

表面プラズモン共鳴原理を応用した IgG 型抗 A, 抗 B 抗体価測定

—ABO 不適合生体肝臓移植 25 症例について—

万木紀美子¹⁾ 木村 晋也¹⁾ 芦原 英司¹⁾ 辻 博昭¹⁾ 河田 英里¹⁾
 上辻 由里¹⁾ 竹川 良子¹⁾ 菱田 理恵¹⁾ 江川 裕人²⁾ 前川 平¹⁾³⁾

IgG 型抗 A/B 抗体は, ABO 不適合生体肝臓移植 (肝移植) 患者の移植成績に大きく影響を及ぼす. 我々は, 表面プラズモン共鳴 (surface plasmon resonance : SPR) 原理の応用により, IgG 型抗 A/B 抗体量を迅速・簡便に測定可能な SPR 法を開発した. 今回, 健常ボランティア血清からアフィニティーカラムクロマトグラフィーにより IgG 型抗 A, 抗 B 抗体の精製を行い SPR 法の検量線を作成した. この検量線より SPR 法は測定値の濃度表示化 ($\mu\text{g/ml}$) が可能となった. また, 25 例の ABO 不適合肝移植患者の測定値の推移を, 標準的な方法である試験管での赤血球凝集法 (TT 法) と SPR 法, フローサイトメトリー法 (FCM 法) で測定した. その結果, SPR 法と FCM 法は高い相関が得られたが, SPR 法と TT 法, FCM 法と TT 法の相関は低い結果となった. そして, 測定値の推移について TT 法, SPR 法, FCM 法の 3 法が一致した群と一致しなかった群に大別されるが, 3 法一致群で測定値が高値となった症例では肝臓機能検査異常や病理組織像で液性拒絶が認められ術後 6 カ月以内の死亡例が存在した. しかし, 3 法不一致群で TT 法のみ高値となった症例では液性拒絶例はなく, 移植後早期死亡例も認められなかった.

キーワード : IgG 型抗 A/B 抗体, ABO 不適合生体肝臓移植, 表面プラズモン共鳴

本論文の内容は, Blackwell Publishing 社の許可のもと Transfusion Medicine 17 巻 97—106, 2007 に最初に報告された研究に基づき作成したものである. (Kimiko Yurugi, Shinya Kimura, Eiji Ashihara, Hiroaki Tsuji, Ari Kawata, Yuri Kamituji, Ryoko Takegawa, Rie Hishida, Hiroto Egawa, Taira Maekawa Transfusion Medicine, 17: 1—10, 2007).

はじめに

ABO メジャーミスマッチ肝移植では, 患者が保有する抗 A/B 抗体価が患者の予後に大きく影響するため¹⁾, 抗 A/B 抗体価のモニタリングを行い 2 重膜濾過 (double filtration plasmapheresis : DFPP) や 血漿交換 (plasma exchange : PE) による抗 A/B 抗体の除去や, B リンパ球の抗体産生を抑制するなど適切な処置を行うことが肝要である²⁾.

表面プラズモン共鳴 (surface plasmon resonance : SPR) と呼ばれる光学現象を応用することで, 抗原に結合した抗体量を, 蛍光や放射性の標識物質を用いずに直接測定することが可能となる. 我々は SPR の原理を利用し, 抗 A/B 抗体量を迅速・簡便に測定可能な方法 (以後, SPR 法) を開発し報告した³⁾. 既法では, 抗体量をレゾナンスユニット (resonance unit : RU) で表示している³⁾. 今回, 健常ボランティアより精製した IgG

型抗 A, 抗 B 抗体を標準物質として用いることで抗体量の濃度表示化 ($\mu\text{g/ml}$) を可能とした. さらに ABO メジャーミスマッチ肝移植患者 25 症例について, 標準的な検査法である TT 法⁴⁾ と SPR 法, 第 3 の方法としてフローサイトメトリー法 (FCM 法)⁵⁾ の 3 法で術前術後の抗体量の推移を測定し, 抗体量と肝臓機能検査値, 病理組織像とを比較検討したので報告する.

材料と方法

1. 測定装置および試薬

①精製 IgG 型抗 A, 抗 B 抗体の作製 : HiTrap Protein G HP カラム (Amersham Biosciences, Uppsala, Sweden) で IgG 型抗体を精製した. 次に A 抗原あるいは B 抗原トリサッカライド誘導体 (Dextra Laboratories, London, UK) を固定化した N-hydroxysuccinimide (NHS)-activated HiTrap HP カラム (Amersham) で IgG 型抗

1) 京都大学医学部附属病院輸血細胞治療部

2) 京都大学医学部附属病院肝胆膵移植外科

3) 京都大学医学部附属病院分子細胞治療センター

[受付日 : 2007 年 7 月 4 日, 受理日 : 2007 年 11 月 6 日]

