

RhD 양성 농축적혈구 35단위 수혈 후 Anti-D가 검출되지 않은 RhD 음성 1예

이원목¹ · 김지혜¹ · 하정숙¹ · 류남희¹ · 전동석¹ · 김재룡¹ · 조덕²

계명대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 전남대학교 의과대학 진단검사의학교실²

A RhD Negative Patient Failed to Produce Detectable Anti-D after Transfusion of 35 Units of RhD Positive Red Blood Cells

Won Mok Lee, M.D.¹, Ji Hae Kim, M.D.¹, Jung Sook Ha, M.D.¹, Nam Hee Ryoo, M.D.¹, Dong Seok Jeon, M.D.¹,
Jae Ryong Kim, M.D.¹, and Duck Cho, M.D.²

Department of Laboratory Medicine, School of Medicine, Keimyung University¹, Daegu; Chonnam National University Medical School²,
Gwangju, Korea

In the present day, pretransfusion tests include ABO and RhD grouping, antibody screening, anti-body identification, and cross matching. Although error rates for these tests have decreased compared to those in the past, clerical errors still occur. When exposed to RhD positive RBCs, a RhD negative person can produce anti-D that causes a severe hemolytic disease of the fetus and the newborn in addition to hemolytic transfusion reactions. Therefore, administration of RhD positive RBCs to a RhD negative person should be avoided. We experienced a RhD negative patient who had been misidentified as positive and transfused 35 units of RhD positive RBCs eight years ago, but did not have detectable anti-D in present. The red cells of the patient showed no agglutination with the anti-D reagent and a negative result in the standard weak D test. The multiplex PCR with sequence-specific priming revealed that the patient was RhD negative. (*Korean J Lab Med* 2007; 27:369-72)

Key Words : RhD negative, Anti-D and PCR, SSP

서 론

D 항원은 수혈 영역에서 A와 B 항원 다음으로 중요한 항원이거나 A와 B 항원과는 다르게 D 항원이 없는 사람은 anti-D를 가지고 있지 않다. Anti-D는 RhD 음성자가 수혈이나 임신 등의 경로로 적혈구 표면의 D 항원에 노출되는 경우에 생성이 되며, D 항원의 면역원성은 다른 혈액형군 항원보다 훨씬 높아 RhD 양성 혈액을 수혈 받은 RhD 음성자의 약 80%에서 anti-D가 생성되는

것으로 알려져 있다. 생성된 anti-D는 심각한 신생아용혈성질환과 용혈성 수혈부작용 등을 유발할 수 있으므로 가임기 여성을 포함한 RhD 음성자들은 가능한 D 항원에 노출되어서는 안되며 응급 상황에서 RhD 음성 혈액을 구하지 못한 경우를 제외하고는 RhD 양성 혈액의 수혈은 제한되어야 한다[1, 2].

특히 우리나라는 RhD 음성자의 비율이 0.15% 미만으로 다른 인종보다 극히 낮아[3] 필요할 때 RhD 음성 혈액의 공급이 용이하지 못해 최적의 시점에서 수혈하지 못하는 경우가 종종 발생하고 있다. 하지만 최근 Frohn 등[4]의 보고에 의하면 RhD 양성 혈액을 수혈 받은 RhD 음성 환자의 약 30-40%에서만 anti-D가 생성되었고 간이식 후 면역억제제를 사용한 RhD 음성 환자[5]와 AIDS인 RhD 음성 환자들[6]에게서 RhD 양성 혈액을 수혈 후 anti-D가 생성되지 않은 보고도 있었다.

