

원발담즙간경변증 진단에서 항-MIT3, 항-gp210, 항-sp100 항체 검사의 성능 비교평가

A Comparative Evaluation of the Performances of Anti-MIT3, Anti-gp210, and Anti-sp100 Antibodies for the Diagnosis of Primary Biliary Cirrhosis

조윤아¹ · 김미영¹ · 김한성¹ · 이영경¹ · 강희정¹ · 김종혁²

Yun-A Jo, M.D.¹, Mi Young Kim, M.D.¹, Han-Sung Kim, M.D.¹, Young Kyung Lee, M.D.¹, Hee Jung Kang, M.D.¹, Jong Hyeok Kim, M.D.²

한림대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 내과학교실²

Department of Laboratory Medicine¹, Division of Gastroenterology and Hepatology, Department of Internal Medicine², Hallym University College of Medicine, Anyang, Korea

Background: Anti-mitochondrial antibody (AMA) is a serological hallmark of primary biliary cirrhosis (PBC). AMAs are detected by an immunofluorescence assay (IF), which is subject to errors. We evaluated the diagnostic performances of the AMA ELISA test (the anti-MIT3 antibody) and PBC-associated antinuclear antibody (ANA) tests (the anti-gp210 and anti-sp100 antibodies).

Methods: AMA, anti-gp210, and anti-sp100 were measured in the sera of 130 subjects including patients for whom the AMA test was requested with the clinical suspicion of PBC, patients with other autoimmune diseases, and those undergoing health check-ups. AMA was detected by both IF and ELISA (anti-MIT3 antibodies), and anti-gp210 and anti-sp100 were detected by ELISA. The diagnostic performances of the anti-MIT3, anti-gp210, and anti-sp100 were compared with that of the AMA IF test. Associations between the presence of anti-sp100 or anti-gp210 and the diagnosis and biochemical abnormalities of PBC were investigated.

Results: The area under the curve of anti-MIT3 for the diagnosis of PBC was 0.934 (95% confidence interval, 0.877-0.970), and the agreement between anti-MIT3 and AMA IF was 93.8% (κ , 0.82). The sensitivities of anti-MIT3 and AMA IF were both 100%, and the specificities were 83.1% and 81.4%, respectively, whereas the sensitivities of anti-gp210 and anti-sp100 were 41.7% and 16.7%, and their specificities were 94.9% and 97.5%, respectively. The presence of anti-gp210 was associated with the diagnosis of PBC ($P=0.0001$), but that of anti-sp100 was not.

Conclusions: The diagnostic performance of anti-MIT3 is comparable to that of AMA IF. Anti-gp210 seems to be complementary to AMA for the diagnosis of PBC.

Key Words: anti-MIT3, AMA, PBC, anti-gp210, anti-sp100

서론

원발담즙간경변증(primary biliary cirrhosis, PBC)은 간 내 담관

Corresponding author: Hee Jung Kang

Department of Laboratory Medicine, Hallym University College of Medicine,

22 Gwanpyeong-ro 170beon-gil, Dongan-gu, Anyang 431-796, Korea

Tel: +82-31-380-3929, Fax: +82-31-380-3934

E-mail: kangheejung@hallym.or.kr

Received: January 14, 2013

Revision received: August 1, 2013

Accepted: August 20, 2013

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2014, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

의 점진적인 파괴, 문맥 내 염증 및 섬유화를 유발하여 결국은 간 경변증과 간부전을 일으키는 만성진행성담즙정체질환이다[1]. 병인은 아직 확실하지 않으나 면역조절기전의 이상에 의한 것으로 추정되며, 주로 중년 여성에서 호발한다[2]. PBC는 환자의 임상소견, 생화학, 혈청 그리고 병리소견들을 종합하여 진단하게 되는데 1) 담즙정체성 간 기능 이상 소견, 2) 항미토콘드리아항체(anti-mitochondrial antibody, AMA) 양성, 3) 조직학적으로 '만성비화농과 괴담관염'과 같은 이상 소견 중 다른 담관 폐쇄의 원인이 없이 두 항목을 충족하는 경우 PBC를 추정할 수 있고, 세 항목이 모두 충족되면 PBC로 확진할 수 있다[3-6].

PBC의 진단에 필요한 AMA 검사는 주로 면역형광법(immunofluorescence, IF)이 시행되어 왔다. 하지만 적어도 PBC 환자의 약 5-10%에서 AMA IF가 음성으로 나타나 종종 그 진단이 늦어질 수 있으며[1, 3, 7, 8], IF 검사법은 검사를 위한 시간과 노력이 많이 들

고 판독 시 관찰자의 경험이나 기술에 의존하여 위양성 또는 위음성의 결과를 보고할 수 있다는 점에서 그 문제점이 제기되어 왔다[9]. 따라서 AMA의 목표 항원인 E2 subunits of the branched-chain2-oxo-acid dehydrogenase complex (BCOADC-E2), E2 subunits of the oxo-glutarate dehydrogenase complex (OGDC-E2) 그리고 E2 subunits of the pyruvate dehydrogenase complex (PDC-E2) 등 재조합 항원에 대한 특이적인 항체를 검출하는 효소면역측정법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 검사법이 개발되어 AMA IF 검사의 진단특이도와 예민도를 보완하려는 노력이 있어왔다[10]. 이 검사의 또 다른 단점은 역가와 질환의 중증도 사이에 유의한 연관성이 없어 질환의 경과나 예후를 판단하기에 미흡하다는 점으로 예후 추정을 위한 추가적인 혈청 표지자의 개발이 필요하다. PBC 환자의 약 35-50%에서 항핵항체(antinuclear antibody, ANA)가 검출되는데, 이중 핵 내 단백과 결합하는 항-sp100의 경우 PBC를 진단할 수 있는 단일 지표로 Muratori 등이 보고한 바가 있고[11], 핵막 주위 핵공단백에 반응하는 항-gp210은 소염성염증과 간부전의 진행과도 연관이 있어 나쁜 예후인자로 사용될 수 있다는 보고도 있으므로[12-14] 이들 항체에 대한 추가적인 연구가 필요하다.

