다회 적혈구 수혈자군에서 Di^a 항원을 포함한 선별혈구 이용 경험

김문진 · 김경희 · 박필환 · 서일혜 · 안정열 · 서자영 · 정지훈 · 이환태

가천대 길병원 진단검사의학과

Unexpected Antibody Screening Tests Including Di^a in Patients with a History of Multiple Packed Red Cell Transfusion

Moon Jin Kim, Kyung-Hee Kim, Pil-Whan Park, Yiel-Hea Seo, Jeong-Yeal Ahn, Ja Young Seo, Ji-Hun Jeong, Hwan Tae Lee

Department of Laboratory Medicine, Gachon University Gil Medical Center, Incheon, Korea

Background: The Di^a antigen has been detected with a relatively higher incidence among Koreans with a frequency of 6.4 to 14.5%. In South Korea, commonly used unexpected antibody screening panels do not include Di^a antigen positive cells. We screened patients who previously received multiple packed red cell transfusion using two cells without Di^a antigen and three cells including Di^a antigen to evaluate the effectiveness of three screening cells. **Methods:** A total of 307 patients who had received packed red cell transfusion more than three times during the last 6 months in our hospital were enrolled. They were employed for unexpected antibody screening test using two sets of screening cells not including Di^a antigen and three sets including Di^a antigen by LISS/Coombs gel card.

Results: Among 307 patients, 12 were positive using two cells and 15 were positive using three cells. Three patients showed discordant result and one of them was positive for the cell including Di^a antigen (0.33%). Antibody identification was performed using the panel which does not include Di^a antigen and it was negative for all of the antigens listed on the panel so that the presence of anti-Di^a was suspected.

Conclusion: It can be difficult to use three cells including Di^a antigen for all patients due to cost, however, use of three cells is recommended in patients with multiple transfusion history. (Korean J Blood Transfus 2015;26:54-59)

Key words: Di^a, Antibody screening, Transfusion, Cross-matching

Received on March 27, 2015. Revised on April 8, 2015. Accepted on April 9, 2015

Correspondence to: Kyung-Hee Kim

Department of Laboratory Medicine, Gachon University Gil Medical Center, 21 Namdong-daero 774 beon-gil, Namdong-gu, Incheon 405-760, Korea

Tel: 82-32-460-3849, Fax: 82-32-460-3415, E-mail: khkim74@gilhospital.com

© 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

다회 적혈구 수혈자는 수혈 혈액제제에 포함되어 있는 항원에 노출되어 비예기항체를 가지게 될 확률이 높다. 현재 국내에서 수혈 전 검사로 시행되고 있는 비예기항체 선별검사는 대부분 외산제품인 두 가지 선별혈구를 이용 하여 시행 되고 있으며 선별혈구에는 미국이나 유럽 인증에서 흔한 항원만을 포함 하고 있는 것이 현재 실정이다. 국내에서 널리 이용되고 있는 선별혈구에 포함되지 않은 항원 중 대표적인 것에 Di^a 항원이 있다. Diego 항원군에는 Di^a, Di^b, Wr^a, Wr^b, Wd^a, Rb^a 등 21개의 항원이 속하며 Di^a 항원은 한국인의 6.4%~14.5%에서 양성으로 보고되고 있다.¹⁾ 비예기항체 선별검사 시행후 음성인 환자는 37°C 항온 알부민 단계와 항글로불린 단계의 교차시험을 생략하고 실온식염수 단계만 시행하고 출고하는 Type and Screen법이 추천되고 있으나 Di^a 항원과 같이 국내에서는 낮지 않은 빈도를 보이는 항원이 포함되지 않은 선별혈구가 사용된다면 이로 인한 용혈수혈부작용의 발생 위험성이 있다.

본원에서는 현재 Di^a 항원이 포함되지 않은 두 개의 선별혈구를 이용하여 Type and screen법을 시행하고 있으나, 항-Di^a 항체에 의한 용혈수혈부작용을 방지하기 위하여 Di^a 항원이 포함된 세 개의 혈구를 모든 환자에게 사용할 경우 검사실의 검사비용이 증가되는 상황이다. 따라서 검사실의 비용은 효율적으로 관리하되 항-Di^a 항체에 의한 용혈수혈부작용은 최소화 하기 위한 방안을 강구하고자 하였다. 이에 선택적으로 3회이상 적혈구 수혈자에 한해 세 개의 선별혈구를 사용하였을 때 선별검사의 양성율을 조사하고 임상적으로 도움이 될 수 있을지 분석함으로써 비예기항체 선별검사시 Di^a 항원이 포함된 선별혈구를 선택적으로 포함할 것인지를 고민하는 검사실들에게 도

움을 주고자 하였다.

