

ASHI2019 参加報告

株式会社ベリタス バイオサイエンス本部 技術グループ 横沢 佑弥・藤原 千恵

1. ASHI とは

ASHI とは American Society for Histocompatibility and Immunogenetics の略で、アメリカの組織適合性学会です。今回は第 45 回大会で Banff^{*1} との合同で、ピッツバーグにて開催されました。通常は月曜に参加登録や教育セミナーが行われ、火曜日から金曜日の午前中までの 3.5 日がメインの学会となります。アメリカの学会は朝が早く、7:30 頃より開始し、19:00 頃までシンポジウムが続きます。夜は学会主催のパーティーやメーカー主催のユーザーを招待した食事会などがあり、盛り沢山の内容となっております。

数年前は抗 HLA 抗体や NGS が話題の中心でしたが、それらの議論に加えて本大会では、Epitope 解析や Non-HLA 抗体、新規モニタリング手法に重点が置かれているように感じました。

^{*1} Banff Foundation for Allograft Pathology

2. 学会発表内容

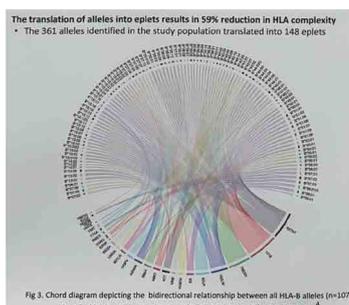
多くのシンポジウムやポスター発表の中から盛り上がった内容を抜粋致しました。

【Epitope 解析】

LABScreen 製品と MatchMaker を用いた Epitope 解析が発表の中心でした。Epitope MisMatch 数とアミノ酸 MisMatch 数と予後の関連を調べた発表などがありました。ポスター発表は Epitope 解析に関するものが多く、海外では Epitope 解析は一般的に行われている印象を受けました。

ポスター発表より

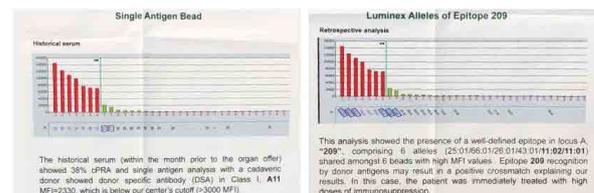
・アレルミスマッチではなく、Epitope MisMatch で検索した方がドナーを見つけやすかったです。



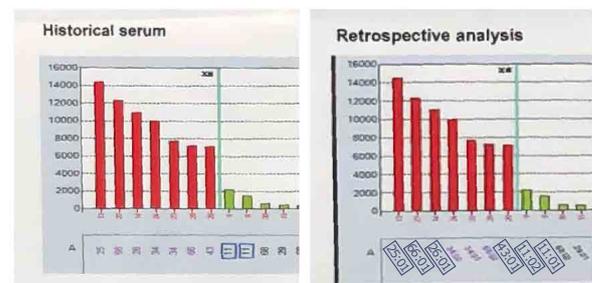
(ポスター番号：P148)

1846 例のドナーとレシピエントのタイピング情報を解析したところ、アレルでは 361 種類ありましたが、Epitope では 148 種類でした。つまり Epitope でドナー検索をした方が適したドナーが見つかりやすかったです。

・DSA の検出の際にアレルレベルでは陰性だが、Epitope レベルでみると陽性であった例の紹介



(拡大図)



(ポスター番号：P033)

ドナーのタイプである A11 の抗体は LABScreen Single Antigen では nMFI が 2000 であり DSA は弱陽性ですが、Epitope 解析を行うと、nMFI が高い抗体と A11 の抗体が同じ Epitope をシェアしていることがわかりました。つまり、DSA が弱陽性とはいえないことがわかります。

【non-HLA】

non-HLA 抗体の意義はまだ明らかになってはいませんが、抗 HLA 抗体が検出されないにもかかわらず超急性または急性拒絶を起こす場合や慢性拒絶の原因の一つであることが証明されつつあり、実験レベルでは拒絶を誘発することが明らかになっています。心移植においては 50% の拒絶症例において non-HLA 抗体が存在することが判明しています。今後の検討事項として non-HLA 抗原の種類、拒絶との関連やその作用機序、診断基準、治療方法があげられていました。

現時点で関連が明らかになっている臨床的意義は下記

の通りです (Elaine Read, PhD UCLA の発表より)。

- ・心臓：Vimentin、MICA、AT1R
- ・肺：Collagen V、Epithelium K- α -1 tubulin
- ・腎臓：Agrin、LG3(Perlecan)、AT1R、MICA

