

약제유발 면역용혈성 빈혈의 검사실 규명

나현진 · 김현옥

연세대학교 의과대학 진단검사의학교실

Laboratory Workup of Drug-Induced Immune Hemolytic Anemia

Hyunjin Nah, Hyun Ok Kim

Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Drug-induced immune hemolytic anemia (DIIHA) is rare condition that is often very difficult to diagnose. For proper diagnosis of DIIHA, careful interpretation of laboratory findings as well as correlation between those findings with the patient's history is important. Therefore, the role of the laboratory physician is critical. DIIHA can be diagnosed using a stepwise approach, from suspicion of hemolytic anemia in the patient to confirmation of serologic tests. Prompt diagnosis is necessary since an essential part of DIIHA treatment is to cease drug administration, and many cases of hemolysis can be improved without further intervention. Furthermore, distinction between the mechanisms of DIIHA is important, as clinical manifestation, treatment options, and prognosis of the disease can differ according to the main mechanism involved in the process of hemolysis. (*Korean J Blood Transfus* 2018;29:18-32)

Key words: Drug-induced immune hemolytic anemia, Role of laboratory physician, Stepwise approach, Prompt diagnosis, Mechanisms of DIIHA

서론

약제유발 면역용혈성 빈혈(Drug-induced immune hemolytic anemia, DIIHA)의 발생빈도는 백만 명당 1명 정도로 보고되고 있다. 이는 자가면역성 용혈성 빈혈의 발생빈도가 80,000명당 1명으로 보고되는 것에 비하여 매우 드물다. 그러나 약제유발 면역용혈성 빈혈은 직접적으로 의심하지 않으면 진단이 어렵기 때문에 실제로 발생하

는 빈도는 더 높을 것으로 예상된다[1]. 또한 약제유발 면역용혈성 빈혈을 유발하는 약제들은 현재 임상에서 흔히 접할 수 있는 약제들이다. 1967년도에는 13개 약물만이 보고되었으나 2007년에는 125개의 약물이[2], 그리고 현재까지는 146여개의 약물이 용혈성 빈혈을 유발하는 것으로 보고되고 있으며[3] 이 숫자는 해가 지나갈수록 더 늘어날 것으로 예상된다. 약제유발 면역용혈성 빈혈 치료의 기본은 원인 약제의 중단이기 때문에

Received on February 13, 2018. Revised on March 18, 2018. Accepted on March 18, 2018

Correspondence to: Hyun Ok Kim

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

Tel: 82-2-2228-2444, Fax: 82-2-364-1583, E-mail: hyunok1019@yuhs.ac, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4964-1963>

© 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.
Copyright ©2018 The Korean Society of Blood Transfusion

진단 자체가 중요하다. 진단은 환자의 약제 투여 이력과 함께 검사실에서 실시하는 여러 가지 검사 결과와의 연관이 필수적이며, 따라서 필요한 검사를 처방하도록 방향을 제시해 주는 진단검사의학과 의사의 역할이 중요하다고 하겠다. 또한 원인 항체의 성상에 따라 치료 방향이 달라질 수 있기 때문에 이와 관련된 검사 소견을 해석하는 것도 필요하다[4]. 이에 약제유발 면역용혈성 빈혈의 진단과정과 이를 확진하기 위해 검사실, 특히 혈액은행에서 시행되고 있는 검사들을 소개하고, 아울러 국내에 보고된 증례를 함께 고찰해 보고자 한다.

본 론

1. 약제유발 면역용혈성 빈혈의 진단과정

1) 첫 번째 단계: 용혈성 빈혈의 인지와 그 원인 구분

약제유발 면역용혈성 빈혈의 진단적 접근은 가장 먼저 환자가 보이는 빈혈을 감별하는 것에서부터 시작한다[5]. 약제유발 면역용혈성 빈혈이 강하게 의심되는 상황에서 확진을 위한 최종적인

검사 소견의 해석을 위해서 협진이 의뢰되는 경우도 있을 수 있으나 실제로는 아닌 경우가 더 많을 것이다. 따라서 우선 빈혈의 원인 가운데 용혈성 빈혈을 시사하는 검사 소견을 확인할 필요가 있다. 용혈성 빈혈은 공통적으로 다음과 같은 소견을 보인다. 혈색소 수치는 정상에서부터 크게 감소된 경우까지 다양하다. 골수의 조혈 기능이 정상이며 용혈의 속도가 느린 경우는 충분히 보상이 이루어져 혈색소가 정상에 가까울 수 있다. 말초혈액 도말 표본에서는 구상 적혈구(spherocyte)가 관찰될 수 있다. 망상 적혈구는 골수의 조혈 기능이 정상이면 증가하며, 따라서 망상 적혈구 생성 지표(reticulocyte production index, RPI)는 2.5보다 증가한다. 혈청 내에 총 빌리루빈(주로 간접 빌리루빈)이 증가하며, 젖산 탈수소효소(lactate dehydrogenase, LDH)도 증가한다. 혈청 합도글로빈은 감소한다. 혈색소혈증(hemoglobinemia)이나 혈색소뇨증(hemoglobinuria)을 보이기도 한다(Table 1)[6]. 만약 혈관 내 용혈(intravascular hemolysis)이 우세하다면, 혈색소뇨(hemoglobinuria)가 특징적인 소견이며, 헤모시데린뇨(hemosiderinuria)도 보일 수 있다. 또한 혈청에서 헤모글로빈이 관찰되고, 젖산 탈수소효소의 상승과

Table 1. Features common to most patients with hemolytic disorder (modified from reference 6)

General examination	Jaundice, pallor
Other physical findings	Spleen may be enlarged; bossing of skull in severe congenital cases
Hemoglobin level	From normal to severely reduced
MCV, MCH	Usually increased (due to reticulocytosis)
Reticulocytes	Increased (RPI > 2.5)
Bilirubin	Increased (mostly unconjugated)
LDH	Increased (up to 10 times normal with intravascular hemolysis)
Haptoglobin	Reduced to absent (if hemolysis is particularly intravascular)
Other laboratory findings	Hemoglobinemia, Hemoglobinuria Increased AST, Spherocytes on peripheral blood smear

Abbreviations: AST, aspartate aminotransferase; LDH, lactate dehydrogenase; MCH, mean corpuscular hemoglobin; MCV, mean corpuscular volume; RPI, reticulocyte production index.