Table 1 Profiles of the 25 ABO-unmatched LDLT patients

No.	Group	Sex	Age	Diagnosis	Blood type		GPT (IU/ml)		Rejection Pathology**	Survival*** (months)
					Pt.	Do.	Pre	Post *		
1	I	M	51	HCC with LC due to HBV	O	A	63	4,166	(+)	0.5
2		F	17	AIH (FHF)	O	A	25	2,867	(+)	0.5
3		F	58	HCC with LC due to HBV	A	AB	47	876	(+)	1
4		F	29	Wilson's disease	O	B	32	204	(+)	2
5		F	39	HCC with LC due to HBV	O	A	20	481	(-)	2
6		F	59	HCC with LC due to HBV	O	A	20	155	(-)	6
7		M	39	HCC with LC due to HBV	O	A	28	135	(-)	> 12
8		F	61	HCC with LC due to HBV	O	A	57	1,388	(-)	> 12
9		M	67	HCC with LC due to HCV	O	A	26	119	(-)	> 12
10		F	57	HCC with LC due to HBV	O	A	312	114	(-)	> 12
11		F	35	alcoholic LC	O	B	13	55	(-)	> 12
12		F	67	HCC with LC due to HBV	O	A	38	182	(-)	> 12
13		F	64	PBC	O	A	36	69	(-)	> 12
14		F	1	BA	O	B	211	11	(-)	> 12
15		F	42	HCC (unknown reason)	A	B	27	229	(-)	> 12
16	IIa	F	13	BA	A	AB	205	569	(-)	> 12
17		M	53	HCC with LC due to HBV	O	B	16	52	(-)	> 12
18		M	9	BA	B	A	22	29	(-)	> 12
19		M	53	HCC with LC due to HBV	A	B	55	208	(-)	> 12
20		F	57	HCC with PBC	A	AB	44	405	(-)	> 12
21		M	66	HCC with LC due to HCV	O	AB	36	201	(-)	> 12
22		F	69	FHF	O	A	834	211	(-)	> 12
23	IIb	F	40	PBC	O	AB	41	594	(-)	> 12
24		F	44	PBC	O	B	14	825	(-)	4
25	IIc	M	60	HCC with LC due to HCV	O	B	43	238	(-)	> 12

HCC, hepatocellular carcinoma; LC, liver cirrhosis; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; AIH, autoimmune hepatitis; FHF, fulminant hepatic failure; PBC, primary biliary cirrhosis; BA, biliary atresia; Pt., patient; Do., donor; Pre, pre-liver transplantation; Post, post-liver transplantation. * GPT levels of post-liver transplantation were the data obtained at the highest point within 2 weeks after transplantation; ** Liver biopsies of each patient were done within 2 to 4 weeks after transplantation. *** Survival months after each transplantation.

A, 抗 B 抗体をそれぞれ精製した。回収した IgG 型抗 A, 抗 B 抗体の蛋白質量はプロテインアッセイ® (Bio-Rad, 東京) を用い Bradford 法によって測定した。精製 IgG 型抗 A, 抗 B 抗体は使用直前まで -20°C で保管し、溶解後使用した。

② SPR 法による各抗体量の測定には、ピアコア X® (Biacore International AB, Uppsala, Sweden) を用い、センサーチップは CM5 (Biacore) を選択した。A または B 抗原のトリサッカライドアミン誘導体を CM5 に固定化し、標的抗原とした。ランニングバッファーは HBS-EP バッファー (0.01M HEPES pH 7.4, 0.15M NaCl, 3mM EDTA) を、2 次抗体には抗ヒト IgG 抗体 (Monsan, Uden, Netherlands) を使用した。

③ TT 法では健常ボランティアより採取した A₁ および B 型赤血球を抗原とし、IgG 型抗体測定のため 2 次抗体には抗ヒト IgG 抗体 (Gamma Biologicals, Texas, USA) を使用した。

④ FCM 法では新鮮な A₁ および B 型血球に、赤血球の凝集防止のため DMS (dimethylsuberimidate) (Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA) 処理を行った後、患者血

漿を反応させた。2 次抗体には FITC 標識ヤギ F(ab')₂ 抗ヒト IgG 抗体 (Biosource, Camarillo, CA, USA) を使用した。

2. 患者検体

ABO メジャーミスマッチ肝移植患者 25 症例について、PE 前後の検体および術前術後に経時的に検体を採取し十分なインフォームドコンセントを得て使用した。24 名は Rho (D) 陽性、残り 1 名は Rho (D) 陰性であった。血漿は 1ml ずつ分注し測定まで -20°C で保管した。25 症例の内訳を (Table 1) に示す。

3. 測定方法

① SPR 法

センサーチップに A または B 抗原のトリサッカライドアミン誘導体を固定化し、第一段階として 1% デキストラン加ランニングバッファーで 2 倍希釈した被検血漿を、流路に 20μl/min の流速で 5 分間流し、センサーチップに抗 A または抗 B 抗体を結合させた。流路を洗浄した後、第二段階としてランニングバッファーで 10 倍希釈した抗ヒト IgG モノクローナル抗体を 20μl/min で 5 分間流し、A または B 抗原に結合した IgG 型の抗

