

HLAの基礎知識

熊本赤十字病院 検査部
吉丸 希歩

目次

- ・ HLAとは
 - HLAの役割、遺伝、HLA抗原・遺伝子について
- ・ HLAの検査について
 - HLAタイピング、抗HLA抗体検査、クロスマッチ

HLAとは

HLA : **H**uman **L**eukocyte **A**ntigen(ヒト白血球抗原)

- ヒトにおける主要組織適合性抗原複合体(MHC) = HLA
- 6番染色体の短腕部に位置
- 自己と非自己を認識する免疫システムの一つ
- 移植において、拒絶反応や移植片対宿主病(GVHD)に大きく関わっている

HLA分子について(HLAの役割)

構造上の違いからClass I とClass II に大別される

Class I

ほとんどの有核細胞、血小板に発現

α 鎖 + β_2 ミクログロブリン

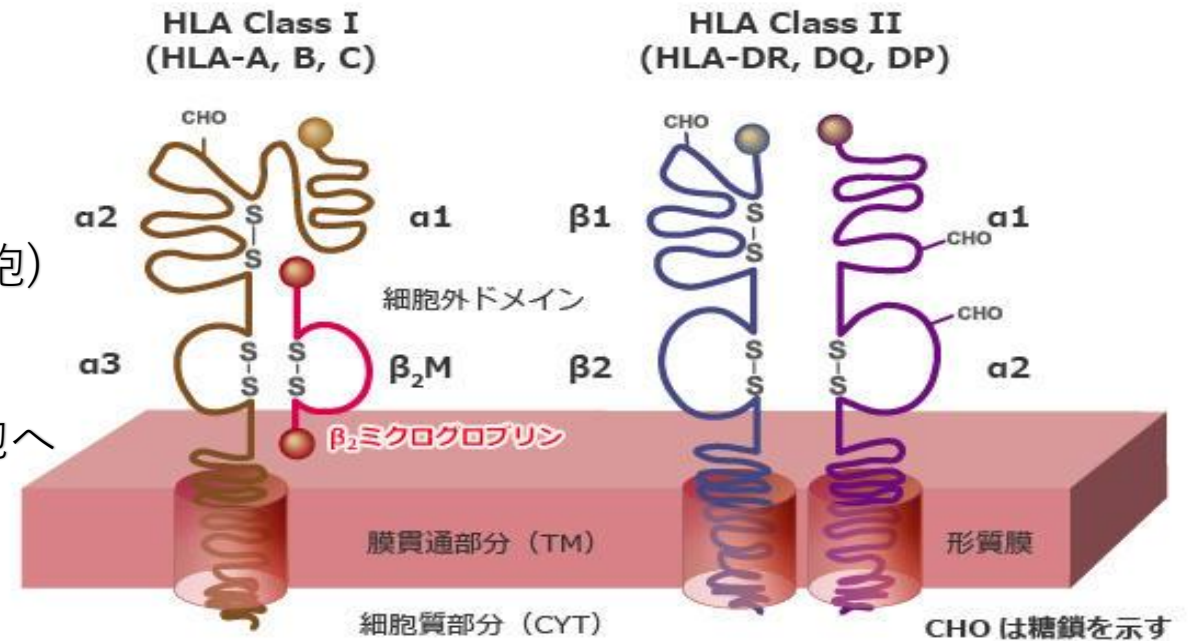
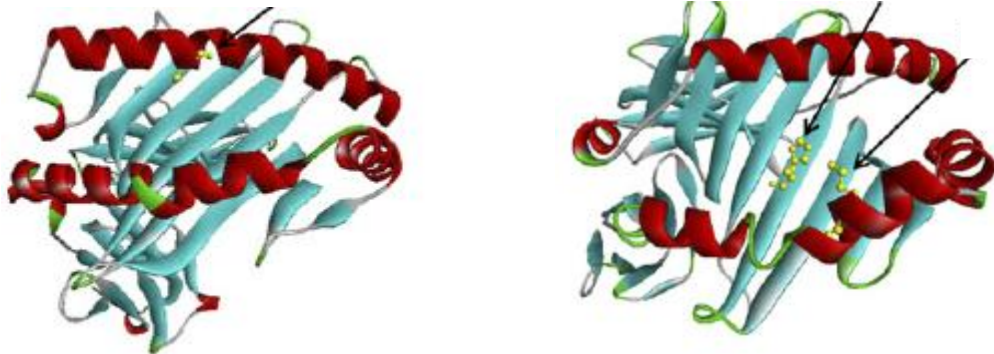
$\alpha 1$ - $\alpha 2$ 領域で内因性ペプチドをCD8陽性T細胞へ提示

