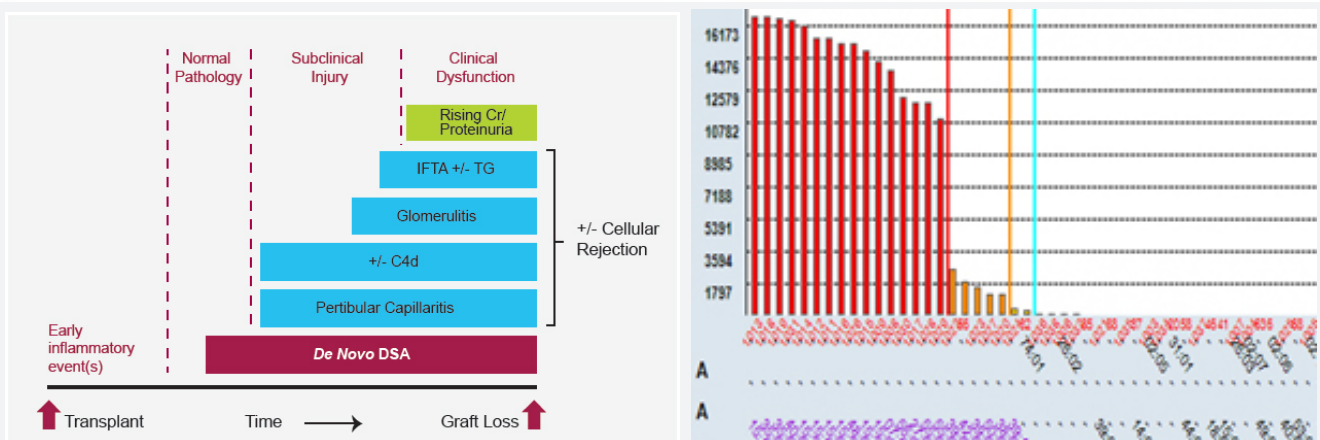


LABScreen Single Antigen による DSA (ドナー特異的抗体) のモニタリング

～ 移植後の標準治療の一つとしての DSA モニタリング ～



目次

1. 移植における抗 HLA 抗体の役割	4
2. 抗体関連型拒絶反応のスペクトラム	5
3. 移植後の臓器移植レシピエントにおける de novo DSA	6
4. DSA は移植片生着率の低下につながる	7
5. DSA は患者生存率の低下につながる	8
6. 肝移植	8
7. 膵臓と膵島の移植	9
8. 多臓器および小腸の移植	9
9. 肺移植	9
10. 心移植	10
11. DSA モニタリングの将来：C1Q DSA が同種移植片生着に与える効果	10
12. 移植後のモニタリング	11
13. 移植後になぜ DSA をモニタリングするのか	12
14. なぜ LABScreen Single Antigen を用いてモニタリングするのか	12
15. DSA のモニタリング戦略の最適化	12
16. 結論	13
参考文献	14
LABScreen—Single Antigen Supplement による抗 HLA 抗体 (DSA) 測定精度の向上	16
LABScan システム (Luminex) 用 補体結合性 HLA 抗体検出キット	19

弊社はこの資料に含まれる全ての方法、説明、もしくはアイディアの使用や運用によって生じた人、財産への損傷および/または損害に対しても責任を負いません。タイピングや診断は独自に検証してください。

世界中で年間 10 万件を超える臓器移植が施行され、そのうち 29,000 件はアメリカ合衆国で行われている。¹ 移植後管理が著しく改善しているにもかかわらず、移植片の長期的な機能は最善にはなっていない。アメリカ合衆国では、献腎移植および生体腎移植後の 10 年生着率はそれぞれ 42.7% と 59.6% にとどまっている。¹ 移植後長期間を経ての腎廃絶は、抗体関連型拒絶反応 (AMR) に起因する生着不全が主な原因である。

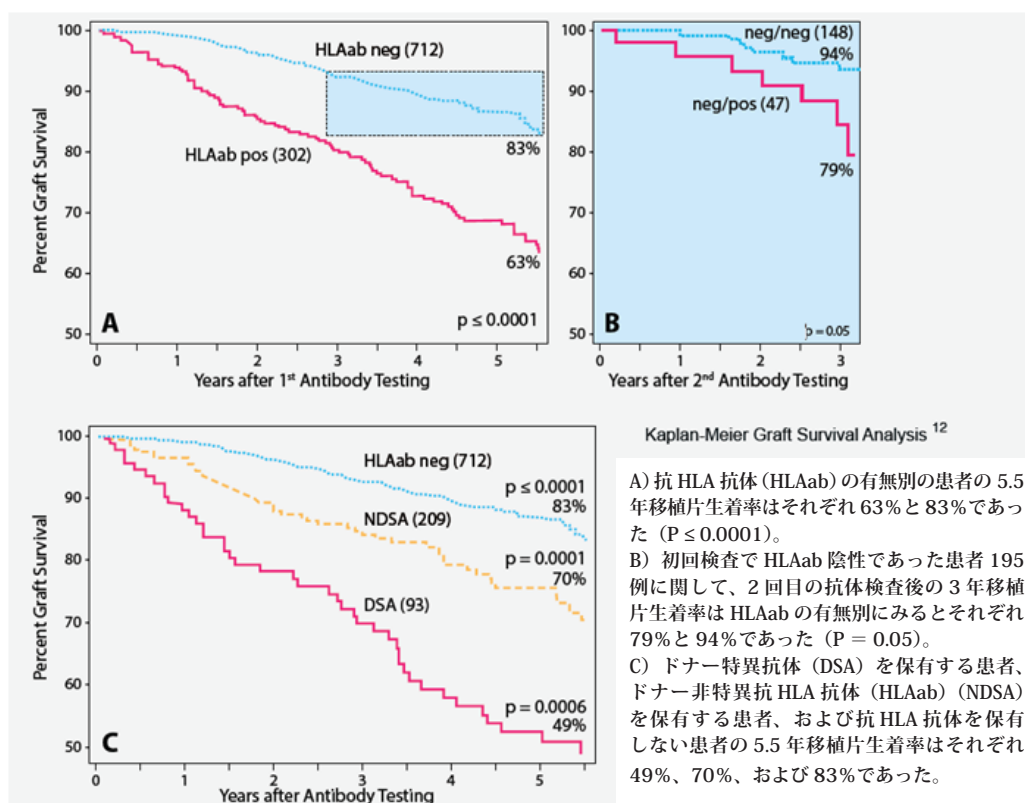
1. 移植における抗 HLA 抗体の役割

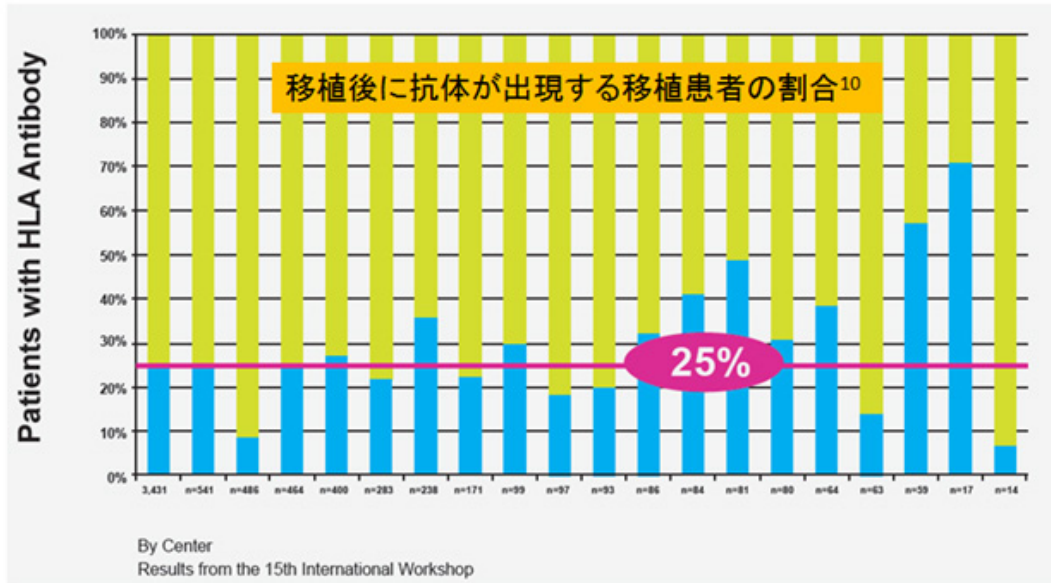
歴史的に見て、抗ヒト白血球型抗原 (HLA) 抗体はレシピエントの免疫系に存在する抗体で、移植前の感作イベント (輸血、過去の移植、または妊娠) によってもたらされるものと定義された。最近になって、ドナー特異的 HLA (クラス I およびクラス II) のミスマッチに対する、臨床的関与の対象となる抗体が移植後に出現するかどうかをモニタリングするという考えが、移植関係者の中で大きな関心となっている。

