



# HLA検査に必要なHLAの基礎知識(3)

2021/6/26

ベリタスWeb講演会

中島文明

## HLA検査に必要なHLAの基礎知識（3）

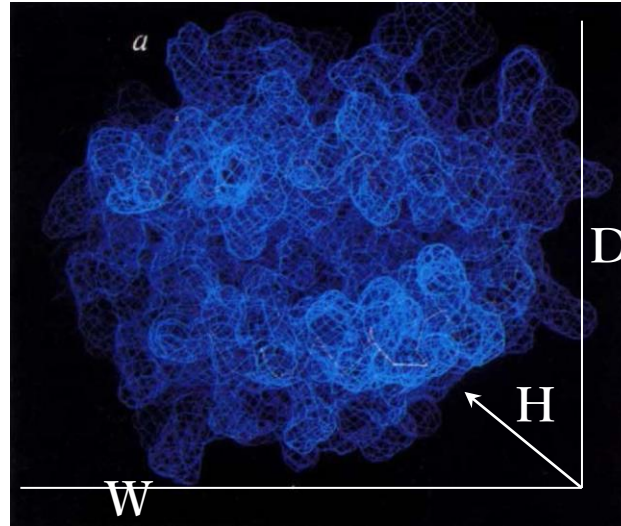
- ・補体結合性HLA抗体
- ・補足：Epitope Matching／Analysis
- ・HLAの基礎知識をどのように臨床に応用するか？

# 補体結合性HLA抗体

リンパ球  
6~15 $\mu\text{m}$

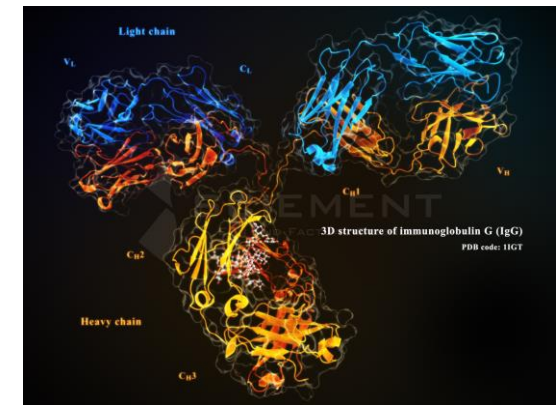
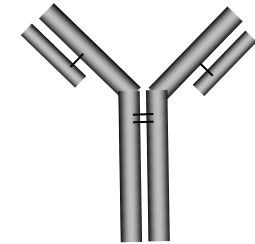


HLA抗原  
40x50x70 Å (DWH)  
MW  $\approx$  60,000



Bjorkman PJ, et al. *Nature* **329**: 506–512, 1987

HLA抗体(IgG)  
10~15nm  
MW  $\approx$  150,000



$\mu\text{m} = 10^{-6}\text{m}$   
 $\text{nm} = 10^{-9}\text{m}$   
 $\text{Å} = 10^{-10}\text{m}$

<http://www.sciement.com/jp/works/prerender/IgG.html>

リンパ球とHLA抗原のサイズ感で最も近いのは？

Lymphocytes

(スライド上のサイズ)

20cm

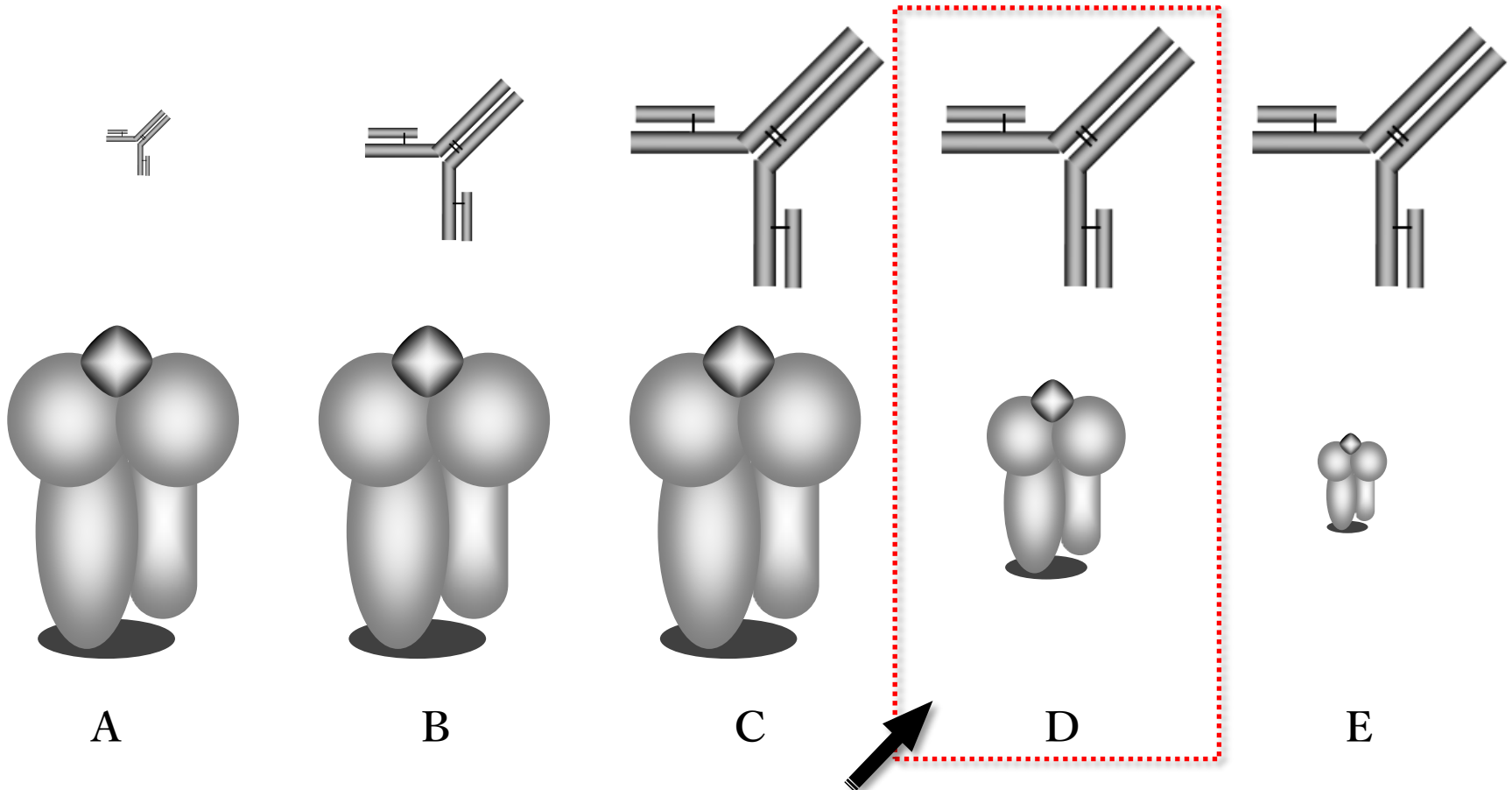
(スライド上のサイズ)

- |     |   |        |
|-----|---|--------|
| ←   | A | 0.02cm |
| ←   | B | 0.05cm |
| • ← | C | 0.1cm  |
| • ← | D | 0.2cm  |
| ● ← | E | 0.5cm  |

リンパ球：6~15 $\mu$ m  
→6,000~15,000nm  
HLA抗原：70 Å →7nm

7/6,000~15,000  
≒1/1,000~2,000

HLA抗体とHLA抗原のサイズ感で最も近いのは？

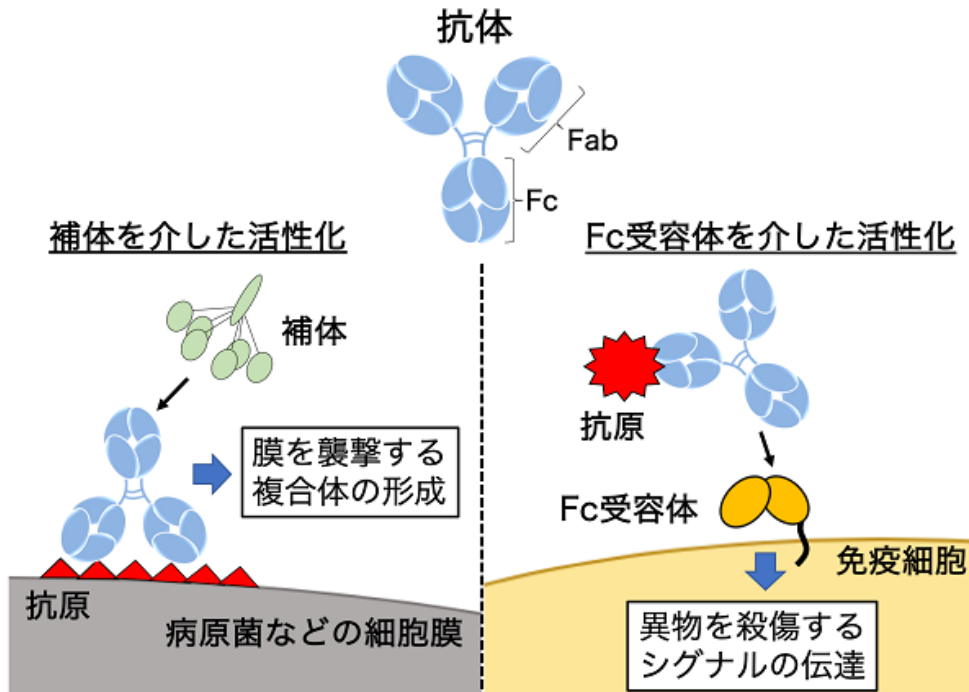


HLA抗体：10~15nm, HLA抗原：70Å → 7nm  
7/10~15 ≒ 1/1.5~2

# 抗体の役割

**Fab (antigen binding) :** 抗原結合部位を含む部位、重鎖と軽鎖の可変領域

**Fc (constant) :** 補体活性化やFc受容体へ結合する部位、重鎖と軽鎖の定常領域



補体成分を介した免疫機能と免疫細胞を介した免疫機能の発動モデル

異物が体内に侵入すると、それを認識する抗体が産生されるが、抗体だけでは異物を排除できない。免疫細胞や血清中に存在する補体成分の介助が必要で、Fab部分で抗原を認識し、Fc部分で免疫細胞や補体成分と結合する。補体活性化は、異物の表面上の抗原を認識した**抗原抗体複合体**に、血清中の補体成分が誘導され、異物の膜上に穴を開けることで殺傷する。

# 抗体の役割

表 1: 免疫グロブリンのサブクラス

| クラス/<br>(サブクラス)  | 重鎖   | 軽鎖                     | MW<br>(kDa) | 構造      | 機能   |
|--|--|------------------------|-------------|---------|--|
| IgA1<br>IgA2   | $\alpha$ 1<br>$\alpha$ 2   | $\lambda$ または $\kappa$ | 150~<br>600 | 単量体~四量体 | 最も多く産生されているIg; 粘膜表面を保護; 断片化処理に耐性あり; 乳中に分泌される                           |
| IgD  | $\delta$   | $\lambda$ または $\kappa$ | 150         | 単量体     | 機能不明; B細胞の発生においてIgMと共に作用; 主にB細胞に結合している                                 |
| IgE  | $\epsilon$   | $\lambda$ または $\kappa$ | 190         | 単量体     | 寄生生物に対する防御; アレルギー反応を引き起こす  |
| IgG <sub>1</sub><br>IgG <sub>2a</sub><br>IgG <sub>2b</sub><br>IgG <sub>3</sub><br>IgG <sub>4</sub> | $\gamma$ 1<br>$\gamma$ 2<br>$\gamma$ 2<br>$\gamma$ 3<br>$\gamma$ 4 | $\lambda$ または $\kappa$ | 150         | 単量体     | 血清中における主なIg; オプソニン化に優れている; 中程度の補体結合作用を有する (IgG <sub>3</sub> ); 胎盤透過性あり |
| IgM  | $\mu$  | $\lambda$ または $\kappa$ | 900         | 五量体     | 一次反応抗体; 強力な補体結合作用を有する; オプソニン化に優れている                                    |

