

肥満細胞/好塩基球の関与が疑われる非溶血性輸血副作用症例における 好塩基球抗体検出法の検討

松山 宣樹 平山 文也 保井 一太 谷上 純子 古田 里佳
福森 泰雄 木村 貴文 谷 慶彦 柴田 弘俊

非溶血性輸血副作用の中では蕁麻疹が最も多い。その発生機序は輸血製剤由来のアレルゲンと患者由来 IgE 抗体による、I 型アレルギーと想像されているが、未だ不明な点も存在している。一方、肥満細胞/好塩基球が関与するアレルギー反応にはこれ以外に、造影剤アレルギーに代表される様に、刺激因子が直接、同細胞を活性化し症状を惹起する経路も存在する事から、同症例においても、輸血製剤中に含まれる HLA 抗体や好塩基球抗体等の刺激因子が、同細胞を直接刺激し、脱顆粒に至る可能性がある。そこで、本研究ではこの可能性を検証する為に、まず、好塩基球抗体を検出する検査法の樹立を検討した。方法として、既に報告している 5-cell lineage IFT を一部変更し、従来法で各血液細胞マーカーとして用いていた CD4, CD20, CD14 抗体に加え、新たに CD123 抗体を加えた。これにより、好塩基球を含む 6 系統血液細胞に対する抗体の検出が可能となった。次に、本法を用いて、アレルギー性輸血副作用 23 症例を対象に白血球抗体の検索を行った結果、患者 23 例中 14 例、製剤 19 例中 6 例において抗体が検出され、その内、7 例は好塩基球に反応する抗体であった。これにより、好塩基球に反応する抗体の存在も明らかとなった。

キーワード：好塩基球、好塩基球抗体、非溶血性輸血副作用、アレルギー反応

第 55 回日本輸血・細胞治療学会総会推薦論文

はじめに

非溶血性輸血副作用の症状は蕁麻疹やアナフィラキシー、発熱、輸血関連急性肺障害 (TRALI) 等、多岐にわたる。その中で最も多く見られる症状が蕁麻疹である¹⁾²⁾。蕁麻疹やアナフィラキシーの場合、副作用発症後に肥満細胞の脱顆粒マーカーであるトリプターゼの上昇を認める症例³⁾がある事から、肥満細胞/好塩基球の関与が強く示唆されるが、肥満細胞/好塩基球の活性化機序には不明な点が多い。可能性としては、典型的な I 型アレルギーが惹起されたか、あるいは、あまり一般的ではないが、何らかの刺激因子により直接、肥満細胞/好塩基球が活性化したかの 2 つの原因が考えられる。前者の例としては、ラテックス IgE 抗体を保有するラテックスアレルギー患者にラテックスを含む輸液セットを使用したところ、アナフィラキシーを起こした例⁴⁾やハプトグロビン IgE 抗体を保有するハプトグロビン欠損患者において、輸血直後にアナフィラキシーが発生した例⁵⁾等が挙げられる。一方、直接刺激の事例は未だ非溶血性輸血副作用では証明されていないが、

HLA 抗体を含む白血球抗体による好中球の直接の活性化が TRALI 発症機序の一因となっている事を考えると、同様な抗体の直接刺激により、肥満細胞/好塩基球が直接活性化し、アレルギー症状を呈する可能性が十分に考えられる。従って、好塩基球に反応する抗体の存在について調べる事は蕁麻疹、アナフィラキシー副作用症例の原因を解析する上で重要である。

これら白血球抗体検査法として、HLA 抗体検査法には高感度な方法である Flow PRA^{®6)}等が存在する。また、顆粒球抗体検査法として広く用いられている方法は、好中球を解析対象とした GIFT 法⁷⁾であるが、GIFT 法には好中球のバックグラウンドが高いという欠点が存在している。その為、我々は同細胞のバックグラウンドを低く抑え、かつ、同細胞以外に単球、T リンパ球、B リンパ球、血小板を同時に解析する白血球抗体検査法 (5-cell lineage IFT) を樹立し、報告した⁸⁾。今回、我々は肥満細胞/好塩基球の関与が疑われる非溶血性輸血副作用症例の原因究明を目的とした好塩基球抗体検査法を樹立する為に、5-cell lineage IFT に変更を加え、

