

## 혈소판불응증 환자에서 HLA 교차시험 적합 혈소판 수혈효과의 평가

현정원<sup>1</sup> · 임영미<sup>2</sup> · 박경득<sup>2</sup> · 한복연<sup>2</sup> · 김양현<sup>2</sup> · 한규섭<sup>1</sup> · 박명희<sup>1</sup>

서울대학교 의과대학 검사의학교실<sup>1</sup>, 서울대학교병원 진단검사의학과<sup>2</sup>

### An Evaluation of Platelet Transfusion Response Using HLA Crossmatch-compatible Donors in Patients with Platelet Refractoriness

Jungwon Hyun, M.D.<sup>1</sup>, Young Mi Lim, M.T.<sup>2</sup>, Kyung Deuk Park, M.T.<sup>2</sup>, Bok Youn Han, M.T.<sup>2</sup>, Yang Hyun Kim, R.N.<sup>2</sup>, Kyou Sup Han, M.D.<sup>1</sup>, and Myoung Hee Park, M.D.<sup>1</sup>

Department of Laboratory Medicine, Seoul National University College of Medicine<sup>1</sup> and Seoul National University Hospital<sup>2</sup>, Seoul, Korea

**Background** : Majority of immune-mediated platelet refractoriness is caused by HLA alloimmunization and can be effectively managed by HLA-matched platelet transfusions. However, HLA class I-typed large-sized donor registry has not been well established in Korea. We evaluated the effectiveness of platelet transfusion using HLA crossmatch-compatible donors without HLA typing.

**Methods** : Sixteen patients showing platelet refractoriness to random donor platelets (1 hr corrected count increment [CCI] <7,500/ $\mu$ L/m<sup>2</sup>) and HLA alloimmunization (class I panel reactive antibody >60%) were crossmatched with 78 platelet apheresis-eligible donors using National Institute of Health (NIH) and anti-human globulin (AHG) lymphocytotoxicity methods. NIH negative/AHG negative and NIH negative/AHG positive donors were selected as best and second choice donors, respectively.

**Results** : Eleven patients (11/16, 69%) could find NIH-crossmatch negative donors and 27 donors (27/78, 35%) belonged to the best donors. To 8 patients, 32 apheresis platelet products from 19 donors were transfused. The mean 1 hr and 24 hr CCI values from the best donors were significantly higher than those from random donors (17,893 vs 2,358,  $P=0.003$ ; 8,292 vs -614,  $P<0.001$ ), whereas such differences were not observed for those from the second choice donors. Platelet storage time was inversely correlated with CCI values and platelets stored  $\leq 10$  hr after collection gave significantly higher CCI values. Neither ABO match nor donor status (related vs unrelated) affected the transfusion effectiveness.

**Conclusions** : Effective post-transfusion platelet increment using HLA crossmatch-compatible donors was attained in patients with platelet refractoriness due to HLA antibodies, and this method can be used effectively where HLA-typed platelet donor registry is not available. (*Korean J Lab Med* 2009;29:481-9)

**Key Words** : Platelet refractoriness, HLA crossmatch, HLA-matched platelet

Received : June 26, 2009  
Revision received : September 3, 2009  
Accepted : September 9, 2009

Corresponding author : Myoung Hee Park, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Seoul National University  
College of Medicine, 101 Daehangno, Jongno-gu, Seoul  
110-744, Korea  
Tel : +82-2-2072-3388, Fax : +82-2-3672-3337  
E-mail : parkmhee@snu.ac.kr

Manuscript No : KJLM09-079

## 서론

혈소판수혈불응증(platelet transfusion refractoriness)은 혈소판 수혈 후 기대한 만큼의 혈소판수 증가를 보이지 않는 상태를 말하며, 그 발생 빈도는 질환에 따라 차이가 있어 다회

수혈을 받은 중증 재생불량빈혈 환자의 경우 34%의 높은 빈도를 보이는 것으로 보고되었다[1]. 최근에는 백혈구여과 제거필터의 사용으로 발생 빈도를 현저히 감소시킬 수 있는 것으로 보고되었다[2, 3]. 2회 연속 ABO 일치 혈소판 수혈 1시간 후 계산된 교정혈소판 수 증가(corrected platelet count increment, CCI)가  $5,000-7,500/\mu\text{L}/\text{m}^2$  미만인 경우 통상적으로 불응성 상태라고 진단할 수 있으나, 아직까지 이에 대한 견해가 완전히 합치되지는 않았다[3-5]. 혈소판불응증은 비면역학적 원인과 면역학적 원인에 의해 발생하는데, 면역학적 원인으로서는 HLA 항체에 의한 동종면역이 가장 흔하며, 그 외에 혈소판특이항체나 ABO 항원에 대한 항체 및 약물에 대한 항체에 의한 경우도 있다[6].

HLA 동종면역에 의한 혈소판불응증을 진단하기 위해서는 HLA class I 항체를 확인하여야 한다. HLA 항체 존재 유무를 선별하고 확인하기 위해 적절한 class I HLA 항원으로 구성된 림프구 패널(panel)을 이용한 panel reactive antibody (PRA) 검사를 시행하는데, 검사방법으로는 림프구세포독성법, 면역형광법(immunofluorescence test), 효소면역법(ELISA) 등이 있다. 사용한 림프구 패널에서 양성반응을 보인 백분율을 PRA %라 하고, PRA가 20%를 넘으면 HLA 항체에 의한 동종면역을 시사한다[7]. HLA 항원형별검사도 향후 적합한 헌혈자를 찾는 데 필요할 수 있다[6].

혈소판의 경우 class I HLA 항원 중에서도 HLA-A와 HLA-B 4개의 항원을 일치시키면 수혈효과가 좋으며[8], HLA 적합도와 CCI 사이에 유의한 상관관계가 있다고 알려져 있다[9]. 따라서 HLA 항원형이 맞는 혈소판을 공급하기 위해서는 HLA class I (A, B) 항원형별검사가 되어 있는 헌혈자 등록제도가 수립되어 있어야 한다. 하지만 이러한 헌혈자 등록제도는 HLA class I 항원형별검사가 되어 있는 많은 수의 헌혈자와 적합한 헌혈자를 찾는 소프트웨어 등이 필요한데, 국내에서는 대한적십자 혈액원 등의 공적인 혈액공급제도에 이런 제도가 수립되어 있지 않다.

