

第 29 回 HLA-QC ワークショップレポート

第 29 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—

高橋 大輔¹⁾

¹⁾日本赤十字社 血液事業本部中央血液研究所
一般社団法人日本組織適合性学会精度管理委員会[#]

1. ワークショップの経過

第 29 回 QC ワークショップの参加施設 (表 1) 数は、一昨年から 2 施設増加し 87 施設であった。参加の内訳は、DNA-QC に 79 施設、抗体-QC に 65 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 45 施設であった (重複参加含む)。4 月 18 日にサンプルを配付、データ提出期限を 5 月 30 日として、その後解析を行い、10 月 5 日に参集のみによる QCWS を開催した。

また、今回も昨年と同様に報告様式をグーグルフォームを利用した方法とした。グーグルフォームの利用による大きな混乱はなく、測定ファイルのアップロード回数を 1 回に制限したことで、前回見られた複数ファイルの中から最終版を選別する作業は不要となり、事務的負担の軽減につながった。一方で、データ提出において入力ミスなどの軽微な不備も散見されており、今後は回答項目の簡略化など、さらなる改善が必要と考えられる。

QCWS 集会参加後アンケートについては、昨年より減少したものの 99 件の回答があり、複数の建設的なご意見や要望を頂くことができた。今後の参考としたい。

2. 今回の QCWS のテーマと試料選定について

DNA-QC 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結果の表記法について理解すること、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 点とした。また、抗体-QC 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 CREG やエピトープなどの知識を基に正確な抗体特異性解析ができること、の 2 点とした。これらのテーマに基づき選定されたサンプルのうち、DNA および抗体部門から仮想クロスマッチ対象を、抗体部門からは移植学会連携全血クロスマッチ対象のサンプルを厳選している。

3. 解析

報告と担当者については、この後に続く内容で把握されたい。

4. QCWS 試料の総合結果について

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ており、表記については、本学会の精度管理委員会作成『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)』に従った。

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。

[#]一般社団法人日本組織適合性学会 精度管理委員会

高橋大輔¹⁾、高 陽淑²⁾、石本倫子³⁾、石塚 敏⁴⁾、内田みゆき¹⁾、大橋 順⁵⁾、金本人美⁶⁾、禿 蘭子⁷⁾、諫田淳也⁸⁾、木野佑亮⁹⁾、木村彰方¹⁰⁾、黒田ゆかり¹⁾、杉本達哉¹¹⁾、田中秀則⁹⁾、中野 学¹²⁾、西川晃平¹³⁾、吉田雅弥¹⁴⁾

¹⁾日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所、²⁾日本赤十字社近畿ブロック血液センター、³⁾高知医療センター、⁴⁾東京女子医科大学、⁵⁾東京大学、⁶⁾日本赤十字社福岡赤十字病院、⁷⁾札幌北楡病院、⁸⁾京都大学医学部附属病院、⁹⁾公益財団法人 HLA 研究所、¹⁰⁾東京科学大学、¹¹⁾東海大学医学部付属病院、¹²⁾日本赤十字社北海道ブロック血液センター、¹³⁾三重大学、¹⁴⁾日本赤十字社熊本赤十字病院

