

AxSYM 항-Cyclic Citrullinated Peptide 항체 검사의 진단적 유용성 평가

김경은¹ · 김경희¹ · 우광숙¹ · 한진영¹ · 김정만¹ · 이성원² · 정원태²

동아대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 내과학교실²

Diagnostic Utility of AxSYM Anti-Cyclic Citrullinated Peptide Antibody Assay

Kyung-Eun Kim, M.D.¹, Kyeong-Hee Kim, M.D.¹, Kwang-Sook Woo, M.D.¹, Jin-Yeong Han, M.D.¹, Jeong-Man Kim, M.D.¹,
Sung Won Lee, M.D.², and Won Tae Chung, M.D.²

Departments of Laboratory Medicine¹ and Internal Medicine², Dong-A University College of Medicine, Busan, Korea

Background : The presence of rheumatoid factor (RF) is one of the classification criteria of the American College of Rheumatology (ACR) for rheumatoid arthritis (RA), but it has a limitation of low specificity. We compared the diagnostic utility of anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) antibodies analyzed by an automated immunoassay system with that measured by a 96 well plate ELISA method.

Methods : The RF and anti-CCP antibodies were determined in 172 serum samples: 52 RA patients, 73 disease controls (systemic lupus, Sjogren's syndrome, palindromic rheumatism), and 47 healthy controls. Anti-CCP antibodies were measured by DIASTAT 96 well plate ELISA method (Axis-Shield Diagnostics, UK) and AxSYM automated microparticle enzyme immunoassay system (Abbott Laboratories, USA). RF was assayed by latex immunoturbidimetry (Toshiba 200 FR, Japan). The diagnostic performances of these tests were compared using a ROC curve analysis, and linearity and precision analysis of AxSYM anti-CCP was carried out.

Results : The sensitivities of RF, DIASTAT anti-CCP, and AxSYM anti-CCP were 78.8%, 84.6%, and 82.7%, respectively and the specificities were 72.5%, 88.3%, and 88.3%, respectively. On ROC curve analysis, the area under the curve was 0.924 for AxSYM anti-CCP, 0.886 for DIASTAT anti-CCP, and 0.847 for RF. AxSYM anti-CCP showed a good linearity, and within-run and total-run precision.

Conclusions : Diagnostic performance of automated AxSYM anti-CCP assay was comparable to that of DIASTAT 96 well plate ELISA method. AxSYM anti-CCP assay has an advantage of random access capability and will be useful in laboratories with low sample number and/or with a need of rapid turnaround time. (*Korean J Lab Med* 2008;28:457-64)

Key Words : Anti-cyclic citrullinated peptide antibody, Rheumatoid factor, Rheumatoid arthritis, AxSYM immunoassay

Received : May 23, 2008

Revision received : September 18, 2008

Accepted : September 29, 2008

Corresponding author : Kyeong-Hee Kim, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Dong-A University
College of Medicine, 1 Dongdaesindong 3-ga, Seo-gu, Busan
602-103, Korea
Tel : +82-51-240-2850, Fax : +82-51-255-9366
E-mail : progreen@dau.ac.kr

*본 논문은 2006학년도 동아대학교 학술연구비(공모과제)에 의하여 연구되었음.

서론

류마티스 관절염은 만성적인 전신성 자가면역성 질환으로 전 세계적으로 약 0.8% 정도의 유병률을 보인다. 윤활 관절의 염증이 특징적으로 생기며 관절의 점진적인 손상과 기능 장애에 이르게 된다[1]. 관절의 영구적인 장애를 예방하기 위해 질환의 초기에 적극적인 치료를 시행하고 있는 추세이다[2, 3]. 그러나

류마티스 관절염의 조기 진단은 쉽지 않은 실정이다.