抗体ガイドブック 3版

<https://www.sigmaaldrich-jp.com/catalog/?freeword=RBM041>

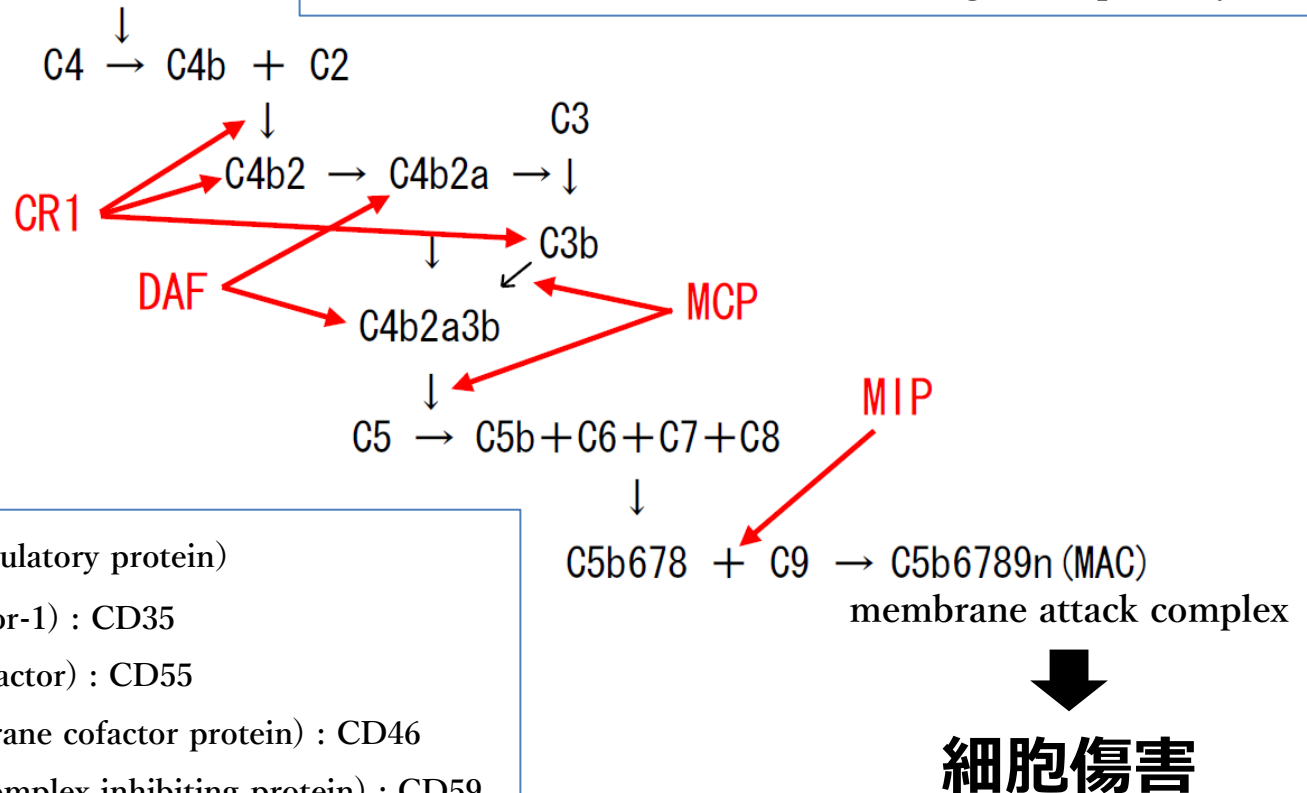
**補体結合性の強度 : IgM > IgG<sub>3</sub> > IgG<sub>1</sub>**



# 補体活性化経路

## 補体活性化古典経路

抗原抗体複合体 + C1qrs



### 補体活性化経路

古典経路

(classical pathway)

副経路

(alternative pathway)

レクチン経路

(mannose binding lectin pathway)

### 補体制御蛋白 (complement regulatory protein)

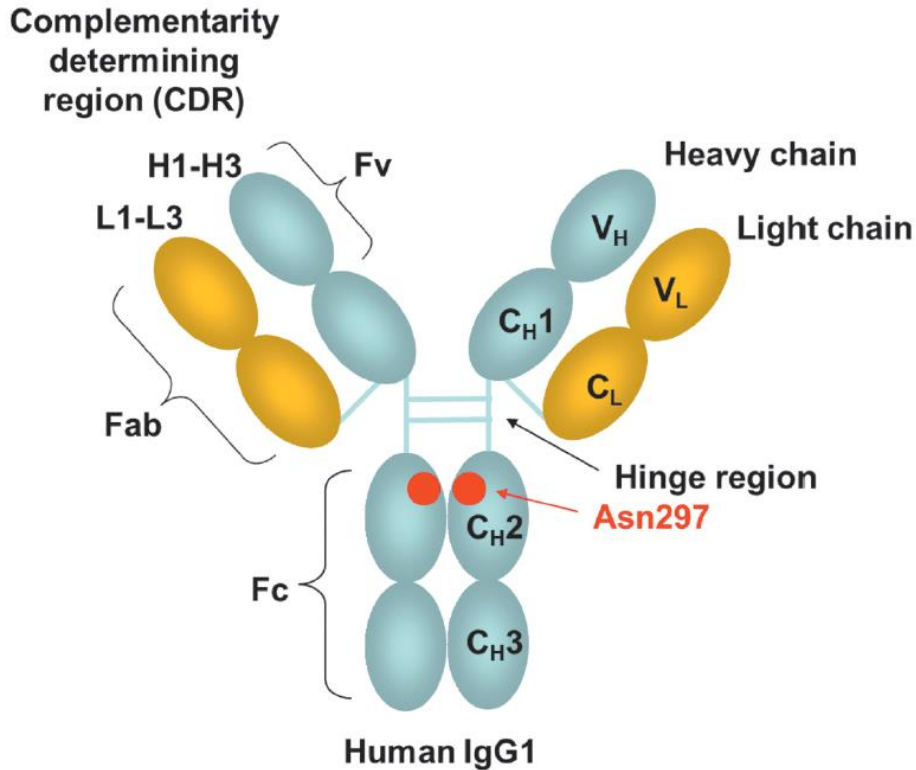
**CR1** (complement receptor-1) : CD35

**DAF** (decay accelerating factor) : CD55

**MCP** (complement membrane cofactor protein) : CD46

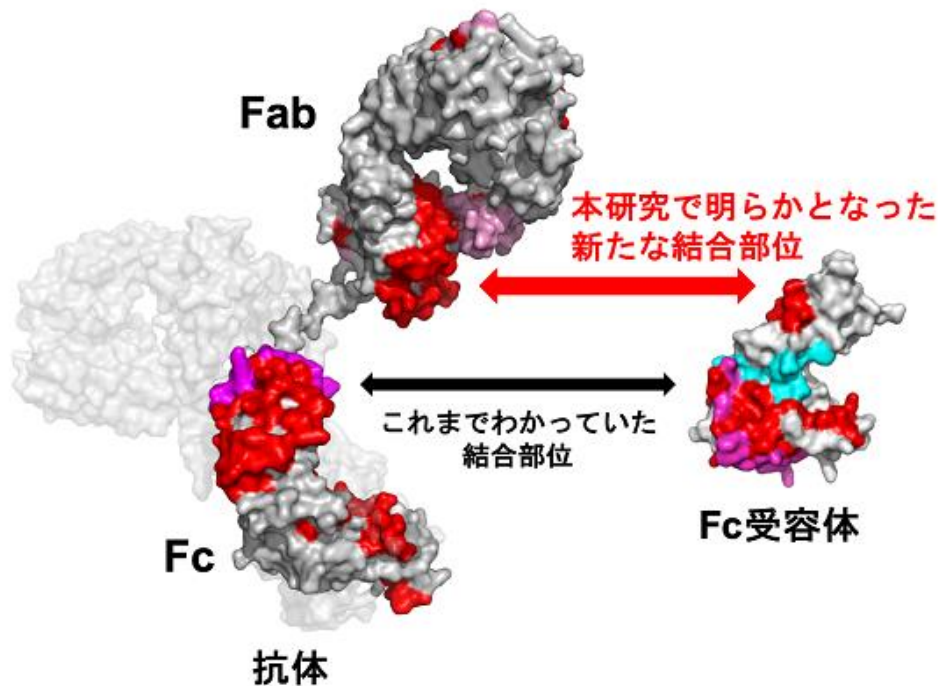
**MIP** (membrane attack complex inhibiting protein) : CD59

# 補体の結合部位



ヒトIgG1は、2本のH鎖と2本のL鎖がジスルフィド結合で連結しており、Fc領域のAsn297には1対の2本鎖糖鎖が結合している。糖鎖はFc領域特にC<sub>H</sub>2ドメインの立体構造の維持に役割を果たしており、これを取り除くとFc受容体との結合や補体活性化が著しく低下あるいは喪失することが報告されてきた。(一部略)

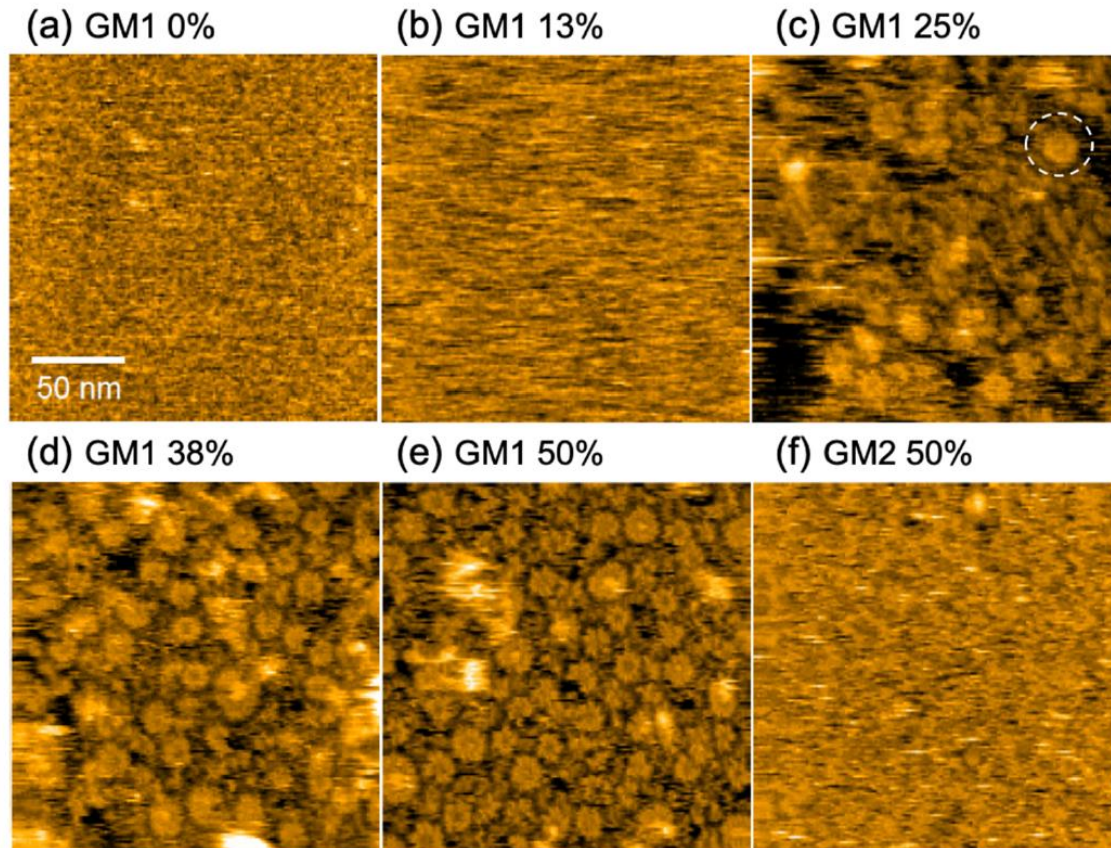
# 補体の結合部位



抗体とFc受容体が結合する様子を高速原子間力顕微鏡で観測し、抗体が結合している時間を観測すると、抗体は全長の方が強く結合することが明らかとなった。Fc受容体はFc部分と結合すると考えられていたが、**Fab部分も結合に関わる**ことが示唆された。水素重水素質量分析法を用いて解析を行い左図に示す場所が結合に関わることを示唆された。(一部略)

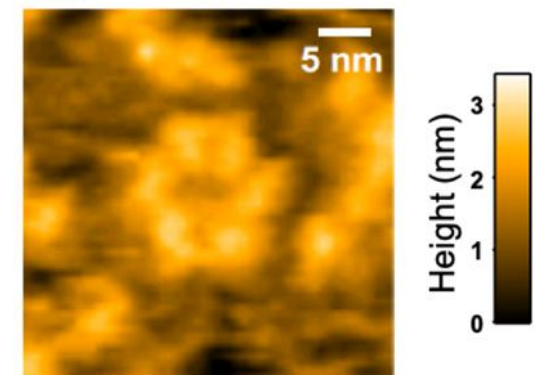
<https://academist-cf.com/journal/?p=12589>  
参考: Yogo R, et al. *Sci Rep.* **9**(1):11957, 2019

