



유전자 검사로 확인된 p 표현형 한국인 여자 환자에서 동정된 항-PP₁P^k 1예

Anti-PP₁P^k (Tj^a) Antibody in a Korean Female Patient with p Phenotype Confirmed by Genotyping

김보연¹ · 최승준¹ · 조 덕^{2,3} · 김신영¹ · 김현옥¹

Boyeon Kim, M.D.¹, Seung Jun Choi, M.D.¹, Duck Cho, M.D.^{2,3}, Sinyoung Kim, M.D.¹, Hyun Ok Kim, M.D.¹

연세대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 성균관대학교 의과대학 삼성서울병원 진단검사의학과², 성균관대학교 삼성융합의과학원³

Department of Laboratory Medicine¹, Yonsei University College of Medicine, Seoul; Department of Laboratory Medicine and Genetics², Samsung Medical Center, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul; Department of Health Sciences and Technology³, Samsung Advanced Institute for Health Sciences and Technology, Sungkyunkwan University, Seoul, Korea

In this study, we report a case of anti-PP₁P^k (Tj^a) alloantibody with p phenotype detected and confirmed in a 20-year-old Korean woman diagnosed with anemia during long-term rehabilitation treatment due to mental retardation. She did not have any transfusion history, except two exchange transfusions received 6 days after she was born. Her blood type was B, RhD+, and findings from antibody screening and identification tests showed strong reactivity (3+ to 4+) in all panel cells except in her autologous cells. Based on these results, we concluded that she had an alloantibody to a high-prevalence antigen. Anti-PP₁P^k alloantibody with p phenotype was identified by additional serological tests in a foreign reference laboratory. To confirm the patient's p phenotype, polymerase chain reaction and sequencing of the *A4GALT* gene were performed on her blood sample. She was homozygous for c.301delG in the *A4GALT* gene, which finally confirmed that she had the anti-PP₁P^k antibody with p phenotype. Fortunately, her anemia caused due to iron deficiency could be treated with iron supplementation without the need for any transfusion. However, it remains extremely difficult to find compatible red blood cells in such settings in Korea. Moreover, there has been very little research on the prevalence of the p phenotype in the Korean population. Therefore, additional research is needed on rare blood group antibodies and high-prevalence antigens, including anti-PP₁P^k cases.

Key Words: P blood-group system, Blood transfusion, Alloantibodies, *A4GALT* gene

서 론

P 혈액형군에 속하는 항원들은 P, P₁, P^k가 있으며, 이 항원들이 모두 발현되지 않는 경우를 p 표현형이라고 한다. 항-Tj^a로도 알려진 항-PP₁P^k를 생성할 수 있는 p 표현형을 보이는 사람은 인종에

관계없이 극히 드물다. 항-PP₁P^k는 자연발생하는 항체로 항-P, 항-P₁ 및 항-P^k의 복합항체이다. 항-PP₁P^k는 강력한 용혈소로서 수혈된 적혈구를 빠르게 파괴함으로써 용혈성수혈반응을 일으킬 수 있다 [1]. 또한, 항-PP₁P^k가 특이성을 보이는 항원들은 적혈구뿐만 아니라 태반에서도 발현되므로 [2-4], 항-PP₁P^k는 자연유산 및 신생아 용혈성질환과도 관련성이 있다 [5]. 이러한 항-PP₁P^k 증례는 한국인을 포함한 모든 인종에서 매우 드물게 보고되고 있다.

저자들은 정신지체로 진단받은 20세 한국인 여성 환자에서 발견된 비예기항체를 항-PP₁P^k로 동정하고, 유전자 검사를 통해 환자의 p 표현형과 유전자형이 일치함을 확인하였기에 이를 문헌고찰과 함께 보고하고자 한다.

증 례

정신지체로 진단받고 지속적으로 재활 치료 중이던 20세 한국인 여자 환자가 혈액검사서 혈액색소 6.9 g/dL로 수혈이 필요하여

Corresponding author: Seung Jun Choi, M.D., Ph.D.

