

VERITAS SCIENCE LETTER

HLA & Transplantation Diagnostic Research

Vol. 18
2021.02

第 46 回アメリカ組織適合性学会 (ASHI) オンライン参加報告

株式会社ベリタス 技術グループ
藤原 千恵、山本 希、栗原 優太、益尾 清恵、横沢 佑弥

はじめに

2021 年の第 46 回アメリカ組織適合性学会はカリフォルニア州アナハイムで開催予定であったが、世界中に感染拡大した新型コロナウイルスの影響により他の殆どの学会同様オンラインでの開催となった。当社ではここ 5-6 年、限られたメンバーが現地に赴き参加をしていたが、2020 年はオンラインでの開催ということもあり、複数名が各セッションに参加し、最新の情報を入手することができたのでそれらの情報をまとめた。



全体まとめ

”高解像度タイピング”、“エピトープ解析”、“バーチャルクロスマッチ (Virtual Crossmatch: VXM)”をキーワードとして本学会をまとめていきたいと思う。数年前から次世代シーケンサー (NGS) による高解像度タイピングが臨床現場で普通におこなわれるようになり、エピトープ解析も一般的になってきた。そのため、欧米では従来より日本と比較して VXM が広くおこなわれていたが、さらに精度を増して普及が加速しているようである。“ALL ABOUT VIRTUAL CROSSMATCH”のセッションでは Northwestern University の Dave Pinelli, PhD および Emory University の Dr. Cliff Sullivan MD, D(ABHI) がそれぞれ自分たちの施設での VXM 実施内容とそのアウトカムに関する講演をしていた。まず VXM の Advantage と Limitation をまとめると Fig.1 のようになる。

ASHI 2020 VIRTUAL ANNUAL MEETING

Pros and Cons of the Virtual XM

- | | |
|---|--|
| <p>ADVANTAGES</p> <ul style="list-style-type: none"> Decreased costs <ul style="list-style-type: none"> Labor, reagents Shipping blood Decreased cold-ischemia time <ul style="list-style-type: none"> Wider allocation possible Increased access for highly sensitized patients | <p>LIMITATIONS</p> <ul style="list-style-type: none"> Limitations of SAB reagents Level of donor typing available How recent is available testing? <ul style="list-style-type: none"> Increased cost of maintaining "current" results for waitlist |
|---|--|

OCTOBER 19-21, 2020 • #ASHI2020 • 2020.ashi-hla.org

Fig. 1 Dr. Dave の発表スライド (VXM 導入による Advantage と Limitation)

ポイントとしては導入することによる臨床的意義は大いにあるが、それをおこなうためには検査精度を高め、その精度の限界を知っておく必要があるということである。

Limitation に関してまず Single Antigen Beads (LABScreen Single Antigen) で議論された内容のひとつは Shared Epitopes という考え方である。これは異なるアレルに存在する共通のエピトープのことである。そのことにより多くのビーズ (抗原、アレル) に共通するエピトープに対して抗体を持つ場合には、その nMFI が低くなることにつながる。Dr. Cliff のスライドでそれを示すケーススタディが紹介されていた。

ASHI 2020 VIRTUAL ANNUAL MEETING

Scenario #3: Apparently Negative Virtual Crossmatch in Setting of CREG

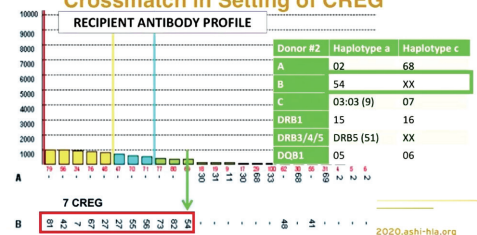


Fig. 2 Dr. Cliff の発表スライド (共通エピトープによる nMFI への影響)

Fig. 2 では nMFI が 1000 以下であるが同じ CREG グループのビーズが反応しているのがわかる。本検体を用いてを実際にクロスマッチをおこなったところ、陽性となった。Single Antigen Beads の反応を単純に nMFI の値で陽性または陰性の判定をするのではなく、反応パターンをしっかりと確認して、DSA の有無の判断をする必要があることがよく示された例であった。

また、そもそも Single Antigen Beads は semi-quantitative (半定量) であることを理解する必要があることも示された。タイピングに関しては Dr. Dave のラボでは 11 ローカスの HLA タイピングを実施し、ドナー特異的抗体 (Donor specific Antibody: DSA) を正確に捉えるようにしているようである。上記のような基本的な考え方に加えて、いくつかのケーススタディが紹介された。これら内容は最近論文にも掲載がされているようである⁽¹⁾。

VXM のアウトカムとして実際に Emory University の例が紹介された (Fig. 3)。2014-2015 年に高感作歴のある 43 例の患者に対して 70% が VXM により献腎移植をおこなった。結果として超急性拒絶または急性拒絶を起こすことはなく、さらにレトロスペクティブに Physical Crossmatch(PXM) をおこなったところ、HLA 抗体による陽性反応はみられなかった。また Johns Hopkins Hospital での結果では 685 例の高感作歴患者に対しての献腎移植での VXM で PXM と差がなかったことも併せて紹介された。