# 抗体結合のイメージング

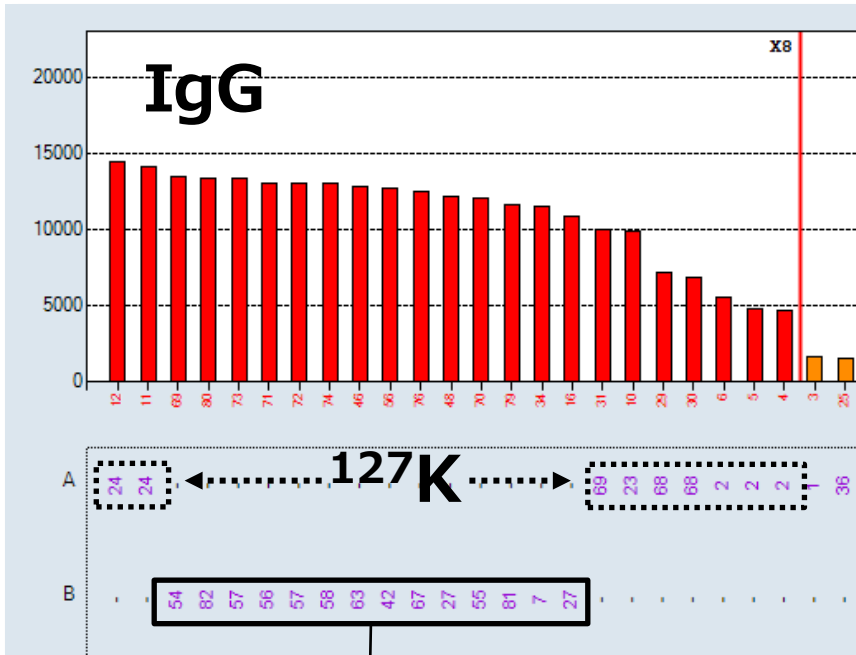


高速原子間力顕微鏡(HS-AFM)でイメージングした、ヒトガングリオシドGM1固相膜に結合するIgGの抗原依存性六量体環形成。このIgGリング特異的に補体成分C1qの動員を認めた(動画あり)。

(g)

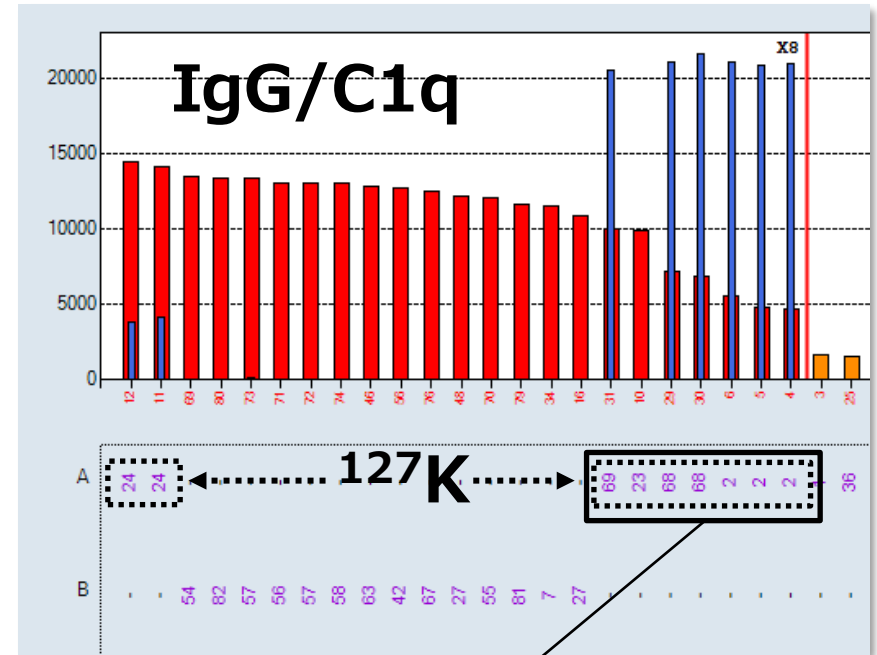


SH2704 (JSHI-19<sup>th</sup>. QCWS/2015)



**7<sup>1</sup>AQT, 7<sup>6</sup>E**

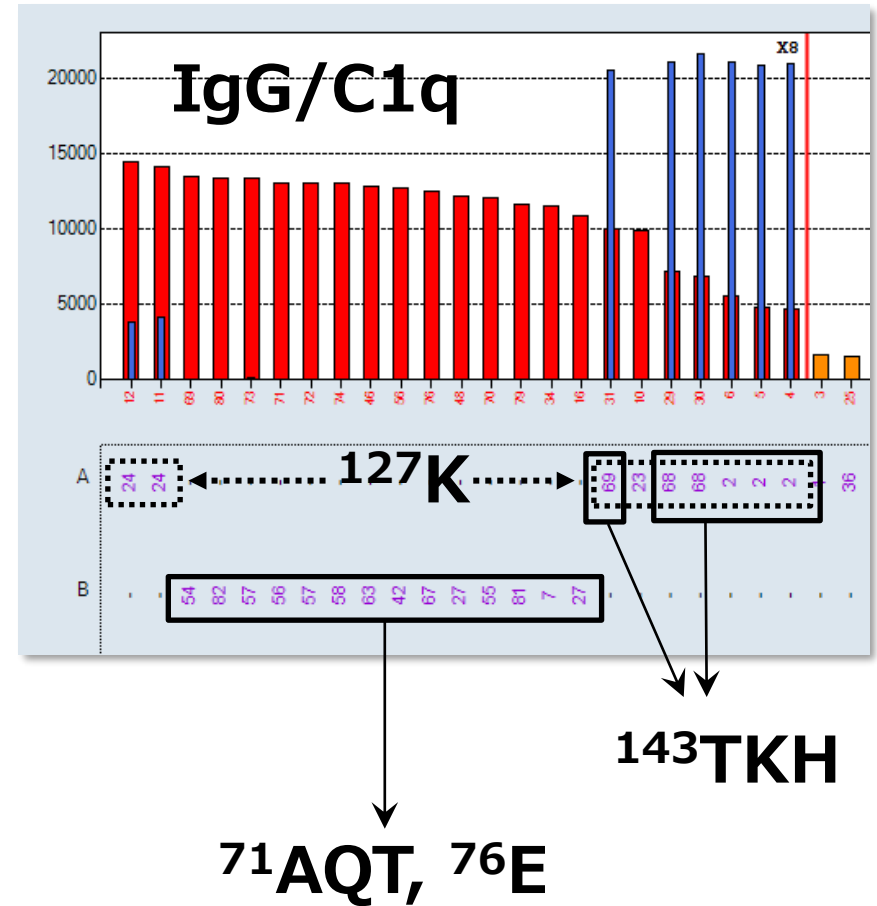
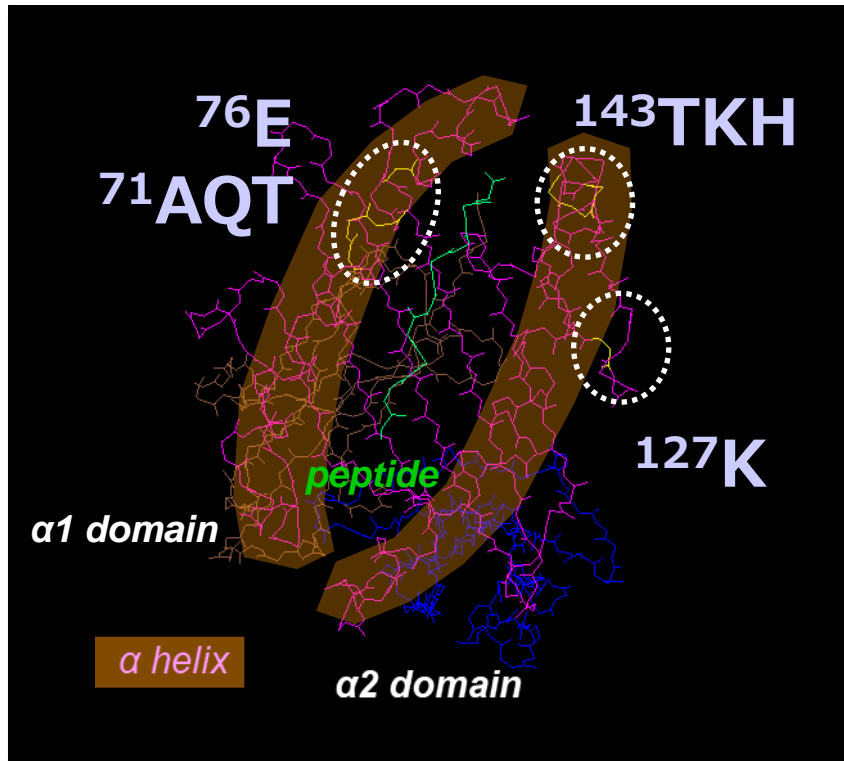
単に結合しているだけの反応



**143TKH**

補体を誘導できる準備ができている反応

SH2704 (JSHI-19<sup>th</sup>. QCWS/2015)



SH1706 (JSHI-9<sup>th</sup>. QCWS/2005)

### LABScreen(Single Antigen)

A66+B7+B13+B27+B41+B44+B45+B47+B48+B49+B50+B4005+B60+B61+B81+Cw2+Cw17

Epitope analysis → none

### LCT

B13+B47+B60+B61

Epitope analysis → <sup>41</sup>T, <sup>163</sup>E

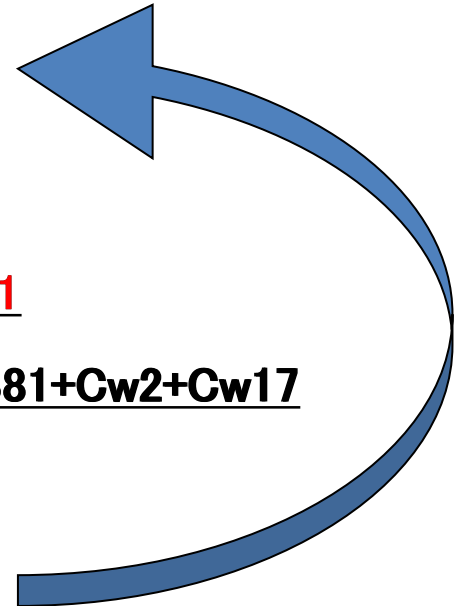
### Allele Match (赤座エピマップ)

<sup>41</sup>T B13+B41+B44+B45+B47+B49+B50+B4005+B60+B61

<sup>163</sup>E A66+A80+B7+B13+B27+B47+B48+B60+B61+B73+B81+Cw2+Cw17



B13+B47+B60+B61  
= LCT specificity



# Epitope Analysis

## Case 2 エピトープと補体結合性



|        |  |  |
|--------|--|--|
| AA Pos | 3679124679014801234567134567245678912345679012346789012340 | 1245792356789012345602701782345678901268912356715782 |
|--------|--|--|

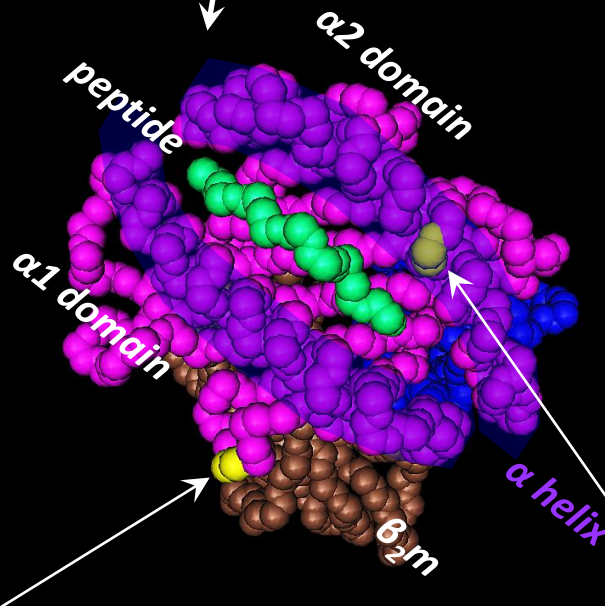
41T(α1), 163E(α2)の組合せでLCT特異性  
 と一致するが、Epletは共通? 別々?

|         |                           |
|---------|---------------------------|
| A-Cons. | HRYFSVRGREPRAVDTQFVRFDAQR |
| A*66:02 | ---Y-----                 |
| A*80:01 | -----S-Q-----             |

|                        |
|------------------------|
| KWEAAHVLA YEGTVEWYGETT |
| ---T--EW---E-----      |
| -----RR---E-DG----     |

|         |   |
|---------|---|
| B-Cons. | HRYIAMRGREPRAVDTQFVRFDAPREEPIQEGPEYDRNTQISTNTQYESLRLRGLYA |
| B*08:01 | ---D-----S-----I  |
| B*07:02 | ---SV-----S-----}   |
| B*27:04 | ---HSV-----T--L-----E-(                                   |
| B*27:05 | ---HSV-----T--L-----E-(                                   |
| B*13:01 | ---T-----T-MA-----E-                                      |
| B*13:02 | ---T-----T-MA-----E-                                      |
| B*40:01 | ---H-----T--L-----T-K-----E-                              |
| B*40:02 | ---HSV-----T--L-----T-K-----E-                            |
| B*40:03 | ---HSV-----T--L-----T-K-----E-                            |
| B*40:06 | ---HSV-----T--L-----T-K-----E-                            |
| B*47:01 | ---T-----T-MA-----E-                                      |
| B*41:01 | ---H-----T--L-----T-K-----E-                              |
| B*42:01 | ---T-----T-MA-----E-                                      |
| B*44:02 | ---T-----T-K-----E-                                       |
| B*44:03 | ---T-----T-K-----E-                                       |
| B*45:01 | ---H-----T--L-----T-K-----E-                              |
| B*49:01 | ---H-----T--L-----T-K-----E-                              |
| B*50:01 | ---H-----T--L-----T-K-----E-                              |
| B*40:05 | ---HSV-----T--L-----T-K-----E-                            |
| B*73:01 | ---HSV-----T-----E-                                       |
| B*48:01 | ---SV-----S-----E-  |
| B*81:01 | ---SV-----S-----E-  |

