



A Case of Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia Due to Anti-HLA A29 Antibody

Eunjin Choi, MD¹
Jung Yoon, MD²
Chae Seung Lim, MD, PhD²
Young Sook Hong, MD, PhD¹

¹Department of Pediatrics, Korea University College of Medicine, Seoul, ²Department of Laboratory Medicine, Korea University College of Medicine, Seoul, Korea

This article was presented as a poster presentation at the 28th annual autumn meeting of the Korean Society of Perinatology.

Neonatal alloimmune thrombocytopenia (NAIT) occurs when a mother is immunized against fetal platelet-specific alloantigen and rarely human leukocyte antigen (HLA) inherited from the father. We experienced a case of NAIT caused by anti-HLA A29 antibody. The patient was first born female preterm infant. She had no petechiae or purpura and no evidence of infection at birth, but the platelet count was 27,000/mm³. The human platelet antigen specific antibodies were not detected in infant and her mother's sera. On panel reactive antibody (PRA) test, her mother's serum showed 96% HLA A29 antibody. On sequence specific primed polymerase chain reaction (SSP-PCR), anti-HLA A24, A31, B7, B51 antibodies were detected in her mother's serum, and anti-HLA A29, A31, B7, B51 antibodies in infant's serum. And on platelet immunofluorescent flow cytometry test (FCM) her mother's serum showed positive reaction with her father's platelet. These findings suggested that NAIT was caused by anti-HLA A29 antibody. The patient received platelet concentrates and intravenous immunoglobulin. The platelet count increased to 110,000/mm³ on the 32nd day of life and was maintained. On the CGH array performed because of her dysmorphic features, 16p 11.2 (1.2 Mb gain), which was considered benign copy number variation were revealed. We report a case of NAIT caused by anti-HLA A29 antibody accompanied by 16p11.2 (1.2 Mb gain).

Key Words: Thrombocytopenia, Neonatal Alloimmune, HLA-A29 antigen

Received: 20 February 2017

Revised: 25 April 2017

Accepted: 18 May 2017

Correspondence to

Young Sook Hong, MD, PhD
Department of Pediatrics, Korea University College of Medicine, 148 Gurodong-ro, Guro-gu, Seoul 08308, Korea

Tel: +82-2-2626-1229

Fax: +82-2-2626-1249

E-mail: hongys@korea.ac.kr

Copyright© 2017 by The Korean Society of Perinatology

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 that the original work is properly cited.

서론

신생아 동종면역성 혈소판 감소증(neonatal alloimmune thrombocytopenia, NAIT)은 태아의 혈소판 표면에 발현된 항원에 대해 형성된 어머니의 동종항체가 태아에 전달되어 면역적 파괴를 일으켜 발생하는 질환이다. 구미의 경우 약 1,000-2,000명의 신생아당 한 명 꼴로 발생하는데 다음 형제의 85-97%에서 발생할 수 있으므로 정확, 신속한 진단과 치료가 필요하다.¹ 증상으로는 출생 전후 무증상이거나 대부분 자반, 점상 출혈 등의 피부 증상만 보이는데 7-26%에서는 위장관 출혈, 두개내 출혈이 나타나기도 한다.² NAIT를 일으키는 혈소판 표면 항원으로는 human platelet antigen (HPA), human leukocyte antigen (HLA) class I, ABO 항원, Glycoprotein IV (CD36)이 알려져 있다.³ 서양에서는 HPA-1a가 가장 흔한 항원이지만, 동양인에서는 HPA-1a 음성자가 거의 없으므로 이에 의한 질환은 드물다.^{4,5} 국내에서는 항 HLA-A2 항체, 항 HLA-B35 항체와 같은 항 HLA class I 항체에 의한 증례가 소수 보고되어 있으나^{6,7} HLA-A29 항체에 의한 예는 보고된 바 없다. 저자들은 항 HLA-A29 항체에 의한 NAIT 1예를 경험하였기에 보고하는 바이다.

증례

환아: 신OO 아기, 생후 1일, 여아

주소: 미숙아로 입원 중 발견된 혈소판 감소증

출생력: 재태 연령 35주 3일, 출생 체중 1,820 g (3-10백분위수), 제왕절개술로 출생한 부당경량아이며 Apgar 점수는 1분 5점, 5분 6점, 6분 7점이었다.

