

Modified Antigen Capture ELISA 검사를 이용한 항혈소판 특이항체의 검출

김현정 · 오은지 · 김자영 · 박연준 · 한경자

가톨릭대학교 의과대학 진단검사의학교실

Detection of Platelet Specific Antibodies by Modified Antigen Capture ELISA Test

Hyunjong Kim, M.D., Eun-Jee Oh, M.D., Jayoung Kim, M.D., Yeon-Joon Park, M.D., and Kyungja Han, M.D.

Department of Laboratory Medicine, The Catholic University of Korea, College of Medicine, Seoul, Korea

Background : Autoimmune thrombocytopenia (AITP) is characterized by autoantibody-induced platelet destruction. Although several studies have shown that pathogenic autoantibodies are mainly IgG directed platelet glycoproteins (GP), a platelet GP specific test is not available in clinical laboratories. The aim of this study was to evaluate the clinical usefulness of a Modified Antigen Capture Enzyme-linked immunosorbent assay (MACE) test in the diagnosis of AITP.

Methods : We investigated fifty-seven patients who showed a platelet count lower than $100 \times 10^9/L$ and underwent a bone marrow examination. They were classified into primary AITP (P-AITP) (n=21), secondary AITP (S-AITP) (n=15), and non-immune thrombocytopenia (NITP) (n=21) by bone marrow findings and clinical diagnosis. Platelet GP (IIb/IIIa, Ia/IIa, Ib/IX, IV)-specific antibodies and anti-HLA class I antibody were detected by MACE test.

Results : Among 57 samples, platelet GP specific antibodies were detected in 8 (22.2%) of 36 patients with AITP and 1 (4.8%) of 21 patients with NITP. The specificities were as follows: GP IIb/IIIa (n=4), GP Ia/IIa (n=5), GP Ib/IX (n=3) and GPIV (n=2). Of the nine patients with platelet GP specific antibodies, four (44.4%) had more than two platelet GP specific antibodies. The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive values of the MACE test for AITP were 22.2%, 95.2%, 88.9%, 41.7%, respectively. A previous transfusion history was associated with a higher detection rate of anti-HLA class I antibodies ($P<0.05$).

Conclusions : The MACE test is a convenient method to detect platelet GP specific antibody and is very specific to diagnose AITP. In clinical practice, even though it is not sensitive, the MACE test would be useful in differentiating AITP from NITP. (*Korean J Lab Med* 2006;26:192-7)

Key Words : Autoimmune thrombocytopenia, Modified Antigen Capture ELISA test (MACE), Platelet glycoprotein specific antibody, Antiplatelet antibodies

서론

접 수 : 2005년 11월 9일 접수번호 : KJLM1900
수정본접수 : 2006년 4월 5일
게재승인일 : 2006년 4월 6일
교신저자 : 오 은 지
우 137-701 서울시 서초구 반포동 505
가톨릭대학교 강남성모병원 진단검사의학과
전화 : 02-590-2221, Fax : 02-592-4190
E-mail : ejoh@catholic.ac.kr

*본 연구는 가톨릭대학교 강남성모병원 2005년도 임상의학연구비의 일부 지원에 의해 이루어진 것임.

자가면역성 혈소판 감소증(autoimmune thrombocytopenia, AITP)은 혈소판 당단백(platelet glycoproteins, PLT GP) IIb/IIIa, Ib/IX, IV, Ia/IIa 등에 대한 자가항체가 혈소판 표면의 항원에 결합하여 세망내피계에서 혈소판이 파괴되는 질환이다[1]. 항혈소판 항체 검출을 위한 방법으로, 1950년대부터 진단에 이용된 응집, 보체활성은 혈소판 활성도를 측정하여 환자 혈청내 항혈소판인자를 검출하며, 예민도와 재현성이 낮다[2]. 1970년대에는

