

## 항글로블린법을 이용한 Panel Reactive Antibody 검사에서 교차반응군특이성의 동정 경험

손용학<sup>1</sup> · 차충환<sup>2</sup> · 김명희<sup>3</sup> · 고선영<sup>1</sup> · 오흥범<sup>1</sup>

울산의대 서울아산병원 진단검사의학과<sup>1</sup>, 강릉아산병원 진단검사의학과<sup>2</sup>, 경희의료원 진단검사의학과<sup>3</sup>

## Experience on Identification of Cross-Reactive Group Specificity Performed by Anti-human Globulin Panel Reactive Antibody Tests

Yong-Hak Sohn, M.D.<sup>1</sup>, Choong-Hwan Cha, M.D.<sup>2</sup>, Myeong Hee Kim, M.D.<sup>3</sup>, Sun-Young Ko, M.D.<sup>1</sup>, and Heung-Bum Oh, M.D.<sup>1</sup>

Department of Laboratory Medicine<sup>1</sup>, University of Ulsan College of Medicine and Asan Medical Center, Seoul; Department of Laboratory Medicine<sup>2</sup>, University of Ulsan College of Medicine, Gangneung Asan Hospital, Gangneung; Department of Laboratory Medicine<sup>3</sup>, Kyung Hee University Medical Center, Seoul, Korea

**Background :** Panel reactive antibody (PRA) is to screen and identify HLA antibody. Majority of antibody specificities in high-PRA are directed against cross reactive group (CREG). Thus, this study was to know the advantage of identifying CREG specificity and whether antibody specificities are changed according to CREG classification.

**Methods :** HLA class I antibodies were identified from 159 sera from 108 patients in Asan Medical Center, who had shown more than 5% PRA by anti-human globulin (AHG)-complement-dependent cytotoxicity (CDC). Tail analysis-based computer program was developed to identify specificities, applying both Rodey (R-ABC) and Takemoto (T-ABC) classification. The results were also compared with those obtained when without CREG application (ABC).

**Results :** Among 151 cases in which HLA specificities was identified, the frequency of CREG specificity was 22.5% in R-ABC and 27.2% in T-ABC. Eleven cases showed CREG specificities only in one classification. However, the individual antigen specificities in one hand were all included in the CREG identified in the other hand. CREG specificities in samples with PRA >50% (60%) were more frequently identified than those in samples with PRA ≤50% (9%) (in R-ABC,  $P<0.0001$ ). Without applying CREG to interpretation, specificity was not identified in 9 cases.

**Conclusions :** Application of CREG enhanced the rate of antibody identification. Antibody specificities of those cases where CREG specificities were different between Rodey and Takemoto classifications were almost the same when compared at the individual antigen level. Therefore, it was thought that it makes no difference to use any one of these two classifications in interpreting PRA. (Korean J Lab Med 2008;28:362-70)

**Key Words :** Panel reactive antibody, Tail analysis, Computer program, Human leukocyte antigen, Antibody specificity, Cross reactive group (CREG)

접 수 : 2008년 6월 19일

접수번호 : KJLM2141

수정본접수 : 2008년 8월 5일

게재승인일 : 2008년 8월 19일

교신저자 : 오 흥 범

우 138-736 서울시 송파구 풍납2동 388-1

서울아산병원 진단검사의학과

전화 : 02-3010-4505, Fax : 02-478-0884

E-mail : hboh@amc.seoul.kr

## 서 론

Panel reactive antibody (PRA) 검사는 임신, 수혈, 장기이식 등으로 타인의 사람백혈구항원(HLA)에 노출된 후 생성되는 HLA 항체의 생성여부를 검사하는 것으로 검사집단의 특성이

잘 반영되도록 구성되어야 한다[1-4]. PRA 검사를 통해 장기이식 대기 환자에서 HLA 동종항체 생성 유무와 특이성을 알게 되면 뇌사 공여자와의 교차시험 결과를 예측할 수 있어 응급으로 이루어지는 뇌사 교차시험의 신뢰도를 높일 수 있다[4, 5]. 따라서 항체특이성을 정확하게 결정하는 것은 매우 중요한 일이다.

HLA 항체는 개별항원결정기(private determinant)에 대한 개별항원 특이성(private specificity)과 공통항원결정기(public determinant)에 대한 교차반응군(cross reactive group, CREG) 특이성으로 동정된다[1]. 임신에 의해 감작된 경우라도 CREG 항체특이성을 가지는 경우는 서로 다른 개별항원에 대해 교차반응을 일으키기 때문에 남편이 가지고 있지 않은 HLA 항원에도 반응을 보일 수 있다[6]. PRA%가 높은 high PRA 환자의 경우는 대부분 CREG 특이성을 보이는 것으로 알려져 있다[5, 7, 8].

High PRA란 일반적으로 50%보다 높은 양성반응을 보이는 것이다[8]. 이런 환자에서는 장기 공여자에 대한 교차시험에서 양성반응을 보이는 경우가 많아 이식을 받을 가능성이 낮아진다[1, 9, 10]. 따라서 high PRA 환자에게는 교차시험의 기회를 늘려 적합한 공여자를 찾을 가능성을 높이는 것이 바람직하다. PRA 결과는 이식 후 성적과도 관련이 있는데 일반적으로 감작 정도가 심한 환자들은 이식 시 생존율이 감소하며, 이식 직후 이식편의 기능부전이 증가하고 입원기간도 길어지는 것으로 알려져 있다[1, 9, 11].

