

移植と HLA 抗体： HLA タイプ&スクリーンと移植後抗体モニタリング

佐治博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所

Transplantation and HLA antibody: posttransplantation HLA antibody monitoring and “HLA type & screen” to overcome technical and logistic limitations

Hiroh SAJI

HLA Laboratory, NPO

[Summary]

The important role of preformed HLA antibodies in the outcome of organ transplants has been well demonstrated for the past 40 years. During this same period, the significance of HLA antibody formation after transplantation was largely ignored. Only in the past 10 years has it become increasingly clear that HLA antibodies formed posttransplantation are the major cause of allograft failure. On the basis of this new finding, in addition to pretransplantation antibody screening and crossmatch, monitoring for antibody development after 3, 6, 9, and 12 months, with yearly checks thereafter, is suggested.

In stem cells (bone marrow) transplantation, HLA-identical donors have been employed for almost 40 years. However, nowadays HLA-mismatch unrelated transplantation using cord blood and related HLA haploidentical mismatch transplantation are becoming more popular.

In both organ and stem cells transplantation, there are so-called “logistic problems” of donor lymphocytes for direct crossmatching with unrelated donors, especially in the setting of cord blood and cadaveric grafts. Herein, the author proposes “HLA type & screen”, an analog of type & screen in blood transfusion known as virtual crossmatch in the USA. This method also may partially solve another logistic problem: limited donor search for hypersensitized recipients.

Recent technical developments of HLA antibody detection and identification of specificity are reviewed herein. Finally, the epitope of HLA antigens for antibodies is summarized, and probability of identification for immunodominant epitope and its clinical importance are mentioned.

Keywords: HLA antibody, transplantation, rejection, type & screen, virtual crossmatch, clinical monitoring

1. はじめに

移植における組織適合性は生物学的な永遠の課題かもしれない。移植医療は進化によって得られた免疫個性を乗り越えようとする試みだからである。

免疫抑制剤の長足の進歩は、造血幹細胞移植を除く臓器移植の HLA バリヤーを乗り越えることを可能にしたが、それは細胞性免疫に限られている。拒絶のうち、移植後短期（1日～1週間）に起こる超急性拒絶・

さじ ひろお 1937年甲賀流忍者の末裔として生まれる。1960年京都薬科大学卒業、京都府立医科大学法医学教室助手、1968～2000年京都府赤十字血液センター技術部・研究部長歴任、2000年特定非営利活動法人 HLA 研究所を設立、現在理事長・所長、日本組織適合性学会監事。WHO Committee Member of Nomenclature for Minor Histocompatibility Antigens.



促進性急性拒絶は HLA 抗体や ABO 抗体による液性免疫が主たる原因で、免疫抑制剤の適用範囲外であり、直接クロスマッチにより防止してきた。8~100 日に起こる急性拒絶は主として細胞性免疫によるものとして、免疫抑制剤はこれを標的に開発されてきた。100 日以後の慢性拒絶は免疫抑制剤の持続投与によって細胞性免疫を抑制して対処されるが、液性免疫による慢性拒絶を防ぐことは困難である。

臓器移植では細胞性免疫の制御から、液性免疫の制御へと力点が変わってきている。その道程にひとりの老学者の名前がしきりに見え隠れする。ポール・イチロー・テラサキの名であり、奇しくも細胞性（移植）免疫の創始者（ノーベル賞学者）ピーター・メダワールの弟子という因縁がある。テラサキは移植免疫＝細胞性免疫という移植領域の常識に敢然と立ち向かい、液性免疫は移植免疫の主役であると 20 世紀末から唱え続け、10 年余をかけてデータを収集し続けた。そしていま「HLA 抗体こそ超急性拒絶から慢性拒絶に至るすべてにかかわる原因」であると断言する¹⁾。

直接クロスマッチは技術的問題や標準化の問題はさておいても、ドナーリンパ球の確保と搬送というロジスティック（兵站学）的な問題がその実施の障害となっている。HLA 抗体検出法は既に第四世代法に突入していて、ロジスティックな問題解決が可能になったので、それを提案したい。「HLA タイプ&スクリーン」またはバーチャルクロスマッチである。これにより、超急性拒絶を防ぐとともに、慢性拒絶の主因が HLA 抗体であることを踏まえ、移植後 HLA 抗体モニタリングを強く推奨するものである。

II. HLA 抗体検出法／直接クロスマッチ法

HLA 抗体スクリーニングは移植の世界では「PRA」と呼ばれている。Panel reactive antibodies の略であり、10 数種~数 10 種のパネル（細胞または抗原蛋白）を用意してそれに検体血清を反応させて抗体の有無をみる。これに対して、直接クロスマッチは「DSA」を検出する方法である。DSA とは、ドナーに特異的に反応する抗体（donor specific antibody）の意である。パネルは検体の属する ethnicity に有意の頻度で存在する HLA 抗原を網羅できるように選択される。抗体の存在が確認されたら、抗体の HLA 特異性が同定される。HLA 抗体同定検査には 70~200 パネルが用いられ、推計学的に蓋然性の高い特異性が計算される。パネルには HLA-A, B, Bw, Cw, または HLA-DR, DQ,

DP など連鎖する複数の抗原が含まれていて、推計学的手法が欠かせないものであった。つまり、膨大な手間と時間がかかる検査であったが、数年前に革命がもたらされた。遺伝子工学的手法で単一の HLA 精製抗原が得られるようになり、これをマイクロビーズ（フローサイトメトリー用）やルミネックスビーズに固相化した「単一抗原ビーズ（single antigen coated beads）」がキット化されたことである。単一抗原との反応が陽性であることは、すなわちその抗原特異性のある抗体が存在することを意味し、推計学的な推定と蓋然性の計算は必要なくなる。抗体特異性同定の精度は著しく高くなると同時に簡便化された。

直接クロスマッチは、パネルの代わりにドナーリンパ球またはドナー HLA 抗原を用いて、レシピエントの血清との反応をみるものである。理論的には理想的な適合試験である。パネルが 1 個で DSA を検出でき、ドナーの HLA がごくまれな抗原でパネルに含まれないケースでもその抗原に対する反応を確実に捉えられる。問題は、後に述べるドナーリンパ球のロジスティック（兵站学）問題や、ドナーが脳死などの状態ではリンパ球が正常でない（HLA 抗原の表現に異常がある）などの点である。

1. リンパ球細胞障害試験（第一世代法）

直接クロスマッチの手技の変遷は HLA 抗体検出手技の歴史そのものである。「リンパ球細胞障害試験（LCT）」と「抗ヒトグロブリン加リンパ球細胞障害試験（AHG-LCT）」が長年にわたって用いられ、超急性拒絶や急性拒絶の防止に貢献してきた。ドナーのリンパ球とレシピエント血清を反応させて（AHG-LCT の場合はこの段階で抗ヒトグロブリンを反応させる）、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障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。他法で疑わしい結果が出たときの確認試験として、いまもゴールドスタンダードとされるが、生きたリンパ球が必要で、その入手と準備に手間とコストがかかることが問題である。

