

## 입자겔면역분석법을 이용하여 진단한 헤파린유도성 혈소판감소증 2예

송규섭<sup>1</sup> · 장순희<sup>2</sup> · 서장수<sup>1</sup>

경북대학교 의과대학 임상병리학교실<sup>1</sup>, 대구파티마병원 진단검사의학과<sup>2</sup>

### Two Cases of Heparin-Induced Thrombocytopenia Diagnosed by Particle Gel Immunoassay

Kyu Sub Song, M.D.<sup>1</sup>, Soon Hee Chang, M.D.<sup>2</sup>, and Jang Soo Suh, M.D.<sup>1</sup>

Department of Clinical Pathology, School of Medicine, Kyungpook National University<sup>1</sup>, Daegu; Department of Laboratory Medicine, Fatima Hospital<sup>2</sup>, Daegu, Korea

Heparin-induced thrombocytopenia (HIT) is a serious complication of heparin therapy. It represents initially as thrombocytopenia and is associated with venous or arterial thrombosis. It has been reported that platelet factor 4/heparin complex antibody plays an important role in the pathogenesis of HIT. Patients on hemodialysis have a high risk of developing HIT because heparin is administered in hemodialysis as anticoagulant. Thrombocytopenia usually occurs 5 to 10 days after the onset of administration, but occasionally, it may occur rapidly in patients who have preformed antibodies from recent heparin use. We report here 2 cases of HIT with platelet factor 4-heparin reactive antibody in hemodialysis patients. (*Korean J Lab Med* 2006;26:334-7)

**Key Words :** Heparin-induced thrombocytopenia, Platelet factor 4-heparin reactive antibody, Hemodialysis

## 서 론

헤파린유도성 혈소판감소증(Heparin-Induced thrombocytopenia, HIT)은 치료적 목적으로 투여된 헤파린과 환자의 혈소판에 존재하는 혈소판인자 4의 결합에 대한 항체에 의해 발생한다고 알려져 있으며, 이러한 결과로 형성된 항원-항체 구조물이 혈소판을 활성화시켜 혈소판감소증과 혈전증을 유발하는 질환이다. 임상적으로 헤파린유도성 혈소판감소증은 내원 당시 정상 혈소판 수치를 가진 환자에서 헤파린 사용 후, 혈소판 수치가  $144 \times 10^9/L$  이하로 감소하거나 기저치에 비해 50% 이하로 감소하는 경우로 정의된다[1, 2]. 혈소판감소증의 정도는 중등도로 발생하며 대개 혈소판의 최저치는  $50-60 \times 10^9/L$  정도이다[3]. 전형적으로 혈소판

투여가 시작되고 5-10일 이후에 발생하는데 이는 혈소판이 투여된 이후 체액성 면역반응이 일어나는데 시간이 필요하기 때문이다[4, 5]. 또한 환자가 최근 헤파린을 투여 받은 경력이 있고 헤파린-혈소판인자 4 항체를 지니고 있는 경우 헤파린 투여 후 24시간 이내에 발생할 수 있으며[4, 5] 일부 환자에서는 헤파린 투여를 중지한 후 수일이 지난 후에 혈소판감소증이 발생하기도 한다[2].

저자들은 혈액투석 및 헤파린 사용 후 발생한 혈소판감소증 환자에서 입자겔면역분석법(Particle Gel Immunoassay, PaGIA)을 이용하여 헤파린-혈소판인자 4 항체 양성으로 헤파린유도성 혈소판감소증으로 확진된 2예를 경험하였기에 보고하고자 한다.