임신력 및 가족력: 어머니는 28세 초산모로 임신 중 자간면역 등 특정 질환의 기왕력은 없었다. 임신 초기 초음파 검사상 태아 목덜미 투명대(nuchal translucency)가 두께가 6 mm로 증가되어 산전 융모막 생검을 시행하였으나 염색체 이상이나 다른 검사상 이상 소견은 없었다. 혈액검사상 혈소판 수는 162,000/mm³로 혈소판 감소증은 없었다.

현병력 및 이학적 소견: 출생시 신장 41 cm (<3백분위수), 두위 31.5 cm (10-50백분위수), body mass index 10.8이었으며 입원 당시 점상 출혈이나 자반은 보이지 않았고 경도의 비장비대 소견이 보였다. 두피에는 타원 모양의 물집 병변 3곳 관찰되었으며 이후 물집이 벗겨지면서 진피가 결손된 탈모 병변이 지속되었다. 신체 진찰상 큰 대천문, 긴 머리증, 낮게 위치한 귀, 긴 인중, 낮은 코, 좁은 턱, 짧고 넓은 손이 관찰되었다.

일반 혈액학적 검사 및 방사선 소견: 미숙아 및 부당경량아로 출생하였기에 입원 후 혈액검사를 시행하였으며 입원 당시 시행한 혈액검사 결과 혈색소 20.4 g/dL (적혈구 용적치 62%), 백혈구 수 16,300/mm³, 혈소판 수 27,000/mm³로 혈소판 감소증을 보였다. 환아의 혈액형은 B, Rh+, 환아 어머니는 O, Rh+였다. 프로트롬빈 시간 16.7초, 부분 트롬보플라스틴 시간 70.3초, fibrinogen 118 mg/dL, D-dimer 2.14 µg/mL, antithrombin III 25%로 파종성 혈관내 응고장애(disseminated intravascular coagulation, DIC) 소견을 보였다. C-reactive protein 0.16 mg/L (참고치: 0-5), 혈액, 뇌척수액, 소변배양검사상 균은 동정되지 않았다. 선천성 감염 여부 확인 위해 시행한 Toxoplasma gondii, Rubella virus, Cytomegalovirus, Herpes simplex virus I and II, and Other infection, Venereal disease res 및 소변 거대세포바이러스 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR) 검사는 음성이었으며, 환아의 직접/간접 항글로불린 검사도 모두 음성이었다. 면역학적 검사상 IgG 781 mg/dL, IgA 10 mg/dL, IgM 29 mg/dL로 정상 소견을 보였다. 척추 X-선상 특이 소견은 없었으며 뇌초음파상 좌측내실 뒤통수 뿐 확장 소견이 보이거나 뇌실내 출혈은 관찰되지 않았다. 복부 초음파 검사에서는 경도의 비장종대와 우측 수신증이 관찰되었다.

심장 초음파 검사상 patent ductus arteriosus 3 mm, atrial septal defect 7 mm였으며 신생아 청력 선별 검사(automated

auditory brainstem response)상 양측 귀 모두 통과하지 못하였다.

면역혈액학적 검사 소견: 환아는 생후 1일째 혈소판 수혈과 함께 DIC 치료를 하였으나 혈소판 감소증이 지속되었다. 이후 뚜렷한 감염의 증거 없이 반복 수혈에도 불구하고 혈소판 감소증이 지속되어 NAIT 의심 하에 검사를 시행하였다.

항혈소판 항체검사: 환아와 환아 어머니 항혈소판 항체검사는 음성으로 혈소판 특이 항원에 대한 항체에 의한 질환은 아닌 것으로 나타났다.

항 HLA class I 항체검사: 환아 어머니의 항 HLA class I 항체를 검사하기 위해 luminex (bead-based immunoassay) 사용하여 패널 반응성 항체(panel reactive antibody, PRA) 검사를 시행하였다. 검사 결과 96%로 항 HLA-A29 항체가 있는 것으로 추정할 수 있었으나 특이 항원 동정을 위한 단일항원비드 검사는 진행하지 않았다.

