

## 第25回 HLA-QC ワークショップレポート

# 第25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25回ワークショップの開催案内は、2020年12月には公式サイトに、2021年1月には学会誌に掲載され、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。また、申込方法については、従来のメール送信による方法から専用フォームを用いた形式に変更し、作業の効率化を図った。

第25回の参加施設は87施設となり、昨年よりも1施設減少した(表1)。

87施設の参加内容内訳は、DNA-QCに77施設、抗体-QCに69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)。

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6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。

さらに、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推定アレル一覧表(JSHI)2021年度版」として更新した。

第25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とデータ集

約作業を終了して6月21日に解析担当者に共有した。

これまではメールによる送受信で実施していた解析に関する情報共有やディスカッションは、今年度からMicrosoft Teamsを利用することとし、関連する情報が一ヶ所に集中するようにした。

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7月～8月の期間に各自で詳細な解析実施し、その後はリーダーを中心としたグループ内でのメールディスカッションを重ねて解析報告集を作成した。また、同時に一昨年までCDで配布していた全データ集を完成させ、昨年と同様に解析報告集と共にZIP形式にまとめて、参加施設がダウンロードできる形式で8月30日に公式サイトに掲載した。

QCWS集会については、第29回大会がWEB形式となった事に伴い、9月5日にオンライン集会を開催した。また、QCWS集会参加証明書の発行については、QCWS申込と同様に専用フォームによる事前登録および、オンライン集会当日に参加していたことをログで確認できた場合、大会のマイページからダウンロードできるような仕様とした。

集会後のアンケート調査についても、専用フォーマッ

<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

高 陽淑<sup>1)</sup>、石塚 敏<sup>2)</sup>、黒田ゆかり<sup>3)</sup>、一戸辰夫<sup>4)</sup>、内田みゆき<sup>5)</sup>、奥平裕子<sup>6)</sup>、木村彰方<sup>7)</sup>、高橋大輔<sup>8)</sup>、中島文明<sup>9)</sup>、橋口裕樹<sup>8)</sup>、藤原孝記<sup>9)</sup>、宮崎 孔<sup>5)</sup>、湯沢賢治<sup>10)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社 近畿ブロック血液センター、<sup>2)</sup> 東京女子医科大学 中央検査部 移植関連検査室、<sup>3)</sup> 日本赤十字社 九州ブロック血液センター、<sup>4)</sup> 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、<sup>5)</sup> 日本赤十字社 血液事業本部 研究開発部、<sup>6)</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>7)</sup> 東京医科歯科大学、<sup>8)</sup> 日本赤十字社 福岡赤十字病院、<sup>9)</sup> 帝京大学 医学部附属病院 輸血部、<sup>10)</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 25 回 HLA-QCWS 参加施設

1	福岡赤十字病院	移植センター
2	長崎大学病院	細胞療法部
3	NHO 米子医療センター	臨床検査科
4	東京医科歯科大学医学部附属病院	輸血・細胞治療センター
5	大阪急性期・総合医療センター	移植支援検査センター
6	九州大学病院	遺伝子・細胞療法部
7	千葉大学医学部附属病院	輸血・細胞療法部
8	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
9	株式会社 ビー・エム・エル	第三検査部 ゲノム検査課
10	大阪市立大学医学部附属病院	輸血部
11	ジェノタイプファーマ株式会社	
12	東京女子医科大学	中央検査部移植関連検査室
13	名古屋第二赤十字病院	組織適合検査室
14	大分県立病院	輸血部
15	京都府立医科大学附属病院	輸血・細胞医療部
16	国立病院機構 岡山医療センター	臨床検査科
17	金沢医科大学病院	HLA検査センター
18	藤田医科大学病院	輸血部
19	市立札幌病院	検査部
20	札幌北楡病院	臨床検査科
21	大阪大学医学部附属病院	輸血部
22	株式会社 L S I メディエンス	遺伝子解析部 遺伝子検査グループ
23	北海道大学病院	検査・輸血部
24	鹿児島大学病院	輸血・細胞治療部
25	JCHO中京病院	検査部
26	札幌医科大学附属病院	検査部
27	信州大学医学部附属病院	輸血部
28	獨協医科大学病院	臨床検査センター
29	日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所	研究開発部
30	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
31	岡山大学病院	輸血部
32	佐賀大学医学部附属病院	検査部
33	東邦大学医療センター大森病院	輸血部
34	湧永製薬株式会社	試薬・診断薬事業部
35	東海大学医学部付属病院	臨床検査技術科輸血室
36	公益財団法人HLA研究所	技術部 検査課
37	株式会社 医学微生物学研究所	信頼性保証部 品質管理室
38	香川県立中央病院	中央検査部
39	北里大学病院	輸血部
40	亀田総合病院	臨床検査部
41	株式会社ベリタス	バイオサイエンス本部 技術グループ
42	福島県立医科大学附属病院	輸血・移植免疫部

(受付順)

43	山形県立中央病院	輸血部
44	がん・感染症センター 都立駒込病院	輸血・細胞治療科
45	熊本赤十字病院	検査部
46	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
47	広島大学病院	輸血部
48	SUBARU健康保険組合 太田記念病院	臨床検査部
49	三重大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部
50	宮崎大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部
51	自治医科大学附属病院	輸血・細胞移植部
52	JCHO仙台病院	検査部
53	県立広島病院	臨床研究検査科
54	岩手医科大学附属病院	中央臨床検査部
55	山形大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部
56	株式会社リプロセル	メディカル部
57	旭川医科大学病院	臨床検査・輸血部
58	松江赤十字病院	検査部
59	関西医科大学附属病院	輸血・細胞療法部
60	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
61	弘前大学医学部附属病院	泌尿器科
62	日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター	検査部 検査三課
63	中四国ブロック血液センター	品質部検査一課
64	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
65	東北ブロック血液センター	品質部検査一課
66	公益財団法人 鷹揚郷腎研究所弘前病院	HLA検査部
67	帝京大学医学部附属病院	輸血・細胞治療センター
68	京都大学医学部附属病院	検査部 輸血部門
69	宇和島徳洲会病院	検査課
70	沖縄県立中部病院	検査科
71	徳島大学病院	輸血・細胞治療部
72	株式会社エスアールエル	MUQSラボ (ゲノム解析課)
73	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
74	東京大学医学部附属病院	輸血部
75	富山大学附属病院	検査・輸血細胞治療部
76	秋田大学医学部附属病院	腎疾患先端医療センター
77	東京医科大学八王子医療センター	中央検査部
78	高知医療センター	2階検体検査室
79	静岡県立総合病院	検査部
80	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
81	伊勢赤十字病院	医療技術部 臨床検査課 輸血検査室
82	熊本大学病院	中央検査部
83	愛知医科大学医学部	外科学講座腎移植外科
84	宮崎県立宮崎病院	臨床検査科

トによる回答としたが、過去最多の回収数 (152 件) であり、今回のようなWEB形式に賛同するご意見も多かった。その他の設問も含めて、それらの分析結果はQCWS部会内で共有し今後のQCWSに役立てる。

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25回QCWSテーマ(以下に記載)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。

DNAのテーマは①DNA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、③DNA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無い細胞を中心に

レアアレル、読替え、ホモタイプなどの課題となるアレルを含んでいる細胞を選択した。

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を濃度非公開で100µL(SSP実施施設は200µL)、SSO法を対象とした陰性コントロール(DNase free water)50µL、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4本選択し、その全てを抗体有無の検査対象に、4本中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（計 2 本）とした。

サンプル調整は例年通り、血清化処理後、4 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、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とし、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 では資料説明・総合解析と SBT 法は継続、それ以外は新任で担当し、抗体-QC でも抗体ルミネックス法①と仮想クロスマッチ・移植学会連携全血クロスマッチについては継続、それ以外は新任と、全体的に新しい担当者の構成となった（担当者一覧を以下に示す）。

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、個々の担当別に実施した一次解析の結果を元にグループ内でディスカッションを重ねて作成した解析データ集と、参加施設の全データ集とを公式サイトに掲載し、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
  - ジェノダイブファーマ 奥平 裕子
- SSP 法 高知医療センター 石本 倫子
- SSO ルミネックス法①<sup>※</sup>
  - 宮崎大学医学部附属病院 竹ノ内博之
- SSO ルミネックス法②<sup>※</sup>
  - 近畿ブロック血液センター 下北 希美
- SBT (Sanger, NGS) 法
  - 日本赤十字社中央血液研究所 高田慎之介