<https://orcid.org/0000-0003-0736-1055>

Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, 50-1 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Korea

Tel: +82-2-2228-2453, Fax: +82-2-364-1583, E-mail: choijs34@yuhs.ac

Received: March 19, 2019

Revision received: July 4, 2019

Accepted: July 8, 2019

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2020, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

수혈전검사가 의뢰되었다. 환자는 재태 연령 40주 5일, 출생 체중 2,500 g으로 출생하였으며, 출생 당시 총 빌리루빈 >25 mg/dL로 빌리루빈 수치를 낮추기 위해 태어난 지 6일 만에 두 차례의 교환 수혈을 받은 과거력이 있었다. 그녀의 혈액형은 B형, D⁺CE, K-, Jk(a-b+), Fy(a+b-)였다. 환자는 위에서 언급한 두 번의 교환 수혈 이외에는 수혈력이 없었다. Anti-human globulin (AHG) polyspecific cassette (Ortho Clinical Diagnostics, Raritan, USA)와 0.8% Selectogen I, II (Ortho Clinical Diagnostics)를 사용하여 AutoVue Innova (Ortho Clinical Diagnostics)를 이용한 비예기항체 선별검사 및 AHG polyspecific cassette (Ortho Clinical Diagnostics)와 0.8% Resolve Panel A (Ortho Clinical Diagnostics)를 이용한 비예기항체 동정검사에서 3+ ~ 4+ 정도의 반응 강도로 범응집 소견을 보였으며, 자가대조검사는 음성이었다. 효소(ficin) 처리된 시약 적혈구 패널(0.8% Resolve Panel C, Ortho Clinical Diagnostics)을 이용한 동정검사에서 4+ 정도의 반응 강도로 강한 범응집 소견을 보였으며, 직접항글로불린 검사결과는 음성이었다. 따라서 이 환자는 고빈도항원에 대한 항체를 가지고 있을 것으로 예상되었으나, 본 검사실에서는 더 이상의 동정이 불가능하였다. 환자의 검체를 스위스 적십자 표준 검사실로 보내어 비예기항체의 동정을 의뢰하였고, 환자의 항체는 항-PP₁P^k로 동정되었다. 추가적으로 항-PP₁P^k를 포함한 혈청을 사용하여 검사한 결과 환자의 적혈구가 p 표현형임을 확인할 수 있었다. 환자의 유전자형을 확인하기 위하여 *A4GALT* 유전자에 대한 중합효소연쇄반응 및 직접염기서열분석법을 시행하였다[6]. 중합효소연쇄반응의 시발체로는 A42F (5'-ATGGCG-GGTGCTCATCTCTTGCAGA-3')와 A42R (5'-CGGTGGCAGCTC-GGGCCTCCCTCTC-3')를 사용하였다. 중합효소연쇄반응의 반응액(50 µL)은 다음과 같았다: 시발체 50 pmol, AccuPower® Taq PCR PreMix (Bioneer, Daejeon, Korea), 핵산추출물 100 ng, 중합효소연쇄반응은 94°C에서 5분간 초기변성을 시행하였고, 연속하

