

HLAと抗体

臨床と検査の架け橋をめざして...

2006.5
1号

Contents

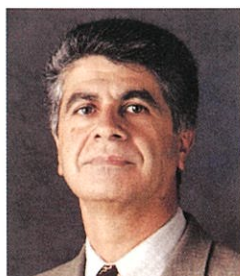
| | | | |
|---------------------------|---|---------------------|---|
| ●「HLAと抗体」の創刊に寄せて..... | 1 | ●HLA抗体検査よろず相談室..... | 4 |
| ●臓器移植と抗体..... | 2 | ●HLAと抗体など..... | 5 |
| ●第39回日本臨床腎移植学会参加レポート..... | 4 | ●虎ノ門ニュース..... | 8 |

「HLAと抗体」の創刊に寄せて

編集顧問

木村 彰方 (東京医科歯科大学難治疾患研究所・教授)

輸血既往歴のある患者や経産婦の血清中に他人の白血球を凝集させる抗体、すなわち抗 HLA 抗体の存在が報告されてすでに 50 年が過ぎた。その後の研究により自己・非自己の識別を支配する遺伝子座である HLA には多数の遺伝子が存在し、これらが非自己抗原に対する免疫応答性を制御することが明らかになってきた。また、著明な多型性を示す HLA は、自己免疫疾患や感染症関連疾患における感受性・抵抗性遺伝子座をマッピングするための遺伝標識として用いられている。さらに、HLA を標識とした人類集団 (人種、民族) 間の関連性の解析や種を越えた進化の解析など、HLA は人類遺伝学、進化遺伝学的な研究の対象ともなっている。一方、これらの基礎研究と並行して、臓器移植や造血幹細胞移植におけるドナー・レシピエント選択など、HLA は移植医療への応用がなされている。しかしながら、これらの生命現象に関わる分子やそれらの機能連関については未解明な点が残されており、いまいちど「組織適合性の原理と応用」に取り組むことが必要であろう。



One Lambda, Inc.
President & CEO
George M. Ayoub

It is an honor to be apart of the first edition of HLA and Antibody. I would like to take this opportunity to congratulate the Veritas Corporation for their continued work and dedication to the advancement of Clinical Histocompatibility Testing in Japan. In 1984, Professor Paul Terasaki from UCLA formed One Lambda, Inc with the goal of creating a corporation that would continuously meet the needs of the global HLA community. Since then, One Lambda has built on its experience to become the flagship company in HLA reagents. Focusing only on the HLA market, we are in a position to provide the best reagents and services to the transplant community. Our scientists and technologists, having experience from working at both One Lambda and also in HLA laboratories worldwide, bring a wealth of knowledge to our development efforts. Their combined years of experience gives us an impressive pool of HLA expertise that allows us to quickly evaluate customer needs, respond with fast-paced research and development, and bring innovative products to the market in a timely manner.

To better service the international community, we have over 50 distributors worldwide and we are proud to recognize the Veritas Corporation of Japan as our first international distributor. For twenty two years, One Lambda has worked very closely with Veritas to develop reagents, equipment and software to meet the specific needs of the Japanese KIR, MICA, and more. This included the Japanese serological trays, DNA kits designed to detect alleles that were frequent in the Japanese population and antibody detection reagents for pre and post transplant monitoring. We are committed to expanding our reagent line in order to meet the growing needs of the HLA community in Japan.

Our efforts for this year and beyond will primarily focus on expanding and enhancing our Molecular and Antibody Detection products and adding automation to our Luminex®-based lines.

One Lambda's Molecular products provide improved resolution and decrease ambiguities. Our SSO typing resolution is unmatched and we'll continue to enhance our "Specialty Probe" technology, to improve resolution even further.—Also, we will continue developing kits to type additional marker systems relevant to transplantation including KIR, MICA, and more.

In Antibody Detection, we are just learning the significant benefits of single antigen.—We plan to enhance our single antigen products and initiate more collaborative studies to explore how this tremendous technology can advance post transplant monitoring. We are committed to making this technology available to the entire HLA community and have dedicated our efforts to assuring we meet the growing demand while being sensitive to your economic needs.

Also, we are expanding our development efforts in the area of automation.—The Luminex® platform is one of our highest priorities, with continuous improvement efforts for both LABType® and LABScreen® kits. And, we are investing heavily in developing solutions to add automation to both product lines with the ultimate goal of reducing hands on time for these assays.—Finally, rest assured that our company will continue to evaluate innovative testing technologies and that we are positioned to take advantage of these new technologies to further benefit you, our customers.—We thank you for your continued loyalty and patronage.

