

## 간접면역형광법을 이용한 항핵항체검사에서 Dense Fine Speckled 양상의 임상적 의의

강소영 · 이우인

경희대학교 의과대학 동서신의학병원 진단검사의학과

### Clinical Significance of Dense Fine Speckled Pattern in Anti-nuclear Antibody Test using Indirect Immunofluorescence Method

So Young Kang, M.D. and Woo-In Lee, M.D.

Department of Laboratory Medicine, The East-West Neo Medical Center, KyungHee University College of Medicine, Seoul, Korea

**Background :** Dense fine speckled (DFS) pattern in antinuclear antibody (ANA) test using indirect immunofluorescence method became to be known recently and it is detected in patients with various chronic inflammatory diseases as well as in healthy individuals. We investigated the relation between DFS pattern and various diseases.

**Methods :** ANA tests by indirect immunofluorescence method using HEp-2 cell line slide (Kallestad; Bio-Rad, USA) were performed in 2,654 patients for screening of systemic autoimmune diseases. The frequencies of ANA and DFS positivity were analyzed according to sex, age, clinical department and disease.

**Results :** ANA was positive in 13.3% (352/2,654) of the total patients, and the frequency of DFS pattern was observed in 3.8% (101/2,654) of the total patients and in 28.7% (101/352) of the patients with ANA positivity. Higher frequency of DFS positivity was observed in patients referred from Departments of Rheumatology and Nephrology, but there was no difference in the frequencies of DFS positivity among the patients with ANA positivity. The frequency of DFS pattern was higher in seborrheic dermatitis (14.3%), herpes zoster (11.1%), rheumatoid arthritis (16.9%), systemic lupus erythematosus (15.4%) and Sjogren syndrome (14.3%).

**Conclusions :** The DFS pattern is a frequent finding (about 28% of ANA positivity) in ANA test using indirect immunofluorescence method. Relatively high frequency of DFS pattern was observed in autoimmune diseases, contrary to the previous observations that DFS pattern is not related with autoimmune diseases. Further studies including the confirmation tests of anti-DFS70 are needed for the identification of relation between DFS pattern and particular diseases. (*Korean J Lab Med* 2009;29:145-51)

**Key Words :** Dense fine speckled pattern, Indirect immunofluorescence, Anti-nuclear antibody

## 서론

Received : April 8, 2008  
Revision received : February 16, 2009  
Accepted : March 12, 2009  
Corresponding author : Woo-In Lee, M.D.

Manuscript No : KJLM2127

Department of Laboratory Medicine, The East-West Neo Medical Center, KyungHee University College of Medicine, 149 Sangil-dong, Gandong-gu, Seoul 134-727, Korea  
Tel : +82-2-440-7190, Fax : +82-2-440-7195  
E-mail : wileemd@khu.ac.kr

항핵항체(antinuclear antibody, ANA) 검사는 다양한 전신 자가면역질환의 선별검사로써, 대부분의 검사실에서 ANA를 검출하기 위한 검사법으로 인간 HEp-2 세포주를 기질세포로 이용한 간접면역형광법을 사용한다. 형광현미경으로 판독 시 전형

적인 Speckled 양상이나 Homogenous 양상과는 달리 간기 세포의 핵에서 밀집성의 미세한 반점(dense, fine speckles)의 형광염색을 보이면서, 분열 중기 세포의 염색체 부위에서 강한 양성반응을 보이는 경우를 경험하게 되는데, 최근 이러한 특징적인 ANA 소견을 dense fine speckled (DFS) 양상이라고 분류하고 있다[1]. 이러한 DFS 양상을 초래하는 항체에 대한 항원은 immunoblotting을 통해 70 kDa 단백질로 확인되어 DFS70이라 명명되었으며, 곧 이어 DNA-binding transcription coactivator p75 (p75) 및 lens epithelium-derived growth factor (LEDGF)와 동일 단백질인 것으로 밝혀졌고, 이후 이 항체는 항-DFS70 항체(anti-DFS70)로 부르고 있다[2-4].

Anti-DFS70이 사이질방광염(interstitial cystitis) 환자의 25%에서 발견된 것이 보고된 이후[4], 아토피피부염 및 천식 환자에서 각각 30% 및 16%의 높은 빈도로 발견된다고 보고된 반면[2], 다양한 전신자가면역질환에서는 0-6.9%로 그 빈도가 낮은 것으로 보고되었다[1, 2, 4-6]. 또한 건강인을 대상으로 한 연구에서 건강인 597명 중 20%가 ANA 양성을 보였는데 이 중 DFS (anti-DFS70)가 11%로 이는 전체 ANA 양성 54%를 차지한다는 놀라운 보고가 이어지면서[7], anti-DFS70이 전신자가면역질환과의 연관성을 갖는 특이적 자가항체라기보다는 만성염증성질환이나 중양 환자 및 정상인에서도 존재하는 자연적 자가항체라고 여겨지게 되었다[1]. 그러나 국내에서는 아직까지 DFS 양상(혹은 anti-DFS70)을 보이는 사례 보고나 빈도 연구는 물론 DFS 양상(혹은 anti-DFS70)이 갖는 임상적 의미에 대한 연구 또한 이루어지지 않은 상태이며, 간접면역형광법으로 ANA 검사를 시행하는 검사실에서 DFS 양상을 Homogenous나 Speckled 양상과 구분하여 DFS로 판독해야 한다는 지침이나 공론이 전혀 이루어지지 않은 상태이다.

