

## [特別企画2]

## 中四国ブロック血液センターにおけるHLAリタイピングの検証

佐々木優花<sup>1)</sup>, 永尾祐香里<sup>1)</sup>, 猿渡 晃<sup>1)</sup>, 熊本 誠<sup>1)</sup>, 大熊重則<sup>1)</sup>, 本田豊彦<sup>1), 2)</sup>, 小林正夫<sup>1)</sup>, 椿 和央<sup>1)</sup>  
日本赤十字社中四国ブロック血液センター<sup>1)</sup>, 香川県赤十字血液センター<sup>2)</sup>

## 【目 的】

血液センターではHLA適合血小板製剤(以下, PC-HLA)ドナーのタイピング方法を2010年10月より血清学的検査であるリンパ球細胞傷害試験から遺伝子検査であるPCR-SSO法へ変更して行っている。血清学的検査によるタイピングは, Cローカスブランクやブロード抗原で表記されたものも多い。PC-HLAは, タイピングの結果を基にドナー選択しているため, まれにCローカスに対する抗体やミスタイプにより交差適合試験が陽性になることがある。今回, 血清学的検査と遺伝子検査にどの程度乖離があるのか調査を行ったので報告する。

## 【方 法】

2015年度にリタイピングを実施した3,088人を対象に, 検査結果の乖離とその原因について検証を行った。またその献血者が, 2016年度と2017年度にドナーとして再来しているかの有無について調査した。

## 【結 果】

AローカスおよびBローカスのHLAタイピング結果が血清学的検査と遺伝子検査で不一致となったものを「乖離あり」とした。その原因として, 血清学的検査時の検体取り違いや入力ミス, 血清学的検査の限界, 反応不良等が考えられた。血清学的検査と全く異なる結果を検体取り違いとし, 1ローカスのみの結果が交差反応性を考慮できない場合は入力ミスとした。血清学的検査の限界とは, 血清学的検査で判別が困難なもの, たとえばB60ホモ接合体とB60, B61のヘテロ接合体の識別や血清学的検査時に結果が「?」もしくは判定不

能で確定されているものを分類した。反応不良は偽陰性, 偽陽性, 交差反応性によると思われるものに分類した。

リタイピングを行った3,088人のうち, 結果に乖離が認められたのは168人で, 乖離率は5%であった。Aローカスは検体取り違い15件, 入力ミス5件, 血清学的検査の限界1件, 偽陰性16件, 偽陽性4件, 交差反応性3件であった。Bローカスは検体取り違い15件, 入力ミス5件, 血清学的検査の限界27件, 偽陰性27件, 偽陽性15件, 交差反応性54件であった。

ローカスごとの反応不良について分析した結果, Aローカスの反応不良はA31の偽陰性が3件と最も多かった(表1)。また, Bローカスは偽陰性, 偽陽性ともにB52が多かった(表2)。これは日本人においてB52の抗原頻度が高いことにより, ミスタイプの頻度も高くなったものと推測された。交差反応性はB62がB75と判定されたものが9件と最も多かった(表3)。交差反応性抗原群に分けるとB40, B15関連の乖離が多い結果となり, 血清学的検査時に単一特異性の抗血清が少なく, 判定が困難だったのではないかと推測された。

乖離のあった168人のCローカスのうち90人のCローカスを判定することができた。その内訳は, 血清学的検査でホモ接合体やブランクになっていたものから遺伝子検査で抗原が判定できた件数が65件, Cw3のブロード抗原からCw9, Cw10のスプリット抗原に判定できた件数が12件, Cw3のホモ接合体からスピリット抗原かつヘテロ接合体となった件数が13件であった。

再来献血状況は, 2016年度に再来した人数は2,296人, 2017年度2,074人で, 未再来者は2016

表1 反応不良(Aローカス)

## 偽陰性

血清学的検査	遺伝子検査	件数
A24 , -	A24 , A31	3
A24 , -	A1 , A24	1
A24 , -	A2 , A24	1
A2 , -	A2 , A26	1
A24 , -	A24 , A33	1
A2 , -	A1 , A2	1
A24 , -	A24 , A11	1
A2 , -	A2 , A24	2
A2 , -	A2 , A31	1
A26 , -	A2 , A26	1
A31 , -	A11 , A31	1
A24 , -	A24 , A26	1
A26 , -	A26 , A31	1

