한국인에서 과립구항원 HNA-3 유전자 빈도

한태희¹ · 한규섭²

인제대학교 상계백병원 진단검사의학과¹, 서울대학교병원 진단검사의학과²

Gene Frequency of Human Neutrophil Alloantigen-3 in the Korean Population

Tae Hee Han¹, Kyou Sup Han²

Department of Laboratory Medicine, Inje University Sanggye Paik Hospital¹, Seoul National University Hospital², Seoul, Korea

Background: In the Korean population, gene frequencies of Human Neutrophil Alloantigen-1 (HNA-1), HNA-2, HNA-4, and HNA-5 were determined using serological and genotyping methods. However, no study assessing the gene frequencies of HNA-3 among the Korean population has been conducted. The aims of this study were to report the gene frequencies of HNA-3, to estimate the risk of HNA-3a (or HNA-3b) alloimmunization, and to secure donors of granulocytes for anti-HNA-3 antibodies among the Korean population.

Methods: Genotyping of HNA-3a and HNA-3b genes of 110 healthy and unrelated Korean donors was performed using a polymerase chain reaction with sequence-specific primers.

Results: The observed frequencies of HNA-3a and HNA-3b were 0.695 and 0.305, respectively, among the Korean population. The HNA-3a gene frequency of Koreans was significantly lower than those of American Whites and Germans ($P < 0.05$). The risk of HNA-3a and HNA-3b alloimmunization due to pregnancy (transfusion) was 0.065 (0.084) and 0.147 (0.250), respectively, among the Korean population. The risk of HNA-3a alloimmunization was significantly higher in the Korean population than in the German and American White populations ($P < 0.05$).

Conclusion: The gene frequencies of HNA-3 and the risk of HNA-3a (HNA-3b) alloimmunization due to pregnancy or transfusion among the Korean population were determined. We also identified individuals who were HNA-3a/3a or HNA-3b/3b for the granulocyte panel which could be used for anti-HNA antibody identification. (Korean J Blood Transfus 2015;26:185-192)

Key words: Human Neutrophil Alloantigen-3 (HNA-3), Gene frequency, Alloimmunization

Received on April 27, 2015. Revised on May 12, 2015. Accepted on May 20, 2015

Correspondence to: Tae Hee Han

Department of Laboratory Medicine, Inje University Sanggye Paik Hospital, 1342 Donggil-ro, Nowon-gu, Seoul 139-707, Korea

Tel: 82-2-950-1228, Fax: 82-2-950-1274, E-mail: taeheehan@paik.ac.kr

This study was supported by a research grant (2011) from Inje University.

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.
Copyright © 2015 The Korean Society of Blood Transfusion

서론

과립구항원(Human Neutrophil Alloantigen, HNA)은 주로 중성구 표면에 존재하며 과립구항체와 결합하여 신생아면역호중구감소증(neonatal alloimmune neutropenia: NAN), 발열성수혈반응(febrile transfusion reaction: FTR), 수혈관련급성폐손상(transfusion-related acute lung injury: TRALI) 등의 질환을 일으킨다.¹⁾ 국제수혈학회는 1999년 이들 과립구항원을 5개의 항원군(HNA-1,-2,-3,-4,-5)으로 분류하고 기존의 항원들은 이 시스템에 맞추어 다시 명명하였다.²⁾ 이 중 HNA-3a에 항HNA-3a 항체가 결합하면 심각하고 치명적인 수혈관련급성폐손상을 일으켜 HNA-3a 항원/항체검사가 안전한 수혈을 위해 필요하다.^{3,4)} 하지만 최근까지 HNA-3a 항원이 70~95 kDa의 당단백이라는 사실 이외는 알려진 것이 없어 HNA-3a 유전자검사를 할 수 없었고 항HNA-3a 혈청도 매우 희귀해서 HNA-3a 항원/항체검사를 일부 표준검사실에서만 시행할 수 있었다.^{5,6)}

Greinacher 등이 2010년 HNA-3a의 유전자가 19번 염색체의 Cholin transporter-like protein (CTL) 2 유전자(*SLC44A2*1*)임을 입증하였고 이 유전자의 461번 단일염기의 치환(461G>A; Arg154Gln)에 의해 공우성 쌍대립형질 다형성(codominant biallelic polymorphism)을 나타냄을 확인하였다.^{7,8)} 이후 염기서열특이-중합효소연쇄반응(PCR-SSP)을 이용한 HNA-3 유전자 검사가 확립되어 다양한 인구집단의 HNA-3 유전자 빈도가 조사되었고,⁹⁻¹²⁾ 항HNA-3a 항체 검사에 이용할 과립구를 제공할 공혈자의 확인과 확보가 표준검사실 이외에도 가능해졌다.

