HLA 適合者の凍結リンパ球を用いた HPA-DNA タイピングによる HLA-HPA 適合献血者の選択

森下 勝哉 三谷 孝子 佐藤進一郎 加藤 俊明
中瀬 俊枝 池田 久實 関口 定美

北海道赤十字血液センター

(平成 9 年 7 月 17 日受付)

(平成 9 年 10 月 9 日受理)

SELECTION OF HLA-HPA-MATCHED BLOOD DONORS BY HPA-DNA TYPING WITH FROZEN LYMPHOCYTES ON HLA-MATCHED DONORS

Katsuya Morishita, Takako Mitani, Shinichiro Sato, Toshiaki Kato,
Toshie Nakase, Hisami Ikeda and Sadayoshi Sekiguchi
Hokkaido Red Cross Blood Center

HPA-alloimmunization is a major factor in refractoriness to HLA-matched platelet transfusion. Retrospective studies indicate that although HPA-matched platelet transfusion is effective in such cases, it is extremely difficult to deal with such situations prospectively. We report a case of successful transfusion of HPA-matched platelets selected by HPA-DNA typing with frozen lymphocytes of HLA-matched donors. The patient was a 51-year-old male with CML who developed HLA antibodies after multiple transfusion of random platelets. However, HLA-matched platelets were ineffective. Further serological tests including monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (MAIPA) revealed that he also possessed HPA-3a antibody, which appeared to be responsible for the refractoriness. HPA-DNA typing by the PCR-SSP method indicated that his HPA-3 type was b/b and those of refractory donors were HPA-3a/a or HPA-3a/b. By HPA-3 typing with 122 frozen lymphocytes of HLA-matched donors, 14 donors were found to be HPA-3b/b. HLA-HPA matched platelets from these donors were shown to be effective, indicating that refractoriness in this patient was due to HPA-3a-alloimmunization. The method described here for selection of HLA-HPA matched donors is effective under the following circumstances: 1) a considerable number of HLA-matched donors and their frozen lymphocytes are available; 2) HPA matching frequency of a given case is not rare; and 3) transfusion of matched platelets is expected to be terminated in a limited period.

Key words: alloimmunization, MAIPA (monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens), PTR (platelet transfusion refractoriness), HPA-DNA typing, HLA-HPA matched donors

緒 言

近年の血小板輸血の増加に伴い、血小板輸血不応答 (PTR: platelet transfusion refractoriness) が新たな問題となり、その原因の解析及び対策が重要視されている。HLA 抗原感作が成立した症例に対しては HLA 適合血小板を輸血すれば、大

部分の患者で輸血効果が得られるが、一部の患者では輸血効果が認められない事がある¹⁾。その免疫学的原因として、最も考えられるのは HPA (human platelet antigens) による同種抗原感作であり²⁾、その対策として HPA 適合血小板輸血の有効性が報告されている^{3)~5)}。しかし、現在のとこ

ろ HLA と HPA 型の両方を適合させた血小板製剤を供給する事は極めて困難であり、実際にその対応を試みた報告例はわずかにすぎない⁶⁾。

最近、HPA 型検査に DNA タイピングが導入されるようになり、迅速、簡便かつ大量に検査する事が可能となった。そこで、今回著者らは広範囲な抗 HLA 抗体と抗 HPA-3a 抗体を保有する症例に対し、HLA 適合者の凍結保存リンパ球を用いて HPA-3 型の DNA タイピングを行い、HPA 型適合者 (HPA-3b/b) を選択する方法を検討し、実際に HLA-HPA-3 型適合血小板輸血を試みたので報告する。

材料および方法

1. 材料

パネル血小板として、PSIFT-FCM (platelet suspension immunofluorescence test-flow cytometry)⁷⁾法にはランダムに選んだ 5 例の血小板浮遊液 ($1 \times 10^5/\mu\text{l}$) を、MAIPA (monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens) 法⁸⁾には、PCR-SSP (sequence specific primer) 法⁹⁾及び PCR-SSCP (single strand conformation polymorphism) 法¹⁰⁾で HPA 型 (HPA-1, 2, 3, 4, 5) を調べた 5 例の血小板浮遊液 ($1 \times 10^5/\mu\text{l}$) を使用した。