이에 본 연구에서는 AMA 검사가 의뢰된 환자에서 IF법의 AMA 검사와 함께 ELISA법 AMA, 항-gp210, 항-sp100 항체 검사를 시행하여 각 검사들의 PBC에 대한 진단 성능을 비교하고, 아울러 항-gp210과 항-sp100 항체 유무와 PBC진단 및 생화학지표와의 관계에 대해 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

대상 검체는 총 130예로 다음 4군의 환자 및 정상인 혈청으로 하였다. 제1군은 2008년 6월부터 8월까지 AMA IF 검사가 의뢰된 환자 77명의 혈청이었으며, 제2군은 2008년 9월부터 2011년 6월까지 AMA IF법에서 양성되었던 30명의 혈청, 제3군은 질병 대조군으로 조사기간 중 ANA 강양성을 보인 환자 혈청 13예, 그리고 제4군은 정상대조군으로 본원 건강검진센터를 방문한 사람 중 다른 이상 소견이 발견되지 않은 10명의 혈청을 대상으로 시행하였다. 각 군 대상자들의 임상 양상을 알기 위하여 의무기록지를 참고하여 혈청 alkaline phosphatase (ALP), gamma-glutamyl transpeptidase (GGT), 콜레스테롤, aminotransferase, 빌리루빈 등 생화학지표와 컴퓨터단층촬영(computed tomography, CT), 자기공명 영상(magnetic resonance imaging, MRI) 등의 영상자료 및 조직 검사 소견 등을 함께 조사하였다. PBC의 진단기준[10]은 AMA IF 검사 양성이고, 생화학적 검사상 담즙울체의 양상을 보이며, 조직검사에서

PBC에 특징적인 '만성 비화농파괴담관염'과 같은 이상소견이 있는 경우 '확정적 PBC'로 진단하였고, 이 세 가지 중 두 가지만 충족하는 경우 '추정적 PBC'로 하였다. 본 연구의 추정적 PBC 환자는 조직학적 검사를 시행하지 않았으나 나머지 두 가지를 만족하여 추정적 PBC환자로 분류하였다.

제1군 추정 PBC 2명, 급성 혹은 만성간염 18명, 독성 간손상 6명, 지방간 8명, 비정상간기능검사 5명, 백반 혹은 두드러기 등의 피부질환이 24명, 간암 2명 등으로 총 77명이었었다. 제2군 확정 PBC 3명, 추정 PBC 7명, 자가면역성간염 6명 등 34명이었으며. 제3군 전신홍반루푸스가 7명, 류마티스 관절염 3명 등 13명이었었다.

2. 검사방법

AMA IF는 KALLESTAD™ (Bio-Rad Laboratories, California, USA) 시약을 이용하여 키트내의 지침서대로 검사하였다. 판독은 형광현미경 OPTIPHOT-2 (Nikon, Japan, Tokyo)으로 판독하였다.

ELISA에 의한 AMA검사는 BCOADC-E2, OGDC-E2와 PDC-E2 재조합 단백인 MIT-3를 검출 항원으로 사용하는 QUANTA LITE™ M2EP (MIT3) ELISA (INOVA Diagnostics, San Diego, CA, USA)를 이용하였다. 각 검체의 반응강도는 약양성 대조물질의 농도를 25 units로 정하고 각 검체의 흡광도에 약양성 대조물질의 흡광도로 나눈 후 25를 곱해서 산출하였다.

항-sp100과 항-gp210 항체검사는 QUANTA LITE™ sp100 ELISA, QUANTA LITE™ gp210 ELISA (INOVA Diagnostics) 키트를 이용하여 항-MIT3 항체검사와 동일한 방법으로 시행하였다.

위 3가지 항체의 제조사에서 제시한 판정기준치는 모두 25 units였으나 항-MIT3의 경우 receiver operating characteristic (ROC) 곡선 분석에서 최적 판정기준치를 산정하여 적용하였고, 항-sp100과 항-gp-210은 제조사의 판정기준치를 그대로 적용하였다. AMA IF 결과와 항-MIT3 결과가 일치하지 않을 경우 각 검사를 재시행하여 두 번 같은 결과가 나올 때 그 결과를 해당 검사법의 결과로 하였다.

3. AMA IF와 항-MIT3 항체 검사의 진단 성능 비교

전체 130예에서 PBC로 확진된 3예와 추정 9예를 모두 PBC 진단군으로 포함하고 나머지 118예를 비PBC군으로 구분하여 분석하였다. PBC 진단기준으로 항-MIT3 항체 검사 결과의 ROC 곡선을 작성하였다.

