

## 第23回 HLA-QC ワークショップレポート

# 第23回 HLA-QC ワークショップレポート —全体経過および QCWS 試料の総合結果—

高 陽淑<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社 近畿ブロック血液センター

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<sup>#</sup>

### 1. ワークショップの経過

第23回ワークショップの開催案内は、2019年1月に学会誌および公式サイトに掲載され、同時にQCWS事務局より前回の参加施設代表者宛にメールにより通知した。第23回の参加施設は86施設となり、昨年よりも5施設増加した(表1)。86施設の参加内容内訳は、DNA-QCに76施設、抗体-QCに67施設、日本移植学会連携クロスマッチを含むクロスマッチに47施設であった(重複参加を含む)。

第27回大会中に開催されたQCWS部会で決定した基本方針に従い、DNAおよび抗体サンプルの担当者が協議して選択したQCWSサンプルは、4月9日に参加施設宛に発送、QCWS結果入力シートは、解析の方針に対応して前年度からの改訂版を作成して参加施設代表宛にメールで配信した。

また、第22回から判定結果に適用されている新表記法についても、標準化委員会を中心に内容が見直され、「HLA推定アレルギー一覧表(JSHI)2019年度版」として更新された。

第23回QCWSの結果提出は5月31日を締め切りとし、6月中に事務局による提出データの内容確認、およびデータ集約作業を終了して、6月30日に解析用データ

を担当者宛に郵送した。

解析については、参加申し込み時に各施設が記入した臨床部門(輸血、臓器移植、造血幹細胞移植、その他)分類に従った部門別、また各施設が用いた検査方法別に、それぞれ比較検討されている。DNAおよび抗体の解析担当者は、8月中旬をめどに各自で詳細な解析を実施し、その後はリーダーを中心としたメールディスカッションを繰り返しながら9月上旬に、参加施設がダウンロードできる形式で公式サイトに解析結果を掲載した。

その後も、チーム内でのディスカッションを重ねて、よりポイントに絞った集会用データの作成に注力し、集会での発表につなげた。

今回の集会で協力求めたアンケート調査には、115名からの回答が得られたが、その分析結果は今後のQCWSに役立てることを目的に、部会内で共有している。また、今回は解析結果データ集(CD-R)の発送が諸般の事情から大会終了後になったが、次年度からは新たな方法を検討している。

### 2. QCWSのテーマおよび試料選定について

前述のとおりQCWS部会で決定した第23回QCWSテーマ(以下に示す)に従って、DNAおよび抗体ともにサンプル担当間で協議し決定している。

<sup>#</sup> 日本組織適合性学会 組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会員

中島文明<sup>1)</sup>、高 陽淑<sup>2)</sup>、石塚 敏<sup>3)</sup>、一戸辰夫<sup>4)</sup>、内田みゆき<sup>1)</sup>、奥平裕子<sup>5)</sup>、木村彰方<sup>6)</sup>、黒田ゆかり<sup>7)</sup>、小林孝彰<sup>8)</sup>、田中秀則<sup>9)</sup>、橋口裕樹<sup>10)</sup>、藤井明美<sup>11)</sup>、藤原孝記<sup>12)</sup>、宮崎 孔<sup>13)</sup>、湯沢賢治<sup>14)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所、<sup>2)</sup> 日本赤十字社 近畿ブロック血液センター、<sup>3)</sup> 東京女子医科大学 中央検査部 移植関連検査室、<sup>4)</sup> 広島大学 原爆放射線医学研究所 血液・腫瘍内科研究分野、<sup>5)</sup> ジェノダイブファーマ株式会社 ゲノム解析部門 HLA 検査課、<sup>6)</sup> 東京医科歯科大学 統合研究機構リサーチコアセンター、<sup>7)</sup> 日本赤十字社 九州ブロック血液センター、<sup>8)</sup> 愛知医科大学 医学部 外科学講座、<sup>9)</sup> 公益財団法人 HLA 研究所、<sup>10)</sup> 日本赤十字社 福岡赤十字病院、<sup>11)</sup> 県立広島病院 臨床研究検査科、<sup>12)</sup> 帝京大学 医学部附属病院 輸血部、<sup>13)</sup> 日本赤十字社 北海道ブロック血液センター、<sup>14)</sup> 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 23 回 HLA-QCWS 参加施設 (受付順)

1	横浜市立大学附属病院	輸血・細胞治療部	44	徳島大学病院	輸血・細胞治療部
2	金沢医科大学病院	北陸腎移植HLA検査センター	45	JCHO仙台病院	統括診療部臨床検査科診療部
3	獨協医科大学病院	臨床検査センター	46	NHO米子医療センター	臨床検査科
4	福島県立医科大学附属病院	輸血・移植免疫部	47	山形大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部
5	株式会社ベリタス	バイオサイエンス本部 技術グループ	48	三重大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部
6	沖縄県立中部病院	HLA検査室	49	株式会社エスアールエル	学術企画部
7	広島大学病院	診療支援部 遺伝子細胞療法部門	50	県立宮崎病院	臨床検査科
8	東邦大学医療センター大森病院	輸血部	51	京都府立医科大学附属病院	医療技術部 臨床検査課 腎移植センター
9	岐阜大学医学部附属病院	検査部	52	日本赤十字社東海北陸ブロック血液センター	品質部 検査三課
10	国立研究開発法人 国立循環器病研究センター	臨床検査部 輸血管理室	53	日本赤十字社 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
11	松江赤十字病院	検査部 輸血管理室	54	長崎大学病院	細胞療法部
12	株式会社ピー・エム・エル	第三検査部 ゲノム検査課	55	独立行政法人地域医療機能推進機構 中京病院	検査部
13	社会医療法人 北楡会 札幌北楡病院	臨床検査科	56	静岡国立総合病院	検査部
14	日本赤十字社近畿ブロック血液センター	検査部検査三課	57	株式会社リプロセル	メディカル部
15	岡山大学病院	輸血部	58	弘前大学病院	泌尿器科
16	岡山医療センター	臨床検査科 輸血管理室	59	株式会社 医学生物工学研究所	信頼性保証部 品質管理室
17	九州大学病院	遺伝子・細胞療法部	60	名古屋第二赤十字病院	組織適合検査室
18	熊本大学医学部附属病院	中央検査部	61	岩手医科大学附属病院	中央臨床検査部
19	北里大学病院	輸血部	62	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
20	大分県立病院	輸血部	63	公益財団法人 HLA研究所	検査課
21	公財) 鷹揚郷腎研究所弘前病院	HLA検査部	64	宮崎大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部
22	佐賀大学医学部附属病院	輸血部	65	ジェノタイプフォーラム株式会社	ゲノム解析部門HLA検査課
23	日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所	研究開発部 白血球チーム	66	関西医科大学附属病院	輸血・細胞療法部
24	北海道大学病院	検査・輸血部	67	湧永製薬株式会社	試薬・診断薬事業部
25	鹿児島大学病院	輸血・細胞治療部	68	国立病院機構 千葉東病院	臨床検査科
26	NPO法人 腎泌尿器疾患研究所		69	東京大学医学部附属病院	輸血部
27	余丁町クリニック		70	日本赤十字社九州ブロック血液センター	品質部 検査二課
28	自治医科大学附属病院	輸血・細胞移植部	71	がん・感染症センター 都立駒込病院	輸血・細胞治療科
29	東海大学医学部附属病院	臨床検査技術科輸血室	72	信州大学医学部附属病院	輸血部
30	大阪大学医学部附属病院	輸血部	73	筑波大学 医学医療系	医学医療系技術室
31	高知県・高知市病院企業団立高知医療センター	医療技術局	74	秋田大学医学部附属病院	腎疾患先端医療センター
32	帝京大学医学部附属病院	輸血・細胞治療センター	75	日本赤十字社東北ブロック血液センター	品質部検査一課
33	市立札幌病院	検査部検体検査課輸血係	76	日本赤十字社北海道ブロック血液センター	品質部検査一課二係
34	熊本赤十字病院	検査部	77	京都大学医学部附属病院	輸血細胞治療部
35	香川県立中央病院	中央検査部	78	関東甲信越ブロック血液センター	検査部 検査三課
36	愛媛県立衛生環境研究所	衛生研究課微生物試験室疫学情報科	79	日本赤十字社中四国ブロック血液センター	品質部検査一課
37	大阪急性期・総合医療センター	移植支援検査センター	80	湘南鎌倉総合病院	検査部
38	大阪市立大学医学部附属病院	輸血部	81	旭川医科大学病院	臨床検査・輸血部
39	東京医科大学八王子医療センター	中央検査部 微生物検査室	82	愛知医科大学医学部	外科学講座(腎移植外科)
40	亀田総合病院	臨床検査部	83	山形県立中央病院	輸血部
41	東京女子医科大学	中央検査部移植関連検査室	84	富山大学附属病院	検査・輸血細胞治療部
42	宇和島徳洲会病院	検査科	85	札幌医科大学附属病院	検査部
43	福岡赤十字病院	移植センター 移植細胞研究課	86	県立広島病院	臨床研究検査科

DNA のテーマは① DNA タイピングが適正な操作過程に基づき正確に行えること、②表記法に従いタイピング結果の表記を正しく記述できること、③ DNA タイピング結果に対応した HLA 抗原型を正確に読み替えること、の 3 点である。