저자는 이번 연구에서 한국인을 대상으로 HNA-3 유전자의 빈도를 확인하여 한국인에서 HNA-3에 의한 동종면역의 위험도를 평가하고 가능하다면

항HNA-3 항체 검사에 사용할 수 있는 과립구 공혈자 확보의 가능성을 확인하고자 한다.

대상 및 방법

1. 대상

2004년 7월부터 2005년 6월까지 본원 혈액원을 방문한 공혈자 110인부터 2~3 mL의 혈액을 채취하여 HNA-4와 HNA-5 유전형 검사에 이용하였고¹³⁾ 사용 후 남은 DNA를 이용하여 2014년 10월에 HNA-3 유전형 검사를 실시하였다. 공혈자는 남성 70명, 여성 40명이었고 평균 연령은 25세(25 ± 6.9 세[평균 $\pm$ 표준편차], 범위 18~52세)였다.

2. 염기서열특이-중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction-sequence specific primers: PCR-SSP)을 이용한 HNA-3a/3b 유전형 검사

1) DNA 추출

DNA의 추출은 QIAamp DNA Blood Mini kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)를 이용하였고 키트의 지침서 그대로 시행하였다. DNA를 추출한 뒤 HNA-4와 HNA-5 유전형 검사에 이용하였고¹³⁾ 남은 DNA는 2014년 10월까지 약 10년 간 -70°C 에 보관하였다.

2) HNA-3a/3b 유전형검사

HNA-3a/3b 유전형검사를 위해 Reil 등⁹⁾이 개발한 PCR-SSP검사법을 이용하였다. HNA-3a의 특이 시발체는 HNA-3a forward (5'-AGT GGC TGA GGT GCT TCG-3')을, HNA-3b의 특이 시발체는 HNA-3b forward (5'-GAG TGG CTG AGG TGC TTC A-3')를 사용하였고 공통시발체로 HNA-3 reverse (5'-GTG CGC CAA TAT CCT CAC TTG-3')을 사용하였다. 모든 검사에서 human growth hor-

mone (HGH) gene을 증폭하는 HGH I (5'-CAG TGC CTT CCC AAC CAT TCC CTT A-3')과 HGH II (5'-ATC CAC TCA CGG ATT TCT GTT GTG TTT C-3') 시발체를 내부 양성대조 시발체로 사용하였다. *AccuPower PyroHotstart Taq PCR Premix* (Bioneer, Daejeon, Korea)에 100 ng의 DNA와 시발체를 각각 10 pmole (내부 양성대조 시발체 각각 3 pmole)을 넣고 증류수로 총 20 μ L의 반응액을 만들어 PCR을 시행하였다. 증폭은 iCycler (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)를 이용하였고 95°C에서 5분 초기변성 후 95°C 1분 변성, 60°C 1분 결합, 75°C 1분 확장으로 30 cycle을 시행하였다. PCR 산물 10 μ L를 ethidium bromide를 함유한 2% agarose gel에서 100 V에서 25분 전기영동 후 자외선으로 PCR 산물을 확인했다. HNA-3a/3b는 291 bp, HGH는 439 bp의 산물이 나온다

3) 통계

유전자빈도는 유전자수를 세어서 구하였다. 관찰되는 유전자 빈도가 Hardy-Weinberg equilibrium을 만족하는지 검증하기 위하여 Hardy-Weinberg equation에 따라 기대 유전자 빈도를 계산하여 Chi-square test로 검증하였다($P < 0.05$). 논문으로 보고된 일본인,¹¹⁾ 중국인,¹⁰⁾ 미국백인,^{12,14,15)} 독일인^{9,16-18)}의 모든 HNA 유전자 빈도와 한국인의 유전자빈도의^{13,19)} 차이를 Chi-square test를 이용하여 검증하였다($P < 0.05$).