따라서 본 연구는 전신자가면역질환 선별검사 목적으로 ANA 검사가 의뢰된 환자들을 대상으로 간접면역형광법을 이용한 ANA 검사를 시행하여 DFS 양상을 보이는 빈도를 조사하고, 임상과별 및 질환별로 DFS 양상을 보인 환자들을 분석하여 특정 질환과 연관성을 갖는지 알아보려고 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

2007년 5월부터 2008년 2월까지 10개월간 병동 및 외래에서 전신자가면역질환의 선별검사 목적으로 ANA 검사가 의뢰된 2,654명의 환자를 대상으로 하였다. ANA 검사를 의뢰한 주요 임상과는 피부과(1,199건), 류마티스내과(686건), 신장내과(302건) 및 신경과(156건)였고, 이외에 나머지 내과(176건) 및 기타과(135건)에서 ANA 검사가 의뢰되었다. 대상 환자들은 여자 1,503명(평균연령  $43.2 \pm 17.3$ )과 남자 1,151명(평균연령  $37.1 \pm 17.2$ )으로 구성되었고, 1세부터 94세의 연령대를 보였으며 연령대별 분포는 남녀 각각 Table 1과 같다.

### 2. 간접면역형광법을 이용한 ANA 검사

환자에서 채취한 모든 혈청은 phosphate buffer solution (PBS, pH  $7.3 \pm 0.1$ )로 1:40 희석하여 검사에 이용하였고, 기질 세포로는 HEp-2 세포 슬라이드(Kallestad; Bio-Rad, Redmond, USA)를 사용하여 간접면역형광법으로 ANA 검사를 시행하였다. 면역형광 슬라이드 자동 제조장비인 PhD System (Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA)을 이용하여 제조사

Table 1. The distribution of age of the patients whose sera displayed positive ANA and dense fine speckled pattern

Age	No. of patients			ANA positive			DFS positive*		
	Total	Female	Male	Total	Female	Male	Total	Female	Male
1-10	107	57	50	14 (13.1%)	9 (15.8%)	5 (10.0%)	4 (28.6%)	1 (11.1%)	3 (60.0%)
11-20	258	101	157	31 (12.0%)	17 (16.8%)	14 (8.9%)	14 (45.2%)	8 (47.1%)	6 (42.9%)
21-30	470	222	248	52 (11.1%)	35 (15.8%)	17 (6.9%)	20 (38.5%)	13 (37.1%)	7 (41.2%)
31-40	468	235	233	54 (11.5%)	40 (17.0%)	14 (6.0%)	5 (9.3%)	4 (10.0%)	1 (7.1%)
41-50	538	357	181	74 (13.8%)	63 (17.6%)	11 (6.1%)	20 (27.0%)	20 (31.7%)	0 (0.0%)
51-60	472	303	169	59 (12.5%)	50 (16.5%)	9 (5.3%)	17 (28.8%)	14 (28.0%)	3 (33.3%)
61-70	341	228	113	68 (19.9%)	56 (20.9%)	12 (4.1%)	21 (30.9%)	20 (31.0%)	1 (8.3%)
Total	2,654	1,503	1,151	352 (13.3%)	270 (18.0%)	82 (7.1%)	101 (28.7%)	80 (29.6%)	21 (25.6%)
P value <sup>†</sup>				0.009	0.214	0.535	0.02 <sup>‡</sup>	0.048 <sup>‡</sup>	0.016 <sup>‡</sup>

\*, The percentages of DFS pattern in patients with ANA positivity; <sup>†</sup>, P value, chi square test or Fisher's exact test between age groups; <sup>‡</sup>, P values were obtained using a Bonferroni correction factor of 2.

Abbreviations: ANA, anti-nuclear test using indirect immunofluorescence; DFS, dense fine speckled pattern.