SH1706  
 LCT



|   |
|---|
| GSTLRYDVPDGRLLRGNQYGDNLSDTITQKWEAARVLA YEGLEVWYGETA |
| -----D---T---D---                                   |
| -----ER---E---DK-                                   |
| -----E---E---                                       |
| ---L---E---   |
| ---L---E---DK-                                      |
| ---L---E---   |
| ---L---E---DK-                                      |
| ---L---E---   |
| ---L---E---   |
| ---D---T---DK-                                      |
| ---D---T---DK-                                      |
| ---D---S---   |
| ---D---S---   |
| ---D---S---   |
| ---E---   |
| ---E---   |
| ---E---H---   |
| ---L---E---DK-                                      |
| ---L---E---DK-                                      |

|         |   |
|---------|---|
| C-Cons. | HRYAVRGREPRAVDTQFVRFDAPRGE PVQEGPEYDRDTQK |
| C*02:02 | ---S--H-----N-K-----                      |
| C*17:01 | -----A-N-K-----                           |

|                           |
|---------------------------|
| QRKWEAARELAYEGTVEWYGETA   |
| -----W---E---             |
| -----I-----N-F---S---L--- |
| -----E---                 |

41T

163E



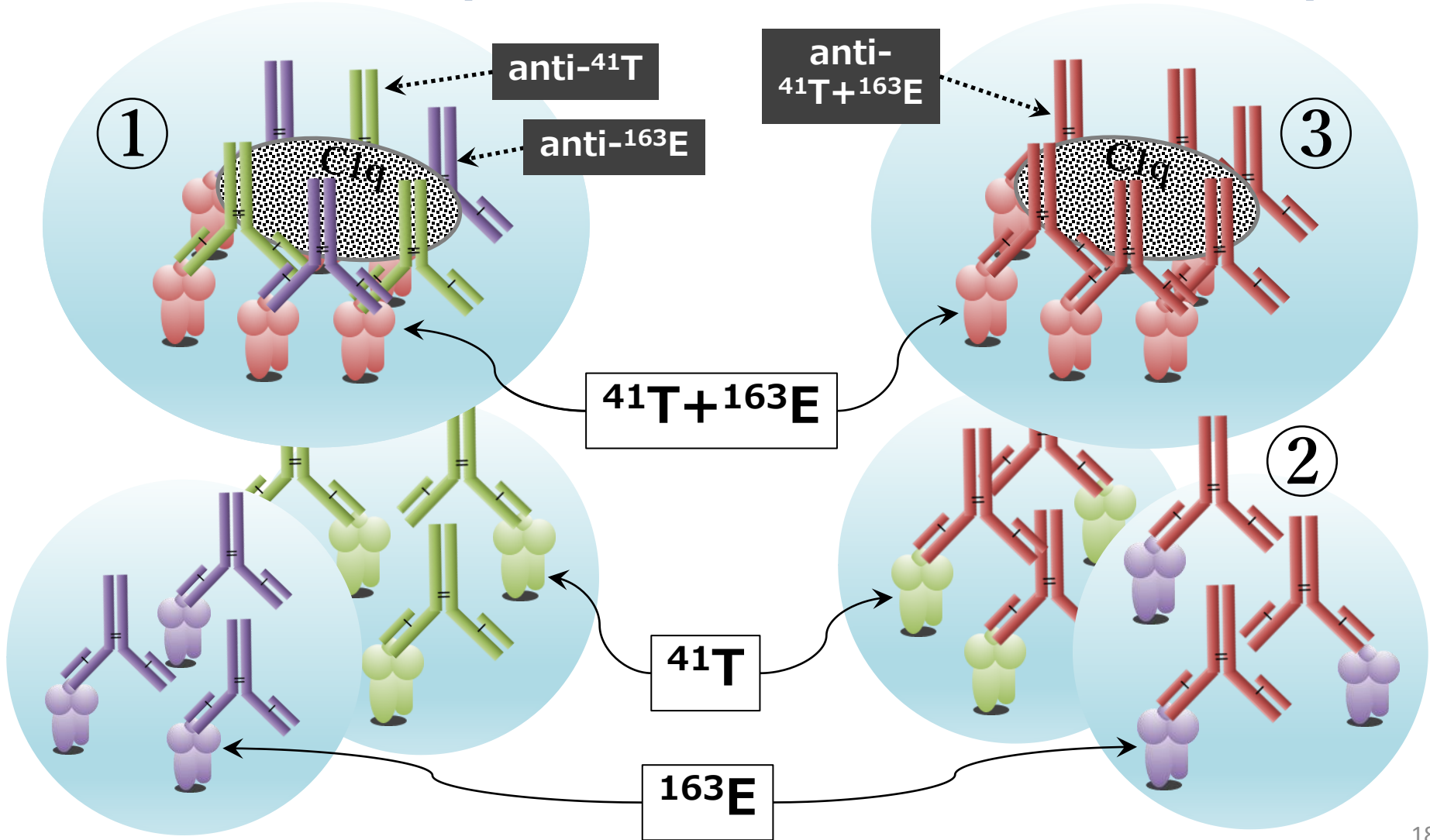
| LCT法<br>抗体特異性 | アミノ酸置換   |          | LABScreen<br>抗体特異性 |
|---------------|----------|----------|--------------------|
|               | 41       | 163      |                    |
|               |          | E        | A66                |
|               |          | E        | B7                 |
| <b>B13</b>    | <b>T</b> | <b>E</b> | <b>B13</b>         |
|               |          | E        | B27                |
|               | T        |          | B41                |
|               | T        |          | B44                |
|               | T        |          | B45                |
| <b>B47</b>    | <b>T</b> | <b>E</b> | <b>B47</b>         |
|               |          | E        | B48                |
|               | T        |          | B49                |
|               | T        |          | B50                |
|               | T        |          | B4005              |
| <b>B60</b>    | <b>T</b> | <b>E</b> | <b>B60</b>         |
| <b>B61</b>    | <b>T</b> | <b>E</b> | <b>B61</b>         |
|               |          | E        | B81                |
|               |          | E        | Cw2                |
|               |          | E        | Cw17               |

表 6 LCT法およびLABScreenで検出された抗体特異性の差とそれぞれの対象抗原のアミノ酸置換の共通性

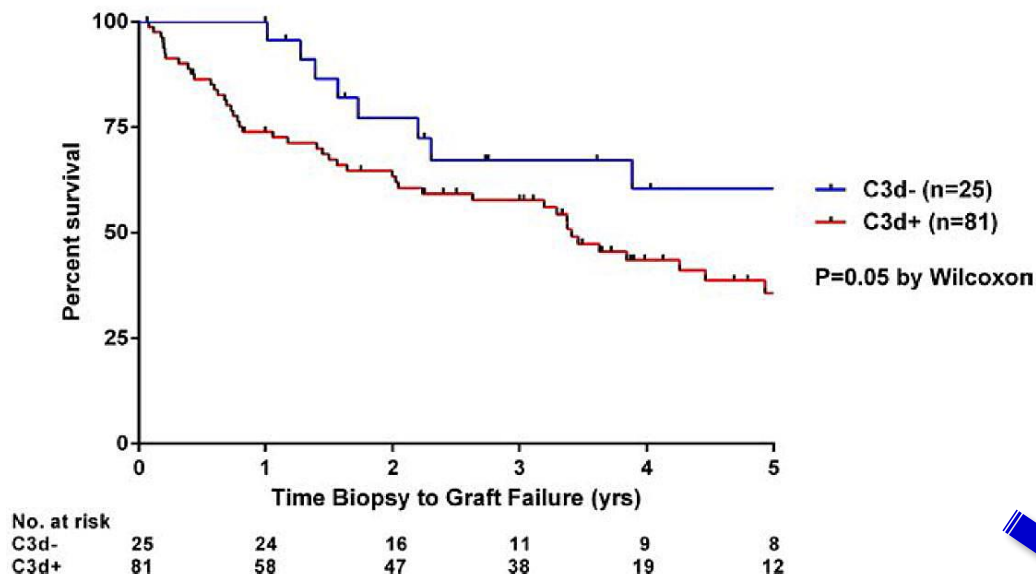
- ①  $41T$ と $163E$ に対する2種類の抗体が含まれ、検出感度差と抗体の量的効果で、LCT法は共通抗原のみ反応した。  
→  $41T$ と $163E$  別々のEplet
- ②  $41T$ と $163E$ 同時に反応する抗体であり、共通でない部分(表6 黒字抗原)は結合力が弱くLCT法では反応しなかった。  
→  $41T/163E$  共通のEplet
- ③  $41T$ と $163E$ 同時に反応した場合のみ(表6 赤字抗原)、補体活性が惹起されLCT法が反応した。  
→  $41T/163E$  共通のEplet

### 41Tと163E 別々のEplet

### 41T/163E 共通のEplet

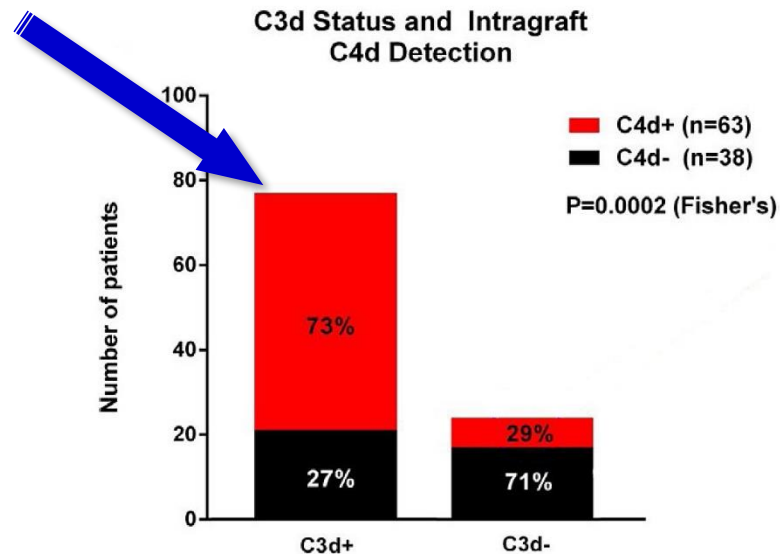


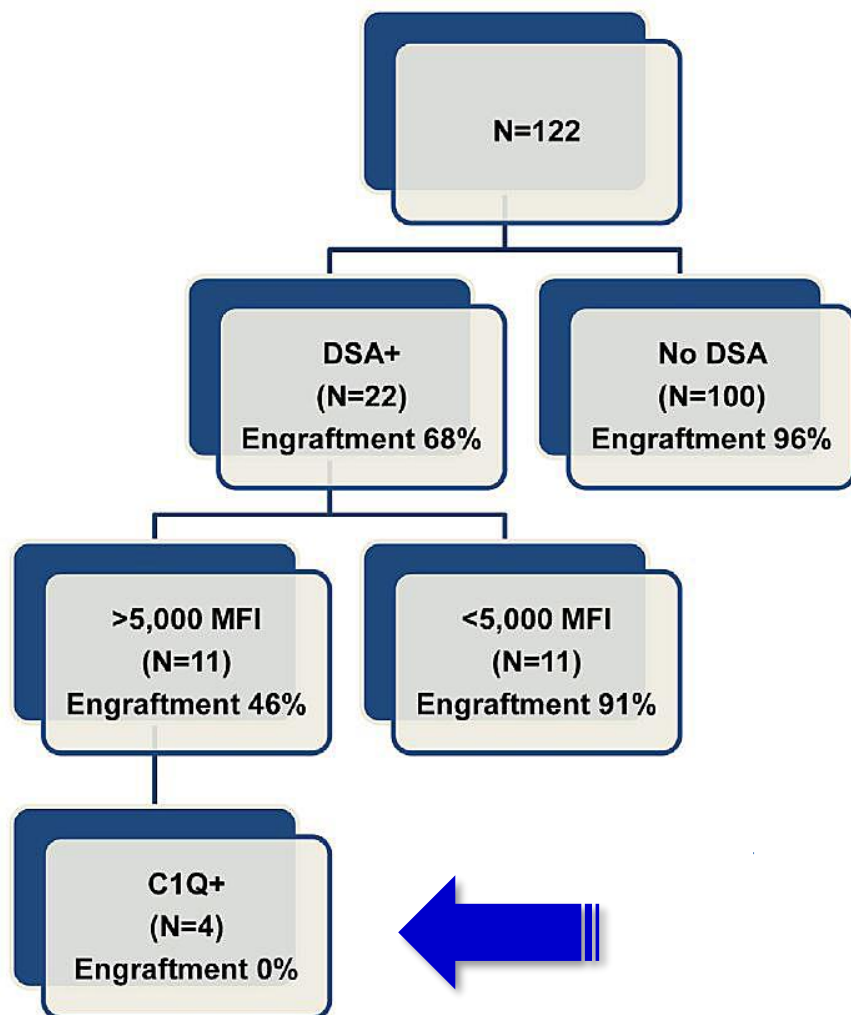
Death-censored graft survival by C3d status