동종면역위험률(Risk of alloimmunization)는 De La Vega Elena 등²⁰⁾이 사용한 공식을 이용하여 계

산하였다(Table 1). HNA-3a에 대한 동종면역위험률(Risk of HNA-3a alloimmunization)은 한 인구 집단에서 HNA-3b/3b인 사람이 수혈 혹은 임신에 의해 HNA-3a 항원에 노출될 가능성을 계산한 값이고 HNA-3b 동종면역위험률(Risk of HNA-3b alloimmunization)은 한 인구집단에서 HNA-3a/3a인 사람이 수혈 혹은 임신에 의해 HNA-3b 항원에 노출될 가능성을 계산한 값이다(Table 1). HNA-3 부적합률(HNA-3 incompatibility)은 두 위험도를 합하여 계산하였다(Table 1). 한국인의 HNA-3a 동종면역위험률, HNA-3b 동종면역위험률, HNA-3 부적합률이 다른 인구집단(일본인, 중국인, 미국백인, 독일인)과 차이가 있는지 검증하기 위해 Chi-square test를 이용하여 검증하였다($P < 0.05$).

결 과

HNA-3a/3a, HNA-3a/3b, HNA-3b/3b의 빈도가 각각 0.473 (52/110), 0.445 (49/110), 0.082 (9/110)이었다. 관찰된 HNA-3a와 HNA-3b의 유전자 빈도는 각각 0.695 (153/220)와 0.305 (67/220)로 Hardy-Weinberg equilibrium을 충족하는 기대 유전자빈도와 유의한 차이가 없었다(Table 2, $\chi^2=0.293$, $P=0.695$).

한국인의 HNA-3a 유전자 빈도는 0.793인 독일인($P < 0.05$)과 0.770인 미국백인($P < 0.05$)에 비해 유의하게 낮았고 중국인($P=0.036$), 일본인($P=0.050$)과는 유의한 차이가 없었다(Table 3). 문헌으로 조

Table 1. The formulas²⁰⁾ to calculate the risk of alloimmunization by pregnancy or transfusion and HNA-3 incompatibility

Risk of alloimmunization (pregnancy) = $(1 - pm)^2 \times pf$
Risk of alloimmunization (transfusion) = $(1 - pp)^2 \times (2pd - pd^2)$
HNA-3 incompatibility (pregnancy/transfusion) = Risk of HNA-3a alloimmunization + Risk of HNA-3b alloimmunization

Abbreviations: pm, gene frequency of maternal population; pf, gene frequency of paternal population; pp, gene frequency of patient's population; pd, gene frequency of donor's population.

사한 기타 HNA 항원의 유전자 빈도도 Table 3에 요약하였는데 한국인의 HNA-1a, -5a 유전자 빈도가 모두 독일인($P < 0.05$)과 미국백인($P < 0.05$)보다 유의하게 높았다(Table 3).

임신으로 인한 HNA-3a 동종면역위험률(pm=0.695, pf=0.695), HNA-3b 동종면역위험률(pm=0.305, pf=0.305), HNA-3 부적합률(HNA-3a 동종면역위험률+HNA-3b 동종면역위험률)은 각각 0.065, 0.147, 0.212이었고 수혈로 인한 HNA-3a 동종면역위험률(pp=0.695, pd=0.695), HNA-3b 동종면역위험률(pp=0.305, pd=0.305), HNA-3 부적합률은 각각 0.084, 0.250, 0.334였다. 다른 인구집단의 HNA-3a 동종면역위험률, HNA-3b 동종면역위험률은 Table 4에 요약하였다. 임신과 수혈에 의한

한국인의 HNA-3a 동종면역위험률이 독일인의 HNA-3a 동종면역위험률($P < 0.05$)과 미국 백인의 HNA-3a 동종면역위험률($P < 0.05$)보다 각각 유의하게 높았고 일본인, 중국인과는 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

고 찰

HNA-3 항원은 1964년 van Leeuwen 등이 다산력의 여성의 혈청을 이용하여 그 존재를 처음으로 증명하였고 group five system (5b and 5a)이란 명칭을 붙였다. 국제수혈학회는 1999년 과립구항원을 5개의 항원군(HNA-1,-2,-3,-4,-5)으로 분류하고 기존의 항원들은 이 시스템에 맞추어 다시 명

Table 2. Comparison of observed and expected HNA-3 gene frequencies in Korean population (n=110)

	Observed Frequency	Expected Frequency	Hardy-Weinberg analysis
HNA-3a/3a	0.473 (52/110)	0.483	$\chi^2=0.293$
HNA-3a/3b	0.445 (49/110)	0.424	$P=0.695$
HNA-3b/3b	0.082 (9/110)	0.093	