好塩基球も同時に解析する事が可能な白血球抗体検査法(6-cell lineage IFT)を樹立し、同方法を用いて肥満細胞/好塩基球の関与が疑われる非溶血性輸血副作用症例の中に好塩基球に反応する抗体が存在するか否かについて、検討を行なったので報告する。

材料および方法

1. 材料

本法に用いたパネル細胞として、大阪府赤十字血液センター職員あるいは献血者由来血液型検査用血液を使用した。また、一部の実験では、サンプルとして非溶血性輸血副作用が発生した患者由来血清(血漿)およびその対象製剤由来の血清(血漿)を用いた。

2. 染色方法

我々が報告した5-cell lineage IFT[®]に若干の変更を加え、以下の通り染色を行なった。主な変更点は好塩基球を識別する為のマーカーとして、ヒトCD123モノクロナール抗体(MoAb)を新たに加えた点と96穴プレートを使用する点である。パネル細胞としてEDTA採血した全血2mlから3mlに対して、6%ヒドキシエチルデンプン加0.9%食塩液(ニプロ社)400から600 μ l(全血5容に対して1容)で懸濁し、41 \times g 5分間の遠心分離処理により、大部分の赤血球を沈層分画として除去し、上清に含まれる白血球、血小板を回収した。この細胞浮遊液を1,048 \times g 5分間の遠心分離処理により上清を除去した後、再度、200から300 μ l(全血血液の1/10量)のパネル細胞由来自己血漿にて懸濁し、これを白血球・血小板浮遊液とした。この白血球・血小板浮遊液を96穴丸底プレート(コーニング社)に10 μ l分注し、被検血清(血漿)を20 μ l加え4 $^{\circ}$ C、15分間反応させ、洗浄用bufferとして10mMEDTA、0.5%BSA加PBS(以下、洗浄bufferとし、1回の洗浄に250 μ l用いた)にて2回洗浄後、2次抗体として、洗浄bufferにて希釈したFITC標識ヤギ-抗ヒトIgG(ジャクソン社)もしくはFITC標識ロバ-抗ヒトIgM MoAb(ジャクソン社)10 μ lで4 $^{\circ}$ C、15分間染色した。洗浄bufferにて1回洗浄後、BD FACST[™] Lysing Solution(ベクトンディッキンソン社)250 μ lで残存赤血球を溶血させ、洗浄bufferにて1回洗浄後、再度、200 μ lの洗浄bufferに浮遊した後、血小板測定用に20 μ lを分取し、残りの180 μ lを白血球抗体測定用とし、その後、2次抗体の残余結合部位をブロックする為、洗浄bufferにて10倍希釈したマウス血清(免疫生物研究所)10 μ lを加え、4 $^{\circ}$ C、10分間反応させ、白血球抗体測定用には、PE標識ヒトCD4、PE標識ヒトCD20、PerCP標識ヒトCD14、PE-Cy5標識ヒトCD123 MoAb(ベクトンディッキンソン社)を混合した染色液(各MoAbはそれぞれ30倍、80倍、15倍、30倍の倍率で洗浄bufferにて希

釈した)10 μ lで4 $^{\circ}$ C、15分間染色し、また、血小板測定用は洗浄bufferにて100倍希釈したPerCP-Cy5.5標識CD41a MoAb(ベクトンディッキンソン社)10 μ lで4 $^{\circ}$ C、15分間染色した。両者共に、洗浄bufferにて1回洗浄後、再度、200 μ lの洗浄bufferに浮遊し、FACSCalibur(ベクトンディッキンソン社)を用いて測定を行った。なお、全血試料に用いたパネル細胞の血漿(自己血漿)を陰性対象とした。また、一部の実験において、被検血清としてFITC標識MoAb、またはPE標識MoAbを用いたが、その場合には2次抗体およびその後の洗浄は省略し、陰性対象として、アイソタイプコントロールを用いた。また、後者の場合にはヒトCD4、ヒトCD20 MoAbはFITC標識を用いた。

