

令和6年度初心者講習会レポート

令和6年度初心者講習会レポート —全体の経過—

黒田ゆかり¹⁾

¹⁾ 日日本赤十字社九州ブロック血液センター
一般社団法人日本組織適合性学会 教育委員会初心者教育部会*

1. 初心者講習会の目的・概要

日本組織適合性学会教育委員会に属する初心者教育部会では、例年、HLA検査での経験が浅い方や今後携わる予定の方々を対象に、最低限必要な基礎知識の習得と、日頃の疑問を解決し相談できる先輩や仲間との交流を持つことを目的とした「初心者講習会」を大会期間中に開催している。

初心者講習会は、2014年の長崎大会で「QCWS ミニ集会」として第1回目を開催し、翌年以降は「初心者講習会」と名称を変更して開催してきた。2020年に予定されていた京都大会では、コロナ禍により大会開催が延期された中、参加者が少人数であるという利点を活かして初心者講習会をオンラインで開催した。今でこそ現地に赴くことなく参加可能なオンラインによる参加形式は有用なツールとして多用されているが、当時はオンライン参加方法を別途案内したり事前に練習会を開催したりと手探りの状況であった。その後、2021年、2022年もコロナ禍によりオンライン開催としたが、2023年、第11回となる2024年は現地開催とした。

2. 今年度の企画

基礎講義とワークショップ（以下、WS）2企画を開催し、WS参加者は基礎講義受講を必須とした。講師及び担当企画は以下の通り。なお、詳細な内容はそれぞれ

のレポートを参照いただきたい。

基礎講義：杉本達哉

WS1：小山暁史、藤井明美、高山智美、石本倫子、杉本達哉、黒田ゆかり、木村彰方、椎名隆

みんなで考える HLA タイピング検査 ～基礎から日頃の疑問まで～

WS2：石塚敏、前島理恵子、内田みゆき、栗田絵美、高陽淑、成瀬妙子

エピトープについて学ぼう？話し合おう？エピトープを知ろう！

3. 今年度の経過

2024年5月27日に学会ホームページで参加者募集を開始し、同時に学会員向けのメール配信を行った。参加申し込みは、Google forms を利用して行い、講義内容の参考となるように実務経験年数の他に質問したいことなどを具体的に記載できるようにした。7月31日の応募締め切りまでに、基礎講義のみ3名、WS1が17名、WS2が9名の計29名から事前申込があった。参加枠や応募者の経験年数から、応募者全員が希望通りの企画に参加可能と判断し、8月7日にメールにて応募者へ参加可能であると通知を行った。9月17日には、参加者に事前配布資料として、有用な文献やサイトを記載しているリンク集、HLA用語集（入門編）Ver.1.5、これまで

* 一般社団法人日本組織適合性学会 教育委員会初心者教育部会

黒田ゆかり¹⁾、藤井明美²⁾、石塚敏³⁾、内田みゆき⁴⁾、木村彰方⁵⁾、高陽淑⁶⁾、小山暁史⁷⁾、椎名隆⁸⁾、杉本達哉⁹⁾、高山智美¹⁰⁾、成瀬妙子¹¹⁾、前島理恵子¹²⁾

¹⁾ 日本赤十字社九州ブロック血液センター、²⁾ 県立広島病院、³⁾ 東京女子医科大学、⁴⁾ 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所、⁵⁾ 東京科学大学、⁶⁾ 日本赤十字社近畿ブロック血液センター、⁷⁾ 東海大学医学部附属八王子病院、⁸⁾ 東海大学医学部医学科基礎医学系分子生命科学領域、⁹⁾ 東海大学医学部附属病院、¹⁰⁾ 大阪急性期・総合医療センター、¹¹⁾ 長崎大学熱帯医学研究所、¹²⁾ 帝京大学医学部附属病院

の開催で質問があったものに回答を付けた Q & A 集、WS2 参加者用の事前課題を配信した。

9月26日開催当日の参加者数は、体調不良により参加できなかったWS2の1名を除く事前申込者28名の他、当日受付の19名を合わせた計47名であった。なお、当日受付の受講者は基礎講義のみを受講可能としている。受講後には、9月30日を締め切りとして Google forms でアンケートを実施した。

4. 初心者教育部会における準備

初心者教育部会では、2024年3月から企画立案や担当講師の決定を行い、その後8月まで企画毎の担当者でメール協議を重ねて資料作成を行った。9月8日には講師全員による事前打ち合わせ及びリハーサルを実施した。その後、資料の修正を重ねて9月26日の開催を迎えた。