Class II

抗原提示細胞(単球、マクロファージ、樹状細胞、B細胞)に発現

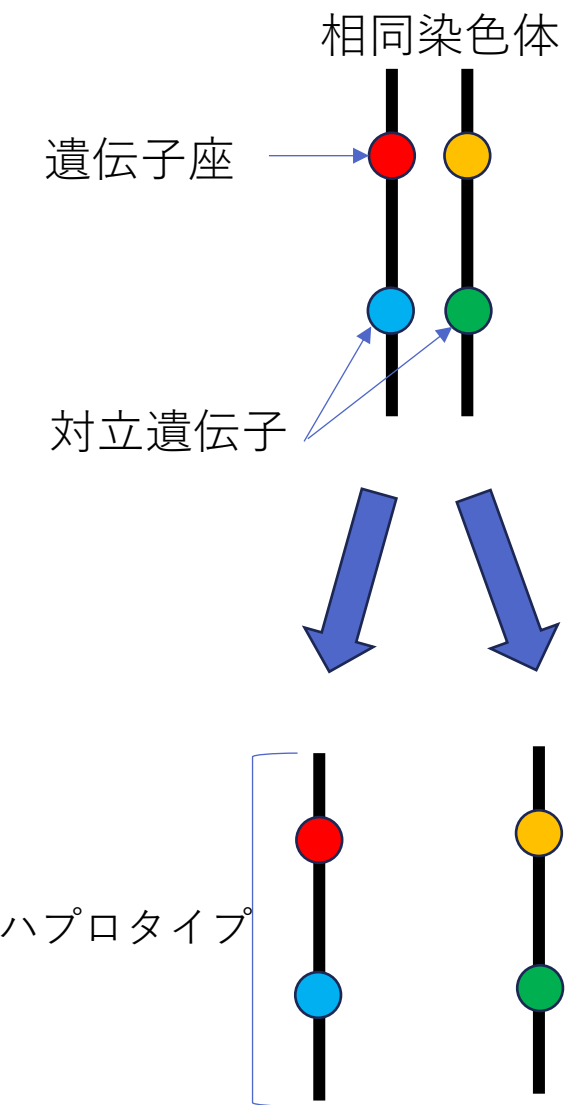
α 鎖 + β 鎖

$\alpha 1$ 、 $\beta 1$ 領域で外来抗原由来ペプチドをCD4陽性T細胞へ提示



ベリタスHPより抜粋

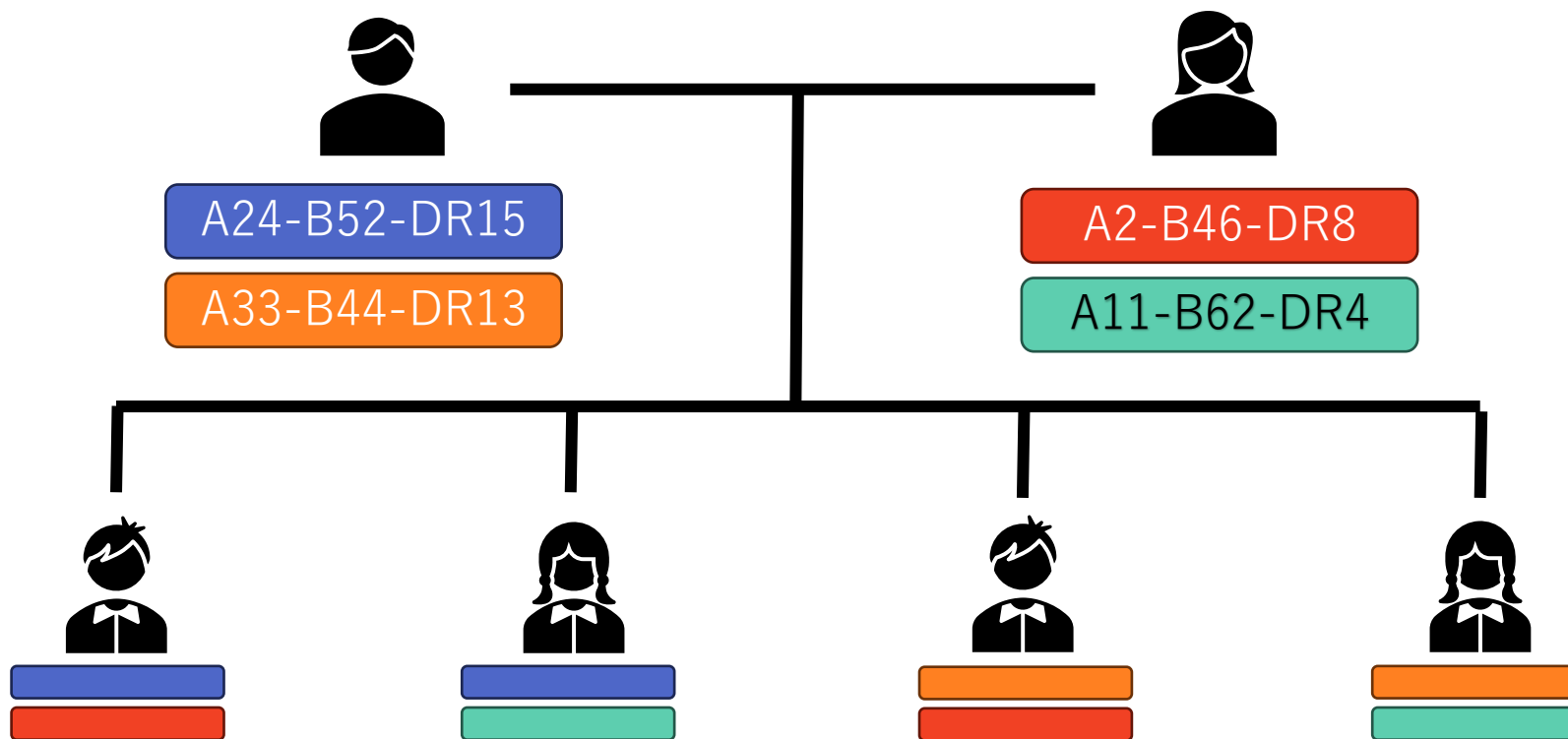
HLA遺伝子について(用語の整理)



- 遺伝子座(Locus)：染色体上の遺伝子の位置
- 対立遺伝子(Allele):同じ遺伝子座に存在する複数種類の遺伝子
- ハプロタイプ：同一染色体のアレルの組み合わせ

HLA遺伝子について(ハプロタイプ)

- 基本的にハプロタイプは維持されたまま遺伝する
 - 親子間では片方のハプロタイプが一致、兄弟間で完全一致する確率は25%



HLA抗原について①

A	B		C	D	DR	DQ	DP
A1	B5	B50(21)	Cw1	Dw1	DR1	DQ1	DPw1
A2	B7	B51(5)	Cw2	Dw2	DR103	DQ2	DPw2
A203	B703	B5102	Cw3	Dw3	DR2	DQ3	DPw3
A210	B8	B5103	Cw4	Dw4	DR3	DQ4	DPw4
A3	B12	B52(5)	Cw5	Dw5	DR4	DQ5(1)	DPw5
A9	B13	B53	Cw6	Dw6	DR5	DQ6(1)	DPw6
A10	B14	B54(22)	Cw7	Dw7	DR6	DQ7(3)	
A11	B15	B55(22)	Cw8	Dw8	DR7	DQ8(3)	
