

日本組織適合性学会誌

第 23 卷第 1 号 平成 28 年 4 月 20 日発行

目 次

日本組織適合性学会からのお知らせ

第 25 回 日本組織適合性学会大会の御案内	1
2016 年度学会賞ならびに学術奨励賞の募集について	3
組織適合性検査技術者認定制度 平成 28 年度 認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ	6
初心者講習会の開催及び参加希望者募集について	7
平成 27 年度 認定 HLA 検査技術者講習会アンケート集計結果	8
組織適合性技術者認定制度委員会・部会名簿 (2016)	12

第 19 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	13
—試料説明・総合解析 (表記含む) (DNA 部門) —	黒田ゆかり	17
—検査法別解析 DNA タイピング Luminex 法—	奥平 裕子	20
—検査法別解析 DNA タイピング SSO 法 (INNO-LiPA) —	石塚 敏	22
—検査法別解析 DNA タイピング SSP 法—	藤井 明美	23
—検査法別解析 DNA タイピング SBT 法—	小島 裕人	25
—検査法別解析 試料説明—	中島 文明	27
—総合解析 (抗体部門) —	高 陽淑	28
—検査法別解析 抗体検査 FlowPRA 法—	金本 人美	30
—検査法別解析 抗体検査 LABScreen—	杉本 達哉, 土田 文子	31
—検査法別解析 抗体検査 WAKFlow (MR・HR) 法—	平田 康司	33
—検査法別解析 その他検査法およびクロスマッチ—	中島 文明	35
—移植学会連携 全血クロス—	橋口 裕樹	37

総説

補体 C1q を用いた血液型抗 A/B-IgG 抗体検出の有用性

石塚 敏, 安尾美年子, 小林 悠梨, 三浦ひとみ, 甲斐耕太郎, 岩藤 和広, 村上 徹, 北島久視子, 中島 一朗, 潤之上昌平	39
---	----

第 14 回日本組織適合性学会近畿地方会 抄録集	45
--------------------------	----

日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定	72
----------------------	----

編集後記	75
------	----

第 25 回 日本組織適合性学会大会の御案内

第 25 回日本組織適合性学会大会
大会長 笠原正典
(北海道大学大学院医学研究科
分子病理学分野教授)

皆様におかれましては益々ご清祥のことと存じます。

この度、第 25 回大会をお世話させていただくことになりました。札幌市での開催は、本学会の前身である日本組織適合性研究会の第 1 回例会が 1973 年に相沢 幹教授（北海道大学医学部病理学第一講座）を世話人として開催されて以来です。本大会では「MHC 研究の進歩:生命科学と臨床医学へのインパクト」をテーマとして、基礎と臨床のバランスがとれたプログラムを組みたいと考えています。会場となる北海道大学学術交流会館は JR 札幌駅からも近く、交通の便の良いところにあります。皆様のご参加を心よりお待ちしております。

会 期：平成 28 年 10 月 22 日（土）～ 24 日（月）

会 場：北海道大学 学術交流会館

〒 060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目

Tel. 011-706-2042（平日 8:30-17:00 限定）

演題応募：平成 28 年 5 月 9 日～ 6 月 27 日

大会内容（予定）

特別講演 3 題、シンポジウム 3 セッション、一般演題、学会賞受賞講演、学術奨励賞候補者口演、QCWS 集会、教育講演（認定 HLA 技術者講習会）、初心者講習会、ランチョンセミナー、ポスター発表、その他

大会事務局

北海道大学 大学院医学研究科 分子病理学分野

〒 060-8638 札幌市北区北 15 条西 7 丁目

第 25 回日本組織適合性学会大会事務局

Tel.: 011-706-5050; FAX: 011-706-7825

E-mail: jshi2016@med.hokudai.ac.jp

運営事務局

日本コンベンションサービス株式会社 北海道支社

〒 060-0807 札幌市北区北 7 条西 1 丁目 1-2 SE 札幌ビル 6 階

Tel.: 011-738-3503; FAX: 011-738-3504

E-mail: jshi2016@convention.co.jp

大会ホームページ

<http://www2.convention.co.jp/jshi2016>

※ QCWS 集会, 教育講演 (認定 HLA 技術者講習会), 初心者講習会は 10 月 22 日に開催します。一般演題募集要項, 参加登録, 宿泊予約, プログラムの詳細などについては, 大会ホームページで, 順次お知らせします。

2016年度 学会賞ならびに学術奨励賞の募集について

会員の皆様

日本組織適合性学会においては、2014年度より、高い権威をもつ「学会賞」と若手学会員の学術研究を奨励する「学術奨励賞」を設けています。

この学会賞は組織適合性ならびに免疫遺伝学の分野において、顕著な業績をあげられた学会員を表彰するものです。学会を代表する学会員を慎重に選考するために、推薦された候補者について、公平かつ十分な審議をへて、受賞者が決定されます。そこで昨年度、学術奨励賞も含めて、各賞候補の資格や選考の手続きなどを明確にした、規定を作成いたしました。本規定において、学会賞は組織適合性ならびに免疫遺伝学の分野において顕著な業績をあげ、本会の発展に特筆すべき功績を残した者を表彰し、もってその榮譽をたたえることを目的といたします。一方、学術奨励賞は組織適合性ならびに免疫遺伝学の分野における、秀でた学術的研究を若い学会員に奨励するために優れた若手研究者を表彰し、もって当該分野の発展に寄与することを目的としています。

本規定に則り、2016年度日本組織適合性学会の学会賞ならびに学術奨励賞を、以下の要領で募集いたします。なお昨年度の規定から若干の変更がありますので、以下の要領にしたがい、奮ってご応募ください。

1. 助成内容

組織適合性ならびに免疫遺伝学の分野において顕著な業績をあげ、本会の発展に特筆すべき功績を残した学会員または名誉会員（年齢制限無し）に学会賞を授与いたします。また、2016年度学術集会大会（第25回大会）に応募された一般演題の中から、特に優秀と認められた演題の筆頭演者（応募者、原則として2016年4月1日時点で満45才以下）に学術奨励賞を授与いたします。授与件数は学会賞1名（賞金10万円）、学術奨励賞若干名（賞金5万円、あるいはそれ以下）を予定しています。

2. 応募資格

(1) 学会賞

本学会の正会員として5年以上の会員歴があり、以下の条件を満たす者とする。

- 1) 組織適合性ならびに免疫遺伝学の分野において顕著な業績をあげ、組織適合性学会の発展に特筆すべき功績を残した実績を有すること。
- 2) 本学会の正会員または名誉会員であること
- 3) 正会員である場合は、当該年度の会費を納入済みであること。

(2) 学術奨励賞

本学会の正会員（当該年度大会までに正会員となる者を含む）であり、以下の条件をすべて満たす者とする。

- 1) 組織適合性ならびに免疫遺伝学の分野に関する学術研究において、その内容が優れていること。
- 2) 当該年度の会費を納入済みであること、または当該年度の大会までに正会員として会費を納入すること。
- 3) 学術奨励賞を受賞した者は、原則として次年度以降も正会員を継続すること。
- 4) 当該年度の大会に、筆頭演者として演題に応募すること。
- 5) 応募しようとする演題の内容において、応募者が中心的な役割を果たしていること。

- 6) 応募しようとする演題の内容が、本学会に未発表であること。
- 7) 受賞後にMHCへ原著論文あるいは総説を執筆できること。
- 8) 過去3年間に学術奨励賞を受賞していないこと。
- 9) 学術奨励賞の応募者は当該年度の4月1日において、原則として45才以下であること。

3. 応募・推薦方法

(1) 学会賞

学会賞は自薦または他薦とし、前年度の12月末までに、候補者に関する以下の書類を日本組織適合性学会事務局 (e-mail: jshijimu@kumamoto-u.ac.jp) および学術奨励賞担当理事 徳永勝士 (e-mail: tokunaga@m.u-tokyo.ac.jp) にメール添付で提出する。なお、他薦の場合には、推薦者は正会員であることが必要です。

1) 履歴書

書式は自由とし、A4用紙にて1枚程度とする。連絡先住所、電話番号、FAX、e-mailアドレス、生年月日、年齢を記入する。

2) 業績概要

書式は自由とし、A4版用紙にて2～3枚程度とする。

3) 論文業績リスト

書式は自由とし、代表的な論文3編について、各1部（コピーも可）添付する。

4) 応募動機（他薦の場合は推薦書）

書式は自由とし、学会賞への応募理由（他薦の場合は推薦理由）をA4版用紙1枚に記載する。

(2) 学術奨励賞

学術奨励賞に応募しようとする会員は、大会の一般演題申込み締切り日までに、以下の書類を大会事務局あてに提出する。

1) 抄録

一般演題に応募した抄録

2) 応募ファイル

1頁目に、演題名、演者（全員）、所属（全員）、および応募者（筆頭演者）の連絡先住所、電話番号、FAX、e-mailアドレス、生年月日、年齢を記入する。2頁目以降に、応募した(1)研究の背景、(2)研究の意義、(3)日本組織適合性学会との関わり（これまでの関わりと、今後の方針・計画など）を、項目ごとに300-400字程度でまとめる。

4. 選考および結果通知について

(1) 学会賞

評議員の中から評議員による選挙で選ばれた選考委員7名により構成される学会賞選考委員会が選考を行う。委員会は、応募・推薦のあった学会賞受賞候補者より、1名を受賞候補者として選考した後に、これを理事会に推薦するものとする。なお、委員は密接な利害関係者の審査に加わらない。理事会は、学会賞選考委員会から推薦された受賞候補者1名について審議し、受賞者を決定した後に、評議員会の承認を経て総会に報告するものとする。

(2) 学術奨励賞

理事長、学術賞担当理事、学会賞選考委員、ならびに学術賞担当理事が選考した若干名の評議員によっ

て構成される，学術奨励賞選考委員会が選考を行う。委員会は，応募のあった奨励賞受賞候補者の中から，当該年大会中の各候補者の口頭発表内容の評価等を参考にして，奨励賞選考委員会にて若干名を受賞候補者として選考した後，これを理事長に推薦し，承認を得る。なお，委員は密接な利害関係者の審査に加わらない。当該年大会中に選考結果を公表し，表彰式を実施する。

5. 受賞者にかかる義務について

(1) 学会賞

学会賞受賞者は，原則として受賞年度に開催される大会期間中に，受賞講演を行う。

(2) 学術奨励賞

1) 学術奨励賞受賞者は，助成が行われた研究課題に関する報告書（様式は別途通知します）を学会事務局宛に提出する。

2) 受賞後原則として3ヶ月以内に，受賞課題に関する原著論文あるいは総説をMHCへ投稿する。

6. 助成金の使途

使途について特に制限はないが，学会賞・学術奨励賞であることの趣旨をご理解のうえ，適切に使用しなければならない。なお，学術奨励賞受賞者については使途と，その内訳を前述の報告書に記載する。

7. 問い合わせ先

本件に関する問い合わせは，大会事務局または学術奨励賞担当理事 徳永勝士 (e-mail: tokunaga@m.u-tokyo.ac.jp) あてに，お願いいたします。

**組織適合性検査技術者認定制度
平成 28 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

組織適合性教育委員会

委員長 太田 正穂

日 時：平成 28 年 10 月 22 日（土曜日）時刻：10 時 00 分～12 時 00 分

会 場：第 25 回・日本組織適合性学会 大会会場

北海道大学 学術交流会館

〒060-0808 北海道札幌市北区北 8 条西 5 丁目（TEL 011-706-2042）

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ので各自、御参照ください。
会場でのテキストの販売は、いたしません。

受講証明書：認定制度に関わる受講証明の受領を希望される方には、会場入口の受付にて、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。

(1) HLA に関する基礎医学的な講演

前仲 勝実 先生（北海道大学薬学研究院 生体分子機能学研究室・教授）

「HLA の立体構造と免疫制御受容体の分子認識機構」

(2) HLA タイピングあるいは抗 HLA 抗体検査に関する講演

高橋 大輔 先生（日本赤十字社 北海道ブロック血液センター検査一課）

「血小板輸血不応における HLA 抗体の臨床的意義」

(3) 臓器移植の臨床医学に関する講演

豊嶋 崇徳 先生（北海道大学大学院医学研究科 血液内科学分野・教授）

「造血幹細胞移植の現状と展望」

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が、それ以外の大会参加者であっても自由に参加することができます。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。

初心者講習会の開催及び参加希望者募集について

組織適合性学会教育委員会
委員長 太田正穂
組織適合性学会初心者教育部会
部会長 成瀬妙子

日本組織適合性学会では、学会大会プログラムにおいてQCワークショップや技術者講習会を開催し、学会員の組織適合性検査に関わる知識や技術の向上を目指しているところです。しかしながら、組織適合性検査の初心者や各検査法に関する基礎的な情報を要望する会員に十分な説明を行う時間を確保できない状況です。

そこで、今年度も下記の通り、HLA および HLA 検査に関する基礎的な内容の教育訓練を目的とした「初心者講習会」を大会期間中に開催することと致しました。

記

- 1, 対 象 : 学会員および大会参加者
(組織適合検査の初心者で、HLA の基礎的な内容の教育訓練を希望する方)
- 2, 日 時 : 日本組織適合性学会第 25 回大会期間中
- 3, 会 場 : 北海道大学 学術交流会館
- 4, 定 員 : 20 名程度
(定員数を超える場合は、当委員会で選考を行う場合があります。)
- 5, 参加費 : 無料
- 6, その他 : 申し込みに関する詳細は 7 月中旬に日本組織適合性学会のホームページ (<http://jshi.umin.ac.jp/>) に掲載致します (応募締め切りは 8 月末を予定しています)。

以上

平成 27 年度 認定 HLA 検査技術者講習会アンケート集計結果

開催日時：平成 27 年 9 月 12 日（土）8：30～10：30
 会 場：第 24 回・日本組織適合性学会 大会会場
 ホテルレイクビュー水戸 2 階（紫峰鳳凰）

・回答者総数：101 名

1) 旅費・滞在費の財源について 回答者 101 名

①	私費	21 名 (20.8%)
②	職場からの支援	77 名 (76.2%)
③	その他	3 名 (3.0%)

③その他の内訳：研究費から 1 名，①と②を半額ずつ 2 名，

2) 職場・職務について

職場 回答者 101 名

①	病院	50 名 (49.5%)
②	血液センター	15 名 (14.9%)
③	検査センター	8 名 (7.9%)
④	大学(国公立, 私立)	13 名 (12.9%)
⑤	民間企業	8 名 (7.9%)
⑥	その他	7 名 (6.9%)

内訳：(輸血部：33 名，検査部：15 名)

職務 回答者 100 名

①	臨床医	2 名 (2%)
②	臨床検査業務	60 名 (60%)
③	検査受託業務	10 名 (10%)
④	製造業関連業務	3 名 (3%)
⑤	製品開発業務	2 名 (2%)
⑥	教育業務	1 名 (1%)
⑦	研究業務	20 名 (20%)
⑧	その他	2 名 (2%)

3) 参加者の認定制度への関わりについて

認定資格の取得状況および取得への希望 回答者 96 名

- ① 資格取得済み 44 名 (46%)
- ② 資格取得希望 37 名 (38%)
- ③ 資格取得希望しない 15 名 (16%)

取得済みの資格

- a. 認定技術者 18 名 (41%)
- b. 認定指導者 8 名 (18%)
- c. 記載無 18 名 (41%)

取得を希望する資格

- a. 認定技術者 20 名 (54%)
- b. 認定指導者 5 名 (14%)
- c. 記載無 12 名 (32%)

- 4) 学会ホームページに掲載された、講習会テキストの事前確認の有無 回答者 100 名
あり 80 名 (80%) なし 20 名 (20%)
- ※ MHC22-2 にテキストが掲載されることを知るのが難しかった。
 - ※ 掲示場所が解り難かった。

- 5) 講習科目の種類は適切であったか? (数値は 5 点満点の平均点)

平均点 4.7

- 評価の基準：5：すべての科目において適切であった。
4：一部の科目に問題があったが、ほぼ適切であった。
3：約半数の科目は適切であった。
2：多くの科目について不適切であった。
1：すべての科目について不適切であった。

- 6) 講習内容のレベルならびに講習テキストは適切であったか? (数値は 5 点満点の平均点)

講演評価点 (3.9) テキスト評価点 (4.0)

- 評価の基準：5：すべて理解できた。
4：一部は難解であったがほぼ理解できた。
3：約半分は理解できた。
2：多くの内容について難解であった。
1：すべての内容が難解であった。

要望

教育講演という意味であれば、基礎的な演題を 1 題は入れて欲しい。
疾患と HLA の分子メカニズムについて聞きたかった。

7) 講習時間は量的に適切であったか？（数値は 5 点満点の平均点）

時間的評価点（4.5）

評価の基準：5：適切であった。
4：ほぼ適切であった。
3：もっと長時間の講習を受けたかった。
2：講習時間はもう少し短くてもよかった。
1：その他

- ★ 各講習とも時間が短く、内容を十分に消化できない。
- ★ HLA タイピング、クロスマッチ、HLA 抗体の検査の実際のような話をして欲しい。
- ★ シーケンスを行っていない者には、次世代シーケンサーは更に難しく理解できない。もっとかみ砕いた内容にして欲しい。

8) 講習会の開催通知は適切であったか？

開催通知	回答数
適切であった。	78 名 (83%)
あやうく見落とすところであった。	10 名 (11%)
他の人から情報を得るまで気が付かなかった。	4 名 (4%)
その他	2 名 (2%)

情報の入手経路	回答数
抄録集	2 名
学会ホームページ	38 名
口こみ	1 名
メール	2 名

要望

- ★ テキストのダウンロードは他の人からの情報による。
- ★ テキストの確認が解り難かった。送付と書かれていたが、実際には学会誌に記載されていたため勘違いをしていた。
- ★ テキストのように事前に抄録集を送って欲しい。
- ★ Up が遅く、ホテルなどの手配が遅れる。
- ★ 講習テキストの配付をして欲しい。
- ★ テキストの入手方法について学会誌 MHC22-2 に記載してあることを書いて頂きたかった。
- ★ 開催通知は解ったが、テキストをみるのが難しかった。
- ★ テキストの掲載場所を探すのに時間がかかった。
- ★ テキストの HP 内のどこに up されているか不明であった。

9) その他の意見

① 講習の内容について

- 臨床の話が解り易く，興味深い内容であった。
- 講習会のスライドをホームページ上で共有できれば好ましい。

② テキスト入手について

- 講習会テキスト（MHC 8月号）へのアクセス方法が難しい。学会ホームページの講習会案内サイトから MHC 講習会テキストにリンクできるようにして欲しい。

③ 会場及び開催時期について

- 交通機関のスムーズな場所が好ましい。
- 遠方より自費で参加しているので，9:30 分開始の方が好ましかった。

組織適合性技術者認定制度委員会・部会名簿（2016）

組織適合性技術者認定制度委員会

委員長：田中 秀則

副委員長：中島 文明

委員：太田 正穂，木村 彰方，高 陽淑，酒巻 建夫，徳永 勝士，成瀬 妙子，西村 泰治

資格審査部会

部会長：成瀬 妙子

副部会長：

部員：安藤 麻子，中島 文明，清水 まり恵

試験問題検討部会

部会長：木村 彰方

副部会長：平山 謙二

部員：一戸 辰夫，太田 正穂，田中 秀則，徳永 勝士，成瀬 妙子，西村 泰治，湯沢 賢治

QCワークショップ部会

部会長：田中 秀則

副部会長：成瀬 妙子，中島 文明，高 陽淑，橋口 裕樹

部員：石塚 敏，一戸 辰夫，太田 正穂，川井 信太郎，吉川 枝里，木村 彰方，黒田 ゆかり，
小林 孝彰，藤原 孝記，宮崎 孔，湯沢 賢治

参考マニュアル作成WG

HLA タイピング WG：成瀬 妙子（リーダー），黒田 ゆかり，吉川 枝里，小川 公明

抗HLA抗体WG：高 陽淑（リーダー），川井 信太郎，藤原 孝記

クロスマッチWG：橋口 裕樹（リーダー），石塚 敏，黒木 聖久，高山 智美，藤井 明美，
金本 人美

第 19 回 HLA-QC ワークショップレポート

第 19 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¹⁾, 中島文明²⁾

¹⁾ 公益財団法人 HLA 研究所, ²⁾ 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[#]

1. ワークショップの経過

平成 27 年 1 月に第 19 回 HLA-QCWS の開催および参加案内を, 学会誌および学会ホームページ (以下, 学会 HP) に掲載し, 平成 27 年 2 月までに 73 施設 (DNA-QC: 69 施設, 抗体 QC : 58 施設) からの参加申し込みがあった (表 1)。また, QCWS 参加希望施設からの連絡およびデータ収集等については, 電子メールを主として行った。

DNA-QC および抗体 QC に用いる試料の選択は, 第 23 回大会会期中に開催した QCWS 部会で協議した基本的な方針に従い行った。また, 各施設から提出された結果の解析は, 検査法別と臨床部門別に解析を行うこととし, 臨床部門 (以下 4 部門, 輸血, 臓器移植, 造血幹細胞移植, その他 (研究等)) については, 参加申込書の記載に従った。

