

비정상 간기능 검사치 혈청에서의 류마치양 인자

국립의료원 세균과

박 기 영

=Abstract=

Studies on Rheumatoid Factor in Sera of Abnormal Liver Function Test

Kee Young Bahk, M.D.

*Department of Clinical Microbiology, National Medical Center
Seoul, Korea*

The purpose of this study deals with a comparison among the RA-test, hemagglutination sensitized cells test (Waller-Rose), and HAA (hepatitis associated antigen) in one hundred sera of abnormal liver function test.

The co-relation among the results of RA-test, Waller-Rose test, HAA and liver function test are as follows:

1. Both positive for RA-T and Waller-Rose test: 33.0%
2. Both negative for RA-T and Waller-Rose test: 18.0%
3. Positive RA-T, but negative Waller-Rose test: 17.0%
4. Negative RA-T, but positive Waller-Rose test: 32.0%
5. Positive HAA : 39.0%
6. Positive hepatitis associated Antibody : 1.0%

The sera of high titer of TTT reveal the increased positive rate of RA-test, Waller-Rose test, and HAA, however, the titer of GOT, GPT and alkaline phosphatase do not correlate with the positive rate of Rheumatoid factor tests and HAA.

I. 머리말

Waller(1940)¹⁾와 Rose(1948)²⁾에 의하여 처음으로 류마치양 인자(rheumatoid factor)의 응집능을 발견한 이래 이와 같은 성질을 이용한 여러가지 실험방법이 많이 발전되었다. 류마치양 인자란 immunoglobulin 분획에 속하는 hemagglutinating macroglobulin 인 비정상 단백성분으로서 IgG에 대한 자가항체(autoantibody)로 알려져 있다.^{3,5)}

이 macroglobulin은 전기영동 시에 가장 느린 속도로 진행되는 생화학적 성상이 정상인의 혈청에서 나오는 macroglobulin과 차이를 발견할 수 없으나 생물학적으로 차이를 가지고 있다고 알려져 있다³⁾. 혈청안의

IgM과 IgA의 상승이 혈청 globulin의 변동과 직접 관여하는 동시에 류마치양 인자와 관련이 있으나 류마치양 관절염의 기간과 정도와는 그 연관성이 분명하지 않다고 한다.

류마치양 인자의 응집력을 이용한 여러가지 혈청학적 검사가 류마치양 관절염의 진단에 중요한 역할을 하고 있는 것은 사실이다. 그러나 혈청검사에서 류마치양 인자의 양성만 반드시 특이적인 것은 못되며, 또한 류마치양 관절염에서도 모두 양성으로 나오는 것도 아니다.^{3,5)}

류마치양 인자의 생성은 IgG의 변성에 의해서 생긴다고 하며^{3,5)}, 대체로 보아 병적상태가 상당히 진행된 후에야 양성빈도가 증가하며, 또 역가도 높게 나오는 것이다. 여러가지 만성질환이나 virus성 질환에서 양

성빈도가 높는데, 특히 매독, 나병, 결핵, Herpes zoster, 바이러스성 폐렴, 전염성 단핵구증 및 바이러스성 간염 등에서 높은 양성율을 보인다^{3,4,6}.

저자는 여기에 착안하여 간기능 검사(thymol turbidity test, alkaline phosphatase, GOT & GPT)가 비정상치로 나왔던 혈청 100건에 대하여 RA-test, Waaler-Rose test, (hemagglutinating sensitized sheep cell test)와 HAA(hepatitis associated antigen)검사를 실시하여 그 상호 연관성을 알아 보려고 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 혈 청

1973년 6월부터 7월 사이에 국립의료원 생화학 검사실에서 간장기능검사를 목적으로 의뢰하였던 혈청 112건 중 정상치로 나왔던 12건과 thymol turbidity test (T.T.T.), alkaline phosphatase (alk. P.), serum glutamic oxaloacetic transaminase (GOT) 및 serum glutamic pyruvic transaminase (GPT) 중 한가지 또는 그 이상의 비정상치를 보였던 100건에 대하여 실험하였으며, 이 혈청들은 실험 직전까지 -50°C 냉동기에 보존하였다가 사용하였다.