혈청 내 혈소판 관련 면역 글로불린(platelet associated immunoglobulin, PAIG)을 검출하여 예민도를 향상시켰으나, 비특이 물질에 대한 위양성이 많아 특이도가 떨어지는 단점이 있다. 1982년 van Leeuwen 등[3]이 AITP 환자의 혈소판에서 추출한 항체가 PLT GP IIb/IIIa에 대한 항체임을 보고한 이후, AITP의 진단에서 당단백 Ib/IX, IIb/IIIa, IV, Ia/IIa 등에 대한 특이 항체 검출의 중요성과 함께 혈소판 당단백 특이항체(platelet glycoprotein specific antibody, PLT GP sAb)의 검출방법이 소개되었다[4-7]. 대표적인 PLT GP sAb 검출방법은 monoclonal antibody-specific immobilization of platelet (MAIPA)로서 AITP 진단을 위한 특이도가 높으나, 검사 술식이 복잡하고 표준화된 방법이 없어 임상검사에서 널리 이용되지 못하고 있는 실정이다[8]. 한편, PLT GP sAb는 자가면역혈소판 감소증 외에도 혈소판 동종 면역에 의한 혈소판수혈불응증의 원인이 되기도 한다[9-11].

저자들은 AITP 환자와 비면역성 혈소판 감소증(nonimmune thrombocytopenia, NITP) 환자의 혈장에서 상품화된 kit인 Modified Antigen Capture ELISA (MACE)를 이용하여 4가지의 PLT GP sAb (glycoprotein IIb/IIIa, Ia/IIa, Ib/IX, IV)와 항-HLA class I 항체를 검출하고, 임상적 의의를 분석하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2001년 1월부터 2005년 7월까지 가톨릭대학교 강남성모병원에

Table 1. Main features of 57 patients with AITP and NITP

	AITP			NITP
	P-AITP	S-AITP	Total	
N	21	15	36	21
Male:Female	1.1	2.0	1.4	1.6
Age (years)*	52.3±1.9	38.6±9.0	49.2±12.7	63.0±16.0
Platelets count*, ×10 ⁹ /L	37.0±31.7	57.1±27.0	45.3±31.4	56.5±23.7
Previous transfusion, N (%)	4 (19.0)	7 (46.7)	11 (30.6)	12 (57.1)
Platelet GP-specific antibody, no (%)	5 (23.8)	3 (20.0)	8 (22.2)	1 (4.8)
GP IIb/IIIa	2	2	4	0
GP Ia/IIa	2	2	4	1
GP Ib/IX	2	1	3	0
GP IV	1	1	2	0
Anti-HLA class I antibody, no (%)	11 (52.4)	9 (60.0)	20 (55.6)	21 (100)

*mean±SD

Abbreviations: AITP, autoimmune thrombocytopenia; NITP, non-immune thrombocytopenia; P-AITP, primary autoimmune thrombocytopenia; S-AITP, secondary autoimmune thrombocytopenia; GP, glycoproteins.

내원하여 골수검사를 시행한 혈소판감소증 환자 57명을 대상으로 하였고, AITP 36명, NITP 21명으로 구분하였다. 36명의 AITP 환자 중 특발성 AITP (Primary AITP, P-AITP) 군에는 1) 혈소판수가 $100 \times 10^9/L$ 이하로 감소되고, 2) 골수검사에서 거핵구수가 정상이거나 증가된 소견을 보이며, 3) 이차성 면역질환이나 약제 관련성이 없고, 4) B형간염, C형간염, 사람면역결핍 바이러스 등의 감염 증거가 없는 21명이 포함되었다. 이차성 AITP (secondary AITP, S-AITP) 군에는 1) 이차성 면역질환이나, 약제, 감염 등과 관련되어 혈소판수가 $100 \times 10^9/L$ 이하로 감소되고, 2) 골수검사에서 거핵구가 정상이거나 증가된 소견을 보이는 15명을 포함하였다. S-AITP 환자의 원인질환은 바이러스 감염 6예, 폐결핵 2예, 전신성 홍반성 낭창 4예, 류마티스 관절염 1예, 기타 자가면역성 질환 2예였고, NITP 환자 21명의 원인질환은 급성 백혈병 (n=6), 재생 불량성 빈혈(n=8), 고형종양의 골수 침범(n=4), 골수 이형성 증후군(n=2), 다발성 골수종(n=1) 등이었다. 환자의 의무기록을 조사하여 검체 채취 당시의 혈소판 수치, 수혈력 등을 조사하였다(Table 1). 대상 환자 가운데 항암치료 중이었던 경우는 6예(급성백혈병 3예, 재생 불량성 빈혈 1예, 고형종양의 골수침범 2예)였고, 골수이식을 받은 환자는 포함되지 않았다.