表1 第29回HLA-QCWS参加施設

1	三重大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部
2	ときわ会 余丁町クリニック	検査科
3	鹿児島大学病院	輸血・細胞治療部
4	公益財団法人 鷹揚郷腎研究所弘前病院	研究部 HLA検査室
5	藤田医科大学病院	輸血部
6	山形大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部
7	大阪大学医学部附属病院	輸血部
8	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
9	兵庫県立西宮病院	腎移植センター
10	札幌医科大学附属病院	検査部
11	北海道大学病院	検査・輸血部
12	琉球大学病院	検査・輸血部 輸血検査室
13	山形県立中央病院	輸血部
14	佐賀大学医学部附属病院	検査部
15	福島県立医科大学附属病院	輸血・移植免疫部
16	徳島大学病院	輸血・細胞治療部
17	市立札幌病院	検査部検体検査課HLA検査担当係
18	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HLA担当
19	京都大学医学部附属病院	検査部 輸血部門
20	福岡赤十字病院	移植センター
21	株式会社リプロセル	メディカル部
22	東京医科大学八王子医療センター	中央検査部 輸血検査室
23	東京大学医学部附属病院	輸血部
24	JCHO仙台病院	検査部
25	株式会社LSIメディエンス	遺伝子検査室 遺伝子検査グループ
26	株式会社ベリタス	バイオサイエンス本部 技術グループ
27	大分県立病院	輸血部
28	日本赤十字社血液事業本部 中央血液研究所	研究開発部 白血球担当
29	湧永製薬株式会社	試薬・診断薬事業部
30	日本赤十字社愛知医療センター 名古屋第二病院	組織適合検査室
31	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
32	国立病院機構岡山医療センター	臨床検査科
33	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
34	東京女子医科大学病院	中央検査部 移植関連検査室
35	静岡県立総合病院	検査部 血液管理室
36	米子医療センター	臨床検査科
37	がん・感染症センター 都立駒込病院	輸血・細胞治療科
38	札幌北嶺病院	臨床検査技術科
39	株式会社 ビー・エム・エル	総研第三検査部 ゲノム検査2課
40	金沢医科大学病院	北陸腎移植HLA検査センター
41	伊勢赤十字病院	医療技術部臨床検査課輸血検査室
42	日本赤十字社東海北陸ブロック血液センター	品質部検査一課
43	弘前大学病院	泌尿器科
44	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
45	信州大学医学部附属病院	輸血部
46	自治医科大学附属病院	輸血・細胞移植部
47	京都府立医科大学附属病院	輸血・細胞医療部
48	東海大学医学部付属病院	輸血室
49	宮崎大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部
50	株式会社医学生物工学研究所	伊那研究所 第2生産棟 品質管理室
51	公益財団法人HLA研究所	技術部検査課
52	東邦大学医療センター大森病院	輸血部
53	宮崎県立宮崎病院	臨床検査科輸血管理室
54	岩手医科大学附属病院	中央臨床検査部 輸血検査室
55	ジェノタイプファーマ株式会社	HLA検査課
56	東北大学病院	輸血・細胞治療部
57	千葉大学医学部附属病院	輸血細胞療法部
58	県立広島病院	臨床研究検査科
59	熊本赤十字病院	検査部
60	帝京大学医学部附属病院	輸血・細胞治療センター
61	大阪公立大学医学部附属病院	輸血部
62	昭和大学病院	輸血センター
63	東京科学大学病院	輸血・細胞治療センター
64	香川県立中央病院	中央検査部
65	広島大学病院	輸血部
66	九州大学病院	遺伝子・細胞療法部
67	旭川医科大学病院	臨床検査・輸血部
68	獨協医科大学病院	臨床検査センター
69	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
70	筑波大学	消化器外科研究室
71	群馬大学医学部附属病院	輸血部
72	長崎大学病院	細胞療法部
73	日本赤十字社九州ブロック血液センター	検査一課
74	株式会社 エスアールエル	遺伝子ゲノム解析部 DNA解析課
75	高知医療センター	LSIメディエンス検体検査室
76	秋田大学医学部附属病院	腎疾患先端医療センター
77	富山大学附属病院	検査・輸血細胞治療部
78	関西医科大学附属病院	輸血・細胞療法部
79	国立病院機構長崎医療センター	臨床検査科
80	国立循環器病研究センター	臨床検査部
81	山口大学医学部附属病院	検査部 遺伝子検査室
82	関東甲信越ブロック血液センター	検査部検査三課
83	医療法人鉄蕉会 亀田総合病院	臨床検査室
84	熊本大学病院	輸血・細胞治療部
85	大阪急性期・総合医療センター	移植支援検査センター
86	JCHO中京病院	検査部
87	北里大学病院	輸血部

第 29 回 HLA-QC ワークショップレポート — 試料説明 DNA-QC —

内田みゆき¹⁾

¹⁾ 日本赤十字社血液事業本部研究開発部

1. 使用する試料について

DNA-QC の試料として、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使用している。その中から HLA-A, -B, -C, -DRB1 の HLA タイプと QCWS 集会でのアンケート調査結果を参考に 4 種類の試料を選定した。

2. 第 29 回 DNA-QC 細胞選定のポイント

日常の検査で遭遇する可能性があるレベルの低頻度アレルを含む試料を選択し、稀なタイプを判定できることを目的とした。また、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び、HLA 型の読み替えに関する知識を問う内容とした。さらに評価対象外ではあるが、非常によく見られるハプロタイプと、頻度は低いもののより強い連鎖不平衡を示すハプロタイプを選定した。

3. 配布試料について

濃度非公開の DNA 試料 4 検体に SSO 法用に陰性コントロール (DNase free Water) 1 検体を加え 5 検体を配布試料とした。

第 29 回 HLA-QC ワークショップレポート — 試料説明 抗体-QC —

内田みゆき¹⁾

¹⁾ 日本赤十字社血液事業本部研究開発部

1. 使用する試料について

抗体-QC の試料として、日本組織適合性学会から日本赤十字社への譲渡依頼に基づいて保管している抗血清を対象として、目的に応じた 4 種類を選択した。従来からの要件として、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ことがあげられる。その中から、過去の QCWS で使用履歴があるサンプルも含め、抗血清の特異性を考慮して選定を行った。

2. 第 29 回 抗体-QC 抗血清選定のポイント

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を主眼とし、従来通り 4 サンプルを選定した。選定時には、Q29S1, S2, S4 は HLA class I & II ともに陽性、S3 は HLA class I のみ陽性であり、いずれも明確な特異性を示していた。抗体スクリーニングに加え、S1 と S2

は特異性解析の対象とした。仮想クロスマッチは、DNA-QC (Q29D1) と抗体 QC (Q29S1) をサンプルとして選定し、ドナーのタイピング結果 (アレルレベル) と同定試薬におけるドナーアレルピーズの反応と考慮すべきアレルピ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。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 液添加のヒト血液中の T 細胞、B 細胞と反応し得る抗体 QC (Q29S2) をサンプルとして選定した。