A または抗 B 抗体に反応させた。第二段階で上昇した測定値を SPR 法測定値とした³⁾。測定値は RU で表示されるが、標準物質で検量線を作成して検査結果を濃度表示に換算した。

② TT 法

IgM 型抗体価は、2 倍連続希釈した血漿に標準血球 (A₁ 血球または B 血球) を添加し、室温で 15 分間反応させた後に遠心して凝集の有無を判定し (生理食塩液法)、陽性となった血漿の最高希釈倍数を測定値とした。IgG 型抗体価の測定は、まず 0.2M の 2-メルカプトエタノール (2-ME) と血漿を 1:1 の割合で混和し、室温で 1~2 時間反応させて IgM 型抗体を不活化後、2-ME 処理血漿の 2 倍連続希釈を行い、間接抗グロブリン法にて行った。すなわち、2-ME 処理後に標準血球を加え、37°C で 30 分間加温する。その後、3 回洗浄を行い、抗ヒト IgG 抗体を添加して遠心し、凝集の有無を判定した。最終的に間接抗グロブリン試験 (抗ヒト IgG 抗体による) で陽性となった血漿の最高希釈倍数を IgG 型抗 A/B 抗体価とした。

③ FCM 法

新鮮な A 型および B 型赤血球に DMS 処理を行い、抗体が結合しても赤血球が凝集にないように処理した後、被検血漿添加して氷上で 30 分反応させた。洗浄後、2 次抗体として FITC 標識ヤギ F(ab')₂ 抗ヒト IgG 抗体を添加して氷上で 30 分反応させ再度洗浄を行った。フローサイトメトリーにて赤血球に結合した蛍光色素量を解析することにより抗 A/B 抗体量を測定した。標準物質で検量線を作成して測定結果を濃度表示化した。

4. 検討項目

① 精製 IgG 型抗 A, 抗 B 抗体を用いて蛋白濃度と TT 法, SPR 法, FCM 法測定値の相関を検討した。

② 25 例の ABO メジャーミスマッチ肝移植患者について、術前術後に経時的に採取した検体を SPR 法および TT 法, FCM 法の 3 法で測定して、TT 法と SPR 法の相関および TT 法を FCM 法の相関, SPR 法と FCM 法の相関を検討した。

③ 25 例の ABO メジャーミスマッチ肝移植患者について SPR 法および TT 法, FCM 法の 3 法の測定結果の推移と肝機能検査値, 病理組織像の結果の関連について検討した。

結 果

1) 精製 IgG 型抗 A/B 抗体の測定結果

精製 IgG 型抗 A 抗体は、TT 法での抗体価が 32 倍の B 型健康ボランティアドナー血清 20ml より 200 μ g 精製した。また、精製 IgG 型抗 B 抗体は TT 法で抗体価 8 倍の A₁ 型健康ボランティアドナー血清 130ml より 286 μ g を精製した。精製 IgG 型抗体を用いて TT 法 (Fig.

1-A and B), SPR 法 (Fig. 1-C and D), FCM 法 (Fig. 1-E and F) の検量線を作成した。また、SPR 法において精製 IgG 型抗 A 抗体および抗 B 抗体はセンサーチップに固定化した B 抗原および A 抗原に結合しないことを Fig. 1-C and D にそれぞれ示している。この結果は SPR 法で IgG 型抗 A, 抗 B 抗体の交差反応性がないことを示す。SPR 法では 60 μ g/ml 以上の高濃度の精製抗体で測定値が頭打ちとなった。FCM 法では精製抗体の濃度が 200 μ g/ml まで直線性が得られた。FCM 法での IgG 型抗 A 抗体, 抗 B 抗体の蛋白濃度と測定値の相関係数はそれぞれ 0.9895, 0.9566 であった。FCM 法では FITC 標識ヤギ F(ab')₂ 抗ヒト IgG 抗体を 2 次抗体として使用したが、抗 B 抗体の蛍光強度の中央値が抗 A 抗体よりもかなり低い結果となった。データは示していないが、フィコエリスリン標識ヤギ F(ab')₂ 抗ヒト IgG 血清においても同様の結果であった。

2) ABO 不適合肝移植患者における TT 法, SPR 法, FCM 法の相関

25 例の ABO 不適合肝移植患者について PE 前後や移植後に経時的に採取した血漿について、TT 法, SPR 法, FCM 法の 3 法で IgG 型抗 A/B 抗体の測定を行い、それぞれの相関を検討した。SPR 法と TT 法の IgG 型抗 A, 抗 B 抗体の相関係数はそれぞれ 0.2598, 0.3074 (Fig. 2-A and B) となり、FCM 法と TT 法の相関係数は 0.347, 0.228 (Fig. 2-C and D) と低い結果となった。対照的に FCM 法と SPR 法の相関係数はそれぞれ 0.8479 と 0.9601 (Fig. 2-E and F) となり非常に高い相関が得られた。

