的確な HLA 適合血小板輸血供血者の決定

高橋孝喜 十字猛夫

東京大学医学部附属病院輸血部

大 利 隆 行

東京大学医学部物療内科

村 井 善 郎

東京都老人研内科

直原 徹 荒木千枝子 徳永 栄一

日本赤十字中央血液センター

柴 田 洋 一

虎の門病院輸血部

(昭和61年11月6日受付)

AN ADEQUATE CROSS-MATCH TECHNIQUE AND AN APPROPRIATE SIZE OF UNRELATED DONOR POOL TO BE REGISTERED FOR HLA-MATCHED PLATELET TRANSFUSION

Koki Takahashi, M.D. Ph.D*, Takeo Juji, M.D. Ph.D*, Takayuki Ootoshi, M.D.**,
Yoshirou Murai, M.D.***, Tooru Naohara, M.D.****, Chieko Araki****,
Eiichi Tokunaga, M.D. Ph.D**** and Youichi Shibata, M.D. Ph.D.*****

*Blood Transfusion Service, University of Tokyo, Hongo 7-3-1, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan 113

**Department of Medicine and Physical Therapy, Faculty of Medicine, University of Tokyo,
Hongo 7-3-1, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan 113

***Department of Internal Medicine, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, Sakaecho
35-2, Itabashi-ku, Tokyo, Japan 113

****Apheresis section, The Japanese Red Cross Central Blood Center, Hiroo 4-1-36, Shibuya-ku, Tokyo, Japan 150

*****Blood Transfusion service, Toranomom Hospital, Akasaka Toranomom 2-2-2, Minato-ku, Tokyo, Japan 105

Alloimmunization and frequent refractoriness to random donor platelet transfusion after receiving multiple blood transfusions should often require single-donor platelet transfusion from human leukocyte antigen system A (HLA) compatible donors, for HLA is known to be the most important antigen system on platelets in determining efficacy of platelet transfusion to alloimmunized AML patients. In order to supply HLA-matched platelets for them, registration of unrelated HLA typed donors and selection of compatible donors by adequate platelet cross-match test is considered to be necessary and practical in consideration of HLA polymorphism.

First, in this study, anti human IgG lymphocyte cytotoxicity test (AHG-LCT) is considered more useful than lymphocyte cytotoxicity test (LCT) to predict clinical effect of platelet transfusion. The efficacy of AHG-LCT negative HLA-matched platelets reached 90%, while that of LCT negative AHG-LCT positive HLA-matched platelets was not over 70%.

Second, the frequencies of each possible HLA phenotype and of corresponding possible compatible donors were calculated with computer from the table of frequencies of HLA-A and -B haplotypes. Appropriate sizes of such donor pools were theoretically evaluated in Japanese (JAPAN) as well as in European Caucasoid (CAU) and in North American Caucasoid (NAC). To enable more than 80% of patients to get more than 5 complete compatible donors, only 5,000 donor candidates would be necessary in Japanese, while 18,000 and 25,000 in CAU and NAC, respectively.

緒 言

頻回輸血に伴い無作為抽出供血者 (random donor) からの血小板輸血が無効になる血小板輸血無効状態 (refractory state) におちいった患者に対する輸血対策は白血病, 再生不良性貧血の治療上大きな問題である。その多くは, 同種免疫により血小板に対する同種抗体が生じた結果によると考えられている。輸血回数と抗血小板抗体に関する坂本の報告でも, 輸血回数が21回以上になると50%以上の症例で抗体陽性となる¹⁾。さらに, 血小板に対するそれらの抗体の多くは, 抗 HLA 抗体であることが確かめられている²⁾。このような症例に対して, 血縁者または, 非血縁者の中の HLA 抗原の合致する供血者から採血した適合血小板の輸血が有効なことが知られている^{3)~7)}。

HLA 抗原はきわめて多型性にとんだ抗原系で, A座で20種以上, B座で40種以上の異なる特異性を示す抗原が公認されている。このような HLA の多様性を考慮すると, 家族内あるいは知人の中から HLA 適合供血者を見い出すことは必ずしも容易ではない。白血病の骨髓抑制期には少なくとも5回以上の適合血小板輸血が必要となることが多く, HLA 適合血小板供血者が5人以上必要である。以上の理由から, むしろ共通のプールされた非血縁供血予定登録者から選んだ HLA 適合者からの血小板輸血という方式が, 大多数の患者にとっては極めて有用な方法と考えられる。予め HLA 抗原を検査した非血縁供血予定者を血液センターに登録し, その中から患者と HLA 抗原が適合する者を適宜選び出す。その適合供血者から血液成分分離装置を用いる血小板アフェレーシスにより大量選択的に血小板を採取し, その血小板を必要な患者に輸血するという方式である。このような供血者登録制度に関しては, 日本赤十字社中央血液センターにおいてすでに約7年間の治験の実績があり, 篤志供血者, 各血液センターの協力により今後さらに各センターで同様の業務が可能になることが期待され, それにより全国の同様な患者に等しく有効な血小板が供給されることが可能となる。

日赤中央血液センターで現在行なわれている血

小板アフェレーシスでは, HLA 抗原が完全に一致した供血者を捜し出すことが困難な場合, 次善の策として HLA 抗原が類似した登録者の中から適合する供血者を見つける努力をしている。実際, 完全適合供血者の得られない場合の方が, むしろ一般的である。そこで凍結保存した供血予定者のリンパ球と患者血清との間で交差適合試験を行なった上で, 患者の抗 HLA 抗体と反応しない供血者からの血小板を輸血するという方法である。

従来, 日赤中央血液センターで実施されてきた交差適合試験の方法は, 近似した型の供血者リンパ球と患者血清を用いたリンパ球細胞毒試験 (lymphocyte cytotoxicity test: LCT) を行い, 混合受身凝集反応 (mixed passive haemagglutination test: MPHA) の結果を併せて検討するという方式であった。この場合, 約70%の LCT 反応陰性の血小板の輸血は有効であるが, 残りの30%の症例では発熱・発疹等の輸血副作用を伴って十分な血小板の増加を認めない無効輸血という結果であった。無効例では通常の LCT 法にて検出し得ない抗体価の低い抗 HLA 抗体の存在することがその原因の1つとして推定された。したがって, 上述の30%という無効血小板輸血の割合を減らし, より有効な輸血を行なうためには, 感度のより高い交差適合試験が必要と考えられた。そこで, このような抗体価の低い抗体をも測定し得る方法として, 抗ヒト免疫グロブリン血清を用いたリンパ球細胞毒試験 (anti-human immunoglobulin-lymphocyte cytotoxicity test: AHG-LCT) を行ない, 血小板輸血前にその輸血効果をどこまで予測し得るか, 換言すればどこまで効果的な輸血が可能かを検討した。

また, このような血小板アフェレーシスに必要なと考えられる登録済みの供血予定者の大きさ (donor pool size) について, 我々は〔非血縁 HLA 適合供血者登録制度の適正規模に関して〕と題して, 昭和61年6月の日本輸血学会で発表した。即ち, より広く一般にこの制度を普及し, 多数の患者の要請に応えられるようにするための供血予定者集団の適正人数の検討である。第1に, HLA 遺伝子ハプロタイプより, 各 HLA 型の患者出現頻

度、完全適合供血者の頻度、一部交差反応性 HLA 抗原を含む供血者も適合と考える準適合供血者の頻度を理論的に求めた。準適合供血者の頻度をも計算したのは、前述のように完全適合供血者の少ない場合には、その存在が極めて重要となるからである。さらに、一定数以上の適合供血者を持ち得る患者の割合をこれから算出した。比較のために欧州白人、北米白人の場合についても同様な計算を行ない、彼我の差を検討した。