ドナー臓器の発現抗原に対する抗体の存在は、移植前・移植後を問わず、臨床的に未治療であれば、移植された臓器への免疫攻撃をもたらし、結果的に移植片不全や拒絶反応のリスクが高くなる。ドナー特異的抗体 (DSA) は同種移植片の内皮を攻撃し、その結果、後に抗体関連型拒絶反応 (AMR) が生じる。^{4,5} DSA 産生と、それに対応する臨床イベントが組み合わさって同種移植片を損傷し、やがて慢性へと変化し、最終的に移植片の機能と生着が損なわれる。

従来のマーカーは臓器移植レシピエントの臨床状態を診断する上で役立つとしても、それらは概して非特異的で、ほとんどの場合、移植片の損傷が生じた後でしか同定できない。抗 HLA 抗体は慢性腎不全の発症の一因となることを示す有力な証拠があり、これは同種移植腎不全の主な原因である。⁸ AMR に伴う臨床的に有害な DSA を早期に同定し除去すれば、同種移植片機能損失を予防できると考えられている。⁸

One Lambda/ Thermo Fisher Scientific 社 (以後 One Lambda) は DSA の正確な同定が可能な、高い感度で特異性を検出する **LABScreen Single Antigen** を提供している。このプラットフォームは現在、アメリカ合衆国内のほとんどの移植施設で標準治療の診断検査として用いられている。





大規模コホート研究では任意の時点において移植レシピエントの約 25%が抗体を保有していることが示されている。² さらに腎移植におけるこれまでのデータは拒絶反応が生じた同種移植片の最大 96%が何らかのレベルの検出可能な DSA が生じていることを示している。

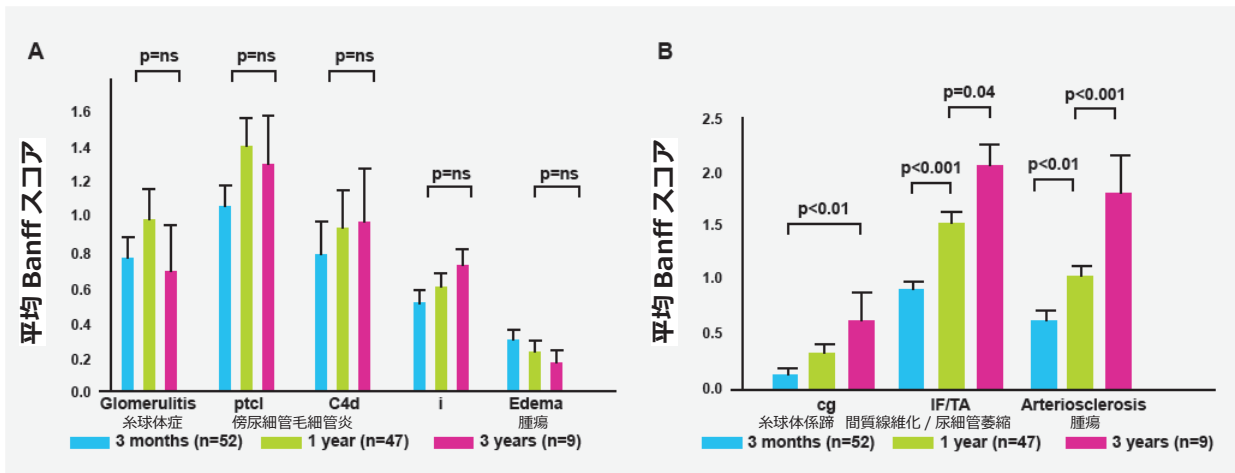
2. 抗体関連型拒絶反応のスペクトラム

抗体関連型拒絶反応は初期の急性のプロセスとして、もしくは遠隔期の慢性のプロセスとして現れる。前者は多くの場合既往応答が原因であるが、後者は *de novo* 抗体が産生されるためである。急性期では、既存抗体であることが多く、初期拒絶反応を引き起こす。移植後初期には *de novo* DSA も出現することがあり、急性拒絶反応につながる。既存 DSA を保有する患者は、急性 AMR を有するリスクが有意に高く、移植片生着率が有意に低くなる。⁹

慢性拒絶反応は death censored (死亡により中途打ち切りとなった) 移植片不全の主な原因の一つである。同種抗体関連型の損傷と修復のサイクルの反復は、しばしば smoldering (無症候性) プロセスと記載されるが、これは同種移植片の微小血管構造の特異な変化につながる。既存 DSA を保有する患者や *de novo* DSA が出現した患者は、慢性拒絶反応を有するリスクが高くなる。

▶ Sub-Clinical (無症候性) 抗体関連型拒絶反応

DSA は移植片機能の即時的な障害を伴わずに出現する場合もある。この種の拒絶反応、Sub-Clinical 抗体関連型拒絶反応 (SAMR) は、即時的な影響はなく長期的な移植片の機能不全や劣化に影響を及ぼすことが報告されている。⁶ Loupy らによる研究における既存の DSA および SAMR を保有する患者のプロトコール生検では、移植の 3 カ月後から 3 年後までに漸増する慢性病変が進行したことが示され、急性の液性病変が持続した。²⁴ 微小循環の炎症は移植後 1 年以上経過した後の遠隔期腎生検の方がよく見られ、これは *de novo* DSA の頻度の高さを反映している。SAMR も既存 DSA を保有する患者で頻繁に認められ、その一部は C4d 染色では SAMR の反応が陰性である。通常、免疫抑制療法に対する ノニアドヒアランス は、先に述べた病理学的所見と相関がある。¹⁰



DSA 陽性患者における (A) 急性、(B) 慢性病変のスクリーニング生検時点別の経時変化 (平均±標準誤差 [SE]、データには 3 年目に実施された 9 回の追加スクリーニング生検が含まれる)

3. 移植後の臓器移植レシピエントにおける *de novo* DSA

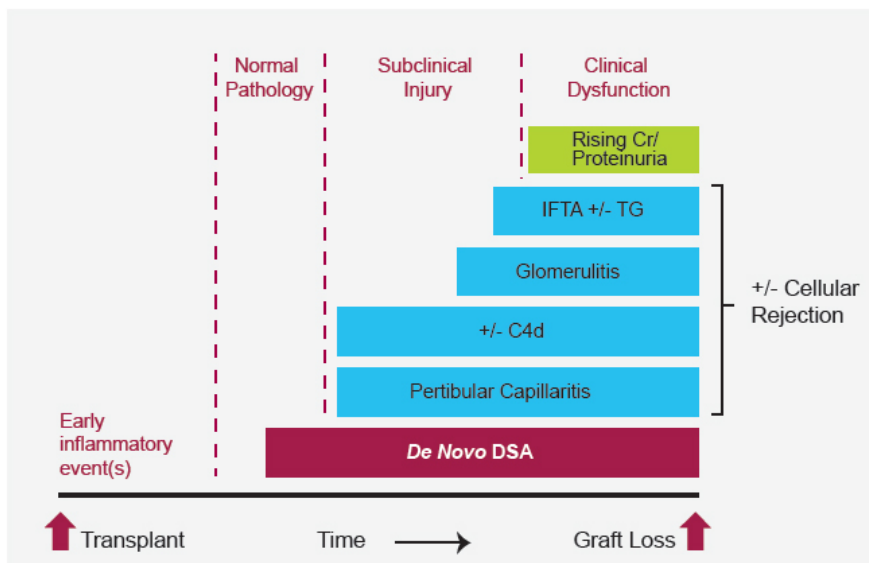
移植後の *de novo* ドナー特異的 HLA 抗体 (dnDSA) の出現は、移植片不全の頻度の高さに関連付けられている。¹⁰ dnDSA が出現する患者の報告されている割合にはばらつきがあるが、24%から 62%の範囲とされており、肝移植後のレシピエントが最大である。¹²