3) 3 法による経時的な IgG 型抗 A/B 抗体の測定結果の比較

3 法による測定値の推移パターンにより 25 症例を I と II の 2 グループに分類した (Table 2)。グループ I に示す 15 例は 3 法の測定値の変動が一致しており (Table 2, Fig. 3)、PE や DFPP の治療による変化を 3 法が同様にとらえている。症例 10 と症例 12 の 2 例を除いた 13 例で TT 法による測定値が IgM 型抗体価よりも IgG 型抗体価が高い症例であった。しかし、残り 10 例 (症例 16~25) は 3 法の測定値の推移が一致しないグループ II となり、推移のパターンにより IIa, IIb, IIc (Table 2, Fig. 4) の 3 つのサブグループに分類した。IIa は SPR 法と FCM 法が一致し TT 法測定値が非常に高い (TT > SPR = FCM) 症例 16~22 の 7 例である (Fig. 4A~D)。そして 7 例中 5 例が TT 法で IgM 型抗体価が IgG 型抗体価よりも高い症例であった。IIb は TT 法と FCM 法が一致し、SPR 法測定値が低い (SPR < TT = FCM) 症例 23, 24 の 2 例であった (Fig. 4E)。IIc は TT 法と SPR 法が一致し FCM 法測定値が非常に低い (TT = SPR > FCM) 症例 25 の 1 例であった (Fig.

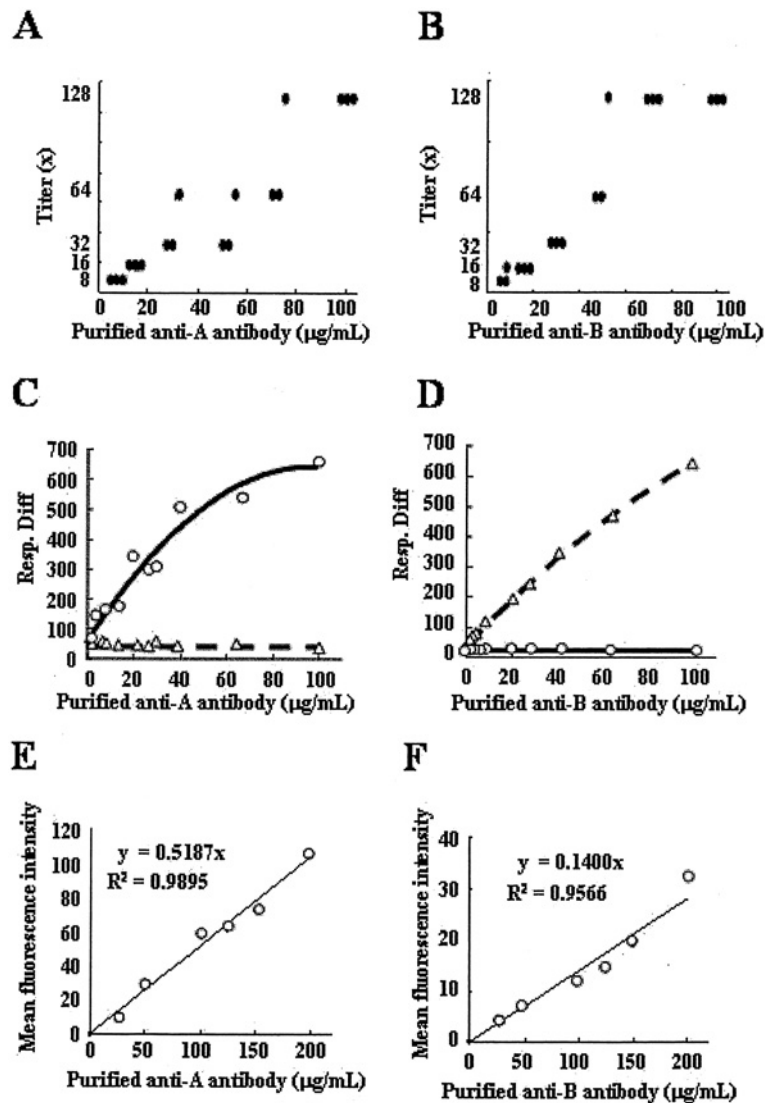


Fig. 1 SPR and FCM standard curves generated with purified anti-A/B IgG. The purified anti-A IgG (A, C, E) and anti-B IgG (B, D, F) were diluted to various concentrations and measured by TT (A, B), SPR (C, D) or FCM (E, F). The solid and dotted lines in (C) and (D) indicate data obtained using the A-Ag- and B-Ag-immobilized sensor chips, respectively.

4F).