2. 混合リンパ球培養試験

レシピエントとドナーのリンパ球を混合培養して、その幼若化率を判定する。HLA 適合性を細胞性免疫の手法で診る方法の 1 つである。HLA クラス II の適合性を試験するのに適している反面、HLA クラス I 適合性が反応に鈍感である欠点がある。手法の複雑性と培養に時間がかかる割には臨床医学的な相関が得られないので、いまはほとんど用いられない。

3. ELISA (酵素抗体) 法 (第二世代法)

マイクロプレートまたはテラサキトレーに固相化された HLA 精製抗原に、検体血清を反応させ、洗浄後に結合した HLA 抗体に酵素標識抗ヒトグロブリンを反応させ、酵素に対応する基質を加えて発色させ、吸光度計を用いて測定して検出する。感度/特異性ともよいとされるが、ドナーの HLA 抗原を用いるべき直接クロスマッチには適さない。そのためか、普及はそれほど進まなかった。最近、ドイツでドナーリンパ球を可溶化して HLA 抗原をプレートに固相化する ELISA クロスマッチ方法が開発されヨーロッパを中心に用いられている。

4. フローサイトメトリー (FCM) 法 (第三世代法)

臓器移植の世界では直接クロスマッチの標準法になっている。感度が高いこと、臨床成績との相関が高いことから、多くの国で採用されている。ドナーのリンパ球とレシピエントの血清を反応させ、蛍光標識抗ヒトグロブリンで標識し、FCM 機で蛍光分布のシフトをみる方法である。蛍光分布の右方偏移で陽性を判定する。問題は機器の設定や判定にコツがいり、客観的判定が意外に難しいことであろうか。わが国でも標準的な方法として普及している。本稿は新しいクロスマッチ法の提案を主旨としているので詳細は述べない。

5. ルミネックス法 (第四世代法)

Luminex® beads をプラットフォームとする方法である。100 色の蛍光色調を認識するビーズ (ルミネックスビーズ) 上に、Class I または Class II の精製 HLA 抗原がコーティングしてある。このビーズ群に検体血清を反応させ、洗浄後 PE 標識抗ヒトグロブリンで蛍光標識して、フロー系 (LABScan 100®) に流し、ビーズの 100 色を片方のレーザーで識別し、PE 蛍光をもう片方のレーザーで検出測定する。HLA 抗原ごとに PE 蛍光値が得られるので適切なカット・オフ値を設定して判定する。HLA 抗体スクリーニングと抗体の同定には非常に威力を発揮するが、直接クロスマッチには適さない。ドナーの HLA 抗原を精製してビーズに固相化することが必要となる。最近、藤原らにより immunocomplex capture fluorescence analysis (ICFA) 法が提案されている²⁾。方法を概説する。

1) ルミネックスによる直接クロスマッチ法 (ICFA)

概要は (図 1)

- ①ドナーの全血にレシピエント血清を反応させ溶血させる。
- ②HLA・抗体複合物 (immunocomplex) をビーズに固相化 (capture) する。
- ③PE 標識抗ヒトグロブリンで蛍光標識する。
- ④蛍光強度を測定する (fluorescence analysis)。

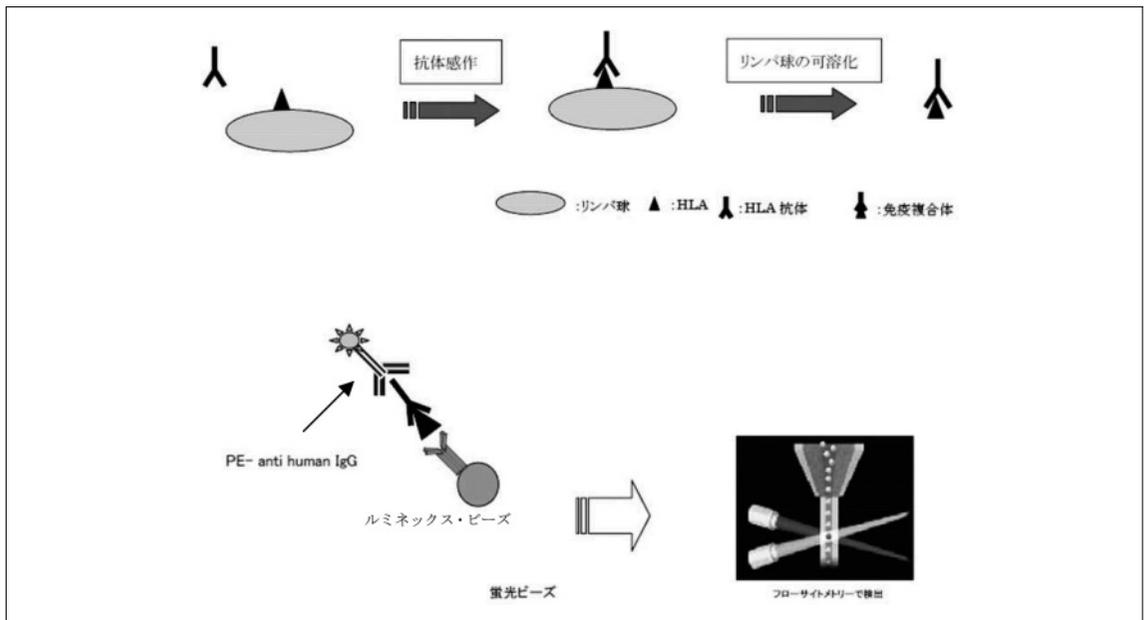


図 1 ルミネックス法の直接クロスマッチ=ICFA 法の概念図

ICFA 法は既にキット化されて販売されている [WAKFlow[®] HLA 抗体クラス I (ICFA)]。

2) ルミネックス法による抗体スクリーニング法

培養細胞から HLA クラス I 抗原とクラス II 抗原をアフィニティークロマトグラフィーなどの手法で抽出精製した抗原を、ルミネックスビーズに固相化し、有意の頻度である抗原を網羅するように 50~80 種のパネル・ビーズを作成する。キット化して市販されている [LABScreen PRA[®], OneLambda 社, WAKFlow HLA 抗体 (MR)[®], ワクナガ製薬]。抗体検出感度は非常に高い。LCT 法の 50~100 倍の感度を有するとされる。反応強度 (蛍光値) と反応パターンから、HLA 抗体の力価や広範囲~狭範囲特異性などの性質を判断できる。推計学的方法で抗体の抗原特異性を推定することもできるが、確実に簡便に特異性を同定するには、次の single antigen coated beads 法が優れている。