5. HLA 用語集（入門編）の作成と更新

初心者教育部会用語分科会では、2019年より初心者講習会の開催と並行して「HLA 用語集（入門編）」の作成を行っている。初心者講習会に参加した後のアンケートにおいて、追加してほしい語句を収集し、年に一度、用語や略語を追加してバージョンアップしている。

今年度は、学会誌 MHC 第30巻2号に掲載した「HLA 用語集（入門編）Ver.1.4」(https://www.jstage.jst.go.jp/article/mhc/30/2/30_78/_article/-char/ja) に複数の語句を追加した。また、最初のページには語句一覧を作成し語句とリンクさせて Ver.1.5 とした。なお、今回の用語集更新担当は以下の通り。

用語集更新担当：高山智美，黒田ゆかり，木村彰方

6. アンケート結果

アンケートは、参加者全員を対象に、開催当日の9月26日から9月30日までに Google forms で行い、匿名で回答を収集した。事前申込者28名中27名（回答率96.6%）と当日参加の19名中6名（回答率31.6%）の計33名から回答を得た。主な回答内容を次に示す。

1) WS 参加者 24 名の実務経験年数と参加回数

実務経験年数1年未満の参加者が9名（36.0%）で最多、次いで1年以上2年未満が6名（25.0%）であった。初めての参加者は18名（75.0%）で最多、次いで2回

目の4名（16.7%）であった。

2) 講義時間，講義内容，講師の説明

①基礎講義（回答者33名）

講義時間は「ちょうどよい」が23名（69.7%）次いで「やや短い」が8名（24.2%），講義内容は「良かった」が30名（90.9%），講師の説明は「大変わかりやすかった」が27名（81.8%）であった。

② WS1（回答者17名）

講義時間は「ちょうどよい」が11名（64.7%）次いで「やや短い」が4名（23.5%），講義内容は「良かった」が17名（100%），講師の説明は「大変わかりやすかった」が16名（94.1%）であった。

③ WS2（回答者7名）

講義時間は「ちょうどよい」が4名（57.1%）次いで「やや短い」が2名（28.6%），講義内容は「良かった」が7名（100%），講師の説明は「大変わかりやすかった」が7名（100%）であった。

3) 良かった資料（回答者27名，重複回答あり）

事前配布した資料では、HLA 用語集（入門編）が22名（81.5%）で最多、次いで Q & A 集14名（58.3%），リンク集13名（54.2%）であった。また、WS2 における事前課題は WS2 に参加した回答者7名全員（100%）が良かった資料として挙げていた。

4) 同じような講習会があった場合に他の人に勧めるか（回答者33名）

参加者33名全員が勧める（100%）と回答した。

5) 希望する開催形態（回答者33名，重複回答あり）

ハイブリッド型が24名（72.7%），次いで集会型18名（54.5%）であり、勤務状況により現地参加や Web 参加を使い分けたいと考える意見があった。

6) 全体評価（回答者33名）

「大変良い」が26名（78.8%），「良い」が7名（21.2%）で概ね好評であった。

7. まとめ

初心者教育部会は、認定組織適合性指導者を中心とし、長年 HLA 業務に携わってきた経験者の中で QCWS 解析や学会発表などの経験を積んだ講師などで構成している。そのような講師も初心者時代には HLA 分野の難しさを目の当たりにして気落ちした経験を持っているからこそ、初心者に寄り添った講義が出来るように長い時間

をかけて準備している。

学生時代に学ぶHLA情報は極めて少なく、社会人となってHLA検査業務に配属された場合に、基礎知識がほとんど無い状態で携わらなければならないことや、HLA検査のほとんどが自動化されておらず複数の工程を技術者自身が行うものであり技術を要するということが、判定には試薬、解析ソフト、HLAに関する知識や判断力が求められること、報告には結果を解釈するための知識や応用力が必要であるということなどから、「HLAは難しい」という感覚に陥ることがままある。さ

らに、多くの施設において、HLA検査は少人数の担当者で実施されており、同一部署内にHLA検査の知識や技術を備えた指導者がいないことも多い。初心者教育委員会では、初心者講習会において、日常業務に必要な基本的な知識を得る機会とすること、同じ環境の方との交流の機会とすること、日頃の疑問を直接聞くことができる機会とすることなど、参加者の皆様が今後も安心して業務に向き合うことができる環境づくりの一助となれば幸いである。