류마티스 관절염 환자의 혈청에서 자가항체를 흔하게 발견할 수 있는데 그 중에서 가장 대표적인 것이 류마티스 인자이다[4]. 류마티스 인자는 1987년 개정된 미국 류마티스 학회(American College of Rheumatology)의 분류 기준에 포함되어 있는 유일한 혈청학적 표지자이다[5]. 특이도가 떨어지는 단점이 있지만 진단적 표지자로서 현재 널리 사용되고 있다. 류마티스 인자의 단점을 극복하고 류마티스 관절염 초기 치료의 임상적 목적에 부합되는 혈청학적 표지자의 발견을 위해 많은 노력들이 있어 왔다. 현재 citrullinated 항원 결정기가 포함된 단백질/펩티드에 대한 일련의 자가항체들이 연구 개발되어 류마티스 관절염의 진단에 좀 더 향상된 민감도 및 특이도를 제공하고 있다. Anti-perinuclear factor, anti-Sa, anti-mutated citrullinated vimentin, anti-keratin antibody 그리고 항-cyclic citrullinated peptide (CCP) 항체가 임상적 진단 및 치료의 결정에 유용한 특이도를 보이는 것으로 보고되고 있다[6, 7]. 이 중에서 citrullinated 펩티드의 고리형 변이체를 항원으로 사용하여 ELISA법으로 측정하는 항-CCP 항체 검사는 진단 시약으로 상용화 되었다.

최근 37개의 항-CCP 항체의 연구를 메타 분석한 보고[8]에 의하면 항-CCP 항체는 기존 류마티스 인자에 비해 특이도가 더 높으며, 관절의 미란성 손상을 더 잘 예측할 수 있다고 하였다. 이는 항-CCP 항체 검사가 다발성 관절통을 호소하는 환자들 중에서 류마티스 관절염 환자와의 감별 진단을 용이하게 하므로 류마티스 인자와 더불어 진단을 용이하게 해줄 것으로 기대된다. 더욱이 항-CCP 항체 검사가 자동화된 면역 검사 장비를 이용하여 편리하게 검사하고 결과도 빠른 시간 내 보고해줄 수 있다면 진료 시에 더욱 도움을 줄 수 있을 것이다. 이에 저자들은 본 검사실에서 기존에 사용하고 있던 96 microtiter 평판 well을 이용한 항-CCP 항체 검사를 자동화된 면역 검사 장비를 이용해 측정된 항-CCP 항체 검사와 진단적 유용성을 비교 평가해보고자 하였다. 또한 두 가지 항-CCP 항체 검사 결과와 라텍스 면역 혼탁법에 의해 측정된 류마티스 인자 검사 결과와 비교해 보았다.

대상 및 방법

1. 대상

2007년 3월부터 8월까지 동아대학교 의료원 진단검사의학과에 항-CCP 항체 검사가 의뢰된 환자 중 검체량이 충분하였

던 125명과 건강검진 센터 방문자 47명을 대상으로 하였다. 항-CCP 항체 검사가 의뢰된 시점의 병력 기록을 바탕으로 진단명을 조사하였다. 미국 류마티스 학회의 분류기준[5]에 따라 류마티스 관절염으로 진단받고, 치료 중이던 52명이 포함되었으며, 류마티스 관절염 환자의 평균 나이는 50.2 ± 12.5 세(17-75세)이었고, 여성이 43명이었다. 류마티스 관절염이 아닌 질환 대조군의 환자는 73명이 포함되었다. 세부적으로 보면 전신성 류마티스 질환은 전신성 루푸스가 18명, 쇼그렌 증후군 4명이었으며, 기타 류마티스 질환으로 골 관절염 22명, 재발성 류마티즘(palindromic rheumatism) 7명, 성인 발병 Still병 1명, 강직성 척추염 2명, 통풍 1명, 베체씨병 1명, 건선성 관절염 1명, 미분화 결합조직 질환(undifferentiated connective tissue disease) 4명, 소아형 류마티스 관절염 1명이었다. 그리고 신 증후군 2명, 악성 종양 2명, 간질성 폐질환 1명, 바이러스 감염증 4명, 뇌 경색증 1명, 요통 1명이었다. 나머지 47명은 본원 건강검진센터를 방문한 사람 중 일반 혈액검사 및 일반화학 검사상 정상인 경우 무작위적으로 추출하여 건강 대조군으로 하였다(Table 1).