3) ルミネックス法による抗体特異性同定法

遺伝子工学的手法で、単一の HLA 抗原のみを発現する培養細胞を作成し、有意の頻度である HLA 抗原をライン・アップする。大量の単一培養細胞を溶解し、アフィニティークロマトグラフィーなどの手法で、単一の HLA 抗原を抽出・精製する (リコンビナント・HLA 抗原)。これをマイクロビーズ (フローサイトメトリー用) やルミネックスビーズへ固相化する。1 つの蛍光スペクトラムをもつビーズごとに、固相化する HLA 抗原を選択する。マイクロビーズでは通常 8 種、ルミネックスビーズでは 100 種の蛍光スペクトラムのビーズが用意できる。いまは、OneLambda 社の独占の市場である。

LABScreen Single Antigen Class I[®] は 31 種類以上の A 座, 50 種類以上の B 座および 16 種類以上の C 座の単一抗原が、ビーズ 1 個ずつにコートされている。LABScreen Single Antigen Class II[®] は 33 種類以上の DR 座 (DRB1, DRB3=DR52, DRB4=DR53, DRB5=DR51), 29 種類以上の DQ 座, 24 種類の DP 座の単一抗原が、ビーズ 1 個ずつにコートされている。

III. 直接クロスマッチのロジスティック問題

臓器移植におけるロジスティック (兵站学) 問題は、もともと高度にアロ免疫を受け広範囲 HLA 抗体を保有する登録レシピエントへ、献腎臓器などが提供できない状況に発したタームである。後述する「マッチ・メーカー」はその解決のために開発されたソフトウェアである。直接クロスマッチの代替システムとして次

項に述べるバーチャルクロスマッチをすることで、ドナーの提供がかなり改善されることが知られている³⁾。

レシピエントは主治医・移植医の保護下にあり容易に検体入手できるし、必要な検体は血清または血漿であり保存や運搬も容易にできる。しかしながらドナーのリンパ球検体は、血縁や家族を除き、採取が困難なことが多く、運搬や保存に手間を要し、時には入手が不可能なこともある (臍帯血移植など)。さらにはドナーリンパ球がグラフトと同時に搬送され、時間的制約が厳しいことも多い。移植施設の HLA ラボは 24 時間体制をとるのが世界の情勢であり、専門スタッフの確保も課題であった (わが国では症例数の関係でそれほど問題にはなっていない)。すなわち、直接クロスマッチ実施にはドナー検体の採取と、入手までの時空的問題があり、これをドナーリンパ球のロジスティック (兵站学) 問題と称し、移植領域の直接クロスマッチ実施に大きな障害となっている。つまり、レシピエントの血清だけでクロスマッチに代替できる方法論が待望されてきた。

IV. 「HLA タイプ&スクリーン」

輸血の分野では待機手術などのためのクロスマッチは、直接クロスマッチを省略して、「タイプ&スクリーン」をするシステムが導入されて久しい。レシピエントとドナーの ABO と Rho をタイプし、レシピエントの血清中の不規則抗体をスクリーニングしておく。不規則抗体が陰性のときはクロスマッチを省略する。不規則抗体が陽性のときは抗体の特異性を同定して、その抗体が反応する抗原が陰性の血液を用意する。

この思想を移植の世界に導入しようというのが「HLA タイプ&スクリーン」で、手順の概要は次のとおりである (図 2)。

①レシピエントとドナー候補の HLA をタイプする。

②ドナー候補が有し、レシピエントにないミスマッチ抗原を同定する。

③レシピエント血清中の HLA 抗体スクリーニング検査を行う。

④HLA 抗体が陰性のときは、クロスマッチ適合と判断してこれを省略する。

⑤HLA 抗体が陽性の時は、その抗体の特異性を同定する。

⑥抗体の特異性を、②で同定されたミスマッチ抗原

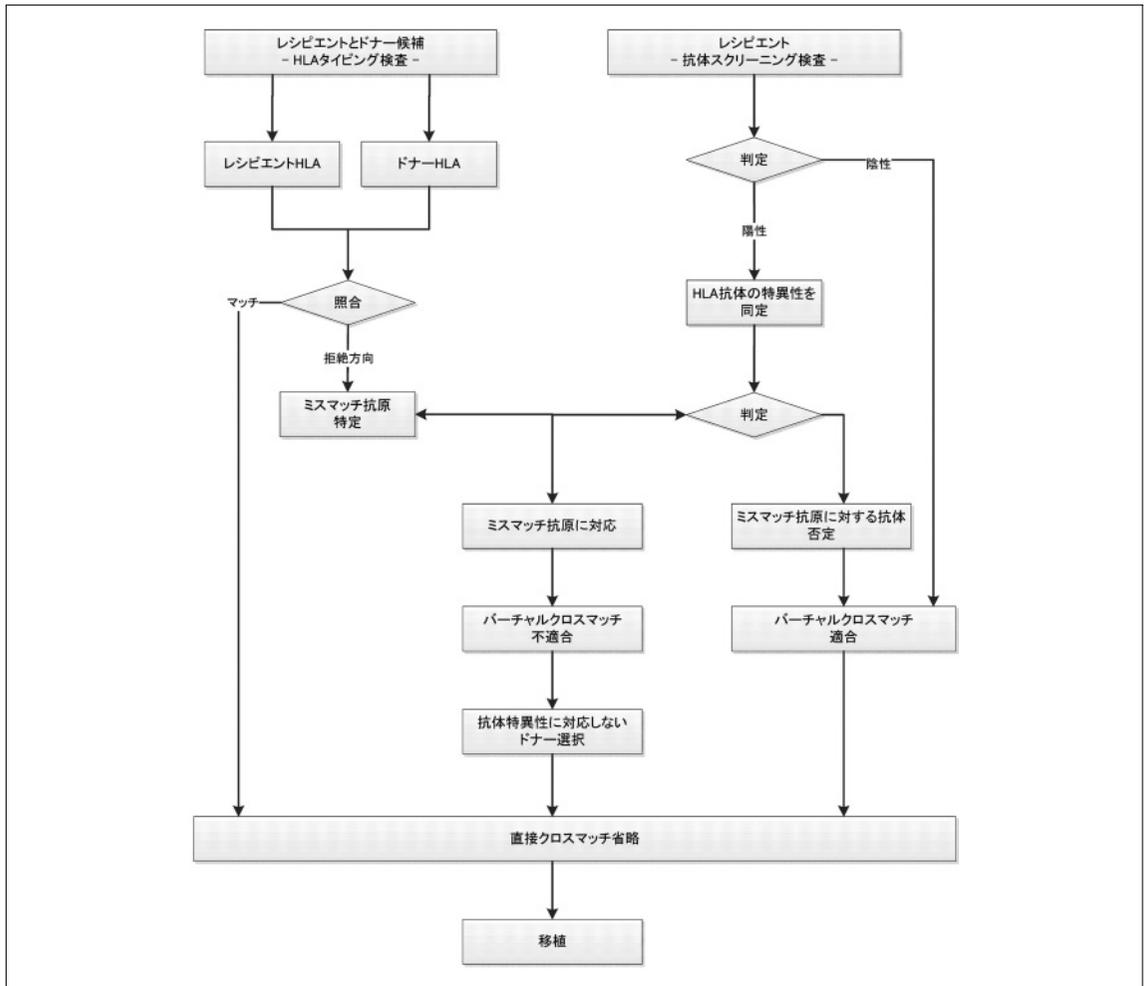


図2 HLA タイプ&スクリーン (バーチャルクロスマッチ)

