

非感染性非溶血性輸血副作用の病態，原因を理解するための各種検査法の現状 —日本の状況と比較しながら—

平山 文也

背景と目的：非感染性非溶血性輸血副作用は輸血副作用の中で最も多い。いくつかの検査が樹立され副作用の診断や発症機序の理解に役立っている。本報は、現在利用可能な検査法を日本での状況と対比させながらまとめるものである。

材料と方法：主にキーワード入力により Medline データベースから 100 以上の論文を特定し、調査した。

結果：血漿タンパク、血漿タンパク抗体、白血球抗体、血小板抗体、血清 N-terminal-pro-brain natriuretic peptide、遺伝子マイクロメリズムの定量、同定のための検査など多数の検査が行われている。好塩基球活性化試験や好中球活性化試験などのクロスマッチテストも副作用と輸血の因果関係の特定に利用することが可能である。

結論：一部の新規検査法は完全にはバリデートされていないが、多くの検査法は臨床診断の助けとなり、副作用と輸血の因果関係の特定や場合によっては副作用発生機序の理解のためにも有用である。

キーワード：非溶血性輸血副作用，検査法，ヘモビリランス

本論文内容は、Wiley-Blackwell Publishing 社の許可のもと Vox Sanguinis 誌（第 105 巻 第 3 号 183—195, 2013）に最初に掲載された論文に基づき作成したものである。（Fumiya Hirayama）

はじめに

非感染性非溶血性輸血副作用は輸血副作用の中で最も多く、輸血関連循環過負荷、輸血関連肺障害、アレルギー性反応、発熱反応、輸血後紫斑病、移植片体宿主病などがある。これらの副作用は症状、血液検査およびその他の臨床検査の結果を踏まえ、それぞれの診断基準に沿って主に病院で診断が下される。ヘモビリランスの観点からは、副作用と輸血との因果関係を確認するために、また一部の事例では副作用機序の類推を行うために、更に患者、残余血液、必要であれば献血者に対して付加的な検査が必要な場合がある。それらの付加的な検査としては、血漿タンパクの定性・定量検査、血漿タンパク抗体検査、白血球・血小板抗体検査、血清 N-terminal-pro-brain natriuretic peptide (NT-pro-BNP) 定量検査や遺伝子マイクロメリズムの検査が挙げられる。クロスマッチテストも副作用と輸血との因果関係を特定するために重要である。

ヘモビリランス体制は国によって異なることから、本論文ではヘモビリランス体制には言及せずに現在利用できる検査方法について日本の現況と照らし合せながら概説する。

輸血関連循環過負荷 (Transfusion-associated circulatory overload : TACO)

TACO は、輸血速度が速すぎるあるいは輸血量が多すぎることが患者の循環系に過剰な負担をかけることによって発症する。症状としては、呼吸困難、高血圧、過呼吸、頻脈などが挙げられる¹⁾²⁾。プラスの水バランス、高い中心静脈圧、高い肺動脈楔入圧、心エコー等の臨床所見が診断の助けとなる。輸血に伴う急性呼吸窮迫状態の鑑別診断を行うに当たって、Brain natriuretic peptide (BNP) や NT-pro-BNP は実施しやすい診断検査法である。

1. BNP と NT-pro-BNP

BNP は元々豚の脳から精製された神経ホルモンであり、血管拡張やナトリウム・水の排泄を促すことによって、また血圧を低下させることによって、レニン—アンジオテンシン—アルドステロン系の効果と拮抗する作用がある³⁾⁴⁾。ヒトでは、BNP は心筋のストレッチや高い心室充満圧に対する反応として主に心室から産生される⁴⁾。BNP は、その前駆体である pro-BNP が分泌された後に 32 アミノ酸からなる BNP と 76 アミノ酸からなる NT-pro-BNP に切断されることによって産生さ

れる⁵⁾。BNPとNT-pro-BNPはうっ血性心不全に診断に役立つことが示されている^{6)~8)}。従って、両者はTACOの診断あるいは除外診断を行うに当たって、有力な非侵襲性の臨床検査となっている。BNPはTACOの診断において81%の感度と89%の特異性を示し、従ってボリューム負荷を確認するための良い指標であると、Zhouらは報告している⁹⁾。Tobianらは、TACOを診断するうえでNT-pro-BNPは93.8%の感度と83.9%の特異性を示し、更にin vivo, in vitro両方においてBNPよりも半減期が長いことから、NT-pro-BNPはBNPよりも有用であると報告している¹¹⁾¹²⁾。

一方、BNPとNT-pro-BNPはTACOと輸血関連肺障害(Transfusion-related acute lung injury: TRALI)との鑑別にはあまり有用ではない。ある前向きコホートスタディーによると、BNPとNT-pro-BNPの値は共にTRALI群に比較してTACO群において高値を示すようであるが、両群の値には差はあるもののオーバーラップする部分が大きく、鑑別診断上の価値は低いことが示された¹³⁾。もともとの原因の差にかかわらずTACO、TRALIともに最終的に急性右心不全状態に陥り、その結果として重篤な低酸素血症を来すことがpro-BNPの分泌を誘導し、その結果TACO、TRALI群間の差が小さくなってしまふのであろうと著者らは考えている¹⁴⁾。

日本では、日本赤十字社が唯一の輸血用血液製剤製造業者である。日本赤十字社はヘモビザランスの観点から委員会を立上げ、病院から報告された全てのTACO、TRALI事例に関して独自の再評価を行っている。委員には薬事法上規定されている総括製造販売責任者、安全管理責任者および医師、胸部内科医が選ばれている。委員会は事例の再評価に当たり、呼吸器症状、血中酸素化情報、胸部X線写真およびその所見、心エコー所見、また可能ならそれに加えてCT所見、中心静脈圧・肺動脈楔入圧、血液学的所見、細菌・ウイルス感染の状況、およびこれらの継時的変化などの情報の提供を病院の医師に対して依頼している。その有用性はまだ確認はされていないが、最近この委員会は輸血前後でのNT-pro-BNPの測定とその値の比較を開始した。この点に関連して、最近Andrzejewskiらは、輸血中の患者のバイタルサイン、特に血圧の変動を注意深く観察すれば、循環系への負荷が原因となるTACOなどの輸血副作用を早期にしかもベッドサイドで見ることができるかも知れないという興味深い報告をしている¹⁵⁾。そのような患者バイタルサイン変動のモニタリングやNT-pro-BNP値推移変化は輸血副作用対応において有用な補助ツールになるであろう。

TRALI

TRALIの発生機序には議論の余地が多いが、血液製

剤中の細胞成分から放出される好中球をプライミングするあるいは活性化させる因子や多産女性から製造された新鮮凍結血漿、血小板製剤内に存在する白血球抗体などが関与するであろうと考えられてきた¹⁶⁾。前者にはCD40L、活性化脂質、lyso-phosphatidylcholineなどがある。また、外科手術や細菌感染症などの患者の置かれた状況も好中球をプライミングあるいは活性化しうる¹⁷⁾。このように、抗体を介さないTRALIも存在する。しかし、多くのTRALI症例ではHLA class I, HLA class II, HNA抗体などの献血者由来白血球抗体の患者への輸注とそれに引き続く抗体と白血球・血管内皮細胞間での免疫反応が関与すると考えられている。新鮮凍結血漿を主に男性由来血液から製造することや全血由来プール血小板製造時に用いる希釈用血漿に男性由来血漿を用いることなどが、多くの国で施策として導入されている。不完全ではあるが、これらの施策でTRALIの発生頻度が低下してきている^{16)~19)}。TRALIのリスクを更に低下させるために、最近イギリスでは献血者に対する白血球抗体のスクリーニングを開始した²⁰⁾。以上のような予防措置に加えて、TRALIが発生した場合には、臨床診断の確認、輸血との因果関係の特定、更には副作用の作用機序の解析のために白血球抗体検査や後述する他の検査が行われている。