CREG는 HLA 항체의 교차반응 양상을 그룹화하여 Konoe-da 등, Rodey 등, Duquesnoy 등, Takemoto 등이 제시한 바 있으나 그 분류가 동일하지 않다[6, 8, 12, 13]. 따라서 서로 다른 CREG를 적용하여 PRA 결과를 해석할 경우 서로 다른 판독 결과를 초래할 수 있다. 또한, CREG는 많은 항원을 포함하고 있어서, 개별항원 동정에 비해 여러 항원을 동시에 확인해야 하므로 컴퓨터 프로그램을 사용하지 않는 수기법으로는 CREG 특이성을 동정하기 어려운 단점이 있다. 따라서 본 연구에서는 대표적으로 사용되는 Rodey 등과 Takemoto 등의 CREG 분류법에 따라 컴퓨터 프로그램을 이용하여 항체특이성을 분석함으로써 서로 다른 CREG 분류법을 적용할 경우 항체특이성이 어떻게 달라지는지를 알아보고 CREG 적용의 장점을 알아보고자 하였다[12, 13].

## 대상 및 방법

### 1. 대상

울산의대 서울아산병원에서 2002년 10월부터 2004년 6월까지 PRA 검사가 의뢰된 사례 중 항글로블린(anti-human glob-

ulin, AHG)-보체의존성 세포독성법(complement-dependent cytotoxicity, CDC)에 의해 PRA 결과가 5% 초과인 108명, 159건을 대상으로 후향적으로 분석하였다.

### 2. 방법

#### 1) PRA 패널 제작 및 검사

PRA 패널은 36웰이 하나의 세트가 되도록 하였다. HLA 고해상도정보를 알고 있는 직원 121명으로부터 채혈하여 림프구를 분리한 후 질소탱크에 세포를 얼려 보관하였다. 새로운 림프구를 제작할 경우에는 한국인에서 흔한 HLA 항원이 가능한 모두 포함되도록 보관된 36명의 세포 중에서 골라 사용하였다. AHG-CDC법으로 PRA 검사를 시행하였다. 해당 연구기간 동안 총 11개의 다른 PRA 림프를 평행검사(parallel test) 시행 후 사용하였으며, 전체 항원들의 빈도는 한국인에서의 HLA 항원 빈도와 유사하였다(Table 1).

#### 2) 항체특이성 동정

Tail analysis 알고리즘을 이용한 웹기반의 항체동정 프로그램을 개발하고 이를 이용하였다[14]. 항체특이성 동정은 Rodey 등 및 Takemoto 등의 CREG 분류를 채택한 경우로 나누어 분석하였고 본 연구에서는 각각의 분류를 이용하여 HLA Class I 항원(A, B, C)에 대한 항체특이성동정법을 R-ABC, T-ABC로 명명하였다. 또한 CREG을 적용하지 않은 경우를 ABC로 명명하였으며 3가지 방법에 대해 항체동정률을 분석하였다. Rodey와 Takemoto의 CREG 분류법은 기존 연구보고와 동일하게 하였다[14]. 따라서 본 연구에서 CREG 특이성이라 함은 개별항원, 광항원특이성(broad specificity)보다 더 광범위한 항체특이성이 존재하는 것으로 정의하였다.

#### 3) 추적검사

동일 환자에서 추적검사가 시행된 경우 항체특이성이 보존되는지를 조사하였다. 전후 검사에서 동일한 항체특이성이 하나 이상 관찰되면 항체특이성이 보존되는 것으로 판정하여 그 추적검사가 시행된 사람들 중 항체특이성이 보존된 사람의 분율을 구하였다.

## 결 과

### 1. 환자분포

연구 대상군 159 건 중에서 PRA 97% 이상으로 항체특이성이

Table 1. HLA distribution of 11 PRA lots and allele frequencies in Korean population[22]

HLA-A	Allele frequency in Korean (%)	Lot (%) <sup>*</sup>	ID (%) <sup>†</sup>	HLA-B	Allele frequency in Korean (%)	Lot (%)	ID (%)	HLA-C	Allele frequency in Korean (%)	Lot (%)	ID (%)
A1	1.46	4.68	7.45	B7	3.88	4.42	6.28	Cw1	19.58	18.18	4.76
A2	30.42	26.52	22.34	B8	0.32	1.39	7.11	Cw2	0.97	1.64	14.29
A3	1.13	2.53	1.06	B13	5.83	3.54	5.44	Cw3	24.11	24.75	9.52
A11	11.00	7.70	14.89	B14	1.13	2.27	0.42	Cw4	6.96	11.62	19.05
A24	22.81	22.85	25.53	B27	4.69	5.30	2.51	Cw5	0.81	1.14	28.57
A26	8.42	9.22	7.45	B35	6.95	6.44	4.18	Cw6	5.66	5.56	14.29
A29	0.32	0.88	0.00	B37	0.81	2.40	0.00	Cw7	11.17	14.77	4.76
A30	5.34	4.80	1.06	B38	1.13	1.39	2.09	Cw8	10.35	6.06	4.76
A31	4.37	4.30	8.51	B39	1.78	2.53	1.26	Cw*12	2.92	2.91	-
A32	0.32	0.00	0.00	B44	8.41	7.83	7.53	Cw*14	15.04	10.73	-
A33	14.40	16.54	7.45	B46	6.15	5.05	4.60	Cw*15	2.42	0.88	-
A19	-	-	4.26	B47	0.16	0.00	0.00				
				B48	2.75	1.52	4.18				
				B50	0.16	0.88	3.77				
				B51	12.79	8.71	8.37				
				B52	2.43	2.15	2.09				
				B54	5.02	6.44	2.09				
				B55	2.59	3.54	1.67				
				B56	0.48	0.00	0.00				
				B57	0.32	0.00	0.00				
				B58	5.83	6.82	2.93				
				B59	1.46	2.53	4.18				
				B60	3.56	5.31	4.18				
				B61	7.77	4.67	1.26				
				B62	9.55	9.97	2.93				
				B67	0.81	3.03	3.35				
				B71	1.78	1.14	3.35				
				B75	1.29	0.25	0.42				
				B5	-	-	5.86				
				B15	-	-	0.00				
				B16	-	-	0.00				
				B17	-	-	0.00				
				B22	-	-	1.26				
				B40	-	-	6.69				

<sup>\*</sup>, The proportion of the number of the corresponding antigen among a total number of antigens ( $36 \times 2 \times 11 = 792$  antigens) in the individual locus of 11 PRA lots; <sup>†</sup>, The relative proportion of identified HLA specificity with the private or broad specificity in the individual locus (CREG specificities were not included).