#### 【抗体検査結果解析】

- 試料説明, 総合解析
  - 日本赤十字社中央血液研究所 高橋 大輔
- FCM (FlowPRA) 法 東京女子医大 藤田 龍司
- 抗体ルミネックス法①<sup>#</sup> 宇多野病院 成海 仁在
- 抗体ルミネックス法②<sup>#</sup> 広島大学病院 栗田 絵美
- 抗体ルミネックス法③<sup>#</sup>
  - 京都大学医学部附属病院 万木美紀子
- その他の検査 (MPHA)
  - 近畿ブロック血液センター 高 陽淑

表 2 第 25 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>Q25D1</b>	A*02:10 <b>A210</b>	A*26:01:01:01 <b>A26</b>	B*39:01:03 <b>B3901</b>	B*40:06:01 <b>B61</b>	C*07:02:01 <b>Cw7</b>	C*08:01:01:02 <b>Cw8</b>
<b>Q25D2</b>	A*33:03:01:01 <b>A33</b>	- <b>-</b>	B*44:03:01:10 <b>B44</b>	- <b>-</b>	C*14:03:01 <b>Cw14</b>	- <b>-</b>
<b>Q25D3</b>	A*26:01:01:01 <b>A26</b>	A*26:02:01 <b>A26</b>	B*39:01:01 <b>B3901</b>	B*51:01:01 <b>B51</b>	C*07:02:01:15 <b>Cw7</b>	C*14:02:01 <b>Cw14*</b>
<b>Q25D4</b>	A*02:06:01:01 <b>A2</b>	A*24:02:01:01 <b>A24</b>	B*15:01:01:01 <b>B62</b>	B*48:01:01:01 <b>B48</b>	C*08:22:01 <b>Cw8</b>	C*15:02:01:01 <b>Cw15*</b>
HLA-Class II	HLA-DR		HLA-DQ		HLA-DP	
<b>Q25D1</b>	DRB1*08:02:01 <b>DR8</b>	DRB1*09:01:02 DRB4*01:03:02 <b>DR9</b> <b>DR53</b>	DQA1*03:02:01:01 DQB1*03:03:02 <b>DQ9</b>	DQA1*04:01:01 DQB1*04:02:01:04 <b>DQ4</b>	DPA1*01:03:01 DPB1*02:01:02 (DPB1*414:01:01)# <b>DPw2</b>	DPA1*02:02:02 DPB1*05:01:01 (DPB1*744:01)# <b>DPw5</b>
<b>Q25D2</b>	DRB1*13:02:01 DRB3*03:01:01 <b>DR13</b> <b>DR52</b>	- <b>-</b>	DQA1*01:02:01:08 DQB1*06:04:01:01 <b>DQ6</b>	- <b>-</b>	DPA1*02:02:02 DPB1*02:01:02 <b>DPw2</b>	- <b>-</b>
<b>Q25D3</b>	DRB1*08:02:01 <b>DR8</b>	DRB1*08:03:02 <b>DR8</b>	DQA1*01:03:01 DQB1*06:01:01 (DQB1*06:01:15)# <b>DQ6</b>	DQA1*04:01:01 DQB1*04:02:01 <b>DQ4</b>	DPA1*01:03:01 DPB1*02:01:02 (DPB1*105:01:01)# <b>DPw2</b>	DPA1*01:03:01 DPB1*04:02:01 (DPB1*416:01:01)# <b>DPw4</b>
<b>Q25D4</b>	DRB1*04:07:01:02 DRB4*01:03:01 <b>DR4</b> <b>DR53</b>	DRB1*15:01:01 DRB5*01:01:01:02 <b>DR15</b> <b>DR51</b>	DQA1*03:01:01:01 DQB1*03:02:01 (DQB1*03:289/416)# <b>DQ8</b>	DQA1*01:02:01 DQB1*06:02:01 <b>DQ6</b>	DPA1*01:03:01 DPB1*02:01:02 (DPB1*105:01:01)# <b>DPw2</b>	- DPB1*04:02:01 (DPB1*416:01:01)# <b>DPw4</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  
#NGSで解消できなかったアンビギュイティ(参考)

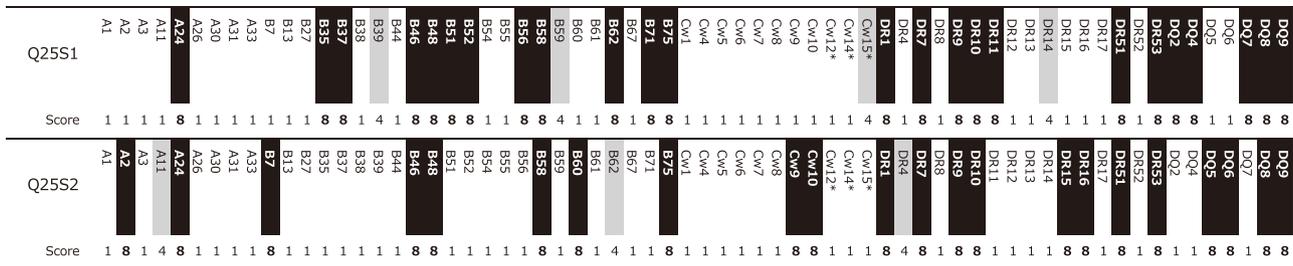
表 3 第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート：抗体サンプルの総合結果

**抗体検出**

	HLA class I 抗体				HLA class II 抗体			
	Q25S1	Q25S2	Q25S3	Q25S4	Q25S1	Q25S2	Q25S3	Q25S4
Score 8	98.6%	98.6%	97.1%	98.6%	98.5%	98.5%	13.6%	98.5%
Score 4	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.5%	1.5%	1.5%	1.5%
Score 1	0.0%	0.0%	1.4%	0.0%	0%	0%	84.8%	0%

**抗体特異性**

＜日本人集団におけるHLA遺伝子頻度0.1%以上の抗原に対する反応＞



抗体QC参加施設の総合判定結果を基準とした  
 Score8：陽性=2/3以上の参加施設が陽性判定した抗原  
 Score4：保留=陽性・陰性どちらも2/3に達しない抗原  
 Score1：陰性=2/3以上の参加施設が陰性判定した抗原  
 \* 暫定的なHLA抗原名（WHO未公認）

- ・ 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

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

# 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 に示した。

DNA サンプル (表 2) については、主に参加施設の

結果より総合的にリアサインした。

なお、表記は本学会標準化委員会作成『HLA タイピング結果のアレル表記法と結果報告の原則 (2017 年版)』に従っている (表 2)。

抗体サンプルについては、『HLA 推定アレル一覧表 (JSHI) 2021 年度版』において、HLA 遺伝子頻度 0.1% 以上の抗原 \* を対象に参加施設が決定した総合判定結果を集計して、Consensus (各施設の判定結果の 2/3 以上のスコア) を求めた。ただし、Consensus が得られない抗原 (各施設の判定結果の集計が 2/3 に達しない) はスコア 4 と表示している (表 3)。

参加施設が、これらの結果を日常検査における精度管理に活用されることを期待する。

## 第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート —試料説明 DNA-QC—

奥平 裕子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> ジェノダイブファーマ株式会社

### 1. 使用する試料について

日本組織適合性学会の HLA-QC ワークショップでは、市販品もしくは細胞バンクより入手した匿名化試料を保管して、DNA-QC の試料として使用している。その中から HLA-A, B, C, DRB1 のタイピング結果と QCWS 集会でのアンケート調査結果を参考に、以下のポイントを課題として本年度の試料を選定した。

### 2. 第 25 回 DNA-QC 細胞選定のポイント

本年度は HLA 型読替えの知識が必要である、レアアレルである、ホモタイプである等、課題となるアレルを含むように 4 検体の選定を行った。1 つ目の Q25D1 は仮想クロスの対象であり、HLA 型読替えの知識が必要となる。2 つ目の Q25D2 は HLA-A, B, C, DRB1 がホモタイプ、3 つ目の Q25D3 は Q25D1 と同様 HLA 型読替えの知識が必要かつ、HLA-A, DRB1 において HLA 型が

同一のアレル違い、最後 4 つ目の Q25D4 においては HLA-C がレアアレルとなっていることが選定理由である。

### 3. 配布試料

本年度も昨年同様、選定した 4 つの DNA 試料の濃度を非公開とすることとした。各タイピング法に適した濃度で検査が実施されているかを図る目的である。またこの他に第 21 回 QCWS からデータ提出が必須となっている、SSO 法で同時測定するための陰性コントロールの配布も引き続き行うこととした。配布開始当初から陰性コントロールにも関わらず反応がみられる施設が多数あり、コンタミネーションが疑われるため課題となっていた。