2. 방법

MACE kit (GTI, Brookfield, WI, USA)를 이용하여 PLT GP IIb/IIIa, Ia/IIa, Ib/IX, IV와 HLA class I에 대한 특이항체를 조사하였다.

대상 검체는 골수검사 당시 채취한 EDTA 혈장을 이용하였으며, 검사 전까지 -70℃에 보관하였고, 검사직전에 해동하여 사용하였다. 모든 검사는 제조사의 지침대로 하였다. MACE는 정상인

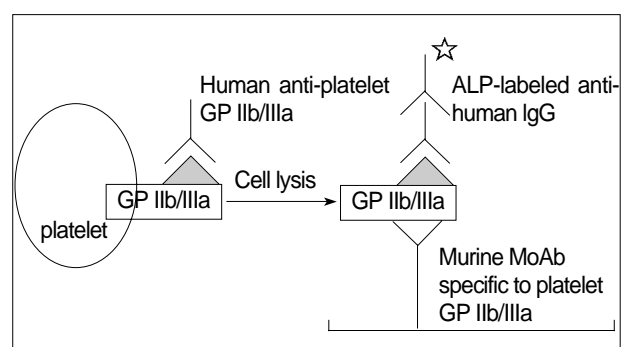


Fig. 1. Detection of platelet specific IgG antibodies to platelet glycoproteins (GP) IIb/IIIa, Ia/IIa, Ib/IX, IV or HLA class I (GP IIb/IIIa in this example) by MACE assay. Washed platelets were first incubated with human plasma (containing anti-platelet GP IIb/IIIa in this sample). The antibody-sensitized platelets were then lysed and the supernatant was added to a microplate pre-coated with murine monoclonal antibodies (MoAb) specific to platelet GP or HLA class I. Any human IgG bound to the GP or HLA class I antigen were detected with a alkaline phosphatase (ALP) conjugated antihuman IgG and substrate solution.

의 혈소판과 환자혈장을 반응시킨 후 용해시켜 혈장내의 혈소판 특이항체에 감작된 PLT GP을 제조하고, 이를 PLT GPsAb가 코팅된 microplate에 첨가하여 noncompetitive sandwich ELISA 방법으로 혈소판 항체를 검출하는 방법이다(Fig. 1). 본 연구에서는 정상인의 혈소판을 이용하였으나, 환자의 혈소판을 용해하여 이용할 경우 환자의 혈소판에 부착된 혈소판 특이항체 검출도 가능하다.

1) 혈소판 특이항체에 감작된 혈소판 당단백 제조

정상인 80명의 검체를 모아 제조한 혈소판 풍부 혈장을 cell re-suspension and preservative solution으로 1회 세척한 후 50% 혈소판 부유액을 만들고, 혈소판 부유액 10 μ L와 환자 혈장 100 μ L를 37°C에서 45분간 반응시켰다. 세척 후에 cell lysis buffer 200 μ L로 혈소판을 용해시켜, 혈소판 특이 항체에 감작된 PLT GP 부유액을 만들었다. 50% 혈소판 부유액은 2-8°C에서 일주일간 보관하면서 재사용이 가능하다.