## 증 례

### 1. 증례 1

58세 남자 환자로 제2형 당뇨병으로 진단받았으며, 내원 4년 전에 야간뇨, 부종, 오른쪽 옆구리 통증 등을 주소로 경북대학교병원

접 수 : 2006년 5월 3일      접수번호 : KJLM1947  
수정본접수 : 2006년 9월 7일  
게재승인일 : 2006년 10월 8일  
교 신 저 자 : 서 장 수  
우 700-721 대구광역시 중구 삼덕 2가 50  
경북대학교병원 진단검사의학과  
전화 : 053-420-5278, Fax : 053-426-3367  
E-mail : docsong@hanmail.net

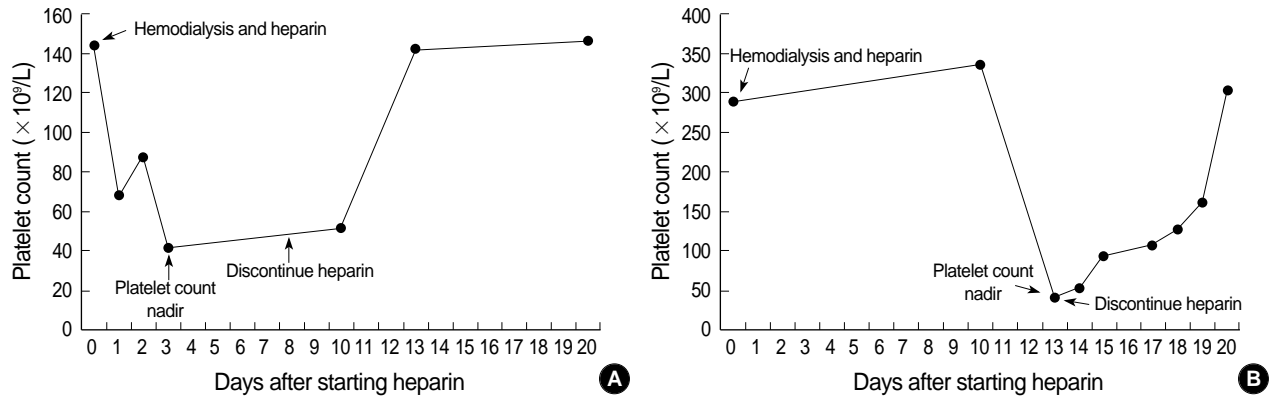


Fig. 1. Time course of platelet count in two patients with heparin-induced thrombocytopenia. A: Case 1, B: Case 2.

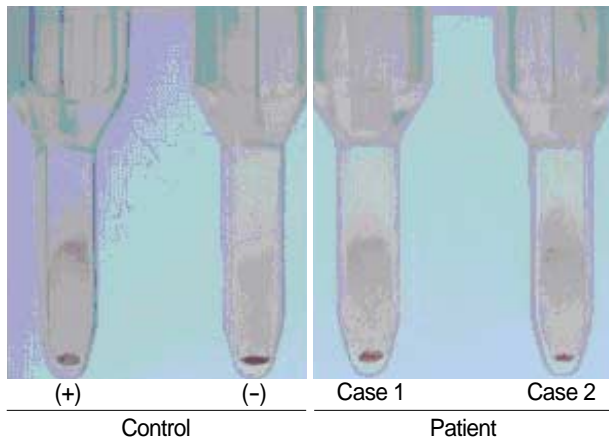


Fig. 2. The results of particle gel immunoassay. Serum samples of two patients showed positive reactions.

신장내과 방문하여 24시간 소변검사에서 소변량 1,480 mL, 총단백 2,171.2 mg으로 당뇨병성 신증 진단을 받고 이뇨제, 저단백 식이요법 등으로 치료하였다. 내원 6개월 전부터 인슐린치료를 시작하였고 내원 1달 전부터 오심, 구토, 상복부통증 및 불면증이 발생하였다. 내원 5일전 일반혈액검사에서 혈색소치가 7.6 g/dL로 감소되었고 신장기능검사에서 BUN 111.3 mg/dL, Creatinine 8.45 mg/dL로 증가하는 소견을 보여 혈액투석을 목적으로 내원하였다.

