

日本組織適合性学会 第12回QCWS

抗体部門(FlowPRA法)解析

特定医療法人北榆会 札幌北榆病院
臨床検査科 佐藤 壯

目 次

- 1 . 参加施設、測定機器、測定項目の概要
- 2 . 測定結果
- 3 . 考 察
 - 1) 一定のFormatで比較することの重要性
(FCS Fileによる比較の重要性)
 - 2) 測定機器による違い
 - 3) 機器設定の重要性
 - 4) Case Study
- 4 . まとめ

参加施設、測定機器の概要

参加施設別分類

大学・病院：12施設

血液センター：8施設

検査会社：2施設

測定機器別分類

Becton Dickinson：12施設

(FACSCan：1施設、FACSCalibur：11施設)

Beckman Coulter：9施設

(EPICS XL：5施設、Cytomics FC500：4施設)

Ortho Diagnostics：1施設 (Cytron)

参加施設別測定項目の概要

施設コード	使用機器	Screening				Single Antigen IgG
		IgG		IgM		
		Class	Class	Class	Class	
20S001	BC EPICS			-	-	-
20S004	BD Calibur			-	-	-
20S005	BD Calibur			-	-	
20S006	BC FC500			-	-	
20S009	BD Calibur				-	-
20S010	BC EPICS			-	-	
20S013	BD Calibur			-	-	-
20S014	BC EPICS		-	-	-	-
20S015	BD Calibur				-	
20S016	BC EPICS			-	-	-
20S018	BC FC500					-
20S019	Cytron		-		-	-
20S020	BC FC500					-
20S021	BD Calibur			-	-	
20S022	BC FC500			-	-	
20S024	BD Can			-	-	
20S025	BD Calibur		-		-	
20S027	BD Calibur					-
20S031	BD Calibur			-	-	
20S032	BC EPICS			-	-	-
20S034	BD Calibur			-	-	-
20S035	BD Calibur			-	-	-

測定結果SC C (IgG)

コード	SH2001		SH2002		SH2003		SH2004		SH2005		SH2006	
	%	Score	%	Score	%	Score	%	Score	%	Score	%	Score
20S001	91.2	8	2.2	1	1.8	1	5.4	1	95.4	8	93.5	8
20S004	91.1	8	0.0	1	0.3	1	0.2	1	68.1	8	99.6	8
20S005	91.8	8	0.3	1	82.7	8	1.1	1	98.9	8	99.6	8
20S006	89.1	8	0.4	1	0.5	1	0.5	1	96.0	8	98.5	8
20S009	88.4	8	0.3	1	0.8	1	0.6	1	96.8	8	98.0	8
20S010	80.1	8	1.0	1	1.2	1	0.9	1	97.1	8	97.2	8
20S013	96.1	8	2.3	1	20.4	4	1.9	1	98.9	8	99.4	8
20S014	77.4	8	0.3	1	4.3	1	1.0	1	94.1	8	81.4	8
20S015	91.4	8	1.6	1	3.9	1	1.9	1	99.1	8	99.0	8
20S016	82.5	8	2.6	1	2.7	1	1.1	1	96.4	8	97.4	8
20S018	95.7	8	1.2	1	0.4	4	1.4	1	99.5	8	99.6	8
20S019	93.9	8	0.6	1	0.9	1	0.7	1	99.0	8	99.7	8
20S020	94.7	8	0.8	4	3.0	1	0.9	1	99.8	8	100.0	8
20S021	91.7	8	4.1	1	30.3	8	2.1	1	88.9	8	99.4	8
20S022	87.0	8	1.3	1	2.2	1	1.6	1	99.2	8	98.8	8
20S024	86.4	8	0.2	1	2.7	1	0.3	1	98.2	8	99.7	8
20S025	91.0	8	0.5	1	3.8	1	1.1	1	98.9	8	99.0	8
20S027	95.9	8	2.9	1	64.1	1	3.4	1	99.6	8	99.6	8
20S031	91.0	8	0.6	1	2.7	1	0.9	1	98.7	8	99.4	8
20S032	97.2	8	3.1	1	2.8	1	1.3	1	99.0	8	98.3	8
20S034	96.8	8	0.2	1	0.7	1	0.4	1	77.4	8	98.6	8
20S035	90.9	8	1.0	1	3.0	1	1.8	1	96.4	8	98.2	8

赤字で表示したのがirregular data

測定結果SC C (IgG)

コード	SH2001		SH2002		SH2003		SH2004		SH2005		SH2006	
	%	Score	%	Score	%	Score	%	Score	%	Score	%	Score
20S001	54.2	8	0.6	1	0.6	1	9.3	4	0.4	1	59.2	8
20S004	56.3	6	0.0	1	0.1	1	0.1	1	0.1	1	66.6	6
20S005	65.4	6	0.6	1	1.5	1	11.3	2	0.8	1	63.1	6
20S006	67.0	8	0.3	1	0.2	1	9.3	8	0.1	1	59.9	8
20S009	44.2	4	0.9	1	1.2	1	5.6	1	1.1	1	63.5	6
20S010	67.5	6	1.2	1	0.7	1	10.5	2	0.4	1	55.3	6
20S013	51.8	6	0.3	1	0.6	1	11.3	2	0.5	1	56.5	6
20S014	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20S015	58.3	8	1.0	1	1.4	1	11.7	8	10.6	1	55.9	8
20S016	44.3	8	0.8	1	0.8	1	6.4	8	0.8	1	55.4	8
20S018	67.0	8	0.5	1	0.6	1	13.8	8	0.9	1	67.6	8
20S019	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20S020	68.6	8	1.3	1	2.1	1	14.1	4	1.3	1	67.0	8
20S021	54.8	8	1.5	1	1.8	1	8.8	4	1.5	1	66.7	8
20S022	62.1	6	0.2	1	0.5	1	10.9	2	0.7	1	60.7	6
20S024	58.5	8	0.2	1	0.4	1	8.5	8	0.4	1	57.8	8
20S025	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20S027	69.6	8	2.1	1	3.1	1	16.5	8	2.2	1	67.0	8
20S031	29.0	8	0.4	1	0.4	1	5.9	8	0.4	1	58.4	8
20S032	76.3	6	0.5	1	0.6	1	15.1	2	0.4	1	65.3	6
20S034	64.9	8	0.3	1	0.1	1	11.8	8	0.1	1	66.8	8
20S035	37.9	4	0.3	1	0.4	1	3.8	4	0.3	1	57.6	6

赤字で表示したのがirregular data

測定結果SC C & (IgM)