臓器移植と抗体

臓器移植が難治性の末期臓器不全に対する治療法として定着してから半世紀が過ぎようとしています。現在、世界50数カ国で移植されている臓器は、心臓、肺臓、心-肺、肝臓、腎臓、膵臓、腎-膵、小腸などで移植総数は腎移植で50万症例、心移植で5万症例また肝移植で6万症例を越えています。シクロスポリンに代表される特異的免疫抑制剤が移植医療に応用された1980年代以降、症例数が飛躍的に増大すると共に移植成績も著しく向上してきました。しかし臓器移植は生体が本来持ち合わせている生体防御に相反する行為のため移植された臓器は常に拒絶の危険にさらされています。移植されたドナー臓器は、レシピエントの免疫担当細胞によるドナー同種抗原の非自己認識により引き起こされる細胞性拒絶や液性拒絶により機能を失います。本稿では検査法の進歩に伴いクローズアップされている臓器移植と抗体に関する意義と最近の知見について述べていこうと思います。

臓器移植における HLA抗体検索の変遷

腎移植予後に影響を与えるHLA抗体に関する主な変遷を表1に示しました。1946年Medawarはウサギ同種皮膚移植において拒絶が抗体により引き起こされる事を明らかにしました。1966年Kissmeyer-NielsenはABO適合腎移植における超急性拒絶反応が白血球や血小板に対する抗体により引き起こされる液性拒絶であることを初めて報告しました。1969年Terasakiは移植前にレシピエント血清中に存在するドナー抗原に対する抗体の有無が移植成績を著しく低下させることから移植直前に施行する直接交差試験(direct crossmatch)の重要性を示唆しました。腎移植のレシピエントは慢性貧血の改善のため頻回に輸血を受けているため輸血と移植成績の解析や、レシピエントの不適合HLA抗原に対する免疫応答能のチェックとドナー抗原に対する免疫不応答を導入するための移植前ドナー輸血(donor specific blood transfusion : DST)が行われてきました。クロスマッチ陽性レシピエントに再移植の機会を与えるためレシピエント血清をDTT

表1. HLA抗体スクリーニングの歴史

| | | |
|------|---------------------------|---|
| 1946 | Medawar | ウサギ同種皮膚移植で液性拒絶証明 |
| 1954 | Dausset | 頻回輸血患者血清中の白血球凝集素、白血球抗体証明 |
| 1958 | Payne, van Rood | 経産婦血清中の白血球抗体証明 |
| 1964 | Terasaki | LCT法開発 |
| 1966 | Kissmeyer-Nielsen | 前感作抗体による超急性拒絶反応報告 |
| 1969 | Terasaki | 直接交差試験と腎移植予後 |
| 1977 | Opelz, Terasaki, van Rood | 腎移植前輸血の有効性証明 |
| 1977 | Ting | Bリンパ球クロスマッチと腎移植予後 |
| 1979 | Iwaki | cold B抗体と腎移植予後 |
| 1983 | Salvatierra | DST(Donor specific blood transfusion)と腎移植予後 |
| 1983 | Garovoy | Flow cytometryクロスマッチ |
| 1987 | Opelz | DTT(Dithiothreitol)処理による直接交差試験 |

(Dithiothreitol)処理したクロスマッチも行われるようになりました。輸血、妊娠や移植など同種免疫により産生されたレシピエント血清中の前感作抗体(preformed antibodies)の有無や特異性を検出するために、予めHLA特異性が決定された50-100種のパネル細胞を用いた解析(panel reactive antibodies : PRA)は拒絶回避にとって重要な検査と位置づけられています。1990年以降に相次いで新しい技術が開発され、より詳細な抗体スクリーニングが可能となり拒絶反応診断や免疫抑制療法に応用されはじめています。

移植前に行われる抗体検査:方法と意義は?

移植前には直接交差試験とPRA検査が行われます。1964年Terasakiはリンパ球と血清中の抗体を結合させ抗原抗体反応を起こさせた後に補体(ウサギ血清)を加えた補体反応によりリンパ球の生死判定を行うリンパ球細胞障害試験法 (lymphocyte cytotoxicity test : LCT)を開発しました。移植直前に行われる直接交差試験はレシピエントがドナー不適合HLA抗原に対する前感作抗体を既に産生しているか否かを調べるのが目的で、レシピエント血清とドナーのT/Bリンパ球を用いたLCT法により抗体有無が決定されます。移植直前に行われるこの検査は、前感作抗体により引き起こされる超急性、急性拒絶反応を回避する上で極めて

重要です。通常、ドナー不適合HLA-A、-B(class I)抗原に対する抗体は超急性拒絶反応を誘発する禁忌抗体と考えられているため移植は施行しません。一方、ドナー不適合HLA-DR、-DQ(class II)抗原に対する抗体は慢性拒絶反応の原因抗体と考えられています。1980年代から新しい免疫抑制剤が臓器移植に導入されましたが、組織適合性抗原適合度の解釈の相違やレシピエントの移植適応拡大などにより再移植が増加してきました。しかし初回移植による直接交差試験が陽性で移植適応外のレシピエントも増加してきました。そのためIgMのS-S結合に反応しIgM抗体を不活化するDTT(Dithiothreitol)処理による直接交差試験が普及しました。レシピエント血清中のIgクラスを特定することにより直接交差試験陽性レシピエントへの移植が可能となりました。最近、新しい直接交差試験法としてフローサイトメーターによりドナー不適合抗体の有無を測定するフローサイトクロスマッチ(FCXM)法が用いられ始めました。レシピエント血清とドナーT/Bリンパ球を反応後、FITC標識抗ヒトIgG(ab)²抗体、PE標識抗ヒトCD3抗体やPE標識抗ヒトCD19抗体を加えフローサイトメーターで測定する方法でLCT法より高感度で補体非依存性抗体の検出も可能です。直接交差試験は腎移植症例を中心にデータの解析が行われてきました。しかし心臓移植、献体(死体)肝移植の場合は臓器摘出から移植までの時間的制限があるため、実際に直接交差

