

효소 면역 검정법에서 음성인 후천성 면역 결핍증 환자의 부검 1예

울산대학교 의과대학 내과학교실, 미생물학교실*, 병리학교실†

정준원 · 류지소 · 정진원 · 강수진 · 박이내 · 조영걸* · 강신광† · 우준희 · 김양수

A Case of ELISA Negative Diagnosed by Polymerase Chain Reaction - An Autopsy Case -

Jun-Won Chung, M.D., Jiso Ryu, M.D., Jin-Won Chung, M.D., Soo-Jin Kang, M.D.,
I-Nae Park, M.D., Young Keol Cho, M.D.*, Shin Kwang Khang, M.D.†
Jun-Hee Woo, M.D. and Yang Soo Kim, M.D.

Division of Infectious Diseases, Departments of Microbiology and Pathology†,
Asan Medical Center, College of Medicine, University of Ulsan, Seoul, Korea*

The diagnosis of Human Immunodeficiency Virus (HIV) infection is established serologically. The screening test of HIV infection is enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and its sensitivity ranges from 93 to 100%. The false negative results of ELISA can occur during primary HIV infection and late stage AIDS patients. Patients who are clinically suspicious HIV infection but repeatedly negative ELISA should be evaluated with serologic assays and method for directly

detecting viral antigen and nucleic acid. We report an autopsy case of 32 year-old man who was repeatedly negative in ELISA, and was diagnosed by polymerase chain reaction (PCR) and p24 antigenemia assay. We observed the microglial nodule in the brain, which was the pathologic basis for the clinical HIV encephalopathy. (Korean J Infect Dis 33:227~230, 2001)

Key Words : ELISA, AIDS, PCR, Autopsy, Microglial nodule

서 론

후천성 면역결핍 증후군(acquired immunodeficiency syndrome, 이하 AIDS)은 말초 혈액내 CD4+ 림프구의 감소와 이로 인한 면역저하로 기회 감염증, 카포지 육종 등의 악성 종양 및 신경계 증상이 발현하는 것이 특징이다. AIDS 발현 이전에 인면역결핍 바이러스(human immunodeficiency virus, 이하 HIV) 감염을 진단하는 것이 중요하다는 것은 주지의 사실이며, 선별검사로 많이 사용하는 효소면역검사(enzyme linked immunosorbent assay; ELISA)의 민감도는 93~100%이다¹⁾.

우리 나라에서 1985년 HIV 항체 양성 환자가 처음 보고되었고, 이 등이 1989년 처음으로 부검 소견을 발표하였다²⁾. 그러나 아직까지 우리 나라에서 AIDS 환자에서 HIV ELISA 검사에서 음성이었으나 HIV 중합효소 반응(polymerase chain reaction; PCR)과 p24 항원검사에서 양성으로 염기 서열상에서 HIV-1 감염을 확진한 경우는 없었다. 이에 저자들은 주폐포자충 폐렴으로 발현한 AIDS 34세 남자 환자에서 반복된 ELISA에서 음성을 보였지만 PCR과 p24 항원검사에서 양성을 보여 확진한 부검 1예를 경험하였기에 문헌고찰과 함께 보고하는 바이다.

증 례

34세 남자환자가 1주일 전부터의 기침과 객담을 주소로 내원 하였다. 환자는 10년 전 B형 간염 항원 보균자라 들었

접수: 2001년 2월 7일, 승인: 2001년 2월 28일
교신저자: 우준희. 울산의대 서울중앙병원 감염내과
Tel: (02)3010-3300, Fax: (02)3010-6970
E-mail: junheewoo@amc.seoul.kr

고 수차례 동성 연애 경험이 있으나 수혈의 과거력은 없었다. 내원 2개월 전 피로감, 식욕부진, 12 kg의 체중감소가 있어, 1개월 전 외부병원에서 1주일간 투약 받았으나 증상의 호전이 없었다. 내원 1주일 전부터 기침과 간헐적으로 객담에 피가 섞여 나와서 응급실을 통하여 입원하였다.

입원 당시 체온은 37.5℃, 맥박수 80회/분, 호흡수 40회/분, 혈압 140/90 mmHg이었다. 만성 병색을 보이고 있었으며 의식은 명료하였다. 두경부 진찰은 정상이었고 액와부의 림프절은 만져지지 않았다. 흉부 청진시 수포음이나 천명음은 들리지 않았고 복부와 사지에 특이 소견은 없었다.