グループ I の 3 法が一致した群では、測定値が高い症例において肝臓機能検査異常や病理組織像での液性拒絶像が認められ、15 例中 6 例が移植後 6 カ月以内に死亡していた。死亡 6 例の内 4 例は肝臓機能障害と肝生検において急性拒絶反応と診断され、残り 2 例は伝染性胆管炎が疑われた。一方、グループ II では術後 TT 法で高値となった症例 16 (Fig. 4A) と症例 18 (Fig. 4B) では肝臓機能検査で異常が認められず PE は実施されなかった。症例 21 (Fig. 4C) と症例 23 (Fig. 4E) においては、TT 法で IgG 型抗体が高値となっても液性拒絶反応を起こすことなく 1 年以上の生存が確認されている。

考 察

ABO 適合肝移植例に比べ、ABO 不適合症例の移植成績は悪く、移植 1 年後および 2 年の移植片生存率は ABO 不適合肝移植症例では 66 および 30% と報告されている (ABO 適合移植では 76%)。さらに、5 年生存率は 20% を下回る^{6)~8)}。抗 A/B 抗体は移植臓器の急性拒絶を引き起こすため、ABO 不適合肝移植患者の血漿から抗 A/B 抗体を除去することが重要とされている^{9)~11)}。

抗 A/B 抗体は、一般的には試験管での赤血球凝集法で測定されており、赤血球の凝集を起こす抗体は主に 5 量体の IgM 型抗体である¹²⁾。そして、IgG 型抗体の測定は 2ME または DTT で IgM 型抗体の不活化を行う。この不活化には 1~2 時間を要し、完全に IgM 型抗体が

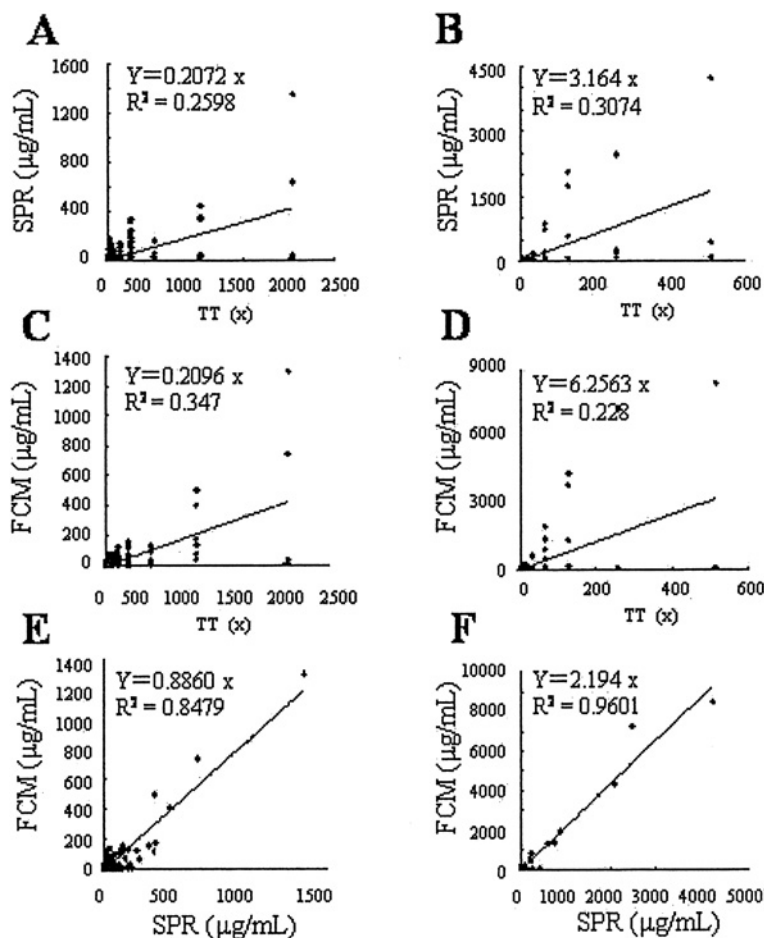


Fig. 2 Correlations between the TT, FCM and SPR measurement of the anti-A/B IgG levels in the LDLT patient samples
 The ant-A (A, C, E) and ant-B (B, D, F) IgG levels in 128 and 68 LDLT patient plasma samples, respectively, were measured by the SPR, TT and FCM methods. The correlations between the SPR and TT values (A, B), the FCM and TT values (C, D), and the SPR and FCM values (E, F) are shown.

Table 2 Classification of the LDLT patients on the basis of how well the three methods detect parallel changes in anti-A/B IgG levels

	Relative proportions of anti-A/B IgMs and IgGs as measured by the TT method		Total	Death within 12 months
	IgM < IgG	IgM > IgG		
I TT = SPR = FCM	13	2	15	6
IIa TT > SPR = FCM	2	5	7	0
IIb TT > SPR < FCM	1	1	2	1
IIc TT = SPR > FCM	0	1	1	0

TT, test tube; SPR, surface plasmon resonance; FCM, flow cytometry.
 In the results, IIb is expressed as SPR < TT = FCM.