AT1R とは

- ・GPCR：G Protein coupled receptor (G タンパク質共役受容体) であり、血管平滑筋細胞、内皮細胞、心筋細胞、心臓繊維芽細胞、腎メサンギウム細胞に発現
- ・血管収縮、炎症、繊維化を促進する
- ・内皮細胞を活発化させる

LG3(Perlecan) とは

- ・腎移植において微小血管にダメージを与えることで拒絶を促進する
- ・アポトーシスを起こした内皮細胞から分泌される
- ・細胞性拒絶と比較して血管性拒絶を起こした症例において高い確率で検出

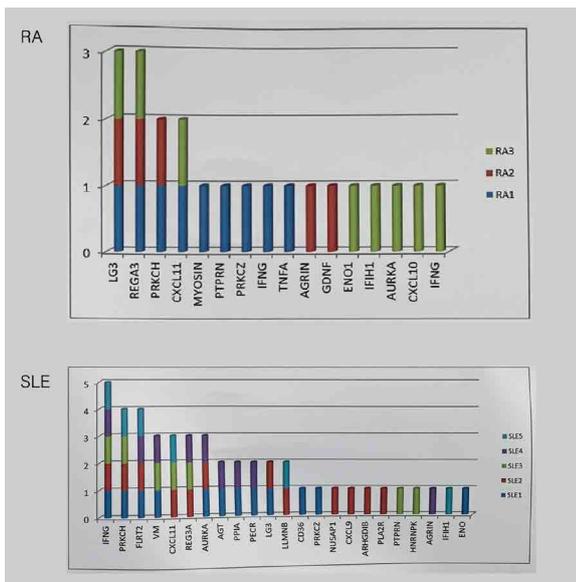
【参考】2019年の臨床腎移植学会のシンポジウムにおいて東京女子医科大学 泌尿器科の石田英樹先生が腎移植患者における抗LG3抗体について講演されました。

Collagen V とは

- ・Collagen I に含まれる線維状コラーゲン
- ・免疫原性の細胞外マトリックスのタンパク質 (肺、皮膚、胎盤に存在)
- ・気管支周囲の組織、気道上皮細胞に発現
- ・BOS (閉塞性細気管支炎：Bronchiolitis obliterans syndrome) 及び肺線維化を促進する液性免疫を誘導

ポスター発表より

- ・症例数は少ないが、リウマチ患者と SLE 患者の non-HLA 抗体の検査結果の紹介



(ポスター番号：P175)

- ・メカニズムは不明だが、腎移植においては AMR を起こす原因であることはわかっている
- ・心移植においては、1つに絞れていないが複数の non-HLA 抗体が陽性の移植患者が見受けられる。

【Cell-Free DNA】

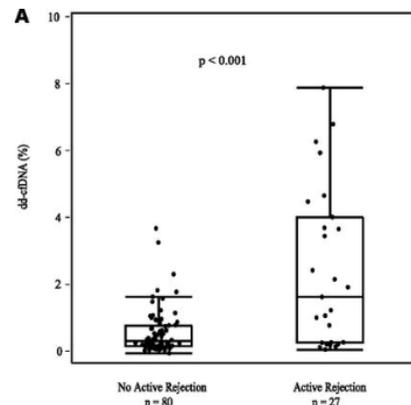
現在、移植後の拒絶モニタリング検査としては抗 HLA 抗体検査が一般的ですが、昨今ではその他のモニタリング手法の可能性も模索されており、その一つとして Cell-Free DNA があります。

臓器移植において拒絶が起こると移植した臓器の細胞が剥がれ落ちます。剥がれ落ちた細胞は生存できずに細胞が破壊されるため Genome DNA が放出されます。

つまり、移植を受けた患者の血液内にドナーの Genome DNA が存在することになります。その Genome DNA (DD-Cell-Free DNA: Donor Derived-Cell-Free DNA) を検出することで、移植した臓器の拒絶が始まっているか否かを判断することができると言われています。組織バイオプシーではなくリキッド・バイオプシー (Liquid Biopsy) の為、患者への侵襲性は低い点が利点のひとつです。

ただし Cell-Free DNA は不安定であるので Streck 採血管などの Cell-Free DNA を安定的に保つことが可能な特殊な専用の採血管を利用する必要があります。ドナー由来と患者由来の Genome DNA をそれぞれ検出し、1%以上のドナー由来 Cell-Free DNA が存在した場合に拒絶が起こっていると判断するようです。定量的な検査は DNA の質が求められますが血中の Cell-Free DNA にその質を求めるのは難しいため、検査の感度は低く、また、検査結果が出るまでに 3~5 日かかります。アメリカにおいて研究が進んでおり論文も発表されていますが、まだ症例数も少なく、もう少しデータの蓄積が必要という印象を受けました。本検査のプロモーションは 2 社が展開しています。対象臓器は CareDx 社が腎臓、心臓及び肺、Natera 社は腎臓のみです。

