

우리나라 소아의 항보체면역형광 검사법에 의한 Cytomegalovirus 항체 보유율*

서울 대학교 의과대학 소아과학교실

이 환 중 · 장 성 희

= Abstract =

Prevalence of Antibody to Cytomegalovirus by Anticomplement Immunofluorescence Test in Korean Children

Hoan Jong Lee, M.D. and Seong Hee Jang, M.D.

Department of Pediatrics, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

The prevalence of antibody to cytomegalovirus(CMV) increases with age, but widely varying patterns have been noted among different populations. We examined two hundred and ten sera for the prevalence and titers of antibody to CMV by anticomplement immunofluorescence test. The sera were collected from children under 15 years of age, admitted to the Seoul National University Children's Hospital for elective surgery or minor problems. Overall, 90% of the children had antibody to CMV. The prevalence and geometric mean titer of antibody were high in infants under 2 months of age, 90% and 103, respectively, and lowest in the age group of 3-11 months, 80% and 47, respectively. The prevalence increased thereafter, reaching a plateau at 97% by 7-9 years. These data indicate that the most of Korean children were infected by CMV early in the life.

서 론

거대세포 바이러스(Cytomegalovirus, CMV)는 herpesvirus과에 속하는 바이러스로 세계적으로 분포되어 있다. 거의 모든 사람이 일생에 언젠가는 CMV에 감염되고, 감염시기는 주로 주산기이며 대부분 무증상(asymptomatic)이지만, 최근 항암요법을 받는 환자, 장기이식을 받는 환자의 증가로 인해 면역기능이 억제된 환자가 증가함에 따라 재활성화 된 CMV에 의한 질환의 적절한 진단 및 치료에 대한 관심이 증가하고 있다. 그리고 항체 보유율은 일반적으로 연령이 증가함에 따라 증가하지만 지역과 사회경제적 수준에 따라 감염되는 연령이 달라서 여러 지역간의 항체보유율이 차이가 난다.

국내의 보고를 살펴보면 학동기전 아동이 74%¹⁾, 국민학생이 61.6%²⁾, 91.3%³⁾, 여중학생이 65.2%⁴⁾며, 현혈자, 건강한 성인, 임산부는 98% 이상^{5~8)}으로 항체 보유율이 매우 높은 것을 알 수 있지만, 소아기 전 연령층을 통한 보유율의 조사는 아직 없으며, 이들 보고의 대부분은 혈청의 한가지 희석농도에서만 ELISA법으로 측정하여 그 역가를 알 수 없다.

저자들의 항보체면역형광(anticomplement immunofluorescence) 검사법을 이용하여 신생아에서부터 15세까지 소아의 여러가지 연령군에서 CMV에 대한 항체 보유율 및 그 역가를 조사함으로써, 우리나라 소아에서 CMV가 주로 감염되는 연령을 파악하여 향후 CMV 감염증의 예방에 주력하여야 할 연령을 인지하여 그 방법을 강구하고, 국내 CMV 감염증 연구의 기초자료로 활용하고자 본 연구를 시행하였다.

*이 논문은 1992년도 교육부 지원 한국학술진흥재단의 자유공모과제 학술 연구조성비에 의하여 연구 되었음.

대상 및 방법

1. 대 상

1990년부터 1991년까지 서울대학교 어린이 병원에 선택적 수술(elective surgery)이나 기타 사소한 질병(정기적 검사, 이비인후과, 피부과, 안과등)으로 입원하거나 외래를 방문한 환아들중 7군의 연령별(신생아~2개월, 3~11개월, 1~3세, 4~6세, 7~9세, 10~12세, 13~15세)로 각 30명씩 총 210명을 대상으로 하였다. 수혈받은 적이 있는 환아, 수술력이 있는 환아, 또는 간염이 있는 환아는 제외하였다. 혈청은 -20°C 에 냉동보관하였다가 해동시켜 사용하였다.

