

glycoprotein (GP)Ib, GPIIb-IIIa에 해당하는 단클론항체와 반응시켜 선천적으로 특정 당단백질 막 결손이 있는 출혈환자를 진단할 수 있다. 활성화된 혈소판(activated platelets)은 알파과립을 혈소판 막 외부로 노출시켜 정상 혈소판에서는 표현되지 않는 P-selectin (CD62P)을 표현한다[4]. 또한 혈소판 응집에 관여하는 GPIIb-IIIa의 형태학적 변화가 일어나 PAC1 항체와 반응하는 fibrinogen-binding site의 새로운 항원을 제공하는데, 이는 혈소판의 과립 분비능과는 관련이 없는 것으로 되어있다[5]. 따라서 유세포분석기를 이용하여 활성화된 혈소판에만 반응하는 CD62P와 PAC-1 항체로 반응시킬 경우 활성화 정도에 따른 혈소판의 분비(secretion)와 응집(aggregation) 기능을 측정할 수 있다.

본 연구에서는 유세포분석기를 이용한 혈소판기능 측정과 백혈구-혈소판 응집 측정을 시도하여 검사 방법을 검사실에 도입하고자 하였다. 또한 건강인 기저상태의 혈소판과 촉진제(agonist) 투여 후의 혈소판의 활성화 정도 및 백혈구-혈소판 응집을 측정하여 유세포분석기를 이용한 혈소판 활성화 표지자와 백혈구-혈소판 응집의 참고치를 산정하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상군 선정 및 검체 처리

헌혈자 선별검사상 적합하고 혈소판 기능에 영향을 줄 수 있는 약물을 3일 이내 복용하지 않은 성인 남녀 30명을 대상으로 하였다. 연구 계획은 병원 임상연구위원회의 승인을 얻었으며, 검체 채취 전에는 대상군으로부터 자발적인 동의서를 받았다. 검체는 3.2% sodium citrate에 채취한 전혈을 사용하되, 검사전 혈소판의 인위적 활성화를 방지하기 위하여 염색전 고정이나, 원심분리 및 세척 등의 모든 과정을 생략하였으며, 채취 후 30분-1시간 이내에 단클론 항체 염색을 실시하였다. 혈소판 수치와 백혈구 수치 측정은 ADVIA 120 (Bayer Corporation, Tarrytown, NY, USA) 자동혈구측정기를 이용하였다.

2. 혈소판 활성화 표지자 측정

1) 시약

혈소판 활성화 표지자 측정을 위하여 혈소판을 표지시킨 단클론항체 형광염색은 phycoerythrin conjugated CD62P (PE-CD62P, PharMingen Becton Dickinson[BD], Biosciences, CA, USA)와 이의 음성대조로는 PE conjugated IgG₁ (PE-IgG₁, PharMingen BD), fluorescein isothiocyanate conjugated PAC1 (FITC-PAC1, Becton Dickinson)과, PAC1의 음성대조를 위하여 PAC1의 염색시에 Arg-Gly-Asp-Ser (RGDS, Sigma, ST Louis, MI, USA)의 최종농도가 1 mM가 되도록 첨가하였다. 혈소판 활성화를 위하여 사용된 촉진제는 최종 농도 20 μ M의 ade-

nosine 5'-diphosphate sodium (ADP, Sigma)와 최종농도 100 μ M의 Thrombin Receptor Activator Peptide-6 (TRAP, Sigma)였다. 혈소판 부유액으로 phosphate buffered saline (PBS, Sigma, 25°C에서 pH 7.4)을 사용하였다.