Table 3. Reported human neutrophil all antigen (HNA) distribution in Korean and other populations

HNA system	Korean ^{13,19)}	Japanese ¹¹⁾	Chinese ¹⁰⁾	American White ^{12,14,15)}	German ^{9,16-18)}
HNA-1a (NA1)	0.520	0.623	0.667	0.370*	0.373*
HNA-1b (NA2)	0.480	0.377	0.333	0.630*	0.627*
HNA-1c (SH)	0.000	0.000	0.000	0.003	0.025
HNA-2a+ (NB1)	0.620	0.987	1.000	0.970	-
HNA-2a-	0.380	0.013	0.000	0.030	-
HNA-3a (5b)	0.695 [†]	0.654	0.738	0.770*	0.793*
HNA-3b	0.305 [†]	0.346	0.262	0.230*	0.207*
HNA-4a (Mart)	0.996	1.000	0.996	0.900	0.903
HNA-4b	0.004	0.000	0.004	0.100	0.097
HNA-5a (Ond)	0.959	0.840	0.854	0.670*	0.659*
HNA-5b	0.041	0.160	0.146	0.330*	0.341*

* $P < 0.05$ (compared with Korean population using Chi-square test); [†]Data in this study; [†]Number of references 9~19. Abbreviations: NA1, neutrophil antigen 1; NA2, neutrophil antigen 2; NB1, neutrophil antigen B1; 5b, system five b.

Table 4. Estimation of risk of HNA-3a (HNA-3b) alloimmunization and HNA-3 incompatibility

Population	No.	The gene frequencies		Risk of alloimmunization [†]			
				Pregnancy		Transfusion	
		3a	3b	3a	3b	3a	3b
Korean	110	0.695	0.305	0.065	0.147	0.084	0.250
Japanese ¹¹⁾	570	0.654	0.346	0.078	0.148	0.106	0.245
Chinese ¹⁰⁾	195	0.738	0.262	0.051	0.143	0.064	0.248
American ¹²⁾	107	0.770	0.230	0.041*	0.136	0.042*	0.235
German ⁹⁾	398	0.793	0.207	0.034*	0.130	0.052*	0.230

*significant difference, compared with Korean Population ($P < 0.05$; Chi-square test); [†]Risk of alloimmunization by pregnancy or transfusion was calculated according to the formulas on Table 1.

Fig. 1. HNA-3 genotyping by PCR-SSP. Lanes 1, 4, 7 and 10 show a DNA ladder marker (Bioneer, Daejeon, Korea). The amplification products (439 bp) of the internal control (*HGH* gene) are present in each lane. Lanes 2, 5 and 8 contain HNA-3a specific reactions. Lanes 3, 6, and 9 contain HNA-3b specific reactions. Lanes 2 and 3 contain an HNA-3a/3a sample, lanes 5 and 6 contain an HNA-3a/3b sample and land 8 and 9 contain HNA-3b/3b sample. Abbreviations: a, HNA-3a; b, HNA-3b.

명하였는데, 5b는 HNA-3a로 5a는 HNA-3b로 명칭을 바꾸었다.²⁾

HNA-3a 항체가 임신부에 존재할 경우 신생아 동종면역호중구감소증⁵⁾이 발생할 수 있고 혈액제제에 존재할 경우 발열성비용혈성수혈반응²¹⁾

혹은 수혈관련급성폐손상이 발생할 수 있다. HNA-3a 항체는 특히 치명적인 수혈관련폐손상을 발생시키는 것으로 알려져 있고^{3,6)} 체외 폐 모델(exo vivo lung model)에서도 HNA-3a 항체에 의한 수혈관련폐손상이 확인되었다.⁴⁾ 독일혈액감시보고서(German Hemovigilance 2005~2006)에 의하면 백혈구항체가 검출된 수혈관련폐손상의 20% (7/35)에서 수혈된 혈액제제에서 HNA-3a항체가 확인되었고 치명적인 급성폐손상의 30% (2/6)에서 수혈된 혈액제제에서 HNA-3a 항체가 확인되었다.²²⁾