Abbreviations: PRA, panel reactive antibody; CREG, cross reactive group; ID, identified.

동정되지 않은 8건은 제외하고 103명, 151건에 대하여 결과를 분석하였다. 이 중 1회 검사한 경우는 73명, 2회 이상 연속으로 검사한 경우(2-4회)는 30명으로 검사건수로는 78건이었다. 항체특이성이 동정된 151건의 PRA는 6-94%의 분포를 보였고, PRA%의 분포는 25% 이하가 70건(46.4%), 25-50%가 41건(27.2%), 50-75%가 26건(17.2%), 75% 이상이 14건(9.3%)이었다. 103명 환자 중 병록지를 통해 환자의 이식상태, 거부반응 및 기타 임상정보를 알 수 있었던 경우는 55명, 84건이었다. 이 중 이식 전 PRA 검사는 40명, 59건이었고, 이들 가운데 추후

이식을 받은 사람은 22명(신장 21명, 심장 1명), 30건이었다. 이식 후 PRA 검사는 16명, 25건으로 모두 신장이식을 받은 사람이었다. 이 중 1명은 PRA 검사결과가 이식 전후에 모두 있었다.

환자의 HLA 형별을 알 수 있었던 67건을 분석한 결과, 개별 항원 수준에서는 5건(7.5%, A 1건, B 3건, C 1건)에서 환자의 항원과 일치하는 항체가 동정되었고, 광항원특이성은 1건, CREG 특이성은 2건에서 환자의 형별을 포함하는 결과를 보여 주었다. 수술 후 PRA 검사가 의뢰된 25건 중 공여자의 HLA 형별을 알 수 있었던 16건 중 10건(62.5%)에서 항체특이성이 동정된 항원

**Table 2.** Frequency of identified antibody specificities to private, broad antigens and CREGs

Antigen	ABC* (N=151)		R-ABC <sup>†</sup> (N=151)		T-ABC <sup>‡</sup> (N=151)		Antigen	ABC* (N=151)		R-ABC <sup>†</sup> (N=151)		T-ABC <sup>‡</sup> (N=151)	
	Antibody-identified person (N)	Frequency (%)	Antibody-identified person (N)	Frequency (%)	Antibody-identified person (N)	Frequency (%)		Antibody-identified person (N)	Frequency (%)	Antibody-identified person (N)	Frequency (%)	Antibody-identified person (N)	Frequency (%)
A1	7	4.64	5	3.31	6	3.97	Cw3	2	1.32	0	0.00	0	0.00
A2	21	13.91	16	10.60	16	10.60	Cw4	4	2.65	5	3.31	5	3.31
A3	1	0.66	1	0.66	1	0.66	Cw5	6	3.97	5	3.31	5	3.31
A11	14	9.27	15	9.93	16	10.60	Cw6	3	1.99	0	0.00	0	0.00
A24	24	15.89	16	10.60	16	10.60	Cw7	1	0.66	2	1.32	2	1.32
A26	7	4.64	8	5.30	7	4.64	Cw8	1	0.66	1	0.66	1	0.66
A30	1	0.66	1	0.66	0	0.00	Unidentified	9	5.96	0	0.00	0	0.00
A31	8	5.30	8	5.30	8	5.30	Broad Ag	36	23.84	24	15.89	17	11.26
A33	7	4.64	5	3.31	4	2.65	A19	3	1.99	1	0.66	1	0.66
B7	15	9.93	11	7.28	11	7.28	B5	14	9.27	12	7.95	6	3.97
B8	17	11.26	13	8.61	15	9.93	B22	2	1.32	0	0.00	0	0.00
B13	13	8.61	10	6.62	11	7.28	B40	16	10.60	10	6.62	10	6.62
B14	1	0.66	1	0.66	1	0.66	A19+B22	1	0.66	1	0.66	0	0.00
B62	7	4.64	5	3.31	5	3.31	CREG	0	0.00	34	22.52	41	27.15
B75	1	0.66	1	0.66	1	0.66	A1C			1	0.66	0	0.00
B71	8	5.30	8	5.30	9	5.96	A2C			2	1.32	2	1.32
B27	6	3.97	2	1.32	2	1.32	B5C			6	3.97	8	5.30
B35	10	6.62	8	5.30	2	1.32	B7C			6	3.97	6	3.97
B37	0	0.00	1	0.66	1	0.66	B8C			1	0.66	0	0.00
B38	5	3.31	4	2.65	6	3.97	B12C			6	3.97	7	4.64
B39	3	1.99	3	1.99	3	1.99	Bw4C			9	5.96	10	6.62
B60	10	6.62	11	7.28	9	5.96	A2C+B5C			1	0.66	0	0.00
B61	3	1.99	3	1.99	3	1.99	A2C+Bw4C			1	0.66	1	0.66
B44	18	11.92	13	8.61	13	8.61	B5C+Bw6C			1	0.66	0	0.00
B46	11	7.28	13	8.61	13	8.61	B12C+Bw4C			0	0.00	1	0.00
B48	10	6.62	8	5.30	8	5.30	A10C					1	0.66
B50	9	5.96	8	5.30	8	5.30	(T-RBC only)						
B51	20	13.25	19	12.58	19	12.58	B5C2					4	2.65
B52	5	3.31	5	3.31	5	3.31	(T-RBC only)						
B54	5	3.31	6	3.97	7	4.64	A1C+A10C					1	0.66
B55	4	2.65	4	2.65	4	2.65	(T-RBC only)						
B58	7	4.64	8	5.30	8	5.30	A2C+B5C2					1	0.66
B59	10	6.62	9	5.96	11	7.28	(T-RBC only)						
B67	8	5.30	6	3.97	6	3.97	B5C2+Bw6C					1	0.66
Cw1	1	0.66	1	0.66	1	0.66	(T-RBC only)						
Cw2	3	1.99	3	1.99	2	1.32							