試験の結果を移植に反映させることは極めて困難です。そのためレシピエント血清中の前感作抗体の有無や抗体特異性を把握できるPRA検査は直接交差試験の代行検査として非常に重要です。心移植および腎移植待機患者の20-30%はPRA陽性でその30%は高いPRA陽性率を示しています。同種抗原の感作による抗体産生の有無は、レシピエントの同種抗原に対する免疫応答能に依存しています。同種抗原に対し高応答性を示すレシピエント、すなわち前感作抗体を産生するレシピエントは抗体力価が高く複数の特異性を有する抗体を産生する可能性が高いと考えられます。このようなレシピエントの場合、定期的にPRA検査を行い抗体有無をチェックすると同時に抗体特異性を正確に把握することにより、拒絶反応の回避や軽減に役立ちます。図1はPRAに対する前感作抗体陽性率と移植後6ヶ月の拒絶反応頻度と廃絶率を示しています。生体腎、献体腎移植ともにレシピエントが高いPRA陽性率を有する場合、拒絶および廃絶頻度は有意に高くなります。図2はPRA陽性率と5年生着率を示したのですが、生体、献体腎移植ともにPRA陽性率が高くなるほど生着率は低下します。従って直接交差試験が陰性でもPRA陽性率が高いレシピエントは、拒絶反応を起こしやすいとともに生着率も低くなるため免疫抑制療法をはじめ細かい術後管理が求められます。PRA検査はLCT法により行われていましたが多数の生リンパ球の収集が困難になり抗体解析に時間がかかり過ぎるため現在は、精製されたHLA抗原を固定させたビーズとレシピエント血清を反応させビーズに結合した抗体をフローサイトメーターにより検出するフローPRA(FlowPRA)法やLuminex法に移行しています。本法は抗体検出の精度が非常に高くリアルタイムで抗体有無や特異性が特定できるためレシピエント血清中の抗体検索には極めて有効です。

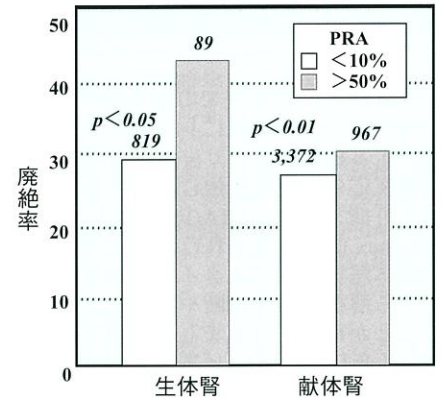
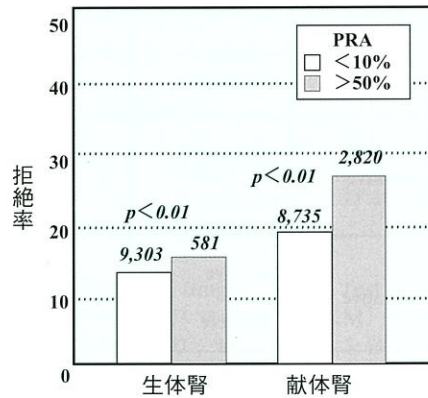


図1. 前感作抗体と移植腎予後 (6ヶ月)

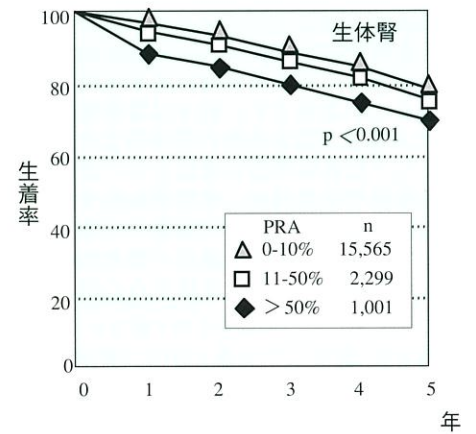
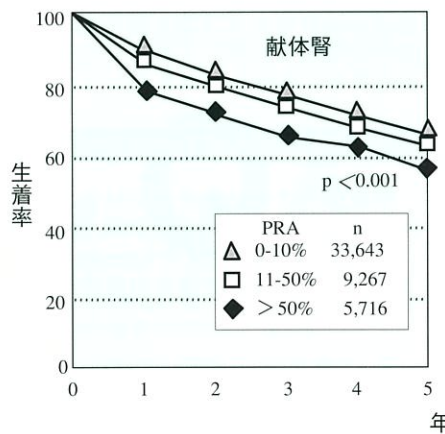