4. 통계

Excel version 2003 (Microsoft, Redmond, WA, USA)과 MedCalc, Version 9.4.2.0 (MedCalc Software, Ostend, Belgium)을 이용하였다. ROC 곡선분석을 이용하여 항-MIT3 검사의 area under the curve (AUC)를 구하였고 항-MIT3의 특이도, 예민도의 합이 가장

큰 적정 판정기준치를 산출하였다. PBC 질환에 대한 AMA IF 결과와 항-MIT3, 항-sp100과 항-gp-210 결과의 특이도, 예민도 차이를 McNemar 카이제곱검정으로 확인하였고, AMA, 항-sp100, 항-gp 210 각 항체 유무와 PBC로 진단 또는 생화학지표 이상과의 연관성을 카이제곱검정을 이용하여 분석하였다. 또한 항-MIT3와 AMA IF 결과가 모두 양성인 군에서 PBC군과 비PBC군 간의 항-MIT3 units의 차이를 비모수 t 검정을 이용하여 분석하였다. 통계유의수준을 0.05로 하였다.

결 과

1. AMA IF와 항-MIT3 항체 검사의 진단 성능 비교

전체 130예에서 확진 PBC 3예와 추정 PBC 9예를 PBC군으로, 나머지 118예를 비PBC군으로 구분한 진단기준으로 항-MIT3 항체 검사 결과의 ROC 곡선을 작성하였다. PBC 진단에 대한 항-MIT3 항체의 중앙값은 106 units (78-186 units)이었고, AUC값은 0.934 (95% 신뢰구간, 0.877-0.970)이었으며 민감도와 특이도가 가장 높은 지점인 판정기준치는 76 units이었다(Fig. 1). PBC군에서는 AMA

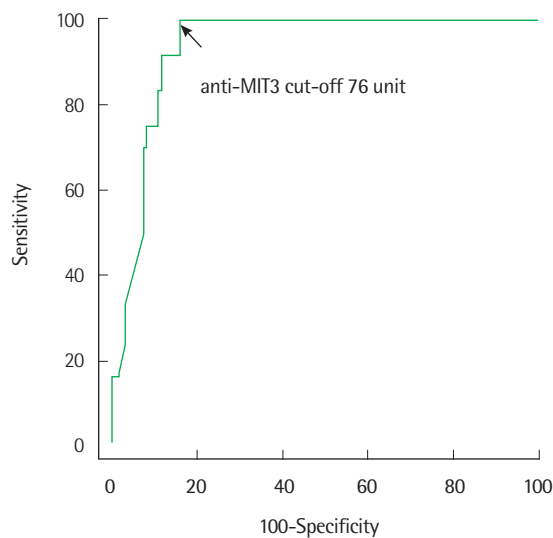


Fig. 1. Receiver operating characteristics curve for anti-MIT3 in the patients with PBC. The area under the curve of the anti-MIT3 is 0.934. The arrow indicates optimum cut-off value.

IF와 항-MIT3 검사결과가 모두 양성이었으며, 비PBC군 중 22명이 AMA IF에서 양성이었는데 항-MIT3는 제조사에서 제공한 기준치인 25 units로 하였을 때 26명, 본 연구의 ROC 곡선으로부터 얻은 76 units를 기준치를 사용하였을 경우는 20명이 양성이었다. AMA IF 검사의 특이도는 81.4%였고 항-MIT3는 기준치를 76 units를 사용하였을 때 83.1%였다. 양성예측도도 AMA IF는 35.3%, 항-MIT3는 제조사 기준치인 25 units를 사용하면 31.6%이나 본 연구결과에서 얻은 기준치인 76 units로 하면 37.5%로 다소 높아졌다(Table 1). 두 검사 모두 민감도가 100%였으며 따라서 음성예측도도 100%였다. 본 연구에서 얻은 판정기준치 76 units로 측정된 항-MIT3의 민감도와 특이도는 AMA IF 결과와 비교했을 때 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

본 연구에서 얻은 기준치인 76 units로 판정한 항-MIT3 검사와 AMA IF와의 비교에서 전체 대상자 130예 중 122예에서 일치한 결과를 보여 93.8% 일치도(κ , 0.82)를 보였으며 8예에서 불일치 결과를 보였다(Table 2). 불일치 예를 보이는 경우 확인을 위하여 검사를 각각 재시행하였으며, 그 결과가 처음 결과와 차이를 보이지 않아 분석에 그대로 이용하였다. 불일치 예를 상세히 살펴보면 항-MIT3 양성이나 AMA IF에서 음성인 예가 제1군에서 3예 있었으며 이들은 PBC에서 보일 수 있는 증상이나 담즙정체성 혈청소견을 보이지 않았다. 이들의 항-MIT3 값은 87-110 units 범위였다. AMA IF는 양성이었으나 항-MIT3 음성인 예가 제1군에서 1예, 제2군에서 4예 있었으며 만성 간염환자 2명, 독성 간손상 2명, 자가면역간염 1명이었다. 이들 5예 중 4예는 제조사의 권장 기준치 25 units를 사용하면 양성으로 판정될 수 있는 항-MIT3 값을 보였다(Table 3). 본 연구결과에서 얻은 기준치에 의한 항-MIT3와 AMA IF 모두 양

Table 1. Diagnostic performance of AMA IF and anti-MIT3 for the patients with primary biliary cirrhosis (PBC)

| | AMA IF | anti-MIT3 (cut-off 76 unit) | anti-MIT3 (cut-off 25 unit) |
|-------------|--------|--------------------------------|--------------------------------|
| Sensitivity | 100.0 | 100.0 | 100.0 |
| Specificity | 81.4 | 83.1 | 78.0 |
| PPV | 35.3 | 37.5 | 31.6 |
| NPV | 100.0 | 100.0 | 100.0 |

Abbreviations: IF indirect immunofluorescence; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value.