Class

コード	SH2001		SH2002		SH2003		SH2004		SH2005		SH2006	
	%	Score	%	Score	%	Score	%	Score	%	Score	%	Score
20S009	30.5	4	15.4	2	0.7	1	0.9	1	5.1	1	3.6	1
20S015	53.2	8	19.9	8	0.6	1	5.1	1	7.3	1	13.7	8
20S018	43.2	8	18.2	8	1.0	1	2.2	1	1.9	4	0.9	1
20S019	52.2	8	28.9	8	2.5	1	2.5	1	4.5	4	7.0	8
20S020	44.4	8	17.5	8	1.2	1	2.7	1	1.6	1	2.9	4
20S025	25.5	8	9.8	8	0.3	1	1.8	1	1.4	1	0.4	8
20S027	61.2	8	25.6	1	1.7	1	9.1	1	14.9	1	6.1	1

Class

コード	SH2001		SH2002		SH2003		SH2004		SH2005		SH2006	
	%	Score	%	Score	%	Score	%	Score	%	Score	%	Score
20S009	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20S015	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20S018	8.9	8	1.4	1	0.7	1	10.8	4	3.6	4	1.0	1
20S019	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20S020	13.5	8	1.7	1	8.2	1	14.3	1	41.6	1	0.8	1
20S025	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20S027	14.8	8	6.4	1	45.8	1	14.5	1	94.5	1	2.7	1

赤字で表示したのがirregular data

測定結果SA C SH2005 (IgG)

	S005	S006	S010	S021	S022	S024	S025	S031
A1	6	8	4	8	4	1	8	2
A2	1	8	1	4	1	1	1	1
A3	6	8	1	8	4	1	1	1
B49	4	8	8	8	8	8	8	8
A25	6	8	8	8	8	8	8	8
A29	2	8	4	8	4	1	4	2
A30	6	8	4	8	4	1	4	1
A26	4	8	8	8	8	1	8	2
A68	1	8	1	1	1	1	1	1
A11	8	8	8	8	8	8	8	8
A34	6	8	8	8	4	8	1	6
A24	1	1	1	1	4	1	1	1
A32	1	8	4	8	4	1	1	4
A33	1	4	1	1	1	1	1	1
A31	8	8	8	8	8	8	8	6
A23	1	1	1	1	1	1	1	1
B51	6	8	8	8	8	8	8	8
B13	6	8	4	8	4	1	4	8
B18	4	8	8	8	8	1	8	8
B35	8	8	8	8	8	8	8	8
B62	8	8	8	8	8	8	8	8
B45	6	8	8	8	8	8	8	8
B60	1	8	4	8	8	1	8	8
B44	4	8	4	8	8	8	8	8
B38	2	8	4	8	4	8	8	8
B57	6	8	8	8	8	8	8	8
B7	1	8	4	8	4	8	8	8
B52	6	8	8	8	8	8	8	8
B27	1	8	1	8	4	1	4	8
B8	1	8	1	8	4	1	4	8
B65	1	8	4	8	4	1	4	8
B55	2	8	8	8	8	8	8	8

	S006	S021	S022	S024	S025
B37	—	8	4	8	8
B39	—	8	4	1	4
B41	—	8	4	1	8
B42	—	8	4	1	8
B46	—	8	4	1	4
B47	—	8	4	1	4
B48	—	8	4	1	4
B50	—	8	8	8	8
B53	8	8	8	8	8
B54	1	1	4	1	1
B56	8	8	8	8	8
B58	8	8	8	8	8
B59	8	8	8	8	8
B61	8	8	4	1	8
B63	8	8	8	8	8
B64	8	8	8	1	4
B67	—	4	1	1	4
B81	—	8	4	1	1
B72	—	8	8	8	8
B73	—	8	4	1	1
B75	—	8	8	8	8
B76	—	8	8	8	8
B77	—	8	8	8	8
B78	—	8	8	8	8
A36	—	—	1	1	—
A66	—	—	8	8	—
A43	—	—	4	8	—
A74	—	—	4	1	—
A80	—	—	4	1	—
B71	—	—	8	8	—
B82	—	—	1	1	—
A69	—	—	4	1	—

	S021	S024	S025
C1	1	1	1
C2	8	8	8
C10	8	8	8
C9	8	8	8
C4	8	8	8
C5	8	8	8
C6	8	8	8
C7	1	1	1
C8	4	1	1
C12	2	1	1
C14	1	8	1
C15	8	8	8
C16	1	1	1
C17	8	8	8
C18	8	8	8
C10	8	8	4

赤字で表示したのが
各施設によって陽性
と判定された抗体

測定結果SA C SH2006 (IgG)

	S005	S006	S010	S021	S022	S024	S025	S031
A1	8	8	8	8	8	8	8	8
A2	8	8	8	8	8	8	8	8
A3	8	8	8	8	8	8	8	8
B49	2	8	8	8	8	1	4	8
A25	8	8	8	8	8	8	8	8
A29	8	8	8	8	8	8	8	8
A30	8	8	8	8	8	8	8	8
A26	8	8	1	8	8	8	8	8
A68	8	8	8	8	8	8	8	8
A11	8	8	8	8	8	8	8	8
A34	8	8	8	8	8	8	8	8
A24	1	1	1	1	1	1	1	1
A32	6	8	8	8	8	8	8	8
A33	8	8	8	8	8	8	8	8
A31	8	8	8	8	8	8	8	8
A23	1	1	1	1	1	1	1	1
B51	1	8	4	8	4	1	4	4
B13	1	1	1	1	1	1	1	1
B18	1	8	8	8	4	1	1	8
B35	6	8	8	8	8	8	8	8
B62	6	8	8	8	8	8	8	8
B45	1	8	4	8	4	1	1	8
B60	1	1	1	1	1	1	1	1
B44	1	8	1	4	4	1	1	1
B38	1	4	1	8	1	1	1	1
B57	4	8	8	8	4	1	4	8
B7	1	1	1	8	1	1	1	1
B52	6	8	8	1	8	8	8	8
B27	1	1	1	8	1	1	1	1
B8	1	4	1	8	1	1	1	1
B65	1	8	8	8	1	1	4	1
B55	1	8	8	1	8	1	1	8

	S006	S021	S022	S024	S025
B37	—	8	4	8	8
B39	—	2	1	1	1
B41	—	1	1	1	1
B42	—	8	8	1	4
B46	—	1	1	1	1
B47	—	1	1	1	1
B48	—	1	1	1	1
B50	—	8	8	8	4
B53	8	8	4	8	8
B54	1	4	4	1	1
B56	8	8	8	8	8
B58	8	8	4	1	4
B59	1	8	4	1	1
B61	1	1	1	1	1
B63	8	8	8	8	8
B64	1	6	4	1	1
B67	—	4	1	1	1
B81	—	8	4	1	1
B72	—	8	8	8	8
B73	—	8	4	1	1
B75	—	8	8	8	8
B76	—	8	8	8	4
B77	—	8	4	1	1
B78	—	8	8	8	4
A36	—	—	4	8	—
A66	—	—	8	8	—
A43	—	—	8	8	—
A74	—	—	8	8	—
A80	—	—	8	8	—
B71	—	—	8	8	—
B82	—	—	1	1	—
A69	—	—	8	8	—