以上より濃度非公開の 4 検体と SSO 法用の陰性コントロール (DNase free Water) 1 検体の計 5 つを配布試料とした。

## 第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート —総合解析（表記含む） DNA-QC—

奥平 裕子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> ジェノダイブファーマ株式会社

### 1. 概要

DNA-QC の参加施設数は昨年の 77 施設同様、今年度も 77 施設の参加であった。部門別では臓器部門が 57 施設、輸血部門は 38 施設、造血部門は 35 施設、およびその他が 8 施設（重複有）の参加であり、ここ 5 年間では臓器部門の増加が著しい。方法別では輸血、造血部門で SSO 法が 90% を超えたのに対し、臓器部門では SSO 法は 70% に留まり、SSP 法が他方との併用を含めて 32% を占めていた。評価対象遺伝子は、例年同様 HLA-A, B, C, DRB1 とし、その他の DRB3, 4, 5, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1 は評価対象外とした。

### 2. 総合結果評価

#### 1) 判定結果の評価

評価項目は以下の 2 点とした。1 点目「各タイピング法での判定が正しいこと」、2 点目「各タイピング法の結果が、総合判定と齟齬がないこと」、この 2 点について○と×の二段階（60 点満点）で評価を行った。全施設の評価平均は 59.7 点を示し、概ね良好な結果であった。詳細については、各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「HLA タイピング結果のアルル表記法と結果報告の原則（2017 年版）」の改訂が 2021 年 4 月 1 日に行われた（2 版）。以前の 1.1 版では「N」などの文字は付記しないとしていたが、2 版では「N」などの文字も付記するに改訂された。結果表記の評価項目は以下の 3 点としており、1 点目「アンビギュイティ（Ambiguity）の表記」、2 点目「HLA 型への読替え」、3 点目「その他の DNA タイピング結果表記について」、

これらについて正、一部不備（減点なし）、誤（減点あり）の三段階（40 点満点）で評価を行った。先に述べたように、今回の改訂から記入が必須である「N」の記入漏れのある施設が目立ち、第 24 回 QCWS では評価平均が 39.6 点であったのに対し、第 25 回では評価平均は 38.8 点と前年より悪化傾向にあった。4 月に行われる表記法の改訂の周知徹底が希まれる結果となった。

#### 3) HLA タイピング結果評価点

評価基準で定義されている評価は、1) 判定結果の評価（60 点満点）と 2) 結果表記の評価（40 点満点）を合わせて HLA タイピング結果評価点（100 点満点）とし、100 点＝評価 A、60 点以上 100 点未満＝評価 B、60 点未満＝評価 C の三段階で総合評価を行った。その平均は 98.5 点を示した。第 24 回 QCWS では評価 A の施設が全体の約 70% を占めていたが第 25 回では 53.2% とその割合を大きく落とした。評価 C の施設は該当なし、残りの半数近く（46.8%）が評価 B という結果であった。これは結果表記の評価に起因していた。

### 3. 試験結果の評価（試験法別評価）

試験結果の評価は、使用試薬での結果の妥当性を評価するものである。提出データにおいて A（不備無し）、B（一部の不備）、C（全体的な不備）の 3 段階評価を行い、タイピング結果に影響を与えるようなデータの不備がないかを確認した。A 評価が 84 施設、B は 6 施設、C は該当施設なしであった。B 評価であった施設は、2 施設が SSO 法、4 施設が SSP 法であった。共通する B 評価理由は反応不良による疑陽性、疑陰性が挙げられ、誤判定の原因となる施設もあった。SSO 法独自の B 評価理由としては Sample Empty が見られた。詳細については、各方法別解析を参考にさせていただきたい。

#### 4. まとめ

##### 1) 第 24 回 QCWS で明らかになった課題の達成状況

SSO 法では数年に渡って引き続いての課題となっている、陰性コントロールにてコンタミネーションが疑われる誤反応や、根拠のないカットオフ変更が第 25 回でも同様に見られた。次回第 26 回 QCWS では結果入力シートにカットオフ変更の有無を記載する欄を設け、さらなる注意喚起となることを期待している。

また、SSP 法や SSO 法では誤判定をしている施設が数施設ではあるが見られた。その原因は反応不良と誤表記である。しかし、結果表記の評価で減点があった施設の多くは SSP 法でタイピングを行っている施設であり、

低解像度の検査法に学会の表記法が見合っていないのではないかという課題も見えてきた。

##### 2) 濃度非公開の DNA 配布

濃度測定は 78% の施設で行われていた。測定結果も配布時とほぼ同濃度であり良好な結果であった。正確な DNA タイピングを行う上で、至適濃度で検査を行うことはとても重要である。また PCR 法を原理としている検査法全てにおいて、DNA の質も重要なポイントとなりうる。濃度測定と検査結果の関連は今回の配布検体では見られなかったが、日常検査でも DNA の濃度を測定し、どのような量と質の検体であるのかを知った上での検査を推奨したい。

## 第 25 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—

石本 倫子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 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

### 1. 概要

#### 1) 参加状況

SSP 法では昨年と同様の 23 施設を対象にデータ解析を行った。このうち 21 施設は臓器移植部門のある施設であり、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た。SSP 法単独の参加は昨年より 2 施設増加し 19 施設であった。

#### 2) 使用試薬

MicroSSP (One Lambda 社) の使用が多く (22 施設)、中でも MicroSSP JPN の使用が 19 施設と最も多かった。

#### 3) DNA サンプルの濃度測定状況

配付試料の DNA 濃度を測定した施設は昨年の 13 施設 (59%) と同程度の 14 施設 (61%) であり、適宜希釈調製して検査されていた。

### 2. 解析方法

以下の項目について解析を行った。

- 1) 反応データ
- 2) アレル判定
- 3) 結果の表記法

詳細は、学会公式サイトの第 25 回 QCWS 解析結果報告集をご参照いただきたい。

### 3. 解析結果および考察

#### 1) 反応データについて

反応の不備 (false negative および false positive) による判定ミスが 3 施設あり、ミスアサインにつながっていた。電気泳動像の陽性バンド、解析ソフトへの入力データ、機器の動作状況の確認、検査手技の見直しなど原因の究明が必要である。

インターナルコントロールバンドが出現していない反応のまま判定を行った施設が 1 施設あった。このような場合には結果が無効であるうえ、誤判定につながるため、原因の究明に加えて再検査を実施する必要がある。

また、反応パターンを入力ミスが疑われる施設が 1 施設あった。結果の提出前にダブルチェックを行うなど再確認する必要がある。

#### 2) アレル判定について

反応パターンに問題はないが解析ソフトで ambiguity として挙がっていたアレルを見逃し、ミスアサインにつながった施設が 1 施設あった。解析ソフトで得られた結果の解釈だけでなく、第 1 区域に ambiguity がある場合の表記法を確認していただきたい。

#### 3) 結果の表記法について

##### ア. 第 1 区域

第 1 区域の表記について、6 施設で表記ミスを認めたものの、「第 1 区域に ambiguity がある場合」の正答割合は昨年度 47% に比べ今年度は 68% と高くなっており、全体としては理解が進んでいると考えられた。しかし上記アレル判定の項でも触れたが、第 1 区域に ambiguity がある場合、4 種類以上の推定アレルを示す「+」に含まれているアレルの存在を示すため、3 種類までのアレルを全て 4 桁表記する必要がある組み合わせがあるのでミスのあった施設は確認していただきたい。

##### イ. 第 2 区域

第 2 区域の表記ミスは 13 施設あり、各施設で推定アレルの表記に難渋したと思われる。アレル表記の過不足がみられ、その中でも「第 1 区域は同じで第 2 区域が異なる組み合わせ」では、両カラムへそれぞれ異なる推定アレルを表記するところを片方のカラムに「-」表記され「第 1 区域第 2 区域とも同じ組み合わせ」になってい

た施設を複数認めた。日本人頻度順でないアレル表記も認めた。

改善には、表記法の理解、解析ソフトの設定が適切か、早見表のみによる判定となっていないかなどに加えて、表記に含まれる推定アレルの組み合わせも理解しておくが良いと思われた。

#### ウ. その他 (Null など)

「HLA タイピング結果のアレル表記法と結果報告の原則 (2017 年版)」が 2021 年 4 月 1 日に改訂されたことによる、Null アレルの「N」表記がもれている施設が 10 施設あった。その他の表記ミス (座名, \*, 「N」を「Null」と表記, カラム記載順など) もみられた。

