

組織適合性検査の基本と実際

(カテゴリー5 免疫抑制)

橋口 裕樹

福岡赤十字病院 移植センター
移植細胞研究課

2019.2.15 Osaka

+ Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

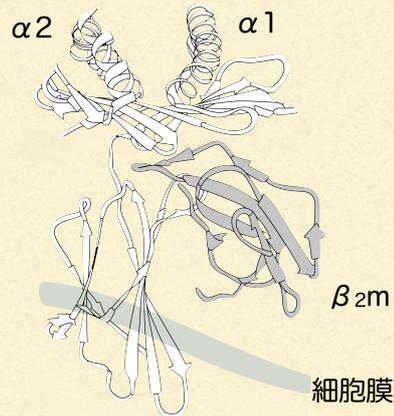
- HLAとは
- 組織適合検査
- 臓器移植抗体陽性診療ガイドライン

Human Leukocyte Antigen

人 白血球 抗原

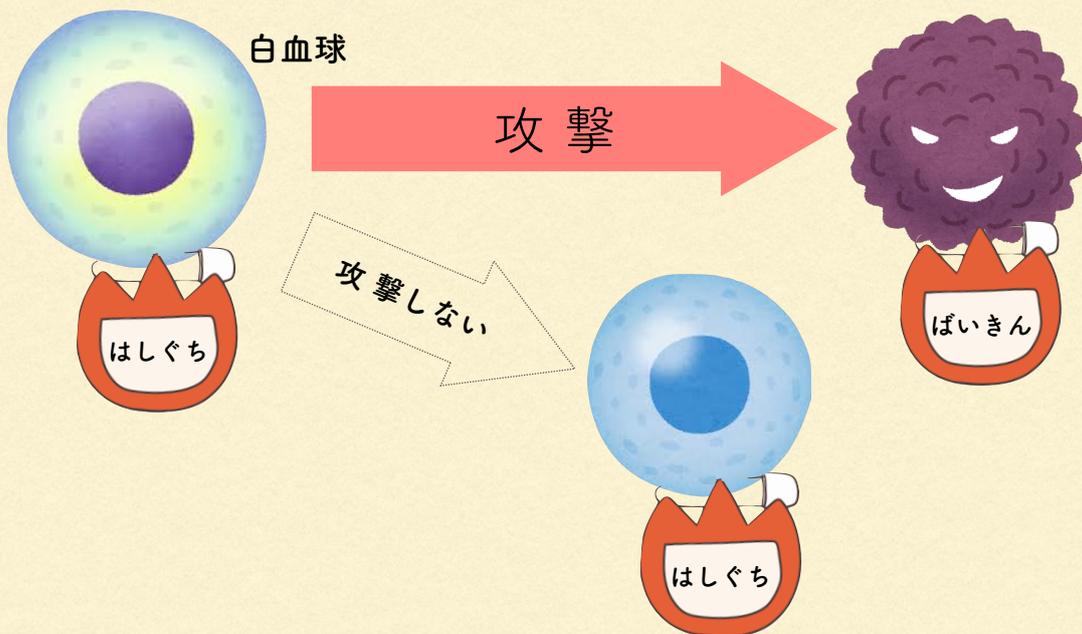
自己と非自己の区別

→ 敵から身を守る役割



HLAとは

3



”自分”の存在を示す細胞表面の名札

HLAとは

4

HLA-A,-B,-C

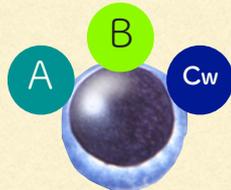
クラス I 抗原

HLA-DR,-DQ

クラス II 抗原

細胞表面の抗原

Tリンパ球



CDC-T, FCXM-T

クロスマッチ検査で
使用する細胞種類

Bリンパ球



CDC-B, FCXM-B

* DR, DQ抗体も検出できる

クロスマッチで使用するリンパ球の解釈

5

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

- ”名札”であるHLAの抗原検査

HLAタイピング

→ donor, recipientの採血

- ドナーに対する抗体検査

抗HLA抗体 (=PRA)

→ recipientの採血

- ドナーとレシピエントの相性の検査

クロスマッチ

→ donor, recipientの採血

組織適合性検査 種類と材料

6

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

HLA Antibody

HLA抗体の有無,特異性を確認

DSA

Donor Specific Antibody

Cross Match

in vitroで抗体関連拒絶を
確認できる可能性がある

HLA Typing

ドナーとレシピエントのHLA一致
DSAの対象が減る
感作される抗原が少ない

Introduction

7

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

- HLAタイピング -A,-B,-C,-DR,-DQ, (-DP)
 - HLA抗体スクリーニング LABScreen PRA
 - HLA抗体特異性同定 LABScreen Single Antigen
 - CDC
 - FCXM
 - 血液型
- 別のタイミングで2回実施
- CD3/19比
 - 抗A, 抗B抗体価
- ABO不適合移植時

組織適合性検査 (移植前)

8

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

- HLAタイピング -A,-B,-C,-DR,-DQ, (-DP)
 - HLA抗体スクリーニング LABScreen PRA
 - HLA抗体特異性同定 LABScreen Single Antigen
 - CDC
 - FCXM
 - 血液型
- 別のタイミングで2回実施
- CD3/19比
 - 抗A, 抗B抗体価
- ABO不適合移植時

組織適合性検査 (移植後)

9

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital



HLA抗体産生の原因

10

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

抗原

製剤名

多 血小板製剤 (PC) 血小板はHLAクラスI抗原を発現

中 赤血球製剤 (RBC) 製剤内には白血球が混入している

? 凍結血漿製剤 (FFP) 限局的に献血者のHLA抗体が混入?
白血球抗原の残存が混入して感作?



抗体産生のあるリスクがある血液製剤

11

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

夫婦間 移植 (夫 → 妻) 注意が必要!
夫に対する抗体.

親子間 移植 (子 → 母) 注意が必要!
子は父親のHLAを半分遺伝する. = (夫1/2 → 妻)

日本は島国のため、比較的混血が少なく、海外に比べHLAの多型性が少ない。
血縁でなくても似ているHLAを持つ傾向にある。



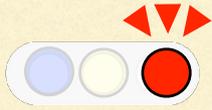
前夫と現夫のHLAが似ている時は、現夫との間に感作歴 (妊娠歴) がなくても
DSAになる事もある。



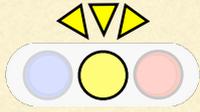
リスクのある移植の組合せ

12

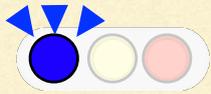
Japanese Red Cross Fukuoka Hospital



DSA Donor Specific Antibody
ドナーに反応する 抗HLA抗体



抗HLA抗体を保有していると…
ドナー次第でDSA, NDSAは変わる



NDSA Non Donor Specific Antibody
ドナーに反応しない 抗HLA抗体

DSA, NDSA

preformed
抗体



de novo
抗体

移植前にレシピエントに
存在が確認された抗体

移植後にレシピエントに
発現が確認された抗体

※ preformed抗体が消失後に
再度同じ抗体が認められた場合も含む

preformed抗体, de novo抗体

- 抗体モニタリング
- リスク評価, トリートメントの有無
- ドナー選択, 移植可否

HLA抗体検査の意義

15

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

- 抗HLA抗体スクリーニング検査

抗体の有無 → 陽性, 陰性の結果

例) $\frac{\text{クラス I 陽性}}{\text{HLA-A, B, C}}, \frac{\text{クラス II 陰性}}{\text{HLA-DR, DQ}}$

- 抗HLA抗体 抗体特異性同定検査

抗体特異性 → アレルレベルでの種類の特定

例) $\frac{\text{A24}}{\text{2桁 血清学レベル}}, \frac{\text{*24:02}}{\text{4桁 遺伝子レベル}}, \frac{\text{nMFI=5,630}}{\text{蛍光強度 但し定量性は低い}}$

抗HLA抗体検査の種類

16

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

1.自施設で検査実施

ア) 移植後患者指導管理料に関する施設基準の届出.

イ) 関連学会に指針*を遵守し検査を実施していること.

* 組織適合性学会の参考プロトコルに基づいて検査を実施し, 精度管理の評価表, 参加証明証があることを推奨.

保険算定に関する施設基準 (一部抜粋)

様式5-5 (移植後患者指導管理料・抗HLA抗体検査の施設基準に係る届出書添付書類)

様式5-5

移植後患者指導管理料・抗HLA抗体検査の施設基準に係る届出書添付書類

○届出を行う指導管理料等

- () 臓器移植後患者指導管理料
- () 造血幹細胞移植後患者指導管理料
- () 抗HLA抗体検査 (スクリーニング検査・抗体特異性同定検査)

| 区分 | 常勤検査 | 氏名 | 経験年数 |
|-------------------------------|--------------------------|----|------|
| 1 専任の常勤医師 | <input type="checkbox"/> | | |
| | ※ 専任の非常勤医師を組み合わせた場合を含む | | |
| 1 専任の常勤医師 | <input type="checkbox"/> | | |
| 2 専任の常勤看護師 | <input type="checkbox"/> | | |
| 3 常勤薬剤師 | <input type="checkbox"/> | | |
| 4 関係学会による抗HLA抗体検査の実施に関する指針の遵守 | 有・無 | | |
| 5 抗HLA抗体検査を委託する施設 | 名称 住所 確認方法 | | |

組織適合性学会QCWC 評価票

第22回HLA-QCワークショップ：抗体検査の評価報告

日本組織適合性学会 認定制度委員会 QCワークショップ部会

(評価の対象：抗体検出, 抗体特異性の結果)

1. 抗体検出評価 (評価点：100点) ※

①使用検査法

| No. | Lab.ID | LCT | ICFA | MPHA | Flow PRA | LAB Screen | WAK Flow | LIPECOD ES | マイクロアレイ | 仮想アレイ |
|-------|--------|-----|------|------|----------|------------|----------|------------|---------|-------|
| H3035 | 30525 | | | | | ○ | | | | |

②抗体検出評価

| No. | Lab.ID | 採点 (a) | 評価対象抗原数 (b) | 評価点 (a/b)*100 | 評価 |
|-------|--------|--------|-------------|---------------|----|
| H3035 | 30525 | 6 | 6 | 100.0 | A |

○抗体検出評価のコメント

コメント

2. 抗体特異性評価 (評価点：100点) ※

| No. | Lab.ID | 抗体特異性採点 (検体番号の下の各検体の評価基準点(a), その下段が報告結果から算出した点数(b)) | | | | | | | | 評価点 | 評価 |
|-------|--------|---|--------|--------|--------|----------|--------|--------|--------|------|----|
| | | Class I | | | | Class II | | | | | |
| | | SH3001 | SH3002 | SH3003 | SH3004 | SH3001 | SH3002 | SH3003 | SH3004 | | |
| H3035 | 30525 | - | 42.0 | 41.0 | 40.0 | - | 22.0 | 20.0 | 20.0 | 97.1 | A |