3. 配布試料について

試料は、トロンビン処理後、窒化ソーダ (10%)、フェノール・レッド (1%) を加え、静置 (4℃/Over night) し、竹串でフィブリン塊を除去したのち、遠心 (2,000 g/20min) とフィルター (ミリポア: Millex-GV SLGV 033 RS PVDF 0.22μm) により清浄化後、分注し各施設に配布した。

第 29 回 HLA-QC ワークショップレポート —総合解析（表記含む） DNA-QC—

石本 倫子¹⁾

¹⁾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

DNA-QC の参加施設数は 79 施設であった。部門別では臓器移植部門が 60 施設、輸血部門 33 施設、造血幹細胞移植部門 44 施設、その他 8 施設（重複有）であった。方法別では SSO 法が 71 施設、SSP 法は 17 施設、SBT 法は 8 施設（重複有）であった。また SSP 法の多くは臓器移植部門の施設であった。反応不良または表記ミスによるミスアサインを 4 施設で認めた。SSO 法での陰性コントロール測定は全施設で実施されていた。

2. 評価結果

評価基準で定義されている評定は、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 = 評定 A、60 点以上 100 点未満 = 評定 B、60 点未満 = 評定 C の 3 段階で総合評価を行うことが定められている。評価対象遺伝子は、HLA-A、-B、-C、-DRB1 とし、その他の HLA-DRB3、4、5、-DQA1、-DQB1、-DPA1、-DPB1 は評価対象外とされている。

1) 判定結果の評価は、60 点満点が 77 施設、平均は 59.95 点で前回より 0.15 点上昇していた。2) 結果表記の評価は、40 点満点が 71 施設、平均は 39.7 点で前回より 0.2 点低下していた。表記ミスは、座名のもれや記号の間違いなど軽微なものが多く、ダブルチェックをすることにより防止できると思われた。1) 判定結果と 2) 結果表記を合わせた「HLA タイピング結果評価点」の平均は 99.7 点で前回と同じであった。100 点満点を示す

「評定 A」の施設は、前回 83.1%（64 施設）に比べ今回は 88.6%（70 施設）と増加し、判定結果の改善によるものと考えられた。

3. 試験・検査状況の評価

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 78 施設、B 評価は 11 施設で、C 評価の施設はなかった。B 評価の施設は、不備内容の確認と原因究明及び必要に応じた対策を行うことで改善に繋がると思われた。

4. まとめ

SSO 法での陰性コントロール測定は前回に引き続き全施設で実施され達成できていたが、他の課題は未達成であり引き続き観察が必要と考えられた。ミスアサインについては、臨床へ影響を及ぼしかねないためゼロに近づける必要がある。配布試料の選定理由であるアレルの読み替えと低頻度アレルおよびホモ接合体の検出については、ほとんどの施設で達成できており良好であった。QCWS は、自施設における検査の正確性の確認および必要に応じて検査環境や手順を見直すきっかけとなる貴重な機会である。各施設において QCWS 解析報告を確認して振り返りを行い、日常検査に役立てられることを期待したい。

第 29 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—

湯石 晃一¹⁾

¹⁾ 獨協医科大学病院 臨床検査センター

1. 概要

昨年より 1 施設少ない 17 施設を対象にデータ解析を行った。MicroSSP (One Lambda 社) の使用状況としては、MicroSSP JPN が 15 施設、MicroSSP ABDR が 2 施設となっていた。これら 17 施設中 2 施設において rSSO 法が併用されていた。また、配付サンプルの DNA 濃度を測定した施設は、13 施設あり、このうち希釈調製したサンプルで検査をしていた施設は 8 施設であった。昨年とは異なり配布サンプルの DNA 濃度の確認せずに希釈調整を行った施設は見られなかった。

2. 解析方法

2025 年度版推定アレル一覧表に基づき、判定ソフト Fusion と判定ワークシートを用いて各施設から提出された 1) 反応パターン、2) アレル判定、3) 結果の表記法について解析、評価を行った。

3. 解析結果および考察

1) 反応パターンについて 提出された反応パターンをもとに再判定を行い、その結果と提出された判定結果を比較解析したところ、3 施設で他施設と異なる反応パターンが報告されていた。内訳として 1 サンプルで false negative と false positive を認めた 1 施設、1 サンプルで false negative を認めた 1 施設、さらに 1 サンプルでデータ提出時における転記ミス疑いを認めた 1 施設があった。反応パターンの転記ミス防止策として、判定ソフト Fusion に入力した反応パターンの Export 機能を活用する事が効果的と考える。

2) アレル判定について DNA 型のミスアサインを 2 施設で認めた。このうち 1 施設は 1 サンプルで false negative と false positive によるミスアサインを認めた。残る 1 施設においても 1 サンプルで false negative によるミスアサインを認めた。

3) 結果の表記法について 結果の表記ミスを 11 施設で認めた。このうち 4 施設では判定ソフト Fusion の設定不備や判定ソフトの解析結果確認の不備が疑われ、1 施設では判定ソフト Fusion が未使用での ambiguity 確認不備が疑われた。残る 6 施設では「-」の表記や「/」もれなどの判定結果入力ミスや表記法の確認不足による表記ミスを認めた。表記法の確認不足の中には「HLA タイピング結果のアレル表記法と結果報告の原則」に記載された「I HLA 表記の基本」や「III アレルの表記」、「V カラム (セル) への表記」に関する内容が多く、特に「I HLA 表記の基本」と「V カラム (セル) への表記」の確認不足が目立っていた。