Table 2. Comparison of the results of AMA IF and anti-MIT3 with the sera of each group

| | | Group 1 (n=77) | | Group 2 (n=30) | | Group 3 (n=13) | | Group 4 (n=10) | |
|---------------------------------|---|----------------|----|----------------|---|----------------|----|----------------|----|
| | | AMA IF | | AMA IF | | AMA IF | | AMA IF | |
| | | + | - | + | - | + | - | + | - |
| Anti-MIT3 (cut-off 76 units) | + | 3 | 3 | 26 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | - | 1 | 70 | 4 | 0 | 0 | 13 | 0 | 10 |

Group 1, sera requested for AMA IF; Group 2, sera positive for AMA IF; Group 3, sera strongly positive for antinuclear antibody; Group 4, sera of subjects for health check-up.

Table 3. Clinical characteristics of patients showing discordant results in AMA IF and anti-MIT3 ELISA

| Age/Sex | Clinical Dx | AMA IF | anti-MIT3 (units) | anti-sp100 (units) | anti-gp210 (units) | Bilirubin, total/direct (mg/dL) | AST/ALT (IU/L) | ALP (IU/L) | GGT (IU/L) |
|---------|----------------------|--------|-------------------|--------------------|--------------------|---------------------------------|----------------|------------|------------|
| 47/F | Scleroderma | – | + (87) | 29 | 49 | 0.6/0.1 | 19/8 | 166 | NT |
| 54/F | Spinal stenosis | – | + (106) | 4 | 6 | 0.7/0.2 | 26/31 | 118 | NT |
| 61/F | Toxic liver | – | + (110) | 5 | 3 | 3.1/2.5 | 171/164 | 338 | 58 |
| 48/F | Toxic liver | + | – (61) | 5 | 4 | 0.6/0.2 | 58/81 | 122 | 76 |
| 58/F | Autoimmune hepatitis | + | – (58) | 3 | 3 | 0.7/0.2 | 47/59 | 398 | 525 |
| 61/F | Chronic hepatitis | + | – (17) | 96 | 150 | 1.1/0.5 | 80/68 | 474 | 469 |
| 49/F | Toxic liver | + | – (56) | 4 | 3 | 0.9/0.6 | 247/79 | 944 | 351 |
| 51/F | Chronic hepatitis | + | – (75) | 4 | 3 | 0.6/0.3 | 55/51 | 240 | 269 |

Cut-off level: anti-MIT3, 76 units; anti-sp100, 25 units; anti-gp210, 25 units, reference range: total bilirubin, 0.2–1.2 mg/dL; direct bilirubin, 0–0.4 mg/dL; AST, 8–38 IU/L; ALT, 5–43 IU/L; ALP, alkaline phosphatase 80–241 IU/L; GGT, gamma-glutamyl transpeptidase 11–75 U/L. Abbreviation: NT, not tested.

Table 4. Diagnostic performance of anti-gp210 and anti-sp100 antibodies for the patients with primary biliary cirrhosis (PBC)

| Clinical Dx | N | anti-gp210 | | anti-sp100 | |
|-------------|-----|------------|----------|------------|----------|
| | | Positive | Negative | Positive | Negative |
| PBC | 12 | 5 | 7 | 2 | 10 |
| Non-PBC | 118 | 6 | 112 | 3 | 115 |
| Total | 130 | 11 | 119 | 5 | 125 |

성을 보이면서 PBC가 아닌 예는 모두 17예, 이중 자가면역간염 4명, 지방간 3명, 자가면역질환 4명, 건강검진상 발견이 6명 있었다. 항-MIT3와 AMA IF결과가 모두 양성인 사람들에서 PBC와 비PBC의 항-MIT3 값을 비교하였을 때 PBC에서 113.6 ± 29.2 units, 비PBC에서는 100.5 ± 12.7 units로 유의하게 PBC군에서 높았다($P=0.003$). 또한 두 군 간의 생화학지표의 차이를 비교했을 때 혈청 ALP는 PBC에서 405.3 ± 258.3 IU/L, 비PBC에서는 220.3 ± 145.7 IU/L으로 두 군의 유의한 차이를 보였지만($P=0.042$) 혈청 GGT는 유의한 차이가 없었다($P=0.179$).

2. 항-sp100 항체와 항-gp210 항체

PBC 진단에 대한 항-sp100 항체와 항-gp210 항체의 AUC 값은 각각 0.800, 0.709였으며 민감도와 특이도가 가장 높았던 값은 각 3 units (민감도 91.7%, 특이도 55.1%), 5 units (민감도 50%, 특이도 90.7%)로 정상대조군의 결과 범위와 차이가 없어 판정기준치로 사용하기 곤란하였다. 따라서 두 항체검사의 판정기준치는 제조사가 제시한 25 units를 사용하여 분석하였다. 총 130명 중 항-sp100 항체 양성인 5명, 항-gp210 항체 양성인 11명이었고 두 항체 모두 양성인 예는 3명이었다. PBC에 대한 민감도와 특이도는 항-sp100의 경우 16.7%, 97.5%, 항-gp210의 경우 41.7%, 94.9%로 두 검사 모두 AMA IF법에 비하여 유의하게 민감도는 낮고 특이도는 높았다(항-sp100, $P=0.002$, <0.0001 ; 항-gp210, $P=0.0156$, <0.0001) (Table 4). PBC에 대한 음성예측도는 항-sp100은 92.0%, 항-gp210은 94.1%였