2) 혈소판 활성화 및 염색 방법

아래와 같이 염색시 단클론항체와 혈소판 활성화시는 촉진제를 동시에 넣어 반응시킨 Xiao 등[6]과 Yamazaki 등[7]의 방법을 약간 변형하여 사용하였다. 즉, 채혈된 전혈을 1:2로 PBS로 희석하였다. 기저상태의 혈소판 활성화 정도를 측정하기 위해서는 희석한 전혈 18 μ L에 단클론항체 5 μ L씩을 각각 넣어 이중 염색이 아닌 단일 염색을 하였고, 20분간 실온의 암실에서 반응시켰다. 이때 PAC1의 음성대조인 경우에는 추가로 RGDS 6 mM을 5 μ L를 넣었다. 촉진제를 첨가한 후의 혈소판의 활성화 상태는 앞서 언급한 기저상태의 혈소판 활성화상태 측정과 동일하게 시행하되 추가로 ADP 200 μ M 혹은 TRAP 1,000 μ M을 각각 2 μ L씩 넣었고, 촉진제 및 단클론항체와의 반응시간은 기저상태 측정과 마찬가지로 20분으로 하였다. ADP 200 μ M와 TRAP 1,000 μ M은 여러 개로 분주하여 냉동보관하였다. 해동 후에는 ADP는 3일, TRAP는 일주일 이내 냉장보관하여 사용하여 촉진제의 활성화도에 따른 혈소판 활성화의 변화를 배제하고자 하였다. 1% paraformaldehyde를 넣고 냉장고에서 30분간 고정 후 유세포분석기로 분석하였다.

3) 유세포분석기 분석

FACS CELLQuest (BD) 프로그램을 사용하여 forward light scatter (FSC)와 side light scatter (SSC)를 log amplification 하였다. FSC threshold를 200으로 맞춘 후 최소 5,000개 이상의 [7, 8] 혈소판을 acquisition하였다. FSC와 SSC 화면에서 혈소판 위치에 해당하는 부위를 gating 하여 분석하였는데, 이는 본 검사실의 다른 연구에서[8] CD61을 사용하여 혈소판으로 확인된 부위였다. FITC-PAC1으로 염색한 혈소판은 FL1, PE-D62P는 FL2에서 각각 이들의 음성대조에 맞추어 set-marker를 설정한 후 양성률(%)을 구하였다(Fig. 1). Set marker 설정시는 음성대조 혈소판의 99% 이상이 음성에 포함되도록 하였다. 그러나 CD62P의 음성대조인 PE-IgG₁의 경우는 Fig. 1B에서 보듯이 대부분에서 비특이적인 tail 양상을 보여, PE-CD62P의 양성률 산정시는 음성대조 혈소판의 99% 이상이 음성에 포함되는 set marker M2가 아닌 set marker M1을 적용하되 PE-IgG₁의 M1 양성률을 뺀 후 산정하였다.

또한 최종 농도가 20 μ M ADP 및 100 μ M TRAP가 되도록 이들의 촉진제 투여 후의 양성률을 구하였고, 응집능이나 분비능 처럼 기저상태에서 촉진제 투여 후 혈소판이 활성화될 수 있는 능력은 촉진제 투여 후의 양성률에서 기저상태의 양성률과의 차를 (Δ) 구하여 평가하였다.

3. 백혈구-혈소판 응집 측정

1) 시약

유세포 분석을 위한 백혈구-혈소판과 표지한 단클론항체 시약은 FITC-CD41a와 이의 대조염색으로 사용한 FITC-IgG₁, PE-CD14 시약은 모두 PharMingen BD사의 제품을 사용하였고, Peridinin-chlorophyll-protein conjugated CD45 (PerCP-CD45)는 BD사 제품을 사용하였다.

2) 검사 방법

고정이나 원심분리를 실시하지 않은 Li 등[9]의 방법을 약간 변형하였는데, 방법은 혈소판 활성화 표지자 검사와 동일하되, labeling 과정시 촉진제 첨가없이 3가지 단클론항체를 동시에 염색하는 3중염색을 실시하였다. 즉, 희석하지 않은 전혈 20 μ L에 FITC-

CD41a (대조염색시는 대신 FITC-IgG₁) 5 μ L, PE-CD14 및 PerCP-CD45항체를 각각 3 μ L씩 동시에 넣고 암실의 실온에서 20 분간 반응시킨 후 1% paraformaldehyde를 넣고 냉장고에서 30 분간 고정한 후 유세포분석기로 분석하였다.