3 月 31 日に試料を発送し, 4 月 10 日に QCWS 結果入力用のシートファイルをメールの添付ファイルとして参加施設に配布し, 結果提出の締切りを 5 月 9 日とした。最終的には 73 施設 (DNA-QC : 69 施設, 抗体 QC : 57 施設) から結果が提出された。5 ~ 6 月中に生データの取りまとめ, 6 月 3 日に各解析担当者にデータが配布され解析が行われた。各検査法別の解析結果は, 7 月 15 日に締め切りとし, 次に総合解析担当と各検査法解析担

当者間で解析結果の取り纏めについてメールでのディスカッションを行い, 解析結果の公表内容を統一化した。平成 27 年 8 月中旬までに, 最終報告データを作成し, 解析結果をホームページで公開し, 参加者が必要に応じてダウンロード出来るようにした。同時にデータ集を CD-R で配布した。また, 解析結果は QCWS 集会での報告及び本学会誌 (MHC) への掲載を行った。

2. QCWS のテーマおよび試料選択について

DNA-QC のテーマは, 昨年同様①正確な DNA タイピングが出来ることおよび第 2 区域まで判定されること, ② DNA タイピング結果の表記を正しく記述できること, ③学会の表記法に従い正確に表記すること, ④ DNA タイピング結果に対応した HLA 抗原型に正確に読替えること, ⑤日本人集団における ambiguity となるアリの解説の 5 点とした。

また, 試料については, 前年度の QCWS 部会で協議した「日本人由来の細胞で高頻度に検出される HLA 型であること」, 「日本人由来で稀な HLA アリルであること」の要件に合う細胞から抽出した DNA の配布を行った。

抗体 QC のテーマは, ①抗体検出が正確に行えること, ②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, ③検査結果から導かれる総合判定結果を正

[#] 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⁾, 中島文明²⁾, 成瀬妙子³⁾, 高 陽淑⁴⁾, 橋口裕樹⁵⁾, 一戸辰夫⁶⁾, 石塚 敏⁷⁾, 太田正穂⁸⁾, 川井信太郎⁹⁾, 吉川枝里¹⁰⁾, 木村彰方³⁾, 黒田ゆかり¹¹⁾, 小林孝彰¹²⁾, 藤原孝記¹³⁾, 宮崎 孔¹⁴⁾, 湯沢賢治¹⁵⁾

¹⁾ 公益財団法人 HLA 研究所, ²⁾ 日本赤十字社 中央血液研究所, ³⁾ 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子病態分野, ⁴⁾ 日本赤十字社 近畿ブロック血液センター, ⁵⁾ 福岡赤十字病院, ⁶⁾ 広島大学 原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍内科研究分野, ⁷⁾ 東京女子医科大学 中央検査部 移植関連検査室, ⁸⁾ 信州大学 医学部 法医学教室, ⁹⁾ 湧永製薬株式会社 試薬・診断薬事業部, ¹⁰⁾ 東海大学 医学部 血液腫瘍内科, ¹¹⁾ 日本赤十字社 九州ブロック血液センター, ¹²⁾ 愛知医科大学 医学部 外科学講座, ¹³⁾ 帝京大学医学部附属病院 輸血・細胞治療センター, ¹⁴⁾ 日本赤十字社 北海道ブロック血液センター, ¹⁵⁾ 国立病院機構水戸医療センター 臨床研究部 移植医療研究室

表 1 第 19 回 HLA-QCWS 参加施設 (受付日付順)

		(受付日付順)
1	佐賀大学医学部附属病院	輸血部
2	INPO法人腎泌尿器疾患研究所	
3	中四国ブロック血液センター	検査一課
4	獨協医科大学病院	臨床検査センター 遺伝子・HLA検査室
5	鹿児島大学医学部・歯学部附属病院	輸血・細胞治療部
6	北里大学病院	輸血部
7	富山大学附属病院	輸血・細胞治療部
8	福島県立医科大学附属病院	輸血・移植免疫部
9	九州ブロック血液センター	検査二課
10	自治医科大学附属病院	輸血・細胞移植部
11	帝京大学医学部附属病院	輸血・細胞治療センター
12	東北ブロック血液センター	検査一課
13	岐阜大学医学部附属病院	検査部
14	公益財団法人 HLA 研究所	
15	鷹揚細腎研究所 弘前病院	HLA検査室
16	三重大学医学部附属病院	輸血部
17	熊本大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部
18	日本赤十字社 中央血液研究所	研究開発部
19	近畿ブロック血液センター	検査部 検査三課
20	虎の門病院	輸血部
21	株式会社ビー・エム・エル	第三検査部 ゲノム検査課
22	JCHO仙台病院	統括診療部 臨床検査科診療部
23	九州大病院	遺伝子・細胞療法部
24	株式会社 LSIメディエンス	遺伝子解析部 遺伝子検査グループ
25	東海北陸ブロック血液センター	品質部 検査三課
26	伊勢赤十字病院	輸血検査室
27	湧永製薬株式会社	試薬・診断薬事業部
28	徳島大学病院	輸血・細胞治療部
29	東海大学医学部附属病院	臨床検査技術科 輸血室
30	愛媛県立衛生環境研究所	疫学情報科
31	広島大学病院	診療支援部 遺伝子細胞療法部門
32	北海道大学病院	検査・輸血部
33	京都府立医科大学附属病院	輸血・細胞治療部
34	岡山大学病院	輸血部
35	静岡県立総合病院	検査部 輸血・細胞治療科
36	国立循環器病研究センター	臨床検査部 輸血管理室
37	関西医科大学附属桜花病院	輸血・細胞療法部
38	株式会社 医学生物学研究所	品質保証部
39	国立病院機構 岡山医療センター	臨床検査科
40	北海道ブロック血液センター	品質部検査一課二係
41	金沢医科大学病院	北陸腎移植HLA検査センター
42	東京女子医科大学	中央検査部 移植関連検査室
43	名古屋第二赤十字病院	医療技術部検体検査第二課組織適合検査室
44	公立大学法人 横浜市立大学附属病院	輸血・細胞治療部
45	大分県立病院	輸血部
46	松江赤十字病院	検査部 輸血管理室
47	独立行政法人 国立病院機構 米子医療センター	臨床検査科
48	ジェノダイブファーマ株式会社	ゲノム解部門HLA検査課
49	株式会社 ベリタス	技術推進部
50	株式会社 保健科学研究所	QAU
51	富崎大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部
52	関東甲信越ブロック血液センター	検査部 検査三課
53	社会保険中京病院	検査部
54	大阪府立急性期・総合医療センター	移植支援検査センター
55	関東甲信越ブロック血液センター 埼玉製造所	品質部 検査三課
56	山形県立中央病院	輸血部
57	がん・感染症センター 都立駒込病院	輸血・細胞治療科
58	岩手医科大学附属病院	中央臨床検査部 免疫血清検査室
59	秋田大学医学部附属病院	腎疾患先端医療センター
60	沖縄県立中部病院	検査科 HLA検査
61	国立病院機構千葉東病院	臨床検査科
62	福岡赤十字病院	検査部 移植検査課
63	筑波大学	消化器外科研究室
64	旭川医科大学病院	臨床検査・輸血部
65	県立広島病院	臨床研究検査科
66	大阪市立大学医学部附属病院	輸血部
67	独立行政法人医薬基盤研究所	難病・疾患資源研究部 難病資源研究室
68	札幌北極病院	臨床検査科
69	株式会社エスアールエル	特殊検査部 特殊検査 J課
70	京都大学医学部附属病院	輸血細胞治療部
71	近畿大学医学部附属病院	輸血・細胞治療センター
72	株式会社 リプロセル	技術部
73	湘南鎌倉総合病院	検査部

しく報告できることの3点とし、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、配布する検体は、「日本人に通常検出される抗HLA抗体であること」とし、一部の試料では「HLA-C座抗原に対する抗体」、「IgM性抗体」、「HLA以外の非特異的な反応」が含まれる場合がある。

交差適合試験については、本年も参加希望施設からの募集参加として以下の2通り実施することを参加申込み時に受け付けた。

①配布した抗体QCの検体と各施設で準備した細胞でのダイレクトクロスマッチ

②抗体QC試料とDNA-QC試料の測定結果による仮想クロスマッチ

また、全血由来のリンパ球による交差適合試験は、日本移植学会との連携しQCWSで使用する試料(血清)を使用して行った。

3. 解析方法

検査法別解析は、DNA-QCでは①Luminex(SSO法)、②イノリパ(SSO法)、③SSP法、④SBT法(次世代シーケンサーを用いた方法も含む)、抗体QCでは①FlowPRA法、②Lab Screen、③WAK Flow法、④その他検査法およびクロスマッチの4法について解析を行った。

部門別解析は、各検査法別の解析結果から、各参加部門(輸血・臓器移植・造血幹細胞移植)での検査実施状況の解析および「HLA-QCワークショップ結果評価の基準」に従った提出結果および結果表記法について評価を行い、その状況について解析した。各解析分担項目と解析担当者(所属)は、以下のとおりである。また、今回のQCWS集会では試料の説明も加えた。

1) タイピング結果解析

・試料説明 総合解析(部門含む)

九州ブロック血液センター 黒田ゆかり

・Luminex(SSO法)について

ジェノダイブファーマ 奥平 裕子

・イノリパ(SSO法)について

東京女子医科大学 石塚 敏

・SSP法について

県立広島病院 藤井 明美

・SBT法について

HLA研究所 小島 裕人

2) 抗体検査結果解析

・試料説明

中央血液研究所 中島 文明

・総合解析(部門含む)

近畿ブロック血液センター 高 陽淑

- FlowPRA 法の検査状況の解析
福岡赤十字病院 金本 人美
- LabScreen による抗体検査
東海大学医学部付属病院 杉本 達哉
- WAK Flow 法による抗体検査
中四国ブロック血液センター 平田 康司
- その他検査法およびクロスマッチ
中央血液研究所 中島 文明
- 移植学会連携 全血クロス
福岡赤十字病院 橋口 裕樹

一部は、日本赤十字社中央血液研究所で 1 本鎖 DNA に分離してから IMGT/HLA 3.19.0 (2015-01) を参照ライブラリーとして、塩基配列を再確定した。表記は本学会 HLA 標準化委員会のアレル表記法と結果報告の原則 (2010 年版 改訂 1.1 版) に従い記載した (表 2)。

抗体サンプルは、参加各施設の総合判定結果を集計し、HLA 遺伝子頻度 0.1% 以上の抗原に対する反応と 0.1% 未満の抗原に対する反応に分けて記載した。スコア「8」は 3 分の 2 以上の参加施設が陽性判定した抗原、スコア「1」は 3 分の 2 以上の参加施設が陰性判定した抗原、スコア「4」はどちらも 3 分の 2 に達しない抗原として表示した。遺伝子頻度は造血幹細胞移植情報サービス (<http://www.bmdc.jrc.or.jp/generalpublic/statistics.html#an1>) で公開されている統計資料を参照した (表 3)。

各施設の提出結果の再確認、精度管理及び技術向上に、これらの結果とサンプル残余を活用していただきたい。

4. QCWS サンプルの総合結果

配布した DNA 及び抗体サンプルについて、本ワークショップで解析された総合結果を示す。DNA サンプルは、主に参加各施設の SSO と SBT の結果から総合的にリアサインした。Ambiguity を可能な限り回避するため、

表 2 第 19 回 HLA-QC ワークショップレポート : DNA サンプルの総合結果

HLA-Class I	HLA-A		HLA-B		HLA-C	
H2701	A*02:06:01	A*11:02:01	B*38:02:01	B*48:01:01	C*07:02:01:01	C*08:03:01
	A2	A11	B38	B48	Cw7	Cw8
H2702	A*11:01:01	A*24:02:01	B*55:02:01	-	C*03:03:01	C*12:03:01
	A11	A24	B55	-	Cw9	Cw12 ※
H2703	A*24:02:01	A*26:01:01	B*15:27:01	B*46:01:01	C*01:02:01	C*04:01:01
	A24	A26	B62	B46	Cw1	Cw4
H2704	A*02:06/398	A*02:10/409	B*40:06:01	B*52:01:01	C*08:01:01	C*12:02:02
	A2	A210	B61	B52	Cw8	Cw12 ※

HLA-Class II	HLA-DR		HLA-DQ		HLA-DP	
H2701	DRB1*04:10 DRB4*01:03:01 DR4 DR53	DRB1*16:02:01 DRB5*02:02 DR16 DR51	DQA1*01:02/08/09/+ DQB1*04:02:01 DQ4	DQA1*03:03/01/02 DQB1*05:02:01 DQ5	DPA1*02:02 DPB1*03:01//+ DPw3	- DPB1*05:01//+ DPw5
H2702	DRB1*04:05:01 DRB3*02:02:01 DR4 DR52	DRB1*14:05:01 DRB4*01:03:01 DR14 DR53	DQA1*01:04/01/04/05/+ DQB1*04:01:01 DQ4	DQA1*03:03/01/02 DQB1*05:03:01 DQ5	DPA1*01:03 DPB1*02:01//+ DPw2	- DPB1*04:02//+ DPw4
H2703	DRB1*08:03:02 DR8	DRB1*09:01:02 DRB4*01:03:01 DR9 DR53	DQA1*01:03/10 DQB1*03:03:02 DQ9	DQA1*03:02/01/03+ DQB1*06:01:01 DQ6	DPA1*02:01 DPB1*05:01/135:01 DPw5	DPA1*02:02 DPB1*14:01 DPw14 ※
H2704	DRB1*01:01:01 DR1	DRB1*15:02:01 DRB5*01:02 DR15 DR51	DQA1*01:01/04/05/+ DQB1*05:01:01 DQ5	DQA1*01:03/10 DQB1*06:01:01 DQ6	DPA1*02:01 DPB1*09:01 DPw9 ※	- - -

上段 (斜体): HLA 遺伝子型
下段 (太字): HLA 型

※このアレルに対応する HLA 型が判明していないためアレル名の第 1 区域で表記

第 19 回 HLA-QC ワークショップレポート — 試料説明・総合解析（表記含む）（DNA 部門） —

黒田ゆかり¹⁾

¹⁾ 日本赤十字社 九州ブロック血液センター

I. 試料説明

1. DNA-QC のテーマ

DNA-QC のテーマは、1) 正確な DNA タイピングが行えること、2) DNA タイピング結果の表記を正しく記述できること、3) 学会の表記法に従い正確に表記すること、4) DNA 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、5) Ambiguity となるアリルと日本人集団でのアリルの解説である。

2. 配布サンプル

配布したサンプルは、購入した細胞から抽出した DNA の 4 サンプル（10 µg, 20 µg）であり、日本人由来の細胞で高頻度に検出される HLA 型であることおよび日本人由来で稀な HLA アリルであることを選択基準とした。今回のサンプルの特徴は、日本人における典型的なハプロタイプを形成していないことと、抗原頻度では日本人で高頻度抗原であるが抗原内遺伝子頻度は稀であるアリルを含んでいることであった。

II. 部門別総合解析（表記含む）

1. 概要

参加施設は、昨年より 1 施設増加し 69 施設であり、部門別の参加施設数は、輸血部門 37 施設（53.6%）、臓器部門 44 施設（63.8%）、造血部門 30 施設（43.5%）およびその他 8 施設（11.6%）であった。評価対象は例年通り HLA-A, B, C および DRB1 とし、DRB3/4/5, DQB1, DPB1, DQA1 および DPA1 は対象外とした。ローカス別の参加施設数は、HLA-A および HLA-B が 69 施設（100%）、HLA-C が 59 施設（85.5%）、DRB1 が 67 施設（97.1%）であった。

使用方法は、Luminex（SSO）法を使用した施設（他

方法との重複含む）が全体の 72.5% と一番多かった。部門別にみても、いずれの部門でも Luminex（SSO）法を使用した施設が一番多かったが、輸血部門 81.1%、造血部門 83.3% であるのに対し、臓器部門では 65.9% とやや低く、その代わりに SSP 法の使用が 40.9% と目立っていた。

また、今回は NGS での参加施設が 3 施設あり、SBT 中の 1 方法として分けて方法別解析を行った。

詳細は、学会ホームページの第 19 回 QC ワークショップ報告集をご参照いただきたい。

2. 判定結果の評価

1) 各タイピング法での判定が正しいこと、2) 各タイピング法の結果が総合判定と祖語がないことの 2 つを評価項目とし、60 点満点で評価した。全施設の評価平均点は、58.59 点と概ね良好な結果を示した。各方法別解析を参考にさせていただきたい。

3. 結果表記の評価

HLA タイピング結果は、日本組織適合性学会で規定されている「HLA タイピング結果のアリル表記法と結果報告の原則（2010 年度版）」*¹ に基づき、1) アンビギュイティ（ambiguity）の表記、2) HLA 型への読替え、3) その他 DNA タイピング結果表記について 40 点満点で評価した。全施設の評価平均点は、39.51 点と良好な結果を示した。

*¹ : http://jsihi.umin.ac.jp/standardization/JSIHI-hyouki-2010_1.1.pdf

表記する際の注意点を以下に示すのでご参照いただきたい。

3-1 基本

- ① 全て半角で記入する。（アルファベット、数字、記号）

表 1 スプリット抗原, アソシエート抗原 (一部抜粋)

Allele	HLA 型	Allele	HLA 型	Allele	HLA 型
A*02:03	A203	B*27:08	B2708	B*55:07	B54
A*02:10	A210	B*38:03	B16	B*55:08	B56
A*24:03	A2403	B*39:01	B3901	B*56:06	B78
A*24:10	A2403	B*39:02	B3902	B*58:08	B17
A*26:10	A10	B*40:01	B60	C*03:02	Cw10
B*07:03	B703	B*40:02	B61	C*03:03	Cw9
B*15:01	B62	B*40:03	B61	C*03:04	Cw10
B*15:02	B75	B*40:05	B4005	DRB1*01:03	DR103
B*15:07	B62	B*40:06	B61	DRB1*03:01	DR17
B*15:11	B75	B*44:09	B45	DRB1*03:02	DR18
B*15:18	B71	B*51:02	B5102	DRB1*14:03	DR1403
B*15:27	B62	B*51:03	B5103	DRB1*15:08	DR2

- ② ローカス名は, HLA-A および B 以外は遺伝子型表記と HLA 型 (抗原型) とで異なる。(遺伝子型: 「C」「DRB1」, HLA 型 (抗原型): 「Cw」「DR」, など)

3-2 遺伝子型表記

- ① 遺伝子型はローカス名の後ろに「* (アスタリク)」を記入する。
- ② 各区域は「: (コロン)」で区切る。
- ③ 中・高解像度の検査法で実施した場合は, 第 2 区域以上で記入する。
- ④ Ambiguity がある場合は, 数字を小さい順に「/ (スラッシュ)」で区切る。
- ⑤ Null allele の「N」などは, スラッシュで区切る際には不要。

3-3 HLA 型 (抗原型) 表記

- ① 複数の型がある場合は数字を小さい順に「/ (スラッシュ)」で区切る。
- ② Null allele を含む複数の抗原型が存在する場合には「- (ブランク)」は不要。
- ③ 公認抗原型が無いアリルは, 第 1 区域を用いて表記する。(例: C*12:03 → Cw12)
- ④ 読替えは, 第 1 区域と HLA 型が異なる場合があるので要確認。[表 1 参照]

3-4 遺伝子型および HLA 型 (抗原型) 共通

- ① 明らかなヘテロ接合は両方のコラムに記入する。
- ② 明らかなホモ接合は後ろの 2 番目のコラムに「- (ブランク)」を記入する。

3-5 課題

年々増加するアリルであるが, 方法によっては表記が複雑化し, 今回のワークショップにおいても表記法での課題が見つかった。以下の点については, 標準化委員会に報告予定である。

- ① 第 3 区域で稀なアリル (A*02:01:101, B*54:01:02 など) が Ambiguity に含まれる場合に, 第 2 区域での表記がメジャーなアリルとなることにより, メジャーアリル同士の区別が出来ない表記となる。
- ② Phase ambiguity によって複数の組み合わせが存在する場合の「代表アリル」の規定が明確でないことから, 解答を示すことができなかった。

4. タイピング結果の評価 (総合評価)

総合評価は, 判定結果の評価 (60 点満点) と結果表記の評価 (40 点満点) の合計点であり, 全施設の平均点は 98.1 点と良好であった。総合評価点 60 点未満の施設は無く, 60 点以上 100 点未満が 28 施設, 満点は 41 施設であった。

5. 試験結果の評価

試験結果の評価は, 使用試薬での結果の妥当性を評価項目とし, 反応データについて A (不備無し), B (一部の不備), C (全体的な不備) の 3 段階で評価を行った。C 評価はなかったが, B 評価が 8 施設あり技術的なデータの確認をお願いしたい。

III. まとめ

DNA-QCにおける今回の各参加施設の結果は、全体的に良好な結果が得られていた。

正しく結果を報告するためには、「正確なタイピング」

と「正しい報告」が必要である。「正確なDNAタイピング」は、方法別解析報告をご参照いただき確認していただきたい。また、「正しい報告」には、自施設の使用試薬の原理や解像度およびそれらから導かれる結果やAmbiguityについても十分に理解しておく必要がある。