これらのテーマに適合するサンプルとして、細胞バンクから購入済みの細胞から、使用履歴のないものを中心に、これまでの QCWS でターゲットにしなかったアレルを含む細胞、レアアレルを含まず、新表記法への理解を確認できるような細胞を意識して選択した。

サンプル調整については、例年通り、培養した選定細胞から抽出した DNA を 100 ng/μL に濃度調整したものを 100 μL (SSP 実施施設は 200 μL)、SSO 法を対象とした陰性コントロール (DNase free water) 50 μL、をそれぞれ参加施設に配付した。

一方、抗体のテーマは、①抗体検査が適正な操作過程に基づき正確に行えること、②エピトープを考慮した抗体特異性解析をめざすこと、③検査結果から導かれる総合判定結果を正しく報告できること、の 3 点である。

本学会からの依頼により日本赤十字社が保管管理している献血者由来の在庫検体から、以上のテーマに適合す

るサンプルとして、6 本選択し、このうち 1 本を仮想クロスマッチ対象サンプル、別の 1 本を移植学会連携全血クロスマッチ対象サンプルとして、抗体特異性同定検査対象とした (残りの 4 本については、抗体有無の検査のみ対象)。

サンプル調整は例年通り、血清処理後、6 種類のサンプルを参加施設に 1 mL 配布した。

クロスマッチについては、従来実施してきたダイレクトクロスマッチを廃止し、抗体-QC と DNA-QC の測定結果から正しく適合判定ができることをテーマとした、仮想クロスマッチのみとした。ただし、日本移植学会連携の全血クロスマッチについては、抗体-QC の対象サンプルから 1 本を共用して、これまでと同様に実施した。

### 3. 解析報告と担当者

今回の解析担当者は、DNA-QC では SSP 担当のみが新任でそれ以外は昨年からの継続担当としたが、抗体-QC では、抗体ルミネックス②③担当のみが継続で、以外は新任あるいは担当項目の交代により担当した (担当者一覧を次頁に示す)。

解析結果については、1. ワークショップの経過 で

述べたとおり、担当別に解析データを作成した後、グループ内でディスカッションを重ねて、公式サイトへの解析全データの掲載、QCWS 集会でのポイント報告、参加施設への解析結果データ集 (CD-R) 配付、本学会誌へのレポート投稿により公表している。解析の方針や詳細については、これらの内容を参照されたい。

【DNA タイピング結果解析】

- 試料説明, 総合解析  
九州ブロック血液センター 黒田ゆかり
- SSP 法  
沖縄県立中部病院 井上 新吾
- SSO ルミネックス法①<sup>※</sup>  
日本赤十字社中央血液研究所 内田みゆき
- SSO ルミネックス法②<sup>※</sup>  
関東甲信越ブロック血液センター 小林 洋紀
- SBT (Sanger, NGS) 法  
ジェノダイブファーマ 榎屋 安里  
奥平 裕子

【抗体検査結果解析】

- 試料説明, 総合解析  
東京女子医大 石塚 敏

- FCM (FlowPRA) 法  
九州大学病院 清島 久美
- 抗体ルミネックス法①<sup>#</sup>  
南和歌山医療センター 成海 仁在
- 抗体ルミネックス法②<sup>#</sup>  
帝京大学医学部附属病院 前島理恵子
- 抗体ルミネックス法③<sup>#</sup>  
東海大学医学部付属病院 小山 暁史
- その他の検査 (MPHA)  
近畿ブロック血液センター 高 陽淑
- 仮想クロスマッチ  
関東甲信越ブロック血液センター 宮城 徹
- 移植学会連携全血クロス  
福岡赤十字病院 橋口 裕樹

<sup>※</sup>SSO ルミネックス法 ① LABType, ② WAKFlow/Genosearch,

<sup>#</sup>抗体ルミネックス法 ① LABScreen, ② WAKFlow, ③ LIFECODES

4. QCWS 試料の総合結果

今回の QCWS 全サンプルの総合解析結果を表 2, 3 に

表 2 第23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	
<b>H3101</b>	A*26:03:01 <b>A26</b>	-	B*35:01:01:02 <b>B35</b>	B*51:01:01:01 <b>B51</b>	C*03:03:01:08 <b>Cw9</b>	C*14:02:01 <b>Cw14*</b>
<b>H3102</b>	A*24:02:01:01 <b>A24</b>	A*33:03:01:01 <b>A33</b>	B*40:01:02 <b>B60</b>	B*58:01:01:03 <b>B58</b>	C*03:02:02:05 <b>Cw10</b>	C*03:04:01 <b>Cw10</b>
<b>H3103</b>	A*11:01:01:01 <b>A11</b>	A*24:02:01:01 <b>A24</b>	B*15:07:01:01 <b>B62</b>	B*48:01:01:01 <b>B48</b>	C*01:02:01:01 <b>Cw1</b>	C*03:03:01:01 <b>Cw9</b>
<b>H3104</b>	A*02:01:01:01 <b>A2</b>	A*24:02:01:01 <b>A24</b>	B*13:01:01:01 <b>B13</b>	B*55:02:01:03 <b>B55</b>	C*01:02:01:01 <b>Cw1</b>	C*03:04:01 <b>Cw10</b>

  

HLA-Class II	HLA-DR		HLA-DQ		HLA-DP	
<b>H3101</b>	DRB1*13:07:01 DRB3*01:01:02 <b>DR13</b> <b>DR52</b>	DRB1*14:03:01 DRB3*02:02:01 <b>DR14</b> <b>DR52</b>	DQA1*05:05:01:02 DQB1*03:01:01 <b>DQ7</b>	DQA1*05:07 - <b>DQ7</b>	DPA1*01:03:01 DPB1*02:01:02 <b>DPw2</b>	- - <b>-</b>
<b>H3102</b>	DRB1*11:01:01 DRB3*02:02:01 <b>DR11</b> <b>DR52</b>	DRB1*13:02:01 DRB3*03:01:01 <b>DR13</b> <b>DR52</b>	DQA1*01:02:01:06 DQB1*03:01:01 <b>DQ7</b>	DQA1*05:05:01:07 DQB1*06:09:01 <b>DQ6</b>	DPA1*01:03:01 DPB1*05:01:01 <b>DPw5</b>	DPA1*02:01:01:02 DPB1*14:01:01 <b>DPw14*</b>
<b>H3103</b>	DRB1*04:03:01 DRB4*01:03:01 <b>DR4</b> <b>DR53</b>	DRB1*04:05:01 - <b>DR4</b> <b>-</b>	DQA1*03:01:01 DQB1*03:02:01 <b>DQ8</b>	DQA1*03:03:01:03 DQB1*04:01:01 <b>DQ4</b>	DPA1*01:03:01 DPB1*02:01:02 <b>DPw2</b>	DPA1*02:02:02 DPB1*02:02:01 <b>DPw2</b>
<b>H3104</b>	DRB1*12:02:01 DRB3*03:01:03 <b>DR12</b> <b>DR52</b>	DRB1*15:01:01 DRB5*01:01:01 <b>DR15</b> <b>DR51</b>	DQA1*01:02:01:01 DQB1*03:01:01 <b>DQ7</b>	DQA1*06:01:01:01 DQB1*06:02:01 <b>DQ6</b>	DPA1*01:03:01 DPB1*02:01:02 <b>DPw2</b>	DPA1*02:02:02 DPB1*05:01:01 <b>DPw5</b>

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23回 HLA-QC ワークショップレポート —試料説明 DNA-QC—

黒田ゆかり<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社 九州ブロック血液センター

### 1. 使用する試料について

日本組織適合性学会では、DNA-QCの試料として使用する細胞を市販品あるいはバンクに寄託された匿名化した細胞から入手しストックしている。また、その年に使用する細胞は、HLA-A, B, C, DRB1のタイピングデータ、前回のQCWSの状況やQCWS集会でのアンケート調査結果などから課題を設定し選択している。

### 2. 23rdDNA-QC 細胞選定時のポイント

今回の選定ポイントは次の4点である。①低頻度アレル：日常遭遇する可能性があるレベルの「稀なタイプを判定できること」を課題とした。②ハプロタイプ：日本人集団において典型的なハプロタイプを有するものを選択し、「ハプロタイプの確認」や「ハプロタイプの認識」を課題とした。H3102のA\*33:03-C\*03:02-B\*58:01-DRB1\*13:02は日本人集団で第22位で高い連鎖不平衡によりハプロタイプを形成しているため、判定後のハプロタイプチェックに有用である。ちなみに、A\*33:03とDRB1\*13:02はB\*44:03とも高い連鎖不平衡が見られることや、C\*03:02-B\*58:01の連鎖が崩れることは稀であることなども認識していただきたい。③HLA型への読

替え：遺伝子型の第1区域とHLA型が異なるタイプを有するものを選択しアソシエート抗原を含む「HLA型の知識」を課題とした。

以上は前回と同様のポイントであるが、今回は4点目として④新表記法の理解：表記が困難となると予想されるホモタイプや第1区域が同一で異なるアレルを含む細胞を選択し、表記を課題とした。