합토글로빈의 감소가 뚜렷할 수 있다. 그러나 혈청 빌리루빈은 정상이거나 약간만 상승할 수 있다[6]. 반면에 혈관 외 용혈(extravascular hemolysis)이 우세할 경우 혈청의 간접 빌리루빈 상승이 더 잘 관찰되며, 그 환원산물인 우로빌리노겐(urobilinogen)이 소변에서 상승하게 된다[7].

환자가 용혈성 빈혈이 있는 것을 인지하면 환자의 가족력을 조사하여 유전성(hereditary) 용혈성 빈혈인지 후천성(acquired) 용혈성 빈혈인지 구분하는데 도움을 받을 수 있다. 유전성 용혈성 빈혈은 혈색소, 적혈구막-세포골격 복합체, 적혈구 효소의 결함으로 발생한다. 유전성 용혈성 빈혈 가운데 우리 나라에서 비교적 많이 보고된 유전구형적혈구증(Hereditary spherocytosis)의 경우 적혈구막-세포골격 복합체를 구성하는 단백 유전자의 돌연변이로 발생하며, 이환된 부모를 발견하지 못하는 15~30%를 제외하고는 가족력을 발견할 수 있다[8]. 후천성 용혈성 빈혈은 다시 적혈구 자체의 문제(intracorpuseular defect)와 적혈구 외적인 문제(extracorpuseular defect)로 나누어 구분할 수 있다[6]. 후천성 용혈성 빈혈이 적혈구 자체의 문제 때문에 발생하는 질환은 발작성 야간 혈색소뇨증(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, PNH)이 대표적으로, 용혈성 빈혈이 있는 환자에서 이를 감별하기 위한 검사를 시행하는 경우도 많다[8,9].

후천성 용혈성 빈혈이면서 적혈구 외적인 문제에 의하여 발생하는 질환은 적혈구의 물리적인 파괴에 의해 발생하는 용혈성 빈혈(예: thrombotic microangiopathy, 인공관막에 의한 용혈), 말라리아 등 감염에 의한 용혈성 빈혈, 자가 또는 동종 면역성 용혈성 빈혈, 그리고 약제유발 면역용혈성 빈혈 등이 있다[6]. 즉, 이를 비면역용혈성 빈혈과 면역용혈성 빈혈의 두 가지 기전으로 나눌 수 있는 것이다(Table 2).

이처럼 용혈성 빈혈은 이질적이며 다양한 병

인에 의한 질환의 집합이다. 아직은 용혈성 빈혈을 진단하는 단일의 특이적인 검사는 없으며, 환자의 가족력 및 과거력과 현재 증상, 징후, 투약력, 여러 가지 임상 검사 결과를 종합하여 진단에 접근해야 한다[6,10]. 따라서 약제 유발 용혈성 빈혈도 이러한 접근법에서 크게 다르지 않다.

2) 두 번째 단계: 직접항글로불린검사를 통한 면역용혈성 빈혈의 확인

면역용혈성 빈혈을 비면역용혈성 빈혈과 구분하는데 도움을 주는 가장 간단하면서도 중요한 검사는 고전적인 직접항글로불린검사(direct antiglobulin test, DAT)이다. 환자가 용혈성 빈혈을 보이면서 적혈구에 직접 부착된 항적혈구 항체(anti-erythrocyte antibodies)가 혈청학적으로 증명이 되면 면역용혈성 빈혈을 진단할 수 있다. 직접항글로불린검사를 통하여 적혈구에 부착된 보체(C3b 또는 C3d)나 면역글로불린 G (immunoglobulin G, IgG)를 검출할 수 있다[10-12]. 면역용혈에 관여

Table 2. Classification of hemolytic anemias (modified from reference 6)

	Intracorpuseular defects	Extracorpuseular defects
Hereditary	Hemoglobinopathies Enzymopathies Membrane-cytoskeletal defects	Familial (atypical) hemolytic uremic syndrome
Acquired	Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH)	Mechanical destruction (microangiopathic) Toxic agents Infectious Drugs* Autoimmune* Alloimmune*

*These hemolytic anemias of immune etiology can also be categorized as immune hemolytic anemia.

하는 항체는 IgG뿐만 아니라 IgM, IgA도 가능하며, 이 가운데 직접항글로불린검사로 검출할 수 있는 항체는 항-IgG 시약을 사용하기 때문에 IgG이다. IgM의 경우는 보체를 활성화하며 이를 통하여 적혈구에 부착된 C3를 항-C3 시약으로 검출하게 된다[10]. Johnson 등의 연구에 의하면 총 71건의 약제유발 면역용혈성 빈혈 증례 가운데 IgG만 검출된 경우가 17례(23.9%), IgG 및 C3가 동시에 검출된 경우가 46례(64.8%), C3 단독으로 검출된 경우가 5례(7.0%)를 차지하였다[13]. 검사 방법으로 시험관법이나 원주 응집법을 이용하며, 항사람글로불린(anti-human globulin) 시약을 가하여 혈구 응집을 관찰하게 된다[14]. 직접항글로불린검사 결과를 해석함에 있어서 다소 주의가 필요한데, 검사 상 위양성 또는 위음성으로 혼동을 줄 수 있기 때문이다. 즉, 입원 환자의 1~15%가 용혈성 빈혈 여부와 무관하게 직접항글로불린검사가 양성으로 나온다고 알려져 있다[10]. 반면 자가면역 용혈성빈혈 환자의 5~10%에서 직접항글로불린검사가 음성을 보일 수 있다고 알려져 있으며[15], 약제유발 면역용혈성 빈혈의 경우 Johnson등에 의하면 4%가량이 직접항글로불린검사가 음성이었다[13]. 이러한 한계에도 불구하고 직접항글로불린검사는 비교적 혈액은행에서 간단하게 시행 할 수 있기 때문에 용혈성 빈혈이 있는 환자는 모두 직접항글로불린검사를 시행하는 것이 추천되고 있다[10-12].