HLA 유전자형 검사: Sequence specific primed PCR법을 이용하여 HLA 항원 유전자형을 검사한 결과 환아는 A29, A31, B07, B51, 환아 어머니는 A24, A31, B07, B51, 환아 아버지는 A24, A29, B07, B54로 동정되었다. 그러므로 환아 어머니의 PRA 검사상 양성 반응을 보인 항 HLA-A29 항체가 NAIT의 원

Table 1. HLA Typing of Infant and Her Parents by SSP-PCR

	Infant	Father	Mother
HLA-A	A29*	A24	A24
	A31	A29*	A31
HLA-B	B07	B07	B07
	B51	B54	B51

Abbreviations: SSP-PCR, sequence specific primed polymerase chain reaction; HLA, human leukocyte antigen.

*HLA-A29 was identified in infant and father but not in mother.

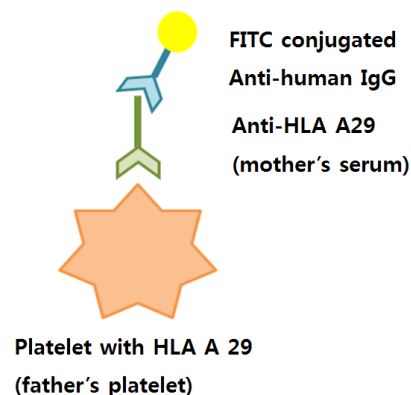


Fig. 1. Immunofluorescent flow cytometry test shows the positive reaction between father's HLA-A29 and mother's anti-HLA A29. FITC, fluorescein isothiocyanate; HLA, human leukocyte antigen.

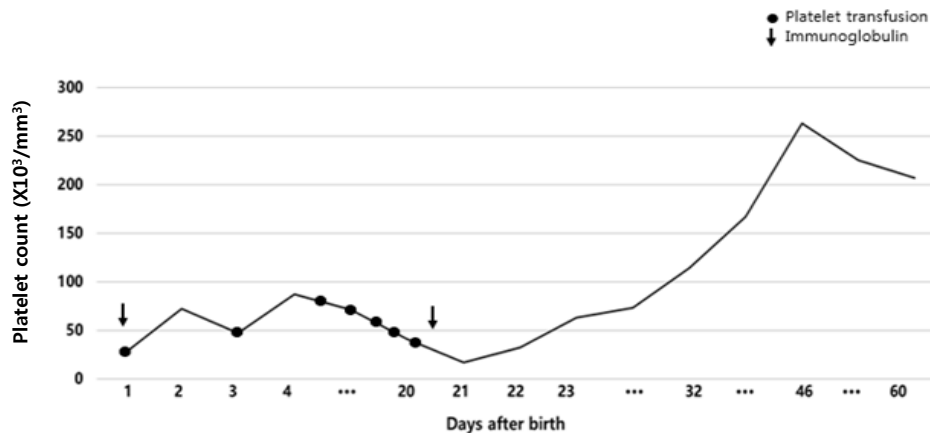


Fig. 2. Serial platelet counts after birth during the clinical course. The platelet count was increased after platelet transfusions and intravenous immunoglobulin.

인 항체로 생각되었다(Table 1).

교차시험: 항체의 혈소판 반응성을 확인하기 위하여 환자 어머니의 혈청과 HLA-A29가 양성으로 확인된 환자 아버지의 혈소판을 반응시켰다. 환자 어머니의 혈청에 존재하는 항A, 항B 항체에 의한 양성 반응을 배제하기 위하여 환자 아버지의 적혈구에 환자 어머니의 혈청을 흡착한 뒤 나머지 혈청으로 혈소판 면역형광 유세포 분석(platelet immunofluorescent flow cytometry test)을 시행하였다. 그 결과 환자 아버지의 혈소판과 환자 어머니의 혈청 간의 양성반응을 보이는 것을 확인하였다(Fig. 1).

또한, 환아에 동반된 이형적인 모습들로 미루어 염색체 이상을 의심하여 시행한 CGH array (array based comparative genomic hybridization) 검사 결과 문헌상 benign copy number variation (CNV)으로 보고되고⁸ 있는 16p11.2 (with 1.2 Mb gain)가 확인되었다.

치료 및 경과: NAIT에 대해 7차례 혈소판 수혈과 함께 생후 20일째 면역글로불린 2일간 정주(1 g/kg/day) 치료 후 혈소판 수치가 상승하여 생후 32일째 110,000/mm³ 이상이 되었으며 이후 안정적으로 유지되었다(Fig. 2). 현재 생후 15개월이며 양호한 상태로 외래 추적 관찰 중이다.