4. まとめ

昨年より 1 施設少ない 17 施設を対象にデータ解析を行った。昨年とは異なりミスの原因が単純化し、判定ソフト Fusion を使用しても ambiguity の見逃しが発生した施設が散見された。ambiguity の見逃しを防ぐためには最新の推定アレル一覧表に記載される全てのアレルについての確認をすることも有効と考える。SSP 法におけるミスの要因は多岐にわたるため、改めて表記法の確認を含めた検査手順の確認をすることでケアレスミス防止に繋げることができると考える。

第 29 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 LABType—

吉田 雅弥¹⁾

¹⁾熊本赤十字病院 検査部

1. 概要

LABType の参加状況は、79 施設中 10 施設 (12.7%) であり、昨年度から 1 施設減少した。HLA-A, B, C, DR の参加内訳は、LABType XR が 3 施設 (昨年度 7 施設)、LABType CWD が 6 施設 (昨年度 3 施設)、LABType SSO が昨年度と同様に 1 施設であった。また、LABType SSO を用いた HLA-DQA1/DQB1 は 6 施設 (昨年度 5 施設)、HLA-DPA1/DPB1 は昨年度と同様に 3 施設の参加であった。

2. 解析方法

各施設から提出された測定データは解析ソフト (HLA Fusion) に取り込み、結果入力シート報告の内容とあわせて、① DNA タイピングが適正な操作過程に基づき正確に行えているか、② タイピング結果が正しく表記できているかを確認した。

3. 解析結果および考察

今回、誤判定は認めなかったものの、HLA-A, C において、LABType XR または LABType CWD の特定のロットを使用した全ての施設で、ビーズの特性 (メーカー設定 Cutoff) が原因と思われる False positive (FP) や False negative (FN) のビーズが確認された。日本人集団に多く、欧米では少ないアレルで FP や FN が多い傾向にあり、このようなアレルは海外製品での QC 情報に含まれず、反応性が確認されていない場合がある。日常の検査において、QCWS 検体のような既知検体で

反応性を確認することや、日々の施設データを蓄積することなどが有効と思われた。また、洗浄不良やコンタミネーションが原因と思われる FP が散見された。陰性コントロール (Q29DC) でも反応している施設はコンタミネーションが疑われるため、手技、機器、試薬、検査環境について見直してほしい。

表記法については、昨年度と同様に null アレル表記の理解不足、ホモ接合で 1 つのアレルのみ検出された場合 (ホモ接合と判定された場合) の「- (ハイフン)」表記漏れが認められた。「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)」を確認し、理解を深めてほしい。

4. まとめ

ビーズの特性が原因と思われる FP や FN、コンタミネーションや手技の影響による FP が散見された。陰性コントロールや既知検体の測定、日々の施設データを蓄積することが FP、FN 発生時の原因究明に有効である。日常検査においても陰性コントロールと検体の測定データを比較し、コンタミネーションの有無を確認するとともに、FP、FN が出やすいビーズの把握を意識してほしい。また、本検査は手技や環境の影響を受けやすいため、手技の安定化や使用する器具・備品の清掃を徹底することが求められる。

QCWS は施設間比較ができる貴重な機会であるため、解析報告を活用し、自施設の検査精度の向上、表記法を含めた知識や技術の習得に役立ててほしい。

第 29 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 WAKFlow, GenoSearch—

鈴木 友菜¹⁾

¹⁾日本赤十字社 東北ブロック血液センター

1. 概要

WAKFlow での参加状況は、79 施設中 51 施設 (64.6%) であり、GenoSearch は過去 5 年増減なく 4 施設 (5.1%) であった。今年は WAKFlow での参加施設が昨年よりも 5 施設増え、直近 5 年間で最も参加施設が多かった。一部表記ミスがみられた施設もあったが、誤判定をした施設は無かった。表記ミスについては、単純な記号漏れ等が多く、ブランク表記のミスは無かった。

2. 解析方法

以下の 6 項目について解析を行った。

①配布試料の DNA 濃度測定と濃度調整状況②陰性コントロール (Q29DC) の平均値とばらつき③陽性コントロールの平均値とばらつき④ビーズカウント⑤ Pmin/Nmax 値の比率⑥カットオフ値変更の実施状況の 6 項目について解析を行った。

3. 解析結果および考察

全ての参加施設で DNA 濃度測定を行っていた。参加施設 55 施設のうち、52 施設で DNA 濃度の希釈を実施しており、ほとんどの施設で使用試薬に適した濃度調整が行われていた。陰性コントロール (Q29DC) の測定結果については、7 施設でカットオフを越える反応が見られた。陰性コントロールが陽性反応を示した施設数は例年通り少なく、良好な結果であった。しかし、コンタミネーションの可能性が示唆されるような施設が数施設あったため、今一度検査環境の見直しを推奨する。ビーズカウントの解析では、いずれの施設も Sample Empty はなく、良好な結果であり、Pmin/Nmax 比も概ね良好であった。ビーズカウント数の平均及び %CV が、他施設と比較して明らかに高い施設があったため、検査機器