고 양성예측도는 항-sp100은 40%, 항-gp210은 45.5%로, 음성예측도는 AMA IF나 항-MIT3보다 열등하나 양성예측도는 AMA IF나 항-MIT3 보다 높았다. PBC 질환 유무와 항-sp100 항체와 항-gp210 항체 양성과의 연관성을 통계적으로 카이제곱검정하였을 때 항-gp210 항체는 유의한 연관성이 있었지만($P=0.0001$), 항-sp100 항체는 없었다($P=0.1018$). AMA IF 또는 항-MIT3 양성환자 중에서 항-gp210 양성 유무에 따라 ALP, GGT 값의 증가 여부를 카이제곱검정으로 분석하였으나 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 항-gp210 양성 환자 11예 중 PBC는 5예였으며 이들은 모두 AMA IF와 항-MIT3 양성이고, 비PBC 6예 중 4예에서도 모두 AMA IF와 항-MIT3가 양성이고, 2예에서 서로 다른 결과를 보이는 불일치가 각각 1예씩 있었다(Table 5). AMA IF와 anti-MIT3 두 검사 결과가 모두 음성인 예는 한 예도 없었다.

고 찰

PBC 환자에서는 류마티오이드인자, 항평활근항체, ANA 및 AMA 등의 자가항체가 흔히 관찰되는데 특히 90–95% 이상의 환자에서 AMA가 양성이어서 진단에 유용하게 이용되고 있다[1, 7, 15]. 그러나 5–10%의 PBC 환자에서 AMA가 음성이라 진단이 늦어질 수 있으며 낮은 역가의 AMA는 다른 여러 질환에서 관찰되어 AMA가 양성이라 하여도 PBC로 진단하기 어려운 경우도 있다[6]. 또한 AMA의 검사방법은 쥐의 신장/위 조직절편을 기질로 사용하는 IF 방법으로 검사 시간과 노력이 많이 들며, 판독시 관찰자의 경험이나 기술 등에 의존하여 위양성 또는 위음성의 결과를 보고 할 수 있어 PBC의 진단검사로써 제한점이 있다. 따라서 PBC의 정확한 진단을 위하여 특이적인 혈청 표지자 개발에 대한 필요성이 꾸준히 제기되어 왔다[9].

1960년대 처음으로 PBC 환자의 진단에 AMA가 언급된 이후로 [15] AMA는 하나의 항체가 아니라 여러 항원들을 인지하는 항체들

Table 5. Clinical characteristics of patients having anti-gp210 antibody

| Age/Sex | Clinical Dx | AMA IF | anti-MIT3 (unit) | anti-sp100 (unit) | anti-gp210 (unit) | Bilirubin, total/direct (mg/dL) | AST/ALT (IU/L) | ALP (IU/L) | GGT (U/L) |
|---------|----------------------|--------|---------------------|----------------------|----------------------|------------------------------------|-------------------|---------------|--------------|
| 63/F | Confirmed PBC | + | + (106) | 5 | 66 | 0.5/0.2 | 23/14 | 287 | 25 |
| 74/F | Probable PBC | + | + (100) | 4 | 27 | 0.4/0.1 | 28/24 | 152 | 86 |
| 54/F | Probable PBC | + | + (107) | 78 | 105 | 0.5/0.2 | 52/62 | 897 | 367 |
| 34/F | Probable PBC | + | + (186) | 19 | 310 | 0.9/0.4 | 51/61 | 804 | 128 |
| 80/F | ProbablePBC | + | + (78) | 3 | 158 | 0.9/0.3 | 33/26 | 248 | 36 |
| 77/F | Autoimmune hepatitis | + | + (107) | 4 | 170 | 1.2/0.4 | 40/26 | 96 | 33 |
| 80/F | Autoimmune hepatitis | + | + (104) | 5 | 116 | 15.0/9.8 | 1392/899 | 191 | 139 |
| 61/F | Chronic hepatitis | + | – (17) | 96 | 150 | 1.1/0.5 | 80/68 | 474 | 469 |
| 41/F | Fatty liver | + | + (129) | 3 | 133 | 0.8/0.2 | 72/104 | 527 | 356 |
| 47/F | Scleroderma | – | + (87) | 29 | 49 | 0.6/0.1 | 19/8 | 166 | NT |
| 51/F | Cervix cancer | + | + (94) | 4 | 124 | 1.0/0.3 | 29/15 | 58 | 32 |

Cut-off level: anti-MIT3, 76 units; anti-sp100, 25 units; anti-gp210, 25 units, reference range: total bilirubin, 0.2-1.2 mg/dL; direct bilirubin, 0-0.4 mg/dL; AST, 8-38 IU/L; ALT, 5-43 IU/L; ALP, alkaline phosphatase 80-241 IU/L; GGT, gamma-glutamyl transpeptidase 11-75 U/L.

Abbreviation: NT, not tested; PBC, primary biliary cirrhosis.