고찰

NAIT는 비교적 건강한 신생아에게서 독립적으로 초기에 혈소판 감소증이 일어나는 흔한 원인질환 중 하나이다. 아버지로 부터 받은 태아의 혈소판 표면의 항원에 대해 산모의 B cell에서 만들어진 항혈소판 항체(IgG)가 임신 14주부터 태반을 통해 태

아에게 넘어가 태아의 혈소판을 파괴함으로써 발생할 수 있다.⁷ 태아 혈소판 항원은 임신 19주부터 충분히 표현될 수 있으므로 임신 초기부터 혈소판 감소증이 발생할 수 있다.⁹

NAIT를 일으키는 모계의 동종면역에 대해서는 두 가지 기전으로 설명될 수 있는데 하나는 산모의 산과적 합병증, 외상, 분만과 관련되어 태아모체 출혈로 인한 HPA의 산모 노출이고 다른 하나는 임신기간 동안 태반의 융합 영양막 세포의 인터그린 베타-3의 산모 노출이다.¹⁰

가장 흔한 혈소판 표면 항원은 HPA-1a (75-80%)이고 두 번째는 HPA-5b (10-15%)이나⁹ 국내에서 보고된 예는 없으며 국내에서는 HLA class I 항원에 의한 증례로 항 HLA-B7+B60+B61, 항 HLA-B62+B75, 항 HLA-B44 항체 등에 의한 증례가 보고되었다.^{6,11} 이처럼 국내 보고 예가 적으나 동양인에서는 HPA-4a, 4b 항원이 가장 흔하고 HPA-3, HPA-9b, HPA-21b가 보고되었으며 그중 일본에서 HPA-4a, 4b 항원이 보고되어 우리나라에도 이와 관련하여 NAIT가 발생이 예측되고 있다.^{3,5,12}

NAIT의 증상으로는 출생 직후 무증상이거나 전신에 광범위한 점상 출혈 및 자반 등 피부 증상이 보인다. 그러나 위장관·폐와 같은 주요 장기 출혈, 두개내 출혈이 나타날 수 있으므로, 사망과 장기 후유증의 주된 원인이 된다. 증상은 대부분(80%) 자궁 내에서 일어나고 이 중 42%가 임신기간 30주 내에 발생한다.¹³ 그러므로 NAIT의 치료는 두개내 출혈을 예방하는 것을 목표로 하고 있다.

NAIT는 특히 첫째 아이에서 약 50%로 흔하게 발생하는데,¹ 환자의 다음 형제에서의 발병은 더 흔하고 이전 임신보다 증상이 더 심하게 나타나는 것으로 알려져 있어 다음 임신시 산모의 예방적 치료 계획을 세우도록 권장되고 있다.^{13,14}

NAIT의 임상적 진단기준은 첫째, 환아에게서 혈소판 수를 감소시킬 수 있는 다른 원인이 배제되어야 하고 둘째, 산모에서 특발성 혈소판 감소증이 없어야 하고 셋째, 아기가 아버지로부터 받은 혈소판 특이 항원에 대하여 작용할 수 있는 혈소판 동종 항체가 산모에게 있어야 한다는 것이다.¹⁵

NAIT 진단을 위한 혈소판 항체 검사방법으로는 chloroquine 처리, 혈소판부유면역형광법(platelet suspension immunofluorescence test), 혼합수동혈구응집법(mixed passive hemagglutination), 혈소판항원단클론성부동화법(monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigen), 항원포획효소면역검사법(antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay, angiotensin-converting enzyme), 변형항원포획효소면역검사법(modified antigen capture ELISA, MACE) 등^{4,10,16}이 이용되고 있다. 항 HLA 항체의 검출 방법으로는 PRA법이 주로 사용되며 림프구독성검사법(lymphocytotoxicity), 효소면역측정법(ELISA)-PRA, 유세포분석법(flow)-PRA, 단일항원비드 검사(luminex single antigen bead assay-PRA) 등이 있다.^{5,16-18}

본 증례에서는 PRA와 혈소판 면역형광 유세포 분석을 이용하여 항체를 검출하였다. Luminex (bead-based immunoassay) 사용하여 % PRA 결과를 얻었으며 flow cytometry를 이용한 HLA crossmatching 유세포 분석을 이용한 교차시험을 통하여 양성 결과를 얻었다. 이는 보체의존성 세포독성 교차 시험에 비해 100배(30-250배) 정도 예민도가 높고 결과 판정이 객관적이며 정확하다는 장점이 있다.

