

特集「抗ドナー抗体」

臨床検査における抗ドナー抗体について

田中秀則

公益財団法人 HLA 研究所

Donor specific HLA antibodies for organ transplantation*HLA Foundation Laboratory*

Hidenori TANAKA

【Summary】

Donor-specific Antibodies (DSAs) are risk factors for rejection and graft loss in solid organ transplantation, especially associated with all HLA (Human Leukocyte Antigen) loci and class II in case of pre- and post-transplantation, respectively. It is recognized that the reactivity of HLA antigens varies according to the difference in HLA allele in the same HLA serotype. Therefore, epitope analysis becomes the useful method for evaluation of the HLA antibody specificity. Thus, HLA allele matching is more useful than HLA serotype matching, because it is possible that the same epitope in different HLA allele of patients and donors possessing the same HLA serotype is not shared. According to analysis of the association with epitope mismatch and rejection or graft loss reported by Wiebe et al, more numbers of HLA epitope mismatch causes worse outcome. The reason is attributed to the higher opportunity of de novo DSA production.

When the focus is on HLA antibodies detection, LCT (Lymphocyte Cytotoxicity Test), FCM (Flowcytometry), and Luminex method are widely used. The characteristics of these three methods are different. The LCT and FCM methods are based on the reaction of panel lymphocyte mixed with patient's serum but they are considered unsuitable for the identification of HLA antibodies specificities as this requires various kinds of panel lymphocytes. The Luminex method is based on solid phase assay, which uses the polystyrene bead coated with purified HLA antigen prepared by two different methods. One of them is the PRA (panel reactive antibody) method that utilizes HLA antigen extracted from a lymphocyte, and the other one is the SAB (single antigen bead) method, which utilizes HLA antigen prepared through gene-recombination technology. Interpretation of HLA antibodies specificity is difficult because of dissimilarity of beads made in two methods.

Two ways are considered for crossmatch test. One way is called the "direct crossmatch", in which test is made to determine whether donor lymphocytes in added patient serum are living or dying, similar to the LCT or FCM method. Another way is called the "virtual crossmatch", in which test is made to determine whether HLA type of donor and HLA antibodies specificity of the patient are same or different. The "virtual crossmatch" is more useful when not using donor lymphocytes and high sensitivity, but this is not so close to reaction in the body. The most ideal strategy is to conduct the "virtual crossmatch" test first because of high sensitivity, followed by the secondary "direct crossmatch" test if the result in the first test is positive, for more closer reaction of the body. Recently, ICFA method has been shown to be a more sensitive "direct crossmatch" test. We must choose the best way for crossmatch according to the situation.

Keywords: epitope, HLA antigen, LCT, FCM, Luminex

■ はじめに

臓器移植においては、患者側の免疫制御が移植片の長期持続にかかわっており、細胞性免疫は免疫抑制剤により抑えられるが、液性免疫である抗体反応は薬剤での抑制は難しく、移植前のドナー特異的な抗体の有無を確認したうえで、ドナー選択をすることが望ましい。

特に、human leukocyte antigen (HLA) は主要組織適合性抗原として重要視されており、その遺伝子多型は2016年10月現在でclass Iが11,553種類、class IIでは4,082種類と非常に多い¹⁾。多型性に富んでいることは、患者とドナー間でHLA型が異なる可能性が高いことを意味し、抗HLA抗体産生の機会は多い。また、抗HLA抗体による抗体関連拒絶(antibody mediated rejection: AMR)は、少なくとも肝移植と腎臓移植において多くの報告があり、特にドナー特異的な抗体(donor specific antibodies: DSA)が生着に不利に働いていることは間違いないと考えられている。

■ 臓器移植と抗HLA抗体

腎臓移植における拒絶との相関では、移植前に患者が有している抗HLA抗体(preformed antibodies)と、移植後に新たに産生される抗HLA抗体(*de novo* antibodies)の2種類がある。

移植前の抗体については、1969年にPatelおよびTerasakiがDSAと早期のグラフトロスの相関が高いことを提唱して以来²⁾、多くのデータが蓄積されており、HLA-A, B, DR, DQ座に対するDSAが存在すると生着に不利であることがわかってきている。特に、最近ではHLA-C座やDP座に対するDSAも相関している報告もあることから、抗HLA抗体が座位により局所的に影響しているわけではないことを示唆している³⁾。さらには、class I (A, B, C座)に対するDSAのみ、もしくはclass II (DR, DQ座)に対するDSAのみよりも、両方のclassに対するDSAを有する場合のほうが、はるかに早期のグラフトロスと不利との報告もある⁴⁾。