림프구세포독성법을 이용한 HLA 교차시험은 혈소판불응증 환자에서 적합한 헌혈자를 선별하는데 유용하다는 보고가 있으며, HLA 적합 혈소판 헌혈자 등록제도가 수립되어 있지 않은 경우에도 가족이나 비혈연 헌혈자에게서 쉽게 시행할 수 있다[10-12]. 본 연구에서는 HLA 항원형별검사를 하지 않고 환자와 헌혈예정자 간에 림프구세포독성법을 이용한 HLA 교차시험을 시행하여 HLA 교차시험 적합 혈소판 헌혈자를 선정하고 그 수혈효과를 평가하고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 환자와 헌혈자 선정

서울대학교병원에서 2005년 5월부터 2009년 5월까지 4년간 HLA 항체에 의한 혈소판불응증으로 확인되어 헌혈예정자와 HLA 교차시험을 시행한 16명의 환자를 대상으로 하였는데 환자는 남자 6명, 여자 10명이었고 평균연령은 47세(범위 9-72세)이었다. 진단명은 혈액종양이 9명, 고형장기종양이 3명, 그 외 질환이 4명이었다. 이들은 모두 2회 이상의 임의헌혈 혈소판 수혈 후 1시간 CCI가  $7,500/\mu\text{L}/\text{m}^2$  미만으로 혈소판불응증 기준[5]에 해당하였다. PRA 검사상 60%를 넘는 경우를 HLA 적합 혈소판 수혈 대상자로 선정하였는데, 16명의 환자 중 15명은 ELISA 방법(Quick-ID, GTI Inc., Brookfield, WI, USA)으로, 한 명은 anti-human globulin (AHG)법으로 HLA 항체를 확인하였다. 본원에서는 HLA 항체에 의한 혈소판불응증으로 확인되면 1999년에 수립한 HLA 적합혈소판 헌혈자 등록제도[13]를 이용하여 적합 헌혈자를 찾고 있다. 그러나 등록되어 있는 헌혈자 수의 부족으로 항암요법 기간 등 단기간 동안 혈소판수혈이 필요한 환자 중에 HLA 적합 헌혈자를 찾을 수 있는 경우에 국한하여 시행하고 있다. 그 외 등록된 헌혈자 중 HLA 적합 헌혈자 수가 부족한 경우에는 환자의 가족이나 비혈연 헌혈자와 HLA 교차시험을 시행하여 교차시험 적합 헌혈자를 찾고 있다. HLA 적합 헌혈자는 수적으로 제한되므로 본원에서는 HLA 또는 교차시험 결과가 적합하면 환자-헌혈자의 ABO 혈액형 일치도에 무관하게 헌혈자를 선정하여 수혈하고 있다. HLA 교차시험을 시행하였던 헌혈예정자는 78명이었으며 가족이 29명, 비혈연 헌혈예정자가 49명이었다.

### 2. HLA 교차시험

HLA 교차시험은 림프구세포독성검사법을 이용한 National Institute of Health (NIH)법과 AHG법 두 가지로 T세포 교차시험을 시행하였고, NIH법과 AHG법 모두 음성인 경우 최선의 HLA 교차시험 적합 헌혈자(이후 최선의 헌혈자로 약함)로, NIH법은 음성이나 AHG법이 양성인 경우 차선의 HLA 교차시험 적합 헌혈자(이후 차선의 헌혈자로 약함)로 선정하였다.

또한 ELISA로 PRA를 시행한 경우 PRA %, 최대 흡광도(optical density), 흡광도가 0.7 이상인 패널의 비율에 따른 HLA 교차시험 결과 NIH 음성 헌혈자를 찾을 수 있는 빈도를 비교하였다.

### 3. 혈소판성분채집과 보관

혈소판 교차시험 적합 헌혈자로부터 세 가지 성분채혈기(Amicus, Baxter, Deerfield, IL, USA; MCS plus, Haemonetics Inc., Braintree, MA, USA; Trima accel, Gambro BCT, Lakewood, CO, USA)를 사용하여 성분채집혈소판을 채집하였으며, 수혈 전까지는 20-24°C 에서 흔들어주면서 보관하면서 5일 이내에 사용하였다.

### 4. HLA 교차시험 적합 혈소판 수혈의 수혈효과 평가

수혈효과의 평가를 위해 임의헌혈 혈소판 수혈 후와 HLA 교차시험 적합 혈소판 수혈 후의 혈소판 수 증가를 비교하였다. HLA 교차시험 적합 혈소판 수혈을 한 환자가 8명이었으므로 임의헌혈 혈소판 수혈효과도 동일한 환자 8명에 대해 분석하였다. HLA 교차시험 적합 혈소판은 1회에 1단위의 성분채집혈소판을 수혈하였고, 임의헌혈 혈소판은 1회에 6-12단위의 농축혈소판 또는 1-3단위의 성분채집혈소판을 수혈하였는데 이를 각각 1회의 혈소판 수혈로 간주하여 수혈 후 CCI 값을 계산하였다. 혈소판 수혈 후 수혈효과의 평가는 1시간 및 24시간 CCI 값과 혈소판 수혈효과(1시간 CCI  $\geq$  7,500, 24시간 CCI  $\geq$  5,000) [14]가 있는 수혈의 비율을 비교하였다. 또한 혈소판 보관시간,

환자-헌혈자 간의 ABO 일치도, 그리고 헌혈자의 혈연/비혈연 여부에 따른 1시간 및 24시간 CCI와 수혈효과가 있는 수혈의 비율을 비교하였다. CCI는 다음과 같은 공식으로 계산하였다.

$$\text{CCI } (\mu\text{L}/\text{m}^2) = \frac{(\text{수혈 후 혈소판 수}/\mu\text{L} - \text{수혈 전 혈소판 수}/\mu\text{L}) \times \text{체표면적}(\text{m}^2)}{\text{수혈한 혈소판 수}(10^{11})}$$

### 5. 통계 분석

통계분석은 SPSS (version 12.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하여 시행하였다. CCI 평균값의 비교는 Mann-Whitney test로, 혈소판 채집 후 시간경과에 따른 CCI 값 변화의 상관관계는 Spearman's correlation test로, CCI  $\geq$  7,500을 보인 예(비율)의 비교는 Fisher's exact test로 통계 분석을 하였고, 통계적 유의성은  $P < 0.05$ 로 하였다.