로 목표항원은 PDC-E2, BCOADC-E2, OGDC-E2, PDC의 E1 α sub-unit와 E3 binding protein로 구성된 2-oxo acid dehydrogenase complex (2-OADC)이라고 알려져 있다. 이 자가항원들은 해당경로, 트리카르복시산 회로, 가지사슬아미노산 대사에 중심적인 역할을 하며 구조상 N-terminal domain에 lipoic acid가 포함되어 있는 유사한 구조를 갖고 있고 이 부위가 AMA와 결합하는 항원 결정의 주요한 위치로 알려져 있다[16, 17]. 본 연구에서 평가한 항-MIT3 항체검사는 2-OADC 중 PDC-E2, BCOADC-E2, OGDC-E2의 재조합 항원에 대한 항체검사이다. Muratori 등은 22명의 간조직검사를 하지 않은 PBC 환자를 포함한 127명을 대상으로 IF법과 ELISA법을 비교하였고 PBC 진단에 있어 ELISA법이 IF법에 비해 민감도와 특이도가 높다고 보고하였다[9]. 이번 연구 결과 ROC 곡선에서 얻은 기준치를 사용한 경우 항-MIT3의 PBC 진단에 대한 민감도는 100%, 특이도는 83.9%로 AMA IF 검사 100%, 81.4%에 비교하여 진단능이 동등 혹은 우월하였다. 이와 같이 기준치를 재설정하여 결과를 산출한 경우 정확한 평가를 위하여 별도의 환자군을 대상으로 이 기준치의 진단능을 다시 평가하여야 하겠지만 대상군이 제한되다 보니 본 연구에서는 시행하지 못하였다.

본 연구의 주 대상인 PBC는 유병률이 인구 10만명당 40-400명 정도로 낮으며 국내에서 1986년 Kim 등[3]이 첫 증례를 보고한 후 산발적인 보고만이 있었다. 낮은 유병률로 인하여 본 연구 대상에 3년간의 모집기간에도 불구하고 확정 PBC는 3예만이 포함되었다. 또한 확진을 위한 진단 기준에 조직소견이 포함되어 있으나, 간조직검사는 PBC의 확진과 병기 결정을 위해 필요하지만 최근 연구에서는 이러한 병기가 치료효과를 판정하는데 유용하지 않고 오히려 간조직검사 후 합병증으로 인한 입원이 약 2.2%에 달한다고 알려져 특별한 이유가 없으면 통상적으로 간조직검사를 시행하지 않는 추세이다[18]. 본 연구의 대상자들 중 추정 PBC 환자들은 모두

간조직검사를 하지 않아 추정 PBC 환자로 분류하였고 PBC에 준하는 치료를 받고 있음을 병록지 조회에서 확인하였다. 이러한 이유로 본 연구에서는 PBC군을 확정 PBC와 추정 PBC군을 포함하여 분석하였다. 모든 환자에서 간조직검사를 시행하지 못하여 정확한 진단이 이루어지지 못한 것은 본 연구의 제한점이라 하겠다.

PBC의 낮은 유병률로 인하여 연구 초기에 PBC로 의심되어 AMA 검사가 의뢰된 모든 환자를 대상(제1군)으로 예비 분석하였고 분석 결과 AMA 검사가 충분히 민감한 것을 확인한 후 더 오랜 기간을 두고 AMA 양성 검체들을 모아 추가로 분석하였다(제2군). 높은 역가의 자가항체를 가진 경우 발생하는 교차반응을 우려하여 ANA 양성검체를 포함시켰으며(제3군) 정상 건강검진자들(제4군)을 대조군으로 포함하였다. 따라서 대상군 분포가 연구자의 의도에 따라 왜곡되어 있어 본 연구에서 도출된 민감도, 특이도를 그대로 받아들여 다른 연구와 직접 비교하기에는 어려움이 있다. 이런 점은 과거 보고에서도 마찬가지로 각 연구마다 대상군이 달라 AMA 검사의 민감도와 특이도가 보고마다 상이하다. 본 연구에서는 타 보고[9]와 달리 AMA 음성인 PBC 예가 1예도 없었는데 대상 환자군 모집시 이미 AMA IF 검사 결과를 바탕으로 진단이 이루어진 상태라 평가에 편향이 있었을 것으로 여겨진다. 하지만 이번 연구는 동일 대상군에서 4가지 검사를 모두 시행하여 비교하였기 때문에 상대적인 장단점은 의미있을 것으로 생각된다. 이번 연구 결과에서 AMA IF 법과 항-MIT3 검사 결과의 일치도가 높았고, 항-MIT3 검사에서 적절한 기준치를 적용하면 위음성의 증가없이 AMA IF 법보다 우월한 수준으로 특이도를 향상시킬 수 있었으며, 검사의 편의성이나 결과의 객관성을 모두 고려할 때 항-MIT3 검사가 전통적인 AMA IF 법을 대체하여 사용 가능하다고 평할 수 있겠다. 본 연구에서 두 검사 모두 음성예측도가 100%이므로 AMA 검사는 PBC가 의심되는 환자에서 일차적인 선별검사로 도움이 될 것으로

생각된다.

PBC 환자에서는 거의 절반에서 AMA 이외에도 ANA가 양성이다. PBC에 동반되는 ANA는 centromere, histone, Ro/SSA, nuclear pore complex, lamin B receptor 등에 대한 자가항체와 항-sp100, 항-gp210 항체들이 있다[11, 19, 20].