1. HLA抗体とHNA抗体

HLA class I²¹⁾、HLA class II²²⁾²³⁾、HNA-1a, -1b, -2, 3a^{24)~28)}に対する抗体のTRALIとの関連はこれまで多数の報告がある。Luminex[®]のようなビーズをベースとした新しい技術の導入がなされ、HLA class I抗体とHLA class II抗体の検出が容易となった。しかし、HLA以外の白血球抗原に対する抗体の検出法には所謂“gold standard”はない。International Granulocyte Immunology Workshopは、パラホルムアルデヒドで固定された多核球を試料として使用する顆粒球蛍光抗体法と固定、非固定の細胞を使った顆粒球凝集法の二法を組み合わせて検査をするよう提唱しているが²⁹⁾、抗体特異性を決定することが困難な場合がしばしばある。それに対して最近、レコンビナント抗原を用いたELISA³⁰⁾³¹⁾あるいは遺伝子導入細胞^{32)~36)}、更にはビーズ技術を用いたLABScreen[®] Multi³⁷⁾等の新たな方法がいくつかのグループにより樹立された。これらの新規検査方法については表1にまとめた。LABScreen[®] MultiはOne Lambda Inc.社(CanagoPark, CA, USA)から販売されているが、これはHLA class I抗体、HLA class II抗体に加えてHNA-1抗体、HNA-2抗体も検出でき、現在唯一の市販HNA抗体検出キットである。HNA-3抗体を検出できる市販検査キットはない。表1にまとめたように、これら新規検査方法にも、特異性を決定できる範囲の問題、大半は市販キットではないという利便性の問題、検査に

表1 HNA 抗体の特異性を決定するための検査方法

	参考文献	HNA 特異性							市販品か 否か	検査時間 (時)	必要な機器
		1a	1b	1c	2	3a	3b	その他			
K562 cell lines	32) 33)	o	o	o	o			HNA-4a, 4b, 5a, 5b Siglec-14		1	フローサイト メーター
HEK cell lines	34) ~ 36)					o	o			1 ~ 2	フローサイト メーター*
recombinant ELISA	30) 31)	o	o	o	o					4	プレートリーダー
LABScreen Multi	37)	o	o	o	o			HLA class I	Yes	2	LABScan™ flow analyzer

* アンチゲンキャプチャー法でも可能との報告がある³⁵⁾

かかる時間の問題、検査に必要な機器の問題など様々な問題があり、現在利用できる検査法の中で全てをクリアできるものはない。

日本赤十字社は社内の三つの施設をレファレンスラボとして指定し、全ての TRALI 疑い事例に対して輸血血液製剤中の白血球抗体の有無およびその特異性の調査に当たらせている。同レファレンスラボとしては当血液センターを含めた二つの血液センターおよび日本赤十字社中央血液研究所の合計3施設である。輸血用血液製剤中に白血球抗体が認められ、かつ患者検体が入手可能な場合には、両者間の血清学的なクロスマッチを行う。このクロスマッチテストについては、検出された抗体が患者の HLA, HNA アレルに結合しうるかを理論的に判定するコンピュータークロスマッチテストの場合もある。日本では Nak^a (CD36) 抗体が原因となった TRALI 事例が数件発生しているため、HLA 抗体, HNA 抗体に加えて、Nak^a 抗体の検査も行われている³⁸⁾。Nak^a は血小板、単球に発現されているが、I 型欠損症は欧米白人と比較すると日本人に多く³⁹⁾、この事実は日本で Nak^a 抗体が原因とされる TRALI 事例が多いことと合致する。当血液センターでは、Siglec-14 抗体の検査も付加的に行っている。Siglec-14 抗体は、TRALI 事例を後方視的に調査した結果、数件の TRALI 事例の残余製剤中にその存在が認められ、更に好中球を活性化させる性質も認められた抗体である⁴⁰⁾。ヒト Siglec-14 は、細胞の活性化を促す性質を持つ膜貫通型タンパクで、好中球、単球に発現されている⁴¹⁾。遺伝的多様性があり、Siglec-14 欠損者も存在する⁴²⁾。保井らは、非溶血性輸血副作用における Siglec-14 抗体の陽性率が健常人におけるそれに比して有意に高いこと、従って Siglec-14 抗体は非溶血性輸血副作用の原因となりうる顆粒球抗体であること、更に Siglec-14 抗体陽性率は非溶血性輸血副作用の中で TRALI において有意に高く、Siglec-14 発現好中球に対してのみ活性化能を発揮すること (Siglec-14 非発現好中球では活性化は起らない) を報告している⁴⁰⁾。これらの結果は、Siglec-14 抗体は

TRALI 発症に関与することを示すものである。

2. HLA 抗体のスクリーニング

米国やヨーロッパでは、妊娠歴のある献血者または多産の献血者を対象として HLA 抗体のスクリーニングを行っている血液センターが散見される。陽性・陰性の判定にはカットオフ値をどこに設定するかが大きな問題となるが、献血者の HLA 抗体スクリーニングにおけるカットオフ値の設定に関する研究から次のことが明らかとなった。即ち、検査の生データの数値が高いほど抗体は広範な特異性を持ち、抗体が広範な特異性を示せばその抗体が患者と反応する確率が高くなる傾向があるという事実である。言い換えれば、スクリーニングのカットオフ値が高ければ TRALI 誘因リスクのより高い検体を特定することを意味する。逆にカットオフ値を低く設定すれば、より多くの献血者が陽性となり、献血者を失うことに繋がることもこれらの研究は示している⁴³⁾⁴⁴⁾。従って、実務的には献血者を失うリスク (言い換えれば安定供給に支障を来すというリスク) と TRALI というリスクのバランスをうまく取りながら、血液センター自身が独自のカットオフ値を設定しなければならない。一方、科学的な視点から興味深い報告がされている。献血者保有抗体のそれぞれの標的 HLA 抗原に対する平均蛍光強度の総和が TRALI 事例において他の非溶血性輸血副作用事例の示す総和に比して有意に高いとする報告である⁴⁵⁾。以上のことから比較的高いカットオフ値を用いてスクリーニングをスタートしても良いと示唆される。

3. IgM クラス抗体の重要性

HLA に対する IgM クラス抗体はこれまで臨床的には問題とはならないと考えられていたが、この考え方に疑問を呈する知見が最近得られている。Stastny らは、IgM 特異的二次抗体を用いて IgM クラスの HLA 抗体が測定できるように Luminex 法を工夫し、バリデーショを行なったうえで、IgM クラスドナー特異的 HLA 抗体の存在が腎移植患者に及ぼす影響を検討した⁴⁶⁾。IgG クラス HLA 抗体が陰性の患者を対象としたところ、拒

絶の起こった8人の患者のうち6人(62%)でIgMクラスドナー特異的HLA抗体が検出された。一方、腎機能が良好に保たれている患者では24人のうちIgMクラスドナー特異的HLA抗体が検出されたのは僅か4人(14%)であった。同様の結果がIgGクラスHLA抗体が陰性の心臓移植患者でも得られた。具体的には、冠動脈合併症が起こった18人の心臓移植患者のうち8人(44%)でIgMクラスドナー特異的HLA抗体が検出されたのに対して、冠動脈合併症が起こらなかった患者では20人中わずか2人(10%)のみIgMクラスドナー特異的HLA抗体が検出された⁴⁶⁾。Zacharyらは、HLA抗体を保有する血清の約25%ではLuminexのIgGクラスHLA抗体検査でIgMクラスHLA抗体に起因すると思われる抑制活性が認められたとしている⁴⁷⁾。我々は健常者好中球に対して活性化能を示すSiglec-14抗体が製剤中に検出されたTRALI症例を報告しているが、そのうちの一例はIgMクラスの抗体であった⁴⁰⁾。これらの事実は、TRALI発症におけるIgMクラスHLA抗体、HNA抗体の重要性を示唆するものである。