\*, HLA Class I specificities obtained without CREG application; <sup>†</sup>, Identified HLA Class I specificities according to applied Rodey classification; <sup>‡</sup>, Identified HLA Class I antibody specificities according to applied Takemoto classification.

Abbreviation: CREG, cross reactive group.

을 포함하고 있었다. 이 중 8건은 개별항원을, 2건은 CREG 특이성이 포함된 항원을 가지고 있었다.

## 2. 항체특이성의 분포

151건 중 항체특이성의 분포는 Table 2와 같았다. 동정된 특이성 항원은 R-ABC에서는 1건당 평균 2.21개(1-6개), T-ABC에서는 1건당 평균 2.22개(1-6개)이었다. CREG을 포함하지 않

은 항체특이성은 각 HLA 유전자위에 따라 Table 1에 명시되었다.

R-ABC의 경우에는 CREG 특이성을 포함하고 있는 경우가 34건(22.5%)이었고, CREG 혹은 광항원특이성을 포함하는 경우가 58건(38.4%)이었고, 나머지 93건(61.6%)은 개별항원특이성으로만 동정이 되었다. 마찬가지로 T-ABC의 경우에는 CREG 특이성을 가지고 있는 경우가 41건(27.2%)이었고, CREG 혹은 광항원특이성을 가지는 경우가 58건(38.4%)이었고 나머지 93건

**Table 3.** Twelve cases showing different CREG specificity according to Rodey (R-ABC) and Takemoto (T-ABC) classification

Type	PRA%	ABC*					R-ABC†					T-ABC‡				
R-ABC only	22	B27	B44	<b>B38</b> §	<b>B8</b>	<b>B59</b>	B27	B44	B8C			B27	B44	<b>B38</b>	<b>B8</b>	<b>B59</b>
	36	B44	<b>B13</b>				B12C					B44	<b>B13</b>			
	69	<b>B5</b>	A2	<b>B35</b>	B54		<b>B5</b>	A2	<b>B35</b>	B54		B5C	A2	B54		
	50	<b>B5</b>	<b>B35</b>	B46	Cw5	B39	<b>B5</b>	<b>B35</b>	B46	Cw5	B39	B5C	B46	Cw5	B39	B71
	36	<b>B5</b>	<b>B35</b>	A11			<b>B5</b>	<b>B35</b>	A11			B5C	A11			
	69 <sup>  </sup>	A2	<b>B5</b>	<b>B35</b>			A2	<b>B5</b>	<b>B35</b>			A2	B5C			
T-ABC only	72 <sup>  </sup>	A2	<b>B5</b>	<b>B35</b>			A2	<b>B5</b>	<b>B35</b>			A2	B5C			
	72 <sup>  </sup>	A2	<b>B5</b>	<b>B35</b>			A2	<b>B5</b>	<b>B35</b>			A2	B5C			
	39	<b>A33</b>	<b>A26</b>	B14			<b>A33</b>	<b>A26</b>	B14			A10C	B14			
	81	<b>A19</b>	B22				<b>A19</b>	B22				A01C	A10C	B59	B71	
	47	<b>B44</b>	A31	A30	Cw2	B8	<b>B44</b>	A31	A30	Cw2	B8	B12C	A31	B38	B8	A11
CREG difference	86	A19					A1C					Bw4C	B54			

\*, HLA Class I specificities obtained without CREG application; †, Identified HLA Class I specificities according to applied Rodey classification; ‡, Identified HLA Class I antibody specificities according to applied Takemoto classification; §, Private specificities which belong to the CREG specificities are marked in bold; ||, Follow-up results from the same patient.

Abbreviations: See Table 1.

**Table 4.** The frequency of CREG specificity according to PRA%

Antibody specificity	R-ABC*†		T-ABC*‡	
	PRA>50% (N=40)	PRA≤50% (N=111)	PRA>50% (N=40)	PRA≤50% (N=111)
CREG ≥ 1§	24 (60.0%)	10 (9.0%)	29 (72.5%)	12 (10.8%)
Private or broad only	16 (40.0%)	101 (91.0%)	11 (27.5%)	99 (89.2%)

\*, Both R-ABC and T-ABC have  $P<0.0001$  by the Chi-square test; †, Identified HLA Class I antibody specificities according to applied Rodey classification; ‡, Identified HLA Class I antibody specificities according to applied Takemoto classification; §, samples containing antibodies reactive to CREG specificities.

Abbreviations: See Table 1.

(61.6%)은 개별항원특이성으로만 동정이 되었다. R-ABC 혹은 T-ABC에서 CREG 특이성을 보인 경우는 43건(28.5%)이었다. CREG 특이성이 적용되지 않는 경우(ABC)는 36건(23.8%)에서 광항원특이성이 106건(70.2%)에서 개별항원특이성이 동정되었으나, 나머지 9건(6.0%)에서 항체특이성이 동정되지 않았다. 이들 9건은 PRA 결과가 53–94% (평균 80%)의 분포를 보였으며, R-ABC와 T-ABC 모두에서 CREG으로 동정이 가능하였으며 Bw4C 5건, Bw6C 1건, B5C 2건, B7C 1건으로 같은 결과를 보여주었다.

