

면역저하 환자에서 바이러스혈증 모니터링

가톨릭의대

김 상 일

면역저하 환자에서 바이러스 감염은 여전히 사망률과 유병률을 높이는 주요 원인중 하나이다. 바이러스 감염은 정상인에서는 무증상 감염으로부터 중증 현성 질환까지 다양한 질병 스펙트럼을 보이지만, 면역저하 환자의 경우 정상인보다 중증 질병으로 발전할 가능성이 훨씬 높다. 이는 기저질환 자체에 의한 것 이외에도 면역억제제에 의한 과립구 및 림프구 저하, 정상피부나 점막의 손상, 체액성 및 세포성 면역 기능 저하, 그리고 여러 가지 병원성 세균의 집락화가 원인으로 밝혀져 있다. 특히 항암제, 고용량 스테로이드, 그리고 OKT-3 등을 투여 받은 환자는 중증 면역부전이 생기게 되고 이는 바이러스 감염에 의한 사망률을 높이는 위험인자로 작용한다. 바이러스의 감염경로는 환자에 따라 다양하다. 대부분의 바이러스 질환은 외부로부터 획득하거나 이미 가지고 있던 바이러스의 재 활성화에 의한 것이다. 한편 이식환자의 경우는 공여자의 장기나 세포, 수혈을 통해 바이러스가 전파되어 감염될 수 있다. 바이러스 감염 혹은 잠복되어 있던 바이러스의 재활성화는 환자에서 바이러스 자체에 의한 직접적인 증상 뿐 아니라, 간접 효과로 인한 이차적 질환을 앓게 되는데 이는 바이러스에 의해 유도된 항원의 활동이나, 사이토카인 조절장애, 그리고 면역조절(immune modulation)에 의한 이차적인 영향으로 인한다. 그 결과 이식편을 잃게 되거나, 종양의 발생, 진균 혹은 그람 음성균 등에 의한 이차 감염을 일으켜 사망률을 높인다.

면역저하 환자에서는 일반인에서 문제가 되는 바이러스 이외에도 다양한 종류의 바이러스들이 문제를 일으키는데 이 중 주로

문제가 되는 바이러스는 Table 1과 같다.

Cytomegalovirus (CMV)와 Epstein-Barr virus (EBV)는 대표적인 병원성 바이러스로 이미 연구가 많이 되어 있으며, 최근 문제가 되는 것으로는 예전부터 이미 존재했으나 문제를 발견하지 못했던 것으로 Human herpes virus (HHV)-6, 7, metapneumovirus, parvovirus B19, 그리고 adenovirus가 있다. 예전에 발견이 되었으나 최근 빈도가 증가하면서 문제로 대두되는 것으로는 polyomavirus, BK virus, JC virus가 있는데, 이들은 모두 최근 더욱 강력해진 면역억제제의 사용과 관련이 깊다. 또한 지역적으로 문제가 되는 것으로 West Nile virus, 최근 새롭게 발견되어 문제가 되는 것으로 SARS, coronavirus, 그리고 이종이식과 관련된 돼지 내인성 레트로바이러스(PERV)가 있다.

바이러스 감염의 진단을 위해 시행되는 검사는 크게 배양법, 혈청학적 방법, 분자생물학적 방법, 그리고 병리학적 방법으로 나눌 수 있는데 진단의 목적에 따라 다양한 방법을 선택해서 활용해야 한다. 일반적으로 바이러스 감염의 진단을 위해서는 민감도와 특이도가 좋으면서도 음성 예측치(negative predictive value)가 높은 검사법을 선택해야 하며, 감염(infection) 후 질병(disease)으로의 진행을 모니터링하기 위해서는 양성 예측치(positive predictive value)가 높아야 한다. 또한 모니터링 결과를 정량적(quantity)으로 나타낼 수 있어야 하며, 검사시간이 짧게 걸리고, 반복검사 시 재현도가 좋아야 한다. 대부분의 면역저하 환자는 바이러스 감염에 의해 중증의 임상경과를 밝게 되는 경우가 많아 초기 진단 시

Table 1. 이식환자에서 문제가 되는 바이러스

Herpes simplex virus	Hepatitis B virus
Varicella-zoster virus	Hepatitis C virus
Epstein-Barr virus	Papillomavirus
CMV	Polyomavirus BK/JC
HHV-6 (coinfection with CMV)	Adenovirus, RSV, influenza, parainfluenza
HHV-7	Metapneumovirus
HHV-8 (KSHV)	HIV
Parvovirus B19	SARS (coronavirus)
West Nile virus	Rabies
LCMV	

CMV, cytomegalovirus; HHV, human herpesvirus; KSHV, Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus; LCMV, lymphocytic chsevere acute respiratory syndrome.