내원 당시 혈액학적 검사상 혈색소 5.90 g/dL, 백혈구  $8.14 \times 10^9/L$ , 혈소판  $144 \times 10^9/L$ 이었고 혈청생화학 검사에서 혈청총단백 6.0 g/dL, 알부민 3.2 g/dL, AST 19 U/L, ALT 15 U/L, 총빌리루빈 0.18 mg/dL, BUN 83 mg/dL, Creatinine 7.5 mg/dL, 혈당 151 mg/dL이었다. 혈액투석과 관련하여 미분획 헤파린을 1일째 900단위, 2일째 1,500단위, 3일째 1,900단위를 투여한 후 측정된 환자의 혈소판 수치는 1일째  $68 \times 10^9/L$ , 2일째  $87 \times 10^9/L$ , 3일째  $41 \times 10^9/L$ 로 감소하는 소견을 보였으며 혈전증의 소견은 보이지 않았다. 임상적으로 헤파린유도성 혈소판감소증을 의심하여 혈액투석 8일째에 헤파린 사용을 중단하였으며 이후 10일째  $51 \times 10^9/L$ , 13일째  $142 \times 10^9/L$ 로 증가하는 소견을 나타내었다(Fig. 1A).

이 환자에서 헤파린유도성 혈소판감소증의 확진을 위하여 ID-PaGIA Heparin/PF4 Antibody Test Kit (DiaMed, Cressier sur Morat, Switzerland)를 이용한 입자겔면역분석법으로 검사한 결과 헤파린-혈소판인자 4 항체 양성소견을 보여 헤파린유도성 혈소판감소증으로 확진할 수 있었다(Fig. 2).

## 2. 증례 2

56세 남자 환자로 제2형 당뇨병으로 진단받았고, 내원 6개월 전에 말기신부전 진단받았으나 혈액투석 시행하지 않고 지내오던 환자이다. 내원 당시 실신 후 정신혼동의 소견을 보여 응급 혈액투석을 실시하였다. 당시 혈액학적 검사상 혈색소 12.2 g/dL, 백혈구  $12.37 \times 10^9/L$ , 혈소판  $289 \times 10^9/L$ 이었고 혈청생화학 검사상 혈청총단백 5.9 g/dL, 알부민 3.0 g/dL, AST 18 U/L, ALT 11 U/L, 총빌리루빈 0.4 mg/dL, BUN 55.9 mg/dL, Creatinine 5.7 mg/dL이었다. 혈액투석과 함께 헤파린을 투여한지 10일째 측정된 환자의 혈소판 수치는  $335 \times 10^9/L$ 로 정상이었으나 13일째  $41 \times 10^9/L$ 으로 감소하는 소견을 보였으며 혈전증의 소견은 보이지 않았다. 이후 혈액투석시 헤파린 사용을 중단하였고 혈소판 수치는 혈액투석 14일째  $53 \times 10^9/L$ , 15일째  $93 \times 10^9/L$ , 17일째  $107 \times 10^9/L$ , 19일째  $161 \times 10^9/L$ 로 증가하는 소견을 보였다(Fig. 1B).

이 환자에서도 확진을 위해 입자겔면역분석법으로 검사한 결과 헤파린-혈소판인자 4 항체 양성소견을 보여 헤파린유도성 혈소판감소증으로 확진할 수 있었다(Fig. 2).

## 고 찰

헤파린유도성 혈소판감소증은 혈소판인자 4에 결합하는 IgG 항체에 의해 발생하며, 혈소판인자 4는 헤파린과 결합함으로써 면역반응을 유발하게 된다[3, 6, 7]. 헤파린 사용 후 경미한 혈소판감소증이 일시적으로 나타났다가 사라지는 제 I 형과 사용 후 5-7일

경에 나타나면서 심한 임상증상을 동반하는 제Ⅱ형으로 구분되며, 특히 제Ⅱ형은 드물게 나타나지만 심한 혈소판 감소증과 함께 혈전증을 유발하여 환자를 사망에 이르게 하는 무서운 질환이다[7]. 국내에서는 2예의 헤파린유도성 혈소판감소증이 보고되었으며[8, 9] 전체 헤파린 사용 환자의 대략 5% 정도에서 발생하는 것으로 보고되어 있고[10, 11] 혈액투석 환자를 대상으로 한 경우 3.9%에서 발생하였다는 보고가 있다[12].