2) Modified Antigen Capture ELISA (MACE)

PLT GP IIb/IIIa, Ia/IIa, Ib/IX, IV와 HLA class I 항원에 특이적인 마우스 단클론 항체가 각각 코팅되어 있는 microplate well에 PLT GP 부유액 50 μ L를 점종 후 37°C에서 45분간 반응시켰다. 4회 세척 후 alkaline phosphatase conjugated IgG 용액 50 μ L를 첨가하여 37°C에서 45분간 반응시키고, 세척 후에 기질 용액(p-nitrophenyl phosphate, PNPP) 100 μ L씩을 첨가하여 30분간 실온, 암실에서 반응시켰다. 반응 정지액 100 μ L를 첨가한 후 405 nm에서 흡광도를 측정하였다. 혈소판 특이항체 각각에 대한 양성대조와 음성대조를 검사하였고, 음성대조 흡광도의 2배 이상의 흡광도를 보이는 검체를 양성으로 판정하였다.

결 과

총 57예 중 PLT GP IIb/IIIa, Ia/IIa, Ib/IX, IV에 대한 특이항체가 한 가지라도 검출된 경우는 9예(15.8%)였으며, 항-HLA class I 항체는 41예(71.9%)에서 양성이었다. PLT GPsAb 양성

Table 2. Characteristics of specific platelet GP antibodies in eight patients with AITP and one patient* with NITP

GPIIb/IIIa	GPIa/IIa	GPIb/Ix	GPIV	N
-	-	-	+	1
-	-	+	-	1
-	+	-	-	1*
-	+	+	-	2
+	-	-	-	2
+	+	-	-	1
+	+	-	+	1

Abbreviations: GP, glycoproteins; AITP, autoimmune thrombocytopenia; NITP, non-immune thrombocytopenia.

인 9예 중 8예는 AITP (8/36, 22.2%), 1예는 NITP (1/21, 4.8%) 환자로서, AITP 환자에서 높은 빈도를 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다($P=0.18$). 또한 AITP 환자 중 P-AITP와 S-AITP 사이에도 PLT GPsAb 양성률의 유의한 차이는 없었다 (23.8% vs. 20.0%, $P>0.5$) (Table 1). PLT GPsAb가 양성인 9예는 PLT GP IIb/IIIa (4예), Ia/IIa (5예), Ib/IX (3예), IV (2예)에 대한 특이항체로서, 이 중 2가지 이상의 PLT GPsAb 양성인 경우가 4예(44.4%)였다(Table 2). AITP 진단을 위한 MACE 검사의 예민도, 특이도, 양성예측률, 음성예측률은 각각 22.2%, 95.2%, 88.9%, 41.7%였다.

항-HLA class I 항체는 AITP 환자 36예 중 20예(55.6%)에서 검출되었으며, P-AITP (52.4%)와 S-AITP (60.0%)군 사이에 유의한 차이는 없었다(Table 1). NITP 환자의 경우, 21명 모두에서 항-HLA class I 항체가 검출되어 100%의 양성률을 보였다. 과거 수혈력이 있는 환자 23명과 수혈력이 없는 환자 34명의 항-HLA class I 항체 양성률은 각각 91.3% (21/23), 58.8% (20/34)으로 두 군 사이에 유의한 차이가 있었다($P<0.05$). 수혈력이 있는 환자 23명 중 3명에서 항-HLA class I 항체와 PLT GPsAb가 동시에 검출되었다.

고 찰

AITP 환자에서 혈소판 항체의 검출률은 검사에 사용되는 항원, 검체의 종류, 측정 방법, 환자의 임상 상태, 면역억제제의 투여, 비장 절제술 시행여부 등에 따라 10-97%까지 다양하게 보고되고 있다[12-15]. 현재 국내에서는 혈소판 항체의 검출을 위해 간접면역형광법, 효소면역법, 유세포분석기를 이용한 면역형광법 등[12, 15-20]이 주로 이용되고 있으며, 특이도와 민감도가 모두 높은 통일된 검사방법은 없는 실정이다.