2. 항보체면역형광(Anticomplement Immunofluorescence) 검사법

Human fetal lung fibroblast (MRC-5) monolayer에 CMV (AD-169 strain)를 접종한 다음, monolayer의 90~100%에 세포병변효과(cytopathic effect)가 나타났을때 EDTA-trypsin으로 처리하여 감염된 세포를 회수하였다. 이 세포와 같은 방법으로 회수한 CMV에 감염되지 않은 세포를 1:3 비율로 혼합하여 내제적 대조(internal control)로 삼았다. 약 3×10^4 세포를 teflon-coated slide의 각 well에 넣고 공기중에 건조한 후, 4°C 아세톤에 약 10분간 처리하여 고정시켰다. 이렇게 만들어진 슬라이드는 -70°C 에 보관하였다. 검사혈청을 56°C 에서 30분간 비동화(heat-inactivation)시킨 후, 1:4에서부터 1:512까지 연속적으로 2배 계단희석(2-fold dilution)한 다음 CMV항원이 부착되어 있는 슬라이드에 접종하여 37°C 에서 30분간 반응시켰다. 인산완충용액으로 10분씩 3회 세척한 후, 1:8로 희석한 guinea pig complement를 37°C 에서 45분간 반응시키고 다시 10분씩 3회 세척하였다. 1:25로 희석한

FITC-conjugated goat anti-guinea pig C3(Cappel, Durham, Cat. No. 55385)를 접종하여 37°C 에서 30분간 반응시킨 후, 10분씩 3회 세척하였다. 양성 및 음성 대조혈청을 구하지 못하여서, 먼저 1:8로 희석한 연장의 혈청을 검사하여 핵부위에 강하게 형광반응이 나타나는 것을 양성 대조 혈청, 1세 이하의 혈청을 검사하여 그 중 형광반응이 없는 것을 음성 대조 혈청으로 선택하여 매 염색시 포함시켰다. 항체가 판독기준은 핵부위의 형광반응이 강하게 나타나는 가장 높은 희석농도로 하였으며, 항체가가 1:8 이상이면 양성으로 판정하였다.

3. 통계 처리

기하 평균 항체가의 계산에는 양성 항체만을 포함시키고, 역가가 512 이상인 경우에는 512로 계산하였으며, 연령군간의 차이를 보기 위하여 ANOVA를 이용한 Tukey's studentized range test를 사용하였다. 항체 보유율의 연령군간의 차이를 보기 위하여 χ^2 -test를 시행하였다. 유의성 검정은 모두 $p < 0.05$ 로 하였다.

결 과

총 210명중 남아는 123명, 여아는 87명이었으며 항체 양성율은 남아 89.4%, 여아 90.8%로 통계학적으로 유의한 차이가 없었고($p > 0.05$; χ^2 -test), 기하평균항체가도 남아는 80 ± 45 (S.D.), 여아는 87 ± 49 (S.D.)로 성별간에 유의한 차이가 없었다($p > 0.1$; student t-test). 전체적으로는 210명중 189명이 양성으로 판정되어 항체양성율이 90%였으며 기하평균항체가는 83이었다(Table 1). 각 연령군의 항체가, 기하평균항체가 및 항체양성율은 Table 2와 같다. 신생아-2개월군의 기하평균항체가 및 항체양성율은 103, 90%로서 매우 높았으며, 그 다음 연령군인 3~11개월군에서는 47, 80%로 가장 낮았다. 그 이후 연령에서는 항체가가 비교적 일정

Table 1. Sex Specific Positive Rate and Geometric Mean Titer of CMV Antibody

Sex	No. of tested	No. of positive	Positive rate* (%)	Geometric mean titer** (\pm S.D.)
Male	123	110	89.4	80 ± 45
Female	87	79	90.8	87 ± 49
Total	210	189	90	83 ± 46

* $p > 0.05$ (χ^2 -test)

** $p > 0.1$ (Student t-test)

Table 2. Prevalence and Titers of CMV Antibody in Various Age Groups

Age group	No. of sera tested	No. of sera with antibody titer of									Geometric mean titer* (\pm S.D.)	Positive rate (%)
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512		
0 - 2m	30	1	2		4	3	2	5	5	8	103 \pm 67	90
3 - 11m	30	3	3	4	2	4	7		1	6	47 \pm 33	80
1 - 3y	30	5	1		3	1	5	5	5	5	108 \pm 60	80
4 - 6y	30	3		1	1	4	8	5	4	4	96 \pm 45	90
7 - 9y	30	1			3	6	4	9	3	4	91 \pm 42	97
10 - 12y	30	1			6	7	9	2	2	3	58 \pm 27	97
13 - 15y	30	1			2	7	7	4	2	7	98 \pm 49	97
Total	210	15	6	5	21	32	42	30	22	37	83 \pm 46	90

* geometric mean titer of positive sera.

하였으며, 항체양성율은 연령이 증가함에 따라 증가하여, 7~9세가 되면 항체양성율이 이미 97%에 달하였고 그 이후 연령에서는 일정하였다. 그러나 각 연령군간의 항체양성율($p>0.05$; χ^2 -test) 및 기하평균항체가 ($p>0.05$; ANOVA)의 차이는 통계학적으로 유의하지는 않았다.