※評価点の算出：各検体の評価基準点に対する点数の比率 (b/a) を平均した数値

○抗体特異性評価のコメント

コメント

3. 提出状況及び記入方法の不備など (コメントのみ)

| No. | Lab.ID | コメント |
|-------|--------|-----------|
| H3035 | 30525 | 2018/5/25 |

○評価のランク

| 評価点 | 評価 | 評価内容 |
|--------|----|------|
| 80-100 | A | 良好 |
| 40-80 | B | 要確認 |
| 0-40 | C | 要改善 |

※ 評価対象外

抗体QCでは、スクリーニング試験で抗体の有無を決定し、陽性であれば同定検査を実施するという基本検査フローを推奨してきました。SH3001は、HLA以外の微弱なクロス反応の可能性があり、選択するスクリーニング試験によって検査の差が生じる事象が認められました。よって、従前の評価判断と判断し、評価対象外としました。

保険算定 申請書類

2.他施設で検査実施（他の医療機関）

- ア) 委託先の施設が1.の全ての基準を満たす保険医療機関であること。
- イ) 関連学会による指針を遵守し検査を実施していることを公表されている。



委託先の医療機関が病院のHPに公表している

The screenshot shows a webpage titled '認定及び資格取得' (Certification and Qualification Acquisition). It details the hospital's accreditation by the Japanese Society for Organ Transplantation (JSOT) for HLA antibody testing. The text includes:

- 日本組織適合性学会認定 HLA検査技術者2名
- 抗HLA抗体（スクリーニング検査）及び抗HLA抗体（抗体特異性同定検査）の測定に関する施設基準および精度管理保証について
- 当院は以下の施設基準を全て満たしています。
- ア 区分番号「B001」の「25」移植後患者指導管理料（臓器移植後の場合に限り。）に関する施設基準の届出を行っております。
- イ 関係学会による指針を遵守し検査を実施しています。
- 「4」関係学会による指針の遵守) について
- 当移植検査は、日本組織適合性学会OCWS参考プロトコルに基づいて検査を実施し、毎年開催されるOCWS（精度管理）、OCワークショップ集会（解析報告会）に参加しています。OCWSの結果は基準を満たしており、日々の検査精度については日本組織適合性学会認定HLA検査技術者、認定組織適合性指導者が専従で検査を行い、質の担保に努めております。
- 【重要】抗HLA抗体保険収載にかかるとの出発について
- 平成30年4月1日から抗HLA抗体（スクリーニング検査）及び抗HLA抗体（抗体特異性同定検査）の測定が、全ての臓器移植において保険収載となります。当院に検査を委託していただいている施設におかれまして、届出をされる場合は、下記の2つの書類（PDF）を添付の上、ウェブページのURLを記載し、各施設から所轄の地方厚生（支）局へ届出をお願いいたします。
- （平成30年4月16日（月）必着）
- OCWS評価表（福岡赤十字病院）_PDF
- OCWS集会所参加証明書（福岡赤十字病院 認定組織適合性指導者）_PDF
- このページのURL： <https://www.fukuoka-med.jrc.or.jp/section/inspection/inspection2.7>

福岡赤十字病院ホームページ

保険算定に関する施設基準（一部抜粋）

移植前

Preformed DSAの有無に関わらず
脱感作の有無の関わらず

抗HLA抗体検査は移植術に
含まれる

移植後

(1) 抗HLA抗体スクリーニング検査
1年1回（1000点）



ただし、抗体関連拒絶反応を強く疑う場合等、
医学的必要性がある場合には、

(2) 抗HLA抗体スクリーニング検査
1年1回（1000点）

* 診療録及び診療報酬明細書の摘要欄に
その理由及び医学的な必要性を記載

計2回 可能



保険算定 抗HLA抗体 スクリーニング

移植前

移植後

Preformed DSAの有無に関わらず
脱感作の有無の関わらず

抗HLA抗体検査は移植術に
含まれる

抗HLA抗体スクリーニング検査で
陽性が確認された症例について、



(1) 抗HLA抗体 抗体特異性同定検査
1年1回 (5000点)

抗体関連拒絶反応と診断された患者の
経過観察を行った場合

(2) 抗HLA抗体 抗体特異性同定検査
1年2回 (5000点)

*診療録及び診療報酬明細書の摘要欄に
その理由及び医学的な必要性を記載

計3回 可能

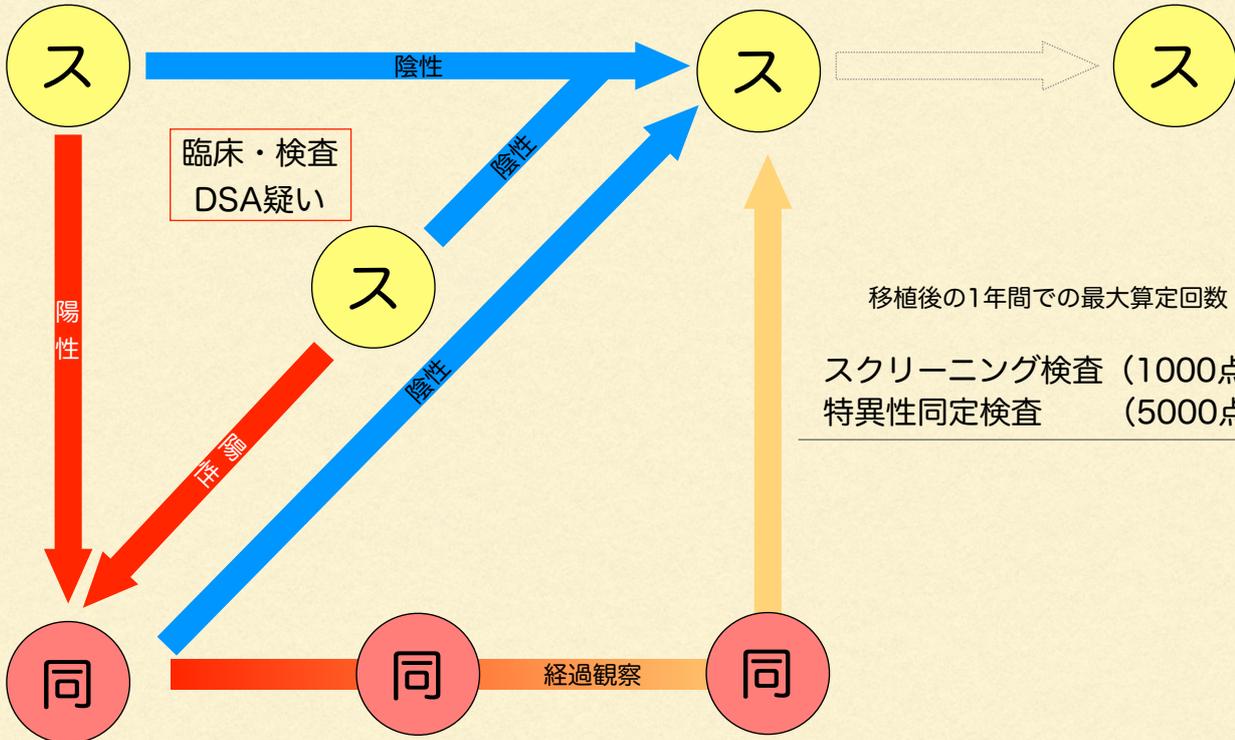


保険算定 抗HLA抗体 特異性同定検査

スクリーニング検査 (1000点)

1年後

1年後



移植後の1年間での最大算定回数

スクリーニング検査 (1000点) 2回
特異性同定検査 (5000点) 3回

特異性同定検査
(5000点)

DSA診断 DSA治療



1回目

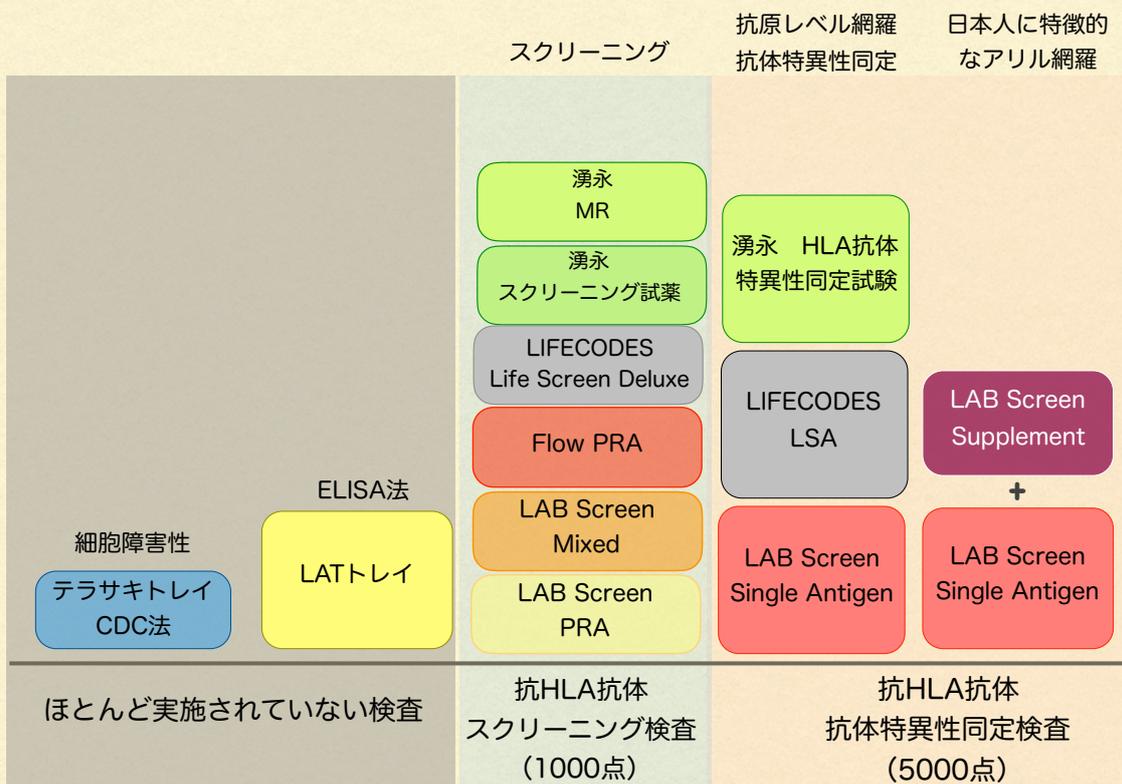
2回目



移植後の抗体スクリーニングのタイミングは？

23

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital



抗体検査の種類

24

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

Mean
Fluorescence Intensity

normalized Mean
Fluorescence Intensity

湧永 HLA抗体
特異性同定試験

LIFECODES
LSA

LAB Screen
Single Antigen

抗HLA抗体
抗体特異性同定検査
(5000点)

Calmed

MFI

nMFI

抗体検査（特異性同定）の結果の呼び方

25

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

LIFECODES
LSA

≠

LAB Screen
Single Antigen

≠

湧永 HLA抗体
特異性同定試験

MFI

nMFI

Calmed

結果は一致しない。

どの試薬の結果なのか???