여 32회의 증폭반응(94°C 60초, 68°C 60초, 72°C 60초)을 실시한 후 최종연장반응을 72°C에서 10분간 시행하였다. 염기서열분석은 중합효소연쇄반응에서 사용한 시발체 쌍과 동일한 시발체 쌍을 이용해 증폭한 후 표준염기서열 NG_007495.2를 참조하여 Sequencher 5.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)로 분석하였다. 염기서열분석 결과 Yan 등[7]이 보고했던 잠재돌연변이인 c.903C>G가 동형접합형으로, 구조이동돌연변이인 c.301delG가 동형접합형으로 관찰되어 환자의 표현형이 유전자형과 일치하는 것을 확인하였다(Fig. 1). 당시 본원 검사실에서는 환자에게 적합한 적혈구 제제를 찾지 못했으나, 다행히 수혈 없이 철분제 투약만으로도 빈혈을 교정할 수 있었다. 수혈 요청 당시 환자의 일반혈액검사상 혈색소 6.9 g/dL(참고범위: 11.7–16.0 g/dL), 적혈구용적률 25.6%(참고범위: 34.8–47.0%), 평균적혈구용적 59.9 fL(참고범위: 80.0–98.0 fL), 평균적혈구혈색소량 16.1 pg(참고범위: 27.0–33.0 pg), 평균적혈구혈색소농도 26.8 g/dL(참고범위: 32.0–36.0 g/dL), 망상적혈구 1.34%(참고범위: 0.50–2.85%)로 망상적혈구 증가가 동반되지 않는 소적혈구성 저색소빈혈 소견을 보였다. 철 관련 검사상 혈청 철 12.0 µg/dL(참고범위: 40.0–158.0 µg/dL), 혈청 페리틴 2.5 ng/mL(참고범위: 11.0–306.8 ng/mL), 총결핵합능 327 µg/dL(참고범위: 271.0–435.0 µg/dL), 트랜스페린 포화도 4%(참고범위: 15–50%)로 환자의 빈혈은 철결핍빈혈로 확인되었다. 추후 수혈 가능성에 대비하여 가족 수혈 가능 여부를 판단하기 위하여 환자의 부모에게 추가 검사를 권하였으나, 환자의 부모 모두 이를 거부하여 시행하지 못하였다. 환자는 월경주기마다 반복해서 빈혈이 발생하여 외래를 통해 혈색소 수치를 경과 관찰하며 치료를 받고 있으며, 치료 1년 후 환자의 혈색소 수치는 13.1 g/dL로 확인되었다(Table 1). 본 연구는 세브란스병원 기관심사위원회의 승인(승인번호 4-2018-1137)을 받아 환자로부터 사전 동의를 얻어 시행되었다.

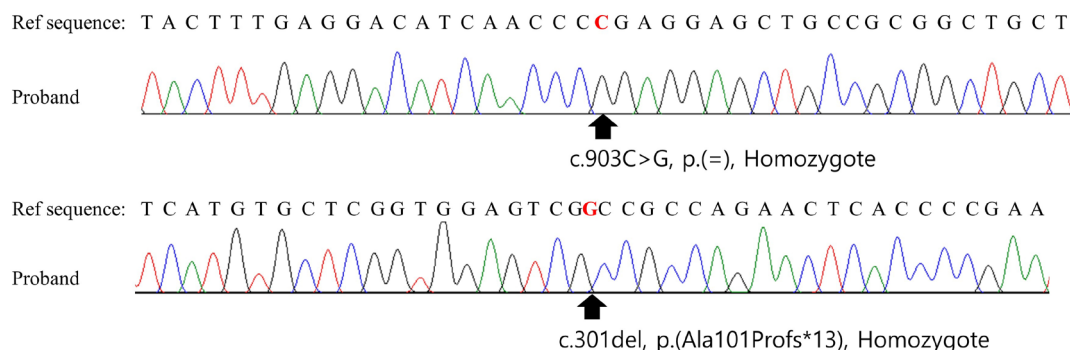


Fig. 1. Identification of the *A4GALT* gene mutation. Direct sequencing of DNA from the patient's blood sample demonstrated a homozygotic silent mutation, c.903C>G (p.=) and a homozygotic frameshift mutation, c.301delG (p.Ala101Profs*13) in the *A4GALT* gene. The locations of the variations are indicated by black arrows. Reference sequence: NG_007495.2.

Table 1. Laboratory findings before and after treatment of the patient for iron-deficiency anemia

Laboratory finding	Value before treatment	Value after treatment*	Reference range
Hemoglobin (g/dL)	6.9	13.1	11.7–16.0
Hematocrit (%)	25.6	40.9	34.8–47.0
MCV (fL)	59.9	90.1	80.0–98.0
MCH (pg)	16.1	28.9	27.0–33.0
MCHC (g/dL)	26.8	32.0	32.0–36.0
Serum iron (μg/dL)	12.0	84.0	40.0–158.0
TIBC (μg/dL)	327.0	280.0	271.0–435.0
Transferrin saturation (%)	4	30	15–50
Ferritin (ng/mL)	2.5	25.3	11.0–306.8

*These results were obtained from the tests performed one year after treatment for patient's iron-deficiency anemia.