HNA-3 항원검사는 수혈관련급성폐손상이 발생한 경우 환자와 헌혈자의 HNA-3 항원을 파악하여 진단^{22,23)}에 도움을 줄 수 있고 헌혈이자 중 HNA-3a 동종항체를 가질 가능성이 있는 HNA-3b 동형접합자를 선별^{9,25)}하는데 이용될 수 있다. 더불어 HNA-3a 항체를 검출하는데 이용되는 과립구를 제공해 줄 수 있는 공혈자를 선택하는데 이용될 수 있다. HNA-3 유전자검사가 확립되면서 HNA-3 항원검사를 위해 구하기 어려운 항혈청과 분리 및 준비가 까다로운 과립구를 이용하여 번거롭게 HNA-3 항원검사를 시행할 필요가 없어졌다.^{6,9)} 특히 HNA-3a 항체는 희귀하지만 구할 수

있어 HNA-3a 항원 검사는 가능했으나 HNA-3b 항체는 구하는 것이 매우 어려워 HNA-3b 항원 검사를 실시하는 것이 거의 불가능하였다.^{6,9)} HNA-3 유전자검사를 이용하면 이런 모든 문제를 해결할 수 있다.

수혈관련급성폐손상을 예방하기 위한 전략으로 여러 가지 방법이 사용되고 있다.²²⁻²⁵⁾ 혈장 풍부 혈액제제(성분채집혈소판, 신선동결혈장, 농축혈소판)를 남성 혹은 임신력이 없는 여성에게서 얻거나^{24,25)} HLA 항체 검사와 HNA 항체검사 시행하여 항체 양성인 헌혈자를 배제하는 방법도 사용할 수 있다.^{22,23,25)} 영국에서는 2003년 10월부터 신선동결혈장은 모두 남성 헌혈자로부터 얻어 제조하고 있으며²⁴⁾ 한국에서는 2009년 7월부터 남성의 혈액만을 이용하여 신선동결혈장을 제조하고 있고 임신력이 있는 여성 헌혈자의 성분채집혈소판 헌혈을 가능한 배제하고 있다. 스위스에서는 2007년부터 신선동결혈장은 남성, 혹은 임신력이 없는 여성, HLA 항체 검사 음성인 여성으로부터 제공받고 있다.²⁵⁾

수혈관련급성폐손상 예방하기 위해 HLA 항체 검사와 HNA 항체 검사를 모든 여성 헌혈자를 대상으로 시행하는 것은 현실적으로 불가능한 일이다. 하지만 HNA 유전자 검사를 이용하여 HNA 항체를 가질 가능성이 높은 여성을 사전에 파악하여 HNA 항체검사의 대상자를 대폭 줄이는 것은 가능하다. 예를 들어 한국 여성 헌혈자를 대상으로 HNA-3 유전자검사를 시행하여 HNA-3a 항체를 가질 가능성이 있는 HNA-3b/3b (한국인 중 0.093)인 여성을 확인하고 이들 중 임신력이 있는 여성만 HNA-3a 항체 검사를 시행한다면 HNA-3a 항체 검사 대상을 대폭 줄이는 것이 가능하다. HNA-3b/3b 한국 여성(0.093)이 임신으로 HNA-3a 항원에 노출될 가능성은 0.695로 한국 여성의 HNA-3a 동종면역위험률은 0.065 (Table 3)

이고 HNA-3a에 노출되고 동종면역이 될 가능성이 7%라는 보고²²⁾를 고려하면 임신력이 있는 한국여성의 0.5% 정도가 HNA-3a 항체를 가지고 있을 것으로 추정된다. HNA-1, HNA-4, HNA-5 유전자 검사를 이용하여 위와 동일한 방법으로 HNA 항체 검사 대상자를 대폭 줄인다면 HNA 항체 검사를 여성 헌혈자를 대상으로 실시하는 것이 보다 용이해질 것이다. 더구나 최근에 다수의 검체에서 HNA 1-5 항체를 동시에 검출하는 상업적 검사 키트가 출시되어 TRALI 예방에 HNA 항체 검사를 도입하는 것이 보다 현실적인 선택이 될 수 있다. 하지만 HNA 유전자검사와 HNA 항체 검사를 유기적으로 연결하여 헌혈자 선별검사에 이용하는 기관은 아직은 없다. 한국에서 여성 헌혈자들의 신선동결혈장 헌혈을 완전히 배제하기 때문에 신선동결혈장에 의한 TRALI를 예방하는 것이 가능하나 성분채집혈소판의 경우 여성헌혈자를 완전히 배제하지는 않아 TRALI의 완전한 예방이 가능하지 않다. 때문에 한국에서 성분채집혈소판 헌혈을 원하는 여성 헌혈자를 대상으로 위 정책을 시행한다면 다소의 비용이 발생할 수 있으나 여성헌혈자에 의한 TRALI를 보다 철저히 예방하고 여성 헌혈자의 성분채집혈소판 헌혈 참여율을 높일 수 있을 것으로 판단된다.