パネルリンパ球は、HLA 型既知ドナーの 24 例のリンパ球浮遊液 ($3 \times 10^3/\mu\text{l}$) を使用した。

各種血小板膜糖蛋白に対するモノクローナル抗体として P2 (抗 GPIIb/IIIa: Immunotech 社製)、SZ2 (抗 GPIb: Immunotech 社製)、4B4 (抗 GPIa/IIa: Coulter 社製) の 3 種類を使用した。

血小板同種抗体陰性血清は、輸血歴のない AB 型の男性血清を使用した。

HLA 登録者、患者及び実際の輸血ドナーの HPA-DNA タイピングにはそれぞれのリンパ球を使用した。なお、HLA 登録者のリンパ球については、採血後液体窒素 (-196°C) で凍結保存したリンパ球を解凍して使用した。

2. 血小板同種抗体の検出

1) γ -AHG-LCT 法¹¹⁾

患者血清中の抗 HLA 抗体の検出は γ -AHG-LCT 法¹¹⁾で実施した。すなわち、最初に患者血清

を、DEAE Affi Gel Blue (BIO RAD 社) により γ -グロブリン分画し、濃縮処理した。そしてその患者濃縮血清を $2\mu\text{l}$ と 24 例のパネルリンパ球各 $1\mu\text{l}$ ($3 \times 10^3/\mu\text{l}$) の組み合わせを 2 系列作製し、それぞれ室温で 30 分間反応させた。次に、生食液で 2 回洗浄をした後、抗ヒト L 鎖 κ 型と λ 型血清 (ヘキスト社製) を各系列に $1\mu\text{l}$ 加えて 2 分間反応させ、さらに ABC 補体 (ONE LAMBDA 社製) を $5\mu\text{l}$ 加えて 60 分間反応させた。その後 5% エオジン染色とホルマリン固定を行い、倒立位相差顕微鏡にて死細胞 (エオジン陽性細胞) の割合から、抗 HLA 抗体の有無を判定した。

2) PSIFT-FCM 法⁷⁾

患者血清中の抗血小板 (非 HLA) 抗体の検出は PSIFT-FCM 法⁷⁾で実施した。すなわち、パネル血小板をクエン酸 buffer (PH 3.0) で酸処理し¹²⁾、1% PFA (paraformaldehyde) で固定した。そして、その血小板浮遊液 ($1 \times 10^5/\mu\text{l}$) $25\mu\text{l}$ と患者血清 $25\mu\text{l}$ を 37°C , 45 分間反応させ、10mM EDTA 加 PBS で 2 回遠心洗浄を行った。次に至適濃度に調整した PE 標識抗ヒト IgG, IgM (Jackson 社製) を各 $50\mu\text{l}$ 加えて、室温で 30 分間反応させ、再び 10mM EDTA 加 PBS で 2 回遠心洗浄を行った後、FACS_{CAN} (Becton-Dickinson 社製) を用いて、蛍光強度を測定し、抗血小板 (非 HLA) 抗体の有無を判定した。

3. MAIPA 法

患者血清中の抗 HPA 抗体の同定は、MAIPA 法⁸⁾で行った。すなわち、至適濃度に希釈したヤギ抗マウス IgG (Jackson 社製) を EIA プレートに $100\mu\text{l}$ /ウェル加えて 4°C 、一晚静置し、コーティングプレートを作成した。これとは別に、パネル血小板浮遊液各 $25\mu\text{l}$ と患者血清 $25\mu\text{l}$ を 4°C 、一晚反応させ、PBS で 1 回遠心洗浄後、血小板膜糖蛋白に対する 3 種類のモノクローナル抗体を至適濃度に希釈し、それぞれ $100\mu\text{l}$ 加え、 37°C , 30 分間反応させた。これらの血小板抗原—患者抗体—抗血小板膜糖蛋白モノクローナル抗体の複合物を PBS で 3 回遠心洗浄した後、 $100\mu\text{l}$ の 0.5% Triton-X 加 50mM TBS (Tris-buffered-saline) で可溶化 (4°C , 30 分間) した。その可溶化したサ