Lan JH et al.  
 Clinical utility of complement- dependent C3d assay in kidney recipients presenting with late allograft dysfunction.  
*Am J Transplant* 18, 2018

腎臓移植患者106症例の5年経過観察中に循環機能不全時の81例(76.4%)がC3d+DSAであった。  
 また、**C3d+DSA群は、腎生検で73%がC4d+**であった。  
 一方、C3d-C4d-群は76%がSingle DSAであった。

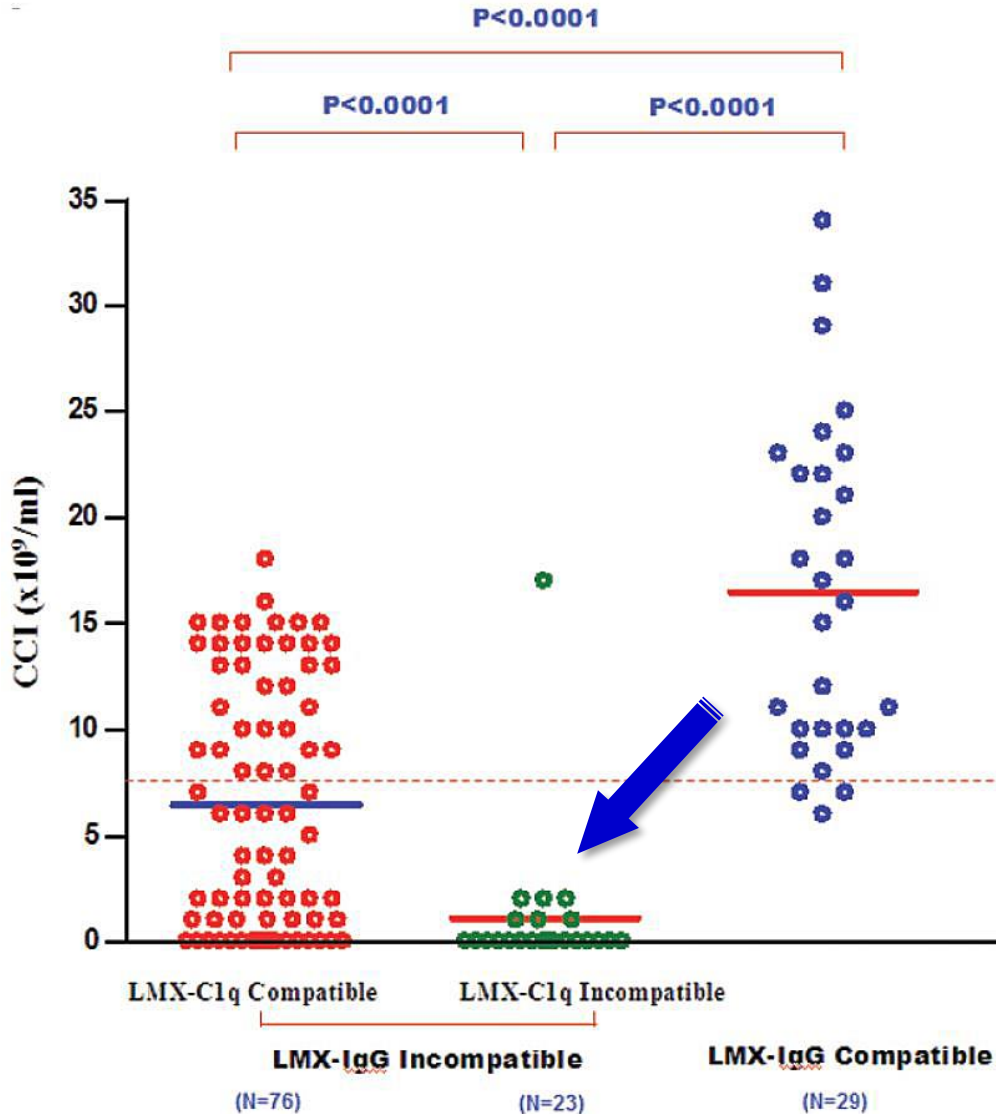




122症例のハプロ移植において、22例がDSAを保有しており、その中で**MFI>5,000かつC1q陽性の4例は、すべて生着不全**となった。高いMFI値とC1q拘束力がある補体結合DSAは、著しく生着率の低下を招くことを示した。

Ciurea SO et al. Complement-Binding Donor-Specific Anti-HLA Antibodies and Risk of Primary Graft Failure in Hematopoietic Stem Cell Transplantation.

*Biol Blood Marrow Transplant* 21, 2015



高度に感作された血小板輸血不応患者13名のHLA抗体と輸血された血小板製剤とのHLA適合を調べCCIで評価。  
 ABO型適合・IgG不適合グループのうち**C1q不適合が有意にCCI低値**であった。

Fontaine MJ et al.  
 Complement (C1q) fixing solid-phase screening for HLA antibodies increases the availability of compatible platelet components for refractory patients.  
*Transfusion* 51, 2011

# まとめ

- ◆ 抗体は抗原に結合することが最終目的ではなく、補体活性や免疫シグナルを惹起することが目的
- ◆ シングル試薬で検出するHLA抗体は、単なる結合と免疫応答の準備が整った結合が混在している
- ◆ **Case1**は、nMFI値のみで判断できない補体結合性抗体の存在を示した
- ◆ **Case2**は、シングル試薬で決定した個々のエピトープだけでは、補体活性を誘導するエプレットに辿り着けないことを示した
- ◆ 移植・輸血医療においては、補体結合性抗体を排除することが臨床成績に有意な効果をもたらす

# 補足 : Epitope Matching / Analysis

# Epitope Matching

## ◆ 各ローカス単独でミスマッチ検索した場合

| Locus    | Patient             | Donor               | A<br>Mismatch<br>All   | A#<br>Mismatch<br>All | B<br>Mismatch<br>All      | B#<br>Mismatch<br>All | C<br>Mismatch<br>All | C#<br>Mismatch<br>All |
|----------|---------------------|---------------------|--|-----------------------|---------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|
| <b>A</b> | A*26:01,<br>A*31:01 | A*26:01,<br>A*24:02 | 9S, 62EE, 65GK, 66K,<br>66KA, 66KH, 76EN, 80I,<br>81ALR, 82LR, 95L, 99F,<br>114H, 116Y, 127K, 144K,<br>144KR, 149AH, 150AAH,<br>151AHV, 156QA, 166DG,<br>193PI | 23                    |                           |                       |                      |                       |
| <b>B</b> | B*40:02,<br>B*51:01 | B*40:02,<br>B*59:01 |  |                       | 45EE, 103L, 116L,<br>163T | 4                     |                      |                       |
| <b>C</b> | C*03:04,<br>C*14:02 | C*03:04,<br>C*01:02 |  |                       |                           |                       | 9F, 24S, 248M        | 3                     |



# Epitope Matching

## ◆ まとめて検索するとミスマッチが減るのはなぜか？

| Locus      | Patient   | Donor   | A<br>Mismatch<br>All   | A#<br>Mismatch<br>All | B<br>Mismatch<br>All      | B#<br>Mismatch<br>All | C<br>Mismatch<br>All | C#<br>Mismatch<br>All |
|------------|---|---|--|-----------------------|---------------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|
| <b>A</b>   | A*26:01,<br>A*31:01   | A*26:01,<br>A*24:02   | 9S, 62EE, 65GK, 66K,<br>66KA, 66KH, 76EN, 80I,<br>81ALR, 82LR, 95L, 99F,<br>114H, 116Y, 127K, 144K,<br>144KR, 149AH, 150AAH,<br>151AHV, 156QA, 166DG,<br>193PI | 23                    |                           |                       |                      |                       |
| <b>B</b>   | B*40:02,<br>B*51:01   | B*40:02,<br>B*59:01   |  |                       | 45EE, 103L, 116L,<br>163T | 4                     |                      |                       |
| <b>C</b>   | C*03:04,<br>C*14:02   | C*03:04,<br>C*01:02   |  |                       |                           |                       | 9F, 24S, 248M        | 3                     |
| <b>ABC</b> | A*26:01,<br>A*31:01,<br>B*40:02,<br>B*51:01,<br>C*03:04,<br>C*14:02 | A*26:01,<br>A*24:02,<br>B*40:02,<br>B*59:01,<br>C*03:04,<br>C*01:02 | 62EE, 65GK, 66KA, 66KH,<br>114H, 127K, 144K, 144KR,<br>149AH, 150AAH, 151AHV,<br>156QA, 166DG  | 13                    | 45EE, 116L                | 2                     | 9F, 24S, 248M        | 3                     |

# Epitope Matching : ABC

◆ 患者の他ローカスに同一のアミノ酸置換が存在するため！

| SAB specificity | HLA Locus         | A Locus (一部省略) |      |      |     |       |      |     |       |      |     |     |      |      | B Locus |       |      |      | C Locus |      |    |     |      |
|-----------------|-------------------|----------------|------|------|-----|-------|------|-----|-------|------|-----|-----|------|------|---------|-------|------|------|---------|------|----|-----|------|
|                 | Mismatch Epitope  | 9S             | 62EE | 65GK | 66K | 66KH  | 76EN | 80I | 81ALR | 82LR | 95L | 99F | 114H | 116Y | 127K    | 193PI | 45EE | 103L | 116L    | 163T | 9F | 24S | 248M |
|                 | Ab verified       |                | C    | C    |     |       | C    |     | C     |      |     |     |      | C    |         |       |      |      |         |      |    |     | C    |
| A*31:01         | Recipient         | T              | QE   | RN   | N   | NVKAH | VD   | T   | LRG   | RG   | I   | Y   | Q    | D    | N       | AV    | ME   | V    | D       | T    | T  | A   | V    |
| A*26:01         | Recipient / Donor | Y              | RN   | RN   | N   | NVKAH | AN   | T   | LRG   | RG   | I   | Y   | Q    | D    | N       | AV    | ME   | V    | D       | R    | Y  | A   | V    |
| A*24:02         | Donor             | S              | EE   | GK   | K   | KVKAH | EN   | I   | ALR   | LR   | L   | F   | H    | Y    | K       | PI    | ME   | V    | Y       | T    | S  | A   | V    |
| B*51:01         | Recipient         | Y              | RN   | QI   | I   | IFKTN | EN   | I   | ALR   | LR   | W   | Y   | N    | Y    | N       | PV    | TE   | V    | Y       | L    | Y  | A   | V    |
| B*40:02         | Recipient / Donor | H              | RE   | QI   | I   | ISKTN | ES   | N   | LRG   | RG   | L   | Y   | N    | Y    | N       | PI    | KE   | V    | Y       | E    | H  | T   | V    |
| B*59:01         | Donor             | Y              | RN   | QI   | I   | IFKTN | EN   | I   | ALR   | LR   | W   | Y   | N    | L    | N       | PI    | EE   | L    | L       | T    | Y  | A   | V    |
| C*14:02         | Recipient         | S              | RE   | QK   | K   | KYKRQ | VS   | N   | LRG   | RG   | L   | F   | D    | S    | N       | PV    | GE   | L    | S       | T    | S  | A   | V    |
| C*03:04         | Recipient / Donor | Y              | RE   | QK   | K   | KYKRQ | VS   | N   | LRG   | RG   | I   | Y   | D    | Y    | N       | PV    | GE   | V    | Y       | L    | Y  | A   | V    |
| C*01:02         | Donor             | F              | RE   | QK   | K   | KYKRQ | VS   | N   | LRG   | RG   | L   | C   | D    | Y    | N       | PV    | GE   | L    | Y       | T    | F  | S   | M    |