第1の交差適合試験の改良の結果、完全適合供血者の少ない場合にも、cross-reactive な HLA 抗原を一部含む準適合供血者の中から鋭敏な交差適合試験である AHG-LCT 法と MPHA 法とを組合わせその適否を決めてから輸血を行なえば、十分有用な血小板を提供し得ることが判明した。実際、日赤中央血液センターでの過去3年の同方式での成績からも、両交差試験陰性（合格）の供血者からの血小板を輸血した場合、十分な輸血効果、すなわち、臨床的に十分な止血効果が得られた症例は約90%であった。また、輸血24時間後の補正血小板増加数 (10^{11} 個の血小板を体表面積 1m^2 の人に輸注した場合24時間後の血中 $1\mu\text{l}$ あたりの血小板数の増加) は臨床的な止血効果と極めてよく一致し、有効例ではいずれも $1/3 \times 10^4 / \mu\text{l} / \text{m}^2 / 10^{11}$ 以上であった。

そして、第2にこれらの血液センターでの成績をもとに統計学的にその大きさを検討した結果、我国では、約1,000人ないし5,000人規模の donor pool の集団を登録利用すれば、十分その地域の必要とする患者に有効な血小板が供給し得ることが理論的にも明らかとなった。この数字は、また実際の日赤血液センターでの経験からも証明されたので報告する。

方 法

A. 交差適合試験

1. リンパ球細胞毒試験 (lymphocyte cytotoxicity test, LCT): 補体依存性の細胞毒試験が抗 HLA 抗体を検出する最も標準的な方法である。

検査方法は、従来のものと同様である⁸⁾。その概略は、ACD 入り注射器にて採血した血液を型通り Ficoll-Conray 液に重層し、遠心分離洗浄後得ら

れたリンパ球浮遊液を McCoy 5A medium にてリンパ球数が $2,000/\mu\text{l}$ になるように調整する。テラサキ・マイクロプレートに被検者血清（あるいは正常人血清 (NHS)）を $1\mu\text{l}$ ずつ入れ、先に調整したリンパ球浮遊液を $1\mu\text{l}$ 加えて混和後 22°C 、30 分間反応させる。

その次に補体として4倍の補体価を持つ検定済みのウサギ血清を $5\mu\text{l}$ ずつ分注し、さらに 22°C 、1 時間反応させる。

エオジンで5分間染色後、中性ホルマリン固定し、位相差顕微鏡で死滅した細胞の割合をカウントし、判定する。

2. 混合受身凝集法 (mixed passive haemagglutination test, MPHA): 柴田らが開発した鋭敏な血小板抗体検出法⁹⁾で、U型マイクロプレートの底面に固定した血小板を被検血清で感作して洗浄した後、抗ヒト IgG 抗体を結合したヒツジ血球を加えて凝集を観察する方法である。

3. 抗ヒト免疫グロブリン血清を用いたリンパ球細胞毒試験 (anti-human immunoglobulin-lymphocyte cytotoxicity test, AHG-LCT): 抗 HLA 抗体を検出する標準的な方法である LCT では陰性の反応を示しながら吸収試験または結合試験で陽性反応を示す抗 HLA 抗体の存在が報告されている。このような抗体を検出すると同時に抗体価の低い抗体を検出し得る方法として、抗ヒト免疫グロブリン血清と反応させる操作を加えたリンパ球細胞毒試験（以下 AHG-LCT）が、Johnson ら¹⁰⁾により考案された。

AHG-LCT は標準的な LCT を改良したもので、補体を加える前に感作リンパ球を洗浄し、抗ヒト免疫グロブリン血清を加えて反応させる。それ以外の反応手順は標準的な LCT と同様である。

B. 輸注効果の判定基準

1. 輸注効果の判定基準として、まず、担当医師に臨床的に十分な止血効果が得られたかを確認した。

2. 24時間後補正血小板増加数 (corrected platelet increment 24 hour after transfusion: C₄ Plt)

HLA 適合血小板輸血後の血小板の増加の割合を調べるため、輸血した血小板数 ($\text{PltT} : 10^{11}$) 及び、24時間後の血小板増加数 ($\Delta\text{Plt} : 10^4/\mu\text{l}$) さらに、体表面積 ($A : \text{m}^2$) を使って以下の式より、24時間後補正血小板増加数 ($C\Delta\text{Plt} : 10^4/\mu\text{l}/\text{m}^2/10^{11}$) を計算した。体表面積の計算は DuBois-Boothby-Sandiford の式を新谷が補正したものから身長 ($H : \text{cm}$), 体重 ($W : \text{kg}$) より計算した。

$$A = W^{0.425} \times H^{0.725} \times 0.007358$$

$$C\Delta\text{Plt} = \Delta\text{Plt} (10^4/\mu\text{l}) \times A/\text{PltT}$$

C. donor pool size の決定

A_i, A_j, B_k, B_l の抗原を保有する患者は遺伝子ハプロタイプの組み合わせを考えると $A_i B_k$ ハプロタイプ— $A_j B_l$ ハプロタイプ, $A_i B_l$ ハプロタイプ— $A_j B_k$ ハプロタイプの 2 通りの組み合わせが考えられる。 $A_i B_k, A_i B_l, A_j B_k, A_j B_l$ 各々のハプロタイプの日本人集団における頻度を各々 v, w, x, y とする。また, v, w, x, y と対応して各々のハプロタイプの一方の抗原が元々の抗原と交差反応を示す場合のハプロタイプ頻度の総和を v', w', x', y' とする。そして, ハプロタイプを構成する A 座, B 座両方の抗原が交差反応性抗原で置き換えられたハプロタイプ頻度の総和を同様に v'', w'', x'', y'' とする。

各 HLA-A 座, -B 座を組み合わせた遺伝子ハプロタイプ頻度から, 患者と同一の表現型の人の出現期待頻度 (P), 及び 3 種類の供血可能者頻度 (Q), (R), (S) をまず計算した。

ここで計算した 3 種類の供血可能者 (Q), (R), (S) とは, 患者の HLA 抗原と供血者の HLA 抗原との近似性の程度で 3 段階に分けて考えたものである。即ち, (Q): complete compatible donors は供血者の HLA 抗原が患者の HLA 抗原以外のものを含まないという条件を満たす供血者である。従って, 患者に全く allo-immunization をおこさないという意味で文字通り完全に適合すると考えられる donor の頻度と言える。また, より緩やかな基準とした (R): donors with no more than one cross-reactive antigen は, complete compatible donors の他に準適合供血者として 3 つの抗原が患者の HLA 抗原と一致し残る 1 つの抗原も

A2, , A24, , A1-A3-A11-A26-Aw33-Aw31
B38-B39-B67-B54-B56-B55-B7-B27
B37-B17-B12-B13-B61-B60-B48
B59-B52-B51-B35-B70-B15-TS1
B46

図1 計算に用いた日本人の HLA-A 座, B 座ハプロタイプと交差反応性を示す。

直線で結んだものは (例えば A1-A13, または B38-B39) 互いに交差反応性があるが, 孤立した抗原 (例えば A2) は, 交差反応性抗原を持たない。

患者の HLA 抗原に近似した抗原である供血者も供血適格者の中に入れて計算した場合である。また, (S): donors with no more than two cross-reactive antigens は上記の供血適格者に加えて, 2 つの抗原が患者の HLA 抗原と一致し, 他の 2 つの抗原は患者の HLA 抗原に近似した抗原である者も適格者として計算した数字である。以下に (P), (Q), (R), (S) を $v, w, x, y, v', w', x', y', v'', w'', x'', y''$ で表したものを示す。

$$(P) = 2(vy + wx)$$

$$(Q) = (v + w + x + y)^2$$

$$(R) = (v + w + x + y + v' + w' \times x' + y')^2 - (v' + w' + x' + y')^2$$

$$(S) = (v + w + x + y + v' + w' + x' + y')^2 + 2(v + w + x + y) \times (v'' + w'' + x'' + y'')$$