ンプルを遠心し、上清50 μ lを先に作成したコーティングプレートに入れ、TBS-wash-buffer (TBS-0.5% Triton-X, 0.05% Tween20, 0.5 mM CaCl₂)50 μ lを加えて、4°C, 90分間反応させた。その後ウェル内をTBS-wash-bufferで4回洗浄し、至適濃度に希釈したペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ヒトIgG (Jackson社製)を100 μ l加え4°C, 120分間反応させた。再びウェル内をTBS-wash-bufferで5回洗浄し、フェニルジアミン加クエン酸 buffer (含30% H₂O₂)を基質として100 μ l加え、暗所で15分間反応させた。最後は2N H₂SO₄ 50 μ lを加えて反応を停止し、波長492nmの吸光度を測定した。患者血清に認められた抗HPA抗体の特異性は、HPA既知のパネル血小板のアンチグラムを用いて同定した。なお、陽性の判定は陰性対照のOD値の2倍以上とした。

4. PCR-SSP法によるHPA型のDNAタイピング

HPA-3型のDNAタイピングはTanakaらのAS-PCR法⁹⁾に準じ、PCR-SSP法により行った。すなわちHLA登録者及び患者のリンパ球にPK-Cocktail (BRL社製)を100 μ l加え、DNAを抽出した。その後56°C60分、95°C10分の熱処理を行い、上清をDNAサンプルとして用いた。DNAサンプルは滅菌水で50ng/mlに調整し、プライマーとしてHPA-3aは5'-GGACTGGGGGCTGCCCCA-T-3', HPA-3bは5'-CAGGTGGACTGGGGGCT-GCCCAG-3', また3a, 3bの共通プライマーは5'-GAGAGCCTGCTCACTACGAG-3'を用いた。DNA増幅は5mMのd-NTPを1 μ l, 10倍に濃縮したPCR buffer 2.5 μ l, DNAサンプル2 μ l, 2対のプライマーを2 μ lずつ加え、0.1 μ lのTaq-polymerase 5Uの存在下で、thermal cycler (Perkin-Elmer社製)を用いて95°C45秒, 71°C60秒を1サイクルとし、それを27サイクル繰り返した後、さらに72°C5分により行った。その増幅産物をethidium bromideを加えた2% agarose gelに添加し、電気泳動を行った。泳動後は、バンドの有無 (HPA-3a: 138bp, HPA-3b: 143bp)を紫外線照射下で判定した。

5. 血小板輸血効果の判定

輸血効果は輸血後24時間前後の患者の血小板数から下記に示す計算式に従い補正血小板増加数 (CCI: corrected count increment)を算出し、24時間値のCCI (10⁴)が0.5未満の場合を輸血効果不応とした。

CCI =

$$\frac{(\text{輸血後血小板数} - \text{輸血前血小板数}) \times \text{体表面積 (m}^2\text{)}}{\text{輸血血小板数 (10}^{11}\text{)}}$$

結 果

1. 症例

患者は51歳の男性、慢性骨髄性白血病のblastic crisisのため、ランダム血小板輸血を頻回に受けていた。その後、PTRを呈したため、患者血清中の血小板同種抗体を検索した結果、抗HLA抗体、抗血小板 (非HLA) 抗体ともに陽性を示した (Table 1)。この時点では後述のMAIPA法の結果は不明であり、患者に脾腫も存在していたが、出血傾向が増悪してきたので緊急的にHLA適合血小板輸血による対応を行った。この輸血により出血傾向は改善されたものの、24時間値CCI ($\times 10^4$)は0.2以下で、ほぼ連日の血小板輸血を余儀なくされた (Table 2)。輸血時の交差適合試験はいずれも γ -AHG-LCT法が陰性であった。また#3のA型の1回を除いてABO式同型輸血であった。したがってPTRの主な原因として、患者の脾腫あるいはHPA抗原感作が推定された。

2. PTRの原因解析

HLA適合血小板輸血無効との情報に基づき、患者血清とHPA型既知のパネル血小板を用いてMAIPA法を実施した結果、#3, #4, #5のGP IIb/IIIa上の抗原のみに陽性が認められた (Table 3)。これらのパネル血小板のアンチグラムより、

Table 1 Patient characteristics

Patient:	51-year-old male
Disease:	CML
ABO-Type:	B
HLA-class 1-Type:	A24, A31, B51, B13
Alloantibodies in the serum:	
	γ -AHG-LCT: positive (anti-HLA-A2, A26)
	PSIFT-FCM: positive (anti-non-HLA)