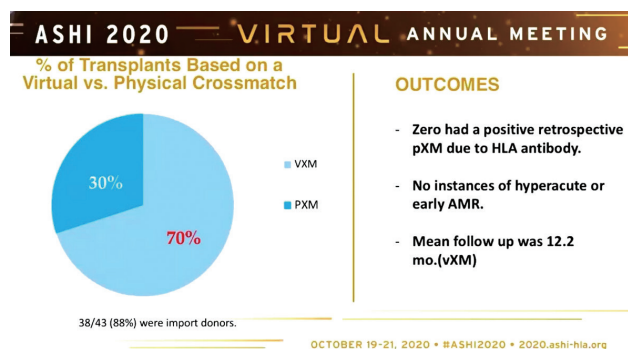


Fig. 3 Dr. Cliff の発表スライド (Emory 大学での VXM 実績)

このように欧米では次世代シーケンサーによる正確な 4 桁タイピングと LABScreen Single Antigen による CREG やエピトープの考え方を取り入れた DSA 検出、その 2 つの結果を用いた VXM が一般的な流れになっているようである。ただし、欧米と日本では状況が異なることも我々は理解しなくてはいけない。日本は圧倒的に献腎が少ないため、待機患者の正確な抗 HLA 抗体のプロファイルを定期的に取り取ることができない。正確な抗 HLA 抗体プロファイルがなければ正確な VXM を実現させることができない。日本の待機患者数、平均待機日数、抗体検査費用、VXM 導入による臨床成績の向上などのバランスをよく考えていく必要があると感じた。

NGS を使ったタイピングの広がりと応用について

・ NGS タイピングの広がり

移植分野において「Acceptable/Unacceptable epitope」の判断のためには、ドナー・レシピエントともに高解像度の HLA タイピングが求められてきている。高解像度タイピングとして近年利用されているのが次世代シーケンサー (NGS) を使ったタイピングアッセイである (Fig. 5)。研究分野のみならずルーチンの検査分野においても導入例が増えている背景を反映して、今年の ASHI ではラボで NGS アッセイを導入する際のチュートリアルについて発表があった。

Commercial HLA NGS Typing Reagents				
	Illumina	Ion Torrent	PacBio	Nanopore
Sequencing method	Sequencing by synthesis (reverse terminator)	Sequencing by synthesis (Ion Release)	Single molecule real time sequencing	Single molecule sequencing by synthesis for current
Library Amplification	Bridge Amplification	Emulsion PCR	No need	No need
Accuracy	99.9%	99%	99%	96%
Error Type	Substitution	Indel	Indel	Indel/substitution
Advantage	Low error rate Pair end	Fast, low cost	Long reads No amplification bias	Long reads No amplification bias
Disadvantage	High cost	Homopolymer runs	High cost Size of the Instrument	High error rate, homopolymer runs
DNA integrity	High	High	Very high	Very high

Fig. 5 HLA タイピングに利用されている NGS 装置とそのパフォーマンスなどが紹介されたスライド

TABLE 1 HLA diagnostic approach to assign a patient's risk for memory or naïve alloimmune response

Pretransplant donor-recipient HLA laboratory evaluation						
CDC crossmatch	Flow crossmatch	Single antigen bead	History of sensitization	HLA molecular MM	HLA identical	Immune risk assessment
DSA positive	DSA positive	DSA positive				Active memory and at risk for hyperacute rejection
Negative	DSA positive	DSA positive				Active memory and at risk for ABMR and TCMR
Negative	Negative	DSA positive				Active memory and at risk for ABMR and TCMR
Negative	Negative	Negative	Pregnancy or prior transplant with repeat MM			At risk for latent memory with a recall B and T cell response
Negative	Negative	Negative	cPRA with unknown repeat MM			Potential risk for latent memory with a recall B and T cell response
Negative	Negative	Negative	No	High		Increased risk for de novo alloimmune response
Negative	Negative	Negative	No	Low		Baseline risk for de novo alloimmune response
Negative	Negative	Negative	No	0	Yes	Low risk for de novo alloimmune response

MM, Mismatch; DSA, donor-specific antibody; ABMR, antibody-mediated rejection; TCMR, T cell-mediated rejection.

Fig. 4 Virtual Crossmatch のセッションにて頻繁に紹介されていた論文のテーブル。それぞれの検査結果と患者背景などを含めてリスク評価をおこなうべきであることが 2018 年に STAR Working Group Meeting Report として提出された⁽²⁾。

(1) Pinelli DF, Tambur AR. Kidney Int. 2020 Apr;97(4):659-662

(2) Sensitization in Transplantation: Assessment of Risk (STAR) 2017 Working Group Meeting Report. Am J Transplant. 2018 Jul; 18(7):1604-1614

「どのようなステップで導入を進めるか」、「どのNGS機器を選ばよいか」に加え、「各実験ステップで使う機器について」「自動化システムの種類」「検証のためのサンプル選定方法」「データのマネジメント」についても丁寧に紹介されていた。またNGSにおけるポイントとして「幅広い頻度のアレルデータが含まれている最新のデータベースを使用すること」、「Coverageが不足することでAmbiguityとなる」(Fig. 6)、「再解析やほかの手法で検証をする重要性」(Fig. 7)などが示され、NGSを利用したワークフローのメリットや注意すべきポイントについてベーシックな情報を得られた。