第 19 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—

奥平 裕子^{1,2)}

¹⁾ジェノダイブファーマ (株), ²⁾東海大学医学部

1. 概要

19 回 DNA-QC に参加した 69 施設の内、Luminex 法での参加施設は 50 施設で、前年より 7 施設増加していた。タイピングに使用された試薬キットは、LABType (OneLambda) 1 施設, LABType HD (OneLambda) 5 施設, Geno Search (MBL) 5 施設, WAKFlow (湧永製薬) 32 施設であった。また LABType+HD が 5 施設, LABType+WAKFlow が 1 施設, LABTypeHD+WAKFlow が 1 施設の使用となっていた。

タイピングの対象となったローカスは、HLA-A、-B 座は全施設で実施されていたが、他のローカス組み合わせでは、HLA-A、B、DRB1 座の 3 座が 48 施設, HLA-A、B、C 座の 3 座が 43 施設であった。また、HLA-A、B、C、DRB1、DQB1、DPB1 の 6 座のタイピングを実施していた施設は 10 施設に留まった。

2. 解析方法

各施設からの報告結果で判定が異なった理由について、以下の 3 点について事例を示した。

- 1) キット, ロット間差
 - ①各キットの比較
 - ②ロット間差の例
- 2) 判定結果の表記
 - ①全ての候補アレルを対象とし、表記法に基づいて表記
 - ②第一区域が異なる組み合わせ
 - ③両方のカラムに同じアレルを表記
 - ④コメント欄の活用
- 3) プローブの反応性
 - ①実際の例

- ②カットオフ値の変更状況
- ③陽性コントロールピーズの蛍光値とばらつき
- ④ Pmin/Nmax 値の比率

詳細は、学会ホームページに掲載されている「第 19 回 QC ワークショップ報告集」を参照のこと。

3. 解析結果および考察

- 1) キットは各キットの特性を理解した上での使用が望まれ、また新しいロットには新たにプローブが追加されるなど改良がなされていることもあるので注意が必要である。
- 2) 表記は、全ての候補アレルを対象とし、表記法に基づいた表記が必要である。また、表記法の問題点も浮き彫りになった。第 3 区域でマイナーアレルが区別できないために、第 2 区域でみた場合、メジャーアレル同士の区別が出来ない表記になってしまう。(H2704 検体の HLA-A で A*02:01 と A*02:06 の問題)
- 3) 反応データの確認には、各施設から提出された CSV ファイルを用いた。

明らかな誤判定があった検体は H2704 検体の A ローカスのみであった。誤判定をしていた施設は 4 施設でそのうち 3 施設は、プローブの反応性に問題があり誤判定となっていた。これらの施設については、手技等の見直しが必要であると考えられた。

また、残りの 1 施設はプローブの反応性に問題はないがカットオフ値の変更により、誤判定となっており、カットオフ値変更による、誤判定の可能性について注意することが必要である。H2701 検体の A ローカスにおいて、ある施設では 7 つのプローブのカットオフ値の変更により、アレルタイプの判定を行っていた。これは私擬的で

あると言え、判断基準の見直しが必要だと考える。

また、複数の施設で同じプローブのカットオフ値の変更をしているのが見受けられた。これらのプローブについては注意が必要といえるかもしれない。

陽性コントロールビーズの蛍光値は4検体で同程度であることが期待され、ばらつきが少ないほど安定しているといえる。1施設のAローカスで%CVが50%を超えたが、概ねどの施設もばらつきが少なく安定した結果が出せているといえる。またPmin/Nmax値の比率では、プローブの陽性、陰性がはっきりしているかが分かる。10以上が望ましく、3以下ではカットオフ値の適切な設定が困難となり注意が必要だが、こちらも10以上が大半を占め、施設間差は大きくは認められないが、キット

間差は若干認められた。

4. まとめ

「正確なDNAタイピングが行えること」がDNA-QCの最大のテーマである。正確なタイピングを行うためには、安定した手技や解析時の正確な判断、HLAに関する知識が必要となる。また、年々増加するアレルに対応して必要があり、常に新しいHLAアレルの情報を収集しておかなくてはならない。誤判定をした施設のみならず、QCWS参加各施設では、もう一度解析データの見直しをし、改善すべき点がないか検討をすることが誤判定を防ぐためにも必要だと考える。

第 19 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 法 (INNO-LiPA) —

石塚 敏¹⁾

¹⁾ 東京女子医科大学 中央検査部 移植関連検査室

1. 参加状況

INNO-LiPA (Line Probe Assay) 参加施設は、昨年度 4 施設であったが本年は 2 施設に減少した。内訳は、2 施設共に臓器移植分野で 1 施設が LABType HD 併用と INNO-LiPA 単独の施設参加であった。

2. 検査状況

2 施設共に INNO-LiPA HLA-A Update. INNO-LiPA HLA-B Update Plus. INNO-LiPA HLA-DRB1 Plus キットの 3 ローカスによる結果報告であった。

3. Line Probe 反応結果

2 施設による HLA-A.B.DRB1 ローカスのスコア化データを比較すると概ね良好な反応性を示していた。しかし、HLA-A ローカスの No.23 Probe 陽性反応が 2 施設共に弱い傾向が見られた。

詳細な反応結果については、学会ホームページに掲載されている「第 19 回 QC ワークショップ報告集」を参照して頂きたい。

4. 解析結果

INNO-LiPA は、中解像度 (medium resolution) 測定試

薬であるため、学会の表記法としては第 2 区域まで表記することを推奨している。また、全ての候補アレルを対象とした表記法に基づいた表記が必要である。そのため、判定には LiRAS for LiPA HLA v6.00 判定ソフトを使用し、日本人に限定した早見表の判定シートは用いない。

詳細な解析結果については、学会ホームページに掲載されている「第 19 回 QC ワークショップ報告集」を参照して頂きたい。

5. 考察

昨年同様、日本人に限定した解析結果と思われる施設があった。そのため、HLA-A.B.DRB1 ローカスのスコア化データが同様であっても日本人に限定したため、本来第 1 区域の抗原型が確定できないサンプルも確定された解析結果となっており、また明らかに ambiguity の異なるアレルであっても第 2 区域が同じであるため他方を Blank 表記された解析結果もあった。

学会の DNA-QC 表記法は、日常の DNA タイピングで使用している試薬の解析結果が公認されたアレル全てに対して可能性のある組合せを結果として表記することであり、もう一度確認して頂きたい。

第19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 SSP 法—

藤井 明美¹⁾

¹⁾ 県立広島病院

1. 概要

1) 参加状況

SSP法での参加施設は22施設（全参加施設の約32%）であり、昨年より8施設減少していた。このうち、SSP法のみでの参加施設は18施設（昨年比4施設減）、その他のタイピング法との併用施設は4施設（昨年比4施設減）であった。

2) 参加部門

参加22施設中19施設は臓器移植部門の参加（他部門重複含む）であり、SSP法での参加においては臓器移植部門が多い傾向は継続している。また、臓器移植部門のみでの参加は11施設であり、このうち9施設はSSP法のみでの参加であった。

3) 使用試薬

今回使用されていた試薬は、低解像度（low resolution）試薬4種類、中解像度（medium resolution）試薬3種類であった。SSP法のみでの参加18施設のうち1施設は中解像度試薬も使用していた。他のタイピング法との併用参加施設においては低解像度試薬の使用は2施設、中解像度試薬の使用は3施設であり、他のタイピング法結果の確認方法としてSSP法を実施、報告されていると思われる。

使用試薬はMicro SSP（One Lambda社）の使用率が高く、中でも日本人向けに開発販売されたMicro SSP JPNは18施設（SSP法参加施設の82%）で使用されていた。

2. 解析結果および考察

解析はConsensus Alleleを基に、結果の評価項目である「1. 判定が正しいこと」、「2. SSP法の結果が総合判定と祖語がないこと」、「3. 相対的反応データに不備(false

positiveまたはfalse negative)がないこと」をチェックした。結果の詳細は、学会ホームページに掲載されているので、そちらを参照していただきたい。

1) 判定ミス (miss assign)

判定ミスの要因は反応の不備（false positive, false negative）によるものであった。判定ミスは同施設の複数検体で報告されており、検査方法や手技の見直し、検査結果の確認など原因の究明が必要と思われる。

判定ミスではないが、ambiguityを正しく判定できていない施設も散見された。Ambiguityは解析ソフトの未使用では正しく判定できない可能性が高くなる。解析ソフトは、判定結果の正確性、また客観性の観点からも必ず使用し、またバージョンアップ等最新のデータを採用する必要がある。

2) 相対的反応データの不備

相対的にfalse positiveを認めた施設は2施設、false negativeを認めた施設は2施設、両方認めた施設は1施設であった。反応データの不備があったすべての施設で判定ミスも認められた。SSP法の判定は、電気泳動による泳動像を正しく読み取る必要がある。プライマーバンドを陽性バンドと読み間違えるとfalse positiveとなるため、陽性バンドはサイズを確認して読み取る必要がある。なお、本年度は反応データのスコア化における問題は見られなかった。

3. まとめ

本年度のSSP法の結果は、概ね良好であったが、クラスIにおいては、反応データの不備による判定ミスが目立った。SSP法は操作が簡便であり、他の方法に比べて判定までの時間が短い、などの特徴がある。しかし、検査のプロトコルは忠実かつ慎重に行う必要がある。

また、電気泳動用ゲルの正しい作成や泳動像の判読も重要であり、解析ソフトの使用も必要と考える。

従来からの指摘事項ではあるが、SSP法に参加している多くの施設では低解像度試薬（第1区域までの判定試

薬）を使用しており、第2区域での判定の場合は多くのambiguityが生じることとなる。このことは、判定や結果報告時に困難が生じることとなるため、今後も報告時の記載方法等検討が必要と思われる。

第 19 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—

小島 裕人¹⁾

¹⁾HLA 研究所

1. はじめに

昨年度と同様に、NGS (Next Generation Sequencing) 法と Sanger 法の 2 法に大別された。これらの方法論は異なるが、塩基配列を基本とした HLA 遺伝子型検査として研究分野以外での利用価値は現状では同等である。

NGS 法の最初の検査行程は、対象領域の遺伝子を PCR によって増幅させ、断片化などの操作を経て一定の長さに揃えることである。次にこれらの遺伝子増幅産物を測定機器で読み取り、最終的に既報のアリル配列を参照配列としてアライメントを行ってタイプを決定する。対象領域の遺伝子長によってその後の作業や得られる情報量や精度が異なり、ある程度短い断片を対象とする Short-range と、イントロンを含む幅広い領域を対象とする Long-range に分けられる。Short-range は断片化の作業がないのでルーチン化に向いているが、設定領域が複数の場合には exon 間の phase ambiguity を考慮に入れる必要がある。一方で Long-range は SS-SBT 法 (Super high resolution for single molecule-sequence-based typing method) に代表されるように、HLA 抗原をコードする全遺伝子領域を一度に増幅させることで ambiguity のない究極のタイピングを実現している。現状ではルーチン化は難しいが、作業工程の自動化が進んでおり、将来的には実現可能と考えられる。

Sanger 法は各 Exon (例: Class I 領域の場合 Exon 2, 3, 4) の遺伝子を PCR 増幅し、Exon ごとに F 側, R 側に特異的なプライマーを起点とした伸長反応を行う。この際に用いる dNTP には蛍光物質が付加されているものが混合されており、伸長反応のストッパーの役割を担う。反応が止まった遺伝子断片の塩基の長さの種類を解析することでタイプを決定する。

解析ソフトは、Sanger 法は Kit に対して推奨のソフトウェアを利用するのが標準である反面、NGS 法では解析方法の考え方が多く存在するため、タイピングキットとは別に開発しているメーカーも多い。

2. 参加施設・使用キット

今年度の参加施設は NGS 法が 3 施設、Sanger 法が 4 施設であった。

NGS 法は、1 施設は Long-range である自家製キットを Ion PGM シークエンサーを用いて測定し、判定ソフトは TypeStream と SeaBass を併用していた。残りの 2 施設は測定機器として MiSeq を測定機器としており、検出キットとして 1 施設は Short-range である Miseq class I+class II kits (Cisco genetics) を、もう 1 施設は Long-range である TruSight HLA (Illumina) を用いて、判定ソフトはそれぞれ専用のものである GeMS_HLA, Conexio Assign を使用していた。

Sanger 法での参加のあった 4 施設は、全施設が AlleleSEQ HLA typing Kits (CELERA) を使用していた。また、アリル判定の解析ソフトは、SBTengin が 2 施設、Assign が 2 施設で使用されていた。

3. 結果及び考察

1) NGS 法

① プライマー設計位置多型による ambiguity

H2701, H2704 の HLA-DRB1 が 1 施設で DRB1*16:02/22 および DRB1*15:02/19 と第 2 区域の ambiguity を絞り込めなかった。原因は該当施設で用いられた Kit が、これらのアリルの違いを区別する codon 6 にプライマーを設計しており、アリルの絞り込みが出来なかったことである。

NGS 法を用いた HLA タイピングキットは多くのメー

カーが開発をしており、プライマー設計位置も多種多様であるので、事前に確認をするのが望ましい。

② exon 間の ambiguity

H2702 の HLA-DPB1 は Short-range を用いた 1 施設で exon 間の ambiguity となる HLA-DPB1*02:01:02, DPB1*04:02:01:01/02 の組み合わせと HLA-DPB1*416:01, DPB1*105:01 の組み合わせを絞り込むことが出来なかった。この問題を回避するには exon 2 と exon 3 の間に重複領域を設けたプライマー設計をするなど、Kit の改良が必要であると考えられる。

③ 参照配列の更新

H2703 の HLA-DPB1 は 2 施設で HLA-DPB1*05:01:01, *14:01 と報告があったが、最新の参照配列情報は DPB1*14:01:01 と DPB1*14:01:02 が区別されているため、絞り込みが可能である。参照配列はだいたい 3 ヶ月おきに更新されるため、特に他の検査法よりも高い解像度の期待できる NGS 法では、定期的な更新が必要である。

2) Sanger 法

① codon 86 における ambiguity の絞り込み

H2701, H2702 の HLA-DRB1 は 2 施設で HLA-DRB1*04:05/10, *16:02/23 および HLA-DRB1*04:05/10, *14:05/44 の ambiguity を絞り込めていなかった。これらの ambiguity は codon 86 に起因するものであり、AlleleSEQR HLA typing Kits では付属のプライマーの使用で区別可能である。日本人における遺伝子型頻度は DRB1*04:05 が約 13%, DRB1*04:10 が約 2% であり、これらの ambiguity を絞り込むことは非常に重要である。

② プライマー付近の反応性

1 施設において、H2701 の HLA-DQB1 が HLA-DQB1*04:02/13, *05:02/83, また、H2703 の HLA-B は HLA-B*15:27:01, *46:01/60 と報告があった。それぞれのアレルの違いは HLA-DQB1*04:02/13 は codon 187, HLA-DQB1*

05:02/83 は codon 94, HLA-B*46:01/60 は codon 6 にあり、プライマー設計位置付近の検出の不安定さが原因と考えられる。プライマー設計位置付近はピークが微弱になったり、重なりが生じやすいため、判定困難となった場合は前処理や機器のコンディショニングを再確認するのが望ましい。

4. まとめ

今年度の参加施設は NGS 法が 3 施設、Sanger 法が 4 施設であった。

NGS 法は各施設で HLA タイピングキットが異なり、1 施設は Short-range, 2 施設は Long-range であった。Short-range を用いた施設では HLA-DPB1 で exon 間の ambiguity を絞り込めない検体があり、Long-range は、ambiguity のない究極のタイピング法を実現した結果となった。どちらの手法においても、プライマー設計位置の確認や参照配列の定期更新などに注意が必要である。

Sanger 法は各施設で同じ HLA タイピングキットを用いていたが、解析ソフトは 2 種類を各種につき 2 施設が使用していた。解析ソフトの特性による結果の違いは見られなかったが、DR 座の codon 86 に由来する ambiguity を解消するための付属キットの使用をしていない施設では、日本人頻度がそれぞれ約 13%, 約 2% となるアレルである DRB1*04:05 と DRB1*04:10 を区別できなかった。技術的な面では、プライマー設計位置付近の反応性が不安定であることを知っておく必要がある、判定困難な場合は前処理操作や機器のコンディショニングを確認して、再検査するのが望ましい。

SBT 部門においては Sanger 法もさることながら、多種多様な NGS 法では他方との精度の違いを確認する点においても、QC ワークショップへの積極的な参加が必要である。

第 19 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 試料説明—

中島 文明¹⁾

¹⁾ 日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所

本年度から、検査法別解析の冒頭に試料説明を加えることになった。抗体サンプルは、かつて LCT 法で血清学的に HLA タイピングするために、日本赤十字社で約 20 年間に 100 万人以上の献血者からスクリーニングして収集した抗血清から選定している。これらのうち、約 300 種類の抗血清を学会から日本赤十字社に譲渡依頼の手続きを済ませ、QCWS 用に確保してある。

基本的には、血清 4 サンプルを 1 mL ずつ配布すること、日本人に通常検出される HLA 抗体であること、一部の試料では、HLA-C 座抗原に対する抗体、IgM 性抗体、HLA 以外の非特異反応が含まれる場合があるといった要件で選定し配布している。さらに、解析上の利点、将来的な施設認定、アンケートでの要望を考慮し、次の 4 点も満たすよう努力目標としている。

- 抗体保有者の HLA 型が調べられていること
- 過去に採用した特異性を極力避ける
- HLA-Class I 及び Class II 特異性が含まれる
- 検査法により特異性に差が生じる血清を選ぶ
選定作業は、既に判っている LCT 法の特異性を出発

点として、精製 HLA 抗原試薬や細胞を使用するさまざまな検査法で確認しながら決定していく。また、使用する抗体サンプルの多くは献血者由来の血漿であるため、一定の手順で血清化してある（学会ホームページ QCWS レポート参照）。現状、日本移植学会で実施する全血クロスマッチの抗体サンプルも一部共通に配布している。

今回選定した抗体サンプルは、全て明確な特異性を示すが、細胞で反応しない特異性も併せ持つものを選んである。また、SH2701 のクラス II 特異性は、DR 陰性でかつ DQ、DP 特異性を保有し、その DP 特異性が細胞と反応することが確認できている。さらに、SH2701、2702、2704 は、ICFA 法クラス I の 2 種類のピーズでそれぞれ異なる反応を認めることを確認してある。

これらは全て、健常者由来の抗体であるため、実際に臨床上遭遇するさまざまな患者由来の抗体と何かの違いがあるかもしれない。しかしながら、QCWS の主目的は、検査手技を検証することであり、配布するサンプルの性状が明確に調べられ、十分量確保できていることで実施しているため何ら問題ないと考える。

第19回 HLA-QC ワークショップレポート —総合解析（抗体部門）—

高 陽淑¹⁾

¹⁾ 日本赤十字社近畿ブロック血液センター

1. 総合解析（部門含む）

1.1 概要

抗体検査への参加は、輸血部門 34 施設、臓器移植部門 33 施設、造血細胞移植部門 25 施設（全て重複あり）で昨年（18th）より 6 施設多い 57 施設（初参加は 5 施設）であった。施設別にみると血液センター、検査センターおよびメーカーの参加はここ数年変動がないが、病院・大学に属する施設では年々増加の傾向にある。この要因として臓器移植学会とのコラボ企画（クロスマッチ）の影響と推測したが、実際は初参加のうち 3 施設は輸血単独、1 施設は全部門参加であった。また部門別の参加構成を調査したところ、全部門への参加は 12 施設、単独部門への参加は 28 施設（輸血 12、臓器 16）で、造血部門には単独参加は無かった。

1.2 抗体検出結果

全部門での抗体検出（抗体有無）結果の一致率を見ると、SHS2701、SH2702、SH2704 はクラス I、II とともに 100% 一致であったが、H2703 ではクラス I 抗体（一致率 98.2%）、クラス II 抗体（一致率 96.2%）ともに一部の施設で不一致となった。この原因としては、判定シートへの記載ミスや不適切な検査によるものと考えられた（検査方法別解析結果参照）。

1.3 抗体特異性同定検査実施状況

抗体特異性同定の実施率（実施数／参加数×100）を比較すると、全参加施設でクラス I 抗体は 77.2%（昨年は 72.5%）、クラス II 抗体は 66.7%（昨年は 58.8%）と昨年よりも全体に実施率が上昇していた。一方、部門別に比較すると、クラス I 抗体では臓器部門（72.7%）が、クラス II 抗体では輸血部門（67.6%）が若干低い傾向にあった。これは昨年同様、検査の必要性（あるいは優先

順位）が部門では異なることを反映していると考えられた。

2. 結果評価

2.1 抗体 QC 結果比較について

各施設から提出された総合判定結果について一致状況を調査した。具体的には、検査対象抗原毎に判定スコア 4（保留）以外のスコア（1 or 8）を集計し、全施設で完全に一致したものを「完全一致抗原」としてその割合を求めた。次に、完全一致にならなかった抗原あるいはどのスコアにも取束しない（Consensus が得られない）抗原については、各施設の判定結果および測定データを比較し不一致の原因を類推した（サンプル毎の詳細は学会 HP を参照のこと）。