4. クロスマッチテストおよび好中球活性化試験(Neutrophil Activation Test : NeuAT)

TRALIの原因として疑わしい製剤に関しては、その全てに対してHLA Class I, Class II抗体およびHNA抗体の有無の確認が必要である。抗体陽性の場合には更にその特異性の同定が必要である。抗体陽性の製剤がある場合には、可能な限り当該患者のHLA Class I, Class IIおよびHNAのタイピングを行い、検出された抗体に反応するアレルを患者が有しているか否かを確認すべきである。抗体の特異性が充分確認できなかった場合あるいは検出された抗体が反応する白血球抗原を患者が有しているか否かを確認できなかった場合には、患者血液を使った血清学的なクロスマッチテストを行うべきである。

患者白血球抗原に反応する抗体が含まれる製剤が輸血されたとしても必ずしもTRALIが発症するわけではない。HLA抗体の強さとTRALI発症には正の相関があることが報告されていることから、弱い抗体価の抗体ではTRALIは発症しないのかも知れない⁴⁵⁾。しかし、現在のところTRALI発症に必要な抗体価の基準はない。TRALI発症における好中球活性化の重要性について多くの論文が言及していることから¹⁶⁾、原因製剤中に好中球を活性化させる抗体が存在するか否かを検討することは意味のあることと考えられる。この目的のために我々は最近、好中球活性化試験(Neutrophil Activation Test : NeuAT)を樹立した。本試験は試験管内で全血を培養するという簡単な試験である。具体的には、残余製剤上清でフレッシュな全血を刺激し、全血に含まれる好中球の活性化を好中球細胞膜上に存在し接着

分子でありかつ好中球活性化マーカーであるMac-1の発現亢進を指標に検討する系である⁵⁰⁾⁵¹⁾。また、Mac-1の発現亢進と並行して、heparin-binding protein(HBP)の好中球からの放出も検討するものである。理想的には好中球ソースとしては患者全血を用いるべきであるが、困難なことが多い。そのような場合には、健常人の全血でも構わない。HBPは好中球のアズール顆粒や分泌小胞に蓄えられており⁵²⁾、 $\beta 2$ インテグリンを介する好中球の活性化に伴う血管内皮細胞の透過性亢進に大きく関わる分子である⁵²⁾⁵⁴⁾。 $\beta 2$ インテグリンを介する好中球の活性化に伴う血管内皮細胞の透過性亢進は好中球からのHBPの放出によって起こる⁵⁴⁾。また、過剰な血漿の血管外漏出と多臓器不全によって特徴付けられるストレプトコッカストキシック症候群においてもHBPは同様の働きをする⁵⁵⁾。本好中球活性化試験を用いた実験から、HLA抗体は対応するアロタイプのHLAを持つ健常人好中球を活性化させ、またSiglec-14抗体はSiglec-14陰性の健常人好中球は活性化させないが陽性の好中球は活性化させることが明らかとなった⁴⁰⁾。以上のように、本試験は検出された白血球抗体が患者好中球を活性化させるか否かを見る優れた試験である。しかし、本試験は充分バリデートされているわけではなく、またHBPの測定に市販キットを用いる場合には高額を要する。従って、本試験は現時点では研究レベルの試験と位置付けられる。TRALI発症機序の解明の重要性を考えると、HBPの測定はさておき、少なくともMac-1の発現亢進の検討は行うべきであろう。

5. 献血者の献血歴の調査

献血者の献血歴の調査は試験ではないが、重要なことで記載することとした。TRALI発症にかかわる献血者が特定された場合には、それ以降その献血者の血液は輸血用には使用しないとす血液センターや国が多い⁵⁶⁾。一方、臨床症状から考えてTRALIの可能性がそれ程高くない場合には、当該献血者の過去の献血血液でTRALIが発症したか否かを確認しておくべきであろう。

アレルギー性副作用

アレルゲンおよびそのアレルゲン特異的IgE、IgG抗体の同定が、アレルギー性副作用を診断するに当たっての直接的な方法である。しかし、アレルゲンと特異抗体が同定される事例はほんのわずかである。IgAやハプトグロビン(Hp)といった血漿タンパクに加えて、FFPのウィルス不活化剤として使用されているメチレンブルーが原因で血漿輸血後アナフィラキシーショックを起こした事例が報告されている⁵⁷⁾⁵⁸⁾。後者のリスクは極めて低いものであるが、メチレンブルー不活化システムを導入している国や地域では注意を要する。

アレルギー性副作用の機序として上記以外に考えら

れている仮説として「生理活性物質説」がある。それは炎症性サイトカインやケモカインが保存中に血液製剤に貯留し血液と共に患者に輸血されるが故に発症するとする説である。生理活性物質としては、血管内皮細胞増殖因子(VEGF)、可用性CD40L、ヒスタミン、腫瘍増殖因子ベータ(TGF-β)、RANTESなどが挙げられる^{59)~63)}。残念ながら現時点ではアレルギー性副作用発症におけるこれら生理活性物質の役割は概ね不明である。しかし、たとえこれらの生理活性物質に関する正確な情報がなくても、下記に示すようにアレルギー性副作用を引き起こす原因細胞のひとつである好塩基球に対する活性化能を試してみることは有用である。

1. 血漿タンパクとその特異抗体

アレルギー性副作用を引き起こすアレルゲンとしてIgA^{64)~66)}やHp⁶⁷⁾⁶⁸⁾といった血漿タンパクが挙げられる。輸血製剤中に含まれるIgAやHpが輸血用血液と共に、これらのタンパクを欠損し更に特異的IgE、IgG抗体を保有する患者に輸注されると即時かつ重篤な副作用が生じる恐れがある。IgAのかかわるアナフィラキシー反応の殆どはIgAを欠損し(血清IgA<0.5mg/l)IgAクラス特異的抗体を保有する患者に起こるが、血清IgAが正常域にある患者にも時として起こる。この場合は、サブクラス(IgA1, IgA2)あるいはアロタイプ(IgA2m [1], IgM2m [2])特異的IgA抗体が原因となる⁶⁶⁾。補体のC4欠損⁶⁹⁾⁷⁰⁾やvon Willebrand factor欠損⁷¹⁾の患者で輸血後アナフィラキシーショックをきたした事例もあるが、非常に稀である。以上のことから、まず第一にIgA、Hpの患者血中濃度およびそれらに対する患者IgE、IgG抗体の検査を行わなければならない。そして、メチレンブルー不活化システムを導入している地域では、併せてメチレンブルー抗体の検査が必要である。

輸血された製剤と副作用との因果関係を調べるためには、また現れた副作用が本当にアレルギー性なのかを検討するためには、更には生理活性物質が関与しているのか否かを解明するためには、下記二つの試験方法が有用である。

2. トリプターゼ試験

トリプターゼは、肥満細胞の分泌小胞由来のセリンプロテアーゼの中で量的に最も多く含まれるプロテアーゼである。全身アナフィラキシーや他の即時性アレルギー性過敏反応では、患者血清や血漿、その他の体液中でトリプターゼが上昇する⁷²⁾。ピーナツアレルギーの少年に未消化のピーナツアレルゲンが輸血と共に輸注されアナフィラキシーショックを引き起こした事例では、発症後患者血清トリプターゼ値の有意な上昇が認められ、輸血との因果関係が示された⁷³⁾。また、メチレンブルー不活化FFPの輸血によりアナフィラキシー反