두 분류법에 따른 CREG 특이성의 차이는 12건(7.9%)에서 관찰되었다(Table 3). 이들 중 11건(7.3%)에서는 R-ABC와 T-ABC 중 한쪽에서만 CREG 특이성으로 동정되었는데 각각 2건, 9건이었으며, R-ABC에서만 동정된 경우는 B8CREG과 B12CREG이 각각 1건이었고, T-ABC에서만 동정된 경우는 A10CREG이 1건, B5CREG이 6건, B12CREG이 1건, A1CREG과

A10CREG이 함께 동정되었던 1건이었다. 이들 11건에 대하여 CREG 특이성을 적용하지 않고 분석을 시행한 경우 동정된 항체 특이성은 CREG 특이성을 적용하여 동정된 CREG 항체특이성에 포함되는 개별항원특이성을 보여주었다(Table 3). 또한 양쪽에서 CREG 특이성이 동정되었지만 결과가 매우 상이한 경우가 1건이 있었는데, R-ABC에서 A1CREG, T-ABC에서는 Bw4CREG가 동정되었다.

PRA 50%를 기준으로 두 그룹으로 나누었을 때 PRA 50%보다 큰 경우(high PRA) CREG 특이성이 동정된 경우가 R-ABC에서는 60.0%, T-ABC에서는 72.5%였고 PRA 50% 이하인 경우는 R-ABC에서는 9.0%, T-ABC에서는 10.8%에서 동정되었다(두 경우 모두  $P<0.0001$ ) (Table 4).

HLA-C 항체특이성이 동정된 경우(Table 5)는 R-ABC에서는 17건(11.3%), T-ABC에서는 16건(10.6%)이었으며 1건이 R-ABC에서만 있었다. R-ABC에서 동정된 17건에 대해서 C를 제외한 HLA-A, -B 항체특이성만을 고려한 경우에도 동정되는 16건에서 유사하였다. 그러나 Table 5의 증례 10에서는 HLA-C를 고려한 경우 첫 번째 항체특이성이 Cw7으로 동정된 반면 HLA-C를 제외한 경우에는 B7만 동정되고 Cw7은 동정되지 않았다. 증례 3, 4, 5는 동일환자의 추적검체였는데, Cw5가 지속적으로 동정되는 것을 확인할 수 있었다.

### 3. 추적검사 시의 항체특이성의 변화

추적검사를 시행한 30명(78건)에서는 30명 모두(100%) 한 가지 이상의 항체 특이성이 보존되었고, 19명(63.3%)에서는 첫



Table 5. HLA-C antibody specificities identified in 17 cases

No. Case	PRA%	Antibody specificities (R-ABC*)					Antibody specificities without inclusion of HLA-C in identifying antibody specificities using R-ABC				
1	33	B40	B7	B48	Cw4	A11	B40	B7	B48	B62	
2	67	A2	Cw4	B5	B67		A2	A11	B5	B67	
3 <sup>†</sup>	22	B46	Cw5	A31			B46	A31	A3		
4 <sup>†</sup>	58	A2	A24	Cw5			A2	A24	A3		
5 <sup>†</sup>	8	B46	Cw5				B46	A3			
6	75	Cw1	B5C	A26			B5C				
7	75	Bw4C	Cw7	B48			Bw4C				
8	50	B5	B35	B46	Cw5	B39	B5	B35	B46	B39	B71
9	8	B46	Cw2				B46	A3			
10	33	Cw7	A31	B51	B35		B7				
11	64	A2	Cw4	B51	A11		A2	B51	A11	B52	
12	19	B7	Cw8	B60			B7	B60	B48	B54	
13 <sup>‡</sup>	47	B44	A31	A30	Cw2	B8	B44	A31	A30	B8	A3
14	36	B51	B58	Cw4			B51	B58	B14	A31	
15	75	B7C	Cw4	B58			B7C				
16	31	A33	Cw2				A33	B27			
17	14	B13	Cw5	A31			B13	B62			

\*, Identified HLA Class I antibody specificities according to applied Rodey classification; <sup>†</sup>, Follow-up results from the same patient; <sup>‡</sup>, The results (B12C, A31, B38, B8, A11) in Takemoto CREG classification (T-ABC) didn't include HLA-C specific antibody.

Abbreviations: See Table 1.

번째 항체특이성이 유지되었다. 전후 검사를 하나의 쌍으로 묶어서 항체특이성 변화를 보았을 때, 총 48개의 추적검사 쌍 중에서 변화 없는 경우가 34쌍(70.8%), 항체특이성이 확장(개별 항원특이성에서 광항원특이성으로 변화 3쌍, CREG 특이성으로 변화 5쌍)된 경우가 8쌍(16.7%), 항체특이성이 축소(CREG 특이성에서 개별항원특이성으로)된 경우가 6쌍(12.5%)이었다. 한 환자(Test 3, 4, 5, Table 5)에서는 각각의 추적검사 쌍에서는 항체특이성이 유지되었지만 전체적으로 보았을 때 첫 번째 항체특이성은 지속보존되지 않았다.