1) 一致率：

ローカスごとに日本人遺伝子 0.1% を区切りとして、各施設の一致率を比較した。クラス I については、4 サンプルともに一致率 50% を切る抗原が存在したが、これは特定のローカス（抗原）にバラツキが偏っているという事ではなく、複数の要因があると考えられた（詳細は後述）。クラス II については、SH2702 において DQ 抗体の一致率（28.6%）が極端に低かったことを除いては概ね高かった。

2) 結果不一致の原因：

不一致の原因を調査したところ、以下の 5 種類に大別されると考えられた。

- ① 試薬の問題…血小板抗体検出用キットや反応パターンで判定するキットでは抗体特異性の同定が困難になる場合があった。
- ② 測定の問題…他施設と比較してシグナルが全体的に低い施設や、一部のサンプル（一部の抗原）で

異なった反応性を示す施設があった。

- ③ 判定の問題…同一の試薬・同程度の反応であっても他施設と判定基準が大きく異なる施設や、データの蓄積が不十分であることから判定の整合性が取れていない施設があった。
- ④ その他…正しい測定値にも関わらず、結果判定時の勘違い（判定用ファイルの選択ミスも含む）や提出シートへの誤入力を起こしてしまう施設があった。
- ⑤ LABScreen single antigen (LSSA)での BNV (Baseline Normalized Value) が 1.000 ～ 2.000 の付近であると僅差で判定が 1 か 8 に分かれる。

3) 結果の不一致を是正するための対応策：

原因が、測定や判定等に原因がある場合（上記の②③④）は、自施設の測定値を再度確認した上で、作業手順の見直しをすることで改善される。

しかし、⑤については単体の施設で解決することは難しい。なぜなら、現在、LSSA を用いる多くの施設は陽性判定の Cut Off 値を BNV \times 1.000 前後に設定しているが、この反応帯は最も測定値が揺らぎやすいところであり、判定結果に齟齬が生じるからである。今後は全部門共通ではなく、検査の目的（部門）に応じて Cutoff を設定するか、新たに Cut Off 値の指標となり得るものを検討する必要がある。

2.2 抗体 QC 部門別評価について

日本人 HLA 遺伝子頻度 0.1% 以上の HLA 抗原（結果シートに太字で記載）について、基準値（0.67）以上の構成比率を示す抗原のみを対象として評価点を算出した（評価点の計算方法は学会 HP に掲載）。

2.3 評価内容

- 1) 参加施設 57 施設のうち、抗体検出については、A 評価（80 点以上）が 55 施設（96.5%）、B 評価（40

～ 80 点未満）および C 評価（40 点未満）はいずれも 1 施設（1.8%）であった。B, C 評価となった原因は記載漏れや誤入力であった。

- 2) 抗体特異性同定検査を実施した 44 施設中、評価 A が 39 施設（88.6%）、評価 B が 3 施設（6.8%）、評価 C が 2 施設（4.5%）であった。評価 B 以上の施設は、昨年（18th）が 86.5% であったが、今年は 42 施設（95.5%）となり昨年以上に良好な結果が得られた。

3. 結語

今回の QCWS（抗体部門）は初参加も含めて昨年以上の参加数であったが、抗体の検出や特異性同定検査のいずれにおいても高い一致率が得られた。これは、昨年までの傾向と同様に特異性同定検査をする際の使用試薬が集約化されてきたこと、それに大部分の施設が陽性判定の Cut Off 値として MFI : 1,000 ～ 2,000 に合わせてきたことが最大の要因と考えられる。

その一方で方法別の解析結果でも判明しているように、この反応帯は施設間差が最も大きいところである（方法別解析結果参照）。検査手技はもとより機器間差、検査日差など些細な要素でもバラツキがでるところであるため、参加施設が現状のまま CutOff 値を設定する限りは全ての結果が（全施設で）完全一致になることは難しい。

本来、QCWS とは自施設の検査精度を管理するために存在するものであり、参加施設は他施設との完全一致を最終目標にしているわけではない。しかし少なくとも目的（部門）が同じ施設間では同等の結果を得られるような判定基準の設定について議論することは重要であると考えられる。

第 19 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—

金本 人美¹⁾

¹⁾ 福岡赤十字病院 検査部 移植検査課 / 輸血細胞治療部

1. はじめに

第 19 回 HLA-QCWS での HLA 抗体検査で OneLambda FlowPRA 法を使用した施設は、スクリーニング検査で 24 施設であった。シングルアンチゲン検査は近年、Luminex を用いた試薬への移行が進み、今年は参加数が 0 であった。参加部門別の内訳（重複含む）は、臓器 19 施設、輸血 9 施設、造血 8 施設と前年度と大きな変化はなく、臓器移植施設での参加が多い状況であった。

2. 試薬キットと測定機器

スクリーニング試薬は、クラス I のロットは 24 施設中 23 施設で Lot.16 を使用しており、残り 1 施設は期限切れの Lot.12 を使用していた。クラス 2 のロットは、23 施設中 6 施設で Lot.18、14 施設で Lot.19 を使用しており、3 施設は（期限切れ）の Lot.9、Lot.17 を使用していた。

測定機器は、ベクトンディッキンソン社 12 施設 (FACS Calibur 7 施設, Canto2 5 施設) とベックマンコールター社 12 施設 (Navios 6 施設, FC500 4 施設, EpicsXL 2 施設) であった。

3. 解析方法

各施設からの報告データをもとに判定スコアの一致率を求めた。またフローサイトメトリー解析ソフト kaluza 1.3 を使用し各施設からのデータの再解析を行った。

4. 解析結果

配布サンプルは、クラス 1 は全て陽性、クラス 2 は SH2703 以外全て陽性であった。判定スコアの一致率は、クラス I, II ともに 100% と良好だった。しかし、%PRA の数値は同一条件（機器、試薬が同一）であっても施設により大きく違う箇所を認め、機器設定やマーカー設定で %PRA の数値は大きく変動していると考えられる。今回、参考資料として機器設定手順を加えた。ゲートの位置や、コンペンセーションの設定でビーズを取り込む数や、ヒストグラムが変化しその結果、%PRA にも影響を及ぼすと思われる。尚、測定機器別、陰性コントロールの Lot 別にも集計、解析を行ったが、SD、CV 等に有意な差は認めなかった。詳しくは、学会ホームページの解析資料を参照して頂きたい。

5. まとめ

FlowPRA 試薬を用いた検査の検出一致率 100% は、前年度同様、良好な結果であり、問題は認めなかった。しかし、例年の如く、%PRA は各施設において差を認めており、各施設でゲートの位置やコンペンセーションが適正か否かを確認することが必要であると考え。各施設、再度機器設定の見直しを行い、不明な点に関してはメーカーに問い合わせ、正しい機器設定の元、次回の QCWS に参加頂きたい。

第 19 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 抗体検査 LABScreen—

杉本 達哉¹⁾, 土田 文子¹⁾

¹⁾ 東海大学医学部付属病院 臨床検査技術科 輸血室

1. はじめに

抗体 QC 参加申込 58 施設 (抗体 QC 参加取止め: 1 施設) で LABScreen を利用した参加申込は 38 施設 (65.5%) であり, 抗体 QC 参加申込として最も多い方法であった。LABScreen 参加 38 施設のうち DNAQC 参加は 36 施設であり, クロスマッチ参加は 21 施設であった。LABScreen での抗体 QC 参加およびクロスマッチ参加は昨年度より増加を認めた。部門別参加状況では輸血関連 23 施設, 臓器移植 23 施設, 造血幹細胞 19 施設, その他 (メーカー) 2 施設であった。参加施設毎でこれらの部門に複数関与して参加されている施設は 68.4% であった。LABScreen Single Antigen (SA) のみでの参加は 4 施設であった。

2. 結果解析

1) 抗体の有無

Class I の H2701, H2702, H2703 および H2704 の抗体の有無について参加 37 施設の全施設で抗体ありと判定された。Class II では H2701, H2702 および H2704 の抗体の有無について参加 34 施設の全施設で抗体ありと判定された。Class II の H2703 における抗体の有無については 33 施設で抗体なしと判定され, 1 施設で抗体ありと判定された。

2) カットオフ設定

カットオフ設定の確認の結果, 施設毎に様々なカットオフ設定がなされており, 確認できたカットオフ値設定は ① 500 ② 1000 ③ 1500 ④ 2000 ⑤ 5000 (C のみ) ⑥ default の 6 種類であった。

3) PC/NC 比

各施設から提出された生データより再解析で得られた

PC/NC 比 は SA の Class I が SH2701 で 33 ~ 552, SH2702 で 61 ~ 1141, SH2703 で 8 ~ 904 および SH2704 で 25 ~ 415 であった。SA の Class II では SH2701 で 45 ~ 1031, SH2702 で 192 ~ 1404, SH2703 で 20 ~ 1869 および SH2704 で 204 ~ 1511 であった。また, サンプル測定時におけるサンプルの前処理は, 前処理実施なし, 非特異反応吸着処理, EDTA 添加, DTT 添加, 凍結解凍後遠心処理, フィルターろ過およびこれらを複数組合せ実施している施設があり, その処理方法は様々であった。

4) 各施設データ比較 (SA)

SH2701 の HLA-A 測定にて, S37 の施設でデータ低値を認めた。SH2701 の HLA-C 測定では, S31 の施設でコンタミネーション様の反応を認め, S37 の施設でデータ低値を認めた。SH2701 の HLA-DQ, DP 測定では, S37 の施設でデータ低値を認めた。SH2702 の HLA-A, B 測定では, S46 の施設でコンタミネーション様の反応およびデータ低値を認めた。SH2702 の HLA-C 測定では, S46 の施設でデータ低値を認めた。SH2702 の HLA-DR 測定では, S37 の施設でデータ低値を認めた。SH2702 の HLA-DQ, DP 測定では, S37 の施設でコンタミネーション様の反応を認めた。SH2703 の HLA-DR 測定では, S37 の施設でコンタミネーション様の反応を認めた。以上よりコンタミネーション様の反応およびデータ低値を認めた施設は S31, S37 および S46 の 3 施設であった。

5) SH2702 の DQ2 抗体有無の判定について

SH2702 における DQ2 抗体有無の判定では, 17 施設で抗体あり, 14 施設で抗体なし, 3 施設で判定保留であった。

3. まとめ

LABScreen による抗体 QC 参加施設の抗体有無の一致

率は、Class I で 100%、Class II で 97% であった。Class II 測定において抗体有無の不一致を 1 施設に認めた。全体として、測定データ低値およびコンタミネーション様を認めた施設が 3 施設認められた。該当施設は検査手技等の確認をされる必要がある。コンタミネーション防止対策として、ピペットの操作方法や検査過程における洗浄操作等の確認、場合によってはフィルター付きチップ採用を検討されるのもよいかもしれない。

カットオフ設定について、各施設から提出されたカットオフ値変更欄から調査を実施した。また、QC データ報告時のカットオフ値変更欄のみでは読み取れない情報について、幾つかの QC 参加施設連絡担当者に問合せを実施した。その結果、より正確なデータ収集が可能となった。問合せ施設からの協力および親切な対応に感謝する。カットオフ設定確認の結果、6 種類のカットオフ設定がなされていた。カットオフ基準の統一は今後の課題である。

QC では同一サンプルを測定している。一概には言えないかもしれないが、PC/NC 比がある程度まとまった値となることが理想と考えられる。しかしながら、昨年度 QC 同様に実際の PC/NC 比は施設毎でその値（8～1869）に幅を認めている。施設間における測定機器間差

等も推測されるが、サンプルの前処理が施設によって様々であることも PC/NC 比がバラツキとなる要因の一つと推測される。サンプルの前処理については、目的にあった方法で実施するのが望ましい。施設毎の測定方法の違いもバラツキ要因となりうる可能性があるため、原則として試薬添付文書に従った検査方法の実施が必要である。また、施設間の測定データ一致を図るため、試薬添付文書では確認できないようなポイントとなる検査手技が確認できるような標準手順書作成や技術講習会実施等による標準化に向けた活動が必要かもしれない。

SH2702 における DQ2 抗体判定について、17 施設で抗体あり、14 施設で抗体なし、3 施設で判定保留と結果にバラツキを認めている。現行試薬において DQ2 抗体の判定に関わるピーズは複数存在する。DQ2 について同一アレル特異性 (DQB1*02:01) を有している複数ピーズでの DQA1 アレル特異性は同じではない。つまり、ある種の DQA1 アレル特異性に対する抗体の反応でも DQ2 アレル特異性 (DQB1*02:01) を有しているピーズの一部は陽性となる可能性がある。この場合の結果解釈が DQ2 抗体有無の判定のバラツキになるため、結果解釈や報告に注意が必要である。

第19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 (MR・HR) 法—

平田 康司¹⁾

¹⁾ 日本赤十字社 中四国ブロック血液センター

1. はじめに

WAKFlow HLA 抗体検査試薬は WAKFlow MR および WAKFlow HR に大別され、HLA 抗体検出試薬である WAKFlow MR の参加施設はクラス I が 16 施設であり、クラス II は 10 施設で昨年度より各 3 施設の増加がみられた。一方、1 抗原に対する抗体の特異性が識別可能な抗体同定試薬である WAKFlow HR クラス I の参加施設は 17 施設であり、昨年度 2 施設より大幅に増加した。試薬ロットは、WAKFlow MR クラス I では R0A:4 施設、R0B:12 施設の使用であり、そのうち 10 施設が血清前処理を実施していた。WAKFlow MR クラス II では R0A:2 施設、R0B:8 施設の使用であり、そのうち 4 施設が血清前処理を実施していた。WAKFlow HR クラス I の試薬ロットは全施設が S0A を使用しており、そのうち 11 施設が血清前処理を実施していた。

2. WAKFlow MR

施設のデータ比較および解析は、血清 SH2701 ~ SH2704 の各サンプルにおいて、各施設から提出された蛍光ビーズの反応蛍光強度 (Median) データの平均値および 2SD を算出し行った〈施設の精度管理〉。また、試薬特性の解釈については、各施設の Index 値の平均を LABScreen Single Antigen (SA):BNV および WAKFlow HR (Class I):Calmed の抗原反応性と比較し行った〈試薬の反応性〉。

1) MR クラス I

①施設の精度管理:

バックグランドビーズ (BB)、陽性コントロールビーズ (PB) および HLA ビーズの反応蛍光強度が他施設と比較し低い施設 (施設番号:27S27) があった。原因と

しては、①二次抗体濃度調整、②標識抗体の劣化、③測定機器のコンディション等が考えられる。一方、Index 値では施設間に大差は無かった。

②試薬の反応性

抗体の有無の判断に相違を生じる反応蛍光強度および Index 値となるようなことはなかった。カットオフ値付近において施設間差が生じる原因としては、SH2701 では A3 および A31 の弱い反応性、SH2702 では Cw 抗体の反応性、SH2703 は IgM 性抗体の反応性が要因として推察された。

2) MR クラス II

①施設の精度管理

BB、PB および HLA ビーズの反応蛍光強度で若干の施設間差はみられたが、Index 値に大差は無かった。

②試薬の反応性

血清 SH2701 ~ SH2704 の各サンプルにおいて、概ね明瞭にカットオフ値を設定することが可能であったが、SH2701 では DP 抗原との反応もありカットオフ値の設定に苦慮するものと推察される。

3. WAKFlow HR クラス I

WAKFlow HR クラス I は、日本人の HLA アリル頻度を考慮した試薬ビーズ構成となっているという特徴をもつ試薬である。施設のデータ比較および解析は、各施設より提出された反応蛍光強度値 (Calmed) データの平均値および 2SD を算出し行った。その結果、平均 ± 2SD より著しく外れるビーズの反応性を示す施設が数施設 (施設番号:27S04, 27S38, 27S50) あり、そのことにより偽陰性および偽陽性判定をしている反応もみられた。当該施設においては洗浄操作等の検査手技の改善を試みる必要がある。一方、WAKFlow HR および LAB-

Screen SA の両試薬に共通するアリルピーズを中心に、各ピーズの反応性について比較した。その結果、SH2701 において A*02:06, SH2703 において B*08:01, B*14:02, B*37:01, B*35:01, B*53:01, SH2704 において B*07:02, B*27:04, B*67:01 等、各血清サンプルにおいて WAKFlow HR および LABScreen SA では反応蛍光強度値に著しい乖離がみられた。

4. まとめ

WAKFlow MR クラス I およびクラス II において、一部の施設で反応蛍光強度に乖離がみられたが、抗体の有無の判断に相違を生じる反応蛍光強度および Index とな

るような施設は無かった。WAKFlow MR は血清サンプルによってはカットオフ値付近において施設間差が生じるが、同試薬は「抗体検出用」としての意味合いが強く、抗体同定には WAKFlow HR および LABScreen SA といった試薬をしている施設が多いのではないかと考えられる。WAKFlow HR クラス I において、一部の施設で偽陰性および偽陽性となるような反応結果もみられたが、これらは洗浄操作等を見直すことにより改善されるものと推察される。一方、WAKFlow HR クラス I は概ね良好な反応性を示したが、血清サンプルによっては他法と検査結果が異なる場合もあり、今後更なる検証および試薬改良等が必要であると考えられる。

第 19 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 その他検査法およびクロスマッチ—

中島 文明¹⁾

¹⁾ 日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所

1. その他検査法

その他検査法は、例年通り、「FlowPRA, LABScreen, WAKFlow 以外の検査法において、SH2701～SH2704 の 4 サンプルを測定した場合」と定義して解析した。参加内容は、LCT 法 (2 施設)、AHG-LCT 法 (2 施設)、FCM 法 (2 施設)、MPHA 法 (4 施設)、ELISA 法 (1 施設)、ICFA 法 (2 施設) であった。ELISA 法の Quik/B-Screen キットは、1 施設のみの参加であり、ここで特に検査法としての解析は述べていない。

FCM 法の提出時スコアは、一定基準で再解析したスコアと一部異なる。各施設の判定基準が一定でないことが原因で、基準の解釈について統一性が欠如した結果といえる。一方、判定基準が定まっている ICFA 法ではそのようなことはなく、class I-2 (追加ビーズ) も確実に機能していることが確認できた。今回の抗体サンプルは MPFA 法スクリーン試薬の抗原構成で対応しきれない特異性であり、SH2701 と 2703 が陰性判定になった。HLA の抗体スクリーニング試薬としては、性能が不十分といえる。

それぞれの方法で参加施設数が少なく、反応数も不十分なことから確実な解析は困難であった。ほとんどの施設は、精製抗原ビーズ試薬を併用しており、細胞との反応が比較できること、さらに、クロスマッチに重要な方法であることから、これら検査法の必要性は高い。一方、本年から整理した検査状況シートに「未記入」が多く、効率的な解析に必要な不可欠な情報であるためぜひとも記入していただきたい。

2. クロスマッチ

クロスマッチは、27 施設の参加があり、4 施設がダイ

レクトクロスマッチのみでそれ以外の 23 施設が双方に参加した。

2-1. ダイレクトクロスマッチ

ダイレクトクロスマッチは、「LCT, FCM, ICFA などクロスマッチ可能な検査方法において、SH2701/HLA Class I を対象とし、クロスマッチ入力シートに記入されていること」と定義して解析した。LCT 法 (4 施設)、FCM 法 (6 施設)、ICFA 法 (11 施設) の参加であった。

FCM 法は一部の施設で、パネル細胞単位での不均一例と同一パネル細胞内での不均一例があり、これではグレーゾーン近辺の反応に何らかの影響を与えられると思われる。提出結果と再解析結果の乖離も見受けられ、その他検査法の項目でも述べたとおり、測定及び判定基準の統一化が達成されなければこの問題は永遠に続くであろう。

ICFA 法は、class I-2 (追加ビーズ) の導入により、精製抗原ビーズ試薬の特異性と整合した結果に近づいた。興味深いことに、両ビーズの反応パターンの違いが、抗体の性状の違いをより明確に表し、ひとつの抗体に複数の要素が織り込まれていることが良く判る結果となった。

本 QCWS のダイレクトクロスマッチは、各施設の細胞が不特定のため確実な解析が困難である。この項目は、全血クロスマッチ (移植学会連携) に移行させ、方法論は Cell Base で行う「その他の抗体検査方法」で実施 (抗体 4 サンプル対象) することが望ましいと思われる。その際、各施設が LCT 法、FCM 法、ICFA 法などを同一パネル細胞で実施できることが理想と考える。これにより、Cell Base Assay の技術水準が向上し、方法間での抗体検出状況も把握できる。さらにその技術はクロスマッチで生かすことが可能となる。