저자들은 8년 전 RhD 양성 농축적혈구 35단위를 포함한 총 70

접 수 : 2007년 5월 9일 접수번호 : KJLM2041
수정본접수 : 2007년 8월 14일
게재승인일 : 2007년 8월 18일
교신저자 : 이 원 목
우 700-712 대구광역시 중구 동산동 194
계명대의 동산병원 진단검사의학과
전화 : 053-250-7220, Fax : 053-250-7275
E-mail : lwmm@dsmc.or.kr

단위의 RhD 양성 혈액제제를 투여 받은 후 anti-D가 관찰되지 않은 RhD 음성 환자 1예를 경험하였기에 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

증 례

57세 남자 환자로 양측마비 상태로 도뇨관 삽관하고 지내던 중 고열과 오한이 있어 내원하였다. 환자는 8년 전 교통사고로 인한 척수 손상으로 개인 병원에서 치료를 받던 중 양측마비 증상이 있어 경추 전방 융합술을 시행받기 위해 본원 전원되었다. 수술 후 폐렴, 무기폐, 요로감염과 위막성 대장염 등의 합병증이 발생하여 총 8개월간 항균제와 항진균제로 치료를 받은 후 양측마비 상태로 퇴원하였다. 환자는 당시 혈액형 검사에서 RhD 양성 AB형으로 확인되었으며 수술 직후 혈액소가가 감소해 RhD 양성 AB형 농축적혈구 5단위를 수혈 받았다. 그 후로도 농축적혈구 30단위를 포함한 총 70단위의 RhD 양성 AB형 혈액을 수혈 받은 병력이 있었다.

내원 시 시행한 CBC 검사에서 백혈구 수 $4,790/\mu\text{L}$, 혈색소 13.6 g/dL , 혈소판 수 $122,000/\mu\text{L}$ 이었고 다른 검사에서는 특이 소견 보이지 않았다. 단순복부촬영에서 방광결석이 관찰되어 이로 인한 방광염으로 생각하고 방광결석 제거술(vesicolithotomy)을 시행하기로 하였다. 하지만 수술 전 시행한 혈액형 검사에서 RhD 음성 AB형으로 확인되어 과거와 상이한 결과를 보여 재검을 하였지만 같은 결과를 보였다. 비예기항체 선별검사에서도 anti-D를 포함한 모든 항체에 음성을 보여 환자의 정확한 RHD 유전형을 확인하기 위해 한국인의 유전적 배경을 고려하여[7] Luettringhaus 등[8]이 제안한 방법에 따라 RHD intron 4와 exon 7에 존재하는 RHD 특이적 다형성(RHD specific polymorphism)

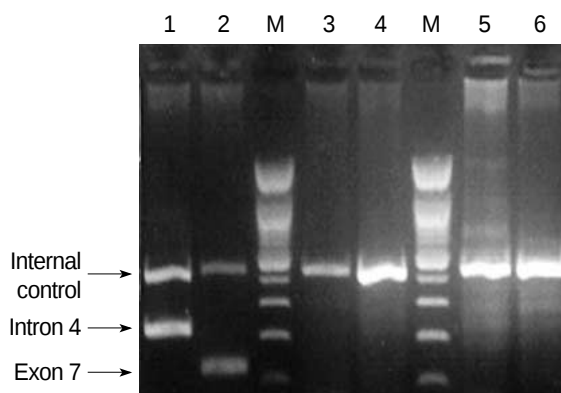


Fig. 1. PCR sequence specific primers pattern of RHD alleles. RhD positive sample (1, 2) shows the amplified fragments of intron 4 (224 bp) and exon 7 (123 bp) of RhD gene. RhD negative sample (3, 4) and this patient (5, 6) show the lack of amplified fragments. In all lanes, a 443 bp fragment (human growth hormone), representing internal control, was amplified. M: DNA molecular weight marker with 100 bp increment.

의 유무를 확인하는 multiplex PCR with sequence-specific priming (PCR-SSP)을 시행하였다.

Intron 4에 대해서는 re41-sense (5'-CGAGACCCAGTTT-GTCTGCCATGC-3')와 rb12-antisense (5'-TCCTGAACCT-GCTCTGTGAAGTGC-3')의 특이 시발체를, exon 7에 대해서는 ga71-sense (5'-GTTGTAACCGAGTGTGGGGATTC-3')와 ga72-antisense (5'-TGCCGGCTCCGACGGTATC-3')의 특이 시발체를 사용하였다. 그리고 내부 대조로는 Human growth hormone locus 위치 5559에서 5992 증폭산물을 확인하기 위해 HGH-1-sense (5'-TGCCTTCCCAACCATTC-3'), HGH-2-antisense (5'-CCACTCACGGATTCTGTGTGT-3')의 특이 시발체를 이용하였다(Fig. 1).

