원 저

항원혈증 검사법을 이용한 HCMV 질환의 신속한 진단 : pp65 항원혈증 검사와 중합효소연쇄반응 검사의 비교

서울대학교 의과대학 내과학교실, 진단의학과교실†
김의석* · 이보빈 · 박완범 · 신종욱 · 오명돈 · 김의종† · 최강원

Rapid Diagnosis of HCMV Diseases by pp65 Antigenemia Assay : Comparison of pp65 Antigenemia with Polymerase Chain Reaction

Uiseok Kim, M.D.*, Bo Bin Lee, Wan-Bum Park, M.D., Jong Wook Shin, M.D., Myoung-Don Oh, M.D.
Eui Chong Kim, M.D.† and Kangwon Choe, M.D.
Department of Internal Medicine and Department of Laboratory Medicine†, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : The present study was performed to evaluate clinical usefulness of pp65 antigenemia assay (pp65 Ag), plasma polymerase chain reaction (P-PCR) and peripheral blood mononuclear cell PCR (PBMC-PCR) in patients with cytomegalovirus (CMV) diseases.

Methods : Sixty samples from 41 patients admitted in Seoul National University Hospital from Sep, 2001 through Feb, 2002 were evaluated. Twenty-eight patients who had symptoms and signs of CMV disease and 13 patients who were asymptomatic were tested for CMV infection. Among 60 samples, 59 samples were tested for pp65 Ag by Clonab CMV kit (Biotest, Dreieich, Germany). Fifty-six samples were tested for P-PCR and PBMC-PCR, respectively.

Results : Fifteen (25%) out of 59 samples showed positive by pp65 Ag, 16 (29%) and 24 (43%) out of 56 samples showed positive by P-PCR and PBMC-PCR, respectively. The concordance rate of pp65 Ag and P-PCR in the same blood sample was 82%. CMV disease was diagnosed in 15 (37%) patients. The sensitivities of pp65 Ag, P-PCR and PBMC-PCR were 60, 53 and 80%, respectively, and in specificities were 96, 92, 88%, respectively. Of the 15 patients with CMV diseases, 4 patients who underwent allogenic bone marrow transplantation showed positive results by all the three assays, and the number of pp65 positive cells in these patients was high ($3-30/4\times10^5$). Eight out of the 15 patients with CMV diseases had CMV gastroenteritis. Four of them showed positive by pp65 Ag(the number of pp65 positive cells : $1-3/4\times10^5$) and 2 patients showed positive by P-PCR.

Conclusion : The senstivity of PBMC-PCR was high and the specificity was relatively low. It is quite likely PBMC-PCR was not able to distinguish CMV reactivation from latent infection. The sensitivity and specificity of pp65 Ag were similar to those of P-PCR. CMV pp65 positive cells could be quantitated by pp65 Ag.

Key Words : Cytomegalovirus, Antigenemia, Polymerase chain reaction

서 론

거대세포바이러스(cytomegalovirus, CMV)는 주산기에 일차감염을 일으킨 후 다핵백혈구, T 림프구, 혈관내피조직, 신장상피세포, 침샘 등에 잠복 감염 상태로 존재한다. 거대세포바이러스 감염률은 지역과 연령, 사회경제적 수준에 따라 다

*현주소 : 인제대학교 의과대학 서울백병원 내과
본 연구는 서울대학교병원 신진연구비(05-1997-001-0)의 일부 지원으로 수행되었음.
접수 : 2002년 10월 7일, 승인 : 2003년 1월 15일
교신저자 : 오명돈, 서울시 종로구 연건동 28
서울대학교 의과대학 내과학교실
Tel : 02)760-2945, Fax : 02)762-9662
E-mail : mdohmd@snu.ac.kr

르다. 이 등은 우리나라 사람들 대부분이 7-9세 이전에 거대세포바이러스에 감염된다고 보고하였다(1).

고형장기이식 혹은 골수이식 수혜자, 후천성면역결핍증 환자 등의 면역저하자가 증가하면서 거대세포바이러스의 재활성화로 인한 질환이 늘어나고 있다. 거대세포바이러스질환은 면역저하자에서 여러 가지 합병증을 일으켜 사망에 이르게 할 수 있다. 거대세포바이러스 질환을 치료할 수 있는 항바이러스제가 개발되어 사용되고 있으나 단순한 바이러스의 감염상태와 질병상태를 구별할 수 있는 검사법이 확립되어 있지 않아서 정확한 치료시기를 결정하기가 어렵다.

거대세포바이러스 감염을 진단하는 방법에는 바이러스 배양, 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction : PCR), 혈청학적 검사, pp65 항원혈증(antigenemia) 검사 등이 있다. 거대세포바이러스를 배양하려면 수 주가 걸리므로 배양검사는 임상적으로 유용하지 않고(2) 항체 검사는 우리나라의 높은 항체 양성률로 인해 임상적인 의미를 갖지 못하는 경우가 많다. 중합효소연쇄반응 검사와 항원혈증 검사가 빠른 시간 내에 거대세포바이러스의 감염 여부를 진단할 수 있는 방법으로 흔히 이용되고 있다.