2-2. 仮想クロスマッチ

仮想クロスマッチは、抗体サンプル (SH2701) と 2 本の DNA サンプル (H2703, H2704) を対象に実施した。

H2703 は、タイピング結果の表記の問題で、「反応が予測される抗体特異性」に本来存在しない反応を記入せざるを得ない事態となった。具体的には、抗体特異性が A25+A26+ に対し、タイピング結果が Ambiguity に対応した表記で A25, A26 となったため、この反応は本来 A26 の抗原抗体反応であるところ、A25 の反応も記入せざるを得なかったからである。また、血清処理の影響 (H2703 の A24, Cw1, H2704 の Cw12), 抗体検査試薬の不具合 (H2704 の A2) が仮想クロスマッチ判定を誤らせた例があった。さらに、抗体サンプル SH2701 本人

の HLA 型と同一の抗原に反応 (H2704 の B35) が認められた例があり、抗体検査手技に何らかの問題があると考えられる。

このように、仮想クロスマッチに参加する利点は、単に業務上の必要性ばかりではなく、抗体検査における特異性判定や DNA タイピングの表記の理解を深めることに役立つと思われる。本 QCWS で実施する仮想クロスマッチは疑似クロスマッチではあるが、抗体検査やタイピング検査の多くが適合判定するためのデータ提供を目的とするならば、それらの結果を検証する一つの手段になりうるといえる。仮想クロスマッチに関係ない施設でも、トレーニングの場として参加する意義はあるのではなかろうか。

第 19 回 HLA-QC ワークショップレポート —移植学会連携 全血クロス—

橋口 裕樹^{1,2)}

¹⁾ 福岡赤十字病院 検査部移植検査課 / 輸血細胞治療部

²⁾ 日本移植学会 移植関連検査委員会 委員

1. 概要

平成 25 年 4 月より日本組織適合性学会と日本移植学会が連携し、全血サンプル由来のリンパ球を用いた交差試験（以下、「クロスマッチ」という）の精度管理を試行的に実施する事となり、今回 3 回目の実施となった。

2. 経過

今回より QCWS 参加申し込みは、日本組織適合性学会 QCWS 参加申込書から可能となり、40 施設の参加があった。施設内訳は、臓器移植ネットワークの検査施設が 26 施設、移植関連病院が 8 施設、検査センター 4 施設、血液センター 1 施設、試薬メーカー 1 施設であった。日本移植学会移植関連検査委員会で採血した全血の発送は、日本組織適合性学会が平成 27 年 4 月に QCWS 試料を配布するのに合わせ、血清配布の翌々週に全血を参加施設に配布した。ACD-A 液入全血の発送には、東京より宅配便（常温）で発送、全国の参加施設には翌日、翌々日には到着した。一部の施設で細胞生存率が低下していたが、大きな影響は無かった。到着後、各施設において直ちに T 細胞を分離しクロスマッチを実施した。8 月後半に集計結果を各施設にメールで送信、9 月に開催された第 19 回 QCWS（茨城県水戸市）、10 月に開催された第 51 回日本移植学会総会（熊本県熊本市）にて報告を行った。尚、28 年 3 月に開催される第 49 回日本臨床腎移植学会（鳥取県米子市）でも報告予定である。

3. 試料選択および検査方法

ドナー全血は、日本移植学会移植関連検査委員会で採血した ACD 採血 7.5 ml (ICFA 参加施設には EDTA-2K, 1.5

ml を追加) を準備した。ドナー HLA タイプは、日本人に高頻度に発現しているものを選択した。血清は、QCWS 部会で準備された SH2703, SH2704 を選択した。SH2703 はドナー HLA 抗原に対する HLA 抗体を保有していない陰性検体として、SH2704 はドナー特異的抗体 Donor Specific Antibody ; DSA を保有する陽性検体と想定して選択した。

検査方法は各施設で日常的に行っている方法を選択可とした。方法別にみると、フローサイトクロスマッチ Flow Cytometry Cross match ; FCXM 法が 29 施設と最も多く、参加施設の 73% で検査、次いでリンパ球細胞傷害試験 Complement dependent cytotoxicity ; CDC 法が 24 施設、Immunocomplex capture fluorescence analysis ; ICFA 法が 15 施設、AHG-CDC 法は 7 施設であった。検査法も 2/3 の施設では複数法を組み合わせて実施されており、中でも一番多い組み合わせは、FCXM 法 + CDC 法であった。

4. 結果

SH2703, SH2704 ともに 80% を超える高い一致率であったが、一部の施設においては結果の誤入力と思われるものがあつた。各方法の一致率は、学会ホームページを参照して頂きたい。併せて各施設にアンケートをお願いし検査条件、試薬、判定基準を調査し各施設にメールにて報告した。昨年と同様に施設において検査方法、判定基準は様々であった。尚、配布された血清は、OneLambda LABScreen Single Antigen にて抗体特異性、MFI 値が明らかになっているので、自施設でのクロスマッチ検査の検証等に使用頂けたらと考える。

5. まとめ

今回、第3回全血クロスマッチを全国40施設参加のもと実施された。QC参加申し込みも組織適合性学会の配慮によりQCWSと同時に行えるようになり、手続き

も簡素化された。3回の精度管理を終え、環境が構築され継続して行える体制が整ってきた。今後は、問題点として残っている検査方法の標準化、判定基準などを両学会で連携をとりながら、全血を用いたクロスマッチの精度管理を推進していきたいと考える。

補体 C1q を用いた血液型抗 A/B-IgG 抗体検出の有用性

石塚 敏¹⁾・安尾美年子¹⁾・小林 悠梨¹⁾・三浦ひとみ¹⁾・甲斐耕太郎²⁾・
岩藤 和広²⁾・村上 徹²⁾・北島久視子²⁾・中島 一郎²⁾・瀧之上昌平²⁾

¹⁾ 東京女子医科大学中央検査部移植関連検査室

²⁾ 東京女子医科大学腎臓病総合医療センター腎臓外科

ABO 血液型不適合生体腎移植は、術前に血液型抗 A/B 抗体を出来るだけ除去することが移植腎生着には重要であると
考えられてきた。しかし、抗体価に関係なく稀に超急性拒絶反応により移植腎喪失症例が存在する。

我々は、血液型抗 A/B-IgG 抗体の免疫学的なメカニズムを解明するため補体結合性のある血液型抗 A/B-IgG 抗体を測定
した。その結果から補体結合性のある血液型抗 A/B-IgG 抗体の陽性率が高い症例は移植後の腎機能不良または腎機能
喪失症例であった。今後、ABO 血液型不適合生体腎移植において重要な検査法になると示唆される。

キーワード：抗 A/B 抗体、補体結合性抗 A/B 抗体、FCM-C1q、FCM-IgG、血液型不適合腎移植

はじめに

ABO 血液型不適合腎移植では、以前は急性期の液性
拒絶反応を抑制する目的で脾臓摘出を余儀なくされてい
たが、キメラ型抗 CD20 モノクローナル抗体 (Rituximab:
Genetech, San Francisco, CA, USA) を使用することによ
り脾臓摘出を行うことなく移植が可能になった¹⁾。そ
して、血液型不適合で問題となる血液型抗 A/B 抗体は、
二重濾過血漿交換療法 (DFPP: Double Filtration Plasma-
pheresis) や血漿交換 (PE: Plasma Exchange) などによ
る抗体除去療法を行うことで移植腎生着率が著しく向上
した。しかし、これらの前処置は完全な抗体除去ではな
いにも関わらず、多くの症例で移植後の腎機能は良好で
ある。稀に超急性拒絶反応による移植腎機能喪失症例が
存在するが、この免疫学的なメカニズムは未だ解明され
ていないのが現状である。

筆者らは、以前にドナー・レシピエント間におけるミ
スマッチ HLA 抗原に対するドナー特異的抗 HLA-IgG 抗
体 (DSA: donor specific alloantibody) において補体結合

性のある DSA が液性拒絶反応と強い関連性があることを
報告している²⁾。

筆者らは、自然免疫抗体である血液型抗 A/B-IgG 抗
体に関しても同様に補体結合性の有する抗体が液性拒絶
反応に対する強い関連性があると推察した。そこで、本
研究では新たに補体の第一成分であるヒト補体 C1q を
用いた (FCM-C1q: flow cytometry method for complement
C1q test) を考案し、その有用性について臨床症例によ
る検討を行った。

1. 対象および方法

東京女子医科大学腎臓外科にて ABO 血液型不適合生
体腎移植目的で来院されたドナー (健常者 A 型・B 型・
O 型それぞれ 10 例) とレシピエント (透析患者 A 型・
B 型・O 型それぞれ 10 例) の血液型抗 A/B 抗体測定
(FCM-IgG: flow cytometry method for IgG test・FCM-C1q)
および ABO 血液型不適合生体腎移植を施行した症例の
うち術前検査において CDC-XM: Complement-Dependent
Cytotoxic Crossmatch test・FCXM-IgG: flow cytometry lym-

受付日：2015 年 11 月 6 日，受理日：2016 年 2 月 22 日

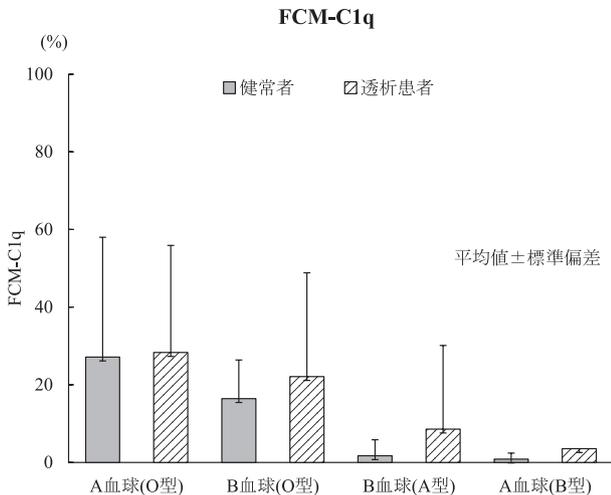
代表者連絡先：石塚 敏 〒162-8666 東京都新宿区河田町 8-1 東京女子医科大学中央検査部移植関連検査室
TEL: 03-3353-8111 FAX: 03-5269-7534 内線 35033 E-mail: ishizuka.tsutomu@twmu.ac.jp

phocyte crossmatch-IgG test • LABScreen: LABScreen single antigen (One Lambda Inc., Canoga Park, CA, USA) がすべて DSA 陰性の 6 症例について血液型抗 A/B 抗体測定(間接抗グロブリン法 ID-AGT: Indirect anti-globulin test • FCM-C1q) に同意を得た患者を対象とした。

結果は、平均値±標準偏差(最小値-最大値)で示し、有意差検定は、JMP Pro11.2.0 を使用し Wilcoxon rank sum test で有意確率 5% 未満を有意差ありと定義した。

1) flow cytometry method for complement C1q test

被検血清、補体結合性のある抗 A/B-IgG 抗体陽性血清について抗 A/B-IgM 抗体を処理するため最終濃度 5 mM (DTT: dithiothreitol) 37°C, 30 分静置反応した^{3,4)}。陰性コントロールとして AB 型ヒト血清 (Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo, United States), DTT 処理した被検血清および補体結合性のある抗 A/B-IgG 抗体陽性血清 50 μ l と赤血球浮遊液 DiaCell ABO A1-B (DiaMed AG, Switzerland) 50 μ l を加え、室温 30 分静置反応した。反応させた赤血球を洗浄し、Complement component C1q from human serum (Sigma-Aldrich) 5 μ l を加え、室温 20 分静置反応した。Dako REAL Antibody Diluent (Dako Denmark A/S Code: S2022) で Anti-Human-C1q-FITC (Medical and Biological Laboratories Co. Ltd) \times 400 倍 100 μ l を加え、室温遮光 20 分静置反応した。反応させた赤血球を洗浄し、FACS-Calibur HG (Becton Dickinson and Company, San Jose, CA, USA) にて測定した。FCM-C1q 判定は、陽性率 % で評価した。



2) flow cytometry method for IgG test

被検血清、抗 A/B-IgG 抗体陽性血清について抗 A/B-IgM 抗体を処理するため 5 mM DTT 37°C, 30 分静置反応した。DTT 処理被検血清は、倍々希釈系列を作製した。AB 型ヒト血清を陰性コントロールとして DTT 処理倍々希釈被検血清および抗 A/B-IgG 抗体陽性血清 50 μ l と赤血球浮遊液 ABO A1-B 50 μ l を加え、室温 30 分静置反応した。反応させた赤血球を洗浄し、fluorescein-isothiocyanate (FITC)-conjugated anti-human IgG (Jackson ImmunoResearch Laboratories, West Grove, Penn, United States) \times 50 倍 20 μ l を加え、室温遮光 20 分静置反応した。

反応させた赤血球を洗浄し、FACS-Calibur HG にて測定した。FCM-IgG 判定は、反応した最終希釈系列 (2ⁿ) で評価した⁵⁾。

II. 結 果

1) 健常者および透析患者の血液型抗 A/B 抗体の検討

健常者は、O 型男性:女性 (7:3), 年齢 52.6 \pm 13.9 (25-70), A 型男性:女性 (5:5), 年齢 55.0 \pm 12.7 (26-67), B 型男性:女性 (6:4), 年齢 55.4 \pm 13.6 (38-75) であった。

透析患者は、O 型男性:女性 (8:2), 年齢 55.8 \pm 11.9 (34-75), A 型男性:女性 (9:1), 年齢 58.5 \pm 10.4 (37-70), B 型男性:女性 (7:3), 年齢 49.1 \pm 11.9 (24-66) であった。

図 1 に健常者・透析患者の血液型抗 A/B 抗体 (FCM-IgG • FCM-C1q) を示す。

健常者の FCM-IgG 抗体価 (2ⁿ) は、O 型抗 A 抗体 6.4 \pm 2.1

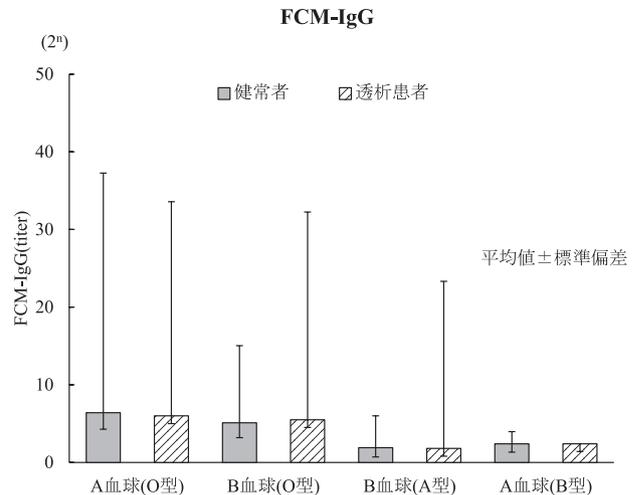


図 1 健常者・透析患者の血液型抗 A/B 抗体の検討

健常者・透析患者の A 型, B 型では、個人差が若干認められたが O 型と比べると統計学的有意差 (5% 未満) を持って FCM-IgG 抗体価・FCM-C1q 陽性率共に低い傾向であることが認められた。

表 1 ABO 血液型不適合生体腎移植症例の検査所見

症例 No.	血液型 (ドナー・レシピエント)	ID-AGT (2 ⁿ)			FCM-C1q (%)			術後腎機能
		術前最高	術直前	術後最高	術前最高	術直前	術後最高	
症例 1	A→O	6	2	5	14.2	0.3	0.4	良好
症例 2	A→O	7	4	8	1.4	0.2	2.5	良好
症例 3	B→O	4	2	5	17.3	0.2	72.2	不良
症例 4	A→O	8	6	8	10.8	1.1	40.5	喪失
症例 5	A→O	7	6	9	75.2	25.4	79.4	喪失
症例 6	A→B	7	6	7	75.1	68.1	48.7	喪失

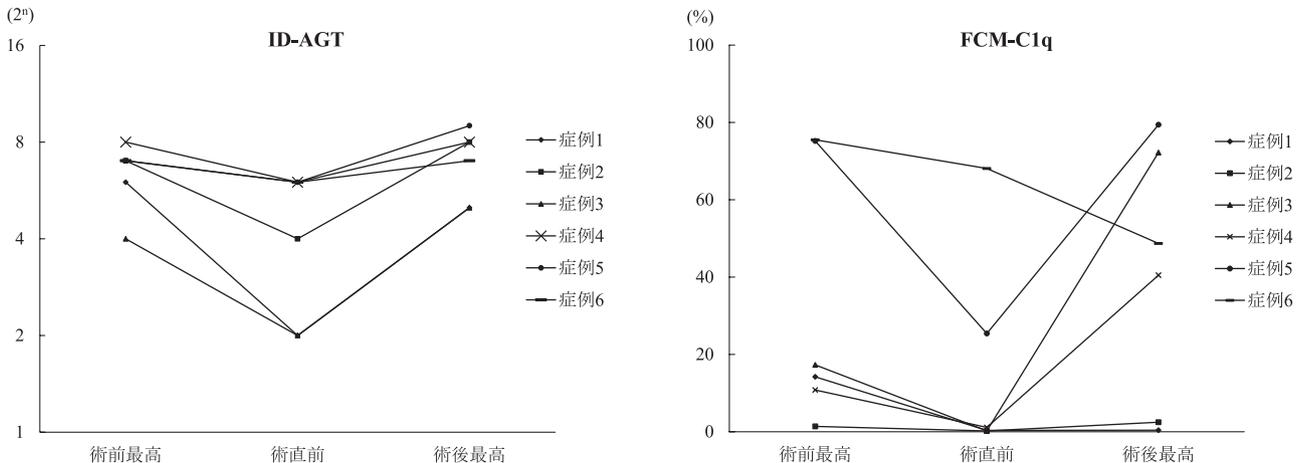


図 2 ABO 血液型不適合生体腎移植症例の血液型抗 A/B 抗体の検討

ID-AGT は、液性拒絶反応に関係なく術後抗体価の上昇を認めた。

FCM-C1q は、術後陽性率が低い症例では移植後の腎機能は良好であり、術後陽性率が高い症例では移植予後の腎機能不良または腎機能喪失症例であり移植腎生検においても抗体関連型拒絶反応を疑う所見であることが認められた。

(3-11), 抗 B 抗体 5.1±1.9 (2-8), A 型抗 B 抗体 1.9±1.2 (1-3), B 型抗 A 抗体 2.4±1.1 (1-5) であった。

健常者の FCM-C1q 陽性率 (%) は、O 型抗 A 抗体 27.2±30.9 (0.4-95.5)・抗 B 抗体 16.4±9.9 (0.7-31.0), A 型抗 B 抗体 1.7±4.1 (0.3-13.4), B 型抗 A 抗体 0.8±1.6 (0.1-5.3) であった。

透析患者の FCM-IgG 抗体価 (2ⁿ) は、O 型抗 A 抗体 6.0±1.3 (4-8)・抗 B 抗体 5.5±2.0 (2-8), A 型抗 B 抗体 1.8±1.9 (1-6), B 型抗 A 抗体 2.4±2.0 (1-7) であった。

透析患者の FCM-C1q 陽性率 (%) は、O 型抗 A 抗体 28.3±27.6 (0.3-82.8)・抗 B 抗体 22.1±26.7 (0.4-78.3), A 型抗 B 抗体 8.6±21.5 (0.1-68.2), B 型抗 A 抗体 3.5±10.5 (0.1-33.5) であった。

2) ABO 血液型不適合生体腎移植を施行した 6 症例

表 1 に ABO 血液型不適合生体腎移植症例の検査所見を示す。

ID-AGT 抗体価 (2ⁿ) は、症例 1-6 すべてにおいて術前抗体価に比べると抗体除去療法により術直前では一旦

低下を示したが術後再び抗体価の上昇を認めていた。

FCM-C1q は、ID-AGT と同様に症例 1-6 すべてにおいて術前抗体陽性率に比べると抗体除去療法により術直前では一旦低下を示した。しかし、術後の腎機能不良または移植腎喪失症例では術後再び抗体陽性率の上昇を認めていたが、術後腎機能良好症例では抗体陽性率の上昇を認めなかった (図 2)。

III. 考 察

Alexandre GP らは、術前の十分な抗血液型抗体除去療法と脾臓摘出が ABO 血液型不適合腎移植の成功につながると報告している^{6,7)}。

日本では、腎移植のドナープール拡大の目的で 1989 年から ABO 血液型不適合生体腎移植が施行されるようになり、測之上らは、抗体除去療法と Rituximab 投与を併用することで ABO 血液型適合生体腎移植よりも ABO 血液型不適合生体腎移植の方が移植腎生着率が有意に良好であったと報告している⁸⁾。そして現在では、抗血液

型抗体除去を完全にする必要がないことが疫学的研究から明らかになった⁹⁾。しかし、どの程度抗体除去することが移植腎生着の成功につながるか未だ科学的な根拠はなく、経験に基づく抗体除去率で施行されている。

血液型抗 A/B 抗体測定法には、ID-AGT、ゲルカラム遠心凝集法 (MTS: DiaMed-ID Micro Typing System, DiaMed AG, Switzerland)、ビーズカラム遠心凝集法 (CAT: BioVue Column Agglutination Technology, Ortho-Clinical-Diagnostics, Tokyo, JPN)、flow cytometry 法などがある。しかし、どの検査法も IgG サブクラス (IgG1-4) をすべて検出する方法であり測定法に対する考え方も従来からほとんど変わっていないのが現状である。