いくつかの前方視的および後方視的研究において、腎移植患者における *de novo* DSA の出現は、主にクラス II ドナー HLA ミスマッチに向けられるものであるが、不全転帰と相関があり、しばしば移植片不全に先立って容易に検出できることが明らかにされている。^{10, 13}

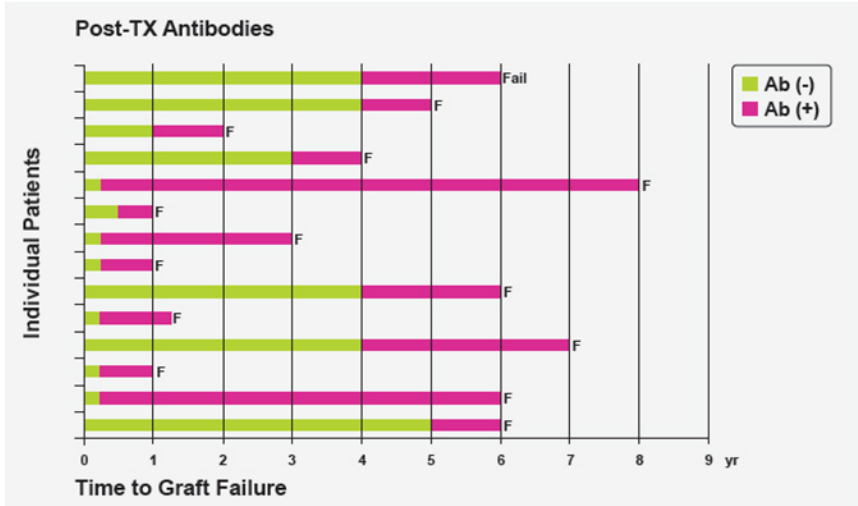
臨床医が移植後の *de novo* DSA の出現の役割への理解を深めるに伴って、この現象は過去において誤解や過小評価されてきたことが明らかになったが、これはおそらく移植後の臨床的発現が遅れるためと考えられる。¹⁴

de novo DSA の範囲

肝移植拒絶患者の 62%¹⁹、肺移植患者の 56%¹⁶、心移植患者の 33%¹⁷、多臓器移植患者の 27%¹⁸、腎・膵移植患者の 24%²⁴



移植から移植片不全に進行するに伴って *de novo* ドナー特異抗体が生じる患者のモデル案。IF/TA = interstitial fibrosis and tubular atrophy (間質の線維化と尿細管萎縮)、TG = transplant glomerulopathy (移植糸球体症)。出典は参考文献²⁰

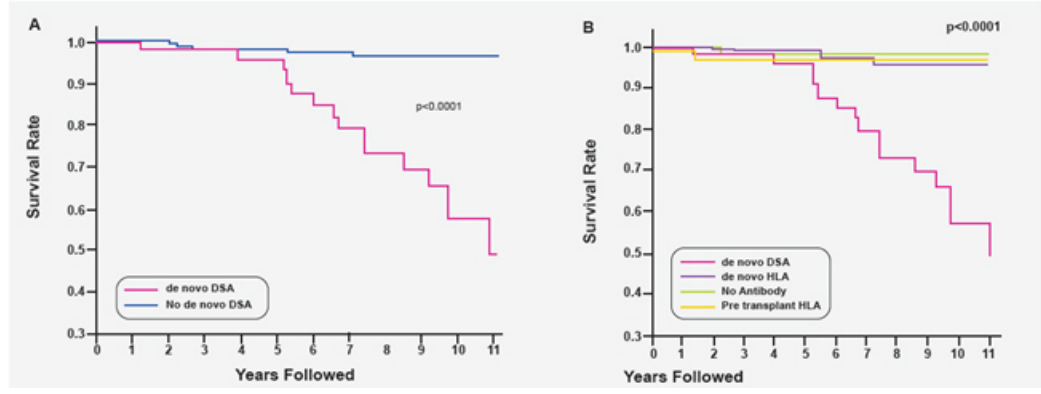


移植前に既存の抗 HLA 抗体がなかった患者 (14 例) (抗体陰性) と 6 カ月間隔で抗体検査を受けた患者における慢性拒絶反応。患者全員で抗体が出現した (抗体陽性) (赤い棒グラフ)。腎が拒絶されるまで 6 カ月から 8 年間、抗体が残存した。²⁰

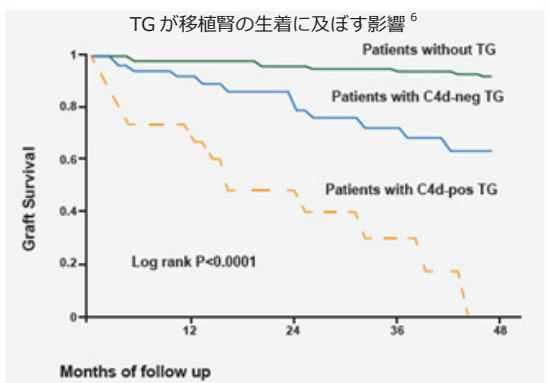
- ◆ *de novo* 抗体産生は長期の移植片機能不全と関連がある無症候性 AMR を引き起こすことがある。
- ◆ *de novo* 抗体産生後に不良な転帰が生じるまで数年かかることがある。

4. DSA は移植片生着率の低下につながる

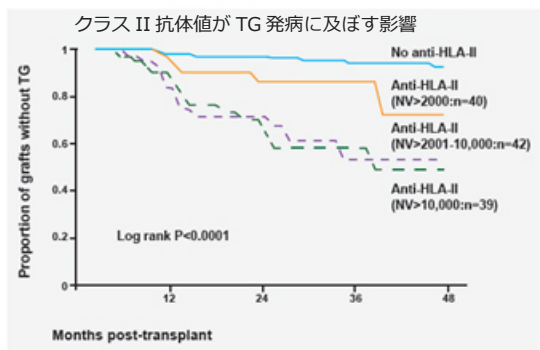
既存 DSA や *de novo* DSA が残存することによる慢性拒絶反応と、その結果としての移植片機能不全は、やがて移植片機能損失のリスク上昇につながる。腎移植レシピエントにクラス II 抗体が存在すると、それは移植糸球体症 (TG) を発病するリスクが高いことを表し、長期的な移植片生着率が損なわれる。



(A) *de novo* ドナー-特異的抗体 (dnDSA) 保有患者と非保有患者の移植片生着率
 (B) dnDSA 保有患者と比較した移植前のヒト白血球型抗原 (HLA) 抗体、移植後の *de novo* HLA 抗体、または抗体非保有の場合の移植片生着率



TG が移植腎の生着に及ぼす影響⁶
 TG 非発病 (530 例)、C4d 陰性 TG 発病 (52 例)、および C4d 陽性 TG 発病 (16 例) 患者における移植片生着率

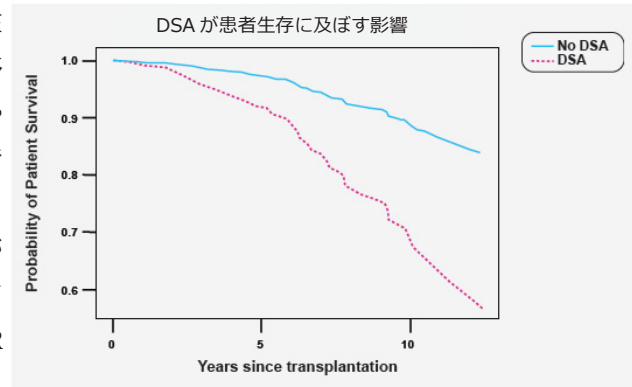


クラス II 抗体値が TG 発病に及ぼす影響
 抗 HLA-II 値別の TG 発病リスク。患者群には移植前の血清に抗 HLA-II 抗体が含まれない、抗 HLA-II 抗体保有で $NV > 2000$ (40 例)、 $NV\ 2001 \sim 10,000$ (42 例)、および $NV > 10,000$ (39 例) を含める。NV = Normalized MFI Value (標準化 MFI 値)