PCR-SSP 결과 환자는 intron 4와 exon 7의 증폭산물이 관찰되지 않아 RHD 음성으로 확인되었다. 환자는 수술 후 수혈 받지 않고 별다른 증상 없이 회복되어 현재 외래 추적 관찰중이다.

고 찰

Anti-D가 생성된 RhD 음성자는 급성 혹은 지연성 용혈성 수혈부작용을 일으킬 수 있기 때문에 RhD 음성자는 RhD 음성 혈액을 수혈 받는 것이 이상적이다. 하지만 우리나라를 포함한 동양권 국가의 RhD 음성자 비율은 서구에 비해 극히 낮아 RhD 음성 혈액의 수급에 큰 문제를 가지고 있다[9]. 국내에서는 대한적십자사 혈액원에서 RhD 음성자들을 등록 관리하고 있지만 이것만으로는 미흡해 많은 어려움을 겪고 있다. RhD 음성 혈액을 구하지 못한 응급상황에서는 교차시험에서 적합한 경우라면 RhD 음성자에게 RhD 양성 혈액의 투여를 고려해볼 수 있다. 하지만 실제로 이러한 결정을 내리기는 힘들고 따라서 적절한 시점에서 수혈이 이루어 지지 않는 경우가 많다. 우리나라뿐만 아니라 다른 동아시아 국가에서도 RhD 음성 혈액이 부족해 이런 경우가 흔히 발생하는데, Lin 등[9]은 이를 의료진이 RhD 음성자에게 양성 혈액을 주는 것에 대해 두려워하는 경향을 가지기 때문이라고 설명하였다. 그리고 1988년부터 RhD 검사를 제외하고 수혈을 해오면서 얻은 자료를 그 이전과 비교하여 anti-D의 생성과 수혈 부작용의 빈도가 의미 있는 차이를 보이지 않는다고 발표하였다. 또한 이러한 자료를 근거로 동아시아에서는 수혈 전 검사 시 RhD 검사를 제외한 ABO형 검사, 비예기항체 선별검사와 교차 시험만을 하라고 주장하였다. 이것은 과거 RhD 항원에 노출과 상관없이 수혈 시 anti-D가 존재하지 않아 교차시험에 적합하다면 수혈을 한다는 정책으로 현재 널리 사용되는 것과는 상이한 것이다. 하지만 환자가 RhD 항원에 노출된 과거력이 있다면 만약 anti-D가 검출이 되지 않았고 교차시험에 적합하더라도 RhD 양성 혈액의 수혈을 결정하는 것은 쉽지 않다. Anti-D가 정말 생성되지 않았기 때문일 수도 있지만 anti-D가 생성이 되었다가 그 역가가 점차 낮아져 수혈을 받을 당시 검출이 되지 않았을 가능성도 배제할 수 없

고 만약 후자의 경우라면 추가적인 RhD 양성 혈액 수혈은 이차성 면역반응을 유발해 다량의 anti-D를 생성시켜 수혈된 혈액과 반응하여 지연성 급성 용혈성 수혈부작용을 일으킬 수 있기 때문이다[1, 2].