CHALLENGES IN HLA SEQUENCE ANALYSIS



CHALLENGES OF INCOMPLETE COVERAGE

ALLELE 1	ATGGCCGTC	TGGGCCCCG	AACCTCCCTC	CGGGGCCCTC	GCCCTGACC	CGG
ALLELE 2	-C-	-----	-----	-----	-----	---
ALLELE 3	-----	-----	-----	-----	-----	-G-
ALLELE 4	-C-	-----	-----	-----	-----	-A-
QUERY 1	-----	-----	-----	-----	-----	---
QUERY 2	-----	-----	-----	-----	-----	---
QUERY 3	-----	-----	-----	-----	-----	---
QUERY 4	-----	-----	-----	-----	-----	---
QUERY 5	-----	-----	-----	-----	-----	---
QUERY 6	-----	-----	-----	-----	-----	---

Fig. 6 Coverageが少ないことによりAmbiguityとなる例

CHALLENGES IN HLA SEQUENCE ANALYSIS



VALIDATING - CAUSES OF DISCREPANCY

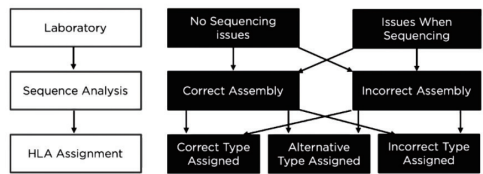


Fig. 7 NGSによるHLAタイピングでの確認するポイント

・タイピング試薬の革新

NGSタイピング試薬に関してはOne Lambda社 AllType NGS試薬をはじめ、主に5社が数種類の試薬キットを展開しており、選択肢は多くなっている。今年のASHIでは各メーカーとも新技術開発・試薬改良をおこなった成果が紹介された。大きくは下記ふたつになる。

① PCR 効率の改善

現在主流の Multiplex Long Range PCR からの NGS タイピングは複数ローカスを1度に増幅できることがメリットである。しかし塩基配列の偏りなどの影響ですべてのローカスを均等に効率よく増幅できない場合があった。そこで各メーカーではPCR効率を改善した試薬を開発している。例えば1ローカス内に複数のプライマーサイトを作ったり、あえて1ウェルにせず複数ウェルに分割して Multiplex 数を減らしたアッセイにしたりすることで確実にPCR増幅をおこない、タイピング結果を得られるような改善がされていた。

② PCRをおこなわないタイピングアッセイ

HLAの多型は非常に多く、すべてのアレルをターゲットできるPCRプライマーの設計は特に難しい。また、検体によってはプライマー領域の未知の箇所に変異がある場合もあり、PCR増幅できずアレルドロップを招くことがある。ASHIではビーズキャプチャー法を用いた新しいタイピングアッセイが紹介された。ゲノム全体を増幅した後、HLA遺伝子特異的なプローブによってHLA領域のみを回収し、NGS解析するというものである。この技術によりアレルドロップの問題を

解消できたケースも紹介された。

・NGSの応用技術と今後への期待

NGSによる応用技術の一例として、キメリズム解析への利用が紹介された。キメリズム解析の手法は多くのラボでサンガー法を用いた Short Tandem Repeat (STR) 解析が採用されている。STR法は安価で早い反面、ブレが大きい、感度が低い (LOD 5%) などの問題がある。NGSを用いた解析は従来法よりも多くの領域をターゲットとしつつも、高感度でブレが少ないという利点が示された。とくにSTRでは測定が難しい0-100%のキメラ割合を正しく検出できることが挙げられていた (Fig.8)。

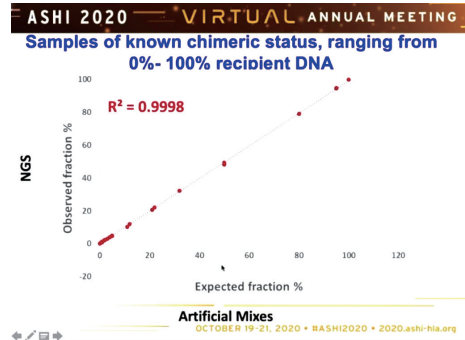


Fig. 8 人工DNAを複数%でインプットしNGSにより検出をおこなった結果。予測値(横軸)とNGSでの実測値(縦軸)で高い相関があることがわかる

キメリズム解析はHLAアレルをターゲットとしてもおこなわれ、移植後モニタリングや疾病再発、ドナーリンパ球輸注などに利用される (Fig. 9)。このためNGSを使った高感度な解析は非常に有用と考えられる。また、近年注目されている血中遊離DNA (cell free DNA: cfDNA) について、NGS法を用いれば心臓移植後のキメリズム解析がおこなえる可能性も示された (Fig.10)。

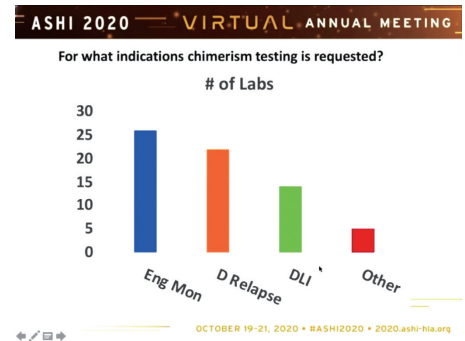


Fig. 9 アンケート結果 (HLAキメリズム解析を必要とするアプリケーション) (Eng Mon: Engraft Monitoring, D Relapse: 再発, DLI: , Other: その他)