현재 가장 설득력이 높은 병리기전은 헤파린 항체가 혈중에서 헤파린-혈소판인자 4 결합체에 결합하여 혈소판의 Fc 수용체에 부착하며, 결과적으로 혈소판을 활성화하여 더욱 많은 혈소판인자 4를 분비케 하고 자신은 파괴 또는 탐식되어 혈소판감소증을 유발한다고 설명하고 있다[13]. IgG, IgA, IgM 항체가 헤파린유도성 혈소판감소증 환자에서 고르게 나타날 수 있지만 면역항체의 아형이 IgG형이면서 역가가 높은 경우에 대부분 임상증상을 나타낸다[14]. IgA나 IgM의 경우 혈소판에 직접 결합할 수 없고 헤파린-혈소판인자 4-IgG 면역복합체에 먼저 결합한 후 혈소판에 부착하는 것으로 생각된다[15].

헤파린이 혈소판인자 4와 결합하는 정도는 헤파린의 분자량과 황산화의 정도와 관계가 있어 미분획 헤파린(unfractionated heparin)이 저분자량 헤파린(low-molecular-weight heparin)에 비해 발생빈도가 높은 것으로 알려져 있다[16-18]. 헤파린유도성 혈소판감소증에서 혈소판 활성화와 혈관내피세포의 손상을 일으켜 혈전증이 유발될 수 있고 헤파린을 중지한 후에도 수일에서 수주동안 혈전성 합병증의 위험성은 남아있게 된다[19, 20].

헤파린유도성 혈소판감소증의 검사방법에는 일정 농도의 헤파린 존재하에서 환자 혈청이 정상 혈소판의 응집능을 활성화 시키는 소사를 부 착한 세로토닌을 붙인 후 일정량의 헤파린이 있는 시험관에서 환자 혈청과 함께 섞어 상층액에 유출된 방사성 동위원소 부 착 세로토닌의 양을 측정하는 세로토닌 분비능검사(serotonin release assay, SRA)[21], 혈소판인자 4를 이용하여 헤파린과 결합체를 만들고 여기에 환자 혈청을 반응시켜 면역항체 존재 여부를 검사하는 효소면역검사법(PF4/Heparin enzyme immunoassay)[22], 그리고 빠른 시간 내에 헤파린-혈소판인자 4 항체를 확인할 수 있는 입자겔면역분석법(Particle gel immunoassay) 등이 있다[23]. 세로토닌 분비능검사가 민감도와 특이도가 높아 가장 좋은 검사로 알려져 있지만 복잡하고 시간이 많이 걸려 잘 시행되지 않으며 혈소판 응집검사는 특이도는 높지만 민감도가 떨어지는 단점이 있다.

저자들은 혈액투석 및 헤파린 투여 후 발생한 혈소판감소증 환자의 헤파린-혈소판인자 4 항체의 확인을 위하여 입자겔면역분석법을 이용하였다. ID-PaGIA Heparin /PF4 Antibody Test Kit는 붉은색의 중합체 입자가 헤파린-혈소판인자 4 결합체에 감작되어져 있어 이 입자가 환자의 혈청과 혼합하면 혈청내의 특이 항체와 반응하게 되고 응집이 일어나게 되는데, 응집이 일어난 입자

와 그렇지 않은 입자의 공간적 분리를 위해 반응 혼합물을 겔여과를 통해 원심분리하게 된다. 응집된 입자는 겔의 위부분에 남아있게 되고 응집되지 않은 입자는 미세관의 바닥으로 가라앉게 된다. 이 방법의 경우 20분 이내의 빠른 시간에 항체를 검출할 수 있는 장점이 있으며 효소면역검사법과는 86%, 혈소판 응집검사와는 69%의 일치율을 보이고 있으나 민감도와 특이도에 대한 정확한 보고는 없다[23].