3) 세 번째 단계: 약제유발 면역용혈성 빈혈의 임상적 진단기준과 비교를 통한 혈청학적 검사의 결정

지금까지의 과정을 통하여 면역용혈성 빈혈을 확인했다면 진단검사의학과 의사는 의심되는 원인 약제를 입증하는 혈청학적인 검사까지 진행해야 하는지 여부를 결정해야 한다. 이를 결정하기 위해서는 다음과 같은 기준과의 비교를 통하여 도

움을 받을 수 있다. 약제 유발 용혈성 빈혈의 임상적 진단기준은 다음과 같이 요약할 수 있다. 첫째, 환자가 후천성 용혈성 빈혈을 보이는지 확인해야 한다. 둘째, 직접항글로불린검사가 양성인지 확인해야 한다. 셋째, 환자가 지금 또는 이전에 약제 유발 용혈성 빈혈을 일으키는 것으로 보고된 약제를 투여 받은 이력이 있다. 넷째, 약제 투여와 용혈성 빈혈 간에 시간적 연관성이 있어야 한다. 다섯째, 약제 투여가 중단될 경우 용혈성 빈혈이 호전되는 혈액학적인 반응이 나타나야 한다[3,5].

4) 네 번째 단계: 약제유발 면역용혈성 빈혈의 발생기전 구별

혈청학적 검사를 시행하기 앞서 약제유발 면역용혈성 빈혈의 발생기전을 이해하고 구분할 필요가 있다[4]. 여러 가지 약제들이 용혈성 빈혈을 일으키는 기전은 크게 두 가지로 나눌 수 있다. 먼저 약제가 존재할 때만 용혈이 일어나는 약제 의존성 항체(drug-dependent antibody)에 의한 용혈이 있다. 이는 다시 두 가지 기전으로 나타난다. 약제 흡착(drug adsorption) 또는 합텐 의존성(hapten-dependent) 기전은 약제가 합텐으로 작용하며, 주로 단백질거나 당단백인 운반체 거대분자에 공유결합을 함으로써 항체(penicillin-type antibody)의 형성을 유발한다. 이러한 면역유도를 통하여 형성된 항체는 합텐 또는 합텐-운반 단백질 결합체에 부착한다[16]. 감작된 적혈구는 Fc 수용체 인식에 의한 혈관 외 용혈(extravascular hemolysis)을 일으킨다[1,17]. 면역 복합체(immune complex) 기전 또는 신항원(neoantigen) 기전은 약제가 혈장 단백질과 결합하고 약제-혈장단백에 대해 생성된 IgG 또는 IgM 항체(nonpenicillin-type antibody)가 면역복합체를 형성하여 적혈구에 비특이적으로 흡착되고 보체계를 활성화 시킨다. 보체계가 활성화되는 과정에서 적혈구의 보체 수용체 1(complement receptor 1, CR1)에 C3b가 부착하고

증폭되어 주로 혈관 내 용혈(intravascular hemolysis)이 일어나며, 좀 더 심한 임상 양상을 보이게 된다[1,17,18]. 약제가 체내에서 제거 되어도 용혈이 있을 수 있는 약제 비의존성 항체(drug-independent antibody)에 의한 용혈도 두 가지 기전으로 나타날 수 있다. 진성 자가면역(true autoimmune) 기전은 약제가 적혈구에 대한 자가항체

를 형성하도록 자극하는 것으로 이렇게 형성된 항체는 자가면역 용혈성 빈혈에서 발견되는 항체와 구분이 어렵다. 그 종류도 자가면역 용혈성 빈혈과 비슷하게 온난 자가항체, 한랭 자가항체 또는 한랭 응집소, 복합형 자가항체와 같이 다양한 양상을 보인다[4,17]. 지금까지 설명한 약제 흡착, 면역복합체, 진성 자가면역 기전을 통합하여 설

Drug-dependent antibodies		Drug-independent antibodies	
Drug adsorption mechanism	Immune complex mechanism	True autoimmune mechanism	Non-immune protein adsorption mechanism
DAT+, IAT±, Elution- Penicillin, Cephalosporin, Piperacillin Drug cessation	DAT+, IAT±, Elution- Ceftriaxone, Quinine / Quinidine, NSAIDs, Rifampin Drug cessation	DAT+, IAT+, Elution+ Methyldopa, Fludarabine, Procainamide Drug cessation + Steroid	DAT+, IAT-, Elution- Cefotetan, Cephalothin Drug cessation if decreased RBC survival
Unifying hypothesis			
		Brief drug interaction with cell membrane leads to production of three different population of antibodies. The thicker and darker lines represent antigen binding sites.	

Fig. 1. Proposed mechanisms of drug-induced immune hemolytic anemia (Cartoon of unifying hypothesis is based on that of Habbi [13] as cited by Garratty [5]).

Abbreviations: CR1, complement receptor 1; DAT, direct antiglobulin test; IAT, indirect antiglobulin test; NSAIDs, nonsteroidal anti-inflammatory drugs; RBC, red blood cell; RES, reticuloendothelial system.

명하는 가설도 있다. 이를 “통합 가설(unifying hypothesis)”이라고 부른다. 약제가 체내에서 적혈구 막과 짧은 상호작용을 하면서 세 집단의 항체를 형성하게 된다. 이때 항체가 약제에 부착하도록 만들어지면 penicillin-type 항체가, 주로 적혈구 막에 부착하도록 만들어지면 자가항체가, 그리고 일부분은 적혈구 막에, 일부분은 약제에 부착하도록 만들어지면 nonpenicillin-type 항체가 생성된다. 이러한 이론은 어떻게 특정 약제가 동시에 여러 가지 기전을 통하여 용혈을 일으키는지 잘 설명해 준다[1,19,20]. 가장 최근에 발견된 약제 비의존성 항체 형성 기전으로 비면역적 단백 흡착(non-immune protein adsorption) 기전이 있다. 이는 약제가 적혈구 막의 변형을 유발하여 비특이적으로 다양한 혈장 단백질이 부착하기 쉽게 함으로써 발생하며, 단백 가운데 IgG, C3, 알부민, 피브리노겐 등이 비면역학적으로 흡착되기도 한다. 특히 흡착된 IgG로 둘러싸인 적혈구를 대식세포가 인식하는 경우 탐식작용이 일어나 적혈구의 수명이 감소될 수 있다(Fig. 1)[1,17].