2. 방법

본 검사실에서 일상적으로 실시하고 있던 96 microtiter 평판 well ELISA법으로 항-CCP 항체를 측정 후 검체를 수집하여 -20°C 에 보관하였다가 추가적으로 자동화된 면역 검사 장비를 이용하여 항-CCP 항체를 측정하였다. 먼저 96 microtiter 평판 well ELISA방법인 DIASSTAT 항-CCP 항체 검사는 DIAS-TATTM anti-CCP (Axis-Shield Diagnostics, Dundee, UK) 키트를 이용하여 설명서에 따라서 검사하였다. 1:100으로 희석한 혈청 검체 100 μL 를 citrullinated 합성 펩티드 항원이 코팅된 96 microtiter 평판 well과 반응시켜 효소면역 분석기기인 Coda (Biorad, CA, USA)를 사용해 흡광도를 구하고 농도를 측정하였다. 농도가 다른 5개의 표준물질의 흡광도를 이용하여 표준곡선을 구하였으며, 매 검사 때마다 음성 및 양성 대조 물질을 같이 검사하여 허용 범위 내에 있는 것을 확인한 후에 결과를 얻었다. 제조사의 지침에 따라 농도가 5 U/mL을 초과하는 경우 양

Table 1. The characteristics of rheumatoid arthritis patients and control subjects

	N of subjects	Age (Mean \pm SD)	M/F
RA	52	50.2 ± 12.5	9/43
Control diseased	73	45.7 ± 14.5	21/52
healthy	47	45.5 ± 9.8	28/19

Abbreviations: RA, rheumatoid arthritis; M, male; F, female.

성으로 판정하였다. 다음으로 자동화된 면역검사 장비인 AxSYM 기기(AxSYM System, Abbott Laboratories, IL, USA)에 AxSYM® anti-CCP (Axis-Shield Diagnostics, Dundee, UK) 시약을 사용하여 측정하였다. 시약은 접합체(conjugate), CCP-coated microparticles, 검체 희석액과 기질 방 차단제(matrix cell blocker)로 구성되어 있으며 6개의 표준물질을 이용해 표준화 곡선을 구하였다. DIASTAT anti-CCP 검사와 마찬가지로 매 검사 시마다 음성 및 양성 대조 물질을 같이 검사하였고, 양성 판정은 농도 값이 제조사에서 제시한 기준치 5 U/mL을 초과하는 경우로 하였다. 두 항-CCP 항체 검사는 모두 2세대 CCP 펩티드를 항원으로 사용하고 있었다.

AxSYM 항-CCP 항체 검사의 직선성 평가를 위하여 높은 농도와 낮은 농도의 항-CCP 항체 검체를 선정하였다. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) EP6-A[9] 지침에 따라 4:0, 3:1, 2:2, 1:3, 0:4의 비율로 낮은 농도 및 높은 농도 검체를 혼합하였다. 제조된 5가지 단계의 농도물질을 무작위 순서로 배열한 뒤 각각 3회 측정하여 평가하였다.

AxSYM 항-CCP 항체 검사의 정밀도 평가를 위하여 상품화된 양성 대조 물질인 AxSYM Anti-CCP Controls (Axis-Shield Diagnostics, Dundee, UK)와 낮은 항-CCP 농도값의 환자 검체를 이용하였다. CLSI EP5-A2[10] 지침에 따라 대조 물질과 환자 검체에 대하여 매일 2회, 1회 2번씩 5일간 반복 측정하여 평가하였다.

또한 냉동보관했던 혈청으로 류마티스 인자는 면역비탁법 시약인 RF-X1 (Denka Seiken, Tokyo, Japan)으로 Toshiba

TBA-200 FR (Toshiba, Tokyo, Japan)을 이용하여 측정하였다. 제조사에서 제시한 기준치는 18 IU/mL이었다.