2. 양혈구 응집반응(Hemagglutination Sensitized Sheep Cell Test: Waaler-Rose Test)

a) 실험 혈청의 처리 : 냉동된 실험혈청은 4°C 냉장고에서 서서히 녹힌 후 56°C 수조에서 30분동안 비등화한 다음 흡수 조작을 하였다.

b) 비특이성 응집소의 흡수 : 실험혈청안에 있는 비특이적 응집소를 제거하기 위하여 비등화된 혈청 1.8 ml에 2%면양혈구 0.2 ml를 첨가하여 37°C 수조에서 15분 동안 흡착시켜 1,500 rpm에서 2~3분간 원심침전하여 상청액 1.0 ml를 실험에 사용하였다.

c) 면양혈구의 감작 : Alsever 용액에 보존되었던 면양혈액을 0.85% 생리식염수로 3회 세척하여 2%부유액을 만들어 동량의 용혈소 희석액을 혼합하여 실온에서 30분동안 작용시킨 후 사용하였다.

d) 용혈소(Amboceptor) : Difco 회사제품인 면양혈구 가토항혈청의 용혈역가가 1:5,000인 것을 사용하여 그의 양혈구에 대한 응집가를 측정하였다. 1:5,000의 항혈청을 생리식염수(0.85%)로 1:100, 1:200, 1:400, 1:800, 1:1,600으로 배수 희석하여, 그 희석 항혈청 0.5 ml에 2%양혈구부유액 0.5 ml를 넣어 37°C 수조에서 1시간 작용시키고, 4°C 냉장고에서 18시간 작용

시킨후 응집상을 판독하여 항혈청의 응집가를 측정하여 그 두배 희석액을 본 실험에 사용하였다.

e) 혈구응집반응시험(Waaler-Rose Test) : 위와같이 전처리한 실험혈청을 20배, 40배, 80배, 160배, 320배로 배수희석하고, 각각 그의 0.5 ml에 감작면양혈구 0.5 ml를 넣고 37°C 수조에서 1시간 작용시킨 후 4°C 냉장고에서 약 18시간 보존한 후 그 혈구응집상을 판독하였다. 응집상이 혈청희석 40배 미만에서 일어난 것을 음성으로 판독하였으며, 80배 이상에서 응집된 것을 양성으로 하였다.

3. RA-Test (Rheumatoid Arthritis Test)

RA-T 시액은 Iatron Inc. 제품을 사용하였다. 피검 혈청은 56°C 에서 30분동안 비등화하여 pH 8.2 glycine buffer 용액으로 1:20으로 희석하여, 희석혈청 한 방울과 RA-T 시액 한 방울을 검은색 유리판 위에서 잘 섞으면서 약 1분 후에 응집현상을 관찰하였다.

이때에 양성대조 혈청의 응집현상과 그 응집모양이 육안적으로 보아 유사한 것을 양성으로 판독하였다.

4. HAA 시험(Hepatitis Associated Antigen)

Ouchterlony의 이중항원확산법으로 실시하였다. 한 천평판은 직경이 약 4.0 cm 정도로서 여기에 중탕으로 녹인 1.0% noble agar를 평판에 얇게 먼저 부어서 굳힌 후 외경의 길이가 동일한 oxford cylinder(외경 3.0mm)를 중심부에 1개 놓고 그 둘레를 따라 일정한 간격(5.0mm)으로 배열한후 거기에 다시 1.0% noble agar를 부어서 (굳은 후에 직경은 약 3.0mm, 높이는 4.0mm) 수분후에 완전히 굳어진 다음 cylinder를 깨끗이 뽑아내면 7개의 함몰이 만들어 지게 된다.

중심부 함몰엔 anti-HAA를 넣으며 (약 0.01ml), 그 주변함몰 5개에는 피검혈청을 넣고 나머지 1개에는 대조로 HAA 양성 혈청을 넣은 후 하루밤(18~24시간) 실온에 방치해 두었다가, 함몰과 함몰 사이에 유백색의 침강선을 양성으로 판독하였다.