이렇게 약제 유발 용혈성 빈혈에서 그 기전을 나누는 것이 중요한 이유는 기전에 따라 임상 양상 및 경과가 다르며, 그 치료도 다를 수 있기 때문이다. 즉, 공통적으로 원인 약제 중단이 선행되어야 하지만 원인이 되는 항체와 기전에 따라 더 효과적인 치료를 결정해야 한다. 약제 의존성 항체에 의한 용혈의 경우 약제 중단하는 것만으로 치료가 가능하며, 어떤 기전이 우세하느냐에 따라 임상 경과가 다양하다. 이 경우는 스테로이드 치료가 효과가 있다는 증거가 없어 불필요한 스테로이드 치료는 피하는 것이 권장된다[4,16]. 반면에 약제 비의존성 항체에 의한 용혈 시 임상 양상이 온난 자가면역용혈성 빈혈과 유사한 경우는 약제의 중단과 함께 스테로이드 치료가 필요할 수 있다[16,21].

약제에 따라 어떤 기전을 통하여 용혈성 빈혈을 일으키는지는 기존에 보고된 문헌을 통하여 파악이 가능하다. 약제 의존성 항체에 의한 용혈 가운데 약제 흡착 기전을 일으키는 것으로 보고된 약제는 penicillin, cephalosporin, piperacillin 등이 있다[17,20]. 면역 복합체 기전을 통한 용혈을 일으키는 약제는 대표적으로 cephalosporin, quinine/quinidine, NSAID, rifampin 등이 있으며, 특히 ceftriaxone이 주요 약제로 거론되고 있다[13,17,21]. 약제 비의존성 항체에 의한 용혈 가운데 진

Table 3. Drug associated with immune hemolytic anemia cited from the AABB Technical manual [22]

Drug	Method of detection			
Ampicillin			+ Drug	
Carbopatin	AA	DT	+ Drug	NIPA
Cefotetan	AA	DT	+ Drug	NIPA
Ceftizoxime		DT	+ Drug	
Ceftriaxone			+ Drug	
Cephalothin		DT	+ Drug	NIPA
Cisplatin		DT	+ Drug	NIPA
Clavulanate				NIPA
Diclofenac	AA	DT	+ Drug	
Fludarabine	AA			
Methyldopa	AA			
Oxalipatin		DT	+ Drug	NIPA
Penicillin G		DT		
Piperacillin			+ Drug	
Probenicid			+ Drug	
Procainamide	AA			
Quinidine		DT	+ Drug	
Quinine			+ Drug	
Rifampicin		DT	+ Drug	
Sulbactam				NIPA
Tazobactam				NIPA
Tolmetin	AA		+ Drug	

Abbreviations: AA, drug-independent autoantibody; DT, testing with drug-treated red cells; + Drug, testing in the presence of drug; NIPA, nonimmunologic protein adsorption.

성 자가면역 기전을 일으키는 약제로는 fludarabine, methyl dopa, procainamide 등이 있으나 그 종류가 다양하고 논란이 많다[17,21]. Cefotetan, beta-lactamase inhibitor (clavulanate, sulbactam, tazobactam), platinum-based chemotherapeutic agents (cisplatin, oxaliplatin)의 경우 비면역적 단백 흡착을 일으키는 것으로 알려져 있다[1,2]. 과거에 비해 보고되는 약물의 빈도도 변화가 있는데, 이전에 methyl dopa나 penicillin이 주로 보고되었다면 최근에는 cefotetan, ceftriaxone piperacillin 투여에 의한 증례가 약제유발 면역용혈성 빈혈에서 큰

비중을 차지한다[5,13,18]. 미국 혈액은행협회 (American Association of Blood Bank, AABB)의 Technical manual에 현재까지 보고된 약제유발 면역용혈성 빈혈을 일으킬 수 있는 약물들을 발생 기전별로 소개하고 있다[22]. Cefotetan과 같은 경우 알려진 모든 기전을 통하여 용혈성 빈혈을 일으킬 수 있다는 것이 보고된 경우이다(Table 3).

문제는 환자가 약제유발 면역용혈성 빈혈을 일으키는 것으로 알려진 약제를 한 가지 이상 사용하는 경우이다. 또한 한 가지 약제가 한 가지 이상의 기전을 통하여 용혈을 일으킬 수 있기 때문에