말초 혈액 검사에서 혈색소 8.8 g/dL, 혈구량 26.4%, 백혈구 1,600/mm³ (호중구 76%, 림프구 10%, 호산구 0.6%, 단핵구 12%), 혈소판 74,000/mm³였다. 생화학 검사에서 aspartate aminotransferase (AST) 70 IU/L, alanine aminotransferase 61 IU/L, total bilirubin 0.9 mg/dL, protein 5.5 g/dL, albumin 2.8 g/dL, lactic acid dehydrogenase 1108 IU/L, uric acid 2.9 mg/dL, blood urea nitrogen 3 mg/dL, creatinine 0.6 mg/dL, sodium 137 mEq/L, potassium 3.2 mEq/L, chloride 103 mEq/L이었다. T 세포의 분석에서 CD4+ 림프구는 12/mm³, CD8+ 림프구는 56/mm³였다. 동맥혈 분석검사서 pH 7.444, pCO₂ 34.9 mmHg, PO₂ 98.7 mmHg, 탄산염 24 mEq/L, 산소포화농도는 98%였다. 흉부 X선 검사에서는 정상 소견을 보였다.

입원 1일째 범혈구감소증에 대하여 골수검사를 시행하였고 골수이형증에 합당한 소견을 보였다. 입원 이후 후천성 면역 결핍증을 의심하고 세차례 ELISA (Roche®)를 시행하였지만 모두 음성이었다. 입원 6일째 지속되는 발열로 경험적으로 cefazolin과 gentamicin을 투여하였다. 입원 7일째 기관지 내시경을 시행하였으나 기관지내 병변은 없었으나 결핵 PCR에서 양성을 보였다. 입원 11일째 시행한 흉부 X선 검사에서 심비대는 없었고 양측 폐야에서 미만성 간질성 침

윤을 보이고 있었다. 기억력과 의식상태변화로 지남력 장애를 보이기 시작했다. 입원 12일에 항 결핵 요법을 시행하였다. 입원 13일째 시행한 HIV PCR과 p24 항원 검사에서 양성 반응을 보였다(Figure 1). 입원 21일에 기관지 폐포 세척술을 시행하였고 직후 급성 호흡 부전으로 기계호흡을 시작하였으며 Calcoflour white 염색에서 주폐포자충 양성을 보여 입원 22일에 trimethoprim-sulfamethoxazole과 methylprednisolone을 정주 하기 시작하였다. 그러나 환자 상태는 점점 악화되어 입원 34일에 급성신부전과 상부 위장관 출혈로 사망하였고 부검을 시행하였다.

부검 소견에서 외포 및 육안소견으로 사체는 몸무게 73.6 kg 신장은 170 cm에 전반적으로 부종이 있었다. 피부는 황색이었다. 늑막 삼출액이 양측에 있었으나 벽측, 폐쪽 늑막은 모두 매끈하였고 유착은 없었다. 염증성 삼출액을 동반한 미만성의 폐경화가 우상엽과 우하엽 그리고 좌상엽에 있었다. 종괴나 공동은 보이지 않았다. 복강내에서 간은 30×18×12 cm이었으며 그 무게는 1,980 g이었다. 절단면에 미만성의 소결절 경화 양상을 보였다. 비장은 14×10×4.5 cm였고 229 g이었다. 좌신은 12×7×5 cm, 183 g이었고 우신은 13×7×6 cm, 225 g이었고 울혈되어 있었으며 다른 형태학적 이상은 없었다. 뇌는 15×12×9 cm, 1,900 g이었다. 지주막하 출혈이 있었으나 절단면은 백질과 회질에서 다른 이상소견은 없었다.