3. 통계

항-CCP 항체와 류마티스 인자에 대해 제조사에서 제시한 기준치를 이용하여 민감도와 특이도를 구하였다. 또한 ROC 곡선을 이용하여 곡선하 면적을 비교하였으며, 민감도와 특이도의 합이 가장 큰 적정 분별 한계치를 새로이 구해보았다. 류마티스 인자와 두 키트의 항-CCP 항체 농도에 대해 류마티스 관절염 환자군과 전체 대조군 사이에 로지스틱 회귀 분석을 시행하였다. 또한 200 U/mL 이상의 농도값을 제외한 AxSYM 항-CCP 검사와 DIASTAT 항-CCP 항체 검사 결과 간 상관성 분석을 실시하였다. 모든 분석 결과는 $P < 0.05$ 를 통계적으로 유의하다고 간주하였다. 통계 분석은 SPSS 11.5 (SPSS, Chicago, USA), MedCalc version 9.2 (Medcalc software, Mariakerke, Belgium), Analyse-it (Analyse-it Software, England, UK)을 이용하였다.

결 과

1. 항-CCP 항체와 류마티스 인자의 농도 비교

DIASTAT 항-CCP 항체와 AxSYM 항-CCP 항체 그리고 류마티스 인자를 류마티스 관절염 52명과 질환 대조군 73명 건강

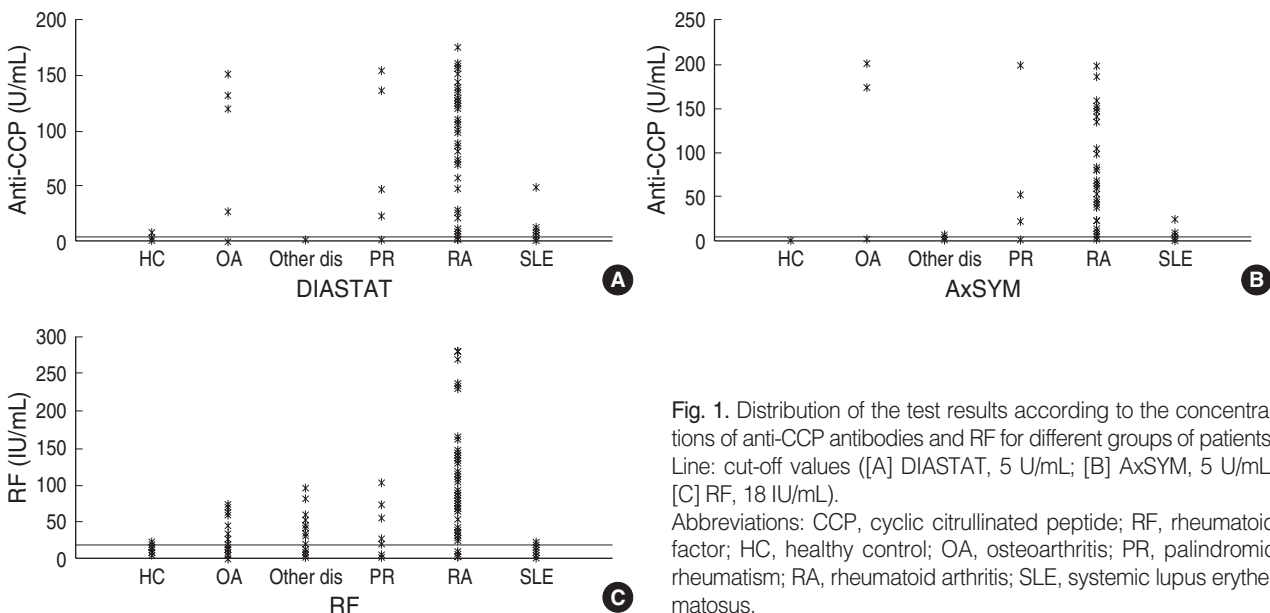


Fig. 1. Distribution of the test results according to the concentrations of anti-CCP antibodies and RF for different groups of patients. Line: cut-off values ([A] DIASTAT, 5 U/mL; [B] AxSYM, 5 U/mL; [C] RF, 18 IU/mL). Abbreviations: CCP, cyclic citrullinated peptide; RF, rheumatoid factor; HC, healthy control; OA, osteoarthritis; PR, palindromic rheumatism; RA, rheumatoid arthritis; SLE, systemic lupus erythematosus.