Abbreviations: MCV, mean corpuscular volume; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration; TIBC, total iron-binding capacity.

고 찰

항-PP₁P^k는 다른 외부 적혈구에 대한 노출 없이 자연 발생하는 항체이며, 용혈성수혈반응뿐만 아니라 자연유산 및 신생아 용혈성 질환의 원인이 되므로 임상적으로 매우 중요한 비예기항체이다[2-5, 8-10].

P 혈액형군의 항원들(P, P₁, P^k)을 표현하지 않는 p 표현형을 가진 사람은 전 세계적으로 매우 드물다. Race와 Sanger에 따르면 p 표현형의 빈도는 유럽인의 백만명당 5.8명 정도로 알려져 있다[11]. 그러나 스웨덴 북부(40,149명의 헌혈자 중 8명)[12], 일본(10,000명당 1명–30,000명당 1명)[13]에서는 p 표현형의 빈도가 더 높게 보고되었다. 그러나, 홍콩 중국인 100만명을 검사하였을 때 p 표현형인 사람이 없었다는 보고도 있다[13]. 우리나라에서는 1,000명을 대상으로 항-P₁ 항혈청을 단독으로 사용하여 P 혈액형 항원의 빈도를 조사한 연구가 있었으나[14], 항-PP₁P^k 항혈청을 사용하거나 유전자 검사를 통한 p 표현형 빈도를 조사한 연구는 현재까지 보고되지 않았다.

P^k 항원을 생성하는 4-α-galactosyltransferase (α4Gal-T) 효소는 염색체 22q13.2에 위치한 A4GALT 유전자에 의해 결정되며[15], A4GALT 유전자의 다양한 돌연변이가 희귀한 p 표현형을 야기하는 것으로 알려져 있다[16, 17]. 또한 A4GALT 유전자의 돌연변이 중 과오돌연변이인 c.109A>G와 잠재돌연변이인 c.903G>C 및 c.987G>A는 α4Gal-T 효소 활성에 영향을 주지 않는 것으로 알려져 있다[15]. 최근에는 α4Gal-T 효소 활성에 영향을 미쳐 p 표현형이 발현하게 되는 A4GALT 유전자 상의 다형성이 36종이 보고되었다[18]. 그 중, 본 증례에서도 발견된 구조이동돌연변이 c.301delG는 단백질 정상길이의 31.7%를 절단하여 효소 활성에 영향을 주는

것으로 보고되었다[7]. 이러한 보고들을 토대로 본 증례에서 환자의 유전자형이 p 표현형과 일치함을 확인하였으며, 이는 환자에게서 동정된 항체가 항-PP₁P^k임을 뒷받침한다.

다행히도 본 증례에서의 빈혈은 수혈 없이 철분제 투약으로 교정 되었으나, 본 증례처럼 항-PP₁P^k를 가진 환자들은 필요 시 적절한 적혈구 제제를 찾는 것이 거의 불가능하여 수혈에 어려움이 있다. 이러한 경우 환자의 혈액을 미리 채혈하여 예치해 둔 혈액을 수혈하거나, 환자의 가족 중 동일한 표현형을 가진 가족에게서 헌혈 받은 동종 적혈구제제의 수혈을 고려해야 한다[19]. 그러나, 특히 응급 상황인 경우에, 모든 환자에게 이 방법을 적용할 수는 없다. 이러한 경우 고빈도항원 음성인 혈액의 시기 적절한 공급을 위해 국가적인 희귀 혈액 동결보관체계 구축이 도움이 될 수 있다[20]. 2013년부터 한국인의 희귀 혈액형군의 빈도를 조사하는 국내 희귀혈액 등록체계(Korean Rare Blood Program, KRBP)가 시작되었으며, KRBP에서는 419명의 헌혈자를 검사하여 Rh, MNS, Kell, Duffy, Kidd, Lutheran, Diego, Cartwright, Scianna, Dombrock, Colton, Landsteiner-Wiener, Cromer 및 Knops의 적혈구 유전자형 빈도를 보고하였다[21]. 그러나 KRBP에서는 P 혈액형군을 포함한 모든 혈액형군의 유전자형에 대한 검사를 수행하지는 않으므로, 희귀 혈액 제제의 효율적인 공급을 위해서는 더 많은 국가적 지원이 필요하다.