一方で、移植後に産生される*de novo*抗体については多くの議論はあるものの、class II抗体と特異的な相関がみられている。特に注目されているのはHLA-DQ抗体でのDSAであり、拒絶やグラフトロスとの相関は明確ではないものの、DSAの出現率は他の

HLA座位と比較し圧倒的に高い。この現象の考察として、通常DQ座抗原は、腎の微小血管内皮での発現が弱い(少ない)ため、抗原量に対する抗体量が過剰になることから検出される可能性が高くなることが示唆されている⁵⁾。HLA-DR座に対するDSAに関しては、拒絶やグラフトロスとの相関が有意とすることが、コンセンサスとして得られているように感じる。

これまでに述べた抗HLA抗体に関する臓器移植との関連は腎移植のデータに基づくが、最近では肝臓^{6,7)}、心臓⁸⁾、肺移植⁹⁾においても移植前DSAのみならず、*de novo* DSAもグラフトの維持に影響するデータも散見されており、抗HLA抗体の重要性は高まっている。

以上のことから、臓器移植前においてはドナー選択の際にDSAを回避することが、移植後は移植片の拒絶の予兆となる反応を早期に検出することが重要である。また、*de novo*抗体は他の要因に比べて早めに発生する事象であり、移植後は定期的な抗体検査を実施することが理想である。なお、拒絶やグラフトロスの予兆には他のバイオマーカーも利用可能であるが、抗HLA抗体が最も早い時期に検出されることが知られている¹⁰⁾(図1)。

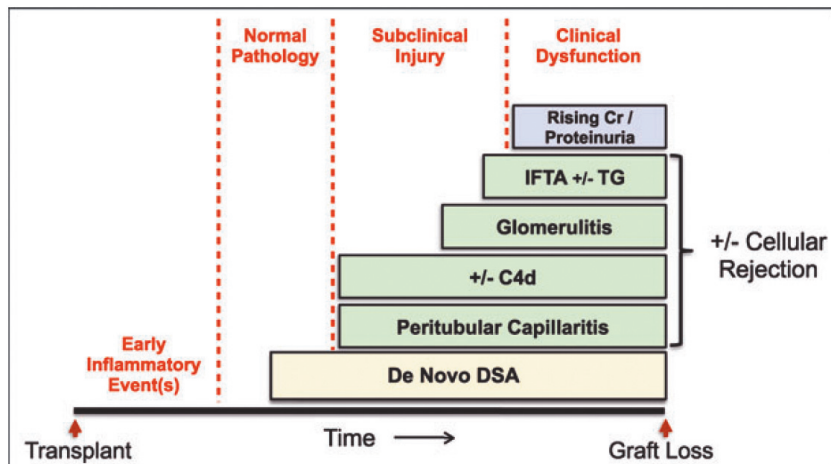
■ 抗HLA抗体の特徴

HLAに対する抗体の発見当初は、HLA抗原の型を決定するための材料として研究された。HLA抗原は、1952年にフランスのDaussetが輸血既往歴のある患者血清中に白血球凝集試験で反応する抗白血球抗体を見出したことに端を発し、1958年にvan Roodら、1964年にPayneらは、経産婦や妊婦から同様の抗体を見出した。抗HLA抗体との反応性により、HLA抗原を型(HLA抗原型)として1対1に対応することで命名されたが、研究が進むにつれて複数のHLA抗原型に反応する抗体の存在が判明し、HLA抗原型には抗体認識部分(エピトープ)が複数存在し、異なるHLA抗原間で共有していること(共通エピトープの存在)が判明した。

■ エピトープ

異なるHLA抗原型に同一の抗HLA抗体が反応するために、抗体特異性の判定は慎重に行うことが必要である。例えば、62番目のアミノ酸を認識する抗HLA

図1 臓器移植後のグラフトロスに至るまでのイベントモデル



移植からグラフトロスに至るまでのイベントをモデル化すると、*de novo* DSA が血管内皮や糸球体の炎症に先立って検出される。そのため、グラフトロスを予測するためには、HLA 抗体の定期的な検査が有用である。

(文献 10 より引用)

