

第11回HLAQCワークショップ 抗体部門

概 要

赤座達也 中島文明

目的

HLA抗体検査の理解と普及

- 検査施設間の同一検査法での比較検討
- 異なった検査法間の結果の比較検討

各参加者は技術と知識の向上を目指す

自施設の結果を全体の結果と比較し、改善する

検査施設および検査方法が異なっても、結果の整合性を維持

実施経過

平成19年1月	日赤血液センターに抗血清譲渡依頼
平成19年2月24日	参加申込み締切り
平成19年3月～	サンプルの選定・抗体反応性確認・分注
平成19年4月5日	同意書送付
平成19年5月7日	抗体QCサンプル配布
平成19年5月17日	データ入力シート配布
平成19年6月10日	データ提出締切り
平成19年6月～	抗体QCデータ解析・発表者選定
平成19年8月8日	全データ・集計データ送付
平成19年9月9日	QCワークショップ集会

抗体QCサンプルの選択

< テーマ >

- | | |
|-------------------------|--------------------|
| 1. 明確な抗体特異性を有するIgM抗体 | SH1901 |
| 2. 明確な抗体特異性を有するIgG抗体 | SH1902 |
| 3. 広範囲に抗体特異性を有するサンプル | SH1903 |
| 4. Cローカス抗原に対する抗体を含むサンプル | SH1903/1904 |
| 5. HLAクラス 抗原に対する抗体 | SH1904 |

サンプルID	カラーコード	抗体力価 (LCT法)	抗体特異性 (LCT法)	抗体性状
SH1901	red	x1	A3 A11 A32 A74	HLA Class (IgG) ? HLA Class (IgM)
SH1902	blue	x8 ~ 32	B18 B35 B37 B51 B5102 B52 B53	HLA Class (IgG)
SH1903	yellow	不明	Bw4 Cw3	HLA Class (IgG) HLA Class (IgM) ? HLA Class (IgG) ?
SH1904	green	x1	Cw1	HLA Class (IgG) HLA Class (IgG) HLA Class (IgM) ?

上記4本を1mlずつ配布

参加施設の比較

	9th.QCWS (2005)		10th.QCWS (2006)		11th.QCWS (2007)	
	n	%	n	%	n	%
血液センター	17	35.4%	16	37.2%	12	30.0%
大学病院	12	25.0%	11	25.6%	12	30.0%
検査・輸血部	11	22.9%	9	20.9%	8	20.0%
検査センター	4	8.3%	3	7.0%	5	12.5%
研究施設	2	4.2%	3	7.0%	2	5.0%
その他	2	4.2%	1	2.3%	1	2.5%
(Total)	48		43		40	
データ提出	44	91.7%	39	90.7%	37	92.5%

各解析担当者

1	LCT・AHG-LCT	寺木佳子(千葉県赤十字血液センター)	10分
2	MPHA・PAKPLUS・LAT	橋本志歩(日赤中央血液研究所)	5分
3	LIFT	平田康司(岡山県赤十字血液センター)	5分
4	Flow-PRA	山本 賢(国立循環器病センター)	10分
5	LABScreen	高 陽淑(大阪府赤十字センター)	10分
6	総合解析	中島文明(日赤中央血液研究所)	10分
7	WAKFlow	田中秀則(東京都赤十字血液センター)	5分

(敬称略)

第11回HLAQCワークショップ 抗体部門

総合解析

中島文明

参加施設の検査方法別内容

			10th.QCWS (2006)				11th.QCWS (2007)				
総合判定提出 / データ提出施設数			24/39				37/37				
方法			Class I		Class II		Class I		Class II		
LCT			16 (584)		4 (47)		11 (388)		2 (6)		
AHG-LCT			14 (576)				10 (345)				
方法	パネル形態		Class I				Class I				
			IgG		IgM		IgG		IgM		
MPHA	オリビオ		7				5				
	anti HPA		5				6		1		
	自家製		1 (8)				1 (4)				
PAKPLUS			3		1		3				
方法	パネル形態	抗原グループ	Class I	Class II	Class I	Class II	Class I	Class II	Class I	Class II	
			IgG		IgM		IgG		IgM		
LAT	Mixed		3				2				
	LAT		1				1				
FlowPRA	Screening		24	20	8	4	22	19	7	6	
	Specific		2				1				
	Single antigen	1-4		6	5			8	5		
5-10			3				4				
LABScreen	Mixed		5		1		4		1		
	PRA		8	6	2	2	7	7	1	1	
		1 (4)		7	5	2	1	9	7	2	2
		2 (4)		6		2		8		2	
	3 (4)		3				7		2		
LIFT			2 (93)				3(345)				
WAKFlow							6				