본 증례에서는 비예기항체 선별 및 동정검사상 범응집 소견을 보이는 한국인 여성 환자에서 동정된 항-PP₁P^k를 보고하였으며, 환자의 A4GALT 유전자에서 두 가지 돌연변이를 발견하여 환자의 p 표현형을 유전자 수준에서 확인하였다. 다행히 본 증례에서는 철분제를 복용함으로써 정상 범위의 혈액색소로 회복될 수 있었지만 추후 수혈이 필요한 상황이 발생할 경우 적합 혈액을 찾지 못해 문제가 될 수 있다. 아직까지 한국인을 대상으로 한 p 표현형의 빈도에 대한 연구가 없기 때문에, 본원에서는 적합한 혈액을 찾기가 극히 어려웠다. 따라서, 항-PP₁P^k의 경우처럼 고빈도항원 및 해당 항원이 없는 사람에게서 발생할 수 있는 비예기항체에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

저자들은 정신지체로 장기간 재활 치료를 받던 중 빈혈이 진단된 20세 한국인 여성에게서 항-PP₁P^k 동종항체를 발견하였고 환자의 p 표현형도 확인한 증례를 보고하고자 한다. 환자는 태어난 지 6일 만에 받은 2번의 교환 수혈 외의 다른 수혈력은 없었다. 그녀의 혈액형은 B형, RhD 양성이었으며 비예기항체 선별검사 및 동정검사에서 3+ ~ 4+ 정도의 반응 강도로 범응집 소견을 보였고, 자가대조검사는 음성이었다. 따라서 환자가 고빈도항원에 대한 항체를

가지고 있을 것으로 예상되었고 추가적인 비예기항체의 동정검사를 위해 스위스 적십자 표준 검사실에 의뢰한 결과 환자의 항체는 항-PP₁P^k로 동정되었으며, 추가적으로 환자의 p 표현형도 확인되었다. 환자의 p 표현형을 확인하기 위해 *A4GALT* 유전자에 대한 중합효소연쇄반응법 및 직접염기서열분석법을 시행하였고, 그 결과 c.301delG 돌연변이가 동형접합형으로 관찰되어 환자의 표현형이 유전자형과 일치하는 것을 확인하였다. 다행스럽게도 환자는 철결핍빈혈로 진단이 되어 수혈 없이 철분제 투약만으로 빈혈 교정이 가능하였으나, 여전히 이러한 환자들에게 적절한 적혈구 제제를 찾아주는 것은 매우 어려운 일이다. 아직까지 한국인을 대상으로 한 p 표현형의 빈도에 대한 연구가 없었기 때문에 항-PP₁P^k의 경우처럼 고빈도항원 및 해당 항원이 없는 사람에게서 발생할 수 있는 비예기항체에 대한 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

이해관계

저자들은 본 연구와 관련하여 어떠한 이해관계도 없음을 밝힙니다.

감사의 글

본 증례에 있어 유전자 검사를 시행해 주신 성균관대학교 삼성음향의과대학원 융합의과학과 유홍비 선생님께 감사드립니다.