결론적으로 이번 연구에서 HNA-3 유전자검사를 한국인에게 적용하여 HNA-3 유전자 빈도를 알 수 있었고 이를 이용하여 한국인에서 HNA-3 항원에 의한 동종면역위험률을 평가할 수 있었다. 한국인에서 HNA-3a 동종면역 위험률은 독일인이나 미국백인보다 유의하게 높아 한국인을 대상으로 HNA-3 유전자 검사를 이용하게 되면, 백인인구집단에 비해 HNA-3a 항체에 의해 발생하는 질환들의 진단에 더 유용하게 사용될 수 있을 것으로 판단되며 특히 HNA-3a 항체에 의해 발생할 수 있는 치명적인 수혈관련급성폐손상의 예방

에 유용하게 사용할 수 있을 것이다. 더불어 이번 연구에서 HNA-3a/3a 혹은 HNA-3b/3b의 표현을 가진 과립구 공혈자들을 확인하였고 이들 과립구 확보가 가능해져 HNA-3 항체검사를 시행할 수 있는 토대를 마련할 수 있었다.

요 약

배경: 한국인의 Human Neutrophil Alloantigen-1 (HNA-1), HNA-2, HNA-4, HNA-5 유전자 빈도에 대한 연구는 혈청학적 혹은 분자유전적 방법을 이용하여 이미 이루어졌으나 HNA-3의 유전자 빈도는 아직 연구되지 않았다. 저자들은 이번 연구에서 한국인의 HNA-3a의 유전자빈도를 확인하여 HNA-3a (HNA-3b) 동종면역위험률과 HNA-3 부적합률을 계산하고 HNA-3항체검사에 사용할 과립구를 제공할 공혈자를 확보하고자 하였다.

방법: 저자들은 110명의 건강한 비혈연 한국인 공혈자의 HNA-3유전자를 염기서열특이-중합효소연쇄반응 이용하여 검사하였다.

결과: 한국인의 HNA-3a, HNA-3b 유전자 빈도는 각각 0.695와 0.305였다. 이 중 HNA-3a유전자 빈도가 미국 백인, 독일인보다 통계적으로 유의하게 낮았다($P<0.05$). 임신(수혈)에 의한 HNA-3a 동종면역위험률과 HNA-3b 동종면역위험률은 각각 0.065 (0.084), 0.147 (0.250)였고 한국인의 HNA-3a 동종면역위험률은 미국 백인, 독일인에 비해 유의하게 높았다($P<0.05$).

결론: 저자들은 한국인에서 HNA-3 유전자 빈도, 임신 혹은 수혈에 의한 HNA-3a 동종면역위험률과 HNA-3b동종면역위험률을 확인하였고HNA-3 항체검사에 사용할 과립구 패널에 HNA-3a/3a, HNA-3b/3b 과립구를 제공할 공혈자를 확인하였다.

References

1. Bux J. Human neutrophil alloantigens. Vox Sang 2008;94:277-85
2. Bux J. Nomenclature of granulocyte alloantigens. ISBT Working Party on Platelet and Granulocyte Serology, Granulocyte Antigen Working Party. International Society of Blood Transfusion. Transfusion 1999;39:662-3
3. Davoren A, Curtis BR, Shulman IA, Mohrbacher AF, Bux J, Kwiatkowska BJ, et al. TRALI due to granulocyte-agglutinating human neutrophil antigen-3a (5b) alloantibodies in donor plasma: a report of 2 fatalities. Transfusion 2003;43:641-5
4. Seeger W, Schneider U, Kreusler B, von Witzleben E, Walmrath D, Grimminger F, et al. Reproduction of transfusion-related acute lung injury in an ex vivo lung model. Blood 1990; 76:1438-44
5. de Haas M, Muniz-Diaz E, Alonso LG, van der Kolk K, Kos M, Buddelmeijer L, et al. Neutrophil antigen 5b is carried by a protein, migrating from 70 to 95 kDa, and may be involved in neonatal alloimmune neutropenia. Transfusion 2000;40:222-7
6. Moritz E, Norcia AM, Cardone JD, Kuwano ST, Chiba AK, Yamamoto M, et al. Human neutrophil alloantigens systems. An Acad Bras Cienc 2009;81:559-69
7. Greinacher A, Wesche J, Hammer E, Fürll B, Völker U, Reil A, et al. Characterization of the human neutrophil alloantigen-3a. Nat Med 2010;16:45-8
8. Curtis BR, Cox NJ, Sullivan MJ, Konkashbaev A, Bowens K, Hansen K, et al. The neutrophil alloantigen HNA-3a (5b) is located on choline transporter-like protein 2 and appears to be encoded by an R>Q154 amino acid substitution. Blood 2010;115:2073-6