3. 好中球, 単球, Tリンパ球, Bリンパ球, 血小板, 好塩基球の識別

FSC/SSC(Lin)分布にて、好中球分画をR1、単球分画をR2、リンパ球分画をR3とし、好中球はR1内かつFL2/FL3両領域陰性分画(R4)、単球はR2内かつFL2/FL3両領域陽性分画(R5)、Bリンパ球はR3内かつFL2領域弱陽性/FL3領域陰性分画(R6)、Tリンパ球はR3内かつFL2領域強陽性/FL3領域陰性分画(R7)、好塩基球はR3内かつFL2領域陰性/FL3領域陽性分画(R8)、血小板はFSC/SSC(Log)分布にて、血小板分画をR9とし、R9内かつFL3領域陽性分画(R10)をそれぞれの細胞集団とした(Fig.1, Table 1)。なお、Tリンパ球とBリンパ球を識別する為、PE標識ヒトCD4、PE標識ヒトCD20 MoAbを用いているが、これは予め検討を行い、FL2(PE)領域が3分画(CD4陽性分画、CD20陽性分画、CD4、CD20陰性分画)になるように、各抗体濃度を調整して用いた(データ未提示)。また、一部の実験において、FITC標識ヒトCD4、ヒトCD20 MoAbを使用した場合には、FL2をFL1に変更し、各血液細胞を識別した。

4. 各種モノクロナール抗体の反応

好塩基球を含む6系統の血液細胞の識別は、ヒトHLA DR、ヒトCD203c、ヒトCD11b、ヒトCD16b、ヒトCD36(ベックマンコールター社)、ヒトCD11a、ヒトCD15、ヒトCD86、ヒトCD19、ヒトHLA-A、B、C(ベクトンディッキンソン社)、ヒトHNA-2a MoAb(TAG-4、広島医学技術専門学校 谷口 菊代博士より分与)、TRALI症例の製剤から検出されたHNA-3a抗体を含む抗血清(日本赤十字社 中央血液研究所より分与)を用いて、染色を行った。

5. 肥満細胞/好塩基球の関与が疑われる非溶血性輸血副作用症例の解析

大阪府赤十字血液センターに調査依頼があった蕁麻疹、アレルギー反応、アナフィラキシー(反応、ショック)等のI型アレルギーまたは肥満細胞/好塩基球の関

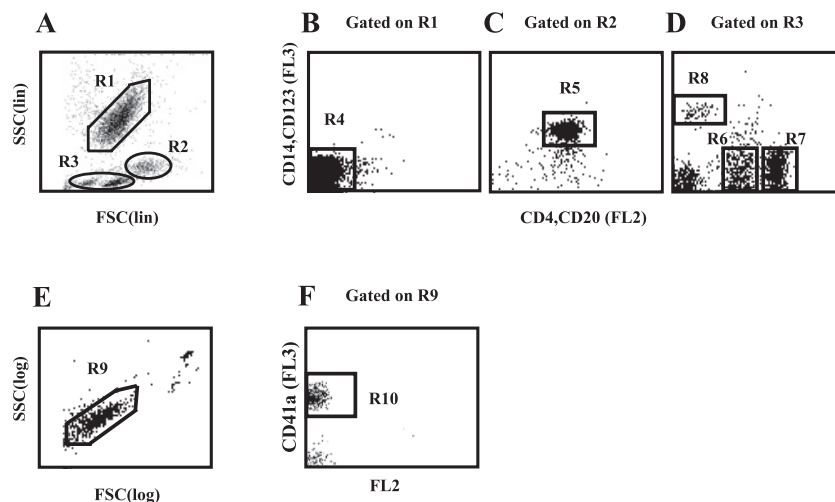


Fig. 1 Gates utilized to determine six lineage cells. Cells in the regions R1 and R4 were regarded as neutrophils, whereas those in R2 and R5 were regarded as monocytes, those in R3 and R6 as CD20⁺ B cells, those in R3 and R7 as CD4⁺ T cells, those in R3 and R8 as basophils, and those in R9 and R10 as platelets, as summarized in Table 1.

Table 1 Blood cell subsets defining dot-plot regions and reactivity of MoAbs.

Cell	Dot-plot region	Reactivity of MoAbs			
		CD4	CD20	CD14	CD123
Neutrophils	R4	-	-	-	-
Monocytes	R5	+	-	+	+/-
CD20 ⁺ B-cells	R6	-	+	-	-
CD4 ⁺ T-cells	R7	+	-	-	-
Basophils	R8	-	-	-	+
Platelets	R10				

Table 2 Non-hemolytic transfusion reaction cases.