배양법이나 혈청학적 방법 혹은 병리학적 진단을 활용하기 보다는 위해서는 신속하게 결과를 알 수 있고 위음성이 낮은 검사법을 우선 시행하는 경우가 많다. 그러나 바이러스의 종류에 따라 배양법이나 병리학적 방법으로도 충분히 임상에 활용할 수도 있으며 검사실의 규모에 따라 차선의 검사법을 대신해서 사용해야 하는 경우도 많으므로 각각의 검사법에 대한 정확한 인식이 필요하다. 또한 검체 채취 방법과 운반방법, 그리고 보관방법도 결과에 큰 영향을 미치므로 이 또한 감안하여 결과해석을 하여야 한다. 본문에서는 면역저하 환자에서 특히 문제가 되는 주요 바이러스의 바이러스혈증을 모니터링 하는 방법 및 임상적 활용에 대하여 기술하였다.

Cytomegalovirus (CMV)

혈청학적으로 시행하는 항체검사는 바이러스에 과거 노출 유무를 판정하는 데는 도움이 되지만 면역저하 환자에서 급성질환(acute disease)을 진단하는 데는 전혀 도움이 되지 못한다. 우리나라의 경우 대부분의 환자는 이미 IgG 항체를 가지고 있으며, 건강한 성인의 경우도 IgM 항체를 가지고 있거나, 초감염이라고 하더라도 IgM 항체를 생성하기까지는 시간이 걸리며, 면역저하 환자의 경우(특히 조혈모세포 이식환자) 항체를 생성하지 못하는 경우도 있으므로 혈청학적 방법은 급성 CMV 질환의 진단에는 유용성이 낮다. 그러나 이식환자의 경우 공여자와 수여자의 항체검사는 이식 후 CMV 질환의 발생 위험도를 평가하고 예방적 항바이러스제의 투여 여부를 결정하는 목적으로는 유용하게 사용될 수 있다.

우리나라 면역저하 환자에서 대부분의 CMV 질환은 재 활성화에 의하므로 의심이 되는 경우 혈액이나 침범이 예상되는 장기에서 CMV를 증명함으로써 진단을 한다. 사용되는 방법으로는 세포배양, PCR법을 통한 핵산 검출, 항원혈증(antigenemia) 검사로 바이러스 단백질 검출 등을 시행한다. 침범된 장기에 따라 간, 신장, 소장, 폐, 뇌 등 다양한 검체를 활용할 수 있으며, 혈액, 기관지 세척액, 그리고 뇌척수액 등도 검사가 가능하다. 그러나 소변의 경우 바이러스 흘림(viral shedding)과 구별이 안 되고 CMV 질환과 상관성이 떨어짐을 염두에 두어야 한다. 단, 소변검사는 공여자 양성/수여자 음성(D+/R-)인 이식환자에서 CMV 복제가 처음으로 일어나는 시기를 판정하는데 사용하기도 한다. CMV 복제가 일어나고 질환으로 발전할 가능성을 판정하거나 진단하기 위해서는 CMV 바이러스혈증을 확인하는 것이 가장 좋다. 이때 PCR법으로 CMV DNA를 검출하는 경우 전혈(whole blood)이 말초백혈구(peripheral blood leukocyte, PBL)나 말초단핵구(peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 보다는 우수하며 PBL과 PBMC는 비슷하다.