3) 유세포분석기 분석

FACS CELLQuest (BD) 프로그램을 사용하여 PerCP45와 FSC 화면에서 PerCP가 양성인면서 FSC가 높은 부위를(R1) 백혈구로 간주하였고[9], PE-CD14와 PerCP-CD45 화면에서 gating하여 R2는 백혈구(leukocytes), R3는 과립구(granulocytes), R4는 림프구(lymphocytes)와 R5는 단구(monocytes)로 정의하였다[10]. 이들에서의 FITC-CD41a의 양성률(%)은 FL1에서 음성 대조에 맞추어 set-marker를 설정한 후 구하였다(Fig. 2). Set-marker 설정시는 음성대조 혈소판의 99% 이상이 음성에 포함되

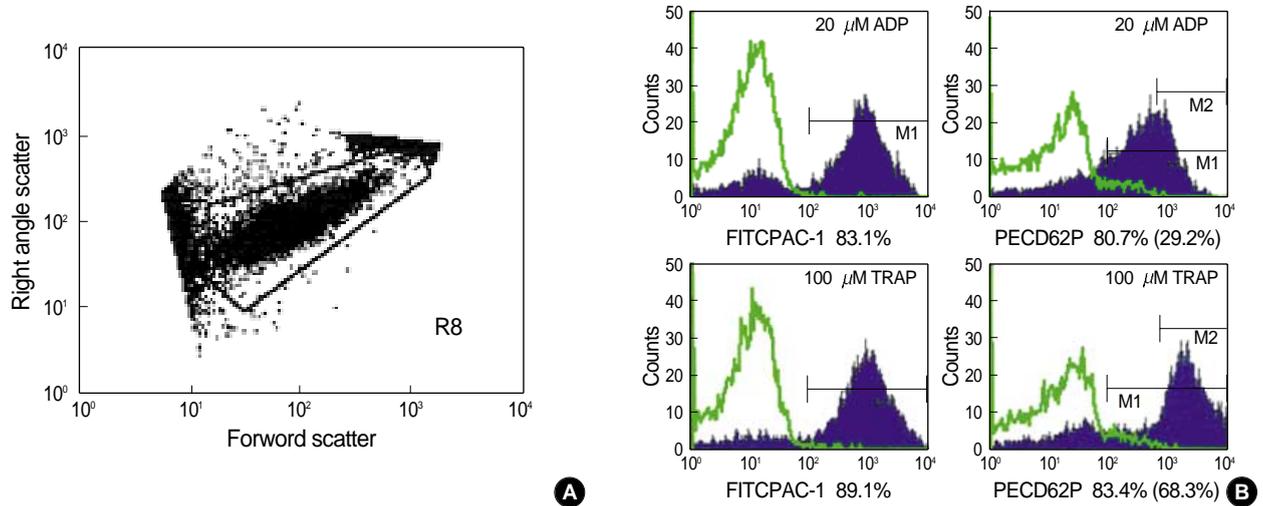


Fig. 1. Dots plot (A) and histograms (B) for FITC-PAC1 and PE-CD62P platelets after stimulation by 20 μ M ADP or 100 μ M TRAP. Gated R8 was defined as platelets by forward and side scatter characteristics. Histograms (B) are overlaid with isotype control, and the percentages of PAC1 expressing platelets after stimulation by 20 μ M ADP and 100 μ M TRAP were 83.1% and 89.1% (M1), and those of CD62P were 80.7% and 83.4% (M1), 29.2% and 68.3% (M2).