計算に用いた HLA 抗原とその交差反応性 (cross reactivity) は, 実際の日赤血液センターにおける血小板輸血の経験を参考に, 日本人の場合, 図1のように考えた。

計算の際に注意する点は, 同一のハプロタイプ頻度を重複して計算に入れないようにすることである。考え方は, まず HLA-A 座, -B 座の抗原の組み合わせから heterozygous case, semi-homozygous case, both-homozygous case の 3 通りにわけて以下のように考えた。

(1) heterozygous case: 患者の HLA-A 座, B 座のいずれの抗原も同一でない場合,

(2) semi-homozygous case: A 座, B 座いずれか一方の座の抗原が同一である場合,

(3) both-homozygous case: A 座, B 座両方の

抗原が同一である場合、
の3通りである。

対応して示した上述の計算式は各 (P), (Q), (R), (S) を (1) の場合に計算する式である。そして、重複した分を考えて、括弧内を (2) の場合は1/2を乗じ、(3)の場合は1/4を乗じて計算した。何故なら (Q) の場合、heterozygous case では、4種類のハプロタイプ頻度の和の二乗が (Q) となるが、semi-homozygous case の場合は2種類のハプロタイプ頻度の和の二乗が (Q) となり、又、both-homozygous case の場合はハプロタイプが1種類のため、その頻度の二乗が (Q) となるためである。また、(R), (S) を求める場合、近似抗原のハプロタイプなども、同一のものを重複して計算に入れないよう、必ず、ハプロタイプが他のものと違うことを確認してから計算した。

次いで、一定の数 Cn の供血可能者頻度を有する表現型の患者の出現頻度の和を求めた。例えば、 $\Sigma P_{Q \geq Cn}, \Sigma P_{R \geq Cn}, \Sigma P_{S \geq Cn}$ というような具合に (Q), (R), (S) が一定の数字(頻度)以上であるという HLA 表現型の患者頻度を合計した。この ΣP が各適合供血可能者を一定数持ち得る患者の頻度である。

以上が計算に使用したプログラム作成時の考え方である。各型の患者、各供血者頻度については、Appendix に示す basic program を用いて PC 9801 VF2 で実際計算した。但し、パソコンでは計算時間がかかることから全体の計算、即ち donor pool size の計算 ($\Sigma P_{Q \geq Cn}, \Sigma P_{R \geq Cn}, \Sigma P_{S \geq Cn}$) は大型計算機を使って同じ考え方をもとにして行なった。

さらに、人種差等を検討するため、欧州白人 (CAU)、北米白人 (NAC) についても同様な計算を行なった。この場合、計算に用いた HLA 抗原とその cross-reactivity については主に文献から検討した^{11)~13)}。図2に示すように日本人とは異なり、その数も多く交差反応性も複雑であるが、計算の元になった考え方は同様である。

結 果

A. 血小板クロスマッチ：血小板アフェレーシスによる大量血小板輸血を、従来の LCT 法に加えて AHG-LCT で交差試験を行ない、両者陰性、

図2 計算に用いた欧州白人 (CAU)、北米白人 (NAC) の HLA-A 座、B 座ハプロタイプと交差反応性を示す。
直線で結んだものは (例えば A23-A24, または B14-B8) 互いに交差反応性があるが、孤立した抗原 (例えば B37) は、交差反応性抗原を持たない。

LCT 陽性・AHG-LCT 法陰性、両者陽性、の3通りの場合で、輸血後の血小板の増加数を比較した結果を図3に示す。LCT 法、AHG-LCT 法両反応陰性の適合血小板輸血 (図3(a)) が有効であり、LCT 反応のみ陰性で AHG-LCT 法は陽性の血小板では輸血後の増加率が低く (図3(b)), LCT 反応も陽性の血小板の輸血の場合 (図3(c)) は、無効例が多いことがわかる。

また、図4に示す臨床例では、血小板輸血の効果を PC の場合、cross-reactive donor からの血小板の場合について経時的に調べたものである。アフェレーシスによる血小板はいずれも LCT 法陰性だが、前3回の AHG-LCT 法陽性の輸血は無効という結果であるのに対し、後4回の AHG-LCT 法でも陰性の輸血が有効であることがわかる。そして日赤中央血液センターの昭和60年末までの5年間119例に対する519回の血小板アフェレーシスの集計結果では、従来の LCT 反応陰性の血小板を輸血した場合に約30%の例で血小板の

図3 従来のLCT法に加えてAHG-LCT法で交差試験を行ない、両者陰性(a), LCT陽性AHG-LCT法陰性(b), 両者陽性(c), の3通りの場合で、輸血後の血小板の増加数を比較した結果である。横軸は24時間後補正血小板増加数($C\Delta Plt: \times 10^4 / \mu l / m^2 / 10^{11}$)であるが、細かい分布を示すために便宜的に1/12倍のスケールとした。この図からLCT法, AHG-LCT法両反応陰性の適合血小板輸血のみが有効であることがわかる。

有意な増加を認めなかったが、AHG-LCTによる交差適合試験を行なえば、反応陰性の血小板輸血の有効率が約90%と有意に上昇することが確かめ

られた。

B. 適合供血者集団適正規模の推定値：患者が heterozygous case, A座抗原, B座抗原のうち一方が homozygous: semi-homozygous case, 両抗原とも homozygous である: both-homozygous case の3つの場合について計算した結果の一部を表1に示す。これを見るとほぼ同一の患者出現頻度(P)であっても、(Q)の頻度は大きく異なってくる。これは、heterozygous case では、4種類のハプロタイプ頻度の和の二乗が(Q)となるが、semi-homozygous case の場合は2種類のハプロタイプ頻度の和の二乗が(Q)となり、また、both-homozygous case の場合はハプロタイプが1種類のため、その頻度の二乗が(Q)となるためと考えられる。(R), (S)については、(Q)が同じ程度であるものを比較した場合、交差抗原(cross-reactive antigen)が多くそしてそのハプロタイプ頻度の高いほど、増加率が大きいことが伺われる。

図6, 7, 8は各々日本人, 欧州白人, 北米白人の場合について donor pool size と十分な数の donor が得られる患者の割合を示したものである。5人以上の非血縁 HLA 適合登録者を得る患者の割合を縦軸に、供血登録者数を横軸に取ったものであり、donor pool が大きくなるにつれ、十分な数の donor が得られる患者の割合も次第に大きくなる。5人以上としたのは、前述のように白血病の骨髓抑制期には少なくとも5回以上の血小板輸血が必要となり、したがって HLA 適合血小板供血者も最低5人以上必要となるからである。これは、日赤中央血液センターの経験でも、大半の症例が3~5回の HLA 適合血小板を必要としたこととも合致する。このグラフからみると、最低5人以上の非血縁 HLA 適合登録者が得られる患者の割合が80%を超える為に必要な登録者集団の大きさは、(Q): complete compatible donors では日本人で5,000人, CAU で18,000人, NAC で25,000人であった。これに比べて、最も緩い基準である、(S): donor with no more than two cross-reactive antigens で考えると、最低5人以上の非血縁 HLA 適合登録者が得られる患者の割合が80%を超えるために必要な登録者集団の大き

表1 ほぼ同一の患者出現頻度(P)を有する患者を, heterozygous case, semi homozygous case, both homozygous case の3通りにわけて (Q), (R), (S) を比較した.