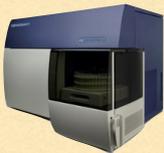
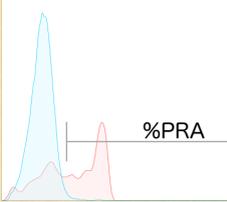
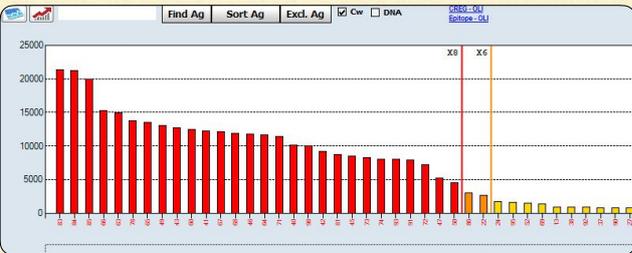
数値だけ見たも判断出来ない

抗体検査（特異性同定）の結果の解釈

26

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

Screening

| | | | |
|---|--|--|----------------|
| Flow PRA | LABScreen Mixed | LABScreen PRA | Single Antigen |
|  |  | | |
| 目視判定 | 解析ソフト Fusion | | |
|  | <p>1.5 Positive</p> <p>Und</p> <p>1.2 Negative</p> |  | |
| Histogram | NGB Ratio | x6以上陽性 (MFI値, CREG, ショルダー加味して判定) | |
| %PRA | MICA | MFI ≠ | MFI |

試薬の特徴



BD FACS Canto II



BD FACS Calibur



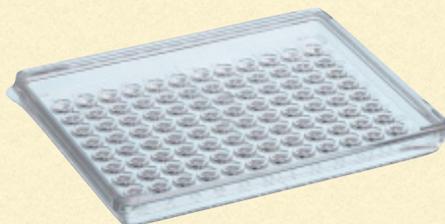
BC NAVIOS

精製HLA抗原コーティングのマイクロビーズ (30種類) と血清を反応
ビーズに結合したHLA抗体を2次抗体で標識し、フローサイトで測定。

フローサイトメーター

Panel Reactive Antibody

Flow PRA



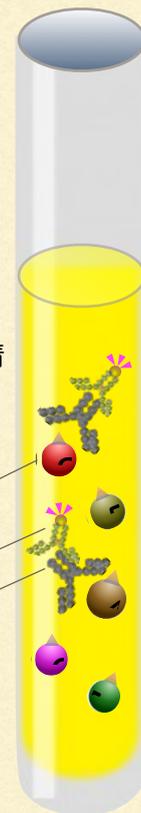
Terasaki トレイ (反応パネル)

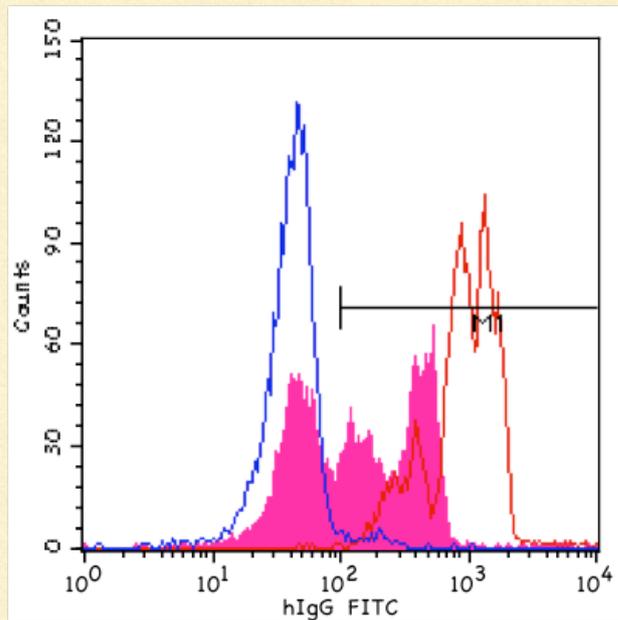
患者血清
50μL

抗原ビーズ

二次抗体

HLA抗体





- Histogram
- %PRA

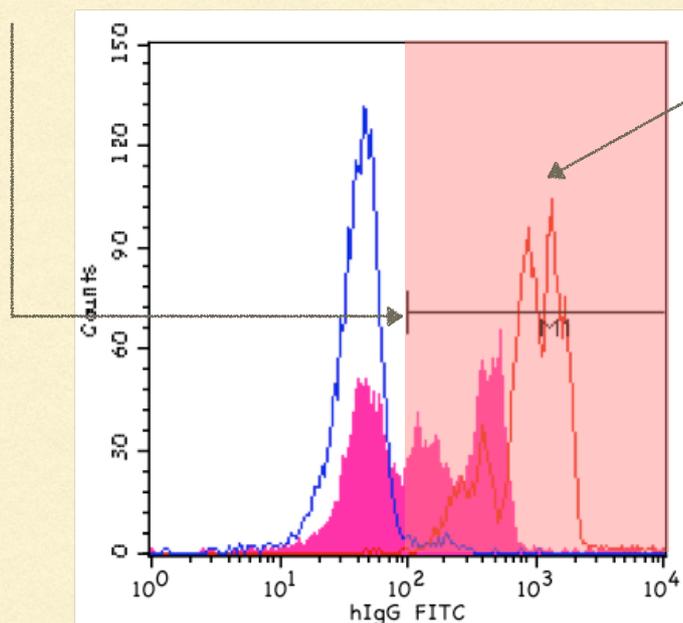
Flow PRA, Result

29

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

①ゲート位置は陰性コントロールで設定

②ゲート内の%を表示



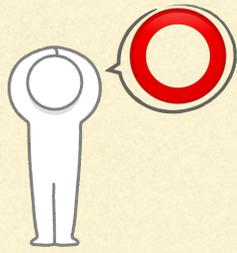
試薬内の複数種類の精製抗原beadsに反応すると、ヒストグラムは歪な形状になる。

ゲート位置で%PRAは変動する

%PRA

30

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital



- フローサイトメーターで測定
- 施設間差が大きい
機器設定, カットオフ
- 検出感度が高い
- %PRA (数字) の誤解
%PRA ≠ 抗体量. 定量的でない
- 安価である
- 抗体特異性は不明
Class1と2の区別だけ

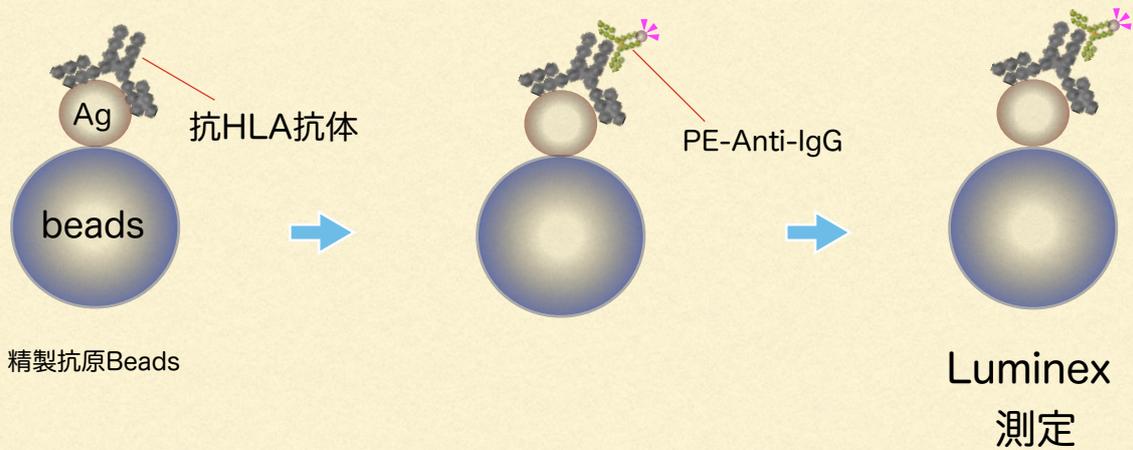
Flow PRA

精製HLA抗原をコーティングした
マイクロビーズと血清を反応,
結合したHLA抗体を蛍光標識し,
Luminex機器で測定



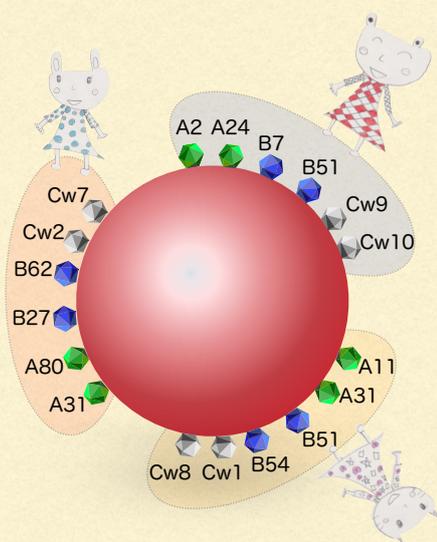
| | | |
|------------|----------------|---|
| LAB Screen | Mixed | 抗体有無 |
| // | PRA | 抗体有無 + おおよその特異性, nMFI |
| // | Single Antigen | 抗体有無 + 特異性同定, nMFI |
| // | Supplement | Single Antigenで網羅出来ない 日本人発現抗原を同定, nMFI |