処理されているか確認することは困難である。これらのことから、我々はIgG型抗A/B抗体を測定するためにSPR原理に基づく新しい方法を開発した。既報では、センサーチップの上に固定化した抗原と結合するIgG抗体の量をRes. Diff.と呼ばれている単位で示した³⁾。本

単位はSPR技術に特有なものであり、SPR法測定値を濃度表示(μg/ml)すべきと考えた。そこで、健康なボランティアからIgG型抗A、抗B抗体を精製して検量線を作成した。

FCM法では抗A、抗B抗体ともに200μg/mlまでは

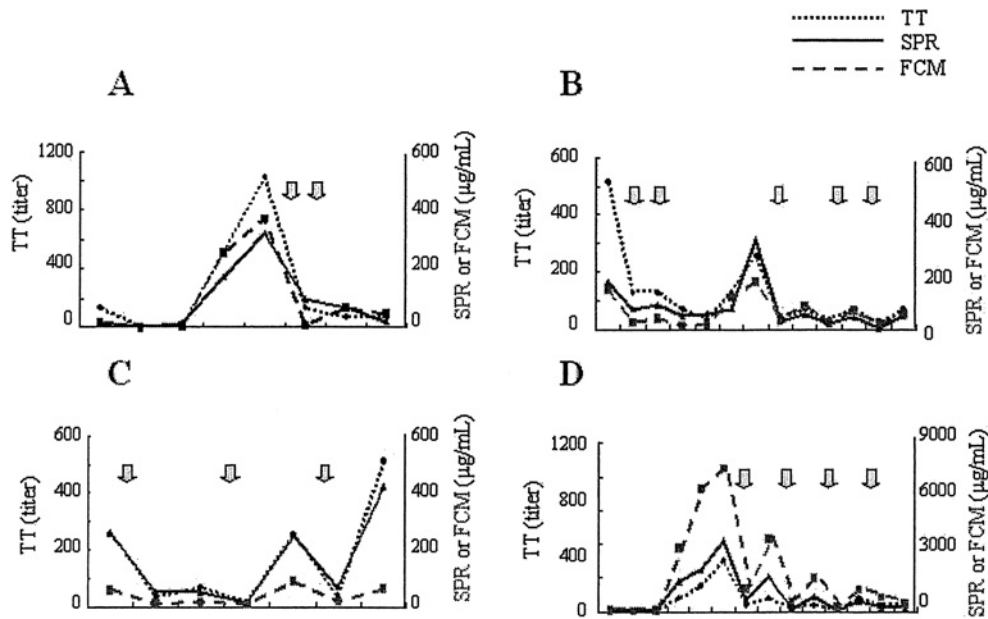


Fig. 3 Representative LDLT cases showing parallel trends determined by the TT, FCM and SPR methods

The plasma exchange-induced or double filtration plasmapheresis-induced changes in the anti-A/B IgG levels in cases 1 (A), 6 (B), 11 (C) and 12 (D), as measured by TT (dotted line), SPR (solid line), and FCM (dashed line) methods, are shown. The arrows indicate the plasma exchange or double filtration plasmapheresis treatments.

直線性がえられた (Fig. 1E and F). しかし, SPR 法では (Fig. 1C and D) 高濃度域で測定値が頭打ちとなり, 高濃度の抗体により抗原が飽和されたと考えられる. FCM 法で使用する RBCs 上の抗原に比べ SPR 法においてセンサーチップ上に固定化した抗原量が少ないと考えられることから, 抗体の高い症例では血漿を希釈して測定することで対応している.

FCM 法では FITC 標識ヤギ抗ヒト IgG 抗体を 2 次抗体とした場合, IgG 型抗 A 抗体は, 抗 A 抗体よりもかなり弱い蛍光強度となった. この現象は FCM 法による測定において赤血球上の B 抗原は A 抗原よりも少ないためと推測された¹³⁾. 我々は, 45 人の健康なボランティアから得られた血漿では SPR 法と TT 法は高い相関を示したと報告したが³⁾, 肝移植患者では SPR 法および FCM 法は TT 法と相関が認められなかった. 血漿の由来によりこの相違が生じたと考えている. 実際, ABO 不適合肝移植患者では健康ボランティアに比べ, 非常に多くの IgM 型抗体高値を示す検体が存在した. 25 例の ABO 不適合肝移植患者では IgM 型抗体価が 256 以上の症例が抗 A 抗体で 14%, 抗 B 抗体で 19% を占めたのに対し, 45 名の健康人では 5.8% と 7.6% であった³⁾. TT 法による IgG 型抗体測定値が IgM 型抗体の影響を受け過大評価されている現状では, より信頼できる方法を取り入れる必要があると考える. また, TT 法の既知の欠点として, 生理食塩液法で観察される赤

血球の凝集には IgM 型抗 A/B 抗体が大きく関与しており, 生理食塩液法での力価を IgM 型抗体価としているが, IgG 型抗体が凝集に全く関与していないわけではない. 高濃度の IgG 型抗 A/B 抗体では生理食塩液法においても赤血球の凝集を起こしうる¹⁴⁾¹⁵⁾. そして, 赤血球凝集を目視判定するため, 主観的に検査者に依存するところが大きいことが上げられる. TT 法の信頼性について最近興味深い論文が出された. 本邦の 29 施設で実施された抗 A/B 抗体測定のコントロールサーベイでは最低値と最高値の差が IgM 型抗体で 32 倍, IgG 型抗体で 256 倍の差を示しており, TT 報の結果を診断治療に生かす場合注意が必要である¹⁶⁾.