일반적으로 RhD 음성자가 RhD 항원에 노출된 후 생성되는 anti-D는 투여한 혈액의 양, 투여 횟수와 환자의 면역상태 등에 따라 달라지고 특히 적혈구 제제를 투여한 경우, 반복투여 시, 그리고 정상인 보다는 환자군에서 생성률이 높다고 알려져 있다[4, 10]. 과거 건강한 RhD 음성자들을 대상으로 anti-D의 생성률을 연구한 보고에 의하면 90% 이상의 RhD 음성자들에게서 RhD 항원 노출 후 anti-D가 생성되었고, 그 중 대부분에서 소량(0.5-1.0 mL)의 주입만으로도 anti-D의 생성이 확인되었다[11, 12]. 또한 혈소판제제에 포함된 미량의 RhD 양성 적혈구가 anti-D 생성을 자극할 수 있다는 보고도 있었다[13]. 하지만 환자군을 후향적으로 분석한 보고에 의하면 예상과는 달리 anti-D의 생성률이 30-40% 정도로 낮았는데 Frohn 등[4]은 이를 항체의 생성률을 증가시키기 위해 반복적 수혈을 받은 대조군에 비해 환자군은 1회의 수혈만을 받아 항원의 노출 횟수가 적었고, 외상 등의 스트레스로 인한 면역력 감소가 동반되어 있었기 때문이라 하였다. 또한 환자군처럼 한번에 과량의 항원에 노출된 경우가 적당량의 항원에 노출되었을 때보다 면역학적 반응이 더 잘 발생하여 anti-D가 생성하지 못했을 것으로 추정하였다. 혈액종양 환자군에서 anti-D 생성을 확인한 보고에 의하면 RhD 양성 혈액 수혈 후 7.8-12.3%에서만 측정이 되었고, 특히 AIDS 환자나 장기 이식 후 면역억제제를 사용한 환자에서는 RhD 양성 혈액을 수혈한 후에 anti-D가 생성되지 않았다는 보고도 있었다. AIDS 환자는 CD4+ T cell의 감소로 인해서 그리고 이식 환자나 혈액종양 환자는 면역억제제나 항암요법으로 인한 면역력 감소로 인해 anti-D가 생성되지 않은 것으로 설명하였다. 본 환자의 경우도 외상에 의한 스트레스와 장기간 항균제와 항진균제의 사용으로 인한 면역력의 감소로 인해 anti-D가 생성되지 않았을 가능성을 생각할 수 있었다.

이전에는 RhD 음성으로 분류되었지만 지금은 유전자 검사로 쉽게 확인이 되는 D_{el} (1227G>A)형은 서구에서는 극히 드물지만 아시아권에서 빈도가 높는데 특히 우리나라의 경우 이전 RhD 음성으로 분류되던 것 중의 약 13%를 차지한다[8]. 약 D형은 RhD 항원에 노출될 경우 순수한 RhD 음성자에 비해 anti-D의 생성률이 낮은 것으로 알려져 있는데 최근 국내의 한 보고에 의하면 D_{el} (1227G>A)형 환자도 이와 유사할 것으로 추정하였다[14]. 본 환자도 과거 RhD 양성 혈액을 수혈 받았으나 anti-D가 생성이 되지 않았기에 D_{el} (1227G>A)형의 가능성을 배제할 수 없어 유전자 검사를 시행하였지만 RhD 음성으로 판명되었다.

현재 수혈 전에는 ABO형, Rh형, 항체선별검사, 항체확인검사와 교차시험을 시행하고 있으며, 2000년 영국에서 실시한 수혈 전 검사에 대한 질 평가[15]에 따르면 각각의 검사에 대한 기술의 발전으로 오류율이 과거에 비해 감소했지만 아직까지 검사오류가 무작위로 발생하고 있다고 하였다. 이는 기술적인 문제보다는 검

체의 수송(transposition)과 정보의 기록(transcription)에서 발생하는 문제로 인한 것이라 하였고 이러한 오류로 인해 혈액형 부적합수혈이 발생할 수 있다고 하였다. 본 증례에서도 과거 수혈 전 검사에서 생긴 오류로 인해 RhD 양성 혈액을 수혈 받았을 것으로 생각되지만, 이것이 전원이기 전 타병원에서 응급으로 RhD 양성 혈액을 수혈 받아 체내 공존하던 RhD 양성 적혈구에 의해 이런 결과가 나타났을 가능성도 배제할 수 없다. 환자는 현재 유전자 검사를 통해 RhD 음성으로 확인되었고 항체선별검사에서 anti-D를 포함한 비예기항체도 검출되지 않았다. 하지만 과거 anti-D가 생성이 되었다가 역가가 낮아져 현재 검출되지 않았을 가능성 배제할 수 없기에 추적 관찰이 요구되며 향후 수혈이 필요할 경우에는 반드시 RhD 음성 혈액을 수혈해야 할 것이다.