5. DSA は患者生存率の低下につながる

拒絶反応と移植片機能損失に加え、抗 HLA 抗体の存在と患者生存率とに有意な相関が明らかにされている。心移植レシピエントを対象とした Smith らによる研究では、*de novo* DSA の残存は不良な患者生存率の独立した予測因子であるとの所見が得られた ($p < 0.0001$, HR = 4.763)。¹⁷

Dunn らによる最近の研究では、保険統計上の生存率が移植後 5 年目で DSA 陽性患者では DSA 陰性患者に比べて有意に低下したことが明らかにされた ($p = 0.0006$, HR = 10.0)。³



患者生存率予測曲線は移植後の任意の時点で心移植レシピエントにおける *de novo* DSA が出現した場合と DSA 非出現の場合の影響を示している。¹⁷

6. 肝移植

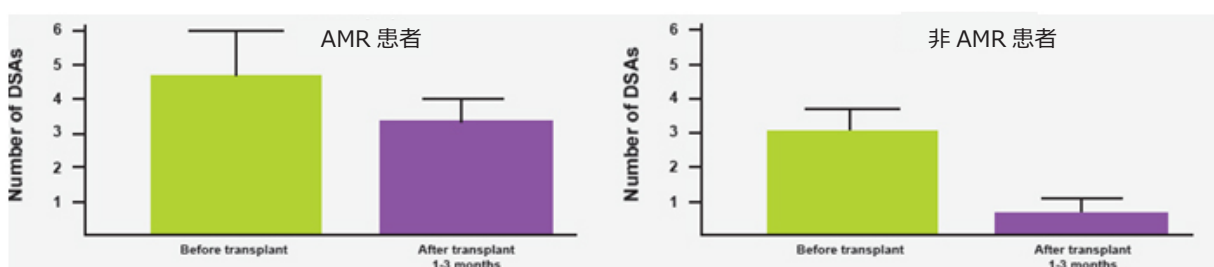
肝移植における初期の AMR はしばしば免疫学的イベントと同定するのが困難である。これは明確な臨床的、組織学的、および免疫組織学的な AMR 診断基準がないためである。AMR の誤診の一因になるかもしれない他の要因として、移植時のクロスマッチの結果がないこと、移植時点でクロスマッチの結果が陽性であること、そして AMR に似たうつ滞性黄疸の非特異的な臨床的および病理学的所見等が挙げられる。移植後にクロスマッチ陽性を維持しているレシピエントは AMR のリスクが高くなる。最近のデータでは、肝移植レシピエントにおける AMR の診断は、レシピエントの血清に DSA が存在することが根拠となり得ることが示唆されている。¹⁴

O'Leary らは初めて肝移植後の DSA と慢性拒絶反応の相関を明らかにした。このグループは nMFI (平均蛍光強度、明らかな DSA の合計として定義) を評価し、既存のクラス I 抗体はクラス II 抗体よりも移植片生着率に有害であると判断した。肝移植後 1 年以内に *de novo* DSA が存在するのは、慢性拒絶反応を呈した患者の方が多く、92% が慢性拒絶反応誘発性の移植片不全が生じる前に検出可能な DSA を保有していた。¹⁹

DSA は C4d 陽性肝移植レシピエントにおける胆管損傷と相関がある¹⁵

肝移植患者では DSA は予後不良な転帰と相関があり、これは AMR が小葉間胆管の損傷や消失の一因になり得ることを示唆している。

- 患者の 40% は門脈への広範囲な C4d 沈着を伴う顕著な循環 DSA を保有していた。
- 胆管消失患者の 70% が DSA を保有していた。
- 胆管消失症例の 60% は門脈での広範囲な C4d を伴う DSA を保有していた
- ACR (急性細胞性拒絶反応) 症例の 53.6% は C4d が門脈に広範囲に沈着していると同時に、循環 DSA の検出を根拠とする液性同種反応性の証拠を示した
- DSA 陽性、かつ広範囲に C4d が陽性の患者は ACR の頻度が有意に高かった (88% 対 50%)。P=0.02
- DSA 陽性かつ広範囲に C4d が陽性の患者はステロイド耐性拒絶反応の頻度が有意に高かった (41% 対 19%)。P=0.03

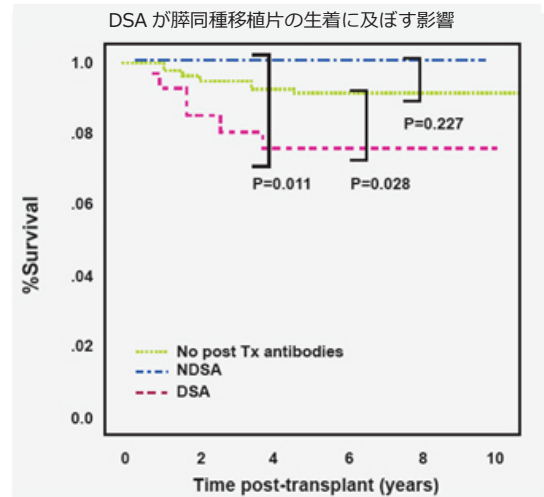


肝移植レシピエントで AMR と診断された場合とされなかった場合の持続した DSA 数¹⁴

7. 膵臓と膵島の移植

膵臓と膵島の移植における最新のデータは、移植前と移植後 DSA の出現は予後不良な転帰として拒絶反応の発現率増加や移植片生着率の低下等と有意に関連することを示唆している。

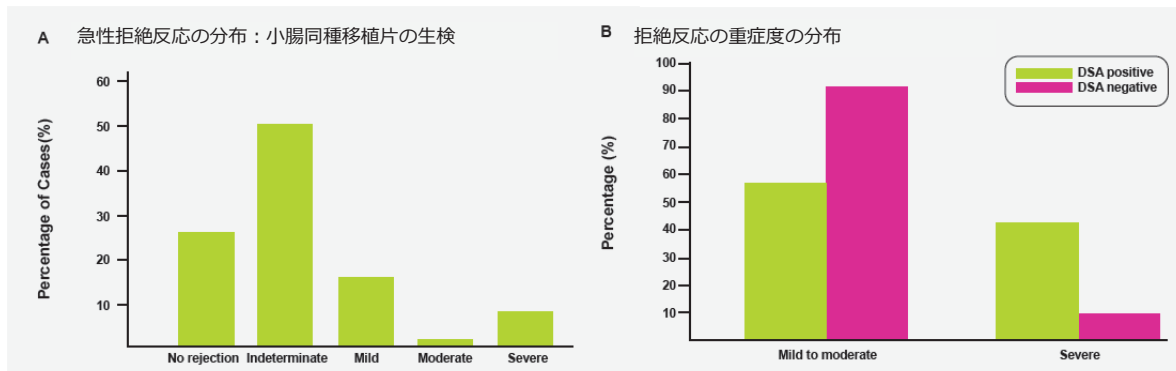
Cantarovich らの報告によると、移植膵の長期生着率は他の臓器移植片の生着率より劣るが、それは移植膵の拒絶反応の診断が生物学的および臨床的に複雑なためである。しかし、移植後 DSA のようなマーカーを同定することは、移植片生着の独立した危険因子として利用できる可能性がある。²⁵



8. 多臓器および小腸の移植

多臓器移植 (MVT) は胃、膵十二指腸複合体、空腸、回腸および / または結腸のうち一つもしくは複数と共に小腸と肝臓を同時に移植するものである。小腸と MVT の移植後の拒絶反応は患者と移植片生着の両方に影響を及ぼす重篤な合併症である。DSA の存在は患者が拒絶反応を起こすリスクが高いことを暗示する。¹⁷ 拒絶反応の経過を抑制するには、小腸移植における急性拒絶反応の早期診断が必須である。

膵臓、多臓器および小腸の移植片における DSA モニタリングの役割は、急性拒絶反応の早期診断と治療において貴重な診断ツールである。



(A) 小腸同種移植片の生検における急性拒絶反応 (AR) の分布。この研究では計 291 個の生検試料が得られ、その分布は 80 個が拒絶反応なし (27.79%)、148 個がグレード不明 (50.86%)、44 個は軽度 (15.12%)、2 個は中等度 (0.69%)、17 個が重度 (5.84%) であった。¹⁸