의 지침에 따라 검사를 시행하였고, 결과 판독은 2명의 진단검사의학과 의사가 각각 Nikon 형광현미경을 이용하여 200배 및 400배에서 형광 양상에 따라 판독하였다. 두 판독자 간에 형광 양상 판독 결과가 일치하지 않을 경우 재검 및 희석검사를 시행하여 다시 각자 재판독하였으며, 재판독에서도 DFS가 관련된 불일치가 발생할 경우 DFS 판독 결과는 수용하지 않기로 하였다. 판독상 간기세포의 핵에서 밀집성의 미세한 형광 반점(dense fine speckles)을 보이면서, 분열 중기세포의 염색체 부위에서 양성 소견을 보일 경우 DFS 양성으로 정의하였고, 간기세포의 핵에서 형광 반점을 보이거나 분열 중기세포의 염색체 부위에서 음성 소견을 보일 경우 전형적인 speckled 양상으로 정의하였다(Fig. 1). DFS나 speckled 양상은 각각 구분하여 역가와 함께 결과 보고하였다.

### 3. 병력조치 및 통계분석

ANA 검사를 시행한 환자들을 대상으로 병력조사를 시행하여 검사 의뢰과, 병력, 진단 등을 검토 및 분석하였다. 통계처리에는 SPSS version 11.0 (SPSS Inc., Chicago, USA)를 이용하였으며, chi-square test 및 Fisher's exact test를 이용하여 성별, 연령대별, 임상과별 및 질환별로 DFS 양성 빈도에 차이가 있는지 Bonferroni's correction 후 분석하였다.

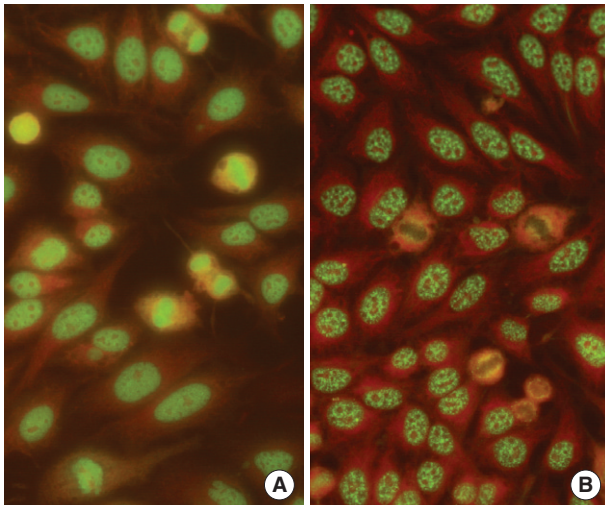


Fig. 1. (A) Dense fine speckled (DFS) pattern of a patient with rheumatoid arthritis in ANA test using indirect immunofluorescence method with HEp-2 cells slides ( $\times 400$ ). The features of DFS pattern was characterized by dense, fine speckles in nucleus in interphase and strong staining of chromosome region in mitotic cells in metaphase. (B) Typical speckled pattern with nuclear speckles in interphase cells and negative staining of chromosome region in mitotic cells ( $\times 400$ ).

## 결 과

### 1. 간접면역형광법으로 시행한 ANA 결과 분석

2,654명의 환자 중 ANA 양성률은 13.3% (352명)로 나타났고, 여자(평균연령  $45.4 \pm 18.1$ )의 양성률은 18% (270/1,503)인 반면 남자(평균연령  $38.0 \pm 20.3$ )의 양성률은 7.1% (82/1,151)로 여자에서 ANA 양성률이 의미 있게 높았다( $P < 0.01$ ). 전체 환자에서 연령대 간에 ANA 양성률의 차이를 보이지 않았으나(Table 1), 전체 환자 중 DFS 양성률은 3.8% (101/2,654)였고, ANA 양성자 중에서 DFS 양성률은 28.7% (101/352)를 보였다. ANA 양성자 중 연령대별 DFS 양성률은 여자( $P = 0.048$ ) 및 남자( $P = 0.016$ ) 모두에서 차이를 보였다.

두 판독자 간의 형광 양상의 판독 불일치로 재검 및 희석검사가 시행된 건수가 19건이었는데 이중 DFS 관련이 15건이었으며 판독자 1인은 DFS로 판독한 반면 다른 1인은 Speckled 5건, Homogenous 6건, Discrete speckled 2건, Speckled+Homogenous 2건으로 판독하여 재검 및 희석 검사를 통해 8건은 DFS로 판독하였고 나머지 7건은 다른 형광양상으로 최종 판독하였다.

ANA 검사에서 양성을 보인 352명의 면역형광 양상의 분포는 Table 2에서 보듯이 Speckled (207명, 58.8%)가 가장 많았으며 이 중 101명이 DFS (Fig. 1)를 보여 ANA 양성 중에서 28.7% (101/352)가 DFS를 나타냈다. DFS 이외의 다른 형광 양상을 동시에 보인 환자가 5명으로 이 중 2명에서 Nucleolar, 또 다른 2명에서 Multiple nuclear dots, 나머지 1명에서 Homogenous 양상이 DFS와 동시에 나타났다.