令和6年度初心者講習会レポート

—基礎講義—

杉本 達哉¹⁾

¹⁾ 東海大学医学部付属病院

1. 基礎講義の概要

今回、組織適合性検査の経験が浅い方、もしくは今後携わる予定の方を対象とし、「ヒト組織適合性抗原 (HLA) について」と題して、関連する基礎知識の講義を実施した。講義では、難しい言葉を使わず、詰め込みすぎないことを心がけ、また演者も一緒に勉強するイメージで進めた。講義内容は、MHCとHLAの違い、クラスI分子とクラスII分子の特徴、抗HLA抗体による臨床への影響について説明した。HLAを学ぶ際、専門用語で戸惑うことがあるかもしれない。その場合、HLA用語集(入門編) Ver.1.4 (MHC(日本組織適合性学会誌) 30(2): 78-91, 2023.)は大変有益であるので、参考にさせていただきたい。

2. MHCとHLAの基本概念

MHCとは、major histocompatibility complex(主要組織適合性遺伝子複合体)の略語で、組織適合性を決定する主要な遺伝子複合体である。MHCは当初、マウスの移植適合性を決定する分子として発見された。1952年にフランスのDaussetが頻回輸血患者血清中に白血球凝集試験で反応する抗体を見出し、これに対応する抗原をMac抗原(現在のHLA-A2抗原)と命名した。これは「ヒト白血球抗原: Human Leukocyte Antigen」の発見であり、その頭文字からHLAと呼ばれるようになった。MHCと表現されている場合は、脊椎動物以上の生物すべてに共通したことがらを表す場合に使用され、H2やHLAと記している場合は、マウスやヒトに限定した内容のことを表す。動物種によってはH2やHLAなどが命名されていないことがあり、その場合は「動物名」の後にMHCをつけて表すことが多い。(例: アカゲザル

MHC: Mamu-MHC アカゲザル (Macaca mulatta) の学名に由来)

3. HLA分子の構造と機能

HLAは分子構造と機能からHLAクラスI分子とHLAクラスII分子に大別され、特殊な細胞を除き基本的にあらゆる細胞で存在する。それぞれの機能として、HLAクラスI分子は細胞性免疫に、HLAクラスII分子は細胞性免疫のみならず、抗体産生の液性免疫に関与する。自己と非自己の認識における重要な動きとして、自己HLA分子と消化された抗原ペプチドとが結合して細胞膜上に提示されることが挙げられる。HLAクラスI分子は3つの α 鎖と β 2ミクログロブリンを保有し、細胞膜を1回貫通する構造を有している。HLAクラスIIは α 鎖2つと β 鎖2つを保有し、細胞膜を2回貫通する構造を有している。現在、HLAタイピング検査はDNAタイピングが主流となっており、HLAクラスIの検査する遺伝子領域は、 $a1$ と $a2$ ドメインの多型性を示す領域のエキソン2及びエキソン3を解析対象としている。HLAクラスIIを検査する遺伝子領域では、 $a1$ ないし β 1の多型性を示す領域のエキソン2を検査対象領域としている。HLA遺伝子領域は第6染色体短腕部6p21.3に位置し、親から子へメンデルの遺伝の法則に従い、ハプロタイプで受け継がれる。減数分裂の際に相同染色体上で遺伝子が交換されることがあり、これを組換え、また交差やcrossing overと呼ぶ。

4. 抗HLA抗体と臨床的影響

抗HLA抗体は非溶血性輸血反応を惹起することが知られている。血小板輸血不応症 (platelet transfusion

refractoriness : PTR) や臍帯血移植時の生着不全に関与することが明らかになっている。また抗 HLA 抗体などが原因と推定されている輸血関連急性肺障害 (Transfusion-related acute lung injury : TRALI) は非溶血性輸血反応の中でも重篤な副作用の一つである。

5. HLA 関連検査の重要性

HLA 関連検査には様々な方法が存在し、各種検査の特性を把握することが大切である。また、検査結果の解釈には専門知識を要する。HLA タイピング検査では、

ハプロタイプや HLA 頻度を考慮して検査を実施する必要がある。抗 HLA 抗体は様々な臨床への影響があるため、適切な検査が求められる。

6. まとめ

HLA 分子の構造、発現や遺伝の基礎を知ること、関連検査や臨床応用に役立つことがある。組織適合性検査を学ぶためには、基礎知識が極めて重要となり、その土台作りが大切である。本講義が、組織適合性検査に携わる方への支援となれば幸いである。