#### 4. まとめ

反応の不備やアレル判定のミスにより 4 施設でミスアサインを認めた。該当施設は原因の究明が必要である。全体では、反応パターンは概ね良好であったが、表記ミスが多くみられ特に第 2 区域の表記にばらつきがあった。第 1 区域に ambiguity がある場合の表記は理解が進んでいた。

SSP 法では ambiguity があるため、複数の推定アレルを表記することとなる。表記ミスの改善には、表記法の理解、解析ソフトの設定確認などと併せて、推定アレルの組み合わせを理解しておくことも必要と考えられた。

# 第 25 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) —

竹ノ内博之<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 宮崎大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部

## 1. 概要

### 1) 参加状況

LABType の参加施設は、昨年度の 9 施設から 7 施設へ減少していた。参加施設に占める LABType の割合は、全 DNA タイピング参加 77 施設の 9.1% (昨年: 11.6%)、SSO 法 (Luminex) 参加 58 施設の 12% (同 15%) であった。

### 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、学会公式サイトでの第 25 回 QC ワークショップ報告集を参照いただきたい。

## 2. 解析方法

各施設から提出された報告書およびデータを基に、以下の項目について解析を行った。

- 1) 解析ソフト (Fusion) での再解析と判定トレース
- 2) 陽性コントロールビーズの蛍光値 (平均とバラツキ)
- 3) Class I での PCR 増幅効率の比較 (Exon 2 vs. Exon 3)
- 4) 陰性コントロールサンプルの蛍光値

詳細は、学会公式サイトでの第 25 回 QC ワークショップ報告集を参照いただきたい。

## 3. 解析結果・考察

### 1) 解析ソフト (Fusion) での再解析と判定トレースについて

ビーズカウントについては、Low Beads を認めた施設は無かった。

判定に関して、一部施設で Null アレルの取り扱いに起因する表記の誤りを認めるも、解析について大きな問題は無かった。なお、カットオフ値の変更は原則避ける

べきではあるが、再現性のある False 反応に関しては、根拠を持って変更する事で正しく判定できる場合がある。その為にも検査原理や解析方法に関する知識・技術を備える必要がある。

今回、報告書のコメント欄を有効に利用し、False 反応を認めたサンプルでのカットオフ変更状況やその解釈、Beads Info. の内容、別試薬での再検結果などを記載していた施設が 3 施設あった。また、再検査データを全て送付していた施設もあった。これら参加施設からの情報提供は、報告書送付の際に手間ではあるが、報告データを解析する際の結果判定トレースや、その後の詳細解析を行う上で大変有用である為、多くの参加施設から同様の情報提供がなされることを期待する。

### 2) 陽性コントロールビーズの蛍光値について

各陽性コントロールビーズの蛍光値の平均とバラツキ (%CV) については、特に Class I の A ローカスで差を認めたため、その一因について追加解析を行った。Class II については、1 施設で増幅低値を認めており、PCR 機器のメンテナンスが必要ではないかと推察された。

### 3) Class I での PCR 増幅効率の比較 (Exon 2 vs. Exon 3)

QC 検体の Class I において、特に Q25D1 と Q25D2 の A ローカスに False 反応 (False Positive; FP) を認めた。この FP は、参加施設間で一部再現性を認めており、特定の試薬 Lot やビーズ、アレルに由来することが推察された。しかし、FP を認めない施設も有る事から、PCR 増幅効率の影響も考えられた。そこで、陽性コントロールの増幅と FP との関係性について調べたところ、陽性コントロールの Exon 2 と 3 の増幅率に 20% 近い差を認める場合、FP が出やすいの傾向を認めた ( $p < 0.05$ )。

#### 4) 陰性コントロールサンプルの蛍光値について

陰性コントロールサンプルの蛍光値比較から、いくつかの施設でコンタミネーションを認めた。また、B ローカスでは特定のビーズの幾つかで、バックグラウンドとなる蛍光値が共通して高く出る傾向があり、試薬の特性であることが推察された。

今回はコンタミネーションが結果判定にどの程度影響したかまでは検証出来ていないが、コンタミネーションは、ハイブリダイゼーション工程での手技が結果に影響する要因の一つであり、慎重操作を心がけることが求められる。

#### 4. まとめ；SSO で正しい判定をするために

SSO は検査の特性上、自動判定で変更なく結果判定

が出て、それが正しい反応に由来しているかを検証する必要がある。既存検体を内部精度管理検体として同一バッチ内で測定し、判定結果やコントロールビーズの蛍光値を比較するのも一つの検証手段であろう。また、False 反応を疑いカットオフ変更する際は、安易に変更するのではなく、ビーズ情報を参照し、該当ビーズのプロープがレアアレルを対照としていないかや、FP/FN になりやすいことが示されていないか等を確認し、変更する事が妥当であるかを検討した上でメーカー QC を参考に変更する事が望まれる。その他、判定時の注意事項や判定困難事の対応については、第 24 回の本ワークショップレポートに詳しい解説があるため、参考にさせていただきたい。

## 第 25 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) —

下北 希美<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社 近畿ブロック血液センター

### 1. 概要

#### 1) 参加状況

全参加施設 77 施設中 SSO (Luminex) 法での参加施設は 58 施設 (75.3%) であった。このうち、試薬キット WAKFlow の使用が 48 施設 (62.3%) で昨年より 1 施設増加しており、GenoSearch の使用が 4 施設 (5.1%) で昨年と同様であった。また、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が 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 48 施設では、HLA-A は全施設で実施されており、HLA-B : 47 施設、HLA-C : 43 施設、HLA-DRB1 : 44 施設、HLA-DQB1 : 28 施設、HLA-DPB1 : 12 施設、HLA-DQA1 : 1 施設で実施されていた。

GenoSearch を使用した 4 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認められなかった。

#### 3) DNA サンプルの使用状況

DNA 濃度測定については、多くの施設が DNA 濃度を測定していた。しかし、未実施、また濃度調整 (希釈) を行わずに使用していた施設が複数あった。判定結果への影響は見られなかったが、サンプルの状態を知ることが重要であり試薬キットに応じた至適濃度で使用することを推奨する。

### 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) 陽性コントロールピーズの蛍光値 (平均とばらつき)

3) ピーズカウント (平均とばらつき)

4) P/N 比 (Pmin/Nmax)

詳細は、学会公式サイトの第 25 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)

今回 WAKFlow を使用した 48 施設中、23 施設でカットオフ値を超える反応がみられた。その多くの施設が HLA-A 陽性コントロールプローブ A4°C5 の反応であり、プライマーダイマーによる非特異反応の可能性が推察された。しかし、複数のローカスでコンタミネーションが疑われる施設がみられた。陰性コントロールに陽性反応が認められた場合には、試験検査の妥当性・信頼性が疑われるため再検査の実施が望ましい。

#### 2) 陽性コントロールピーズの蛍光値 (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、蛍光値の低い施設が見られた。原因は、試験操作 (手技や手順) による影響が大きいと推察され、誤判定に繋がる危険性がある。判定の際には、陽性コントロールピーズの反応を確認し、低値あるいはアンバランスなどの反応性に問題がある場合には、再検査の実施を推奨する。

#### 3) ピーズカウント (平均とばらつき)

ピーズカウント不足 (Sample Empty) の状態で判定されていた施設があった。試薬または装置に問題がある可能性があり、このような状態で試験を実施しても信憑性のある測定データとはいえず、正しい判定ができない。原因を調査・改善し、再発防止のために日常的に試薬・測定装置の適正な管理が必要である。また、特定できない場合は各メーカーに問い合わせることを推奨する。

#### 4) P/N 比（陽性の最低値と陰性の最高値の比）

すべての施設で P/N 比 3.0 以上と概ね良好な結果であった。しかしながら、反応不良による誤判定をした施設、またカットオフ値を変更した施設の増加がみられた。P/N 比は、反応のメリハリが少なく、陽性と陰性の差が不明瞭な場合に低くなる。反応性を見極める指標のひとつであるため、判定の際には確認していただきたい。

#### 4. まとめ

判定結果については多くの施設で良好であったが、誤判定やカットオフ値を変更した施設など、反応不良が疑われるまま判定した施設の増加が認められた。陽性コントロールのバランスや、蛍光値、P/N 比等の測定データをみることにより判定できるかではなく、正しく反応しているかを確認し判断する必要がある。