이때 중심부 함몰엔 대조항원양성 혈청을 넣고 주변 함몰엔 피검혈청을 넣었을 때에는 hepatitis associated antibody가 양성이라 말하고, 반대로 중심부에 대조 항원양성 혈청을 넣었을 때에는 hepatitis associated antigen이 양성이라 할 수 있다.

III. 실험 성적

간기능검사에서(TTT, ALK. P., GOT, GPT)한가지 이상이 비정상치로 나오는 혈청 100건에 대한 RA-test

에서 양성으로 나오는 것은 50건(50%)이었고, HAA (hepatitis associated antigen) 양성인 것이 39건(39%)이었으며 hepatitis associated antibody가 증명된 예는 1건이었다. 양혈구응집반응(Waaler-Rose test)에서 1:80인 것이 9건(9%) 1:160인 것이 17건(17%), 1:320이상이 39건(39%)이었으며 1:80이상을 양성으로 판정하였을 때 양성율은 65%이었다. 대조혈청으로서 상기 간기능 검사 소견이 모두 정상치 범위안에 있는 12건에서는 RA-test 양성인 것이 1건 나왔으며 HAA에서는 모두 음성이고, Waaler-Rose test에서는 12건 모두 양성이었다(제1 표).

Table 1. Total Number of Positive in Various Test (RA-Test, HAA, Waaler-Rose)

Serum Test	Normal liver function serum (12)* No. of positive	Abnormal liver function serum (100)* No. of Positive	Total
RA-Test	1	50(50%)	51
HAA	0	39(39%)	39
W-R 1:≤ 40	0	35(35%)	35
test 1:80	2	9(9%)	11
1:160	4	17(17%)	21
1:≥320	6	39(39%)	45

* No. of Tested

이 실험결과들의 상호관련을 비교하여 보면, RA-Test와 Waaler-Rose test가 모두 양성인 것이 33건(33%), 모두 음성인 것이 18건(18%), RA-test 양성이고 Waaler-Rose test가 음성인 것이 17건(17%)이었고, Waaler-Rose와 HAA가 모두 양성인 것이 22건(22%), 모두 음성인 것이 19건(19%)이었고, Waaler-Rose test가 양성이고 HAA가 음성인 것이 42건(42%), Waaler-Rose가 음성이고 HAA가 양성인 것이 17건(17%), 이었다.

Table 2. Interrelations among RA-T, HAA and Waaler-Rose test

Test	Titer	RA-T		HAA	
		Positive (50 sera)	Negative (50 sera)	Positive (39 sera)	Negative (61 sera)
W-R	1:≤ 40	17	18	17	19
	1:80	3	7	4	5
	1:160	7	9	7	9
	1:≥320	23	16	11	28
Total		33	32	22	42

또한 RA-test와 HAA에서 모두 양성인 것이 22건(22%), 모두 음성인 것이 33건(33%)이고, RA-test 양성이나 HAA가 음성인 것이 28건(28%), RA-test가 음성이나 HAA 양성인 것이 17건(17%)이었다(제2 표).

이들 실험결과를 각기 간기능 검사값의 증가와의 관련성을 보면 제3 표와 같다.

1. Thymol Turbidity Test와의 비교

a) Thymol turbidity test 값의 변동에 따른 RA-T의 양성율은 정상 범위인 5단위 이하에서 7건(27%), 5.1~10단위에서 9건(36%), 10.1~15.0단위에서 22건(64.5%) 및 15.1~30단위에서 12건(68.8%)으로서 TT T의 단위가 증가함에 따라서 RA-T 양성율도 증가하는 경향을 보여 주었으며, 이의 적합성의 정도를 χ^2 test로서 검사한 결과 $\chi^2=11.965$ $p=0.01$ 로서 유의적이었다.