세포배양법은 CMV 질환과 상관도가 가장 높고 최근 shell vial

assay를 사용하면서 16시간이면 결과를 알 수 있을 정도로 발전하였지만 양이 적은 경우 민감도가 낮아 면역저하 환자에서는 여전히 활용도가 낮다. 특히 조혈모세포 이식환자에서는 호중구 감소증으로 인하여 더욱 진단에 민감도가 떨어진다. 그러나 항원혈증 검사나 PCR법을 할 수 없는 곳에서는 아직 활용을 할 수 있고 감수성검사와 유전자 변이를 확인하기 위해 사용하기도 한다.

항원혈증검사(antigenemia)는 CMV 항원을 정량적으로 빠르게 검사할 수 있는 방법으로 바이러스혈증을 모니터링 하는데 매우 유용하다. 이 방법은 CMV 기질 단백질 중 pp65에 대한 단클론항체(monoclonal antibody)를 사용 하는데, 환자로부터 채취한 다형핵백혈구(polymorphonuclear leukocyte)를 면역염색을 하여 직접 관찰을 하고 염색이 된 세포의 숫자를 결과로 나타낸다. 일반적으로 수치가 높을수록 현성 질환의 가능성이 높다. 선제치료(pre-emptive therapy)의 기준으로 장기이식환자에서는 2×10^5 세포 당 10개 이상을, 조혈모세포 환자에서는 1-2개 이상을 기준으로 활용하는 곳이 가장 많다. 검사의 단점으로는 분자생물학적 방법보다는 감수성이 낮다는 점, 검사를 시행하는 실험자의 숙련도에 따라 민감도가 달라진다는 점, 그리고 표준화가 되어있지 않아 기관별 비교가 어렵다는 점이 있으며, 치료효과를 판정하기 위해 사용하는 것에 대해서도 논란의 여지가 있다. 임상에서 주의할 점으로는 검체를 확보하면 바로 검사를 해야 하며, 혈액으로만 검사를 하기 때문에 백혈구가 0.2×10^9 개/L 이하의 호중구 감소증이 있는 경우 신뢰성 있는 결과를 얻을 수 없다.

분자생물학적 방법으로는 핵산증폭법(nucleic acid amplification)과 핵산부합화(nucleic acid hybridization)법이 사용된다. CMV DNA를 증폭하는 PCR법이 상용화되어 있기도 하지만 많은 기관에서는 primer를 제작하여 자체적인 검사법에 따라 시행하기도 한다. 이 경우 표준화되지 않음으로 검사결과는 기관에 따른 자체 데이터를 기반으로 cut-off 수치를 정하는 것이 바람직하다. 상용화 방법 중 가장 보편적인 것으로는 COBAS AMPLICOR CMV MONITOR assay가 있다. CMV DNA polymerase 유전자 UL54 부분을 증폭하여 정량적으로 CMV 혈증을 측정하며 약 3-4시간이 소요된다. 검사법이 표준화 되어있어 기관별 비교가 가능하다는 장점이 있다. 또 다른 것으로는 LightCycler 시스템이 있는데 fluorometer를 사용하여 지속적으로 amplicon을 모니터링 할 수 있고 공기를 이용한 온도조절 기계를 사용함으로써 빠른 시간(30-40분)에 결과를 얻을 수 있는 장점이 있다. 장기이식환자에서 두 가지 방법을 비교한 데이터에서는 두 가지 방법이 비슷한 결과를 보였다. PCR에서 양성이 나왔다고 모두 CMV 질환을 의미하는 것은 아니며 절대량과 기준에 대한 비율 모두를 고려하여 CMV replication이 질병으로 될 지, 또한 항바이러스제의 투여가 필요할지를 판단해야 한다. 많은 기관에서 장기 이식환자의 경우 COBAS AMPLICOR CMV MONITOR assay로 1,000-5,000 copies/mL를, 조