	S021	S024	S025
C1	4	1	1
C2	4	1	1
C10	1	1	1
C9	1	1	1
C4	1	1	1
C5	1	1	1
C6	8	1	1
C7	8	1	1
C8	4	1	1
C12	1	1	1
C14	1	1	1
C15	1	1	1
C16	1	1	1
C17	8	1	1
C18	8	1	1
C10	1	1	1

赤字で表示したのが
各施設によって陽性
と判定された抗体

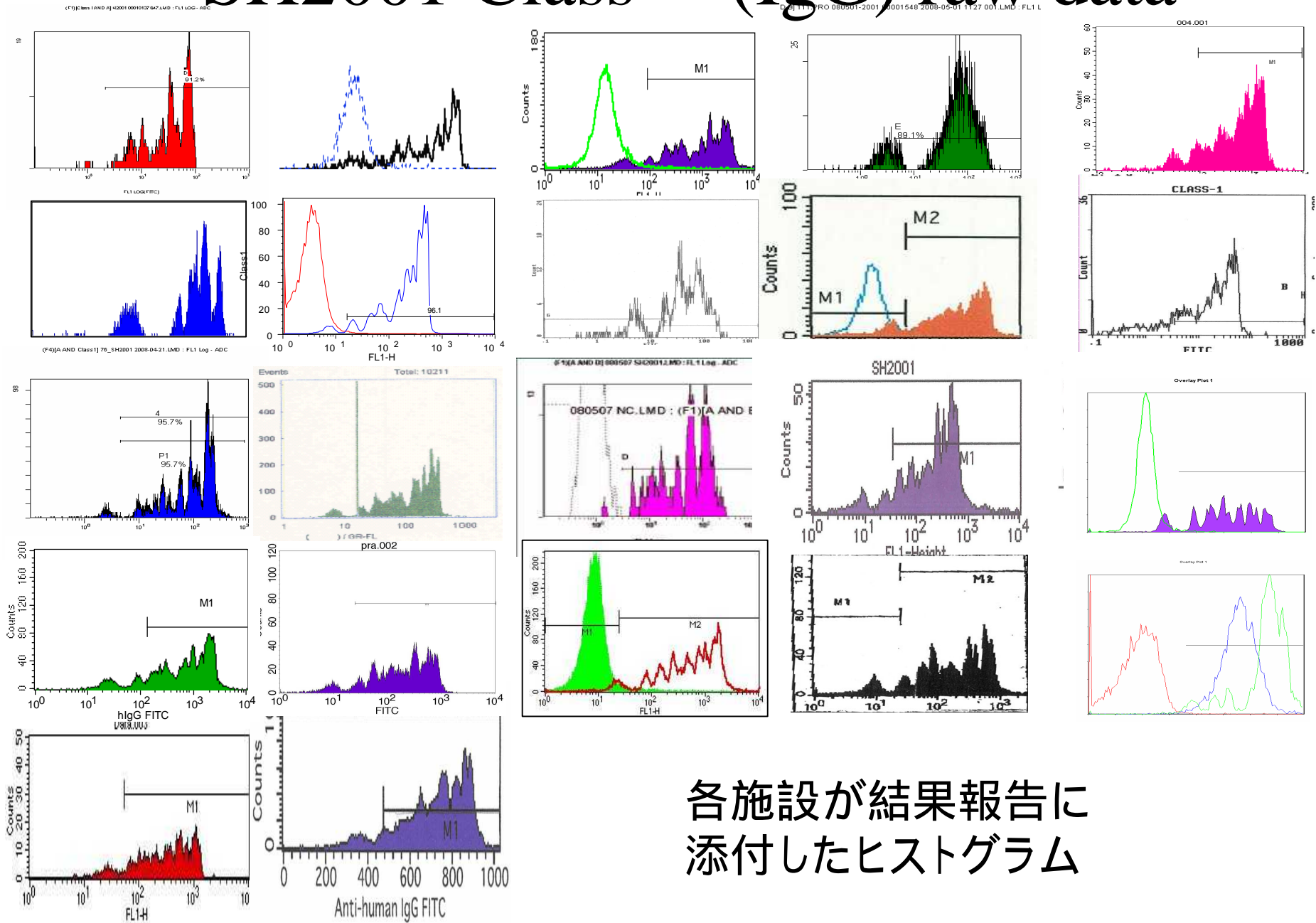
測定結果SA C SH2006 (IgG)

	S005	S006	S010	S015	S021	S022	S024	S031
DRB1*0101	2	8	1	1	8	1	1	1
DRB1*0103	1	1	1	1	1	1	1	1
DRB1*0401	1	1	1	1	1	1	1	2
DRB1*0701	6	8	8	1	8	8	1	8
DRB1*0801	8	8	8	8	8	8	8	8
DRB1*0405	1	1	1	1	1	1	1	1
DRB1*1001	1	1	1	1	1	1	1	1
DRB1*1101	8	8	8	8	8	8	8	8
DRB1*1201	8	8	8	8	8	8	1	8
DRB1*1301	8	8	8	8	8	8	1	8
DRB1*1303	8	8	8	8	8	8	8	8
DRB1*1401	8	8	8	8	8	8	8	8
DRB1*1501	1	8	8	1	8	1	1	8
DRB1*1601	1	1	8	1	8	8	1	8
DRB1*0301	8	8	8	8	8	8	8	8
DRB1*0302	8	8	8	2	8	8	1	8

	S005	S006	S010	S015	S021	S022	S024	S031
DRB5*0101	1	1	4	1	8	1	1	1
DRB3*0202	8	8	8	8	8	8	8	8
DRB4*0103	1	1	1	1	1	1	1	1
DRB1*0102	1	1	1	1	1	1	1	1
DRB1*0404	1	1	1	1	1	1	1	1
DRB1*0901	1	4	1	1	1	1	1	1
DRB1*1202	8	8	8	8	8	8	8	8
DRB1*1502	2	8	8	1	8	1	1	8
DQB1*0201	1	1	1	1	6	1	1	1
DQB1*0402	1	1	4	1	8	1	1	1
DQB1*0501	1	1	1	1	1	1	1	1
DQB1*0602	1	1	1	1	1	1	1	1
DQB1*0301	8	8	8	2	8	8	8	8
DQB1*0302	1	1	1	1	6	1	1	1
DQB1*0303	1	1	1	1	1	1	1	1
DP MIX	1	1	1	1	1	1	1	1