-A2 抗体は、抗 HLA-B57 および B58 抗体としての特異性を有することになり、このように異なる抗原に反応を示す抗原群を交差反応グループ (cross reacting groups: CREGs) と呼称し、各グループには共通エピトープが存在している。エピトープを解析するソフトウェアとしては、HLA matchmaker が汎用されている。

HLA に対する抗体の Fab 部分が HLA 抗原の立体構造の一部分を認識するため、HLA 抗原表面上のアミノ酸のうちで 3 Å (オームストロング) 程度の範囲内のアミノ酸がエピトープとなる。通常は、横並びの 3 アミノ酸がエピトープとなり、2~3 個のアミノ酸集団を triplet と定義している^{11,12)}。また、アミノ酸位置が離れていてもエピトープとなりうることもあり、この場合は eplet と呼称される。

1. HLA epitope registry

エピトープに関するデータベースは、Web サイト「HLA epitope registry」(URL: <http://epregistry.ufpi.br/>) で閲覧可能であり、2013 年に行われた第 16 回国際組織適合性ワークショップ (16th IHIW) で集約する動きが活発化した¹³⁾。当時のエピトープ登録数は、class I で 69 個、DRB1/3/4/5 で 53 個、DQ が 17 個、DP が 8 個であったが、2016 年 10 月現在では、class I で 132

個、class II は DRB が 112 個、DQA1 が 43 個、DQB1 が 74 個、DPA1 は 19 個、DPB1 は 35 個と大きく増加している。

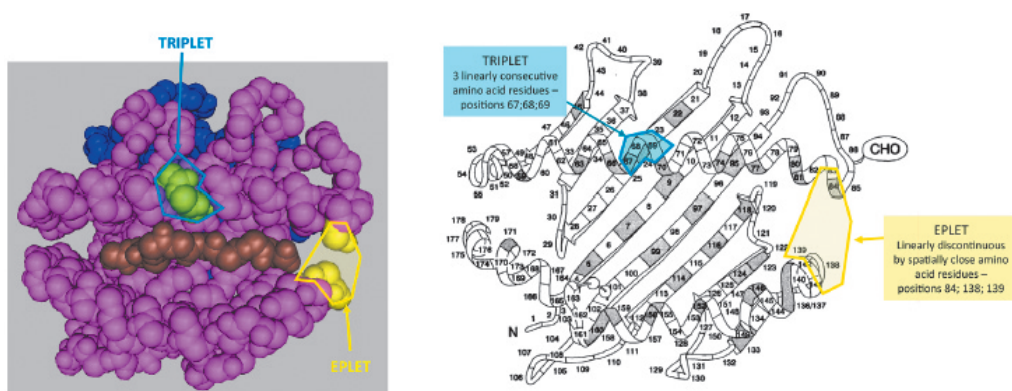
表記に関しては、「HLA 分子におけるアミノ酸の番号」と「アミノ酸の種類」を結合した形で表記され、例えば「62GE」の場合は、62 番目のアミノ酸がグリシン (G)、63 番目がグルタミン酸 (E) であることを意味する。アミノ酸が連続しないエピトープの表記は、「44RT+69TNT」のように、「+」でつなげて表記される。

2. HLA 対立遺伝子 (アليل) の違いとエピトープ

それぞれの HLA 抗原型でエピトープは異なっているが、アليلの違いにより異なるのかは多くの議論がなされてこなかった。つまり、抗 HLA 抗体が同じ HLA 抗原型の異なるアليلのアミノ酸の違いを認識できるかどうかは、問題点として残されたまま、臓器移植では HLA 抗原型での適合性を重視しアليلでの適合性を大きく重要視していない状況であった。

しかし、2015 年に Duquesnoy らが報告した解析によると、single antigen beads (SAB) で検出される抗体特異性から推定されるエピトープが、同じ HLA 抗原型の異なるアليلにそれぞれ存在していることが判明した¹⁴⁾。例えば、エピトープ「145KHA」は、HLA-

図2 HLA 分子上のエピトープについて



エピトープはHLA分子表面上の抗体認識部位であり、横並び3個のアミノ酸配列である場合をtripletと呼び、アミノ酸配列は離れていてもHLA分子の立体構造上、近傍のアミノ酸集団である場合などをepletと呼称する。

(文献12より引用)