(Q)の頻度は heterozygous case では4種類のハプロタイプ頻度の和の二乗だが, semi homozygous case の場合はハプロタイプが2種類の為, 2種類の頻度の和の二乗となり, また, both homozygous case の場合はハプロタイプが1種類の為, (P) そのものの頻度の二乗が (Q) となる. (R), (S) について, (Q) が同じ程度であるものを比較した場合, 交差抗原 (Cross-reactive antigen) が多くそしてそのハプロタイプ頻度の高い程, 増加率が大きいことが伺われる.

Both Homozygous Case (i=j and k=1)	P	Q	R	S
A ₁₁ A ₁₁ B ₄₆ B ₄₈	0.2 :	0.2 :	1.6 :	4.4 :
A ₁₁ A ₁₁ B ₆₀ B ₆₀	0.1 :	0.1 :	1.5 :	6.7 :
A ₁₁ A ₁₁ B ₅₅ B ₅₅	0.8 :	0.8 :	4.1 :	8.3 :
A ₁₁ A ₁₁ B ₅₁ B ₅₁	0.3 :	0.3 :	2.1 :	7.6 :
A ₁₁ A ₁₁ B ₆₂ B ₆₂	8.2 :	8.2 :	23.2 :	30.1 :
Semi Homozygous Case (i=j k≠1)	P	Q	R	S
A ₁₁ A ₁₁ B ₄₆ B ₄₆	0.2 :	0.5 :	6.7 :	29.6 :
A ₁₁ A ₁₁ B ₆₀ B ₆₁	0.2 :	0.5 :	6.2 :	23.1 :
A ₁₁ A ₁₁ B ₅₅ B ₅₄	2.3 :	4.8 :	9.1 :	10.0 :
A ₁₁ A ₁₁ B ₄₆ B ₆₂	1.3 :	9.6 :	24.4 :	30.1 :
A ₁₁ A ₁₁ B ₅₁ B ₃₅	0.3 :	0.7 :	6.6 :	18.3 :
Heterozygous Case (i≠j k≠1)	P	Q	R	S
A ₁₁ A ₂₆ B ₃₉ B ₆₇	0.1 :	1.1 :	2.8 :	3.4 :
A ₁₁ A ₂₆ B ₃₉ B ₆₁	2.0 :	10.6 :	26.6 :	35.2 :
A ₁₁ A ₂₆ B ₆₇ B ₅₄	0.4 :	4.4 :	16.5 :	25.9 :
A ₁₁ A ₂₆ B ₆₇ B ₅₅	0.4 :	2.9 :	12.6 :	23.1 :
A ₁₁ A ₂₆ B ₄₈ B ₁₂	0.1 :	1.9 :	25.1 :	95.9 :

図4 臨床例で血小板輸血の効果をPCの場合, cross-reactive donorからの血小板の場合について経時的に調べたものである. 大量アフェレーシスによる血小板はいずれもLCT法陰性だが, AHG-LCT法陽性の前3回の輸血は無効であるが, AHG-LCT法でも陰性の後4回の輸血は有効であった.

図5 日本人の donor pool size と十分な数の donor が得られる患者の割合を示した。5人以上の非血縁 HLA 適合登録者を得る患者の割合を縦軸に、供血登録者数を横軸に取ったものであり、donor pool が大きくなるにつれ、十分な数の donor が得られる患者の割合も大きくなる。

図6 欧州白人の donor pool size と十分な数の donor が得られる患者の割合を示した。5人以上の非血縁 HLA 適合登録者を得る患者の割合を縦軸に、供血登録者数を横軸に取ったものであり、donor pool が大きくなるにつれ、十分な数の donor が得られる患者の割合も大きくなる。

さは、各500人、1,000人、1,500人であった。

結局、5,000人程度の供血予定者の HLA 抗原を調べて登録しておけば、refractory state にある

大部分の患者に有効な血小板を供給できることが明らかとなった。即ち、完全適合供血者を5人以上得られる患者の割合が86%であり、それに準ず

図7 北米白人の donor pool size と十分な数の donor が得られる患者の割合を示した。5人以上の非血縁 HLA 適合登録者を得る患者の割合を縦軸に、供血登録者数を横軸に取ったものであり、donor pool が大きくなるにつれ、十分な数の donor が得られる患者の割合も大きくなる。

る交差抗原を1つ、ないし2つまで含む供血者まで適格と考えれば、適合供血者を5人以上得られる患者の割合は、各々97%、99%である。実際には、上記の(Q),(R),(S)の範疇に属さない供血者でも交差適合試験が陰性であれば、十分有効な血小板輸血を行なうことができるので、各血液センターで準備すべき供血登録者の数は、ABO式血液型ごとに1,000人、合計5,000人程度が妥当と思われる。そして、この5,000人という登録者集団の大きさは、数年来の日赤中央血液センターの実際の大きさに一致しており、その500例にのぼる実績からみても充分有用な大きさと考えられた。

考 察

Yankee ら³⁾は、抗 HLA 抗体を有し血小板の破壊が亢進している症例の輸血に HLA 適合血小板輸血が極めて有用であることを報告した。さらに、Thorsby ら⁶⁾は、HLA の多型性からみて個々の患者が家族・知人から必要な供血者を捜すことは困難であるから、非血縁供血予定者を HLA 検査後登録し、その中から患者と合致する供血者を選び、その人からの血小板を輸血することが有用であると報告している。また、Duquesnoy は、HLA-A

座、B座に比べてC座抗原は血小板輸血の際の同種抗体の産生について大きな意味を持たないこと¹⁴⁾、そして、HLA-A座、B座の抗原の中では HLA-A2抗原を有する患者の場合とそうでない場合とでは大きく輸血効果が異なること¹⁵⁾、そして HLA、B座抗原のいわゆる“supertypic antigens”である HLA-BW4、BW6抗原系の持つ意義に関する検討等¹⁶⁾を報告している。

さらに、実際どの程度の規模の donor pool が必要かについてやはり Duquesnoy が48例の実際の患者に対しての経験をもとに約1,500人の donor pool があれば各患者最低1人の適合者が見つかるという計算を報告している。そしてその際、供血者の有する抗原の中の1つまたは2つの抗原が患者の有する抗原ではない場合 (mismatched case) でも、完全適合供血者からの血小板輸血と同様に有効なことが多いことが示されている¹⁷⁾。

今回の我々の成績から判明したことはまず、AHG-LCT法がLCT法より高率に臨床効果を推定できる交差適合試験であり、AHG-LCT法とMPHA法両法反応陰性の供血者より採血した血小板を輸血することが有用なことである。交差適

合試験合格者からの血小板アフェレーシスによる大量血小板輸血の有効率が従来の70%に比べ90%に上昇したということは、HLA 適合血小板輸血のほとんどの例で、輸血の臨床効果の予測が十分可能なこと、したがってそれに基づき輸血スケジュール、有効な対策がたてられるということの意味する。換言すれば、患者と HLA 抗原が同一である供血者を見つけ出すことが困難な場合も、HLA 抗原が類似している人の中から臨床的に適合する血小板を供給し得る供血者をより確実に探し出すことが可能なことを意味する。登録供血予定者のリンパ球を予め凍結保存しておき、HLA の類似している供血者のリンパ球と患者血清で交差適合試験を行なった上で、患者によく適合すると思われる血小板を輸血すれば有効な輸血となると考えられるからである。HLA matched donor registration が欧米でも行なわれているが、このような有効性の向上に関する討議は十分なされていない。