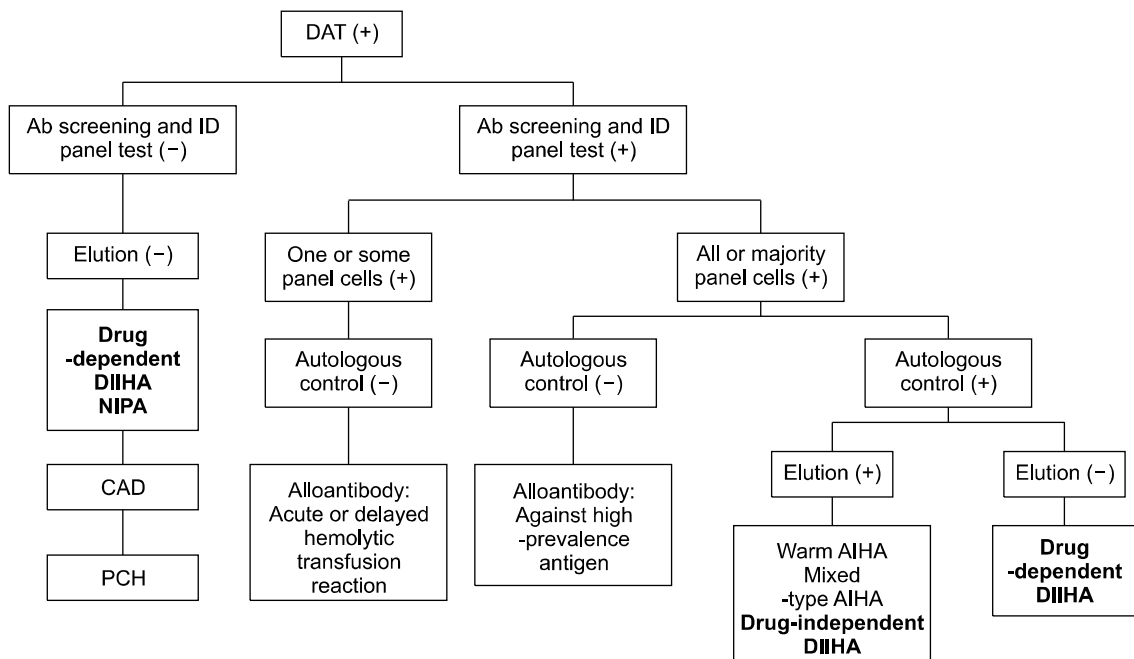


Fig. 2. Algorithm for the evaluation of drug-induced immune hemolytic anemia (modified from reference 4). Differentiation of mechanisms of drug-induced immune hemolytic anemia could be provisionally achieved by conventional blood bank tests.

Abbreviations: Ab, Antibody; AIHA, autoimmune hemolytic anemia; CAD, cold agglutinin disease; DAT, direct antiglobulin test; DIIHA, drug-induced immune hemolytic anemia; ID, identification; NIPA, non-immune protein adsorption; PCH, paroxysmal cold hemoglobinuria.

약제 투약력만으로 원인 기전을 판단하기 어려운 경우가 많다. 이 경우 간접항글로불린검사(indirect antiglobulin test)와 항체용출검사(antibody elution test)를 시행해 보면 도움이 될 수 있다(Fig. 2)[4, 23,24]. 간접항글로불린검사는 혈청 내에 특정 적혈구 항원에 대한 항체가 존재하는지 여부를 확인하는 검사로, 특이성도 동정할 수 있다[12]. 일반적으로 비예기항체 선별검사 시 항사람글로불

린 시약을 이용하여 간접항글로불린검사를 시행하게 된다. 항체용출검사는 적혈구 표면에 부착된 항체를 분리하여 다시 항원에 부착할 수 있는 기능적인 상태로 얻는 방법으로, 이를 통하여 얻은 용출액을 이용해 동정을 시행하여 특정 적혈구 항원에 대한 특이성도 증명할 수 있다[25]. 약제 의존성 항체에 의한 용혈성 빈혈의 경우 직접항글로불린검사는 양성이나 비예기항체검사와 항체용출검사는 음성인 경우가 많다. 그러나 약제 비의존성 항체에 의한 용혈성 빈혈인 진성자가면역 기전의 경우 검사 소견은 온난 자가면역 용혈성 빈혈과 구분할 수 없다. 즉, 직접항글로불린검사, 비예기항체검사, 그리고 항체용출검사가 모두 양성인 경우가 많으며, 비예기항체검사 및 항체용출검사에서 검출한 항체는 온난 자가항체의 성상을 보인다[4,23,24].

Table 4. Detection of drug-dependent antibodies by testing with drug-treated red cells

	Patient's serum (eluate)	Negative control(AB) serum	Positive control serum**
Drug-treated O RBC*	+	-	+
Drug-untreated O RBC	-	-	-

*Preparation of 5% drug-treated O RBCs are done by mixing barbital-buffered saline (BBS, pH 9.6 to 9.8) with O RBCs and Drug. Treated O RBCs are washed and suspended in 5% PBS.

**A sample that was previously confirmed to contain penicillin-type drug-dependent antibodies to putative drug can be used as positive control serum.

5) 다섯 번째 단계: 약제 의존성 항체의 혈청학적 증명

약제 의존성 항체의 경우 의심되는 약제에 의해 형성된 항체임을 최종적으로 확인하는 검사법이 혈액은행에서 시행될 수 있다. 첫 번째로 약제 흡착 기전에 의해 형성된 항체를 검출하는 방법이 있다[26,27]. Barbital-buffered saline (BBS) 하에 세척 O형 적혈구를 약제 처리하고 혈청과 직접

Table 5. Detection of drug-dependent antibodies by testing in the presence of drugs

	O RBCs	Enzyme-treated O RBCs
Patient's serum + Drug*	+	+
Patient's serum + PBS	-	-
Patient's serum + AB serum (complement) + Drug*	+	+
Patient's serum + AB serum (complement) + PBS	-	-
AB serum + Drug*	-	-
AB serum + PBS	-	-

*Concentration of drug solution is prepared as 1 mg/mL by dissolving drug into pH 7.0~7.4 PBS and adjusting its supernatant to pH 7.0 with 1 N NaOH.