A2抗原のHLA-A*02:01, *02:02, *02:05, *02:06では有するが、HLA-A*02:03においては有していない。また、サブリメントピーズでのみ対応している、HLA-A*02:07, *02:01などは「145KHA」を有しているものの、SABで対応のないHLA-A*02:19, *02:25では有していない。このことは、抗体陽性患者のドナー選択を行う際には、抗体特異性をエピトープによって評価することが必要であり、そのためにドナーのHLAは遺伝子型タイピングを実施することが理想であることを意味している。

3. 臓器移植におけるエピトープマッチング

移植前にDSAを避けることはエピトープを考慮すればよいが、移植後に新たに産生される*de novo*抗体を避けることは困難である。理論的には自己抗原エピトープを共有するドナーを選択することで、自己に対する*de novo*抗体は産生されない、または抗体産生の可能性を軽減できるはずである。

この仮説をもとに、Wiebeらは腎臓移植を受けた195名の患者とドナーのHLA-DRおよびDQのエピトープでの適合度と移植後の拒絶、グラフトロスの相関性を解析し、2015年に報告している¹⁵⁾。この報告では、他要因として免疫抑制剤の長期服用（アドヒアランス）との多変量解析を実施しているが、エピトープでのミスマッチとアドヒアランスとは独立しており、HLA-DRでは10個、HLA-DQでは17個以上の

ミスマッチが移植後の拒絶、グラフトロスの不利な傾向であった。

このような手法による解析は、エピトープデータベースの充実とともに増加し、*de novo*抗体産生のメカニズムを解明する一助になると考えられる。アレルレベルでエピトープが異なっていることから、患者、ドナーのHLA型検査は第2区域を確定できるnext generation sequencing (NGS)を用いたHLAタイピングが理想である。また、Luminex法によるHLAタイピングでも日本人の場合、ほぼ100%で第2区域が推定可能であるが、細胞表面に発現していないアレルなど、まれなアレルを見落とす可能性がある。

抗HLA抗体検査法

1969年に急性拒絶と相関するDSAが検出された最初の報告がなされた際の検査方法は、complement-dependent cytotoxicity (CDC)法によるクロスマッチ試験であった。CDC法は標的にドナーリンパ球を用い、患者血清中の補体依存性抗体を検出する方法であり、lymphocyte cytotoxicity test (LCT)法とも呼ばれる。最初の報告以来、LCT法は幅広く使用されるようになったが、臨床症状との相関が十分に得られないこともあり、その後、高感度に抗体を検出する検査法として、flow cytometry (FCM)法や精製HLA抗原を用いた方法（Luminex法等）が開発された。

表1 各エピトープにおける許容および非許容アレル例について

Antibody reactive epitope	Epitope-carrying SAB alleles	Potential donor antigen	Epitope-carrying reactive SAB alleles (Unacceptable)	Non-reactive SAB alleles (Acceptable)	Predicted unacceptable non-SAB alleles	Predicted acceptable non-SAB alleles
145KHA	A*01:01, A*02:01, A*02:02, A*02:05, A*02:06, A*03:01, A*11:01, A*11:02, A*24:02, A*24:03, A*36:01, A*68:01, A*68:02, A*69:01, A*80:01	A2	A*02:01/02/05/06	A*02:03	A*02:07/10/12/13/14/16/17	A*02:19/25
166DG	A*01:01, A*23:01, A*23:02, A*24:02, A*80:01, B*15:12	A24	A*24:02	A*24:03	A*24:05/07/08/14/17/20	A*24:10/18/22
65QIA	B*07:02, B*27:03, B*27:05, B*27:08, B*42:01, B*54:01, B*55:01, B*56:01, B*67:01, B*73:01, B*81:01, B*82:01, B*82:0	B7	B*07:02	B*07:03	B*07:04/05/09/10	B*07:08/13/16
21H	C*02:02, C*02:10, C*03:02, C*03:03, C*03:04, C*04:03, C*15:02	Cw4	C*04:03	C*04:01/02	C*04:06/16	C*04:04/05/07/08

反応性が異なるエピトープの例について、同じ HLA 抗原型でもアレルが違っていると抗体の反応性が異なるため、移植でアレルレベルでの許容となる HLA タイプが異なることが理解できる。

(文献 14 より引用)

1. LCT 法

リンパ球細胞傷害性試験とも呼ばれる。ドナーのリンパ球と患者血清を反応させてウサギ補体を加え、抗原抗体反応があるときに起こる細胞傷害をエオジンなどの染色で顕鏡して観察する方法である。生体内で起こりうる反応に近いために抗 non HLA 抗体による細胞傷害性反応を検出できる反面、ドナーのリンパ球を準備するのが困難な場合があることや、肉眼による判定をはじめとして、手技の熟練により結果に差異を生じることが欠点となる。