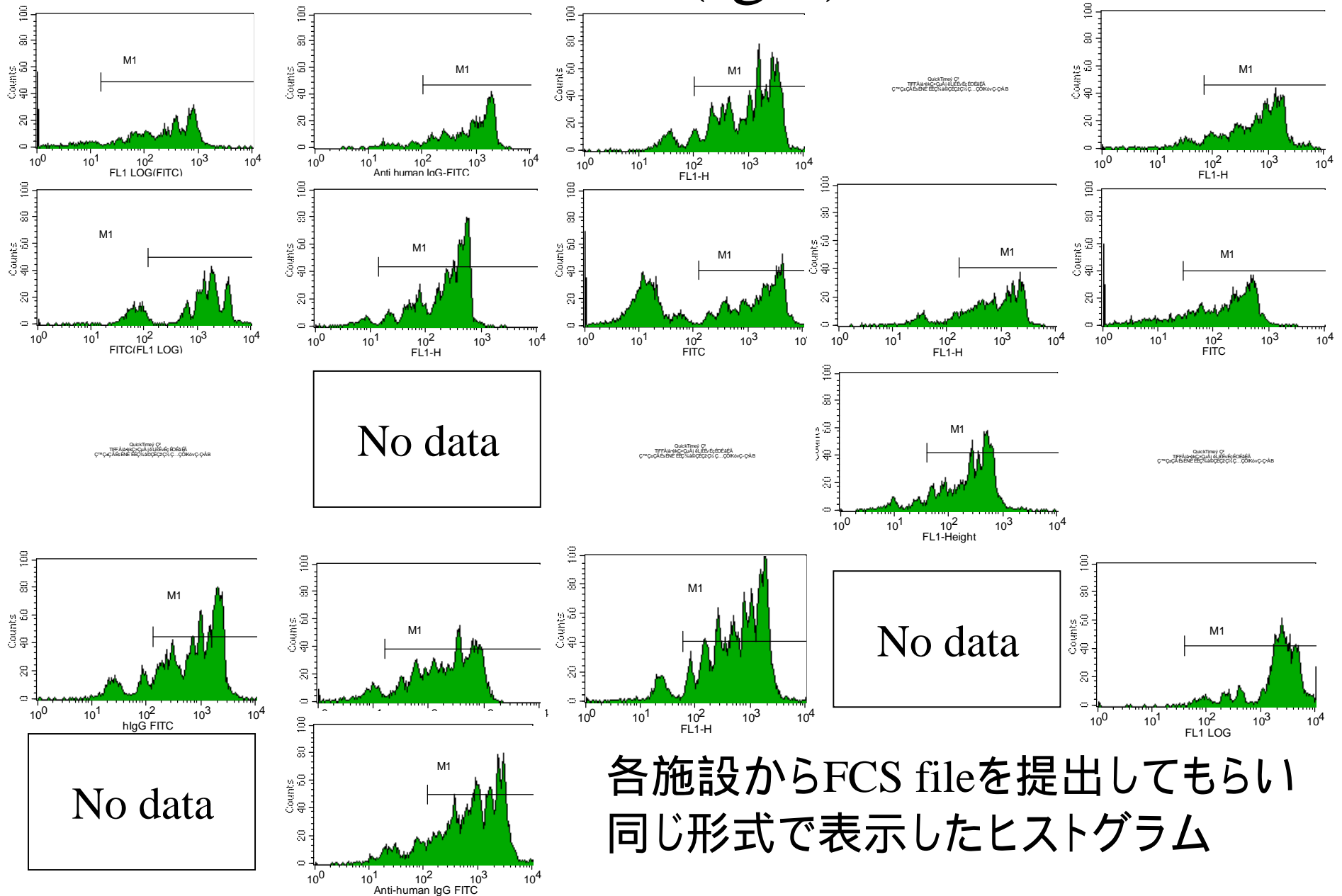
赤字で表示したのが
各施設によって陽性
と判定された抗体

SH2001 Class (IgG) raw data



各施設が結果報告に
添付したヒストグラム

SH2001 Class (IgG) unified data



各施設からFCS fileを提出してもらい
同じ形式で表示したヒストグラム

FCS Fileを解析することの重要性

FCS Fileから得られた各施設毎の取込Events数の比較

コード	Total Events	Class	Class	コード	Total Events	Class	Class
		Gated Events	Gated Events			Gated Events	Gated Events
20S001	12,942	3,602	4,794	20S019	—	—	—
20S004	11,312	4,032	3,652	20S020	10,398	4,046	6,097
20S005	50,299	11,869	18,685	20S021	20,000	6,749	8,125
20S006	11,340	3,975	5,067	20S022	39,311	10,601	19,112
20S009	—	6,207	6,460	20S024	48,739	12,200	20,568
20S010	25,784	5,010	10,028	20S025	39,375	9,938	—
20S013	30,000	8,643	9,775	20S027	63,570	16,460	19,381
20S014	12,195	9,948	—	20S031	—	—	—
20S015	—	4,954	5,034	20S032	17,006	6,899	6,509
20S016	26,832	5,161	12,235	20S034	—	—	—
20S018	20,000	8,663	10,470	20S035	40,000	14,326	24,049

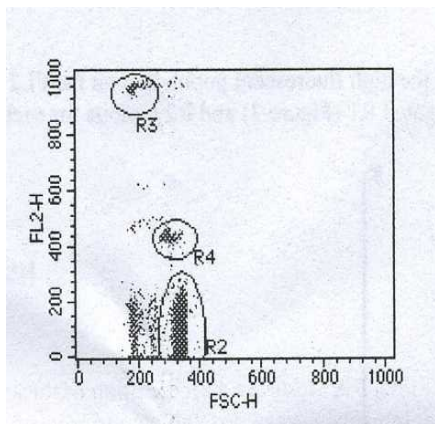
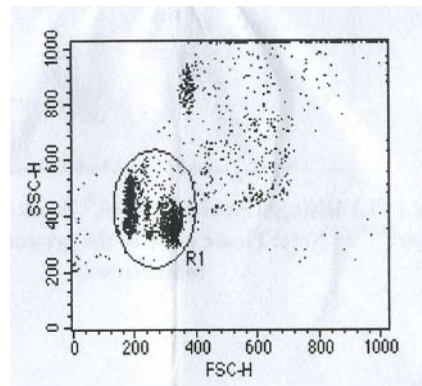
注) SC (IgG)SH2001のデータから。20S009、20S015はClass、Class を別々に取り込んでいる。

各施設毎の検体別取込Events数の比較 (一部)

