

論文内容要旨

Anti-Human Neutrophil Antigen-1a, -1b, and -2
Antibodies in Neonates and Children with Immune
Neutropenias Analyzed by Extracted Granulocyte
Antigen Immunofluorescence Assay

(顆粒球抽出抗原を用いた免疫蛍光法による
新生児・小児免疫性好中球減少症の
抗 HNA-1a, -1b, -2 抗体の検出)

TRANSFUSION,57(11) : 2586-2594,2017.

指導教員：小林 正夫 教授
(医歯薬保健学研究科 小児科学)

小野寺 利恵

好中球抗原 Human Neutrophil Antigen (HNA) に対する抗体は、新生児同種免疫性好中球減少症 (NAN) や乳幼児自己免疫性好中球減少症 (AIN) , 非溶血性輸血副作用の輸血後急性肺障害などの原因になることが知られている。抗 HNA 抗体の検出には種々の検査法があるが、いずれも新鮮血由来の数種類のパネル好中球が必要である。また、検査には多くの血清量を必要とするため、新生児や乳幼児の検査に十分な血清量を確保することができない。この度、これらの問題を解決できる顆粒球抽出抗原を用いた免疫蛍光染色法 (EGIFA) を開発した。

EGIFA は、遺伝子発現パネル細胞株 (KY-1a, -1b, 2a) からそれぞれ抽出した HNA-1a, -1b, -2a 抗原を、モノクローナル抗体を固相した Microsphere (マイクロビーズ) に結合させ (eHNA-MoAb-Microsphere) , 患者血清と eHNA-MoAb-Microsphere との反応性を Luminex システムで分析した。EGIFA では少量の血清で 3 種類の異なる抗原 HNA-1a, -1b, -2 に対する抗体を同時に、かつ多数検体の解析が可能であり、eHNA-MoAb-Microsphere は 4°C で 8 か月間安定して保存することが可能であった。血清の、陰性コントロール IgG-Microsphere の蛍光強度 (FI) に対する eHNA-MoAb-Microsphere の FI の比 (RFI) を求めた。健常成人 40 名の平均 RFI 値は、0.5~1.1 (標準偏差: 0.1~0.7) の範囲であり、RFI 分布に基づいて、RFI が 3 倍以上である場合を陽性と判定した。

EGIFA を評価するために、抗 HNA 抗体が顆粒球免疫蛍光染色法 (GIFT) によって同定された成人患者の血清サンプル (n=9) を用いて、EGIFA, 全血を用いた免疫蛍光染色法 (IFT) ,

および monoclonal antibody-specific immobilization of granulocyte antigens (MAIGA) で反応性を比較した。EGIFA は、9 つの血清サンプルすべてにおいて抗 HNA 抗体を矛盾なく正確に検出することができ、感度は MAIGA より高く、GIFT および IFT の感度と同等であった。したがって、抗 HNA-1a, -1b, -2 抗体を迅速に検出するために簡便で実用的であることに加え、特異性と感度に優れた方法であることが証明できた。

さらに NAN 疑いの家族症例 9 例 (n = 19) と AIN 疑いのある小児 (6 か月~5 歳; n = 88) の抗 HNA 抗体を EGIFA で測定した。EGIFA は、NAN 疑いの家族症例 9 例のうち 7 例において抗 HNA-1a または -1b 抗体を検出したが、抗 HNA-2 抗体は EGIFA, IFT, MAIGA のいずれの方法によっても検出されなかった。IFT で検出できなかった 2 検体において、EGIFA は抗 HNA 抗体を感度よく検出することができた。IFT では HNA 特異性を示すとは限らないことがよく知られており、IFT 陽性で EGIFA 陰性のサンプルでは、抗 HNA-1a, -1b, -2 以外の抗体の可能性が考えられ、本検討からは抗 HLA-I 抗体が検出された。

AIN 疑い小児の 88 例の検査から、抗 HNA-1a 抗体 4.5% (4 例) , 抗 HNA-1b 抗体 12.5% (13 例) , 抗 HNA-1a と -1b 抗体の共存は 20.5% (18 例) の合計 40.9% に抗 HNA 抗体を検出した。また EGIFA による抗 HNA 抗体陰性の患児のうち 30.8% (52 人中 16 人) が抗 HLA 抗体陽性であったが、抗 HNA 抗体を有する患児の約 36.1% (36 人中に 13 人) でも抗 HLA 抗体を有していた。抗 HNA-2 抗体は AIN では 3.4% (88 例中 3 例) で検出された。本研究では、特異性の高い確認検査である MAIGA によって検出されたすべての抗 HNA 抗体が EGIFA によって再現性良く検出された。さらに EGIFA および GIFT は、MAIGA が検出できなかったいくつかの抗 HNA 抗体を検出することが可能であったことは、本検査法の特異性と感度の高さを示していると考えられた。