

氏名	荒木延夫
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	論医博第1696号
学位授与の日付	平成11年7月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Anti-Granulocyte Antibody Screening with Extracted Granulocyte Antigens by a Micro Mixed Passive Hemagglutination Method (顆粒球抽出抗原を用いた混合受け身凝集法による抗顆粒球抗体スクリーニング)
論文調査委員	(主査) 教授 一山 智 教授 難波雄二郎 教授 伊藤和彦

論文内容の要旨

抗顆粒球抗体は同種免疫新生児好中球減少症(ANN)、自己免疫好中球減少症(AIN)、そして輸血副作用の原因となる。輸血副作用としては、非溶血性発熱反応や輸血関連急性肺障害(TRALI)が起きると言われているが、簡便なスクリーニング法がなかったため、十分な分析がなされていない。抗顆粒球抗体の従来検出方法としては、顆粒球凝集法(GAT)や顆粒球蛍光抗体法(GIFT)が使用されてきた。しかし、これらの方法は、顆粒球細胞が不安定であること(調製後、2~3時間以内に使用しなければならない)、顆粒球上のFcレセプターが抗顆粒球抗体以外の抗体と結合し非特異反応を起こすことがあり、さらに感度が悪いなどの欠点がある。最近、顆粒球膜糖蛋白に対するモノクローナル抗体で抗原を捕捉して、酵素抗体法で検出する方法(MAIGA)が開発されたが、この方法は種々の顆粒球膜糖蛋白に対するモノクローナル抗体を必要とする欠点がある。

著者らは先に、血小板よりHLA抗原を抽出し、その抽出抗原を用いて混合受け身凝集法(MPHA法)による抗HLA抗体検出法を報告した(参考論文1)。

著者らは、その方法を顆粒球に応用し、顆粒球抗原抽出抗原を用いて新しい抗顆粒球抗体スクリーニング法EG-MPHA(MPHA using extracted granulocyte antigen solutions)を開発した。本法は、顆粒球抽出抗原をプレートに固相したパネルを作製し、抗体スクリーニング血清との反応をMPHA法で判定する簡便な方法で、MPHA法は陽性、陰性の鑑別が容易である。抽出抗原は凍結保存することにより1年以上の長期間にわたって安定して使用でき、反応の特異性が高い。また、既存の方法と比較して使用する抗血清は僅か5 μ Lである(GIFT 100 μ L, MAIGA 150 μ L)。また、顆粒球上にはHLA抗原が存在するので既存の方法(GAT, GIFT)では抗体スクリーニング血清を血小板で吸収する煩雑さがあるが、本法は抽出抗原固相プレートをクロロキン処理することにより、簡単に抽出抗原よりHLA抗原の除去が可能となった。

健康人パネル30人の顆粒球抽出抗原を用いて顆粒球関連モノクローナル抗体NA1, CD11a, CD11b, CD13, CD16, CD18, HLAクラスIとの反応性をMPHA法で検討したところ、HLAクラスI抗原を除いてどの抗原もそれぞれについて同じ抗体価を示した。HLAクラスI抗原については抽出量に個人差があることを観察した。また、好中球特異抗原NA1の特異性と健康人パネル12人の遺伝子型は一致した。次に、健康人パネル12人とヒト由来顆粒球同種抗体NA1, NA2, NB1, 5b, Sar^aと反応させたところ、NA1, NA2の反応性と遺伝子型は一致した。そして、健康人パネル12人を用いて、繰り返し輸血により同種免疫された94人の患者血清の抗体スクリーニングを実施したところ、患者の約40%が陽性を示した。

この方法は簡便な抗顆粒球抗体のスクリーニング法として広く活用され、輸血副作用の解明に貢献できるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

抗顆粒球抗体は好中球減少症の原因になると共に、非溶血性輸血副作用、輸血関連急性肺障害などの原因になると言われているが、十分に解析されていない。それは抗顆粒球抗体の実用的で信頼できる検出方法がなかったためである。

本学位申請者らは顆粒球抗原を抽出し、プレートに固相化したパネルを作成して、抗体との反応を混合受け身凝集法(MPHA法)で判定する方法を開発した。本法では簡便で、判定が容易である。抽出抗原は凍結して、1年以上保存可能である。検体血清の必要量は $5\mu\text{l}$ 必と少ない。パネル抽出抗原をクロロキン処理することにより非特異反応の原因になるHLA抗原が除去できる。抽出抗原パネルはほぼ等量の抗原量を含む。顆粒球同種抗原NA1、NA2に対する抗原とこれらの遺伝子型が分析されている抽出抗原パネルとの反応を調べた結果、遺伝子型に一致した特異性を示した。

以上の研究は、顆粒球同種抗体と抗原の解析およびこれに原因する輸血副作用の解明に貢献し、輸血医学の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成11年6月29日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。