## 결 과

16명의 환자 중 1명만이 PRA 63%를 보였을 뿐 15명의 환자에서 PRA가 90% 이상으로 광범위한 HLA 감작상태를 보였다 (Table 1). 이 중 5명(31%)은 HLA 교차시험 결과 적합한 헌혈자

Table 1. ELISA-PRA and HLA crossmatch results in patients with platelet refractoriness

Patient No.	PRA			HLA crossmatch results		
	PRA %	OD max*	OD $\geq$ 0.7 (%) <sup>†</sup>	NIH/AHG <sup>-</sup>	NIH/AHG <sup>+</sup>	NIH <sup>-</sup>
1-1 <sup>‡</sup>	100	2.281	100	0% (0/4)	0% (0/4)	0% (0/4)
2	100	2.280	100	0% (0/2)	0% (0/2)	0% (0/2)
3	100	1.441	100	0% (0/7)	0% (0/7)	0% (0/7)
4	100	1.959	98	0% (0/1)	0% (0/1)	0% (0/1)
5	100	1.360	90	0% (0/1)	0% (0/1)	0% (0/1)
6	100	1.305	85	40% (2/5)	0% (0/5)	40% (2/5)
7	98	2.209	73	0% (0/5)	40% (2/5)	40% (2/5)
8	95	1.197	70	100% (1/1)	0% (0/1)	100% (1/1)
9	95	1.683	68	67% (2/3)	33% (1/3)	100% (3/3)
10	100	2.069	38	35% (12/34)	32% (11/34)	68% (23/34)
11	100	1.198	38	0% (0/1)	100% (1/1)	100% (1/1)
12	100	1.547	30	100% (3/3)	0% (0/3)	100% (3/3)
13	98	1.213	28	0% (0/2)	0% (0/2)	0% (0/2)
14	63	1.314	10	100% (3/3)	0% (0/3)	100% (3/3)
15	100	0.714	3	100% (2/2)	0% (0/2)	100% (2/2)
1-2 <sup>‡</sup>	90	0.308	0	50% (1/2)	50% (1/2)	100% (2/2)
16 <sup>§</sup>	100	NA	NA	50% (1/2)	0% (0/2)	50% (1/2)
Total				35% (27/78)	21% (16/78)	55% (43/78)

\*maximal optical density; <sup>†</sup>percentage of panels with optical density  $\geq$  0.7; <sup>‡</sup>1-1 (May 25, 2007) and 1-2 (Jan 24, 2008) are two PRA test results from a single patient; <sup>§</sup>PRA by AHG-lymphocytotoxicity method.  
Abbreviations: PRA, panel reactive antibody; NA, not applicable.

를 찾을 수 없었으나, 11명(69%)에서 차선의 헌혈자까지 찾을 수 있었다. 또한 16명의 환자의 혈청과 78명의 헌혈예정자와 시행한 HLA 교차시험 결과 최선의 헌혈자는 27명(35%), 차선의 헌혈자는 16명(21%)이었으며 두 방법에서 모두 양성을 보인 부적합 헌혈자는 35명(45%)이었다. PRA에서 모든 림프구 패널에서 양성을 보이고(PRA 100%) 흡광도가 0.7 이상인 패널의 비율이 90% 이상을 보인 환자는 차선의 헌혈자도 찾을 수 없었으며, PRA %가 높더라도 흡광도가 0.7 이상인 패널의 비율이 70% 이하로 낮은 경우는 HLA교차시험을 시행한 헌혈예정자의 47% (24/51)가 최선의 헌혈자에 해당하였다(Table 1).

NIH 교차시험 음성인 헌혈자를 찾은 11명의 환자 중 8명에게 19명의 헌혈자로부터 총 32회의 혈소판 성분채집을 시행하여 수혈하였다. 최선의 헌혈자군에서는 임의헌혈 혈소판 수혈(동일 환자 8명에 대한 39회의 수혈)에 비해 수혈 후 1시간 및 24시간 CCI가 유의하게 증가하였고(17,893 vs 2,358,  $P=0.003$ ; 8,292

vs -614,  $P<0.001$ ), 혈소판 수혈효과가 있는 수혈의 비율도 각각 유의하게 증가하였다(67% vs 14%,  $P<0.01$ ; 61% vs 0%,  $P<0.001$ ) (Table 2).

NIH 교차시험 음성인 헌혈자로부터 혈소판 성분채집을 한 후 수혈까지 소요된 시간을 10시간 전후와 24시간 전후를 기준으로 CCI의 증가 정도를 비교해보았다(Table 3). 혈소판 채집 후 10시간 이내에 수혈했을 경우 10시간 이후에 비해 1시간 및 24시간 CCI가 유의하게 증가하였고(27,737 vs 5,475,  $P=0.007$ ; 14,609 vs 3,382,  $P=0.002$ ), 혈소판 수혈효과가 있는 수혈의 비율도 각각 높았다(100% vs 25%,  $P=0.009$ ; 86% vs 39%,  $P=0.073$ ). 이러한 차이는 최선의 헌혈자의 혈소판일 경우에는 뚜렷하였으나, 차선의 헌혈자의 혈소판일 경우에는 관찰되지 않았다. 혈소판 보관시간 24시간을 기준으로 비교했을 때는 24시간 이내에 수혈했을 경우 24시간 이후에 비해 1시간 및 24시간 CCI가 약간 증가하는 양상을 보였으나, 통계적인 유의성은 없었다.