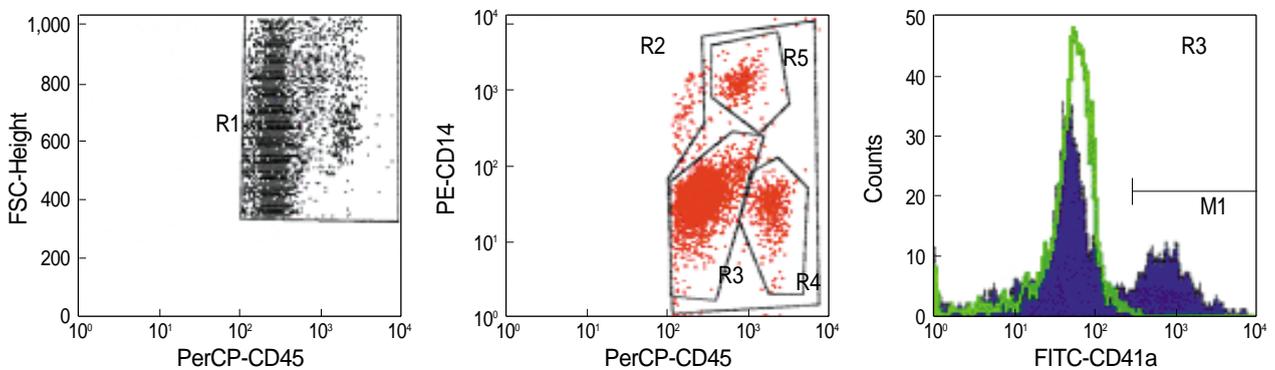


Fig. 2. Flow cytometric analysis of leukocyte-platelet aggregates using 3 color labeling (FITC-CD41a, PE-CD14, PerCP-CD45) in whole blood. The leukocyte populations are defined by their size (forward side scatter, FSC) and anti-CD45 densities (R1). Anti-CD45 and anti-CD14 were used to distinguish neutrophils (R3), lymphocyte (R4), monocytes (R5) and total leukocytes (R2). The histogram represents neutrophil-platelet aggregates as the percentages of CD41a expressed platelets (M1) in neutrophils (R3).

도록 하였다. 그러나 백혈구와 단구의 음성대조인 FITC-IgG₁의 경우는 과립구와 림프구의 음성대조 혈소판의 99%가 음성이 되는 set marker M1 적용시 모든 경우에서 혈소판의 1% 이상의 양성률을 보여 FITC-CD41a의 양성률 산정시는 set marker M1을 적용하되 FITC-IgG₁의 M1 양성률을 뺀 후 산정하였다.

4. 통계처리

통계처리는 프로그램 SPSS 12.0.1 for Window (SPSS, Chicago, IL, USA)와 Microsoft office Excel 2003 (Microsoft, USA)을 이용하였다. 측정된 자료는 결과치가 정규분포를 보이지 않았으므로 정상치 산정시는 2.5 percentile부터 97.5 percentile 사이인 중앙의 95 percentile 값을 취하였다. 각 표지자간의 참고치 비교시는 paired t-test, 성별 비교시는 Student t-test를 이용하였고, 상관관계는 Pearson correlation을 이용하였다. P<0.05인 경우를 통계학적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1. 대상군 특징

대상군 30명은 여성 15명, 남성 15명으로 평균 연령은 30.6세 (18-46세)였다. 이들 중 17명에서 혈소판 수치를 백혈구 수치 산정이 가능하였는데, 이들의 평균 혈소판 수치±표준편차는 245.6±59.4 (×10⁹/L), 평균 백혈구 수치±편차는 5.5±1.0 (×10⁹/L)였다.

2. 혈소판 활성화 참고치 (Table 1)

PAC1의 참고치(및 평균±표준편차)는 기저상태에서 0.1-12.5% (4.2±4.1%), 촉진제 20 μM ADP 및 100 μM TRAP와 반응시 각각 65.3-92.4% (81.2±7.2%), 68.1-93.1% (82.1±7.5%)로

Table 1. Reference values (central 95 percentile) for percentages of expression and delta expression (Δ) of platelets labeling FITC-PAC1 or PE-CD62P in the resting state or in an activated state with stimulation by 20 μM ADP or 100 μM TRAP

	Resting state	Activated state with stimulation by		Δ between resting state with stimulation by	
		20 μM ADP	100 μM TRAP	20 μM ADP	100 μM TRAP
		PAC1	0.3-12.5	65.3-92.4	68.1-93.1
CD62P	0.0-4.7	39.0-75.7*	60.5-91.2	37.6-73.3*	59.4-90.7

Delta expression (Δ) means a difference in percentage expression between platelets labeling FITC-PAC1 or PE-CD62P in resting state and activated state with stimulation by 20 μM ADP or 100 μM TRAP.

*: P<0.01 versus stimulation by 100 μM TRAP.