Table 2. The distribution of indirect immunofluorescence patterns in 352 ANA positive patients\*

ANA patterns	
Speckled	207 (58.8%)
Dense fine speckled	101 (28.7%)
Typical speckled	106 (30.1%)
Homogenous	43 (12.2%)
Nucleolar	51 (14.5%)
Discrete speckled	14 (4.0%)
Cytoplasmic	45 (12.8%)
Others	14 (4.0%)

\*, The sum of ANA patterns exceeded the number of patients with positive ANA results because several patients had more than one pattern.

## 2. 임상과별 결과 분석

ANA 검사를 의뢰한 임상과별로 ANA 결과를 분석했을 때 ANA 양성 빈도는 임상과 간에 통계적으로 의미 있는 차이를 보여( $P<0.01$ ), 류마티스내과 및 신장내과에서 각각 16.5% (113/686) 및 18.2% (55/302)로 전체 ANA 양성률인 13.3%보다 높

**Table 3.** The distribution of clinical department of patients requested ANA test

Department	No	ANA positivity (%)	DFS pattern (%)*
Dermatology	1,199	115 (9.6)	39 (3.3, 33.9)
Rheumatology	686	113 (16.5)	36 (5.2, 31.6)
Nephrology	302	55 (18.2)	17 (5.6, 30.9)
Neurology	156	13 (8.3)	2 (1.3, 15.4)
Others	311	56 (18.0)	7 (2.3, 12.5)
Total	2,654	352 (13.3)	101 (3.8, 28.7)
<i>P</i> value <sup>†</sup>		<0.01	0.015, 0.064 <sup>‡</sup>

\*, The percentages of DFS pattern in total patients of each department and patients with ANA positivity, respectively; <sup>†</sup>, *P* value, chi-square test between clinical departments; <sup>‡</sup>, *P* value was obtained using a Bonferroni correction factor of 2.

게 나타났다(Table 3). 전체 환자 중 DFS 양성 빈도는 임상과 간에 차이를 보여( $P=0.015$ ), 류마티스내과와 신장내과에서 전체 DFS 양성률보다 높게 나타난 반면, ANA 양성자 중 임상과 간의 DFS 양성률의 차이는 관찰되지 않았다( $P=0.064$ ). 또한 피부과, 류마티스내과 및 신장내과에서 ANA 양성인 환자의 1/3 정도가 DFS 양성을 보이는 것으로 나타났다. 101명의 DFS 양성 환자의 ANA 역가를 분석한 결과 90명(89.1%)이 1:80 이하를 보였으며 임상과별 및 질환별 분포는 Table 4와 같다.

## 3. 각 임상과의 질환별 결과 분석

임상과별로 ANA 검사가 의뢰된 모든 환자들을 질환별로 분류하여 ANA 및 DFS 양성률(Table 4)을 조사한 결과 피부과의 경우 질환별로 ANA 양성률의 차이를 보여( $P<0.01$ ), 알레르기접촉피부염(22.8%, 23/101) 및 지루피부염(21.4%, 3/14) 등의 순으로 ANA 양성을 보였다. DFS 양성률 역시 질환별로 차이를 보여( $P<0.01$ ), 지루피부염(14.3%, 2/14), 대상포진(11.1%, 6/54), 알레르기접촉피부염(7.9%, 8/101), 아토피피부염(6.8%, 5/74),

**Table 4.** The clinical diagnosis and frequency of ANA positivity and DFS pattern in patients classified by clinical departments

Clinical diagnosis	No of patients	No of ANA positivity (%)	No of DFS pattern (%)*	ANA titer			
				1:40	1:80	1:160	≥ 1:320
Dermatology	1,199	115	39	32	7		
Allergic contact dermatitis	101	23 (22.8)	8 (7.9, 34.8)	6	2		
Herpes zoster	54	9 (16.7)	6 (11.1, 66.7)	6			
Atopic dermatitis	74	7 (9.5)	5 (6.8, 71.4)	4	1		
Androgenic alopecia	367	22 (6.0)	5 (1.4, 22.7)	3	2		
Alopecia areata	124	15 (12.1)	4 (3.2, 26.7)	2	2		
Seborrheic dermatitis	14	3 (21.4)	2 (14.3, 66.7)	2			
Urticaria	113	9 (8.0)	1 (0.9, 11.1)	1			
Others	352	27 (7.7)	8 (2.3, 29.6)	8			
<i>P</i> value <sup>†</sup>		<0.01	<0.01 0.64				
Rheumatology	686	113	36	10	19	4	3
Rheumatoid arthritis	65	24 (36.9)	11 (16.9, 45.8)	4	4		3
Ankylosing spondylitis	87	10 (11.5)	4 (4.6, 40.0)		4		
Systemic lupus erythematosus	13	10 (76.9)	2 (15.4, 20.0)		2		
Sjogren syndrome	7	5 (71.4)	1 (14.3, 20.0)		1		
Systemic sclerosis	2	2 (100)	0 (0, 0)				
Behcet's disease	7	0 (0)	0 (0, 0)				
Raynaud's phenomenon	4	0 (0)	0 (0, 0)				
No systemic autoimmune disease	501	62 (12.4)	18 (3.6, 29.0)	6	8	4	
<i>P</i> value <sup>†</sup>		<0.01	0.024 NS				
Nephrology	302	55	17	10	5	2	
Neurology	156	13	2	1	1		
Others	311	56	7	4	1	1	1