(B) 急性拒絶反応 (AR) を示した生検試料における拒絶反応重症度のドナー特異的抗体 (DSA) の有無別の分布。DSA が存在する場合、重度の拒絶反応の割合が有意に高い (43.33%対 12.12%、 $P = 0.009$)。¹⁸

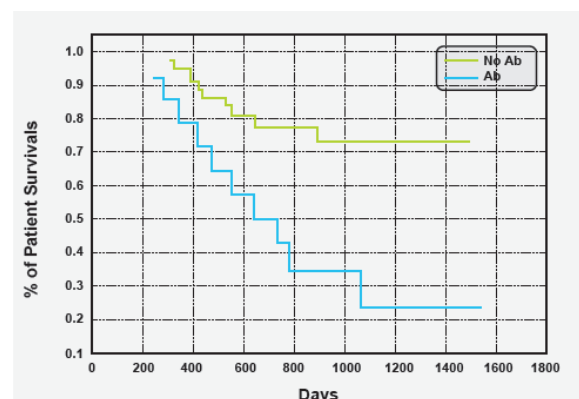
9. 肺移植

閉塞性細気管支炎症候群 (BOS) は肺移植における合併症の一つである。BOS の有病率が高く、BOS 患者の予後が不良で移植片生着期間が短いことから、DSA をより早く検出することが急務である。

Girnitia らは抗 HLA 抗体が 71% という BOS の高い有病率と関連があることを明らかにし、これに比べて抗体陰性レシピエントは 24% であった。

同様に、抗 HLA 抗体の検出は BOS 診断よりも約 1.1 年早かった。²⁶

肺移植における BOS 無病累積生存率と抗体の存在²⁶



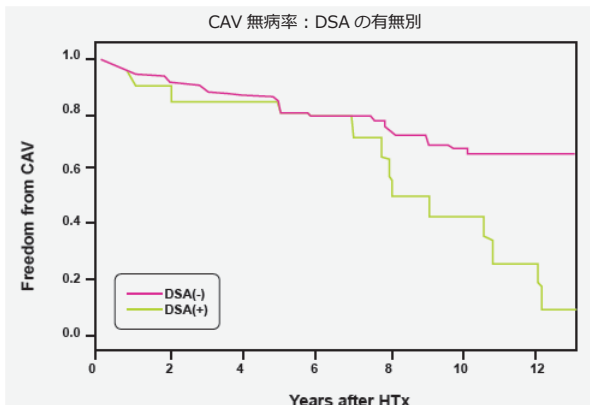
BOS 無病累積生存率は HLA 特異的抗体 (Ab) 保有患者の方が抗 HLA 抗体非保有 (No Ab) 患者に比べて有意に低かった。

10. 心移植

移植後冠動脈病変（CAV）は心移植長期生存者における死亡ならびに再移植の主な原因である。

循環抗体は移植片内皮上での補体の活性化と結合につながるおそれがあり、それにより患者には移植片機能損失や CAV の加速、および死亡が起きやすくなる。

Kazmerek らが報告した研究では、DSA 陽性患者における CAV 無病率は 1 年後で 94.4%、5 年後で 81.0%、10 年後で 41.2%、15 年後で 10.3% で、これに比べて DSA 陰性患者ではそれぞれ 96.2%、83.4%、67.3% および 34.7% であった。⁵



心同種移植片における *de novo* 応答²¹

- 移植後 1 年間に *de novo* 抗体が出現すると 15 年移植片生着率が 52% になることが示されている。
- 移植から 1 年後に出現すると不良な転帰につながり、15 年移植片生着率は 40% となる。
- グレード 3、不良な ACR およびその後 1 年後の *de novo* 抗体の出現の間に強い相関が認められている。

11. DSA モニタリングの将来：C1q DSA が同種移植片生着に与える効果

移植レシピエントで抗 HLA 抗体を検出できれば、臨床医は移植後患者の AMR をより正しく予測できる。DSA がすべて補体結合性というわけではなく、臓器拒絶反応と臨床的に問題にならない場合もあることから、移植患者を適切に治療するためには補体結合性のものを同定することが急務である。補体結合能力をもつ免疫グロブリン G (IgG) 抗体を検出するために設計された新規の **C1qScreen** が、患者の免疫学的プロファイルを明確にするために利用される既存の **LABScreen Single Antigen** と組み合わせて移植後という設定で検討されている。小児心臓移植レシピエントの最近の研究において、移植後に C1q 陽性 DSA を保有する患者全員で次の生検で AMR が認められた。このことは AMR を予測する上で C1q 陽性 DSA のモニタリングが有効なことを示唆している。²⁷

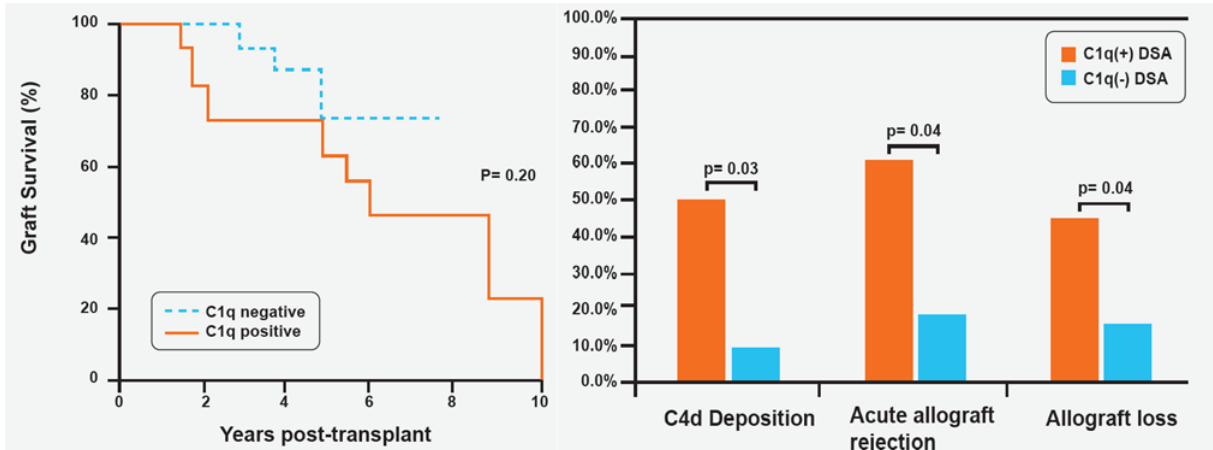
C4d の染色により検出される補体結合の役割は現在、臓器移植レシピエントの移植後モニタリングについて以前ほど広くは受け入れられていない。さらに、従来の補体経路を活性化し得る抗体の評価においては、レシピエントの HLA 抗体特異性の適切な同定が極めて重要である。**C1qScreen** の評価により免疫学的な詳しい抗体情報が得られ、この情報が移植後管理を最適化する際の補助となることが明らかになる可能性が指摘されている。

Yabu らが報告した研究では、C1q 陽性 DSA を保有する腎移植レシピエントは、移植片機能損失の可能性が C1q 陰性 DSA を保有する者の 6 倍近くであった。¹⁰

C1q 陽性 DSA の存在は急性同種移植片拒絶反応の有意に高い発現率と相関があり、C1q 陽性 DSA を保有する患者は C4d 沈着が生検で見つかる可能性が有意に高かった。C1qScreen を使用して補体を結合し、活性化する能力をもつ抗体を検出することが望ましい。²⁸

移植後 1 年間に DSA が検出された腎移植患者の 25.5% が C1q 陽性であった。C1q 陽性 DSA を保有する患者は (C1q-DSA 陰性患者に比べ)、移植後 1 年間の AMR の発現率が高く (64.3% 対 13.4%、 $p < 0.001$)、生検で微小循環炎症スコアが高く (2.4 ± 1.4 対 0.65 ± 0.9 、 $P < 0.001$)、追跡終了時点で GFR が低かった (38 ± 19 対 21.57 ± 19 mL/分、 $p < 0.001$)。