のメンテナンス等について留意してほしい。カットオフ値変更実施施設は WAKFlow で参加している施設のみであり、5 施設がカットオフを変更して判定を行っていた。いずれも反応不良によるカットオフ変更であり、カットオフ変更後の判定結果は正しいものの、デフォルトカットオフに対して明らかに反応性が乏しいケースも多かったため、安易なカットオフ変更は行わずに、再検査の実施を推奨する。また、陰性コントロール検体の測定でコンタミネーションが疑われていた施設において、P/N 比が小さいプローブが多く、メリハリのない結果であるにも関わらず、複数のプローブにおいてカットオフ変更がなされていた。測定データ・判定結果に疑いがある場合は再検査を実施し再現性の確認が必要であると考える。

4. まとめ

過去 5 年間で最も参加施設数が多かった。例年通り WAKFlow, Genosearch とともに概ね良好な結果であった。表記ミスは年々減少傾向にあるように感じられるが、少しの注意ですぐに改善できる箇所でもあるので、正確な検査結果を報告するためにも入念な見直しを心掛けていただきたい。今年は、期限切れの試薬を使用していた施設が 2 施設あった。DNA タイピング検査は些細な要因が結果に大きく影響する検査であるため、検査手技の見直しや向上に加えて、機器のメンテナンスや試薬の管理、検査環境の整備についても十分留意することが重要である。

QCWS への参加は、他施設との比較を通じて自施設の検査を見直すことができる貴重な機会であるため、各

施設の DNA タイピング検査の精度管理の一助として、

QCWS への継続的な参加をお願いしたい。

第 29 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-Sanger, NGS —

木野 佑亮¹⁾

¹⁾公益財団法人 HLA 研究所

1. 概要

SBT 法の参加状況は、全 79 施設中 Sanger 法では昨年度同様 2 施設 (2.5%)、NGS 法では 5 施設 (6.3%) であり、昨年よりも 1 施設減少という状況であった。検査方法としては昨年度と比較し変化はなく、Sanger 法では 2 施設とも同機種のシーケンサーを、検査試薬は SeCore と AlleleSEQR がそれぞれ用いられた。NGS 法で用いられたシーケンサーは、Miseq (Illumina)、IonS5 (ThermoFisher) であり、検査試薬は AllType NGS, AllType FASTplex, ScisGo HLA の 3 種類 (参考データ除く) であった。

2. 解析方法

例年通り、試薬キット、測定機器の組み合わせが多様であるため、解析は個々の精度確認を主体とし、測定機器のスペック比較とならないようにした。Sanger 法では DNA 濃度と Quality Value (Quality Score) を、NGS 法では Sanger 法の 2 項目に加え、リードデプス、カバー率およびアレルバランスの確認を行った。

3. 解析結果および考察

Sanger 法の判定結果は 2 施設共に適切なアレル判定結果であったものの、表記法に則った表記ができていない施設がみられた。Quality Value では、特定のプライ

マーで分離不良による低値が見られたが、結果への影響は低く、過去の QCWS の結果からも試薬特性によるものと推察する。

NGS 法では、全施設にて良好なクオリティを維持できており、適切なアレル判定結果であった。今回は全施設にて参照配列 IMGT Version3.58.0 を使用できていた。今後もアレル登録数の増加が予測されるため、アレルの見落とし防止やマッピングの精度向上のためにも最新のリファレンスを用いることが重要である。また、試薬特性 (AllTypeNGS, AllTypeFASTplex) により、アレルバランスが低くなっているローカスがあったが、十分なリードデプス結果からアレル判定への影響は少ないものと考えられる。

4. まとめ

アレル判定としては、Sanger 法、NGS 法共に良好な結果であった。他の検査方法と比較し、ローカス数、解析情報量、検査工程全てが多く、検査データおよび解析結果に影響する要因は多岐にわたる。正確な結果を出力するためには各工程での機器、検体の精度管理が必要不可欠である。施設内での内部精度管理に加え、外部精度管理としての QCWS 解析結果を有効活用し、各施設の精度向上に寄与できることを期待する。

第 29 回 HLA-QC ワークショップレポート —総合解析 抗体 QC—

中野 学¹⁾

¹⁾日本赤十字社 北海道ブロック血液センター

1. 概要

今年度の抗体 QC は、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・企業 8 施設であり、全体の 70% 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 30 施設、臓器移植部門 43 施設、造血幹細胞移植部門 38 施設、その他 7 施設であった（重複あり）。総参加施設は 65 施設と昨年度から 2 施設増加したが、全施設が継続参加施設であり、ほとんどの施設が継続的に参加している状況であった。

2. 解析方法

抗体スクリーニングは、各施設から提出された総合判定結果を集計し、サンプルごとに一致率を算出した。抗体特異性同定については、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と定義（現段階では Consensus result が 0.67 (2/3)）し、抗原・アレル毎に判定一致率を算出した。