**Table 2.** Effectiveness of platelet transfusions in 8 patients with platelet refractoriness according to HLA crossmatch results

Platelet transfusions (N)	1 hr CCI ( $\mu\text{L}/\text{m}^2$ )			24 hr CCI ( $\mu\text{L}/\text{m}^2$ )		
	Mean $\pm$ SD (N)	$P^*$	$\geq 7,500$	Mean $\pm$ SD (N)	$P^*$	$\geq 5,000$
Random donors (39)	2,358 $\pm$ 4,517 (28)		4 (14%)	-614 $\pm$ 1,248 (15)		0 (0%)
NIH-XM <sup>-</sup> donors (32)	12,895 $\pm$ 17,297 (18)	0.009	9 (50%) <sup>†</sup>	6,526 $\pm$ 7,653 (25)	0.001	13 (52%) <sup>‡</sup>
NIH/AHG <sup>-</sup> (24)	17,893 $\pm$ 19,356 (12)	0.003	8 (67%) <sup>§</sup>	8,292 $\pm$ 8,067 (18)	<0.001	11 (61%) <sup>‡</sup>
NIH/AHG <sup>+</sup> (8)	2,901 $\pm$ 3,624 (6)	0.470	1 (17%)	1,983 $\pm$ 4,059 (7)	0.148	2 (29%)

\* $P$  value vs random donors; <sup>†</sup> $P<0.05$  vs random donors; <sup>‡</sup> $P<0.001$  vs random donors; <sup>§</sup> $P<0.01$  vs random donors.  
Abbreviations: CCI, corrected count increment; XM, crossmatch.

**Table 3.** Effectiveness of platelet transfusions from NIH-crossmatch negative donors according to platelet storage time

Platelet transfusions (N)	1 hr CCI ( $\mu\text{L}/\text{m}^2$ )			24 hr CCI ( $\mu\text{L}/\text{m}^2$ )		
	Mean $\pm$ SD (N)	$P$	$\geq 7,500$	Mean $\pm$ SD (N)	$P$	$\geq 5,000$
NIH-XM <sup>-</sup> donors						
≤ 10 hr (8)	27,737 $\pm$ 21,289 (6)	0.007*	6 (100%) <sup>†</sup>	14,609 $\pm$ 7,050 (7)	0.002*	6 (86%)
>10 hr (24)	5,475 $\pm$ 8,726 (12)		3 (25%)	3,382 $\pm$ 5,270 (18)		7 (39%)
≤ 24 hr (19)	13,367 $\pm$ 19,665 (13)	0.588 <sup>†</sup>	6 (46%)	8,256 $\pm$ 8,129 (15)	0.174 <sup>†</sup>	9 (60%)
>24 hr (13)	11,668 $\pm$ 10,430 (5)		3 (60%)	3,931 $\pm$ 6,397 (10)		4 (40%)
NIH/AHG <sup>-</sup>						
≤ 10 hr (7)	31,581 $\pm$ 21,346 (5)	0.028*	5 (100%)	16,774 $\pm$ 4,505 (6)	0.003*	6 (100%) <sup>§</sup>
>10 hr (17)	8,115 $\pm$ 10,744 (7)		3 (43%)	4,052 $\pm$ 5,700 (12)		5 (42%)
≤ 24 hr (13)	19,597 $\pm$ 23,222 (8)	1.000 <sup>†</sup>	5 (63%)	11,971 $\pm$ 8,189 (9)	0.077 <sup>†</sup>	7 (78%)
>24 hr (11)	14,483 $\pm$ 9,603 (4)		3 (75%)	4,614 $\pm$ 6,386 (9)		4 (44%)
NIH/AHG <sup>+</sup>						
≤ 10 hr (1)	8,513 (1)	0.143*	1 (100%)	1,621 (1)	0.617*	0 (0%)
>10 hr (7)	1,778 $\pm$ 2,639 (5)		0 (0%)	2,044 $\pm$ 4,443 (6)		2 (33%)
≤ 24 hr (6)	3,399 $\pm$ 3,815 (5)	0.380 <sup>†</sup>	1 (20%)	2,683 $\pm$ 3,956 (6)	0.134 <sup>†</sup>	2 (33%)
>24 hr (2)	409 (1)		0 (0%)	-2,217 (1)		0 (0%)

\* $P$  value vs >10 hr; <sup>†</sup> $P$  value vs >24 hr; <sup>‡</sup> $P<0.01$  vs >10 hr; <sup>§</sup> $P<0.05$  vs >10 hr.  
Abbreviations: See Table 2.

또한 NIH 교차시험 음성인 헌혈자로부터의 혈소판 수혈 후 1시간 및 24시간 CCI값은 혈소판 보관시간에 따라 감소하는 분포를 보여 수혈효과가 있는 수혈의 비율이 낮아졌다(Fig. 1). 최선의 헌혈자로부터의 혈소판 수혈의 경우 1시간 및 24시간 CCI는 혈소판 보관시간과 역상관관계 경향을 보였는데 이 중에 24시간 CCI는 통계적 유의성도 있었다( $r=-0.339$ ,  $P=0.282$ ;  $r=-0.500$ ,  $P=0.035$ ) (Fig. 2).

환자와 헌혈자 간의 ABO 혈액형의 적합도에 따른 수혈효과를 비교하여 보았다(Table 4). 총 32건의 수혈 중에 환자와 헌혈자의 ABO가 일치하는 경우가 19건, 주교차 시험(8건) 혹은 부교차시험(5건)에서 불일치하는 경우가 13건이었다. 불일치하는 두 경우는 CCI 값의 비교에서 별다른 차이가 없어서(자료 미제

시), 합해서 ABO 불일치로 분석하였다. 최선의 헌혈자로부터 수혈 시 ABO 일치군(11명)과 불일치군(13명) 사이에 1시간 및 24시간 CCI 값의 차이가 없었고(19,713 vs 16,592,  $P=0.570$ ; 3,982 vs 11,035,  $P=0.135$ ), 효과적인 수혈의 비율도 차이가 없었다(40% vs 86%,  $P=0.222$ ; 43% vs 73%,  $P=0.332$ ).

혈연과 비혈연 헌혈자의 수혈효과 비교 시, 비혈연 헌혈자에 비해 가족 헌혈자로부터의 수혈 후 1시간 및 24시간 CCI가 증가하는 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다(Table 5).