반응 및 간접항글로불린검사를 실시하는 방법이다. 환자의 혈청, 음성 대조로 AB형 혈청, 그리고 양성 대조로 이전에 대상 약제에 대한 약제 의존성 항체를 포함하여 약제 흡착 기전에 의한 약제 유발 면역용혈성 빈혈을 혈청학적으로 증명하였던 환자의 혈청과 약제 처리한, 또는 약제 처리하지 않은 적혈구와의 반응을 관찰한다. 약제 처리한 적혈구만 환자의 혈청 및 양성 대조 혈청과 반응을 보인다면 양성이다(Table 4). 양성인 경우 비면역적 단백 흡착에 의한 반응을 감별하기 위하여 환자의 혈청을 1:20으로 희석한 후 한번 더 확인하여 계속 양성인 경우 원인 항체로 확정할 수 있다. Cefotetan의 경우 혈청 내에 높은 역가의 응집소(agglutinin)가 존재하기 때문에 혈청을 1:100으로 희석하여 확인해야 한다[5]. 두 번째로 면역 복합체 기전에 의해 형성된 항체를 검출하는 방법이 있다[28,29]. 우선 Phosphate-buffered saline (PBS)에 약제를 용해시켜 용액을 만든다. 환자 혈청, AB형 혈청, PBS, 약물 용액을 여러 가지 조합으로 혼합한 뒤 O형 적혈구 및 효소 처리한 O형 적혈구와 각각 반응시켜 보고, 다시 간접항글로불린검사를 실시한다. 환자 혈청 및 약물 용액이 동시에 들어있는 시험관에서만 반응이 보이는 경우 해당 약제는 환자의 혈청 내에서 면역 복합체를 형성한다고 확인할 수 있다(Table 5). 이 두 가지 방법을 선택하는 데 있어 이전에 보고된 증례에서 사용한 방법을 참고하는 것도 도움이 된다. 이전에 보고된 증례가 없다면 면역 복합체 기전을 통한 용혈을 일으키는 약물이 더 많기 때문에 이를 검출하는 방법을 먼저 시도해 볼 수도 있다[20]. 두 가지 방법 모두 사용하는 약제는 환자에게 투여하기 위해 상품화된 약제(commercial product)가 아닌 순수 약제(pure drug)를 사용하는 것이 좋다. 그 이유는 상품화된 약제는 다양한 보조 성분(inactive ingredients)을 포함하고 있으며, 환

자에게 생성된 항체가 주성분(active ingredients)인 의심 약제가 아닌 보조 성분에 대한 항체일 수도 있기 때문이다[5]. 그리고 과거력 상 해당 약제에 의한 용혈이 강하게 의심되나 두 가지 방법 모두 음성인 경우 대사체(metabolite)를 이용하여 검사하는 것도 한 방법이 되겠다[5]. 국내에서도 소변을 검체로 사용하여 ceftriaxone에 의한 약제유발 면역용혈성 빈혈을 증명한 증례가 있다[30]. 한편 약제가 포함된 시험관뿐만 아니라 포함되지 않는 시험관(대조군)에서도 양성인 양성이 나온다면 환자의 혈청에 포함된 동종항체, 자가항체, circulating immune complex와 감별해야 한다[5]. 이러한 혈청학적 증명 방법은 실제 증례가 많지 않고 드물기 때문에 국내에 발생하는 증례에 대하여 전문적인 검사를 시행하는 표준 검사실을 도입하는 것도 도움이 될 수 있다. 특히 약제 흡착 기전에 의해 형성된 항체를 검출하는 방법에 사용되는 barbital은 향정신성의약품으로 분류되기 때문에 수입 및 관리가 까다로우며 혈액은행에서 필요 시에만 사용하기에 어려움이 있을 것이다.

2. 국내에서 보고된 약제유발 면역용혈성 빈혈의 증례

문헌 검색 결과 국내에서 보고된 약제유발 면역용혈성 빈혈은 1999년부터 2017년까지 총 8예 확인할 수 있었다(Table 6)[30-37]. Cephalosporin계 항생제가 가장 많은 빈도를 차지하여 4예 보고되었다. 환자는 신생아 및 소아 각 1예를 제외한 모든 증례에서 성인이었다. 직접항글로불린검사는 1예를 제외하고 모두 양성을 보였으며, 항-면역글로불린 G (anti-IgG)만 양성 2예, 항-C3 (anti-C3)만 양성 2예, 그리고 둘 다 양성인 1예 있었다. 다특이성 또는 단특이성 시약에 대한 반응 결과를 알 수 없는 증례가 3예 있었다. 간접항글로불린검사 또는 비예기항체검사를 시행한 증례

Table 6. Case reports of drug-induced immune hemolytic anemia in Korea

Author, published year	Age Sex	Diagnosis	Putative drug	DAT results		IAT or Antibody elution test result	Suspected mechanisms of hemolysis	Serologic confir- mation methods	Treatment	Prognosis	Comment
				Polyspec IcG Anti- IcG	Anti- C3						
Lee SO et al., 1999 [31]	69 M	Esophageal cancer	Cefuroxime	2+	2+	Negative Unexpected antibody screen negative	Hemolysis by drug- dependent antibodies, drug adsorption mechanism	Testing with drug-treated red cells	Drug cessation Transfusion TPE	Acute hemolysis and acute kidney injury resolved	
Kim SY et al., 2002 [30]	46 M	Multiple trauma due to motorcycle accident	Ceftriaxone	Positive	Negative	2+ Unexpected antibody screen negative	Hemolysis by drug- dependent antibodies, immune complex mechanism	Testing in the presence of drugs (ex vivo urine antigen)	Drug cessation	Acute hemolysis resolved	Drug induced immune hemolytic anemia due to me- tabolite of ceftriaxone
Kim E et al., 2004 [32]	6 F	Cerebral palsy Epilepsy	Valproic acid	Positive*		NT NT NT	Hemolysis by drug- independent antibodies, true autoimmune mechanism	NT	Drug cessation Steroids IVIG	Acute hemolysis and throm- bocytopenia resolved	Combined drug induced immune hemolytic anemia and thrombocy- topenia (suspected Evan's syndrome due to drug)

Table 6. Continued

Author, published year	Age	Sex	Diagnosis	Putative drug	DAT results		IAT or Antibody elution test result	Suspected mechanisms of hemolysis	Serologic confir- mation methods	Treatment	Prognosis	Comment
					Polyspec- ific	Anti- IgG C3						
Ko C et al., 2007 [33]	35	F	Pulmonary tuberculosis	Rifampin	Positive*		NT	Hemolysis by drug- dependent antibodies, immune complex mechanism	Testing in the presence of drugs	Drug cessation Transfusion Steroids Erythro- poietin Hemo- dialysis TPE	Acute hemolysis, thrombocy- topenia, and immune acute kidney injury resolved	Combined drug induced hemolytic anemia and thrombocy- topenia
Baek EJ et al., 2009 [34]	49	F	Skin injury due to traffic accident	Ceftizoxime and Cefope- razone/ Sulbactam	3 +	Nega- tive	NT	Hemolysis by drug- dependent antibodies, drug adsorption mechanism (ceftizoxime, sulbactam) and immune complex mechanism (sulbactam)	Testing with drug-treated red cells and testing in the presence of drugs	Drug cessation Transfusion	Acute hemolysis resolved	