と比較対照する。

⑦ドナー候補の有するミスマッチ抗原に反応する抗体が否定される時は、クロスマッチ適合と判断して直接クロスマッチを省略する。

⑧抗体の特異性がミスマッチ抗原に対応するときは、クロスマッチ不適合と判定する。

⑨抗体の特異性に対応しないミスマッチ抗原を持つドナーを選択する。

HLA タイプ&スクリーンは筆者の造語で、最近ではアメリカなどで「Virtual Crossmatch」と称されて、一部の施設と分野（屍体臓器と臍帯血移植など）に導入されつつある^{3,6)}。わが国でも HLA 不適合造血幹細胞移植や臍帯血移植の分野で採用され始めた。HLA 抗体の適合性を考慮する歴史が浅い造血幹細胞移植の

世界で、臓器移植領域より先行して採用されたのは興味深い。輸血の分野で20年前に導入されたシステムが、移植の世界に導入できなかったのは、単純にテクノロジーのせいである。

V. 移植後 HLA 抗体モニタリング

アメリカにおいて1960年代から70年前半、献腎移植後1年生着率は40%に過ぎなかったが⁷⁾、いまや90%を超えるようになった。免疫抑制剤の進歩のほかに、HLA 抗体の検出や直接クロスマッチ技術の改善によって、超急性拒絶や急性拒絶（100日まで）を防ぐことができるようになったことが要因である。しかしながら、献腎臓器の half-life は、1966~1975年 で7.5年⁷⁾、1987~1995年 で7.5年⁸⁾と変化なく、1996~

2006年でも8.1年⁸⁾と大きな改善はみられない。すなわち、HLA抗体検出技術の進歩は、長期生着にはほとんど貢献していないといえるし、細胞性免疫抑制剤[cyclosporine, tacrolimus(FK-506), sirolimus, mycophenolate mofetil(MMF), その他]の使用も長期生着に関する限り有意の相関は得られていない。さらに、bortezomib投与によるclonal deletionプロトコールによる腎生着が、免疫抑制剤なしで得られているので、移植免疫において液性免疫が細胞性免疫を凌駕する主役であるとするコンセプトは確かなものになりつつある。

1. 臓器移植

一方で、肝臓を含め⁹⁾多くの移植臓器の慢性拒絶の原因が、移植後に産生されるHLA抗体であることは、膨大なデータによって証明された¹⁰⁾。つまり、長期生着率を高め、臓器のhalf-lifeを延長させるには、原因であるHLA抗体をモニタリングし、液性免疫を制御することが求められる。保険適用の問題はあるものの、移植後1年以内は3か月ごと(3, 6, 9, 12か月の4回)、以後1年ごとのHLA抗体モニタリングが推奨される。HLAクラスIとクラスII抗体スクリーニングと、HLA抗体が検出されたときは、特異性を同定しかつ抗体価の推移を見ることがよい。心臓移植ではクラスI抗体が重視されるように、臓器によって異なる戦略があってもよい。DSA(donor specific antibody)はグラフトによって、吸収されるので血清中にはごくわずかしかならない。高感度な抗体スクリーニング法が必要である。

DSAが検出されたときは、HLA抗体の除去または産生を制御することが求められる。MMFの大量投与や¹¹⁾、rituximab(リツキサン[®])によるB細胞から形質細胞への転換を抑制¹²⁾、bortezomib(ベルケード[®])による形質細胞の除去¹³⁾などが試みられている。Bortezomibは一定の効果が認められる。1回1.3 mg/m², Day 1, 4, 8, 11に投与を1サイクルとする。中力価抗体の減弱には1サイクルで効果があるが、高力価抗体には2~3サイクルが必要と示唆されている。輸血によるHLA抗体の吸収と同時に、免疫刺激により活性化される形質細胞をbortezomibで制御すれば、HLA抗体産生クローンの除去につながるかもしれない。

Terasakiら¹⁴⁾は既にbortezomib投与による「Clonal Deletion」プロトコールを開発し、血縁者間腎移植に適用し、ステロイド以外の免疫抑制剤を使用しない17症例に2年以上の生着、10症例に1年以上の生着を

得ている。今後の発展が期待される。

2. 造血幹細胞移植

免疫系がドナー細胞によって再構築されるので、臓器移植とは異なる発想が求められる。移植前にHLAタイプ&スクリーン(バーチャル・クロスマッチ)が陽性(不適合)になり、そのドナーを選択せざるを得ないときは、移植直前に血小板(ドナー由来が最適)輸血によってHLA抗体を吸収し、rituximabやbortezomibを併用することが勧められる。血漿交換はHLA抗体の除去効果が意外に得られない。

移植前にHLA抗体が検出されるレシピエントは、移植後のHLA抗体モニタリングが推奨される。早期に抗体が減弱・消失すれば予後は良好なことが多い(自家データ)。抗体が長期に持続するときは、免疫抑制剤の減量によるGVH効果を図ることが勧められる。抗体の持続はレシピエントの免疫細胞が(ひいては腫瘍細胞)が残存している証拠と考えられるからである。

ドナーがHLA抗体を持っているとき、移植後にドナー由来のHLA抗体が検出されることがある(自家データ)。ドナーの形質細胞がレシピエント内で抗体を産生した結果と推定される。血小板輸血不応からその現象が発見された例もある。以上のことから、移植後にドナーの免疫担当細胞がHLA抗体を産生することは可能と考えている。臍帯血移植や血縁間Haploidentical(ハプロ半合致)移植のときは、ドナー由来のHLA抗体が、レシピエントのミスマッチHLA抗原と反応して、GVH反応を起こす可能性も否定できない。HLA不適合移植後は、臓器移植と同様にHLA抗体モニタリングが必要な時代が来るかもしれない。

VI. Single antigen coated beads 法の留意点

遺伝子工学により人工的に得られたHLA抗原であることを念頭に置く。すなわち、単一精製抗原には人工的に得られたエピトープが含まれる可能性に留意しなければならない。また、遺伝子が近接して連鎖する抗原が、別々に精製されてピーズに固相化されているので「連鎖」の概念なしに結果を判断してはならない。最も留意しなければならないのは、クラスIIのパネルである。とくにDR抗原(DRB1抗原)とDR51(DRB5の産物)、DR52(DRB3の産物)、DR53(DRB4の産物)の関係性である。これらはDRB領域に近接して存在し、非常に強い連鎖不平衡が成立している。培養パネル細胞からHLAクラスII分子を抽出精製する