A19	B16	B56(22)	Cw9(w3)	Dw9	DR8	DQ9(3)	
A23(9)	B17	B57(17)	Cw10(w3)	Dw10	DR9		
A24(9)	B18	B58(17)		Dw11(w7)	DR10		
A2403	B21	B59		Dw12	DR11(5)		
A25(10)	B22	B60(40)		Dw13	DR12(5)		
A26(10)	B27	B61(40)		Dw14	DR13(6)		
A28	B2708	B62(15)		Dw15	DR14(6)		
A29(19)	B35	B63(15)		Dw16	DR1403		
A30(19)	B37	B64(14)		Dw17(w7)	DR1404		
A31(19)	B38(16)	B65(14)		Dw18(w6)	DR15(2)		
A32(19)	B39(16)	B67		Dw19(w6)	DR16(2)		
A33(19)	B3901	B70		Dw20	DR17(3)		
A34(10)	B3902	B71(70)		Dw21	DR18(3)		
A36	B40	B72(70)		Dw22			
A43	B4005	B73		Dw23	DR51		
A66(10)	B41	B75(15)		Dw24	DR52		
A68(28)	B42	B76(15)		Dw25	DR53		
A69(28)	B44(12)	B77(15)		Dw26			
A74(19)	B45(12)	B78					
A80	B46	B81					
	B47	B82					
	B48	Bw4					
	B49(21)	Bw6					