REFERENCES

- Levine P, Bobbitt OB, Waller RK, Kuhmichel A. Isoimmunization by a new blood factor in tumor cells. *Proc Soc Exp Biol Med* 1951;77:403-5.
- Conlan S. Managing a pregnancy in the presence of the rare blood group antibody PP₁P^k. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2004;44:479-80.
- Shirey RS, Ness PM, Kickler TS, Rock JA, Callan NA, Schlaff WD, et al. The association of anti-P and early abortion. *Transfusion* 1987;27:189-91.
- Weiss DB, Levene C, Aboulafia Y, Isacsohn M. Anti-PP₁P^k (anti-Tj^a) and habitual abortion. *Fertil Steril* 1975;26:901-3.
- Levine P and Koch EA. The rare human isoagglutinin anti-Tj^a and habitual abortion. *Science* 1954;120:239-41.
- Koda Y, Soejima M, Sato H, Maeda Y, Kimura H. Three-base deletion and one-base insertion of the $\alpha(1,4)$ galactosyltransferase gene responsible for the p phenotype. *Transfusion* 2002;42:48-51.
- Yan L, Zhu F, Xu X, Zantek ND. Molecular basis for p blood group phenotype in China. *Transfusion* 2004;44:136-8.
- Fernández-Jiménez MC, Jiménez-Marco MT, Hernández D, González A, Omeñaca F, de la Cámara C. Treatment with plasmapheresis and intravenous immunoglobulin in pregnancies complicated with anti-PP₁P^k or anti-K immunization: a report of two patients. *Vox Sang* 2001;80:117-20.
- Iseki S, Masaki S, Levine P. A remarkable family with the rare human isoantibody anti-Tj^a in four siblings: anti Tj^a and habitual abortion. *Nature* 1954;173:1193-4.
- Reeves HM, Cary V, Mino MA, McGrath C, Westra JA, Piccone C, et al. Unexpected non-maternally derived anti-PP₁P^k in an 11-week-old patient. *J Pediatr* 2017;181:302-5.
- Race R and Sanger R. Blood groups in man. 6th ed. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1975.
- Cedergren B. Population studies in northern Sweden. IV. Frequency of the blood type p. *Hereditas* 1973;73:27-30.
- Lin CK, Mak KH, Cheng CK, Yang CP. The first case of the p phenotype in a Gurkha Nepalese. *Immunohematology* 1998;14:30-2.
- Lee WG, Kim WB, Lee DW, Kang DY. A study of P antigen frequency and P₁ antibody in Korean blood donors. *Korean J Blood Transfus* 1992;3:167-71.
- Steffensen R, Carlier K, Wiels J, Lavery SB, Stroud M, Cedergren B, et al. Cloning and expression of the histo-blood group P^k UDP-galactose: Gal β 1-4Glc β 1-Cer α 1,4-galactosyltransferase. Molecular genetic basis of the p phenotype. *J Biol Chem* 2000;275:16723-9.
- Hellberg Å, Schmidt-Melbye AC, Reid ME, Olsson ML. Expression of a novel missense mutation found in the *A4GALT* gene of Amish individuals with the p phenotype. *Transfusion* 2008;48:479-87.
- Westman JS, Hellberg Å, Peyrard T, Thuresson B, Olsson ML. Large deletions involving the regulatory upstream regions of *A4GALT* give rise to principally novel P₁P^k-null alleles. *Transfusion* 2014;54:1831-5.
- Li X, Diao X, Xia X, Hong X, Zhu F. A novel mutation in *A4GALT* was identified in a Chinese individual with p phenotype. *Transfusion* 2017;57:215-6.
- Choi SJ, Lee E, Kim S, Lyu CJ, Kim HO. Identification of anti-Gerbich antibody in an Emirati marrow hematopoietic progenitor cell donor with Fy(a-b-) phenotype. *Yonsei Med J* 2018;59:1253-6.
- Kim J, Choi KY, Youn KW, Kim Y, Min HK, Kim HO. Requirement of establishment of frozen blood storage system for management of rare blood supply and strategic national stockpile. *Korean J Blood Transfus* 2018;29:3-17.
- Hong YJ, Chung Y, Hwang SM, Park JS, Kwon JR, Choi YS, et al. Genotyping of 22 blood group antigen polymorphisms and establishing a national recipient registry in the Korean population. *Ann Hematol* 2016;95:985-91.