혈모세포 이식환자에서는 400 copies/mL을 기준으로 치료여부를 결정하는데, 역시 기관의 데이터를 바탕으로 cut-off value를 정하는 것이 필요하다. 이는 기관마다 검체 수송방법, 검체 채취량, 환자의 특징, 면역억제제의 양, 예방적 약제의 투여 여부, HHV-6, HHV-7 등 다른 바이러스 중복감염 여부 등에 따라 의미 있는 수치가 달라지기 때문이다. 그러나 일반적으로는 CMV DNA copy수가 높을수록 질환으로 발전할 가능성이 높거나 임상적으로 CMV 재활성화의 가능성이 높다는 것에는 의견이 일치하고 있다. 또 다른 방법으로 NucleiSens assay라는 것이 있는데 CMV late-mRNA pp67을 검출하는 것으로, 이는 CMV가 실제 복제를 하고 있다는 것을 반영해 준다. 그러나 몇몇의 연구에서 DNA 증폭법 보다 민감도가 낮다는 보고를 하고 있어 결과해석에 주의를 해야 한다. Digene Hybrid Capture CMV DNA assay는 핵산부합화(nucleic acid hybridization)법을 이용한 방법이다. 이 방법은 타겟 DNA에 RNA probe를 붙이고 RNA-DNA hybrid에 항체반응을 시켜 chemoluminescence로 CMV를 검출한다. 이식환자에서 시행한 임상연구에서는 배양법보다는 민감하게 나왔고 항원혈증법과 비슷하였다. 항원혈증법 보다는 기술적인 변수가 적다는 장점이 있으나 정성적이라는 것과 양성인 경우 임상적 의미와 비례하지 않을 수 있다는 점, 그리고 민감도는 매우 높으나 특이도가 낮다는 단점이 있어 좀더 임상연구 결과가 나와야 될 것으로 생각된다.

Epstein-Barr virus (EBV)

국내 연구에 의하면 성인의 87-95 %에서 EBV에 대한 VCA IgG 양성으로 보고 되었다. 면역저하환자에서 임상적으로는 바이러스의 직접적인 영향으로 바이러스 감염증상과 함께 침범 장기의 염증반응이 일어나고 동시에 간접적 영향인 면역조절효과(immune modulating effect)로 인하여 그람음성균 감염의 위험을 높이고 진균감염의 위험인자가 되며, 이식환자에 있어서는 이식편의 손실이나 lymphoproliferative disease의 원인으로 작용한다. 이외에도 다양한 종양의 발현과 관련이 있음이 증명되었다.

종양환자의 경우 종양의 종류에 따라 EBV DNA의 혈중 검출이 초기 진단 시 종양 부담(tumor burden)의 정도를 의미하기도 하며 치료 후 재발의 표지자로 이용되기도 한다. 장기이식 환자에서는 PTLD (post-transplant lymphoproliferative disease)의 바이오마커로 유용하다. 인면역결핍바이러스 감염 환자에서는 일반적으로 건강한 성인보다 기저 수치가 높게 측정된다. 한편 HIV 감염환자에서 혈액이나 혈장에서 다른 환자보다 높은 수치를 보이는 경우 EBV 연관 림프종 발생의 가능성이 높음을 의미한다. 단, 뇌 림프종의 경우 혈류-뇌장벽으로 인해 뇌척수액에서의 수치는 높으나 혈액에서의 수치는 낮게 나올 수 있다.