3. 解析結果および考察

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 は全施設で一致、Class II では Q29S3 以外は全施設で一致した結果であった。不一致を認めた Q29S3 血清は、LS-Mixed を使用した一部の施設で陽性と判定していた。Q29S3 の測定値は当該施設基準では

カットオフ値をわずかに上回っており、陽性と判定したと考えられた。抗体特異性同定結果では、Q29S1 で、HLA-B48, DR1, DQ7 の一致率がそれぞれ 55.6%, 58%, 54%, であり Q29S2 で HLA- B67, B75, DQ2 の一致率がそれぞれ 63.0%, 63.0%, 51.0% と一部の特異性で Consensus Result が保留 (0.67 以下) であったものの、全体的な一致率は良好であった。一致率の低かった抗体特異性の蛍光強度は、ほとんど nMFI=1, 000 程度の弱い反応性であった。また classII は二量体を形成しているため、 α 鎖および β 鎖に特異的に反応しているかを区別することが困難である。そのため判定不能としており、一致率が低下していた。使用試薬によっては対応しているアレルに違いがあることも判定不一致につながった。

4. まとめ

今回、一部の抗血清のスクリーニング結果が異なっていた。これはカットオフ値をわずかに上回ったピーズがあったため陽性と判定されていた。抗体スクリーニングや特異性同定試験は、ほとんどの施設で良好な結果であったが、一致率が低いアレルも散見された。この問題は使用試薬によって網羅されているアレルが異なることが原因の一つであるため、Consensus Result の定義を見直すことで解消されることが期待される。

第 29 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 FlowPRA—

蓮輪 亮介¹⁾

¹⁾大阪公立大学医学部附属病院

1. 概要

FlowPRA の参加施設は、Class I・Class II ともに昨年度と同様の 13 施設であった。参加部門（重複あり）の内訳は、輸血関連が 5 施設、臓器移植関連が 12 施設、造血幹細胞移植関連が 7 施設、企業が 1 施設であった。FlowPRA 単独での参加は 3 施設、他法併用での参加は 10 施設であった。測定機器は、Beckman Coulter が 5 施設、Becton Dickinson and Company が 8 施設で使用されていた。

2. 解析方法

各施設の血清処理、試薬ロットおよび使用期限、判定基準、判定スコア、%PRA などを確認した。また、添付の FlowPRA 画像を基に、各施設のヒストグラムの形状やマーカー設定位置を確認した。さらに、Kaluza 解析用ソフトウェアを使用し、「QCWS 参考プロトコル抗 HLA 抗体検査 (FlowPRA™) 2025 年度版」に従って測定データの再解析を実施した。

3. 解析結果

血清処理について、QCWS 参考プロトコルでは遠心および凍結融解が必須処理とされているが、凍結融解の記載がない施設が 2 施設確認された。試薬に関しては、ビーズおよび二次抗体の使用期限は遵守されていたものの、1 施設において NC 血清で使用期限切れのロットが使用されており、PC 血清は自家調整されていた。

判定スコアについては、Class I・Class II ともに全検体で判定スコアの一致率は 100% であった。結果の判断基準は、全施設において %PRA だけでなくヒストグラムの波形も考慮されていた。一方で、マーカー M1 の

設定が NC 血清のヒストグラムの裾位置より右側または左側に設定されている傾向にある施設が数施設確認された。

マーカー M2 を設定して判定している施設は少なく、多くの施設では全検体において M1 のみを用いて判定していた。なお、提出データにおいてヒストグラムの貼り付け間違いが認められた施設が確認されたため、提出時には注意されたい。

蛍光補正 (Compensation) は概ね良好であったが、一部の施設では調整が必要と判断された。測定時のビーズカウントについては、昨年度と比較して改善が認められ、ほとんどの施設でメーカー推奨のカウント値を満たしていた。しかし、1 施設において Class I ビーズのみが推奨値に達していなかった。これは、添加時の混和不足など、手技上の問題があった可能性が考えられる。

4. まとめ

Class I・Class II ともに、全検体において判定スコアの一致率は 100% であり、良好な結果であった。報告値と再解析値の %PRA は概ね一致していたが、一部の検体で乖離が認められた。この原因として、マーカー M1 の裾位置やマーカー設定方法の違いが影響している可能性が考えられる。試薬については、精度保証の観点から、有効期限切れ試薬や自家調整試薬の使用は避けることが望ましい。蛍光補正は、機器の使用頻度等によりずれが生じる可能性があるため、定期的な確認が必要である。ビーズカウントは全体として改善が認められており、今後も施設間の差をさらに縮小し、より良好な結果を目指すことが重要である。

第 29 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 WAKFlow —

増田 英敏¹⁾

¹⁾ 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

1. 概要

抗体-QC 参加 65 施設中 WAKFlow 参加施設は 18 施設であり、スクリーニング試薬 (SCR) が 8 施設、MR Class I が 10 施設、Class II が 2 施設、特異性同定試薬 (HR) Class I が 6 施設、Class II が 5 施設であった。参加部門の内訳は、輸血関連 11 施設、臓器移植 7 施設、造血幹細胞移植 12 施設、その他 1 施設であった (重複あり)。