	Case	Patient	Product
urticaria	7	7	6
allergic reaction	5	5	3
anaphylactic reaction	4	4	4
urticaria & dyspnea	2	2	2
others	5	5	4
Total	23	23	19

与を疑う非溶血性輸血副作用 23 症例（患者 23 例，製剤 19 例）を対象に，本法による白血球抗体検査と LABScreen（ワンラムダ社）による HLA 抗体検査を実施した．各症状の内訳を Table 2 に示した．

結 果

1. 6-cell lineage IFT における，各種モノクローナル抗体の反応性

6-cell lineage IFT により，好中球，単球，T リンパ球，B リンパ球，血小板，好塩基球の 6 系統の血液細胞を正確に識別する事が可能であるかを調べる為に，6 種類の MoAb を用いて検討を行った．そのプロファイルを図 2 に示した．好塩基球は CD123 陽性，HLA DR 陰性⁹⁾と報告されているが，ヒト HLA DR MoAb は単球と B リンパ球にのみ反応し，好塩基球を含むその他の血液細胞には反応しなかった (Fig. 2-1)．また，CD203c は好塩基球，肥満細胞，およびそれらの CD34 陽性前駆細胞での発現が報告されているが¹⁰⁾，本法では CD203c MoAb は好塩基球にのみ反応性を示した (Fig. 2-2)．ま

た，好中球マーカーである CD15 陽性細胞は好塩基球群には認められず (Fig. 2-3)，同様に，単球マーカーである CD86 陽性細胞 (Fig. 2-4)，B リンパ球マーカーである CD19 陽性細胞 (Fig. 2-5)，単球，血小板マーカーである CD36 陽性細胞 (Fig. 2-6) は好塩基球群には認められなかった．以上により，好塩基球群はフローサイトメトリーにて，正確に識別する事が可能であると考えた．

2. HLA class I 抗体および HNA 抗体による各血液細胞の反応性

HLA class I や顆粒球 (HNA) 抗原に対する抗体が 6 系統の血液細胞にどの様に反応するかを調べる為に，ヒト HLA-A, B, C, ヒト CD16b, ヒト HNA-2a, ヒト CD11b, ヒト CD11a MoAb と HNA-3a 抗血清を用いて，染色を行った．そのプロファイルを図 3 に示した．ヒト HLA-A, B, C は 6 系統細胞全てに (Fig. 3-1)，ヒト CD16b, ヒト HNA-2a MoAb は共に好中球にのみ (Fig. 3-2 and 3)，HNA-3a 抗血清はヒト HLA-A, B, C MoAb と同様に 6 系統細胞全てに (Fig. 3-4)，ヒト CD11b

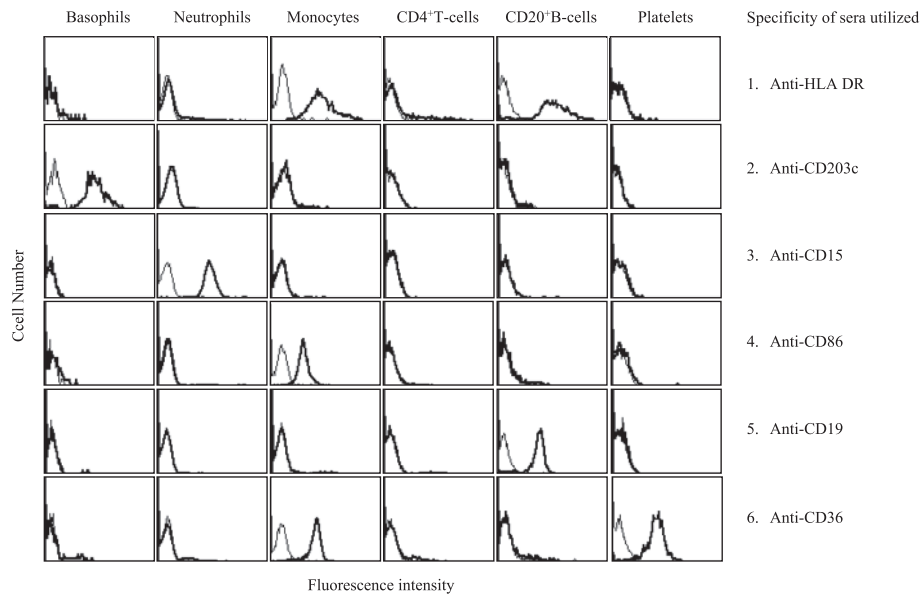


Fig. 2 Cell surface maker profile of six fractions of blood cells. Thin lines and bold lines represent isotype negative-control and test MoAbs, respectively.