総合判定

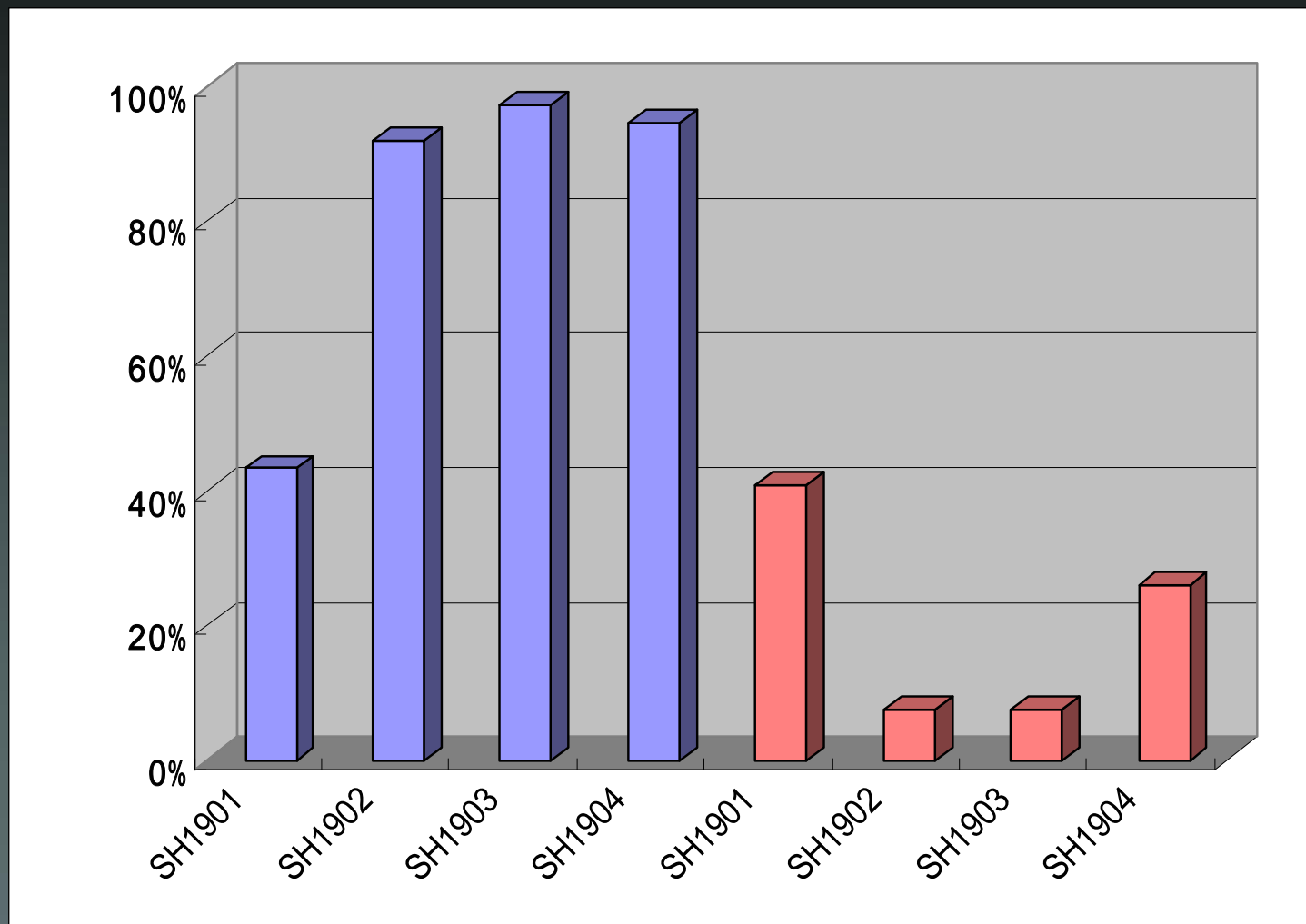
LCT
MPHA

Single
Antigen

新規参入

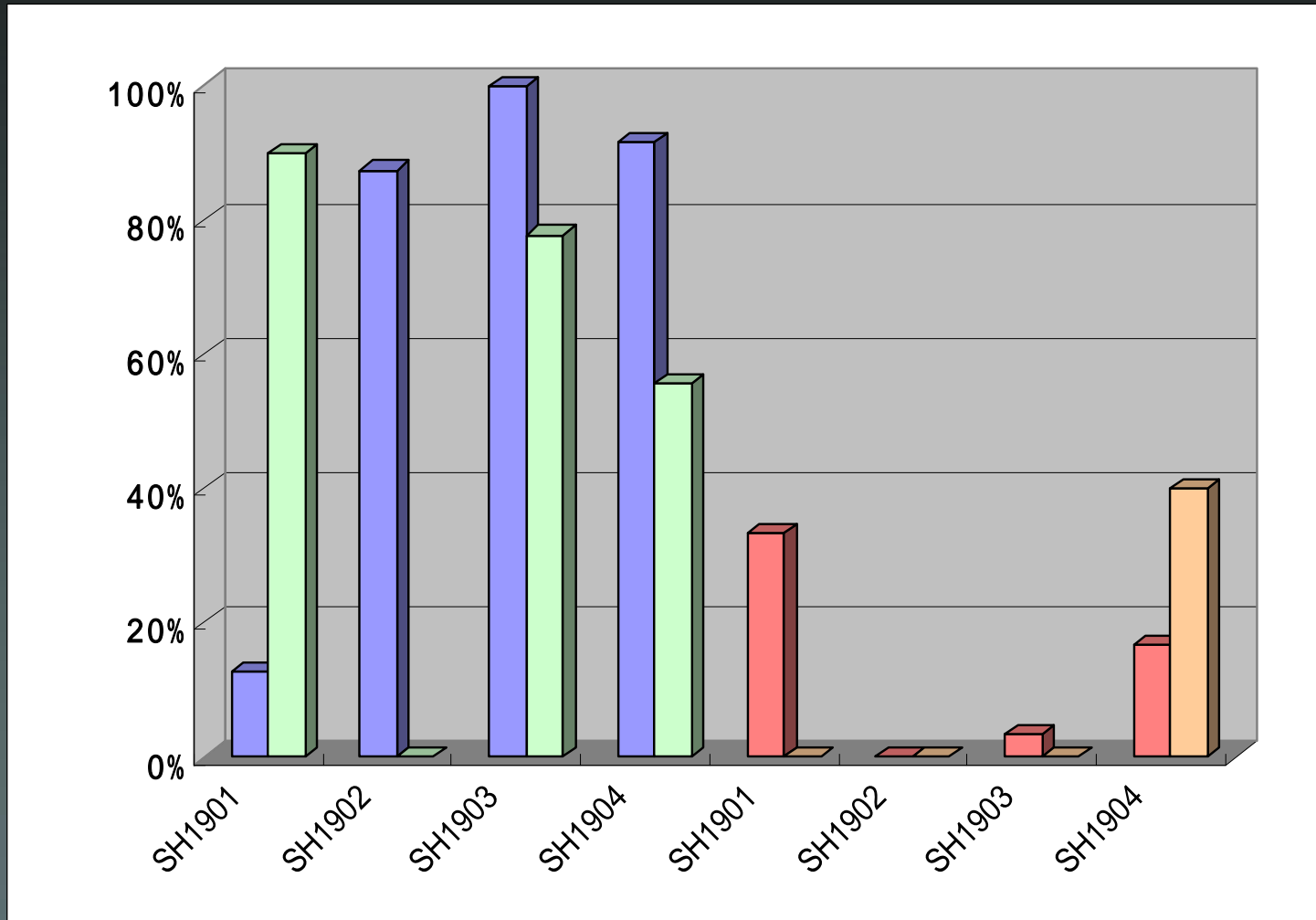
抗体検出：総合判定

Class I Class II

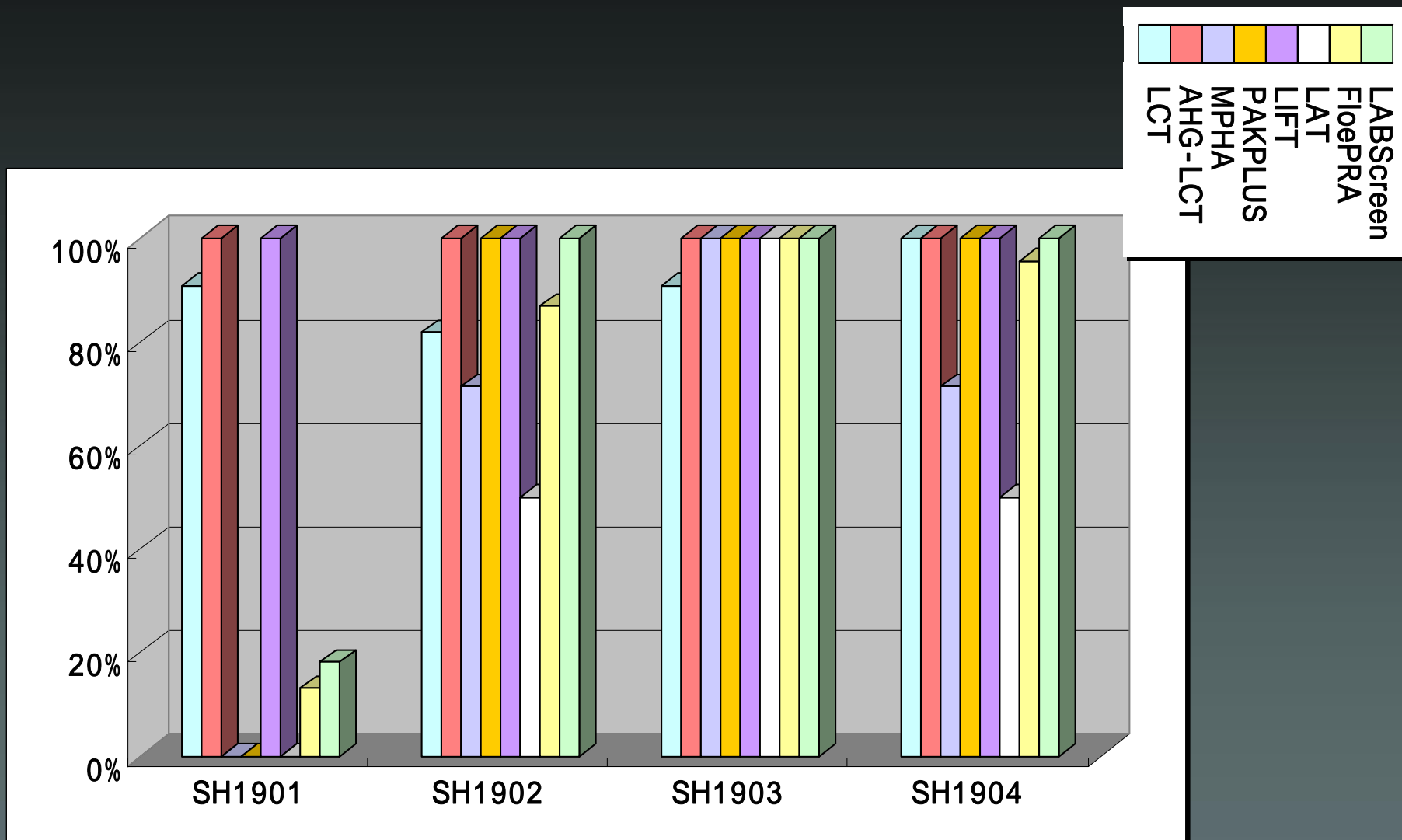


抗体検出：二次抗体別

Class I : IgG Class I : IgM Class II : IgG Class II : IgM



抗体検出：検査方法別 (LCT、AHG-LCT以外はIgG抗体)



抗体特異性：二次抗体別

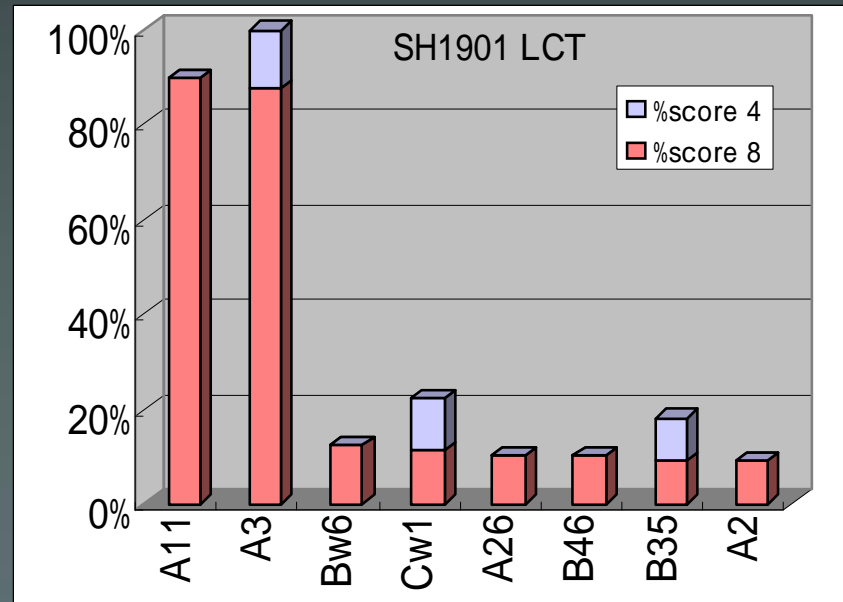
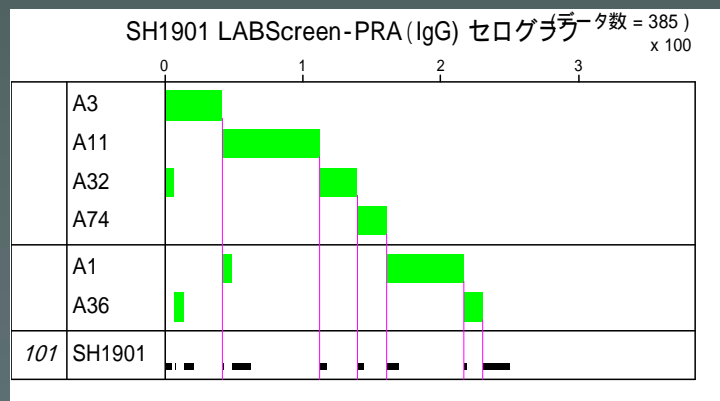
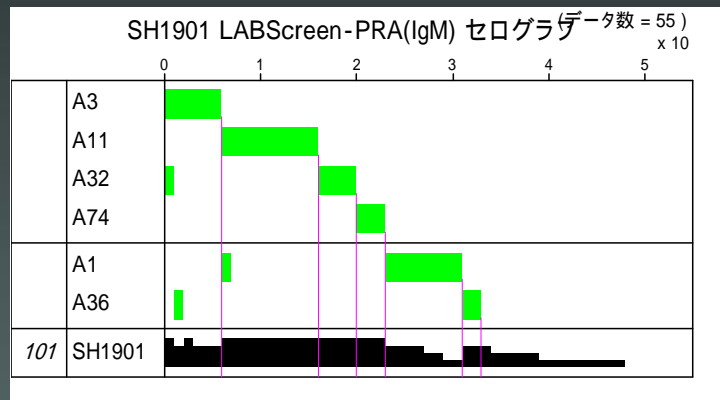
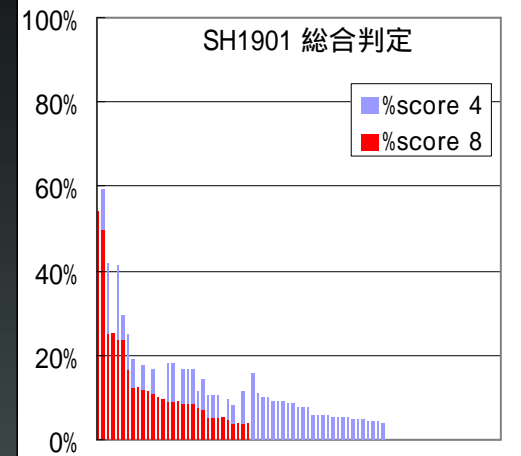
	HLA Class I	
	IgG	IgM
SH1901	(A3 A11 A32 A74 Cw2 Cw4 Cw5 Cw6)	A3 A11 A32 A74 A1 A36 A25 A66 A34 B37 Cw15 (B44 B63 Cw6 Cw17)
SH1902	B35 B51 B5102 B52 B37 B18 B53 B78 (B58)	-
SH1903	Cw9 Cw10 Bw4 B46 A24 A23 A25 A32 A1 A36 A80 A3 A11 B50 B56 B35 B62 B71 B72 B75 B78 B18 B8 B76 B45 B14 Cw1 Cw2 Cw5 Cw6 Cw8 Cw14 Cw15 Cw16 Cw17 Cw18	A2 B15 B17 B21 B51 B46 Cw3 Cw6 etc.
SH1904	Cw1 B54 B55 B56 B59 Cw3 Cw4 Cw14 Cw18 B16 B18 B21 B78 B35 B53 B58 etc.	A3 A2403 A66 Cw1 Cw3 Cw14 Cw18