令和6年度初心者講習会レポート —ワークショップ1 (HLA タイピング検査)— 「みんなで考える HLA タイピング検査 ～基礎から日頃の疑問まで～」

小山 暁史¹⁾・藤井 明美²⁾・高山 智美³⁾・石本 倫子⁴⁾・杉本 達哉⁵⁾・
黒田ゆかり⁶⁾・木村 彰方⁷⁾・椎名 隆⁸⁾

講師

¹⁾ 東海大学医学部附属八王子病院

²⁾ 県立広島病院

³⁾ 大阪急性期・総合医療センター

⁴⁾ 高知県・高知市病院企業団立高知医療センター

⁵⁾ 東海大学医学部附属病院

アドバイザー

⁶⁾ 日本赤十字社九州ブロック血液センター

⁷⁾ 東京科学大学

⁸⁾ 東海大学医学部医学科基礎医学系分子生命科学領域

1. ワークショップ1の概要

初心者講習会ワークショップでは参加資格を原則、組織適合性検査の業務歴4年未満の方を対象としている。また、HLA タイピング検査未経験であるが、今後従事する予定の方も参加している。近年、HLA タイピング検査はDNA タイピングが主流となっているが方法は多岐にわたる。このような背景からワークショップ1では国内で多くの施設で導入されているPCR-SSO法とPCR-SSP法を中心として取り扱うことにした。企画の目標としては、参加者が日常業務ですぐに応用できる知識と経験をわかりやすく伝えることとした。

2. 今年度の企画内容と詳細

ワークショップ1では各検査方法の基礎原理から操作方法の注意点まで細かなポイントを含めた講義とした。HLA タイピング検査では測定結果の妥当性を評価することも重要であり、HLAの遺伝様式など検査精度向上に必要な知識の講義も含めた。今回のワークショップは

ひさびさの対面形式で開催され、対面のメリットを活かしたディスカッション形式(Case Study)の講義を取り入れる形式とした。

実際の講義内容と担当者は次の通りである。

1) PCR-SSP法の概説：藤井先生

2) Luminex[®]を使用したHLAタイピング(PCR-rSSO法)測定の原理と方法：小山先生

3) HLAタイピングの基礎(HLA分子の構造、遺伝子様式、頻度など)：高山先生

4) Case Study (1症例)：講師全員

1) PCR-SSP法の概説について

PCR-SSP法では検査方法の特徴や他法との相違点、各工程での注意点を詳細に説明した。SSP法では1ヶ所のバンドの判定差異が結果に影響を及ぼす点に言及し、バンドを判定する際の注意点や連鎖不平衡の重要性を解説した。

2) Luminex[®]を使用したHLAタイピング(PCR-rSSO法)測定の原理と方法について

PCR-SSO法では多くの施設で導入しているLuminex[®]を用いた蛍光ビーズ法について説明を行なった。SSO法ではHLAアレルの多型性を示す塩基配列にプライマーが設定されているが、その設定箇所は試薬によって異なる。またDNA抽出、PCR、ハイブリダイゼーションの各工程にも重要なポイントがあり、各工程の品質が、検査精度に影響を及ぼすこと解説した。

3) HLAタイピングの基礎(HLA分子の構造, 遺伝子様式, 頻度など)について

本講演では、各検査方法から得られる測定結果に対して妥当性評価に必要な知識を説明した。具体的にはハプロタイプやHLA頻度を活用することで、測定結果の精度を向上させることが可能であり、複数の事例を用いて妥当性評価のポイントや考え方を解説した。

4) Case Studyについて

近年、骨髄バンクではNGS法でHLAタイピングを実施している。NGS法では解析対象となる遺伝子領域がSSO法やSSP法と比べると飛躍的に多い。HLAアレルの多型はエキソン2, 3などに多く存在するが、イントロンや他のエキソンにも存在する。このため、同じ

検査対象でも方法の解像度の違いにより結果が異なることがある。

Case StudyではNGS法とSSO法で判定結果が異なった事例を紹介し、異なった理由や臨床に報告する際のポイントをディスカッション形式で進め解説した。

3. 今年度の所感

HLA検査は実施している施設や情報を得る機会も少なく、不安に感じる方が多いのではないかと考えていました。HLA検査の技術は日々進歩を遂げていますが、その解釈にはHLA基礎知識の理解が必須となります。そのような中で初心者講習会の存在意義はとても重要であり、今後もその必要性は高まると感じています。