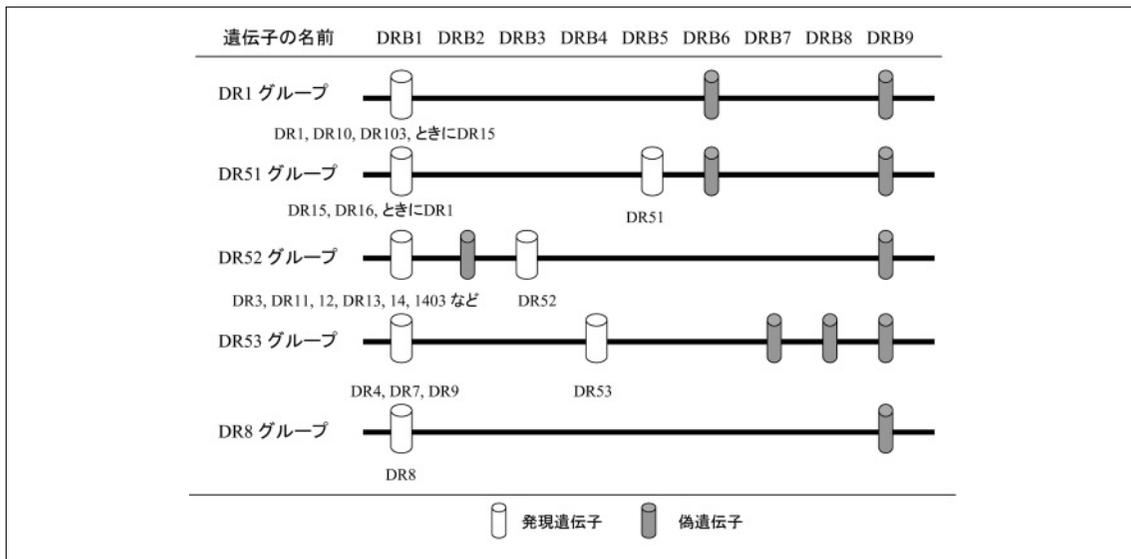


図3 HLA-DRB 領域の構造

DR1 グループや DR8 グループは発現遺伝子として DRB1 のみを持つが、DR51、52、53、グループは発現遺伝子として、それぞれ DRB5、DRB3、DRB4 を持っている。偽遺伝子の種類と数もグループによって異なっている。

と、連鎖する DR 抗原がすべて抽出される。これらを固相化した「抗体スクリーニング」用のビーズには「連鎖する抗原」のすべてが含まれる。これに対して single antigen coated beads は単一の抗原が固相化されている。例えば、DR15 (*DRB1*1502*) と連鎖する DR51 (*DRB5*0102*) は、抗体スクリーニング用のビーズでは同じビーズに固相化されるが、single antigen coated beads では、DR15 ビーズと DR51 ビーズが別に作成されている。ドナー候補の有するミスマッチ抗原が DR15 であるときは、レシピエントに抗-DR15 が検出されないことを確認すると同時に、抗-DR51 の存在をも否定しなければ、バーチャル・クロスマッチ適合とはいえない。逆にいえば、抗-DR51 が検出されるときは、連鎖する DR15、DR16 も (抗-DR15、-DR16 が検出されなくても) バーチャル・クロスマッチ不適合とみなす必要がある。DRB 領域の遺伝子構造を 図 3 に示す。

VII. 交差反応の臨床的意義

抗原抗体反応における交差反応は古くから知られているが、HLA 抗原についてはごく一般的で、交差反応のない抗体のほうがまれである。近年になって、HLA 抗体のエピトープ解析が行われ、交差反応は

「抗原間の共通エピトープ (Shared epitope : SP)」に対する反応であることが明確にされた。過去にいわれた主反応に対する交差反応=副反応はアナログ的感覺である。検出される HLA 抗体の大多数は臨床的意義については等価と考えてよい。HLA エピトープについては後述する。

VIII. HLA 自然抗体の意義

HLA 抗体の検出感度が高くなったことで、免疫機会がないと思われる健常人からしばしば HLA 抗体が検出される¹⁵⁾。われわれはこれを「HLA 自然抗体」とよんで、HLA 抗原を免疫原とするアロ抗体と区別している。HLA 自然抗体とは、ウイルスや食物蛋白を免疫原とし、HLA 抗原とエピトープを共有する抗体と推定され、ときに HLA 精製抗原と反応するものと解釈している。検出頻度は意外に高いがアロ抗体との明確な区別は困難で、低力価 (例外=抗-A*1102, 抗-B*0801 など)、日本列島人に検出されない HLA 抗原に対するものか、自然抗体リストにあるか、などの経験値に基づいて判断するしかない。健常日本人とメキシコ人男性に検出された「HLA 自然抗体」を表 1 に示す。

臨床的意義についてはデータの蓄積がなく不明であ

表1 「HLA自然抗体」の特異性

| 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 |
| A*1102 | 4.4 | 10.6 | B*8201 | 10.6 | 15.9 | Cw*1701 | 10.4 | 24.2 | DRB1*0404 | 5.1 | DQA1*0503.DQB1*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 | DQA1*0601.DQB1*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 | DQA1*0303.DQB1*0301 | 9.3 | DPA1*0401.DPB1*1301 | 2.3 |
| A*6602 | 6.7 | 6.8 | B*1512 | 10.6 | 9.3 | Cw*0202 | 4.9 | 6.8 | DRB5*0101 | 1.9 | DQA1*0505.DQB1*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 | DQA1*0301.DQB1*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 | DQA1*0501.DQB1*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 | DQA1*0102.DQB1*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 | DQA1*0102.DQB1*0609 | 2.8 | DPA1*0201.DPB1*0901 | 1.2 |
| A*6601 | 6.0 | 4.5 | B*6701 | 3.5 | 3.8 | Cw*0302 | 4.4 | 3.0 | DRB1*1201 | 0.9 | DQA1*0301.DQB1*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 | DQA1*0101.DQB1*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 | DQA1*0401.DQB1*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 | DQA1*0302.DQB1*0303 | 2.3 | DPA1*0201.DQB1*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 | DQA1*0103.DQB1*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 | DQA1*0201.DQB1*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 | DQA1*0301.DQB1*0304 | 1.9 | DPA1*0103.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 | DQA1*0303.DQB1*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 | DQA1*0201.DQB1*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 | DQA1*0103.DQB1*0601 | 1.2 | | |
| A*3002 | 18.3 | 2.3 | B*1401 | 0.0 | 2.3 | | | | DRB1*0801 | 0.5 | DQA1*0102.DQB1*0602 | 0.5 | | |
| その他 | | | その他 | | | | | | その他 | | その他 | | | |
| A*2402 | A*3303 | | B*5401 | B*4601 | | | | | DRB1*1602 | | DQA1*0102.DQB1*0604 | | | |
| A*0201 | A*7401 | | B*4201 | B*5501 | | Normal males | | | DRB1*0102 | | DQA1*0201.DQB1*0401 | | | |
| A*1101 | A*3201 | | B*4801 | B*4101 | | JPN=Japanese # =132 | | | DRB1*0402 | | DQA1*0301.DQB1*0201 | | | |
| A*3301 | A*6801 | | B*2705 | B*5901 | | MXN=Mexican # =424 | | | DRB1*0405 | | DQA1*0101.DQB1*0602 | | | |