1987년 Kiefel과 McMillan 등[4, 5]이 혈소판 표면 당단백과 혈소판 항체의 결합기 항원의 연관성을 밝힌 이래 PLT GPsAb 검출을 위한 다양한 방법이 소개되었다. 이러한 PLT GPsAb 검출방법으로는 각 당단백에 대한 단클론 항체를 이용한 Immuno-bead 법, MAIPA, MACE 방법 등이 있으며, 최근 Fabris 등[21]은 AITP 진단을 위한 MACE의 예민도와 특이도를 각각 60%와 97%로 보고하였다. 국내에서는 PLT GP IIb/IIIa와 당단백 Ib/IX에 대한 단클론항체를 이용하여 자가제조한 MACE 방법이 보고된 바 있으나[12, 19], 시간과 노력이 많이 들고 검사의 표준화가 어려워 통상적인 혈소판 항체 검사로 이용되지 못하고 있는 실정이며, PLT GP Ia/IIa, IV에 대한 특이항체의 검출은 보고된 바가 전혀 없다.

본 연구에서는 혈장에서의 PLT GPsAb 검출을 위해 상품화된 MACE kit를 이용하여 PLT GP IIb/IIIa, Ib/IX 뿐 아니라 PLT GP Ia/IIa, IV에 대한 항체 및 항 HLA class I 항체를 검출하고, 임상적 의미를 분석하였다. 본 연구에서 혈소판수가 $100 \times 10^9/L$

이하인 57명의 혈소판 감소증 환자의 혈장에서 PLT GP_sAb를 검출한 결과, 항-HLA class I 항체의 양성률은 71.9%였고, PLT GP_sAb 양성률은 15.8%로 낮았다. 또한 AITP (n=36)와 NITP (n=15)군으로 구분하였을 경우, MACE 검사의 AITP 진단을 위한 예민도, 특이도, 양성예측률, 음성예측률은 각각 22.2%, 95.2%, 88.9%, 41.7%로서, 특이도와 양성예측률은 기존의 보고에서와 같이 우수하였으나[21, 22], 예민도와 음성예측률은 매우 낮았다. 이는 환자의 혈청 또는 혈장으로 시행하는 간접적인 검사방법 자체의 민감도가 낮기 때문으로 생각되며, 혈장 내에서 검출되는 자가항체는 혈소판과 먼저 결합하고 남은 여분의 항체가 검출되는 것이므로, 혈소판결합항체를 직접법으로 측정하는 것보다 낮은 양성률을 나타낸다[12]. 현재 국내에서는 혈소판보다 혈청이나 혈장의 보존과 처리가 용이하여 혈소판 항체검사의 검체로 많이 이용되고 있고, 본 연구에서도 보관된 혈장검체를 이용하여 간접적으로 혈소판 특이항체를 검출하였다. 그러나 항체검출률을 높이기 위해서는 환자의 혈소판에 결합된 항체를 직접법으로 측정하는 것이 유용하다. 따라서, 본 연구에서 사용한 MACE kit를 이용하여 정상인의 혈소판풍부혈장 대신, 환자의 혈소판과 혈장을 사용하면 혈소판결합항체의 직접검출이 가능하므로, 이에 대한 추가연구가 필요할 것으로 생각한다.

본 연구에서 AITP 환자를 P-AITP와 S-AITP로 구분할 경우, 각각 23.8%와 20.0%의 PLT GP_sAb 검출률을 보여 두 군 사이에 차이가 없었으나, Fabris 등[21]은 S-AITP에서 P-AITP에 비해 높은 검출률을 보고하여 본 연구 결과와 차이가 있었다. 이는 연구 대상군의 차이와 본 연구에서의 낮은 검출률 때문으로 생각된다. PLT GP 종류에 따른 특이항체의 양성빈도는 PLT GP IIb/IIIa 4예, Ia/IIa 5예, Ib/IX 3예, IV 2예로서 PLT GP의 특이성에 따른 빈도의 차이는 없었다. PLT GP_sAb 양성인 9예 중 동시에 2가지 이상의 당단백에 대한 항체가 검출되는 경우가 4예(44.4%)로서, Fabris 등[21]이 MACE방법으로 혈소판에 부착된 항체를 검출한 결과(53-54%)와 비슷하였다. 한편, Davoren 등[23]은 PakAuto (GTI, Brookfield, WI)를 이용하여, 항체양성 혈소판감소증 환자 114명 중 90명(79%)에서 2가지 이상의 PLT GP에 대한 항체를 직접법으로 검출하였다. 비록 특정 PLT GP에 대한 항체양성이 가지는 임상적 또는 병리학적 의의는 확실히 정립되지 않았지만, 본 연구결과 GP IIb/IIIa에 대한 항체 외에도 GP Ia/IIa, Ib/IX, IV에 대한 항체가 비슷한 빈도로 검출되었으므로, AITP 진단을 위한 PLT GP_sAb 검사에는 다양한 PLT GP 항원이 포함되어야 하겠고, 특정 당단백에 대한 혈소판 항체양성이 가지는 임상적 의의는 추가 연구가 필요하다고 생각한다.