### 3. 配布サンプル

今回はDNA (100 ng/μL) 4サンプルに加え、陰性コントロールとしてDNase free waterを配布した。毎年サンプルのDNA濃度を提示し配布しているが、今回は使用サンプルのDNA濃度測定状況を報告いただいた。DNAの濃度や純度は検査に影響を及ぼすことや日常検査ではDNA濃度は不明であること等から、濃度測定の重要性を意識していただきたい。また、陰性コントロールはSSO用として配布し、21stQCWSからは測定データの提出を必須としている。陰性コントロールが反応している場合には、コンタミネーションによる誤判定に繋がる可能性があるため、検査環境や技術の見直しを行う必要がある。

# 第23回 HLA-QC ワークショップレポート —総合解析（表記含む） DNA-QC—

黒田ゆかり<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社 九州ブロック血液センター

## 1. 概要

DNA-QC 参加施設は、昨年より1施設増の75施設の参加であった。部門別の参加施設数は、輸血部門38施設（50.1%）、臓器部門52施設（69.3%）、造血部門35施設（46.6%）およびその他6施設（8.0%）で、これまでと同様に臓器部門の参加施設が多かった。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。

方法別参加状況では、SSO (Luminex) が全体の72.0%を占める54施設で使用されており、ここ数年はSSO (Luminex) が主流となっている。

## 2. 評価

### 1) 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齟齬がないことの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、59.5点と良好な結果を示した。詳細は、方法別解析を参考にさせていただきたい。

### 2) 結果表記の評価

学会の規定する表記法は2017年に改定され、今回のQCWSは新表記法「HLAタイピング結果のアレル表記法と結果報告の原則（2017年度版）」に基づき記入する2回目の年となった。①アンビギュイティ (ambiguity) の表記、②HLA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。旧表記法で結果を提出した施設が1施設あった。また、ambiguityが多い場合の結果表記で複数の表記ミスが見られたが、全施設の評価平均点は、39.3点と良好な結果を示した。

### 3) タイピング結果の評価点（総合評価）

総合評価点は、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98.8点と良好であった。

### 4) 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。B評価がのべ11施設、C評価が1施設あった。C評価の1施設では、Luminex (SSO) において反応不良が結果の誤報告に繋がっていた。A評価の施設においてもまだ改善の余地はあるため、配布CDや残余検体を用いて技術を再確認していただきたい。

## 3. 推定アレルと ambiguity について

H3101において稀なアレルDQA1\*05:07が検出された。しかし、SSOではambiguityに推定アレルのDQA1\*05:03が含まれていたため、記入する結果はDQA1\*05:03となった。回答が簡潔になった新表記法ではambiguityが存在するという認識が薄れがちであるが、このDQだけでなくいずれのローカスにおいてもambiguityの認識が必要である。また、実務者はambiguityと結果報告について正しい知識を持った上で臨床医に説明できることが重要である。

## 4. まとめ

### 1) サンプル選定から見た結果

サンプル選定時のポイント①の稀なアレルDRB1\*13:07については、誤判定した施設は無かった。ポイント②のハプロタイプについては、確認を必要とした誤判定は無かった。ポイント③のHLA型への読替え

では、DR1403 のアソシエート抗原が正しく読替えられていない施設が多かった。ポイント④では、表記法そのものの理解は進んでいるようであったが、解析ソフトやレポートの正しい理解が出来ていない施設が見られた。レポートの誤った理解からレアなタイプを報告していたが、頻度やハプロタイプのチェックでも改善できると思われた。

## 2) 報告結果から見えた課題

今回、A, B, C, DRB1 を対象とした場合の誤判定は、参加 75 施設中の 13 施設 17.3% (のべ 18 アレル) と多くの施設で見られた。今回のサンプルは、日本人集団において極めて一般的に見られるタイプでありサンプルの DNA 濃度も十分で純度も極めて高いことから、難易度の低いサンプルであったが、誤判定が多かったことは実務者に技術、判断力や知識が伴っていないことが示唆された。このような判定が日常的に行われているのであれば、

日常的に誤判定をしている可能性が高く、稀なアレル・新規アレルも見逃している可能性が大きいと思われる。

## 3) 誤判定をなくすために

誤判定は再検査や他法での検査で回避できる可能性は十分にある。しかし、安定した技術を持っていない場合や適切な判断が出来ない場合の再検査結果の信頼性は低く、通常使用している試薬でも適切な結果が出せない場合の不慣れな他法による検査は、技術面や判断面から誤判定をする可能性は高くなるだけでなく、2法での結果の相違の解釈はさらに困難になると考えられる。結果から再検査をすべきかどうかを含めた判断力は、安定した技術が大前提であり、さらに知識に基づくものであることを理解いただきたい。

また、QCWS 継続参加施設の技術は確実に向上していることから、継続した参加をお願いしたい。

# 第23回 HLA-QC ワークショップレポート —検査方法別解析 DNA タイピング SSP 法—

井上 新吾<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 沖縄県立中部病院 検査科

## 1. 概要

### 1) 参加状況

SSP法での参加施設は23施設で、昨年より2施設減少した。このうち21施設は臓器移植部門の施設であり、SSP法において臓器移植部門の参加が多い傾向は続いている。SSP法単独の参加は21施設であった。

### 2) 使用試薬

MicroSSP (One Lambda 社) の使用が多く (21 施設)、中でも MicroSSP JPN の使用が 19 施設と最も多かった。また JPN で検査したうえで、別キットで再検査した施設が 2 施設あった。

## 2. 解析方法

各施設から提出された反応パターンとそこから得られる判定結果、アレル表記について解析を行った。詳細なデータは学会公式サイトでの第23回 QC ワークショップ報告集を参照していただきたい。

## 3. 解析結果および考察

- 1) 判定には解析ソフトの使用が望ましいが、古いバージョンのカタログファイルやアレルフィルターを使用している施設が見られた。常に最新の設定で行うべきである。
- 2) 反応の不備による false negative が 1 施設あった。

この反応がみられたウェルは過去の QC ワークショップでも反応が弱く出ると報告されており、見落とされやすいと思われる。false positive も 2 施設で見られ、miss assign につながっていた。検査手技の見直し、機器の動作状況の確認など原因の究明が必要である。

- 3) 反応パターンを入力ミスと思われる施設や陰性コントロールのスコアを 1 でなく 0 (判定不能) と報告する施設があった。
- 4) 反応パターンに問題がなくても ambiguity を正しく理解しておらず、結果として miss assign をしている施設が多くみられた。解析ソフトで得られた結果の正しい解釈、解析ソフトの特性を知ることが大事である。

## 4. まとめ

SSP法の結果は概ね良好であった。ただ反応パターンが正しくても、解析ソフトの設定が最新でないと結果も異なってくる。ambiguity や推定アレルの意味をきちんと理解したうえで表記に注意されたい。

表記法が大きく変わってから今回で2回目の QC ワークショップであったが、低解像度の検査キットでは表記の仕方 (特に第1区域に ambiguity がある場合) に悩む施設がまだ多いように思われた。



# 第23回 HLA-QC ワークショップレポート —検査方法別解析 DNA タイピング SSO 法 (LABType) —

内田みゆき<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所

## 1. 概要

### 1) 参加状況

LABType の参加施設は、全 75 施設中 11 施設 (14.7%) であり、昨年度 (16.2%) とほぼ変わりなかった。

### 2) 試薬キットおよびローカス測定状況

各施設の試薬キット使用状況およびローカス測定状況についての詳細は、学会公式サイトの第23回 QC ワークショップ報告集をご参照いただきたい。

## 2. 解析方法

以下の5項目について解析を行った。

- ビーズカウント
- 陽性ビーズの平均値とばらつき
- 各施設の Pmin/Nmax 値の比率
- 陰性コントロール
- カットオフ値の変更状況

詳細は、学会公式サイトの第23回 QC ワークショップ報告集をご参照いただきたい。

## 3. 結果と考察

### 1) 昨年度からの改善点

- 記載ミスや転記ミスによる表記ミスはなかった。
- ビーズカウントエラーが出ている施設はなく、試薬が適切に使用され手技が安定していたことが示唆された。
- 無理なカットオフ変更はなく、反応性に大きな問題はなかった。
- LABType の結果だけで判定するのは不十分と判断し、確認のために他方法を用いたことをコメント欄

に記載した施設があり、他方法の併用およびコメント欄の活用がされていた。

昨年度と比較して、今年度は概ね良好な結果であった。

これら改善点については、来年度以降も継続していただきたい。

### 2) 各施設の測定データと判定結果

#### ①コンタミネーション

ここでは、蛍光値 500 以上を示したビーズがある陰性コントロールをコンタミネーションの疑いとする。陰性コントロールを測定していた 10 施設中 7 施設で、いずれかのローカスでコンタミネーションが疑われた。そのうち 2 施設では、コンタミネーションと思われる反応が特にひどく、高い蛍光値を示すビーズが数多く見受けられた。その 2 施設の陰性コントロールで、判定可能であったり同一バッチ内の他のサンプルに影響があるといったことはなかったが、同一バッチ内の結果は信頼性に欠ける。また、適切な環境および適切な操作の元でコンタミネーションが生じることは考えにくく、コンタミネーションが疑われた施設では改善の必要がある。

#### ②カットオフ変更

無理なカットオフ変更はなく、判定にカットオフ変更が必要な施設は少なかった。しかし、全ローカスでカットオフを変更していた施設があり、その施設の蛍光値は全体的に高めであった。この施設の操作には問題があり、改善の必要がある。