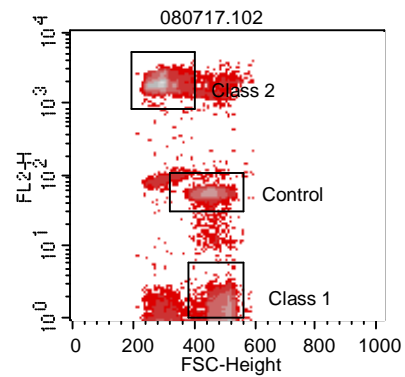
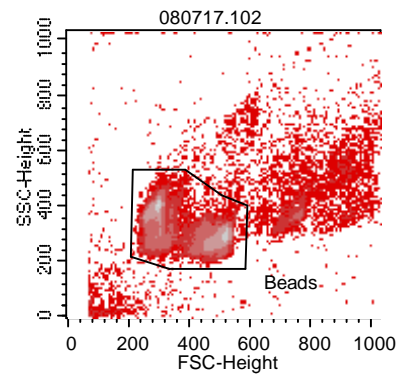
	SH2001	SH2002	SH2003	SH2004	SH2005	SH2006
20S020	10,398	10,217	10,242	10,258	10,284	10,398
20S027	63,570	61,425	62,955	60,690	62,010	45,150
20S032	17,006	12,874	60,094	71,340	61,561	26,417

測定機器によるPlotの差異

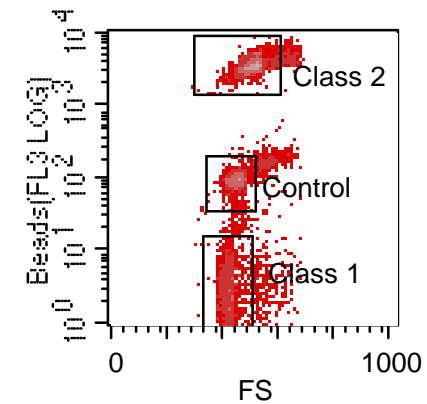
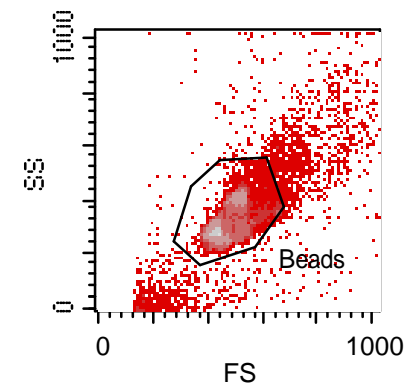
One Lambda
の添付文書



BDによる
解析図

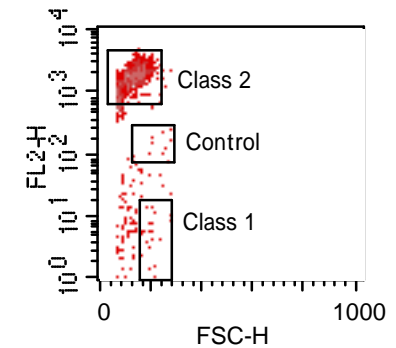
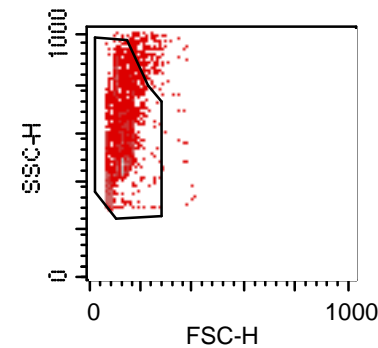
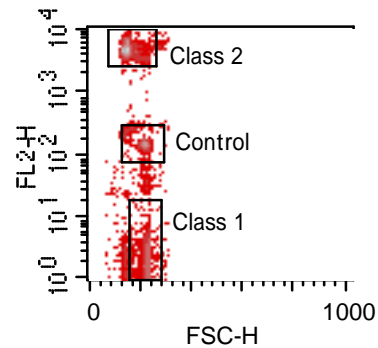
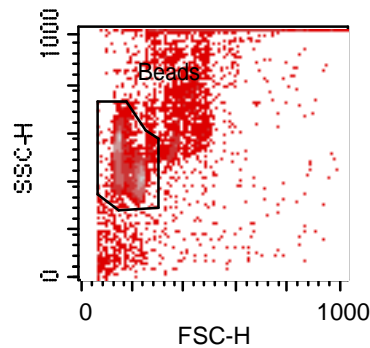
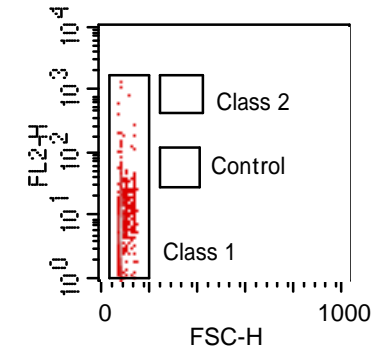
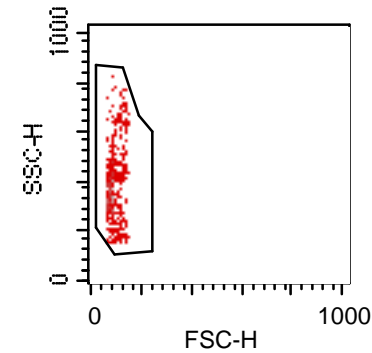
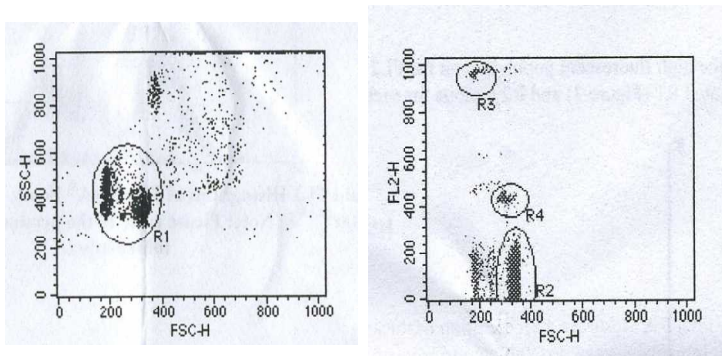


BCによる
解析図



機器設定の重要性(1)