%: 検出割合

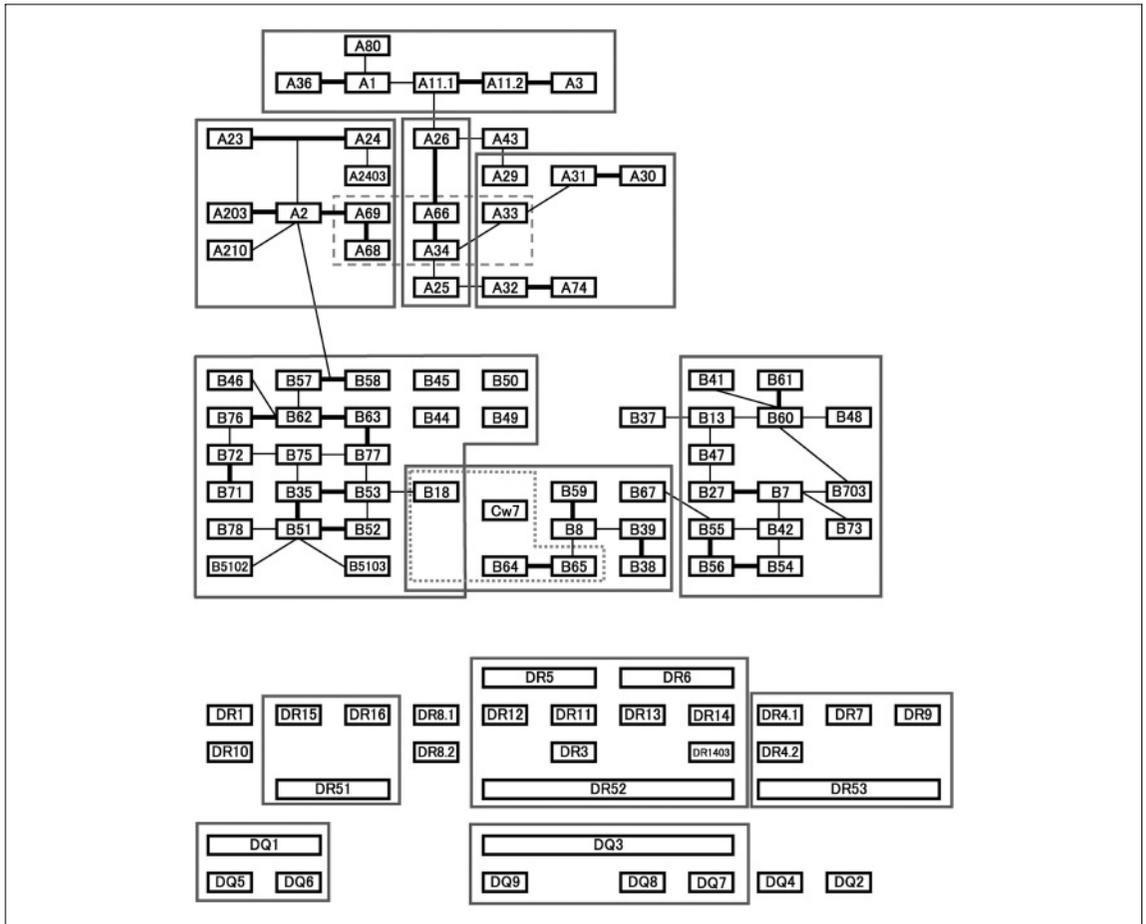


図4 交差反応抗原群の相関図, cross reactive map

る。低力価で特異的（狭い範囲の反応性）な自然抗体は移植臨床に影響がないと判断してよい。

IX. HLA 抗原エピトープ

HLA 抗体の最も特徴的な性質は「多様な交差反応」である。HLA はアレル間のジーン・コンバージョン（遺伝子交換）様の変異で進化してきた（DPB1 は例

外的にポイントミューテーションが主たる進化要因）。よって、アミノ酸配列を共有する抗原群があり、これがエピトープとなりうるものを「交差反応抗原群」として分類してきた（図4）。それを発展させたのがエピトープ解析である。初期には HLA のアミノ酸配列から共通項を見出して、仮想エピトープとして交差反応を説明していた。それを利用して移植のマッチン