また、カットオフ値を変更する場合には、その根拠を明らかにし安易なカットオフ値変更は避けるべきであ

る。誤判定だけでなく、レアアレルや新規アレルを見落としてしまう可能性がある。反応が疑わしい場合には再検査を実施し、判定に迷う場合には無理に判定せず、他の検査法で確認することを考慮していただきたい。

陰性コントロールの陽性反応については、今後も課題になると思われる。陰性コントロールの意義は、コンタミネーションの有無を確認することができ、正しく試験操作を実施した裏付けになる。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、原因の調査を行い、その原因に応じて対応・改善（使用器具や作業環境の清掃、試験操作手順の見直し等）し、再検査の実施を推奨する。

信頼性の高い結果を報告するためには、適正に管理された試薬・装置を使用し、正確で安定した手技の下で得られた検査データを、正しく判定できるよう心掛けることが必要である。

## 第25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—

高田慎之介<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

全 77 施設中 Sanger 法での参加施設は昨年度同様 3 施設 (3.9%)、NGS 法での参加施設は 1 施設減の 4 施設 (5.2%) であった。

#### 2) 試薬キット (判定ソフト) および検査対象領域

Sanger 法では SeCore (uTYPE7.3) が 2 施設, AlleleSEQR (Assign-SBTv4.7) が 1 施設であった。SeCore を用いた 2 施設の検査対象領域は, HLA-A では exons 2-4 または exons 1-5 を, -B では exons 1-4 または exons 1-5 を, -C では exons 2-6 または exons 1-7 をそれぞれ対象としており, -DRB1 では exons 2-3 を, -DQB1 では exons 2-3 を, -DPB1 では exons 2-4 を両施設ともに対象としていた。AlleleSEQR を用いた施設は HLA-A, -B, -C 共に exons 2-4 を, -DRB1, -DPB1 は exon 2 を, -DQB1 は exons 2-3 を対象としていた。

NGS 法では AllType NGS (TypeStream Visual) が 3 施設, ScisGo HLA (GeMS-UI) が 1 施設であった。AllType NGS を使用していた施設では A, B, C, DQA1, DPA1 については Full gene を対象としており, 他の DRB1/3/4/5, DQB1, DPB1 については exon 2 から 3' UTR までを対象としていた。ScisGo HLA を用いた施設では A, B, C が exons 1-7 を, DRB1/3/4/5, DQB1, DPB1 および DQA1 が exons 1-4 を, また DPA1 のみ exons 2-4 を対象としていた。

#### 3) 参照配列

Sanger 法では 3 施設のうち 2 施設が最新の参照配列 (2021 年 6 月時点; IMGT version report 3.43.0) を用いていたが, AlleleSEQR を用いた 1 施設のみ IMGT version report 3.29.0 であった。これは AlleleSEQR のメーカーサ

ポートが終了しているためである。

NGS 法では AllType NGS を用いた 3 施設が IMGT version report 3.43.0 を使用していた。ScisGo HLA を用いた 1 施設は IMGT version report 3.39.0 を使用していたが, 2021 年 6 月当時の Sciscloud は 3.39.0 が最新版であった。AlleleSEQR を除き各施設とも, リリースされている最新の参照配列を用いていた。

### 2. 解析項目

以下の項目について解析を行った。

- 1) Quality Value (Trace Score) -Sanger 法と NGS 法
- 2) リードデプス -NGS 法
- 3) AllType Lot 間差 -NGS 法
- 4) カバー率・アレルバランス -NGS 法

詳細は, 学会公式サイト第 25 回 QCWS 解析結果報告集をご参照頂きたい。

### 3. 結果と考察

1) Sanger 法における Quality Value (以下, QV) は, 大部分の sequence data で  $QV \geq 20$  であることを認めたものの, 一部の sequence data (HLA-B exon1 forward primer および DRB1 exon2 forward primer) に  $QV \leq 20$  を認めた。HLA-B exon1 forward primer に対する原因はシーケンスの読み始め (primer3' 末端から数十ベース) の分離不良によるもの, DRB1 exon2 forward primer に対する原因は反応物の精製が不十分であった可能性が考えられた。

NGS 法における各検体の QV は, Ion S5 を用いた 2 施設では  $QV \geq 20$  の reads 割合が 88.4% 以上, miseq を用いた 2 施設では  $QV \geq 30$  の reads 割合が 81.6% 以上であることを認めた。また Ion S5 を用いた 2 施設

設では、1 検体当たりの総リード数に最大 5.7 倍の差を認めましたが、これは 1 run に対するサンプル数の違いによるものであった。

- 2) リードデプスは各施設全ての検体で Average read depth  $\geq 250$  を認めており、key Exon のベースコールは十分な coverage をもって判定できたと考える。また ScisGo 試薬では検体間の Average read depth のバラツキが軽微である一方、AllType 試薬では DRB1, DRB3/4/5 でバラツキが大きくなる特性が認められた。
- 3) AllType 試薬 Lot14 は Lot13 と比べ、一部のローカスに 1<sup>st</sup> PCR primer が追加されている。この primer の追加に伴う、検体間のリード数とローカスごとのリード数の割合の調査を行ったが、双方で同程度の値を示し Lot 間差を認めなかった。なお、Lot 間差の解析結果は今回配布された検体のみ有効である。

- 4) 各施設のすべての検体でカバー率は 98% 以上、アレールバランスは 0.3 以上を認める良好なデータであった。

#### 4. まとめ

---

Sanger 法では全施設で適切な判定結果であった。QV が低値を示すシーケンスデータについては、再検査を行い信頼性の高いデータで型判定を行うことを推奨する。

NGS 法では全施設で良好なクオリティデータであり、適切な判定結果であった。また各施設共にサンプル間のデータ品質が均一であったことから、安定した手技の下でライブラリーが作製されたと推測する。AllType 試薬は、二次解析においてサンプル間における平均リードデプスがバラツキやすいことを認めた。このような状況の時ほど statistical data の確認を推奨する。

## 第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート —試料説明 抗体 QC—

高橋 大輔<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. 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サンプルとした。

選定要件は、日本人に通常検出される抗体であること、一部の試料には HLA-C, -DP, -DQ 座に対する抗体、IgM 性抗体、HLA 以外の非特異的の反応を示す場合がある抗血清を含むサンプルの中から選定した。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 にトロンピン 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) にトロンピン (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、今年度は 4 サンプルとし、適正な操作に基づき正確に検査できること、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に重点をおいた。特に Q25S3 は過去に使用履歴があるサンプルを選定した。
- 2) 抗体特異性同定は、HLA Class I・Class II の判定がともに明確な特異性を示す 2 サンプルを選定した。
- 3) 仮想クロスマッチは、DNA-QC (Q25D1) と抗体 QC (Q25S1) をサンプルとして選定した。今年度はドナーのタイピング結果 (アレルレベル) を記入し、同定試薬におけるドナーアレルビーズの反応と考慮すべきアレルビーズの反応を記入し、最終的に細胞との反応予想を回答する形式とした。
- 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 (Q25S2) サンプルを選定し、特に配布されたヒト血液中の B 細胞に対する特異性を示す抗血清を選定した。

参加施設は、学会公式サイトに掲載した第 25 回 QCWS 解析報告集と全データを収納した ZIP ファイルを合わせて参照して頂きたい。

## 第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート —総合解析 抗体 QC—

高橋 大輔<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. 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 3 施設を除外して、病院・大学に属する施設 49 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 74% が病院・大学に属する施設であった。

部門別では、輸血関連部門 45 施設、臓器移植部門 44 施設、造血細胞移植部門 34 施設、その他 4 施設（すべての部門で重複あり）であった。また、総参加施設は昨年度と同じ 69 施設であったが、継続参加施設は 65 施設（94%）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験の内訳

抗体スクリーニング（抗体有無）は、FlowPRA Screening 20 施設、LABScreen Mixed・Multi 31 施設、LABScreen PRA 8 施設、WAKFlow Screen 6 施設、WAK-Flow MR 14 施設、LIFECODES LMX2 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・ExPlex）49 施設、WAKFlow 特異性同定 6 施設、LIFECODES LSA 1 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、Class I では概ね一致した結果であった（Q25S1: 98.6%, Q25S2 98.6%, Q25S3: 97.1%, Q25S4: 98.6%）。また、Class II では Q25S3 以外は概ね良好な結果であった（Q25S1: 98.5%, Q25S2 98.5%, Q25S3: 84.8%, Q25S4: 98.5%）。