Mandanas 등은 거대세포바이러스에 감염된 면역저하자에게 거대세포바이러스질환이 생길 가능성을 예측하여 선제요법(preemptive therapy)을 하는 것이 치료제인 ganciclovir의 부작용을 최소화하면서 거대세포바이러스질환의 발생을 줄일 수 있다고 보고하였다(3). 중합효소연쇄반응 검사와 항원혈증 검사는 거대세포바이러스질환이 발생할 가능성을 예측할 수 있는 지표로 알려져 있다(4, 5). 그러나 아직 표준화된 검사방법이 확립되어 있지 않고 우리나라처럼 거대세포바이러스 감염률이 높은 나라에서도 동일하게 적용할 수 있는지에 관한 연구는 별로 없는 실정이다.

저자들은 본 연구를 통해 우리나라에서 거대세포바이러스 질환의 진단을 위한 항원혈증 검사와 중합효소연쇄반응 검사의 임상적인 유용성을 살펴보고 각 검사의 일치정도를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 대 상

2001년 9월부터 2002년 2월까지 서울대학교병원에 입원한 환자 41명에게 얻은 60검체를 대상으로 하였다. 41명 중 28명은 임상적으로 거대세포바이러스질환의 증상과 징후가 있었고 13명은 특별한 증상이 없었지만 거대세포바이러스감염에 대한 선별검사를 시행하였다.

2. 정 의

혈액, 인두, 소변에서 거대세포바이러스가 배양되거나 장기의 생검 조직에서 거대세포바이러스 특이 면역염색에 양성인 경우에 거대세포바이러스 감염으로 정의하였다. 항원혈증검사(6) 혹은 중합효소연쇄반응 검사(혈장 혹은 말초혈액단핵구)(7)에서 양성인 경우에도 거대세포바이러스 감염으로 정의하였으나 각 검사의 위양성 가능성을 고려하여 2가지 검사 모두에서 양성인 경우로 한정하였다. 거대세포바이러스 감염 소견이 있으면서 특정 장기의 증상 및 징후 즉, 간질성 폐렴, 위장관염, 간염, 망막염, 혈구감소증, 불명열 등이 있는 경우에 거대세포바이러스질환으로 정의하였다.

3. 방 법

1) 항원혈증 검사

Clonab CMV kit (Biotest, Dreieich, Germany)를 사용하여 거대세포바이러스 항원혈증 검사를 시행하였다. 전혈 3 mL를 EDTA로 항응고 처리한 후 1 mL의 pentaspan을 혈장 증량제로 첨가하였다. 상층액을 취하여 원심분리 후 용혈시켜 백혈구만을 취하였다. 세포원심으로 백혈구를 각각 2×10^5개씩 2장의 슬라이드에 고정시킨 후 pp65에 대한 단일클론성 항체인 Clonab CMV를 가하였다. Alkaline phosphatase anti-alkaline phosphatase (APAAP)를 이용하여 면역효소반응을 시켜서 400배의 광학현미경으로 관찰하였다. 2장의 슬라이드(백혈구 4×10^5개) 가운데 양성세포가 1개도 관찰되지 않으면 음성으로, 1개 이상 관찰되면 양성으로 판정하였다.

2) 중합효소연쇄반응 검사

거대세포바이러스 항원혈증 검사에 사용한 것과 동일한 검체에서 혈장과 말초혈액단핵구를 분리하여 검사를 시행할 때까지 -70℃에 보관하였다. QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하여 핵산(6 μg of DNA/200 μL of water)을 추출하여 중합효소연쇄반응을 시행하였다. $MgCl_2$ 1.25 mM, dNTP 혼합액 0.8 mM (각각 0.2 mM), 10 pmol primer 각각 2.4 μL, Taq polymerase 2.5 U를 섞어서 총 49 μL의 반응혼합액을 만들고 검체에서 추출한 template DNA 1 μL를 넣었다. 본 연구에서 사용한 primers는 Demmler 등이 개발한 MIE-4, MIE-5 (primer MIE)였다(8).

Primer MIE는 거대세포바이러스 Towne주의 major immediate early antigen의 유전자에서 유래하였으며 대응하는 염기서열 부위는 각각 731-755, 1165-1150으로서 다음과 같다.

Primer MIE-4 : 5′-CCA AGC GGC CTC TGA TAA CCA AGC C-3′

Primer MIE-5 : 5′-CAG CAC CAT CCT CCT CTT CCT CTG G-3′

GeneAmp PCR system 2400 (Perkin-Elmer, USA)을 사용하여 95℃에서 5분간 initial denaturation 시킨 후 94℃에서 2분 동안 denaturation, 63℃에서 1분 30초 동안 annealing, 72℃에서 1분 동안 elongation 시키는 과정을 총 35 cycle 시행하였고 72℃에서 7분간 final elongation을 시켰다. 반응산물은 2% agarose gel에 전기영동하여 ethidium bromide로 염색한 후 UV transilluminator 위에서 435 base pair 크기의 단일 band를 확인하였다.