고 찰

일반적으로 CMV항체 보유율은 그 인구의 사회경제적 수준에 따라 다르다⁹⁻¹¹⁾. 예를 들어 선진국의 사회경제적 수준이 높은 성인들의 항체 보유율이 약 40%로 낮은 반면, 선진국의 사회경제적 수준이 낮거나 또는 개발도상국의 성인들은 거의 대부분이 항체를 보유하고 있다. 우리나라의 경우 박⁸⁾, 김등¹²⁾의 보고에 의하면 임신부의 항체 보유율이 98.8%, 93.4%에 달하는데, 이러한 높은 항체보유율 및 태반을 경유한 모체항체(maternal antibody)로 인하여 본 조사에서 신생아~2개월군의 기하평균항체가와 항체양성율이 높게 나온 것으로 생각된다. 그리고 모체항체는 보통 6개월이 되면 영아의 혈액에서 소실되는데, 이러한 현상때문에 3~11개월군의 항체양성율 및 항체가가 감소한 것으로 생각된다. 그 이후 연령군에서는 1세부터 9세까지 연령이 증가함에 따라 항체양성율이 증가하여 3세 이전에 이미 80%가, 7~9세때는 거의 대부분이 항체를 보유하고 있는데, 김등⁷⁾이 보고한 우리나라 건강한 성인에서의 항체보유율이 98%인 것을 참조하면 우리나라 소아들은 1세 혹은 1

세 이전부터 9세 사이에, 그 중 특히 주로 3세 이전에 CMV에 감염되는 것으로 생각된다. 또한 CMV항체 보유율의 차이는 어린 연령에서 더욱 심하다. 즉 본 조사에서는 1세만 되면 80%의 높은 양성율을 보였는데 이러한 결과는 일본¹³⁾, 인도¹⁴⁾, 칠레등¹⁰⁾에서의 보고와 유사하다. 반면 스웨덴¹⁵⁾에서는 2~4세, 5~7세대의 항체보유율이 20%, 런던¹⁶⁾에서는 5세 이하때의 항체보유율이 4%에 불과하다.

CMV에 대한 항체를 측정하는 방법으로는 보체결합 반응법, 간접혈구응집검사법, 면역형광검사법, 효소면역검사법등이 있다. 보체결합반응법은 시행하기 간단하고 다량의 혈청을 검사하기에 적절하여 많이 사용되어 왔지만 다른 검사법에 비해 민감도가 낮은 것이 가장 큰 단점이다. 효소면역검사법은 간단하고 신속하며 결과판독이 객관적이고 민감도 및 특이도가 높아서 최근 많이 쓰이는 방법이지만, 항체역가를 구하기 위해서는 많은 비용이 요구된다¹⁷⁾. 면역형광검사법에는 간접면역형광검사법과 항보체면역형광검사법이 있는데, 민감도와 특이도가 높고 다른 검사법에 비하여 비교적 경제적으로 항체역가를 구할 수 있다. 인간 섬유아세포는 CMV에 감염시 Fc-수용체가 발현되어, 간접면역형광법으로 검사시 IgG가 비특이적으로 섬유아세포에 부착되므로 결과 판독이 어려운 반면, 항보체면역형광검사법은 이러한 영향을 받지 않는다^{18,19)}.

본 조사에서는 양성 및 음성 대조 혈청없이 판독을 하였는데, 이 점이 이번 조사의 결함이라고 생각된다. 즉, 연장아의 혈청 중 핵부위에 강하게 형광반응이 나타난

것을 양성 대조 혈청, 1세 이하의 혈청 중 형광반응이 전혀 없는 것을 음성 대조 혈청으로 여기고 판독을 하였는데, 실제 이러한 판독 및 결정도 IgG의 Fc-수용체에 대한 비특이적 결합이 없는 항보체 면역형광검사법의 장점 때문에 가능하였던 것으로 생각된다.

본 조사결과를 바탕으로, 앞으로 어린 연령에서의 CMV항체 보유율의 변화 양상을 보다 더 자세히 알기 위한 조사가 시행되어야 할 것으로 생각된다.

결 론

1990년부터 1991년까지 서울대학교 어린이 병원에 내원한 신생아에서부터 15세까지의 환아들중 7군의 연령별로 각 30명씩 총 210명을 대상으로 항보체면역형광 검사법을 사용하여 CMV에 대한 항체보유율 및 그 역가를 조사하였다.

1) 전체적인 항체 양성율 및 기하평균항체가는 각각 90%, 83이었다.