- 国際組織適合性ワークショップで認定、WHO命名委員会で命名
- 血清学的方法 + 細胞学的方法により分類



スプリット抗原



アソシエート抗原

https://hla.alleles.org/pages/antigens/hla_antigens/より作成



Japanese Red Cross Kumamoto Hospital

HLA抗原について②

- スプリット抗原 【例】 A23(9), A24(9)

初期にA9と分類されたが、のちにA23,A24と細分化された抗原A23やA24を「**A9のスプリット抗原**」と呼ぶ

- アソシエート抗原 【例】 A203, A210, A2403

単一アレルに対応する抗血清が見つかり、抗原特異性として命名
抗原型は通常1桁or2桁だが、アソシエート抗原は3桁or4桁

HLAアレルの表記方法

临床上重要
【アミノ酸配列に関係】

HLA-C* ***07:02:01:17*** ***N***

遺伝子座名

第1区域

第2区域

第3区域

第4区域

HLA分子の発現に問題がある場合にのみ接尾語を付ける

N(Null)：分子としての発現が認められない

区域名	規程内容	概要
第1区域	関連する血清学的HLA型あるいはアレルグループを判別する領域	血清学的特異性に対応
第2区域	同一の血清学的HLA型あるいはアレルグループ内で、アミノ酸変異を伴うアレルを判別する領域	分子特異性(アミノ酸置換)に対応
第3区域	アミノ酸変異を伴わない塩基置換が認められるアレルを判別する領域	エキソン内のアミノ酸置換を伴わない塩基置換に対応
第4区域	HLA分子をコードするエキソン以外での塩基置換を伴うアレルを判別する領域	エキソン以外の塩基置換に対応

目次

- HLAとは
 - HLAの役割、遺伝、HLA抗原・遺伝子について
- HLAの検査について
 - HLAタイピング、抗HLA抗体検査、クロスマッチ

輸血検査では…

ABO血液型
RhD血液型

不規則抗体検査

交差適合試験

HLA検査(組織適合性検査)の種類

HLAタイピング 検査

レシピエント(患者)
及びドナー(提供者)
のHLAを調べる検査

抗HLA抗体検査

HLAに対する抗体の
有無や特異性を調べ
る検査(レシピエント)

クロスマッチ

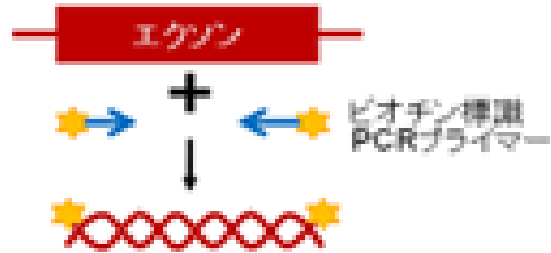
レシピエントに存在する
抗体がドナーへ反応する
か否かを調べる検査

HLAタイピング検査の比較

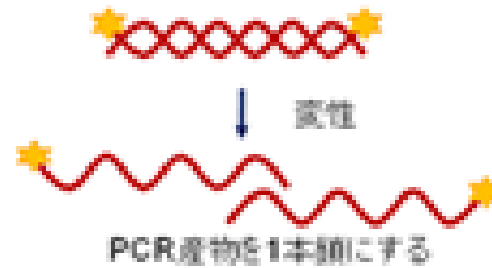
手法	利点	課題
SSP (Sequence Specific Primer)	短時間	大量検体に不向き
rSSO (reverse Sequence Specific Oligonucleotide)	大量検体処理可能 解像度(中～高)	Luminexが必要 みなし判定
SBT (Sequence Based Typing)	高解像度	コスト、時間、操作 シーケンサーが必要
NGS (Next Generation Sequencing)	全配列のタイピング	コスト、操作の煩雑さ