두 촉진제 사이의 양성률은 차이를 보이지 않았다. 또한 20 μM ADP 및 100 μM TRAP 투여 전후인 Δ PAC1의 응집능은 각각 64.2-89.7% (77.1±7.2%)와 63.6-91.6% (78.0±8.0%)로써 이 역시 유의한 차이는 없었다.

기저 상태의 CD62P의 참고치(및 평균)는 0.0-4.7% (1.0±0.39%)였으나 PAC1의 양성률과는 달리 100 μM TRAP의 양성률은 60.5-91.2% (82.5±8.4%)로써 20 μM ADP의 39.0-75.7% (56.1±6.6%)보다 유의하게 높았다(P<0.01). 또한 100 μM TRAP 투여 전후인 Δ CD62P의 분비능도 59.4-90.7% (81.2±8.9%)로써 20 μM ADP 투여 전후인 Δ CD62P의 37.6-73.3% (54.8±10.1%)보다 유의하게 높았다(P<0.01).

기저상태의 PAC1의 양성률은 100 μM TRAP 투여 전후인 Δ PAC1 응집능과는 음의 상관관계(γ=-0.378, P=0.04)을 보였으나 20 μM ADP 투여 후의 CD62P 양성률(γ=0.431, P=0.017) 및 Δ CD62P 분비능과는(γ=0.445, P=0.014) 양의 상관관계를 나타내었다. 기저상태의 CD62P의 양성률은 100 μM TRAP 투여 후의 PAC1 양성률(γ=-0.400, P=0.029), Δ PAC1 응집능(γ=-0.362, P=0.05), Δ CD62P 분비능과도 음의 상관관계를(γ=-0.449, P=0.015) 나타내었다.

ADP와 TRAP 투여 후 여성과 남성의 PAC1 양성률은 각각 84.3%와 77.6% (P<0.01), 85.1%와 78.9% (P<0.05)로써 여성이 남성보다 모두 유의하게 높은 수치를 보였으나 나머지는 양성률 사이에 차이를 보이지 않았다.

3. 백혈구-혈소판 응집 측정

Fig. 2에서 백혈구로 정의된 R2의 백혈구-혈소판 응집인 FITC-CD41a의 양성률의 참고치(평균±표준편차)는 2.8-23.6% (15.5±5.3%)이었다. 과립구로 정의된 R3의 과립구-혈소판 응집인 FITC-CD41a의 양성률의 참고치는 5.3-34.2% (17.4±7.2%)로써 림프구로 정의된 R4의 림프구-혈소판 응집인 FITC-CD41a 양성률의 참고치 4.9-21.6% (13.5±4.6%)에 비하여 유의하게 높았다(P<0.05). 그러나 Fig. 2에서 단구로 정의된 R5의 대조염색인 FITC-IgG₁의 범위는 2.1-90.2%로써 단구-혈소판 응집인 FITC-CD41a의 양성률은 산정하지 않았다.

고 찰

본 연구에서는 체외에서의 혈소판 활성화를 최소화하기 위하여 세척을 위한 원심분리나 염색전 고정액 등을 사용하지 않았으며, 응집 촉진제 사용시도 표지자와 동시에 반응시키는 간편한 방법을 도입하고자 기존 방법들을 변형하여 사용하였다. 본 연구에 사용된 촉진제인 ADP는 활성화된 혈소판의 dense 과립으로부터 분비되는 응집촉진제인 반면에, TRAP는 protease-activated receptors PAR-1을 통하여 혈소판을 자극하는 강한 응집촉진제이며,

수용체도 다르므로, 서로 다른 기전에 의하여 활성화되는 혈소판의 반응을 관찰하는데 이용하고자 하였다.