抗体検出感度を上げるための改良法として、ドナーのリンパ球と患者血清を反応後、洗浄したリンパ球に抗ヒトグロブリン (anti-human globulin: AHG) を反応させウサギ補体を加える AHG-LCT 法があるが、高感度な検出法と比較すると感度は低い。

2. FCM 法

ドナーのリンパ球とレシピエントの血清を反応させ、二次抗体として蛍光標識抗ヒト免疫グロブリンを加えることでリンパ球に結合した抗体を標識し、FCM により蛍光分布のシフトを読み取り判定を行う方法である。この方法では、結合した抗体とリンパ球数をカウントするため、抗 non HLA 抗体も検出できるが、細胞傷害性の有無については評価することはできない。最新の技術である Luminex 法等の精製 HLA 抗原を用いた方法が高感度で抗体を特異的に検出する反面、FCM 法は実際の生体反応を LCT 法よりも高感度に検出できる。そのため、日本よりも臓器移植症例数

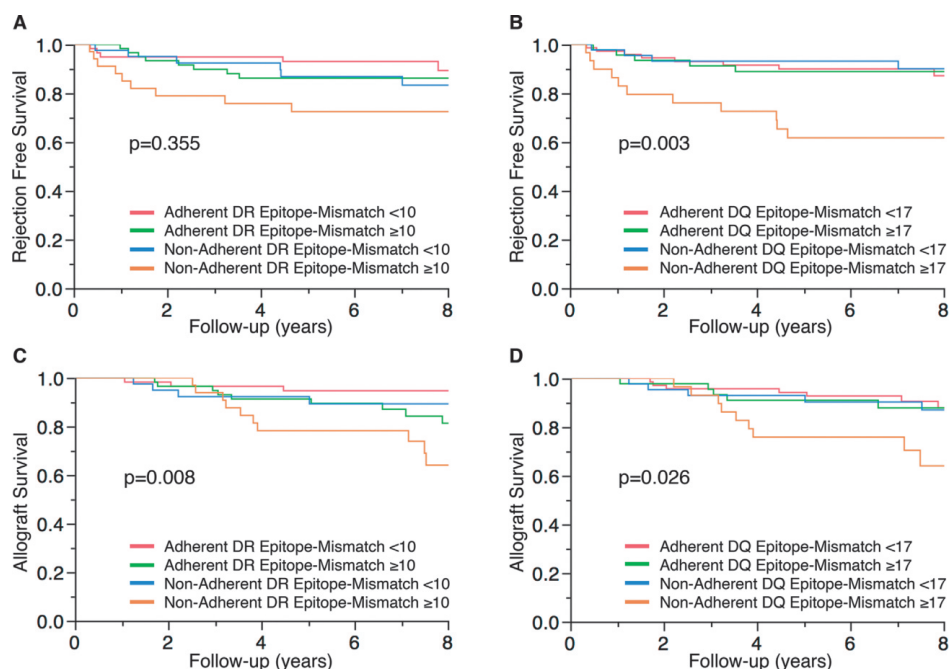
が圧倒的に多い諸外国では、クロスマッチとして幅広く用いられている。

3. 精製 HLA 抗原による検査法

この方法は固相化法と呼ばれ、マイクロビーズに固相化した HLA 抗原に対して患者血清を反応させ、専用の機器で結合した抗 HLA 抗体のシグナルを読み取る方法である。読み取るプラットフォームとしては、フローサイトメーター、Luminex[®]があり、ビーズ上の精製 HLA 抗原の種類によって、それぞれ panel reactive antibody (PRA) 法や SAB 法の試薬が利用可能である。

Luminex 法では、蛍光ポリスチレンビーズである Luminex beads[®] (以下、ビーズ) に精製 HLA 抗原が固相化されており、患者血清中の抗 HLA 抗体がビーズ上の HLA 抗原と反応した際に生成させる複合物を、phycoerythrin (PE) で蛍光標識した抗ヒト免疫グロブリンを二次抗体として捉え、プラットフォームである Luminex[®] によって検出する。