증례 1의 경우 입원당시 혈소판 수치는  $144 \times 10^9/L$ 이었으나 혈액투석 및 헤파린 투여 후 측정된 혈소판 수치가  $68 \times 10^9/L$ 로 헤파린 사용 후 24시간 이내에 혈소판감소증이 나타난 경우이다. 이는 최근에 헤파린 투여에 의해 헤파린-혈소판인자 4 항체가 환자의 혈청 내에 존재하는 경우에 해당된다. 이 환자에 있어서 헤파린 사용의 과거력은 찾을 수 없었지만 24시간 이내에 혈소판감소증이 나타난 것으로 보아 최근에 헤파린에 노출된 적이 있는 것으로 추측된다. 증례 2의 경우 입원당시 혈소판 수치는  $289 \times 10^9/L$ , 10일째  $335 \times 10^9/L$ 으로 정상의 혈소판 수치를 나타내었으나 13일째  $41 \times 10^9/L$ 로 혈소판감소증의 소견을 보였다. 따라서 이 환자의 경우 헤파린 사용 후 10일에서 13일 사이에 혈소판감소증이 발생한 것으로 사료되며 헤파린 사용을 중지한 후 혈소판 수치가 증가하는 양상을 보여 전형적인 헤파린유도성 혈소판감소증의 소견을 보여주었다. 두 환자에서 혈전증의 소견은 나타나지 않았으며 ID-PaGIA Heparin/PF4 Antibody Test Kit를 이용한 입자겔면역분석법으로 검사한 결과 헤파린-혈소판인자 4 항체 양성 소견을 보여 헤파린유도성 혈소판감소증으로 확진할 수 있었다.

## 요 약

헤파린유도성 혈소판감소증은 헤파린 치료의 심각한 부작용이다. 헤파린유도성 혈소판감소증은 초기에 혈소판감소증이 나타나며 동맥 또는 정맥혈전증과도 관련이 있다. 헤파린유도성 혈소판감소증의 병인에 헤파린-혈소판인자 4 항체가 중요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다. 혈액투석 환자에서도 항응고제로 헤파린을 사용함으로써 헤파린유도성 혈소판감소증의 높은 위험성을 가지게 된다. 혈소판감소증은 일반적으로 헤파린을 사용한 후 5일에서 10일 사이에 나타나지만, 최근에 헤파린을 사용하여 항체를 가지고 있는 경우에 빠르게 혈소판감소증이 나타날 수 있다. 저자들은 혈액투석 환자에서 헤파린-혈소판인자 4 항체 양성을 보인 헤파린유도성 혈소판감소증 2예를 경험하였기에 보고하는 바이다.

## 참고문헌

1. Rice L, Attisha WK, Drexler A, Francis JL. Delayed-onset heparin-induced thrombocytopenia. *Ann Intern Med* 2002;136:210-5.
2. Warkentin TE and Kelton JG. Delayed-onset heparin-induced throm-