図2. 前感作抗体と移植腎5年生着率

**移植後に行われる抗体検査：
方法と意義は？**

抗体解析がLCT法でのみ行われていた時代では、移植後にレシピエントが産生する抗体のスクリーニング結果を拒絶反応の診断や治療に応用することは不可能でした。PRA(FlowPRA)法やLuminex法が開発された現在、移植後の抗体解析がリアルタイムに出来ることから解析結果を診断や治療に応用することが可能となりました。図3は移植後1年以降のレシピエント血清中のHLA抗体出現頻度で移植された臓器の種類に関わらず20%前後の抗体産生が認められます。表2は腎移植前後の抗体推移と移植後1年の廃絶率です。移植前にPRA抗体陽性で移植後もPRA抗体が継続しているレシピエント、移植後にPRA抗体が陽性化したレシピエントではいずれも廃絶率が有意に高くなっています。移植後の定期的なPRA検査はレシピエントのドナー不適合抗原や交差抗原(cross reactive antigen: CREG)に対する免疫反応を反映しているため重要です。我々は腎移植後のPRA検査を抗体有無の経時的変化だけでなく抗体特異性の検出を行い血漿交換時期や効果判定、免疫抑制剤増減の指標として拒絶反応の診断や治療に用いています。ドナー臓器の機能廃絶がレシピエントの死を意味する心移植や

表2. 移植前後の抗体推移と移植腎廃絶頻度（移植後1年）

| 移植前 PRA抗体 | 移植後 PRA抗体 | 患者数 | 廃絶数 | 廃絶率 | P |
|-----------|-----------|------|-----|-----|-----------|
| positive | positive | 167 | 10 | 6.0 | p=0.05 |
| | negative | 190 | 4 | 2.1 | |
| negative | positive | 244 | 21 | 8.6 | p=0.00003 |
| | negative | 1421 | 43 | 3.0 | |
| Total | positive | 500 | 33 | 6.6 | p=0.0007 |
| | negative | 1778 | 58 | 3.3 | |

心移植ではレシピエント血清中の詳細な抗体解析は特に重要です。図4は当センターで施行された心移植後の経時的な抗体変動です。抗体の変動と免疫抑制剤のトラフ値を参考に免疫抑制剤の増減や心筋バイオプシーの時期決定などに应用しています。

今後の抗体検査は？

移植前のフローサイトクロスマッチはLCT法による直接交差試験の限界をカバーし、Flow-PRAやLuminex法によるレシピエント血清中の抗体解析は

レシピエントの同種抗原に対する免疫応答能の把握や直接交差試験の代行検査としてますます普及して行くでしょう。リアルタイムに抗体解析が可能なFlow-PRAやLuminex法は移植後の拒絶反応診断や治療には不可欠な検査法になるでしょう。現在、移植前後の抗体検査の意義や移植医療への応用について国際共同作業をはじめ各移植施設で解析が行われています。拒絶反応の早期診断や予測は再移植の防止だけでなく長期生着を可能にしレシピエントのQOL向上に貢献できることから抗体検査はますます重要となるでしょう。

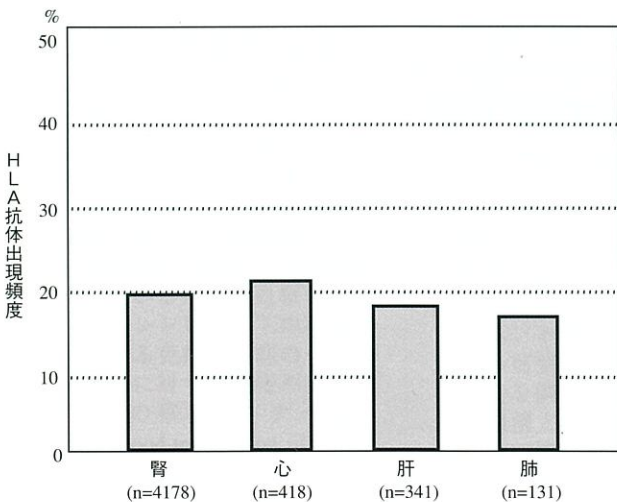


図3. 臓器別HLA抗体出現頻度 (移植後1年以降)