#### 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）であった。

Q25S1 において Consensus Result が保留であった抗原は、HLA Class I B39, B59, Cw15, HLA Class II DR14 であり、一致率はそれぞれ 65.4%, 57.7%, 61.5%, 57.1% であった。Q25S2 では、HLA Class I A11, B62, HLA Class II DR4 で一致率がそれぞれ、65.4%, 61.5%, 51.0% であった。また、同一 allele でもメーカー間で反応性が異なる場合があり、試薬の差が最終判定の差異に繋がるケースが散見された。さらに、クラス II（DQ）において、Q25S1 では多くの施設が DQB1 の反応性から特異性を DQ2+DQ4+DQ7+DQ8+DQ9 とした一方で、一部の施設では  $\alpha$  鎖を加味し、DQA1 抗体の存在が否定できないと判断し、スコアを 4 としていた。同様に、Q25S2 の DQ5+6 についても、DQA1 に対する抗体の存在が否定

できなかったため、スコアを 4 とした施設を認めた。

#### 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、69 施設中 68 施設で評価 A (98.5%)、評価 B が 1 施設 (1.5%) であった。

##### 2) 抗体特異性同定

抗体特異性同定は、52 施設中すべての施設で評価 A であり、そのうち 5 施設が評価点 100 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。Q25S3 において、一致率が低かった要因は、LABScreen Mixed においてみられた弱い反応の解釈が施設間で異なっていたことが主な原因と考えられる。また、Q25S3 は、過去に使用したサンプルであったため、以前の結果と比較を行ったところ、クラス II は前回の結果においても一致率がやや低い傾向で

あった。前回の不一致の原因は、特異性同定試薬を用いて抗体の有無を判断していたことにより生じていたのに対して、今回はスクリーニング試薬での不一致と考えられ、その理由は異なっていると考えられた。今後は、スクリーニング試薬における差を是正していくために、再現性の確認や内部精度管理の強化といった方策を考えていく必要があると考える。

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が、一部の抗体で Consensus Result が保留であった。一致率の低かった抗原は、その多くが蛍光強度 3,000 以下の弱い反応であり、また反応強度のばらつきも大きかったことから、各施設での判断の差が生じ易かったためと考えられる。また、抗体特異性解析において、クラス II の  $\alpha$  鎖の多型を考慮し判定すべきか否かは今後の課題と考える。

参加施設は、学会公式サイトに掲載した第 25 回 QCWS 解析報告集と全データを収納した ZIP ファイルと合わせて参照して頂きたい。

# 第 25 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—

藤田 龍司<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

FlowPRA Screening の参加施設は Class I & II 両方ともに 20 施設であった。参加部門の内訳は、輸血関連が 7 施設、臓器移植関連が 18 施設、造血幹細胞関連が 8 施設であった。他方との併用状況は、特異性同定検査、FlowPRA Screening 検査、MPHA スクリーンを行う施設が 12 施設あった。併用の記載が無い施設が 8 施設あった。

### 2. 測定機器と試薬ロット

試薬 Lot は Class I が Lot18, Lot19, Class II が Lot21, Lot22 であった。使用機器は Beckman Coulter が 12 施設、Becton Dickinson and Company が 8 施設であった。二次抗体 Lot は Lot43 と Lot44 であった。陰性対照血清は Lot27, Lot28, Lot29, 自家調整試薬であった。陽性対照血清は Class I & II でメーカー純正、自家調整試薬（以前の QCWS 検体）などであった。使用する試薬等に関して期限が過ぎているものはなかった。

### 3. 解析方法

各施設の提出データからヒストグラムの波形、NC マーカー設定位置、%PRA、血清処理、試薬の種類を確認した。各施設の提出データを抽出し、QCWS プロトコルに遵守した再解析を FlowJo™ で行い、マーカー設定や %PRA の施設間差を確認した。

### 4. 解析結果

判定スコアは提出データと再解析データで一致率 100% であった。具体的判断基準はヒストグラムで判断している施設がほとんどであった。血清処理はほとんど

の施設が遠心と凍結融解を行い、追加で非特異反応吸着処理、EDTA 添加、DTT 添加、熱非働化を行っていた。

Class I %PRA に関して、提出データと再解析データを比較したところ、提出データの方が再解析データに比べて %PRA が上昇傾向にあった。2つ考えられることがある。一つ目は Negative Control マーカー設定位置にゆとりを持たせた場合と厳しく設定した場合で %PRA が変化すること。2つ目はマーカー設定位置を左にずらしているため %PRA 値が引き上げられていることが考えられた。

Class II %PRA は提出データと再解析データに相違はなかったが、陽性領域の設定マーカー範囲を変えている施設があった。

報告データの解析方法に QCWS プロトコル以外の方法が 3 パターン確認された。

- ① Negative Control のマーカー設定より左の位置にマーカーをずらしている 6 施設。
- ② Sample の反応に応じてマーカーの長さを調節している 1 施設。
- ③ Negative Control の山のピークが重なり合っているわけではない Sample にて 1 つ目の谷間にマーカーを設定している 2 施設であった。

### 5. まとめ

解析方法が QCWS プロトコルを含めると 4 パターン存在していたことが確認された。QCWS の %PRA 国内統一化を目指すためには、Control にメーカー純正品を使用したうえでマーカー設定位置を決める必要がある。メーカーを交えて施設間でディスカッションを行い、解析方法の統一化を図る必要があると示唆される。

## 第 25 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—

栗田 絵美<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 広島大学病院 診療支援部 臨床検査部門 輸血・細胞療法グループ

### 1. 概要

抗体-QC 参加 69 施設中 WAKFlow 参加施設は 19 施設 (27.5%) であり、スクリーニング検査では WAKFlow Screen (SCR) 6 施設、MR Class I が 14 施設、MR Class II が 6 施設、特異性同定検査では WAKFlow 特異性同定 (HR) Class I, II がともに 6 施設であった。参加部門の内訳は、輸血関連 16 施設、臓器移植 7 施設、造血幹移植 12 施設、企業 1 施設であった (重複あり)。他法との併用状況は、SCR を単独で使用していた施設が 4 施設、SCR と他のスクリーニング試薬を併用している施設が 2 施設、MR 単独使用が 7 施設、MR と他のスクリーニング試薬との併用が 7 施設、HR 単独使用が 3 施設、HR と他の特異性同定試薬との併用が 3 施設であった。

### 2. 解析方法

検査状況シートより、測定条件 (血清前処理、試薬 Lot、二次抗体、陰性対照の有無、測定機器と精度管理、判定基準) の確認を行った。データファイルより、各コントロールビーズの施設間差や、SCR 及び MR では各ビーズの Median 値と Index 値、HR では各ビーズの Median 値と Calmed 値の施設間差を検証した。また判定結果について、SCR 及び MR では抗体の有無、HR では抗体特異性について解析を行った。

### 3. 解析結果

血清前処理について、WAKFlow 標準プロトコルで必須とされている遠心の実施率は 76.7% であり、SCR 及び HR で必須とされている検体処理液添加の実施率は 66.7% であった。また、血清処理試薬使用時に陰性対照

をおくことが必須であるが、全例実施されていた。試薬 Lot は、SCR 及び HR では全施設共通であり、MR については 2 種の Lot が使用されていた。二次抗体は、1 施設のみ他試薬の二次抗体が使用されており、それ以外の施設ではキット付属品が用いられていた。測定機器に Luminex を使用していた 18 施設の精度管理について、7 日以内に Calibration を実施していたのは 7 施設 (38.9%)、測定日に Control を実施していたのは 4 施設 (22.2%) であった。施設の判定基準について、ソフトのデフォルトカットオフ値で判定 7 施設、エピトープや交差反応等を考慮したカットオフ値変更を行い判定 7 施設、記載なし 5 施設であった。

#### 1) SCR

バックグラウンドビーズ (BB-1, BB-2) は全ての施設で基準範囲内であったが、陽性コントロールビーズ (PB) は基準値以下の施設がみられた。当該施設は、BB 値も低いため Index 値は高値を示していたが、全体的に Median 値が低値であったことが誤判定に繋がったと思われる。今年度より検体使用量が増加し、前年度の BB の Median 値と比較して上昇傾向にあったが、デフォルトカットオフ値が「Median500<, Index1.5<」から「Median750<, Index2.0<」に変更されており、問題なく判定されていた。判定結果は、PB が基準値以下の施設において Q24S3 の Class I 抗体が陰性と判定されたことを除き、他の全施設の総合判定結果は一致していた。

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

全施設がバックグラウンドビーズ (BB) の Median 値が 1000 未満、陽性コントロールビーズ (PB) の Median 値が 8000 以上であり基準範囲内であった。再検が推奨される BB の Median 値が 500 以上の施設が、MR I では 3 施設、MR II では 1 施設あり、そのうち 1 施設で血清

