

HNA抗体確認試験法の構築

鎌田裕美¹⁾、中島文明¹⁾、松山宣樹²⁾、高橋大輔³⁾、渡辺嘉久¹⁾、
柴雅之¹⁾、永井正¹⁾、佐竹正博¹⁾

1) 血液事業本部 中央血液研究所

2) 近畿ブロック血液センター

3) 北海道ブロック血液センター



第66回 日本輸血・細胞治療学会総会

COI開示

筆頭発表者名：鎌田裕美

演題発表に関連し開示すべきCOI関係にある
企業などはありません。



◆ HNA抗体の臨床的意義

- 輸血関連急性肺障害 (TRALI)
- 自己免疫性好中球減少症
- 同種免疫性新生児好中球減少症

◆ HNA抗体検査法

従来法：

GIFT-FCM, GAT, MAIGA

問題点

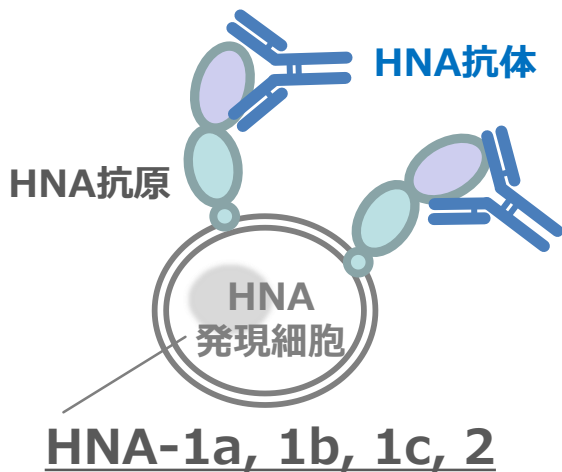
- 抗原型既知のパネル好中球
- 混在するHLA抗体
- 施設間差



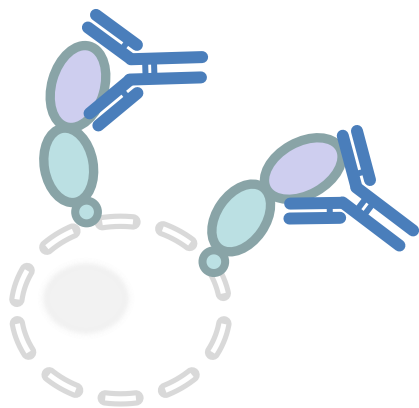
