

短 報

混合受身凝集法 (MPHA) による HLA 抗体検出の有用性

峯 佳子¹⁾ 菅野知恵美¹⁾ 川本 佳代¹⁾ 伊藤 志保¹⁾ 麻田真由美¹⁾
藤田 往子¹⁾ 金光 靖¹⁾ 椿 和央²⁾ 芦田 隆司³⁾ 金丸 昭久³⁾

¹⁾近畿大学医学部附属病院輸血部

²⁾近畿大学医学部奈良病院血液内科

³⁾近畿大学医学部第三内科学教室

(平成 13 年 6 月 4 日受付)

(平成 13 年 10 月 1 日受理)

SCREENING OF HLA ANTIBODY BY MIXED PASSIVE HEMAGGLUTINATION TEST

Yoshiko Mine¹⁾, Chiemi Sugano¹⁾, Kayo Kawamoto¹⁾, Shiho Ito¹⁾, Mayumi Asada¹⁾,
Michiko Fujita¹⁾, Yasushi Kanemitsu¹⁾, Kazuo Tsubaki²⁾,
Takashi Ashida³⁾ and Akihisa Kanamaru³⁾

¹⁾Department of Blood Transfusion, Kinki University Hospital

²⁾Division of Hematology, Department of Internal Medicine, Nara Hospital,
Kinki University School of Medicine

³⁾Third Department of Internal Medicine, Kinki University School of Medicine

Key words : MPHA, AHG-LCT, HLA-antibody, alloimmunization

はじめに

HLA 抗体は頻回輸血患者の約 30%、妊婦の約 10% に認められる抗体で、血小板輸血無効状態や、発熱などの非溶血性輸血副作用の発現、あるいは同種免疫性新生児血小板減少性紫斑病 (neonatal alloimmune thrombocytopenic purpura; NAITP) の発症に關与する重要な抗体である。従来から、HLA 抗体スクリーニングにはパネルリンパ球を用いたリンパ球細胞毒試験 (lymphocyte cytotoxicity test; LCT) や、抗ヒト免疫グロブリン-LCT (anti human immunoglobulin-LCT; AHG-LCT) を用いてきたが、今回われわれは柴田らが開発した混合受身凝集法 (mixed passive hemagglutination test; MPHA) が HLA 抗体検出に有用か否かを検証するため AHG-LCT と比較検討した。

対象および方法

対象は輸血患者または輸血予定患者 521 名、妊婦検診 230 名の計 751 名であった。MPHA は O 型 HLA-ABC 抗原、HPA (Human platelet antigen; ヒト血小板抗原) 既知の血小板 6 種を用いて、日本血小板型ワークショップの定める MPHA 法改訂第 7 版に従い、HPA 抗体鑑別のためにクロロキン処理 MPHA を併用した。AHG-LCT は MPHA と同一のドナーより得られたリンパ球 6 種を用いて行った。また抗体特異性の判明している血清を用いて抗体価の測定を行った。

結 果

751 名中 MPHA 102 名、AHG-LCT 70 名に反応が認められた。MPHA 及び AHG-LCT 双方陽性は 69 名、そのうちクロロキン処理 MPHA で陽性反応を示したのは 1 名で、HLA + HPA2b 複合抗体の特異性を示した。他の 68 名はクロロキン処理