인 대조군 47명에 대해 모두 검사를 실시하였다(Fig. 1). AxSYM 및 DIASTAT 항-CCP 항체의 농도는 모두 류마티스 관절염 환자군에서 전체 대조군에 비해서 유의하게 높았으며($P<0.0001$), 류마티스 인자의 농도 역시 류마티스 관절염 환자군에서 전체 대조군에 비해서 유의하게 높았다($P<0.0001$).

2. DIASTAT 및 AxSYM 항-CCP 항체 검사의 일치도 비교

DIASTAT 항-CCP 항체 검사와 AxSYM 항-CCP 항체 검사 결과를 비교하였을 때 RA 환자 52명 중 5명, 질환 대조군 73명 중 5명, 건강인 대조군 47명 중 1명이 일치하지 않았으며, 나머지 161명(93.6%)의 두 키트 간의 검사 결과는 모두 일치하였다. RA 환자군에서 DIASTAT 항-CCP 양성, AxSYM 항-CCP 음성인 예가 3명 있었고, 반대의 경우가 2명 있었다. DIASTAT 항-CCP 값이 157 U/mL, AxSYM 항-CCP 값이 2.1 U/mL로 일치하지 않는 예를 제외하고, 두 검사가 일치하지 않는 경우 양성 값의 값을 보인 4예들은 모두 10 U/mL 이하로 낮은 농도 값을 보였다. 질환 대조군에서 일치하지 않는 경우는 DIASTAT 항-CCP 양성, AxSYM 항-CCP 음성인 예가 2명 있었고, 반대의 경우가 3명이었다. 퇴행성 관절염 1예에서 DIASTAT 항-CCP 27.4 U/mL, AxSYM 항-CCP 1.8 U/mL로 일치하지 않는 경우를 제외하고 질환 대조군에서도 불일치의 경우 양성을 보인 결과값은 모두 10 U/mL 이하로 낮은 농도 범위에 있었다. 건강인 대조군에서 불일치를 보인 예는 DIASTAT 항-CCP 6.5 U/mL, AxSYM 항-CCP 3.7 U/mL의 결과를 보였다. 질환 대조군에서 DIASTAT 항-CCP와 AxSYM 항-CCP 항체가 모두 양성으로 나온 예는 11명으로 재발성 류마티즘 4명, 전신성 루푸스 4명, 골 관절염 3명이었다. 항체 농도가 두 키트에서 모두 12 U/mL로 비교적 낮았던 전신성 홍반성 루푸스 환자 3명을 제외하고,

나머지 8명은 모두 20 U/mL에서 최고 200 U/mL까지 다양했으며, 두 키트 간의 농도 값은 비슷한 수치를 보여 주었다(Table 2). DIASTAT 항-CCP 항체 검사와 AxSYM 항-CCP 항체 검사 간의 농도 값은 통계적으로 유의한 상관성을 보였다(Spearman's coefficient of rank correlation=0.586, $P<0.0001$).