さて、従来の LCT で反応せず、AHG-LCT で陽性となる場合として、以下の可能性が考えられる。

(1) 被検血清中に抗原と反応しても補体を活性化しないタイプの抗体が存在する。

(2) 標準的リンパ球細胞毒試験で陽性を示すに充分でない量の HLA 抗体が存在している。

今後さらにその頻度、作用機序の解明が必要だが、いずれにしても、AHG-LCT 法が LCT 法よりも高感度の検査法として HLA 適合血小板輸血の交差適合反応試験として有用と考えられた。なお血小板増加が有効か否かの指標として血小板数が $30,000/\mu\text{l}$ 以下で、発熱や感染症がなく、血小板や白血球に対する抗体が証明されていない症例で、血小板増加数を検討すると、輸液24時間後では平均 $1.42 \pm 1.04 \times 10^4/\mu\text{l}/\text{m}^2/10^{11}$ となるという¹⁸⁾。しかし、今回問題とした抗 HLA 抗体を有する患者の多くは、発熱や感染症を伴っており、この指標をそのままあてはめることは難しい。図3(a)から見ると、 $1/3 \times 10^4/\mu\text{l}/\text{m}^2/10^{11}$ の所で有効無効の区別がつけられ、実際の臨床的な止血効果とも良く並行していた。

第2点は、各 HLA 型の(P), (Q), (R), (S) の

頻度、およびこれをもとに考えた供血者集団の大きさと最低5人以上の供血者を得られる患者の割合のグラフから、従来の考えより少ない供血登録者数でも有用な輸血が可能なことである。各血液センター毎で、ABO 血液型各型1,000人、合計5,000人程度の供血予定者の HLA 抗原を調べて登録しておけば、refractory state にある大部分の患者に有効な血小板を供給できることが明らかとなった(一応 ABO 血液型各型1,000人としたが、血小板輸血の場合は ABO 型の一致しない供血者からの輸血も遠心操作により赤血球成分を除去するため、ABO 型の一致した供血者からの輸血とはほぼ同様に有効であるという報告が多いので、総計で5,000人程度の供血予定者集団ができれば良いと考えている。)即ち、完全適合供血者を5人以上得られる患者の割合が86%であり、それに準ずる交差抗原を1つ、ないし2つまで含む供血者まで適格と考えれば、適合供血者を5人以上得られる患者の割合は、各々97%, 99%である。また我国の高い人口密度からすれば、各地方に同様なシステムを作成し、HLA 適合供血者よりの血小板を必要に応じて相互に活用することも有用と考えられた。即ち、極めて稀な HLA 型をもつ患者に対して、HLA 適合供血者が見つからない場合には全国レベルで適合した供血者を求めることができるであろう。

今回我々が問題にしたように血小板輸血における主要適合抗原は HLA クラス I 抗原、特に HLA-A 座、B 座の抗原であるが、血小板特有抗原の適合性も重要であると言われている。しかしながら、外国でその適合性が問題とされている PL^{A1} 抗原は、日本人ではそれを持たない人が皆無に近いので問題とならないと考えられていた²⁾。ところが最近、柴田らによって日本人で発見された Yuk^a, Yuk^b 抗原系は、血小板輸血において意味をもつ可能性が示されている¹⁹⁾。したがって、リンパ球のみの適合検査ではこのような抗原に対する抗体の存在を見逃す危険性があるので、AHG-LCT 法の他に柴田らの開発した血小板の MPHA 法を用いた交差適合試験を行なうことが適合性の確認、有効性の予測の為に必要であると考えられる。

また、AHG-LCT, MPHA 両法反応陰性適合血小板でも出現する10%の無効例については、non-HLA 抗体の存在の他に、免疫複合体 (immune complex: IC) の関与等がその原因の一つとして想定されている。それ故、実際に患者血清中の IC を的確に検出し、無効血小板輸血を未然に防ぐ為にはどのような IC 検査法が有用であるかの検討も必要と考えられる。

今後、このような登録者制度が各地に作られ、HLA 適合血小板の輸血がますます盛んになると思われる。その際、HLA 適合血小板をより有意義なものとする為に、以下の(1)~(7)の側面についての検討が重要となろう。

(1) HLA 抗原と各血液疾患の関係、即ち、ある種の連鎖不平衡が存在するか。

(2) HLA 抗原と抗血小板抗体との関係、即ち、ある HLA 抗原の有無によって血小板に対する抗体の産生の頻度が異なるか。

(3) HLA 抗原と抗血小板抗体との関係から、HLA 抗原の cross-reactivity がどのように整理されていくか。

(4) 時として患者の抗 HLA 抗体が消失することが観察されている。輸血による免疫抑制反応の機序と関連があるか。

(5) どのような患者に HLA 適合血小板の輸血が適応となるか。

(6) 供血者の安全・人権の保護という点で、どのような配慮処置が必要であるか。

(7) 赤十字血液センターの本来の業務目的から、全国レベルで、どの患者に対しても、平等に、対応することが必要と考えられるが、その為の対応にはどのような基準が必要か等である。

そして、この制度をさらに一步進めて、骨髄移植の分野でも登録者制度一適合骨髄の移植という方向が必要となると思われる。

付記 この研究の大部分は、文部省科学研究費補助金(一般研究(B)課題番号5848480438)により補助された。更に、本論文中の統計計算に関して、東北大学工学部応用物理学教室宮崎博司博士より適切な助言、御指導を頂きました。ここに深謝致します。

文 献

- 1) 坂本久浩：抗血小板抗体検査法。日本臨床、42巻、春季臨時増刊号、1984、pp. 1505—1509.
- 2) 柴田洋一：HLA 抗体と血小板特異抗体。日輸血会誌、29：437—440、1983.
- 3) Yankee, R.A., Grumet, F.C. and Rogentine, G. N.: Platelet transfusion therapy. The selection of compatible platelet donors for refractory patients by lymphocyte HL-A typing. *N. Engl. J. Med.*, 281: 1208—1212, 1969.
- 4) Lohrmann, P., Bull, M.I., Decter, J.A., Yankee, R.A. and Graw, R.G.: Platelet transfusion from HL-A compatible unrelated donors to allo-immunized patients. *Ann Intern. Med.*, 80: 9—14, 1974.
- 5) Yankee, R.A., Graff, K.S., Dowling, R. and Henderson, E.S.: Selection of unrelated compatible platelet donors by lymphocyte HLA matching. *N. Engl. J. Med.*, 288: 760—764, 1973.
- 6) Thorsby, E., Helgesen, A. and Gjerdal, T.: Repeated platelet transfusion from HLA compatible unrelated and sibling donors. *Tissue Antigens* 2: 397—404, 1972.
- 7) Duquesnoy, R.J., Vieira, J. and Aster, R.H.: Donor availability for platelet transfusion support of alloimmunized thrombocytopenic patients. *Transplant Proc.*, 9: 519—521, 1977.
- 8) Rogentine, G.N. Jr.: Detection of isoantigens on human lymphocytes and tissue culture cells by the ^{51}Cr cytotoxicity technique. *Histocompatibility Testing 1967*. Edited by ES Curtini, P.L. Mattiuz, R.M. Tosi. Baltimore, Williams and Wilkins, 1968, pp. 373—380.
- 9) Shibata, Y., Juji, T., Nishizawa, Y., Sakamoto, H. and Ozawa, N.: Detection of platelet antibodies by a newly developed mixed agglutination with platelets. *Vox Sang.*, 41: 25—31, 1981.
- 10) Johnson, A.H., Rossen, R.D. and Butler, W.T.: Detection of alloantibodies using a sensitive antiglobulin microcytotoxicity test: Identification of low levels of performed antibodies in accelerated allograft rejection. *Tissue Antigens*, 2: 215—226, 1972.
- 11) Thorsby, E., Kjerbye, K.E. and Bratlie, A.: Cross-Reactive HL-A antibodies: Absorption and Immunization Studies. *Vox Sang.*, 18: 373—378, 1970.
- 12) Mittal, K.K. and Terasaki, P.I.: Serological cross-reactivity in the HLA system. *Tissue Antigens*, 2: 146—153, 1974.
- 13) May, W.R.: Kreuzreagierende antikörper im