多変量解析において、移植後 1 年間における C1q 陽性 DSA の存在は、移植片機能損失の増加と独立して相関していた ($HR = 6.9$; $CI = 1.5 \sim 32.6$ 、 $p = 0.01$)。



C1qにより検出されたドナー-特異的抗体の有無別の Kaplan-Meier 法による death-censored 移植片生着¹⁰

C1q 陽性および C1q 陰性 DSA を保有する患者における生検 C4d 沈着、急性同種移植片拒絶反応、および同種移植片機能損失の頻度²⁸

12. 移植後のモニタリング

多くの移植レシピエントは移植前には DSA が陰性で、移植後、通常 2 年以内に DSA が出現する。²⁸

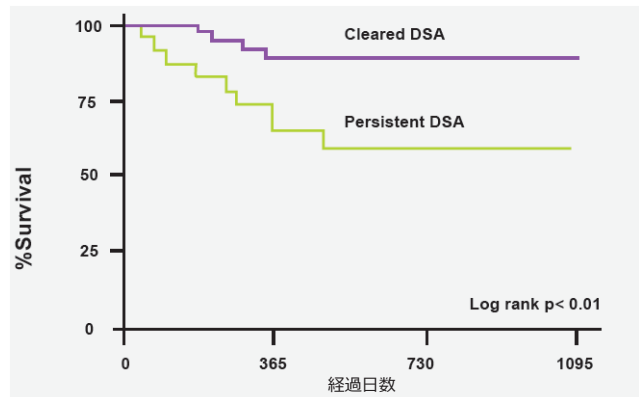
現在は AMR の 50% が見落とされ、生検所見や臨床的表現型は慢性移植腎症によるものとされている。²⁹ 最終的に抗体が移植片不全につながる慢性の血管変化を引き起こすには数カ月あるいは数年かかる。移植後の同種抗体を連続モニタリングすることで、慢性拒絶反応の早期診断が容易になる可能性がある。^{8,30}

DSA のルーチンのモニタリングにより、免疫抑制療法の ノンアドヒアランス のため免疫抑制が十分に得られないことで拒絶反応が生じるリスクがある患者を早期発見できる可能性がある。

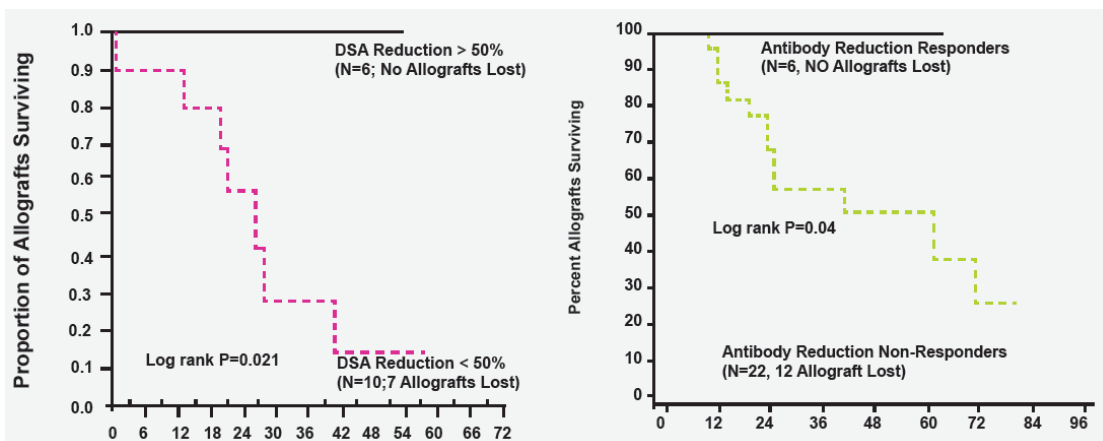
DSA のモニタリングは移植後の免疫抑制療法の調節に役立つ可能性がある。液性拒絶反応への治療薬 (anti-humoral therapy) の正確な調節と最適な転帰には、液性免疫を詳細に調べることが不可欠である。³⁰ ルーチンのモニタリングにより DSA が早期に同定されると、液性拒絶反応への治療をより早く開始でき、DSA の除去と全体的な生着率の改善が可能になることが研究によって示されている。

DSA が残存しているレシピエントでは、これが除去された者より生着が有意に不良であった。¹⁶

肺移植後の抗体に対する (antibody-directed) 治療



DSA を減少させることで AMR における移植腎機能損失を予防できる^{31,32}



生検後 14 日目の免疫優性 DSA の減少率で層化した death-censored 同種移植片生着

抗体産生能で層化した移植腎生着

13. 移植後になぜ DSA をモニタリングするのか

- 10 年移植腎生着率は抗 HLA 抗体が初期（1 年未満）に出現した者は 27%であったのに対し、遅れて出現した者は 80%であった。³³
- AMR を有する腎移植レシピエントの 40%以上が移植糸球体症を発病した。³⁴
- 移植糸球体症と診断された臓器移植レシピエントは、診断時から 5 年目の移植片生着率が 50% 未満であった。³⁵
- 15 年移植片生着率は初期（1 年以内）に抗体が出現した者で 52%で合ったのに対し、遅れて出現した者は 40%であった。²⁰
- 心臓移植レシピエントにおける *de novo* DSA の産生は、DSA が残存した者の方が患者の生存率の低下（HR=3.198）と状態不良とに強い相関があった（HR=4.351）。¹⁷
- 多くの移植後の臓器移植レシピエントは、特に小児集団において免疫抑制両方の ノンアドヒアランスに続いて *de novo* DSA が生じた。¹⁰
- C4d 陰性を根拠とした誤分類に続く *de novo* DSA の出現と AMR 発病には不十分な免疫抑制が関与している可能性がある。²⁹

14. なぜ LABScreen Single Antigen を用いてモニタリングするのか

LABScreen Single Antigen は患者の抗 HLA 抗体のプロファイルを正確かつ高感度に判定できる。これにより DSA（ドナー特異的抗体）と non-DSA（ドナー非特異的抗体）を識別できるため、LABScreen Single Antigen は世界標準試薬として使用され、蛍光値（nMFI）が全世界の共通言語として広く使用されている。包括的なモニタリングプログラムの一環として LABScreen Single Antigen 用いて DSA 量や特異性の変化を検出する事で、拒絶反応のプロセスが今後明らかになる可能性がある。

15. DSA のモニタリング戦略の最適化

移植後のルーチンのモニタリングを実施することが標準治療の一つの慣行として認識され初めているが、検査の実施頻度には大きなばらつきがある。移植後モニタリングの頻度は患者毎に異なる。患者が移植後に AMR を発症する個別のリスクを踏まえてモニタリングの頻度を選択するのが、最も効率的かつ臨床的に妥当な戦略となる。

DSA の連続モニタリングは、単一点での検査をするよりも、特に移植後という設定においては有用で、患者の転帰を最適化する上で非常に重要である。⁹

Kimball らは、移植後 3 年間は年 4 回、患者のモニタリングを行い、患者の 65%が早期検出とその後の治療により移植後 1 年以内に抗体が除去されたと報告した。移植前にクラス I および II の HLA に対する DSA を示した患者では、効果的な治療により 6 カ月目で抗体値が 90%減少し、1 年目には検出不能であった。⁷

16. 結論

1954年に臓器移植が初めて行われて以降、移植分野で様々な画期的偉業が達成されてきた。これらの偉業により臓器移植レシピエントへの治療パラダイムが大きく改良され、移植片生着と患者生存の両方にプラスの影響をもたらされた。手術のイノベーションと進歩は、新規の免疫抑制レジメンや感染症レジメンが導入され、最適化されることで補完されている。免疫学的モニタリングの場合、細胞障害性のアッセイが感度ならびに特異度が高い固相の方法に取って代わられている。先端技術は時が経つにつれて進化し、今や抗 HLA 抗体の存在を検出するためと、更に重要な点として特異的抗 HLA DSA を同定するために利用できる。

歴史的に見て、組織適合性を調べる検査機関で行われるアッセイから得られる免疫学的プロファイルは、移植後拒絶反応を最小限に抑えたり回避したりする手段として移植前という設定で細心の注意を払って利用された。最近になってデータが報告され、臓器の種類を問わず、移植後という設定で DSA を同定し、その後、治療を行うことは、移植患者の長期的な治療において重要な問題と考えられる。報告されたデータは、移植後の患者転帰における DSA のルーチンのモニタリングの潜在的有益性を示している。移植後という設定における DSA のルーチンのモニタリングは、移植片の長期生着と患者の長期生存を確かなものにすると考えられる。