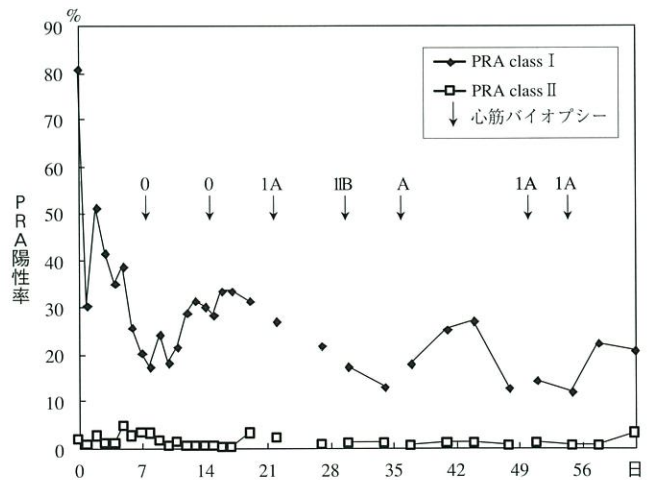


図4. 心移植患者血清中のHLA抗体変動

第39回日本臨床腎移植学会参加レポート

(株)ベリタス顧問 小川 公明

第39回日本臨床腎移植学会が1月25～27日に鬼怒川温泉で開催され、医師、看護師、検査技師など幅広い関係者が集合しました。

私はティッシュタイプとして、組織適合性検査に興味があり今回は特にHLA抗体が注目されており、そのセッションに参加したので、方法別に概要を報告致します。

1) Direct Crossmatch (CDCC) LCT法で実施され超急性拒絶に関与する抗体を検出することができ、数十年前より継続されており臓器移植ネットワークの標準とされています。

2) フローサイトクロスマッチ (FCXM) 非常に高感度であり促進性拒絶等に関する抗体を検出できるため今回、注目を集めました。

欧米では既にCrossmatchの標準となっているとの指摘がなされましたが、設備が高額のため日本では普及が遅れており、臓器移植ネットワークの標準と

はされていません。これに対し、臨床側からは早期導入を要望する発言が相次ぎました。

3) Flow PRA Screening Test フローサイトクロスマッチ (FCXM) 同様に高感度であり、精製されたHLA抗原を使用しているため、HLA抗原に対する抗体だけの有無を判定できます。

4) Flow PRA Single Antigen Test フローサイトクロスマッチ (FCXM) 同様に高感度であり、HLA特異性を確定できます。移植後の検査では、特異性がドナーのHLA抗原に陰性であっても、抗体が移植臓器に吸着されている場合もあるため、定期的な観察が重要との指摘がありました。

フローサイトクロスマッチ (FCXM) 陽性でもFlow PRAが陰性でHLAに対する特異性が認められない場合の移植腎生着が報告されていました。これは、フローサイトクロスマッチ (FCXM)

は細胞障害性のない抗体や自己抗体などHLA抗体以外の抗体も検出する可能性があり、HLA抗体のみを検出するFlowPRAの同時実施が必要であることを強く示唆されました。

フローサイトクロスマッチ (FCXM) とFlow PRAは車の両輪として移植分野で必須の検査と位置付けられたと思います。また、今回注目されたFlow PRAの新しい意義として、移植後の拒絶兆候のモニタリングとしての活用がありました。

これは、現在、実施されているLCT法レベルのPRAでは抗体が検出された時点での拒絶治療は難しいですが、FlowPRAはLCT法の数百倍の感度を有しているため、拒絶兆候のきわめて初期の段階で抗体の検出が可能である利点によるものです。

今後、患者に対する負荷の少ないモニタリング検査として定着していくものと思います。

HLA抗体検査よろず相談室

QA

Q1: FlowPRAをこれから始めたいのですが、フローサイトはこのメーカーのものでも使えますか？

A1: これまでに弊社ユーザー施設での経験から測定可能であることが確認されている機種は、ベクトン・ディッキンソン社「FACScan」「FACSCalibur」「FACSCanto」、ベックマン・コールター社「EPICS XL」「FC500」「ALTRA」です。これ以外の機種の場合もご相談ください。同じメーカー、同じ機種でも個々の機器によってレーザーは差異（経年変化を含む）がありますので初期設定はそれぞれ異なります。

Q2: FlowPRAとLABScreenの違いを教えてください。

A2: FlowPRAは、ヒストグラムを目で確認できるので、データ解析が比較的容易です。フローサイトメーターをお持ちでしたらすぐに導入検討が可能です。LABScreenは、専用機器 (LABScan100) を必要としますが、多検体処理に向いて

おり96検体を90分で処理でき、判定も専用の解析ソフトで行います。

Q3: FlowPRAやLABScreenは高感度と聞きましたが、FlowPRAやLABScreenだとネガティブで、LCTだとポジティブになる血清があるのは何故ですか？

A3: FlowPRAやLABScreenは、HLAのIgG抗体だけを検出しますので、IgG以外のHLA抗体は検出されません。(ただし、二次抗体を変えればIgMを検出することも可能です) 一方、LCTは補体依存性のリンパ球細胞障害試験ですので、抗体のクラスに関係なく補体依存性の抗体であればすべて検出されます。HLA以外の抗原に対する抗体 (Non-HLA抗体) を含む場合もあります。また、生のリンパ球を使うため、そのViabilityによって擬陽性が起こることもあります。FlowPRA/LABScreenとLCTの違いは感度だけではなく、原理が異なります。