今回ワークショップ1の取りまとめ役として参加しましたが、アンケート結果から当初の目標を概ね達成できたことに安堵しています。

最後になりますが、今回限られた時間の中でつつがなく講演を終えたことに、各講演を担当された先生およびアドバイザーの先生方には感謝申し上げます。

令和6年度初心者講習会レポート —ワークショップ2（抗体検査）— 「エピトープについて学ぼう？話し合おう？エピトープを知ろう！」

石塚 敏¹⁾・内田みゆき²⁾・前島理恵子³⁾・栗田 絵美⁴⁾・高 陽淑⁵⁾・成瀬 妙子⁶⁾

講師

¹⁾ 東京女子医科大学

²⁾ 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

³⁾ 帝京大学医学部附属病院

⁴⁾ 広島大学病院

アドバイザー

⁵⁾ 日本赤十字社近畿ブロック血液センター

⁶⁾ 長崎大学熱帯医学研究所

1. 講義内容

1) 組織適合性抗原（HLA）について

HLA の概要説明、特に、HLA Class I について遺伝情報がコードされている部分（エクソン）の遺伝子構造と機能的に独立した部分（ドメイン）からなるタンパク分子構造との関係について説明し、更に、A*01:01 をモデルとしてシグナルペプチドからのアミノ酸配列によるドメイン構造とエプレットの表記法について説明した。

2) 交差反応性グループ（CREG）とエピトープについて

CREG とは、リンパ球と既知の HLA 抗血清を使用したリンパ球細胞毒性試験（LCT）により、実際の反応性から HLA の類似性をまとめた古典的な交差反応性グループを表す。また、近年新たに考案された HLA に類似した合成抗原ビーズと既知の HLA 抗血清を使用し蛍光ビーズ法により、反応したビーズの第二区域の遺伝子型から共通エプレットを推定解析する手順、更に、吸着解離試験を用いて実際の反応性から免疫原となる抗体（抗血清に含まれている抗体）を推定する方法を説明した。特に、エプレットとは、抗原が抗体と結合する中心的な部位（機能的エピトープ）を表し、構造的エピト

プとは、抗体との結合親和性を調節するため推定されたエプレット以外のアミノ酸も含んだエピトープを表す。更に、抗体が抗原と結合する部位をパラトープと表現し、抗原・抗体反応の最小単位がエプレット・パラトープであることを説明した。

3) 抗 HLA 抗体検査について

輸血・造血・臓器移植についてそれぞれ抗 HLA 抗体検査の目的を説明し、特に、検査法の主流である蛍光ビーズ法の種類と特徴、そして、前処理のポイントなどを説明した。また、症例を提示して、特に Bw4 など抗 HLA 抗体検査結果の反応性から遺伝子座を共通するエピトープの推定、更に免疫原となる抗体の推定方法まで説明した。

4) クロスマッチについて

レシピエント血清とドナーリンパ球を使用するクロスマッチの種類と前処理のポイントなどを説明した。また、臓器移植をモデルとした症例を提示し、レシピエントとドナーのミスマッチ HLA 遺伝子型と臓器移植後に産生された抗 HLA 抗体（ドナー特異的 HLA 抗体）を検索する仮想クロスマッチ（バーチャルクロスマッチ）についても説明した。更に、レシピエントとドナーの HLA

遺伝子型の第二区域からエピトープマッチングによるエプレット推定解析、レシピエント血清とHLAに類似した合成抗原ビーズを使用する蛍光ビーズ法により反応したビーズからエピトープを推定するツールとしてHLA Fusion Matchmaker アルゴリズムの使用方法についても説明した。

5) グループディスカッションについて

今年度は、SNSを利用したエプレットの解析ソフトによる体験型グループディスカッションをワークショップとして初めて試みた。

ワークショップで使用する資料と参考となる解析ツールを事前に配布した。そして、当日は、学会PCにて説明を行い、ご自身の持参したPCで実際にエプレット解析を体験して頂いた。

2. 所感

今年度は、ワークショップ2（抗体検査）のリーダーとして参加させて頂きました。

ワークショップでは、限られた時間の中で参加された皆様がすべてをその場でご理解して頂くことは難しかったかもしれません。それでも、ワークショップに参加され少しでも得られた学問的・技術的な知識を自施設に持ち帰り、臨床応用して頂ければ初心者講習会の開催の意義があったと考えます。

今年度まで初心者講習会の講師として参加させて頂き、私自身にとって大変貴重な経験をさせて頂きました。

今後、皆様の益々のご活躍をお祈り申し上げます。