患者から見てドナーに存在するアミノ酸置換

# Epitope Matching

## ◆ クラスIIも同じく他ローカスの重複箇所によって減少する

| Locus                   | Patient   | Donor   | DRB1<br>Mismatch<br>All  | DRB1#<br>Mismatch<br>All | DRB345<br>Mismatch<br>All | DRB345#<br>Mismatch<br>All | DQ<br>Mismatch<br>All                                  | DQ#<br>Mismatch<br>All | DP<br>Mismatch<br>All | DP#<br>Mismatch<br>All |
|-------------------------|---|---|--|--------------------------|---------------------------|----------------------------|--|------------------------|-----------------------|------------------------|
| <b>DRB1</b>             | DRB1*09:01,<br>DRB1*15:01                               | DRB1*09:01,<br>DRB1*04:05                               | 37Y, 57S, 67LQ,<br>70QRA, 96Y, 120N,<br>140TV, r37YV,<br>rp67LR, rq37YV,<br>rq57S, rq140TV | 12                       |                           |                            |  |                        |                       |                        |
| <b>DRB1<br/>+345</b>    | DRB1*09:01,<br>DRB1*15:01,<br>DRB4*01:03,<br>DRB5*01:01 | DRB1*09:01,<br>DRB1*04:05,<br>DRB4*01:03,<br>DRB4*01:03 | 57S, 67LQ, 70QRA,<br>96Y, 140TV, r37YV,<br>rq37YV, rq57S,<br>rq140TV                       | 9                        |                           | 0                          |  |                        |                       |                        |
| <b>DQ</b>               | DQA1*03:02,<br>DQA1*05:05,<br>DQB1*03:03,<br>DQB1*03:01 | DQA1*03:02,<br>DQA1*03:03,<br>DQB1*03:03,<br>DQB1*04:01 |  |                          |                           |                            | 9F, 23L, 55R, 56L,<br>66D, 74S, 75V,<br>qp67IE, rq75VT | 9                      |                       |                        |
| <b>DP</b>               | DPA1*01:03,<br>DPA1*02:02,<br>DPB1*02:01,<br>DPB1*05:01 | DPA1*01:03,<br>DPA1*01:03,<br>DPB1*02:01,<br>DPB1*04:02 |  |                          |                           |                            |  |                        | 178M                  | 1                      |
| <b>DR<br/>DQ<br/>DP</b> |   |   | 57S, 67LQ, 70QRA,<br>96Y, 140TV, r37YV,<br>rq37YV, rq57S                                   | 8                        |                           | 0                          | 9F, 23L, 55R, 56L,<br>66D, 74S, 75V                    | 7                      | 178M                  | 1                      |

# Epitope Matching : DR

| SAB specificity | HLA Locus        | DRB Locus |     |      |       |     |      |       |       |        |        |       |         |
|-----------------|------------------|-----------|-----|------|-------|-----|------|-------|-------|--------|--------|-------|---------|
|                 |                  | 37Y       | 57S | 67LQ | 70QRA | 96Y | 120N | 140TV | r37YV | rp67LR | rq37YV | rq57S | rq140TV |
|                 | Mismatch Epitope |           | C   | C    |       | C   |      |       | C     |        |        |       |         |
|                 | Ab verified      |           |     |      |       |     |      |       |       |        |        |       |         |
| DRB1*15:01      | Recipient        | S         | D   | ILEQ | QAR   | Q   | S    | AGM   | SV    | I      | SV     | D     | AGM     |
| DRB1*09:01      | Recipient /Donor | N         | V   | FLER | RRR   | H   | S    | AGV   | NV    | F      | NV     | V     | AGV     |
| DRB1*04:05      | Donor            | Y         | S   | LLEQ | QRR   | Y   | N    | TGV   | YV    | L      | YV     | S     | TGV     |
| DRB5*01:01      | Recipient        | D         | D   | FLED | DRR   | E   | N    | AGV   | DL    | F      | DL     | D     | AGV     |
| DRB4*01:03      | Recipient /Donor | Y         | D   | LLER | RRR   | Q   | N    | AGV   | YA    | L      | YA     | D     | AGV     |
| DQA1*05:05      | Recipient        | V         | F   | AVLK | KHN   | S   | V    | FLS   | VD    | A      | VD     | F     | FLS     |
| DQA1*03:02      | Recipient /Donor | V         | F   | AVLK | KHN   | S   | V    | FLS   | VD    | A      | VD     | F     | FLS     |
| DQA1*03:03      | Donor            | V         | F   | AVLK | KHN   | S   | V    | FLS   | VD    | A      | VD     | F     | FLS     |
| DQB1*03:01      | Recipient        | Y         | D   | VLER | RTR   | E   | T    | TGV   | YA    | V      | YA     | D     | TGV     |
| DQB1*03:03      | Recipient /Donor | Y         | D   | VLER | RTR   | E   | T    | TGV   | YA    | V      | YA     | D     | TGV     |
| DQB1*04:01      | Donor            | Y         | D   | ILEE | EDR   | E   | T    | TGV   | YA    | I      | YA     | D     | TGV     |

患者から見てドナーに存在するアミノ酸置換

# Epitope Matching : DR

## ◆ ミスマッチ数のみで評価するのは危険か？

|            | 100    | 110        | 120        | 130        | 140        | 150        | 160        | 170         | 180        |              |
|------------|--------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|------------|--------------|
| DRB1*01:01 | VEPKVT | VYPSKTQPLQ | HHNLLVCSVS | GFYPGSIEVR | WFRNGQEEKA | GVVSTGLIQN | GDWTFQTLVM | LETVPRSGEV  | YTCQVEHPSV | TSPLTVEW     |
| DRB1*03:01 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----H-    | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*03:02 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----H-    | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*04:01 | -Y-E-- | ---A---    | -----N     | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*04:02 | -Y-E-- | ---A---    | -----N     | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*04:03 | -Y-E-- | ---A---    | -----N     | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*04:04 | -Y-E-- | ---A---    | -----N     | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*04:05 | -Y-E-- | ---A---    | -----N     | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*04:06 | -Y-E-- | ---A---    | -----N     | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*04:07 | -Y-E-- | ---A---    | -----N     | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*08:01 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*08:02 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*08:03 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*08:07 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*11:04 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*12:01 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*12:02 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*13:01 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*13:02 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*13:03 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*14:01 | -H---- | -----      | -Y-----    | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*14:02 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*14:03 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*14:04 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*14:05 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----H-    | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*14:06 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----H-    | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB1*14:54 | -H---- | -----      | -----      | -----      | -----      | -----H-    | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DRB3*03:01 | -H-Q-- | ---A---    | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----        |
| DQB1*02:01 | VEPTVT | ISPSRTEALN | HHNLLVCSVT | DFYPAQIKVR | WFRNDQEEEA | GVVSTPLIRN | GDWTFQILVM | LEMTQPQRGDV | YTCHVEHPSL | QSPITVEW     |
| DQB1*03:01 | -----  | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----H-     | -----      | -----N-----  |
| DQB1*03:02 | -----  | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----N--I--- |
| DQB1*03:03 | -----  | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----N--I--- |
| DQB1*03:19 | -----  | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----H-     | -----      | -----N--I--- |
| DQB1*04:01 | -----  | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----N--I--- |
| DQB1*04:02 | -----  | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----      | -----       | -----      | -----N--I--- |

| Locus | Patient     | Donor       | DRB1 Mismatch All   | DRB1# Mismatch All |
|-------|-------------|-------------|---------------------|--------------------|
| DR    | DRB1*09:01, | DRB1*09:01, | 57S, 67LQ, 70QRA,   | 8                  |
| DQ    | DRB1*15:01, | DRB1*04:05, | 96Y, <b>140TV</b> , |                    |
| DP    | DRB4*01:03, | DRB4*01:03, | r37YV, rq37YV,      |                    |
|       | DRB5*01:01, | DRB4*01:03, | rq57S               |                    |
|       | DQA1*03:02, | DQA1*03:02, |                     |                    |
|       | DQA1*05:05, | DQA1*03:03, |                     |                    |
|       | DQB1*03:03, | DQB1*03:03, |                     |                    |
|       | DQB1*03:01, | DQB1*04:01, |                     |                    |
|       | DPA1*01:03, | DPA1*01:03, |                     |                    |
|       | DPA1*02:02, | DPA1*01:03, |                     |                    |
|       | DPB1*02:01, | DPB1*02:01, |                     |                    |
|       | DPB1*05:01  | DPB1*04:02  |                     |                    |

140TV → 140T142V  
 rp140TV → 140T142V  
 同エピトープだが  
 140TVが残る謎？ Bug?

# Epitope Analysis

## ◆ Match MakerのEpitope Nameは位置が不連続の場合あり

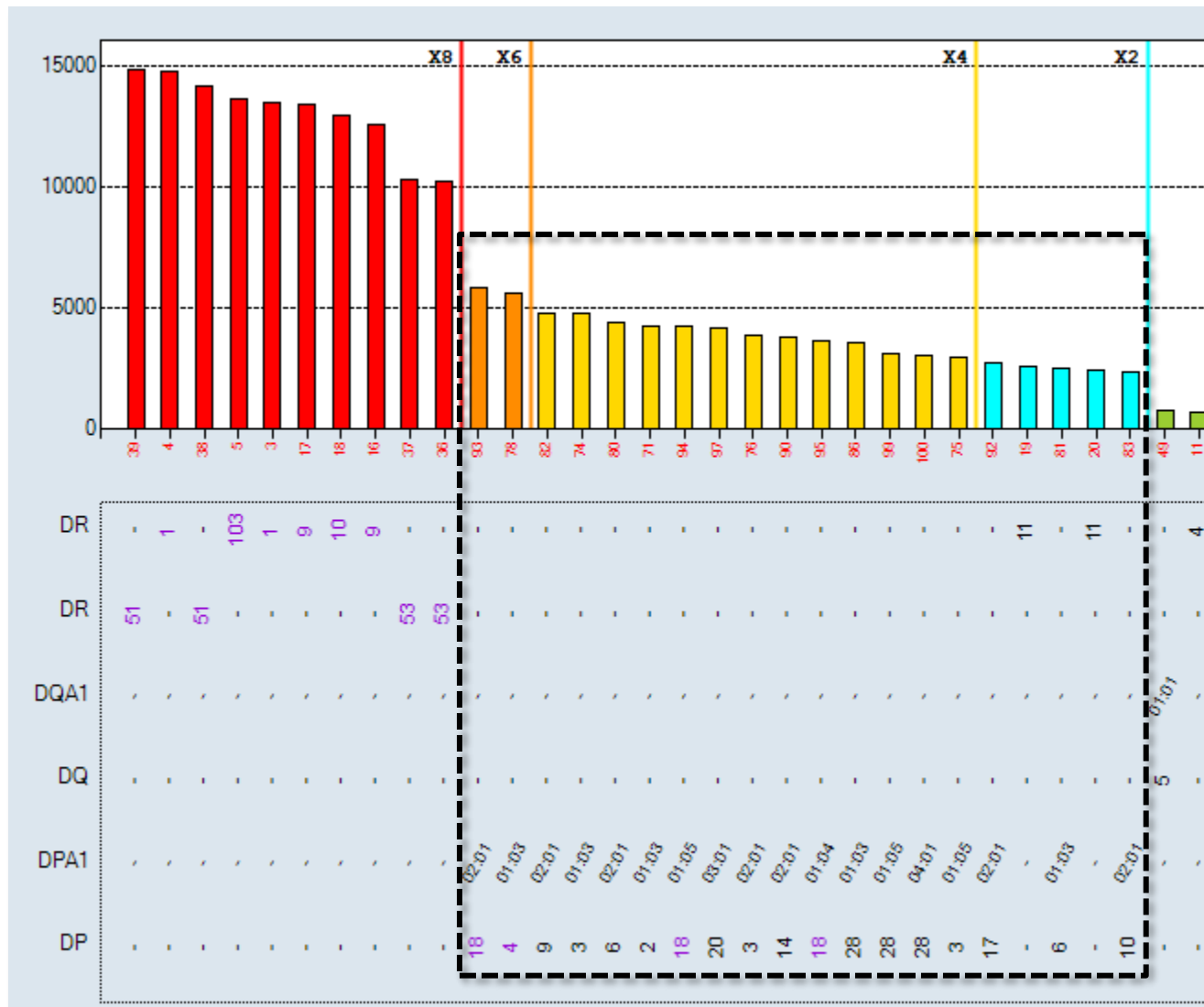
| Class | Epitope Name | ero Grou | AA Position | Polymorphic Residues | Exposed | Antibody Reactivity |
|-------|--------------|----------|-------------|----------------------|---------|---------------------|
| I     | 71ATD        |          | 71,73,77    | 71A73T77D            |         | Confirmed           |
| I     | 62GK         |          | 62,66,74,77 | 62G66K (74H77D)      |         | Confirmed           |
| I     | 144TKH       |          | 142,144,145 | 142T144K145H         |         | Confirmed           |

| 62GK    | $\alpha 1$ AA Pos. 1-90 |            |            |            |            |            |            |            |           |
|---------|-------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----------|
|         | 10                      | 20         | 30         | 40         | 50         | 60         | 70         | 80         | 90        |
| A*01:01 | GSLSMRYFFT              | SVSRPGRGEP | RFLAVGVYDD | TQFVRFSDSA | ASQKMEPRAP | WIEQEGPEYW | DQETRMKKAH | SQTDLANLGT | LRGYNQSED |
| A*02:01 | -----                   | -----      | -----      | -----      | ---R---    | -----      | G---KV---  | ---H-VD--- | -----A    |
| A*02:03 | -----                   | -----      | -----      | -----      | ---R---    | -----      | G---KV---  | ---H-VD--- | -----A    |
| A*02:05 | -----Y-                 | -----      | -----      | -----      | ---RR---   | -----      | G---KV---  | ---H-VD--- | -----A    |
| A*02:06 | -----Y-                 | -----      | -----      | -----      | ---R---    | -----      | G---KV---  | ---H-VD--- | -----A    |
| A*02:07 | -----                   | -----      | -----      | -----      | ---R---    | -----      | G---KV---  | ---H-VD--- | -----A    |
| A*02:10 | -----Y-                 | -----      | -----      | -----      | ---R---    | -----      | G---KV---  | ---H-VD--- | -----A    |
| A*02:18 | -----                   | -----      | -----      | -----      | ---R---    | -----      | G---KV---  | ---H-VD--- | -----A    |