결 과

1. 환자의 특성 및 기저질환(Table 1)

총 41명의 연구대상 환자 가운데 남자, 여자는 각각 24명, 17명이었고 환자들의 중간연령은 42세(10-72세)였다. 기저 질환은 혈액질환이 24예로 가장 많았고 악성림프종 및 악성종양 5예, 후천성면역결핍증 3예, 장기이식 3예, 말기신부전 2예, 불명열 2예, 궤양성 대장염 1예, 비정형 폐렴 1예였다.

Table 1. Characteristics of 41 Patients

Gender (M/F)	24/17
Median age in year (range)	42(10-72)
Underlying illness	
Hematologic diseases	
Allogenic BMT*	12
Allogenic NST†	5
Allogenic PBSCT†	1
Autologous PBSCT‡	2
Glucocorticoid	1
Chemotherapy	2
None	1
Lymphoma	2
AIDS	3
Post-transplantation	
Kidney	2
Liver	1
Others§	9

*bone marrow transplantation
†non-myeloablative stem cell transplantation
‡peripheral blood stem cell transplantation
§astrocytoma (glucocorticoid), osteosarcoma (chemotherapy), renal cell carcinoma (allogenic NST), ulcerative colitis, end stage renal disease, fever of unknown origin, atypical pneumonia

임상적으로 거대세포바이러스질환의 증상과 징후가 있었던 28명의 환자에게 45검체를 얻었고, 거대세포바이러스질환의 증상이 없었지만 거대세포바이러스의 재활성화 여부를 평가하기 위해 선별검사를 시행하였던 13명의 환자에게 15검체를 얻었다. 임상적으로 거대세포바이러스질환을 의심하였던 환자들의 45검체는 각각 혈액질환으로 동종골수이식 혹은 비골수제거성 조혈모세포이식(nonmyeloablative stem cell transplantation, NST)을 받은 환자의 25검체, 골수이식을 시행하지 않은 혈액질환 환자의 3검체, 고형장기이식을 받은 환자의 3검체, 악성림프종 환자의 3검체, 후천성면역결핍증 환자의 3검체, 기타 질환자의 8검체 등이었다.

2. 검사 성적

1) 검사 성적의 비교(Table 2)

심한 호중구감소증으로 검사를 시행하지 못한 1검체를 제외한 59검체의 거대세포바이러스 항원혈증 검사를 시행하였고 이 중 15검체(25%)가 양성이었다. 혈장과 말초혈액단핵구, 각각 56검체의 거대세포바이러스 중합효소연쇄반응 검사를 시행하였고 이 중 혈장 16검체(29%), 말초혈액단핵구 24검체(43%)에서 양성이었다. 동일한 검체에서 혈장 중합효소연쇄반응 검사와 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사의 일치율은 86%였고, 항원혈증 검사와 혈장 중합효소연쇄반응 검사는 82%, 항원혈증 검사와 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사는 78%였다.

2) 민감도와 특이도

연구대상 41예 가운데 15예(37%)를 정의에 따라 거대세포바이러스질환으로 진단하였다. 그 중 9예가 항원혈증 검사에서 양성이었고, 혈장과 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사에서는 각각 8예와 12예가 양성이었다. 세 가지 검사에 모두 양성이었던 경우는 6예였다.

Table 2. Concordance Among the Results Obtained with the 3 Assays on 60 Samples Tested

		Antigenemia*		Plasma PCR†		PBMC PCR‡	
		+	−	+	−	+	−
Antigenemia	+						
	−						
Plasma PCR	+	9	6				
	−	4	36				
PBMC‡ PCR	+	12	11	16	8		
	−	1	31	0	32		

*One sample was not tested
†Four samples were not tested
‡peripheral blood mononuclear cell

거대세포질환이 없었던 26예 가운데 25예가 항원혈증 검사에서 음성이었고, 혈장과 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사에서는 각각 24예와 23예가 음성이었다. 세 가지 검사 결과가 모두 음성이었던 경우는 23예였다. 항원혈증 검사, 혈장 중합효소연쇄반응 검사, 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사의 거대세포바이러스질환에 대한 민감도는 각각 60

Table 3. Clinical Characteristics and Results of Assays in 15 Patients with CMV Diseases