Table 2 Results of HLA-matched platelet transfusions

Donor	ABO-type	HLA-type		Grade	Crossmatch test (γ -AHG-LCT)	24 hr. CCI (10 ⁴)
#1	B	A24,	B51, B52	B2UX	—	−0.16
#2	B	A24,	B51, B61	B3UX	—	0.12
#3	A	A24, A31, B51, B61		B2X	—	−0.81
#4	B	A24, A31, B51, B61		B2X	—	−0.20
#5	B	A24	B51, B52	B2UX	—	0.10
#6	B	A24, A31, B52		B1U	—	0.08

Table 3 MAIPA assay with patient sera

Platelet panel	HPA-type					Monoclonal antibody		
	1	2	3	4	5	P2	SZ2	4B4
#1	a / a	a / a	b / b	a / a	a / b	—	—	—
#2	a / a	a / a	b / b	a / a	a / a	—	—	—
#3	a / a	a / a	a / b	a / a	a / a	+	—	—
#4	a / a	a / b	a / a	a / b	a / a	+	—	—
#5	a / a	a / a	a / a	a / a	a / a	+	—	—

Fig. 1 HPA-3 Genotyping of the patient and platelet donors by the PCR-SSP method. Specific PCR products were observed as 138 bp (HPA-3a) and 143 bp (HPA-3b) bands. patient (P) ; HPA-3b/b, refractory donors ; HPA-3a/b(A) or HPA-3a/a(B)

患者血清中の HPA 抗体は抗 HPA-3a 抗体と
同定された。このように患者が抗 HPA-3a 抗体を
保有していることが判明したのは計 4 回の HLA 適
合血小板輸血後であった。
また患者及び PTR を示した 6 名のドナーのリ
ンパ球を使用し、HPA-3 型の DNA タイピングを

SSP 法で行った。Fig. 1 に患者(P)とドナー 6 名
中 2 名(A, B)のタイピング結果を示した。患者
のリンパ球は 3b のみに増幅バンドが見られ、
HPA 型は 3b/b であった。一方、6 名のドナーの
HPA 型は 3a/b (A) か 3a/a (B) のいずれかであ
った。

これらの結果から、本症例における HLA 適合血小板輸血における PTR の原因は、HPA-3a 抗原による同種抗原感作に起因することが示唆された。

Fig. 2 Selection of HLA-HPA-matched donors

3. HLA-HPA 型適合血小板輸血

Fig. 2 に示したように、患者と HLA 型が適合した血小板献血登録者約150名のうち、リンパ球を凍結保存していた122名のドナーリンパ球から DNA を抽出し、HPA-3型の DNA タイピングを SSP 法で行った。この中から最終的に患者と HLA 及び HPA-3型が適合する HPA-3b/b の登録者14名を選択した。

HLA-HPA 型適合血小板輸血の効果及び交差適合試験 (γ -AHG-LCT 法, MAIPA 法) の結果を Fig. 3 に示した。1 回から 6 回目までの HLA 型のみ適合した血小板輸血では、明らかに輸血効果が無効であったのに対し、7 回目以降の HLA-HPA-3型の適合血小板輸血では、24時間値 CCI ($\times 10^4$)が0.8以上と、十分な輸血効果が得られた。ただし、CCI ($\times 10^4$)がたかだか1.0にとどまったのは脾腫の存在が関係しているかもしれない。

考 察

HLA 抗原感作による PTR には、HLA 適合血小板輸血で十分な輸血効果が得られる場合が多い。しかし、頻度的には少ないものの、HPA 抗原感作も PTR の原因になることが報告されている^{3)~5)}。ただし実際上は HPA 型の適合性については十分検討されていないのが現状である。その理由として、従来の血清学的な HPA 型のタイピングでは抗血清の入手が困難であることや、大量か

Fig. 3 Results of HLA-HPA-matched platelet transfusion

つ迅速な HPA タイピング検査が不可能であったことなどが挙げられる。しかし、近年の HPA-DNA タイピング技術の向上により、これらの問題は徐々に解決されつつある。