筆者らは、本研究を進めるにあたりどの程度血液型抗 A/B-IgG 抗体を除去するかではなく、術前に補体結合性のある血液型抗 A/B-IgG 抗体¹⁰⁾を除去出来るかの方が移植腎生着の成功につながるのではないかと仮説を立てた。

本研究結果より、健常者 A 型、B 型では個人差が若干認められたが O 型と比べると統計学的有意差 (5% 未満) を持って血液型抗 A/B-IgG 抗体価と共に FCM-C1q 陽性率も低い傾向であることが認められた。

透析患者では、O 型、A 型および B 型の血液型抗 A/B-IgG 抗体価は健常者とほぼ変わらない傾向であることが認められた。しかし、FCM-C1q 陽性率は O 型、A 型および B 型すべてにおいて健常者と比べると統計学的有意差 (5% 未満) を持って高い傾向であることが認められた。

preliminary study として本研究では健常者と透析患者を対象としたが、平均年齢はほぼ同一であったが特に透析患者について男女比に差を生じてしまった。性差による血液型抗 A/B-IgG 抗体への影響として男性に比べると女性の方がやや高値であったとする報告^{11,12)}を確認出来たが本邦での検討結果は見当たらなかった。女性の場合、特に妊娠などにより男性に比べて血液型抗原に免疫される機会が多いためではないかと推測されるが、本研究結果では健常者と透析患者の血液型抗 A/B-IgG 抗体価に統計学的有意差を認めなかったこと、補体結合性のある血液型抗 A/B-IgG 抗体に関しては女性の比率が低いにも関わらず透析患者が有意に健常者よりも高いことから性差による結果への影響は少ないのではないかと考えられる。

ヒト血清中 IgG 抗体のサブクラス比率は、およそ IgG1 : 60%, IgG2 : 29%, IgG3 : 7%, IgG4 : 4%, その中で古典的経路の補体結合能は、IgG1, IgG3 が強く IgG2 は中間、IgG4 はないと報告されている¹³⁾。

FCM-C1q による本研究結果から A 型、B 型の抗 A/B 抗体は、ほとんどが IgG4 優位ではないかと筆者らは推察した。しかし、実際 IgG サブクラスを解析してみると IgG4 優位の結果ではなく、FCM-C1q と一致しないことから今後 IgG サブクラス測定法の再検討が必要であると考えている (data not shown)。

矢部らは、日本人の血液型抗 A/B 抗体価が近年低下傾向にあると報告している¹⁴⁾。本研究結果においても A 型、B 型の血液型抗 A/B 抗体価は従来よりも抗体価の平均値で低い傾向が認められた。しかし、O 型の抗 A/B 抗体に関しては抗体価が高く維持されており FCM-C1q 陽性率も高く A 型、B 型と比較すると補体結合性のある血液型抗 A/B-IgG 抗体の割合が高いことが認められた。

石田らは、ABO 血液型不適合腎移植の脱感作において O 型は A 型、B 型の透析患者と比較すると有意差をもって脱感作後のリバウンドの頻度が高く O 型は免疫応答の感受性に相違があるのではないかと推測している¹⁵⁾。この推測こそが筆者らの仮説とした補体結合性のある血液型抗 A/B-IgG 抗体によるものではないかと推察される。

ABO 血液型不適合生体腎移植を施行した 6 症例の ID-AGT と FCM-C1q を比較すると、ID-AGT 抗体価は移植後の腎機能と関係なく術後抗体価の上昇を認めていた。しかし、FCM-C1q では、ID-AGT 抗体価が高くても術後 FCM-C1q 陽性率が低い症例では移植後の腎機能は良好であり、術後 FCM-C1q 陽性率が高い症例では移植予後の腎機能不良または腎機能喪失症例であり移植腎生検においても抗体関連型拒絶反応を疑う所見であることが認められた。

ABO 血液型不適合生体腎移植において補体結合性のある血液型抗 A/B-IgG 抗体に関する先行技術文献は確認出来なかった。しかし、筆者らは本研究の結果から、新しい知見としてこの補体結合性のある血液型抗 A/B-IgG 抗体の有無が液性拒絶反応と強い関連性があると推察される。

今後、術前や術後の血液型抗 A/B-IgG 抗体価の高い症例に対する抗体除去療法について、補体結合性のある血液型抗 A/B-IgG 抗体陽性率を測定することにより Ritux-

imab 投与や抗体除去療法を減らすことが出来る可能性が示唆される。

IV. 結 語

今後、症例検討を重ねる必要性はあるが、FCM-C1q は新しい血液型抗 A/B 抗体測定法として ABO 血液型不適合生体腎移植には重要な検査法になる可能性があることが示唆される。

本研究に関して関連企業との利益相反はありません。

引用文献

- 1) Sawada T, Fuchinoue S, Kawase T, *et al.*: Preconditioning regimen consisting of anti-CD20 monoclonal antibody infusions, splenectomy and DFPP-enabled non-responders to undergo ABO-incompatible kidney transplantation. *Clin Transplant* (18): 254–260, 2004.
- 2) 石塚 敏, 安尾美年子, 石田悠梨 他: Complement-dependent cytotoxic crossmatch および Flow cytometric crossmatch の結果の乖離についての検討—補体結合性 HLA 抗体の検出—. *移植* 48: 033–041, 2013.
- 3) Knight RC: Measuring IgG anti-A/B titres using dithiothreitol (DTT). *Journal of Clinical Pathology* (31): 283–287, 1978.
- 4) Olson PR, Weiblen BJ, O’Leary JJ, *et al.*: A simple technique for the inactivation of IgM antibodies using Dithiothreitol. *Vox Sanguinis* (30): 149–159, 1976.
- 5) 石塚 敏, 石田英樹, 安尾美年子 他: フローサイトメーターを使用した抗 A/B 抗体価測定法の確立. *医学検査* 58: 827–831, 2009.
- 6) Alexandre GP, De Bruyere M, Squifflet JP, *et al.*: Human ABO-incompatible living donor renal homografts. *Neth J Med* (28): 231–234, 1985.
- 7) Alexandre GP, Squifflet JP, De Bruyere M, *et al.*: ABO-incompatible related and unrelated living donor renal allografts. *Transplantation Proceedings* (18): 452–455, 1986.
- 8) Fuchinoue S, Ishii Y, Sawada T, *et al.*: The 5-Year Outcome of ABO-Incompatible Kidney Transplantation With Rituximab Induction. *Transplantation* (91): 853–857, 2011.
- 9) Aikawa A, Kawamura T, Shishido S, *et al.*: ABO-incompatible living-donor pediatric kidney transplantation in Japan. *Clinics* (69): 22–27, 2014.
- 10) Duncan AR, Winter G: The binding site for C1q on IgG. *Nature* 1988, 332, 738–740.
- 11) McVey J, Baker D, Parti R, *et al.*: Anti-A and anti-B titers in donor plasma, plasma pools, and immunoglobulin final products. *Transfusion* (55): S98–104, 2015.
- 12) Grundbacher FJ: Genetics of anti-A and anti-B levels. *Transfusion* (16): 48–55, 1976.
- 13) Baldwin WM 3rd, Pruitt SK, Brauer RB, *et al.*: Complement in organ transplantation. Contributions to inflammation, injury, and rejection. *Transplantation* (59): 797–808, 1995.
- 14) 矢部隆一, 藤坂盛次, 増野敦子 他: 健常人の抗 A および抗 B 抗体価の変動—17 年前と現在, およびラオス人との比較—. *日本輸血学会雑誌* 50: 350, 2004.
- 15) 石田清人, 高橋祐司, 川上麻衣 他: ABO 不適合腎移植における術前抗体価と AMR リスクの検討. *日本臨床腎移植学会雑誌* 2: 62–67, 2014.

Novel Flow Cytometry Method for Detecting Complement C1q Bound to Anti-blood Group A/B-IgG Antibody in ABO-incompatible Renal Transplantation

Tsutomu Ishizuka¹⁾, Mineko Yasuo¹⁾, Yuri Kobayashi¹⁾, Hitomi Miura¹⁾, Kotaro Kai²⁾, Kazuhiro Iwadoh²⁾, Toru Murakami²⁾, Kumiko Kitajima²⁾, Ichiro Nakajima²⁾ and Shohei Fuchinoue²⁾

¹⁾Division of Transplant Immunology, Central Clinical Laboratories, Tokyo Women's Medical University

²⁾Department of Surgery, Kidney Center, Tokyo Women's Medical University

It has been widely believed that it is critical to remove as much anti A/B blood group antibody as possible before ABO incompatible renal transplantation (ABOI-RTx) for renal graft survival. We, however, report a rare case that implied a presence of hyperacute rejection in ABOI-RTx leading to graft loss, in a way, regardless of titers of blood group antibody before transplantation.

We newly developed a method for measuring a complement-fixing ability of anti A/B blood group IgG antibody to elucidate an immunological mechanism of how anti A/B blood group antibody works in ABOI-RTx. Results of such measurements revealed that a high positive rate of complement-fixing ability of anti A/B IgG antibody was predictive of poor graft survival or graft loss. This method, therefore, might turn out to be an important laboratory test before ABOI-RTx.

Key words: anti-A/B blood type antibody, complement-fixing ability of anti-A/B antibody, FCM-C1q, FCM-IgG, ABO incompatible renal transplantation

第 14 回日本組織適合性学会近畿地方会 抄録集

会 期 : 2016 年 2 月 6 日 (土)

会 場 : 大阪府赤十字血液センター 7 階会議室
大阪市城東区森之宮 2 丁目 4 番 43 号
TEL 06-6962-7001

世話人 : 田中 秀則

公益財団法人 HLA 研究所 所長

〒 600-8813 京都市下京区中堂寺南町 134
京都リサーチパーク 1 号館 2F

TEL 075-313-5201 FAX 075-313-5202

E-mail : hla@hla.or.jp

共 催 : 財団法人 大阪腎臓バンク

【参加費】

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

【会議等】

1. 総 会：2月6日（土）12:50～13:00
2. 世話人会：2月6日（土）11:50～12:50
3. 意見交換会：2月6日（土）17:00～

【会場地図】

大阪府赤十字血液センター 7階会議室
大阪市城東区森之宮2丁目4番43号
TEL 06-6962-7001



📍 施設の詳しい地図



JR 環状線・地下鉄中央線・地下鉄長堀鶴見緑地線，森ノ宮駅下車東へ 350 m

プログラム

【午前の部】

10 時～10 時 40 分

オープニングセミナー

座長：椿 和央（近畿大学医学部奈良病院 血液内科）

- 1) ASHI レポート：小島裕人（HLA 研究所）
- 2) キアマッチメーカー：楠木靖史（HLA 研究所）

一般演題（1）

10 時 40 分～11 時 15 分

座長：石井博之（日本赤十字社 近畿ブロック血液センター）

- 1) 次世代シーケンシング（NGS）で検出された新規アレルについて
○堀江友人¹⁾、楠木靖史¹⁾、池田奈未¹⁾、徳永賢治²⁾、二神貴臣¹⁾、小島裕人¹⁾、辻野貴史¹⁾、林 晃司¹⁾、藤井直樹¹⁾、末上伸二¹⁾、宮崎有紀¹⁾、西川美年子¹⁾、小川公明³⁾、佐治博夫¹⁾、田中秀則¹⁾
公益財団法人 HLA 研究所¹⁾、熊本大学医学部血液内科²⁾、NPO 法人 白血病研究基金を育てる会³⁾
- 2) WAKFlow[®] HLA タイピング試薬 HLA-DQA1 の開発
○河野幸太、池田 梢、長門正貴、川井信太郎
湧永製薬株式会社 試薬・診断薬事業部
- 3) PCR を用いない新しい HLA の DNA タイピングの開発—NGS キャプチャー法—
○猪子英俊¹⁾、重成敦子¹⁾、奥平裕子¹⁾、田嶋 敦²⁾、細道一善²⁾
ジェノダイブファーマ（株）¹⁾、金沢大学医薬保健研究域医学系²⁾

一般演題（2）

11 時 15 分～11 時 50 分

座長：荒木延夫（兵庫県赤十字血液センター）

- 4) 成人臍帯血移植における HLA6 座（A, B, C, DR, DQ, DP）適合性の移植成績への影響
○東 史啓¹⁾³⁾、屋部登志雄¹⁾³⁾、武田直也¹⁾、山際裕子¹⁾、小野あいこ¹⁾、柏瀬貢一¹⁾³⁾、折原 武³⁾、矢部普正³⁾、小川篤子¹⁾³⁾、松本加代子³⁾、甲斐俊朗³⁾、森 鉄男³⁾、森島聡子³⁾、大村和代¹⁾、鈴木雅治¹⁾、高梨美乃子²⁾³⁾、佐竹正博²⁾³⁾、中島一格¹⁾、森島泰雄³⁾
日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター¹⁾、日本赤十字社血液事業本部²⁾、日本医療研究開発機構（AMED）研究班臍帯血移植組織適合性共同研究グループ³⁾
- 5) さい帯血出庫前検査における抗 HLA 抗体検査について
○原 祐子、高 陽淑、下北希美、西宮紘子、山本ゆかり、石井博之、松倉晴道、谷 慶彦、藤村吉博
日本赤十字社 近畿ブロック血液センター
- 6) NGS による HLA と KIR 遺伝子解析による関節リウマチの感受性遺伝子検索—アレルギー性疾患との相反性について—
○石谷昭子¹⁾、中西真理¹⁾、井上和也²⁾、下嶋典子³⁾、村田紀和⁴⁾、芦田恒雄⁵⁾、井手 武⁶⁾、Wyatt C. Nelson⁷⁾、宮崎有紀⁸⁾、田中秀則⁸⁾、佐治博夫⁸⁾、羽竹勝彦¹⁾、Daniel E. Geraghty⁷⁾
奈良県立医科大学・法医学¹⁾、同・腫瘍放射線医学²⁾、同・免疫学³⁾、行岡病院・リウマチ科⁴⁾、芦田耳鼻咽喉科医院⁵⁾、Tide Pollen Science Lab⁶⁾、Fred Hutchinson Cancer Research Center⁷⁾、公益財団法人 HLA 研究所⁸⁾

11 時 50 分～ 12 時 50 分

昼食・世話人会

12 時 50 分～ 13 時 00 分

総会

【午後の部】

13 時 00 分～ 14 時 45 分

テクニカルワークショップ

「HLA 抗体・クロスマッチの標準化について (QCWS : その裏側)」

—QCWS の現状報告 : アンケートの集計結果からみる最近の状況—テクニカルセミナー

座長 : 高 陽淑 (日本赤十字社近畿ブロック血液センター)

黒田ゆかり (日本赤十字社九州ブロック血液センター)

- 1) 抗体検査 Luminex
高 陽淑 (日本赤十字社 近畿ブロック血液センター)
- 2) 抗体検査 Flow PRA screening
新地隆文 (株式会社ベリタス 技術推進部)
- 3) クロスマッチ ICFA
川井信太郎 (湧永製薬株式会社 試薬・診断薬事業部)
- 4) クロスマッチ FCXM
橋口裕樹 (福岡赤十字病院 検査部 移植検査課 輸血細胞治療部)

15 時～ 17 時

シンポジウム

「がん免疫療法」

座長 : 谷 慶彦 (日本赤十字社近畿ブロック血液センター)

田中秀則 (公益財団法人 HLA 研究所)

- 1) 細胞療法 (遺伝子導入)
糠谷育衛, 峰野純一 (タカラバイオ株式会社 CDM センター)
- 2) 免疫チェックポイント阻害剤
北野滋久 (国立がん研究センター中央病院 先端医療科)
- 3) 再発ハイリスク同種造血幹細胞移植後患者に対する WT1 ペプチドワクチン臨床試験
保仙直毅 (大阪大学 癌幹細胞制御学)

17 時～ 意見交換会

(10:00 ~ 10:40)

オープニングセミナー

座長：椿 和央（近畿大学医学部奈良病院 血液内科）

- 1) ASHI レポート：小島裕人（HLA 研究所）
- 2) キアマッチメーカー：楠木靖史（HLA 研究所）

1) アメリカ組織適合性学会 (ASHI) レポート

小島裕人

公益財団法人 HLA 研究所

2015 年 10 月にジョージア州・サバナで開催されたアメリカ組織適合性学会に参加したので、そのなかの一部の話題を報告する。本学会では組織適合性に関する講演のほか、免疫や治療に関するシンポジウムも多くみられた。

まずは、腸内細菌と免疫の関連について紹介する。腸内細菌の有する免疫源としては、例えば *S. typhimurium* の有する Flagellin があり、Toll Like Receptor 5 (TLR5) を介して自然免疫を活性化することが知られている。TLR5 をノックアウトしたマウスの 80% は肥満になるが、これは TLR5 を阻害することで NF- κ B などの炎症性サイトカインの活性低下を誘導し、インスリンが調整できなくなることが原因として挙げられている。他には、*B. fragilis* などが有する Sphingolipids は CD1d を介して iNKT 細胞の活性を低下させる。iNKT 細胞は細胞の複製やエラー回避の役割を担っており、阻害によって様々な病態が引き起こされる。これらの理由から、腸内細菌と免疫は移植でも重要と考えられ、腸内細菌のないマウスの皮膚移植では T 細胞の活性化が下がることで拒絶が遅くなることが知られている。

次に NK 細胞による養子免疫療法を紹介する。NK 細胞は、CD3/CD19 細胞を除去して NK 細胞の活性化サイトカインである IL-2 を加えることで細胞数を増やしていたが、IL-2 は Treg を活性化させるために失敗することも多い。IL-15 は NK 細胞を活性化して Treg を活性化しないので IL-2 に代わるサイトカインとして有用である。最近では Bispecific Killers Cell Engager (BiKE) と呼ばれる CD16 と CD33 のモノクローナル抗体の可変部を結合したものが開発され、これは腫瘍細胞の多くが発現している CD33 と NK 細胞受容体の CD16 を特異的に結合させて NK 細胞を効率よく拡張することができる。

次いで移植医療に関して紹介するが、アメリカは日本と異なり多民族国家であるため、HLA のるつぽであり、造血幹細胞移植では約半数程度の症例でミスマッチ移植が選択される。臓器移植では、より早期に拒絶の兆候を検出するための抗体検査を模索している。日本とアメリカ

の移植成績が異なるが、抑える点は同じであると思われる。

造血幹細胞移植における各座位のミスマッチは、アレルの組み合わせによって予後が異なる。例えば、C*03:03 と C*03:04 の組み合わせは T 細胞の認識領域外の構造の違いであるため、permissive (許容) と考えられる。このように、構造上の違いを想定することが重要である。他に考慮すべきことは、DP 座では T cell epitope での分類があり、同一カテゴリ内でのミスマッチのほうが望ましいことや、HLA のミスマッチが HVG 方向では GVHD が起きにくいことがある。

ミスマッチの選択ではアレル型のみならず、発現量が違うことも注目すべきで、7/8 マッチドナーを選択した場合は HLA-DRB3/4/5 座や DQ, DP 座などの低発現座位のミスマッチ数が 3 以上の場合に、生存率が有意に低下するデータが出ている。発現に関して言えば、C 座はアレルによって発現量が異なることが知られているほか、多民族国家のアメリカでは 8/8 マッチの 80% がミスマッチとなる DP 座では、DPB1 の 3'UTR にある SNPs が発現量と関係している。

臓器移植においては、HLA 抗体が重要となる。スタンフォード大学のデータによると 96 血清から IgG で検出された 2,118 種類の抗体を他法と比較すると、CDC では 193 種類、C1q では 991 種類しか陽性と判定されなかった。C1q の結果と IgG の結果に相関はなく、それぞれの結果は独立しているため、各臓器での陽性、陰性のカットオフラインは、MFI 値で腎臓が IgG 1000 以上、心臓は C1q 陰性で IgG が 3000 以上または、IgG が 3000 以下の陽性の場合には C1q が 1000 以上、肺は C1q が 1000 以上であると考えられ、IgG 陰性かつ C1q 陽性は IgM が陽性という考えがある。このように C1q の検査結果に IgG を補足することで、移植や抗体減弱や免疫抑制の時期を考慮するのが望ましいようである。

最後に NGS (Next Generation Sequencing) による HLA タイピングであるが、多くの企業が展示会場で検査キッ

トや解析ソフトを出していたが、移植や疾患などの相関データは多くはみられなかった。講演のなかで注目すべきは、ハプロタイプの解析であり、例えば HLA-B*40:01 は多くが B*40:01:02 であり、B*40:01:01 とはハプロタイプが異なる可能性がある。当研究所の自家データでも

HLA-B*39:01 について、B*39:01:01, B*39:01:02, B*39:01:03 の 3 種類が検出されるなど、NGS によって HLA 領域の遺伝学的背景が詳細に理解されつつある。

来年度の ASHI はミズーリ州セントルイス郡で 9/26-30 で開催予定である。

2) KIR リガンドマッチメーカーおよびミスマッチメーカーについて

○楠木靖史¹⁾, 二神貴臣¹⁾, 小島裕人¹⁾, 辻野貴史¹⁾, 林 晃司¹⁾, 藤井直樹¹⁾, 末上伸二¹⁾, 池田奈未¹⁾, 宮崎有紀¹⁾, 堀江友人¹⁾, 西川美年子¹⁾, 小川公明²⁾, 佐治博夫¹⁾, 田中秀則¹⁾

公益財団法人 HLA 研究所¹⁾, 特定非営利活動法人 白血病研究基金を育てる会²⁾

【背景】

KIR (Killer cell Immunoglobulin-like Receptors) は HLA-Class I をリガンドとする受容体で, 免疫グロブリン様細胞外ドメインを持つ多遺伝子族に属し, NK 細胞に発現している。細胞外ドメインの数および細胞内ドメインの長さの違いにより分類され, 抑制型と活性型が存在する。

HLA と KIR の組合せや KIR 遺伝子座の有無と, 感染症, 自己免疫疾患, 妊娠等への影響について, 海外で数多く報告がされている。また, 造血幹細胞移植の領域では, AML 患者への移植で HLA ミスマッチによる KIR リガンドミスマッチ移植で得られる NK 細胞の GVL 効果により, 再発率の低下から予後が良好とされている。^{※1}

KIR および HLA は多様性に富んでいることから, その関係は複雑となる。この問題を解消するため, 我々は, 患者およびドナー候補者の HLA タイプから KIR リガンドミスマッチの評価を行うツールを開発した。

【概要・活用方法】

開発したツールは Leung らの文献^{※2}に基づいており, 以下の 2 種類を公開している。その活用方法を以下に示す。

1) KIR リガンドミスマッチメーカー :

概要: 患者の HLA タイプから KIR リガンドがミスマッチとなるドナー候補の HLA タイプが表示される。

活用方法: ドナー候補が未定の場合に用いる。どのような HLA タイプのドナーを選択すれば KIR リガンドミ

スマッチとなるか, 検索に有用である。

2) KIR リガンドマッチメーカー :

概要: 患者とドナー候補間の KIR リガンドミスマッチの有無が表示される。

活用方法: 既にドナー候補が決定している場合に用いる。移植ペアの組合せについて, KIR リガンドミスマッチの有無が確認可能である。

【今後の展望】

非寛解 AML 患者に対して, 軽度の GVHD 発症が非発症群に比べて予後が良いという報告があり^{※3}, KIR リガンドミスマッチ移植との相関性について検証が必要である。また, 今後, KIR とリガンドとなる HLA との複雑な関係を解明するためには, KIR のアレルレベルでのミスマッチについて検証するためにも, NGS によるアレルタイピングが必要と考える。

※ 1. Cooley S. et al. Donor selection for natural killer cell receptor genes leads to superior survival after unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood*. 2010 Oct 7; 116(14): 2411-9.