HNA抗体確認試験
発現細胞を用いたICFA法

- HNA発現細胞 (凍結)
- 蛍光マイクロビーズ
- mAbによるキャプチャー法
- 検査抗原の追加

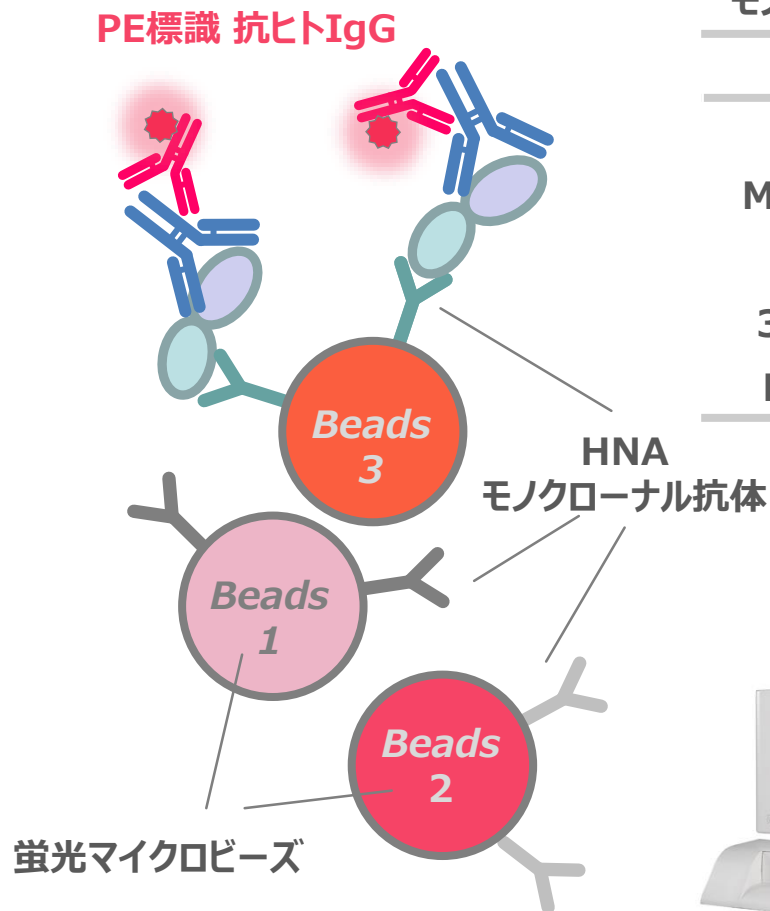
1. 抗体感作



2. 細胞可溶化



3. immunocomplexの捕捉・検出



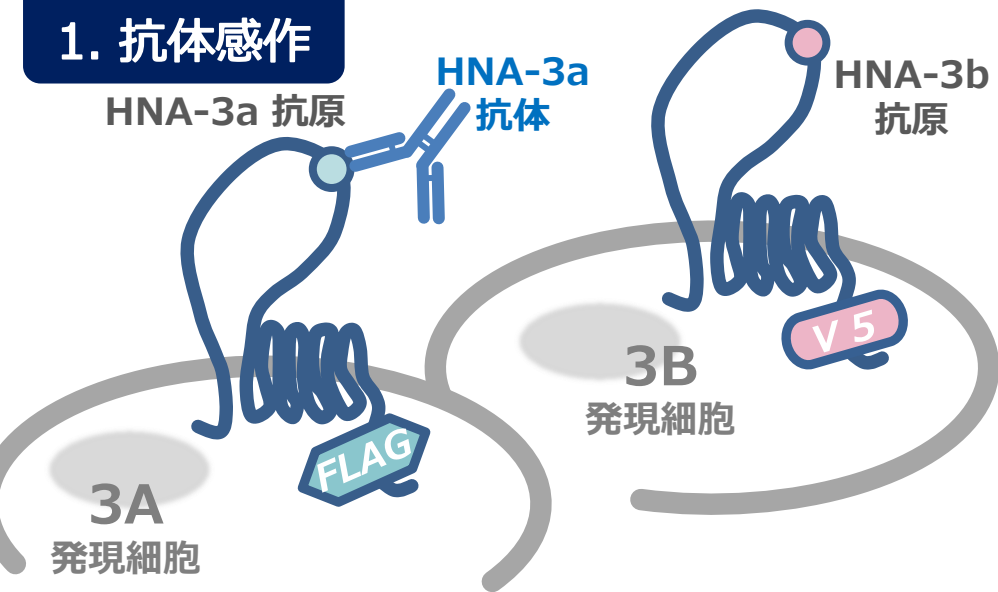
モノクローナル抗体のclone ID

HNA-1	HNA-2
LNK16	8J225
MEM-154	8J634
3G8	MEM-166
3H1029	3H1954
DJ130c	

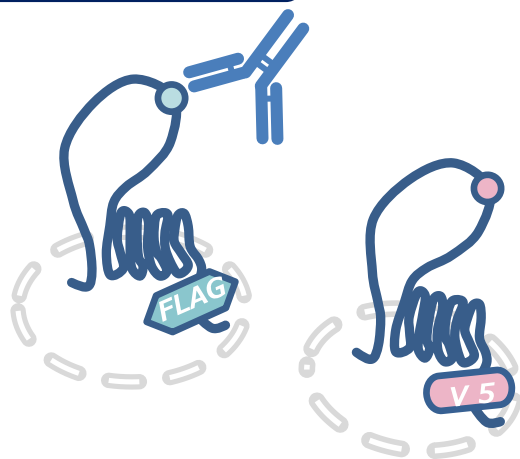


Luminex装置

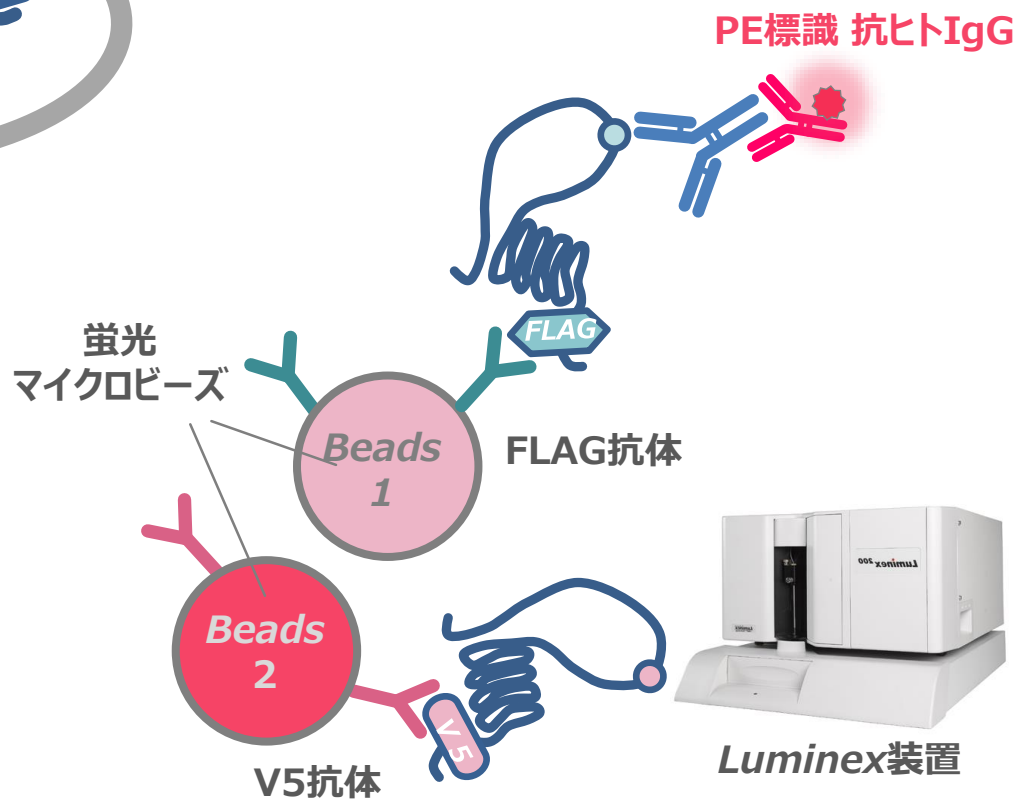
1. 抗体感作



2. 細胞可溶化



3. immunocomplexの捕捉・検出



Fujiwara K. et al.

Application of bead array technology to simultaneous detection of human leucocyte antigen and human platelet antigen antibodies.

Vox Sang, 96:244-251, 2009

1. 発現細胞の選択
2. 可溶化Buffer：界面活性剤の種類
3. 蛍光ビーズへのmAbカップリング方法
4. mAbの選択

1. 発現細胞の選択

		発現細胞	
HNA-1	1a	CHO-K1 NA1,	KY-1a
	1b	CHO-K1 NA2,	KY-1b
	1c	CHO-K1 SH,	KY-1c
HNA-2		CHO-K1 CD177,	KY-2
HNA-3	3a	HEK293 3A-FLGP	
	3b	HEK293 3B-GFP	