また、判定にカットオフ変更を必要としたすべてのサンプルで、再検査の情報はなかった。SSO は、1つのビーズの反応の違いで判定結果が変わる検査であることを常に認識し、カットオフ変更後の結果は参考とし、再検査でその信頼性を判断していただきたい。

#### 4. 今後の課題

---

- コンタミネーションをなくすため、検査環境や検査技術を見直す。
- 判定にカットオフ変更を必要とする場合、再検査を

してその反応性を再確認する。

#### 5. より良いデータを得るために

---

『手技を見直し検査技術を高める努力を欠かさない』  
ことを頭におき、日々検査をしていただきたい。

# 第23回 HLA-QC ワークショップレポート —検査方法別解析 DNA タイピング SSO 法 (WAKFlow, GenoSearch) —

小林 洋紀<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社 関東甲信越ブロック血液センター

## 1. 概要

### 1) 参加状況

全参加施設 75 施設中 SSO (Luminex) 法での参加施設は 54 施設 (72.0%) であった。このうち、試薬キットの WAKFlow の使用が 42 施設で昨年より 1 施設増加しており、GenoSearch の使用が 5 施設で昨年と同数であった。検査実施状況は、WAKFlow と GenoSearch 両方を実施した施設が 1 施設あり、SSO 法の他の試薬キットまたは SSP 法および SBT 法を併用していた施設は WAKFlow で 6 施設、GenoSearch で 2 施設であった。

### 2) 対象ローカス

WAKFlow を使用した 42 施設では、HLA-A および HLA-B は全施設で実施されており、次いで HLA-DRB1 が 39 施設、HLA-C が 38 施設、HLA-DQB1 が 25 施設、HLA-DPB1 が 9 施設で実施されており、HLA-DQA1 が 1 施設で実施されていた。

GenoSearch を使用した 5 施設では、全施設で HLA-A、-B、-C、-DRB1 が実施されていた。また、どちらの試薬キットも複数のロットが使用されていたが、明らかなロット間差は見られなかった。

### 3) DNA サンプルの使用状況

DNA 濃度の違いによる影響は見られなかったが、多くの施設は DNA 濃度の測定や調整を実施し、適正な濃度を意識していることが伺えた。

### 4) アンケート調査結果

反応性を良好にするために改善を実施されている施設が複数あった。また、各施設の基準では「自動判定できなければ再検査」や「カットオフ値を変更してもよいプローブ数を設定する」等様々だが、安易なカットオフ値変更は危険なので注意が必要である。

## 2. 解析項目

以下の項目について解析を行った。

- 1) 陰性コントロールの蛍光値 (平均とばらつき)
- 2) 陽性コントロールビーズの蛍光値 (平均とばらつき)
- 3) ビーズカウント (平均とばらつき)
- 4) P/N 比 (Pmin/Nmax)

詳細は、学会公式サイトでの第23回 QC ワークショップ報告集をご参照いただきたい。

## 3. 解析結果

### 1) 陰性コントロールの蛍光値 (平均とばらつき)

コンタミネーションが疑われる反応が 2 施設で見られ、1 施設においては判定が可能な程強い反応であった。このような反応を無視することは誤判定に繋がる危険性があるため、再検査を実施し必要に応じて使用器具や作業環境・手順の見直しを推奨する。また、SSO 法では陰性コントロールのデータ提出が必須となっているので、データ提出されていない施設においては次回からの提出を願いたい。

### 2) 陽性コントロールビーズの蛍光値 (平均とばらつき)

蛍光値のばらつきによって %CV が高値を示した施設が複数見られた。このような不安定な反応での判定は危険であり、実際に誤判定の施設があった。操作等手技的な要因の可能性が考えられるため、PCR 手順やハイブリ手順等を確認することを推奨する。

### 3) ビーズカウント (平均とばらつき)

平均値や %CV では特に問題ないように見えるが、ビーズカウントが非常に少ないまま判定されている施設があった。全てのビーズカウントが 20 以下で「Sample Empty」のエラーメッセージが出ていたはずだが再検査

はされていなかった。データの正確性や前サンプルからの持込が影響する危険性があるため判定時の確認内容やダブルチェック等を検討することを推奨する。

#### 4) P/N 比（陽性の最低値と陰性の最高値の比）

反応のメリハリが少なく、陽性と陰性の差が不明瞭の場合に P/N 比が低くなる。今回、アンケート結果から複数の施設がカットオフ値を変更してもよいプローブ数を設定していたが、まずは安定した技術の習得が必要であり、安易なカットオフ値変更は誤判定に繋がり危険である。

#### 4. まとめ

今回、反応不良による誤判定の原因のひとつとして D#17 プローブ (DRB1) のクロス反応が疑われた。特に「FLEXMAP 3D」を使用している施設では蛍光値が高く出るため、クロス反応も強く反応した可能性がある。21st・22nd の QCWS で、D#37TG プローブ (DRB1) のクロス反応が報告されたが今回はほぼ見られなかった。

メーカーから試薬の改良を行った情報を得ているためその影響と思われた。

誤判定は、複数の要因が影響する場合もあり、装置および試薬の種類や管理状態、検査工程や反応性の確認、再検査の有無等から総合的に判断する必要がある。場合によっては、各メーカーへの確認や相談することも必要と思われた。なお、GenoSearch においては昨年と同じ参加施設と推測されるが、特に問題となる反応等は見られず、DNA 濃度も同程度 (20 ng/μL) で揃っており、良好な結果であった。

QCWS で配布される DNA サンプルは、濃度も十分に純度も高いことから適正な試薬の使用および試験操作であれば誤判定や判定に苦慮するような反応が検出されることは極めて少ないと考えられる。GenoSearch では問題となる反応は検出されず、WAKFlow で問題となる反応が検出される要因は、試薬性能では無く、実務者の熟練度や施設の環境・基準等による影響も考えられた。

# 第23回 HLA-QC ワークショップレポート —検査方法別解析 DNA タイピング SBT 法—

奥平 裕子<sup>1)</sup>, 榊屋 安里<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> ジェノダイブファーマ株式会社

## 1. 概要

① Sanger 法参加施設は3施設であり、使用キットは2施設が Secore, 1施設が AlleleSEQR を用いていた。解析ソフトは Secore を使用した2施設は uType7.1 を, AlleleSEQR を使用した1施設は Assign-SBT v4.7 を用いていた。検査対象領域は, Secore を使用した2施設では, Class II については両施設とも同様に HLA-DRB1, -DQB1 で exon 2, 3 を, -DPB1 で exon 2, 3, 4 を対象としていた一方, Class I については施設により対象領域が異なっており, HLA-A では exon 2, 3, 4 および exon 1, 2, 3, 4, 5 を, -B では exon 1, 2, 3, 4 および exon 1, 2, 3, 4, 5 を, -C では exon 2, 3, 4, 5, 6 および exon 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 を対象としていた。AlleleSEQR を使用した施設では, Class I については exon 2, 3, 4 を, HLA-DRB1, -DPB1 は exon 2 を, -DQB1 は exon 2, 3 を対象領域としていた。DNA 使用濃度は, 3施設とも各キットの推奨濃度となっていた。

② NGS 法参加施設は4施設であり、使用キットは2施設が All-Type NGS, 2施設は ScisGo HLA であった。解析ソフトは AllType NGS を使用した2施設は TypeStreamVisual を, ScisGo HLA を使用した施設は Gems-HLA を用いていた。検査対象領域は, AllType NGS を使用した2施設では Class I, HLA-DQA1, -DPA1 については, intron を含む 5' UTR から 3' UTR 全領域を, その他の HLA-DRB1, -DRB3/4/5, -DQB1, -DPB1 については exon 2 から 3' UTR を対象としていた。ScisGo HLA を使用した2施設では Class I, HLA-DRB1, -DRB3/4/5, -DQB1, -DPB1, -DQA1 については intron を含ま

ない全ての exon を, HLA-DPA1 のみ exon 2, 3, 4 を対象としていた。DNA 使用濃度および使用量は, 同じキットを使用した施設間で異なっており, キットの推奨範囲外となる DNA 量を使用している施設があった。

## 2. 解析結果と考察

### 1) ミスアサイン (表記ミス)

- ① Sanger 法では, フェーズアンビギュイティの表記ミスが1施設で見られた。
- ② NGS 法では, アンビギュイティが無く第2区域まで判定されたアレルを, 第1区域までしか記入していない施設があった。原因として, 該当アレルが推定アレル一覧表に含まれていないことが考えられるが, 表記法ではこのような場合, 第2区域までを結果として記すこととなっている。

### 2) Sanger 法補助試薬について

補助試薬による測定データの解析で, キット本来の反応とは異なる結果が得られた施設があった。補助試薬についての理解, およびプロトコルの再確認が必要である。

### 3) 測定データの QC

- ① Sanger 法では, HLA-DPB1 の一部検体において Quality Value が低値となる施設があった。この施設においては, HLA-C の1検体の Noise/Signal 比においても多施設よりやや高値を示し, 該当データの波形にはノイズが混在していることから, 測定サンプルの調整・精製方法の見直しが必要と考えられる。
- ② NGS 法では, 4施設ともすべての結果において Quality Scores は Q20 以上が保たれていた。また全施設の全検体で, 平均リードデプスは 100 を越え,