3. DIASTAT 및 AxSYM 항-CCP 항체 검사의 진단적 유용성 비교

DIASTAT 항-CCP와 AxSYM 항-CCP 항체 검사의 제조사의 기준치를 기준으로 했을 때 민감도는 각각 84.6%, 82.7%였으며 특이도는 88.3%로 동일하였다. ROC 곡선을 이용하여 민감도와 특이도의 합이 가장 큰 적정 분별 한계치를 구해 보았을 때 DIASTAT 항-CCP 검사는 2.4 U/mL로 낮아졌고, AxSYM 항-CCP 검사는 8.4 U/mL로 높아졌다. ROC 곡선의 적정 분별 한계치로 구한 DIASTAT와 AxSYM 항-CCP 항체 검사의 민감도와 특이도는 Table 3과 같다. 새로운 분별 한계치를 적용하였을 때 AxSYM 항-CCP 항체 검사의 특이도가 증가하였으며, DIASTAT 항-CCP 항체 검사는 동등한 특이도를 유지하면서 민감도가 증가하였다. ROC 곡선하 면적은 AxSYM 항-CCP 항체 검사가 0.924 (95% 신뢰구간 0.873-0.959)로 가장 높았고, DIASTAT 항-CCP 항체 검사는 0.886 (95% 신뢰구간 0.829-0.929)이었으며, 류마티스 인자가 0.847 (95% 신뢰구간 0.784-0.897)로 가장 낮았지만, 각 검사들의 곡선하 면적 간에 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다(Fig. 2).

4. AxSYM 항-CCP 항체 검사의 직선성 및 정밀도 평가

AxSYM 항-CCP 항체 검사는 0.4-188 U/mL의 농도 범위

Table 2. Distribution of positivities of two anti-CCP tests

		DIASTAT anti-CCP	
		Positive	Negative
RA (n=52)			
AxSYM anti-CCP	Positive	41	2
	Negative	3	6
Non-RA (n=73)			
AxSYM anti-CCP	Positive	11	3
	Negative	2	57
Healthy control (n=47)			
AxSYM anti-CCP	Positive	0	0
	Negative	1	46

Abbreviations: CCP, cyclic citrullinated peptide; RA, rheumatoid arthritis.

Table 3. Comparison of sensitivities and specificities of DIAS-TAT anti-CCP, AxSYM anti-CCP and RF tests in RA patients and control group using the manufacturer's cut-off values and ROC curves derived cut-off values

	DIASTAT	AxSYM	RF
Manufacturer's cut-off	5 U/mL	5 U/mL	18 IU/mL
Sensitivity	84.6%	82.7%	78.8%
Specificity	88.3%	88.3%	72.5%
Cut-off based on ROC curves	2.4 U/mL	8.4 U/mL	27.2 IU/mL
Sensitivity	86.5%	80.8%	76.9%
Specificity	88.3%	93.3%	84.2%

Abbreviations: CCP, cyclic citrullinated peptide; RA, rheumatoid arthritis; RF, rheumatoid factor.

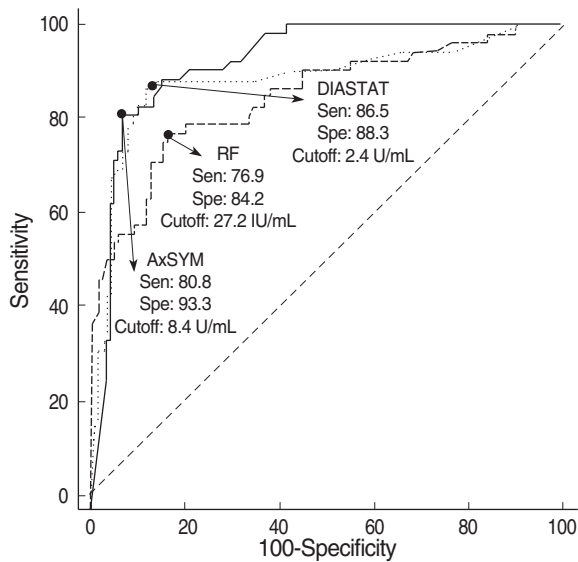


Fig. 2. The receiver operator characteristics (ROC) curves of Diastat anti-CCP (AUC, 0.888), AxSYM anti-CCP (AUC, 0.923) and RF (AUC, 0.847) in RA patients and control group. There was no significant difference among the AUCs.

Abbreviations: Sen, sensitivity; Spe, Specificity; CCP, cyclic citrullinated peptide; RF, rheumatoid factor; RA, rheumatoid arthritis; AUC, area under the curve.

내에서 직선성이 유지되었다(Fig. 3). 검사차례 내 정밀도 변이 계수(within-run CV) 및 총정밀도 변이계수(total CV)는 Table 4와 같으며 양성 대조 물질의 변이계수가 더 우수하였다.