조직학적 이상소견은 주로 림프절과 비장, 폐, 뇌에서 관찰되었다. 림프절은 정상적인 여포구조들이 소실되었으며 림프구의 수가 감소된 반면 적혈구를 탐식하고 있는 조직구들이 많이 침윤되어 있었다(Figure 2). 면역조직화학 염색하에서 남아있는 림프구들은 대부분 CD8+ 세포들이었으며 CD4+ 림프구와 B 림프구는 심한 소실로 거의 관찰되지 않았다. 비장 역시 백수질이 거의 모두 소실되어 있었다. 폐는 미만성으로 폐포내에 거품모양의 삼출액이 차있었고 폐

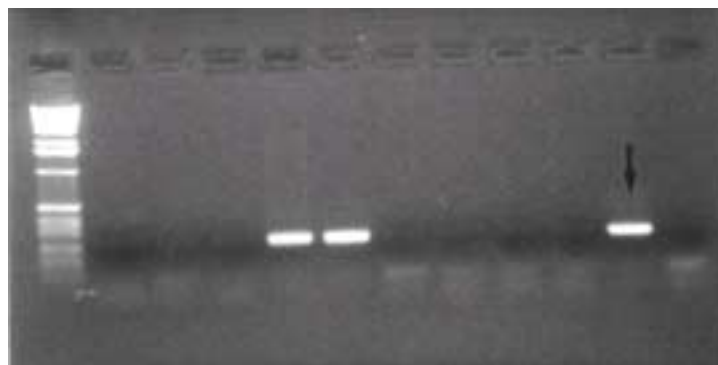


Figure 1. RT-PCR using primer 523/526 show positive result.

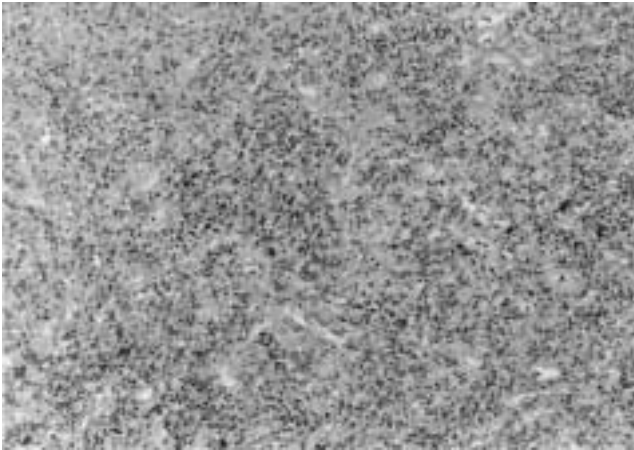


Figure 2. Lymph node : Lymphoid follicles are effaced and numbers of lymphocyte are markedly decreased (H&E stain, $\times 100$).

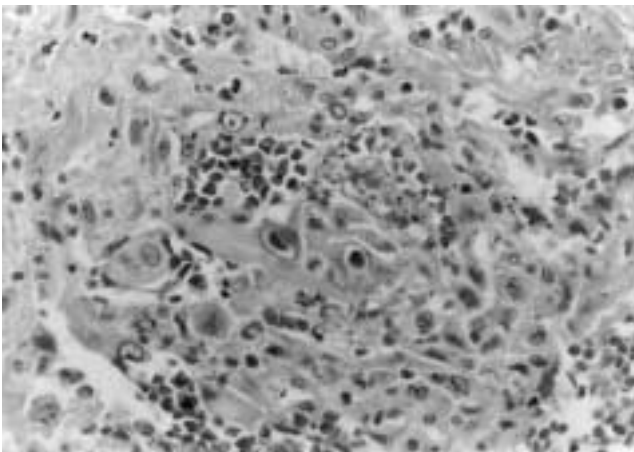


Figure 3. Lung : Two cytomegalic cells with large intranuclear viral inclusions at the center of the figure (H&E stain, $\times 400$).

포간질은 육아조직에 의해 두꺼워져 있었다. 부분적으로 중성 백혈구의 침윤이 관찰되기는 하였으나 림프구의 침윤은 매우 미약하였다. 폐포내의 거품모양의 삼출액은 주폐포자주충 감염을 암시하는 소견이나 Gormori's methenamine silver 염색에도 균주는 발견할 수 없었다. 폐조직 여러 곳에서 핵내에 바이러스 봉입체를 가진 거대세포들이 관찰되어 거대세포 바이러스 감염을 확인할 수 있었으며 소수의 효모균을 닮은 진균의 군체가 관찰되었다(Figure 3). 뇌에서는 주로 백질내에 다수의 소교세포 결절(microglial nodule)들이 관찰되었으나 거대세포들은 관찰되지 않아 HIV에 의한 뇌염의 소견이다(Figure 4). 우리나라에서 후천성면역결핍증 환자 부검 소견은 몇몇 증례에서 보고되었지만, HIV encephalopathy가 부검에서 확인된 것은 이번 증례가 처음이다.