EBV 혈증은 real-time PCR을 이용해 정량적으로 측정할 수 있

으며 파라핀으로 처리한 조직이나 세포 검체에서도 측정이 가능하다. Real-time PCR은 intercalating dye나 TagMan, MGB 등의 fluorescent probe를 사용하여 100 bp 정도의 보존서열(conserved sequence)을 검출하는 방법이다. 상품으로 나와 있는 primer와 probe로는 LMP2를 타겟으로 하는 Roche Molecular Diagnostics (Pleasanton, CA), BKRF1을 타겟으로 하는 Qiagen (Valencia, CA) (Artus), major tegument protein (BNRF1)을 타겟으로 하는 Nanogen (San Diego, CA) (Epoch), thymidine kinase (BXL1F1)를 타겟으로 하는 Argene (Varilhes, France), BKRF1 (EBNA1)을 타겟으로 하는 Bioactiva Diagnostica (Bad Homburg, Germany)와 Amplimedical (Milan, Italy)이 있다. 이 중 어느 것이 다른 것 이 비해 뛰어나다는 데이터는 아직 없으므로 각 기관의 평균치 혹은 자체적으로 마련한 기준치를 고려하여 해석을 해야 한다. 검사시 검체로 사용된 전혈이 장기간 지체되거나 보관에 문제가 생기면 세포내의 EBV가 세포외로 나와 위양성의 결과를 보이거나 실제보다 과장되게 결과를 보일 수 있으므로 주의해야 한다. 따라서 DNA 분리에 자동화기계를 이용하는 것이 재현도를 좋게 하는 방법이다. 단위는 copies per milliliter, copies per microgram of DNA, 혹은 copies per 100,000 leukocytes 등이 다양하게 사용된다. EBV 게놈 DNA를 측정하는 방법으로 상품으로 나와 있는 것 중 Advanced Biotechnologies Inc.(Columbia, MD), Accrometrix (Benicia, CA), Affigene (Bromma, Sweden), 그리고 ATCC's Namalwa Burkitt lymphoma cell line (American Type Culture Collection, Manassas, VA) 등은 표준치를 구하거나 검사실간 비교를 할 수 있다. 향후 FDA에서 표준방법을 결정하게 되면 표준화 및 검사실간 비교가 더 용이해 질 것으로 예상된다. 그러나 이러한 방법들은 모두 이미 여러 연구논문에서 사용되어 민감도, 특이도, 정확도, 질병과의 연관도, 그리고 가격적인 면에서 검증이 많이 되어 있으므로 어느 한 가지가 우월하다고 할 수는 없다.

Human herpes virus (HHV)-6, HHV-7

HHV-6과 HHV-7은 생후 몇 년 내 감염되어 이 후 재활성화되기 전까지 잠복기를 가지는 대표적인 림프친화(lyphotropic) 베타 헤르페스 바이러스이다. 정상인에서는 소아기에 일반적인 바이러스 감염과 같은 증상 및 임상경과를 보여 자연적으로 회복되지만 면역저하 환자에서는 CMV나 EBV와 같이 면역조절효과로 인해 직접적인 영향을 미치거나 간접적인 영향을 미치는 두 가지 역할을 하게 된다.

검사법으로 혈청 항체 검사, 배양검사, 면역조직화학염색, 그리고 핵산동정 등의 방법이 있다. 다른 바이러스와 마찬가지로 항체 검사는 급성기의 감염을 진단하는 데는 부적절하고 말초 림프구에서 PCR을 통해 검출하는 것이 가장 유용하다. 이 때 잠복기와 급

성기의 구별이 어려우므로 결과해석에 주의를 요한다. 다른 방법으로 정량적 PCR이나 mRNA를 측정하는 방법이 있으며 활용도에 대한 연구가 진행되었거나 진행 중이므로 아직 데이터가 더 필요하다. 증상이 없는 면역저하 환자에서 정기적인 측정에 대한 효용성은 연구가 더 필요하다.

Polyoma virus

Polyomavirus는 피막이 없는 작은 dsDNA 바이러스로 SV40 (Simian virus 40), BK 바이러스, JC 바이러스가 속한다. BK 바이러스는 신장이식을 받았던 환자에서 요관 협착을 일으킨 사례를 통해 알려지기 시작했으며, JC 바이러스는 면역억제치료를 받는 환자에서 progressive multifocal encephalopathy의 원인으로 보고되었다. BK 바이러스는 보통 어렸을 때 호흡기를 통해서 초 감염된 후 주로 신장에서 잠복하다가 면역 억제 상황에서 재활성화된다. 혈청에서 항체를 검사해 보면, 3~4세에 50%에서 양성반응이 나타나고, 10세 경에는 거의 100%에 달하지만, 성인에서의 양성율은 약 65-90%로 오히려 감소한다.

BK 바이러스의 진단은 감염된 조직에서 세포병리검사를 하면 활성화와 질환을 구별해서 확진할 수 있으나 시기적으로 임상경과에 따른 치료계획을 세우는 데는 소변이나 혈청에서 미리 바이러스를 검출하는 것도 유용하다. 혈청에서 PCR을 이용한 정성 검사법은 100% 민감도와 88-95% 예민도로 보고 되며, real-time PCR을 이용한 정량검사는 10,000 copies/mL 이상에서 특이도가 93% 이상이다. 그러나, 예민도의 경우 정상인의 23%에서 양성율을 보이는 경우까지 보고 되므로 검사실에 따라 자체적인 cut-off 값을 적용해야 한다.