応を呈した上記3例のうち2例でも、血清トリプターゼ値の上昇が見られ、診断の補助検査として寄与した⁵⁷⁾⁵⁸⁾。

日本では、輸血によるアレルギー性副作用が疑われかつ患者血清サンプルが入手できる場合には、日赤血液事業本部で患者血清トリプターゼ値を測定している。輸血前に比して輸血後に血清トリプターゼ値が5μg/l以上上昇した場合を陽性と判定しており、アレルギー性輸血副作用の診断に有用であることが下記のように明らかとなっている⁴⁹⁾。即ち、1,165症例で患者血清トリプターゼ値が測定され、蕁麻疹症例で11%(50/438)が陽性、アナフィラキシー反応症例で13%(23/177)陽性、アナフィラキシーショック症例で48%(137/286)陽性、血圧低下症例で12%(8/69)陽性であった。副作用を生じなかった患者の血清サンプルは測定していないが、非アレルギー性副作用症例を陰性コントロールと考えると、発熱症例では0.6%(1/154)でのみ陽性、TRALI症例では2.4%(1/41)のみで陽性であった。これらのことから、トリプターゼ値の測定は臨床診断の補助として、また副作用と輸血の因果関係を検証する意味において有用と考えられる。

しかし、欠点もある。まず、トリプターゼの血中半減期は2時間と短いため患者から血清サンプルを得ることはしばしば困難である⁷⁴⁾。また、肥満細胞と共にアレルギー反応を担っている好塩基球からはトリプターゼは僅かしか放出されず、従って血清トリプターゼ値からは好塩基球の活性化を推測することはできない⁷⁵⁾⁷⁶⁾。

3. 好塩基球活性化試験 (Basophil Activation Test : BAT)

本試験はアレルギー疾患を診断するために確立された新しい試験法である。本試験では、患者の全血サンプルとアレルゲンをインキュベートし、その結果起こる好塩基球の活性化を脱顆粒・活性化マーカーであるCD63やCD203cの発現上昇としてフローサイトメーターで検出するものである⁷⁷⁾⁷⁸⁾。本試験は輸血医療で徐々に応用され始めている。

前述のメチレンブルー処理血漿の輸血によるアナフィラキシー反応症例では3例全例で少なくともメチレンブルーあるいはより抗原性の強い関連色素に対して本試験陽性となった⁵⁷⁾⁵⁸⁾。そのうちの一人の患者では輸血されたFFPに対しても陽性となった。我々は本試験が輸血領域にも応用できるか否かをアレルギー性輸血副作用の原因となった製剤の残余(n=9)と副作用を起こさなかった製剤の残余(n=12)を用いて検討した⁷⁹⁾。患者血液を得ることは容易ではなく、また必ずしもアレルゲン依存性の機序ではなく生理活性物質の関与も考えられるという2点の理由から、好塩基球のソースとしては健常人全血を用いた。アレルギー性輸血副作用残余製剤9サンプルのうち3サンプルで好塩基球の

活性化が認められた。このことから副作用との因果関係と検証や副作用がアレルギー性であるか否かの確認のためには、本試験は有用であろうと考えられた。

しかし、本試験は輸血領域で応用され始めて間もなく、従ってその有用性も充分証明されたものではない。それに加えて、その感度、特異性が充分確立されていないという問題点もあり⁴⁹⁾、本試験に対する最終的な評価を下す前に更に検討を重ねる必要がある。それまでは、本試験は研究レベルの試験と考えるべきであろう。コスト・ベネフィットから考えると軽度の副作用に対して本試験を実施する意義は限定的であるが、軽度から中等度のアレルギー性副作用のサンプルも含めたバリデーションも必要であろう。

4. 献血者および献血者血液の後方的調査

TRALIの場合とは異なり、アレルギー性副作用の場合には当該献血者の過去の献血血液で副作用が起こったか否かを調査することとしている血液センターは限られている。しかし、輸血製剤中に混入する化学物質⁵⁷⁾⁵⁸⁾や食物アレルギー⁷³⁾が輸血と共に患者に輸注されアナフィラキシーショックを来した症例が前述のように最近報告されていることを勘案すると、献血者が何らかのアレルギーを持っているのか、あるいは献血時に薬剤を使用していたのかという情報も副作用の輸血との因果関係を考える上で有用かもしれない。ただし、残念ながらそのような手順を確立している血液センター、病院は少なく、その有用性は現在のところ明らかではない。

非感染性非溶血性発熱反応

通常他の発熱要因がなく輸血中あるいは直後に1°C以上の体温の上昇を認めた場合に非感染性非溶血性発熱反応と定義される。悪寒、血圧上昇、頻脈、呼吸困難を伴う場合もある。保存前白血球除去が導入される以前には、発症機序に関する仮説が二つ考えられていた。ひとつは患者が保有する白血球抗体と輸血製剤中に混在する白血球抗原との間の抗原抗体反応が原因とする仮説である^{80)~82)}。しかし、この仮説に対する研究が盛んに行われたのが1980年代であったことから、HLA抗体と顆粒球抗体の区別が曖昧で厳密には区別されておらず、特異的な抗原抗体反応が患者・製剤間で起こっていたかは大半の研究では明らかにされていない。従って、発熱反応が患者の保有する白血球抗体に起因すると結論づけるのは早計である。最近、Imotoらにより、発熱反応と白血球抗体のうち少なくとも患者血中のHLA Class I抗体との関係が漸く明らかとなった。彼女らは、患者のHLA抗体と献血者のHLA抗原が確かに反応しあう組み合わせであることを、個々の発熱症例で具体的に示した⁸³⁾。なお、この研究ではアレルギー性副作用

とHLA Class I抗体との因果関係は認められていない。二つ目の仮説は、輸血製剤中に含まれる白血球から保存中に放出され、製剤中に貯留するIL-1やIL-6といった生理活性物質が原因とするものである⁸⁴⁾。

これらの二つの仮説から予防法としての保存前白血球除去という考え方が生まれ、導入後には実際に発熱反応の発生頻度が低下した^{85)~87)}。しかし、頻度は低下したものの、発熱反応が消失したわけではない。血小板輸血後の発熱反応に関しては、この残存リスクの原因として血小板由来の生理活性物質である可用性CD154 (CD40 ligand) が関与しているのかもしれない⁸⁸⁾⁸⁹⁾。残存リスクに関しては、それ以外に白血球抗原、特にHLA抗原の場合には可溶性の抗原が製剤中の血漿部分に存在し(1 μ g/ml, ref. 90)、患者HLA抗体と抗原抗体反応を呈し発熱反応に繋がるという仮説もある。しかし、残存リスクの原因については不明な部分が多く、副作用を予見したりあるいは治療するに当たって今後明らかにしていかなければならない。

日本の血液センターでは、発熱反応を示した患者に対してHLA Class I抗体の有無の検査を行っている。しかし、たとえ陽性になったとしても発熱の原因がHLA Class I抗体であるという状況証拠にしかない。従って、コスト・ベネフィットを考えると、HLA Class I抗体の検査は行う必要はないと考えられる。

輸血後紫斑病

輸血後紫斑病は、妊娠あるいは輸血により感作された患者に突然急激な、しかし限定的な血小板減少が典型的には輸血後5~12日後に起こる副作用である。本副作用は、血小板抗原であるHPA-1aを欠損した患者にHPA-1a抗原陽性の血小板が輸血された際に起こることが最も多い。患者の保有するHPA-1a抗体が輸血された血小板を破壊するのである⁹¹⁾。HPA-1b、-2a、-3a/b、-4a、-5a/b抗体が原因の場合もある。しかし、患者が保有する同種抗体が、輸血された血小板のみならず、なぜ自己血小板をも破壊するのかが明らかではない。本副作用においてなぜ抗体により認識され得ない患者血小板が血中から消失するのかを説明できる確かな仮説はないが、以下のような三つの機序が提唱されている。(1) まず、患者は“framework”エピトープ(多様性を担うエピトープの周辺の保存された領域)を認識する抗体を産生する。その抗体がやがて多様性を担うエピトープを認識するようになる。(2) 輸血された血小板から遊離した可用性の抗原が患者抗体と反応し抗原・抗体複合体が形成され、それがFc受容体を介して患者自身の血小板に結合する。(3) 輸血された血小板由来の可溶性抗原が患者血小板上に吸着され、受動的に献血者タイプの抗原が陽性となる⁹¹⁾、などである。