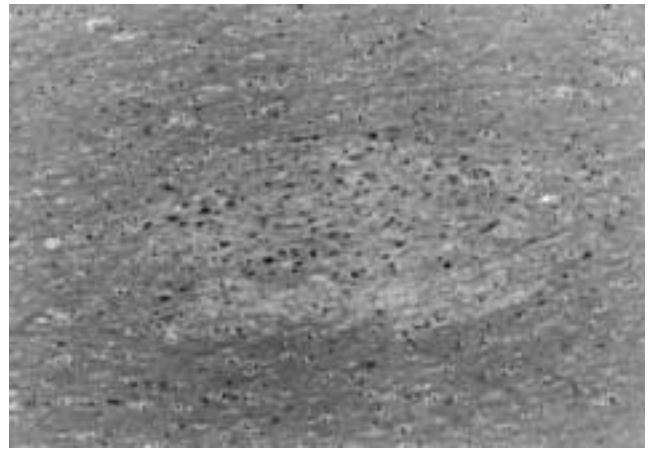


Figure 4. Brain : A microglial nodule in white matter (H&E stain, $\times 200$).

소교세포 결절들은 주로 전두엽, 뇌교, 연수의 백질에서 관찰되었다. 소교결절 이외에 전두엽의 피질에서 소수의 미세 경색이 관찰되었으나 세균이나 진균의 군체는 확인되지 않았다. 간에서는 심한 지방변성과 문맥주의 섬유화를 동반한 간염의 소견이 관찰되었다.

고 찰

HIV 감염의 진단은 특이한 HIV 항체를 혈청학적으로 증명하거나 HIV 자체나 그 성분을 직접 증명하는 방법으로 이루어진다. 임상적으로 AIDS의 발현 이전에 HIV의 감염을 진단하는 것은 HIV 치료가 발달하고 주산기 감염을 예방할 수 있으므로 점차 중요시 되고 있다. 선별검사로서 ELISA 검사가 주로 사용되고 항원으로 HIV-1과 HIV-2가 모두 들어있는 것을 사용하며 1994년 이후 O군 항원을 검사에 추가함으로써 변이종에 대한 민감도를 호전할 수 있었다⁴⁾. 이러한 ELISA 검사에 위음성을 보이는 경우는 HIV 감염 초기이거나 말기 후천성면역결핍증으로 면역이 저하된 환자, 검체를 잘못 수송하는 경우 등이다^{5, 6)}. 이러한 위음성의 보고 때문에 반복해서 ELISA 검사를 시행하고 이차 정성 반응으로 확진하도록 추천하고 있다⁷⁾. 이러한 이차 정성반응으로 가장 흔하게 사용되는 방법이 Western blot이다. 보통 p24, gp120/160, gp41 가운데 2개 이상 검출이 되면 양성으로 보고한다. 하지만 상염화된 검사는 O그룹 단백질을 가지고 있지 않고 비 B군 아형 감염을 발견하지 못하며 HIV-2 감염의 20%에서 음성을 보인다⁸⁻¹⁰⁾.

HIV 감염의 위험이 있고 임상적 증상이 후천성 면역 결핍증에 해당하나 ELISA 검사에 음성인 경우는 현재 사용되

고 있는 혈청검사에서 발견되지 않는 흔하지 않은 아형을 고려해야한다. p24 항원검사는 이러한 경우 양성을 보일 수 있고 항체측정에 동반되는 window period에도 진단할 수 있어 HIV 감염에 매우 특이적이다. 과거에는 항바이러스 제제에 대한 반응을 알기 위해 정량적으로 측정되었지만 현재는 혈청 RNA농도로 대체되고 있다. 바이러스 배양은 극히 제한된 전문 연구기관에서만 시행되므로 배양에 의한 진단은 현실적이 되지 못한다.