| 144TKH  | $\alpha 2$ AA Pos. 90-182 |            |            |            |            |            |            |             |               |
|---------|---------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|---------------|
|         | 100                       | 110        | 120        | 130        | 140        | 150        | 160        | 170         | 180           |
| A*01:01 | GSHTIQIMYG                | CDVGPDGRFL | RGYRQDAYDG | KDYIALNEDL | RSWTAADMAA | QITKRKWEAV | HAAEQRRVYL | EGRCVDGLRR  | YLENGKETLQ RT |
| A*02:01 | ---V-R---                 | ---S-W---  | ---H-Y---  | ---K---    | -----      | T-H---A    | -V---L-A-- | ---T--EW--- | -----         |
| A*02:03 | ---V-R---                 | ---S-W---  | ---H-Y---  | ---K---    | -----      | T-H---TA   | -E---W-A-- | ---T--EW--- | -----         |
| A*02:05 | ---L-R---                 | ---S-W---  | ---H-Y---  | ---K---    | -----      | T-H---A    | -V---W-A-- | ---T--EW--- | -----         |
| A*02:06 | ---V-R---                 | ---S-W---  | ---H-Y---  | ---K---    | -----      | T-H---A    | -V---L-A-- | ---T--EW--- | -----         |
| A*02:07 | ---V-R-C-                 | ---S-W---  | ---H-Y---  | ---K---    | -----      | T-H---A    | -V---L-A-- | ---T--EW--- | -----         |
| A*02:10 | ---V-R-F-                 | ---S-W---  | ---H-Y---  | ---K---    | -----      | T-H---A    | -V---L-A-- | ---T--EW--- | -----         |
| A*02:18 | ---V-R-C-                 | ---S-W---  | ---H-Y---  | ---K---    | -----K-    | T-H---A    | -V---L-A-- | ---T--EW--- | -----         |
| A*68:01 | -----M---                 | ---S-W---  | ---H-Y---  | ---K---    | -----      | T-H---A    | -V---W-A-- | ---T--EW--- | -----         |
| A*68:02 | -----R---                 | -----      | ---H-Y---  | ---K---    | -----      | T-H---A    | -V---W-A-- | ---T--EW--- | -----         |
| A*69:01 | ---V-R---                 | ---S-W---  | ---H-Y---  | ---K---    | -----      | T-H---A    | -V---L-A-- | ---T--EW--- | -----         |

# Epitope Analysis

SH2804 (JSHI-20<sup>th</sup>. QCWS/2016)



本講演（1） DSAの  
説明で紹介した抗体  
DR2(-), DR51(+)

**DPの一部と  
DR11の反応**

# Epitope Analysis

- ◆ DR/DQとDPはズレている箇所がある
- ◆ 複数ローカスにわたる共通エピトープ

SH2804 (JSHI-20<sup>th</sup>. QCWS/2016) (例:56Eとrp58Eは同一エピトープ)

|            | Baseline | <i>β1 domain</i> |            |            |            |            |            |            |            |            |      |
|------------|----------|------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------|
|            |          | 10               | 20         | 30         | 40         | 50         | 60         | 70         | 80         | 90         |      |
| DRB1*01:01 |          | PRFLWQ           | LKFECHFFNG | TERVRLLERC | IYNQEESVRF | DSDVGEYRAV | TELGRPDAEY | WNSQKDLLEQ | RRAAVDTYCR | HNYGVGESFT | VQRR |
| DRB1*11:01 | 2,607    | ----EY           | STS-----   | ----F-D-Y  | F-----Y--- | -----F---  | -----E-    | -----F--D  | -----      | -----      | ---- |
| DRB1*11:04 | 2,424    | ----EY           | STS-----   | ----F-D-Y  | F-----Y--- | -----F---  | -----E-    | -----F--D  | -----      | -----V---- | ---- |
| DPB1*01:01 |          | ENYVYQ           | GRQECYAFNG | TQRFLERYIY | NREEYARFDS | DVGEFRAVTE | LGRFAAEYWN | SQKDILEEKR | AVPDRVCRHN | YELDEAVTLQ | RR   |
| DPB1*02:01 | 4,246    | ---LF-           | -----      | -----      | ---FV---   | -----      | DE-----    | -----E-    | ---M---    | ---GGPM--- | --   |
| DPB1*03:01 | 4,732    | ---              | L-----     | -----      | ---FV---   | -----      | DE-----    | ---L---    | -----      | -----      | --   |
| DPB1*04:02 | 5,608    | ---LF-           | -----      | -----      | ---FV---   | -----      | DE-----    | -----      | ---M---    | ---GGPM--- | --   |
| DPB1*06:01 | 4,358    | ---              | L-----     | -----      | ---FV---   | -----      | DE-----    | ---L--E-   | ---M---    | -----      | --   |
| DPB1*09:01 | 4,783    | ---H-            | L-----     | -----      | ---FV---   | -----      | DE-----    | -----E-    | -----      | -----      | --   |
| DPB1*10:01 | 2,373    | ---H-            | L-----     | -----      | ---FV---   | -----      | DE-----    | -----E-    | -----      | -----      | --   |
| DPB1*14:01 | 3,767    | ---H-            | L-----     | -----      | ---FV---   | -----      | DE-----    | ---L---    | -----      | -----      | --   |
| DPB1*17:01 | 2,687    | ---H-            | L-----     | -----      | ---FV---   | -----      | DE-----    | -----E-    | ---M---    | -----      | --   |
| DPB1*18:01 | 5,799    | ---              | -----      | -----      | ---FV---   | -----      | DE-----    | -----      | ---M---    | ---VGPM--- | --   |
| DPB1*20:01 | 4,129    | ---              | L-----     | -----      | ---FV---   | -----      | DE-----    | ---L---    | ---M---    | -----      | --   |
| DPB1*28:01 | 3,580    | ---LF-           | -----      | -----      | ---F---    | -----      | DE-----    | ---L---    | ---M---    | ---VGPM--- | --   |

| Class | Epitope Name | ero Grou | AA Position | Polymorphic Residues | Exposed | Antibody Reactivity |
|-------|--------------|----------|-------------|----------------------|---------|---------------------|
| II    | 56E          |          | 55,56       | <b>55D56E</b>        |         | Confirmed           |
| II    | rp58E        |          | 57,58       | <b>57D58E</b>        |         | Confirmed           |



## ◆ Epitope Matching

- ✓ 特定ローカスのミスマッチ検索では全ローカスの結果が反映されないため注意が必要
- ✓ ミスマッチ数に対してアミノ酸配列で確認することを推奨する

## ◆ Epitope Analysis

- ✓ Epitope Nameのアミノ酸位置が不連続の場合あり
- ✓ DR/DQとDPはアミノ酸位置がズれている箇所がある
- ✓ 複数ローカスにわたる共通エピトープの存在

## ◆ Match Maker

- ✓ 結果は正確性が高いが、操作方法を熟知していないと誤った結果を導くことがある
- ✓ Epitope Nameは国際標準化されておらず、必ずしもアミノ酸種類と位置を忠実に表現しているものではない
- ✓ クラスIIの $\alpha$ 鎖/ $\beta$ 鎖エプレットには未対応

**HLAの基礎知識をどのように  
臨床に応用するか？**

## ◆ 移植前の抗体検査 → 適切な判定基準の設定

非特異抗体をスクリーニングで排除

クロスマッチ (CDCXM, FCXM)

補体結合性抗体の排除は有効

## ◆ 移植後のモニタリング → DSAの兆候を見逃さない

微弱な抗体でもDSAの兆候であるか判断する

移植臓器への抗体吸着 (患者とドナーのHLA型)

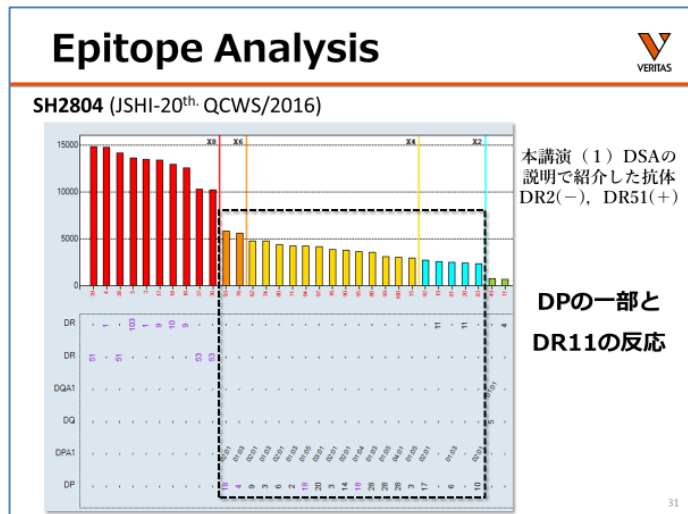
## ◆ 共通手法

エピトープ解析で非特異反応を見極める

エピトープ・マッチングによる抗体産生のリスク予測

## 本講演(3) 補足 : Epitope Matching / Analysis

- ◆ 移植前 : 非特異抗体をスクリーニングで排除
- ◆ 移植後 : 微弱な抗体だがDSAの兆候か?
- ◆ 共通手法 : エピトープ解析で非特異反応を見極める  
エピトープ・マッチングによる抗体産生のリスク予測



## 本講演(3) 補体結合性抗HLA抗体

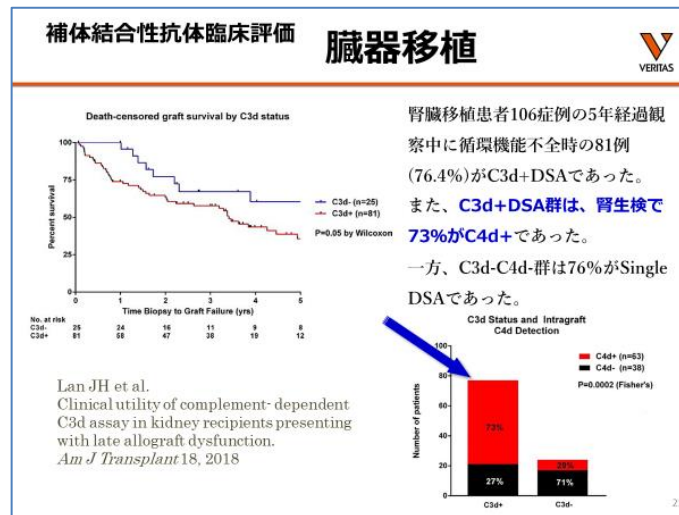
- ◆ 移植前 : 補体結合性抗体の排除は有効

### Epitope Matching : DR

| SAB specificity | HLA Locus         | DRB Locus        |     |      |      |       |     |      |       |       |        |        |       |
|-----------------|-------------------|------------------|-----|------|------|-------|-----|------|-------|-------|--------|--------|-------|
|                 |                   | Mismatch Epitope | 37Y | 67S  | 67LQ | 70QRA | 96Y | 120N | 140TV | r37YV | rp67LR | rq37YV | rq67S |
| DRB1*15:01      | Recipient         | S                | D   | ILEQ | QAR  | Q     | S   | AGM  | SV    | I     | SV     | D      | AGM   |
| DRB1*09:01      | Recipient / Donor | N                | V   | FLER | RRR  | H     | S   | AGV  | NV    | F     | NV     | V      | AGV   |
| DRB1*04:05      | Donor             | Y                | S   | LLEQ | QRR  | Y     | N   | TGV  | YV    | L     | YV     | S      | TGV   |
| DRB5*01:01      | Recipient         | D                | D   | FLED | DRR  | E     | N   | AGV  | DL    | F     | DL     | D      | AGV   |
| DRB4*01:03      | Recipient / Donor | Y                | D   | LLER | RRR  | Q     | N   | AGV  | YA    | L     | YA     | D      | AGV   |
| DQA1*05:05      | Recipient         | V                | F   | AVLK | KHN  | S     | V   | FLS  | VD    | A     | VD     | F      | FLS   |
| DQA1*03:02      | Recipient / Donor | V                | F   | AVLK | KHN  | S     | V   | FLS  | VD    | A     | VD     | F      | FLS   |
| DQA1*03:03      | Donor             | V                | F   | AVLK | KHN  | S     | V   | FLS  | VD    | A     | VD     | F      | FLS   |
| DQB1*03:01      | Recipient         | Y                | D   | VLER | RTR  | E     | T   | TGV  | YA    | V     | YA     | D      | TGV   |
| DQB1*03:03      | Recipient / Donor | Y                | D   | VLER | RTR  | E     | T   | TGV  | YA    | V     | YA     | D      | TGV   |
| DQB1*04:01      | Donor             | Y                | D   | ILEE | EDR  | E     | T   | TGV  | YA    | I     | YA     | D      | TGV   |