カバー率は99%以上が保たれ、アレルバランスは0.3以上となっていたことより、解析対象領域を十分な厚みを持っての確にカバーする良好なデータが得られたことが確認された。カバー率においては結果シートへの表記がない施設があったが、カバー率はNGS法のQCにおいて重要な指標の一つであるため、解析ソフトやフリープログラムを用いたチェックを推奨する。

### 3. まとめ

Sanger法、NGS法、ともに表記ミスのある施設が見られたが、どちらも検査の反応性に問題はなく判定結果としては誤りとは言えないものであった。Sanger法では、補助試薬の理解やサンプル調整方法の見直しのためにプロトコルの再確認が重要であると考えられる。NGS法では、検査の精度を保つために、タイピング結果だけでなく検査データの各種クオリティチェックが重要であると考えられる。

# 第23回 HLA-QC ワークショップレポート —試料説明 抗体 QC—

石塚 敏<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京女子医科大学 中央検査部 移植関連検査室

### 1. 使用した抗体 QC サンプルについて

参加施設に配布した抗体 QC サンプルは、日本組織適合性学会から日本赤十字社へ譲渡依頼に承諾して頂き保管されている抗血清を対象とした。

その選定要件は、日本人に通常検出される抗体であること、選定した一部の試料には HLA-C 座に対する抗体、IgM 性抗体、HLA 以外の非特異的反応を示す場合がある抗血清を選定した。また、今回は選択基準に過去の QCWS で使用履歴があるサンプルを含め、抗血清の特異性や在庫量などを考慮し担当者間で選定を行った。

### 2. 配布サンプル処理について

- 1) 血漿 50 mL にトロンビン 500  $\mu$ L 加えて転倒混和後、静置 (4° C/1 h)。
- 2) 竹串でフィブリン塊を取り除く。
- 3) 2) にトロンビン (1,000 U/mL) 250  $\mu$ L, 窒化ソーダ (10%) 500  $\mu$ L, フェノール・レッド (1%) 500  $\mu$ L を加えた。
- 4) 転倒混和後、静置した (4° C/Over night)。
- 5) 竹串でフィブリン塊を壊したのちに遠心した (2,000 g/5 min)。
- 6) フィルター (ミリポア : Millex-GV SLGV 033 RS PVDF 0.22  $\mu$ m) と 10 mL シリンジを使用して濾過後、

サンプルチューブに分注して発送した。

### 3. 抗体 QC サンプル選定時のポイント

1) 抗体スクリーニングは、昨年度よりもサンプル数を増やし 6 サンプルとし、正確な判定が出来るかに重点をおいた。特に High Background になり得るサンプル (SH3103) や Class I・Class II の判定が分かれるサンプル (SH3106) を選定した。

2) 抗体特異性同定は、昨年度よりもサンプル数を減らし 2 サンプルとし、エピトープの推定などより詳細な解析を目指した (SH3101・SH3102)。

3) 仮想クロスマッチは、DNA-QC (H3101) と抗体 QC (SH3101) をサンプルとして選定し、昨年同様 Class II に焦点をあて HLA-DQ・DP 座など特にタイピング未実施施設での反応性の予測やタイピング実施施設における特異性同定結果からの予測解析を目指した。

4) 全血クロスマッチ (日本移植学会連携) は、日本移植学会から配布された ACD 液添加のヒト血液と、抗体 QC (SH3102) を抗血清サンプルとし共に過去の QCWS で使用履歴があるサンプルを選定し過去の解析結果との比較や精度解析を実施した。

参加施設には、全データを収納した配付 CD や学会公式サイトに掲載されている「第23回 QC ワークショップ報告集」と合わせて参照して頂きたい。

# 第23回 HLA-QC ワークショップレポート —総合解析 抗体 QC—

石塚 敏<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 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

### 1) 参加施設の内訳

今年度の抗体 QC は、施設情報非公開であった 2 施設を除外して病院・大学に属する施設 48 施設、血液センター 9 施設、検査センター・その他 8 施設であり、全体の 73.8% が病院・大学に属する施設で増加傾向にあった。

部門別では、施設情報非公開であった 2 施設を除外して輸血関連部門 36 施設、臓器移植部門 45 施設、造血細胞移植部門 32 施設、その他 4 施設（すべての部門で重複あり）の 67 施設であった。また、前回からの継続参加は 59 施設（88.1%）であり、多くの施設が継続的に参加している状況であった。

### 2) 抗体スクリーニングおよび抗体特異性同定試薬の内訳

抗体スクリーニング（抗体有無）は、FlowPRA Screening 24 施設、LABScreenMixed・Multi 25 施設、LABScreen PRA 11 施設、WAKFlow Screen 18 施設、WAKFlow MR 15 施設、LIFECODES Screen 6 施設の参加であった（施設によって重複あり）。

抗体特異性同定は、LABScreen Single antigen (+Supplement) 47 施設、WAKFlow HR 19 施設、LIFECODES LSA 9 施設の参加であった（施設によって重複あり）。

## 2. 評価基準

日本人の HLA 遺伝子頻度 0.1% 以上の HLA 抗原について各施設から提出された結果が共通になるような割合を基準値と定義し現段階では 0.67 (2/3) とした。

基準値以上の構成比率を示す判定スコアを Consensus Result とし採点基準は、判定 Score が Consensus Result と一致すれば 1 点、Consensus Result 「8」の場合に「4」

であれば 0.5 点とした。

抗体スクリーニングおよび抗体特異性同定評価は、それぞれ共に評価 A（評価点範囲 80-100）・評価 B（評価点範囲 40-80）・評価 C（評価点範囲 0-40）とした。

## 3. 参加施設の集計結果

### 1) 抗体スクリーニング（抗体有無）

全部門での抗体スクリーニング（抗体有無）結果の一致率は、6 サンプル中 4 サンプル（SH3101・SH3102・SH3104・SH3105）で全体の一致率 100% であった。全体の一致率が 100% にならなかった SH3103 では、HLA Class II において 63 施設中 16 施設が判定 Score1 であり全体の一致率 75% であった。また、SH3106 では、HLA Class I において 67 施設中 1 施設のみ判定 Score1 であり全体の一致率 99%、HLA Class II において 63 施設中 8 施設が判定 Score8・1 施設のみ判定 Score4 であり全体の一致率 78% であった。

### 2) 抗体特異性同定

全部門での抗原別による抗体特異性同定結果の一致率は、全体にほぼ良好であったと思われるが一部の抗体で Consensus Result が保留（0.67 以下）になった。

Consensus Result が保留になった SH3101 では、HLA Class I B39 において 49 施設中 30 施設が判定 Score1 であり全体の一致率 61%、HLA Class II DR14 において 47 施設中 24 施設が判定 Score8・1 施設が判定 Score4 であり全体の一致率 53% であった。また、SH3102 では、HLA Class I B60 において 50 施設中 28 施設が判定 Score8 であり全体の一致率 56%、B61 において 50 施設中 30 施設が判定 Score8 であり全体の一致率 60%、Cw10 において 49 施設中 28 施設が判定 Score8・1 施設が判定 Score4 であり全体の一致率 57% であった。



## 4. 評価結果

### 1) 抗体スクリーニング（抗体有無）

抗体スクリーニングは、67 施設すべてが評価 A (100%) であり、その内 38 施設が評価点 100 であった。

### 2) 抗体特異性同定

抗体特異性同定は、50 施設中評価 A が 49 施設 (98%) であり、そのうち 3 施設が評価点 100、評価 B が 1 施設 (2%) であった。

## 5. まとめ

抗体スクリーニングは、抗 HLA 抗体の有無を確認するための検査法であり、全施設が一致率 100% になるべき項目であろうと思われる。しかし、一致率が 100% にならなかった SH3103 は、High Background になり得るサンプルとして、SH3106 は Class I・Class II の判定が分かれるサンプルとして選定したものであった。

今年度の集計結果から特に FlowPRA・LABScreen・WAKFlow の施設は、前処理を含め改めて QCWS 参考プロトコル集を参照して頂きたい。

抗体特異性同定は、全体の一致率においてほぼ良好であったと思われるが一部の抗体で、Consensus Result が保留になった。その要因としては、LABScreen Single antigen・WAKFlow HR・LIFECODES LSA の 3 試薬において、同一抗原でも含まれる allele が試薬によって異なること、同一 allele であっても反応性が異なることなどが Consensus Result に影響し、全体の一致率を低下させた要因の一つであると思われる。

来年度に向けての確認事項として方法別解析結果報告

に関する事例として、今年度 4 回再検したすべてのデータを提出された施設があった。全体の統計的な解析をするにあたり最終の確定データが分かるように提出して頂くことをお願いしたい。

また、例年数施設から IgM 性抗体のデータ提出があるが、解析可能な N 数に満たず QCWS 集会では報告できない状況であったため、今後は解析対象としないこととする。

## 6. 今後の課題

抗体スクリーニングでは、抗 HLA 抗体の有無を確認するための検査法であるため全部門における統一化した Cut-off 値の設定が急務であろうと思われた。また、抗体特異性同定試薬のみで抗体スクリーニング判定をされていた施設、抗体特異性同定試薬と抗体スクリーニング試薬の 2 法でスクリーニング判定をされていた施設があった。QCWS 部会としては、QCWS 参考プロトコル集に従って頂き、抗体スクリーニングと抗体特異性同定用の試薬をそれぞれ選択して結果報告をお願いしたい。