Luminex[®] による蛍光検出は、ビーズの種類 (≡HLA 抗原) を識別する赤レーザーと、二次抗体の PE を認識する緑レーザーによって構成されている。Luminex[®] の蛍光値の読み取り結果として、mean fluorescence intensity (MFI) が一般的に汎用されており、この数値は各ビーズから発した PE のシグナルを母集団とした中央値を示している。また、リンパ球と抗 HLA 抗体との反応性について検出が可能な方法として、immunocomplex capture fluorescence analysis (ICFA) 法が

図3 HLA-DR および DQ に対する *de novo* DSA と拒絶およびグラフトロスとの相関性解析

Wiebe らが腎臓移植を受けた 195 名の患者に対し、DR 座および DQ 座に対する *de novo* DSA と拒絶、グラフトロスの相関を解析した結果を示す。Kaplan-Meier 曲線 A および B は拒絶、C および D はグラフトロスとの相関を示しており、Kaplan-Meier 曲線 A および C は HLA-DR に対する *de novo* DSA、B および D は HLA-DQ に対する *de novo* DSA との相関について解析した結果である。HLA-DR、DQ とともに *de novo* DSA が出現すると、アドヒアランスに関係なく、拒絶やグラフトロスに不利に働いている。

(文献 15 より引用)

あり、クロスマッチとしても使用されている。

1) PRA 法

ヒト由来のリンパ球から精製された HLA 抗原がビーズ上にコートされており、使用するパネルを仮想のヒト母集団とした患者血清の反応性を確認することができる。

アメリカの臓器移植ネットワークである United Network for Organ Sharing (UNOS) の過去のデータからは、PRA (%) が高い患者の待機時間が長いとの報告があり、Luminex 法が高感度であるがゆえに 80% 以上の PRA (%) を有する待機レシピエントが年々増加傾向にある¹⁶⁾。そこで UNOS では、1987 年に設立時に導入されたドナー選出プログラム (kidney allocation system : KAS) に calculated PRA (cPRA) が高いほどドナーの優先順位を上げることを盛り込んだ内容で 20 年ぶりに改訂した¹⁷⁾。cPRA は PRA 算出の際の

検出感度に依存せず、2007 年 1 月から 2008 年 12 月までの移植ドナー情報から HLA 抗原頻度を算出し、許容できない HLA 抗原がどのくらいの割合になるかを計算した数値である。この改訂は、2014 年 12 月から運用が開始されている。

2) SAB 法

遺伝子組み換え技術で人工的に合成された精製 HLA 抗原がビーズ上にコートされており、必要な単一 HLA 抗原を用いることで抗 HLA 抗体の特異性を同定することが可能な検査法である。各抗原ビーズに対する反応性である MFI 値が抗体価として数値化され、移植におけるドナー可否のカットオフラインの指標となりうるため、結果に与える要因は議論になることが多い。

I. 試薬側の要因

①ビーズ上の HLA 抗原の密度の違い

ビーズにコートされた HLA 抗原の密度は、ビーズによって異なっており、抗原密度が高いビーズでは高い蛍光値を示す傾向にある。

②ビーズ上の HLA 抗原構造の不均一性

ビーズ上の抗原は精製抗原であるがゆえに、完全体 HLA (intact HLA) 構造を有しているものの他に、ペプチドが載っていないもの、 β 2-ミクログロブリンが欠落しているものなども含まれるため、検査結果の解釈が難しい場合がある。

③試薬のロット変更

検出可能な抗体の特異性を増やす必要性等の理由により、メーカーがビーズおよび表面抗原の種類等を変更する試薬のロット更新がされる。このような場合、既知の検体を用いて反応性を確かめておくことが望ましい。

II. 検体側の要因

①阻害物質の存在

他の検査でも同様であるが、巨大なタンパク塊などの存在は抗原抗体反応を物理的に阻害する可能性がある。検体の凍結や、超遠心などの他に、ウシ胎児血清 (fetal bovine serum : FBS) を添加する方法がある。

また、ラテックスに対する抗体のようにマイクロビーズに直接付着するような夾雑物は、Adsorb Out™ による患者血清処理をあらかじめ行っておくのが効果的である。

②プロゾーン現象

血清学的検査においては、抗原または抗体が過剰な場合に抗原抗体反応が阻害される場合があり、これをプロゾーン現象と呼んでいる。SAB 法では抗原過剰の可能性がなく、補体を活性化する抗体が過剰に存在した場合、抗原抗体反応に続く補体 C1 の活性化によって生じたサブユニット (C1q) が物理的に二次抗体の結合部位を阻害する。サブユニット C1q は 6 量体であり、抗原と結合した抗体間をまたぐ形で結合することで、二次抗体の結合部位を覆うことになる。問題解決として、C1q 内に S-S 結合が存在するため DDT (dithiothreitol) 処理も有効であるが、サブユニットである C1r および C1s の活性化に必要な Ca^{2+} を阻害する EDTA 処理を行うことが多い¹⁸⁾。