NAIT의 치료의 목표는 두개내 출혈을 예방하는 것이다. 다음 임신시의 NAIT를 예방하기 위한 출생된 관리로는 분만 계획을 세워 비스테로이드 소염제와 아스피린 복용을 피하고, 혈소판 항원이 완성되는 임신 20주부터 초음파 검사를 실시하여야 하며 혈액을 채취한 후 혈소판 채취 시기를 결정한다. 진단이 되면 면역 글로불린(1 g/kg)¹³을 임신 20주부터 매주 산모에게 투여하거나 코르티코스테로이드(프레드니솔론 0.5 mg/kg)를 투여할 수 있다. 또한 혈소판 수를 30,000/mm³ 이상으로 유지하기 위하여 필요시 자궁내 혈소판 투여를 할 수 있다. 분만은 두개내 출혈을 막기 위해 만삭 제왕절개를 권장한다.¹⁹ 분만 후 신생아 치료로는 출생 24시간 내에 혈소판 수가 30,000/mm³ 미만이면 혈소판 수혈이 가장 좋은 치료 방법이다. 혈소판 수혈의 가장 좋은 공혈자는 산모이며, 이때 항혈소판 항체를 제거하고 이식편대 숙주 반응을 예방하기 위해 혈소판을 씻어주고 방사선 조사를 시행한 후 사용한다. 산모의 혈소판을 사용하기 어려운 경우는 해당 항원이 음성인 혈소판 제제를 수혈하는 것이 효과적이다.² 다음으로는 혈소판 수를 빠르게 회복하기 위해 대량의 면역 글로불린(400 mg/kg/일, 5일간 또는 1 g/kg/일, 2일간)을

정맥내 투여하는 방법이 있으나 효과가 나타나는데 18-24시간 이 걸리므로 급성 출혈 시에는 적절하지 않으며 출혈이 심할 경우 코르티코스테로이드(1-2 mg/kg/day)도 고려되나 추천되고 있지는 않다.¹³

본 환아는 출생시 점상 출혈, 자반, 두개내 출혈 등의 소견은 보이지 않았으나 혈액 검사상 혈소판 수 27,000/mm³로 혈소판 감소를 보여 혈소판 수혈과 면역 글로불린(1 g/kg/일, 2일간)을 투여하였으며 투여 후 혈소판 수치가 110,000/mm³ 이상으로 상승된 후 안정되는 결과를 보였다. Kim 등¹⁶은 점상 출혈, 두개내 출혈을 동반한 HLA-A2 항체에 의한 NAIT 환아에게 혈소판 수혈, 면역 글로불린 이외 경구용 스테로이드를 사용한 치험례를 보고한 바 있다.¹⁶

혈소판 감소증과 관련된 인자로 염색체 이상, 자궁내 성장 지연, 분만 손상 등이 거론되는데²⁰ 다운증후군에서는 HLA-A2 항체, HPA 항체에 의한 NAIT 증례가 보고된 바 있다.

본 환아는 신체검진, 혈액학적, 영상학적 검사상 이상 소견을 보여 시행한 CGH array 상에서 염색체 16p11.2 부위에 1.2 Mb의 gain이 관찰되나 benign CNV에 해당하였다.

CGH array를 통해 진단이 가능한 염색체 16에서의 결실, 중복 등 CNV의 경우는 질병의 발생과 관련이 높다. 이 중 16p11.2의 CNV는 자폐 이외에 정신분열증, 지능저하, 발달 지연 등과 관련되어 있다. 이들은 대부분 benign으로 특이 증상이 보이지 않지만 30-50%에서 소두증, 대두증, 키아리 제1형 기형(Chiari type 1 malformation), 척수물구멍증(syringomyelia), 비대발문협착 등의 선천 기형이 보고되어 있다.⁸

국내에서는 NAIT의 원인으로 드물게 HLA 항체에 의한 증례가 보고되고 있다. 그 이유로는 동양인의 경우 HPA-1a 음성자가 거의 없는 점과 진단 전에 증상이 특별한 치료 없이도 호전되는 경우 면역 관련 검사를 간과하여 진단율이 낮은 점과 관련이 높을 것으로 예상된다. 그러므로 NAIT가 의심되는 경우 정확한 진단을 통한 치료를 시행하여야 하며 다음 임신시 NAIT 발생률이 증가하므로 산모의 치료 계획을 세우는 것이 중요하다. 이를 위해 향후 NAIT의 원인 항체와 병리기전에 대한 연구가 있어야 한다고 생각된다.