患者から見てドナーに存在するアミノ酸置換

28



## ◆ ドナー選択 → 型の一致が原則

ミスマッチの場合エピトープ・マッチングが有効か？  
ヌル・アレルがある場合のドナー選択（GVHDのリスク）

## ◆ 移植前の抗体検査 → 適切なカットオフ設定

選定ドナーを無駄に排除しないため  
補体結合性抗体の排除は有効  
エピトープ解析で非特異反応を見極める

## ◆ ハプロタイプ推定から追検査の必要性

ドナー選択時に一部のHLA型不明の場合  
ドナーHLA型不明の抗体特異性が検出された場合

## 本講演(1) ハプロタイプ

### ハプロタイプを意識する

- ◆ 日本人集団の特徴的なハプロタイプを覚えておく
- ◆ 自分自身のHLA (ハプロタイプ) を覚えておく
- ◆ 既存のハプロタイプ集計データを参照しながら、ハプロタイプを推定する  
 日本赤十字社 造血幹細胞移植情報サービス <https://www.bs.jrc.or.jp/bmcd/>  
 H L A 研究所 ハプロタイプ推定ツール [http://hla.or.jp/med/haplo\\_tools/](http://hla.or.jp/med/haplo_tools/)
- ◆ 低頻度アレルが検出された場合、外国人の特徴的なハプロタイプを参照  
 Allele Frequencies <http://www.allelefrequencies.net/default.asp>

**Allele Frequency Net Database**

About us   Links   Publications   Automated Access   FAQs   Contact

Home   Populations   HLA   KIR   Other polymorphisms   HLA-ADR   KDDB   EUROSTAM

## ◆ ハプロタイプ推定から追検査の必要性

ドナー選択時に一部のHLA型不明の場合

ドナーHLA型不明の抗体特異性が検出された場合

## 本講演(3) 補足：Epitope Matching

### ◆ ミスマッチ・ドナーの選択にエピトープ・マッチングが有効か？

## 本講演(3) 補体結合性抗HLA抗体

### ◆ 移植前：補体結合性抗体の排除は有効

### Epitope Matching

◆ まとめて検索するとミスマッチが減るのはなぜか？

| Locus | Patient | Donor   | A   | A#       | B                 | B#       | C             | C#       |
|-------|---------|---------|---|----------|-------------------|----------|---------------|----------|
|       |         |         | Mismatch  | Mismatch | Mismatch          | Mismatch | Mismatch      | Mismatch |
|       |         |         | All   | All      | All               | All      | All           | All      |
| A     | A*26:01 | A*26:01 | 9S, 62EE, 65GK, 66K,  | 23       |                   |          |               |          |
|       | A*31:01 | A*24:02 | 66KA, 66KH, 76EN, 80I, 81ALR, 82LR, 95L, 99F, 114H, 116Y, 127K, 144K, 144KR, 149AH, 150AAH, 151AHV, 156QA, 166DG, 193PI |          |                   |          |               |          |
| B     | B*40:02 | B*40:02 |   |          | 45EE, 103L, 116L, | 4        |               |          |
|       | B*51:01 | B*59:01 |   |          | 163T              |          |               |          |
| C     | C*03:04 | C*03:04 |   |          |                   |          | 9F, 24S, 248M | 3        |
|       | C*14:02 | C*01:02 |   |          |                   |          |               |          |
| ABC   | A*26:01 | A*26:01 | 62EE, 65GK, 66KA, 66KH,   | 13       | 45EE, 116L        | 2        | 9F, 24S, 248M | 3        |
|       | A*31:01 | A*24:02 | 114H, 127K, 144K, 144KR,  |          |                   |          |               |          |
|       | B*40:02 | B*40:02 | 149AH, 150AAH, 151AHV,  |          |                   |          |               |          |
|       | B*51:01 | B*59:01 | 156QA, 166DG  |          |                   |          |               |          |
|       | C*03:04 | C*03:04 |   |          |                   |          |               |          |
|       | C*14:02 | C*01:02 |   |          |                   |          |               |          |

Match Maker HMM-CL01-0620-CAT-00

### 補体結合性抗体臨床評価 造血幹細胞移植

```

graph TD
    N122[N=122] --> DSAplus[DSA+ (N=22) Engraftment 68%]
    N122 --> NoDSA[No DSA (N=100) Engraftment 96%]
    DSAplus --> HighMFI[>5,000 MFI (N=11) Engraftment 46%]
    DSAplus --> LowMFI[<5,000 MFI (N=11) Engraftment 91%]
    HighMFI --> C1qplus[C1q+ (N=4) Engraftment 0%]
        
```

122症例のハプロ移植において、22例がDSAを保有しており、その中でMFI>5,000かつC1q陽性の4例は、すべて生着不全となった。高いMFI値とC1q拘束力がある補体結合DSAは、著しく生着率の低下を招くことを示した。

Chiurea SO et al. Complement-Binding Donor-Specific Anti-HLA Antibodies and Risk of Primary Graft Failure in Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 21, 2015

## ◆ HLA適合血小板輸血ドナー選択 → 許容抗原で適応検索

複数回輸血のため不必要な感作を回避し抗体産生抑制

交差反応性、マッチンググレードでドナー選択

クロスマッチ (ICFA)

ミスマッチ・ドナーの選択にエピトープ・マッチングが有効か？

## ◆ TRALI (輸血関連急性肺障害) → 抗体保有献血者を排除

<男性献血者優先の血小板製剤、抗体保有献血者の安全確保措置>

患者特異的なドナー抗体の検出 (DSAの逆)

ドナー抗体検査とクロスマッチ

仮想クロスのための患者HLA型検査

## 本講演(2) CREGとEpitope

- ◆ 交差反応性、マッチンググレードでドナー選択

### CREGとEpitope まとめ

CREG vs Epitope

抗原の特異性に基づく抗原の分類で、抗原をグループ化して類似性を図式化したもの vs 抗原のアミノ酸配列に基づく抗体認識部位の分類で、アミノ酸の位置と種類を示す

抗体の反応性に基づく分類 ← 抗原の設計図に基づく分類  
 旧来からの経験則 ← HLA遺伝子解析で明確化  
 実際の反応 ← 反応の予測  
 説明のつかない反応もある ← 予測どおりに反応しない場合もある

Aローカス

HLA allele *a1-domain*

Position 111 233333 33444455 666666 777777 888899  
 379179 40123456134824623567034678901230

Consensus NYFSREADIQVRFAGRRIDGGERNNHIVDLGLRGA

HLA-A\*01:01 K W AN D  
 HLA-A\*02:01 G K H D  
 HLA-A\*23:01 Y S EN RIALR  
 HLA-A\*24:02 S E GK K KVKAH EN I ALR LR L F H Y K PI  
 HLA-A\*26:01 Y RN QI I IFKTI EN I ALR LR W Y N Y N PV TE V Y L Y A V  
 HLA-A\*30:01 H RE QI I ISKTN ES N LRG RG L Y N Y N PI KE V Y E HI T V  
 HLA-A\*31:01 T QE RN N NVKAH VD T LRG RG I Y Q D N AV ME V D T T A V  
 HLA-A\*32:01 Y RN RN N NVKAH AN T LRG RG I Y Q D N AV ME V D K Y A V  
 HLA-A\*33:03 S EE GK K KVKAH EN I ALR LR L F H Y K PI SE V Y T A V  
 HLA-A\*33:09 Y RN QI I IFKTI EN I ALR LR W Y N L N PI EE L L T A V

Nakajima F. *MHC* Vol.13, No2: 2006 (一部改変)

## 本講演(3) 補足：Epitope Matching

- ◆ ミスマッチ・ドナーの選択にエピトープ・マッチングが有効か？

## 本講演(3) 補体結合性抗HLA抗体

- ◆ 移植前：補体結合性抗体の排除は有効

### Epitope Matching : ABC

◆ 患者の他ローカスに同一のアミノ酸置換が存在するため！

| SAB specificity         | HLA Locus | A Locus (一部省略)   | B Locus | C Locus |
|-------------------------|-----------|--|---------|---------|
| Mismatch                | 95        | 62EE 65OR 66K 66KH 76EN 80I 81ALR 82LR 95L 99F 114W 116Y 127K 130P 45EE 103L 116L 163T 9F 24S 249H |         |         |
| Epitope                 |           | C C C C C C C C C C C C C C C C C  |         |         |
| Ab verified             |           |  |         |         |
| A*31:01 Recipient       |           | T QE RN N NVKAH VD T LRG RG I Y Q D N AV ME V D T T A V  |         |         |
| A*26:01 Recipient       |           | Y RN RN N NVKAH AN T LRG RG I Y Q D N AV ME V D K Y A V  |         |         |
| A*24:02 Donor           |           | S EE GK K KVKAH EN I ALR LR L F H Y K PI SE V Y T A V  |         |         |
| B*51:04 Recipient       |           | Y RN QI I IFKTI EN I ALR LR W Y N Y N PV TE V Y L Y A V  |         |         |
| B*40:02 Recipient/Donor |           | H RE QI I ISKTN ES N LRG RG L Y N Y N PI KE V Y E HI T V   |         |         |
| B*59:01 Donor           |           | Y RN QI I IFKTI EN I ALR LR W Y N L N PI EE L L T A V  |         |         |
| C*14:02 Recipient       |           | S RE QR K KYKQV VS N LRG RG L F D S N PV GE L S T S A V  |         |         |
| C*03:04 Recipient/Donor |           | Y RE QR K KYKQV VS N LRG RG I Y D Y N PV GE V Y L Y A V  |         |         |
| C*01:02 Donor           |           | I RE QR K KYKQV VS N LRG RG L C D Y N PV GE L T T F S M  |         |         |

患者から見てドナーに存在するアミノ酸置換

### 補体結合性抗体臨床評価 血小板輸血

高度に感作された血小板輸血不応患者13名のHLA抗体と輸血された血小板製剤とのHLA適合を調べCCIで評価。  
 ABO型適合・IgG不適合グループのうちC1q不適合が有意にCCI低値であった。

Fontaine MJ et al. Complement (C1q) fixing solid-phase screening for HLA antibodies increases the availability of compatible platelet components for refractory patients. *Transfusion* 51, 2011




# HLA検査と医療

- ◆ 移植・輸血医療のHLA検査はすべてマッチングである
- ◆ 同種免疫の観点からHLA型とHLA抗体の双方向で評価する
- ◆ 頻度・ハプロタイプ・エピートプ・抗体性状に視点をもつ

## 本講演(2) CREGとEpitope

**Epitope HLAマッチング**



移植など異なった  
個体どうしの  
HLA型マッチング

**Epitope Matching**

2. HLA抗体検出結果の解釈が困難な理由

他の血液型のように一つ一つのエピートプに名称が規定されていればそれも解決されようが、そうすると抗原名との関係が判らなくなってしまふ。HLA検査を行う重要な意義の一つとしてマッチングがある。移植などで異なった個体のHLA型どうしのマッチングもあれば、輸血などでHLA型とHLA抗体のマッチングもある。後者の場合、抗原名と抗体名が比較できるような表現手段をとらないと判断が難しくなる。この点がHLAの持つ宿命で拭ききれないジレンマでもある。

Nakajima F. MHC Vol.13, No2: 131-137, 2006 (p.25の中略部分)

**Epitope Analysis**

HLA型とHLA抗体の  
マッチング  
許容抗原・DSA判定

27

|         | 患者                |       | ドナー  |       | クロス<br>マッチ | 備 考             |
|---------|-------------------|-------|------|-------|------------|-----------------|
|         | HLA型              | HLA抗体 | HLA型 | HLA抗体 |            |                 |
| 臓器移植    | 移植前の抗体確認          | ○     | △    |       | ○          | DSA、クロスは特定臓器必須  |
|         | 移植後のモニタリング        |       |      |       |            | DSA             |
| 造血幹細胞移植 | ドナー選択             | ○     | ○    |       |            |                 |
|         | 移植前の抗体検査          |       | ○    | ○     | △          | ミスマッチ移植、クロスは任意  |
| 輸 血     | HLA適合血小板輸血        | ○     | ○    | ○     | ○          | 許容抗原とCREG、クロス必須 |
|         | TRALI (輸血関連急性肺障害) | ○     |      | ○     | △          | クロスは任意          |

# 全講演内容 (1)～(3)

- ◆ 頻度の考え方 (1) 6-30
- ◆ ハプロタイプ (1) 31-43
- ◆ DRとDQの連鎖／クラスIIの $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖 (2) 5-14
- ◆ CREGとEpitope (2) 15-32
- ◆ Epitope Analysis(case study) (2) 33-44
- ◆ 補体結合性HLA抗体 (3) 3-22
- ◆ 補足：Epitope Matching／Analysis (3) 23-32
- ◆ HLAの基礎知識を  
どのように臨床に応用するか？ (3) 34-41

# 全体 まとめ

- ◆ 全3回の講演は、書籍や公開資料などで取り上げていない注意すべき点を織り交ぜて紹介することを心がけました
- ◆ 書籍や公開資料は各自で確認してください
- ◆ HLA検査に携わるには、試薬で判定された結果だけでは不十分であり、頻度・ハプロタイプ・連鎖・エピトープなどの知識に基づき総合的に判断する能力が要求されます
- ◆ 特に移植・輸血医療では、得られたHLA検査結果から、患者に与える影響など多方面の情報を臨床側に適切に提供できることを期待します