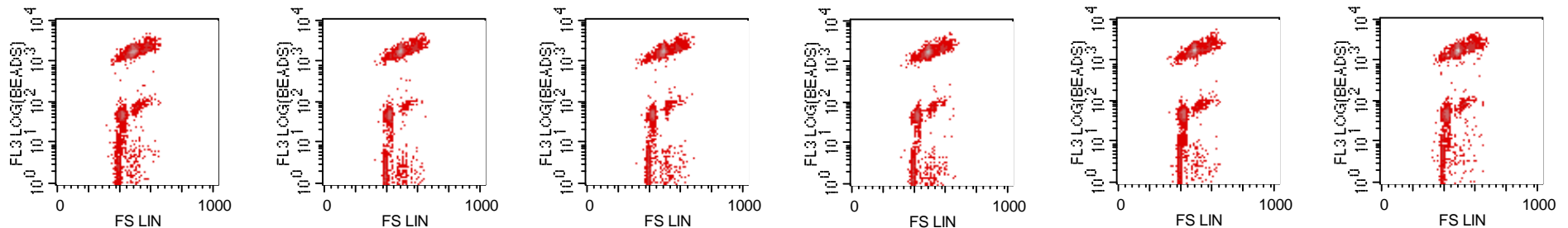
添付文書と同じPlotを描けるか？



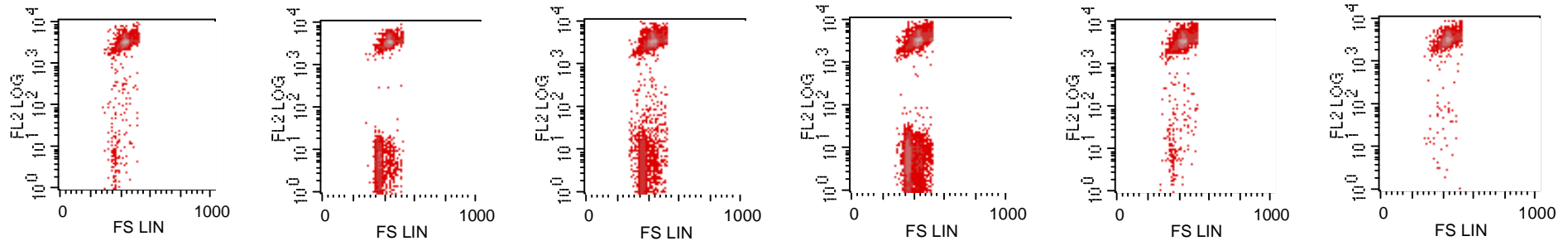
機器設定の重要性(2)

添付文書にはない機器設定の問題 (SH2001-2006)

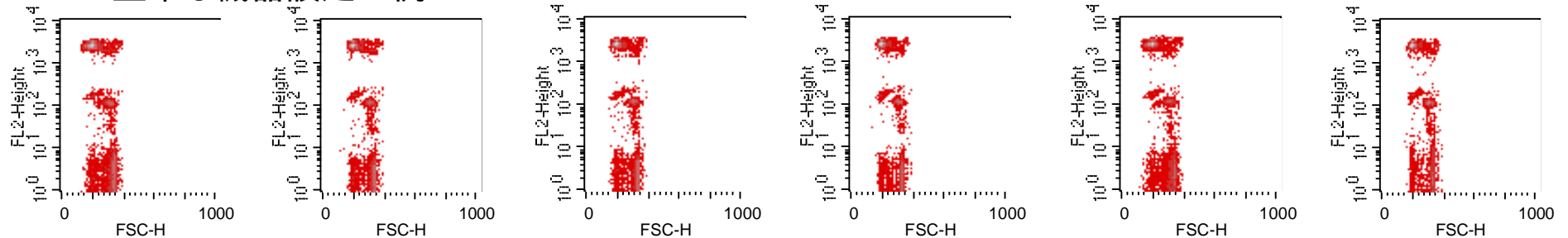
FITC蛍光がPE蛍光に漏れ込み、HLA class 抗体陽性の場合class beadsが浮き上がる例



上記と逆に、HLA class 抗体陽性の場合class beadsが沈み込み消失する例



正常な機器設定の例



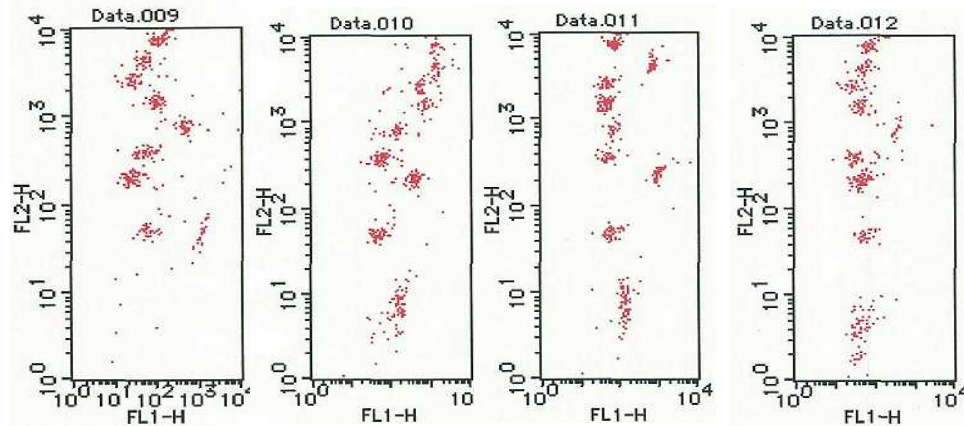
機器設定の重要性(3)

Single Antigen (1)

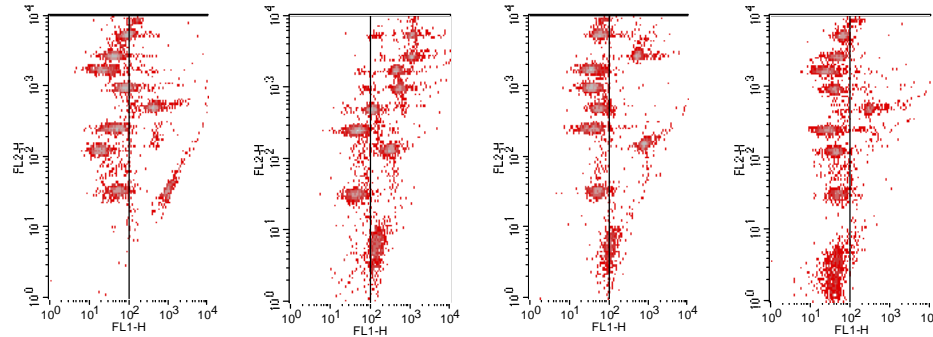
SH2006 Class

Group 1- 4

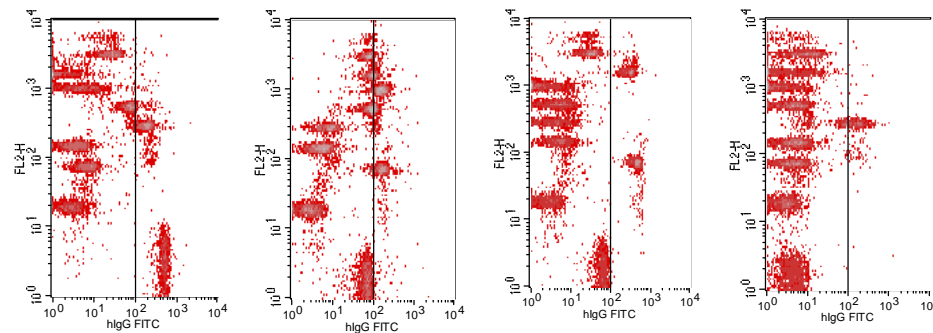
送付されたPlot



送付されたFCS File
を当院で解析したPlot



当院のPlot



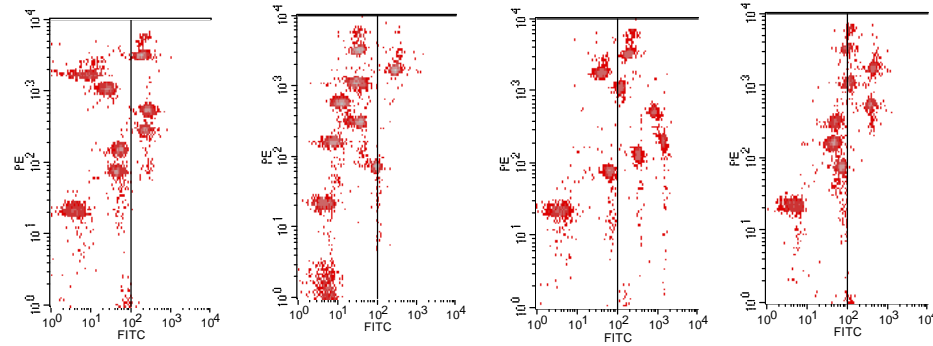
機器設定の重要性(3)