Luminex



Luminex 抗体検査 原理

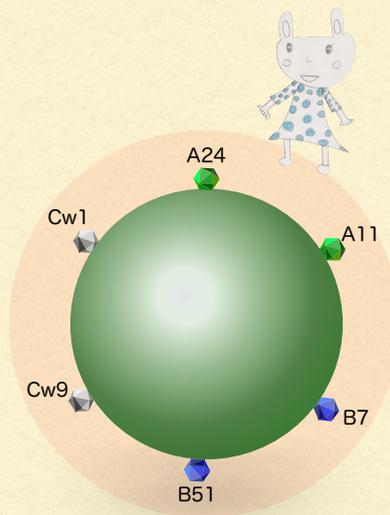
LABScreen Mixed



3~5種類のパネル細胞の
HLA抗原, MICA抗原

19beads

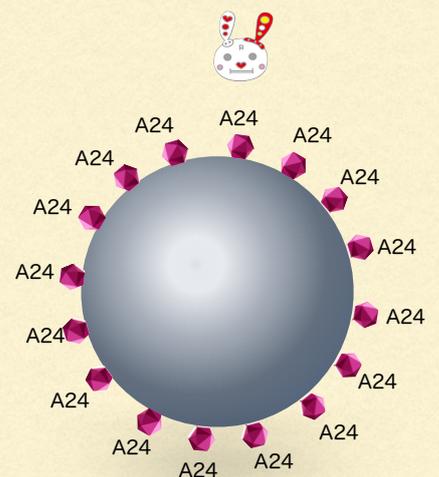
LABScreen PRA



1種類のパネル細胞の
HLA抗原

Class I, 55beads
Class II, 35beads

Single Antigen



1種類の精製HLA抗原

Class I, 97beads
Class II, 95beads

Luminex beads 構成 (1 beads)

| BeadID | Raw | Sample NC | NS Raw | "NSNC | | | |
|---------|----------|-----------|--------|-------|-------|-------------|--------------------|
| (Raw)* | Normal | Ratio | Rxn | Count | nMFI | Specificity | Allele Specificity |
| 66 | 18283.24 | 28.13 | 69.43 | 34.32 | 18220 | B51 | B*51:02 |
| 65 | 17810.96 | 28.13 | 72.44 | 34.32 | 17744 | B51 | B*51:01 |
| 40 | 17754.41 | 28.13 | 63.42 | 34.32 | 17697 | B75 | B*15:02 |
| 26 | 17288.92 | 28.13 | 68.8 | 34.32 | 17226 | A43 | A*43:01 |
| 78 | 16707.53 | 28.13 | 63.75 | 34.32 | 16649 | B78 | B*78:01 |
| 16 | 16661.15 | 28.13 | 97.88 | 34.32 | 16569 | A29 | A*29:02 |
| 15 | 16599.93 | 28.13 | 86.66 | 34.32 | 16519 | A29 | A*29:01 |
| 19 | 16539.89 | 28.13 | 89.21 | 34.32 | 16456 | A31 | A*31:01 |
| 20 | 16188.78 | 28.13 | 84.4 | 34.32 | 16110 | A32 | A*32:01 |
| 14 | 16058.24 | 28.13 | 64.25 | 34.32 | 16000 | A26 | A*26:01 |
| 28 | 16040.16 | 28.13 | 75.2 | 34.32 | 15971 | A66 | A*66:02 |
| 44 | 15964.81 | 28.13 | 102.67 | 34.32 | 15868 | B77 | B*15:13 |
| 23 | 15984.99 | 28.13 | 127.13 | 34.32 | 15864 | A34 | A*34:01 |
| 21 | 15773.44 | 28.13 | 82.69 | 34.32 | 15696 | A33 | A*33:01 |
| 13 | 15628.1 | 28.13 | 70.4 | 34.32 | 15563 | A25 | A*25:01 |
| 67 | 15595.04 | 28.13 | 71.46 | 34.32 | 15529 | B52 | B*52:01 |

nMFI (normalized Mean Fluorescence Intensity)

35

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

| | | LABScreen PRA | Flow PRA | LABScreen Single Antigen |
|------------------|----------|---------------|----------|--------------------------|
| LAB Screen Mixed | Class I | 83.3% | 73.3% | 63.3% |
| | Class II | 76.9% | 69.2% | 80.7% |
| LABScreen PRA | Class I | - | 83.3% | 60.0% |
| | Class II | - | 83.3% | 60.0% |
| Flow PRA | Class I | - | - | 76.7% |
| | Class II | - | - | 70.0% |

各試薬による結果の一致率比較

Class I N=30

Class II N=30

36

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

beadsの違い

| | | | | |
|-------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|---|
| | Flow PRA | LABScreen Mixed | LABScreen PRA | Single Antigen |
| ビーズ組成 | ラテックスビーズ | Luminex ビーズ | | |
| 抗原組成 | 細胞株から抽出 | | | 精製抗原 |
| ビーズ種類 | Class I, 30 Class II, 30 | Class I, 12 Class II, 5 | Class I, 55 Class II, 35 | Class I, 97 (+54) Class II, 95 (+24) |
| 抗原数 | Class I, 175 Class II, 165 | Class I, 210 Class II, 140 | Class I, 320 Class II, 187 | Class I, 97 (+54) Class II, 95 (+24) |

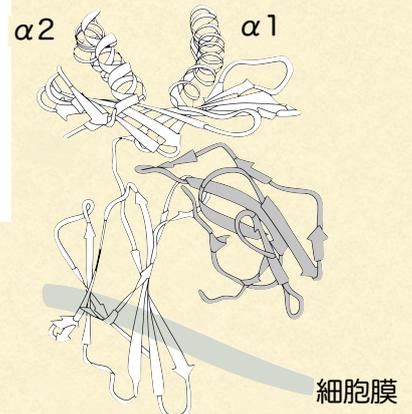
データ乖離する原因 (推測)

【原因】 遺伝子学的に精製された抗原に反応する傾向. Single Antigen

【対策】 感作歴から推測. クロスマッチの結果との整合性

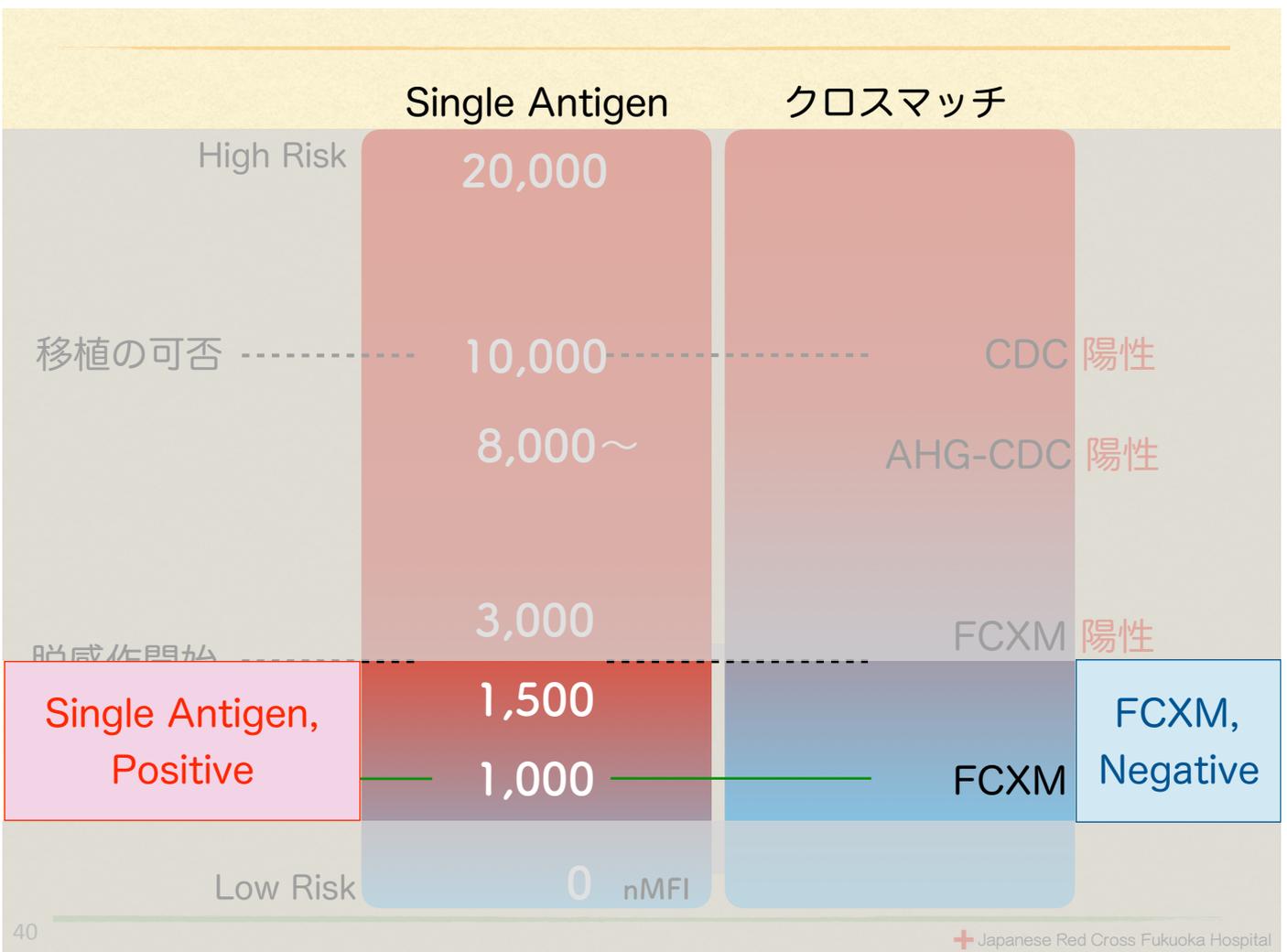
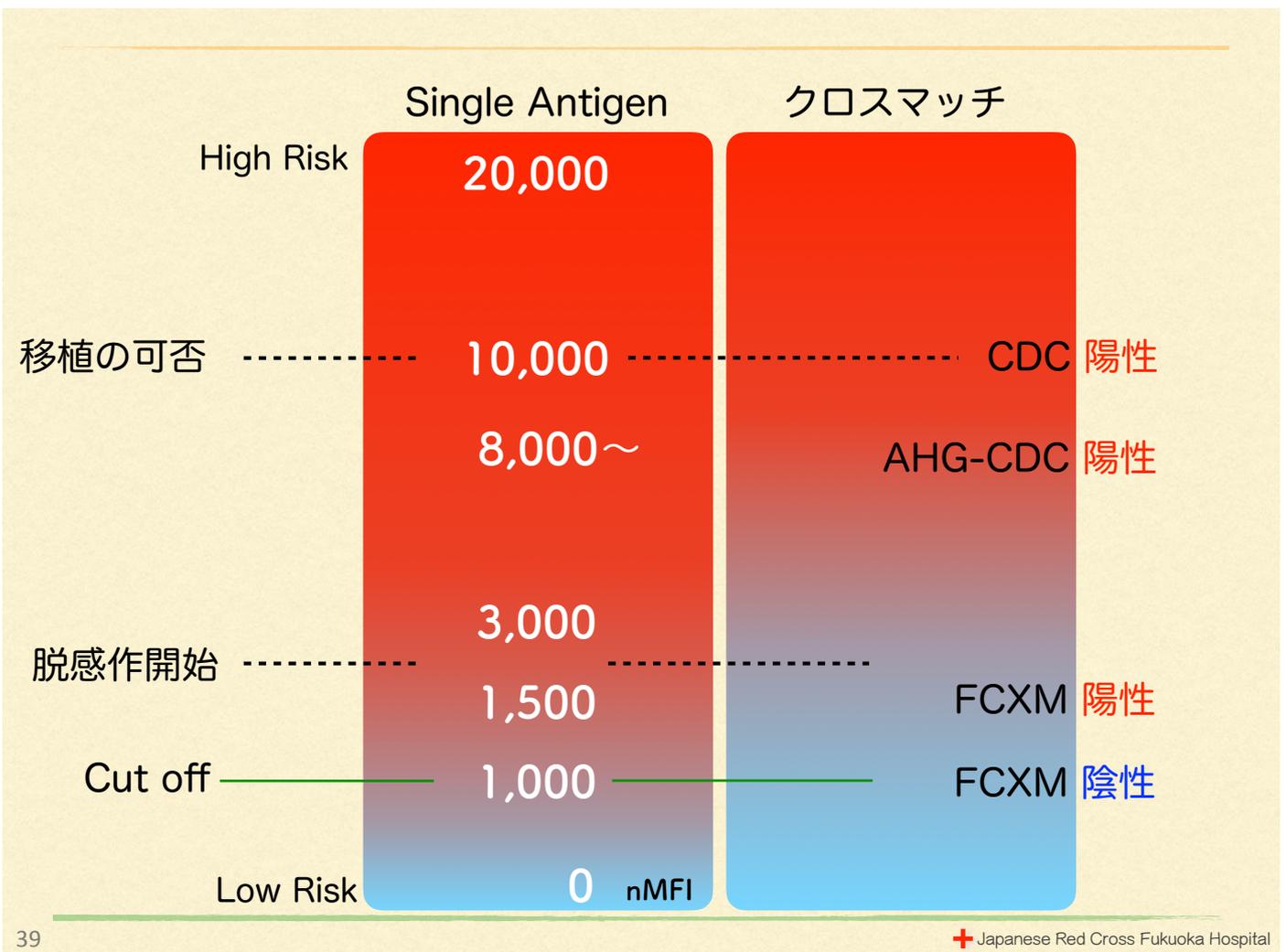
表 1 「HLA 自然抗体」の特異性 (%=検出割合)