※ 2. Leung, W. Use of NK cell activity in cure by transplant. *British Journal of Hematology*, 155: 14-29.

※ 3. Hiroki Y et al. Predictive factors for outcome of allogeneic HCT for AML not in remission.: JSHCT Adult AML WG. [abstract]. 第 74 回日本血液学会総会抄録集. 2012: 24. 抄録番号 OS-1-145.

(10:40 ~ 11:15)

一般演題 (1)

座長：石井博之（日本赤十字社 近畿ブロック血液センター）

演題番号 1～3

1) 次世代シーケンシング (NGS) で検出された新規アレルについて

○堀江友人¹⁾, 楠木靖史¹⁾, 池田奈未¹⁾, 徳永賢治²⁾, 二神貴臣¹⁾, 小島裕人¹⁾, 辻野貴史¹⁾, 林 晃司¹⁾, 藤井直樹¹⁾, 末上伸二¹⁾, 宮崎有紀¹⁾, 西川美年子¹⁾, 小川公明³⁾, 佐治博夫¹⁾, 田中秀則¹⁾

公益財団法人 HLA 研究所¹⁾, 熊本大学医学部血液内科²⁾, NPO 法人 白血病研究基金を育てる会³⁾

【目的】

今回、我々は骨髄移植を目的とした Luminex 法 (SSO 法) による HLA 遺伝子型検査において、既知のアレルと反応パターンが異なることから、NGS による HLA 遺伝子型検査により塩基配列を決定したところ、新規アレルであることが判明したので報告する。

【材料・方法】

材料：造血幹細胞移植を目的とした検査のため同胞から採取された濾紙血痕 4 検体から抽出した DNA 検体を用いた。

方法：Luminex 法のタイピングには、湧永製薬社の WAK Flow を用いて行った。また、NGS によるタイピングには、Scisco Genetics 社製試薬を用い、Class I は exon1 ~ 7, Class II は exon1 ~ 4 を増幅し Illumina 社の Miseq で塩基配列を決定し、Scisco Genetics 社の判定ソフトで HLA タイプを判定した。

【結果】

新規アレルは、Luminex 法で既知アレルとの反応パターンが 4 カ所違う DRB1*14:54 との相同性が高く、そ

の変異アレルであると推測された。また、同様の反応性は、同胞間でも確認された。

NGS による塩基配列解析結果では、DRB1*14:54 と比較し 6 塩基が異なるアレルであり、69, 70, 74 番目のコドンに塩基置換が認められ、69 番目は同義置換、他の 2 カ所は非同義置換であった。

【考察】

今回検出された新規アレルは、相同性の近い DRB1*14:54 と比較しても 6 カ所に塩基置換を認めており、この 6 カ所が同時に変異し新規アレルが発生することは考え難く、DRB1*14:54 の exon2 の 294 ~ 308 番目の 15 塩基が、他のアレル (例:DRB1*14:03) との遺伝子変換 (gene conversion) により生じたアレルである可能性が高いと推定される。

Luminex 法は SSO 法を基本としている検査法であり、各アレルに特徴的な塩基配列プローブを用い、そのプローブとの反応パターンからアレルを決定している。その為、新規および変異型の検出は難しく、NGS では 1 度の検査でこれらの塩基配列を決定することが可能である。

2) WAKFlow[®] HLA タイピング試薬 HLA-DQA1 の開発

○河野幸太, 池田 梢, 長門正貴, 川井信太郎

湧永製薬株式会社 試薬・診断薬事業部

【背景】

HLA class II 抗原のひとつである DQ は α 鎖と β 鎖のヘテロダイマーからなり, 各々 DQA1 遺伝子, DQB1 遺伝子がコードしている。近年, 腎移植後の AMR に de novo の DQ に対する抗体が関与しているとの報告や, ドナーの DQA1 および DQB1 アリル情報に基づいたバーチャルクロスマッチが実際のクロスマッチの結果を高い精度で予測できるとの報告があり, DQA1 タイピングの必要性が高まっている。

そこで我々は, 日本人で高頻度に報告のある DQA1 (16 アリル) をタイピング可能な試薬の開発を検討した。

【方法】

対象とするアリルは, 第 23 回日本組織適合性学会年会で宮崎らが, 日本人に高頻度に存在すると報告した 16 アリルとした。これらのタイピングのため, エクソン 1, 2 及び 3 を増幅するプライマーを 6 種類, 各エクソンの多型を識別するプローブを 29 種類設計した。プ

ローブの性能評価は, PCR-SBT 法により遺伝子型既知の DNA を用いて行った。PCR, アッセイ条件は WAKFlow HLA タイピング試薬の操作方法に従った。

【結果】

プローブの識別能を確認したところ, 全てのプローブにおいて陽性シグナルが 1000 以上, P/N 比(1つのプローブにおける陽性シグナルの最小値/陰性シグナルの最大値)が 5.0 以上であり, 良好な識別能を示していた。

今回開発した試薬を用いて自社 126 検体のタイピングを行った。当社試薬を用いた DRB1, DQB1 タイピング結果と併せて解析したところ, 日本組織適合性学会のホームページや, The Allele Frequency のデータベースに報告の無いハプロタイプの存在も示唆された。

今回開発した試薬により, 日本人に高頻度に存在していることが報告されている DQA1 アリルの簡便なタイピングが可能となった。本試薬は今後, 臨床・基礎研究の発展に貢献できると考える。

3) PCR を用いない新しい HLA の DNA タイピングの開発 —NGS キャプチャー法—

○猪子英俊¹⁾, 重成敦子¹⁾, 奥平裕子¹⁾, 田嶋 敦²⁾, 細道一善²⁾

ジェノダイブファーマ (株)¹⁾, 金沢大学医薬保健研究域医学系²⁾

【はじめに】

現在, HLA-DNA タイピングとして用いられているルミネックス法, SBT 法, 次世代シーケンサー法などは, いずれも PCR で増幅した産物について SSO- ハイブリダイゼーション, シーケンシングなどを行い, 多型を見出してアレル決定を行っている。しかしながら, PCR は増幅の際の間違った塩基の取り込み, PCR 酵素の染色体間や遺伝子間 (例えば, DRB1 と DRB3/4/5 間) の乗り換えによるキメラ増幅産物の産生, PCR プライマー領域の多型による増幅の失敗 (allele drop) などのタイピングエラーが避けられない。また, 自動化に不向きな欠点もある。そこで, 本研究では, 全ゲノム断片よりハイブリダイゼーションにより HLA 遺伝子ゲノム領域を分離し, 次世代シーケンサーによりタイピングを行う, PCR 用いないキャプチャー法を開発した。

【方法】

IMGT/HLA データベースに多型が登録されている *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C*, *HLA-E*, *HLA-F*, *HLA-G*, *HLA-H*, *HLA-J*, *HLA-K*, *HLA-L*, *HLA-V*, *HLA-DRA*, *HLA-DRB1*, *HLA-DRB3*, *HLA-DRB4*, *HLA-DRB5*, *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DQA2*, *HLA-DQB2*, *HLA-DPA1*, *HLA-DPB1*, *HLA-DMA*, *HLA-DMB*, *HLA-DOA*, *HLA-DOB*, *HLA-DRB2*, *HLA-DRB6*, *HLA-DRB7*, *HLA-DRB8*, *HLA-DRB9*, *HLA-DQB3*, *HLA-DPA2*, *HLA-DPA3*, *MICA* および

MICB の計 36 HLA 関連遺伝子のそれぞれの遺伝子に対応する塩基配列の 2325 種のビオチン標識 DNA を人工合成した (各 120 bp の長さ。1 遺伝子について平均 75 個, 総長 235.6 kb)。これらの人工合成 DNA をプローブとして, 全ゲノム断片とハイブリダイゼーションを行い, ストレプトアビジン磁気ビーズにより, 31 個の HLA 遺伝子のゲノム領域を選択的に, 分離・捕捉 (capture) する。このようにして捕捉された HLA ゲノム断片について, 次世代シーケンサー MiSeq によりシーケンシングを行った。96 検体を 1 ランで解析し, それぞれの HLA 遺伝子型を決定した。

【結果】

HLA-A, *HLA-B*, *HLA-C* および *HLA-DRB1* においてルミネックス法によるタイピング結果と本法の結果を比較したところ, 99.7% の一致率であった。加えて *HLA-E*, *HLA-F*, *HLA-G*, *MICA*, *MICB*, さらにはいくつかの HLA 偽遺伝子を含め, 計 32 個の HLA 関連遺伝子の遺伝子型が決定可能であった。キャプチャー法により, 数多くの HLA 遺伝子座, 多検体について, 正確, かつ安価で HLA タイピングが可能であった。また, デザインを変えることのみで, 対象遺伝子座を増やせるため, KIR 遺伝子群についても同時にタイピング可能である。さらには, 自動化も容易であることから, 将来有望なタイピング法である。

(11:15 ~ 11:50)

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 4～6

4) 成人臍帯血移植における HLA6 座 (A, B, C, DR, DQ, DP) 適合性の移植成績への影響

○東 史啓¹⁾³⁾, 屋部登志雄¹⁾³⁾, 武田直也¹⁾, 山際裕子¹⁾, 小野あいこ¹⁾, 柏瀬貢一¹⁾³⁾, 折原 武³⁾, 矢部普正³⁾, 小川篤子¹⁾³⁾, 松本加代子³⁾, 甲斐俊朗³⁾, 森 鉄男³⁾, 森島聡子³⁾, 大村和代¹⁾, 鈴木雅治¹⁾, 高梨美乃子²⁾³⁾, 佐竹正博²⁾³⁾, 中島一格¹⁾, 森島泰雄³⁾

日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター¹⁾, 日本赤十字社血液事業本部²⁾, 日本医療研究開発機構 (AMED) 研究班臍帯血移植組織適合性共同研究グループ³⁾

【方法】厚生労働科学研究班 (現日本医療研究開発機構) 内に「臍帯血移植組織適合性共同研究グループ」を設立し, 全国 6 バンクより移植患者と臍帯血の DNA 検体を収集したものについて HLA6 座のアリルタイピングを行った。各バンクの移植成績データを用いて「初回移植」「単一臍帯血」「造血系悪性疾患」「日本人成人患者」の条件を満たす 1231 症例ペアを対象とし, HLA 各座の適合性と生存率を主に解析した。また, GVHD 発症率, 生着率, 再発率についても関連解析を行った。多変量統計解析は Cox 比例ハザード回帰法および Fine-Gray 比例ハザード回帰法を用いた。

【結果】HLA-DPB1 の GVH 方向アリル不適合症例では適合症例よりも全死亡率が低く (ハザード比 (以下 HR) = 0.83, p=0.032), 再発率は低下していた (HR=0.72, p=0.018)。また, HLA-C の 2 抗原不適合症例では, HLA-C 適合症例と比較して全生存率は有意に低下していた (HR=1.42, p=0.013)。HLA-A, -B, -DR に HLA-C を加えた合計 4 座での抗原レベルでの適合数の解析では, 不適合数が

4 抗原, すなわち HLA-A, -B, -DR の 3 座に 2 抗原不適合があり, 加えて HLA-C で 2 抗原不適合となる症例では, 4 座で 1 抗原のみ不適合の症例と比べ, 全生存率が有意に低下していた (HR=1.54, p=0.008)。HLA-A, -B, -C, -DRB1 の 4 座アリルレベルでの適合性の影響の解析では, 総不適合数が 6 アリルになると, 不適合数 1 アリルの症例に比べ, 全生存率が有意に低下していた (HR=1.76, p=0.013)。

【考察】今回の解析で, HLA-DPB1 の不適合が生存率を向上させる影響が見られた。HLA-DPB1 不適合は急性 GVHD 発症および生着不全のリスクではない一方で, 再発率を低下させていることから GVL 効果が生存率に表れていると考えられた。また, HLA-C の不適合のリスクが判明したことで, 従来の HLA-A, -B, -DR での適合検索に HLA-C を加え, さらにアリルレベルでの適合度も考慮することで, 臍帯血移植の成績がより向上する可能性が示唆された。

5) さい帯血出庫前検査における抗 HLA 抗体検査について

○原 祐子, 高 陽淑, 下北希美, 西宮紘子, 山本ゆかり, 石井博之, 松倉晴道, 谷 慶彦, 藤村吉博

日本赤十字社 近畿ブロック血液センター

【はじめに】近畿ブロック血液センターではさい帯血バンク出庫前検査として患者の抗 HLA 抗体検査を実施している。スクリーニング検査が陽性となった際、抗体特異性検査を実施するが、判定基準は未だ統一されておらず、その反応性から臨床的意義のある DSA (Doner Specific Antibody) か否かを判断する事が難しい場合もある。そこで、患者保有の抗 HLA 抗体が提供予定の臍帯血と反応するかを断定できない場合は、さい帯血細胞と患者検体とのクロスマッチ試験で確認している。今回、患者の抗 HLA クラス I 抗体検査の結果では DSA と推測されたが、さい帯血とのクロスマッチ試験 (HLA クラス I) では陰性となった症例を経験したので報告する。

【方法】HLA 抗体検査は Luminex 法 (LABScreen PRA I および LABScreen ClassI Single Antigen (以下 SA); ONE LAMBDA, INC.) を用いた。クロスマッチ試験は抗 HLA 抗体クラス I および II 抗体を別々に判定可能な ICFA 法 (WAKFlow HLA 抗体クラス I & II (ICFA); 湧永製薬) を用いた。

【結果】患者は抗 HLA クラス I 抗体検査陽性、抗体特異性検査では提供予定さい帯血の保有する HLA 抗原

(A11, B67) を含む複数の抗原ビーズに対して陽性判定となる蛍光値を認めた。そのため、クロスマッチ試験を実施したが陰性となった。その再現性を確認するため、SA で陽性判定となった抗原を持つ複数のパネルと患者検体についてクロスマッチ試験を実施したところ一部のパネルでは陽性となったが、A11 および B67 抗原パネルについては陰性となった。一方、さい帯血保有の HLA 抗原については抗血清を用いて血清学的に確認できた。以上の結果から患者保有の抗 HLA クラス I 抗体は提供予定のさい帯血とは反応しない可能性が高いと考えられた。

【考察】出庫前抗体検査の結果はさい帯血選択の適否に大きく影響する。患者が DSA を保有する可能性がある場合には、患者保有の抗 HLA 抗体とさい帯血の反応性をダイレクトに確認するクロスマッチ試験を適宜実施して報告することが、ドナーとの適合性の評価に役立つと考える。今回の症例は、同時に検査を実施した HLA クラス II について抗体検査およびクロスマッチ試験 (HLA クラス II) とともに陽性となった為、さい帯血の提供には至らなかった。

6) NGS による HLA と KIR 遺伝子解析による関節リウマチの 感受性遺伝子検索 —アレルギー性疾患との相反性について—

○石谷昭子¹⁾, 中西真理¹⁾, 井上和也²⁾, 下嶋典子³⁾, 村田紀和⁴⁾, 芦田恒雄⁵⁾, 井手 武⁶⁾,
Wyatt C. Nelson⁷⁾, 宮崎有紀⁸⁾, 田中秀則⁸⁾, 佐治博夫⁸⁾, 羽竹勝彦¹⁾, Daniel E. Geraghty⁷⁾

奈良県立医科大学・法医学¹⁾, 同・腫瘍放射線医学²⁾, 同・免疫学³⁾, 行岡病院・リウマチ科⁴⁾, 芦田耳鼻咽喉科医院⁵⁾,
Tide Pollen Science Lab⁶⁾, Fred Hutchinson Cancer Research Center⁷⁾, 公益財団法人 HLA 研究所⁸⁾

【目的】 Killer cell Immunoglobulin-like Receptor (KIR) は HLA をリガンドとして NK 傷害活性の制御に関する分子で、これまで関節リウマチ (RA) との相関についても海外ではしばしば報告されているが、日本人についてはほとんど報告されていない。これは日本人の KIR は比較的均一であるため、含有遺伝子の種類やハプロタイプにおいては有意の差が検出されないためと考えられる。本研究においては、次世代シーケンシング (NGS) により HLA および KIR allele type を決定し、KIR allele の多型および HLA との相関を検索した。さらにこれらの感受性遺伝子につき、RA と相反するとされる花粉症の患者および健常者ではあるがアレルゲン特異的 IgE 抗体陽性者と、RA 患者との比較を行った。

【方法】 RA 患者 116 名、花粉症患者 167 名、健常対照者 185 名の DNA を用い、KIR および HLA class I, II のタイピングを行った。NGS によるタイピングは、MiSeq をプラットフォームとして、Scisco Genetics 社の Kit により遺伝子増幅し、同社の解析ソフトによりアレル判定を行った。疾患との相関解析においては、対照群を、4 種のアレルゲンに対する特異的 IgE 陽性群 (84 名) と陰性群 (101 名) に分類し、解析した。

【結果】 KIR 遺伝子型およびハプロタイプについては RA との相関はみられなかったが、allele type において有意の相関がみられた。KIR2DS4*007 と KIR3DL1*00501 が強い正の相関を示し、3DL1*02901 と *001 が負の相関を示した。ただし、対照群を特異的 IgE 陰性と陽性に分けて相関解析すると、IgE 陽性群を対照とした場合は IgE 陰性を対照とした場合より著しく有意差が検出された。1 例を示すと、KIR3DL1*00501 では IgE 陰性群を対照とすると、P 値 0.016, odds 比 2.12 であるが、IgE 陽性群を対照とすると P 値 0.009, odds 比 3.21 であった。また、花粉症群との比較においても、IgE 陽性群と同様か、またはさらに有意差が大きく検出された。この傾向はすべての感受性 KIR allele のみならず感受性 HLA allele において明確であった。

【考察】 KIR3DL1 は抑制性レセプターであり、*00501 は発現が弱く、NK 傷害活性の抑制が弱いと報告されており、この抑制シグナルが弱いことが病因に関与しているのではないかと推測される。また、これまでから知られているように花粉症等 Th2 型疾患と RA のような自己免疫疾患との相反性が KIR および HLA 遺伝子においても明確に検出された。

(11:50 ~ 12:50)

昼食・世話人会

(12:50 ~ 13:00)

総会

(13:00 ~ 14:45)

テクニカルワークショップ

「HLA 抗体・クロスマッチの標準化について (QCWS : その裏側)」
—QCSWS の現状報告 : アンケートの集計結果からみる最近の状況—

座長 : 高 陽淑 (日本赤十字社近畿ブロック血液センター)
黒田ゆかり (日本赤十字社九州ブロック血液センター)