参考文献

1. OPTN & SRTR 2010 Annual Data Report. www.srtr-org/annual_reports/2010 Accessed 20 May 2012.
2. Data as presented at the 15th International Histocompatibility Workshop (2007).
3. Dunn TB, et al. Revisiting traditional risk factors of rejection and graft loss after kidney transplantation. *American Journal of Transplantation* 2011.
4. Colvin RB, et al. Antibody-mediated organ allograft rejection. *National Review of Immunology* 2003; 5(10): 807-817.
5. Kaczmarek I, et al. Donor-specific HLA alloantibodies: long-term impact on cardiac allograft vasculopathy and mortality after heart transplant. *Experimental and Clinical Transplantation* 2008; 6: 229-235.
6. Issa N, et al. Transplant glomerulopathy: Risk and prognosis related to anti-human leukocyte antigen class II antibody levels. *Transplantation* 2008; 86: 681-685.
7. Terasaki, et al. Humoral theory of transplantation. *American Journal of Transplantation* 2003; 3: 665-673.
8. Kimball PM, et al. Surveillance of alloantibodies after transplantation identifies the risk of chronic rejection. *Kidney International* 2011 ; 79: 1131-1137.
9. Lefaucheur, et al. Clinical relevance of preformed HLA donor-specific antibodies in kidney transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2008; 8(2): 324-331.
10. Wiebe C, et al Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *American Journal of Transplantation* 2012; 12: 1157-1167.
11. Yabu JM, et al. C1q-fixing human leukocyte antigen antibodies are specific for predicting transplant glomerulopathy and late graft failure after kidney transplantation. *Clinical and Translational Research* 2011; 91 (3):342-347.
12. Lachmann N, et al. Anti-human leukocyte antigen and donor-specific antibodies detected by Luminex post-transplant serve as biomarkers for chronic rejection of renal allografts. *Transplantation* 2009; 87(10):1505-1513.
13. Fotheringham J, et al Natural history of proteinuria in renal transplant recipients developing de novo human leukocyte antigen antibodies. *Clinical and Translational Research* 2011; 91 (9): 991-996.
14. Kozłowski T, et al Liver allograft antibody-mediated rejection with demonstration of sinusoidal C4d staining and circulating donor-specific antibodies. *Liver Transplantation* 2011; 17: 357-368.
15. Musat AI, et al. The significance of donor-specific HLA antibodies in rejection and ductopenia development in ABO compatible liver transplantation. *American Journal of Transplantation* 2011; 11(3): 500-510.
16. Hachem RR, et al. Anti-human leukocyte antigen antibodies and preemptive antibody-directed therapy after lung transplantation. *Journal of Heart and Lung Transplantation* 2010; 29:973-980.
17. Smith JD, et al. De novo donor HLA-specific antibodies after heart transplantation are an independent predictor of poor patient survival. *American Journal of Transplantation* 2011; 11:312-319.
18. Tsai HL, et al. Association between donor-specific antibodies and acute rejection and resolution in small bowel and multivisceral transplantation. *Clinical and Translational Research* 2011; 92 (6): 709-715.
19. O'Leary, et al. High mean fluorescence intensity donor-specific anti-HLA antibodies associated with chronic rejection post liver transplant. *American Journal of Transplantation* 2011; 11: 1868-1876.
20. Smith, et al. Four stages and lack of stable accommodation in chronic alloantibody-mediated renal allograft rejection in cynomolgus monkeys. *American Journal of Transplant* 2008; 8: 1662-1672.

21. Ho EK, et al. Pre- and post-transplantation all sensitization in heart allograft recipients: major impact of de novo alloantibody production on allograft survival. *Human Immunology* 2011; 72(1):5-10.
22. Lee PC, et al. All chronic rejection failures of kidney transplants were preceded by the development of HLA antibodies. *Transplantation* 2002; 74(8):1192-1194.
23. Sis B, et al. A new diagnostic algorithm for antibody –mediated microcirculation inflammation in kidney transplants. *American Journal of Transplantation* 2012.
24. Loupy A, et al. Outcome of subclinical antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies. *American Journal of Transplantation* 2009; 9: 2561-2570.
25. Cantarovich D, et al. Post-transplant donor-specific Anti-HLA antibodies negatively impact pancreas transplantation outcome. *American Journal of Transplantation* 2011; 11: 2737-2746.
26. Girnita AL, et al. HLA-specific antibodies are risk factors for lymphocytic bronchiolitis and chronic lung allograft dysfunction. *American Journal of Transplantation* 2005; 5(1):131-138.
27. Chin C, et al. Clinical usefulness of a novel C1q assay to detect immunoglobulin G antibodies capable of fixing complement in sensitized pediatric heart transplant patients. *The Journal of Heart and Lung Transplantation* 2011; 30 (2): 158-163.
28. Sutherland SM, et al. Complement-fixing donor-specific antibodies identified by a novel C1q assay are associated with allograft loss. *Pediatric Transplantation* 2011.
29. Sellares J, et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *American Journal of Transplantation* 2011.
30. Zeevi A, et al. Emerging role of donor-specific anti-human leukocyte antigen antibody of determination for clinical management after solid organ transplantation. *Human Immunology* 2009; 70, 645-50.
31. Everly, et al. Reducing de novo donor-specific antibody levels during acute rejection diminishes renal allograft loss. *American Journal of Transplantation* 2009; 9(5):1063-1071.
32. Everly MJ, et al. Beyond histology: lowering human leukocyte antigen antibody to improve renal allograft survival in acute rejection. *Transplantation* 2010; 89(8):962-967.
33. Lee PC, et al. HLA-specific antibodies developed in the first year post-transplant are predictive of chronic rejection and renal graft loss. *Transplantation* 2009; 88(4):568-574.
34. Gloor JM, et al. Histologic findings one year after positive cross match or ABO blood group incompatible living donor kidney transplantation. *American Journal of Transplantation* 2006; 6(8): 1841-7.
35. Stegall MD, et al. Deciphering antibody-mediated rejection: new insights into mechanisms and treatment. *Current Opinion in Organ Transplantation* 2010; 15(1):8-10.
36. Terasaki P, et al. Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: A prospective trial. *American Journal of Transplantation* 2004; (4): 438-443.
37. Lefaucher C, et al. Post-Transplant complement-binding donor-specific anti-HLA antibodies are strong predictors of kidney allograft outcome. Oral Abstract presented at the 24th International Congress of The Transplantation Society, 2012, Berlin, Germany. Abstract#: MON.CO16.06.

LABScreen—Single Antigen Supplement による 抗 HLA 抗体 (DSA) 測定精度の向上

株式会社ベリタス 顧問 小川 公明

▶はじめに

DSA の存在は、移植した造血幹細胞の生着に影響を与えている。特に、DSA を保有する場合、有意差をもって、生着不全となる^{1, 2}。臍帯血移植では、HLA の 2 抗原ミスマッチまで許容されており、多くは HLA 抗原ミスマッチで実施されている。非血縁骨髄移植においても HLA の 1 抗原ミスマッチが許容されている。このような背景から 2012 年の診療報酬改定により、全ての造血幹細胞移植術に対して抗 HLA 抗体検査を実施した場合、4,000 点加算出来ることになった。

▶原理・目的

LABScreen は、LABScan システム (Luminex) を使用して血清または血漿に含まれる抗 HLA 抗体を検出する為の研究用試薬である。原理としては、精製した HLA 抗原をコーティングしたマイクロビーズと血清 (血漿) を反応させ、マイクロビーズに結合した抗 HLA 抗体を、二次抗体で蛍光標識し、LABScan システムで測定する。得られた蛍光強度を専用の解析ソフト HLA Fusion で抗 HLA 抗体を判定する。非常に高感度なのが特徴であり、人種を問わない世界標準試薬として、国内外で幅広く使用されている。

LABScreen 試薬は大きく分けて Mixed、PRA、Single Antigen の 3 種類のキットがある。(図 1)