	HLA Class II	
	IgG	IgM
SH1901	(DR15 DR16 DR51)	-
SH1902	-	-
SH1903	(DR1 DR4 DR15 DR51)	-
SH1904	(DR12 DQ7 DQ8 DQ9)	(DR11 DQ7)

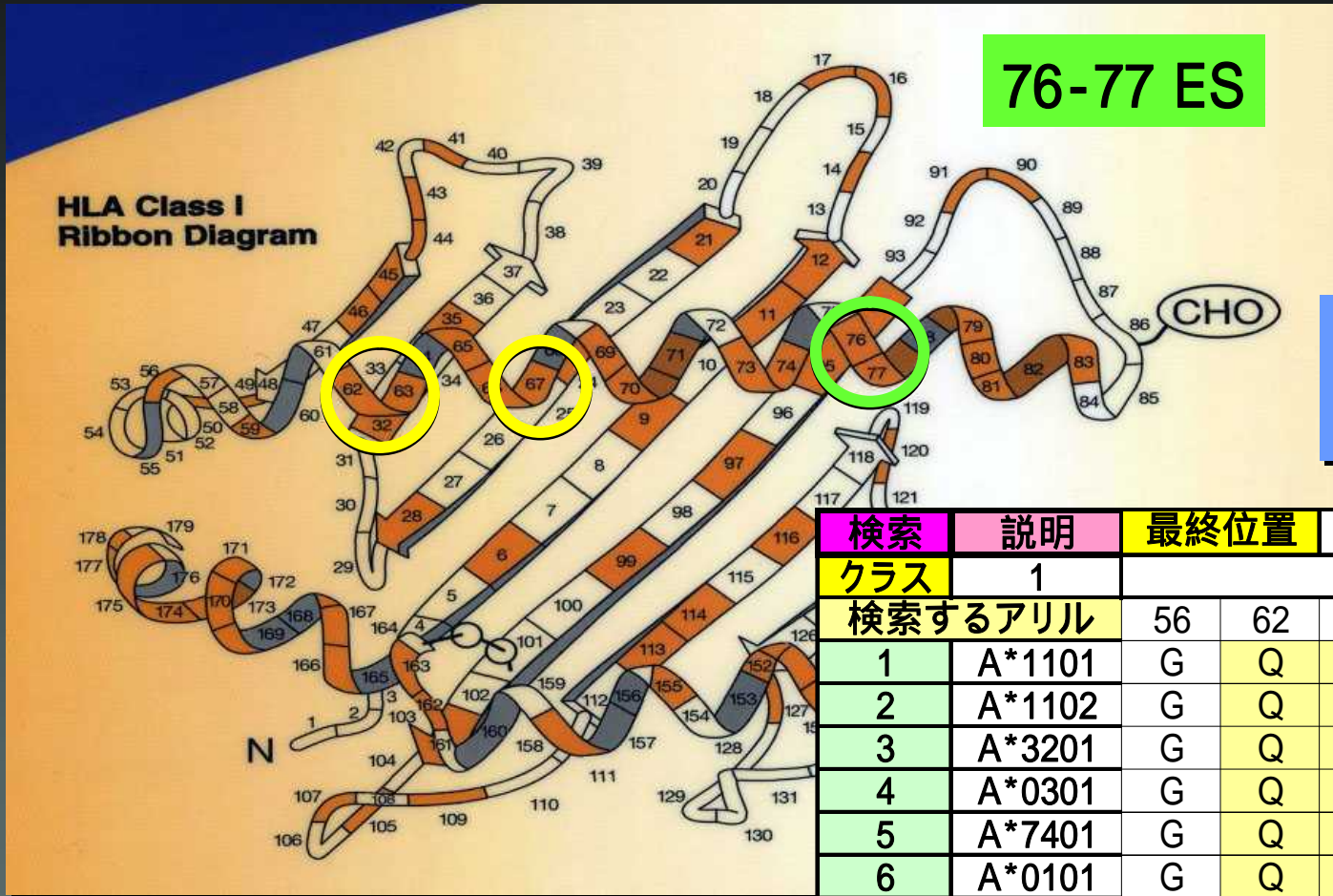
はLCT、AHG-LCT法で検出
 () は反応性が弱いことを示す

抗体特異性: 検査方法別 SH1901

SH1901: Class I (IgM)								
LCT	A3	A11	A32					
AHG - LCT	A3	A11	A32	-	-	-	-	-
MPHA(M)	-		-	-	-	-	-	-
LIFT(M)	A3	A11	-	-	-	-	-	-
FlowPRA (M)	A3	A11	A32	A74	A66	A1	A36w	A25w
LABScreen (M)	A3	A11	A32	A74	A66w	A1w	A36w	A25w