1) 抗体検査 Luminex

高 陽淑 (日本赤十字社 近畿ブロック血液センター)

2) 抗体検査 Flow PRA screening

新地隆文 (株式会社ベリタス 技術推進部)

3) クロスマッチ ICFA

川井信太郎 (湧永製薬株式会社 試薬・診断薬事業部)

4) クロスマッチ FCXM

橋口裕樹 (福岡赤十字病院 検査部 移植検査課 輸血細胞治療部)

テクニカルワークショップ

「HLA 抗体・クロスマッチの標準化について (QCWS : その裏側)」
—QCWS の現状報告：アンケートの集計結果からみる最近の状況—

日本組織適合性学会では、かねてから HLA 検査技術の向上をめざし DNA 検査部門 (DNA-QC) と、抗体検査部門 (抗体 QC) の QCWS (Quality control Work shop) を実施して来た。抗体 QC は 2004 年から開始し、それ以降 10 年間で抗体部門への参加施設は増加傾向にあり、2015 年度の QCWS (19thQCWS) では、全 QCWS 参加施設の 70% 程度が抗体 QC に参加している。

学会期間中に開催される QCWS 集会で行ったアンケート調査の集計結果から、各施設の担当者は「経験年数が比較的短い」か「中堅程度までの検査実務者」が多くを占め、QCWS への参加目的として「自施設の検査精度の確認」と「最新の情報入手」があげられる。また、これらの施設 (担当者ら) が抗体 QC に期待している事項は以下の 4 つに纏められた。

①判定困難な検体の適切な対応や基本的な抗体の検査

精度確認できること。

②参加した多施設の検査条件や判定基準の情報を入手できること。

③方法毎に、統一した陽性判定の Cutoff 値の設定をすること。

④評価結果を受けての直接的指導等、検査精度向上への支援があること。

以上、QCWS 部会ではこれらの要望を踏まえて、検査精度の向上を目指した参考マニュアルの作成のためのワーキンググループ (WG) を立ち上げた。

今回のテクニカルワークショップでは、WG メンバーにより最近の抗体 QC の解析結果に基づき各検査法別に分析し、最終的な標準化への目標の課題について提示していきたい。

1) 抗体検査 Luminex

高 陽淑

日本赤十字社 近畿ブロック血液センター検査部

1. 現状及び問題点：

Luminex 法は精製抗原・蛍光ビーズを応用した方法で主な市販キットとしては LABScreen (One Lambda) 或いは WAKFlow (湧永製薬) があげられる。抗体 QC に参加する 60% 以上の施設はこれらの試薬を単一あるいは組合せて用いて抗体の有無および特異性同定の検査をしている。いずれもプロトコールは簡便で、専用ソフトによる結果の自動解析が可能である。また測定結果は補正蛍光値や Index 値等で得られるため多施設間のデータ比較や精度管理に適している。その反面、シンプルな手順であっても洗浄操作など手技の完成度は測定値に影響

する。また、非常に高感度であるため、カットオフ付近での微妙な反応性の差異が最終判定のかい離につながる。さらに Luminex 法で検出されるすべての抗体特異性において、臨床的意義の有無を関連付けて明確に区分するカットオフの設定には至らず、現状での重要な課題である。

2. 標準化に向けての課題：

まずは実施施設の検査精度を一定の水準にすることが必要であり、それを前提として輸血や臓器移植、造血幹細胞移植などの目的毎に施設間で統一した判定基準を設けることを目指す。

2) 抗体検査 Flow PRA screening

新地隆文

株式会社ベリタス 技術推進部

1. 現状及び問題点：

FlowPRA Screening はフローサイトメーターで簡便かつ高感度に HLA 抗体をスクリーニングできるため広く普及しているが、特に臓器移植分野でよく使用されている。測定機種や FlowPRA 試薬のロット等は施設間でばらつきはあるものの、抗体検出の一致率は過去三年間の QCWS で 100% であり良好であると言える。しかし、機器設定方法やマーカー設定（判定基準）の違いにより、%PRA の値には施設間でばらつきが認められ、%PRA が判定基準付近の検体では結果が乖離している。また、実

際の臨床検体においては、検体前処理方法等の違いで判定結果が乖離している。

2. 標準化に向けての課題：

FlowPRA Screening を用いた HLA 抗体検出は、陰性と陽性が明確に区分される検体では現時点でも検査精度は一定の水準に達していると考えられるが、判定基準値近くでのさらなる精度向上の為には正しい機器設定、試薬・ロットの特性の理解を前提とした上で、プロトコールおよび判定基準の標準化を図ることが必要と考えられる。

3) クロスマッチ ICFA

川井信太郎

湧永製薬株式会社 試薬・診断薬事業部

1. 現状及び問題点：

ICFA 法はルミネックス装置を利用して、高感度に HLA 抗体のみを特異的に検出するクロスマッチ法である。17 回、18 回及び 19 回の QCWS の参加施設は、それぞれ 11 施設、12 施設、11 施設であった。クラス I のクロスマッチの結果は、Index 値に施設間差がみられるものの、結果はほぼ一致していた。この Index 値の施設間差の原因は、溶血の程度差や溶血後の細胞の洗浄操作等にあると思われる。さらに、抽出抗原を用いた抗体検査の結果と ICFA の結果が一致しない場合もみられた。又、原理がサンドウィッチ法であるので、捕捉用のモノクローナル抗体とアロ抗体のエピトープが近い場合には

アロ抗体の検出ができない場合もある。

2. 標準化に向けての課題：

ICFA 法によるクロスマッチは、現時点で検査精度は一定の水準に達していると考えられる。しかし、さらなる精度向上の為に、溶血や溶血後の細胞の洗浄操作(いかに残存赤血球を少なくするか)について、操作手技の完成度を確認する事が必要であると思われる。そのためにも、現在 QCWS で実施している共通サンプルを用いた全血クロスマッチ(日本移植学会との共同企画)への継続参加は有効な手段であると考えられる。また、抽出抗原をもちいた抗体検査との乖離が発生した場合の解釈の仕方についても今後の課題である。

4) クロスマッチ FCXM

橋口裕樹

福岡赤十字病院 検査部 移植検査課 輸血細胞治療部

1. 現状及び問題点：

フローサイトメーターを用いたクロスマッチ検査（以下、Flow Cytometry Cross Match ; FCXM と省略）は臓器移植の適否に関わる重要な検査項目であり、脳死、心停止下での腎臓、脾臓移植においては必須の検査項目である。FCXM は多くの検査施設で実施されているが、使用する機器設定、試薬、反応条件は様々であり、明確なプロトコルがない。また FCXM においては全国規模の精度管理がなく、このような状況の中、日本移植学会では日本組織適合性学会の協力を得て、2012 年度（17th）QCWS から同一試料を用いて FCXM の精度管理を開始する運びとなった。3 回の開催において、毎年 40 施設近くの参加があり、実務者からのニーズは高いと考える。精度管理の手順は、日本移植学会で準備された全血（ACD 液採血 7.5 ml）からリンパ球を採取し、QCWS から配布の血清で FCXM を行った。使用する血清は、ドナー HLA を考慮し抗体特異性を確認し準備した。精度管理の結果は高い一致率であり、概ね良好な結果であったが、

下記の点については問題点としてあげる。

- ① プロトコルが確立していない。
- ② 低力価の Donor Specific Antibody ; DSA を想定した血清では、乖離する結果も散見され、施設間差を認めた。
- ③ B 細胞を用いた FCXM は未実施。

2. 標準化に向けての課題：

生細胞を材料とする FCXM では、いかにドナーリンパ球の生存率を保ったまま、効率よく採取出来るかは重要なポイントとなる。次に、使用するフローサイトメーターの機器設定を正しく出来る事。これは機器メーカーとの協力も必要となってくる。さらに FCXM は、HLA 抗体以外の IgG との反応も認められる為に、DSA か否かの判断には、HLA タイピング、HLA 抗体をあわせて実施する事も重要である。このように総合的に判定し DSA であると決める何らかの基準も加えることが必要と考える。

(15:00 ~ 17:00)

シンポジウム

「がん免疫療法」

座長：谷 慶彦（日本赤十字社近畿ブロック血液センター）

田中秀則（公益財団法人 HLA 研究所）

1) 細胞療法（遺伝子導入）

糠谷育衛（タカラバイオ株式会社 CDM センター）

2) 免疫チェックポイント阻害剤

北野滋久（国立がん研究センター中央病院 先端医療科）

3) 再発ハイリスク同種造血幹細胞移植後患者に対する WT1 ペプチドワクチン臨床試験

保仙直毅（大阪大学 癌幹細胞制御学）

1) 細胞療法 (遺伝子導入)

糠谷育衛, 峰野純一

タカラバイオ株式会社 CDM センター

がん細胞特異的に発現したり, がん化により過剰発現する腫瘍抗原がこれまで多く見出されており, これら腫瘍抗原由来のペプチドと MHC を認識する細胞傷害性 T 細胞 (CTL) もこれまで多く見つけられてきた。CTL を用いたがん免疫療法は既によく知られている一方で, HLA 拘束性のがん特異的 CTL を腫瘍抗原毎に確立したうえで, 臨床で使用するために必要な数の CTL を製造することは容易ではない。

ウイルスベクターを用いた遺伝子導入技術を使うことにより, 腫瘍抗原特異的 T 細胞受容体 (TCR) を発現する CTL を大量に作成することが可能となる。すなわち, 腫瘍抗原特異的な HLA 拘束性の TCR 遺伝子を CTL から単離し, レトロウイルスベクターやレンチウイルスベクターなどに組み込み, ドナー由来 T 細胞を抗 CD3 抗体などで刺激増殖する過程で遺伝子導入することにより, 同じ TCR を細胞表面上に発現する遺伝子導入細胞を, 約 2 週間程度で $10^9 \sim 10^{10}$ 個レベルで製造することが可能となる。しかし, T 細胞は内在性に発現する TCR を持つため, 遺伝子導入により発現する外来性 TCR と CD3 complex の取り合いによる目的とする TCR 発現量の低下や, 異なる $\alpha\beta$ 鎖の組み合わせによる予期しない抗原特異性の獲得などが懸念される。我々は, siRNA 技術により内在性 TCR の発現を抑制する技術を見出し臨床に応用している。

TCR はその抗腫瘍性を示すためには, 腫瘍抗原由来

ペプチドと MHC complex を認識する必要がある。これにより, 欧米で多く開発されている HLA-A*02:01 特異的 TCR を用いた治療法は, 日本においては対象患者が限定的となるため, 日本人に多い HLA-A*24:02 を対象とした TCR 遺伝子治療の開発も必要となる。一方で, HLA 拘束性を持たず, タンパク抗原を認識できる受容体として, 抗体の抗原認識部位と TCR を介したシグナル伝達部位を組み合わせた, キメラ受容体 (CAR) を用いた CD19 等を抗原とした治療法が臨床応用され高い有効性を示している。

臨床投与を前提として細胞を製造するためには, 高いレベルの製造施設及び技術者が必要である。特に TCR および CAR 発現細胞のような遺伝子導入細胞の製造を行うには, 遺伝子組換え体の拡散を防止するカルタヘナ法への対応とともに製造室の清浄度を確保する必要がある。従来, 臨床研究のための臨床投与レベルの遺伝子導入細胞等の製造は実施医療機関が製造する必要があった。2014 年 11 月に施行された再生医療等安全性確保法により, 製造の許可を受けた製造施設に対して, 医療機関から特定細胞加工物の製造委託をすることが可能となった。弊社においても本法に準拠した製造施設許可を取得している。本シンポジウムにおいては, 臨床投与用細胞製造の観点も含めて, 遺伝子導入細胞を用いた免疫療法について議論したい。

2) 免疫チェックポイント阻害剤

北野滋久

国立がん研究センター中央病院 先端医療科

近年、がん免疫療法は目覚ましい進歩を遂げている。これまでがん医療の進歩に貢献してきた「手術療法」、「放射線療法」、「薬物療法」の3大治療につづく、「第4の治療」として「がん免疫療法」への期待がますます高まっている。従来のがんに対する薬物療法は薬剤自身が、がん細胞を直接的に作用して殺傷するものがほとんどであるが、一方、がん免疫療法は宿主自身の免疫機能を利用してがん細胞を制御しようとするものであり、従来薬物療法とは全く作用機序が異なるものである。「がん免疫療法」のなかでも、近年、臨床開発に成功し世界的な注目を集めているのが「免疫チェックポイント阻害剤」である。

～免疫チェックポイントについて～

1987年にT細胞上に発現する受容体であるCTLA-4分子がクローニングされ、つづいて、1992年に本庶祐先生らにより同様にT細胞上に発現する受容体であるPD-1分子が報告され、その後、これらがJames Allison博士らによりT細胞を抑制する方向に働く「負の補助刺激受容体」であり、さらに、動物モデルにおいてこれらの分子をブロックするとT細胞が活性化されて抗腫瘍効果を発揮することが示された。これらの一旦抗原を認識して活性化したT細胞に発現する「抑制シグナルが入る補助刺激受容体」のことを狭義に「免疫チェックポイント分子」と呼ぶ。

～免疫チェックポイント阻害剤～

本剤はT細胞に抑制のシグナルを入れる受容体である免疫チェックポイント分子を抗体でブロックして、いわば、抗原提示細胞や腫瘍細胞に発現するリガンドからの免疫抑制のシグナル（ブレーキ）が入らないようにしてT細胞を活性化させて癌を攻撃させるものである。単に「T細胞を活性化」するのではなく、「T細胞の抑制がかからないようにする」という逆転の発想とも言える方法でT細胞の活性化を持続して癌を攻撃させるという手法により臨床開発に成功した。海外では2000年に免疫チェックポイント阻害剤の臨床試験が開始された。現時点での免疫チェックポイント阻害剤の開発動向については、国内での承認状況については、進行悪性黒色腫に対して、抗PD-1抗体のnivolumabが2014年7月承認、抗CTLA-4抗体のipilimumabが2015年7月に承認を得ている。注目すべきことに2015年12月に非小細胞肺癌でnivolumabが承認を得ている。さらに、既治療進行がん（腎細胞がん、頭頸部がん、膀胱がん、胃がん、食道がん、卵巣癌等）に対して後期臨床試験（第III相試験）で各種の抗PD-1抗体および、PD-1分子に抑制のシグナルを入れるリガンドであるPD-L1分子をブロックする抗PD-L1抗体療法が施行・準備されており、今後、各種がん免疫チェックポイント阻害剤が実臨床の現場に導入されることが期待されている。

3) 再発ハイリスク同種造血幹細胞移植後患者に対する WT1 ペプチドワクチン 臨床試験

○保仙直毅¹⁾, 前田哲生²⁾, 森本創世子³⁾, 高島聡士⁴⁾, 中田 潤⁵⁾, 西田純幸⁴⁾,
坪井昭博⁵⁾, 尾路祐介¹⁾, 岡 芳弘³⁾, 熊ノ郷淳⁴⁾, 杉山治夫³⁾

大阪大学癌幹細胞制御学¹⁾, 大阪大学血液腫瘍内科²⁾, 大阪大学癌免疫学³⁾, 大阪大学呼吸器免疫アレルギー内科⁴⁾,
大阪大学癌ワクチン療法学⁵⁾

【緒言】血液悪性疾患に対する同種造血幹細胞移植(allo HSCT)において, GVHDを耐容範囲内にとどめた上で最大限のGVL効果を誘導することは極めて難しい。白血病における腫瘍抗原WT1に対する抗原特異的細胞傷害性T細胞(CTL)の誘導を機序としたWT1ペプチドワクチン療法はGVLのみを特異的に誘導することに役立つ可能性がある。そこで, 我々はallo HSCT後の再発あるいは非寛解期移植などの再発ハイリスク移植後の症例に対しWT1ペプチドワクチンの投与を行う第1相臨床試験を行い, 安全性を確認できたので, 引き続いて第II相試験を行うこととした。

【対象】HLA-A2402を有するWT1陽性血液悪性疾患症例で, 移植後再発患者あるいは非寛解期移植を行った患者を対象とした。

【方法】同種移植後より, 週1回のWT1ワクチン接種を施行した。免疫学的評価としてWT1235 tetramerを用いたWT1特異的細胞傷害性CD8T細胞の経時的測定を行った。

【結果および考察】現在まで25例の患者を登録し, WT1ワクチンの投与を行った。移植前にBOOPの既往を有した1例で肺の慢性GVHD(BOOP)が見られ, 再発に伴う免疫抑制剤急速減量に伴い発生したものではあるが, WT1ワクチンの関与を否定できなかったため, それ以後, 既往であっても非感染性の肺病変を有する患者は除外基準とすることとした。それ以外には大きな有害事象はなく, 移植後の患者であってもWT1ワクチンの投与は安全に可能であると考えられた。また, 免疫学的評価の結果, 免疫抑制剤投与下であっても, WT1特異的CTLの誘導が見られていることが明らかであった。非寛解期移植後の寛解維持例も少なからず見られており, 長期予後も含めまとめた結果を報告する。また, 蓄積した検体を用いた免疫学的解析を今後進める予定であり, 造血細胞移植後特有の免疫学的環境を考慮に入れ, どのような解析を行うのが有用であるかを考察, 議論してみたい。さらに, 今後施行予定のMHC classIIペプチドを併用した臨床試験についても紹介する。

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、他誌に投稿中ではないものに限る。

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. 本文一：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, μl, %, °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, μl, %, °Cなど）を、数字はアラビア文字を用いる。

5. 本文—3：略語一覧の作成【作成要項】

- ①略語はアルファベット順に並べる。
- ②略語の後に「:」を入れ、フルスペル（小文字）を記載する。例）LCT: lymphocyte cytotoxicity test
- ③商品名は略語一覧に入れない。

6. 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-ROMに保存し, CD-ROM 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内
 日本組織適合性学会誌 MHC 編集委員会
 編集長 湯沢 賢治
 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 250 words 以内 和文原著 英文 400 words 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

この編集後記を書いている今は、熊本地震から7日目です。これまでの震災とは異なり、震度7が連続して起こり、7日を経過しても地震活動がいつ終息するかを見通せない状況が続き、被災された方々を励ます言葉も見つかりません。

昨年10月に熊本大学小児外科・移植外科の猪股教授が会長として日本移植学会総会が熊本で開催され、私自身、熊本を訪れ、日本組織適合性学会理事長である西村泰治先生の教育講演を拝聴しました。その学会の際に熊本城に登りましたが、今その惨状を見ると、驚愕に耐えられません。本学会事務局の置かれている熊本大学の西村理事長の教室も甚大な被害を受け、事務局業務が当面、東京医科歯科大学の木村彰方先生の教室で行われるとのメールを昨日受けました。熊本、大分の方々が一日でも早く日常生活に戻れることを祈ります。

本学会誌MHCは、Web化され既に3年を経過しました。本号では、お知らせとワークショップレポート以外、総説が一編で原著論文なしというのは、極めて残念なことです。前編集委員長の高原史郎先生は、Web化に際して、「今後は学会員の皆様に今まで以上にモバイル端末からも頻繁にMHCをWeb上で閲覧していただき、学会員同士や関連する領域の研究者とのコミュニケーションを増やし、MHC研究のさらなる発展を実現させたい所存です。」と述べられました。この3年間は、発行の事務作業に悩殺していたのが実情でしたが、今後、この理念を実現すべく、検討を開始しました。良いアイデアがあれば編集委員会までお知らせください。

本学会会員にとって、悲しい知らせが続きました。本年1月25日にPaul I. Terasaki先生がご逝去され、あとを追うように2月24日には赤座達也先生がご逝去されました。ご冥福をお祈りし、両先生の本学会に対するご貢献に対し、追悼寄稿をお願いしており、MHCに掲載を予定しております。

湯沢賢治

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/index.html>

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

学会事務局からのお知らせ

平成23年度総会で承認されました通り、平成24年度より、学会事務の一部を外部委託することとなりました。

委託業務は以下の通りです。

入退会手続

届け出事項の変更手続き

年会費請求手続き

学会誌等の発送

平成24年5月より、ご自身で会員情報にアクセスするオンラインシステムの利用が可能となりました。各種申請については、日本組織適合性学会ホームページ URL : <http://jshi.umin.ac.jp/> より行えます。

詳しくは、学会ホームページ URL : <http://jshi.umin.ac.jp/> にアクセスの上、「学会事務局からのお知らせ」をご覧ください。

また、これらに関するお問い合わせ、届け出については、[学会事務支局 Email:jshi@nacos.com](mailto:jshi@nacos.com)にて取り扱います。

その他の学会業務に関するお問い合わせは、従来通り学会事務局にて受け付けます。

学会事務局

〒860-8556

熊本市中央区本荘1-1-1

熊本大学大学院生命科学研究部 免疫識別学分野内

電話：096-373-5313

FAX：096-373-5314

E-mail：jshijimu@kumamoto-u.ac.jp

事務支局

〒602-8048

京都市上京区下立売通東入ル

中西印刷株式会社 学会部内

日本組織適合性学会事務支局

電話：075-415-3662

FAX：075-415-3661

Email：jshi@nacos.com