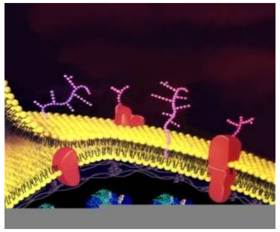
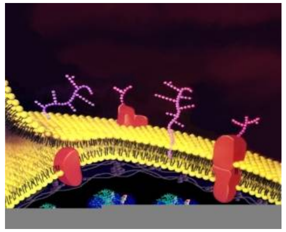
수혈검사학

의 이해와 기법

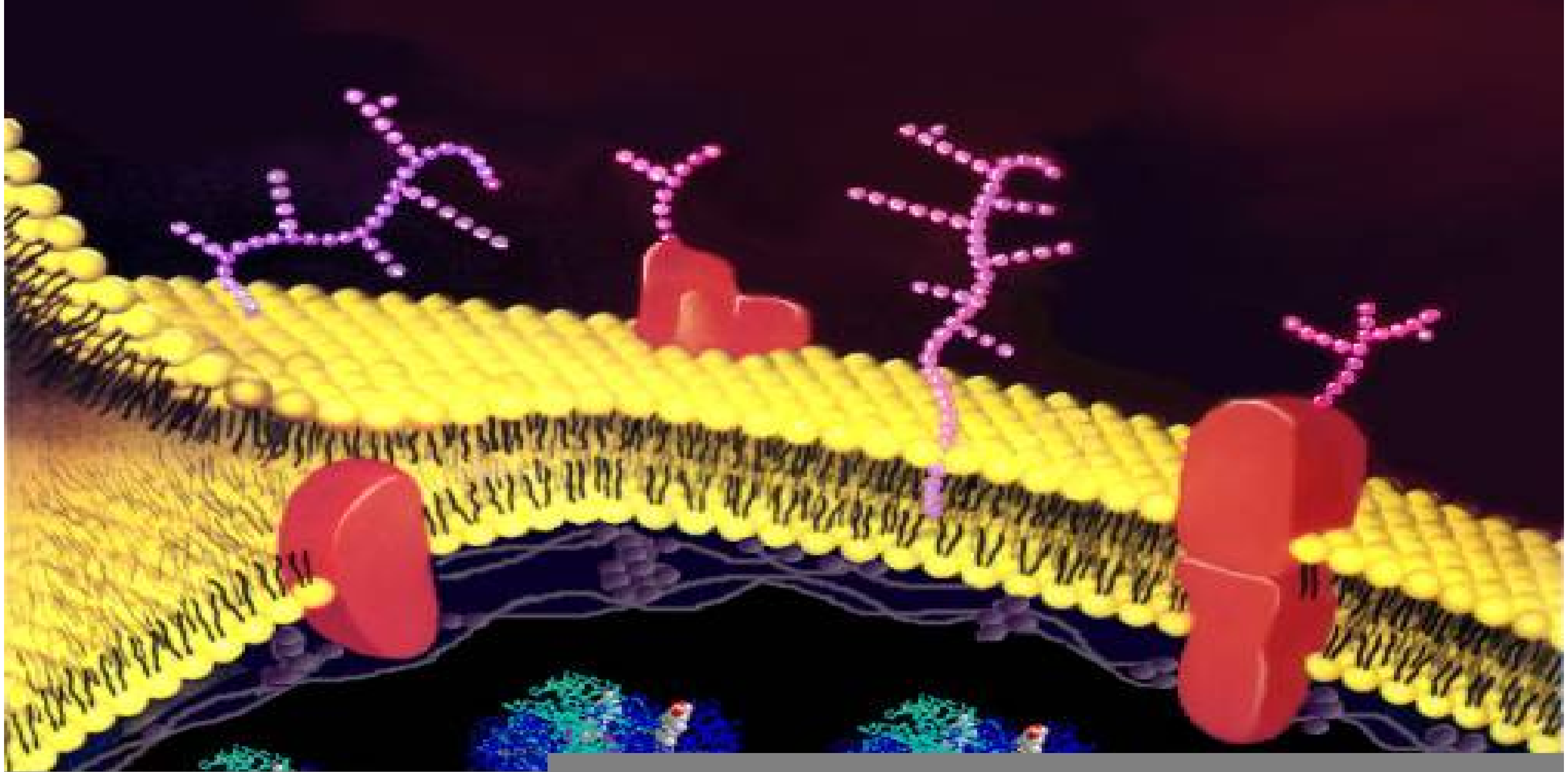
(2018년 12월 12일)