고 찰

1987년 미국 류마티스 학회에 의해 제안된 류마티스 관절염의 분류기준에는 임상증상, 방사선학적 변화 소견 그리고 혈청 류마티스 인자로 구성되어 있다[5]. 임상증상에는 1시간 정도 지속되는 조조경직, 3개 이상 관절의 다발적 침범, 대칭적인 관절염, 손 관절의 염증, 그리고 류마티스 모양 결절이 포함되며 이러한 임상 증상들은 최소 6주간 지속되어야 한다. 분류기준에 유일하게 포함되어 있는 검사실 소견인 혈청 류마티스 인자는 환자의 약 70%에서 양성을 보인다. 그러나 급만성 감염증이나 일차성 쇼그렌 증후군의 40~50%에서 양성소견을 보여 특이도가 낮은 단점이 있다[11]. 또한 최근 류마티스 관절염의 치료 경향이 질환의 초기에 항류마티스제제로 적극적인 치료를 시행하는 것으로 바뀌고 있어 초기 관절염 환자를 신속 정확하게 진단할 수 있는 혈청학적 표지자의 대두가 절실하였다[2, 3]. 이러한 요구들 속에서 개발된 항-CCP 항체는 높은 특이도를 장점으로 기존 류마티스 인자의 문제점을 극복할 수 있는 검사로 자리를 잡아가고 있다[8, 12].

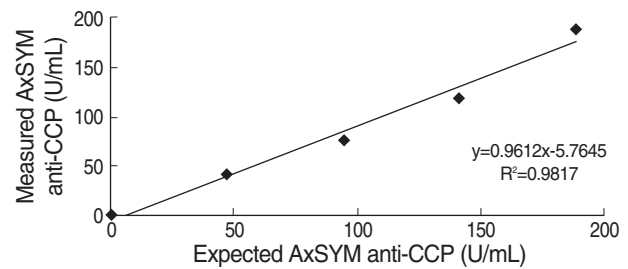


Fig. 3. Linearity of AxSYM anti-CCP antibody test. Abbreviation: CCP, cyclic citrullinated peptide.

Table 4. Precision of AxSYM anti-CCP test

	N	Mean (U/mL)	SD	Within-run CV (%)	Total CV (%)
Positive control	20	20.21	1.05	3.4	5.2
Pooled negative serum	20	1.27	0.12	9.3	9.8

Abbreviation: CCP, cyclic citrullinated peptide.

항-CCP 항체는 IgM형 류마티스 인자와 함께 류마티스 관절염의 증상이 발현되기 평균 4.5년 전에 이미 순환 혈액에서 검출될 수 있는 것으로 알려져 류마티스 관절염의 고위험군의 조기 진단에 유용한 것으로 되어 있다[13]. 최근에는 항-CCP 항체 양성군과 음성군에서 활막염의 차이가 있고, 항-CCP 항체 양성군에서 활막 조직 내 림프구 침윤이 더 많이 일어 나며 국소적인 관절 파괴의 속도가 더 높다는 실험 결과가 보고되었다[14]. 그리고 혈청학적 검사의 중요성이 강조되는 기존 류마티스 관절염 분류 기준의 유용성을 재검토해보는 연구가 발표되었다. 1987년 미국 류마티스 학회의 7가지 분류기준에 항-CCP 항체를 추가한 것과 기존 분류기준 중에서 류마티스 모양 결절과 방사선학적 소견을 제외하고 항-CCP 항체를 대신 넣은 새로운 분류기준을 이용하여 류마티스 관절염 진단의 민감도와 특이도를 연구한 것이다. 새로운 분류기준은 임상적 소견 4가지와 류마티스 인자와 항-CCP 항체 두 개의 혈청학적 표지자를 이용한 것으로 특히 6개월 미만의 임상 증상을 보인 관절염 환자에서 진단의 민감도를 향상시키는 것으로 나타났다[15]. 이처럼 항-CCP 항체는 류마티스 관절염의 조기 진단에 매우 유용한 검사로서 쉽게 이용 가능하고 비교적 흔히 사용되는 자동화된 면역 검사 장비에서의 검사 요구도가 증가할 것으로 생각된다.