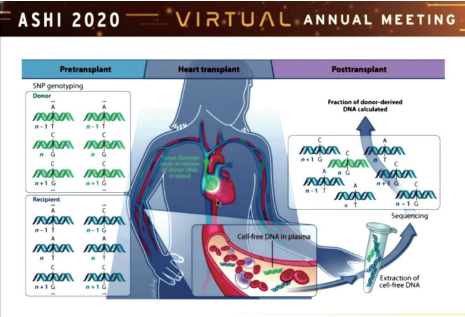


Fig. 10 心臓移植患者においてドナー由来の cell-free DNA が患者血液内に循環する様子

NGS タイピングは他のアッセイに比べて高コスト、時間がかかるなどのデメリットが挙げられてきたが、技術のアップデートは日々おこなわれており、高解像度かつリーズナブルな手法となっていく可能性は高い。ASHI では残念ながら紹介されなかったが、One Lambda 社では ASHI 開催直後の 11 月に Thermo Fisher Scientific 社 Ion S5 シーケンサー対応の AllType FASTplex NGS をリリースした。この製品はすでに今年 4 月にリリースしていた Illumina 社シーケンサー対応の試薬と同じシリーズで、「Simple, Fast, Better」がコンセプトである。従来のアッセイに比べてハンズオンタイムが圧倒的に短く、サンプル調製時間は約 7 時間で済む。データ解析も TypeStream Visual v2 で高速に実施するため、1 検体 1 ウェルで 11 ローカスのタイピングを 2 日以内におこなうことができる。移植をはじめとして HLA の分野でも NGS の活躍の場が広がり、来年の ASHI ではさらに多くの発表があることが期待される。

One Lambda 社の活動

One Lambda 社はバーチャルブースを出展し、ふたつのワークショップを開催していた。バーチャルブースでは、新製品である LABScreen COVID Plus 製品の紹介動画や移植を受けた患者様の経験談やドナー登録啓蒙の動画が紹介されていた。本レポートではそこから得られた 3 つのポイントを報告する。



Fig. 11 One Lambda 社バーチャルブースの様子

・バーチャルクロスマッチの重要性

バーチャルクロスマッチをおこなうためには、正確な 4 桁のタイピング結果とできるだけ多くのアレルを網羅した抗 HLA 抗体検査の試薬が必要であるため、LABScreen Single Antigen ExPlex を使用することは大変有用である。ExPlex に含まれるアレルのアメリカでの頻度は下記のとおり。具体的な事例と共に ExPlex 使用により検出できる抗 HLA 抗体の種類が増え、移植時のリスクが軽減されることが説明された。

Serology	Molecular	Frequency of Explet Represented Alleles				
		*US Population	CAU	AA	AS	HIS
A2	A*02:05	1.26%	2.47%	0.14%	0.90%	1.40%
A2	A*02:07	0.98%	0.40%	6.16%	0.00%	0.00%
B2	B*15:17	0.35%	0.86%	0.12%	0.6%	0.4%
B35-Bw6	B*35:02	1.04%	0.10%	0.10%	1.10%	1.30%
B35-Bw6	B*35:03	1.32%	0.34%	0.45%	3%	1.30%
Cw7	C*07:01	15.47%	13.49%	1.81%	26%	30%
Cw8	C*08:04	2.08%	0.99%	2.23%	0.00%	0.00%
Cw8	C*08:02	3.77%	3.17%	0.14%	6.70%	7.30%
Cw7	C*07:04	0.02%	0.79%	0.00%	3%	3.50%
Cw12	C*12:02	0.94%	0.20%	2.79%	1%	0.8
D18	D*18:01	0.09%	2.77%	0.14%	0.6	0.4
D8	DRB1*04:07	1.59%	0.41%	0.70%	9.71%	3.30%
D8	DRB1*08:02	0.10%	0.00%	1.41%	4.85%	2.30%
D13	DRB1*13:02	5.04%	9.15%	3.52%	5.43%	9%
D14	DRB1*14:06	0.03%	0.00%	0.18%	0.57%	0.90%
DQ5	DQA1*01:01/ DQA1*05:03	2.40%	1.40%	6%	1.30%	5.40%

Fig. 12 LABScreen Single Antigen ExPlex に含まれる幾つかのアレルの頻度例

・エピトープ解析

エピトープは抗原決定基とも呼ばれる。抗体は抗原全体を認識するのではなく、抗原上の数個のアミノ酸を認識して結合し、その抗体が認識するアミノ酸配列をエピトープと呼ぶ。ひとつの HLA 抗原がミスマッチであった場合、レシピエントはそのミスマッチ抗原に対する抗体のみを産生すると考えがちだが、実際にはその産生された抗体は複数の抗原に反応する。その理由はひとつのエピトープを複数の抗原が共通して保有しているためである。よってエピトープ解析をおこなうことにより、今後陽性となる抗原の予測ができ、予後の向上に役立てることができる。

Fig. 13 はエピトープのミスマッチの数と予後の関係を示したグラフである。ミスマッチ数が少ない方が予後がよいことがわかる。

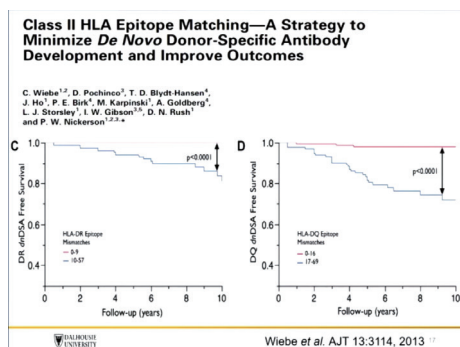


Fig. 13 エピトープミスマッチ数と dnDSA (de novo DSA) の出現の関係

【ケーススタディ】

42 歳の女性で、2 度の妊娠歴と夫から移植を受けており、今回は 2 度目の腎移植となる。タイピング情報は下記のとおり (Fig. 14)。

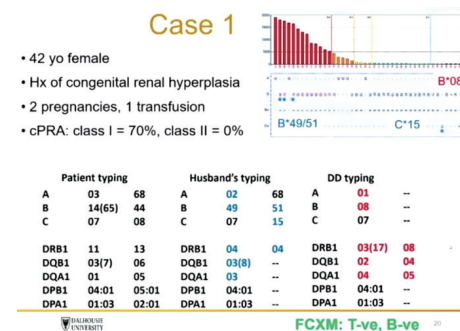


Fig. 14 ケーススタディのタイピング情報。赤：2 度目の移植のドナーアレル (A*01、B*08:01) 青：夫 (1 度目のドナー) のアレル (A*02、B*49、B*51、C*15:02)