요 약

현재 수혈 전에는 ABO형, RhD형, 항체선별검사, 항체확인검사와 교차시험을 시행하는데, 과거에 비해 이 검사들에 대한 오류율은 감소하였지만 여전히 발생하고 있다. RhD형의 경우 RhD 음성자가 RhD 양성 적혈구에 노출되면 anti-D가 생성되며 anti-D는 용혈성 수혈부작용과 신생아용혈성질환의 원인이 될 수 있다. 그러므로 RhD 음성자에게 RhD 양성 혈액을 수혈하는 것은 제한되어야 한다. 저자들은 8년 전 RhD 양성으로 오인되어 35단위의 RhD 양성 농축 적혈구를 수혈받은 RhD 음성 환자에게서 anti-D가 검출되지 않은 1예를 경험하였다. 이 증례는 Anti-D 시약을 이용한 RhD 검사와 표준 약-D 검사에서 RhD 음성형으로 분류되었으며 RHD 유전자에 대한 multiplex PCR with sequence-specific priming에서 RhD 음성임을 확인하였다.

참고문헌

1. Han KS, Park MH, et al. eds. Transfusion Medicine. 3rd ed. Seoul: Korea medical Publishing Co, 2006:214-9. (한규섭, 박명희 등. 수혈의학. 제3판. 서울: 고려의학 2006:214-9.)
2. Brecher ME, ed. Technical manual. 15th ed. Bethesda; American Association of Blood Banks, 2005:315-33.
3. Hwang YS. Haplotype frequencies of Rh gene loci in Koreans. Korean J Blood Transfus 1996;7:233-40. (황유성. 한국인 Rh혈액형의 유전자일배체형 분석. 대한수혈학회지 1996;7:233-40.)
4. Frohn C, Dumbgen L, Brand JM, Gorg S, Luhm J, Kirchner H. Probability of anti-D development in D- patients receiving D+ RBCs. Transfusion 2003;43:893-8.
5. Boctor FN, Ali NM, Mohandas K, Uehlinger J. Absence of D- alloimmunization in AIDS patients receiving D-mismatched RBCs. Transfusion 2003;43:173-6.

6. Casanueva M, Valdes MD, Ribera MC. Lack of alloimmunization to D antigen in D-negative immunosuppressed liver transplant recipients. *Transfusion* 1994;34:570-2.
7. Kim JY, Kim SY, Kim CA, Yon GS, Park SS. Molecular characterization of D- Korean persons: development of a diagnostic strategy. *Transfusion* 2005;45:345-52.
8. Luettringhaus TA, Cho D, Ryang DW, Flegel WA. An easy RHD genotyping strategy for D negative East Asian persons applied to Korean blood donors. *Transfusion* 2006;46:2128-37.
9. Lin M. Taiwan experience suggests that RhD typing for blood transfusion is unnecessary in southeast Asian populations. *Transfusion* 2006;46:95-8.
10. Hensler T, Hecker H, Heeg K, Heidecke CD, Bartels H, Barthlen W, et al. Distinct mechanisms of immunosuppression as a consequence of major surgery. *Infect Immun* 1997;65:2283-91.
11. Urbaniak SJ and Robertson AE. A successful program of immunizing Rh-negative male volunteers for anti-D production using frozen/thawed blood. *Transfusion* 1981;21:64-9.
12. Jakobowicz R, Williams L, Silberman F. Immunization of Rh-negative volunteers by repeated injections of very small amounts of Rh-positive blood. *Vox Sang* 1972;23:376-81.
13. Menitove JE. Immunoprophylaxis for D-patients receiving platelet transfusions from D+ donors? *Transfusion* 2002;42:136-8.
14. Pack JY, Cho D, Choi HW, Jeon MJ, Park MS, Song JW, et al. A patient with RhD_e (1227G>A) failed to produce detectable anti-D after transfusion of RhD positive red blood cells. *Korean J Blood Transfus* 2006;17:153-8. (박지영, 조덕, 최현우, 전미정, 박만석, 송정원 등. RhD 양성 농축적혈구 투여 후 Anti-D가 검출되지 않은 RhD_e (1227G>A) 1예. 대한수혈학회지 2006;17:153-8.)
15. Knowles SM, Milkins CE, Chapman JF, Scott M. The United Kingdom National External Quality Assessment Scheme (Blood Transfusion Laboratory Practice): trends in proficiency and practice between 1985 and 2000. *Transfus Med* 2002;12:11-23.