b) HAA에 대한 양성율은 5단위 이하에서 6건(23%), 5.1~10.0단위에서 6건(24%), 10.1~15.0단위에서 19건(61.3%)과 15.1~30단위에서 8건(44%)으로 TTT 단위가 높아짐에 따라 양성율도 증가하는 경향을 보여 주었고, 적합성의 정도는 $\chi^2=11.836$ $p=0.01$ 로서 유의적이었다.

c) Waaler-Rose test에 대한 양성율은 5단위 이하에서 16건(61.5%), 5.1~10.0단위에서 19건(76%), 10.1~15.0단위에서 19건(61.3%), 15.1~30단위가 11건(61.1%)으로서 TTT 값의 변동에 따른 양성율이 증가하는 경향으로 판정되었다.

2. Alkaline Phosphatase와의 비교

a) Alkaline phosphatase 값의 변동에 따른 각 실험성적을 비교하였더니 제3 표와 같다. 4.5단위(Bodansky-unit)까지를 정상범위로 보고, 이때 RA-T 양성율은 7건(77.8%), 4.6~15.0단위에서 34건(54.8%), 15.1~20.0단위에서 4건(28.6%), 20단위 이상에서 5건(35.7%)이었다.

b) HAA에 있어서의 양성율은 0~4.5단위가 3건(33.3%), 4.6~15.0단위에서 26건(41.9%), 15.1~20.0단위에서 6건(42.9%), 20단위 이상이 3건(21.4%)이었다.

c) Waaler-Rose test에서의 양성율은 4.5단위가 8건(88.9%), 4.5~15.0단위가 38건(61.3%), 15.1~20.0단위가 8건(57.1%), 20단위 이상이 11건(78.6%)으로서 alkaline phosphatase 값의 변동에 따라서 각 실험

Table 3. Interrelations of 4 Kinds of Liver Functions Test with RA, HAA and Waaler-Rose Test

Tests liver function	Unit*	No. of cases	RA-T No. of positive	HAA No. of positive	Waaler-Rose test				Pos. sum
					1: ≤40	1: 80	1: 160	1: ≥320	
TTT	0~5	26	7(26.9) [%]	6(23.1) [%]	10	3	5	8	16(61.5) [%]
	5~10	25	9(36.0)	6(24.0)	6	3	5	11	19(76.0)
	10~15	31	22(70.9)	19(61.3)	12	2	5	12	19(61.3)
	15~30	18	12(66.7)	8(44.4)	7	1	2	8	11(61.1)
	Total	100	50(50.0)	39(39.0)					65(65.0)
Alk.P.	1.5~4.5	9	7(77.8)	3(33.3)	1	0	2	6	8(88.9)
	4.5~15.0	62	34(54.8)	26(41.9)	24	9	9	20	38(61.3)
	15~20	14	4(28.6)	6(42.9)	6	1	2	5	8(57.1)
	over 20	14	5(35.7)	3(21.4)	3	0	3	8	11(78.6)
	Total	99	50(50.5)	38(38.4)					65(65.7)
GOT	20~40	19	9(47.4)	6(31.6)	7	0	2	10	12(63.2)
	40~80	37	24(64.9)	18(48.6)	11	4	8	14	22(59.5)
	80~150	26	13(50.0)	9(34.6)	9	2	4	11	17(65.4)
	150~200	8	3(37.5)	2(25.0)	3	0	1	4	5(62.5)
	over 200	9	0(37.5)	4(44.4)	5	3	1	0	4(44.4)
	Total	99	49(49.5)	39(39.4)					48(48.5)
GPT	30	14	8(57.1)	5(35.7)	4	1	3	6	10(71.4)
	30~60	27	14(51.9)	14(51.9)	12	1	7	7	15(55.6)
	61~100	12	9(75.0)	3(25.0)	3	1	0	8	9(75.0)
	101~150	6	4(66.7)	2(33.3)	1	0	1	5	6(85.7)
	over 150	19	5(26.3)	6(31.6)	9	3	2	5	10(52.6)
	Total	78	40(51.3)	30(38.5)					50(64.1)

* Unit of liver function test.