본 연구에서 항-HLA class I 항체의 양성률이 71.9%로 높았고, AITP 환자에서 55.6%, NITP 환자에서 100%가 검출되었으며, 과거 수혈력이 있는 환자에서 수혈력이 없었던 환자에 비해 항-HLA class I 항체 양성률이 유의하게 높았다. 위재호 등[16]은 수혈력이 있는 악성 질환 환자의 혈소판 항체 생성률을 52.5%로 보고하였는데, 본 연구에서도 NITP 환자의 대부분이 혈액중

양 환자로서 많은 양의 수혈을 받은 것과 관련이 있을 것으로 추정된다. 한편 수혈력이 없으나 항-HLA class I 항체 양성인 20예(AITP 11예, NITP 9예)의 경우, 수혈 이외 임신 등에 의한 동종항체 또는 non-HLA 항체에 의한 교차반응, 수혈력 조사의 부정확성 등의 가능성이 있다.

AITP의 원인인 자가항체는 PLT GP에 대한 항체로 알려져 있으나, 동종면역에 의한 동종항체의 경우, 60-80%는 항-HLA class I 항체이고 일부에서 PLT GP_sAb가 원인인 것으로 알려져 있다[9-11]. 따라서, 혈장에서의 항-HLA 항체 검출은 AITP와 NITP의 감별에는 이용이 불가능하고, 동종면역에 의한 혈소판 감소증 진단 및 AITP 환자의 혈소판수혈불응증 진단에 이용될 수 있을 것으로 생각된다. 또한, 임신, 수혈력 등 동종면역 가능성이 있는 환자에서 PLT GP_sAb가 검출될 경우에는 자가항체인지 동종항체인지의 구별이 불가능한데, 본 연구에서도 수혈력이 있는 23명 중 3명의 AITP 환자에서 항-HLA class I 항체와 PLT GP_sAb가 동시에 검출되었다. 이러한 예에서는 환자의 혈소판을 이용한 직접법으로 PLT GP_sAb를 검출하면 진단에 도움이 되리라 생각한다.

결론적으로 MACE 방법은 PLT GP_sAb 검출을 위한 비교적 편리한 방법이고, AITP 진단을 위한 특이도가 높으므로 임상적 유용성이 가능하리라 생각한다. 그러나 혈장에서의 항체 검출률이 낮으므로, 예민도의 증가를 위해 혈소판결합항체 검출에 대한 추가연구가 필요하다.

요 약

배경 : 자가면역성 혈소판 감소증(AITP)에서 혈소판의 당단백에 대한 IgG 항체가 병인에 중요하다. 그러나 이에 대한 측정은 검출 방법이 복잡해 널리 이용되지 못하고 있다. 저자들은 AITP 진단을 위한 혈소판 당단백 특이항체(PLT GP_sAb)의 임상적 유용성을 살펴보았다.