본 연구의 혈소판 활성화 표지자 측정시 인용하였던 Xiao 등 [6]의 측정방법 중 본 연구와 차이를 보였던 부분은 단클론 항체 CD62P 염색을 채혈 후 15분 이내 실시하였으며, PBS 대신 혈소판결핍혈장으로 4배 희석하였고, ADP와 TRAP 모두 최종 농도를 10 μM 사용하여 30분간 반응시켰다는 점이고, 이 방법 사용시 급성관상동맥질환이 있는 환자의 약물 투여전 CD62P의 평균 양성률은 ADP와 TRAP 투여시 각각 44.8%와 72.2%였다고 한다. 그러나 건강인에서 측정된 자료는 없어서 본 연구에서 ADP 20 μM 와 TRAP 100 μM 투여하여 얻어진 54.8%와 81.2%를 보인 결과와는 직접적으로 비교할 수는 없었으나, 급성관상동맥질환자가 건강인에 비하여 P-selectin의 양성률이 높다는 보고와 비교해 볼 때 본 연구의 참고치는 Xiao 등[6]의 측정방법을 사용한 경우보다 높음을 알 수 있었다. 그러나 건강인에서 측정된 다른 보고들의 기저상태의 CD62P 및 PAC1 양성률의 평균값은 각각 1.7%, 1.1%[11], CD62P의 양성률은 평균값 0.6%[12], 중앙값 0.9%[7]로 보고하여, 본 연구의 CD62P 및 PAC1 양성률의 평균값(중앙값, 본문중 표시 없음)인 1.0% (0.9%) 및 4.2% (2.1%)와 유사하였다.

본 연구에서 기저상태의 PAC1 및 CD62P의 양성률과 Δ PAC1 응집능 및 Δ CD62P 분비능과의 상관관계를 살펴보면, 기저상태에서 응집이 증가할수록 100 μM TRAP 투여 후 더 응집할 수 있는 능력인 Δ PAC1은 저하되어도 20 μM ADP 투여 후 분비능은 오히려 증가하는 반면에, 기저상태에서 이미 분비능이 증가된 경우에는 증가할수록 100 μM TRAP 투여 후 응집능이나 분비능이 더 저하되는 것으로 해석할 수 있다. 이러한 현상은 혈소판의 활성화 과정은 혈소판 부착, 응집, 분비의 순서로 진행하기 때문에 혈소판이 응집된 경우라도 분비가 활성화될 수 있으나 이미 분비가 된 경우에는 더 이상 혈소판이 활성화할 수 없기 때문인 것으로 여겨졌다. 그러나 이러한 현상이 촉진제의 종류 및 농도에 따라 영향을 받아 달라질 수 있는지에 대해서는 추후 연구가 더 필요할 것으로 여겨졌다.

본 연구에서는 여성이 기저상태에서는 별차이가 없으나 ADP 혹은 TRAP 투여 후의 PAC1 양성률은 남성보다 유의하게 높았다. 촉진제 투여 후 성별에 따른 혈소판 활성화 표지자의 양성률에 대한 보고를 찾을 수 없어 참고할 수는 없었으나, 폐경 전후의 여성에게서 실시한 보고에[13] 따르면 PAC1의 양성률은 연령이 높은 폐경 후 여성에서 높아, 이는 폐경 전에 비하여 폐경 후 여성에서 더 높은 혈전증의 빈도를 나타내는 요인 중 하나라고 설명하였다. 그러나 본 연구에서는 여성과 남성의 평균 연령에는 차이가 없어서 연령에 의한 영향을 배제할 수 있으므로 이것이 성별에 의한 차이인지, 그렇다면 PAC1의 양성률은 성별에 따른 참고치가 필요한지에 대한 연구가 더 필요할 것으로 여겨졌다.

동일인에서 기저상태의 CD62P 양성률은 PAC1에 비하여 낮았는데, 체내의 활성화된 혈소판은 비가역적으로 P-selectin을 표현

하는 제외와는 다른 기전으로, 즉, 순환하면서 혈소판막 표면에 표현된 P-selectin이 떨어져 나가기 때문인 것으로 설명하고 있다 [14].

본 연구는 현혈자 선별검사에 적합한 이들을 대상으로 하였기 때문에 이들이 진정한 의미의 혈소판 활성화 상태의 정상인이라고 단정하기는 곤란한 부분도 있다. 혈소판이 활성화된 상태라도 현혈자 선별검사에는 포함되어 있지 않으며 외관상으로도 정상으로 보일 수 있기 때문이다. 따라서 외관상으로는 건강인으로 간주되었으나 다른 건강인에 비하여 혈소판 활성화 표지자의 양성률이 너무 높거나 낮은 5명의 현혈자원자들을 대상군에서 제외시켰다. 이중 1명은 23세 여성으로 기저상태의 PAC1의 양성률이 29.7%, 나머지 4명은 ADP 투여 후 CD62P 양성률이 모두 30% 이하로 ADP 투여 전후인 Δ CD62P를 제외하고 다른 항목들은 정상 범위내에 속한 경우였다. 이는 검사과정상의 기술적인 오류뿐만이 아니라 현혈자원자 자체가 혈소판 기능이 저하된 경우도 완전히 배제할 수 없었기 때문이었다.