### 고 찰

HLA 동종면역에 의한 혈소판불응증의 경우 효과적인 혈소

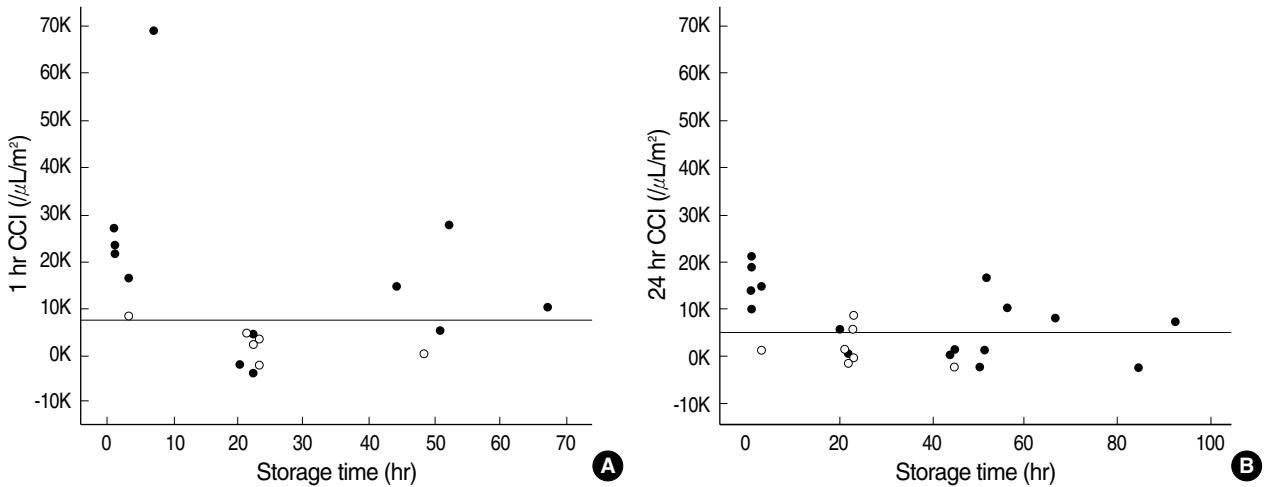


Fig. 1. Distribution of 1 hr (A) and 24 hr CCI (B) values of platelet transfusions from NIH-crossmatch negative donors according to platelet storage time. Closed and open angles represent transfusions from NIH/AHG<sup>-</sup> and NIH/AHG<sup>+</sup> donors, respectively. Horizontal lines in A and B represent CCI values of 7,500 and 5,000, respectively.

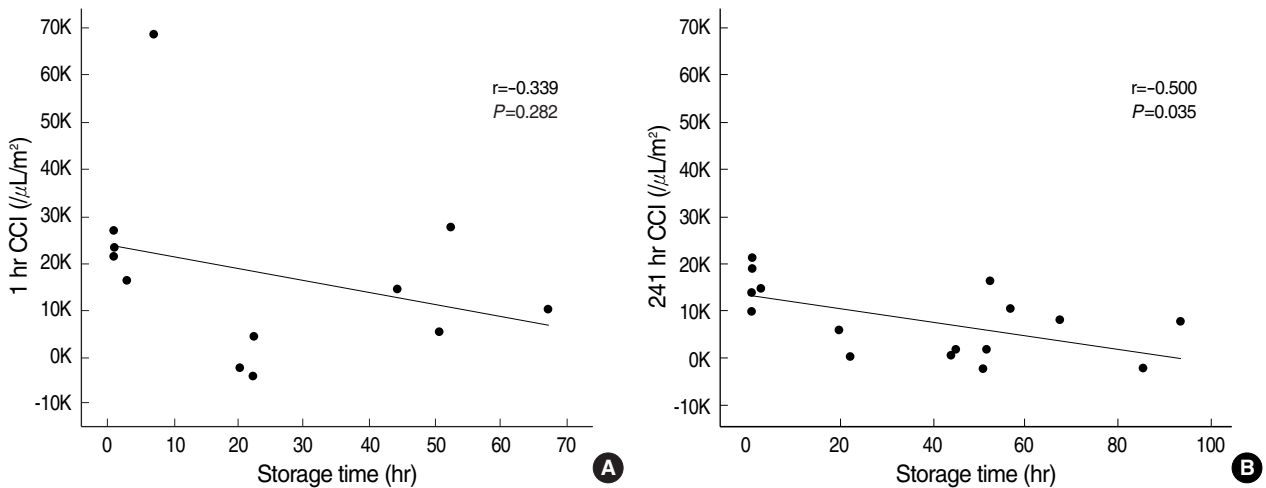


Fig. 2. Inverse correlation between platelet storage time and 1 hr (A) and 24 hr CCI (B) values of platelet transfusions from NIH/AHG<sup>-</sup> donors.

**Table 4.** Effectiveness of platelet transfusions from NIH- and AHG-crossmatch negative donors according to the ABO match status

Platelet transfusions (N)	1 hr CCI ( $\mu\text{L}/\text{m}^2$ )			24 hr CCI ( $\mu\text{L}/\text{m}^2$ )		
	Mean $\pm$ SD (N)	<i>P</i> *	$\geq 7,500$	Mean $\pm$ SD (N)	<i>P</i> *	$\geq 5,000$
ABO identical (11)	19,713 $\pm$ 28,963 (5)	0.570	2 (40%)	3,982 $\pm$ 4,935 (7)	0.135	3 (43%)
ABO non-identical (13)	16,592 $\pm$ 11,086 (7)		6 (86%)	11,035 $\pm$ 8,645 (11)		8 (73%)

\**P* value vs ABO non-identical.

Abbreviations: See Table 2.

**Table 5.** Effectiveness of platelet transfusions from NIH-crossmatch negative donors according to the donor status (related vs unrelated)

Platelet transfusions (N)	1 hr CCI ( $\mu\text{L}/\text{m}^2$ )			24 hr CCI ( $\mu\text{L}/\text{m}^2$ )		
	Mean $\pm$ SD (N)	<i>P</i> *	$\geq 7,500$	Mean $\pm$ SD (N)	<i>P</i> *	$\geq 5,000$
NIH-XM <sup>-</sup> donors						
Related (15)	16,338 $\pm$ 20,192 (10)	0.534	6 (60%)	8,251 $\pm$ 9,755 (11)	0.584	5 (45%)
Unrelated (17)	8,592 $\pm$ 10,793 (8)		3 (38%)	5,171 $\pm$ 5,518 (14)		8 (57%)
NIH/AHG <sup>-</sup>						
Related (11)	24,554 $\pm$ 24,310 (6)	0.337	5 (83%)	11,141 $\pm$ 9,998 (8)	0.328	5 (63%)
Unrelated (13)	11,231 $\pm$ 11,260 (6)		3 (50%)	6,014 $\pm$ 5,673 (10)		6 (60%)
NIH/AHG <sup>+</sup>						
Related (4)	4,014 $\pm$ 3,489 (4)	0.355	1 (25%)	544 $\pm$ 1,838 (3)	0.724	0 (0%)
Unrelated (4)	674 $\pm$ 3,777 (2)		0 (0%)	3,063 $\pm$ 5,203 (4)		2 (50%)

\**P* value vs unrelated donors.