Single Antigen (2)

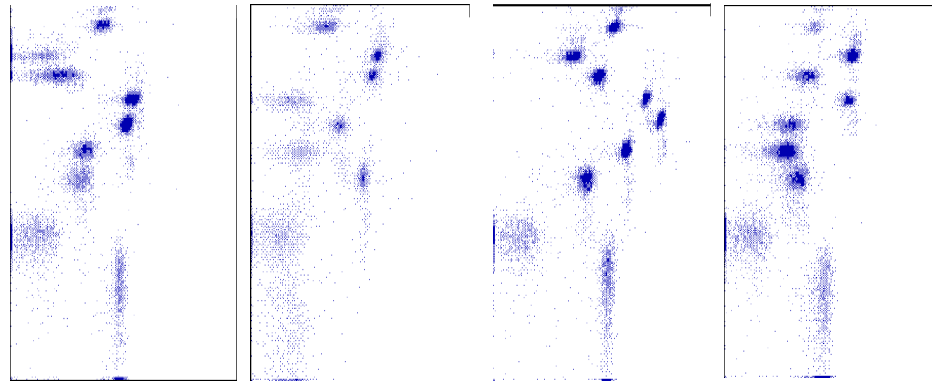
SH2005 Class

Group 1- 4

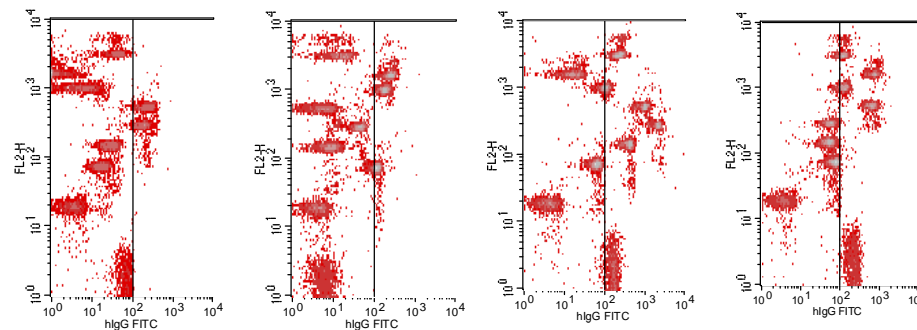
送付されたPlot(1)



送付されたPlot(2)



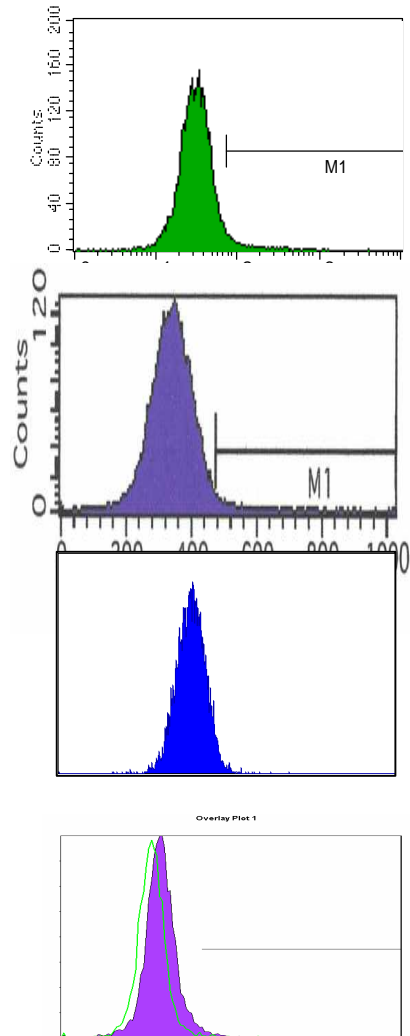
当院のPlot



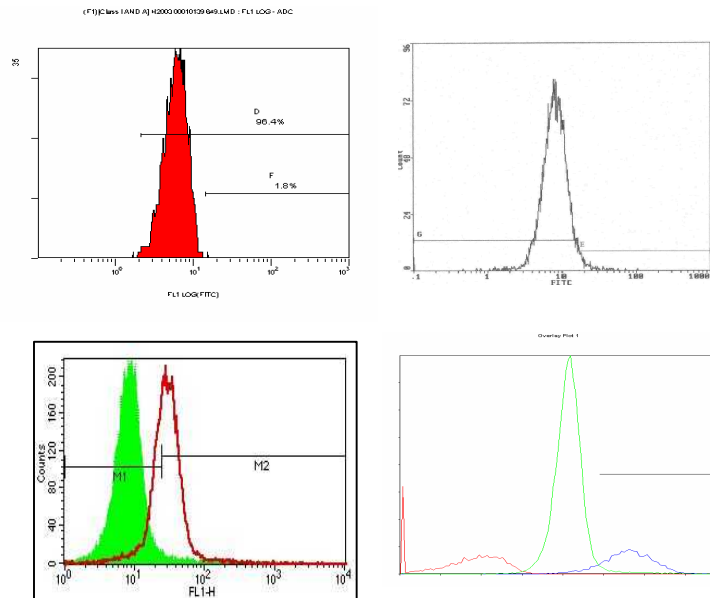
Case Study (1)