채혈 후 5분 이내 HEPES-buffered saline으로 10배 희석한 후 CD42b와 CD45 항체를 사용하여 본 연구처럼 20분간 반응시킨 Li 등[9]은 정상인의 백혈구 중 백혈구-혈소판 응집률은 15.9 \pm 9.4%로써 본 연구의 결과인 15.5 \pm 5.3%와 유사하였으나, 염색 전 0.2% formaldehyde나 1% paraformaldehyde 고정시는 각각 27.1 \pm 17.6%, 33.5 \pm 18.3%으로 증가하는 것으로 보고하였다. 또한 본 연구에서는 Ziao 등[6] 처럼 CD14, CD45와 혈소판 표지자로서 CD42a 대신 CD41a를 사용하여 3중 염색을 실시하여 백혈구-혈소판 응집을 백혈구 종류에 따라 혈소판 응집률을 구하려 시도하였다. Xiao 등[6]은 정상인에서 단구중 혈소판과의 응집률은 4% 이하로 보고하였으나 본 연구에서는 백혈구, 과립구 및 림프구에 적용된 set marker 사용시 음성대조에서도 2.1-90.2%의 양성률을 보였고, 이를 빼주어도 29.1 \pm 15.9%의 양성률을 보여 신빙성있는 결과치로 보기 어려워 단구-혈소판 응집률은 산정하지 않았다. 검사방법이 본 연구와 약간씩 다른 타 보고들의 건강인에서의 백혈구 중 혈소판과 응집을 보인 양성률의 중앙값은 백혈구 9.0%, 과립구 6.5%, 단구 8.0%[10], 평균값은 과립구 2.7%, 림프구 2.8%, 단구 4.8%[15]로써, 본 연구의 혈소판과 백혈구 및 과립구 응집의 중앙값(16.1%와 16.2%, 결과에 표시하지 않음)이나 평균값보다 낮았으나, 과립구-혈소판 응집의 평균값이 25%인 보고도[16] 있어 검사방법에 따라 다양함을 알 수 있었다.

유세포분석기를 이용한 혈소판 활성화 측정은 혈소판 기저상태뿐만이 아니라, ADP 혹은 TRAP 등의 촉진제 투여로 활성화시킨 후의 혈소판 상태까지도 측정할 수 있었으며, 혈소판활성화 표지자의 종류에 따라 응집능이나 분비능의 각기 다른 기능도 살펴볼 수 있었으므로, 이러한 참고치는 혈소판 기능을 평가하는데 도움을 줄 것으로 사료되었다. 그러나 각 보고마다 건강인의 혈소판 활성화 표지자의 양성률 및 백혈구-혈소판 응집률이 다를 수 있는데, 이는 검체의 채취 방법, 염색전 고정여부, 원심분리 여부, 용혈제 사용여부, 촉진제 사용시 최종 농도, 반응 시간뿐만이 아

나라 대상인 선정 기준 및 참고치 산정 방법 등에 따라 모두 영향을 받을 수 있기 때문에 설명할 수 있다[9]. 따라서 혈소판 활성화 표지자의 양성률 및 백혈구-혈소판 응집률의 해석시는 이점에 주의하여야 하며, 각 검사실의 검사법에 맞는 참고치가 필요한 것으로 사료되었다.

요 약

배경 : 유세포분석기를 이용한 혈소판기능 검사시 도움을 주고자 혈소판 활성화 표지자와 백혈구-혈소판 응집의 참고치를 산정하였다.