Case No.	Sex	Age	Underlying illness	CMV disease	Results						
1	F	37	Autoimmune hemolytic anemia (glucocorticoid)	Enteritis	Antigenemia*	−					
					Plasma PCR	−					
					PBMC PCR	+					
2	M	64	Malignant lymphoma	Colitis							
					Antigenemia*	3	−				
					Plasma PCR	+	−				
					PBMC PCR	+	−				
3	M	42	Liver transplantation	Panniculitis	Antigenemia*	−					
					Plasma PCR	+					
					PBMC PCR	+					
4	M	38	AIDS	Esophagitis	Antigenemia*	−	1				
					Plasma PCR	−	+				
					PBMC PCR	+	+				
5	F	30	Osteosarcoma (high dose chemotherapy)	Esophagitis	Antigenemia*	−					
					Plasma PCR	−					
					PBMC PCR	−					
6	M	35	End stage renal disease	Gastritis	Antigenemia*	−					
					Plasma PCR	−					
					PBMC PCR	−					
7	M	35	AIDS	Esophagitis	Antigenemia*	−					
					Plasma PCR	−					
					PBMC PCR	+					
8	F	53	Malignant lymphoma	Retinitis	Antigenemia*	3					
					Plasma PCR	−					
					PBMC PCR	+					
9	M	35	Amyloidosis (autologous PBSCT)	Esophagitis	Antigenemia*	1					
					Plasma PCR	−					
					PBMC PCR	−					
10	F	44	Myelodysplastic syndrome (allogenic BMT)	CMV syndrome							
					Antigenemia*	>30	+†	−	7	2	−	−
					Plasma PCR	+	+				+	+
					PBMC PCR	+	+				+	+
11	F	51	Acute leukemia (allogenic NST)	CMV syndrome	Antigenemia*	−	11					
					Plasma PCR	+	+	+				
					PBMC PCR	+	+	+				
12	M	26	Acute leukemia (allogenic BMT)	CMV syndrome								
					Antigenemia*	−	3	−				
					Plasma PCR	−	+	−				
					PBMC PCR	+	+	−				
13	F	34	Ulcerative colitis	Colitis	Antigenemia*	1						
					Plasma PCR	−						
					PBMC PCR	+						
14	M	16	Aplastic anemia (allogenic BMT)	CMV syndrome	Antigenemia*	10	+†	−	−	−	−	
					Plasma PCR	+	+	−	−	−	−	
					PBMC PCR	+	+	−	−	−	−	
15	M	10	Acute leukemia	Hepatitis	Antigenemia*	−						
					Plasma PCR	+						
					PBMC PCR	+						

*the number of pp65 positive cells/4×10^5 leukocytes
†treatment with ganciclovir
‡The number of pp65 positive cells was not assessed

%, 53%, 80%였고 특이도는 각각 96%, 92%, 88%였다.

3. 거대세포바이러스질환 15예의 임상적 특성 및 검사 성적(Table 3)

15예를 정의에 따라 거대세포바이러스질환으로 진단하였다. 위장관염이 8예로 가장 많았고 거대세포바이러스증후군 4예, 간염 1예, 망막염 1예, 피부의 지방층염(panniculitis) 1예 순이었다.

조직검사 및 특이면역염색 검사로 거대세포바이러스 위장관염 8예를 진단하였다. 위장관의 침범부위는 식도 4예, 위 1예, 소장 1예, 대장 2예였다. 8예의 기저질환은 후천성면역결핍증 2예와 악성림프종, 골육종, 궤양성대장염, 말기신부전증, 아밀로이드증(자가말초혈액조혈모세포이식 수혜자), 자가면역성용혈성빈혈(스테로이드 복용) 각각 1예씩이었다. 이들 8예 가운데 4예(50%)가 항원혈증 검사에서 양성 소견을 보였다. pp65 양성세포의 수는 3예에서 1개/4×10^5였고, 1예에서 3개/4×10^5였다. 혈장과 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사에서 각각 2예(25%)와 5예(63%)가 양성 소견을 보였다.

혈액질환으로 동종골수이식 혹은 비골수제거성 조혈모세포이식을 받은 후 혈구감소증과 불명열이 있었던 4예를 거대세포바이러스증후군으로 진단하였다. 이중 3예에서 간질성 폐렴이 발생하여 거대세포바이러스 폐렴의 가능성이 있었다. 그러나 정확한 진단을 위한 폐조직검사를 시행하지는 못했다. 거대세포바이러스증후군 4예는 항원혈증 검사와 혈장 및 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사에서 모두 양성이었다. pp65 양성세포의 수는 3개에서 30개 이상/4×10^5이었다. 항바이러스제로 치료한 경우 pp65 양성세포의 수는 줄어들거나 소실되었다. 항원혈증 검사에서 양성인 경우에 동일 검체로 시행한 혈장 및 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사에서도 모두 양성 소견을 보였다. 1예는 항바이러스제를 투여한 후 항원혈증이 소실되었으나 혈장 및 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사에서 계속 양성 소견을 보였다.

거대세포바이러스 지방층염 증례는 간이식을 받고 면역억제제를 복용하던 중에 피부 질환이 발생한 예로 피부조직의 거대세포바이러스 특이면역염색검사에서 양성 소견을 보였다. 그밖에 급성 백혈병으로 항암화학요법을 받던 중에 간염이 발생한 예와 악성림프종으로 항암화학요법을 받던 중 망막염이 발생한 예가 있었다. 이들의 검사 결과는 Table 3에 제시하였다.

고 찰

거대세포바이러스 항체 보유율은 선진국의 사회경제적 수준이 높은 성인들에서 40%, 미국의 도시 지역에서 60-70%로 알려져 있다. 반면 우리나라 건강한 성인을 대상으로 시행한 거대세포바이러스 항체 보유율은 97-98%로 매우 높게 보고되어 있다(9). 우리나라 사람들이 거대세포바이러스에 감염되는 시기는 9세 이전의 소아기로 알려져 있다(1). 본 연구 대상 환자들의 연령이 10세부터 72세까지이므로 모든 환자들이 이미 거대세포바이러스에 잠복 감염되어 있었을 것으로 생각된다.