処理試薬を用いた再検査が実施されていた。試薬の Lot 間差と思われる Median 及び Index 値の差がみられるピーズが存在したが、結果への影響は認めなかった。カットオフ値は、MR I が 1.54 ~ 5.43, MR II が 1.26 ~ 4.47 と各施設やサンプルによりばらつきを認めた。また各ピーズの反応は、MR II に比べて MR I の方が施設間差が大きい傾向にあった。MR のキット付属の二次抗体は IgG+IgM だが、他試薬の IgG を使用した S25064 では Index 値が高値傾向であった。S25054 は、他施設と比較して陰性対照の Median 値が高くなっており、そのため Index 値が低値となっているピーズが散見された。BB, PB が基準範囲内であっても、反応に矛盾したピーズが存在する場合には、陰性対照の各ピーズの Median 値を確認することをお勧めする。総合判定結果は、MR I・MR II とともに全施設一致していた。

### 3) HR Class I (HR I), HR Class II (HR II)

バックグラウンドピーズ (BB), 陽性コントロールピーズ (PB) は全ての施設で基準範囲内であった。各施設の Calmed 値が 500 ~ 2500 となるようなピーズの反応では、判定結果に施設間差を認めたが、Calmed 値が 500 以下または 2500 以上の反応の場合は、判定結果が全て一致しており施設間差を認めなかった。抗原別判定一致率は、HR I の Q25S1 が 94.6%, Q25S2 が 98.4%, HR II の Q25S1 が 100%, Q25S2 が 96.4% であり、高い判定一致率であった。判定不一致がみられた class I 抗原は Q25S1 が A24, B7, B13, B48, B61, Cw9, Cw10, Cw14, Q25S2 が A1, B37, B75, Cw9, Cw10 であり、class II 抗原は Q25S1 が DQ2, DQ4, DQ7, DQ8, DQ9,

Q25S2 が DR7, DR53, DQ5, DQ6 であった。判定結果が異なった要因として、①カットオフ付近の弱い反応の場合、陰性または陽性の判定が分かれたため②アレルによる反応差があり、施設により判定の解釈に相違があったため③ HR のみの施設と他法と併用している施設とで判定結果の導き方に差異がみられたため④ DQ の  $\alpha$  鎖の反応性を加味した結果解釈に差異がみられたため、と考えられた。

## 4. まとめ

血清前処理について、標準プロトコル通りに実施されていない施設がみうけられた。再度標準プロトコルを確認して確実に実施頂き、検査状況シートへの記載も正確にお願いしたい。コントロールピーズが再検基準を満たしていない施設や、ピーズカウント不足 (Sample Empty) の状態で判定されていた施設が存在した。解析画面で必ずエラー表示を確認し、試薬や手順、環境などを点検して再検査を行うことが、正しい結果を得るために重要と考える。また、サンプル番号が未入力のまま測定されていた施設が存在したが、サンプル番号を正確に入力して測定しなければ解析不可となるため、十分な注意が必要である。

WAKFlow 実施施設の総合判定結果において、S25114 の Class I の Q25S3 は LowPB のため検査不成立であったこと、S25010 の Class II の Q25S3 は SCR の結果では一致していたが他法の結果を加味して不一致になったこと、を除くと全施設一致しており、良好な結果であった。

## 第 25 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 宇多野病院 臨床検査科

### 1. 概要

抗体検査部門の参加施設 69 施設中 49 施設 (約 71%) が LABScreen を使用した。部門別では輸血関連が 26 施設, 臓器移植が 35 施設, 造血幹細胞移植は 27 施設, その他の部門での参加が 4 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 30 施設, LABScreen Multi が 1 施設, LABScreen PRA は 8 施設であり, LABScreen Mixed を使用した施設がやや増加した。特異性同定検査試薬では LABScreen Single Antigen が 49 施設 (Class I のみ実施が 3 施設), LABScreen Single Antigen Supplement は 22 施設であり, 両試薬ともに前回よりもやや増加した。

### 2. 解析結果

#### 1) 内部精度管理

今回の QCWS 抗体部門解析においても各施設のキャリブレーション実施状況, コントロール測定状況を比較した。多くの施設がメーカー推奨基準を満たしていたが, 未実施もしくは基準外の施設も見られた。内部精度管理の実施は正確な検査結果に必要であるため, メーカー推奨基準に沿った運用を検討して欲しい。

#### 2) その他の施設間差について

##### (1) 血清前処理方法

血清前処理方法は各施設により未処理も含め, 多種多様であったが, 各試薬の NC 値に大きな差異は見られなかった。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るため, ほとんどの施設が処理を実施していた。しかしながら, どちらか片方のみを実施した施設や未処理の施設があった。また一部未記入の

施設もあったため, 実施した処理について検査状況シートへの記入の徹底をお願いしたい。なお, 未実施の施設は QCWS 参考プロトコルの順守を合わせてお願いしたい。

##### (2) Luminex 測定装置の機器間差

Luminex 法で抗 HLA 抗体を測定する際に使用する装置には, Luminex100/200 と FLEXMAP 3D があるため, それらの機器間差について解析した。LABScreen Single Antigen nMFI  $\geq 500$  の範囲における nMFI 値では, 測定装置による機器間差は見られなかった。

#### 3) LABScreen Mixed, Multi

##### (1) Negative control serum, 各検体の Negative control Beads, positive control Beads

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, 各検体の Negative control Beads, positive control Beads の値は施設間差が大きかった。

##### (2) 各検体の測定結果

各サンプルの測定結果は各 NC 値, PC 値と同じように施設間差が大きかったが, 各施設基準の Cutoff 値 (NBG Ratio  $\leq 1.5 \sim 9.1$ ) を使用した抗体有無一致率は Q25S1, Q25S2, Q25S4 で Class I, Class II ともに 100% であった。しかしながら, Q25S3 は Class I の抗体有無一致率が 100% であったが, Class II では 74% であった。Q25S3 の Class II の NBG Ratio は各施設設定付近であったことや NBG Ratio のバラつきが原因であることが推察される。この結果より, カットオフ値付近の NBG Ratio は再現性の確認が必要であることが考察された。

#### 4) LABScreen PRA

##### (1) Negative control serum, 各検体の Negative control Beads, positive control Beads

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, ビーズカウントエラーを含んだデータや NC 血清を使用せずに H<sub>2</sub>O を使用した施設があった。各検体の Negative control Beads, positive control Beads の値は施設間差が大きかった。

##### (2) 各検体の測定結果

各サンプルの測定結果は各 NC 値, PC 値と同じように施設間差が大きかったが, 各施設基準の Cutoff 値 (nMFI  $\leq$  500 ~ 1000) を使用した抗体有無一致率は Q25S1, Q25S2, Q25S3, Q25S4 で Class I, Class II とともに 100% であった

#### 5) LABScreen Single Antigen, Supplement, Explex

##### (1) Negative control serum, 各検体の Negative control Beads, positive control Beads

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, NC 血清を使用しなかった施設があった。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く, 良好な結果であった。

##### (2) 各検体の測定結果

各サンプルの抗体有無一致率は Q25S1, Q25S2 において Class I, Class II とともに 100% であった。Q25S2 の Class I において未提出データがあった。LABScreen Single Antigen の nMFI と CV% を解析した結果では, 多く

のビーズ (HLA 抗原) において nMFI が高値になるほど CV% は低値になっていく傾向を示したが, Class II では nMFI が高値であったとしても CV% が高値のままのビーズがあった。

### 3. まとめ

LABScreen は抗体 QC 参加 69 施設中 49 施設 (約 71%) 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。試薬 Lot, 血清処理, 判定基準, カットオフ値の記載について検査シートへの記載がない施設や正しく入力されていない施設が多数認められた。各施設での入力確認や検査状況シートの改善が必要と思われる。ソフトウェアの判定による場合でも判定基準の入力は必要である。

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においても各施設による様々なカットオフ値が見られた。カットオフ値付近のデータや nMFI で示される検査結果については各試薬の特性を十分に理解した上で取り扱うことが必要である。一部施設ではメーカー推奨再検基準を満たさないデータも含まれたが, 多くの施設が再検基準を満たす良好な測定データであった。

良好な測定データを得るためには, 各試薬, 測定装置の内部精度管理を実施することだけでなく, 試薬管理にも留意しなければならないと考える。各施設においては QCWS 参考プロトコルに沿った検査手技の確認とともに適切な検査状況シートへの記載の確認も合わせてお願いしたい。