## 고 찰

PRA 결과는 대부분 공통항원에 대한 특이성을 보이는 것으로 알려져 있으며, 특히 high PRA 환자의 경우에는 CREG 특이성이 많이 동정되는 것으로 알려져 있다[5, 7, 8]. 본 연구에서도 50% 이상의 high PRA 군에서는 R-ABC의 경우 60%, T-ABC의 경우 72.5%에서 CREG 특이성이 동정되어 PRA 50% 이하에서(9%, 10.8%) 보다 통계적으로 유의하게 높았다. 하지만 CREG 특이성의 전체 빈도는 R-ABC에서 22.5%로 Rodey 등이 90% 가량이었던 보고와는 상당한 차이를 보였다[5, 7]. 그 이유는 연구 대상군의 PRA에 따른 분포를 비교해볼 때 본 연구에서는 PRA 50% 이하인 환자들의 비율이 2배 이상이었으며, Rodey 등의 연구에서는 본 연구에서 CREG 특이성을 정의한

것과 달리 둘 이상의 개별항원 특이성이 각각 동정된 경우 하나의 CREG 특이성에 이들이 일부 포함된다면 이를 개별항원특이성이 아닌 CREG 특이성으로 동정한 연구 방법론의 차이에 기인한다[5, 7]. 본 연구 결과에 Rodey 등의 연구 방법론을 적용하면 CREG 특이성은 62.3%로 더 높아짐을 확인할 수 있었다[결과 미제시].

본 연구의 결과를 통해 PRA 해석에 적용하는 CREG의 종류에 따라 항체특이성이 달리 동정될 수 있음을 확인할 수 있었다(Table 3). 그러나 R-ABC와 T-ABC 중 어느 한쪽에서만 CREG 특이성이 동정된 11건에서는 해당 CREG에 포함되어 있는 개별항원들이 다른 쪽 방법에서 모든 예에서 동정되고 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 각 검사실에서는 판독자에게 익숙한 하나의 CREG 분류법을 적용하여 보고함으로써 개별 환자에서의 항체특이성 변화를 동일한 분석방법으로 추적 관찰하는 것이 여러 방법을 적용하여 결과 간의 불일치로 인한 혼란이 있는 것보다 바람직하다고 생각되었다. 그러나 두 방법이 서로 다른 CREG를 동정한 1건에서는 CREG를 적용하지 않고 분석한 결과 A19 특이성이 동정되어 R-ABC의 A1C에 포함되는 결과이었다. 따라서 개별항원 수준에서의 분석결과를 동시에 참고하면서 CREG 특이성을 보고할 필요도 있을 것으로 사료되었으며, 본 연구에서 사용한 웹프로그램에서는 R-ABC, T-ABC외에 CREG 분류를 적용하지 않은 경우(ABC)를 동시에 출력토록 하여 그 결과를 쉽게 비교할 수 있도록 하였다.

CREG 적용의 장점은 high PRA에서 개별항원 수준에서는 항체특이성을 동정할 수 없는 경우에도 종종 항체특이성이 동정될 수 있다는 것이라 할 수 있다[5, 7, 8]. 본 연구에서도 CREG를 적용한 경우가 적용하지 않은 경우에 비해 9건에서 항체특이성을 추가로 동정할 수 있었다. 이들 9건의 PRA는 평균 80%의 high PRA의 경우이었다.

본 연구에 사용된 항원의 빈도는 한국인 HLA 항원의 빈도와 유사하였다(Table 1). 따라서 동정된 항체특이성을 각 유전자위별로 분석한 결과에서도 대부분 한국인 항원과 유사한 분포를 보여주었다. 그러나, 일부 저빈도의 항원, 특히 Cw 항원의 경우에는 검사에 포함된 항원의 수가 매우 적음에도 불구하고, 많은 수가 동정되었음을 확인할 수 있었다. 이는 HLA-A, -B와 연쇄불균형 상태에 있는 고빈도 항원이 일 순위로 검출된 후 차순위에서 이러한 저빈도 항원이 포함된 웰이 상대적으로 높은 카이제곱 값을 갖게 되어 검출되는 것으로 추측된다. Table 5에서도 HLA-C 특이성이 동정된 17건 중 2건에서만 HLA-C 특이성이 1순위로 동정된 것을 알 수 있다.

HLA-C는 항원 발현이 HLA-A, -B 항원에 비해 십분의 일 정도 적게 발현되는 것으로 알려져 있다[15, 16]. 항원성이 약한 이유로는  $\beta 2$ -microglobulin과의 불충분한 결합 때문이라는 가설과 HLA-C가 보다 더 펩티드(peptide)에 강한 선택성을 가지고 있어 펩티드와 충분히 결합하지 못해 세포표면에 표현이 덜 된다는 가설이 있는데 후자가 설득력을 더 가지는 것으로 보고 있다[15, 16]. 항원 발현이 약한 만큼 HLA-C의 경우는 항체 형성 또한 잘 이루어지지 않는데 HLA-Cw\*12, -Cw\*14, -Cw\*15, -Cw\*16, -Cw\*17, -Cw\*18는 현재도 항형성이 없어 혈청학적 항원검사에서 블랭크(blank)로 처리되고 있다[17]. 또한 이식편의 생존에 HLA class I보다는 HLA-DR이 더 중요하다고 여겨져 왔기 때문에 더욱 HLA-C 항원형 결정에는 적극적인 노력을 기울이지 않았었다[18]. 그러나 HLA-C 항체는 초급성 거부 반응을 일으킬 수 있으며 이식편 기능부전과 관련된다는 보고들이 있다[19-21]. 따라서 HLA-C에 대한 항체특이성 동정을 적극적으로 시행해야 할 것으로 사료된다. 본 연구에서는 11.3%에서 HLA-C에 대한 항체특이성을 보여주었다. 항체특이성이 통계적 방법에 근거하기 때문에 HLA-C 항체특이성이 결정되면 다른 항체특이성 동정에 영향을 줄 수 있어 HLA-C를 고려하지 않은 경우와 비교하여 보았으나, 총 17건 중에서 1예에서만 다른 결과를 보였다. 항체특이성이 바뀐 증례의 경우는 한국인에서 관찰되는 B7-Cw7 간의 강한 연쇄불균형 때문에 발생한 것으로 여겨진다[22-24]. 즉 Cw를 포함하는 경우 Cw7이 더 높은 카이제곱 값을 보여 선정이 되면 Cw7과 강한 연쇄불균형

상태에 있는 B7 양성 웰들이 두 번째 계산에서는 모두 제외되기 때문에 B7이 HLA-C를 포함한 분석에서는 동정되지 않았던 것이다.