表2 血小板抗体検査

	参考文献	Range of HPA specificity	標的細胞	市販品か否か	検査時間(時)	必要な機器
MAIPA	92)	wide #	platelets		8	プレートリーダー
MR-MAIPA	93	wide #	platelets		5	プレートリーダー
K526 cells (MR-MAIPA-based)	94) 95)	1a, 1b, 3a, 3b, 4a, 4b, 5a, 5b, 6bw, 7bw, 13bw, 15a, 15b, 18bw, 21bw	cell lines		5	プレートリーダー
PAKPLUS [®]	96) 97)	1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4a, 5a, 5b	purified proteins	Yes	2	プレートリーダー
PAKLX [®]		1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4a, 4b, 5a, 5b			2	LABScan TM flow analyzer

アンチゲンキャプチャー用抗体有無に依存する

MAIPA 法⁹²⁾や modified rapid MAIPA (MR-MAIPA) 法⁹³⁾は感度、特異性が非常に高く、従って現在多くの血小板免疫研究室では HPA 抗体の検出およびその特異性同定においてスタンダードな方法となっている。MR-MAIPA はその感度と検査所要時間において MAIPA 法よりも優れた方法であるが、何れにおいても血小板パネルとして稀な血小板を用意することは時に困難となる。この問題を解決するために、Hayashi らは、特定の HPA を安定的に発現する細胞株パネルを作成し、MR-MAIPA 法で血小板パネルの代わりに用いることができるようにした⁹⁴⁾⁹⁵⁾。感度において MAIPA 法に劣るとする報告もあるが、HPA 抗体測定用市販キットとして ELISA 法をベースとしたキット (PAKPLUS[®] Gen-probe, San Diego, CA, USA)⁹⁶⁾⁹⁷⁾や Luminex[®] ビーズをベースとしたキット (PAKLX[®] Gen-probe) などが現在利用可能である。これらの検査法を表2にまとめた。

輸血後 GVHD

輸血後 GVHD は輸血製剤中に混在するリンパ球が患者に対して細胞障害活性を示すことにより発症すると一般的に考えられている。ただし、以下の三つの条件がそろった場合にのみ起こる。(1) 献血者と患者間において献血者リンパ球が患者を一方向的にアロ(異物)と認識する組合せの HLA 不一致が存在する。(2) 輸血製剤中に免疫学的に活性のある免疫細胞が存在する。(3) 患者が輸血製剤中の免疫細胞を排除できない。このような条件が揃った場合には、輸血製剤中の細胞障害性 T リンパ球が患者の全身の組織を攻撃すると考えられている⁹⁸⁾。献血者の HLA が同型接合性で患者の HLA が異型接合性の場合に最も GVHD の発症リスクが高くなる。本副作用では、発熱、皮膚の紅潮、肝機能異常、下痢、造血不全、汎血球減少などの症状が出現する。これらの症状は非常に激烈で病状は急速に進行する。死亡率は約 90% と報告されている⁹⁹⁾。重篤な副作用であるにもかかわらず、治療に有用な薬剤は知られていない。しかし、血液製剤への放射線照射で予防可能である。未照射血あるいは照射線量が不十分な血液を輸

血した後に本副作用が疑われる臨床所見が得られた場合には、遺伝子学的技術を用いて DNA 多型のキメラ状態を確認することで診断することができる。この診断方法には、restriction-fragment-length polymorphism analysis¹⁰⁰⁾、cytogenetic analysis¹⁰¹⁾、polymorphism associated with variations in the length of microsatellite repeats¹⁰²⁾、and short-tandem repeat analysis¹⁰³⁾などがある。皮膚生検も有用な方法であり、所見として上皮基底細胞の空胞化、上皮への単核球の浸潤、基底膜の崩壊、水疱形成、潰瘍形成などが認められる。

結論と将来展望

非感染性非溶血性輸血副作用の検査について、主に血液製剤製造業者が行うべき検査に焦点をあてて概説した。これらの検査は臨床診断を確認したり、副作用と輸血との因果関係を判断したり、場合によっては副作用発生機序を推し量るのに有用である。これらの検査の特徴を表3にまとめた。この表には、実施推奨度、検査を行うべき施設、副作用と必要な検査の関係、検体の種類、検体採取のタイミング、保存方法などを盛り込んだ。しかし、僅かな量の検体しか得られない場合がしばしばあり、またこれらの検査には高価な機器やキット、そして特殊な技術が必要である場合がある。更にいくつかの検査は未だ研究レベルである。従って、全ての国で全ての検査が実施できるわけではない。また、どの検査を行うべきかが決め難い場合もある。更に、各国にはそれぞれ固有のヘモビジュランスシステムがあり、病院、血液センター、行政の役割が国ごとに異なる。このような状況から、表3にまとめた情報のいくつか、特に実施推奨度や実施施設に関しては国によって適正な記載でない場合がある。ある最近の報告では、輸血前後でのバイタルサインのモニタリングは重要で、輸血副作用、特に TACO の兆候を知らせてくれる場合があることが示された¹⁵⁾。この報告は、輸血副作用の診断に検査は必ずしも必要ではなく、忘れられがちな患者観察の重要性を再認識させてくれるものである。

表3 非感染性比溶血性輸血副作用の代表的検査法のまとめ

検査項目	実施優先度 [†]	検査主体 [‡]	疑われる副作用	試料			
				患者試料	残余製剤上清	試料採取のタイミング	保存, 輸送
NT-pro-BNP	1	HP or RL	TACO TRALI	血清 (血漿*)	—	輸血前検体および輸血当日検体, ただし後者は可能なら輸血後2時間以内 (NT-pro-BNPの半減期が2時間であるため)	凍結 室温でも安定
HLA 抗体 HNA 抗体 CD36 抗体** siglec-14 抗体**	HLA 抗体: 1 HNA 抗体 1 その他: 3**	HLA: BC or RL HNA: BC or RL [‡] CD36: BC or RL Siglec: Research	TRALI ショック	—	残余製剤上清があれば実施, 献血者血漿でも可	—	凍結 4℃でも安定
検出された抗体と患者白血球間での交差試験 ^{##}	2	BC or RL	TRALI ショック	全血	残余製剤上清があれば実施, 献血者血漿でも可	患者全血: 検査当日採血分が必要	患者全血: 4℃保管, 採血後1日以内に使用 残余製剤上清: 4,000g, 30分遠心 (デブリス除去のため)
好中球活性化試験 (Mac-1 発現上昇と HBP 放出)	Mac-1: 2 HBP: 3	Research	TRALI	全血 [#]	残余製剤上清が必要	患者全血: 検査当日採血分が必要	患者全血: 4℃保管, 採血後1日以内に使用 残余製剤上清: 4,000g, 30分遠心 (デブリス除去のため)
血漿タンパクレベル	1	BC or RL	ショック アレルギー	血清 (血漿*)	—	輸血前採血分が必要	凍結 4℃でも安定
トリプターゼ	2	BC or RL	ショック アレルギー	血清 (血漿*)	—	輸血前検体および輸血当日検体, ただし後者は可能なら輸血後2時間以内 (NT-pro-BNPの半減期が2時間であるため)	凍結 室温で2日安定 4℃で5日安定
好塩基球活性化試験	3	Research	ショック アレルギー	全血 [#]	残余製剤上清が必要	患者全血は検査当日あるいは前日採血分	患者全血: 4℃保管, 採血後1日以内に使用 残余製剤上清: 4,000g, 30分遠心 (デブリス除去のため)