재료 및 방법

1. 대상

2014년 5월부터 시약의 유효기간 내에 내원한 환자 중에서 본원 혈액은행으로 적혈구 수혈이 요청된 환자에 대하여 검사실 정보 시스템을 조회하여 내원 6개월 이내에 본원에서의 적혈구 수혈력이 3회 이상인 환자 307명을 대상으로 하였다. 1회당 적혈구 단위수에는 제한을 두지 않았다.

2. 방법

비예기항체 선별검사는 LISS/Coombs card (Ortho-Clinical Diagnostics, Raritan, NJ, USA)를 사용하여 AutoVue Innova (Ortho-Clinical Diagnostics)를 이용하여 검사 하였다. Di^a 항원이 포함되지 않은 두 개의 선별혈구는 0.8% Selectogen (Ortho-Clinical Diagnostics)을 사용 하였고 포함된 항원은 D, C, E, c, e, f, C^w, V, K, k, Kp^a, Kp^b, Js^a, Js^b, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, Xp^a, Le^a, Le^b, S, s, M, N, P1, Lu^a, Lu^b 이었다. Selectogen 검사를 마친 검체는 냉장 보관후 다음날 Di^a 항원이 포함된 세 개의 선별혈구인 Surgiscreen (Ortho-Clinical Diagnostics)을 사용하여 검사하였다. Surgiscreen에 포함된 항원은 D, C, E, c, e, K, k, Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, Le^a, Le^b, S, s, M, N, P1, Di^a이었다. 결과는 AutoVue Innova에 의해 음성, 1+, 2+, 3+, 4+의 5단계로 나누어 판정하였고, column의 밑 부분에 적혈구가 모두 침전되어 있으면 음성, 응집된 적혈구가 column 상단에 밴드를 형성하고 있으면 4+로 판정하였다. 육안으로 판독 결과를 재확인 하였다. 세 개의 선별혈구인 Surgiscreen에서 양성을 보이며 특히 Di^a 항원을 포함한 선별혈구에 양성을 보인 검체에

대해서만 비예기항체 동정검사를 시행 하였으며 3% Resolve panel A (Ortho-Clinical Diagnostics)를 이용 하였다. 동정혈구에는 Di^a 항원이 포함되지 않았으며 포함된 항원은 Selectogen과 동일 하였다. 검사법은 AHG Cassette (Ortho-Clinical Diagnostics)에 LISS 희석액 40 µL와 선별혈구 10 µL씩 넣고 autoantibody 확인을 위해 환자혈구 부유 액을 첨가하였다. 각각의 홀에 환자혈청을 40 µL 첨가한 다음 37°C로 15분 동안 반응시킨 후 BioVue Centrifuge (Ortho-Clinical Diagnostics)를 이용하여 1,500 rpm에서 5분간 원심 분리하여 결과를 판독하였다. 항-Di^a 항체의 존재는 Di^a 항원이 포함된 선별혈구에 양성이면서 Di^a 항원이 포함되지 않은 동정혈구에서 음성인 경우 항-Di^a 항체가 존재하는 것으로 간주 하였다.

결 과

307명 중 두 개의 선별혈구인 0.8% Selectogen에서 양성을 보인 환자는 12명(3.9%)이었으며 Di^a 항원이 포함된 세 개의 선별혈구인 Surgiscreen에서 양성을 보인 환자는 15명(4.9%)이었다. Selectogen에서는 음성이었으나 Surgiscreen에서 양성을 보인 환자는 총 3명이었다. 양성을 보인 3명중 1명

만이 Di^a 항원이 포함된 혈구에서만 3+의 결과를 보였다(0.33%). 3+ 결과를 보인 환자에서 시행한 Di^a 항원이 포함되지 않은 항체 동정 검사에서 모든 혈구에 음성을 보여 항-Di^a 항체 존재로 추정하였다(Table 1).

고 찰

비예기항체는 수혈이나 임신 등에 의하여 자신이 가지고 있지 않은 항원에 노출되면서 생기는 면역항체로 비예기항체 선별검사는 수혈 전 검사로 권장된다. 환자의 혈청에 비예기항체가 있을 경우 신생아 동종면역 용혈질환, 용혈 수혈 부작용을 일으킬 수 있기 때문에 적합한 혈액을 출고 하는 것이 중요하다.¹⁾ 비예기항체 선별검사는 37°C에서 원주 응집법을 이용하며, 간편하면서도 정확하며 검사방법이 표준화되고 결과해석도 편리하여 널리 이용되고 있다.^{2,3)} 선별혈구는 수입에 의존하고 있으며 많은 종류의 항원을 가진 혈구의 조합으로 이루어지나 동양인에서만 검출되는 항체는 발견하지 못할 가능성이 있으며 항-Di^a 항체와 항-Mi^a 항체가 대표적인 예이다.¹⁾ Di^a 항원은 몽고계열의 아시아인과 미국 인디언에서는 비교적 높은 빈도로 발견되며 한국인에서