ABO メジャーミスマッチ肝臓移植患者について 3 法が平行して推移したものが 25 例 (Table 1) 中 15 例あり, PE や DFPP による IgG 型抗 A/B 抗体量の変化が一致していた (Fig. 3). 残りの 10 症例では, 1 法がその他の 2 法と一致しなかった. 10 症例中 7 例 (全症例の 28%) は FCM 法と SPR 法が一致し TT 法が他の 2 法より非常に高い値となり, うち 5 症例は TT 法において IgG 抗体価よりも IgM 抗体価が高く, IgM 抗体が IgG 抗体測定の妨げになっていると考えられる. 高力価の IgM 抗体の影響は長い間, TT 法を実施してきた技師間で漠然と認識されていた現象であるが, 適切な標準物質がないため完全に調査されてこなかった. 我々の前の研究では, 未処理の血漿と ABO-INDEX

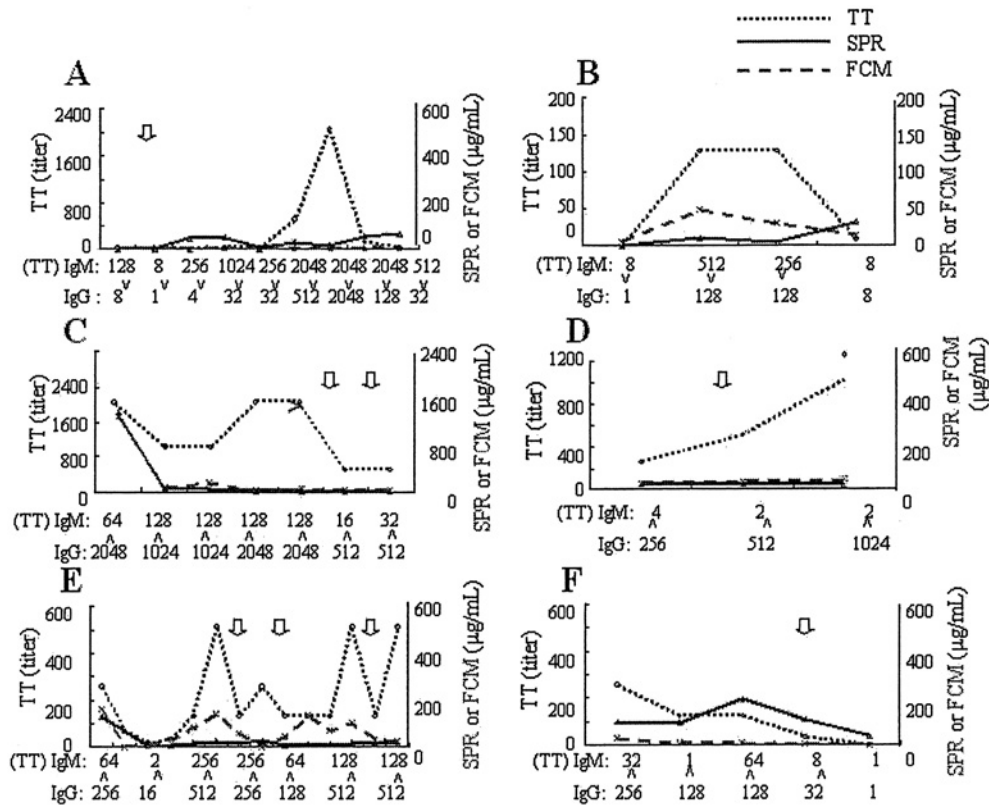


Fig. 4 Representative LDLT cases in which the trends measured by the TT, FCM and SPR methods do not correlate well with each other. The PE- or DFPP-induced changes in the anti-A/B IgG levels in cases 16 (A), 18 (B), 21 (C), 22 (D), 23 (E) and 25 (F), as measured by TT (dotted line), SPR (solid line), and FCM (dashed line) methods, are shown. The arrows indicate the plasma exchange or double filtration plasmapheresis treatments.

(Inverclyde Biologicals, Scotland, UK) を用いて IgM 抗体を除去した同一血漿で SPR 法による IgG 型抗 A/B 抗体測定の結果, SPR 法は IgM 抗体の影響を受けないことを示した³⁾. このように, IgM 抗体価の高い血漿において, SPR 法は真の IgG 抗体濃度の測定が可能であり, グループ IIa の IgM 抗体価が IgG 抗体価より高い 9 症例中 7 症例で, TT 法測定値よりも SPR 法測定値が, FCM 法と相関したことに一致する (Fig. 4).