SH2003 Class (IgG) Negative

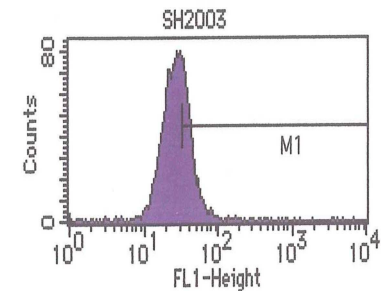
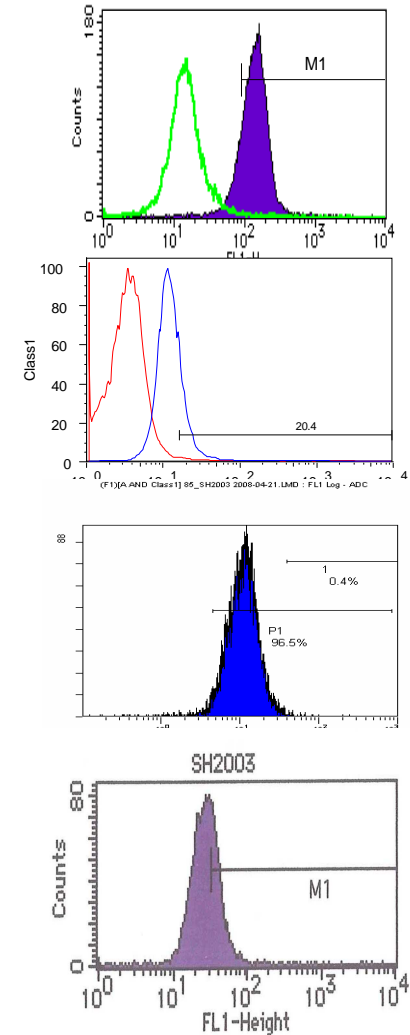
正しいHistogram



Histogramは右にシフトしているが陰性と判定した施設



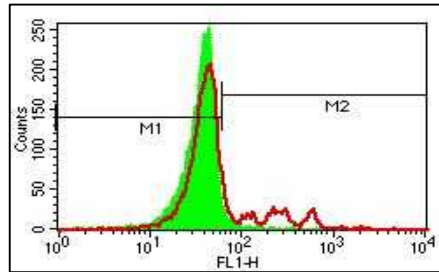
陽性と判定した施設



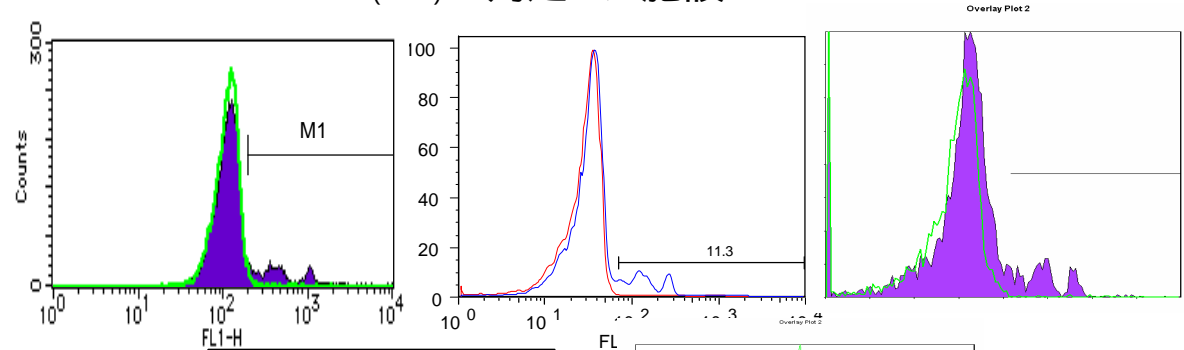
Case Study (2)

SH2004 Class (IgG) Weak Positive

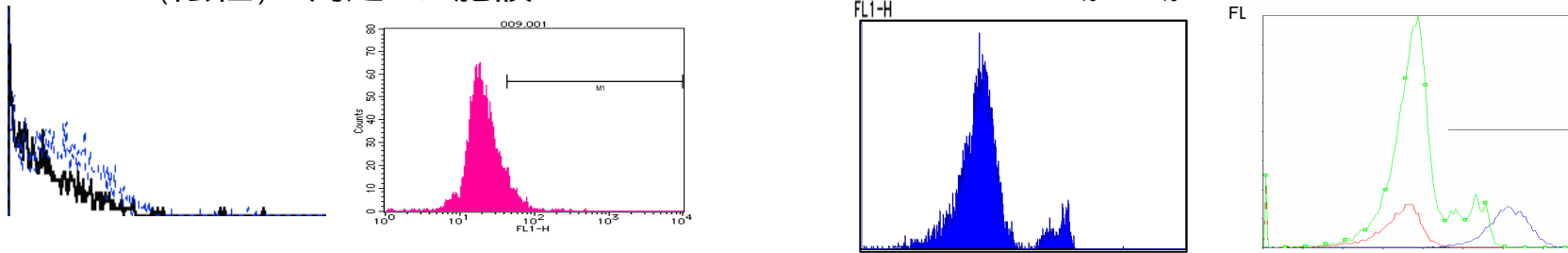
正しいHistogram



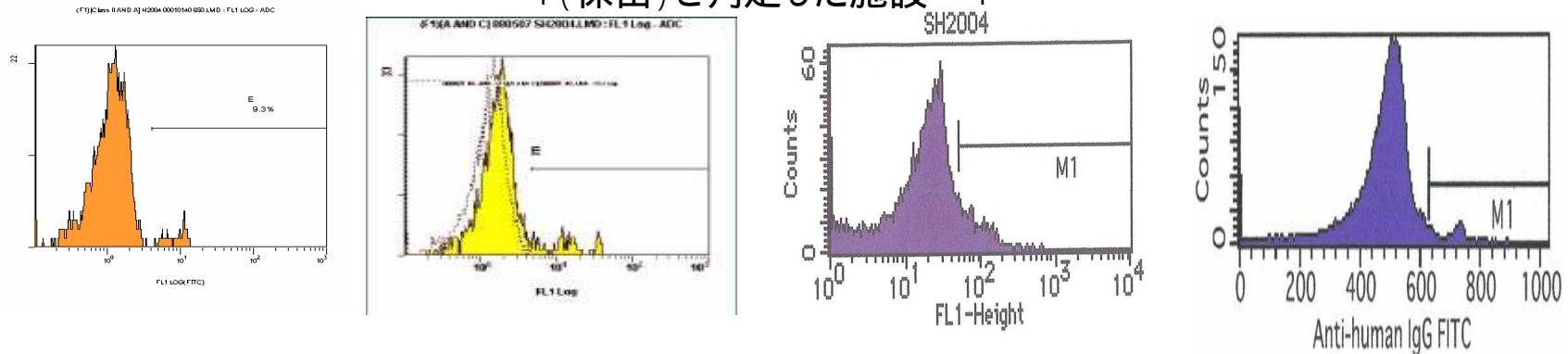
2 (?) と判定した施設 - 5



1 (陰性) と判定した施設 - 2



4 (保留) と判定した施設 - 4



ま と め

1. FlowPRA法によるHLA抗体の測定には、何らかのガイドラインが必要である。
2. LABScreenのCSVファイルと同様に、FCSファイルの添付を義務づける必要がある。
3. Screening、Singleとも最低限ネガティブコントロールの添付も必要である。
4. 機器設定の良否が、非特異反応や低力価の抗体の同定にも影響する可能性がある。