PCR-rSSO法の原理

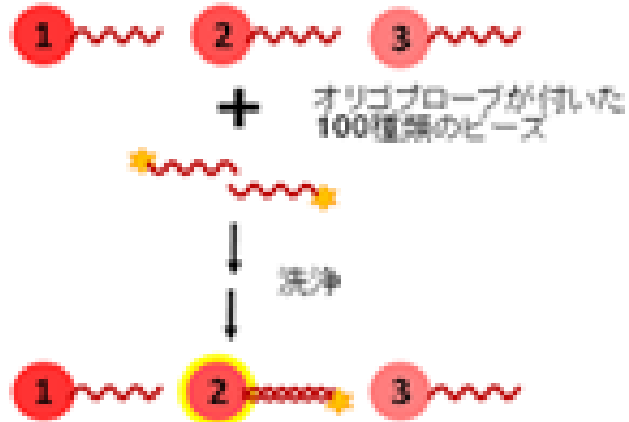
1 DNAサンプルを増幅



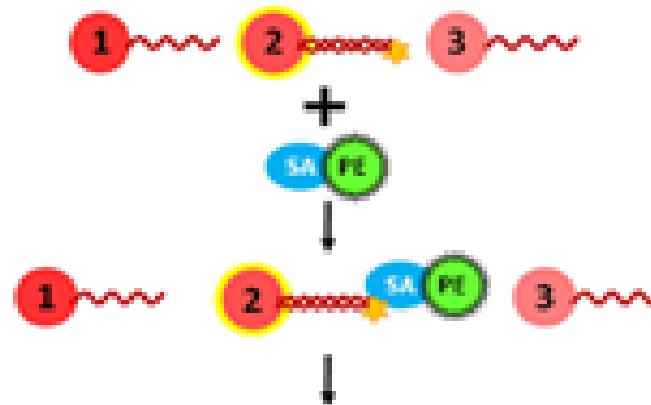
2 PCR産物をアルカリ変性



3 試薬ビーズを添加し、ハイブリダイゼーション



4 発色反応



5 LABScan100 (またはLuminex) で解析



HLAタイピングについて

- DSA(後述)の推測にはHLAタイピングが必要となる
- 一度確定すると、その後検査することは稀
- 目的・コストにあった解像度での検査が必要
 - ✓その中で、ミスのないタイピング結果が報告できるよう
 - ハプロタイプ・表記方法の確認など、検査精度の向上に努める必要がある

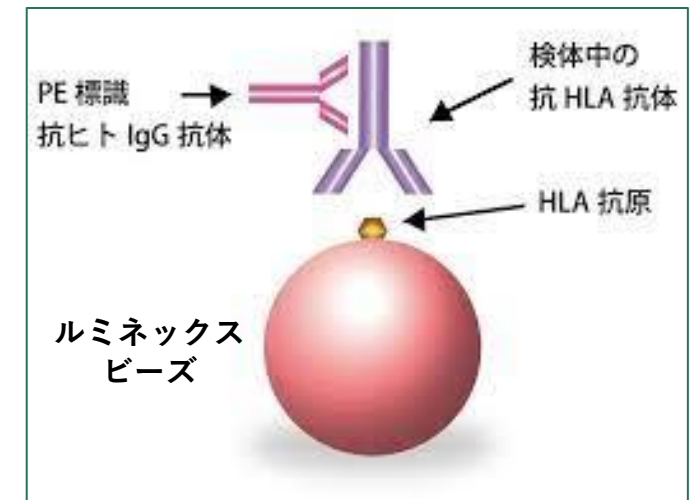
抗HLA抗体検査

- スクリーニングと特異性同定検査が存在
LuminexやFlow Cytometerを用いる蛍光ビーズ法が用いられる

<Luminexで測定するLABScreenについて>

製品名	目的
LABScreen Mixed, LABScreen PRA	スクリーニング
LABScreen Single Antigen	抗体特異性の同定 DSAの検出
LABScreen Single Antigen Supplement	抗体特異性の同定 DSAの検出 日本人に特有なHLA抗原を多く含む