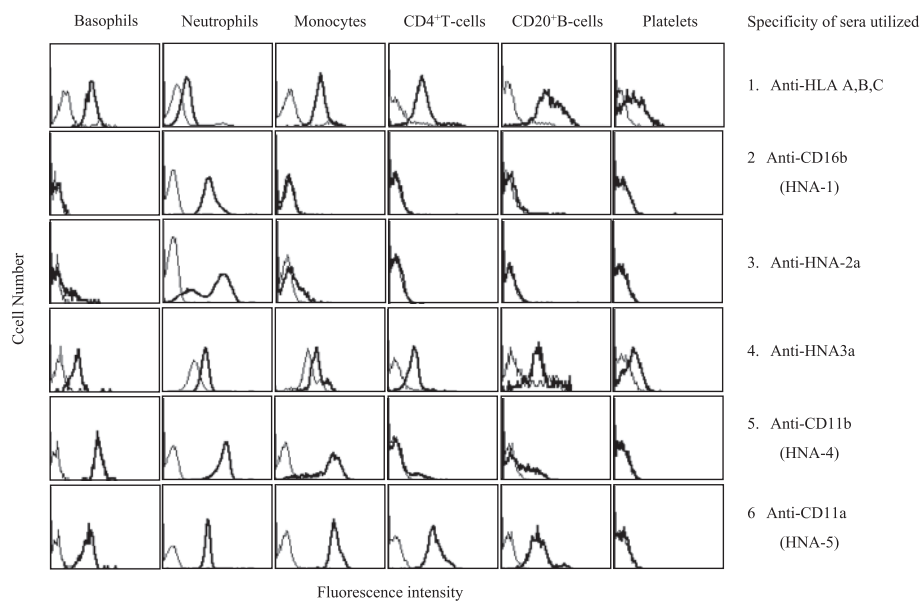


Fig. 3 Representative examples of simultaneous whole-blood six cell lineage staining analysis. Thin lines and bold lines represent isotype negative-control or autologous negative-control and test MoAbs or test serum, respectively.

MoAb は好塩基球, 好中球, 単球に (Fig. 3-5), ヒト CD11a MoAb は好塩基球, 好中球, 単球, T リンパ球, B リンパ球に (Fig. 3-6), それぞれ反応が観察された. この様に, HNA-1-5 抗原系は各血液細胞系統で発現パターンが異なるが, 本法ではこれらの異なる反応パターンを観察する事が可能であった.

3. 肥満細胞/好塩基球の関与が疑われる非溶血性輸血副作用症例の解析

LABScreen と本法を用いて I 型アレルギーや肥満細胞/好塩基球の関与が疑われる非溶血性輸血副作用 23 症例 (患者 23 例, 製剤 19 例) を対象に, HLA 抗体および HLA 以外の白血球抗体について解析を行った. その結果, 患者 9 例, 製剤 12 例については抗体が検出されず, また, HLA class I および HLA class II 抗体が単独で検出された例も認められなかった. そして, 抗体が検出された例は HLA class I+II 抗体が検出された製剤 1 例, HLA class I および白血球抗体が検出された患者 1 例, HLA class I+II および白血球抗体が検出され

胞/好塩基球の関与が疑われる非溶血性輸血副作用 23 症例 (患者 23 例, 製剤 19 例) を対象に, HLA 抗体および HLA 以外の白血球抗体について解析を行った. その結果, 患者 9 例, 製剤 12 例については抗体が検出されず, また, HLA class I および HLA class II 抗体が単独で検出された例も認められなかった. そして, 抗体が検出された例は HLA class I+II 抗体が検出された製剤 1 例, HLA class I および白血球抗体が検出された患者 1 例, HLA class I+II および白血球抗体が検出され

た患者 1 例, 白血球抗体のみ検出された患者 12 例, 製剤 6 例であった (Table 3). なお, HLA 抗体と白血球抗体が共に検出された患者 2 例は, いずれも本法による各血液細胞の反応は好中球に限られており (Table 4, *参照), Fig. 2, 3 に示した様に, HLA class I および HLA class II 抗体の反応とは異なっている. その為, この 2 例には HLA 抗体と白血球抗体が混在していると判断した. そして, 本法により, 検出された 20 例の HLA 抗体以外の白血球抗体の内, 7 例は好塩基球と反応し, その内, 2 例は製剤から検出された. また, この 7 例か