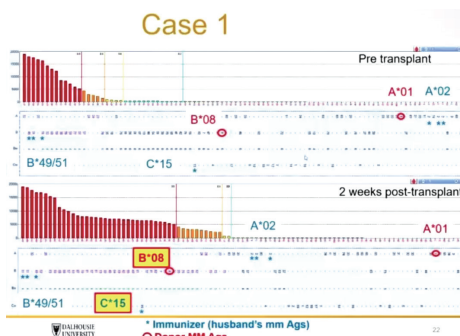


Fig. 15 移植前後の抗体検査の結果。上段が移植前、下段が移植後。移植後には B*08:01 (Fig 内の B*08 は B*08:01 を示す)、C*15:02 (Fig 内の C*15 は C*15:02 を示す) が陽性となる

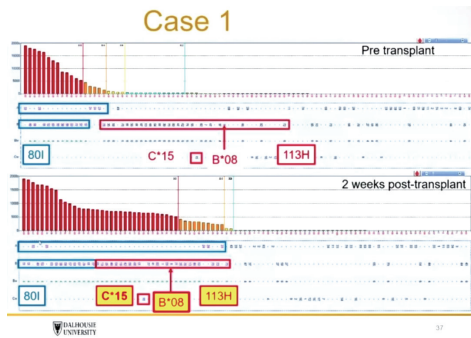


Fig. 16 エピトープ解析による LABScreen Single Antigen の反応の説明

B*08:01、C*15:02 を含む赤枠で囲われたすべてのアレルは「113H」のエピトープを保有しており、青枠で囲われたすべてのアレルは「80I」のエピトープを保有している (Fig.16)。移植後に陽性となったアレルはすべて「113H」を保有していることより、2 度目のドナータイプである B*08:01 が保有する 113H に患者レシピエントの抗体が反応し、結果的に夫の C*15:02 を含む 113H のエピトープを保有するすべてのアレルが陽性になったものと考えられる。エピトープ解析をおこなうことで、陽性になった理由を明確に説明することができる例が紹介された。

・ LABScreen COVID Plus の紹介

2020 年は COVID-19 のウイルスが世界に影響を与えた。移植医療においては免疫抑制剤を通常利用することから、緊急以外の移植は殆どが延期されていた。そのような中でもおこなわれた移植患者において、移植検査で重要な位置づけである抗 HLA 抗体と免疫反応との関係を調べる研究がされ、COVID-19 感染により抗 HLA 抗体のプロファイルに影響があることが示された。そこで One Lambda 社では Emory University の Dr. Bray らとの共同研究により LABScreen COVID Plus を開発した。LABScreen COVID Plus のサンプル調整方法は LABScreen 製品と同じであるが、検体の前処理のみ異なる。ビーズ構成は Fig.17 のとおり。