- bereich des HLA-Systems der Transplantationantigene. Schweiz Med. Wsehr, 101: 361, 1971.
- 14) Duquesnoy, R.J., Filip, D.J., Tomasulo, P.A. and Aster, R.H.: Role of HLA-C matching in histocompatible platelet transfusion therapy of alloimmunized thrombocytopenic patients. Transplant Proc., 9: 1827—1828, 1977.
- 15) Duquesnoy, R.J., Filip, D.J. and Aster, R.H.: Influence of HLA-A2 on the effectiveness of platelet transfusions in alloimmunized thrombocytopenic patients. Blood, 50: 407—412, 1977.
- 16) Duquesnoy, R.J., Testin, J. and Aster, R.H.: Variable expression of W4 and W6 on platelets: Possible relevance to platelet transfusion therapy of alloimmunized thrombocytopenic patients. Transplant Proc., 9: 1829—1831, 1977.
- 17) Duquesnoy, R.J., Filip, D.J., Rodey, G.E., Rimm, A.A. and Aster, R.H.: Successful transfusion of platelets "mismatched" for HLA antigens to allo-immunized thrombocytopenic patients. Am. J. Haematol., 2: 219—226, 1977.
- 18) 下山正徳, 大倉久直, 湊 啓輔, 井上雄弘, 竹中武昭, 北原武志, 坂野輝夫, 近田千尋, 木村禮代二, 柴田洋一, 十字猛夫: 大量血小板輸血と血小板の回収率寿命を左右する因子—特に抗血小板抗体について. 臨床血液, 18: 868—875, 1977.
- 19) Shibata, Y., Matsuda, I., Miyaji, T. and Ichikawa, Y.: Yuk^a. A new platelet antigen involved in two class of neonatal alloimmune thrombocytopenia. Vox Sang., 50: 177—180, 1986.
-

Appendix (1)-1

```

10 DIM P(8,23),W(9),WW(9),KA(9),KB(9),IX(30),A$(8),B$(23),NX(4,23,2)
20 DIM IP(30),IR(30),IQ(30),IS(30)
30 NA=8:NB=23
40 '
50 DATA 0,0,0,0,0,0,8,0
60 DATA 0,41,16,24,49,0,213,32
70 DATA 0,41,8,8,0,0,0,24
80 DATA 0,24,8,0,16,0,41,476
90 DATA 0,49,74,16,0,0,49,49
100 DATA 0,41,82,8,41,0,230,279
110 DATA 0,32,238,16,139,0,222,296
120 DATA 0,24,8,8,32,16,57,32
130 DATA 0,8,8,592,8,41,8,16
140 DATA 0,8,0,0,0,0,8,0
150 DATA 0,16,0,0,24,0,16,0
160 DATA 0,90,32,0,65,8,65,90
170 DATA 8,131,32,41,32,0,123,361
180 DATA 0,0,16,0,16,0,74,98
190 DATA 0,32,49,8,41,0,49,995
200 DATA 8,57,90,24,254,0,197,205
210 DATA 0,32,189,24,57,8,304,320
220 DATA 0,0,8,0,0,0,32,16
230 DATA 0,0,0,0,8,0,0,16
240 DATA 8,287,222,32,74,8,254,197
250 DATA 0,24,0,0,16,0,304,98
260 DATA 0,0,0,49,0,0,0,0
270 DATA 16,0,16,0,0,0,8,8
280 '
290 DATA A1,A11,A26,A33,A31,A3,A2,A24
300 DATA B38,B39,B67,B7,B48,B60,B61,B13,B12,B27,B56,B55,B54,B59,B52
310 DATA B51,B35,B70,TSI,B62,B46,B17,B37
320 '
330 FOR J=1 TO NB:FOR I=1 TO NA:READ P(I,J):P(I,J)=P(I,J)*.0001:NEXT I,J
340 FOR I=1 TO NA:READ A$(I):NEXT I
350 FOR I=1 TO NB:READ B$(I):NEXT I
360 '
370 GOSUB *PREP
380 '
410 INPUT "INPUT M,N (M<N) for A and Rs,Re (Rs<Re) for B ";M,N,RS,RE
411 PRINT M,N;"for A",RS;"for B"
412 LPRINT M,N;"for A",RS;"for B"
413 PRINT M,N;"for A",RE;"for B"
414 LPRINT M,N;"for A",RE;"for B"
420 IF M<1 OR RS<1 THEN 410 ELSE IF N>NA OR RE>NB THEN 410
430 IF RS>RE THEN 410
440 FOR R=RS TO RE
450 PRINT
455 LPRINT
460 '
470 FOR I=1 TO NB:IX(I)=0:NEXT I
472 FOR I=1 TO NB:IP(I)=0:NEXT I
474 FOR I=1 TO NB:IQ(I)=0:NEXT I
476 FOR I=1 TO NB:IR(I)=0:NEXT I
478 FOR I=1 TO NB:IS(I)=0:NEXT I
490 '
505 FOR S=R TO NB:GOSUB *PROP:IX(S)=(INT(100000!*PX))/10
507 IP(S)=IX(S)
508 IX(S)=0
515 GOSUB *PROQ:IX(S)=(INT(100000!*QX))/10
517 IQ(S)=IX(S)

```

Appendix (1)-2

```

518 IX(S)=0
525 X=M:Y=N:IND=1:GOSUB *NUM
530 GOSUB *PROR:IX(S)=(INT(100000!*RX))/10
531 IR(S)=IX(S)
532 IX(S)=0
550 GOSUB *PROS:IX(S)=(INT(100000!*SX))/10
552 IS(S)=IX(S)
553 IX(S)=0
554 NEXT S
560 '
570 PRINT USING "Case of ( & &,& & , and & & )";A$(M),A$(N),B$(R)
575 LPRINT USING "Case of ( & &,& & , and & & )";A$(M),A$(N),B$(R)
580 FOR S=R TO NB STEP 2
590 PRINT
595 LPRINT
600 S1=S:S2=S+1:IF S2>NB THEN S2=NB
610 FOR SS=S1 TO S2
620 PRINT USING " & & =####.# :";B$(SS),IP(SS);
621 LPRINT USING " & & = ####.#: ";B$(SS),IP(SS);
625 PRINT USING " ####.#: ";IQ(SS);
626 LPRINT USING " ####.#: ";IQ(SS);
631 PRINT USING " ####.#: ";IR(SS);
632 LPRINT USING " ####.#: ";IR(SS);
638 PRINT USING " ####.#: ";IS(SS);
640 LPRINT USING " ####.#: ";IS(SS);
642 NEXT SS
650 NEXT S
660 PRINT
665 LPRINT
670 NEXT R
680 GOTO 410
690 '
700 *PROP
710 F=1
720 IF M=N THEN F=2*F
730 IF R=S THEN F=2*F
740 PX=2*(P(M,R)*P(N,S)+P(M,S)*P(N,R))/F
750 RETURN
760 '
770 *PROQ
780 M1=M:N1=N:R1=R:S1=S:GOSUB *QQ
790 RETURN
800 '
810 *PROR
820 GOSUB *RR:RX=SQ*(SQ+SUM):RETURN
830 '
840 *PROS
850 GOSUB *RR:U=(SQ+SUM/2)^2
860 V=0:IF LA*LB=0 THEN 880
870 FOR IA=1 TO LA:FOR IB=1 TO LB:V=V+P(KA(IA),KB(IB)):NEXT IB,IA
880 SX=U+2*SQ*V
890 RETURN
900 '
910 *RR
920 M1=M:N1=N:R1=R:S1=S:GOSUB *QQ
930 SUM=0
940 X=R:Y=S:IND=2:GOSUB *NUM
950 DI=N-M:IF DI=0 THEN DI=1
960 FOR I=M TO N STEP DI
970 FOR J=1 TO LB