경운대학교 임상병리학과

백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antigen)



백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

Human Leukocyte Antig en

- MCH(major histocompatibility complex) 유전자에 의해 생성된 당단백질 분자로 인체내 모든 조직세포의 표면, 혈소판, 백혈구에서 표현되고 면역의 조절, 장기이식, 골수이식과 관련하여 매우 중요하다.
- 6번 염색체 단완에 존재
- 자기와 비자기의 인지, 항원자극에 대한 면역반응에 관여
- 세포성 면역반응과 체액성 면역의 조절에 관여.
- 장기 이식 시 HLA 항원 적합성 검사를 실시해야 함

백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

❖ HLA는 구조와 기능에 따라 class I, II, III로 구분 됨.

1) class I = HLA-A, B, C 등 항원생성에 관여

2) class II = HLA-DR, DQ, DP

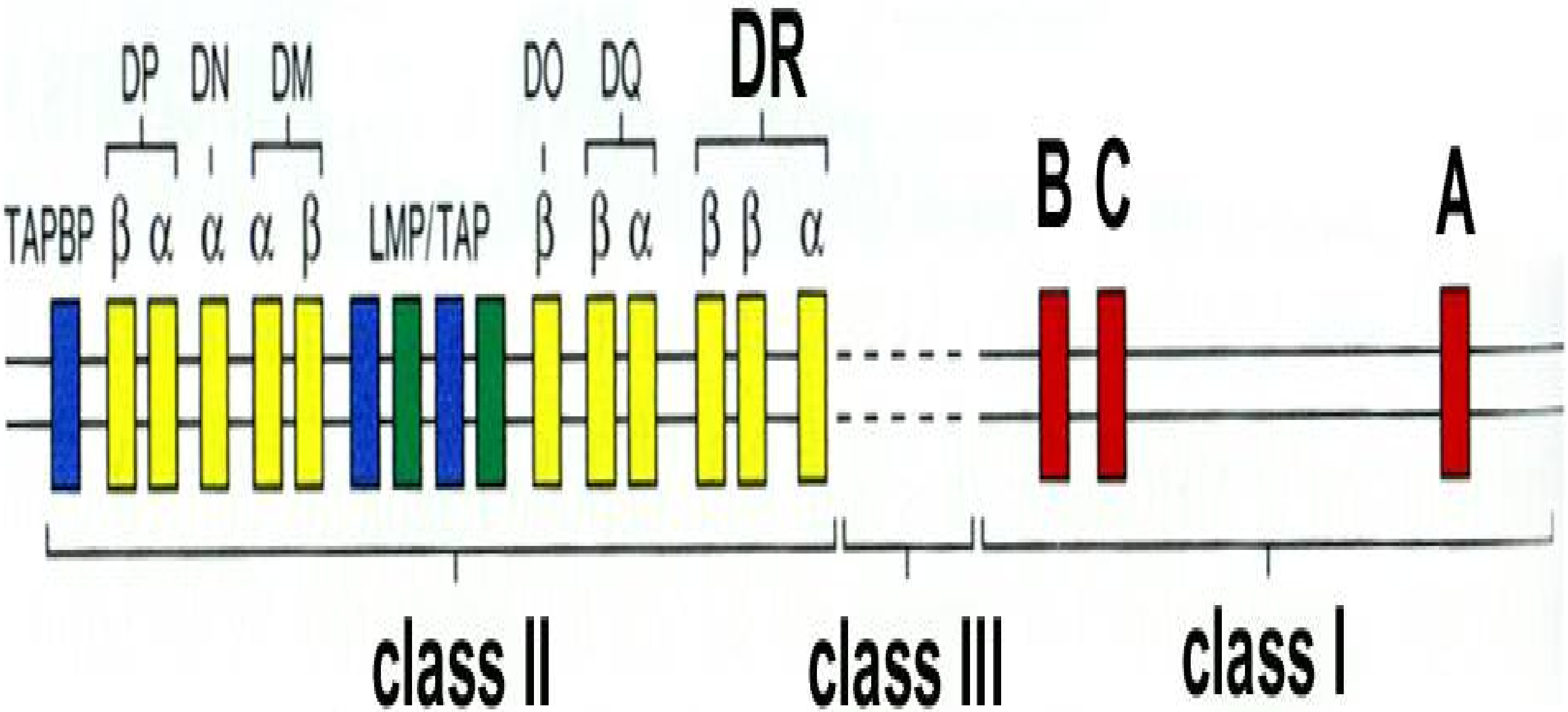
3) class III = 보체계 C2, C4A, C4B , Properdin,
Factor B 유전자