表2 HLA クラス I 抗体が認識するエピトープ

| 仮の 名称 | アミノ酸の位置 | | | | | | アミノ酸 | エピトープをもつHLA allele | | | | | | | | | |
|----------|---------|-----|-----|-----|-----|----|--------|--------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|-----|--|
| | 35 | 45 | 46 | | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | +α | |
| I-0101 | 35 | 45 | 46 | | | | RMA | B*1301 | B*1501 | B*1502 | B*1512 | B*1513 | B*1516 | B*4601 | B*5701 | +1 | |
| I-0201 | 41 | 46 | 65 | | | | AAQ | B*1501 | B*1502 | B*1512 | B*1513 | B*4601 | | | | | |
| I-0301 | 43 | 62 | | | | | QR | A*2501 | A*2601 | A*3301 | A*3303 | A*3401 | A*6601 | A*6602 | A*6801 | +2 | |
| I-0302 | 43 | 69 | | | | | PA | B*0702 | B*1516 | B*2705 | B*2708 | B*4201 | B*5401 | B*5501 | B*5601 | +7 | |
| I-0303 | 43 | 69 | 76 | | | | PAE | B*0702 | B*1516 | B*2705 | B*2708 | B*4201 | B*5401 | B*5501 | B*5601 | +6 | |
| I-0401 | 45 | 62 | 65 | 66 | 69 | 71 | TRQITT | B*1801 | B*3501 | B*3701 | B*5101 | B*5102 | B*5201 | B*5301 | B*7801 | | |
| I-0501 | 62 | 63 | | | | | GE | A*0201 | A*0203 | A*0206 | A*0207 | B*5701 | B*5703 | B*5801 | | | |
| I-0502 | 43 | 62 | 66 | 76 | 79 | | Q6KVG | A*0201 | A*0203 | A*0206 | | | | | | | |
| I-0601 | 65 | 66 | 69 | | | | QIA | B*0702 | B*2705 | B*2708 | B*4201 | B*5401 | B*5501 | B*5601 | B*6701 | +3 | |
| I-0602 | 65 | 66 | 69 | 70 | | | RKAH | A*0201 | A*0203 | A*0206 | | | | | | | |
| I-0603 | 65 | 66 | 69 | 70 | | | QIAQ | B*0702 | B*4201 | B*5401 | B*5501 | B*5502 | B*5601 | B*6701 | B*8101 | +1 | |
| I-0604 | 65 | 66 | 70 | | | | GKH | A*2301 | A*2402 | A*2403 | | | | | | | |
| I-0605 | 65 | 66 | 70 | | | | RNH | A*0101 | A*2501 | A*2601 | A*3101 | A*3201 | A*3301 | A*3303 | A*3601 | +3 | |
| I-0606 | 65 | 69 | 70 | 73 | | | QRQT | B*4601 | Cw*0102 | Cw*0202 | Cw*0302 | Cw*0303 | Cw*0304 | Cw*0501 | Cw*0801 | +3 | |
| I-0607 | 66 | 69 | 70 | | | | KAH | A*0201 | A*0203 | A*0206 | A*2301 | A*2402 | A*2403 | | | | |
| I-0608 | 65 | 69 | 80 | | | | QTI | B*1513 | B*3801 | B*4901 | B*5101 | B*5102 | B*5201 | B*5301 | B*5901 | | |
| I-0701 | 67 | 163 | | | | | FT | B*5901 | B*0801 | | | | | | | | |
| I-0801 | 69 | 80 | 82 | 83 | | | TNRG | B*0801 | B*1401 | B*1402 | B*1501 | B*1502 | B*1503 | B*1510 | B*1512 | +13 | |
| I-0901 | 73 | 76 | 77 | | | | TEN | A*2301 | A*2402 | A*2403 | B*1301 | B*1513 | B*1516 | B*3801 | B*4402 | +10 | |
| I-0902 | 73 | 76 | 77 | | | | TVS | B*4601 | Cw*0102 | Cw*0302 | Cw*0303 | Cw*0304 | Cw*0801 | Cw*1402 | Cw*1601 | | |
| I-0903 | 73 | 76 | 77 | | | | TAN | A*0101 | A*1101 | A*1102 | A*2501 | A*2601 | A*2901 | A*2902 | A*3401 | +9 | |
| I-0904 | 73 | 76 | 77 | | | | IVD | A*3101 | A*3301 | A*3303 | | | | | | | |
| I-1001 | 76 | 163 | | | | | EE | B*0702 | B*1301 | B*2705 | B*2708 | B*4001 | B*4002 | B*4701 | B*4801 | +1 | |
| I-0905 | 76 | 77 | 80 | | | | ENI | A*2301 | A*2402 | A*2403 | B*1513 | B*1516 | B*3801 | B*4901 | B*5101 | +7 | |
| I-0906 | 76 | 77 | 80 | | | | ANT | A*0101 | A*2601 | A*2901 | A*2902 | A*3601 | A*4301 | A*8001 | | | |
| I-0907 | 79 | 80 | | | | | RI | A*2301 | A*2402 | A*2403 | A*2501 | A*3201 | B*1513 | B*1516 | B*3801 | +9 | |
| I-1101 | 80 | 90 | | | | | IA | A*2301 | A*2402 | A*2403 | A*3201 | B*1513 | B*1516 | B*3801 | B*4901 | +8 | |
| I-1102 | 82 | 83 | | | | | LR | A*2301 | A*2402 | A*2403 | A*2501 | A*3201 | B*1301 | B*1513 | B*1516 | +15 | |
| I-1103 | 90 | | | | | | D | A*0101 | A*1101 | A*1102 | A*2501 | A*2601 | A*3401 | A*3601 | A*4301 | +7 | |
| I-1201 | 109 | 163 | | | | | LT | B*0801 | B*1401 | B*1402 | B*1801 | B*3701 | B*3801 | B*3901 | B*3905 | +16 | |
| I-1301 | 127 | | | | | | K | A*0201 | A*0203 | A*0206 | A*2301 | A*2402 | A*2403 | A*6801 | A*6802 | +1 | |
| I-1401 | 138 | 142 | 144 | 145 | 149 | | MTKHA | A*0201 | A*0203 | A*0206 | A*6801 | A*6802 | A*6901 | | | | |
| I-1402 | 142 | 143 | 144 | | | | ISQ | B*4001 | B*4801 | B*8101 | Cw*1701 | | | | | | |
| I-1403 | 144 | 145 | 149 | | | | QRT | A*2501 | A*2601 | A*3401 | A*4301 | A*6601 | A*6602 | | | | |
| I-1501 | 149 | 150 | 151 | | | | AAH | A*0201 | A*0203 | A*0206 | A*0301 | A*1101 | A*1102 | A*2402 | A*2403 | +3 | |
| I-1502 | 150 | 151 | 152 | | | | AHA | A*1101 | A*1102 | | | | | | | | |
| I-1503 | 150 | 151 | 152 | | | | AHV | A*0201 | A*0206 | A*2402 | A*2403 | A*6801 | A*6802 | A*6901 | | | |
| I-1504 | 150 | 151 | 152 | | | | ARE | B*0702 | B*1401 | B*1402 | B*1501 | B*1502 | B*1503 | B*1510 | B*1512 | +25 | |
| I-1601 | 163 | 166 | 167 | | | | EEW | A*6602 | B*0702 | B*1301 | B*2705 | B*2708 | A*4001 | B*4002 | B*4701 | +5 | |
| I-1602 | 163 | 166 | 167 | | | | LEW | B*1501 | B*1502 | B*1503 | B*1510 | B*1513 | B*1516 | B*3501 | B*4005 | +15 | |
| I-1603 | 163 | 166 | 167 | | | | REW | A*1101 | A*1102 | A*2501 | A*2601 | A*4301 | A*6601 | | | | |
| I-1604 | 166 | 167 | | | | | D6 | A*0101 | A*2301 | A*2402 | A*8001 | B*1512 | | | | | |
| I-1605 | 163 | | | | | | R | A*0101 | A*1101 | A*1102 | A*2501 | A*2601 | A*4301 | A*6601 | | | |
| I-1701 | 177 | 178 | | | | | DK | B*0702 | B*4001 | B*4801 | B*8101 | | | | | | |
| I-1801 | 184 | 207 | | | | | AS | A*0201 | A*0203 | A*0206 | A*2501 | A*2601 | A*2901 | A*2902 | A*3101 | +12 | |
| I-1901 | 267 | 268 | | | | | PE | Cw*0102 | Cw*0202 | Cw*0302 | Cw*0303 | Cw*0304 | Cw*0401 | Cw*0501 | Cw*0602 | +6 | |
| I-1902 | 267 | 268 | | | | | QE | B*7301 | Cw*0702 | Cw*1701 | | | | | | | |