抗体特異性同定は、検査試薬に依存しない同一抗原でも allele が異なる場合の統一化した評価基準を定めることが急務であろうと思われた。

現在の評価基準についてもすべての HLA 遺伝子座に対して評価するのではなく、日常検査と同様に実施するというルールもあることから現在評価基準の見直しを検討中である。

参加施設には、全データを収納した配付 CD や学会公式サイトに掲載されている「第 23 回 QC ワークショップ報告集」と合わせて参照して頂きたい。

# 第23回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 抗体検査 FCM (FlowPRA) 法—

清島 久美<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>九州大学病院 遺伝子・細胞療法部

### 1. 概要

参加施設は FlowPRA Screening Class I が 24 施設、Class II が 23 施設であった。参加部門の内訳は、臓器関連のみ 13 施設、輸血・臓器・造血関連が 4 施設、臓器・造血関連が 3 施設、輸血関連のみが 3 施設、輸血・臓器・造血・その他が 1 施設であった。Screening 検査と他法を併用している施設については、FlowPRA Screening 検査の他に抗体特異性同定検査を行っている施設が 14 施設、Screening 検査のみ行っている施設が 10 施設であった。測定機器として、Beckman Coulter を使用している施設が 14 施設、Becton, Dickinson and Company を使用している施設が 10 施設であった。血清処理は、遠心・凍結融解・非特異反応吸着処理を行っている施設が 6 施設、遠心・凍結融解を行っている施設が 6 施設、遠心のみを行っている施設が 5 施設、その他の処理を行なっている施設が 7 施設であった。

判定基準にヒストグラムを使用している施設が 17 施設、ヒストグラムと %PRA を使用している施設が 7 施設であった。Class I, Class II 抗体の試薬ロットは全施設で共通していた。

### 2. 解析方法

各施設から提出して頂いた FCS ファイル、%PRA、判定スコアについて解析を行った。再解析には FlowJo™ を使用し、QCWS 参考プロトコル抗体検査 Flow PRA に基づいて解析を行った。

### 3. 解析結果

今回の QCWS サンプルは、Class I 抗体は全て陽性で、Class II 抗体は SH3101, SH3102, SH3103, SH3104,

SH3105 は陽性、SH3106 は陰性を示した。

各施設から報告して頂いた判定スコアでは、Class I 抗体は全施設陽性の判定で一致率 100% であった。一方、Class II 抗体は SH3101, SH3102, SH3104 は全施設陽性の判定で一致率は 100% であったが、SH3103 は 1 施設判定保留があり、一致率 95.7%、SH3106 は陰性判定 16 施設、判定保留 1 施設、陽性判定 6 施設であり、一致率 69.6% となり判定の乖離が見られた。

Class II 抗体 SH3103 を判定保留とされた施設は機器設定不良が原因と考えられた。

Class II 抗体 SH3106 を陽性と判断された施設の中には僅かな右方シフトに加えて小さなピークが確認された施設もあった。

Class II 抗体 SH3106 はシングルピークで僅かに右方シフトが見られるサンプルであり、検出結果が分かることも想定された難しいサンプルであった。その為、Compensation などの機器設定不良や、不十分な洗浄操作、マーカー設定が不適切であることなどを要因として、%PRA が上がり陽性と判断したことにより、判定結果の乖離が生じたものと考えられた。

その他の問題点として、X 軸 Y 軸のスケール設定が不適切な施設、結果や必要項目の記載に不備のある施設があった。

### 4. まとめ

今回、機器設定に問題がある施設が数施設あった。測定毎に機器の微調整が必要であるので再度確認して頂きたい。また、例年同様、%PRA において施設間差を認めた。control beads, negative control serum を確認しながら検体毎に機器設定の微調整、マーカーを再設定することで施設間差はある程度解消されるのではないかと考えら

れた。血清処理法や、測定機器名、具体的な判定基準、陽性率などの記入漏れや記載ミスのある施設が見受けられた。記入後の再確認を行なって頂きたい。また、記入しやすいようなデータシートの改善が必要と考える。学

会公式サイトの QCWS 参考プロトコルを参照の上、操作手順、機器設定などを再度確認し、必要な際には試薬メーカーや機器メーカーに相談することが必要だと考える。

# 第23回 HLA-QC ワークショップレポート —検査方法別解析 抗体検査 ルミネックス (WAKFlow) 法—

前島理恵子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 帝京大学医学部附属病院 輸血・細胞治療センター

### 1. はじめに

抗体 QC 参加施設 67 施設のうち WAKFlow を実施した施設は 27 施設 (40.2%) であり、スクリーニング試薬 (SCR) が 18 施設、MR Class I が 15 施設、MR Class II が 7 施設、抗体同定用試薬 (HR) Class I は 20 施設、HR Class II は 19 施設であった。SCR もしくは MR でスクリーニング検査を行っている 26 施設中、抗体特異性同定試薬として HR のみを使用している施設は 2 施設であり、17 施設は HR+ 他法で抗体特異性の解析を行っていた。

### 2. 解析内容

施設間におけるコントロールビーズの Median 値の比較、各ビーズの反応に施設間差がないかを検証した。SCR と MR では、Median と Index、HR では Median と Calmed を比較して、判定結果に与える影響がないかを検証した。各検査法によるデフォルト判定の結果と総合判定の結果を比較して、判定結果を正しく総合判定に反映されているかを検証した。

### 3. 解析結果

#### 1) WAKlow スクリーニング試薬 (SCR)

①バックグラウンドビーズ (BB)、陽性コントロールビーズ (PB) の施設間差

S45 の施設において、PB の Median 値が 10,000 未満となるサンプルがあった。また、再検が推奨される BB の Median 値が 500 以上の施設があった。

②各ビーズの反応

異なる Lot を使用した S35 はすべての検体で Class II の Median が高値であり、SH3106 のデフォルト判定も

陽性となっていた。

Median と Index を比較すると、Median で  $\pm 2$  SD を外れても Index への影響はほとんどなかった。

③抗体有無の判定結果

デフォルト判定で Class II の SH3103 と SH3106 で結果が分かれた。SH3103 は、デフォルト判定で陰性と判定された 5 施設のうち 4 施設が総合判定 (8)、陽性と判定された施設のうち 4 施設が (1) と判定していた。

#### 2) WAKFlow MR (Class I Class II)

①バックグラウンドビーズ (BB)、陽性コントロールビーズ (PB) の施設間差

再検が推奨される、BB<500、PB>8,000 の施設が存在した。

②各ビーズの反応

Class II では 2 種類の Lot が使用されていたが、Lot による施設間差はなかった。Median が低値傾向もしくは高値傾向の施設もあるが、Index で判定すると判定に大きな差はなかった。S09 が SH3102 以外の検体で Median が低値傾向を示しており、SH3104 では、すべてのビーズの Median 値が 300 以下となり、このためカットオフが 13.30 と高値であった。カットオフを変更して判定しているが、このような場合には洗浄不足や 2 次抗体の劣化が疑われるため再検することが望ましい。

③抗体有無の判定結果

MR I のデフォルト判定はすべての施設で陽性となり、総合判定の結果(8)とも一致していた。MR II ではデフォルト判定と総合判定の結果が異なる施設が存在したが、他法の結果を反映させたことが考えられる。SH3103 で他法を行っている施設は総合判定 (8) としていたが、MR のみを行っている S23 は総合判定 (1) としていた。

### 3) WAKFlow 抗体同定用試薬：HR (Class I Class II)

①バックグラウンドビーズ (BB), 陽性コントロールビーズ (PB) の施設間差

再検が推奨される, PB>8,000 の施設が存在した。

②各ビーズの反応

• Median と Calmed の比較

Class II は 2 種類の Lot が使用されており, X0C を使用している施設に ± 2 SD を外れる傾向が見られた。Median, Calmed とともに, S35 は高値傾向であり, S07 は低値傾向であった。

• Calmed 値 1,000 以上の反応

Calmed 値 1,000 以上を陽性とする, Calmed 値 3,000 以下の弱い反応では, 施設により陽性と陰性に分かれるアレルが存在した。

③抗体有無の判定結果

• LS-SA との比較

LS-SA の nMFI が 1,000 以上, HR の Calmed 値が 1,000 以上を陽性として比較し, 結果が乖離するアレルの抗体特異性の有無について解析すると, Calmed 値 1,000 以下で総合判定 (8), Calmed 値 1,000 以上で総合判定 (1) としている施設が存在し, 総合判定に HR の結果を反映させていない施設が多数あった。抗体特異性判定用試薬として HR のみ行っている施設は他の施設と判定結果が異なる抗体特異性があり, 使用する試薬により判定が異なる可能性が示唆された。

• エピトープ解析

総合判定 (8) と判定した施設が 2/3 以上の抗体特異性について, Calmed の値と比較してエピトープ解析を

行ったが, 総合判定の結果が多施設の実施する LS-SA の結果に偏るため, Calmed では類推できないエピトープが存在した。HR の結果よりエピトープを類推すると, Calmed が低くても陽性としたほうが良いと考えられる抗体特異性が存在した。