방법 : 헌혈 지원자 30명을 대상으로 희석된 전혈에 20 μ M ADP 혹은 100 μ M TRAP를 첨가하지 않은 기저상태 혹은 첨가한 활성화상태 모두 PAC1 혹은 CD62P 항체로 염색하였고, 백혈구-혈소판 응집은 전혈에 CD41a, CD14, CD45 항체를 동시에 반응시킨 후 유세포분석기를 이용하여 각 표지자의 양성률(%)을 구하였다.

결과 : PAC1 및 CD62P의 참고치는 기저상태에서 0.1-12.5%, 0.0-4.7%, 20 μ M ADP 투여 후 65.3-92.4%와 39.0-75.7%, 100 μ M TRAP 투여 후 68.1-93.1%와 60.5-91.2%였으며, 백혈구-혈소판 응집 2.8-23.6%, 과립구-혈소판 5.3-34.2%, 림프구-혈소판 응집 4.9-21.6%였다.

결론 : 유세포분석기를 이용하여 기저상태뿐만이 아니라 촉진제 투여 후의 혈소판 상태와 백혈구-혈소판응집까지 측정할 수 있었으며, 이러한 참고치는 본 검사실에서 혈소판 기능을 평가하는데 도움을 줄 것으로 사료되었다.

참고문헌

- Flores NA and Sheridan DJ. The pathophysiological role of platelets during myocardial ischaemia. *Cardiovasc Res* 1994;28:295-302.
- Michelson AD. Flow cytometry: a clinical test of platelet function. *Blood* 1996;87:4925-36.
- Rinder HM, Bonan JL, Rinder CS, Ault KA, Smith BR. Activated and unactivated platelet adhesion to monocytes and neutrophils. *Blood* 1991;78:1760-9.
- Harrison P and Cramer EM. Platelet alpha-granules. *Blood Rev* 1993; 7:52-62.
- Shattil SJ, Hoxie JA, Cunningham M, Brass LF. Changes in the platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa complex during platelet activation. *J Biol Chem* 1985;260:11107-14.
- Xiao Z and Theroux P. Clopidogrel inhibits platelet-leukocyte interactions and thrombin receptor agonist peptide-induced platelet activation in patients with an acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:1982-8.
- Yamazaki M, Uchiyama S, Iwata M. Measurement of platelet fibrinogen binding and p-selectin expression by flow cytometry in patients with cerebral infarction. *Thromb Res* 2001;104:197-205.
- Lim YA and Hyun BH. Evaluation of platelet parameters on the ADVIA 120 as the quality indicator for stored platelets. *Clin Lab Haematol* 2002;24:377-84.
- Li N, Goodall AH, Hjermidahl P. A sensitive flow cytometric assay for circulating platelet-leukocyte aggregates. *Br J Haematol* 1997;99: 808-16.
- Villmow T, Kemkes-Matthes B, Matzdorff AC. Markers of platelet activation and platelet-leukocyte interaction in patients with myeloproliferative syndromes. *Thromb Res* 2002;108:139-45.
- Jacoby RC, Owings JT, Holmes J, Battistella FD, Gosselin RC, Paglieroni TG. Platelet activation and function after trauma. *J Trauma* 2001;51:639-47.
- Holmes MB, Sobel BE, Howard DB, Schneider DJ. Differences between activation thresholds for platelet P-selectin glycoprotein IIb-IIIa expression and their clinical implications. *Thromb Res* 1999;95: 75-82.
- Roshan TM, Normah J, Rehman A, Naing L. Effect of menopause on platelet activation markers determined by flow cytometry. *Am J Hematol* 2005;80:257-61.
- Michelson AD, Barnard MR, Hechtman HB, MacGregor H, Connolly RJ, Loscalzo J, et al. In vivo tracking of platelets: circulating degranulated platelets rapidly lose surface P-selectin but continue to circulate and function. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:11877-82.
- Hagberg IA and Lyberg T. Evaluation of circulating platelet-leukocyte conjugates: a sensitive flow cytometric assay well suited for clinical studies. *Platelets* 2000;11:151-60.
- Peters MJ, Heyderman RS, Hatch DJ, Klein NJ. Investigation of platelet-neutrophil interactions in whole blood by flow cytometry. *J Immunol Methods* 1997;209:125-35.