Natera 社のキットを利用した検査結果

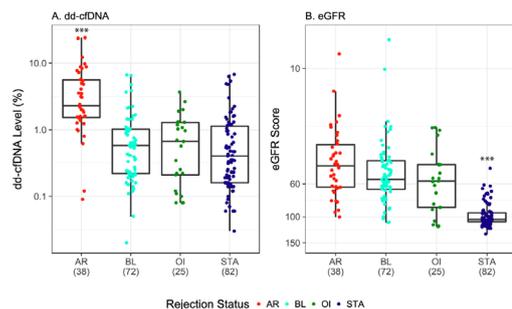


Reference; Cell-Free DNA and Active Rejection in Kidney Allografts

JASN July 2017, 28 (7) 2221-2232

<https://doi.org/10.1681/ASN.2016091034>

拒絶の進行度合いによる検査結果の違い



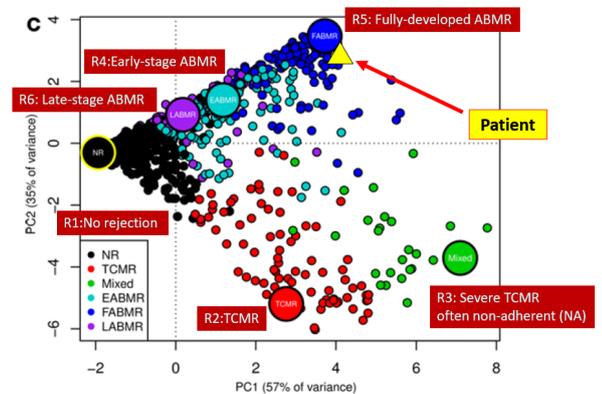
AR : Active Rejection BL : borderline
 OI : other injury STA : stable
 Reference; Optimizing Detection of Kidney Transplant Injury by Assessment of Donor-Derived Cell-Free DNA via Massively Multiplex PCR J. Clin. Med. 2019, 8(1), 19

ポスター発表より

- ・移植直後は血漿の DDcfDNA 濃度は高いが、数日で急激に下がるので、拒絶の兆候の検出マーカーとして使用できる可能性がある
- ・尿の DDcfDNA 濃度は個人差が大きく、検出マーカーとしては使用が難しいかもしれない
- ・生検が不要になる可能性もあるため、今後の研究で基準値の設定が待たれる
- ・Reference; Cell-Free DNA and Active Rejection in Kidney Allografts. J Am Soc Nephrol. 2017 Jul;28(7):2221-2232

【MMDx(Molecular Microscope® Diagnostic System)】
 Alberta University の Dr. Philip F. Halloran が開発した技術です。バイオプシーサンプルを使用し、1494 個の遺伝子を対象として解析します。それらの mRNA の発現解析により移植後の拒絶の兆候を見ることが出来ます。感度及び精度は高くすばらしい技術ですが高価です。解析には、腎臓は 3-5mg、肝臓は 5mg 程度の組織片が必要です。現時点では FFPE はホルマリンが RNA の保存状態に悪影響を与えるため使用不可です。

解析結果の例



データベースと比較して患者の状態が黄色の△で示されます。データベースは臓器によって異なります。例えば上図の例では Patient は R5 の Fully-developed ABMR の場所に位置しており、抗体関連型拒絶が十分に進んでしまっている状態である事がわかります。従来では組織染色により判断をしていたところが、遺伝子解析で数値的な解析が可能になった事で、より診断の精度向上が期待できると考えられます。

【HLA International Workshop】

2021 年に開催される次の HLA International Workshop において、Epitope のデータベースが更新される予定となっております。そのために Northwestern University の Dr. Anat R. Tambur が中心となり各国よりデータを収集しています。また、Dr. Tambur は Dr. Frans H. J. Claas と Epitope の考え方に関する下記の論文を発表されました。Dr. Claas

は 2019 年の第 28 回日本組織適合性学会大会にて、Epitope に関する講演をされていたので記憶にある方もいらっしゃるのではないのでしょうか。

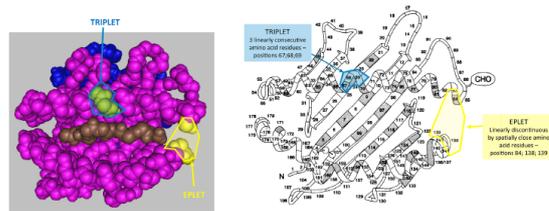


Figure 2: Depiction of the principle difference between a triplet and an epitope.