(RA-T, HAA 및 Waaler-Rose test)의 양성율의 변동은 발견되지 않았으며, 본 실험에 의하면 alkaline phosphatase 와 이들 양성율과는 어떠한 상호 관련성을 발견할 수 없었다.

3. GOT 및 GPT와의 비교

이들 transaminase 값의 변동에 따른 양성율은 제 3 표에 표시된 것과 같다.

이 값의 증가에 따른 RA-T, HAA 및 W-R test의 양성율이 나타나는 빈도는 일정하지 않아 이들간의 상호 관련성을 찾아내지 못하였다.

IV. 고 안

류마치양 관절염 진단에 있어서 류마치양 인자의 혈청학적 검사가 유효한 가치가 있다는 것은 주지의 사실이다.

이 검사는 크게 나누어 2가지가 있는데, 그 하나는 면양혈구와 그의 반응물질인 용혈소(amboceptor)를 이용하여서 증명하는 법, 또는 tannin 산으로 처리한 면양혈구와 그 반응물질인 human fraction II, γ -globulin을 사용하는 hemagglutination test와 polystyrene latex 나 bentonite 입자를 반응물질인 human fraction II, γ -globulin을 이용하는 법이 있다^{3,5)}. 이들 방법에서 사용되는 혈구나 입자들이 immunoglobulin G로 감작되어 혈청안에 있는 류마치양 인자와 작용하여 육안적으로 볼 수 있는 응집을 일으키는 것이다.

류마치양 인자의 혈청학적인 여러 검사에서 양성율의 빈도는 70~90%⁶⁾로 알려져 있으며, 나머지 음성 결과에 대한 해석은 류마치양 인자가 없다고 단정할 수 없으며, 계속해서 양성의 결과를 보이거나 높은 역가를 나타내면 류마치양 관절염의 진단에 크게 도움이 될 것이다.

저자의 본 시험결과에서는 류마치양 인자의 양성율의 빈도가 82%를 보여 주었는데, 이 결과는 류마치양 관절염 환자로 진단된 혈청만이 아닌 간기능 검사를 목적으로 의뢰된 혈청이므로 이 중에는 류마치양 관절염 환자도 포함했을 것을 예상하더라도 류마치양 인자의 검출율이 상당히 높은 치를 보여주고 있는 것은, 이 인자가 류마치양 관절염의 특이성 반응이 아니라는 것을 반증할 수 있는 것이다. 특히 HAA 양성인 혈청 39건 중 RA-T 또는 Waaler-Rose test가 양성으로 나온 것이 31건으로 79.4%나 되는 것은 간염환자의 혈청 중에는 류마치양 인자가 있다는 것을 말해주고 있거나 어떤 물질의 존재가 판독상 양성으로 나오게끔 된 듯하다.

Astorga⁵⁾ 등은 몇 가지 검사(RA-T, sheep cell hemagglutination test, ASO, C-RP, ESR)를 비교 검토한 결과, 류마치양 인자의 양성율이 류마치양 관절염에서 72%, 류마치열에서 7%, 기타 활액낭염(滑液囊炎, bullitis), 교질성 질환에서 12%라고 하였다.

Greenburg⁵⁾는 RA-T(Hyland 제품), 혈구응집 반응 및 Singer-Plotz latex F II 시험 및 bentonite flocculation 시험을 한 결과 약 90%에서 서로간의 일치점을 보았다고 하였다. 즉 그 각각의 시험성적은 류마치양 관절염환자에서 혈구응집 반응의 양성율이 82.3%, bentonite 시험에서 80.7%, Singer-Plotz 시험에서 82.2%, RA-T에서 83.9%의 결과를 얻었다 한다.

吉岡(1970)⁶⁾은 간질환 환자 71예 중에서 36예가(50.7%) RA-T 양성으로 증명하였다는 사실은 저자의 결과(도표 1 참조)와 유사하게 나왔음을 보여주고 있다.

위양성율은 각종 시험에서 10~15%의 범위를 보여 주고 있었다고 한다⁵⁾.