製品名	目的	
LABScreen Mixed	スクリーニング (1 ビーズに 3 ~ 5 パネル)	
LABScreen PRA	スクリーニング、およその特異性 (1 ビーズに 1 パネル)	
LABScreen Single Antigen	特異性の検出、DSA の同定 (1 ビーズに 1 抗原)	

図 1. LABScreen 製品の種類及び使用目的

抗HLA抗体保有の有無を確認できるのが、LABScreen Mixed、抗HLA抗体保有の有無と、ある程度の特異性、及び%PRA（Panel Reactive Antibody）を確認できるのが、LABScreen PRAである。%PRAの数値の大きさは、抗HLA抗体の強さを表しているのではなく、特異性の幅が大きさ、つまり、多くのHLA抗原に対する抗体を保有していると判断される。蛍光強度は、抗体のおよその量（反応の強さ）を表している。LABScreen - Single Antigenは、1ビーズに対しリコンビナントHLA抗原を1種類だけコートされているため、抗原レベルでのDSAの検出が可能であり、人種を問わず、全てのHLAを抗原レベルで100%網羅されている。

造血幹細胞移植のHLAタイピングは、ハイレゾリューション（アリルレベル）で実施されることが多いが、HLAの抗原抗体反応はまだ解明されていない事が多く、同じHLA抗原であっても、アリルの違いで反応が異なる場合がある事が近年分かってきた。従来のLABScreen Single Antigenは抗原レベルでは100%網羅されているが、日本人のアリルレベルにおいては完全に網羅しきれていない。最近発売した、LABScreen Single Antigen Supplementと組み合わせることにより日本人に特徴的なHLAアリルのほぼ全てを網羅しているため（表1）、さらに高精度なアリルレベルでのDSA測定が可能となる（図2）。

表 1. LABScreen Single Antigen+ Supplement での日本人アリル頻度カバー率

Locus	合計
A	98.74%
B	99.42%
C	98.54%
DRB1	99.63%

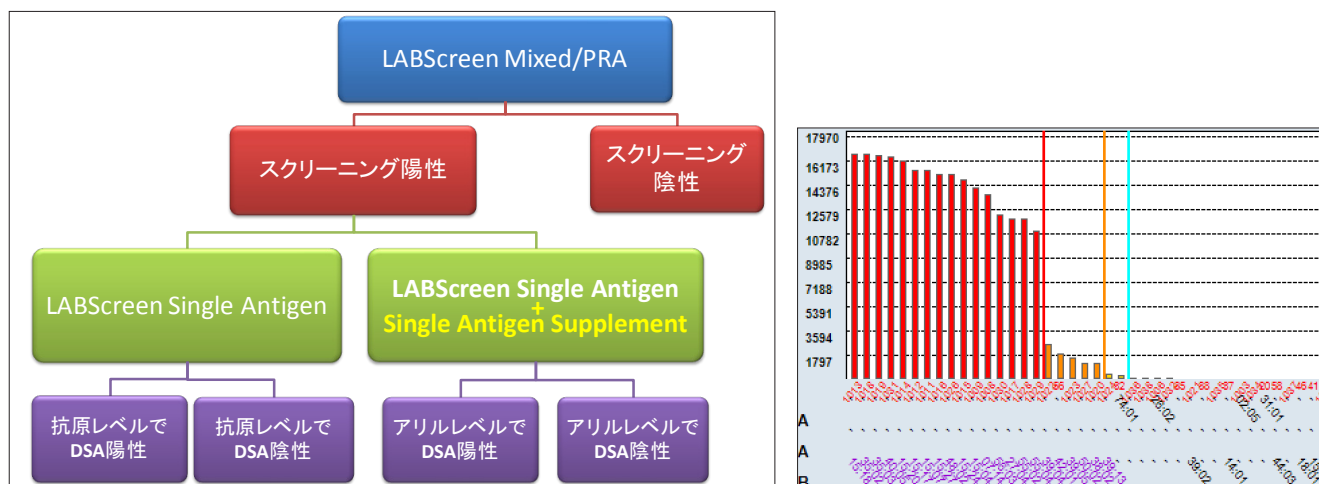


図 2. LABScreen を使用した抗 HLA 抗体測定の流れ（左）と解析例（右）

▶おわりに

抗HLA抗体検査は、LABScreenを使用することにより、従来の抗HLA抗体検査に比べ大幅に感度が向上したため、臨床との関係が明らかとなってきた。今後、症例の蓄積で、詳細な臨床判断に結びつくものと確信する。

文献

- 1) 高橋 聡. 臍帯血移植と HLA 抗体—東大医科研での経験から— . HLA と抗体 3号 .2007.2
- 2) 高梨 美乃子. 臍帯血移植における抗 HLA 抗体の影響. HLA と抗体 7号 .2008.7

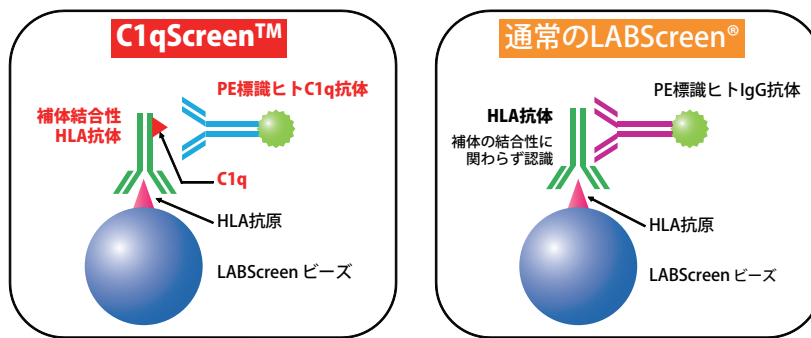
LABScan システム (Luminex) 用 補体結合性 HLA 抗体検出キット



C1qScreen™

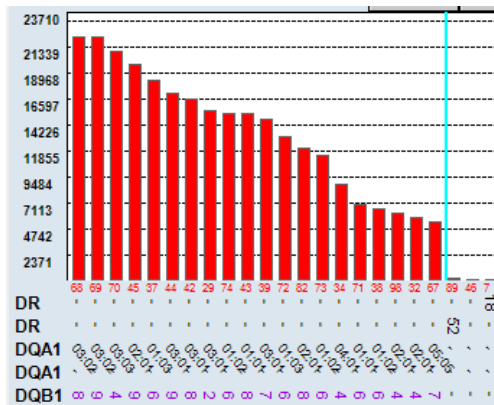
C1qScreen™ は、補体の第一成分の一つである C1q を認識する PE 標識抗体を、お手持ちの LABScreen® ビーズと使用することで、血清中の補体結合性 HLA 抗体を特異的に検出するキットです。通常の LABScreen® で得られたデータとの比較解析から、検出された HLA 抗体が補体結合性を有するかを知ることができます。

▶ 原理

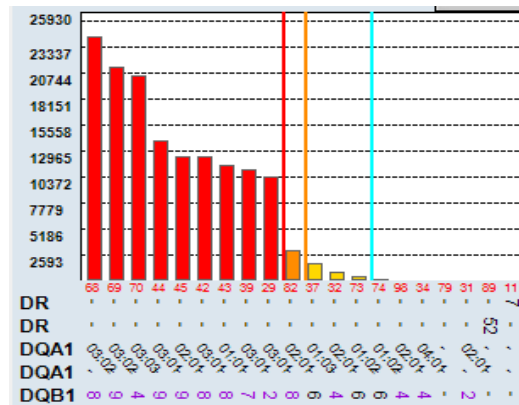


▶ C1qScreen™ と通常の LABScreen® とのデータ比較例

LABScreen の結果



LABScreen+C1qScreen の結果



商品コード	商品名	梱包単位
PEC1Q	C1qScreen™	25 tests
LS1A04	LABScreen® Single Antigen Class I	25 tests
LS2A01	LABScreen® Single Antigen Class II	25 tests

詳しくはベリタス HP へアクセス！！





日本総代理店

株式会社

ベリタス

〒105-0001 東京都港区虎ノ門 2-7-14 八洲ビル
TEL.03-3593-3211 (代) FAX.03-3593-3216
E-mail: veritas@veritastk.co.jp

<http://www.veritastk.co.jp/>