PBC 환자에서 항-MIT3에 대한 ROC 곡선에서 AUC 0.934로 진단적 유용성이 있었으며 판정기준치도 쉽게 도출할 수 있었는데 비하여 항-sp100, 항-gp210은 PBC에 대한 ROC 곡선에서 AUC 0.800, 0.709로 진단적 성능이 미흡하였으며, 본 연구에서 구한 기준치가 정상대조군의 결과와 차이가 없어 이를 사용하지 못하고 제조사의 기준치를 그대로 사용하였다. 항-sp100, 항-gp210의 진단성능가는 AMA와 같은 PBC의 선별검사로서의 유용성보다는 이차 확진검사의 유용성을 확인하는 것이 필요하며 이를 규명하려면 더 많은 PBC 환자를 대상으로 추가적인 연구가 필요하다. 이전의 보고에서 AMA 음성 PBC 환자에서는 이러한 ANA가 여러 개 동반될 경우 진단에 도움이 된다는 연구들과[13, 21, 22] 특히 항-sp100, 항-gp210, 항-centromere 항체의 경우 PBC의 예후와 연관된 지표라는 보고가 있었다[14, 23]. 본 연구에서는 항-sp100과 항-gp210을 검출하였는데 적은 수이지만 PBC 환자의 각각 16.7%, 41.7%에서 양성을 보였다. 기존 연구에서 항-sp100의 양성률은 27%였고 항-gp210의 양성률은 16-21%로 본 연구와 차이가 있었다[13, 19]. 항-sp100은 PBC 환자에서 항-gp210과 함께 보이는 경우가 있으며 PBC에 대한 예후지표라기보다는 진단지표이며 나이가 많은 것과 연관이 있다는 보고가 있었으나[12] 본 연구에서는 PBC와의 연관성을 확인할 수 없었다. 이 연구가 후향적으로 진행되어 임상정보가 부족하였고 대상자 중 PBC 환자수가 적어 정확한 분석을 하기에 제한점이 있어 어떠한 결론을 단정하기 어려우며 앞으로 전향적인 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다. 더구나 PBC의 경우 질환의 진행이 느리기 때문에 좀더 정확한 연관성을 분석하기 위하여 의심되는 모든 환자들에서 조직학적 평가가 필요할 것으로 생각된다. 이에 비하여 항-gp210은 다른 보고에서 PBC의 불량예후인자로 질환의 빠른 진행과 유의하게 연관이 있다고 하였으며[12, 13, 24], Nakamura 등은 항-gp210이 말기간부전의 고위험군에서 ursodeoxycholic acid의 치료효과를 모니터링하는데 유용할 것으로 보고하였다[25]. gp210은 핵막주위 핵공 단백질로 이 단백질들은 세포기질로 수송하는 단백질과 세포를 유지하는데 꼭 필요한 단백질들을 포함하고 있어서 이 단백질이 파괴되었을 때 질환의 예후와 연관이 있다는 연구가 있었다[26]. 본 연구에서 항-gp210 양성률과 PBC와 통계적으로 유의한 연관성이 있었으나 ALP나 GGT와 같은 생화학지표와는 연관성을 보이지 않았다. 아마 이 연구는 단면적 연구로 대상환자들이 이미 치료를 받고 있는 경우가 포함되어 임상적 중증도와 의 관계가 확인되지 않았을 가능성이 있다. 또한 단면적 연구의 제

한점으로 항-gp210의 유무가 PBC의 예후에 영향을 미치는지 혹은 PBC가 진행되면서 항-gp210이 나타나는지에 대해서도 알 수 없었다. 하지만 이번 연구에서 조사했던 자가항체 중 항-gp210이 PBC에 대한 양성예측률이 45.5%로 가장 높아 AMA 양성인 환자 중 PBC 환자를 진단하는 데 보조적인 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다. 추후 항-gp210의 임상적 유용성에 대하여 많은 수의 PBC 환자군에 대한 전향적인 연구가 필요하겠다.

요 약

배경: 원발담즙간경변증환자(PBC)들에서 항미토콘드리아항체(AMA)나 항핵항체(ANA) 등의 자가항체들이 검출되는데 이중 AMA 검사는 PBC의 중요한 진단표지자이다. AMA는 전통적으로 간접면역형광법(IF)을 이용하여 검출하는데 오류의 소지가 많다. 최근 AMA가 반응하는 특이항원을 이용한 효소면역검사법과 PBC에 특이적인 항핵항체 검사법이 개발되었다. 저자들은 PBC 환자에서 AMA 효소면역검사법 검출법의 하나인 항-MIT3 항체 검사와 PBC 특이 항핵항체인 항-sp100과 항-gp210 항체검사의 PBC에 대한 진단성능을 기존의 AMA IF 검사와 비교 평가하였다.

방법: PBC가 의심되어 AMA 검사가 의뢰된 환자, 다른 자가면역질환 환자 그리고 건강검진자를 포함하여 총 130예를 대상으로 하였으며 병록지 조회를 통하여 PBC 진단을 확인하였다. 총 130예의 혈청을 대상으로 AMA IF 검사와 항-MIT3 효소면역검사, 그리고 항-sp100과 항-gp210 효소면역검사를 시행하였다. PBC 진단에 대한 항-MIT3의 receiver-operating characteristics (ROC) 곡선분석을 통하여 area under the curve (AUC)와 판정기준치를 구했다. AMA IF에 비교하여 항-MIT3, 항-gp210과 항-sp100 항체의 PBC에 대한 진단성능을 비교하였다. 항-sp100 또는 항-gp210 항체의 유무와 PBC의 진단 및 생화학지표 이상과의 연관성을 조사하였다.