\*, The percentages of DFS pattern in patients with particular disease and in patients with ANA positivity, respectively; <sup>†</sup>, *P* value, Fisher's exact test with a Bonferroni correction factor of 8 or 16 between disease groups in each department of Dermatology and Rheumatology. Abbreviation: NS, non-significant.

원형탈모증(3.2%, 4/124) 등의 순으로 DFS 양성을 보였다. ANA 양성 환자 중 피부과 질환별 DFS 양성률은 차이를 보이지 않았으며( $P=0.64$ ), 아토피피부염(71.4%, 5/7), 대상포진(66.7%, 6/9), 지루피부염(66.7%, 2/3)의 경우 ANA 양성자의 60% 이상에서 DFS 양성을 보였고 나머지 알레르기접촉피부염(34.8%, 8/23), 원형탈모증(26.7%, 4/15) 및 남성형탈모증(22.7%, 5/22) 등의 순으로 ANA 양성 중 DFS 양성을 나타냈다.

류마티스내과의 경우도 질환별로 ANA 양성률의 차이를 보여( $P<0.01$ ), 전신경화증(100%, 2/2), 전신홍반루푸스(76.9%, 10/13), 쇼그렌증후군(71.4%, 5/7) 등의 양성률을 보였으며, DFS 양성률 역시 질환별로 차이를 보여( $P=0.024$ ), 류마티스관절염(16.9%, 11/65), 전신홍반루푸스(15.4%, 2/13), 쇼그렌증후군(14.3%, 1/7), 강직성척추염(4.6%, 4/87)의 빈도를 보였다. ANA 양성 환자 중 류마티스내과의 질환별 DFS 양성률은 차이가 없는 것으로 나타났고( $P=1$  이상으로 무의미), 류마티스관절염(45.8%, 11/24), 강직성척추염(40%, 4/10), 전신홍반루푸스(20%, 2/10), 쇼그렌증후군(20%, 1/5) 등의 빈도를 나타냈다. ANA 양성 환자 중 DFS 양성을 보인 36명의 류마티스내과 환자 중 18명은 활막염이나 섬유근육통 등을 앓거나, 관절통 혹은 구강점막궤양 등의 증상은 있으나 전신자가면역질환으로는 진단되지 않은 환자들이었다. 신장내과 환자 중 DFS 양성을 보인 경우는 무증상 반복성 혈뇨환자가 6명, 루푸스콩팥염 2명, 요로감염 2명 등이었고 나머지 환자는 당뇨병콩팥병증, 엽구리 통증이나 부종을 호소한 환자 등이었다.

## 고 찰

1994년 Ochs 등[6]이 사이질방광염 환자를 대상으로 HEp-2 세포주를 기질세포로 간접면역형광법을 이용하여 ANA 검사를 시행한 결과 간기 세포의 핵에서 조밀하고 밀집된 형광반점 염색(dense fine speckles)을 보이면서 분열 중기 세포의 염색체 부위에서 형광염색 양성 반응을 보여, 분열 중기 세포의 염색체 부위에서 형광염색 음성인 전형적인 Speckled 양상과는 뚜렷이 다른 새로운 ANA 양상인 DFS를 처음 보고하였다. 간접면역형광법에서 이러한 양상을 보이는 혈청으로 시행한 immunoblotting 검사에서 이 항체가 70 kDa의 단백질이라는 사실이 밝혀지면서 anti-DFS70이라 명명되었고[2], 단백질열 데이터베이스 분석에서 DFS70이 DNA-binding transcription coactivator p75 및 LEDGF와 동일한 단백질이라는 것이 밝혀지게 되었다[3, 4].