## 偽陽性

血清学的検査	遺伝子検査	件数
A26 , A33	A26 , -	2
A2 , A24	A2 , -	1
A2 , A24	A24 , -	1

## 交差反応性

血清学的検査	遺伝子検査	件数
A11 , A26	A26 , A26	1
A3 , A33	A3 , A26	1
A26 , A31	A26 , A30	1

表2 反応不良(Bローカス)

## 偽陰性

血清学的検査	遺伝子検査	件数
B52 , -	B52 , B39	1
B35 , -	B35 , B55	1
B54 , -	B46 , B54	1
B60 , -	B60 , B71	1
B39 , -	B39 , B75	1
B54 , -	B71 , B54	1
B61 , -	B37 , B61	1
B61 , -	B71 , B61	2
B35 , -	B71 , B35	1
B62 , -	B62 , B35	1
B51 , -	B51 , B52	3
B7 , -	B7 , B48	1
B62 , -	B62 , B54	1
B48 , -	B48 , B56	1
B61 , -	B61 , B48	1
B52 , -	B46 , B52	1
B55 , -	B55 , B56	1
B61 , -	B62 , B60	1
B54 , -	B54 , B56	1
B54 , -	B54 , B55	1
B52 , -	B51 , B52	1
B75 , -	B62 , B75	1
B62 , -	B62 , B71	1
B62 , -	B62 , B75	1

## 偽陽性

血清学的検査	遺伝子検査	件数
B35 , B46	B35 , -	1
B46 , B54	B54 , -	1
B52 , B75	B52 , -	1
B7 , B56	B7 , -	1
B7 , B27	B7 , -	1
B51 , B52	B51 , -	4
B54 , B55	B54 , -	1
B35 , B70	B35 , -	1
B48 , B60	B60 , -	1
B62 , B75	B62 , -	1
B51 , B52	B52 , -	1
B54 , B55	B55 , -	1

年度792人, 2017年度1,014人であった。PC採血で再来があった人数は2016年度1,144人, 2017年度986人で予約やパターン変更でPC-HLAの候補となりえるドナーであった。6

割のドナーは利用されない結果となり, 今後はリタイピング対象者を検討する必要があると考えられた。PC再来者のうち, PC-HLAとして採血されたドナーは2016年度83人, 2017年度73人で,

表3 反応不良(Bローカス)

血清学的検査		遺伝子検査	件数
B35	→	B51	3
B35	→	B71	1
B39	→	B38	1
B48	→	B60	4
B48	→	B61	3
B51	→	B52	1
B54	→	B55	5
B55	→	B54	3
B55	→	B56	2
B56	→	B55	1
B60	→	B48	7

※両リアルとも異なる献血者を含む

血清学的検査		遺伝子検査	件数
B60	→	B61	3
B61	→	B13	2
B61	→	B60	1
B62	→	B71	1
B62	→	B75	9
B67	→	B55	1
B70	→	B35	1
B72	→	B71	1
B75	→	B46	1
B75	→	B62	2
B75	→	B71	3

そのうち結果に乖離があったドナーは4人であった。乖離の詳細はB60ホモ接合体がB60, B61であったものが2人, A31がA30であったものが1人, B60がB61であったものが1人であった。今回の乖離では交差適合試験陽性となる可能性は低いと考えられるが, 検体取り違いや偽陰性の反応不良の場合は, 交差適合試験が陽性となる可能性が否定できない。

### 【考 察】

血清学的検査と遺伝子検査のタイピング結果の

乖離の多くは血清学的検査時の交差反応性によるもので, B40, B15関連が多かった。要因として検査当時単一特異性の抗血清が少なく, 使用した抗血清の組み合わせによっては識別が困難であったと推測された。

今回のリタイピング対象は, 血清学的検査によりタイプされているドナーを無作為に抽出したが, 今後は成分献血のリピーターを対象にすることで, PC-HLAドナープールの適切な構築に繋がると考える。