[†]実施優先度: 1: 強く推奨, 2: 可能なら, 3: 研究レベル

[‡]HP: 病院, BC: 血液センター, RL: レファレンスラボ, Research: 研究レベル

[‡]限られた血液センターあるいはレファレンスラボのみで実施可能

*血漿検体でも同様な結果が得られる

#患者血液が得られない場合は, 健常人血液でも可能

**日本では重要, アジアでも重要である可能性がある

##コンピュータークロスマッチで代替可能

多くの場合, 副作用の診断や輸血との因果関係の特定すら困難であるのが現状である。そのひとつの理由は, 副作用発症には多くの要素が関わり, 患者因子と製剤因子が複雑に関わり合うからである。患者因子については複数の報告がある¹⁰⁴⁾¹⁰⁵⁾。従って, 副作用と輸血との因果関係は, 特に重症例では個々の事例で個別に特定, 評価しなければならない。そういう意味では, 好中球活性化試験や好塩基球活性化試験は重要であり⁴⁸⁾⁴⁹⁾, 患者因子, 製剤因子を含めた副作用発生機序の

解明が必要である。副作用発生機序が明らかになれば, 診断のための検査は自ずと確立され, 最も重要なことであるがその予防法への道も開けるのである。

著者の COI 開示: 本論文発表内容に関連して特に申告なし

謝辞: この総説を執筆するに当たり, 古田里佳先生, 保井一太先生, 松山宣樹先生, 林智也先生からの確かな助言を頂きましたことに感謝致します。

文 献

- 1) Popovsky MA, Audet AM, Andrzejewski C Jr: Transfusion-associated circulatory overload in orthopedic surgery patients: a multi-institutional study. *Immunohematology*, 12: 87—89, 1996.
- 2) Popovsky MA: Transfusion-associated circulatory overload: the plot thickens. *Transfusion*, 49: 2—4, 2009.
- 3) Levin ER, Gardner DG, Samson WK, et al: *N Engl J Med*, 339: 321—328, 1998.
- 4) Mark DB, Felker GM: B-type natriuretic peptide—a biomarker for all seasons? *N Engl J Med*, 350: 718—720, 2004.
- 5) Hall C: Essential biochemistry and physiology of (NT-pro) BNP. *Eur J Heart Fail*, 6: 257—260, 2004.
- 6) de Lemos JA, Morrow DA, Bentley JH, et al: The prognostic value of B-type natriuretic peptide in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*, 345: 1014—1021, 2001.
- 7) Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak RM, et al: Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med*, 347: 161—167, 2002.
- 8) Kragelund C, Grønning B, Køber L, et al: N-terminal pro-B-type natriuretic peptide and long-term mortality in stable coronary heart disease. *N Engl J Med*, 352: 666—675, 2005.
- 9) Zhou L, Giacherio D, Cooling L, et al: Use of B-natriuretic peptide as a diagnostic marker in the differential diagnosis of transfusion-associated circulatory overload. *Transfusion*, 45: 1056—1063, 2005.
- 10) Tobian AA, Sokoll LJ, Tisch DJ, et al: N-terminal pro-brain natriuretic peptide is a useful diagnostic marker for transfusion-associated circulatory overload. *Transfusion*, 48: 1143—1150, 2008.
- 11) Elin RJ, Winter WE: Laboratory and clinical aspects of B-type natriuretic peptides. *Arch Pathol Lab Med*, 128: 697—699, 2004.
- 12) Yeo KT, Wu AH, Apple FS, et al: Multicenter evaluation of the Roche NT-proBNP assay and comparison to the Biosite Triage BNP assay. *Clin Chim Acta*, 338: 107—115, 2003.
- 13) Li G, Daniels CE, Kojic M, et al: The accuracy of natriuretic peptides (brain natriuretic peptide and N-terminal pro-brain natriuretic) in the differentiation between transfusion-related acute lung injury and transfusion-related circulatory overload in the critically ill. *Transfusion*, 49: 13—20, 2009.
- 14) Luo Y, Jiang C, Belanger AJ, et al: A constitutively active hypoxia-inducible factor-1alpha/VPI6 hybrid factor activates expression of the human B-type natriuretic peptide gene. *Mol Pharmacol*, 69: 1953—1962, 2006.
- 15) Andrzejewski C Jr, Popovsky MA, Stec TC, et al: Hemotherapy bedside biovigilance involving vital sign values and characteristics of patients with suspected transfusion reactions associated with fluid challenges: can some cases of transfusion-associated circulatory overload have proinflammatory aspects? *Transfusion*, 52: 2310—2320, 2012.
- 16) Bux J, Sachs UJ: The pathogenesis of transfusion-related acute lung injury (TRALI). *Br J Haematol*, 136: 788—799, 2007.
- 17) Silliman CC, Fung YL, Ball JB, et al: Transfusion-related acute lung injury (TRALI): current concepts and misconceptions. *Blood Rev*, 23: 245—255, 2009.
- 18) Chapman CE, Stainsby D, Jones H, et al: Ten years of hemovigilance reports of transfusion-related acute lung injury in the United Kingdom and the impact of preferential use of male donor plasma. *Transfusion*, 49: 440—452, 2009.
- 19) Toy P, Gajic O, Bacchetti P, et al: Transfusion-related acute lung injury: incidence and risk factors. *Blood*, 119: 1757—1767, 2012.
- 20) Lucas G, Win N, Calvert A, et al: Reducing the incidence of TRALI in the UK: the results of screening for donor leucocyte antibodies and the development of national guidelines. *Vox Sang*, 103: 10—17, 2012.
- 21) Popovsky MA, Moore SB: Diagnostic and pathogenetic considerations in transfusion-related acute lung injury. *Transfusion*, 25: 573—577, 1985.
- 22) Kopko PM, Popovsky M, MacKenzie MR, et al: HLA class II antibodies in transfusion-related acute lung injury. *Transfusion*, 41: 1244—1248, 2001.
- 23) Win N, Brown C, Navarrete C: TRALI associated with HLA class II antibodies. *Transfusion*, 43: 545—546, 2003.
- 24) Leach M, Vora AJ, Jones DA, et al: Transfusion-related acute lung injury (TRALI) following autologous stem cell transplant for relapsed acute myeloid leukemia: a case report and review of the literature. *Transfusion Medicine*, 8: 333—337, 1998.
- 25) Yomtovian R, Kline W, Press C, et al: Severe pulmonary hypersensitivity associated with passive transfusion of neutrophil-specific antibody. *Lancet*, 1: 244—246, 1984.