DFS70/LEDGF/p75 (이하 DFS70)는 다양한 세포에서 열충

격이나 산화 스트레스 등의 환경 스트레스에 대하여 세포의 생존 및 성장을 증진시키는 역할을 수행하는 생존인자로 알려진 핵단백이다[8]. 전사 보조활성체(transcription coactivator)로서 열충격 및 스트레스 관련 유전자의 촉진자(promoter)에 부착하여 이들 유전자의 발현을 촉진시키는 역할을 수행하여, 열충격단백, 항산화단백 및 해독효소 같은 단백을 증가시켜 스트레스로 인한 세포자멸을 억제시킨다[7, 9]. 또한 DFS70은 사람 면역결핍바이러스 감염 시 바이러스의 인테그라제(integrase)와 상호작용하여 바이러스 복제의 보조인자 역할을 하는 것으로도 알려져 있다[10]. 이러한 기능을 수행하는 DFS70은 DNA 결합단백이기 때문에 간접면역형광법을 이용한 ANA 검사에서 간기 세포의 핵질 및 분열 중기 세포의 염색체 부위에서 밀집된 염색 양상을 보이게 된다[8]. 또한 피부질환을 이용한 연구에서 DFS70은 기저표피세포에서는 핵내에 존재하나 과립층 세포에서는 세포질에 존재하는 것으로 나타나 세포 분화과정 중 핵에서 세포질로 전위가 일어난다고 하였다[5].

이렇게 DFS70이 중요한 생물학적 기능을 가진 자가항원인 것은 밝혀졌으나, anti-DFS와 특정 질환과의 확실한 관련성이 밝혀지지는 않은 상태이다. 지금까지의 보고에 의하면 anti-DFS70은 아토피피부염(30%) [2], 천식(16%) [2], 사이질방광염(9%) [2], 건선(4.5%) [2], 원형탈모증(20%) [11], Vogt-Koyanagi-Harada 질환(66.7%) [12], Behcet씨병(34.4%) [12], 사르코이드증(25%) [12] 등의 다양한 만성염증성 질환에서 발견되었고, DFS70이 전립선 종양조직에 풍부하여 전립선암 환자에서 anti-DFS70이 발견된다는 보고도 있었다[13]. 또한 건강인에서 HEp-2 세포주를 이용한 간접면역형광법에 의한 ANA 검사상 양성률이 높게는 30%까지라는 보고들이 있는데, 최근 일본에서 건강인 597명을 대상으로 한 연구에서 ANA 양성률이 20%였고, ANA 양성자 중에서는 무려 54%가, 전체 건강인 중에서는 약 10%가 anti-DFS70 양성을 보여 건강인에서 가장 흔한 ANA라고 보고하였다[7]. 그러나 anti-DFS70은 전신자가면역질환에서는 낮은 빈도(1.5%)로 발견되어 쇼그렌증후군(7-11%)을 제외한 전신홍반루푸스(0-6%), 피부근육염/다발근육염(0-5%), 전신경화증(0.6%), 류마티스관절염(0%) 등의 전신자가면역질환에서 낮은 양성률을 보이는 반면[1, 2, 7, 14], 건강인에서는 높은 빈도로(11-22%) 발견되어[7, 12], anti-DFS70은 전신자가면역질환과의 연관성을 갖는 특이적 자가항체라기보다는 만성염증성 질환이나 중양 환자 및 정상인에서 과량으로 생산된 자연적 자가항체로 여겨지기도 한다[1, 15]. 이에 따라 anti-DFS의 존재는 전신자가면역질환을 배제하는데 이용될 수 있다는 연구결과가 나오기에 이르렀다[14].