Abbreviations: See Table 2.

판 수혈을 하기 위해서는 환자의 HLA 항원형과 적합한 HLA형을 갖고 있는 헌혈자를 찾는 방법, 환자가 갖고 있는 HLA 항체의 특이성을 확인하여 해당 항체가 반응하는 HLA 항원을 갖고 있지 않은 헌혈자를 찾는 방법, 그리고 HLA 교차시험이나 혈소판 교차시험을 통해 적합한 헌혈자를 찾는 방법이 있다.

첫 번째 방법인 환자의 HLA 항원형과 적합한 HLA형을 갖고 있는 헌혈자를 찾기 위해서는 class I HLA 항원형별검사가 되어 있는 헌혈자 등록제도가 필요하다. 이러한 HLA 적합혈소판 헌혈자 등록제도를 이용하여 원활하게 HLA 적합혈소판을 공급하기 위해서는 충분한 수의 헌혈자 등록이 필요하고, 또한 환자의 HLA 항원형별검사도 필요하다[15]. 외국의 경우 적십자 혈액원이나 대형의료기관에서 이러한 헌혈자 등록제도가 잘 수립되어 있어서 HLA 적합 혈소판을 공급하고 있으나, 국내에서는 Park 등[13]이 서울대학교병원에서 수립한 450명 정도의 소규모의 헌혈자 등록제도가 유일하다. 따라서 현재 국내에서는 이러한 방법으로 HLA 적합 혈소판을 환자에게 공급하는 것이 불가능한 상황이고, 향후 적십자 혈액원을 중심으로 대규모의 등록제도가 수립되어야 할 것으로 생각된다.

두 번째 방법으로 이러한 헌혈자 등록제도가 없거나, 등록제도가 있더라도 환자와 헌혈자의 HLA 항원형만으로는 적합한 HLA 항원형을 갖고 있는 헌혈자를 찾지 못할 경우에 환자가 갖

고 있는 항체에 반응하는 HLA 항원을 갖고 있지 않은 헌혈자를 찾는 방법이 있다. 이 방법은 소규모의 헌혈자 등록제도에서도 적합한 헌혈자 수를 더 많이 찾을 수 있고 효과적인 수혈효과를 보이는 것으로 알려졌다[12, 14]. 그러나 HLA 적합 혈소판 헌혈자 등록제도가 없는 경우에 적용하기 위해서는 상당한 수의 헌혈 예정자에서 HLA 항원형별검사가 필요하기 때문에 비용이 많이 들고 HLA 항원형별검사를 하지 않는 기관에서는 적용하지 못하는 단점이 있다. 또한 다회 수혈을 받은 혈소판불응증 환자에서 광범위한 HLA 감각상태를 보이는 경우 HLA 항체의 특이성을 규명할 수 없어 이 방법을 적용하기 힘들다.

세 번째 방법으로는 HLA 교차시험이나 혈소판 교차시험을 통해 적합혈소판을 찾을 수 있다. 이 중에 혈소판 교차시험을 이용할 경우 HLA 항체뿐 아니라 혈소판 특이항체에 대해서도 적합한 혈소판을 공급할 수 있는 장점이 있지만, 검사법이 쉽지 않고 국내에서는 거의 시행되고 있지 않다. 또한 혈소판의 보관 기간이 5일밖에 되지 않아 장기간 수혈이 필요한 환자에 대해 매번 교차시험을 해야 하는 번거로움이 있다[16]. 또한 동종면역의 정도가 심한 환자에서는 많은 헌혈자와의 교차시험이 필요하고, 교차시험 결과만을 이용하여 수혈할 경우 교차시험에서는 적합하나 HLA 부적합한 혈소판이 수혈되어 HLA 감각 범위가 넓어지는 단점이 있다[17]. 이에 반해 림프구세포독성법으로 검사하

는 HLA 교차시험은 혈소판 교차시험에 비하여 검사법이 간단하여 HLA 항원형별검사를 시행하지 못하는 의료기관에서도 비교적 쉽게 시행할 수 있으며, 혈소판불응증 환자에서 적합한 헌혈자를 찾는 데 유용한 것으로 보고되었다[10-12].

본 연구에서는 HLA 동종면역에 의한 혈소판불응증 환자에서 HLA 항원형별검사를 하지 않고 HLA 교차시험만으로 적합한 헌혈자를 선정하여 그 수혈효과를 평가하고자 하였다. 본 연구에서 최선의 헌혈자로부터 수혈을 받은 경우 임의헌혈 혈소판 수혈에 비해 수혈 후 1시간 CCI가 유의하게 증가하였고, 총 수혈 건수의 67%에서 좋은 수혈효과를 보인데 반해, 자신의 헌혈자로부터 수혈을 받은 경우는 임의헌혈 혈소판 수혈과 차이가 없었다(Table 2). 이러한 결과는 HLA 적합혈소판 등록제도를 이용한 혈소판 수혈에서 NIH법 음성인 헌혈자로부터의 혈소판 수혈이 AHG법 양성 여부에 상관없이 임의헌혈 혈소판에 비해 유의한 CCI 증가를 보였다는 이전의 보고[12]와 상반된 결과를 보였다. 이는 AHG법이 NIH법에 비해 민감하므로 NIH법으로 검출되지 않는 HLA 항체가 AHG법에서 검출되기 때문에 결과에 차이가 있는 것으로 생각되며, 이전의 연구에서도 이러한 사실 때문에 두 방법을 상호보완적으로 병용하는 것이 필요하다고 언급하였다. 이전 연구와 이번 연구 모두 대상 환자 수가 많지 않고, 이전 연구는 HLA 적합혈소판 수혈을 대상으로 했기 때문에 직접적인 비교는 어려울 것으로 생각한다. 그리고 단지 AHG법 양성 여부뿐 아니라 양성반응의 강도에 따라서도 수혈효과에 차이가 있을 것으로 생각되지만 이에 대해 분석된 문헌을 찾아볼 수 없었고, 본 연구에서는 AHG 양성 예가 많지 않아 추후 연구가 더 필요할 것으로 생각한다. 또한 본 연구에서 NIH법과 AHG법 모두 음성인 최선의 헌혈자로부터 수혈을 한 경우는 박등[12]이 보고한 논문에서 HLA 항원형별검사를 시행하여 선택한 HLA 적합혈소판 수혈과 비슷한 정도의 수혈효과를 보여, 환자와 헌혈자의 HLA 항원형별검사를 하지 않고 HLA 교차시험만으로 적합한 헌혈자를 선정하여 혈소판을 공급할 수 있을 것으로 생각된다.