전후 검사를 하나의 쌍으로 묶어 항체특이성 변화를 분석한 결과 16.7%에서 항체특이성이 확장되는 것을 관찰할 수 있었는데 개별항원특이성에서 광항원 혹은 CREG 특이성으로의 변화가 각각 6.3%, 10.4%이었다. 또한 CREG 특이성에서 개별항원 특이성으로 축소된 경우도 12.5%나 되는 것을 알 수 있었다. PRA 결과는 환자의 면역상태, 검사의 민감도 등에 의해 다소 결과에 변동을 가져올 수 있으며, 더불어 동정되는 항체특이성이 확장 또는 축소되는 소견을 보여주는 것으로 생각된다. 그러나, 본 연구에서 관찰된 것처럼 대부분의 추적관찰에서 특정 항체특이성이 잘 유지되는 것을 확인할 수 있었다. 반면에, Table 5의 증례 3, 4, 5에서는 각각의 추적검사 쌍에서는 Cw5 항체특이성이 보존되지만 전체적으로 보았을 때 첫 번째 항체특이성이 보존되지 않았다. 이는 test 4 ('A2, A24, A3' 으로 동정된 시기)의 패널 세포의 조합이 다른 2건과는 달라서 B46을 포함한 3개의 웰이 모두 A2를 포함하고 있었기 때문으로 해석되었다. 즉 A2가 더 높은 카이제곱 값을 보여 선정이 된 뒤 B46을 포함한 웰이 두 번째 계산에서 모두 제외되었기 때문에 B46이 동정되지 않았던 것이다. A2-B46은 한국인에서 강한 연쇄불균형(linkage disequilibrium)을 보이는 일배체형이다[22, 25]. 연쇄불균형에 의해 항체특이성이 달라지는 경우는 실제 환자에서도 해당 연쇄불균형을 가지고 있을 확률이 높으므로 예측된 교차시험 결과가 잘못될 가능성은 낮다. 그러나 정확한 항체특이성을 동정하기 위해서는 서로 다른 패널에서의 결과를 종합하는 것이 바람직하다.

환자의 HLA 형별을 알 수 있었던 67건 중 총 8건 (11.9%)에서는 동정된 특이성이 환자의 개별항원이거나(5건) 항원형을 포함하는 광항원(1건) 혹은 CREG (2건)이었다. 8건에 대한 임상 조사에서는 특기할만한 거부반응이 관찰되지 않아 임상적으로 유의하지는 않았다. 환자 HLA에 대한 특이성을 가지는 자가항체가 동정된 경우 이것이 동정오류인지 아니면 이것이 다른 임상적 의미가 있는 것인지에 대해서는 더 많은 연구가 필요할 것으로 사료된다.

HLA 항체특이성을 동정하기 위해 CREG를 적용한 경우가 적용하지 않은 경우보다 항체특이성을 더 많이 동정할 수 있었다. CREG 항체가 어느 하나의 분류에서만 동정되는 경우가 있었으나 개별항원 수준에서 비교하면 유사한 결과를 보여 주었으므로, 각 검사실의 상황에 맞추어 친숙한 방법으로 한 가지 CREG을 사용하여 환자에서 항체특이성의 변화를 일관된 방법으로 추적

관찰하는 것이 바람직할 것이다.

## 요 약

**배경 :** Panel reactive antibody (PRA) 검사는 사람백혈구 항원(HLA) 동종항체의 감작여부와 항체특이성을 동정하는 것이다. 높은 PRA 결과를 보이는 경우는 대부분 교차반응군(cross reactive group, CREG) 특이성을 보인다. 따라서 본 연구를 통하여 CREG 항체를 동정하는 장점과 CREG 분류에 따라 동정항체가 어떻게 달라지는지 알아보고자 하였다.

**방법 :** 울산의대 서울아산병원에서 항글로블린(anti-human globulin, AHG)-보체의존성 세포독성법(complement-dependent cytotoxicity, CDC) PRA 결과가 5% 초과인 108명, 159건을 대상의 HLA I형 항체를 동정하였다. 항체특이성 동정을 위해 Tail analysis 기반의 컴퓨터 프로그램이 개발되었으며, Rodey (R-ABC) 및 Takemoto (T-ABC) CREG 분류법을 적용하여 항체특이성을 예측하였고, 이 결과는 CREG를 적용하지 않은 경우 (ABC)와도 비교하였다.

**결과 :** 항체 특이성이 동정된 151건 중 CREG 특이성을 보인 경우는 R-ABC에서 34건(22.5%), T-ABC에서 41건(27.2%)이었다. 11건은 어느 한 방법에서만 CREG가 동정되었는데, CREG가 동정되지 않은 방법에서 동정된 개별항원들은 모두 다른 쪽 방법의 CREG에 포함되는 것들이었다. CREG 특이성은 high PRA 군(PRA>50%: 60%)에서 PRA가 50% 이하인 군(9.0%)에 비해 높은 빈도로 동정되었다(R-ABC,  $P<0.0001$ ). CREG 특이성이 적용되지 않는 경우 9건에서 항체특이성이 동정되지 않았다.

**결론 :** CREG를 적용하면 HLA 항체특이성의 동정률을 더 높일 수 있었다. Rodey 또는 Takemoto에 의한 CREG 분류에 따라 항체의 동정에 차이가 있었던 경우에도 개별항원 수준의 항체 동정에는 차이가 없었다. 따라서, 이 두가지 분류 중의 하나를 이용하여 PRA를 해석하여도 무방할 것으로 여겨진다.