SLE 환자에서는 고율(30~40%)⁶⁾의 양성율을 보이고 역가도 상당히 높다고 하며, 노인들의 감염병과 전염성 단핵구증 등에서도 류마치양 인자를 발견할 수 있다고 한다⁵⁻⁶⁾. 저자의 본 실험결과에서도 대부분이 간장예를 의심하여 의뢰된 혈청 중에서 류마치양 인자의 양성율이 87%이며, 이 중 RA-T에서 50%, Waaler-Rose test에서 65%라는 높은율로 나오는 것은, 전술한 바와 같이 류마치양 인자가 반드시 특이적인 것만은

아닌 듯 보이며, 특히 TTT 또는 기타 간기능검사 값의 변동과 관련성을⁶⁾ 가지고 있는 것을 볼 때, 비정상적 globulin 증가와 류마치양 인자와의 위양성 관계에 상호 관련성이 있는 듯 보이나 본 실험 범위만으로는 확정할 수가 없었다.

V. 결 론

류마치양 관절염 환자의 혈청에서의 반응하는 류마치양 인자는 IgM 분획의 면역 globulin이며, 이 인자는 혈구를 응집시키는 응집력을 가지고 있다. 이 인자는 특이적인 것이 못되며, 만성 경과를 취하는 질환 및 몇몇 간질환에서 이 인자들을 가지고 있다.

저자는 생화학적 간기능 검사를 목적으로 의뢰된 혈청 중 TTT, Alk. phos., GOT 및 GPT의 검사치가 비정상적으로 나오는 100건을 대상으로, RA-test, Waaler-Rose test 및 HAA 시험을 실시하여 이들간의 상호 관련성을 검토하였다.

이 실험에서 RA-T 양성율이 50%, Waaler-Rose test 양성율이 65%, HAA 양성율이 39%이었고, hepatitis associated antibody가 1건에서 증명되었다.

비정상 globulin을 보는 thymol turbidity test에서 그 값이 높을 수록 RA-T, Waaler-Rose test 및 HAA의 양성율이 높았으며, GOT, GPT 및 alk. phos.의 값의 변동에 따르는 양성율의 증가는 인정할 수 없었다. HAA 양성인 혈청 39건 중에서 류마치양 인자를 가진 혈청은 31건(79.4%)으로 류마치양 인자와 바이러스성 간염은 상호 관련성이 있는 듯 보였다.

REFERENCES

- 1) Waaler, E.: On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles. *Acta Path. et Microbiol. Scandinav.*, 172:17, 1940
- 2) Rose, H.M., Ragan, C., Pearce, E. and Lyman, M.O.: Differential agglutination of normal and sensitized sheep erythrocytes by sera of patients with rheumatoid arthritis. *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 68:1, 1948
- 3) Mary Alice Abernathy Meyer, BS. MT(ASCP): Laboratory findings in rheumatoid arthritis. *American J. of Med. Tech.*, 38:7, 428-341, 1970.

- 4) Edwin J. Hacker, Jr., and Richard D. Aach.: *Detection of hepatitis-associated antigen and anti-Haa. JAMA, 223: 414-417, Jan. 1973.*
- 5) Gradwohl: *Clinical laboratory methods and diagnosis, 2, 7th Edition, The C.V. Mosby Company, 1566-1567, 1970.*
- 6) 吉岡秀雄: 肝疾患を中心としたリウマチ血清反応の検討. 18:675-678, 1970.
- 7) Cats, A. and Klein, F.: *Quantitative aspects of the latex fixation and Waaler-Rose tests. Ann. of the Rheu. Dis. 30:663-672, 1970.*
- 8) Nathalie J. Schmit, and Edwin H. Lennette: *Evaluation of various Antisera and Gels for Detection of Hepatitis Associated Antigen by Immunodiffusion and Immunoelectrophoresis tests. Ann. J. Clin. Path., 58:317-325, 1972.*
- 9) Cookel R. Kendall, M.J. Becker, J.F. and Hawking, C.F.: *Serum biochemical values in rheumatoid disease. 30:166-170, 1971.*
-