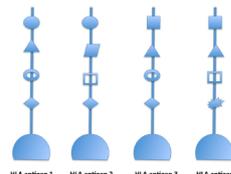


Figure 1: An HLA antigen expresses a unique set of epitopes but the individual epitopes are often shared with other HLA alleles.

Reference; HLA Epitopes as Viewed by Antibodies: What Is it All About? American Journal of Transplantation 2015; 15: 1148-1154

Epitope のデータベース更新には HLA の人種間差を考えると世界各国からデータを集めることが必要であると Dr. Tambur はお話されていました。日本のデータ提出にご協力いただける施設様からのご連絡をお待ちしております。

3. One Lambda 社のブースプレゼン

One Lambda 社のブースにおいて 4 回のブースプレゼン (各回 20 分程度) があり、One Lambda 社のスタッフや外部の先生が講演をされていました。

【AllType FastPlex】

AllType(NGS 用試薬) の改良版が発売予定です。サンプル調整の初期段階においてチューブを 1 本にまとめることができ、時間短縮及び消耗品の節約になります。また、手技のエラーの減少にもつながります。

【LABScreen Single Antigen ExPlex】

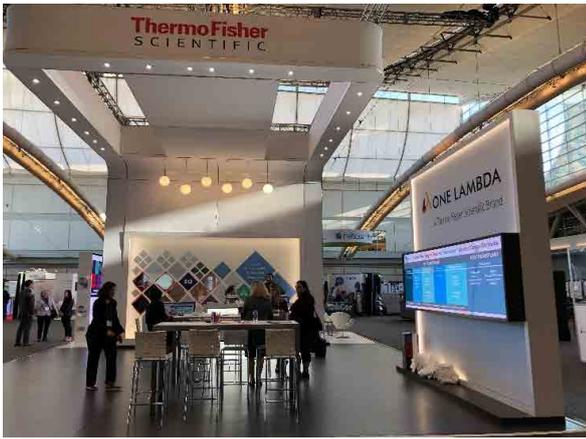
LABScan3D システム専用の LABScreen 試薬です。含まれる抗原は LABScreen Single Antigen Supplement と同じですが、今後新たな抗原が追加されていく予定です。LABScreen Single Antigen と同時に同じウェルで測定するため、HLA Fusion での解析時にデータを Combine する必要がありません。

【Natera(Cell-Free DNA)】

Natera 社は Cell-Free DNA 用の測定キットを販売している会社です。One Lambda 社とパートナー契約をしており、One Lambda 社のブースで Natera 社のスタッフによる検査の紹介がありました。

【MMDx】

Dr. Halloran が設立した企業と One Lambda 社がパートナー契約をしており、Dr. Halloran によるブースプレゼンがありました。



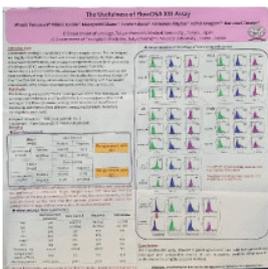
One Lambda 社のブース写真



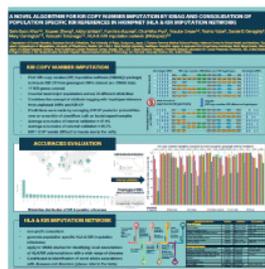
Dr. Halloran によるブースプレゼン

5. その他のトピックス

今年には日本からは東京女子医科大学の古澤様、HLA 研究所の佐治理事長と小島様、国立国際医療研究センターの Charles 様が参加されました。古澤様と Charles 様はポスター発表をされていました。



古澤様のポスター



Charles 様のポスター

2019 年はテラサキ先生の最も有名な下記の論文が発表されてから 50 年、One Lambda 社設立から 35 年という節目の年であり、アンディ・ウォーホル美術館

を貸し切ったの盛大なパーティーが開催されました。



6. 最後に

ASHI は世界各国より臨床医、Lab Director、研究者、検査技師が集まるため、各国の現状を知ることができます。また One Lambda 社のスタッフも多く参加しておりますので、直接製品について質問をすることも可能です。

弊社スタッフも参加しており現地でのサポートはさせていただきますので、来年は皆様も是非参加されませんか？来年はディズニールンドの街として有名なアナハイムで開催されます。また春には EFI (European Federation for Immunogenetics) が毎年開催されています。次は 2020 年 4 月にスコットランドのグラスゴーでの開催です。弊社スタッフも参加の予定になっておりますので、皆様と一緒に学会で学べることを楽しみにしております。

日本総代理店

株式会社

ベリタス

〒105-0013 東京都港区浜松町1丁目10-14
住友東新橋ビル3号館5階
TEL:03-5776-0078(代) FAX:03-5776-0076
E-mail: veritas@veritastk.co.jp
<https://www.veritastk.co.jp/>