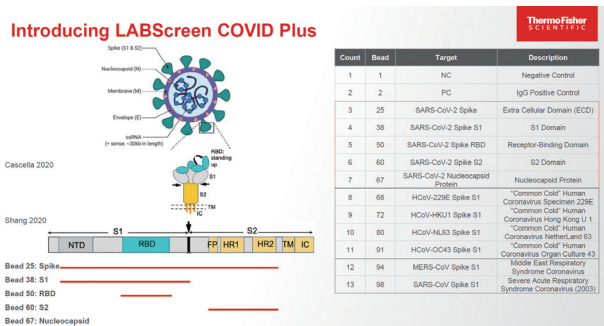


Fig. 17 LABScreen COVID Plus の紹介

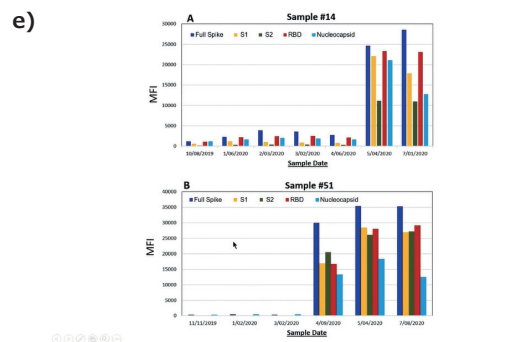
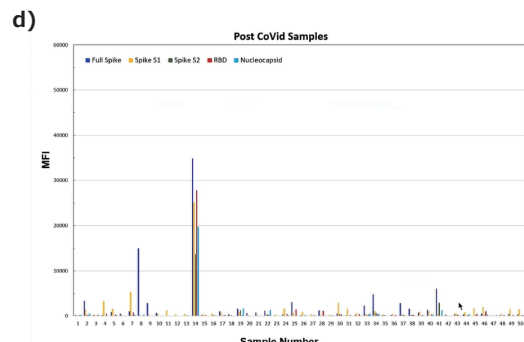
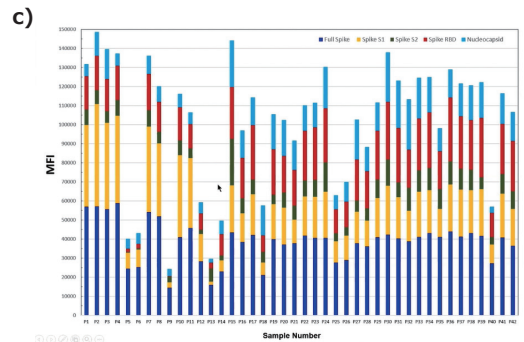
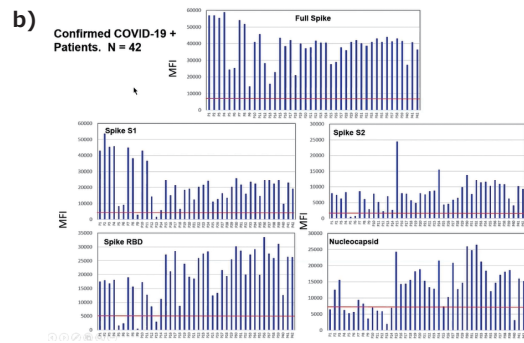
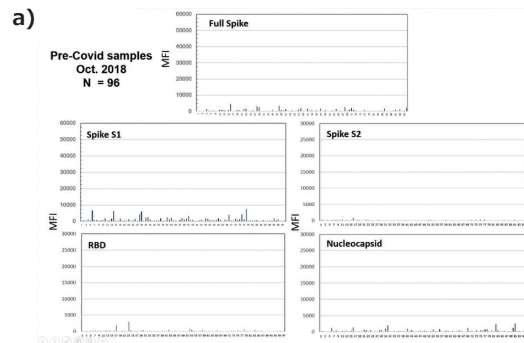


Fig. 18 LABScreen COVID Plus 検討結果。a) 2018 年 10 月に採取した検体 (COVID-19 陰性) の結果。b) COVID-19 陽性患者の検体の結果。c) COVID-19 陽性患者の検体の各ビーズの MFI の累計。d) COVID-19 治療後患者の検体の結果。e) 同一患者における COVID 感染前から完治後の結果。COVID-19 流行前の検体は陰性だが、感染後に陽性となっているのがわかる。

189例を LABScreen COVID Plus で測定したところ、擬陽性が1例のみで感度、特異性共に問題ない試薬であることが証明された (Fig.19)。

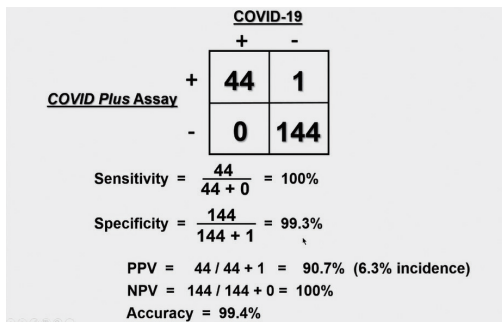


Fig. 19 他手法との比較により感度及び特異性を確認。

造血幹細胞移植に関する情報

毎年、造血幹細胞移植に関するセッションはあるが、2020年は例年よりも多くの講演があった。その中からいくつかのセッションの概要を報告する。

演題: Hematopoietic Cell Transplantation with alternative donor

Maria P. Bettinotti PhD, D(ABHI) FACMG John Hopkins University School of Medicine Baltimore, Maryland

造血幹細胞移植の目的は正常な免疫システムの再構築や抗腫瘍細胞効果である。移植に使用される造血幹細胞は骨髓由来や末梢血幹細胞、臍帯血がある。

造血幹細胞移植数は増加しているが、高齢の患者が増えているため、レシピエントとドナーのHLAミスマッチ移植が増えている。高齢の患者は親族が亡くなっていることが多いため、親族以外で8/8マッチのドナーを見つける難しさがある。よって、移植総数で見ると米国ではHLAが一致している親族による移植が減少し、親族以外のHLAミスマッチ移植が増えている。

ハプロ造血幹細胞移植の障害となる・双方向アロ反応性、・グラフトロス、GVHD、再発以外の原因による死亡、移植後の生存率の低さなどの課題があり、いかなるアプローチで解決していくかを考える必要がある。解決策として下記が示された (Fig.20)。

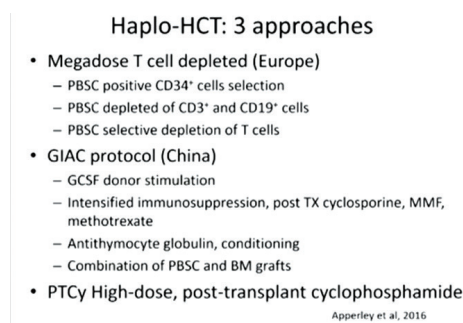


Fig. 20 ハプロ移植に対するアプローチ

例えば、ヨーロッパではT細胞の大量投与がおこなわれている。PBSC(peripheral blood stem cell)から抽出したCD34細胞、CD3とCD19を取り除いたPBSC、特定のT細胞を取り除いたPBSCを投与することがある。アメリカでは移植後に大量のシクロホスファミドの投与が最も一般的である。