PRA 검사 결과 혈소판불응증을 보인 환자 대부분(15/16명, 94%)에서 PRA 90% 이상의 광범위한 HLA 감각상태를 보여 항체의 특이성을 동정하기 어려웠다. 광범위한 HLA 감각상태를 보인 환자의 대부분은 ELISA-PRA에서 최대 흡광도 값이 1.0 이상으로 높았는데, 최대 흡광도 값보다는 양성을 보인 패널의 흡광도의 분포에 따라 HLA 교차시험 적합한 헌혈자를 찾을 수 있는 확률에 차이를 보였다(Table 1). PRA가 100%이면서 패널의 대부분이 흡광도 0.7 이상의 강양성을 보인 환자는 NIH 음성인 헌혈자를 찾기가 어려웠다. 하지만 PRA가 높더라도 흡

광도가 0.7 이상인 패널의 비율이 70% 이하로 낮은 경우는 최선의 헌혈자를 찾을 확률이 상대적으로 높았다. 따라서 PRA가 90% 이상으로 높고 항체 특이성을 동정하기 어려운 경우라도 양성인 패널들의 흡광도의 분포를 분석해보면 HLA 교차시험 적합한 헌혈자를 찾을 수 있는 가능성을 예측해볼 수 있겠다.

HLA 적합혈소판 수혈 시 혈소판 채집 후 보관기간이 24시간 이내에 수혈하는 것이 CCI 증가에 더 효과적이라고 보고되었다[12]. 본 연구에서는 혈소판 채집 후 보관시간 24시간을 기준으로 비교 시 이러한 경향이 관찰되었으나 유의하지는 않았고, 이 보다는 10시간을 기준으로 비교 시 10시간 이내에 수혈하는 것이 수혈 효과가 더 좋았다(Table 3). 또한 최선의 헌혈자로부터의 혈소판 수혈 시 보관시간이 짧을수록 24시간 CCI가 유의하게 증가하는 역상관관계를 보였다(Fig. 2). 따라서, 가능하면 혈소판 채집 후 빠른 시간 내에 수혈하는 것이 더욱 효과적일 것이다. 임의헌혈 혈소판의 경우 보관시간에 관한 정보를 얻을 수 없었고 대부분 효과적인 혈소판 수 증가를 보이지 않아 시간 경과에 따른 CCI의 변화가 있는지에 대해서는 확인해볼 수 없었다.

혈소판불응증 환자에서 HLA 적합도나 혈소판 교차시험 결과 외에도 ABO 적합도가 혈소판 수 증가에 영향을 준다는 보고가 있다[18]. 본 연구에서는 최선의 헌혈자로부터 수혈하는 경우 ABO 일치도에 상관없이 비슷한 수혈효과를 보였다(Table 4). 따라서 HLA 교차시험 적합성이 좋으면 ABO 일치도에 상관없이 좋은 수혈효과를 기대할 수 있어 헌혈자 선택의 폭이 넓어질 수 있다.

또한 가족 헌혈자의 경우 환자와 HLA 적합도가 높을 가능성이 있으므로 헌혈자의 혈연 여부에 따라 CCI 증가를 분석해 보았다. 혈연 헌혈자의 경우 비혈연 헌혈자에 비해 1시간 및 24시간 CCI가 더 증가하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 아니었다. 본 연구에서는 분석에 포함될 수가 적어서 혈연/비혈연 헌혈자에 따른 차이 여부를 알기 위해서는 추후 더 큰 규모의 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로 HLA 동종면역에 의한 혈소판불응증 환자에서 림프구세포독성법에 의한 HLA 교차시험 적합 헌혈자로부터 수혈을 받은 경우 임의헌혈 혈소판 수혈에 비해 효과적인 혈소판 수의 증가를 보였다. 따라서 이러한 방법은 HLA 적합 혈소판 헌혈자 등록제도가 수립되어 있지 않은 국내 상황에서 HLA 항원형별검사를 하지 않고 HLA 교차시험만으로도 효과적으로 헌혈자를 선정하여 혈소판 수혈을 할 수 있는 대체방안으로 활용될 수 있겠다. 하지만 현재 HLA 교차시험은 장기이식 환자에만 보험급여가 적용되고 있고, 혈소판불응증 환자에는 적용할 수 없는 상황이다. 따라서 HLA 교차시험을 통한 HLA 적합 혈소판 수

혈을 더욱 활발히 하기 위해서는 혈소판불응증 환자에도 이 검사의 보험급여가 적용되어야 할 것이다.

## 요 약

**배경 :** 면역학적 원인의 혈소판불응증의 대부분은 HLA 동종 면역반응에 의해 야기되며, HLA 적합 혈소판 수혈로 효과적인 혈소판 증가를 기대할 수 있다. HLA 적합 혈소판 공급을 위해서는 HLA class I 항원형별검사가 되어 있는 대규모의 헌혈자 등록제도가 필요하지만 국내에서는 이런 제도가 잘 확립되어 있지 않다. 본 연구에서는 HLA 항원형별검사를 하지 않고 HLA 교차시험 적합한 헌혈자로부터의 혈소판 수혈효과를 평가하고자 하였다.