2) 성별에 따른 항체양성율, 기하평균항체가는 차이가 없었다.

3) 연령별 항체양성율 및 기하평균항체가는 신생아-2개월군에서 90%, 103으로 매우 높았다가, 3-11개월군에서는 80%, 47로 가장 낮았다. 그 이후 연령에서는 항체양성율은 연령에 따라 증가하여 7~9세가 되면 이미 97%에 달하였고, 기하평균항체가는 비교적 일정하였다.

결론적으로 우리나라 소아들은 3세 이전에 이미 80%가, 7~9세경에는 거의 대부분이 항체를 보유하고 있어서, 주로 1세 이전부터 9세 사이에 CMV에 감염되는 것으로 생각된다.

REFERENCES

- 백승근, 심태섭 : ELISA법에 의한 학동기전 아동의 거대세포 바이러스에 대한 항체 보유율. 한국의과학 18:46-50, 1986
- 조용거, 심태섭 : ELISA법에 의한 국민학생이 거대세포 바이러스에 대한 항체 보유율. 중앙의대지 7:407-411, 1982
- 임인석, 심태섭 : ELISA법에 의한 안성지역 국민학생의 거대세포 바이러스 항체 보유율. 한국의과학 17:56-61, 1985
- 김철하, 심태섭 : 여중학생의 풍진 바이러스 및 거대세포 바이러스에 대한 항체 보유율. 중앙의대지 7:247-252, 1982
- 심연경 : 서울지역 현혈자를 대상으로 실시한 Cytomegalovirus의 보체결합항체 보유율에 관한 조사. 한국역학회지 3:99-104, 1981
- 오영철, 최범열, 김종암, 조명준 : 현혈자에서의 Cytomegalovirus의 IgG, IgM 항체검출율에 관한 연구. 대한 혈액학회지 24:75-79, 1989
- 김유겸, 김대원 : Anticomplement Immunofluorescence 검사법을 이용한 건강한 성인의 Hman Cytomegalovirus에 대한 항체가의 조사 연구. 감염 24:87-92, 1992
- 박혜경 : 한국인 임산부의 Cytomegalovirus와 Herpes Simplex Virus의 보체결합항체 보유에 관한 연구. 이화의대지 7:191-197, 1984
- Cabau N, Labadie MD, Vesin C, Feingold J, Boue A: Seroepidemiology of cytomegalovirus infections during the first years of life in urban communities. Arch Dis Child 54:286-290, 1979
- Stagno S, Dworsky ME, Torres J, Mesa T, Hirsh T: Prevalence and importance of congenital cytomegalovirus infection in three different populations. J Pediatr 101:897-900, 1982
- Onorato IM, Morens DM, Martone WJ, Stansfield SK: Epidemiology of cytomegaloviral infections: Recommendations for prevention and control. Rev Infect Dis 7:479-497, 1985
- 유승일, 김선행, 홍성봉 : 한국 임부의 TORCH 병원체에 대한 항체 보유에 관한 연구. 고려의대논문집, 22:233-241, 1985
- Numazaki Y, Yano N, Morizuka T, Takai S, Ishida N: Primary infection with human cytomegalovirus: virus isolation from healthy infants and pregnant women. Am J Epidemiol 91:410-417, 1970
- Mukundan P, Jadhav M, John TJ: Prevalence of cytomegalovirus antibody in young children in Vellore. Indian J Med Res 65:589-592, 1977
- Carlström G: Virologic studies on cytomegalic inclusion disease. Acta Paediatr Scand 54:17-23, 1965
- Stern H, Elek SK: The incidence of infection with cytomegalovirus in a normal population. A serological study in Greater London. J Hyg(Camb) 63:79-87, 1965
- Booth JC, Hannington G, Bakir TMF, Stern H, Kangro H, Griffiths PD, Heath RB: Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay, radioimmunoassay, complement fixation, anticomplement

- immunofluorescence and passive haemagglutination techniques for detecting cytomegalovirus IgG antibody. J Clin Pathol 35:1345-1348, 1982*
- 18) Griffiths PD, Buie KJ, Heath RB: *A comparison of complement fixation, indirect immunofluorescence for viral late antigens, and anti-complement immunofluorescence tests for the detection of cytomegalovirus specific serum antibodies. J Clin Pathol 31:827-831, 1987*
- 19) Rahman AA, Teschner M, Sethi KK, Brandis H: *Appearance of IgG(Fc) receptor(s) on cultured human fibroblasts infected with human cytomegalovirus. J Immunol 117:253-258, 1976*
-