❖ HLA 유전자 특징

1. 사람의 제 6번 염색체의 단완부에 위치
2. 유전 : haplotype (일배체형)
   - 동일 염색체에 위치하는 HLA 형별 세트
   - 부모 자식간에는 50% 유사
   - 형제 자매간 일치 확률은 25%

백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

HLA gene



백혈구 항원계

(Human Leukocyte Antig en)

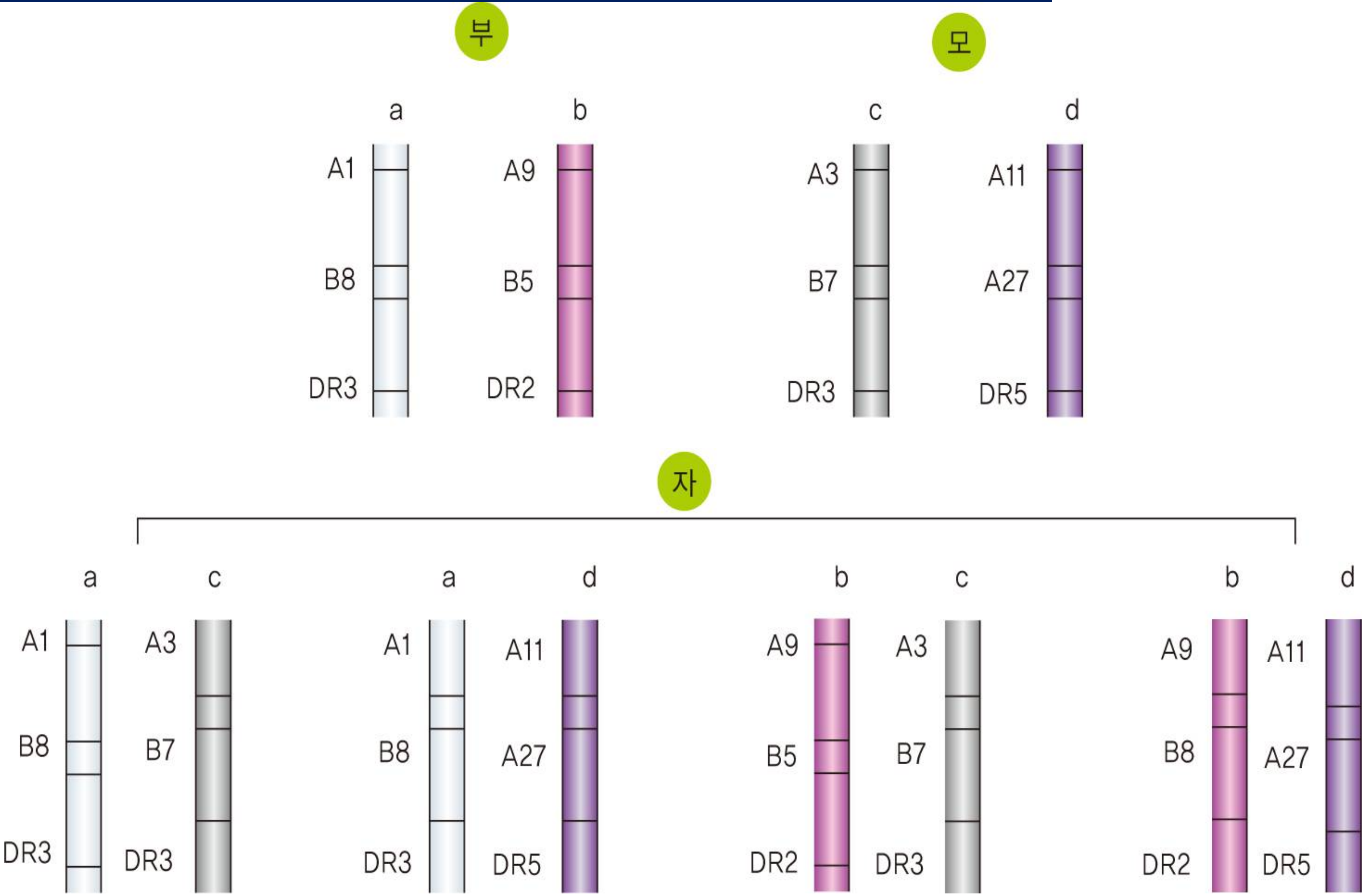
HLA gene

Class Ⅰ 항원

분자량 40~45 kD의 HLA-A, -B, -C 분자의 heavy chain
β2-microglobulin이라는 light chain이 비공유
heavy chain 만이 세포막을 통과한다.

세포 및 항체반응을 강력하게 유발하고 조직세포와 혈소판 등 광범위하게 분포한다. 아직 적은 양이 성숙 적혈구에 존재하는데 이를 Bg(Bennett-Goodspeed) 항원이라 하며, Bga(HLA-B7), Bgb(HLA-B17), Bgc(HLA-A28) 등이 있다.

백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)



백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

Serologic Specificity	Number of Gene Products	Polymorphic or Variant Alleles
HLA-A1	1	A*0101
HLA-A29	2	A*2901, A*2902
HLA-B7	3	B*0701, B*0702, B*0703