Table 1. Discrepant results of unexpected antibody screening using 2 cells and 3 cells

	Sex/Age	Diagnosis	Screening					Identification [†]
			2 cells		3 cells			
			1	2	1	2*	3	
Case 1	M/59	Gallbladder cancer	(−)	(−)	(−)	3+	(−)	All (−)
Case 2	F/58	Hepatocellular carcinoma	(−)	(−)	1+	(−)	(−)	ND
Case 3	M/39	Alcoholic liver cirrhosis	(−)	(−)	(−)	(−)	1+	ND

Abbreviations: M, Male; F, Female; ND, Not done.

*Screening cell including Di^a antigen; [†]Results using identification panel not including Di^a antigen.

6.1~14.5%의 빈도로 보고되고 있다.¹⁾ 항-Di^a 항체는 신생아용혈질환과 용혈수혈부작용의 원인으로 보고가 있었다.^{4,7)} 항-Di^a 항체 빈도는 보고자에 따라 0.04~0.08%로 다양하게 보고되고 있으며 여러 연구에서 한국인에서 항-Di^a 항체가 비교적 높은 양성율을 보이므로 비예기항체 선별검사에 Di^a 항원 양성 혈구를 포함시키는 것이 추천되고 있다.⁸⁻¹¹⁾ 본원에서는 307명의 3회 이상 적혈구 수혈이력이 있는 환자중에서 1명의 항-Di^a 항체를 가진 것으로 의심되는 환자를 발견하였다(0.33%). 이 환자에 대하여 항온 알부민 단계와 항글로불린단계를 포함한 교차시험후 적합한 혈액이 출고 될 수 있었다. 환자가 다음날 사망하여 추가 검체 확보가 불가능 하여 Di^a 항원을 가진 동정 혈구를 이용한 항체 동정을 시행하지 못하였다.

본원에서는 현재 모든 수혈예정 환자들과 수혈이 계속 되는 환자는 3일에 한번 비예기항체 선별검사를 의무적으로 시행하게 하고 있으며 비예기항체 선별검사상 음성인 환자에 한해 실온 식염수 단계의 교차시험만 시행하는 Type and screen법을 적용하고 있다. 그러나 현재와 같이 Di^a 항원을 포함하지 않은 두 개의 선별혈구를 이용한 선별검사에서 음성인 환자에게 Type and Screen법에 의해 적혈구가 출고됐을 때 항-Di^a 항체에 의한 용혈 수혈부작용의 위험을 완전히 배제할 수는 없다. 그러나 Di^a 항원을 포함한 세 개의 혈구를 사용하였을 때 선별혈구가격과 컬럼이 추가됨에 따른 비용 상승으로 인해 모든 환자들을 대상으로 세 개의 선별혈구를 사용하는 데 어려움이 있는 현실이다. 이에 본 연구는 본원의 상황에서 3회 이상 적혈구 수혈을 받은 환자에서 선택적으로 세 개의 혈구를 이용한 비예기항체 선별검사의 효율성을 확인해 보고자 하였고 비록 적은 수의 환자 중에서 1례 만이 확인되긴 하였으나 적절한 교차시험으로 보다 안전한 수혈이

가능하였다.

본 연구는 3회 수혈력이 있는 환자들만 대상으로 하였으나 1회 또는 2회 수혈자들의 경우에도 여러 단위의 적혈구 수혈을 받았을 가능성이 있고 마찬가지로 동종항원에 여러 번 노출되어 비예기 항체의 빈도가 높을 수 있으므로 이들에 대해 추후 연구가 필요하겠다.

두 개의 선별혈구인 Selectogen과 세 개의 선별혈구인 Surgiscreen의 항원 구성을 비교하면 Di^a 항원을 제외하면 Surgiscreen에 포함된 모든 항원은 Selectogen에 포함되어 있었다. 검사결과에서 Selectogen에 음성인 검체 중 세 명이 Surgiscreen에 양성이었고 1검체만 항-Di^a 항체 때문인 것으로 추정 되었다. 나머지 두 검체는 검체가 확보되지 못하여서 항체 동정검사가 시행되지 못했으나, Selectogen에 음성인면서 Surgiscreen에 양성을 보인 이유의 가능한 설명은 Selectogen과 Surgiscreen 두 시약의 민감도 차이를 들 수 있겠다.