맺 음 말

면역저하 환자에서의 바이러스혈증은 단순히 측정된 수치만으로 임상적인 의미를 부여할 수는 없다. 환자의 상태, 면역억제의 정도, 위험인자, 검사방법, 그리고 검체의 보관 운반 방법 등 결과에 영향을 미칠 수 있는 모든 인자를 동시에 고려해야만 정확한 결과해석을 할 수 있다. 같은 바이러스를 측정한다고 하더라도 기관에 따라 사용하는 primer 및 probe가 다르고 기기도 다양하며 검사자의 숙련도 및 검사실의 질에 따라서도 다양한 결과를 보이므로 자체적인 결과분석을 통해 나름대로의 민감도와 특이도를 확보하는 것이 필요하다. 향후 바이러스의 종류에 따른 표준화된 방법이 제시된다면 환자의 진료 및 연구에 큰 도움이 될 것으로 예상된다.

참 고 문 헌

- 1) 김상일. 면역 저하자에서의 새로운 바이러스 감염. 감염과 화학요법 38:s207-14, 2006
- 2) Kim YJ, Kim SI, Wie SH, Kim YR, Hur JA, Choi JY, Yoon SK, Moon IS, Kim DG, Lee MD, Kang MW. Infectious complications in living-donor liver transplant recipients: a 9-year single-center experience. *Transpl Infect Dis* 10:316-24, 2008
- 3) Koukoulaki M, Grispou E, Pistolas D, Balaska K, Apostolou T, Anagnostopoulou M, Tseleni-Kotsovoli A, Hadjiconstantinou V, Paniara O, Saroglou G, Legakis N, Drakopoulos S. Prospective monitoring of BK virus replication in renal transplant recipients. *Transpl Infect Dis* (in press), 2008
- 4) Doucette KE, Pang XL, Jackson K, Burton I, Carbonneau M, Cockfield S, Preiksaitis JK. Prospective monitoring of BK polyomavirus infection early posttransplantation in nonrenal solid organ transplant recipients. *Transplantation* 85:1733-6, 2008
- 5) Sanghavi SK, Abu-Elmagd K, Keightley MC, St George K, Lewandowski K, Boes SS, Bullotta A, Dare R, Lassak M, Husain S, Kwak EJ, Paterson DL, Rinaldo CR. Relationship of cytomegalovirus load assessed by real-time PCR to pp65 antigenemia in organ transplant recipients. *J Clin Virol* 42:335-42, 2008
- 6) Toyoda M, Moudgil A, Warady BA, Puliya DP, Jordan SC. Clinical significance of peripheral blood Epstein-Barr viral load monitoring using polymerase chain reaction in renal transplant recipients. *Pediatr Transplant* (in press), 2008
- 7) Baldanti F, Lilleri D, Gerna G. Monitoring human cytomegalovirus infection in transplant recipients. *J Clin Virol* 41:237-41, 2008
- 8) Ksouri H, Eljed H, Greco A, Lakhal A, Torjman L, Abdelkefi A, Ben Othmen T, Ladeb S, Slim A, Zouari B, Abdeladhim A, Ben Hassen A. Analysis of cytomegalovirus (CMV) viremia using the pp65 antigenemia assay, the amplicor CMV test, and a semi-quantitative polymerase chain reaction test after allogeneic marrow transplantation. *Transpl Infect Dis* 9:16-21, 2007
- 10) Gulley ML, Tang W. Laboratory assays for Epstein-Barr virus-related disease. *J Mol Diagn* 10:279-92, 2008
- 11) 조현정, 허재균, 김종현, 강진한. 발열질환 및 종양질환 소아에서 Epstein-Barr 바이러스의 감염형 분류. *감염* 34: 143-51, 2002
- 12) Anonymous. Other herpesvirus: HHV-6, HHV-7, HHV-8, HSV-1 and -2, VZV. *Am J Transpl* 4:66-71, 2004
- 13) 황영환, 안규리, 권오정, 김상일, 김용림, 최영진. Polyomavirus 감염과 신장이식. *대한이식학회지* 22:13-20, 2008