エピトープ解析: SH1901 A3+A11+A32+A74 (A1+A36+A25+)



エピトープ解析ソフト
アレル違い

62-63 QE

67 V

検索	説明	最終位置	290	(10-290)			
クラス	1						
検索するアレル		56	62	63	67	76	77
1	A*1101	G	Q	E	V	V	D
2	A*1102	G	Q	E	V	V	D
3	A*3201	G	Q	E	V	E	S
4	A*0301	G	Q	E	V	V	D
5	A*7401	G	Q	E	V	V	D
6	A*0101	G	Q	E	M	A	N
7	A*3601	G	Q	E	M	A	N
8	A*2501	G	R	N	V	E	S
9	A*3001	R	Q	E	V	V	D
10	A*3101	R	Q	E	V	V	D
11	A*3301	G	R	N	V	V	D
12	A*2402	G	E	E	V	E	N
13	A*0201	G	G	E	V	V	D

エピソード解析: SH1901 A3+A11+A32+A74 (A1+A36+A25+)

```

11111122223333333344444444555555666666667777777778888889 9999990000000111111122223333444445555566666677778
Pos. 367912467901480123456713456789245678912345679012346789012340 1245792356789012345602701782357126891235671572

Consen HRYFSVRGREPRAVDTQFVRFDAQRMEPRAIQEGPEYDQETRNVAHSQTDVDLGLTRGYA GSTIMYDVS DGRFLRGYHQDGDKLRDMI TRWHV LAYEGTVEWYGET

A*0301 -----Q----- |-----R---N-----E---D-----
A*0302 -----Q----- |-----R---N-----Q---D-----
A*1101 --Y-----Q-----D |---P---R---N-----AQ---R-----
A*1102 --Y---K-----Q-----D |---P---R---N-----AQ---R-----
A*3201 -----ES-RIALR- |-----P---L---Q---N-----R-----
A*7401 -----P---L---Q---N-----R-----

A*0101 -----K-----M-----AN-----D |---P-----R---N-----ARV---R-DG---
A*3601 -----K-----M-----AN-----D |---P-----R---N-----ARV-----

A*2501 --Y-----RN-----ES-RIALR-D |---R---P-----Q---N-----EW---R-----

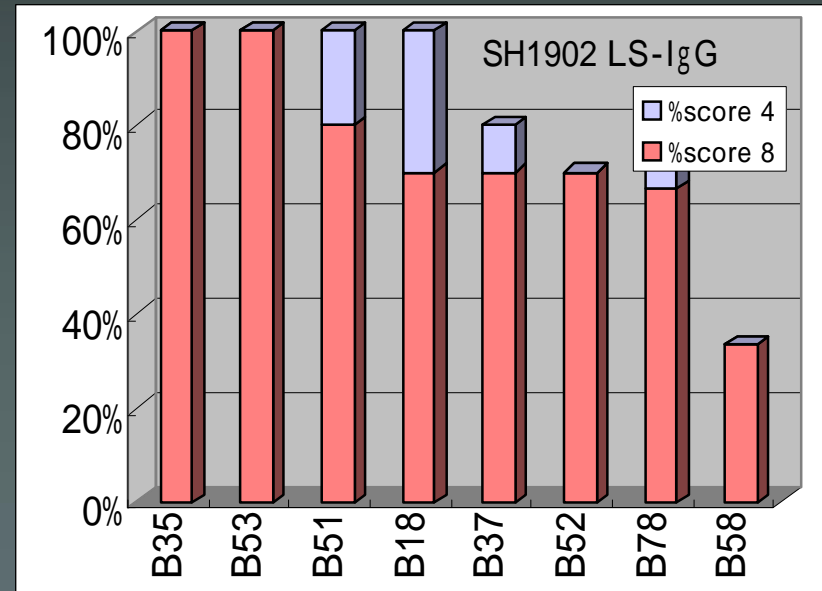
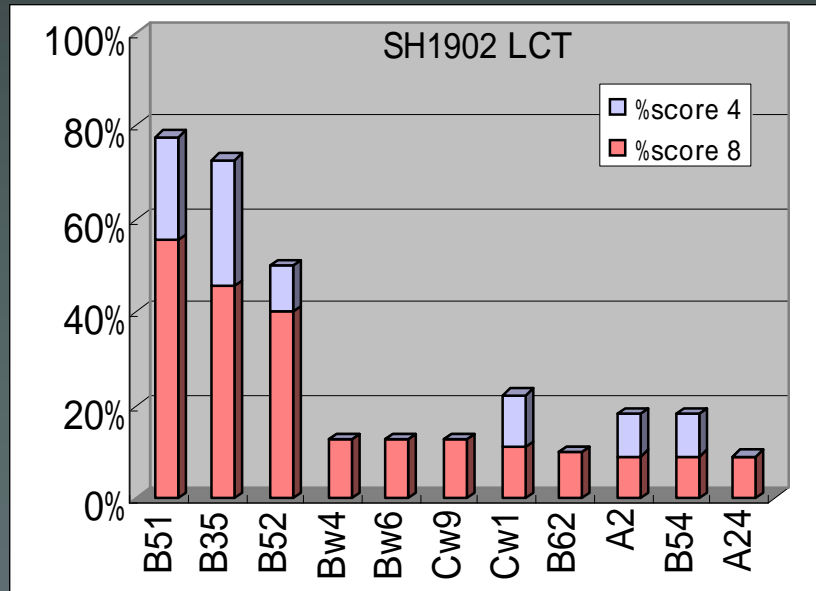
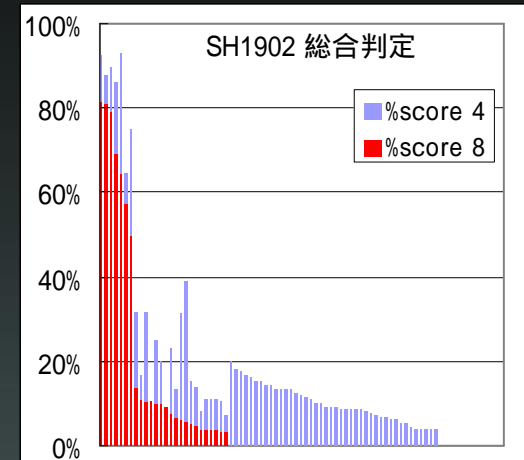
A*2601 --Y-----RN-----AN-----D |---R---P-----Q---N-----EW---R-----
A*3401 --Y-----RN-K-Q-----D |---R---P-----Q---N-----EW-----
A*4301 --Y-----LQ-----AN-----D |---R---P-----Q---N-----EW---R-----
A*6601 --Y-----RN---Q-----D |---R---P-----Q---N-----EW---R-----