전구 바이러스 DNA (proviral DNA)의 검출은 특이한 소핵산 시발물질(oligonucleotide primer)을 효소적으로 증폭하는 방법을 사용하는 PCR 방법을 사용한다. 이러한 방법은 전혈에서 용해방법을 사용하여 말초혈액 단백구를 분리하여 시행한다. 본 예의 경우에서도 이러한 방법을 사용하였고 2차 PCR 산물로부터 직접적인 배열순서를 증명하였다¹¹⁾. 이러한 방법의 민감도는 95% 이상 특이도는 98%로 알려져 있다. 위음성인 경우는 취급상의 잘못이나 시발물질 결합부위에서의 연쇄의 변이, 낮은 전구 DNA 복사물질이 존재하는 경우 등이다^{12, 13)}. 이러한 모든 혈청검사에서 음성을 보인다면 특발성 CD4+ 림프구 결핍증을 고려해야 한다. 하지만 이러한 진단을 내리기 위하여서는 감염되지 않는다는 것을 역학적으로 증명하여야 하며 모든 항체검사에서 음성을 보여야 한다^{14, 15)}.

이제 국내에서도 HIV 감염 환자가 늘어나는 추세이다 본 예에서와 같이 임상적으로 AIDS가 의심되나 선별검사에의 음성 결과를 보인다면 감염 초기를 고려하여 재차 ELISA 검사를 시행하여야 하고, 계속해서 음성을 보인다면 흔하지 않은 아형을 고려하여 바이러스를 직접 증명할 수 있는 혈청학적 방법으로 확진하여야 한다.

요 약

저자들은 34세 남자 환자에서 주폐포자충 폐렴으로 발현한 AIDS 환자에게서 반복되는 ELISA에서 음성을 보였지만 PCR과 p24 항원검사에서 양성을 보여 확진한 1예를 경험하였고 부검을 시행하였기에 문헌 고찰과 함께 보고하는 바이다.

참 고 문 헌

1) Bylund DJ, Ziegner UH, Hooper DG : Review of testing for human immunodeficiency virus. *Clin Lab Med* 12:303-305, 1992

2) Lee GK, Lee YS, Park SH, Chi JG, Kim YI, Choe KW : Acquired immunodeficiency syndrome-Report of an autopsy case. *J Korean Med Sci* 4:103-109, 1989

3) Bachmann P, Beyer J, Brust S : Multicenter study for diagnostic evaluation of an assay for simultaneous detection of antibodies to HIV-1, HIV-2 and HIV-1 subtype O (HIV-O). *Infection* 23:322-333, 1999

4) Farzadegan H, Taylor E, Hardy W : Performance of serologic assays for early detection of human immunodeficiency virus type 1 seroconversion. *J Clin Microbiol* 27:1882-1884, 1989

5) Farzadegan H, Polis MA, Wolinsky SM : Loss of human immunodeficiency type 1 (HIV-1) antibodies with evidence of viral infection in asymptomatic homosexual men. A report from multicenter cohort study. *Ann Intern Med* 108:785-799, 1998

6) Centers for Disease Control : Interpretation and use of Western blot assay for serodiagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infection *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 38(S-7):1-7, 1989

7) Gurtler L : Difficulties and strategies of HIV diagnosis. *Lancet* 348:176-179, 1996

8) Gurtler LG, Zekeng L, Tsaque JM, et al. : HIV-1 subtype O : Epidemiology, pathogenesis, diagnosis, and perspectives of the evaluation HIV. *Arch Virol (Suppl)* 11: 195-202, 1996

9) Jaffe HW, Schonchetman G : Group O human immunodeficiency virus-1 infection. *Infect Dis Clin North Am* 12:39-46, 1998

10) Cho YK, Lee HJ, Sung HS, Kim YK, Kim YB, Lee YJ, et al. : Detection of mutation to zidovudine in pol gene of human immunodeficiency virus-1 by direct sequencing. *J Korean Soc Virol* 29:271-281, 1999

11) Barlow KL, Tosswill JH, Parry JV, Clewley JP : Performance of Amplicor human immunodeficiency virus type 1 PCR and analysis of specimen with false negative result. *J Clin Microbiol* 35:2853-2856, 1997

12) Barlow KL, Tosswill JH, Clewley JP : Analysis and genotyping of PCR product of the Amplicor HIV-1 kit. *J Virol Methods* 52:65-74, 1995

13) Centers for Disease Control and Prevention : Unexplained CD4+ depletion without evident of HIV infection-United States. *Morb Mortal Wkly Rep* 41:541-545, 1992

14) A Sinicco, A Maiello, R Raiteri, M Sciandra, G Dasso, C Zamproga : *Pneumocystis carinii* in a patient with pulmonary sarcoidosis and idiopathic CD4+ T lymphocytopenia. *Thorax* 51:446-447, 1996