### 4. まとめ

コントロールビーズが再検基準を満たしていない施設, Sample Empty でも再検していない施設が存在したが, QCWS 参考プロトコルを参照して必要に応じて再検を行い, 正しく測定したデータを提出することが正確な検査結果を得ることにつながるため, 正確なデータの提出が必要である。血清処理法や判定基準について, 記入漏れや記載ミスと考えられる施設があった。各施設で入力を確認するほか, データシートの改善が必要と考える。抗体の有無について, Class II の SH3103 と SH3106 で判定が分かれた。反応の弱い抗体の場合, 操作ミスや試薬の劣化により判定が陰性化する可能性がある。ビーズの Median を確認し, 偽陰性が疑われる場合は, 再検査や血清処理, もしくは他試薬による検査が必要である。抗体特異性について, 総合判定の一致率と Calmed 値に乖離が生じるため, エピトープを類推するのが困難であった。エピトープを考慮する場合, 複数のアミノ酸を認識するときには Calmed 値が 1,000 以下であっても抗体特異性と判断したほうが安全な輸血・移植が行えると考えられる。ただし, 精製ビーズによる非特異反応も考えられ, ドナー候補の幅が狭くなる場合にはインタクトセルとの反応を見ることも重要である。

## 第23回 HLA-QC ワークショップレポート —検査方法別解析 抗体検査 ルミネックス (LABScreen) 法—

成海 仁在<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 国立病院機構 南和歌山医療センター 臨床検査科

### 1. 概要

抗体検査部門の参加施設 67 施設中 51 施設が LABScreen を使用した。部門別では輸血関連が 28 施設、臓器移植が 35 施設、造血幹細胞移植は 25 施設、その他の部門での参加が 2 施設であった。(部門重複を含む)

使用試薬の内訳はスクリーニング試薬では LABScreen Mixed は 25 施設、LABScreen Multi が 1 施設、LABScreen PRA は 11 施設 (Class I のみ実施が 1 施設) であった。特異性同定検査試薬では LABScreen Single Antigen が 47 施設 (Class I のみ実施が 2 施設)、LABScreen Single Antigen Supplement は 21 施設 (Class I のみ実施が 1 施設) であった。

### 2. 解析結果

#### 1) 血清前処理方法

サンプルの血清前処理方法は各施設により未処理も含め、多種多様であった。QCWS 参考プロトコルでは凍結融解、超遠心が基本的な処理としてあり、Negative control 値 (NC 値) が高い場合には非特異物質吸着処理、Positive control 値 (PC 値) が低い場合には DTT 処理、プロゾーン現象が疑われる場合には EDTA 添加が推奨される。未実施の施設は改めて、参考にしていただきたい。

#### 2) LABScreen Mixed, Multi

##### ①陰性コントロール血清

陰性コントロール血清の NC 値、PC 値はメーカー推奨の再検基準を満たさない施設はなく、良好な結果であった。

②各検体の Negative control Beads, positive control Beads  
各検体の Negative control Beads, positive control Beads

の値は施設間差が大きかった。サンプル 6 本中で SH3103 は High Back Ground の検体であるため、NC 値が高い傾向であった。また SH3103 においては、25 施設中 6 施設がメーカー推奨の再検基準を満たしていなかったが、その内 3 施設は再検後の測定結果を提出していた。PC 値については再検基準内の測定結果であった。

##### ③各検体の測定結果

各サンプルの抗体有無一致率は SH3101, SH3102, SH3104, SH3105 で Class I, Class II とともに 100% であった。High Back Ground であった SH3103 では Class I は 100% であったが、Class II は 56% (陽性一致率 44%) の結果となった。NC 値が高値になると判定に使用される NBG Ratio に影響を与えることや  $10 \leq \text{NBG Ratio}$  の範囲は各施設が設定したカットオフにより最終判定に影響を与えることが結果より推察された。各施設のカットオフの影響については、NBG Ratio が低値となる抗体を含んだ SH3106 の Class II でも抗体有無一致率 (68%) に影響した。

#### 3) LABScreen PRA

##### ①陰性コントロール血清

陰性コントロール血清の NC 値、PC 値はメーカー推奨の再検基準を満たさない施設はなく、良好な結果であったが、陰性コントロール血清を使用しなかった施設もあった。QCWS ではメーカー純正の陰性コントロールの使用を推奨しているため、使用をお願いしたい。

②各検体の各検体の Negative control Beads, positive control Beads

各検体の Negative control Beads, positive control Beads の値は施設間差が大きかった。サンプル 6 本中で SH3103 は High Back Ground の検体であるため、NC 値が高い傾向であった。

### ③各検体の測定結果

各サンプルの抗体有無一致率はSH3101, SH3102, SH3104, SH3105においてClass I, Class IIともに100%であった。High Back GroundであったSH3103ではClass Iは100%であったが、Class IIは80%の結果となったSH3106のClass I（抗体有無一致率91%）では1施設のみが陰性の結果であった。該当施設からの詳細では測定テンプレートの不一致が原因であることが判明した。またSH3106のClass II（抗体有無一致率90%）は1施設のみ陰性であったが、総合判定にLABScreen Single Antigenの測定を踏まえた結果であることが報告された。

## 4) LABScreen Single Antigen, Supplement

### ①陰性コントロール血清

陰性コントロール血清のNC値, PC値はメーカー推奨の再検基準を満たさない施設はなく、良好な結果であったが、陰性コントロール血清を使用しなかった施設があった。陰性コントロールを使用せずにOLINSのデータでサンプルを補正するとうまく実測定に適用しない場合もあるので、メーカー純正の陰性コントロールの使用をお願いしたい。

### ②各検体のNegative control serum, positive control serum

各検体のNegative control Beads, positive control Beadsの値は施設間差が大きかったが、メーカー推奨の再検基

準を満たさない施設はなかった。

### ③各検体の測定結果

各サンプルの抗体有無一致率はSH3101, SH3102においてClass I, Class IIともに100%であった。1施設のみ測定テンプレートファイルの選択間違いならびにデータファイル名の付与間違いがあったため、解析より測定データを除外した。

## 3. まとめ

LABScreenは抗体QC参加67施設中51施設(76%)が使用しており、臨床にも数多く報告されている試薬である。解析結果では特異性同定検査試薬だけでなく、スクリーニング試薬であるLABScreen Mixed, Multiでも各施設による様々なカットオフ値により最終判定に影響が見られた。また抗体有無一致率の不一致となった要因として誤ったLuminexテンプレートファイルの選択やルールから逸脱したファイル名の付与が解析に支障をきたしたことや、スクリーニング試薬に特異性同定試薬を介在させたことなどが挙げられた。報告されたデータにはメーカー再検基準を超えるデータも含まれており、参加施設には改めてQCWS参考プロトコルを確認していただきたい。

# 第23回 HLA-QC ワークショップレポート — 検査方法別解析 抗体検査 ルミネックス法 (LIFECODES) —

小山 暁史<sup>1)</sup>, 杉本 達哉<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大学医学部附属病院 臨床検査技術科輸血室

## 1. はじめに

今回の参加施設数は LIFECODES Life Screen Deluxe (LMX) 抗体スクリーニング: 6 施設, LIFECODES LSA Single Antigen (LSA): 8 施設であった。LIFECODES では全ての施設で他の HLA 抗体検査用試薬を併用していた。LIFECODES は判定方法や洗浄方法に特徴があり詳細は学会公式サイトの第23回 QCWS 報告集をご参照いただきたい。

## 2. 解析項目

LIFECODES では洗浄方法にフィルタープレート+吸引ポンプの使用を推奨しているが、フリッキング洗浄でも検査可能とされている。今回 LMX では全て推奨されている洗浄方法であったが、LSA 参加の3施設でフリッキング洗浄を実施しており、洗浄方法の差が判定結果に与える影響を検証した。また、LMX, LSA 試薬には NC 血清と PC 血清が試薬中に含まれており検査毎に使用することが推奨されている。よって LIFECODES では配布サンプルの他に NC 血清, PC 血清も解析対象としている。

具体的な解析項目は NC・PC ビーズ及び各試薬ビーズの施設間差, 洗浄方法別ビーズの MFI (Raw Value) の差異, 施設間のアレル判定において乖離を認めたビーズに対して LABScreen Single Antigen (LS-SA) 及び WAKFlowHR (HR) との反応性比較を行った。

## 3. 解析結果

### 1) LIFECODES Life Screen Deluxe (LMX) 抗体スクリーニングについて

LMX は添付文書中に Observed Ranges というアッセイの妥当性評価の目安となる値が LOT 毎に記載されてい

る。各サンプルの PC, CON1 ~ CON3 (NC) ビーズの MFI 値は全て Observed Ranges の範囲内であった。

LMX 参加のすべて施設において、デフォルトカットオフ値で判定を行っていた。また、配布された6種類のサンプルにおいて、Class I, Class II 判定が全ての施設で一致していた。個別のビーズを観察すると、SH3105 検体において、LOT 間差と思われる結果の乖離を認めたが判定には影響しなかった。

### 2) LIFECODES LSA Single Antigen (LSA) について

LSA では添付文書に2種類のプロトコルが記載されており、プロトコル1 (血清 10  $\mu$ L + LSA ビーズ 40  $\mu$ L) とプロトコル2 (血清 20  $\mu$ L + LSA ビーズ 40  $\mu$ L) がある。今回の参加施設では全てプロトコル2で実施されていた。また、LMX と同様に参加した8施設全てでデフォルトカットオフ値で判定を行っていた。