방법 : 혈소판 수가 $100 \times 10^9/L$ 이하이며 골수검사를 시행한 환자 57명을 대상으로 하였다. 골수검사 결과와 임상기록 분석을 통해 구분된, 일차성 혈소판 감소증(primary AITP, P-AITP) 환자 21명, 이차성 혈소판 감소증(secondary AITP, S-AITP) 환자 15명, 골수에서 생산이 감소된 비면역성 혈소판 감소증(non-immune, NITP) 환자 21명을 포함하였다. Modified Antigen Capture ELISA test (MACE, GTI, USA)를 이용하여, 냉동 보관된 혈장검체 내에서 항-GP IIb/IIIa, Ia/IIa, Ib/IX, IV 항체 4가지와 항-HLA class I 항체를 검출하였다.

결과 : 총 57예 중 PLT GP_sAb는 AITP 환자의 22.2% (8/36), NITP 환자의 4.8% (1/21)에서 양성을 보였다. PLT GP_sAb 양성, GP IIb/IIIa 4예, GP Ia/IIa 5예, GP Ib/IX 3예, GP IV 2예였다. PLT GP_sAb 양성 9예 중 4예에서 2가지 이상의 PLT GP에 대한 항체 양성이었다. P-AITP와 S-AITP 사이에 PLT-

sAg 양성률의 유의한 차이는 없었다(23.8% vs. 20.0%, $P>0.05$). AITP 진단을 위한 MACE 검사의 민감도, 특이도, 양성예측률, 음성예측률은 각각 22.2%, 95.2%, 88.9%, 41.7%이었다. 수혈 기왕력이 있는 환자에서 항-HLA class I 항체의 양성률이 높았다($P<0.05$).

결론 : MACE 검사는 PLT GPsAb검출을 위한 편리한 방법으로서 AITP 진단을 위한 특이도가 높으므로, AITP와 NITP를 구별하는데 유용하리라 생각된다.