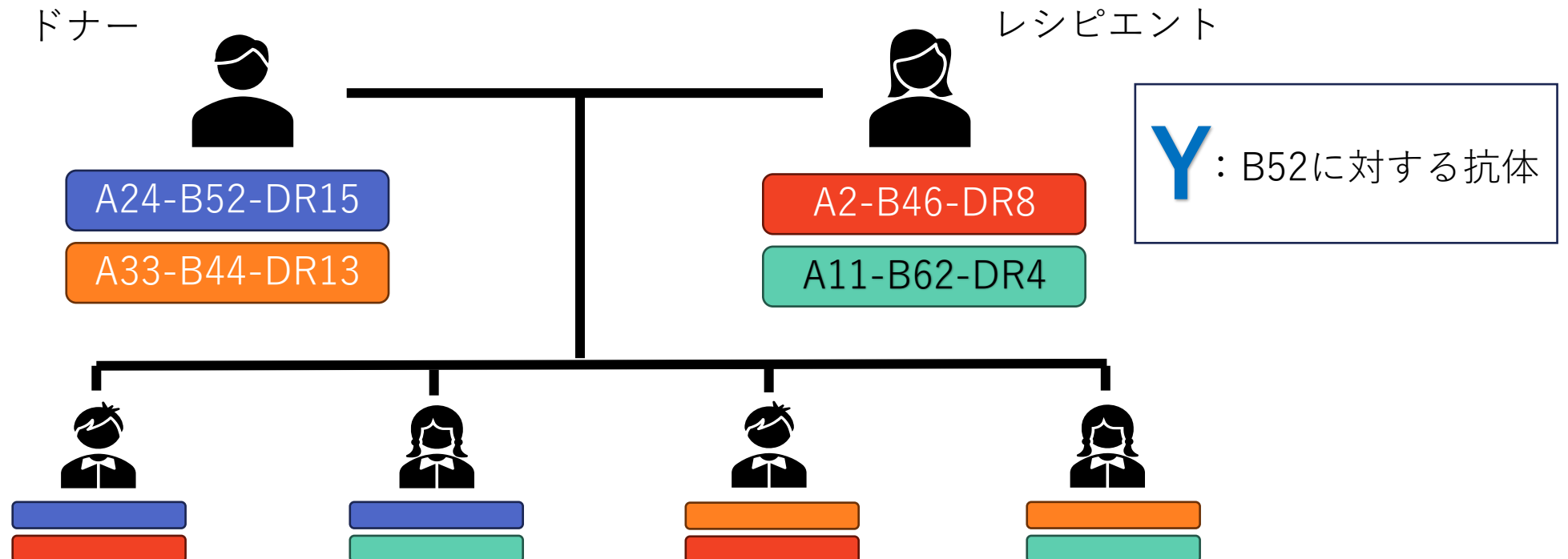
<原理>



ベリタスHPより抜粋

抗HLA抗体について

- 移植や輸血、妊娠でレシピエントが感作されることにより産生
(輸血の不規則抗体と同様)
- 移植された臓器に反応するかどうかが重要



DSAについて

- **DSA (Donor Specific Antibody) : ドナー特異的抗体**

- **Preformed DSA : 移植前の感作で産生されたDSA**

- 脱感作(抗体の除去)をせずに移植すると拒絶する可能性が高い

- ***de novo* DSA : 移植後に移植片に対して産生されたDSA**

- 慢性拒絶反応のリスクとなり、長期生着率へ影響する

手術前及び手術後の抗HLA抗体検査・DSAの早期報告が重要

クロスマッチ(リンパ球交叉試験)

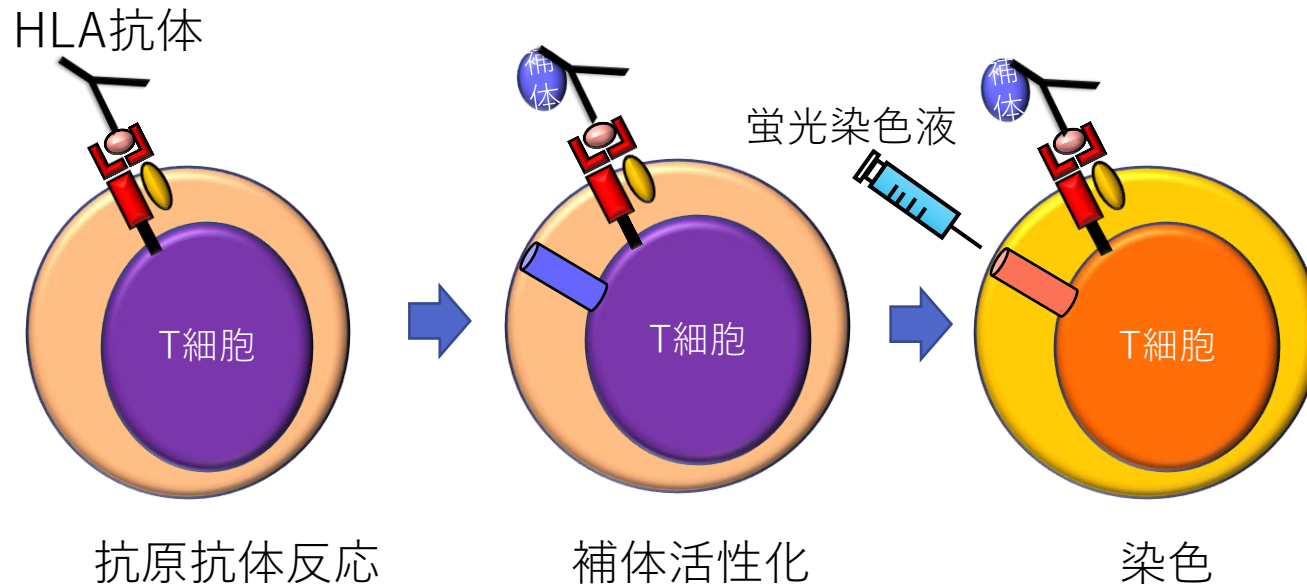
ドナー臓器(代用としてリンパ球)とレシピエント血清を用いて
抗原抗体反応の有無を確認する検査