HLA-B27	7	B*2701, B*2702, B*2703
		B*2704, B*2705, B*2706
		B*2707
HLA-DR51	4	DRB5*0101, DRB5*0102
		DRB5*0201, DRB5*0202

백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

❖ 수혈요법과 HLA 항원항체의 중요 상관관계

- 수혈부작용에 중요한 역할을 한다.

✓ 혈소판 수혈 불응증(platelet refractoriness)

✓ 발열성 비용혈성 수혈 부작용

(febrile nonhemolytic transfusion reaction)

✓ 수혈관련 급성폐손상

(transfusion-related acute lung injury)

✓ 수혈 후 이식 편대 숙주병

(post transfusion graft vs host disease; GVHD)

백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

HLA 항원과 장기이식

❖ 이식을 위한 주요 HLA 항원 검사

- 골수이식 : HLA-A, HLA-B, HLA-C,
  HLA-DR과 HLA-DQ 적합성 검사
  ABO 적합성 검사 (ABO 혈액형이 동일하지 않은 경우도 골수이식 가능)

- 고형장기이식(solid organ transplantation) :
  ABO 적합성 검사
  HLA-A, HLA-B, HLA-DR항원 검사와
  HLA-crossmatching 검사는 기본적으로 실시
  HLA-C와 HLA-DQ는 routine으로 실시하지는 않는다.