높은 거대세포바이러스 항체보유율로 미루어 우리나라 사

Table 4. Abilities of CMV Assays to Predict CMV Disease

Study	No. of Pts	Underlying illness	Infection/Disease*	Assays	Results			
					Sensitivity	Specificity	PPV†	NPV‡
Pellegrin, et al.[11]	30	Renal transplantation	18/11	Antigenemia	100%	63%	61%	100%
				Plasma PCR	55%	74%	55%	74%
				PBL§ PCR	91%	47%	50%	90%
Shin, et al.[14]	159	Diverse‖	/4	Antigenemia	75%	100%		
				PBL§ PCR	100%	91.6%		
Tong, et al.[19]	37	Renal transplantation	22/13	Antigenemia	8%	92%	33%	65%
				Plasma PCR	54%	63%	44%	71%
				PBL§ PCR	69%	67%	53%	80%
Blank, et al.[20]	101	AIDS	/25	Antigenemia	80%	68%	47%	91%
				WB¶ PCR	96%	37%	33%	97%

*No. of cases of CMV infection/No. of cases of CMV disease
†positive predictive value
‡negative predictive value
§peripheral blood leukocyte
‖BMT, renal transplantation, screening test for CMV etc.
¶whole blood

람에게 발생하는 거대세포바이러스질환은 대부분 잠복 감염된 거대세포바이러스의 재활성화로 인해 생기는 것으로 생각된다. 거대세포바이러스가 잠복 감염되어 있는 곳은 다핵백혈구, T 림프구, 혈관내피조직, 신장상피세포, 침샘 등이다. 본 연구에서 말초혈액단핵구를 분리하여 중합효소연쇄반응 검사를 시행하였을 때에 전체 검체의 43%가 양성 소견을 보였다. 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사의 양성률은 항원혈증 검사(25%)나 혈장 중합효소연쇄반응 검사의 양성률(29%)보다 높았다. 항원혈증 검사나 혈장 중합효소연쇄반응 검사에서 양성인 검체 가운데 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사에서 음성인 경우는 1검체밖에 없었다. 반면 항원혈증 검사나 혈장 중합효소연쇄반응 검사에서 음성인 검체 가운데 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사에서 양성인 경우는 각각 11검체와 8검체였다. 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사의 양성률이 높은 것은 이 검사가 거대세포바이러스의 잠복 감염 상태와 재활성화 상태를 구별하지 못하기 때문인 것으로 생각된다.

거대세포바이러스가 재활성화 되면 바이러스가 증식하여 혈액이나 소변으로 나오게 된다. 따라서 소변이나 혈액을 배양하여 거대세포바이러스를 증명하면 재활성화 여부를 알 수 있고 면역저하자에서 향후 거대세포바이러스 질환이 발생할 가능성을 예측할 수 있다. 거대세포바이러스를 배양하는 것은 어렵고 시간이 많이 걸린다. 따라서 바이러스혈증을 증명하기 위해 거대세포바이러스의 DNA에 대한 중합효소연쇄반응 검사나 초기항원인 pp65에 대한 항원혈증 검사를 시행한다. 본 연구에서는 전체 검체 중 25%가 항원혈증 검사에서 양성이었고, 29%가 혈장 중합효소연쇄반응 검사에서 양성 소견을 보였다. 동일검체에 대한 항원혈증 검사와 혈장 중합효소연쇄반응 검사의 일치율은 82%였다. 오 등은 골수이식 환자를 대상으로 항원혈증 검사와 혈장 중합효소연쇄반응 검사의 성적을 비교하였는데 일치율이 84.9%로 본 연구결과와 비슷하였다(10). 신장이식을 받은 환자를 대상으로 한 다른 연구에서 두 검사의 일치율은 84.5%였다(11).

우리나라 사람들은 대부분 거대세포바이러스에 감염되어 있기 때문에 가검물에서 거대세포바이러스가 발견되었다고 해도 거대세포바이러스질환이라고 할 수 없는 경우가 많다. 김 등의 보고에 의하면 이식 후 거대세포바이러스 감염의 발생 빈도는 18.9%였고 9.5%에서 거대세포바이러스질환이 발생하였다(12). 박 등은 동종조혈모세포이식을 받은 성인들 45명 가운데 17명(37.8%)이 거대세포바이러스 배양검사 혹은 항원혈증 검사에서 양성 소견을 보였고 7명(15.6%)이 거대세포바이러스질환으로 진행하였다고 보고하였다(13). 신 등은 거대세포바이러스감염이 의심되는 환자들의 170 검체 중 24검체(14.1%)가 중합효소연쇄반응 검사, 항원혈증 검사, 특이항체검사 중 1개 이상의 검사에서 양성이었고 6검체(3.5%)가 거대세포바이러스질환으로 진단된 환자에게 얻은 검체였다고 보고하였다(14). 본 연구에서는 전체 41명의 환자 가운데 13명(32%)이 항원혈증 검사나 혈장 중합효소연쇄반응 검사에서 양성 소견을 보였고 그 중 11명(27%)이 거대세포바이러스질환으로 진단받았다. 4명(10%)은 항원혈증 검사나 혈장 중합효소연쇄반응 검사에서 음성이었으나 조직의 거대세포바이러스 특이 면역염색 검사에서 양성 소견을 보였다.