## 참고문헌

1. Keown PA. The highly sensitized patient: etiology, impact, and management. *Transplant Proc* 1987;19:74-8.
2. Braun WE. The alloimmunized patient: monitoring and therapeutics. *Am J Med Sci* 1997;313:279-82.
3. Kerman RH, Orosz CG, Lorber MI. Clinical relevance of anti-HLA antibodies pre and post transplant. *Am J Med Sci* 1997;313:275-8.

4. Fuller TC. Monitoring HLA alloimmunization. Analysis of HLA alloantibodies in the serum of prospective transplant recipients. *Clin Lab Med* 1991;11:551-70.
5. Rodey GE, Revels K, Fuller TC. Epitope specificity of HLA class I alloantibodies: II. Stability of cross-reactive group antibody patterns over extended time periods. *Transplantation* 1997;63:885-93.
6. Konoeda Y, Terasaki PI, Wakisaka A, Park MS, Mickey MR. Public determinants of HLA indicated by pregnancy antibodies. *Transplantation* 1986;41:253-9.
7. Rodey GE, Neylan JF, Whelchel JD, Revels KW, Bray RA. Epitope specificity of HLA class I alloantibodies. I. Frequency analysis of antibodies to private versus public specificities in potential transplant recipients. *Hum Immunol* 1994;39:272-80.
8. Duquesnoy RJ, White LT, Fierst JW, Vanek M, Banner BF, Iwaki Y, et al. Multiscreen serum analysis of highly sensitized renal dialysis patients for antibodies toward public and private class I HLA determinants. Implications for computer-predicted acceptable and unacceptable donor mismatches in kidney transplantation. *Transplantation* 1990;50:427-37.
9. Opelz G. Kidney transplantation in sensitized patients. *Transplant Proc* 1987;19:3737-41.
10. Bradley BA and Gore SM. Council of Europe study of high sensitization in renal transplantation. *Transplant Proc* 1987;19:3742-3.
11. Barama A, Oza U, Panek R, Belitsky P, MacDonald AS, Lawen J, et al. Effect of recipient sensitization (peak PRA) on graft outcome in haploidentical living related kidney transplants. *Clin Transplant* 2000;14:212-7.
12. Rodey GE and Fuller TC. Public epitopes and the antigenic structure of the HLA molecules. *Crit Rev Immunol* 1987;7:229-67.
13. Takemoto S, Gjertson DW, Terasaki PI. HLA matching: a comparison of conventional and molecular approaches. In: Terasaki PI, Cecka JM, eds. *Clinical Transplants*. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory, 1992:413-34.
14. Cha CH, Oh HB, Kim MH, Chae JM, Jung SY. Development of a web-based program for the identification of human leukocyte antigen antibody specificities. *Korean J Lab Med* 2007;27:458-63. (차충환, 오홍범, 김명희, 채정민, 정순영. Human Leukocyte Antigen 항체특이성 동정을 위한 웹기반 프로그램 개발. *대한진단검사의학회지* 2007;27:458-63.)
15. Neefjes JJ and Ploegh HL. Allele and locus-specific differences in cell surface expression and the association of HLA class I heavy chain with beta 2-microglobulin: differential effects of inhibition of glyco-



- sylation on class I subunit association. *Eur J Immunol* 1988;18:801-10.
16. Neisig A, Melief CJ, Neefjes J. Reduced cell surface expression of HLA-C molecules correlates with restricted peptide binding and stable TAP interaction. *J Immunol* 1998;160:171-9.
  17. Marsh SG, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 2004. *Tissue Antigens* 2005;65:301-69.
  18. Opelz G. Correlation of HLA matching with kidney graft survival in patients with or without cyclosporine treatment. *Transplantation* 1985;40:240-3.
  19. Chapman JR, Taylor C, Ting A, Morris PJ. Hyperacute rejection of a renal allograft in the presence of anti-HLA-Cw5 antibody. *Transplantation* 1986;42:91-3.
  20. Worthington JE, Martin S, Al-Husseini DM, Dyer PA, Johnson RW. Posttransplantation production of donor HLA-specific antibodies as a predictor of renal transplant outcome. *Transplantation* 2003;75:1034-40.
  21. Frohn C, Fricke L, Puchta JC, Kirchner H. The effect of HLA-C matching on acute renal transplant rejection. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16:355-60.
  22. Hwang SH, Oh HB, Yang JH, Kwon OJ, Shin ES. Distribution of HLA-A, B, C allele and haplotype frequencies in Koreans. *Korean J Lab Med* 2004;24:396-404. (황상현, 오홍범, 양진혁, 권오중, 신은순. 한국인의 HLA-A, -B, -C 대립유전자와 일배체형 분포. *대한진단검사의학회지* 2004;24:396-404.)
  23. Park MH, Hwang YS, Park KS, Tokunaga K, Akaza T, Juji T, et al. HLA haplotypes in Koreans based on 107 families. *Tissue Antigens* 1998;51:347-55.
  24. Kim HS, Hwang YS, Park MH. The distribution of HLA antigens and haplotypes in Koreans. *Korean J Clin Pathol* 1997;17:1109-23. (김현수, 황유성, 박명희. 한국인의 HLA 항원과 일배체형의 분포. *대한임상병리학회지* 1997;17:1109-23.)
  25. Roh EY, Kim HS, Kim SM, Lim YM, Han BY, Park MH. HLA-A, -B, -DR allele frequencies and haplotypic associations in Koreans defined by generic-level DNA typing. *Korean J Lab Med* 2003;23:420-30. (노은연, 김현수, 김선미, 임영미, 한복연, 박명희. DNA 형별검사에 의한 한국인의 HLA-A, -B, -DR 형별 및 일배체형의 분포. *대한진단검사의학회지* 2003;23:420-30.)