反応性のより良い細胞を選択

2. 可溶化Buffer：界面活性剤の種類

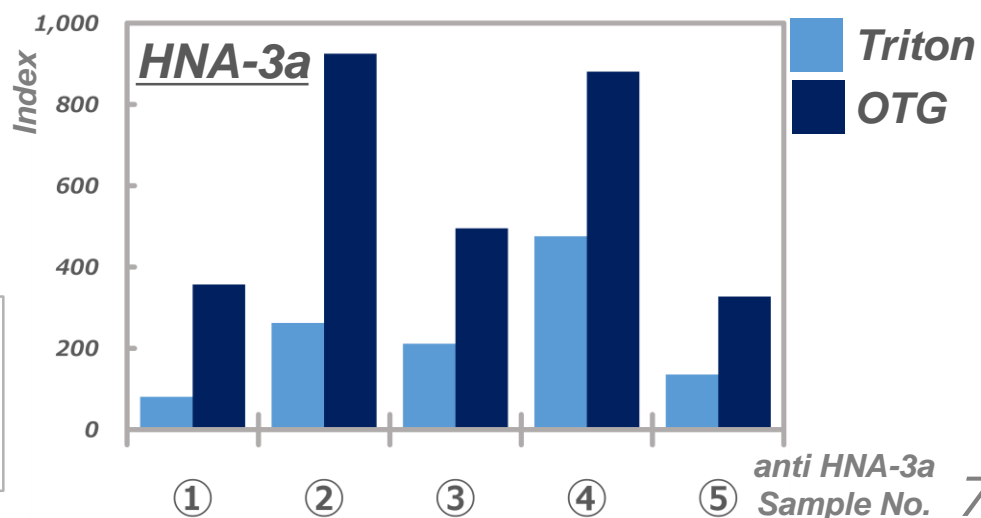
TritonX-100



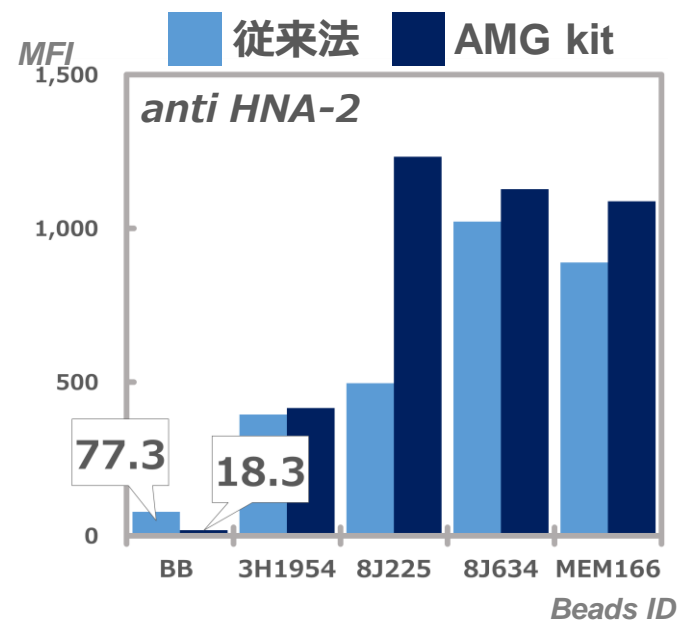
OTG

(*n-Octyl-β-D-thioglucoside*)

シグナル ↑
バックグラウンド →



3. 蛍光ビーズへのmAbのカップリング方法



4. mAbの選択

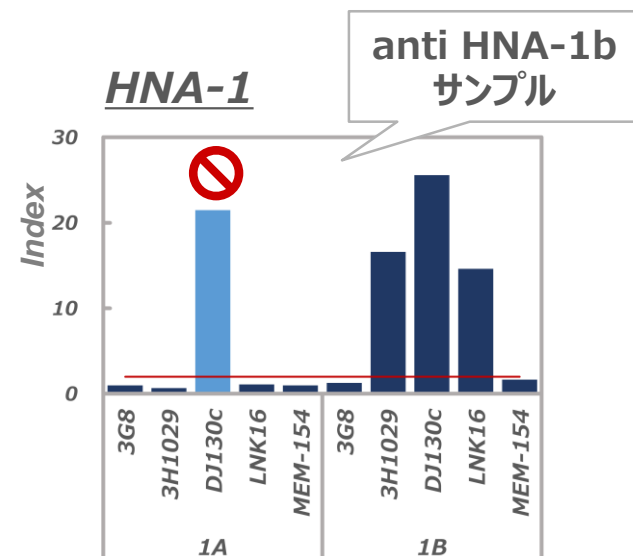
HNA-1:

