, CD ロムに A4 サイズでプリントアウトした原稿3部を添えて編集長宛に送付する。

2. 第1頁目

表紙とし「短報」「症例報告」を明記し, 日本語と英語でタイトル, 著者全員の氏名と所属を記し, 脚注として連絡責任者の住所, 氏名, 電話, FAX, E-mail アドレスを記載する。タイトル, 著者名, 所属は「原著」の形式に従う。

3. 本文(日本語および英語での投稿)

- 2頁目に, 英文要旨(200 words 以内), キーワード(3語以内)を記載。
- 3頁目以降は, 原著執筆書式 3. の3頁目以降に準じる。

IV. 総説, シリーズその他

編集委員会からの依頼を原則とするが, 会員からの投稿も大いに歓迎する。日本語を原則とする。総原稿枚数は編集委員会で指定し, 原則的に原著執筆書式に準じる。

V. 原稿送付先

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-2

大阪大学大学院医学系研究科 J8

先端移植基盤医療学

日本組織適合性学会誌 MHC

編集長 高原 史郎

担当 谷本 佳澄 〈E-mail: tanimoto@att.med.osaka-u.ac.jp〉

Tel: 06-6879-3746 Fax: 06-6879-3749

	総原稿枚数 (図表, 文献含む)	図表数	文献数	要旨	原稿タイトル 所属, 著者	キーワード 数	査読	著者 校正
原著	30 枚以内	5~10 個 以内	20 個以内	英文原著 英文 250words 以内 和文原著 英文 400words 以内	和英併記	5 個	有り	1 回
短報, 症例報告	15 枚以内	5 個以内	10 個以内	和文, 英文とも英文 200 words 以内	和英併記	3 個以内	有り	1 回
総説, その他	その都度指定	適宜	20~30 個前後	和文 400 字以内	和英併記	5 個	なし	1 回

編集後記

東北地方太平洋沿岸地震で被災された会員の皆様に心からお見舞い申し上げます。また、この地震および津波で亡くなられた方のご冥福をお祈り申し上げます。

2011年3月11日午後2時46分は歴史に残る時間となりました。私は都内の自宅近所の比較的通りの良い歩道上を歩いているところでした。生まれて初めて道路がゆれるのを体感し、恐怖を感じました。長い揺れが収まってわが家へ帰る途中でも特にめだったことはなく、少し大きい地震かなと思っていました。ニュースが集まるにつれ、津波の被害も併せては恐ろしいほどの広がりを見せてきました。追い打ちをかけるように福島第一原子力発電所の事故も伝えられてきました。それ以後のことはご承知のとおりです。

改めて私が感じていることは、非常時における情報の大切さです。政府の発表や、マスコミの同じことの繰り返しニュースだけではなく、インターネット、ユーチューブなどから、自主的に必要な情報を探し出し、判断することでした。これは普段から、検査や実験の評価を判断する時と同じことが我々に求められているとおもいます。学会では「MHC」やホームページを通じてさらに充実した情報を発信するよう努力していきます。

最後に原子力発電所の事故も含めて、できるだけ早い復旧がなされんことを祈っております。

赤座達也

「MHC」バックナンバー

一冊 ¥2,000 にて購入できます。学会事務局までお問い合わせ下さい。なお在庫僅少の号もありますので、万一品切れの際にはご容赦ください。

入・退会、所属・住所・連絡メールアドレス変更

各種の申請は、学会事務局で受け付けます。

日本組織適合性学会事務局

〒113-8510

東京都文京区湯島 1-5-45

医歯学総合研究棟 (II) 22F

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

分子病態分野 内

電話 03(5803)4906

FAX 03(5803)4907

電子メール jshijimu.tis@mri.tmd.ac.jp

日本組織適合性学会ホームページ

学会活動に関する情報や HLA 遺伝子の塩基配列情報が利用できます。

<http://square.umin.ac.jp/JSHI/mhc.html>

<http://jshi.umin.ac.jp/mhc.html>

MHC

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

2011年4月30日発行 18巻1号, 2011

定価 2,000円

発行 日本組織適合性学会(会長 木村 彰方)

編集 日本組織適合性学会編集委員会(編集担当理事 高原 史郎)

平成8年7月24日 学術刊行物認可

日本組織適合性学会(事務局担当理事 木村 彰方)

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45 医歯学総合研究棟 (II) 22F

東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野内

印刷・研究社印刷株式会社

〒352-0011 埼玉県新座市野火止 7-14-8