# 第 25 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) —

万木紀美子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 京都大学医学部附属病院 検査部

### 1. はじめに

今回の参加施設は 2 施設、内訳は LIFECODES Life Screen Deluxe (LMX) 抗体スクリーニング: 2 施設、LIFECODES LSA Single Antigen (LSA): 1 施設のみであった。結果解析が行えないため LMX について 2 施設の比較をおこなった。

### 2. 参加状況

今回 LIFECODES の参加施設の QCWS 参加部門は、①輸血関連・造血細胞・臓器移植の 3 部門に対応している施設と、②企業であった。

LIFECODES は洗浄方法に特徴があるが、推奨洗浄方法であるフィルタープレート+吸引ポンプを使用されていた。2 次抗体はキット付属の 2 次抗体 (IgG) を使用していた。

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が、いずれの施設も NC 血清、PC 血清の同時測定を実施していた。

### 3. LMX2 施設比較結果

2 施設いずれも NC 血清は適切な値で維持されていた。また、PC 血清の nMFI 値が比較的高い施設において QC サンプルの nMFI 値が高い傾向にあった。nMFI 値が高いプローブにおいてより nMFI 値の差が大きくなるが、同等の nMFI 値であっても QC サンプルによって nMFI 値の差が大きく異なった。具体的には Q25S1 はプローブによっては nMFI 値に 5,000 以上の差が認められたが、Q25S2、Q25S3 ではその差が小さくなり、Q25S4 については 2 施設の nMFI 値が同等の値であった。

### 4. まとめ

LMX 参加施設 2 施設、LSA1 施設であり、試薬ロットも異なっており施設間差を見る事はできなかった。LIFECODES は陽性コントロール試薬が添付されており、LMX の添付文書中に Observed Ranges というアッセイの妥当性評価の目安が示されている。他の検査法にも応用することにより日々の精度管理に役立つものと思われる。

# 第 25 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

仮想クロスマッチは、ドナーの HLA 型とレシピエントの HLA 抗体特異性同定検査（以下、同定検査）の結果から、細胞を用いたクロスマッチの結果を予測するものである。過去の当ワークショップにおいて、ドナーのアレルが同定検査試薬に含まれない場合や、同じ抗原型でもアレルによって反応性が異なる場合の回答について施設間で違いが見られたが、判定基準の違いに起因するものだけでなく、回答方法の解釈の違いによるものも混在していた。また、仮想クロスマッチの目的についての理解不足も見受けられた。

そのため、昨年より判定記入表が変更された。まずドナーのタイピング結果をアレルレベルで記入し、次いで同定試薬におけるドナーアレルピーズの反応、およびその他考慮すべきアレルピーズの反応などを記入し、最終的に細胞との反応予想を回答する形式とし、抗原型回答欄は廃止された。さらに、臓器移植・造血幹細胞移植・輸血において、重要となる抗原がそれぞれ異なることから、回答の前提となる分野を明示する欄が設けられた。これらの変更により総合判定の根拠がより明確に示されるようになった。しかし、ambiguity がある場合や連鎖不平衡を考慮して判定した場合、DQ や DP のように  $\alpha$  鎖にも多型がある場合の回答方法などに課題が残ったため、本年はさらに改良が加えられた。ドナーアレルピーズの回答欄は廃止され、反応予測の根拠としたアレルピーズを列挙する形式となった。連鎖不平衡による予想の回答欄も設けられた。また、参加施設からの要望を受け、任意項目として抗原型回答欄が復活した。

## 2. 解析方法

回答内容について施設間で比較し、不一致があった場合には同定検査の結果等からその原因を解析した。

## 3. 結果と考察

### 1) タイピング結果

HLA タイピング結果はほぼ一致していた。使用したタイピング試薬の種類により、ambiguity の有無に違いがあった。

### 2) ドナー細胞上の各抗原との反応予測

反応性の予測はおおむね一致していた。使用した試薬の感度および特異性やカットオフ設定の違いに起因すると考えられる相違はなかった。B および C 抗原において、ドナーアレルのピーズが陰性で、同じ抗原型の別アレルが陽性の場合に回答が分かれた。例えば、ドナー HLA 型 B\*39:01（同定試薬で該当ピーズは陰性）に対し、30 施設が陰性と回答したのに対し、2 施設は B\*39:02 および \*39:13 のピーズが陽性だったことを根拠に陽性とした。また、ambiguity が存在する場合の対応でも回答が分かれ、例えば、タイピング結果が C\*08:01/22 であった 22 施設のうち、19 施設が陰性としたのに対し、3 施設が C\*08:22 ピーズが同定試薬に含まれないことを根拠に保留 / 判定不能とした（C\*08:01 ピーズは陰性）。

### 3) ドナー細胞の反応予測（総合判定）

クラス I で不一致が見られた。全 32 施設のうち、26 施設が陰性としたのに対し、3 施設が陽性、3 施設が保留 / 判定不能とした。不一致の原因は、前項で述べた同抗原型別アレルピーズと同定試薬に含まれないアレルの扱い方の違いであった。クラス II は回答のあった全 29 施設で陽性であった。回答のなかった 3 施設は輸血分野であった。

#### 4) 判定記入表の変更について

変更により、総合判定の根拠がより明確に示されるようになった。回答時および QCWS 集会において改善要望は出されていない。

### 4. 今後の課題

#### 1) 同一抗原型の別アレルの扱い

ドナーのアレルが同定試薬に含まれない場合の対応、および同じ抗原型の別アレルで反応性が異なる場合の対応についてコンセンサスを形成していく必要がある。エピトープ解析が一助となると期待されるが、より簡便な解析ツールが必要である。

#### 2) 判定基準と試薬

施設によって同定検査の判定基準が異なることや試薬

の違いによる結果の乖離については、仮想クロスマッチにおける課題として挙げられてきている。今回の検体では問題とならなかったが、引き続きデータの蓄積を通じて対応について検討する必要がある。

#### 3) DP および DQ の判定

DP および DQ 抗原は  $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖の両方に多型があり、細胞上ではそれぞれ最大 4 通りの組合せで存在していると考えられる。 $\alpha$  鎖のタイピングを実施できる施設はまだ少数であるし、タイピングしたとしても同定試薬のビーズは全ての組合せを網羅していない。また、組合せによって安定性が異なるとの報告もあり、他抗原と比べて判定が難しい。今回の検体では、他抗原の反応が明確であったこともあり総合判定には影響しなかったが、今後検討すべき課題である。

# 第25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>1,3)</sup>, 佐藤 滋<sup>2,3)</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> 秋田大学医学部附属病院 腎疾患先端医療センター

<sup>3)</sup> 日本移植学会 移植関連検査委員会

### 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9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。昨年より、ABO血液型抗体価の精度管理を追加したが、ここでは詳細については割愛する。

### 2. 経過

今回、47施設からの参加があり例年とほぼ同じ参加数であった。参加施設内訳は、臓器移植ネットワークの検査施設が25施設、移植関連病院が15施設、血液センター3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。8月下旬に集計結果を各施設にメールで配信、予定されていた学会大会(京都)はWEB開催に変更になり、ライブ配信での報告となった。同様に9月に開催された第57回日本移植学会総会(ハイブリット)でもライブ配信での報告を行った。今後は令和4年2月に開催予定の第55回日本臨床腎移植学会(東京)において報告予定である。

### 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、Q25S2を選択し、抗体特異性内はA\*02:01(18,581), A\*02:06(18,308), DRB1\*15:02(18,175), DRB5\*01:02(9,245), DQB1\*06:01(7,627)がドナー特異的抗体 Donor Specific Antibody ; DSA となる想定であった。( )内の数値はnMFIを示す。検査方法は、FCXMが最も多く全体の7-8割の施設で実施され、CDCは4-5割程度、ICFAは3割であった。プロトコルに関しては、各施設での日常のプロトコルで実施して頂いた。各参加施設のプロトコルはアンケート調査を行いまとめたので参照して頂きたい。

### 4. 結果

CDCにおいては全施設において陽性で一致した結果であった。FCXMもほぼ全施設で陽性で一致した結果であった。ICFAにおいては、Class II, DR, DQにおいて一致率がやや低くindexにばらつきを認めた。

### 5. まとめ

今回、サンプル選定として強陽性になる組み合わせを準備し、多くの施設においては良好な結果であった。クロスマッチ検査は一度限りの検査であり、移植の可否に関わる重要な検査である。各施設において、内部精度管理に加え、外部精度管理に継続参加し精度維持に努めて頂きたい。