- **3G8**
 - **LNK16**
 - **3H1029**
 - **MEM-154**
 - DJ130c
- } CD16
 ドメイン1
 — ドメイン2

HNA-2:

- **8J225**
- **8J634**
- **3H1954**
- **MEM-166**

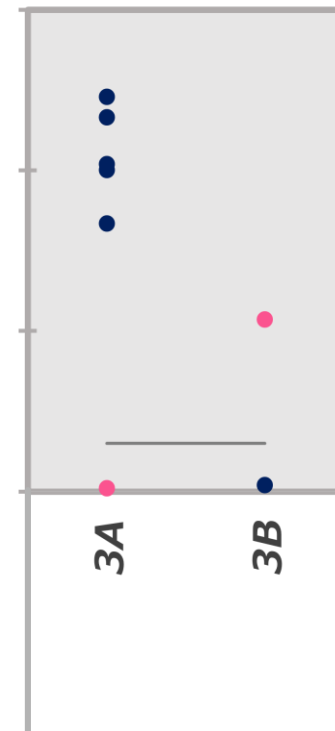
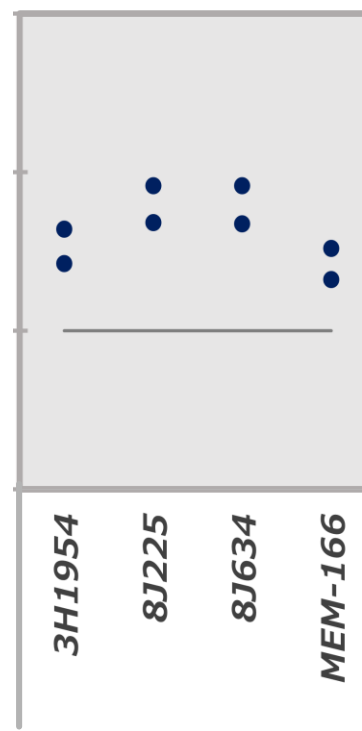
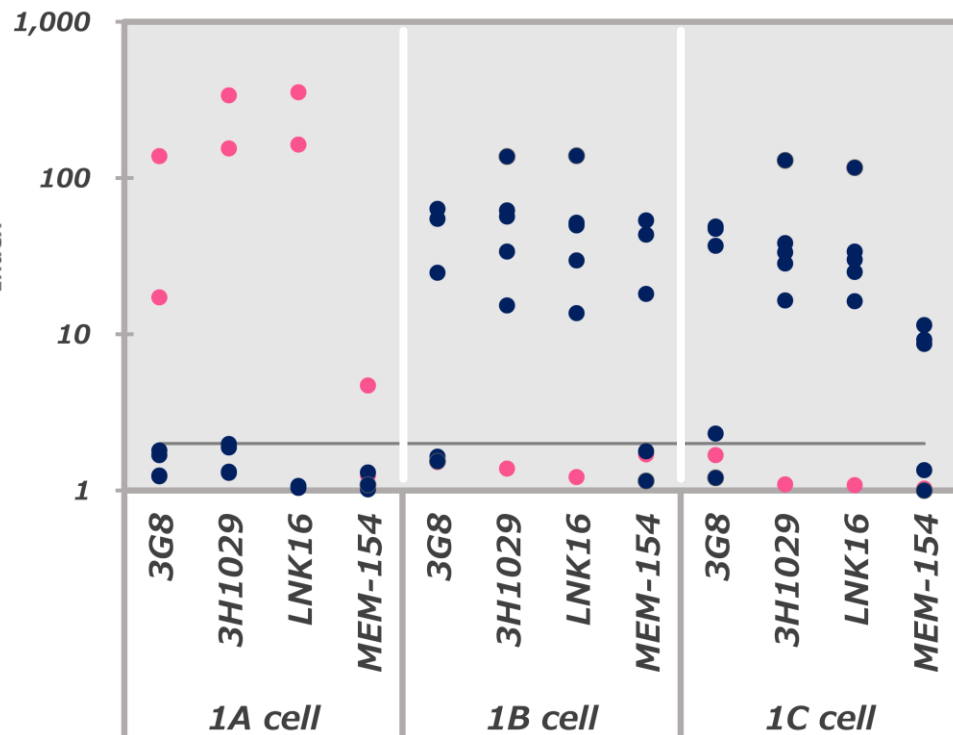
エピトープが異なる抗体を複数選択