본 연구에서 거대세포바이러스질환으로 진단한 증례가 다른 연구에 비해 많은 것은 증상이 없는 환자로부터 선별검사 목적으로 얻은 검체보다 임상적으로 거대세포바이러스질환이 의심되는 환자로부터 더 많은 검체를 얻었기 때문으로 생각된다. 연구대상 41예 가운데 검사를 시행하기 전에 임상적으로 거대세포바이러스질환을 의심한 경우는 28예(45검체)였고 증상이 없지만 거대세포바이러스에 대한 선별검사를 시행한 경우가 13예(15검체)였다. 임상적으로 거대세포바이러스질환을 의심한 경우에 항원혈증 검사, 혈장 중합효소연쇄반응 검사, 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응에서 양성인 예는 각각 9예(32%), 8예(29%), 12예(43%)였고 선별검사에서는 각각 1예(8%), 2예(15%), 3예(23%)였다(결과를 제시하지 않음). 즉 숙주의 면역능 저하 정도, 임상적인 증상과 징후에 근거하여 거대세포바이러스질환을 의심하였을 때에 실제로 거대세포바이러스에 감염되어 있는 경우가 많았다.

항원혈증 검사와 혈장 및 말초혈액백혈구 중합효소연쇄반응 검사의 거대세포바이러스질환에 대한 민감도, 특이도, 양성예측도, 음성예측도는 다양하게 보고되어 있다(Table 4). 말초혈액백혈구 중합효소연쇄반응 검사는 혈장 중합효소연쇄반응 검사나 항원혈증 검사에 비해 민감도가 높았지만 특이도는 떨어졌는데 이는 백혈구 내에 거대세포바이러스가 잠복감염되어있기 때문으로 생각된다. 이런 소견은 본 연구에서도 비슷하였다. 대부분의 연구에서 pp65 항원혈증의 양성예측도는 33-61%로 낮은 반면 음성예측도는 65-100%로 높았다. 본 연구에서 총 41예 가운데 15예를 거대세포바이러스질환으로 진단하였고 pp65 항원혈증 검사에서 민감도, 특이도는 각각 60%, 96%였다. 양성예측도나 음성예측도를 알 수는 없었는데 이는 본 연구가 거대세포바이러스질환이 생길 가능성이 있는 환자를 대상으로 한 전향적인 연구가 아니기 때문이다. 향후 후천성면역결핍증 환자나 조혈모세포이식술을 받

은 환자 등 거대세포바이러스질환이 발생할 가능성이 있으나 특별한 증상은 없는 사람들을 더 추가하여 선별검사를 시행해 볼 필요가 있다.

본 연구에서는 4×10^5개의 백혈구 중 pp65 양성세포가 1개만 있어도 항원혈증 검사에서 양성으로 판독하였다. 또한 항원혈증 검사를 할 때 백혈구의 수를 항상 일정하게 맞추어서 (슬라이드 당 2×10^5개) pp65 양성세포수로 환자의 거대세포바이러스의 부하를 정량할 수 있었다. 항원혈증 검사에서 거대세포바이러스 항원 양성세포가 많은 경우 거대세포바이러스질환이 발생할 가능성이 더 높고 증상도 더 심한 것으로 알려져 있다(15, 16). 본 연구에서도 동종골수이식을 받은 후 면역억제정도가 심한 환자(Case No. 10, 11, 12, 14)에서 pp65 양성세포수가 많았다.

거대세포바이러스질환으로 진단된 15명의 환자 가운데 2회 이상 검사를 시행하였던 환자는 6명(Case No. 2, 4, 10, 11, 12, 14)이었다. 그 중 3명의 환자에게 항바이러스제를 투여한 후 항원혈증 검사를 추적관찰 하였다. 치료 후의 항원혈증 검사에서 pp65 양성세포는 숫자가 줄어들거나 없어졌다.

2회 이상 검사를 시행한 6예의 항원혈증 검사성적과 혈장 중합효소연쇄반응 검사성적을 비교하였다. 동일 검체에서 항원혈증 검사와 혈장 중합효소연쇄반응 검사 결과가 매번 일치한 경우는 4예(Case No. 2, 4, 12, 14)였다. 1예(Case No. 11)는 항원혈증 검사에서 pp65 양성세포가 나타나기 이전에 혈장 중합효소연쇄반응 검사에서 양성 소견을 보였다. 1예(Case No. 10)는 항바이러스제로 치료한 후 pp65 양성세포가 사라진 후에도 혈장 중합효소연쇄반응 검사에서 지속적으로 양성 소견을 보였다. 오 등은 혈장 중합효소연쇄반응 검사가 항원혈증 검사보다 양성 검출 시기가 더 빠르고 오래 지속된다고 보고하였는데 본 연구에서도 비슷한 경향을 보였다(10).