2. 解析方法

参加施設の血清処理方法、測定条件、判定基準等を集計した。また、各検査試薬におけるコントロールビーズの施設間差、各ビーズの Median 値の $\pm 2SD$ 、SCR および MR の各ビーズの Index 値と CV%、HR は Calmed 値の施設間差を検証した。SCR および MR では抗体の有無、HR では抗体特異性同定結果について判定一致率を確認し、不一致の要因を解析した。

3. 解析結果および考察

【WAKFlow SCR】

抗体有無の判定結果は全施設で一致していた。コントロールビーズの測定結果は概ね良好であったが、Q29S2 の PB で Median 値が 10,000 を下回っている施設が 1 施設あった。

Q29S1、Q29S4 で Median 値が低値傾向を示し、BB 値も低値であったため Index 値は高値傾向を示した施設が 1 施設あったが、試薬ロット間差の可能性が考えられた。

【WAKFlow MR】

抗体有無の判定結果は全施設で一致していた。

Q29S4 のサンプルは Class I・Class II ともに BB 値が高い傾向がみられた。Class I で全サンプルに血清処理試薬を使用している 3 施設のうち、2 施設では BB 値が低値であったため、Index 値は高値傾向となっていた。残りの 1 施設では BB 値の低下は認められず、Median 値が全体的に高値傾向を示していた。また、Class II で再検査の推奨値である BB 値が 500 以上を超えていたため、血清処理試薬を使用した再試験を実施している施設があった。

【WAKFlow HR】

Median・Calmed 値ともに大きな外れ値は無く、抗原別判定結果の一致率も良好であった。判定不一致の主な要因としては、試薬の特性 (試薬間の反応性の差、含まれるアレルの種類の差)、カットオフ付近の反応、DQ α 鎖を加味した解釈の差等が考えられた。

4. まとめ

WAKFlow 参加施設の抗体有無および抗体特異性同定の判定一致率は、例年に引き続き良好であった。ロット間差と思われる反応性の強弱や一部高値または低値傾向がみられる施設もあったが、総合的に判定結果に影響があるような明らかな外れ値は認められなかった。参加施設の測定データはととも収束されており、日常的にも安定した結果が得られているものと期待される。抗原別判定結果の一部に不一致がみられたが、今回の解析結果を参考に正確な抗体特異性解析に役立てていただきたい。

第29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 LABScreen—

禿 蘭子¹⁾

¹⁾札幌北榆病院 臨床検査技術科

1. 概要

抗体-QC 参加 65 施設中 LABScreen 参加施設は 55 施設であった。使用試薬の内訳は、抗体検出では LABScreen Mixed は 33 施設、LABScreen Multi は 1 施設、LABScreen PRA は 7 施設、抗体特異性では LABScreen Single Antigen Class I は 50 施設、Class II は 46 施設、LABScreen Single Antigen Supplement / ExPlex Class I は 26 施設、Class II は 26 施設であり、Supplement / ExPlex の参加施設が増加傾向であった。

2. 解析方法

LABScreen 各検査試薬で各施設の判定基準や前処理等を比較した。抗体検出では各検査試薬における判定一致率を算出し、不一致の要因について解析を行った。抗体特異性では、Single Antigen における抗原別判定一致率が 90% 未満となった要因の解析を行った。また Mixed で NBG Ratio, Single Antigen で nMFI 値について四分位範囲を用いた外れ値の算出を試みた。

3. 解析結果および考察

【LABScreen PRA】各施設のカットオフ値は nMFI: 500~1000 および自動判定であった。Q29S1, Q29S2, Q29S3 Q29S4 の全サンプルで判定一致率 100% となった。

【LABScreen Mixed】各施設のカットオフ値は NBG ratio:1.5~9.1 であった。Q29S3 Class II の判定一致率の

み 97% となり、その他の Q29S1, Q29S2, Q29S3 Class I, Q29S4 は、判定一致率 100% であった。Q29S3 Class II の判定結果が不一致となった 1 施設では、各施設のカットオフ値の違いに加え、測定結果が外れ値であったことが要因と考えられた。また 1 施設ではデータが測定基準を満たしておらず、解析対象外となった。

【LABScreen Single Antigen】各施設のカットオフ値は nMFI:500~2000 および Rxn6 であり、ローカス別に設定している施設もあった。抗原別判定一致率が 90% 未満となった要因として、① Supplement / ExPlex 使用の有無、② nMFI 値が各施設設定のカットオフ値付近である場合、③同一抗原型で異なるアレルで反応が分かれた際の判断基準、④同一アレルの複数のビーズで反応が分かれた際の判断基準、⑤抗原型の判断、⑥ α 鎖の影響に対する解釈、が考えられた。

4. まとめ

抗体検出の結果は概ね良好であった。抗体特異性は今回も使用試薬やカットオフ値の違い、各施設の判断基準の違いが一致率に影響していると考えられ、継続した課題となっている。また抗体特異性報告時のコメントにはエプレット解析に触れている施設もあり、今後判断基準の違いとして影響を及ぼすのか注視したい。また、試薬管理や提出データの不備、回答フォームでは誤入力等が見られた。参加施設には外部精度管理として継続的な参加と正確な結果報告にご協力いただきたい。