백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

➢ HLA 항원과 장기이식

1) 조혈모세포 이식
   (Hematopoietic stem cell Transplantation)
2) 신장이식 (Kidney Transplantation)
3) 심장이식 (Heart Transplantation)
4) 간이식 (Liver Transplantation)
5) 폐이식 (Lung Transplantation)
6) 췌장이식 (Pancreas Transplantation)
7) 질병관리본부 장기이식관리센터
   (Korean Network organ sharing, KONOS)

백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

❖ HLA 항원과 친자감별 검사 Paternity Testing

✓ 친자감별 검사의 항목 :

- HLA-A, HLA-B 등 HLA 항원 검사
- ABO, Rh 혈액형 검사
-변이수 일렬반복 VNTR(variable numbers of repeats) 검사
  : non-HLA의 유전부위 다형성 검사
-제한효소 절편길이 다형성 검사
  RFLP(restriction fragment length polymorphism)
  : DNA 유전자 분석법

백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

❖ HLA 항원과 질환과의 관계

HLA 유전자가 특정 질환을 발생시키는 유전자와 가까이 근접해 있는 경우이다. HLA 항원별로 각종 질환의 유발을 분류할 수 있다.

가장 대표적인 예가 HLA-B27에 의한 ankylosing spondylitis(강직성 척추염)이다.

백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

HLA의 기능

1. 면역 반응에 관여 :

HLA antigen은 "self recognition"에 관여한다. T cell dependent immune response 를 유발하여 foreign substance 를 가진 cell을 제거하는데 참여한다.

① class I : Cytotoxic T cell이 바이러스에 감염된 세포나 종양세포를 인지하여 제거할때 antigen recognition에 필수적이다.

② class II : Helper T cell의 antigen receptor와 작용하여 humoral 및 cellular immune response를 유발한다. 항원제시 세포(예:대식세포)에 표현된 항원을 인지할 때 필수적이다.

2. 이식된 장기 거부작용
3. 질병 연관성

백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

HLA typing 의 이용

장기이식: 적절한 장기 공여자 선정

질병진단: 강직성 척추염(HLA B27)

류마티스 관절염

법의학적: 친자감별, 개인식별

기타 HLA 관련 연구

백혈구 항원계

원리(Human Leukocyte Antig en)