③抗体製剤による擬陽性

臓器移植では、免疫グロブリン大量療法 (IVIG) や rituximab などの抗体製剤を使用することがあり、抗

体製剤が血清中に含まれていると、擬陽性反応を起こす可能性がある。そのため、できる限り投薬前に抗体検査を実施することが望ましい。

④Non HLA 抗体による非特異反応

IgM 抗体などの S-S 結合を含む物質には、DDT 処理を行ってから検査するとよい。また、細菌やウイルスに対する抗体が HLA 分子と交差反応することで抗体検査が陽性となる場合があり、同様の要因で非自己 HLA 抗原による感作歴のない患者で、抗 HLA 抗体が陽性と判定される場合がある。2008 年に Morales-Buenrostro らは、移植歴のないメキシコ男性健常人から、Luminex 法により HLA 分子に結合する抗体を検出し「HLA 自然抗体」と名付けた¹⁹⁾。臨床的な意義は低いと考えられ、エピトープ解析および各人種での免疫源の可能性などから適切な特異性での判定が重要である。

3) ICFA 法

赤血球を除去したドナー末梢血 (白血球ペレット) と患者血清を反応させ、生じた HLA 抗原抗体複合物を、HLA 分子に対する抗体がコートされたビーズで捉える方法である。SAB 法では、遺伝子組み換えによって合成した抗原では非特異反応が検出されるが、ICFA 法では生体 HLA 抗原との反応を捉えることから、非特異反応の検出を軽減できる。また、高感度クロスマッチとして利用価値は高いと考えられる。

■ クロスマッチ

クロスマッチには、患者血清とドナーリンパ球を直接反応させるダイレクトクロスマッチと、ドナーリンパ球の代わりに固相化された HLA 抗原を用いるバーチャルクロスマッチがある。高感度であるバーチャルクロスマッチで抗体陽性と判断された場合に、ダイレクトクロスマッチを実施するのが効率的である¹⁸⁾。

1. ダイレクトクロスマッチ

CDC (LCT) 法や FCM 法で実施することが多いが、最近では高感度な検査法として ICFA 法も利用可能である。ドナーリンパ球を得ることが困難であるが、non HLA に対する抗体も検出可能であり、移植によって起こりうる免疫反応に近い反応性を確認することができる。

2. バーチャルクロスマッチ

Luminex 法などの固相化法では、各ビーズ上の抗原をドナーリンパ球の代替として位置付け、クロスマッチすることが可能である。具体的には、患者の抗 HLA 抗体検査の結果が陰性であれば、クロスマッチ適合、陽性であれば抗体同定検査を実施し、抗体特異性とドナー HLA が一致しない場合は適合、一致する場合は不適合と判定される。

DSA に対する MFI 値についての議論はいくつかの報告はあるが、陽性と陰性のカットオフラインについての統一は図れていない。今後の国際的な動きとしては、エピトープによって陽性が陰性かの判断を行い、ドナー選択の可否を決定していく方向性が活発化している。

■ ■ おわりに

国際的な動きとして、抗 HLA 抗体の評価方法はエピトープ解析が主流になってきている。エピトープはアレルによって異なる場合があり、患者とドナーが同じ抗原型であっても DSA を産生する可能性がある。そのため、海外における患者とドナーの HLA タイピングは Luminex 法では不十分かもしれない。Luminex 法によるアレルタイピングは第 2 区域がみなしであり、日本のような少ない民族集団だと思われる国では、ほぼ問題ない結果と考えられるが、アメリカのような多人種・多民族の国では、みなしの推定が困難である。そのため、HLA アレルタイピングは NGS 法が望ましいとの意見がある。