| A locus | | | B locus | | | C locus | | | DR locus | | | DQ locus | | | DP locus | | |
|---------|--------|------|---------|--------|------|---------------------|------|------|-----------|-----|---------------------|----------|---------------------|------|----------|-----|--|
| spec | MEX | JPN | spec | MEX | JPN | spec | MEX | JPN | spec | MEX | spec | MEX | spec | MEX | spec | MEX | |
| A*1102 | 4.4 | 10.6 | B*8201 | 10.6 | 15.9 | Cw*1701 | 10.4 | 24.2 | DRB1*0404 | 5.1 | DOA1*0503,DOB1*0301 | 10.6 | DPA1*0201,DPB1*0101 | 20.6 | | | |
| A*8001 | 8.6 | 8.3 | B*4501 | 5.8 | 9.8 | Cw*0403 | NT | 14.4 | DRB1*1202 | 1.9 | DOA1*0601,DOB1*0301 | 10.2 | DPA1*0201,DPB1*2301 | 2.8 | | | |
| A*0101 | 5.6 | 7.6 | B*1402 | 0.9 | 9.8 | Cw*0702 | 1.2 | 8.3 | DRB1*1601 | 1.9 | DOA1*0303,DOB1*0301 | 9.3 | DPA1*0401,DPB1*1301 | 2.3 | | | |
| A*6602 | 6.7 | 6.8 | B*1512 | 10.6 | 8.3 | Cw*0202 | 4.9 | 6.8 | DRB5*0101 | 1.9 | DOA1*0505,DOB1*0301 | 8.3 | DPA1*0201,DPB1*1801 | 2.1 | | | |
| A*2501 | 5.8 | 6.1 | B*4402 | 6.3 | 6.8 | Cw*0602 | 3.7 | 6.8 | DRB1*0302 | 1.4 | DOA1*0301,DOB1*0301 | 6.0 | DPA1*0201,DPB1*0202 | 1.9 | | | |
| A*3601 | 2.1 | 5.3 | B*1516 | 10.0 | 4.5 | Cw*0102 | 3.7 | 5.3 | DRB1*0403 | 1.2 | DOA1*0501,DOB1*0201 | 3.5 | DPA1*0103,DPB1*0401 | 1.6 | | | |
| A*3101 | 11.3 | 4.5 | B*5801 | 2.5 | 4.5 | Cw*1802 | 3.0 | 5.3 | DRB1*1001 | 1.2 | DOA1*0102,DOB1*0502 | 3.2 | DPA1*0103,DPB1*0402 | 1.6 | | | |
| A*4301 | 6.0 | 4.5 | B*8101 | 4.9 | 3.8 | Cw*0303 | 3.9 | 3.8 | DRB3*0202 | 0.9 | DOA1*0102,DOB1*0609 | 2.8 | DPA1*0201,DPB1*0901 | 1.2 | | | |
| A*6601 | 6.0 | 4.5 | B*0701 | 3.5 | 3.8 | Cw*0302 | 4.4 | 3.0 | DRB1*1201 | 0.9 | DOA1*0301,DOB1*0302 | 2.8 | DPA1*0103,DPB1*0201 | 0.9 | | | |
| A*3401 | 6.9 | 3.8 | B*0702 | 3.5 | 3.8 | Cw*0501 | 3.9 | 3.0 | DRB4*0103 | 0.9 | DOA1*0101,DOB1*0501 | 2.5 | DPA1*0201,DPB1*1401 | 0.9 | | | |
| A*0203 | 4.4 | 3.8 | B*3701 | 7.4 | 3.0 | Cw*1402 | 2.8 | 3.0 | DRB1*1502 | 0.7 | DOA1*0401,DOB1*0402 | 2.3 | DPA1*0201,DPB1*1901 | 0.9 | | | |
| A*2601 | 3.7 | 3.8 | B*5601 | 3.9 | 3.0 | Cw*0304 | 1.4 | 3.0 | DRB1*0301 | 0.7 | DOA1*0302,DOB1*0303 | 2.3 | DPA1*0201,DPB1*1501 | 0.9 | | | |
| A*2902 | 2.8 | 3.8 | B*5703 | 3.0 | 3.0 | Cw*1502 | 3.5 | 1.5 | DRB1*0401 | 0.7 | DOA1*0103,DOB1*0603 | 2.1 | DPA1*0201,DPB1*0501 | 0.7 | | | |
| A*2403 | 3.5 | 3.0 | B*0801 | 4.2 | 2.3 | Cw*1203 | 2.5 | 0.8 | DRB1*1501 | 0.7 | DOA1*0201,DOB1*0303 | 1.9 | DPA1*0201,DPB1*1101 | 0.7 | | | |
| A*2301 | 2.5 | 3.0 | B*4403 | 2.3 | 2.3 | Cw*0801 | 2.1 | 0.8 | DRB3*0101 | 0.7 | DOA1*0301,DOB1*0304 | 1.9 | DPA1*0201,DPB1*1701 | 0.7 | | | |
| A*3402 | 2.3 | 3.0 | B*5701 | 2.1 | 2.3 | Cw*1601 | 1.4 | 0.8 | DRB1*0901 | 0.5 | DOA1*0303,DOB1*0401 | 1.6 | DPA1*0103,DPB1*0301 | 0.2 | | | |
| A*2901 | 2.1 | 3.0 | B*5001 | 1.2 | 2.3 | | | | DRB5*0202 | 0.5 | DOA1*0201,DOB1*0402 | 1.2 | DPA1*0201,DPB1*1001 | 0.2 | | | |
| A*6901 | 0.9 | 3.0 | B*4001 | 0.7 | 2.3 | | | | DRB1*0101 | 0.5 | DOA1*0103,DOB1*0601 | 1.2 | | | | | |
| A*3002 | 18.3 | 2.3 | B*1401 | 0.0 | 2.3 | | | | DRB1*0801 | 0.5 | DOA1*0102,DOB1*0602 | 0.5 | | | | | |
| その他 | | | その他 | | | | | | その他 | | | | | | | | |
| A*2402 | A*3303 | | B*5401 | B*4601 | | | | | DRB1*1602 | | DOA1*0102,DOB1*0604 | | | | | | |
| A*0201 | A*7401 | | B*4201 | B*5501 | | Normal males | | | DRB1*0102 | | DOA1*0201,DOB1*0401 | | | | | | |
| A*1101 | A*3201 | | B*4801 | B*4101 | | JPN=Japanese # =132 | | | DRB1*0402 | | DOA1*0301,DOB1*0201 | | | | | | |
| A*3301 | A*6801 | | B*2705 | B*5901 | | MXN=Mexican # =424 | | | DRB1*0405 | | DOA1*0101,DOB1*0602 | | | | | | |



移植における液性免疫制御の重要性と HLA 血清学 直接クロスマッチから HLA タイプ & スクリーンハー 佐治 博夫 MHC Vol. 18, No. 1 33より引用