Table 6. Continued

Author, published year	Age	Sex	Diagnosis	Putative drug	DAT results			IAT or Unexpected antibody test results	Antibody elution test result	Suspected mechanisms of hemolysis	Serologic confirmation methods	Treatment	Prognosis	Comment
					Polyspecific	Anti-IgG	Anti-C3							
Lee et al., 2011 [35]	64	F	Diffuse large B-cell lymphoma	Cimetidine	Positive	3 +	W +	NT	NT	Hemolysis by drug-dependent antibodies, drug adsorption mechanism and immune complex mechanism	Testing with drug-treated red cells and testing in the presence of drugs	Drug cessation and Transfusion Steroids	Acute hemolysis resolved	
Roh et al., 2016 [36]	0	F	Tracheoesophageal fistula with esophageal atresia	Ampicillin/Sulbactam	Negative*			IAT negative	NT	Hemolysis by drug-dependent antibodies, drug adsorption mechanism	Testing with drug-treated red cells	Drug cessation Exchange transfusion Steroids IVIG	Acute hemolysis resolved	
Huh et al., 2017 [37]	66	M	Cholangiocarcinoma	Ceftizoxime	Positive	Negative	4 +	IAT negative	NT	Hemolysis by drug-dependent antibodies, immune complex mechanism	Testing in the presence of drugs	Drug cessation Transfusion Steroids TPE Hemodialysis	Multioorgan failure and death	

*The result of polyspecific or monospecific DATs were not specified according to the articles.

Abbreviations: F, Female; IVIG, intravenous immunoglobulin; M, Male; N, not tested; TPE, therapeutic plasma exchange.

가 5예 있었으며, 이 가운데 1예에서 자가대조 검사 양성을 포함한 범응집반응을 관찰할 수 있었고, 나머지는 모두 음성이었다. 항체용출검사를 시행한 증례는 1예 있었으며, 음성을 보였다. 발생 기전을 분류하였을 때 약제 의존성 항체에 의한 용혈 가운데 약제 흡착 기전에 의한 경우가 3예, 면역 복합체 기전에 의한 경우가 3예, 두 기전을 모두 보이는 경우가 2예 있어 기전 가운데 더 빈번한 것을 판단하기 어려웠다. 약제 비의존성 항체에 의한 용혈 가운데 진성 자가면역 기전에 의한 경우가 1예 있어 비교적 드문 것으로 관찰되었다. 1예를 제외하고 모두 혈청학적 검사를 시행하였으며, 원인 약제를 증명할 수 있었다. 치료에 있어 모두 적절한 시기에 약제를 중단하였으며, 진성 자가면역 기전이 아님에도 스테로이드 치료를 시행한 사례도 7예 가운데 4예 있었다. 그리고 치료적 혈장교환술을 시행한 사례도 3예에서 보고 되었다. 환자의 예후는 좋아 대부분 용혈성 빈혈의 호전을 보였으나, 1예에서 다발성 장기부전이 진행되어 사망하였다. 약제유발 면역용혈성 빈혈과 함께 면역성 혈소판감소증이 동반된 증례도 2예에서 보고 되었다.

결론

약제유발 면역용혈성 빈혈 진단의 첫 단계는 환자가 용혈성 빈혈이 있음을 검사를 통해 인지하고, 그 원인이 다양한 용혈성 빈혈의 원인 가운데 유전성인지 후천성인지, 적혈구 자체의 문제인지 적혈구 외적인 문제인지를 구분해야 한다. 그 다음으로 직접항글로불린검사를 시행하여 용혈성 빈혈이 면역성인지 비면역성인지를 확인해야 한다. 그리고 환자의 약제 투약력 및 임상적 경과를 바탕으로 의심되는 원인 약제를 확정하는 혈청학적 검사를 시행할지 결정해야 한다. 즉 혈

청학적 검사를 시행하여 약제유발 면역용혈성 빈혈의 진단을 확정하는 단계가 필요하다. 각 원인 약제로 의심되는 약물이 어떤 기전에 의해 용혈성 빈혈을 유발하는지를 확인하여 이에 따른 혈청학적 검사를 시행하면 된다.

약제 유발 용혈성 빈혈은 드물지만 진단 자체도 복잡하여 적절하게 진단되지 못하는 경우도 많다. 따라서 진단검사의학과 의사가 여러 가지 검사를 통하여 환자의 약제 투약력 및 임상적 경과를 뒷받침하는 증거를 제시하고 그 해석을 제시하는 것이 중요하다. 또한 빠른 진단으로 원인 약제의 중단을 앞당길 필요가 있으며, 약제 유발 용혈의 기전이 약제 의존성인지 약제 비의존성인지에 따라 치료 및 경과가 다를 수 있기 때문에 이를 검사와 임상 양상과의 연관성을 통하여 구분해주는 것도 중요한 역할이라고 하겠다.

요약

약제유발 면역용혈성 빈혈은 비교적 드문 질환으로 진단이 어렵다. 이를 진단하기 위해서는 여러 가지 검사 결과와 함께 환자의 병력을 연관하여 해석하는 것이 필요하다. 따라서 진단검사의학과 의사의 역할이 중요하다. 약제유발 면역용혈성 빈혈은 환자가 용혈성 빈혈이 있는지 의심하는 것에서 시작하여 최종적인 혈청학적 확인 검사를 시행하는 것까지 단계적인 접근 방법으로 진단할 수 있다. 약제유발 면역용혈성 빈혈의 치료에 있어서 가장 핵심적인 부분은 약제 중단 그 자체이기 때문에 빠른 진단이 중요하며, 약제 중단만으로도 환자가 호전될 수도 있다. 또한 약제 유발 면역용혈성 빈혈의 기전을 구분하는 것도 중요한데, 그 이유는 어떤 기전이 우세한지에 따라 임상적 양상이나 치료 방향, 경과 등의 차이가 있을 수 있기 때문이다.