```

Appendix (1)-3

```

980 SUM=SUM+2*P(I,KB(J))
990 NEXT J,I
1000 '
1010 IF LA=0 THEN RETURN
1020 DI=S-R:IF DI=0 THEN DI=1
1030 FOR I=R TO S STEP DI
1040 FOR J=1 TO LA
1050 SUM=SUM+2*P(KA(J),I)
1060 NEXT J,I
1070 RETURN
1080 '
1090 *QQ
1100 G=1
1110 IF M1=N1 THEN G=2*G
1120 IF R1=S1 THEN G=2*G
1130 SQ=(P(M1,R1)+P(N1,R1)+P(M1,S1)+P(N1,S1))/G
1140 QX=SQ*SQ
1150 RETURN
1160 '
1170 *NUM
1180 N1=NX(1,X,IND):N2=NX(1,Y,IND):NN=N1+N2
1190 IF N1=0 THEN 1200 ELSE FOR I=1 TO N1:W(I)=NX(I+1,X,IND):NEXT I
1200 IF N2=0 THEN 1220
1210 FOR I=1 TO N2:W(I+N1)=NX(I+1,Y,IND):NEXT I
1220 IF NN=1 THEN 1270
1230 FOR I=1 TO NN-1
1240 FOR J=I+1 TO NN
1250 IF W(J)=W(I) THEN W(J)=0
1260 NEXT J,I
1270 FOR I=1 TO NN
1280 IF W(I)=0 THEN 1300
1290 IF W(I)=X OR W(I)=Y THEN W(I)=0
1300 NEXT I
1310 MM=0
1320 FOR I=1 TO NN
1330 IF W(I)=0 THEN 1350
1340 MM=MM+1:WW(MM)=W(I)
1350 NEXT I
1360 ON IND GOTO 1370,1380
1370 LA=MM:FOR I=1 TO LA:KA(I)=WW(I):NEXT I:RETURN
1380 LB=MM:FOR I=1 TO LB:KB(I)=WW(I):NEXT I:RETURN
1390 '
1400 *PREP
1410 NX(1,7,1)=0:NX(1,8,1)=0
1420 FOR I=2 TO 4:NX(1,I,1)=2:NX(2,I,1)=I-1:NX(3,I,1)=I+1:NEXT I
1430 NX(1,1,1)=1:NX(2,1,1)=2
1440 NX(1,2,1)=3:NX(4,2,1)=6
1450 NX(1,5,1)=1:NX(2,5,1)=4:NX(1,6,1)=1:NX(2,6,1)=2
1460 '
1470 FOR I=2 TO 8:NX(1,I,2)=2:NX(2,I,2)=I-1:NX(3,I,2)=I+1:NEXT I
1480 FOR I=15 TO 20:NX(1,I,2)=2:NX(2,I,2)=I-1:NX(3,I,2)=I+1:NEXT I
1490 NX(1,1,2)=1:NX(2,1,2)=2
1500 NX(1,3,2)=3:NX(4,3,2)=11
1510 NX(1,4,2)=3:NX(4,4,2)=10
1520 NX(1,9,2)=1:NX(2,9,2)=8:NX(1,10,2)=1:NX(2,10,2)=4
1530 NX(1,11,2)=2:NX(2,11,2)=3:NX(3,11,2)=12
1540 NX(1,12,2)=2:NX(2,12,2)=11:NX(3,12,2)=13
1550 NX(1,13,2)=1:NX(2,13,2)=12
1560 NX(1,14,2)=1:NX(2,14,2)=15
1570 NX(1,21,2)=1:NX(2,21,2)=20

```

Appendix (2)-1

```

10 DIM P(8,23),W(9),WW(9),KA(9),KB(9),IX(30),A$(8),B$(23),NX(4,23,2),AX(2)
20 '
30 NA=8:NB=23
40 '
50 DATA 0,0,0,0,0,0,8,0
60 DATA 0,41,16,24,49,0,213,32
70 DATA 0,41,8,8,0,0,0,24
80 DATA 0,24,8,0,16,0,41,476
90 DATA 0,49,74,16,0,0,49,49
100 DATA 0,41,82,8,41,0,230,279
110 DATA 0,32,238,16,139,0,222,296
120 DATA 0,24,8,8,32,16,57,32
130 DATA 0,8,8,592,8,41,8,16
140 DATA 0,8,0,0,0,0,8,0
150 DATA 0,16,0,0,24,0,16,0
160 DATA 0,90,32,0,65,8,65,90
170 DATA 8,131,32,41,32,0,123,361
180 DATA 0,0,16,0,16,0,74,98
190 DATA 0,32,49,8,41,0,49,995
200 DATA 8,57,90,24,254,0,197,205
210 DATA 0,32,189,24,57,8,304,320
220 DATA 0,0,8,0,0,0,32,16
230 DATA 0,0,0,0,8,0,0,16
240 DATA 8,287,222,32,74,8,254,197
250 DATA 0,24,0,0,16,0,304,98
260 DATA 0,0,0,49,0,0,0,0
270 DATA 16,0,16,0,0,0,8,8
280 '
290 DATA A1,A11,A26,A33,A31,A3,A2,A24
300 DATA B38,B39,B67,B7,B48,B60,B61,B13,B12,B27,B56,B55,B54,B59,B52
310 DATA B51,B35,B70,TS1,B62,B46,B17,B37
320 '
330 FOR J=1 TO NB:FOR I=1 TO NA:READ P(I,J):P(I,J)=P(I,J)*.0001:NEXT I,J
340 FOR I=1 TO NA:READ A$(I):NEXT I
350 FOR I=1 TO NB:READ B$(I):NEXT I
360 '
370 GOSUB *PREP
380 '
390 INPUT"INPUT 1(P), 2(Q), 3(R),4(S) or END(0) ",IANS
400 INPUT" lower limit of compatible donors",AX(1),AX(2)
410 ON IANS GOTO 390, 412, 610, 800
412 FOR AXX=AX(1) TO AX(2)
414 IANR=AXX
420 MAT=0
430 PRINT "pure matched donor";IANR,
440 LPRINT "pure matched donor";IANR,
450 FOR M=1 TO NA
460 FOR N=M TO NA
470 FOR R=1 TO NB
480 FOR S=R TO NB
490 GOSUB *PROQ:IAND=INT(QX*10000)
500 IF IAND < IANR THEN GOTO 515
510 GOSUB *PROP:MAT=MAT+INT(PX*10000)
515 REM
516 REM
520 NEXT S
530 NEXT R
540 NEXT N
550 NEXT M