결과: 항-MIT3는 PBC 진단에 대한 ROC곡선에서 AUC는 0.934 (95% CI, 0.877-0.970)이었으며 AMA IF와 93.8%의 결과 일치도(κ , 0.82)를 보였다. 항-MIT3와 AMA IF 모두 민감도는 100%였고, 특이도는 각각 83.1% 그리고 81.4%였다. 항-gp210과 항-sp100의 민감도는 41.7%, 16.7%였고 특이도는 각각 94.9%, 97.5%였다. 항-sp100 항체와 달리 항-gp210 양성은 PBC 진단과 유의한 연관성이 있었으며 ($P=0.0001$), PBC에 대한 양성예측도는 45.5%로 평가한 항체들 중 가장 높았다.

결론: 항-MIT3 검사는 기존의 AMA IF법과 견주어 동등한 진단성능을 가진다. 항-gp210 검사는 PBC 진단을 위해 AMA에 보완적인 유용성이 있을 것으로 생각된다.

REFERENCES

1. Talwalkar JA and Lindor KD. Primary biliary cirrhosis. *Lancet* 2003;362:53-61.
2. Kaplan MM and Gershwin ME. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 2005;353:1261-73.
3. Chon CY and Park JY. Primary biliary cirrhosis. *Korean J Hepatol* 2006;12:364-72.
4. Nishio A, Keeffe EB, Ishibashi H, Gershwin EM. Diagnosis and treatment of primary biliary cirrhosis. *Med Sci Monit* 2000;6:181-93.
5. Leuschner U. Primary biliary cirrhosis-presentation and diagnosis. *Clin Liver Dis* 2003;7:741-58.
6. Kim KH, Han JY, Kim JM, Jang JS, Lee SW, Lee JH, et al. Determination of anti-mitochondrial antibody with M2 antigens. *Korean J Lab Med* 2005;25:104-10.
7. Berg PA, Klein R, Lindenborn-Fotinos J. Antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 1986;2:123-31.
8. Hohenester S, Oude-Elferink RP, Beuers U. Primary biliary cirrhosis. *Semin Immunopathol* 2009;31:283-307.
9. Muratori P, Muratori L, Gershwin ME, Czaja AJ, Pappas G, MacCariello S, et al. 'True' antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis, low sensitivity of the routine assays, or both? *Clin Exp Immunol* 2004;135:154-8.
10. Miyakawa H, Tanaka A, Kikuchi E, Matusushita M, Kitazawa E, Kawaguchi N, et al. Detection of antimitochondrial autoantibodies in immunofluorescent AMA-negative patients with primary biliary cirrhosis using recombinant autoantigens. *Hepatology* 2001;34:243-8.
11. Muratori P, Muratori L, Cassani F, Terlizzi P, Lenzi M, Rodrigo L, et al. Anti-multiple nuclear dots (anti-MND) and anti-SP100 antibodies in hepatic and rheumatological disorders. *Clin Exp Immunol* 2002;127:172-5.
12. Invernizzi P, Podda M, Battezzati PM, Crosignani A, Zuin M, Hitchman E, et al. Autoantibodies against nuclear pore complexes are associated with more active and severe liver disease in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2001;34:366-72.
13. Muratori P, Muratori L, Ferrari R, Cassani F, Bianchi G, Lenzi M, et al. Characterization and clinical impact of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2003;98:431-7.
14. Nakamura M, Kondo H, Mori T, Komori A, Matsuyama M, Ito M, et al. Anti-gp210 and anticentromere antibodies are different risk factors for the progression of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 2007;45:118-27.
15. Walker JG, Doniach D, Roitt IM, Sherlock S. Serological test in diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1965;39:827-31.
16. Ishibashi H, Shimoda S, Gershwin ME. The immune response to mitochondrial autoantigens. *Semin Liver Dis* 2005;25:337-46.
17. Brugggraber SF, Leung PS, Amano K, Quan C, Kurth MJ, Nantz MH, et al. Autoreactivity to lipoate and conjugated form of lipoate in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 2003;125:1705-13.
18. Zein CO, Angulo P, Lindor KD. When is liver biopsy needed in the diagnosis of primary biliary cirrhosis? *Clin Gastroenterol Hepatol* 2003;1:89-95.
19. Muratori L, Granito A, Muratori P, Pappas G, Bianchi FB. Antimitochondrial antibodies and other antibodies in primary biliary cirrhosis: diagnostic and prognostic value. *Clin Liver Dis* 2008;12:261-76.
20. Bogdanos DP, Baum H, Vergani D. Antimitochondrial and other autoantibodies. *Clin Liver Dis* 2003;7:759-77.
21. Nickowitz RE, Wozniak RW, Schaffner F, Worman HJ. Autoantibodies against integral membrane proteins of the nuclear envelope in patients with primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1994;106:193-9.
22. Milkiewicz P, Buwaneswaran H, Coltescu C, Shums Z, Norman GL, Heathcote EJ. Value of autoantibody analysis in the differential diagnosis of chronic cholestatic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2009;7:1355-60.
23. Invernizzi P, Selmi C, Ranftler C, Podda M, Wiesierska-Gadek J. Antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2005;25:298-310.
25. Nakamura M, Shimizu-Yoshida Y, Takii Y, Komori A, Yokoyama T, Ueki T, et al. Antibody titer to gp210-C terminal peptide as a clinical parameter for monitoring primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 2005;42:386-92.
26. Worman HJ. Nuclear envelope protein autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Hepatol Res* 2007;37(S3): S406-411.