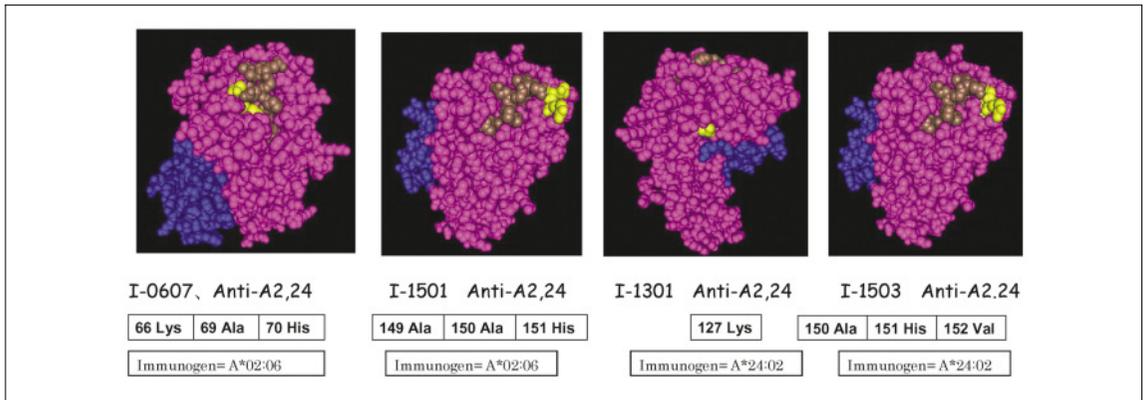


図5 エピトープの例示

抗-A2+24 の特異性をもつ抗体が認識するエピトープの4例を示す。左2例は免疫原が A*0206 で、右2例は A*2402 である。I-1501 と I-1503 は非常に近い位置の似たアミノ酸配列であるが、交差反応が微妙に違う。

※表2を参照。

グを予想しようとする「HLA マッチ・メーカー」という有名なソフトウェア (Excel のマクロ) が使用されてきた¹⁶⁾。われわれは免疫原となる抗原が特定できる妊婦血清を得て、single antigen coated beads 法を用いてエピトープ解析を行ってきた。輸血歴のない妊婦に HLA 抗体が検出されるとき、その免疫原は Haplo-identical の児に存在する父由来 HLA 抗原 (inherited paternal antigens) に限定され、座位あたり最大1抗原である。反応陽性となる allele/抗原群と免疫原 HLA との共通エピトープ (SP) を「赤座 Epigraph ソフトウェア (Excel のマクロ) (赤座達也の好意による) で解析した。その結果を表2にまとめ、その一部を図5に図示する¹⁷⁾。また、単一 HLA 抗原で吸収後解離して得た HLA 抗体を用いた解析もすすめている。

われわれは HLA エピトープ解析をすすめる、抗体産生につながりやすいエピトープ (immunodominant epitope) を解明し、HLA の組み合わせによって液性免疫が刺激されやすいものと、抗体レスポンスが起りにくい組み合わせを予知できるようにしたいと考えている。これにより、移植の予後推測が期待されるからである¹⁷⁾。

文献

- 1) Terasaki PI, Cai J. Human leukocyte antigen antibodies and chronic rejection: from association to causation. *Transplantation* 2008; 86: 377-383.
- 2) Fujiwara K, Shimano K, Tanaka H, *et al.* Application of bead array technology to simultaneous detection of human leukocyte antigen and human platelet antigen antibodies. *Vox Sang* 2009; 96: 244-251.
- 3) Tambur AR, Ramon DS, Kaufman DB, *et al.* Perception versus reality?: Virtual crossmatch—how to overcome some of the technical and logistic limitations. *Am J Transplant* 2009; 9: 1886-1893.
- 4) Gutman JA, McKinney SK, Pereira S, *et al.* Prospective monitoring for alloimmunization in cord blood transplantation: “virtual crossmatch” can be used to demonstrate donor-directed antibodies. *Transplantation* 2009; 287: 415-418.
- 5) Zachary AA, Sholander JT, Houpp JA, *et al.* Using real data for a virtual crossmatch. *Hum Immunol* 2009; 70: 574-579.
- 6) Bingaman AW, Murphey CL, Palma-Vargas J, *et al.* A virtual crossmatch protocol significantly increases access of highly sensitized patients to deceased donor kidney transplantation. *Transplantation* 2008; 86: 1864-1868.
- 7) Fifteen years of HL-A: what is the importance of HLA compatibility for clinical outcome of renal transplantations? *Vox Sang* 1978; 34: 171-188.
- 8) Kaneku HK, Terasaki PI. Thirty years trend in kidney transplants: UCLA and UNOS Renal Transplant Registry. *Clin Transpl* 2006: 1-27.

- 9) Ashihara E, Tsuji H, Sakashita H, *et al.* Antidonor antibody in patients receiving ABO-identical and HLA-mismatched living donor liver transplants: effect on survival. *Transplantation* 2007; 83: 506-509.
- 10) Everly MJ, Terasaki PI. Monitoring and treating post-transplant human leukocyte antigen antibodies. *Hum Immunol* 2009; 70: 655-659.
- 11) Rebellato LM, Zadeh S, Ozawa M, *et al.* Mycophenolic acid may reduce donor specific HLA antibody strength in kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2009; 9 (Suppl 2): 641 (Abstract).
- 12) Becker YT, Becker BN, Pirsch JD, *et al.* Rituximab as treatment for refractory kidney transplant rejection. *Am J Transplant* 2004; 4: 996-1001.
- 13) Idica A, Kaneku H, Everly MJ, *et al.* Elimination of post-transplant donor-specific HLA antibodies with bortezomib. *Clin Transpl* 2008; 229-239
- 14) Trivedi HL, Kaneku H, Terasaki PI, *et al.* Clonal deletion using total lymphoid irradiation with no maintenance immunosuppression in renal allograft recipients. *Clin Transpl* 2009, 265-280.
- 15) El-Awar N, Terasaki PI, Nguyen A, *et al.* Epitopes of human leukocyte antigen class I antibodies found in sera of normal healthy males and cord blood. *Hum Immunol* 2009; 70: 844-853.
- 16) Silva E, Alba A, Castro A, *et al.* Evaluation of HLA Matchmaker compatibility as predictor of graft survival and presence of Anti-HLA antibodies. *Transplant Proc* 2010; 42: 266-269.
- 17) Maruya E, Sasaki N, El-Awar N, *et al.* Immunogenic HLA class I epitopes identified by humoral response to pregnancies. *Clin Transpl* 2008; 215-227.