グループ I の 15 例中 6 例が 12 カ月以内に死亡している. 一方, グループ IIa (TT > SPR = FCM) では 1 年以上生存しており, グループ I の急性拒絶症例と同程度に TT 法による測定値が高値であった症例においても拒絶は認められなかった.

結 語

SPR 法による IgG 型抗 A/B 抗体測定方法は, 迅速・簡便に定量的な測定が可能であり, 今後 TT 法に代わりうる可能性が示唆された.

(本論文の要旨は平成 19 年 6 月 2 日, 第 55 回日本輸血細胞治療学会総会 (名古屋) で発表した).

文 献

- 1) Kozaki K, Kasahara M, Oike F, et al: Apheresis therapy for living-donor liver transplantation: experience for apheresis use for living-donor liver transplantation at Kyoto University. *Ther Apher*, 6: 478—483, 2002.
- 2) Kobayashi T, Yokoyama I, Morozumi K, et al: Comparative study of the efficacy of removal of anti-ABO and anti-gal antibodies by double filtration plasmapheresis. *Xenotransplantation*, 7: 101—108, 2000.
- 3) Kimura S, Yurugi K, Segawa H, et al: Rapid Quantitation of IgG Antibodies Specific for Blood Group Antigens A and B by Surface Plasmon Resonance. *Transfusion*, 45: 56—62, 2005.
- 4) Vengelen-Tyler V: AABB TECHNICAL MANUAL 13th Edition, Bethesda, 2002, 697—700.
- 5) Sharon R, Fibach E: Quantitative flow cytometric analysis of ABO red cell antigens. *Cytometry*, 12: 545—549, 1991.
- 6) Gordon RD, Fung JJ, et al: The antibody crossmatch in liver transplantation. *Surgery*, 100: 705—715, 1986.
- 7) Gugenheim J, Samuel D, Reynes M, et al: Liver trans-

- plantation across ABO blood group barriers. *Lancet*, 336: 519—523, 1990.
- 8) Farges O, Kalil AN, et al: The use of ABO-incompatible grafts in liver transplantation: a life-saving procedure in highly selected patients. *Transplantation*, 59: 1124—1133, 1995.
 - 9) Hanto DW, Snover DC, Noreen HJ, et al: Hyperacute rejection of a human orthotopic liver allograft in a presensitized recipient. *Clinical Transplantation*, 1: 304—310, 1987.
 - 10) Paul LC, Baldwin WM III: Humoral rejection mechanisms and ABO incompatibility in renal transplantation. *Transplantation proceedings*, 19: 4463—4467, 1987.
 - 11) Cooper DCK: Clinical survey of heart transplantation between ABO blood group-incompatible recipients and donors. *Journal of Heart Transplantation*, 9: 376—381, 1990.
 - 12) Fossati-Jimack L, Ioan-Facssinay A, Reininger L, et al: High pathogenic potential of low-affinity autoantibodies in experimental autoimmune hemolytic anemia. *Journal of Experimental Medicine*, 190: 1689—1696, 1999.
 - 13) Shinozuka T, Takei S, Yanagida J, et al: Number and distribution density of ABH and MN antigen sites on young and old human erythrocyte surfaces. *Life Science*, 43: 683—689, 1988.
 - 14) Van Oss CJ, Mohnm JF, Cunningham RK: Influence of various physicochemical factors on hemmagglutination. *Vox sanguinis*, 34: 351—361, 1978.
 - 15) Contreras M, Armitage SE, Hewitt PE: Response to immunization with A and B human glycoproteins for the procurement of blood grouping reagents. *Vox sanguinis*, 47: 224—235, 1984.
 - 16) Kobayashi T, Saito K: A series of surveys on assay for anti-A/B antibody by Japanese ABO incompatible Transplantation Committee. *Xenotransplantation*, 13: 136—140, 2006.

RAPID AND ACCURATE MEASUREMENT OF ANTI-A/B IgG ANTIBODY IN ABO-UNMATCHED LIVING DONOR LIVER TRANSPLANTATION BY SURFACE PLASMON RESONANCE

*Kimiko Yurugi*¹⁾, *Shinya Kimura*¹⁾, *Eishi Ashihara*¹⁾, *Hiroaki Tsuji*¹⁾, *Eri Kawata*¹⁾, *Yuri Kamituji*¹⁾, *Ryoko Takegawa*¹⁾, *Rie Hishida*¹⁾, *Hiroto Egawa*²⁾ and *Taira Maekawa*¹⁾³⁾

¹⁾Department of Transfusion Medicine and Cell Therapy, Kyoto University Hospital

²⁾Department of Hepatobiliary, Pancreas and Transplant Surgery, Kyoto University Hospital

³⁾Center for Cell and Molecular Therapy, Kyoto University Hospital

Keywords:

anti-A/B IgG antibodies, ABO-unmatched Living-donor liver transplantation, surface plasmon resonance