ら HLA 抗体は検出されておらず, これらが単一の抗体であると仮定すれば, 好塩基球特異抗体ではないが, 少なくとも好塩基球に反応する抗体であり, また, それは患者のみならず, 献血者 (健常人) からも検出された. そして, 好塩基球に反応を示した白血球抗体の代表的なプロファイルを図 4 に示した. 1 例目は蕁麻疹症例の製剤に含まれる, 好塩基球, 好中球, B リンパ球と T リンパ球には弱く反応する IgM 抗体であった (Fig. 4-1). 2 例目も 1 例目と同様に, 蕁麻疹症例の製剤に含まれる, 好塩基球, 好中球に反応する IgM 抗体であった (Fig. 4-2). 3 例目はアナフィラキシー症例の患者に含まれる, 好塩基球, 好中球, 単球, B リンパ球, 血小板に反応する IgG 抗体であった (Fig. 4-3). なお, 2 次抗体に抗ヒト IgM MoAb を使用した場合には, B リンパ球はその細胞表面に IgM を発現しているため, 同細胞のバックグラウンドは高くなる (Fig. 4-1 and 2).

Table 3 HLA and leukocyte Abs in non-hemolytic transfusion reaction cases.

Antibody	Patient	Product
None	9	12
HLA class I	0	0
HLA class II	0	0
HLA class I + II	0	1
HLA class I + Leukocyte	1	0
HLA class II + Leukocyte	0	0
HLA class I + II + Leukocyte	1	0
Leukocyte	12	6
Total	23	19

考 察

今回, 我々は肥満細胞/好塩基球の関与が疑われる非溶血性輸血副作用症例の原因究明を目的とし, 好中球, 単球, T リンパ球, B リンパ球, 血小板に加えて, さらに好塩基球を解析対象にした白血球抗体検査法 (6-cell lineage IFT) の樹立に成功し, また, 同方法を用いて,

Table 4 Reactivity of leukocyte Abs to six lineages of blood cells.

Basophils	Neutrophils	Monocytes	CD4 ⁺ T-cells	CD20 ⁺ B-cells	Platelets	Patient	Product
+	+	+	-	+	+	2	0
+	+	+	-	+	-	3	0
+	+	-	+	+	-	0	1
+	+	-	-	-	-	0	1
-	+	+	-	-	-	1	0
-	+	-	-	-	-	6*	4
-	-	-	-	+	-	2	0
Total						14 (61%)	6 (32%)

*: Two of the six samples contained HLA antibodies in addition to neutrophil antibodies.

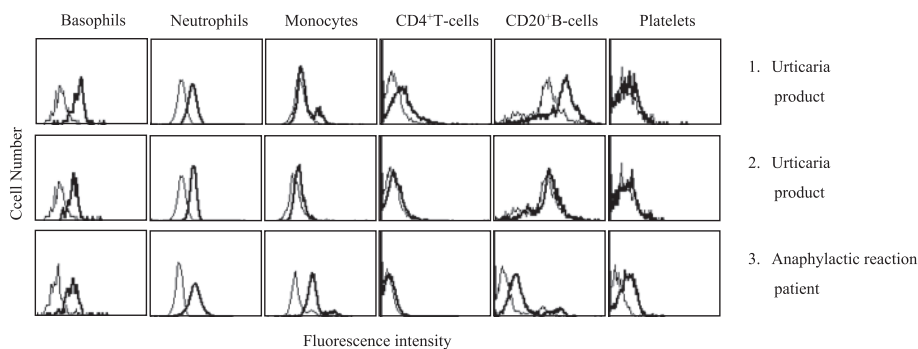


Fig. 4 Representative examples of simultaneous whole-blood six cell lineage staining analysis. The test serum samples were derived from a product of an urticaria case (1st, 2nd panel), a patient with anaphylactic reaction.