- bocytopenia and thrombosis. *Ann Intern Med* 2001;135:502-6.
3. Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia: pathogenesis and management. *Br J Haematol* 2003;121:535-55.
  4. Warkentin TE and Kelton JG. Temporal aspects of heparin-induced thrombocytopenia. *N Engl J Med* 2001;344:1286-92.
  5. Lubenow N, Kempf R, Eichner A, Eichler P, Carlsson LE, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia: temporal pattern of thrombocytopenia in relation to initial use or reexposure to heparin. *Chest* 2002;122:37-42.
  6. Alving BM. How I treat heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis. *Blood* 2003;101:31-7.
  7. Chong BH. Heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Haemost* 2003;1:1471-8.
  8. Yim SH, Kim HO, Song KS, Choi IS. A case of heparin-induced thrombocytopenia. *Korean J Clin Pathol* 1987;7:259-63. (임성희, 김현옥, 송경순, 최일생. Heparin Induced Thrombocytopenia 1예. *대한임상병리학회지* 1987;7:259-63.)
  9. Jeong HJ, Kim JK, Choi JY, Yoon SZ, Jeon YS, Park KU, et al. Heparin induced thrombocytopenia during continuous Veno-Venous hemodiafiltration after total aortic arch replacement-A case report. *Korean J Anesth* 2006;50:600-3. (정희진, 김재광, 최주연, 윤승주, 전윤석, 박경운 등. 총대동맥치환술 이후 혈액투석을 받은 환자에서 발생한 헤파린 기인성 혈소판감소증 -증례보고-. *대한마취과학회지* 2006;50:600-3.)
  10. Warkentin TE and Kelton JG. Heparin-induced thrombocytopenia. *Prog Hemost Thromb* 1991;10:1-34.
  11. King DJ and Kelton JG. Heparin-associated thrombocytopenia. *Ann Intern Med* 1984;100:535-40.
  12. Yamamoto S, Koide M, Matsuo M, Suzuki S, Ohtaka M, Saika S, et al. Heparin-induced thrombocytopenia in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1996;28:82-5.
  13. Visentin GP, Ford SE, Scott JP, Aster RH. Antibodies from patients with heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis are specific for platelet factor 4 complexed with heparin or bound to endothelial cells. *J Clin Invest* 1994;93:81-8.
  14. Suh JS, Malik MI, Aster RH, Visentin GP. Characterization of the humoral immune response in heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Hematol* 1997;54:196-201.
  15. Kim KY, Chang YJ, Suh JS, Kim JS. Characterization of Heparin:PF4 isoantibody interaction to platelets in Heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis. *Korean J Clin Pathol* 1997;17:944-55. (김기연, 차윤종, 서장수, 김재식. 헤파린 유도 혈소판 감소증에 있어서 Heparin: PF4 항체의 혈소판 반응특성. *대한임상병리학회지* 1997;17:944-55.)
  16. Warkentin TE, Levine MN, Hirsh J, Horsewood P, Roberts RS, Gent M, et al. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular weight heparin or unfractionated heparin. *N Engl J Med* 1995;332:1330-5.
  17. Warkentin TE, Roberts RS, Hirsh J, Kelton JG. An improved definition of immune heparin-induced thrombocytopenia in postoperative orthopedic patients. *Arch Intern Med* 2003;163:2518-24.
  18. Lee DH and Warkentin TE. Frequency of heparin-induced thrombocytopenia. In: Warkentin TE, Greinacher A, eds. *Heparin-induced thrombocytopenia*. 3rd ed. New York, NY: Marcel Dekker, 2004;107-48.
  19. Warkentin TE and Kelton JG. A 14-year study of heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Med* 1996;101:502-7.
  20. Wallis DE, Workman DL, Lewis BE, Steen L, Pifarre R, Moran JF. Failure of early heparin cessation as treatment for heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Med* 1999;106:629-35.
  21. Sheridan D, Carter C, Kelton JG. A diagnostic test for heparin-induced thrombocytopenia. *Blood* 1986;67:27-30.
  22. Visentin GP, Ford SE, Scott JP, Aster RH. Antibodies from patients with heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis are specific for platelet factor 4 complexed with heparin or bound to endothelial cells. *J Clin Invest* 1994;93:81-8.
  23. Meyer O, Salama A, Pittet N, Schwind P. Rapid detection of heparin-induced platelet antibodies with particle gel immunoassay (ID-HPF4). *Lancet* 1999;354:1525-6.