- 26) Bux J, Becker F, Seeger W, et al: Transfusion-related acute lung injury due to HLA-A2-specific antibodies in recipient and NBI-specific antibodies in donor blood. *Br J Haematol*, 93: 707—713, 1996.
- 27) Nordhagen R, Conradi M, Dromtorp SM: Pulmonary reaction associated with transfusion of plasma containing anti-5b. *Vox Sang*, 51: 102—107, 1986.
- 28) Davoren A, Curtis BR, Shulman IA, et al: TRALI due to granulocyte-agglutinating human neutrophil antigen-3a (5b) antibodies in donor plasma: a report of 2 fatalities. *Transfusion*, 43: 641—645, 2003.
- 29) Bierling P, Bux J, Curtis B, et al: Recommendations of the ISBT Working Party on Granulocyte Immunobiology for leucocyte antibody screening in the investigation and prevention of antibody-mediated transfusion-related acute lung injury. *Vox Sang*, 96: 266—269, 2009.
- 30) Bayat B, Werth S, Sachs UJ, et al: A novel enzyme-linked immunosorbent assay method for the detection of human neutrophil antigen-2a antibodies. *Transfusion*, 49: 1819—1824, 2009.
- 31) Werth S, Bayat B, Tjahjono Y, et al: Rapid enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibodies against human neutrophil antigens -1a, -1b, and -1c. *Transfusion*, 53: 193—201, 2013.
- 32) Yasui K, Miyazaki T, Matsuyama N, et al: Establishment of cell lines stably expressing HNA-1a, -1b, and -2a antigen with low background reactivity in flow cytometric analysis. *Transfusion*, 47: 478—485, 2007.
- 33) Yasui K, Hirayama F, Matsuyama N, et al: New cell lines selectively expressing HNA-1c, -4a, -4b, -5a, and -5b antigen established for the detection of HNA antibodies. *Transfusion*, 48: 1037—1039, 2008.
- 34) Bayat B, Tjahjono Y, Werth S, et al: Implication of transfected cell lines for the detection of alloantibodies against human neutrophil antigen-3. *Transfusion*, 52: 613—621, 2012.
- 35) Kanack AJ, Peterson JA, Sullivan MJ, et al: Full-length recombinant choline transporter-like protein 2 containing arginine 154 reconstitutes the epitope recognized by HNA-3a antibodies. *Transfusion*, 52: 1112—1116, 2012.
- 36) Woźniak MJ, Bowring C, Lucas G, et al: Detection of HNA-3a and -3b antibodies using transfected cell lines and recombinant proteins. *Transfusion*, 52: 1458—1467, 2012.
- 37) Fromont P, Prié N, Simon P, et al: Granulocyte antibody screening: evaluation of a bead-based assay in comparison with classical methods. *Transfusion*, 50: 2643—2648, 2010.
- 38) Nakajima F, Nishimura M, Hashimoto S, et al: Role of anti-Nak(a) antibody, monocytes and platelets in the development of transfusion-related acute lung injury. *Vox Sang*, 95: 318—323, 2008.
- 39) Yamamoto N, Akamatsu N, Sakuraba H, et al: Platelet glycoprotein IV (CD36) deficiency is associated with the absence (type I) or the presence (type II) of glycoprotein IV on monocytes. *Blood*, 83: 392—397, 1994.
- 40) Yasui K, Angata T, Matsuyama N, et al: Detection of anti-Siglec-14 alloantibodies in blood components implicated in nonhaemolytic transfusion reactions. *Br J Haematol*, 153: 794—796, 2011.
- 41) Angata T, Hayakawa T, Yamanaka M, et al: Discovery of Siglec-14, a novel sialic acid receptor undergoing concerted evolution with Siglec-5 in primates. *FASEB J*, 20: 1964—1973, 2006.
- 42) Yamanaka M, Kato Y, Angata T, et al: Deletion polymorphism of SIGLEC14 and its functional implications. *Glycobiology*, 19: 841—846, 2009.
- 43) Makar RS, Saidman SL, Stowell CP, et al: Analysis of cutoffs for screening sensitized blood donors for HLA alloantibodies using a cytometric microbead assay. *Transfusion*, 51: 166—174, 2011.
- 44) Carrick DM, Norris PJ, Endres RO, et al: Establishing assay cutoffs for HLA antibody screening of apheresis donors. *Transfusion*, 51: 2092—2101, 2011.
- 45) Hashimoto S, Nakajima F, Kamada H, et al: Relationship of donor HLA antibody strength to the development of transfusion-related acute lung injury. *Transfusion*, 50: 2582—2591, 2010.
- 46) Stastny P, Ring S, Lu C, et al: Role of immunoglobulin (Ig) G and IgM antibodies against donor human leukocyte antigens in organ transplant recipients. *Hum Immunol*, 70: 600—604, 2009.
- 47) Zachary AA, Lucas DP, Detrick B, et al: Naturally occurring interference in Luminex assays for HLA-specific antibodies: characteristics and resolution. *Hum Immunol*, 70: 496—501, 2009.
- 48) Yasui K, Furuta RA, Matsuyama N, et al: Possible involvement of heparin-binding protein in transfusion-related acute lung injury. *Transfusion*, 48: 978—987, 2008.
- 49) Hirayama F: Recent advances in laboratory assays for nonhemolytic transfusion reactions. *Transfusion*, 50: 252—263, 2010.

- 50) Klugewitz K, Ley K, Schuppan D, et al: Activation of the $\beta 2$ integrin Mac-1 (CD11b/CD18) by an endogenous lipid mediator of human neutrophils and HL-60 cells. *J Cell Sci*, 110: 9985—9990, 1997.
- 51) Diez-Fraile A, Meyer E, Paape MJ, et al: Analysis of selective mobilization of I-selectin and Mac-1 reservoirs in bovine neutrophils and eosinophils. *Vet Res*, 34: 57—70, 2003.
- 52) Tapper H, Karlsson A, Morgelin M, et al: Secretion of heparin-binding protein from human neutrophils is determined by its localization in azurophilic granules and secretory vesicles. *Blood*, 99: 1785—1793, 2002.
- 53) Gautam N, Herwald H, Hedqvist P, et al: Signaling via $\beta 2$ integrins triggers neutrophil-dependent alteration in endothelial barrier function. *J Exp Med*, 191: 1829—1839, 2000.
- 54) Gautam N, Olofsson AM, Herwald H, et al: Heparin-binding protein (HBP/CAP37): a missing link in neutrophil-evoked alteration of vascular permeability. *Nat Med*, 7: 1123—1127, 2001.
- 55) Herwald H, Cramer H, Morgelin M, et al: M protein, a classical bacterial virulence determinant, forms complexes with fibrinogen that induce vascular leakage. *Cell*, 116: 367—379, 2004.
- 56) Reesink HW, Lee J, Keller A, et al: Measures to prevent transfusion-related acute lung injury (TRALI). *Vox Sang*, 103: 231—259, 2012.
- 57) Nubret K, Delhoume M, Orsel I, et al: Anaphylactic shock to fresh-frozen plasma inactivated with methylene blue. *Transfusion*, 51: 125—128, 2011.
- 58) Dewachter P, Castro S, Nicaise-Roland P, et al: Anaphylactic reaction after methylene blue-treated plasma transfusion. *Br J Anaesth*, 106: 687—689, 2011.
- 59) Wadhwa M, Seghatchian MJ, Lubenko A, et al: Cytokine levels in platelet concentrates: quantitation by bioassays and immunoassays. *Br J Haematol*, 93: 225—234, 1996.
- 60) Edvardsen L, Taaning E, Mynster T, et al: Bioactive substances in buffy-coat-derived platelet pools stored in platelet-additive solutions. *Br J Haematol*, 103: 445—448, 1998.
- 61) Phipps RP, Kaufman J, Blumberg N: Platelet derived CD 154 (CD40 ligand) and febrile responses to transfusion. *Lancet*, 357: 2023—2024, 2001.
- 62) 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.
- 63) Garraud O, Hamzeh-Cognasse H, Cognasse F: Platelets and cytokines: How and why? *Transfus Clin Biol*, 19: 104—108, 2012.
- 64) Vyas GN, Perkins HA, Fudenberg HH: Anaphylactoid transfusion reactions associated with anti-IgA. *Lancet*, 2: 312—315, 1968.
- 65) Schmidt AP, Taswell HF, Gleich GJ: Anaphylactic transfusion reactions associated with anti-IgA antibody. *N Engl J Med*, 280: 188—193, 1969.
- 66) Sandler SG, Mallory D, Malamut D, et al: IgA anaphylactic transfusion reactions. *Transfus Med Rev*, 9: 1—8, 1995.
- 67) Koda Y, Watanabe Y, Soejima M, et al: Simple PCR detection of haptoglobin gene deletion in anhaptoalbuminemic patients with antihaptoglobin antibody that causes anaphylactic transfusion reactions. *Blood*, 95: 1138—1143, 2000.
- 68) 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.
- 69) Lambin P, Le Pennec PY, Hauptmann G, et al: Adverse transfusion reactions associated with a precipitating anti-C4 antibody of anti-Rodgers specificity. *Vox Sang*, 47: 242—249, 1984.
- 70) Westhoff CM, Sipherd BD, Wylie DE, et al: Severe anaphylactic reactions following transfusions of platelets to a patient with anti-Ch. *Transfusion*, 32: 576—579, 1992.
- 71) Bergamaschini L, Mannucci PM, Federici AB, et al: Post-transfusion anaphylactic reactions in a patient with severe von Willebrand disease: role of complement and alloantibodies to von Willebrand factor. *J Lab Clin Med*, 125: 348—355, 1995.
- 72) Schwartz LB, Metcalfe DD, Miller JS, et al: Tryptase levels as an indicator of mast-cell activation in systemic anaphylaxis and mastocytosis. *N Engl J Med*, 316: 1622—1626, 1987.
- 73) Jacobs JF, Baumert JL, Brons PP, et al: Anaphylaxis from passive transfer of peanut allergen in a blood product. *N Engl J Med*, 364: 1981—1982, 2011.
- 74) Schwartz LB: Tryptase from human mast cells: biochemistry, biology and clinical utility. *Monogr Allergy*, 27: 90—113, 1990.
- 75) Castells MC, Irani AM, Schwartz LB: Evaluation of human peripheral blood leukocytes for mast cell tryptase. *J Immunol*, 138: 2184—2189, 1987.