References

1. Garratty G. Drug-induced immune hemolytic anemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009;73-9
2. Garratty G, Arndt PA. An update on drug-induced immune hemolytic anemia. *Immunohematology* 2007;23:105-19
3. Garratty G, Arndt PA. Drugs that have been shown to cause drug-induced immune hemolytic anemia or positive direct antiglobulin tests: some interesting findings since 2007. *Immunohematology* 2014;30:66-79
4. Pierce A, Nester T. Education Committee of the Academy of Clinical Laboratory Physicians and Scientists. Pathology consultation on drug-induced hemolytic anemia. *Am J Clin Pathol* 2011;136:7-12
5. Arndt PA, Garratty G. The changing spectrum of drug-induced immune hemolytic anemia. *Semin Hematol* 2005;42:137-44
6. Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. *Harrison's principles of internal medicine*. 19th ed. New York: McGraw Hill Education, 2015:649-50
7. McPherson RA, Pincus MR. *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 23rd ed. St. Louis, Missouri: Elsevier, 2017:573-5
8. Korean Society for Laboratory Medicine. *Laboratory medicine*. 5th ed. Seoul: PanMun Education, 2014:168-72
9. Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. *Harrison's principles of internal medicine*. 19th ed. New York: McGraw Hill Education, 2015:660-2
10. Fung MK. *Technical manual*. 19th ed. Bethesda, Maryland: Am Assoc Blood Banks, 2017:385-91
11. Barcellini W. Immune hemolysis: diagnosis and treatment recommendations. *Semin Hematol* 2015;52:304-12
12. Han KS, Park KU, Song EY. *Transfusion medicine*. 4th ed. Seoul: Korea Medical Book Publisher, 2014:145-7
13. Johnson ST, Fueger JT, Gottschall JL. One center's experience: the serology and drugs associated with drug-induced immune hemolytic anemia--a new paradigm. *Transfusion* 2007;47:697-702
14. Zantek ND, Koepsell SA, Tharp DR Jr, Cohn CS. The direct antiglobulin test: a critical step in the evaluation of hemolysis. *Am J Hematol* 2012;87:707-9
15. Garratty G. Immune hemolytic anemia associated with negative routine serology. *Semin Hematol* 2005;42:156-64
16. Salama A. Drug-induced immune hemolytic anemia. *Expert Opin Drug Saf* 2009;8:73-9
17. Han KS, Park KU, Song EY. *Transfusion medicine*. 4th ed. Seoul: Korea Medical Book Publisher, 2014:148-9
18. Arndt PA. Drug-induced immune hemolytic anemia: the last 30 years of changes. *Immunohematology* 2014;30:44-54
19. Habibi B. Drug induced red blood cell autoantibodies co-developed with drug specific antibodies causing haemolytic anaemias. *Br J Haematol* 1985;61:139-43
20. Fung MK. *Technical manual*. 19th ed. Bethesda, Maryland: Am Assoc Blood Banks, 2017:401-6
21. Garratty G. Immune hemolytic anemia associated with drug therapy. *Blood Rev* 2010;24:143-50
22. Fung MK. *Technical manual*. 19th ed. Bethesda, Maryland: Am Assoc Blood Banks, 2017:409-12
23. Gehrs BC, Friedberg RC. Autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol* 2002;69:258-71

24. Johnson ST. Warm autoantibody or drug dependent antibody? That is the question! *Immunohematology* 2007;23:161-4
25. Yazer MH, Triulzi DJ. The role of the elution in antibody investigations. *Transfusion* 2009; 49:2395-9
26. Han KS, Park KU, Song EY. *Transfusion medicine*. 4th ed. Seoul: Korea Medical Book Publisher, 2014:405-6
27. Fung MK. *Technical manual*. 19th ed. Bethesda, Maryland: Am Assoc Blood Banks, 2017: Methods 4-12
28. Han KS, Park KU, Song EY. *Transfusion medicine*. 4th ed. Seoul: Korea Medical Book Publisher, 2014:407-8
29. Fung MK. *Technical manual*. 19th ed. Bethesda, Maryland: Am Assoc Blood Banks, 2017: Methods 4-13
30. Kim S, Song KS, Kim HO, Lee HM. Ceftriaxone induced immune hemolytic anemia: detection of drug-dependent antibody by ex-vivo antigen in urine. *Yonsei Med J* 2002;43:391-4
31. Lee SO, Kim JO, Yoon YO, Oh EJ, Kim Y, Park YJ, et al. Cefuroxime induced immune hemolytic anemia. *Korean J Clin Pathol* 1999;19: 578-80
32. Kim E, Yim SJ, Choi SR, Chung SY, Kang JH, Jeong DC, et al. A case of evans syndrome during valproate therapy. *Korean J Pediatr Hematol Oncol* 2004;11:236-41
33. Ko C, Kwon KC, Park JW, Koo SH, Shin SY. A case of rifampin induced hemolytic anemia combined with thrombocytopenia and acute renal failure. *Korean J Blood Transfus* 2007; 18:56-60
34. Baek EJ, Lee S, Kim S, Choi HK, Kim HO. A case of immune hemolytic anemia induced by ceftizoxime and cefobactam (sulbactam/cefoperazone). *Korean J Lab Med* 2009;29:578-84
35. Lee YR, So HJ, Chang YH, Cho SY, Back DH, Lim KA, et al. A case of cimetidine-induced immune hemolytic anemia. *Korean J Blood Transfus* 2011;22:65-9
36. Roh JH, Yun HS, Park HK, Lee HJ, Kim CR, Han TH. Ampicillin/sulbactam-induced hemolytic anemia manifested as hyperbilirubinemia in a preterm infant. *Perinatology* 2016;27:190-3
37. Huh JY, Ahn A, Kim H, Kwon SW, An S, Lee JY, et al. Ceftizoxime-induced immune hemolytic anemia associated with multi-organ failure. *Yeungnam Univ J Med* 2017;34:123-7