フリッキング洗浄実施の2施設において、PC ビーズの MFI 値が Class I, Class II とともに低値傾向を示しており、添付文書に記載されている LOT 毎の Observed Limits と比較しても低値であった。

各アレルの Lowest Ranked Antigen (LRA) 値は低く、バックグラウンドが高いサンプルは観察されなかった。

SH3101 Class II において、フリッキング洗浄実施施設の MFI 平均値が低値傾向を示していたが、判定結果への影響は認めず、MFI 値のバラツキの要因は洗浄手技(習熟度)などによる影響が大きいと考えられた。また、施設間のアレル判定で乖離を認めたビーズは MFI 値 1,000 前後を示しており、LS-SA や HR においてもグレーゾーンの値を示していた。

## 4. まとめ

LMX, LSA 参加全施設で共通のデフォルトカットオ



フ値を採用しており、判定の一致率は高かったと考えられる。

LIFECODES ではバキューム吸引によるフィルタープレート洗浄を推奨しているが、フリッキング洗浄実施施設においても今回は判定結果には影響を認めなかった。

しかしフリッキング洗浄参加の2施設においてPCビーズの低値傾向を認め、洗浄不足などが疑われることから、添付文書に記載されていない方法での試薬使用

は、バリデーションを施設毎に行い、十分に留意する必要がある。

今回参加した施設では様々な血清処理が行われていた。添付文書には短時間の超遠心が記載されているが、未実施（未記載）の施設も散見された。今後は血清処理方法の差が結果に与える影響なども解析する必要があると考えられた。

# 第 23 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査方法別解析 抗体検査 仮想クロスマッチ—

宮城 徹<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

### 1. はじめに

仮想クロスマッチでは、H3101 のタイピング結果と SH3101 の抗体特異性結果からクロスマッチの判定（陽性 / 陰性）と反応が予測される特異性を予想した。この際、可能な限り抗原型で回答することとした。

### 2. 解析方法

判定、タイピング結果および予測された特異性について施設間で比較し、不一致があった場合には抗体同定検査の結果からその原因を解析した。なお、同定試薬を使用していない 1 施設は解析対象外とした。

### 3. 結果と考察

#### 1) 判定

判定は解析対象の 30 施設で一致した。（未回答の 1 施設も特異性を予測していることから陽性判定とみなした）

#### 2) タイピング結果

HLA タイピング結果は、ほぼ一致していた。一部施設で ambiguity があったが、仮想クロスマッチへの影響はなかった。

#### 3) 特異性予測

使用した抗体同定試薬は、LABScreen single antigen（以下、LS-SA）が 28 施設、WAKFlow HR（以下、WAK-HR）が 13 施設、LIFECODE LSA Single Antigen（以下、LSA）が 4 施設であった。複数の試薬を併用している施設もあった。

A、B 抗原は一致し、C、DR、DQ、DP 抗原で施設間の不一致が認められた。

##### ① C 抗原の不一致

30 施設中 2 施設が Cw14、別の 7 施設が Cw9 を特異性として報告し、残りの 21 施設は C 抗原での反応を報告しなかった。

Cw14 は LS-SA と LSA では陰性だが、WAK-HR では陽性となる施設があった。Cw14 を報告した施設は、WAK-HR の結果に基づいて判断したと考えられた。

Cw9 は LS-SA での nMFI が 1,000 付近で施設間差が大きく、そのため施設によって判断が分かれたと考えられた。なお、WAK-HR および LSA では陰性であった。

##### ② DR 抗原の不一致

DRB1 をタイピングした 27 施設のうち、4 施設が DR14 を特異性として報告し、残りの 23 施設は DR 抗原での反応を報告しなかった。

最も多くの施設が使用している LS-SA は、H3101 のタイプである DRB1\*14:03 のピーズを含まないため、厳密に反応を確認するには別試薬（supplement または別メーカー）が必要であるが、10 施設が LS-SA のみを使用していた。LS-SA と別試薬を併用したのは 15 施設で、2 施設は LS-SA を使用しなかった。

DR14 を特異性とした 4 施設のうち、LS-SA のみを使用したのは 2 施設で、残りの 2 施設は別試薬との併用であった。別試薬で DRB1\*14:03 は陰性であった。一方で、LS-SA では、DRB1\*14:02 は明らかに陰性だが、\*14:01 と \*14:54 の nMFI が 1,000 付近であった。DR14 の別アレルの弱い反応に対する解釈の違いが、施設によって判断が分かれた要因だと考えられる。

##### ③ DQ 抗原の不一致

DQB1 をタイピングした 16 施設のうち、15 施設が DQ7 を特異性として報告し、1 施設は DQ の特異性を報告していなかった。特異性を報告しなかった施設に確認したところ、クラス I のみ回答しており、DQ7 は反応す

ると考えているとのことであった。

また、DQB1をタイピングしなかった11施設においては、4施設がハプロタイプからDQ7を特異性として予測していた。

#### ④ DP抗原での不一致

DPB1をタイピングした9施設のうち、7施設がDPw2を特異性として報告し、2施設はDPの特異性は報告しなかった。

特異性を報告しなかった施設に確認したところ、1施設は総合判定シートにDPがなかったため対象外と解釈しており、もう1施設は、DPB1\*02:01は陽性だったもののDPB1\*02:02が陰性だったことからDPw2を陽性としなかったとのことであった。

## 4. 今後の課題

### 1) 判定基準

仮想クロスマッチの目的は、細胞を使用したクロス

マッチ結果の予測である。よって、抗原ごとの発現量を考慮したカットオフ値の設定が分野ごとに必要であろう。また、低蛍光値域でより適切に判定するためのデータ蓄積が必要である。

### 2) 試薬間差

試薬間差で反応性が異なることは以前から指摘されており、今回も認められた。これらの原因を究明するとともに、非特異反応が疑われる際の確認方法について検討する必要がある。

### 3) 同一抗原型の別アレルの扱い

ドナーのアレルが試薬に含まれない場合の対応、およびドナーアレルが陰性だが同じ抗原型のアレルが陽性だった場合の対応について、コンセンサスの形成が必要である。

# 第23回 HLA-QC ワークショップレポート —日本移植学会連携 全血クロスマッチ—

橋口 裕樹<sup>1)2)</sup>

<sup>1)</sup> 福岡赤十字病院 移植センター 移植細胞研究課

<sup>2)</sup> 日本移植学会 移植関連検査委員会 委員

### 1. 概要

日本組織適合性学会と日本移植学会が連携し、実施する全血クロスマッチ精度管理は今回で7回目となった。例年同様に全血サンプルとQCWSで使用する血清を用いてクロスマッチを実施する精度管理である。

### 2. 経過

参加施設は年々増加傾向で、今年度は過去最高の47施設の参加であった。参加施設内訳は、臓器移植ネットワークの検査施設が27施設、移植関連病院が12施設、血液センター4施設、検査センター3施設、試薬メーカー1施設であった。日本移植学会で準備した全血は、日本組織適合性学会の血清配布後に東京より各施設に発送した。全血サンプル(ACD-A液)8mlは、翌日、翌々日には各施設に到着し細胞の生存率も概ね良好であった。9月中旬に集計結果を各施設にメールで配信、同月に開催された第23回QCWS(名古屋)、10月に開催された第55回日本移植学会総会(広島)で解析報告を行った。また、令和2年2月に開催される第53回日本臨床腎移植学会(東京)においても報告予定である。

### 3. 試料選択および検査方法

ドナー候補(全血)は日本移植学会で準備し、日本人に高頻度なHLAタイプを準備した。レシピエント(血清)は、SH3102を選択した。この組み合わせは、第4回(SH2803)と同じ組み合わせであり、データを比較する目的で再度採用した。SH3102はA\*02:01(nMFI=15,227), A\*02:06(nMFI=15,667), C\*07:02(nMFI=15,694),

C\*12:02(nMFI=6,171), DPB1\*05:01(nMFI=4,368), の抗体特異性(IgG)を認め、これらがドナー特異的抗体 Donor Specific Antibody; DSA となる想定で選定した。検査方法は、FCXMが最も多く全体の7割の施設で実施され、CDCとICFAは4割程度であり例年と変化はなかった。プロトコルに関しては、各施設プロトコルと学会推奨の全血クロスマッチプロトコル(案)の2つを選択できるようにした。各施設の方法についての詳細な検査条件はアンケート調査を行いまとめた。詳細は、学会公式サイトを参照して頂きたい。

### 4. 結果

すべての検査法において90%以上の高い一致率であった。またICFAにおいては、2施設において独自のカットオフ値を採用しており、これが原因で判定が異なっていた。

### 5. まとめ

例年同様、判定結果の一致率だけに注目すれば高い一致率で申し分ない結果であった。しかし、各検査法の反応強度(スコア, %死細胞, Median値, Ratio)を比較すると施設間差を認め、弱陽性検体等の場合は判定結果に影響を及ぼすことが懸念される。次年度は、1) 反応強度の是正、2) プロトコルへの血清、リンパ球処理の追加を進めていく予定である。また日本移植学会では、全血クロスマッチに加えてABO不適合移植で測定するABO血液型抗体価や、リツキシマブ投与症例のCD3/19測定の精度管理を企画しており、今後の実施に向けて調整していきたいと考えている。