References

- 1) Goldman M, Filion M, Proulx C, Chartrand P, Décary F. Neonatal allo-immune thrombocytopenia. *Transfus Med Rev* 1994;8:123-31.
- 2) Kaplan C. Foetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Orphanet J Rare Dis* 2006;1:39.
- 3) Peterson JA, McFarland JG, Curtis BR, Aster RH. Neonatal alloimmune

- thrombocytopenia: pathogenesis, diagnosis and management. *Br J Haematol* 2013;161:3-14.
- 4) Lee MS, LEE HS, Kim HO. A case of neonatal alloimmune thrombocytopenia related to HLA antibody. *J Korean Pediatr Soc* 2001;44:1454-8.
 - 5) Shibata Y, Matsuda I, Miyaji T, Ichikawa Y. Yuka, a new platelet antigen involved in two cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Vox Sang* 1986;50:177-80.
 - 6) Kim SY, Kim ER, Kim YJ, Park MH, Song EY, Han KS. A case of neonatal alloimmune thrombocytopenia due to anti-HLA A2. *J Korean Pediatr Soc* 2000;43:861-5.
 - 7) Choi JS, Kim SY, Ihm C, Kim SY. A case of neonatal alloimmune thrombocytopenia due to Anti-HLA-B35. *J Korean Soc Neonatol* 2009;16:248-54.
 - 8) Barber JC, Hall V, Maloney VK, Huang S, Roberts AM, Brady AF, et al. 16p11.2-p12.2 duplication syndrome; a genomic condition differentiated from euchromatic variation of 16p11.2. *Eur J Hum Genet* 2013; 21:182-9.
 - 9) Davoren A, Curtis BR, Aster RH, McFarland JG. Human platelet antigen-specific alloantibodies implicated in 1162 cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion* 2004;44:1220-5.
 - 10) Curtis BR. Recent progress in understanding the pathogenesis of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2015;171: 671-82.
 - 11) Han KS, Um TH, Park HM, Shin BM, Park YW, Kim SW. A case of neonatal alloimmune thrombocytopenia due to anti-HLA-B7+B60+B61. *Korean J Blood Transfus* 1994;5:45-51.
 - 12) Han KS, Cho HI, Kim SI. Frequency of platelet specific-antigens among Koreans determined by a simplified immunofluorescence test. *Transfusion* 1989;29:708-10.
 - 13) Espinoza JP, Caradeux J, Norwitz ER, Illanes SE. Fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Rev Obstet Gynecol* 2013;6:e15-21.
 - 14) Udom-Rice I, Bussel JB. Fetal and neonatal thrombocytopenia. *Blood Rev* 1995;9:57-64.
 - 15) Taaning E, Antonsen H, Petersen S, Svejgaard A, Thomsen M. HLA antigens and maternal antibodies in allo-immune neonatal thrombocytopenia. *Tissue Antigens* 1983;21:351-9.
 - 16) Kim Y, Oh EJ, Kim Y, Lee J, Sung IK. Neonatal alloimmune thrombocytopenia caused by anti-HLA-A2 alloantibodies determined by Luminex single antigen bead assay. *Lab Med Online* 2013;3:45-9.
 - 17) Jung S, Oh EJ, Yang CW, Ahn WS, Kim Y, Park YJ, et al. Comparative evaluation of ELISA and luminex panel reactive antibody assays for HLA alloantibody screening. *Korean J Lab Med* 2009;29:473-80.
 - 18) Oh EJ, Lee J, Yang CW, Moon IS, Park YJ, Han K. Comparison of anti-HLA detecting methods; cytotoxicity, flow cytometric crossmatch, multiple antigen-ELISA, single antigen-ELISA. *J Korean Soc Transplant* 2008; 22:85-91.
 - 19) Banchette VS, Johnson J, Rand M. The management of alloimmune neonatal thrombocytopenia. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol* 2000;13:365-90.
 - 20) Madani K, Kamphuis MM, Lopriore E, Porcelijn L, Oepkes D. Delayed diagnosis of fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia: a cause of perinatal mortality and morbidity. *BJOG* 2012;119:1612-6.