Hopkins Universityでは、必ずしもHLAがすべて一致しているドナーを選択していない。ドナーが健康であること、40歳以下であること、少なくとも半分はHLAが一致していること、ドナータイプに対する抗体を持たないこと、ABOがマッチしていること、を考慮して選択している。

演題: Transplanting the Sensitized Patient: The Johns Hopkins experience

Maria P. Bettinotti PhD, D(ABHI) FACMG John Hopkins University School of Medicine Baltimore, Maryland

DSAが移植後の生着に悪影響を与えることはよく知られている。HLAの一致度合いによってDSA産生リスクが異なり、そのリスクは、完全一致、一部のミスマッチ、ハプロ一致の3つに分けられると考えている。その他にDSA産生に影響を与える因子は妊娠、輸血、過去の移植の3点である。

グラフトロスにつながるリスクを回避するためにはDSAの検出が大変重要になる。抗HLA抗体検査にはLuminexアッセイ (Solid Phase Immunoassays: SPI) と細胞ベースのアッセイの両方の実施が必要と考えている。SPIは感度と特異性が高いという利点があるが、ビーズ表面の抗原の反応のみを検出する。細胞ベースのアッセイは細胞上の全ての抗原との反応を検出でき、また、抗原の密度や量も加味した反応になるので移植後の生体内の反応の再現ができるため重要と考えている。

SPIによる抗HLA抗体の判定は条件によって異なる。例えば、試薬のロット変更が結果に影響を与える可能性もある。また、陽性抗体が多くビーズとエピトープを共有していたり、強すぎる抗体の存在 (この場合は希釈が必要になる)、検体の前処理方法によっても結果は異なる。少なくとも、nMFI値を比較するときは、検体の前処理方法は必ず確認しなければならない。下記のように前処理方法により大きく異なる (Fig.21)。

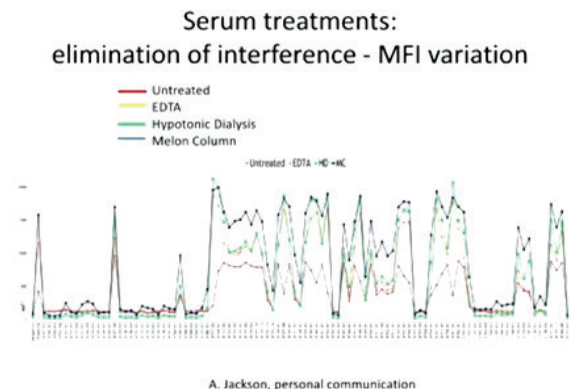


Fig. 21 血清の前処理方法が nMFI に与える影響

抗HLA抗体はメモリーT細胞やB細胞、血小板、他の血液成分、感染、手術など、様々な因子によって影響を受ける。施設ごとにモニタリング項目と測定方法を決め、定期的に特異性や強度に変化がないかを観察することが重要である。

DSAの判定基準が紹介された (Fig. 22)。HLA-A,B,DR ローカスと HLA- C,DQ,DP ローカスの基準は異なっており、2倍以上の差がある。

Estimation of relative DSA antibody levels

- For SAB serum treatment with Melon column to reduce interference
- Relative AB strength estimated from reactivity in SPI based on prior correlations with crossmatch test results: Virtual Crossmatch

Weak DSA	1000-2900 MFI SAB
Low Level DSA	3000-5000 MFI SAB
Intermediate level	5000-10,000 MFI SAB
FC-XM + > 5000 MFI phenotype	>10,000 MFI SAB
CDC-XM + > 10,000 MFI Phenotype	>10,000 MFI at 1 to 8 dilution SAB

Ranges are for AB to HLA-A,B,DR
Ranges for AB to HLA-C,DQ,DP up to 2X higher as SPI are enhanced for detection of these specificities

Fig. 22 造血幹細胞移植における DSA の判定基準例

グラフトロスのリスクとして DSA が補体依存性かどうか、移植時の体内の DSA の抗体価や DSA の標的となる HLA 抗原の発現度合い、CD34 の発現レベルなどがある。

妊娠により生成された DSA、複数回のミスマッチ移植による DSA、クラス II の DSA、複数の抗原に対する DSA の存在、DSA の抗体価の上昇はハイリスクと考え、強めの脱感作療法をおこなう必要がある。

リスクファクターを加味した抗 HLA 抗体を消失させるための脱感作療法のプロトコールを設定し、移植前にリスクをできるだけ軽減してから造血幹細胞移植を実施している。

演題: Donor-Specific Anti-HLA Antibodies (DSA) and Graft Outcome in Hematopoietic Cell Transplantation (HCT)

Kai Cao, M.D., D(ABHI)

Profressor Laboratory Director, HLA Laboratory

University of Texas MD Anderson Cancer Center, Houston, Texas

DSA (ドナー特異性抗体) は移植後の生着率に影響を与える大きな因子として重要視されていることは言うまでもない。ハプロ一致や HLA ミスマッチ移植において脱感作療法をおこなうことで抗体レベルを低下させ、造血幹細胞移植をおこなうことができる。

抗体検査は Luminex 法でおこなっており、LABScreen Single Antigen(LSSA) をおこなう際には EDTA 処理をした血清を使用している。LSSA で DSA が検出された場合は C1q の測定もおこない、脱感作療法をおこなう。