```


Appendix (2)-2

```

560 PRINT "pure matched donor",IANR,MAT,"per 10000"
570 LPRINT "pure matched donor",IANR,MAT,"per 10000"
580 NEXT AXX
585 INPUT "more calculation (0=yes,1=no)=";MOT
590 IF MT=0 GOTO 390
600 IF MT=1 THEN END
610 FOR AXX=AX(1) TO AX(2)
612 IANR=AXX
614 MAT=0
620 PRINT "semi matched donor";IANR,
630 LPRINT "semi matched donor";IANR,
640 FOR M=1 TO NA
650 FOR N=M TO NA
660 FOR R=1 TO NB
670 FOR S=R TO NB
680 GOSUB *PROR:IAND=INT(10000*RX)
690 IF IAND < IANR THEN GOTO 705
700 GOSUB *PROP:MAT=MAT+INT(PX*10000)
705 MAT=MAT
710 NEXT S
720 NEXT R
730 NEXT N
740 NEXT M
750 PRINT "semi matched donor",IANR,MAT,"per 10000"
760 LPRINT "semi matched donor",IANR,MAT,"per 10000"
762 NEXT AXX
770 INPUT " more calculation (0=yes,1=NO)=";MOT
780 IF MOT=0 GOTO 390
790 IF MOT=1 THEN END
800 FOR AXX=AX(1) TO AX(2)
802 IANR=AXX
804 MAT=0
810 PRINT "two-semi matched donor";IANR,
820 LPRINT "two-semi matched donor";IANR,
830 FOR M=1 TO NA
840 FOR N=M TO NA
850 FOR R=1 TO NB
860 FOR S=R TO NB
870 GOSUB *PROS:IAND=INT(10000*SX)
880 IF IAND < IANR THEN GOTO 900
890 GOSUB *PROP:MAT=MAT+INT(PX*10000)
900 NEXT S
910 NEXT R
920 NEXT N
930 NEXT M
940 PRINT "two-semi matched donor",IANR,MAT,"per 10000"
950 LPRINT "two-semi matched donor",IANR,MAT,"per 10000"
952 NEXT AXX
960 INPUT " more calculation(0=yes,1=NO)=";MOT
970 IF MOT=0 GOTO 390
980 IF MOT=1 THEN END
1200 '
1210 *PROP
1220 F=1
1230 IF M=N THEN F=2*F
1240 IF R=S THEN F=2*F
1250 PX=2*(P(M,R)*P(N,S)+P(M,S)*P(N,R))/F
1260 RETURN

```

Appendix (2)-3

```
1270 '
1280 *PROQ
1290 M1=M:N1=N:R1=R:S1=S:GOSUB *QQ
1300 RETURN
1310 '
1320 *PROR
1330 GOSUB *RR:RX=SQ*(SQ+SUM):RETURN
1340 '
1350 *PROS
1360 GOSUB *RR:U=(SQ+SUM/2)^2
1370 V=0:IF LA*LB=0 THEN 1390
1380 FOR IA=1 TO LA:FOR IB=1 TO LB:V=V+P(KA(IA),KB(IB)):NEXT IB,IA
1390 SX=U+2*SQ*V
1400 RETURN
1410 '
1420 *RR
1430 M1=M:N1=N:R1=R:S1=S:GOSUB *QQ
1440 SUM=0
1450 X=R:Y=S:IND=2:GOSUB *NUM
1460 DI=N-M:IF DI=0 THEN DI=1
1470 FOR I=M TO N STEP DI
1480 FOR J=1 TO LB
1490 SUM=SUM+2*P(I,KB(J))
1500 NEXT J,I
1510 '
1520 IF LA=0 THEN RETURN
1530 DI=S-R:IF DI=0 THEN DI=1
1540 FOR I=R TO S STEP DI
1550 FOR J=1 TO LA
1560 SUM=SUM+2*P(KA(J),I)
1570 NEXT J,I
1580 RETURN
1590 '
1600 *QQ
1610 G=1
1620 IF M1=N1 THEN G=2*G
1630 IF R1=S1 THEN G=2*G
1640 SQ=(P(M1,R1)+P(N1,R1)+P(M1,S1)+P(N1,S1))/G
1650 QX=SQ*SQ
1660 RETURN
1670 '
1680 *NUM
1690 N1=NX(1,X,IND):N2=NX(1,Y,IND):NN=N1+N2
1700 IF N1=0 THEN 1710 ELSE FOR I=1 TO N1:W(I)=NX(I+1,X,IND):NEXT I
1710 IF N2=0 THEN 1730
1720 FOR I=1 TO N2:W(I+N1)=NX(I+1,Y,IND):NEXT I
1730 IF NN=1 THEN 1780
1740 FOR I=1 TO NN-1
1750 FOR J=I+1 TO NN
1760 IF W(J)=W(I) THEN W(J)=0
1770 NEXT J,I
1780 FOR I=1 TO NN
1790 IF W(I)=0 THEN 1810
1800 IF W(I)=X OR W(I)=Y THEN W(I)=0
1810 NEXT I
1820 MM=0
1830 FOR I=1 TO NN
1840 IF W(I)=0 THEN 1860
1850 MM=MM+1:WW(MM)=W(I)
1860 NEXT I
```

Appendix (2)-4

```

1870 ON IND GOTO 1880,1890
1880 LA=MM:FOR I=1 TO LA:KA(I)=WW(I):NEXT I:RETURN
1890 LB=MM:FOR I=1 TO LB:KB(I)=WW(I):NEXT I:RETURN
1900 '
1910 *PREP
1920 NX(1,7,1)=0:NX(1,8,1)=0
1930 FOR I=2 TO 4:NX(1,I,1)=2:NX(2,I,1)=I-1:NX(3,I,1)=I+1:NEXT I
1940 NX(1,1,1)=1:NX(2,1,1)=2
1950 NX(1,2,1)=3:NX(4,2,1)=6
1960 NX(1,5,1)=1:NX(2,5,1)=4:NX(1,6,1)=1:NX(2,6,1)=2
1970 '
1980 FOR I=2 TO 8:NX(1,I,2)=2:NX(2,I,2)=I-1:NX(3,I,2)=I+1:NEXT I
1990 FOR I=15 TO 20:NX(1,I,2)=2:NX(2,I,2)=I-1:NX(3,I,2)=I+1:NEXT I
2000 NX(1,1,2)=1:NX(2,1,2)=2
2010 NX(1,3,2)=3:NX(4,3,2)=11
2020 NX(1,4,2)=3:NX(4,4,2)=10
2030 NX(1,9,2)=1:NX(2,9,2)=8:NX(1,10,2)=1:NX(2,10,2)=4
2040 NX(1,11,2)=2:NX(2,11,2)=3:NX(3,11,2)=12
2050 NX(1,12,2)=2:NX(2,12,2)=11:NX(3,12,2)=13
2060 NX(1,13,2)=1:NX(2,13,2)=12
2070 NX(1,14,2)=1:NX(2,14,2)=15
2080 NX(1,21,2)=1:NX(2,21,2)=20
2090 NX(1,22,2)=0:NX(1,23,2)=0
2100 RETURN

```

Appendix に示す計算の考え方：患者の HLA 表現型を A_i, A_j, B_k, B_l とした場合、 A_i, B_k ハプロタイプ、 A_i, B_l ハプロタイプ、 A_j, B_k ハプロタイプ、 A_j, B_l ハプロタイプの日本人集団における頻度を各々 v, w, x, y とする。また、 v', w', x', y' を各々のハプロタイプの一方の抗原が元々の抗原と交差反応を示す場合のハプロタイプ頻度の総和とする。さらに、両方の抗原が交差反応性抗原で置き換えられたハプロタイプ頻度の総和として v'', w'', x'', y'' をおく。

HLA 表現型 $A_i A_j B_k B_l$ が heterozygous の患者、即ち A_i, A_j, B_k, B_l のいずれもが共通でない ($A_i \neq A_j$, 及び $B_k \neq B_l$) 患者の出現頻度 (P) 及び 3 種類の HLA 適合供血者頻度 (Q), (R), (S) を示した。

まず、 v, w, x, y を使って (P), (Q) を求める場合、A 座 B 座いずれか一方の抗原が共通の場合、(semi-homozygous)、A 座 B 座両方の抗原が共通な場合 (both homozygous) の場合は計算に使うべきハプロタイプ頻度が各々 2 種類、1 種類と少なくなる。したがって、上述の計算式で計算した値を各々 $1/2, 1/4$ 倍すれば正しい計算結果が得られる。

(R) を求める場合の v', w', x', y' に関して、また (S) を求める場合の $v'', w'', x'', y'', v'', w'', x'', y''$ に関しては重複して同一のハプロタイプ頻度を計算しないような注意が必要である。プログラムにハプロタイプ頻度の異同を確認する手順を入れて、それから計算を行なうようにした。