```

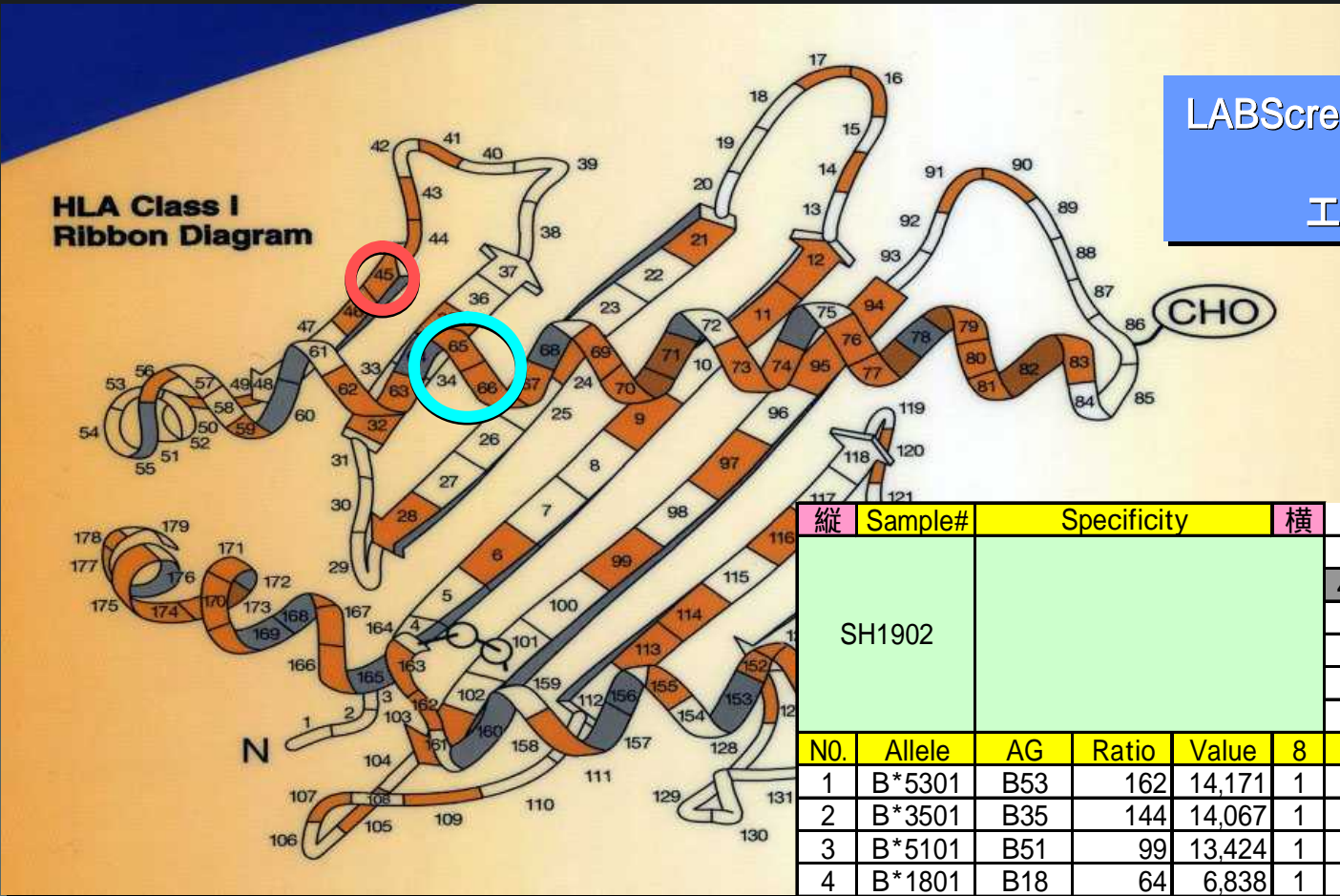
		LABScreen		62-63	67	76-77
		PRA(1)	Single(2)			
A*0201	-----G---K---H---					
A*2301	--S-----E-GK-----EN-	A11(A*1101)	9,185	12,207		
A*2402	--S-----E-GK-----EN-	A11(A*1102)		11,995		
A*2901	--T-----LQ---Q---AN-	A32(A*3201)	9,533	11,862		
A*2902	--T-----LQ---Q---AN-	A3(A*0301)	7,231	11,412		
A*3001	--S---S-----R---Q---	A74(A*7401)	9,101	11,115		
A*31012	--T-----R-----I---	A1(A*0101)	3,050	2,743		
A*3301	--T-----RN-----I---	A36(A*3601)	5,836	1,927		
A*8001	-----S---Q-----E---E-----NAN-	A25(A*2501)	1,417	2,797		

抗体特異性: 検査方法別 SH1902

SH1902: Class I (IgG)								
LCT	B35w	B51w	B52w	-	-	-		
AHG - LCT	B35	B51	B52w	B37w	-	-	-	
MPHA (G)	B35	B51	-	-	-	-		
LIFT (G)	B35w	B51	B52w	B37w	-	-	-	
LAT (G)	B35	B51	B52	B37w	B18	B53	B78w	
FlowPRA (G)	B35	B51	B52	B37	B18	B53	B78	
LABScreen (G)	B35	B51	B52	B37	B18	B53	B78	B58w



エピトープ解析: SH1902 B35+B51+B53+B78 (B18+B37+B52+)



LABScreen Single 解析ソフト
 エピトープ解析

45 T

65-66 QI

縦	Sample#	Specificity					横								
	SH1902							A	E	E	E	E	E	E	A
								45	44	45	45	45	45	45	30
									45	62	65	66	69	71	
N0.	Allele	AG	Ratio	Value	8	T	RT	TR	TQ	TI	TT	TT	G		
1	B*5301	B53	162	14,171	1										
2	B*3501	B35	144	14,067	1										
3	B*5101	B51	99	13,424	1										
4	B*1801	B18	64	6,838	1										
5	B*7801	B78	54	6,936	1										
6	B*5102	B5102	36	6,733	1										
7	B*5201	B52	27	2,738	1										
8	B*3701	B37	21	4,711	1										
9	B*5801	B58	12	4,023	1										
	NC	Value	50	25	N	9	9	8	8	8	8	8	1		
	PC	Value	11,688	6,484	Ex	0	0	0	0	0	0	0	0		
	S1	S2	S4	S6	S8										
						84	1	0	6	3					