現在のところ HLA-HPA 型適合者の選択方法として、血小板献血登録者についてあらかじめ HLA 型と HPA 型検査を実施しておき、それらの登録者から適合者を選択する方法と、HLA 型適合者が選択された段階で、HPA 型検査を実施し、適合者を選択する方法が考えられる。前者は、HLA-HPA 不適合による PTR を示す症例には最善の方法である。しかし全ての血小板献血登録者に HPA 型検査を併せて実施することは、コスト及び作業性等の面で大きな支障となる。ただし、不適合による PTR を示す頻度が高い HPA-2 型については血小板献血登録者の型検査の実施が必須であるとの考えもある⁹⁾。一方、後者については、HPA 型の DNA タイピングの普及により容易に多検体の HPA 型検査が可能になったことから、血小板献血登録者の凍結リンパ球を用いて HPA 型検査を行うことで容易に HLA-HPA 型適合者の選択が可能となることが考えられる。そこで、今回著者らは HLA 型適合者の凍結リンパ球を用い、HPA 型の DNA タイピングを実施して HLA-HPA 型適合者を選択する方法を採用し、実際に HLA 及び HPA 抗原感作が成立して PTR を示した患者に HLA-HPA 型適合血小板輸血の対応を試み、十分な輸血効果を得ることができた例を報告した。

Stein ら⁶⁾は著者らと同様の症例に対し、数人の HLA 型適合ドナーに献血を要請し、そこで得られたリンパ球を使用して PCR-SSP 法を行い、迅速に HPA 型適合者を選択して HLA-HPA 型適合血小板を供給し、良好な輸血効果を得た 1 症例を報告している。しかし、この方法は HPA 型適合率が高い場合には、一次的な対応として可能であるが、継続的に血小板輸血が必要な場合にはそのつどドナーを選択し、検査を実施しなければならない。今回、著者らが試みた方法は、まず HLA 型で選択された適合ドナーに対して、凍結リンパ球を用いて一度に HPA 型適合ドナーの検索が可能

であることから、継続的な HPA 適合血小板輸血のためのドナー確保にも有用な方法と考えられた。

ただし、このためには、下記に示す条件 1)～3) が前提となる。

- 1) HLA 型適合ドナー数が多く、しかもそれらのリンパ球が凍結保存されていること。
- 2) 患者の HPA 抗原頻度¹³⁾が稀ではないこと。
- 3) 患者が頻回かつ長期に渡る血小板輸血を必要としないこと。

今回の症例では、HLA-HPA 型適合血小板を供給するまでに 10 日間で 6 回の HLA 適合血小板輸血を行った。このように短期間で頻回輸血に至った主な原因は患者の出血傾向が増悪したため緊急的に血小板輸血を必要としたことに加え、MAIPA 法の手技が煩雑であり、同定にも時間を要したためである。ただし、MAIPA 法の結果が判明し HLA-HPA 型適合血小板の供給を開始するまでランダム血小板で対応することを検討すべきであったかもしれない。

122 人の HLA 適合者の凍結保存リンパ球による DNA タイピングは 1 日の作業時間内で終了可能であった。

このように HLA-HPA 型適合者の選択に長時間を要しないのであれば、著者らの方法は HPA 型ドナープールが確立されていない場合には有効な方法であると思われる。

HPA 型の DNA タイピングには、SSP 法⁹⁾¹⁴⁾、RFLP 法¹⁵⁾、SSCP 法¹⁰⁾、PHFA 法¹⁶⁾、などの方法があるが、簡便性、迅速性の点で SSP 法は優れている。最近、Klüter ら¹⁷⁾は、SSP 法について PCR の条件検討を行い、採血から HPA 型判定まで 3 時間程度で検査ができる方法を報告しており、さらに短時間での HPA 検査が可能と考えられる。

さて、HLA 抗原感作は白血球除去フィルターの使用によって減少すると考えられるが、HPA 抗原感作に関しては、その感作メカニズムがまだ解明されるに至っていないため、予防的手段がないのが現状である。そのため、HPA 抗原感作の防止対策が明らかになるまでは、抗 HPA 抗体によ

る PTR 症例に対し、HPA 型適合ドナーを選択して輸血する必要性は高く、著者らが試みた凍結リンパ球による HPA 型適合ドナーの選択方法は簡便かつ効率的な方法と考えられる。したがって、今回のような HLA-HPA 抗原感作による PTR のみならず、HPA 型の母子不適合による同種免疫性新生児血小板減少症や HPA 型不適合による輸血後紫斑病¹⁸⁾で血小板減少となる場合の HPA 型適合血小板の選択についても、特別に緊急性を要しない限り今回と同様なシステムで対応できるものと考えている。