＜クロスマッチの種類＞

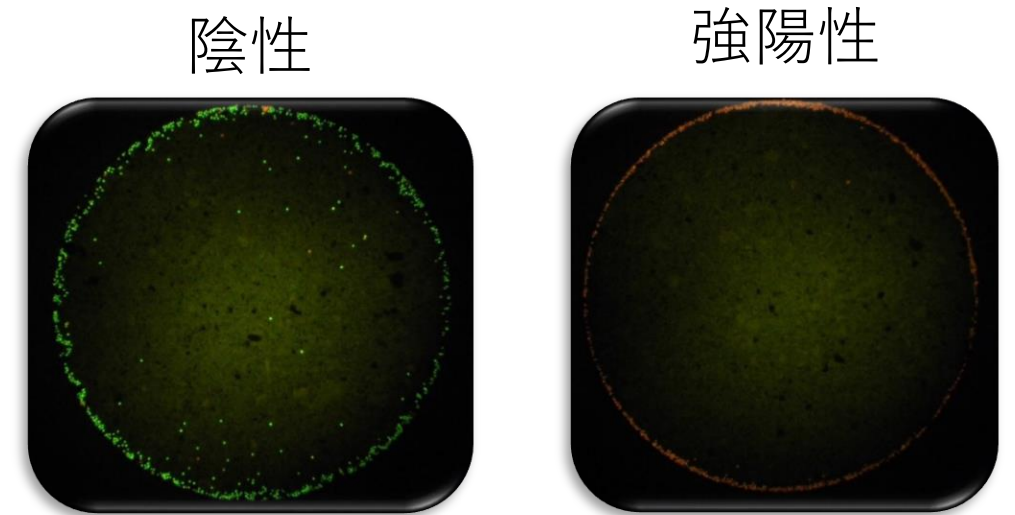
- **LCT法(Lymphocyte Cytotoxicity Test)**
- **FCXM法(Flow Cytometry crossmatch)**
- ICFA法(Immunocomplex Capture Fluorescence Analysis)