エピソード解析: SH1902 B35+B51+B53+B78 (B18+B37+B52+)

```

111111222233333333334444444455555556666666777777778888889
Pos. 367912467901480123456713456789245678912345679012346789012340
111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111111
999999000000011111112222333344444555566666677778
1245792356789012345602701782357126891235671572

Consensus HRYIAMRGREPRAVDTQFVRFDPREEPRAIQEGPEYDRNTQISTNTQTYESLRNLRGYA GSTLRVDVPGRLLRGHNQYGDNLSDTITRWRVLAYEGLVEWYGEA

B*5101 ---T---F---N-IALR---WT---E---H---
B*5102 ---T---F---N-IALR---WT---E---
B*5103 ---T---F---N-IALR---WT---E---GH---
B*3501 ---T---F---N-IALR---I-L---D-S---
B*5301 ---T---F---N-IALR---I-L---D-S---
B*7801 ---T---F---D---WT---E---H---
B*1801 ---HSV---S-G---T---E---D-T-LR---I-S---Y-F---D-T---
B*3701 ---HSV---S---T---E---N-IALR---WT---E---H---
B*5201 ---T---E---N-IALR---WT---E---H---
B*5801 ---T---GE-RNMSA---N-IALR---I-L---D-S---

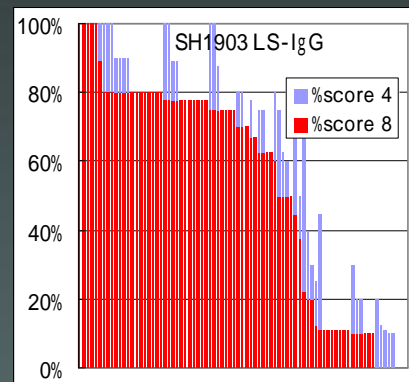
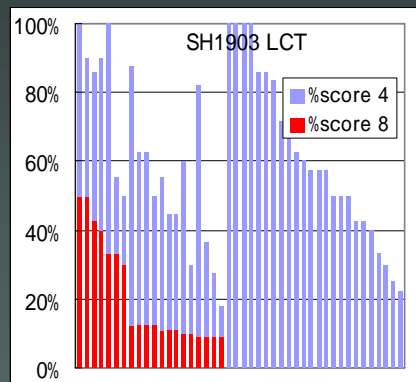
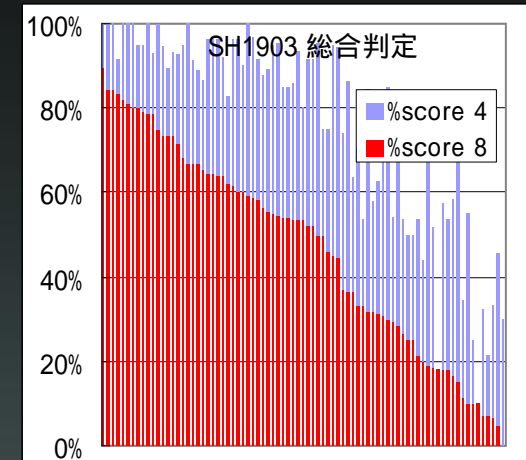
B*4406 ---T---F---N-IALR---I---YD-D---D---S---
B*1522 ---T---F---D-S---EW---
B*1559 ---T---F---EW---
B*3806 ---SV---S---T---F---N-IALR---F---T-T---
B*3807 ---SV---S---T---G---F---N-IALR---F---T-T---

```

	LABScreen	45(T)	65-66(QI)	67(F)	
					PRA(6)
B51(B*5101)	3,415	8,741	29.7%	29.0%	16.5%
B35(B*3501)	2,258	9,017			
B53(B*5301)	1,397	8,492			
B78(B*7801)	654	4,844			
B18(B*1801)	1,146	4,841			
B37(B*3701)	549	3,468			
B52(B*5201)	79	2,958			
B58(B*5801)	38	1,772			

抗体特異性: 検査方法別 SH1903

SH1903: Class I (IgG)						
LCT	A24w	Bw4	B46	Cw9	Cw10	
AHG - LCT	A24	Bw4	B46	Cw9	Cw10	
MPHA (G)	A24w	Bw4	-	Cw9	Cw10	
LIFT (G)	A24	Bw4	B46	Cw9	Cw10	
LAT (G)	A24	Bw4	B46	-	-	他ABC多数
FlowPRA (G)	A24	Bw4	B46	Cw9w	Cw10	他ABC多数
LABScreen (G)	A24	Bw4	B46	Cw9	Cw10	他ABC多数

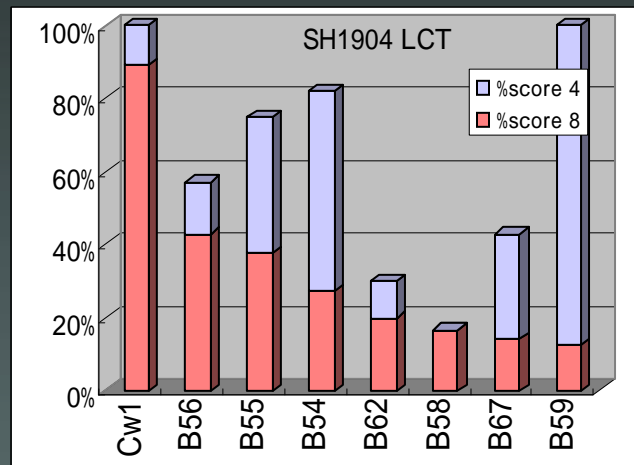
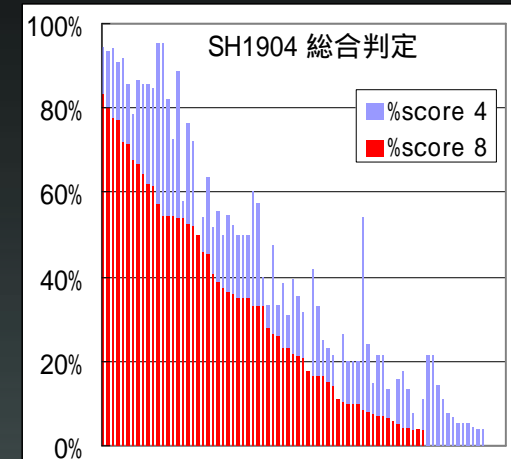


許容抗原 (IgG抗体に対して)