본 연구에서는 건강인을 포함시키지 않고 전신자가면역질환의 선별 목적으로 ANA 검사가 시행된 환자들만을 대상으로 했기 때문에 지금까지 보고된 건강인에서의 빈도와 비교할 수는 없었다. 그러나 본 연구 결과에 의하면 전체 ANA 검사 중 ANA 양성률은 13.3%였고 이들 ANA 양성 환자의 28.7%가 DFS 양성이라는 사실만으로도 DFS 양상이 일상적인 ANA 검사에서 흔하게 발견되는 소견임을 알 수 있었다. 여자에서 ANA 양성 빈도가 높아 DFS 양성 역시 여자에서 더 많이 발견되나 ANA 양성인 환자 중에서는 남녀 비슷한 빈도로 DFS 양성이 발견됐다. 또한 기존의 보고에서는 피부과 질환 중 아토피피부염(30%) [2] 및 원형탈모증(20%) [11]에서 anti-DFS70이 발견된다고 하였으나 본 연구에서는 각각 6.8% 및 3.2%의 낮은 DFS 양성 빈도를 보인 반면 대상포진(11.1%)과 지루피부염(14.3%)에서 높은 DFS 양성 소견을 보였다. 또한 전신자가면역질환에서 류마티스관절염 환자의 16.9%에서 DFS 양성 소견이 나타나 anti-DFS70 양성률이 0%였다는 기존의 보고와는 다른 연구 결과를 보여주었고, 전신홍반루푸스에서도 DFS 양성률이 15.4%로 anti-DFS70 양성률이 0-6%라는 기존의 보고보다 높게 관찰되는 양상을 보여 주었다. 7-11%의 anti-DFS70 양성을 보인다고 알려진 쇼그렌 증후군의 경우는 14.3%로 비슷한 DFS 양성 결과를 보였고, 기존의 보고에서 거의 언급되지 않았던 강직성척추염 환자에서도 DFS 양성률이 4.6% 관찰되었다. 검사의 복잡성 및 상품화된 검사 키트의 미비로 인해 간접면역형광법에서 DFS 양성을 보인 혈청에 대해 DFS70 재조합 단백 등을 이용한 immunoblotting이나 ELISA 등의 확인 검사를 시행하지 못했기 때문에 본 연구에서 관찰된 모든 DFS 양성을 초래한 항체가 모두 anti-DFS70이라고 단정할 수 없고, 간접면역형광법에 사용되는 HEp-2 세포 슬라이드의 제조사별로 DFS 발현의 차이나 판독자의 주관에 의한 편이를 배제할 수 없으나 그간의 많은 보고들에서 간접면역형광법에서 DFS 양성을 보인 경우 대부분 대응 항원이 DFS70으로 규명됐다는 점을 고려할 때 본 연구에서 비교적 높은 빈도로 전신자가면역질환(특히 류마티스관절염)에서 DFS 양성이 나타났다고 추측할 수 있다. 그러나 DFS 역가를 분석한 결과 일부 류마티스관절염 환자에서 1:320 이상의 높은 역가를 보인 몇몇 경우를 제외하고는 대부분의 환자에서 1:80 이하의 낮은 역가를 보여 임상적으로 큰 의미를 부여할 수 없었다. 따라서 건강인뿐만 아니라 좀 더 많은 대상수를 포함하는 전신자가면역질환(특히 류마티스관절염) 환자들에 대해 간접면역형광법 및 상기한 확인검사를 시행하여 특정 질환에서 anti-DFS70의 양성 빈도가 높은 것인지 또한 anti-DFS70의 존재가 각 질환에 어떤 임상적 의미가 있는지 객관화하여 연구할 필요가 있다.

아직까지 DFS 양상이 갖는 임상적 의의나 중요성이 확실히 밝혀지거나 부각되지 않은 상황이기 때문에 간접면역형광법으로 ANA 검사를 시행하는 각 검사실에서 DFS 양상을 별도로 보고하는지 아니면 Homogenous 혹은 Speckled 양상으로 보고하는지에 대해 정확한 현황을 파악하기 어렵지만 짐작하건대 후자에 속하는 경우가 많으리라 생각되며 본 연구에서 제시한 자료가 정확한 DFS 빈도라고 할 수는 없으나 국내에서 대략적인 빈도를 파악하는데 도움이 된다고 판단된다.

비록 본 연구에 건강인이 포함되지는 않았지만 저자들이 내린 결론은 DFS 양상은 피부과 질환에서 류마티스관절염 등의 전신자가면역질환에 이르기까지 다양한 질환에서 발견되며, 반복성 무증상 혈뇨나 관절통 등의 비특이적 증상만 있고 특정한 진단을 내릴 수 없었던 많은 환자들에서도 발견되는 등 상당히 광범위하고 이질적인 임상적 스펙트럼을 갖는다는 것이다. 비록 확인검사의 미시행으로 간접면역형광법으로 시행한 ANA 검사에서 DFS 양상을 초래한 원인항체가 anti-DFS70임을 증명할 수 없었으나 류마티스관절염 등의 전신자가면역질환에서 anti-DFS70의 양성률이 낮다는 기존의 보고들보다 높은 빈도로 DFS 양상이 발견되었다. 따라서 DFS 양상과 특정 질환과의 연관성 유무를 확인하기 위해 건강인을 포함하여 좀 더 많은 질환군에 대해 간접면역형광법과 anti-DFS70 확인검사를 통한 연구가 뒤따라야 할 것으로 판단된다.

## 요 약

**배경 :** 최근 간접면역형광법을 이용한 항핵항체(ANA) 검사에서 특징적인 dense fine speckled (DFS) 양상이 각종 만성염증성질환 외에도 정상인에서까지 발견되는 것으로 알려졌다. 저자들은 ANA 검사가 의뢰된 환자들에서 DFS 양상을 보이는 환자들의 빈도를 조사하고, 임상과별 및 질환별로 DFS 양상을 보인 환자들을 분석하여 특정 질환과의 연관성이 있는지 살펴보고자 하였다.

**방법 :** 전신자가면역질환의 선별검사 목적으로 ANA 검사가 의뢰된 2,654명의 환자를 대상으로 HEp-2 세포 슬라이드(Kallestad<sup>TM</sup>; Bio-Rad, Redmond, WA, USA)를 사용한 간접면역형광법으로 ANA 검사를 시행하였다. ANA 양성 및 DFS 양성 빈도를 성별, 연령별, 임상과별 및 질환별로 분석하였다.