第 29 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—

今泉 満明¹⁾

¹⁾東海大学医学部付属病院 輸血室

1. 概要

参加施設数は抗体 QC 参加 65 施設中 35 施設 (54%) であった。各施設の抗 HLA 抗体特異性結果 (Q29S1) および DNA タイピング結果 (Q29D1) を基に仮想クロスマッチを実施した。施設毎の回答は クラス I が全 35 施設で陽性と判定, クラス II は 30 施設が陽性, 1 施設が判定保留, 4 施設が不参加であった。ローカス別解析では B, DRB3/4/5, DPB1, DPA1 が全施設で一致, それ以外のローカスで施設間に不一致を認めたが, 各施設の結果は概ね一致していた

2. 解析方法

解析対象はクラス I が A, B, Cw, クラス II が DRB1, DRB3/DRB4/DRB5, DQ, DP とした。施設間の一致率を求め, 不一致を認めたローカスについては各施設の抗 HLA 抗体特異性結果と判定基準から原因を分析した。

3. 解析結果および考察

各ローカスに共通した不一致の要因として, 採用試薬にドナーアレルビーズが含まれていない施設のうち, 一部の施設で判定を保留または不能としていた。一方, 採用試薬に含まれていないドナーアレルビーズを考慮せずに誤判定した施設があり慎重な判断が必要と考えられた。

C ローカスのドナーアレルは C*03:03, C*14:03 であったが, 試薬により Cw9 と Cw10 の反応性が異なっており不一致の要因となった。具体的には, LABScreen Single

Antigen では C*03:02, C*03:03, C*03:04 のいずれも nMFI 8,000 前後の蛍光強度であったのに対して, WAKFLow_HR では C*03:02 が Calmed15,000, C*03:03, C*03:04 が Calmed1,000 程度と乖離していた。そのため WAKFLow_HR を単独で使用していた 2 施設が C ローカスを陰性と判定していたが, WAKFLow_HR と LABScreen Single Antigen を併用していた 2 施設は総合的に判断し陽性と判定していた。Q29S1 の Eplet 解析から, B・C ローカスに共通した Eplet (163LW) を認識する特異性であると考えられ, Cw9 と Cw10 はいずれも陽性になると推察された。

DQ ローカスのドナーアレルは DQA1*01:02, DQA1*03:03, DQB1*04:01, DQB1*06:04 であったが, Q29S1 は DQA1*01/DQB1*05 と DQA1*01/DQB1*06 に反応する特異性であったことから, α 鎖と β 鎖のどちらを認識しているのか区別できないと判断した施設が判定を保留または不能にしたと考えられた。

4. まとめ

今回の仮想クロスマッチ結果は概ね一致しており, 各施設の解析精度および信頼性が高いことが確認された。しかし施設間の反応性の差の解消に加え, 判定基準を明確にすることが今後の課題と考える。参加施設数は例年通りであったが, 仮想クロスマッチへの継続的な参加は施設内の精度向上および検査信頼性の向上につながることから積極的な参加が望まれる。

第 29 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—

金本 人美¹⁾

¹⁾福岡赤十字病院 移植センター 移植細胞研究課

概要

今年で 13 回目となる全血クロスマッチは、今回 45 施設からの参加があり例年とほぼ変わりはない。参加施設内訳は、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 13 施設、血液センター 2 施設、検査センター 3 施設、製薬メーカー 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、数日後には各施設に到着し細胞の生存率も概ね良好であった。10 月に集計結果を各施設にメールで送信し、第 33 回日本組織適合性学会大会 (長崎県) で報告、同様に 10 月に開催された第 61 回日本移植学会総会 (愛知県) でも報告を行った。今後は令和 8 年 2 月に開催予定の第 59 回日本臨床腎移植学会 (東京都) において報告予定である。

試料説明

ドナー候補 (全血) は日本移植学会で準備した。レシピエント (血清) は Q29S2 を選択し、A*02:01 (5,210), A*02:06 (6,166), B*51:01 (22,227), B*52:01 (24,072), C*07:02 (6,468), C*12:02 (18,831), DRB1*15:02 (25,489), DRB5*01:02 (9,198), DQB1*06:01 (19,375)

等がドナー特異的抗体 Donor Specific Antibody ; DSA となるサンプルを選定した。() の数値は試料選定時の nMFI を示す。検査方法は、昨年と同様に FCXM が最も多く全体の 7~8 割の施設で実施され、CDC は 5 割程度、ICFA は 2 割であった。方法ごとの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。

結果

方法別でみると、今回 CDC が前回と比較して一致率 95% 以上と高かった。FCXM においては、FCXM-T, B 共に一致率 100% と大変良好な結果だった。ICFA は Class I は一致率 100%, Class II は 60%~100% の一致率だった。

まとめ

今回、CDC においては nMFI10,000 以上の DSA で 1 施設が陰性と判定していた。原因としては不明であるが、CDC は移植の可否に繋がる検査のため改めて施設で原因究明に努めていただきたい。今後も内部精度管理のみならず外部精度管理にも継続参加をしていただければと思う。