본 연구의 제한점으로는 한 종류의 Di^a 항원이 포함된 항체선별검사에서만 항-Di^a 항체가 양성인 경우 드물게 Di^a 항원이 포함된 다른 종류 혹은 다른 lot의 항체선별검사에서는 음성을 보일 수 있는데, 다른 종류의 Di^a 항원을 포함한 적혈구로 확인을 하지 못한 것을 들 수 있다. 향후 Di^a 항원을 포함한 적혈구를 이용한 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

본 연구는 적은 수를 대상으로 하여 항-Di^a 항체의 정확한 빈도를 추정하기 어려웠지만 모든 환자에서 시행한 타연구의 양성률⁸⁻¹¹⁾과 비교하여 낮지 않은 것을 확인 할 수 있었다. 따라서, 모든 수혈 예정 환자는 Di^a 항원이 포함된 비예기항체 선별검사를 시행하는 것이 가장 바람직하나 비용 상의 어려움이 있을 경우에는 최소 다회 수혈자에서 제한적으로 시행하는 것도 대안으로 추천 될 수 있겠다.

요 약

배경: Di^a 항원은 한국에서 비교적 높은 빈도 (6.4~14.5%)로 발견된다. 한국에서 주로 사용 되는 비예기항체 검사용 선별혈구에는 Di^a 항원이 포함되어 있지 않다. 3회 이상 다회 적혈구 수혈 환자를 대상으로 Di^a 항원을 포함한 시약(세 개 선별혈구)과 포함하지 않은 시약(두 개 선별혈구)을 이용하여 검사 결과를 비교하였다.

방법: 적혈구 수혈이 요청된 환자중 내원 6개월 이내에 본원에서 3회 이상의 적혈구 수혈력이 있는 환자 307명을 대상으로 하였다. Di^a 항원이 포함되지 않은 두 개 선별 혈구와 포함된 세 개 선별혈구를 이용하여 LISS/Coombs 카드로 검사하였다. Di^a 항원이 포함된 혈구에서 양성을 보인 검체는 Di^a 항원이 포함되지 않은 동정혈구를 이용하여 항체 동정검사를 시행하였다.

결과: 307명 중 두 개의 선별혈구를 이용한 검사에서 12명이 양성이었으며 세 개의 선별혈구를 이용한 검사에서 15명이 양성이었다. 세 명이 다른 결과를 보였으며 그 중 한 명이 Di^a 항원 양성인 혈구에서 양성을 보였다. 양성환자에서 항체 동정검사가 시행 되었고 Di^a 항원이 포함되지 않은 모든 동정혈구에 음성을 보여 항-Di^a 항체 존재를 의심할 수 있었다.

결론: 국내의 모든 환자는 Di^a 항원이 포함된 비예기항체 검사를 시행하는 것이 가장 바람직하나 비용면에서 어려운 경우에는 다회 적혈구 수혈자에서 제한적으로 시행하는 것이 대안으로 추천될 수 있다.

References

1. Han KS, Park KU, Song EY. Transfusaion Medicine 4th ed. Seoul: Korea Medical Publishing Co, 2014:224-5
2. Lapierre Y, Rigal D, Adam J, Josef D, Meyer F, Greber S, et al. The gel test: a new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Transfusion 1990;30:109-13
3. Reis KJ, Chachowski R, Cupido A, Davies D, Jakway J, Setcavage TM. Column agglutination technology: the antiglobulin test. Transfusion 1993;33:639-43
4. Chung MA, Park EH, Lee CH, Oh CH, Namgung R, Kim HO, et al. A case of hemolytic disease in the newborn due to anti-Dia antibody. J Korean Soc Neonatol 2001;8:141-4
5. Lee SM, Im SJ, Park SE, Lee EY, Kim HH. A case of severe hemolytic disease of the newborn due to anti-Dia antibody. Korean J Lab Med 2007;27:373-6
6. Kim HK, Cho YJ, Kim YK, Oh YC, Choi BR, Cho MJ. A case of anti-Dia antibody. Korean J Hematol 1989;24:155-9
7. Mun SH, Lee SH, No MY. A case of acute hemolytic transfusion reaction due to anti-Di(a) antibody -A case report-. Korean J Anesthesiol 2012;63:353-6
8. Kim HO, Won DI, Kwon OH. The frequencies of unexpected antibodies in transfusion candidates and selection of cross-matching method. Korean J Blood Transfus 1993;4:35-41
9. Song DH, Moon IS, Hong SJ, Park JH, Kim JG, Jeon DS. Frequency and distribution of unexpected antibodies of Koreans. Korean J Blood Transfus 1998;9:191-200
10. Ok SJ, Kim SY, Kim IS, Lee EY, Kim HH. Eleven years' experience with unexpected antibody screening tests including a Di(a) cell in transfusion candidates. Korean J Blood Transfus 2013;24:64-70

11. Yun SG, Ryeu BJ, Yang JH, Lim CS, Kim YK, Lee KN. An experience with unexpected antibody screening tests using a panel that included Di(a) cells in Koreans. Korean J Blood Transfus 2009;20:220-6