**방법 :** 임의헌혈 혈소판에 대해 혈소판불응증(1시간 corrected count increment [CCI] <7,500/ $\mu$ L/ $m^2$ )과 HLA 동종면역반응(class I PRA >60%)을 보인 16명의 환자에 대해 혈소판 성분채집이 가능한 78명의 헌혈자와 세포독성검사법을 이용한 T세포 교차시험(National Institute of Health법 및 anti-human globulin법, NIH법 및 AHG법)을 시행하였다. NIH법 음성/AHG법 음성인 경우 최선의 헌혈자로, NIH법 음성/AHG법 양성인 경우 차선의 헌혈자로 선정하였다.

**결과 :** 11명의 환자(11/16, 69%)가 NIH 교차시험 음성인 헌혈자를 찾을 수 있었고, 27명의 헌혈자(27/78, 35%)가 최선의 헌혈자에 해당하였다. HLA 적합헌혈자를 찾을 수 있었던 환자 중 8명에게 19명의 헌혈자로부터 총 32회의 혈소판 성분채집을 시행하여 수혈하였다. 최선의 헌혈자군에서는 임의헌혈 혈소판 수혈에 비해 수혈 후 1시간 및 24시간 CCI가 유의하게 증가하였으나(17,893 vs 2,358,  $P=0.003$ ; 8,292 vs -614,  $P<0.001$ ), 차선의 헌혈자군에서는 이러한 차이가 관찰되지 않았다. 혈소판 보관시간과 CCI 값은 역상관관계를 보여 채집 후 10시간 이내의 혈소판을 수혈 시 1시간 및 24시간 CCI가 유의하게 높은 값을 보였다. ABO 일치 여부와 환자와 헌혈자의 혈연/비혈연 관계 여부는 혈소판 수혈효과에 별다른 영향을 보이지 않았다.

**결론 :** HLA 동종면역에 의한 혈소판불응증 환자에서 HLA 교차시험 적합한 헌혈자로부터 수혈 시 효과적인 혈소판 수의 증가를 보였다. 이 방법은 HLA 적합 혈소판 헌혈자 등록제도가 수립되어 있지 않은 경우에 효과적으로 이용될 수 있다.

## 참고문헌

1. Klingemann HG, Self S, Banaji M, Deeg HJ, Doney K, Slichter SJ, et

- al. Refractoriness to random donor platelet transfusions in patients with aplastic anaemia: a multivariate analysis of data from 264 cases. *Br J Haematol* 1987;66:115-21.
2. Legler TJ, Fischer I, Dittmann J, Simson G, Lynen R, Humpe A, et al. Frequency and causes of refractoriness in multiply transfused patients. *Ann Hematol* 1997;74:185-9.
3. Leukocyte reduction and ultraviolet B irradiation of platelets to prevent alloimmunization and refractoriness to platelet transfusions. The Trial to Reduce Alloimmunization to Platelets Study Group. *N Engl J Med* 1997;337:1861-9.
4. Davis KB, Slichter SJ, Corash L. Corrected count increment and percentage platelet recovery as measures of posttransfusion platelet response: problems and a solution. *Transfusion* 1999;39:586-92.
5. Sacher RA, Kickler TS, Schiffer CA, Sherman LA, Bracey AW, Shulman IA. Management of patients refractory to platelet transfusion. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127:409-14.
6. Hod E and Schwartz J. Platelet transfusion refractoriness. *Br J Haematol* 2008;142:348-60.
7. Kiefel V, König C, Kroll H, Santoso S. Platelet alloantibodies in transfused patients. *Transfusion* 2001;41:766-70.
8. Datema G, Stein S, Eijssink C, Mulder A, Claas FH, Doxiadis II. HLA-C expression on platelets: studies with an HLA-Cw1-specific human monoclonal antibody. *Vox Sang* 2000;79:108-11.
9. Moroff G, Garratty G, Heal JM, MacPherson BR, Stroncek D, Huang ST, et al. Selection of platelets for refractory patients by HLA matching and prospective crossmatching. *Transfusion* 1992;32:633-40.
10. Herzig RH, Terasaki PI, Trapani RJ, Herzig GP, Graw RG Jr. The relationship between donor-recipient lymphocytotoxicity and the transfusion response using HLA-matched platelet concentrates. *Transfusion* 1977;17:657-61.
11. Wu KK, Hoak JC, Koepke JA, Thompson JS. Selection of compatible platelet donors: a prospective evaluation of three cross-matching techniques. *Transfusion* 1977;17:638-43.
12. Park HD, Kim YH, Park YJ, Han KS, Park MH. An evaluation of HLA-matched platelet transfusion effect in patients with platelet refractoriness. *Korean J Lab Med* 2004;24:426-31. (박형두, 김양현, 박윤준, 한규섭, 박명희. 혈소판불응증 환자의 HLA 적합혈소판 수혈효과. *대한진단검사의학회지* 2004;24:426-31.)
13. Park MH, Han TH, Han KS, Ahn HS, Choi KH. Establishment of an HLA-matched platelet donor registry for the management of patients with platelet refractoriness. *Korean J Blood Transfus* 1999;



- 10:203-14. (박명희, 한태희, 한규섭, 안효섭, 최경환. 혈소판수혈 불응환자의 치료를 위한 HLA 적합혈소판 헌혈자 등록제도의 수립. 대한수혈학회지 1999;10:203-14.)
14. Vassallo RR Jr. New paradigms in the management of alloimmune refractoriness to platelet transfusions. *Curr Opin Hematol* 2007;14:655-63.
15. Bolgiano DC, Larson EB, Slichter SJ. A model to determine required pool size for HLA-typed community donor apheresis programs. *Transfusion* 1989;29:306-10.
16. Petz LD, Garratty G, Calhoun L, Clark BD, Terasaki PI, Gresens C, et al. Selecting donors of platelets for refractory patients on the basis of HLA antibody specificity. *Transfusion* 2000;40:1446-56.
17. McFarland JG. Matched apheresis platelets. In: McLeod BC, Price TH, et al. eds. *Apheresis: principles and practice*. 2nd ed. Bethesda, MD: AABB press, 2003:199-220.
18. Heal JM, Blumberg N, Masel D. An evaluation of crossmatching, HLA, and ABO matching for platelet transfusions to refractory patients. *Blood* 1987;70:23-30.