Q4: %PRAとは何ですか？抗体価とはどのように違うのですか？

A4: %PRAはHLA適合ドナーが見つかる確率を求めた概念で、100人あたりのドナーに対して、レシピエントが何人と反応するかの割合を示したもので特異性の幅だけを表現します。仮に100種類のパネルに対して、レシピエントの血清が60パネルに反応した場合は、%PRAは60%です。FlowPRA Screening Kitは30種類のパネルを使用していますので、10種類のパネルに反応した場合%PRAは33.3%ですが必ずしも抗原頻度を反映したものではありません。抗体価とは抗原に対する強さの表現ですので、%PRAが低くても強い抗体は存在することがあります。

HLAに関するお悩みは、どんな些細なことでもベリタスにお問合せ下さい。

HLA 抗体検査法の移行期

HLA 抗体は 1954 年に、後にノーベル賞を受賞した Dausset により白血球凝集素として見つけられ、1958 年には輸血を受けた患者から同じ反応を示す 6 本の血清を見つけ、対応する抗原として Mac (1972 年に HLA-A2) と名づけられた。その後から、多くの研究者が加わり、経産婦からの抗体の発見、血小板やリンパ球を用いる検査法の開発、大量のデータを分析するためのコンピュータの利用などにより、多くの抗原が抗血清により見つけられてきた。1964 年には、Terasaki により現在も使用されている LCT 法が開発され、また、これも現在まで続いている国際組織適合性ワークショップ (IHWS) が Amos の提唱で開催された。IHWS では各研究者から提出された血清を分配することで得た共通のデータによる、血清の特異性の解析、新たに見つかった抗原の命名が行われた。また、多くの家系を調べることにより、HLA の遺伝的関係が分析された結果、HLA の遺伝子座は A 座、B 座に分けられ、さらに C 座も認められた。リンパ球が T 細胞と B 細胞に分けられるようになると、従来 MLR (リンパ球混合培養試験) で調べられていた D 抗原が、B 細胞にのみ発現している DR、DQ 抗原として血清学的に検査できるようになった。HLA は、抗血清 (抗体) で抗原の特異性を決め、その決められた抗原で (抗) 血清の特異性を決めるという、相互作用でらせん状に発展してきたと言える。HLA 抗原の研究が進むにつれ、抽出した HLA 抗原を担体に結合させて、リンパ球の代わりに抗体検査に使用できるようになった。また、細胞単位の 1 組の抗原ではなく、各抗原別に抗血清の反応を判定できるようになり、抗体の特異性がより明瞭になり、エピトープの反応として整理できる可能性がでてきた。一方 HLA 遺伝子の解析が進み、HLA アリルを DNA タイピングできるようになり、HLA 型を決めるのに、抗血清を必要としなくなった。現在は、生細胞を使う LCT 法から、抽出抗原を使う方法への移行期と言えるが、生体の反応としての HLA 抗体の役割は、HLA 適合血小板輸血、臓器移植、造血細胞移植など臨床の場でさら

に高まり、正確な HLA 抗体の特異性が求められてきている。日本組織適合性学会では、従来 HLA-DNA タイピングの QCWS を開催してきたが、それに加え日本における HLA 抗体検査の普及と標準化を目指して 2004 年に HLA 抗体 QCWS を試行し、2005 年から正式に実施するようになった。その報告書が「第 9 回 HLA-QC ワークショップレポート - 抗体部門報告 -」として、日本組織適合性学会誌「MHC」12 巻 3 号 (2006) P 262 - 273 に掲載されている。現在の日本における HLA 抗体検査の現状を知るのに良い資料なのでその一部を紹介したい。詳細を知りたい方は原著をご覧ください。(表 1 - 3 は原著からの引用で、一部改変したところがあります。)

2005 年 HLA 抗体 QCWS の概要

参加施設は 48 施設あり、血液センター (18)、臓器移植ネットワーク検査施設 (17)、企業 (6)、その他医療関係施設 (7) に分けられた。そのうち 44 施設がデータを提出したが、QCWS 管理者以外はどの施設から提出されたデータかわからないシステムに

なっている。表 1 に検査方法別に抗原形態、パネル形態、測定方法、参加施設数を示した。複数の方法を取り入れている施設が多く、1 法 (17)、2 法 (11)、3 法以上 (16) となっているが、中心となる検査法は LCT 法、LAT、FlowPRA、LABScreen に分けられる。事前に LCT 法で特異性、力価を調べてある、抗血清が 6 本 (各 0.5ml) 配布された。この WS では多種類の検査法で行われたため、異なった原理、感度、結果の表記法など結果を、客観的に比較するためデータの記載法を以下のようにした。①できるだけ生データを集める (ヒストグラム、測定値など)。②各検査法の測定結果はスコア表記 (8、6、4、2、1、0) で統一した。③判定結果を抗体の有無とその特異性に分けて表記した。④特異性判定は、対応抗原ごとに、陽性 (8、6)、保留 (4)、陰性 (1)、未検査 (0) に分けてスコアで表記した。生データを集めるためと、転記ミスを防ぐため、データ記入用のエクセルファイルが配布された。