自然抗体による非特異反応

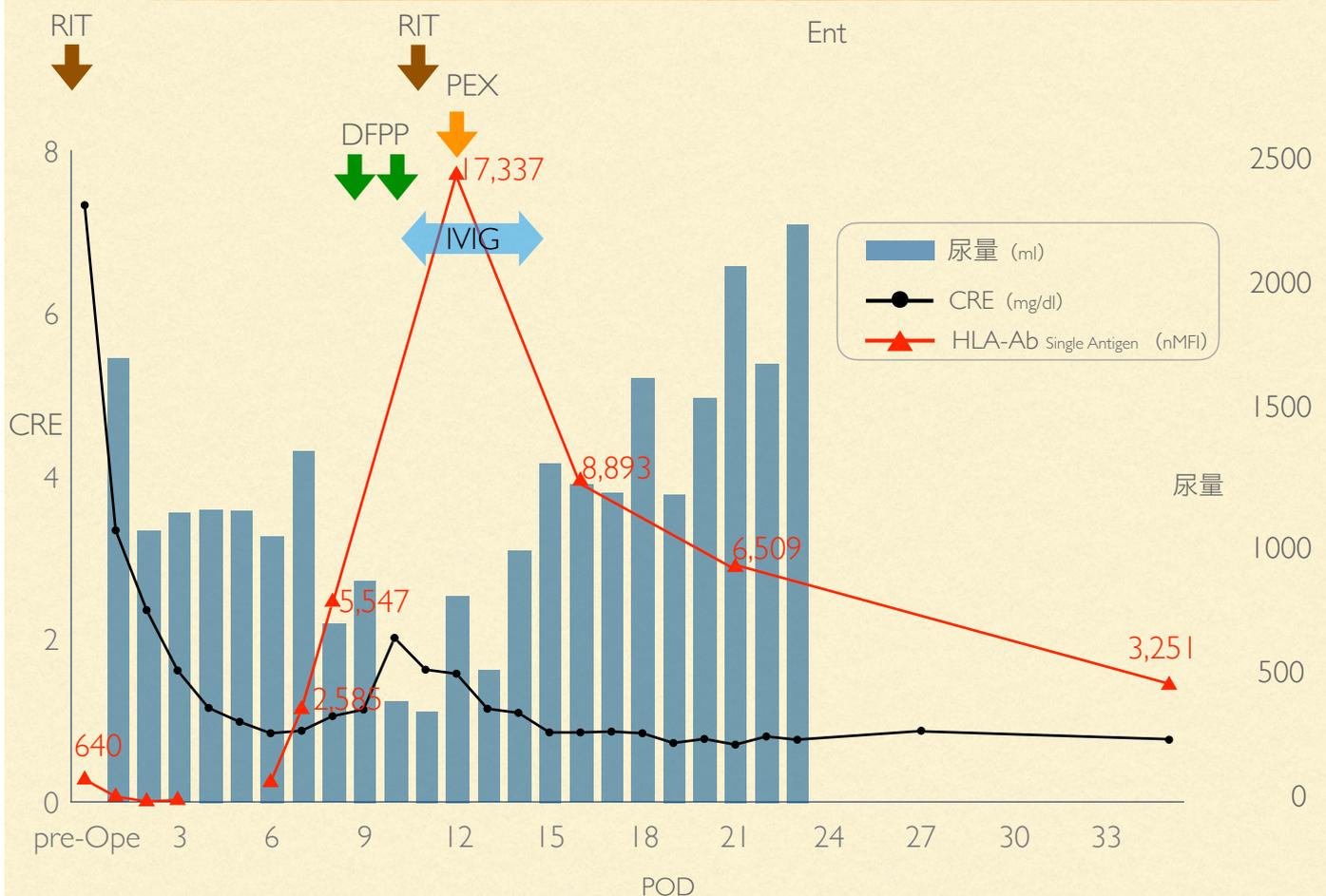


| | Recipient | | | | Donor | | | |
|-----------------------|------------------------|--------|---------------|-------|----------|--------|------|------|
| Name | J, T (妻) | | | | T, T (夫) | | | |
| Age,SEX | 47,F | | | | 47,M | | | |
| 感作歴 | 移植 (-), 妊娠 (+), 輸血 (-) | | | | | | | |
| HLA-A | *11:01 | *33:03 | A11 | A33 | *24:02 | - | A24 | - |
| HLA-B | *15:01 | *44:03 | B62 | B44 | *52:01 | *54:01 | B52 | B54 |
| HLA-Cw | *04:01 | *14:03 | Cw4 | Cw14 | *01:02 | *12:02 | Cw1 | Cw12 |
| HLA-DR | *13:02 | *14:02 | DR13 | DR14 | *15:02 | *12:01 | DR15 | DR12 |
| HLA-DQ | *06:02 | *03:02 | DQ6 | DQ8 | *06:01 | *03:01 | DQ6 | DQ7 |
| HLA-Ab Screening | Class I | (-) | | | | | | |
| | Class II | (-) | | | | | | |
| HLA-Ab Single Antigen | Class I | (+) | B54, nMFI=640 | | | | | |
| | Class II | (-) | | | | | | |
| CDC | Tcell | (-) | | Bcell | (-) | | | |
| FCXM | | (-) | | | (-) | | | |

【症例1】生体腎移植（夫→妻）術前検査

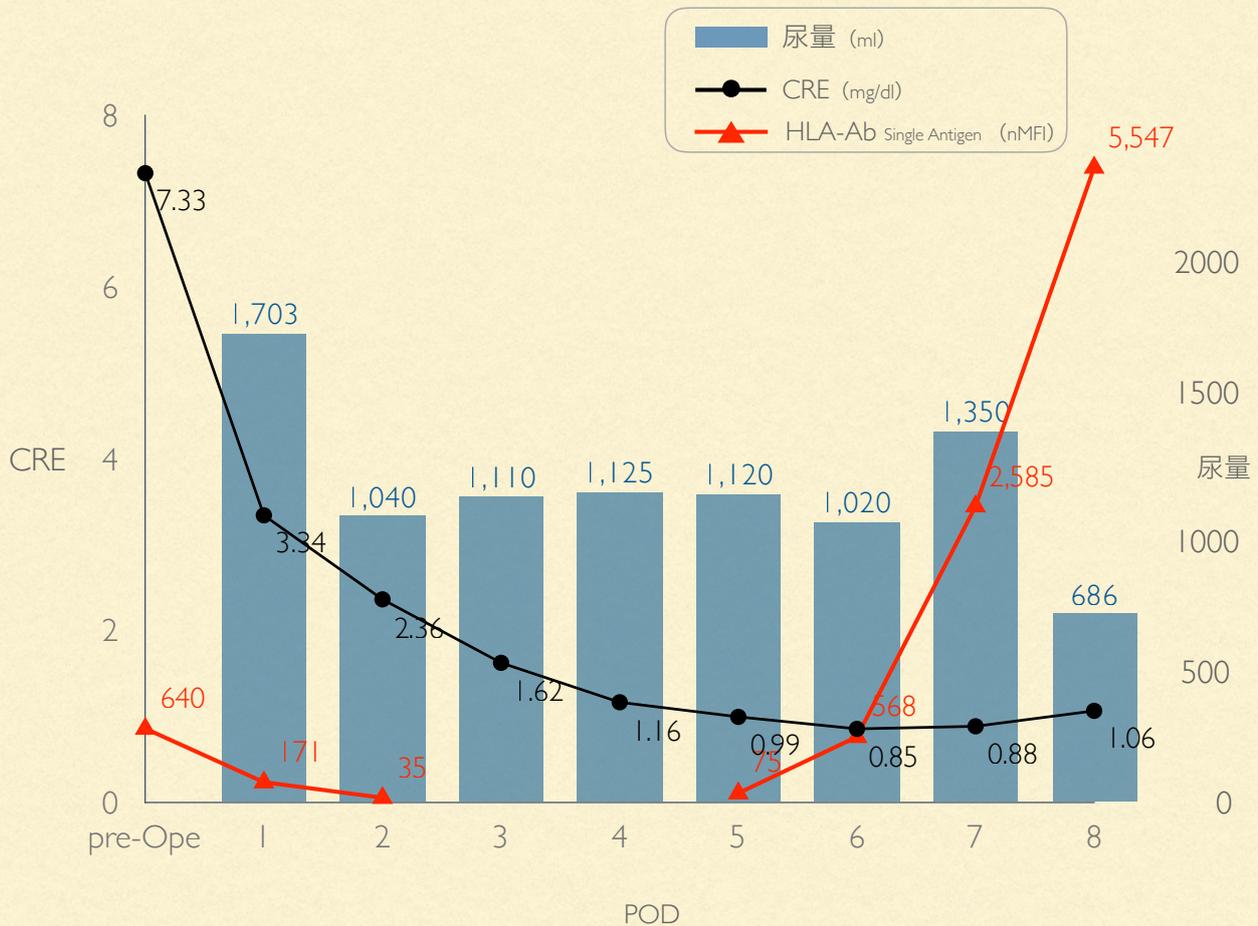
41

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital



42

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital



【問題点】

スクリーニング検査で検出できないDSAがある
 FCXMで検出できないDSAがある

【対策】

● 感作歴は重要な情報.

- 移植歴 (これは把握しやすい)
- 妊娠歴 (胎生期の早期にHLA発現. 出産歴でなく妊娠歴)
- 輸血歴 (RBCより血小板輸血がハイリスク)

● 組み合わせによってはSingle Antigenを術前に追加.

夫 → 妻 , 子 → 母

preformed DSAを見落とさない対策

| | Recipient | | | | Donor | | | |
|--------------------------|------------------------|--------|-----|-------|--|--|--|--|
| Name | N, H | | | | | | | |
| Age,SEX | 56,F | | | | | | | |
| 感作歴 | 移植 (-), 妊娠 (-), 輸血 (+) | | | | | | | |
| HLA-A | *24:02 | *11:01 | A24 | A11 | | | | |
| HLA-B | *48:01 | *54:01 | B48 | B54 | | | | |
| HLA-Cw | *01:02 | *08:01 | Cw1 | Cw8 | | | | |
| HLA-DR | *04:05 | *09:01 | DR4 | DR9 | | | | |
| HLA-DQ | *04:01 | *03:03 | DQ4 | DQ9 | | | | |
| HLA-Ab Screening | Class I | (+) | | | | | | |
| | Class II | (-) | | | | | | |
| HLA-Ab Single Antigen | Class I | (+) | | | A2,A26,A31,A33,B35,B46,B51,B52,B56,B62,BB75... | | | |
| | Class II | (-) | | | | | | |
| CDC | Tcell | | | Bcell | | | | |
| FCXM | | | | | | | | |

Preformed, HLA-Ab

【症例2】 献腎ドナー30年待機 患者

45

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

| allele | nMFI | allele | nMFI | allele | nMFI |
|---------|-------|---------|-------|---------|-------|
| A*01:01 | 1863 | B*13:01 | 1966 | C*07:02 | 10775 |
| A*02:01 | 10998 | B*13:02 | 1823 | C*03:02 | 4952 |
| A*02:06 | 10096 | B*35:01 | 13604 | C*03:03 | 8152 |
| A*26:01 | 16000 | B*44:02 | 1112 | C*03:04 | 5994 |
| A*30:01 | 514 | B*44:03 | 1232 | | |
| A*31:01 | 16456 | B*46:01 | 9623 | | |
| A*33:03 | 15285 | B*51:01 | 17744 | | |
| | | B*51:02 | 18220 | | |
| | | B*52:01 | 15529 | | |
| | | B*56:01 | 4125 | | |
| | | B*57:01 | 12408 | | |
| | | B*58:01 | 6571 | | |
| | | B*15:01 | 10461 | | |
| | | B*15:11 | 15502 | | |