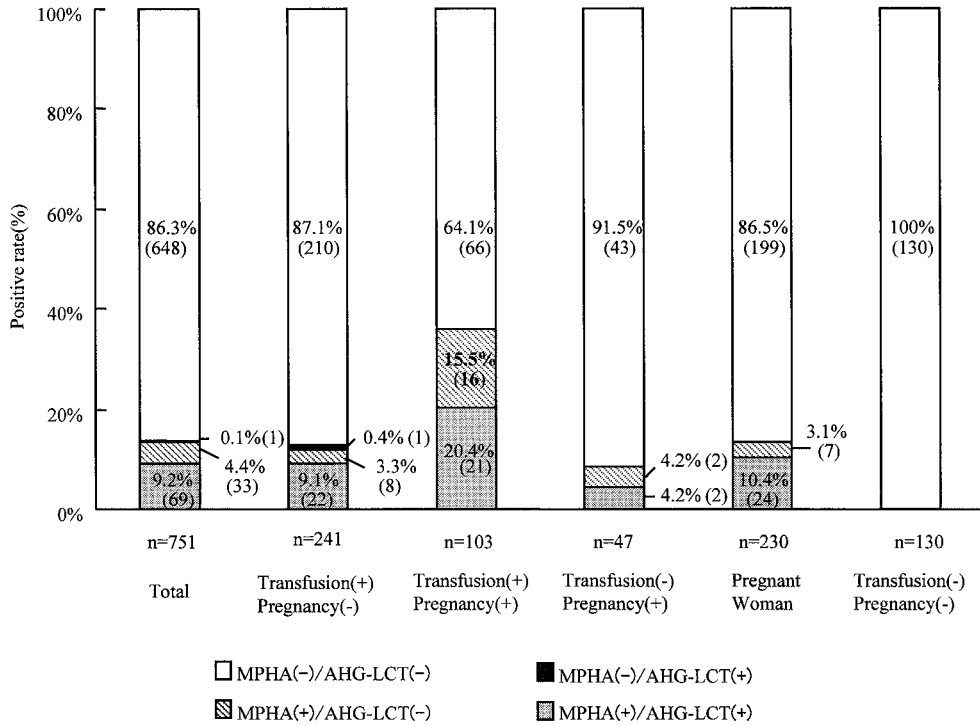


Fig. 1 Positive Rate of MPHA and AHG-LCT in Relation to Transfusion or Pregnancy

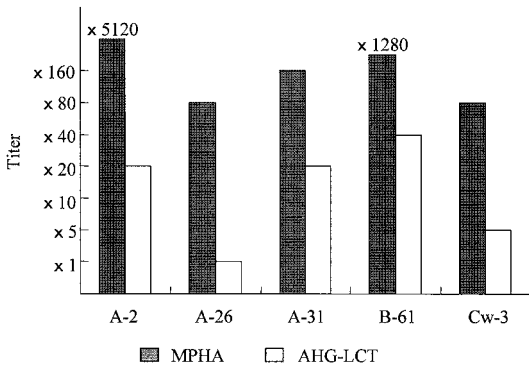


Fig. 2 Comparison of HLA Antibody Titer between MPHA and AHG-LCT

MPHA 陰性で HLA 抗体と考えられた。MPHA 陽性、AHG-LCT 陰性は 33 名、クロロキン処理 MPHA の反応は陰性であり HLA 抗体であると考えられた。また MPHA 陰性、AHG-LCT 陽性が 1 例認められた。HLA 抗体の陽性率は 13.7% (103

/751) で (Fig. 1), MPHA のみ反応する抗体は 4.4% (33/751) に認められた。輸血歴、妊娠歴のある患者では HLA 抗体産生率は 36.0% (37/103) と高く、そのうちの 43.2% (16/37) は MPHA のみで反応が認められた。また妊娠歴のみ有する患者においても MPHA のみで反応する抗体は検出された HLA 抗体の 50% (2/4) を占めた。抗体価の測定 (Fig. 2) では、MPHA の方が感度の高い反応が認められた。

考 察

従来よりわが国では主に LCT, AHG-LCT が HLA 抗体のスクリーングに用いられてきた。しかし、抗原として生きたリンパ球を使用するため、その抗原パネルリンパ球を確保するには自家調達に限られること、凍結保存して使用する場合には凍結、保存、解凍という段階を経るためパイアピリティーを保つことが難しい面があった。それらが LCT, AHG-LCT が安定した一般検査として普

及しにくい要因であると考えられる。また最近 AHG-LCT では検出できない HLA 抗体の存在が指摘されており、改良 AHG-LCT, monoclonal antibody-specific immobilization of lymphocyte antigens (MAILA) などが一部の施設で行われ良好な成績をあげている⁴⁾。MPHA は HPA 抗体検出のために開発された方法であるが、今回の結果より AHG-LCT では検出できない低力価の HLA 抗体についても検出可能であることが明らかになった。また安田らも MPHA が AHG-LCT より高感度であると報告しており、MPHA で高感度に検出される低力価 HLA 抗体が血小板輸血不応の要因になっている可能性を示唆している⁵⁾。輸血歴、妊娠歴に関して、特に妊娠歴を有する患者では MPHA のみ反応する抗体の割合は高く、妊娠後の経過により抗体の反応が AHG-LCT では検出できないレベルまで低下しているためではないかと考えられた⁶⁾。また血小板上には少ないとされている C 抗原についても AHG-LCT よりもむしろ MPHA で高感度の反応を示した。しかし今回、MPHA 陰性、AHG-LCT 陽性が 1 例認められた。特異性等の追加検査は行っていないが荒木ら⁷⁾は血小板抽出抗原を使用する改良 MPHA で反応しない HLA-A11, B44 抗体を報告している。また今回の検討では MPHA の指示血球として抗 IgG cell を使用しているため、IgM 抗体を検出できなかった可能性も考えられる。

結 語

MPHA は抗原プレートの長期保存が可能であり、多検体の処理に向いている。また AHG-LCT

と比較して高感度であり、スクリーニングパネルを確立することによって HLA 抗体と HPA 抗体を同時に検出でき、さらにクロロキン処理による鑑別も可能なことから、HLA 抗体スクリーニングには有用な方法であると考えられた。

文 献

- 1) Terasaki, P.I., McClelland, J.B.: Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature*, 204: 998-1000, 1964.
- 2) Johnson, A.H., Rossen, R.D., Butler, W.T.: Detection of alloantibodies using a sensitive antiglobulin microcytotoxicity test: Identification of low levels of pre-formed antibodies in accelerated allograft rejection. *Tissue Antigens*, 2: 215-226, 1972.
- 3) Shibata, Y., Juji, T., Nishizawa, Y., et al.: Detection of platelet antibodies by a newly developed mixed agglutination with platelets. *Vox Sang*, 41: 25-31, 1981.
- 4) 三谷孝子, 池田久實, 関口定実: 改良 AHG-LCT, MAIPA と MAILA [血小板輸血]. *日本組織適合性学会誌*, 3: 53, 1996.
- 5) 安田広康, 加藤久美子, 色摩弥生, 他: 血小板混合凝集法 (MPHA) で検出される低力価抗 HLA 抗体による血小板輸血不応答. *医学検査*, 48: 1007-1014, 1999.
- 6) 榎本隆行, 丸岡尚子, 花垣澄雄, 他: 妊娠による血小板反応性抗体 (HLA 抗体と human platelet antigens 抗体) の産生: 妊娠回数及び週齢と抗体陽性率の解析. *日輸血会誌*, 46: 467-473, 2000.
- 7) 荒木信夫, 稲葉洋行, 浜中泰光, 能勢義介, 柴田洋一: 頻回血小板輸血患者の改良 MPHA による抗 HLA 抗体スクリーニング法の応用. *日本輸血学会雑誌*, 39: 708-713, 1993.