참고문헌

- Kelton JG and Gibbons S. Autoimmune platelet destruction: idiopathic thrombocytopenic purpura. *Semin Thromb Hemost* 1982;8:83-104.
- Warner M and Kelton JG. Laboratory investigation of immune thrombocytopenia. *J Clin Pathol* 1997;50:5-12.
- van Leeuwen EF, van der Ven JT, Engelfriet CP, von dem Borne AE. Specificity of autoantibodies in autoimmune thrombocytopenia. *Blood* 1982;59:23-6.
- McMillan R, Tani P, Millard F, Berchtold P, Renshaw L, Woods VL Jr. Platelet-associated and plasma anti-glycoprotein autoantibodies in chronic ITP. *Blood* 1987; 70:1040-5.
- Kiefel V, Santoso S, Kaufmann E, Mueller-Eckhardt C. Autoantibodies against platelet glycoprotein Ib/IX: a frequent finding in autoimmune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 1991;79:256-62.
- Hou M, Stockelberg D, Kutti J, Wadenvik H. Antibodies against platelet GPIb/IX, GPIIb/IIIa, and other platelet antigens in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol* 1995;55:307-14.
- Cordiano I, Salvan F, Randi ML, Ruffatti MA, Steffan A, Girolami A, et al. Antiplatelet glycoprotein autoantibodies in patients with autoimmune diseases with and without thrombocytopenia. *J Clin Immunol* 1996;16:340-7.
- Kiefel V, Santoso S, Weisheit M, Mueller-Eckhardt C. Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): a new tool for the identification of platelet-reactive antibodies. *Blood* 1987;70:1722-6.
- Klein HG, Anstee DJ, ed. Mollison's Blood transfusion in clinical medicine. 11th ed. Massachusetts: Blackwell Science, 2005: 570-89.
- Skouri H, Bettaieb A, Fromont P, Elomri H, Ennabli S, Bierling P. Platelet and granulocyte alloimmunisation in multitransfused Tunisian patients. *Eur J Haematol* 2005;75:248-51.
- Rebulla P. A mini-review on platelet refractoriness. *Haematologica* 2005;90:247-53.
- Kim HO, Lim HS, Kim MJ, Cho SR, Lee JW, Nahm CH, et al. Detection of platelet antibodies in the thrombocytopenic patients by modified antigen capture ELISA: A comparative study with thrombomatch EIA and flow cytometry. *Korean J Hematol* 1996;31:373-81. (김현옥, 임환섭, 김문정, 조성란, 이정운, 남정현 등. 혈소판감소증 환자에서 혈소판 항체 검출을 위한 Modified Antigen Capture ELISA 방법의 적용: Thrombomatch EIA, Flow cytometry 검사방법과의 비교. 대한혈액학회지 1996;31:373-81.)
- Nomura S, Yanabu M, Soga T, Kido H, Fukuroi T, Yamaguchi K, et al. Analysis of idiopathic thrombocytopenic purpura patients with antiglycoprotein IIb/IIIa or Ib autoantibodies. *Acta Haematol* 1991; 86:25-30.
- Hou M, Stockelberg D, Kutti J, Wadenvik H. Antibodies against platelet GPIb/IX, GPIIb/IIIa, and other platelet antigens in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol* 1995;55:307-14.
- Han KS, Park MH, Kim HO. Comparison of platelet antibody detection methods. *Korean J Blood Transfusion* 1991;2:1-9. (한규섭, 박명희, 김현옥. 혈소판 항체 검출법의 비교. 대한수혈학회지 1991;2:1-9.)
- Wee JK, Kim KH, Kim AS, Jeong KC, Han JY, Kim JM. A study of platelet antibody by using flow cytometry. *Korean J Clin Pathol* 1995; 15:317-26. (위재호, 김경희, 김아성, 정기철, 한진영, 김정만. 유세포분석기를 이용한 혈소판 항체에 관한 연구. 대한임상병리학회지 1995;15:317-26.)
- Kim HO, Kim JJ, Kim HS, Kwon OH, Lee SY. A comparative study of three detection methods for antiplatelet antibodies: ELISA, PSIFT, LCT. *Korean J Blood Transfusion* 1991;2:11-8. (김현옥, 김진주, 김현숙, 권오현, 이삼열. 혈소판 항체 검출을 위한 세가지 검사결과의 검토: 효소면역법, 혈소판부유 면역형광법, 림프구 독성검사. 대한수혈학회지 1991;2:11-8.)
- Oh DJ, Park MH, Cho HI. Detection of serum platelet antibodies using the microplate enzyme immunoassay. *Korean J Hematol* 1989; 24:103-11. (오덕자, 박명희, 조한익. 효소면역측정법을 이용한 혈청내 혈소판항체 검출. 대한혈액학회지 1989;24:103-11.)
- Um TH, Han KS, Kim DC, Hwang YS, Kim DS, Kim SI. Detection of platelet-specific antibodies employing modified antigen capture ELISA (MACE). *Korean J Blood Transfusion* 1995;6:123-9. (엄태현, 한규섭, 김대철, 황유성, 김두성, 김상인. 변형항원포획효소면역검사법(MACE)을 이용한 혈소판특이항체의 검출. 대한수혈학회지 1995;6:123-9.)
- Furihata K, Nugent DJ, Bissonette A, Aster RH, Kunicki TJ. On the association of the platelet-specific alloantigen, Pena, with glycoprotein IIIa. Evidence for heterogeneity of glycoprotein IIIa. *J Clin Invest* 1987;80:1624-30.
- Fabris F, Scandellari R, Randi ML, Carraro G, Luzzatto G, Girolami A. Attempt to improve the diagnosis of immune thrombocytopenia by combined use of two different platelet autoantibodies assays (PAIgG and MACE). *Haematologica* 2002;87:1046-52.
- Fabris F, Scandellari R, Ruzzon E, Randi ML, Luzzatto G, Girolami A. Platelet-associated autoantibodies as detected by a solid-phase

modified antigen capture ELISA test (MACE) are a useful prognostic factor in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* 2004;103:4562-4.

23. Davoren A, Bussel J, Curtis BR, Moghaddam M, Aster RH, McFar-

land JG. Prospective evaluation of a new platelet glycoprotein (GP)-specific assay (PakAuto) in the diagnosis of autoimmune thrombocytopenia (AITP). *Am J Hematol* 2005;78:193-7.