9. Reil A, Wesche J, Greinacher A, Bux J. Genotyping and phenotyping and immunogenicity of HNA-3. *Transfusion* 2011;51:18-24
10. Xia W, Bayat B, Sachs U, Chen Y, Shao Y, Xu X, et al. The frequencies of human neutrophil alloantigens in the Chinese Han population of Guangzhou. *Transfusion* 2011;51:1271-7
11. Matsushashi M, Tsuno NH, Kawabata M, Mishima Y, Okochi N, Santoso S, et al. The frequencies of human neutrophil alloantigens among the Japanese population. *Tissue Antigens* 2012;80:336-40
12. Curtis BR, Sullivan MJ, Holyst MT, Szabo A, Bougie DW, Aster RH. HNA-3a-specific antibodies recognize choline transporter-like protein-2 peptides containing arginine, but not glutamine at Position 154. *Transfusion* 2011;51:2168-74
13. Han TH, Han KS. Gene frequencies of human neutrophil antigens 4a and 5a in the Korean population. *Korean J Lab Med* 2006;26:114-8
14. Hessner MJ, Curtis BR, Endean DJ, Aster RH. Determination of neutrophil antigen gene frequencies in five ethnic groups by polymerase chain reaction with sequence-specific primers. *Transfusion* 1996;36:895-9
15. Matsuo K, Lin A, Procter JL, Clement L, Stroncek D. Variations in the expression of granulocyte antigen NB1. *Transfusion* 2000;40:654-62
16. Flesch BK, Doose S, Siebert R, Ntambi E, Neppert J. FCGR3 variants and expression of human neutrophil antigen-1a, -1b, and -1c in the populations of northern Germany and Uganda. *Transfusion* 2002;42:469-75
17. Sachs UJ, Chavakis T, Fung L, Lohrenz A, Bux J, Reil A, et al. Human alloantibody anti-Mart interferes with Mac-1-dependent leukocyte adhesion. *Blood* 2004;104:727-34
18. Sachs UJ, Reil A, Bauer C, Bux J, Bein G, Santoso S. Genotyping of human neutrophil antigen-5a (Ond). *Transfus Med* 2005;15:115-7.
19. Han KS, Um TH. Frequency of neutrophil-specific antigens among Koreans using the granulocyte indirect immunofluorescence test (GIFT). *Immunohematology* 1997;13:15-6
20. De La Vega Elena CD, Nogués N, Fernández Montoya A, Chialina S, Blanzaco PD, Theiller E, et al. Human platelet-specific antigens frequencies in the Argentinean population. *Transfus Med* 2008;18:83-90
21. Lalezari P, Bernard GE. Identification of a specific leukocyte antigen: another presumed example of 5b. *Transfusion* 1965;5:135-42
22. Keller-Stanislawski B, Reil A, Günay S, Funk MB. Frequency and severity of transfusion-related acute lung injury--German haemovigilance data (2006-2007). *Vox Sang* 2010;98:70-7
23. ISBT Working Party on Granulocyte Immunobiology, Bierling P, Bux J, Curtis B, Flesch B, Fung L, 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* 2009;96:266-9
24. Chapman CE, Stainsby D, Jones H, Love E, Massey E, Win N, et al; Serious Hazards of Transfusion Steering Group. 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* 2009;49:440-52
25. Jutzi M, Levy G, Taleghani BM. Swiss haemovigilance data and implementation of measures for the prevention of transfusion associated acute lung injury (TRALI). *Transfus Med Hemother* 2008;35:98-101