表 1. 参加施設の検査方法別一覧

| 検査方法 | 抗原形態 | パネル形態 | 測定方法 | 施設数 | |
|-----------|--------|-----------------------|---|--------|----|
| LCT | リンパ球 | Specific | 目視, 数値 | 17 | |
| AHG-LCT | | Specific | | 14 | |
| MPHA | 血小板 | Screening Specific | 目視 | 10 | |
| PAKPLUS | 血小板糖蛋白 | 抽出抗原 | Screening | 数値 | 4 |
| LAT | 培養リンパ球 | 精製抗原 | Specific Single antigen | 目視, 数値 | 7 |
| FlowPRA | 培養リンパ球 | 精製抗原 | Screening Specific Single antigen | パターン | 20 |
| LABScreen | 培養リンパ球 | 精製抗原 | Screening Specific Single antigen | 数値 | 10 |
| LIFT | リンパ球 | | Specific | パターン | 2 |

解析結果

回答を整理してみると、①抗体の有無をだけを回答したのは8施設と少なく、残りの37施設は抗HLA特異性まで判定していた。②検査された抗体のクラスをみると、クラスIは13施設だけで、残りの31施設はクラスIIも検査していた。③2次抗体を使って検査していた34施設のうち、6施設が抗IgMも使用していた。

解析結果の全体を見るためにまず、サンプル別の総合的な解析結果を表2に示した。LCTである程度予測されていたが、多数の検査結果から、抗体のクラス、HLA抗原のクラスは、想像以上に多岐にわたって検出された。以下検査方法別にまとめられたものを簡単に紹介する(表3に例として、サンプルSH04のデータを示した)。

LCT (AHG-LCT)法は補体依存性の抗体しか検出できないが、IgGやIgMの区別なく検出できている。LCT法は検査に使用したパネル細胞が少ないので、未検査の抗原に対する抗体特異性が判定できていない場合が多い。感度に関しては、LCT法で検出できた抗体特異性は、少なくとも他法でも検出されていた。

MPHA法は血小板抗体検出用なのでHLA用としては抗原の種類が限定され、抗体特異性が抜けるところもあった。今回の結果では、AHG-LCT法と同等の検出感度が認められたが、FlowPRAやLABScreenの検出水準には達していない。

PAKPLUSはHLA抗体の有無にしか対応していないので、特異性比較は不可能であった。

LIFT法は自家製パネル細胞の反応となるので一部特異性が抜けるが、検出感度はLATと同等と考えられた。実施する施設によってLIFT法のプロトコルが一定していない現状があり、条件等まちまちであり検出感度としては他法より幅があると考えられる。

LAT, FlowPRA, LABScreenは使用されている抽出抗原ソースは同一であるが、組み合わせで多少異なる。これらは市販試薬でありそれぞれScreening, Specific, Single antigenタイプのパネル形態が揃っている。これらの方法は2次抗体としてIgGを使うようになっているが、

IgMを使用した場合、信頼性が十分得られない個別のデータがみられた。

LATは、テラサキプレートを用いてELISA法で行うので、ポリスチレン・ビーズを用いてフローサイトメトリックに測定する他の2法に比べ抗体特異性検出感度はやや低い。計測による数値ではなく、目視判定されたものでは擬陰性、擬陽性が生じた例も認められた。

FlowPRAは、通常フローサイトメーターで測定できるが、機器の条件設定が正しく設定されていなかったり、データが数値ではなくヒストグラムであるため、異なった結論が導かれることがある。しかし全体的に見るとLABScreenより信頼性が高いと思われる。LABScreenは専用の測定装置を必要とするが、機器設定はほとんどなく、操

作の簡便性は優れている。一部の血清で特定のビーズに対し非特異反応が観察されるが、試薬ロットとコントロール血清あるいはビーズ固有の非特異反応が結果を左右していると考えられる。多数の施設の参加により、多くの検査法からのデータが集積された結果、予想以上の成果がえられた。参加施設は、全データをCDで受け取っているため、これらのデータを基に、検査の方法や、判定法の改良の参考にできると思われる。また全体として、客観的に各検査法の比較、判定法の標準化を進めていけると思われる。このQCWSは本年も既に参加者の募集が行われ、9月に東京で開催される学会に併せて報告会が行われる予定である。

(つづく)

表2 .HLA抗体の特異性：サンプル別の総合的な解析結果

| QC-ID | anti HLA class-I specificity | | | anti HLA class-II specificity | |
|--------|------------------------------|---|-----------------------------|---|-----|
| | LCT | IgG | IgM | IgG | IgM |
| SH1701 | A2 | A2 A3 A11 A23 A24 A25 A26 A32 A68 A69 B57 B58 Cw14 | A2 A3 A23 A24 A68 A69 | - | - |
| SH1702 | B8 | - | B8 | DR8 DR12 | DR8 |
| SH1703 | A2 B57 B58 | A1 A11 A25 A26 A34 A36 A43 A66 A80 B73 Cw7 Cw4 Cw6 Cw12 Cw17 Cw18 | A2 B57 B58 | - | - |
| SH1704 | ? | B18 B35 B38 B39 B51 B52 B53 B56 B67 B78 Cw15 | A31? | DR1 DR7 DR9 DR10 DR11 DR14 DR51 DR53 DQ8 DQ9 DP | - |
| SH1705 | B7 B48 B60 B81 | B7 B8 B41 B42 B48 B60 B81 | B38 B39 B73 Cw17 | - | - |
| SH1706 | B13 B60 B61 | A66 B7 B13 B27 B41 B44 B45 B47 B48 B49 B50 B60 B61 B4005 B81 Cw2 Cw17 | - | - | - |