2012年検査

【症例2】 抗体特異性

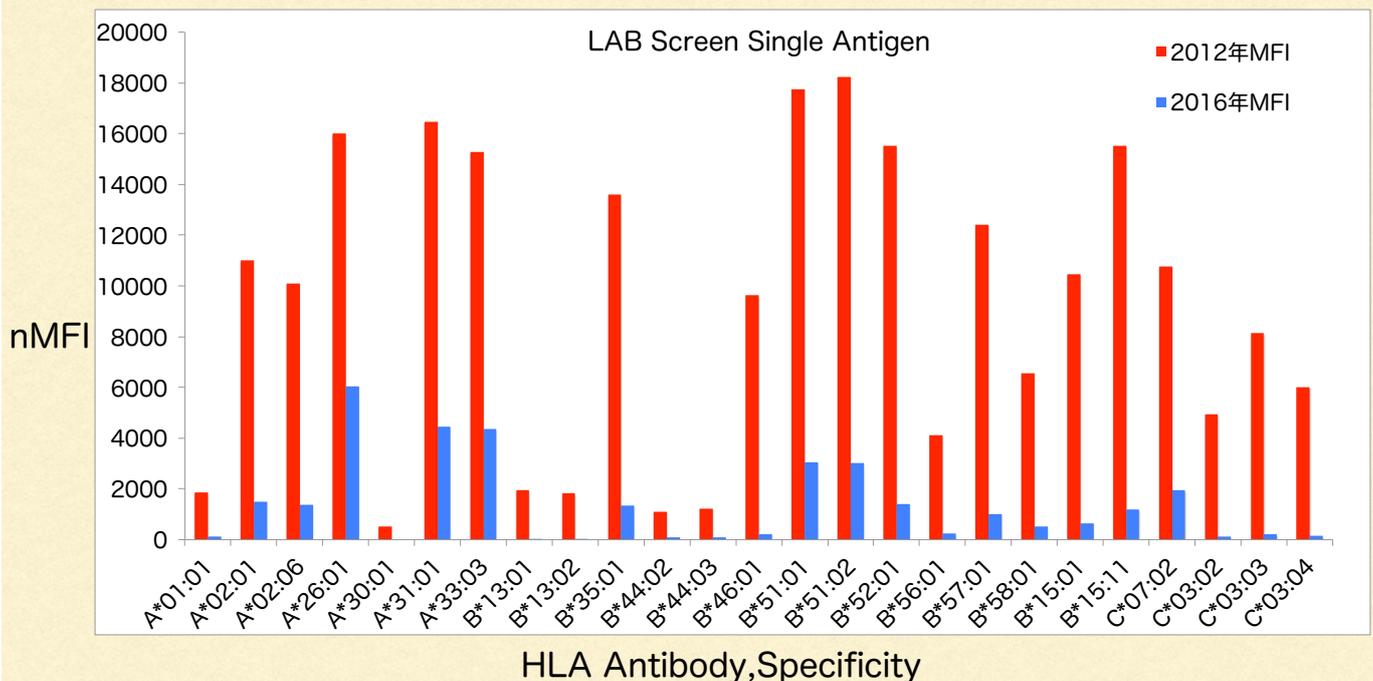
46

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

| Donor | Date | HLA-A | HLA-A | HLA-B | HLA-B | HLA-DR | HLA-DR | CDC-T | CDC-B | FCXM-T | FCXM-B |
|-------|------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|-------|----------|----------|----------|
| 1 | 2005.08.04 | 2 | 24 | 52 | 54 | 15 | 4 | - | - | not done | not done |
| 2 | 2009.01.29 | 24 | 33 | 60 | 46 | 8 | 12 | - | - | not done | not done |
| 3 | 2010.09.24 | 2 | 24 | 62 | 61 | 4 | 9 | + | not done | not done | not done |
| 4 | 2010.11.02 | 24 | - | 7 | 52 | 1 | 15 | + | not done | not done | not done |
| 5 | 2011.11.09 | 1 | 11 | 37 | 39 | 8 | 10 | - | - | + | + |
| 6 | 2012.08.04 | 24 | - | 71 | 52 | 15 | - | - | - | + | + |
| 7 | 2012.08.14 | 2 | 26 | 61 | 52 | 9 | 15 | + | - | + | not test |
| 8 | 2012.11.23 | 24 | - | 52 | - | 15 | - | + | - | + | + |
| 9 | 2013.09.11 | 2 | 24 | 7 | 61 | 1 | 9 | - | - | + | + |
| 10 | 2013.10.30 | 2 | 11 | 62 | 27 | 4 | 15 | + | not done | + | not done |
| 11 | 2014.01.07 | 2 | 33 | 44 | 46 | 9 | 13 | - | not done | + | - |
| 12 | 2014.03.11 | 2 | - | 52 | 54 | 7 | 15 | - | - | - | - |
| 13 | 2014.07.17 | 24 | 31 | 7 | 54 | 1 | 14 | - | - | - | - |
| 14 | 2014.07.24 | 26 | 31 | 35 | 51 | 8 | 9 | + | + | + | + |
| 15 | 2014.08.26 | 1 | 26 | 37 | 61 | 9 | 10 | + | - | + | + |
| 16 | 2014.11.27 | 2 | 31 | 48 | 55 | 9 | - | - | - | + | + |
| 17 | 2015.05.23 | 2 | 24 | 62 | 52 | 15 | - | - | - | + | + |
| 18 | 2015.11.10 | 24 | 31 | 51 | 54 | 4 | 14 | - | - | + | + |
| 19 | 2016.01.26 | 24 | - | 35 | 54 | 4 | 4 | - | - | + | not done |
| 20 | 2016.03.07 | 2 | 24 | 46 | 61 | 8 | 9 | - | not done | + | + |
| 21 | 2016.07.09 | 11 | 24 | 51 | 54 | 4 | 4 | - | not done | + | + |
| 22 | 2016.08.03 | 2 | 24 | 7 | 61 | 4 | 1 | - | - | + | + |

一致 DSA

【症例2】ドナー発生時の検査結果（22回）



【症例2】nMFIの経時的変化

ドナー 22回目のドナー

54歳, 男性

原疾患：低酸素脳症

- HLA 4Ag mismatch
Donor A(2, 24) B(39, 61) DR(4, 1)
Recipient A(11, 24) B(48, 54) DR(4, 9)
- HLA抗体 DSA, A2, nMFI=1,376
- クロスマッチ CDC-T,-B (-) , FCXM-T,-B (+)

【症例2】 献腎移植術（心停止）

49

Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

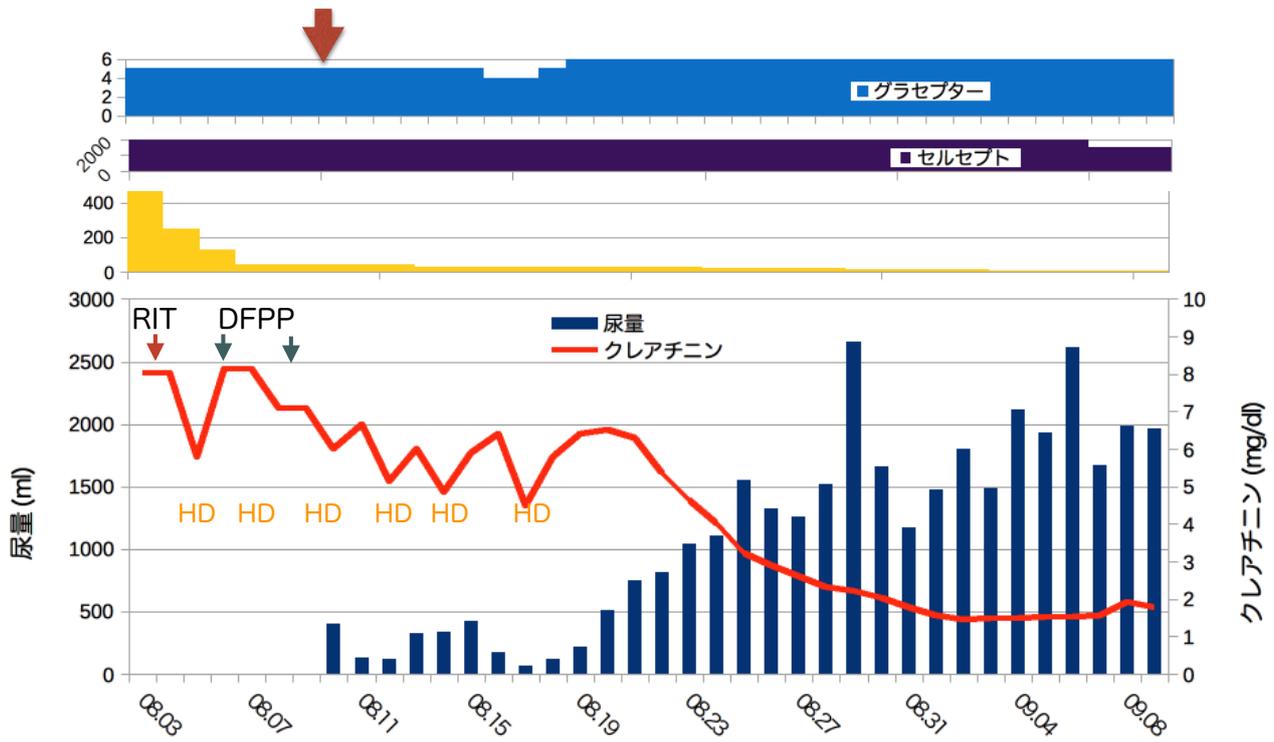
- FCXMは陽性であるが、DSAであるA2に対してHLA抗体はnMFI=1376であり、脱感作の時間的猶予があれば移植可能と判断。
- 30年間の待機患者で、ここ10年ドナーに対して強いDSAを検出。年齢を考えると今後免疫学的リスクの低いドナーからの移植チャンスは少ないと考え、移植に踏み切った。
- リツキサン200mg, DFPP2回施行

【症例2】 術前トリートメント

50

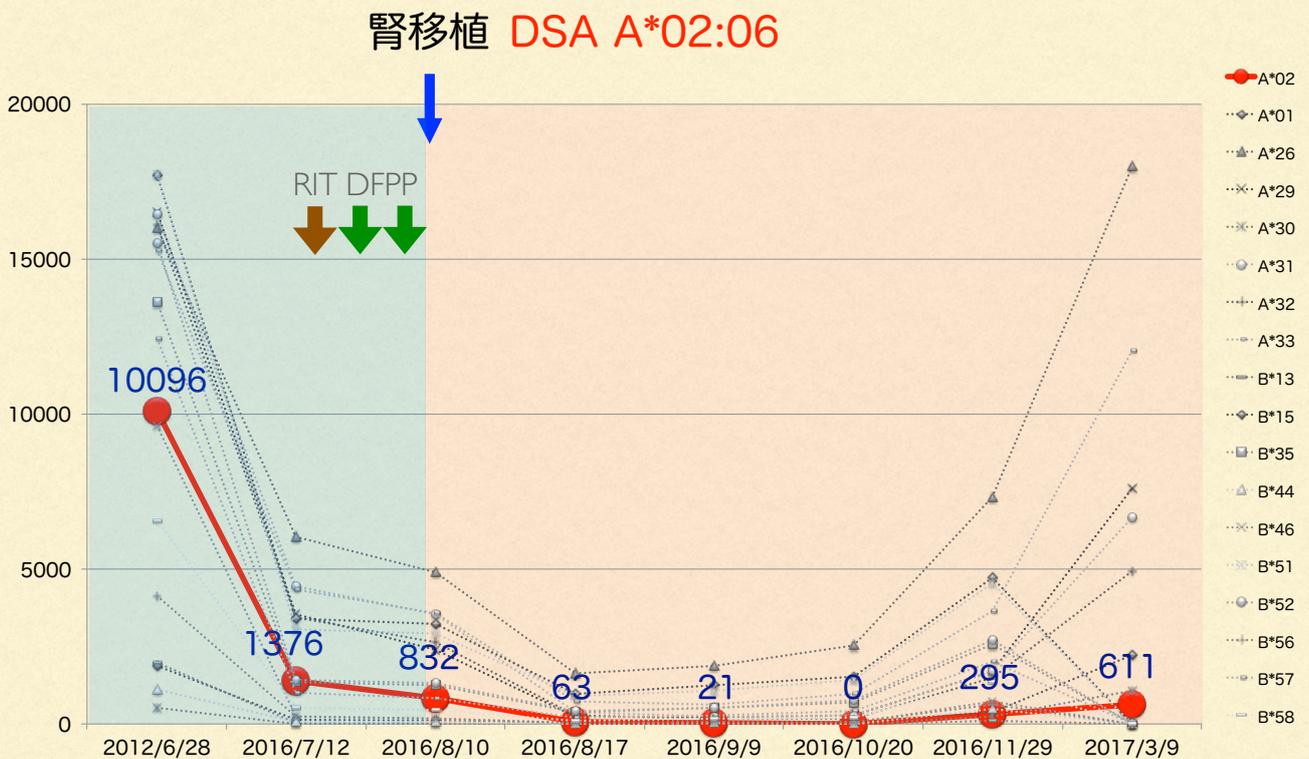
Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

腎移植



【症例2】 術後経過

51



【症例2】 術前後のnMFI変化

52

- 待機期間が長く,そろそろ候補になる患者は事前にシングルアンチゲンまで実施して,状態を把握しておく.