HNA-1

HNA-2

HNA-3



● 1a 血清
(n=2)

● 1b 血清
(n=5)

● HNA-2 血清
(n=2)

● 3a 血清
(n=5)

● 3b 血清
(n=1)

■ 検査試薬

凍結保存HNA発現細胞

(HNA-1a, 1b, 1c, 2, 3a, 3b)

ビーズミックス試薬 (HNA-1, 2 3)

洗浄液、可溶化液 等

■ 抗体特異性既知サンプル

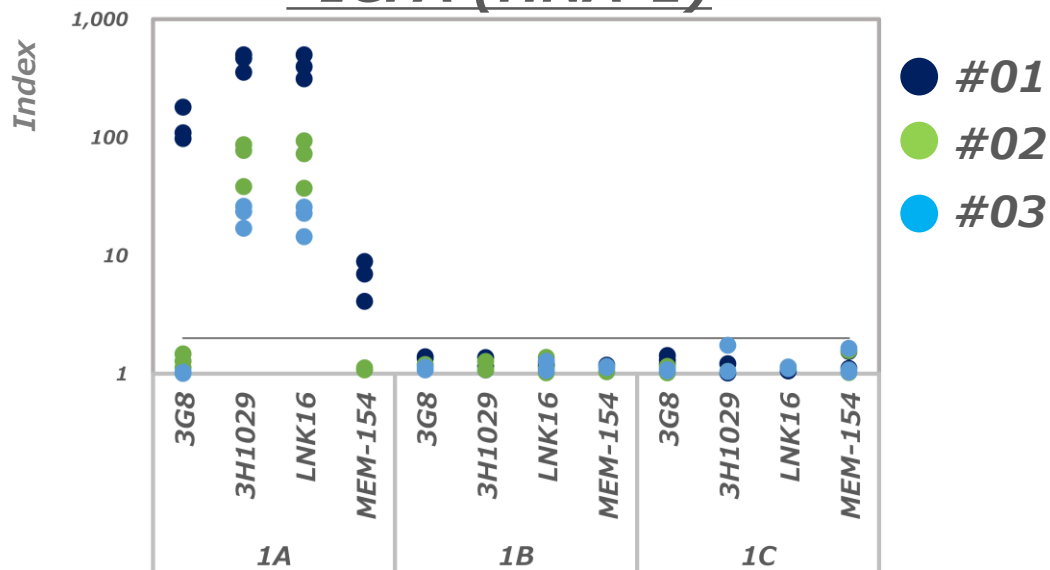
(#01～14)