**결과 :** 2,654명 중 DFS 양성률은 101명(3.8%)으로 나타났고 이는 ANA 양성(352명, 13.3%)의 28.7%인 것으로 나타났다. 임상과 간 비교에서 DFS 양성 빈도는 류마티스내과 및 신장내과에서 높았고, ANA 양성자 중 DFS 양성 빈도의 차이는 관찰되지

않았다. 피부과의 경우 지루피부염(14.3%) 및 대상포진(11.1%) 환자에서 DFS 양성 빈도가 높았고, 류마티스내과의 경우 류마티스관절염(16.9%), 전신홍반루푸스(15.4%) 및 쇼그렌증후군(14.3%)에서 DFS 양성 빈도가 높았다.

**결론 :** DFS 양상은 간접면역형광법을 이용한 ANA 검사에서 양성 건수의 약 28%를 차지할 정도로 빈번히 관찰되는 소견으로 나타났다. DFS 양상과 자가면역질환과의 연관성이 없다는 기존의 보고와 달리 본 연구에서 높은 양성률을 보이므로 특정 질환과의 연관성 유무를 확인하기 anti-DFS70 확인검사를 포함하는 연구가 뒤따라야 할 것으로 판단된다.

### 참고문헌

- Ganapathy V and Casiano CA. Autoimmunity to the nuclear autoantigen DFS70 (LEDGF): what exactly are the autoantibodies trying to tell us? *Arthritis Rheum* 2004;50:684-8.
- Ochs RL, Muro Y, Si Y, Ge H, Chan EK, Tan EM. Autoantibodies to DFS 70 kd/transcription coactivator p75 in atopic dermatitis and other conditions. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:1211-20.
- Ge H, Si Y, Roeder RG. Isolation of cDNAs encoding novel transcription coactivators p52 and p75 reveals an alternate regulatory mechanism of transcriptional activation. *EMBO J* 1998;17:6723-9.
- Singh DP, Ohguro N, Kikuchi T, Sueno T, Reddy VN, Yuge K, et al. Lens epithelium-derived growth factor: effects on growth and survival of lens epithelial cells, keratinocytes, and fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2000;267:373-81.
- Sugiura K, Muro Y, Nishizawa Y, Okamoto M, Shinohara T, Tomita Y, et al. LEDGF/DFS70, a major autoantigen of atopic dermatitis, is a component of keratohyalin granules. *J Invest Dermatol* 2007;127:75-80.
- Ochs RL, Stein TW Jr, Peebles CL, Gittes RF, Tan EM. Autoantibodies in interstitial cystitis. *J Urol* 1994;151:587-92.
- Watanabe A, Koder M, Sugiura K, Usuda T, Tan EM, Takasaki Y, et al. Anti-DFS70 antibodies in 597 healthy hospital workers. *Arthritis Rheum* 2004;50:892-900.
- Dellavance A, Viana VS, Leon EP, Bonfa ES, Andrade LE, Leser PG. The clinical spectrum of antinuclear antibodies associated with the nuclear dense fine speckled immunofluorescence pattern. *J Rheumatol* 2005;32:2144-9.
- Shinohara T, Singh DP, Fatma N. LEDGF, a survival factor, activates stress-related genes. *Prog Retin Eye Res* 2002;21:341-58.
- Maertens G, Cherepanov P, Pluymers W, Busschots K, De Clercq E, Debyser Z, et al. LEDGF/p75 is essential for nuclear and chromosomal targeting of HIV-1 integrase in human cells. *J Biol Chem* 2003;278:33528-39.
- Okamoto M, Ogawa Y, Watanabe A, Sugiura K, Shimomura Y, Aoki N, et al. Autoantibodies to DFS70/LEDGF are increased in alopecia areata patients. *J Autoimmun* 2004;23:257-66.
- Yamada K, Senju S, Shinohara T, Nakatsura T, Murata Y, Ishihara M, et al. Humoral immune response directed against LEDGF in patients with VKH. *Immunol Lett* 2001;78:161-8.
- Daniels T, Zhang J, Gutierrez I, Elliot ML, Yamada B, Heeb MJ, et al. Antinuclear autoantibodies in prostate cancer: immunity to LEDGF/p75, a survival protein highly expressed in prostate tumors and cleaved during apoptosis. *Prostate* 2005;62:14-26.
- Muro Y, Sugiura K, Morita Y, Tomita Y. High concomitance of disease marker autoantibodies in anti-DFS70/LEDGF autoantibody-positive patients with autoimmune rheumatic disease. *Lupus* 2008;17:171-6.
- Bizzaro N, Tonutti E, Visentini D, Alessio MG, Platzgummer S, Morozzi G, et al. Antibodies to the lens and cornea in anti-DFS70-positive subjects. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1107:174-83.