→ バーチャルでDSAを確認できる

- 移植後のDSAフォローは細めに行う.

抗体陽性患者で献腎移植

目次

第1章 総論

第2章 抗体の定義

第3章 抗体検査法

第4章 移植前抗体陽性

第5章 抗体関連型拒絶反応 (AMR)



「臓器移植抗体陽性診療ガイドライン」

CQ5-8 抗体関連型拒絶反応の治療評価はどうすべきか

【臓器共通】 推奨グレードC1

生検とDSAのMFIなどで評価することが推奨される。
なお、臨床症状、血液検査結果なども併せて総合的に評価すべきである。

【腎臓】 推奨グレードC1

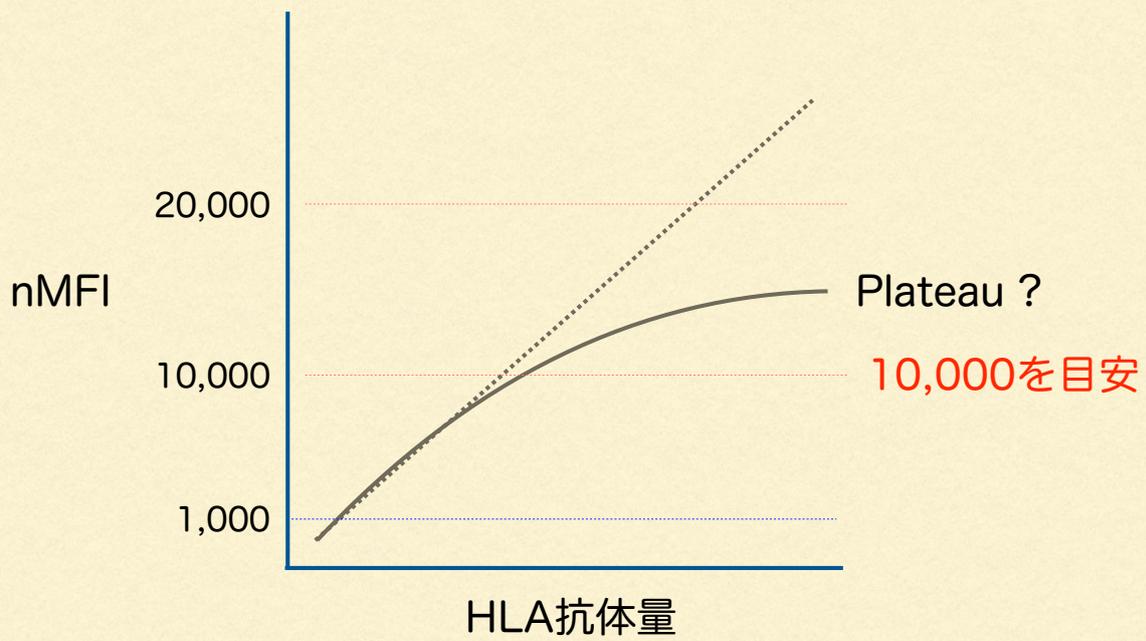
AMRに対して治療を行なった後は、移植腎生検とDSAの検索を行い、治療効果を評価すべきである。

第5章 抗体関連型拒絶反応（AMR）

Question

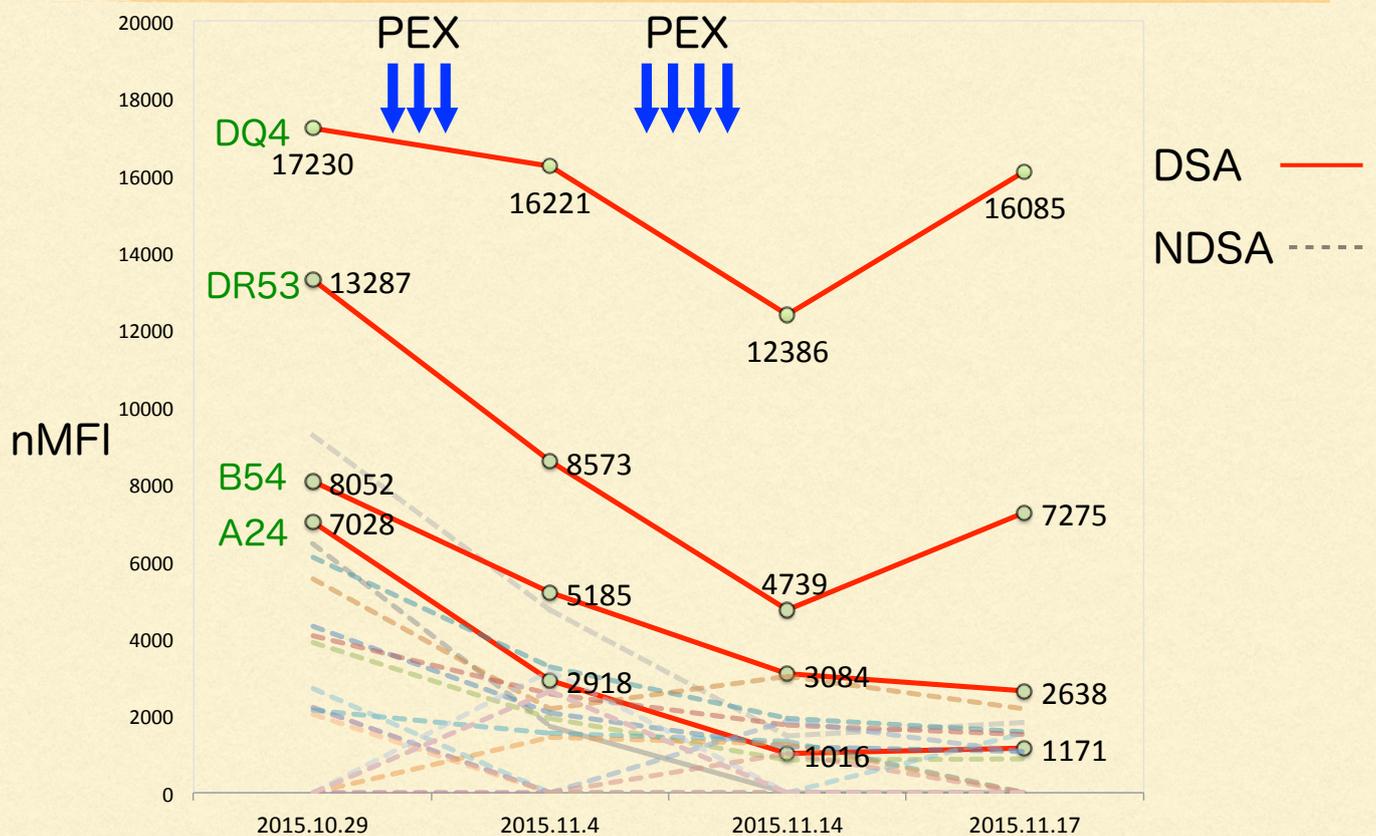
DSAに対してトリートメント PEX, DFPP etc.
トリートメントの評価は可能か？

MFIでの評価



定量性は乏しく, 目安程度.

MFIの定量性は?



PEX前後でのMFI比較

de novo DSA

Question

DSAに対してトリートメント PEX, DFPP etc.
トリートメントの評価は可能か？

Answer



- nMFIの数值は, 頭打ちすることがある.
- HLAのローカスにより挙動が異なることがある. (特にDQ)
- nMFIと臨床症状が乖離する時がある.

MFI評価の注意点

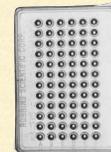
HLA抗原

HLA抗体

ドナーリンパ球 vs. レシピエント血清
(臓器の代替)

CDC法 (Complement Dependent Cytotoxicity)

- 低感度, 検査者の主観で判断
- IgMの影響



FCXM法 (Flow Cytometry Cross Match)

- 高感度
- 非特異反応



クロスマッチ

脳死・心停止下移植

| | CDC | FCXM | |
|--------|-----|------|------|
| Case.1 | - | - | 斡旋 |
| Case.2 | + | + | 斡旋中止 |
| Case.3 | - | + | 施設判断 |
| Case.4 | + | - | 施設判断 |

リンパ球交差試験 結果解釈 -臍臓・腎-

61

+ Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

脳死・心停止下移植

| | CDC | FCXM | |
|--------|-----|------|------|
| Case.3 | - | + | 施設判断 |

● 低抗体価のHLA抗体が反応 (DSA)

→ 低感度のCDC法は反応していない
(移植するならトリートメントが必要)

● FCXMのFalse Positive

→ HLA抗体以外のIgG抗体と反応

リンパ球交差試験 結果の乖離

62

+ Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

脳死・心停止下移植

| | CDC | FCXM | |
|--------|-----|------|------|
| Case.4 | + | - | 施設判断 |

● CDCのFalse Positive

- IgM反応による非特異反応の可能性
(* AHG, DTTは未検査 (出来ない) なので否定出来ない)

● FCXMのFalse Negative

- 感度から言えば考えにくい。(手技的要因)

リンパ球交差試験 結果の乖離

63

+ Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

脳死・心停止下移植

| | CDC-T | FCXM-T | |
|--------|-------|--------|----|
| Case.1 | - | - | 斡旋 |

● B細胞を用いたクロスマッチを実施していない

- クラスII抗体 (HLA-DR)のDSAは検出不可能

Pitfall

64

+ Japanese Red Cross Fukuoka Hospital

- レシピエントの感作歴

輸血歴 50%, 移植歴 10%, 妊娠歴 20%

- レシピエントのHLA抗体保有率

Class I (A,B,C) 30%, Class II (DR,DQ) 15%

- クロスマッチ結果の乖離症例

CDC (-), FCXM (+) Tcell 10%, Bcell 14%

CDC (+), FCXM (-) Tcell 0.3%, Bcell 3%

- クロスマッチ陽性患者の割合

CDC (+), FCXM (+) 3.3%

献腎でのクロスマッチ陽性症例

2012-2017年 九州沖縄地区
脳死・心停止移植検査 腎臓 N=759

HLA Antibody

感度, 非特異反応, nMFI

DSA

Donor Specific Antibody

Cross Match

方法で結果乖離, T, B細胞の結果解釈

HLA Typing

アレルレベルの検査,
未検査ローカス HLA-C,DQ,DP