■ 検査実施施設

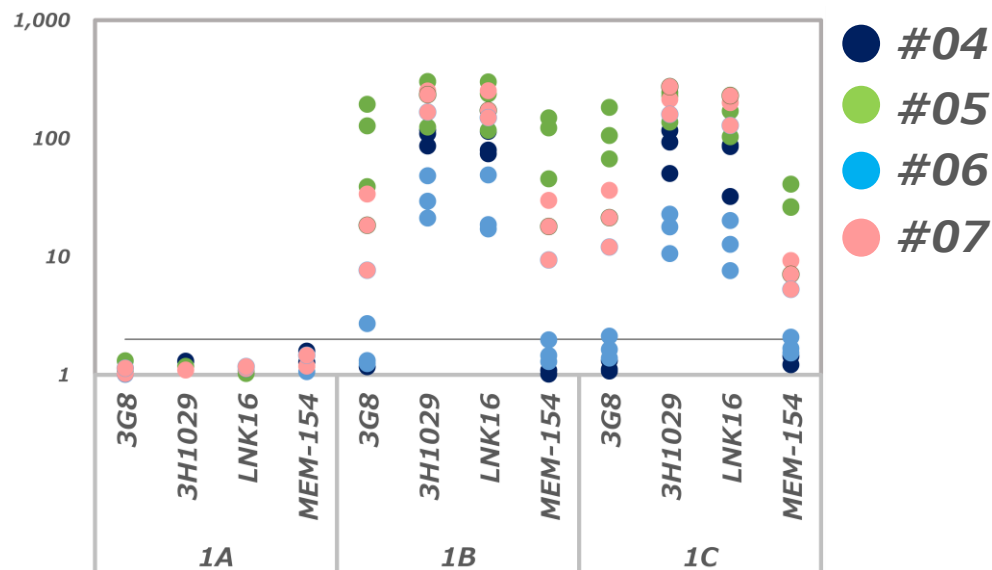
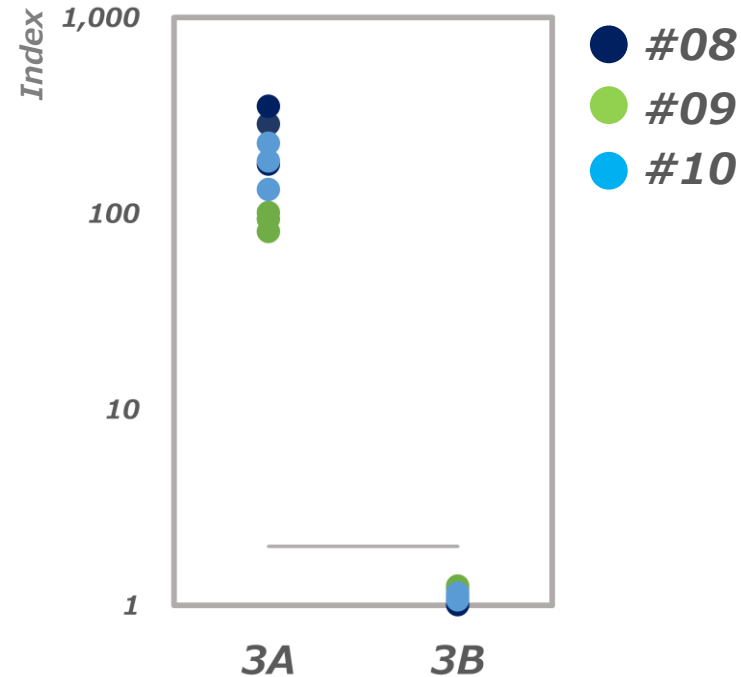
- 北海道ブロック血液センター
- 近畿ブロック血液センター
- 中央血液研究所

	抗体特異性		
	HNA	HLA	その他
#01	1a	class 1	
#02	1a	class 2	
#03	1a	class 1	
#04	1b	class 1	
#05	1b	class 1	
#06	1b	class 1	
#07	1b	class 2	
#08	3a	-	
#09	3a	-	
#10	3a	class 1	
#11	-	class 1	
#12	-	class 2	
#13	-	-	Nak ^a
#14	-	-	-

ICFA (HNA-1)



ICFA (HNA-3)



#11, 12, 13, 14
HNA-1, HNA-2, HNA-3
 3施設共に 陰性

施設間差 : ○]
 整合性 : ○] → 標準化 : ○

- ◆ HNA抗体確認試験として発現細胞を用いたICFA法を確立した
- ◆ 特異性既知抗血清も、良好な反応性
- ◆ 施設間差は少なく結果の整合が得られ、標準化も可能

O-112

「抗原発現細胞を用いたICFA法によるHNA抗体確認試験標準化の検討」

今後の課題

- ✓ 陽性コントロール血清
- ✓ HNA-2 mAbの追加, 発現細胞の改良
- ✓ TRALI症例に関与する抗血清の検出