まとめ

HPA 抗原感作が原因と考えられる HLA 適合血小板輸血の PTR 症例に対し、凍結保存してあった HLA 適合者のリンパ球をサンプルとして HPA 型の DNA タイピングを行い、HLA-HPA 型適合血小板輸血の対応を行った。そして十分な輸血効果を得ることができた。

この方法は HLA-HPA 型適合血小板輸血の対応策として、有用なシステムと考えられた。

文 献

- 1) 関口定美, 三谷孝子, 大沼みき, 他: HLA 適合血小板輸血無効患者における HLA 適合血小板輸血の経験. 北海道医誌, 63: 552—661, 1988.
- 2) 関口定美, 池田久實: 血小板同種特異抗原. Annual Review 血液 中外医学社: 179—187, 1992.
- 3) Saji, H., Maruya, E., Fujii, H., et al.: New platelet antigen, Sib^a, involved in platelet transfusion refractoriness in Japanese man. Vox Sang., 56: 283—287, 1989.
- 4) 坊池義浩, 荒木延夫, 成瀬妙子, 他: 頻回血小板輸血患者の血小板同種抗体と HPA-2b 適合の重要性. 日輸血会誌, 38: 441—445, 1992.
- 5) 三谷孝子, 折原 武, 荒関みき, 他: HPA-5b (Br-a) 抗原感作による血小板輸血不応例. 日輸血会誌, 39: 714—719, 1993.
- 6) Stein, S., Drabbels, J., Sant, P., et al.: The use of DNA typing for human platelet specific antigens in the daily routine: A case report. Vox Sang., 71: 131, 1996.
- 7) Borne, A.E.G.Kr. von dem, Verheugt, F.W.A. and Oosterhof, et al.: A simple immunofluorescence test for the detection of platelet antibodies. Br.J. Haemat., 39: 195, 1978.
- 8) Kiefel, V., Santoso, S., Weisheit, M., et al.: Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): A new tool for the identification of platelet reactive antibodies. Blood, 70: 1722—1726, 1987.
- 9) Tanaka, S., Taniue, A., Nagao, N., et al.: Simultaneous DNA typing of human platelet antigens 2,3 and 4 by an allele-specific PCR Method. Vox Sang., 68: 225—230, 1995.
- 10) Fujiwara, K., Tokunaga, K., Isa, K., et al.: DNA-Based typing of human platelet antigen systems by polymerase chain reaction-single-strand conformation polymorphism method. Vox Sang., 69: 347—351, 1995.
- 11) 大沼みき, 芳賀寛史, 三谷孝子, 他: 血清グロブリン分画の抗 HLA 抗体活性, 第12回日本血液事業学会総会抄録集. 血液事業, 8(増刊号): 62, 1988.
- 12) Kurata, Y., Oshida, M., Take, H., et al.: New approach to eliminate HLA-class I antigen from platelet surface without cell damage; acid treatment at PH3.0. Vox Sang., 57: 199—204, 1989.
- 13) 永尾暢夫, 谷上純子, 大久保康人, 他: 血小板抗体の生体内における持続期間及び血小板抗原頻度と免疫の機会. 日輸血会誌, 38: 435—440, 1992.
- 14) Skogen, B., Bellissimo, D., Hessner, M., et al.: Rapid determination of platelet alloantigen genotypes by polymerase chain reaction using allele-specific primers. Transfusion, 34: 955—960, 1994.
- 15) Anderson, B.R., Georgen, J., Madsen, H.O., et al.: Human platelet antigen-1 (ZW) typing using PCR-RFLP. Transfus. Med., 3: 153—156, 1993.
- 16) Fujiwara, K., Isa, K., Oka, T., et al.: Large-scale DNA Typing for human platelet alloantigens by PCR-PHFA (preferential homoduplex formation assay). Brit. J. Haemat., 95: 198—203, 1996.
- 17) Klüter, H., Fehlau, K., Panzer, S., et al.: Rapid typing for human platelet antigen (HPA)-systems-1, -2, -3, and-5 by PCR-SSP. Vox Sang., 71: 121—125, 1996.
- 18) Win, N., Peterkin, M., Watsoson, W., et al.: The therapeutic value of HPA-1a-Negative platelet transfusion purpura complicated by life-threatening haemorrhage. Vox Sang., 69: 138—139, 1995.