表3.検査方法別のHLA抗体特異性比較 (SH04)

| 検査法 | 特異性 |
|-----------------|---|
| LCT | A31 |
| AHG-LCTA | B39 B67 B38 B35 B5 |
| MPHAM | B39 B35 B5 |
| LIFT (IgG)LI | B39 B67 B38 B18 B35 B5 B56 |
| LAT (IgG) | B39 B67 B38 B18 B35 B5 |
| FlowPRA (IgG)G | B39 B67 B38 B18 B35 B5 B56 Cw15 |
| LABScreen (Ig) | B39 B67 B38 B18 B35 B5 B56 Cw15 |
| LABScreen (IgM) | A31 |
| LCT | DR9 |
| LAT (IgG) | DR9 DR1 DR10 DR7 DR14 DR2 DR4 |
| FlowPRA (IgG) | DR9 DR1 DR10 DR7 DR14 DR11 DR51 DR53 DQ8 DQ9 DP |
| LABScreen (IgM) | DR9 DR1 DR10 DR7 DR14 DR2 DR4 |
| LABScreen (IgG) | - |

下線は強陽性反応

虎の門 ニュース

新製品

KIR SSO Genotyping Test 40検体用

～2006年4月1日より発売～

* KIRはHLAミスマッチの造血幹細胞移植などにおいて、Donor/Recipientのタイプが不一致であると、移植に有利であるとのデータがあります。

LABScreen MICA SingleAntigen LABType MICA RSSO

～2006年6月1日 発売～

* MICAは移植後の拒絶において、HLAの次に重要なファクターであるとの研究結果も出始めています。今年のアメリカ組織適合性学会「ASHI」では、MICA抗体とMICAのタイピングに関する演題が多数発表される予定です。

お知らせ

・FlowPRA SingleAntigenキットのグループ別発売!

FlowPRAユーザーの皆様からの熱い要望にやっとお応えできます。クラス I はグループ01から10まで、クラス II はグループ01から05まで、どのグループも個別にご購入頂けます。

・ベリタス HLA研究用試薬総合カタログができました。

HLA抗体検査、HLAタイピング、リサーチ用モノクロー抗体、ラボの消耗品など、ベリタスお勧めの製品満載です!

ご希望の方は弊社までお気軽にご連絡下さい。

TEL: 03-3593-3211
e-mail: veritas@veritastk.co.jp
担当: 小林、木下



数独のお薦め

遊び方

表の空いているところに1から9までの数字を入れるだけです。ルールは縦列、横列と、太枠で区切られた3×3マスに、1から9までの数字を重ならないように入れるだけです。入れる数字は確定したものにしましょう。2つ以上の可能性がある場合は鉛筆で薄く書いたりして、やり直しができるようにしましょう。

ヒント

- 縦列、横列、3×3マスで、空白の少ないものに目をつけてみましょう。
 - 空白には残っている数字の中から、他の条件を参照して入れていけばよいのです。
 - 全体の中で一番よく使われている数字に目をつけてみましょう。
- 入る場所が限られていて、その位置の縦横の関係をみるとわかるはず。縦列、横列、3×3マスの数字を組み合わせて、どんな数字が使われているのか、いないのかを見ると、入れる数字が決まるはず。

HLAに携わっている方、興味のある方、あまりにもたくさんあるHLA型の数字に悩まされていることはありませんか。数字に強くなるために、数独に挑戦してみましょう!

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 7 | | | 8 | | | | 2 | 6 |
| 2 | | 9 | 2 | | | 5 | | | |
| 3 | | | | 6 | | 4 | | | 3 |
| 4 | 3 | | | | 5 | 7 | 1 | 6 | |
| 5 | | | 6 | | | 3 | | | 2 |
| 6 | 2 | 7 | | | 9 | | | | 4 |
| 7 | | 2 | | 1 | | 8 | | | |
| 8 | | 5 | 1 | | | | 8 | | 7 |
| 9 | | | 3 | 5 | | 4 | 2 | 1 | |

プレゼント!

赤く塗られたマスに入る数字は何でしょう?

氏名、住所、所属病院・企業、電話、e-mailアドレスを明記のうえ、「数独プレゼント係」までご回答をお送りください。

送り先

ベリタス (e-mail: veritas@veritastk.co.jp)

またはFAX (03-3593-3216)

正解者全員(!)にベリタス謹製・粗品お送りします。ふるってご応募ください!

編集委員

編集顧問 木村 彰方

編集委員長 小川 公明

編集委員 佐田 正晴

編集スタッフ 松本 佳子

発行者 飯田 真作

発行

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/>