거대세포바이러스 위장관 질환은 장기이식, 후천성면역결핍증, 악성종양, 면역억제제 투여 등으로 면역력이 저하된 환자에게 발생하며 범발성 거대세포바이러스 감염증상의 일부로 나타날 수도 있다(17, 18). 본 연구에서 거대세포바이러스 위장관염 8예 가운데 6예가 후천성면역결핍증, 악성종양, 면역억제제 투여 등의 위험인자를 가지고 있었다. 그밖에도 말기신부전증, 궤양성대장염 등의 기저질환이 있었다. 거대세포바이러스 위장관염 8예 가운데 4예가 항원혈증검사에서 양성 소견을 보였다. pp65 양성세포의 수는 1-3개/4×10^5로 조혈모세포이식 후에 발생한 거대세포증후군 증례(3-30개 이상/4×10^5)에 비해 적었다. 혈장 및 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사에서 양성을 보인 예는 각각 2예와 5예였다. 위장관염 증례에서 항원혈증 검사나 혈장 중합효소연쇄반응 검사의 양성률이 상대적으로 낮고 pp65 양성세포수가 적은 것은 숙주의 면역저하정도가 심하지 않아서 거대세포바이러스의 부하가 상대적으로 낮기 때문인 것으로 생각된다.

거대세포바이러스 위장관염으로 인한 합병증으로 1예(Case No. 2)에서 장천공이 발생하였다. 항원혈증 검사 및 혈장 중합효소연쇄반응 검사에서 양성 소견을 보였고 pp65 양성세포수도 3개/4×10^5로 다른 위장관염 증례(1개/4×10^5)에 비해 많았다. 이는 거대세포바이러스질환의 경중도와 관련이 있는 소견으로 생각된다.

저자들은 거대세포바이러스 감염이 의심되는 환자들을 대상으로 pp65 항원혈증 검사와 혈장 및 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사를 시행하였다. 말초혈액단핵구 중합효소반응 검사는 민감도가 높았지만 잠복 감염을 구별하지 못해서 특이도가 떨어졌다. 항원혈증 검사와 혈장 중합효소반응 검사는 비슷한 정도의 민감도와 특이도를 나타냈다. 항원혈증 검사를 통해 pp65 양성세포수의 정량이 가능하였다.

요 약

목적 : 거대세포바이러스질환을 진단하는데 있어서 pp65 항원혈증 검사와 혈장 및 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사의 임상적인 유용성을 알아보기 위하여 본 연구를 시행하였다.

방법 : 2001년 9월부터 2002년 2월까지 서울대학교병원에 입원한 41명(임상적으로 거대세포바이러스 질환을 의심한 28명과 특별한 증상은 없었지만 거대세포바이러스 감염에 대한 선별검사를 시행한 13명)으로부터 얻은 60검체를 대상으로 하였다. Clonab CMV kit (Biotest, Dreieich, Germany)를 이용하여 59검체의 pp65 항원혈증 검사를 시행하고 56검체의 혈장과 말초혈액단핵구를 분리하여 각각 중합효소연쇄반응 검사를 시행하였다.

결과 : 항원혈증 검사에서 59검체 중 15검체(25%)가 양성 소견을 보였고 혈장과 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사에서는 56검체 중 16검체(29%)와 24검체(43%)가 양성 소견을 보였다. 항원혈증 검사와 혈장 중합효소연쇄반응 검사의 일치율은 82%였다. 41예 가운데 15예(37%)를 거대세포바이러스질환으로 진단하였다. 거대세포바이러스질환을 진단하는데 있어서 항원혈증 검사, 혈장 중합효소연쇄반응 검사, 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사의 민감도는 각각 60%, 53%, 80%였고, 특이도는 각각 96%, 92%, 88%였다. 거대세포바이러스질환으로 진단한 15예 가운데 조혈모세포이식술을

받은 4예는 3가지 검사에서 모두 양성 소견을 보였고 pp65 양성세포의 수도 3-30개 이상/4×10^5으로 많았다. 거대세포바이러스질환 15예 중 8예는 거대세포바이러스 위장관염 증례였다. 이들 8예 중 4예는 항원혈증 검사에서 양성 소견을 보였고(pp65 양성세포수 1-3개/4×10^5), 혈장 중합효소연쇄반응 검사에서는 2예가 양성 소견을 보였다.

결론 : 말초혈액단핵구 중합효소연쇄반응 검사는 거대세포바이러스의 잠복 감염과 재활성화를 구별하지 못하기 때문에 높은 민감도를 나타낸 반면 상대적으로 낮은 특이도를 보였다. 항원혈증 검사는 혈장 중합효소연쇄반응 검사와 비슷한 정도의 민감도와 특이도를 보였다. 항원혈증 검사를 통해 pp65 양성세포수의 정량이 가능하였다.