好塩基球に反応する抗体の存在も明らかにした。これにより、好塩基球に反応する白血球抗体が含まれる製剤が輸血された場合、同抗体が結合した患者好塩基球が活性化・脱顆粒に至る機序を解析する事が可能となった。現在、我々は予備実験として、HLA class I MoAb や HLA class I 抗体を含む抗血清が好塩基球を活性化させるか否かについて検討を行っており、その結果では同抗体が好塩基球を活性化させる事を確認している(データ未提示)。これにより、HLA class I 抗体や好塩基球に反応する白血球抗体は、肥満細胞/好塩基球の関与が疑われる非溶血性輸血副作用の原因となりうる事が示唆された。

一方、TRALI 症例においては、HLA 抗体や顆粒球抗体の関与が知られているが^{11)~16)}、後者を検出する方法として好中球を解析対象にした GIFT 法があるが、我々は同症例の解析においては、好中球のみを対象とするよりも、単球やリンパ球等もその対象に加える方が、有利であると考えている。その理由として、同症例と単球抗体の関わり¹⁷⁾の報告がある事¹⁷⁾や Fig 3 に示す様に、HNA 抗原系は好中球以外に好塩基球、単球、T/B リンパ球、血小板にも発現している。そして、これらに対する抗体の特異性を決定する際には、GIFT 法は検査に用いたタイプ既知パネルの反応にのみ依存しているが、本法はこれに加えて、6 系統の血液細胞の反応(発現)パターンでも判定する事が可能である。これは抗体特異性を決定する上で有利となる。また、HLA 抗体と HLA 以外の白血球抗体が混在する場合でも、予め LABScreen 等の HLA 抗体検査法で HLA 抗体の有無や特異性の情報を入手する事で、本法を実施する際に、HLA 抗体が影響しないパネル細胞を選択する事が可能であり、また、被検血清に含まれる HLA 抗体が広範囲の特異性を持ち、HLA 抗体が影響しないパネル細胞を選択する事が困難な場合であっても、6 系統の血液細胞の反応パターンや蛍光強度(抗原の発現量)の違いにより、HLA 抗体の影響をある程度は類推する事が可能である。実際に我々は、HLA class I + class II + HNA-1a や HLA class I + class II + HNA-1b、HLA class I + class II + HNA (特異性不明)などの例について、混在している各々の抗体の反応性を本法や 5-cell lineage IFT で確認する事に成功している(データ未提示)。従って、我々は肥満細胞/好塩基球の関与が疑われる非溶血性輸血副作用のみならず呼吸困難を伴う TRALI 症例を解析する抗体検査法としても、本法は有用であると考えている。

今後の課題として、本法を用いて、より多くの肥満細胞/好塩基球の関与が疑われる非溶血性輸血副作用症例を解析し、それにより検出された白血球抗体が好塩基球を活性化させるか否かについての検討がある。また、TRALI 症例については、好中球や単球を活性化さ

せるか否かについて検討する事と国内における非溶血性輸血副作用の原因製剤としては血小板製剤が最も多いが¹²⁾、これに蓄積されうる RANTES や CD40Ligand 等の生理活性物質¹⁸⁾¹⁹⁾が直接的、または、間接的に関与しているかについて検討する事である。

文 献

- 1) 倉田義之, 清水 勝, 岡崎 仁, 他: 免疫学的機序による非溶血性輸血副作用頻度実態調査報告. 日本輸血細胞治療学会誌, 53: 43—46, 2007.
- 2) 藤井康彦, 浅井隆善, 松井良樹, 他: 非溶血性輸血副作用の臨床経過. 日本輸血学会誌, 49: 553—558, 2003.
- 3) Nakaigawa Y, Mitsuhata H, Saitoh J, et al: An anaphylactic reaction to blood supplied from patient's mother. *Acta Anaesthesiol Scand*, 46: 1276—1278, 2002.
- 4) 高増哲也, 栗原和幸, 五藤和子, 他: 輸血ルート中のゴムによるアナフィラキシーの 2 例. *小児内科*, 29: 1191—1194, 1997.
- 5) Shimada E, Tadokoro K, Watanabe Y, et al: Anaphylactic transfusion reactions in haptoglobin-deficient patients with IgE and IgG haptoglobin antibodies. *Transfusion*, 42: 766—773, 2002.
- 6) 斉藤 敏, 太田正穂, 勝山善彦, 他: 抗 HLA クラス I 抗体の方法別検出感度と血小板輸血患者における方法別抗体検出率—AHG-LCT, LIFT, PIFT, M-MPHA および FlowPRA の比較—. *日本輸血学会誌*, 50: 753—760, 2004.
- 7) Verheugt FW, von dem Borne AE, Decary F, et al: The detection of granulocyte alloantibodies with an indirect immunofluorescence test. *Br J Haematol*, 36: 533—544, 1977.
- 8) Matsuyama N, Kojima Y, Hirayama F, et al: Simultaneous five cell-lineage flow cytometric analysis system for detection of leukocyte antibodies. *Transfusion Med*, 16: 111—118, 2006.
- 9) Frezzolini A, Provini A, Teofoli P, et al: Serum-induced basophil CD63 expression by means of a tricolour flow cytometric method for the in vitro diagnosis of chronic urticaria. *Allergy*, 61: 1071—1077, 2006.
- 10) Buhring HJ, Simmons PJ, Pudney M, et al: The monoclonal antibody 97A6 defines a novel surface antigen expressed on human basophils and their multipotent and unipotent progenitors. *Blood*, 94: 2343—2356, 1999.
- 11) Kopko PM, Popovsky MA, MacKenzie MR, et al: HLA class II antibodies in transfusion-related acute lung injury. *Transfusion*, 41: 1244—1248, 2001.
- 12) 重松明男, 米積昌克, 今井陽俊, 他: 抗 HLA 抗体による輸血関連急性肺障害(Transfusion-Related Acute Lung