- 76) Foster B, Schwartz LB, Devouassoux G, et al: Characterization of mast-cell tryptase-expressing peripheral blood cells as basophils. *J Allergy Clin Immunol*, 109: 287—293, 2002.
- 77) Boumiza R, Debard AL, Monneret G: The basophil activation test by flow cytometry: recent developments in clinical studies, standardization and emerging perspectives. *Clin Mol Allergy*, 3: 9, 2005.
- 78) Bühring 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.
- 79) Matsuyama N, Hirayama F, Wakamoto S, et al: Application of the basophil activation test in the analysis of allergic transfusion reactions. *Transfus Med*, 19: 274—277, 2009.
- 80) de Rie MA, van der Plas-van Dalen CM, Engelfriet CP, et al: The serology of febrile transfusion reactions. *Vox Sang*, 49: 126—134, 1985.
- 81) Decary F, Ferner P, Giavedoni L, et al: An investigation of nonhemolytic transfusion reactions. *Vox Sang*, 46: 277—285, 1984.
- 82) Brubaker DB: Clinical significance of white cell antibodies in febrile nonhemolytic transfusion reactions. *Transfusion*, 30: 733—737, 1990.
- 83) Imoto S, Kawamura K, Tokumine Y, et al: Acute non-hemolytic transfusion reactions and HLA class I antibody: advantages of solid phase assay compared with conventional complement-dependent assay. *Transfus Med*, 20: 95—103, 2010.
- 84) Heddle NM, Klama L, Singer J, et al: The role of the plasma from platelet concentrates in transfusion reactions. *N Engl J Med*, 331: 625—628, 1994.
- 85) Yazer MH, Podlosky L, Clarke G, et al: The effect of prestorage WBC reduction on the rates of febrile non-hemolytic transfusion reactions to platelet concentrates and RBC. *Transfusion*, 44: 10—15, 2004.
- 86) Paglino JC, Pomper GJ, Fisch GS, et al: Reduction of febrile but not allergic reactions to RBCs and platelets after conversion to universal prestorage leukoreduction. *Transfusion*, 44: 16—24, 2004.
- 87) King KE, Shirey RS, Thoman SK, et al: Universal leukoreduction decreases the incidence of febrile nonhemolytic transfusion reactions to RBCs. *Transfusion*, 44: 25—29, 2004.
- 88) Phipps RP, Kaufman J, Blumberg N: Platelet derived CD 154 (CD40 ligand) and febrile responses to transfusion. *Lancet*, 357: 2023—2024, 2001.
- 89) Blumberg N, Gettings KF, Turner C, et al: An association of soluble CD40 ligand (CD154) with adverse reactions to platelet transfusions. *Transfusion*, 46: 1813—1821, 2006.
- 90) Ghio M, Contini P, Mazzei C, et al: Soluble HLA class I, HLA class II, and Fas ligand in blood components: a possible key to explain the immunomodulatory effects of allogeneic blood transfusions. *Blood*, 93: 1770—1777, 1999.
- 91) Kunicki TJ, Newman PJ: The Molecular Immunology of Human Platelet Proteins. *Blood*, 80: 1386—1404, 1992.
- 92) Allen D, Rigsby P, Bessos H, et al: Collaborative study to establish the first international standard for quantitation of anti-HPA-1a. *Vox Sang*, 89: 100—104, 2005.
- 93) Campbell K, Rishi K, Howkins G, et al: A modified rapid monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigen assay for the detection of human platelet antigen (HPA) antibodies: a multicentre evaluation. *Vox Sang*, 93: 289—297, 2007.
- 94) Hayashi T, Amakishi E, Matsuyama N, et al: Establishment of a cell line panel as an alternative source of platelet antigens for a screening assay of anti-human platelet antibodies. *Transfus Med*, 21: 199—204, 2011.
- 95) Hayashi T, Amakishi E, Matsuyama N, et al: Detection of anti-human platelet antibodies against integrin $\alpha 2\beta 1$ using cell lines. *Blood Transfus*, 22: 1—8, 2012.
- 96) Lucas GF, Rogers SE: Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay kit (GTI PakPlus) for the detection of antibodies against human platelet antigens. *Transfus Med*, 9: 63—67, 1999.
- 97) Lubenko A, Savage J: Antigen capture ELISA for platelet antibody detection: choice of conjugate influences assay result. *Transfus Med*, 10: 213—218, 2000.
- 98) Brubaker DB: Human posttransfusion graft-versus-host disease. *Vox Sang*, 45: 401—420, 1983.
- 99) Juji T, Takahashi K, Shibata Y, et al: Post-transfusion graft-versus-host disease in immunocompetent patients after cardiac surgery in Japan. *N Engl J Med*, 321: 56, 1989.
- 100) Ginsburg D, Antin JH, Smith BR, et al: Origin of cell populations after bone marrow transplantation. Analysis using DNA sequence polymorphisms. *J Clin Invest*, 75: 596—603, 1985.
- 101) Hayakawa S, Chishima F, Sakata H, et al: A rapid molecular diagnosis of posttransfusion graft-versus-host disease by polymerase chain reaction. *Transfusion*, 33: 413—417, 1993.

- 102) Wang L, Juji T, Tokunaga K, et al: Brief report: polymorphic microsatellite markers for the diagnosis of graft-versus-host disease. *N Engl J Med*, 330: 398—401, 1994.
- 103) Sage D, Stanworth S, Turner D, et al: Diagnosis of transfusion-associated graft-vs.-host disease: the importance of short tandem repeat analysis. *Transfus Med*, 15: 481—485, 2005.
- 104) Azuma H, Yamaguchi M, Takahashi D, et al: Elevated Ca^{2+} influx-inducing activity toward mast cells in pretransfusion sera from patients who developed transfusion-related adverse reactions. *Transfusion*, 49: 1754—1761, 2009.
- 105) Wakamoto S, Fujihara M, Urushibara N, et al: Heterogeneity of platelet responsiveness to anti-CD36 in plasma associated with adverse transfusion reactions. *Vox Sang*, 88: 41—51, 2005.

APPROACH OF USING ESTABLISHED AND NEW LABORATORY TESTS TO MORE COMPREHENSIVELY INVESTIGATE NONINFECTIOUS AND NONHEMOLYTIC TRANSFUSION REACTIONS—ALONG WITH THE EXPERIENCE IN JAPAN

Fumiya Hirayama

Japanese Red Cross Kinki Block Blood Center

Keywords:

nonhemolytic transfusion reaction, laboratory test, haemovigilance