참고문헌

1) 이환종, 장성희 : *우리나라 소아의 항보체면역형광 검사법에 의한 Cytomegalovirus 항체 보유율. 감염 25:357-361, 1993*
2) Lautenschlager I, Suni J, Ahonen J, Gronhagen-Riska C, Ruutu P, Ruutu T, Tukiainen P : *Detection of Cytomegalovirus by early-antigen immunofluorescence test versus conventional tissue culture. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 8:610-613, 1989*
3) Mandanas RA, Saez RA, Selby GB, Confer DL : *Cytomegalovirus surveillance and prevention in allogeneic bone marrow transplantation : examination of a preemptive plan of ganciclovir therapy. Am J Hematol 51:104-111, 1996*
4) Einsele H, Ehninger G, Hebart H, Wittkowski KM, Schuler U, Jahn G, Mackes P, Merter M, Klingebiel T, Löffler J, Wagner S, Möller CA : *Polymerase chain reaction monitoring reduces the incidence of cytomegalovirus diseases and the duration and side effects of antiviral therapy after bone marrow transplantation. Blood 86:2815-2820, 1995*
5) Boeckh M, Gooley TA, Myerson D, Cunningham T, Schoch G, Bowden RA : *Cytomegalovirus pp65 antigenemia-guided early treatment with ganciclovir versus ganciclovir at engraftment after allogenic marrow transplantation : a randomized double-blind study. Blood 88:4063-4071, 1996*
6) van der Bij W, Schirm J, Torensma R, van Son WJ, Tegzess AM, The TH : *Comparison between viremia and antigenemia for detection of cytomegalovirus in blood. J Clin Mibrobiol 26:2531-2535, 1988*
7) 오명돈, 박기호, 김남중, 신형식, 김의종, 이환종, 최강원 : *중합효소연쇄 반응법에 의한 인형거대세포바이러스(human cytomegalovirus)의 신속한 검출. 감염 28:319-327, 1996*
8) Demmler GJ, Buffone GJ, Schmbor CM, May RA : *Detection of cytomegalovirus in urine from newborns using polymerase chain reaction DNA amplification. J Infect Dis 158:1177- 1184, 1988*
9) 김유겸, 김대원 : *Anticomplement immunofluorescence 검사법을 이용한 건강한 성인의 Human Cytomegalovirus에 관한 항체가의 조사 연구. 감염 24:87-92, 1992*
10) 오은지, 박연준, 문연숙, 한경자, 김병기, 심상인 : *골수이식 환자에서 거대세포바이러스감염 검출을 위한 항원혈증 검사와 Roche Amplicor CMV test의 비교. 대한임상병리학회지 18:645-649, 1998*
11) Pellegrin I, Garrigue I, Ekouevi D, Couzi L, Merville P, Merel P, Chene G, Schrive MH, Trimoulet P, lafon ME, Fleury H : *New molecular assays to predict occurrence of cytomegalovirus disease in renal transplant recipients. J Infect Dis 182:36-42, 2000*
12) 김성철, 한지숙, 정소영, 이석, 유내춘, 민유홍, 고윤웅 : *조혈모세포이식 환자에서 거대세포바이러스 감염 양상. 대한혈액학회지 32:388-397, 1997*
13) 박세훈, 이홍기, 최성철, 이효락, 김기현, 남은미, 김원석, 윤성수, 강원기, 박찬형, 김선우, 박근칠 : *동종조혈모세포이식 환자에서의 거대세포바이러스 감염 및 질환의 임상양상에 대한 고찰. 대한조혈모세포이식학회지 5:23-31, 2000*
14) 신혜정, 김현경, 김현숙 : *거대세포바이러스 감염증의 조기진단을 위한 PCR 및 early antigen 면역염색법의 유용성. 대한임상병리학회지 18:452-457, 1998*
15) Koskinen PK, Nieminen MS, Mattila SP, Hayry PJ, Lautenschlager IT : *The correlation between symptomatic CMV infection and CMV antigenemia in heart allograft recipients. Transplantation 55:547-551, 1993*
16) Halwachs G, Zach R, Pogglitsch H, Holzer H, Tiran A, Iberer F, Iberer F, Waśler A, Tscheliessnigg HP, Lanzer G, Fölsch B, Wilders-Truschnig M : *A rapid immunocytochemical assay for CMV detection in peripheral blood of organ-transplanted patients in clinical practice. Transplantation 56:338-342, 1993*
17) Strayer DS, Phillips GB, Barker KH, Winokur T, DeSchryver-Kecskemeti K : *Gastric cytomegalovirus infection in bone marrow transplant patients : an indication of generalized disease. Cancer 48:1478-1483, 1981*
18) Buckner FS, Pomeroy C : *Cytomegalovirus disease of the gastrointestinal tract in patients without AIDS. Clin Infect Dis 17:644-656, 1993*
19) Tong CY, Cuevas L, Williams H, Bakran A : *Use of laboratory assays to predict cytomegalovirus disease in renal transplant recipients. J Clin Microbiol 36:2681-*

2685, 1998

20) Blank BS, Meenhorst PL, Mulder JW, Weverling GJ, Putter H, Pauw W, Van Dijk WC, Smits P, Lie-A-Ling S, Reiss P, Lagne JM : *Value of different assays for detection of human cytomegalovirus (HCMV) in predicting the development of HCMV disease in human immunodeficiency virus-infected patients. J Clin Microbiol 38:563-569, 2000*