- Injury, TRALI)を発症した胃癌合併骨髓異形成症候群. 日本輸血学会雑誌, 50: 720—725, 2004.
- 13) Davoren A, Curtis BR, Shulman IA, et al: TRALI due to granulocyte-agglutinating human neutrophil antigen-3a (5b) alloantibodies in donor plasma: a report of 2 fatalities. *Transfusion*, 43: 641—645, 2003.
- 14) Kao GS, Wood IG, Dorfman DM, et al: Investigations into the role of anti-HLA class II antibodies in TRALI. *Transfusion*, 43: 185—191, 2003.
- 15) Silliman CC, Curtis BR, Kopko PM, et al: Donor antibodies to HNA-3a implicated in TRALI reactions prime neutrophils and cause PMN-mediated damage to human pulmonary microvascular endothelial cells in a two-event in vitro model. *Blood*, 109: 1752—1755, 2007.
- 16) 藤井康彦, 下平滋隆, 面川 進, 他: 呼吸不全を認めた輸血副作用症例の解析. 日本輸血細胞治療学会誌, 53: 28—34, 2007.
- 17) Kopko PM, Paglieroni TG, Popovsky MA, et al: TRALI: correlation of antigen-antibody and monocyte activation in donor-recipient pairs. *Transfusion*, 43: 177—184, 2003.
- 18) Wakamoto S, Fujihara M, Kuzuma K, et al: Biologic activity of RANTES in apheresis PLT concentrates and its involvement in nonhemolytic transfusion reactions. *Transfusion*, 43: 1038—1046, 2003.
- 19) Khan SY, Kelher MR, Heal JM, et al: Soluble CD40 ligand accumulates in stored blood components, primes neutrophils through CD40, and is a potential cofactor in the development of transfusion-related acute lung injury. *Blood*, 108: 2455—2462, 2006.

DETECTION OF BASOPHIL-RELATED ANTIBODIES IN ALLERGIC TRANSFUSION REACTION

Nobuki Matsuyama, Fumiya Hirayama, Kazuta Yasui, Atsuko Taniue, Rika A Furuta, Yasuo Fukumori, Takafumi Kimura, Yoshihiko Tani and Hirotooshi Shibata

Japanese Red Cross Osaka Blood Center

Abstract:

Allergic reactions, including urticaria, are the most frequently observed symptoms of non-hemolytic transfusion reactions. Although it is easy to consider that allergic reactions are induced by IgE-mediated type I allergy, there is only limited evidence for this possibility. In addition to IgE-dependent activation, IgE-independent direct activation of mast cells/basophils is also found, for example in some allergies to contrast media. Therefore, the direct activation of mast cells/basophils might plausibly be involved in allergic transfusion reactions. In such cases, basophil antibody, including HLA antibody, is a good candidate for the direct stimulator of mast cells/basophils. In this study, we developed a detection system for basophil antibody by modifying our previously developed 5-cell lineage immunofluorescence test. Using this detection system, we examined 23 cases of allergic transfusion reaction. Results showed non-HLA leucocyte antibodies in 14 patient samples and 6 blood components. Of these 20, 7 samples contained antibodies against basophils.

Keywords:

basophil, basophil antibody, non-hemolytic transfusion reaction, allergic reaction