HLA typing - 원리

① HLA plate의 각 well에는 각종 HLA 항원에 반응하는 항혈청이 분주 되어 있는데, 여기에 검사자의 lymphocytes를 넣음

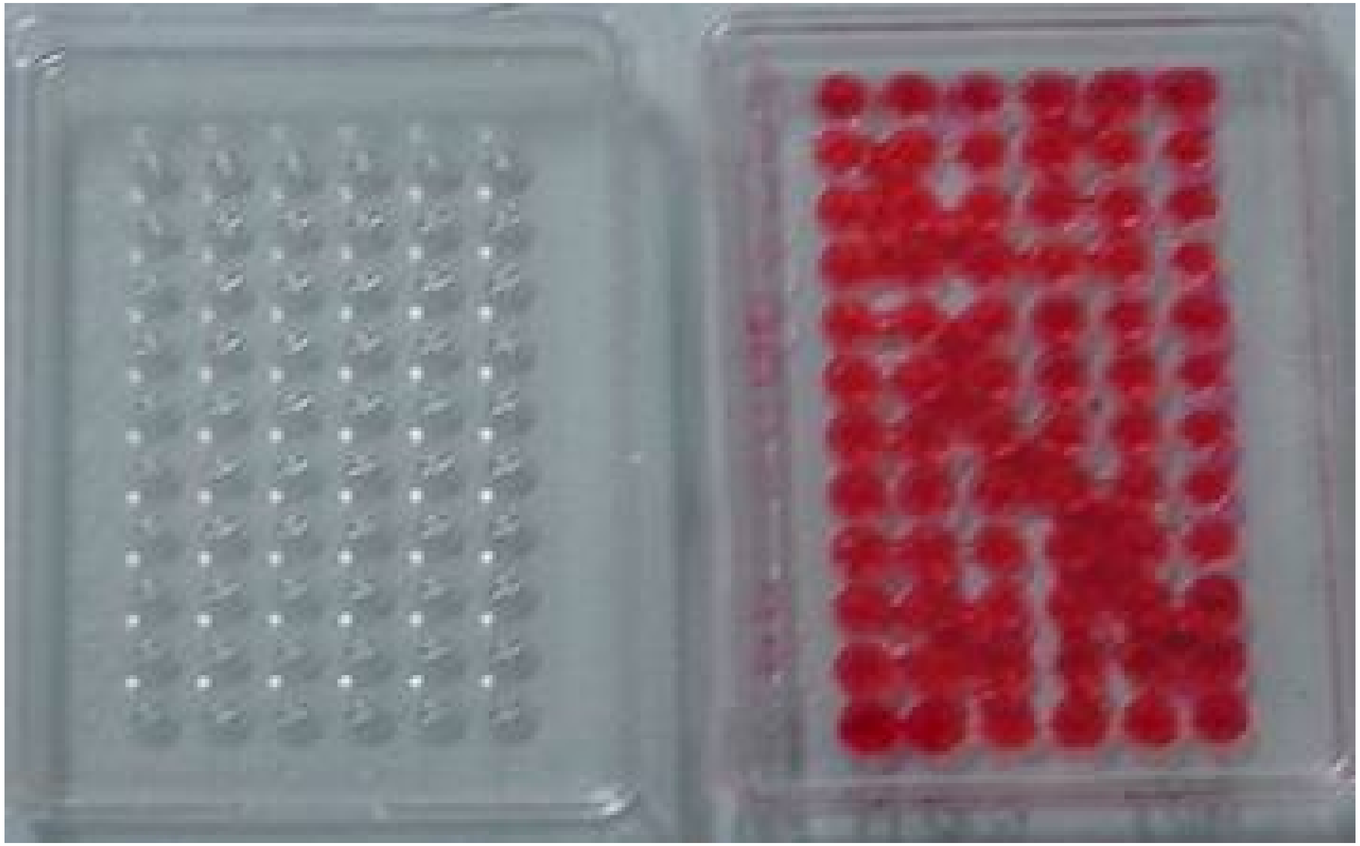
② 각각의 특정 항혈청과 반응하는 HLA 항원이 림프구 표면에 있는 경우 항원 – 항체반응이 일어남

③ Complement(rabbit plasma)를 첨가하면 complement fixation 에 의해 cell lysis가 일어남

④ Lysis된 세포는 첨가한 지시약(eosin Y)에 염색되어 붉게 보인다(양성반응) 해당하는 항원이 없는 세포는 lysis가 안되어 염색되지 않음(음성반응). 붉은 세포의 %를 산출하여 판정을 함

백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

염색 전후의 Microplate



백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

❖ 림프구혼합배양검사
(mixed lymphocyte test, MLC)

: T 림프구는 HLA 유전적 배경이 서로 다른 세포를
인식할때 증식되는 성질이 있는데 이러한 특성을
이용한 검사

백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

❖ HLA 항체

HLA 교차 시험

목적 :

초급성거부반응 (hyperacuterejection) 예방

장기의 생존 예측

장기이식 전 HLA 항체 존재 유무

백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

원리

공여자의 림프구와 환자의 혈청을 반응시켜 HLA항원의 혈청학적 검사방법(미세림프구독성검사)과 음성 대조 well에 비해 죽은 세포가 10 ~15%이상 관찰될 때 양성으로 판정.

검사법

NIH, 항온시간을 연장시키는 연장 항온법, AHG(anti human globulin)법(주로 kappa 사용)등 더 예민한 검사법등이 있음

백혈구 항원계
(Human Leukocyte Antig en)

장기 이식에서 조직적합성검사의 적용 현황

	신장		췌장		골수	심장	간장
검사	생존가족	사체	생존가족	사체			
ABO 혈액형	++	++	++	++	+-	++	++
HLA –A,B	+	+-	+	비적용	++	비적용	비적용
HLA-D/DR	+	+	+	비적용	++	++	++
HLA crossmatch	++	++	++	++	+-	++	++

++ : 적합성을 맞춰주는 것이 극히 중요
+ : 적합성이 맞을수록 성공률이 좋음
+- : 적합성이 맞지 않아도 실시 가능