抗 HLA 抗体検査法については、LCT 法、FCM 法、Luminex 法が多く利用され、それぞれに特徴があるので、目的に応じて使い分ける必要があり、特筆すべき検査法としては、Luminex 法に分類される ICFA 法がある。同じ Luminex 法を用いた PRA 法や SAB 法は抗体を高感度に検出可能であるが、キット特有の非特異反応も検出してしまうため、バーチャルクロスマッチを実施した際にドナーの選択範囲が狭まる可能性がある。逆に、生体により近い反応を確認できる LCT 法や FCM 法は、Luminex 法ほど感度が高くないために DSA を見逃す可能性がある。ICFA 法は抗原抗体複合体を Luminex 法の感度で捉えることができるため、ダイレクトクロスマッチの位置付けとして非常に有用な方法であり、今後臨床症状との相関性に関する研究が進むことが期待される。

文 献

- 1) IMGT homepage. 14 Oct 2016. <http://www.imgt.org/>
- 2) Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med* 1969; 280: 735-739.
- 3) Bachelet T, Martinez C, Del Bello A, *et al.* Deleterious impact of donor-specific anti-HLA antibodies toward HLA-Cw and HLA-DP in kidney transplantation. *Transplantation* 2016; 100: 159-166.
- 4) Kannabhiran D, Lee J, Schwartz JE, *et al.* Characteristics of circulating donor human leukocyte antigen-specific immunoglobulin G antibodies predictive of acute antibody-mediated rejection and kidney allograft failure. *Transplantation* 2015; 99: 1156-1164.
- 5) Muczynski KA, Cotner T, Anderson SK. Unusual expression of human lymphocyte antigen class II in normal renal microvascular endothelium. *Kidney Int* 2001; 59: 488-497.
- 6) Del Bello A, Congy-Jolivet N, Muscari F, *et al.* Prevalence, incidence and risk factors for donor-specific anti-HLA antibodies in maintenance liver transplant patients. *Am J Transplant* 2014; 14: 867-875.
- 7) Cuadrado A, San Segundo D, López-Hoyos M, *et al.* Clinical significance of donor-specific human leukocyte antigen antibodies in liver transplantation. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 11016-11026.
- 8) Chen CK, Manlhiot C, Conway J, *et al.* Development and impact of de novo anti-HLA antibodies in pediatric heart transplant recipients. *Am J Transplant* 2015; 15: 2215-2222.
- 9) Le Pavec J, Suberbielle C, Lamrani L, *et al.* De-novo donor-specific anti-HLA antibodies 30 days after lung transplantation are associated with a worse outcome. *J Heart Lung Transplant* 2016; 35: 1067-1077.
- 10) Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, *et al.* Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am J Transplant* 2012; 12: 1157-1167.
- 11) Duquesnoy RJ. HLAMATCHMAKER: a molecularly based donor selection algorithm for highly alloimmunized patients. *Transplant Proc* 2001; 33: 493-497.

- 12) Tambur AR, Claas FH. HLA epitopes as viewed by antibodies: what is it all about? *Am J Transplant* 2015; 15: 1148-1154.
- 13) Duquesnoy RJ, Marrari M, da M Sousa LC, *et al.* 16th IHIW: a website for antibody-defined HLA epitope registry. *Int J Immunogenet* 2013; 40: 54-59.
- 14) Duquesnoy RJ, Kamoun M, Baxter-Lowe LA, *et al.* Should HLA mismatch acceptability for sensitized transplant candidates be determined at the high-resolution rather than the antigen level? *Am J Transplant* 2015; 15: 923-930.
- 15) Wiebe C, Nevins TE, Robiner WN, *et al.* The synergistic effect of class II HLA epitope-mismatch and nonadherence on acute rejection and graft survival. *Am J Transplant* 2015; 15: 2197-2202.
- 16) Cecka JM. Calculated PRA (CPRA): the new measure of sensitization for transplant candidates. *Am J Transplant* 2010; 10: 26-29.
- 17) Formica Jr. RN, Friedewald JJ, Aeder M. Changing the kidney allocation system: a 20-year history. *Curr Transpl Rep* 2016; 3: 39-44.
- 18) Schnaidt M, Weinstock C, Jurisic M, *et al.* HLA antibody specification using single-antigen beads--a technical solution for the prozone effect. *Transplantation* 2011; 92: 510-515.
- 19) Morales-Buenrostro LE, Terasaki PI, Marino-Vázquez LA, *et al.* "Natural" human leukocyte antigen antibodies found in nonalloimmunized healthy males. *Transplantation* 2008; 86: 1111-1115.
- 20) 佐治博夫. 移植とHLA抗体: HLAタイプ&スクリーニングと移植後抗体モニタリング. *移植* 2010; 45: 494-504.