SH1903	A	A2	A26	A29	A30	A31	A33	A34	A43	A66	A68	A69	A74
	B	B7	B39	B42	B48	B55	B60	B61	B67	B73	B81	B82	
	C	Cw4	Cw7										

抗体特異性: 検査方法別 SH1904

SH1904: Class I (IgG)						
LCT	Cw1	B56w	B55w			
AHG - LCT	Cw1	B56w	B55w			
MPHA (G)	Cw1w					
LIFT (G)	Cw1	B56w				他BC多数
FlowPRA (G)	Cw1	B56	B55	B54	B59	他BC多数
LABScreen (G)	Cw1	B56	B55	B54	B59	他BC多数

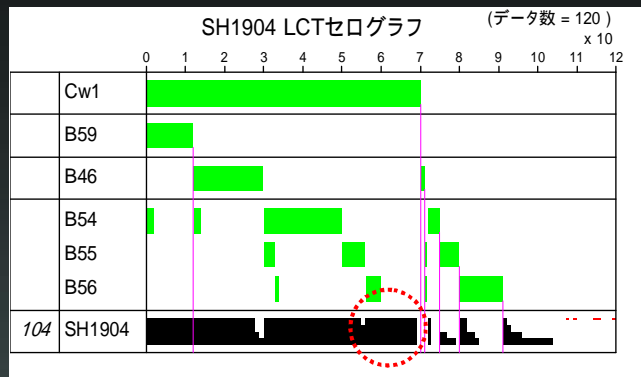


許容抗原 (IgG抗体に対して)

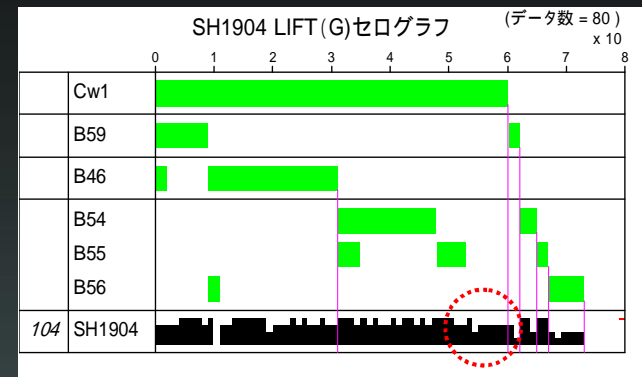
SH1904	A	(all)
	B	B7 B8 B14 B37 B41 B44 B45 B46 B47 B48 B51 B52 B57 B73 B81
	C	Cw2 Cw6 Cw7 Cw8 Cw12 Cw15 Cw16 Cw17

Cローカス抗原との反応: SH1904 Cw1

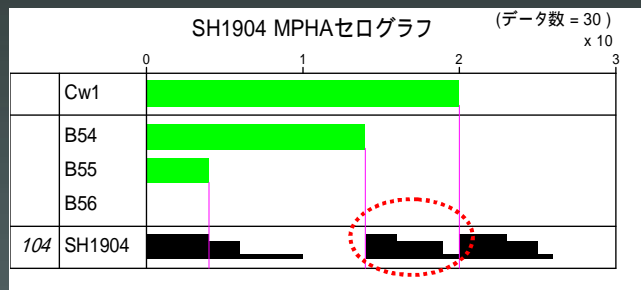
リンパ球
細胞傷害



リンパ球
間接抗体



血小板
抽出抗原



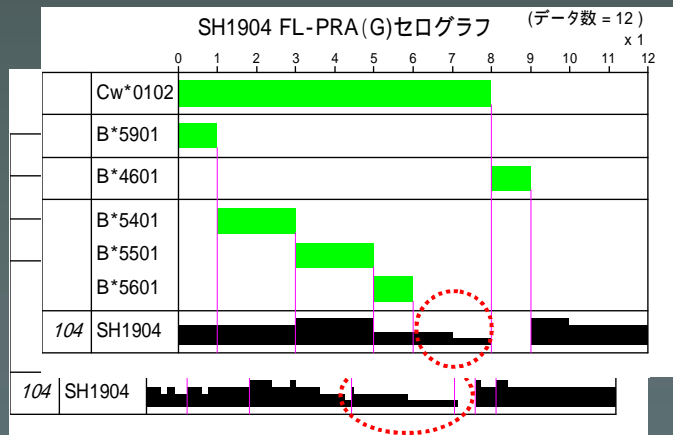
血小板
糖タンパク

PAKPLUS (HLA-Class I)

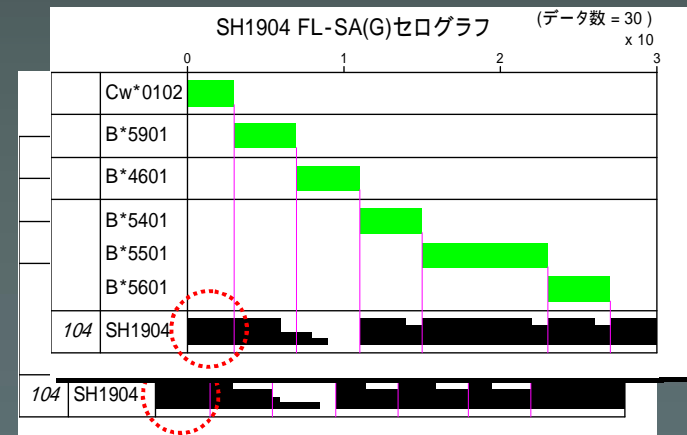
N.C.	P.C.	SH1901	SH1902	SH1903	SH1904
0.12	2.70	0.10	0.58	1.70	0.26
0.13	2.17	0.11	0.27	1.36	0.26
0.14	2.98	0.16	0.51	1.98	0.33

(OD値)

リンパ球
精製抗原
PRA



リンパ球
精製抗原
Single



まとめ

検査方法は、LCT/MPHA法が減少し、精製抗原Single Antigenが増えた。

SH1901はIgM抗体のため、検出率が4割程度であった。他のサンプルは数施設で検出できていないか、判定保留であった。SH1902から1904は100%検出できなければ問題と思われる。

エピトープ解析はSH1901と1902で、ほぼ推定できたが、前者の認識領域が広すぎる点と、後者が シート上である点に疑問が残った。

SH1903は広範囲に反応を示す抗体で、抗体特異性より許容抗原を決定する方が有効であった。また、Bローカス特異性に隠れたCw3抗体特異性は、LATを除くどの方法でも検出可能であった。

SH1904が保有するCw1抗体特異性は、検査方法により異なった反応性を認めた。これは、各検査方法の特徴を端的に表わした結果ともいえる。