5年前に C1q が陽性で DSA も陽性であることは造血幹細胞移植においてグラフトロスのリスクが高くなると報告している。

2010年から2018年の移植患者の抗 HLA 抗体の保有率は Fig.23 のとおりである。

Antibody Status in HCT Patients

Donor Type	Number	Antibody NEG	Antibody POS
MUD	2,054	1,513 (35.1%)	541 (12.3%)
CBU	354	256 (5.9%)	98 (2.3%)
Allo Related	1,442	1,051 (24.4%)	391 (9.1%)
Haploidentical	456	342 (7.9%)	114 (2.6%)
All	4,036	3,162 (73.4%)	1,144 (26.6%)

OCTOBER 19-21, 2020 • #ASHI2020 • 2020.ashi-hla.org

Fig. 23 造血幹細胞移植患者における抗 HLA 抗体の保有率

ハプロ一致移植患者の内訳は下記のとおりである。

DSA Status in Haploidentical HCT (@TP) N = 456

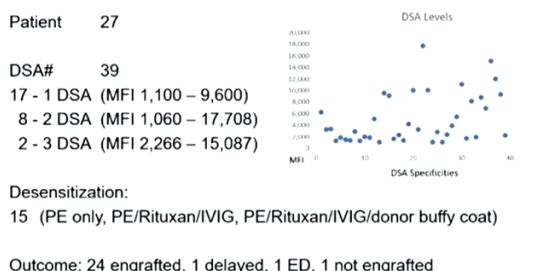
Ab+	114 (25.0%)	Ab-	342 (75.0%)
Ab+/DSA-	74 (64.9%)		
Ab+/DSA+	40 (35.1%)	C1q NT	2 (0.05%)
		C1q-	27 (67.5%)
		C1q+	11 (27.5%)

OCTOBER 19-21, 2020 • #ASHI2020 • 2020.ashi-hla.org

Fig. 24 ハプロ移植患者の抗 HLA 抗体の詳細

25%の患者で抗体が陽性となっており、その中で DSA 陽性の患者が 35.1% だった。DSA が陽性、C1q 陰性の患者が 67.5% となっているため、今回は C1q 陰性がどの程度影響をおよぼすのか観察をした。

DSA+/C1q- HCT Outcome



OCTOBER 19-21, 2020 • #ASHI2020 • 2020.ashi-hla.org

Fig. 25 DSA(+), C1q(-) の 27 症例の詳細な解析結果

保有している DSA の数は 17 名が 1つ、8 名が 2つ、2 名が 3つだった。すべての患者に脱感作療法をおこない、24 名の移植が成功した。脱感作療法により DSA は低下したが、再発により死亡した患者もいた。



DSA の MFI 値と C1q の関係をもとに作成した移植前の治療のガイドラインを紹介する。

- ① DSA の MFI < 2000、C1q (-) : 治療は不要。
- ② DSA の MFI < 2000 ~ 10000、C1q (-) : 脱感作を 1 回おこなってから移植する。
- ③ DSA の MFI > 10000、または C1q (+)、もしくは両方 : 脱感作を実施する。脱感作後に C1q が (-)、かつ MFI < 10000 になれば、別の脱感作を実施し移植となる。
- ④ DSA の MFI > 10000、または C1q (+) : 移植をおこなわない。

移植成功のためには、可能であれば DSA が陰性のドナーを選択することが重要である。DSA が陽性の患者に移植をおこなう場合は、必ず脱感作療法をおこなってから移植をする必要がある。C1q と DSA の MFI を移植前にいかに下げるかが、移植成功の鍵となる。特に補体活性の有無は重要なので C1q は実施しなくてはならない。抗 HLA 抗体検査は移植の 30 日以内におこなう必要があることも忘れてはいけない。

最後に

コロナ禍によりオンライン学会となり、毎年会える One Lambda 社のメンバーや 10 年ほど前に日本でも講演してくれた Dr. Bray、HLA Mathmaker の生みの親である Dr. Duquesnoy、クロスマッチの T/B 分離で EasySep をルーチン化させた Dr. Liwski、Epitope 解析で IHWS を牽引している Dr. Tambur など、学会でしか会えないメンバーに直接会って話ができなかったのは非常に残念であった。ただ、プラスの面としては冒頭にも示したように、当社に限らず、普段は時間的制約などから参加が難しかった方も参加することができたということであった。

学会の最後には昨年と同様に DJ がオンラインで音楽をまわしつつ、皆がそれぞれの場所から参加してダンスを踊っていたのはとても印象的で感慨深いものであった。ASHI のオフィシャルダンスパーティー (Fig. 26) の後は毎年恒例の One Lambda 社のダンスパーティー (Fig. 27) がオンライン&バーチャルで開催。こちらもまたコロナ禍ならではのイベントであった。

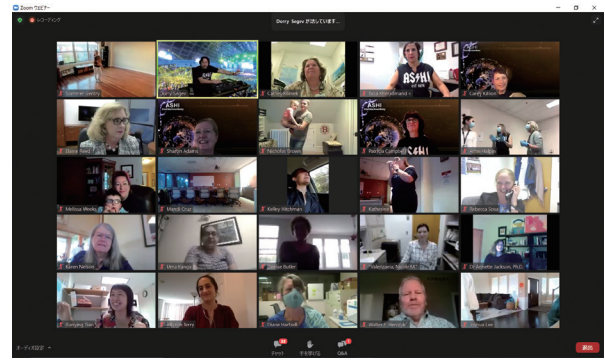


Fig. 26 ASHI のオフィシャルダンスパーティー



Fig. 27 One Lambda 社のオンラインバーチャルダンスパーティー

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/>