LCT法について

< 原理 >



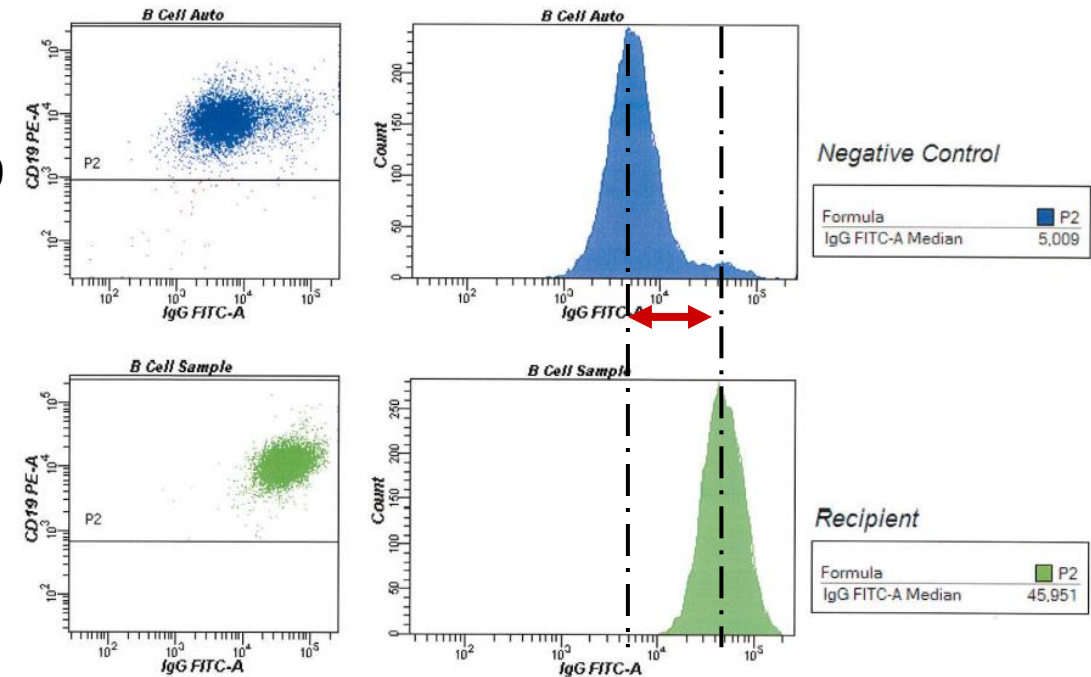
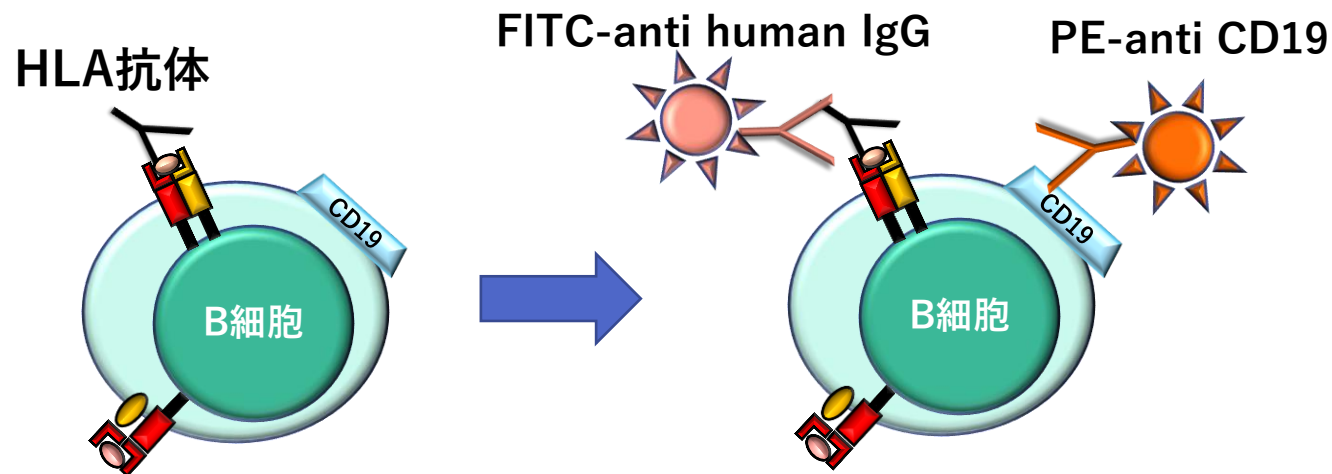
< 判定 >



- 倒立位相差蛍光顕微鏡を用いて判定
- **感度は低いが補体結合性抗体を検出できる**
- **検査者の力量(主観)・細胞のViabilityに大きく影響を受ける**

FCXMについて

< 原理 >



- Flow Cytometerが必要
- LCT法より高感度だが、抗HLA抗体以外の非特異反応も念頭におく必要がある

クロスマッチの解釈

LCT	FCXM	解釈
+	+	- 補体結合性の抗HLA抗体 - 高力価の抗HLA抗体
+	—	IgMの抗HLA抗体 ※DTT処理後に再検査
—	+	抗HLA抗体、非特異反応 ※抗HLA抗体以外の影響も考慮
—	—	抗HLA抗体陰性 ※検出感度以下の可能性あり

まとめ

- HLA検査は移植の可否やリスク評価に重要である
- HLA分子の構造や機能、各検査法の原理・試薬の特徴をよく理解し、結果を解釈・報告する必要がある

《参考文献》

移植・輸血検査学 改訂版

輸血・移植検査技術教本

株式会社ベリタスホームページ