이에 본 연구는 임의 액세스가 가능하고 자동화된 면역검사 장비인 AxSYM 장비를 이용하여 측정된 항-CCP 항체 검사와 기존의 96 microtiter 평판 well을 이용한 DIASTAT 항-CCP 항체 검사의 유용성을 비교한 것이다. 특히 AxSYM 장비는 임의 액세스가 가능하고 소수의 검체인 경우에도 쉽게 측정이 가

능하여 AxSYM 장비를 비치하고 있는 검체 수가 적은 검사실에서는 비용효율적인 측면에서 유리하다고 할 수 있겠다.

본 연구에서 관찰된 민감도 및 특이도는 기존의 보고와 차이가 난다. 최근 항-citrullinated 단백질/펩티드 항체 검사 키트의 진단능을 평가한 연구 결과를 보면 민감도는 대략적으로 60-75% 범위이고 특이도는 86-98% 범위이다[16-18]. 본 연구의 민감도가 DIASTAT 키트의 경우 84.6%, AxSYM 검사의 경우 82.7%로써 기존 보고보다 높은 수준이다. 이는 검체 수집의 과정에서 항-CCP 항체 검사가 의뢰된 검체를 수집하여 연구를 수행하였기 때문에 혈청학적으로 음성인 류마티스 관절염 환자가 적게 포함되는데 기인하는 것으로 생각된다. 특이도는 두 키트 각각 88.3%로써 류마티스 인자의 특이도 72.5%보다는 높고, 기존 연구 결과들의 범위에 속하지만 평균적인 90% 이상의 특이도보다는 낮다. 이러한 것은 두 키트 모두 양성으로 나온 11명의 환자가 질병 대조군에 포함되었기 때문으로 생각된다. 11명은 재발성 류마티즘 4명, 전신성 루푸스 4명, 골 관절염 3명이었다. 47명의 건강인 대조군에서는 DIASTAT 키트에서만 낮은 농도의 양성 1예가 관찰되었고 대조적으로 류마티스 인자의 경우에는 4예가 양성이었다. 본 결과는 순수 재발성 류마티즘 환자의 56%에서 항-CCP 항체가 양성이라는 보고와 유사한 결과로서, 총 7명의 재발성 류마티즘 환자 중 4명이 양성이었다[19]. 재발성 류마티즘 환자의 약 절반이 류마티스 관절염으로 진행하였고, 진행했던 환자의 83%에서 항-CCP 항체가 양성을 보였다는 연구 결과[20]를 통해 재발성 류마티즘 환자에서 예후 추정적 역할을 하는 것을 알 수 있다. 본 연구의 환자들에게도 경과 관찰이 향후 필요할 것으로 생각되었다. 항-CCP 항체가 양성인 전신성 루푸스 환자는 미란성 관절염의 증상을 보일 확률이 더 높으며, 항-CCP 항체가 미란성 병변의 발병기전과 연관성이 있다는 보고가 있다[21]. 본 연구에서 항-CCP 항체가 총 18명의 홍반성 루푸스 환자 중 4명에서 양성이었었는데 미란성 병변 여부에 대한 조사가 이루어지지는 않았다. 홍반성 루푸스 환자에서 관찰되는 항-CCP 항체의 임상적 의의에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각되었다.

DIASTAT 검사와 AxSYM 검사에서 불일치를 보이는 경우는 모두 11예로 2명을 제외하고는 양성을 보인 결과값은 모두 10 U/mL 이하로 낮은 농도 범위에 있었다. 낮은 농도의 양성인 경우에는 추적 관찰이나 다른 혈청학적 표지자를 추가적으로 검사해 볼 필요가 있을 것이다.

본 연구에서 ROC 곡선을 이용하여 새롭게 구한 분별 한계치는 제조사에서 제시한 기준치와 비교해서 3 U/mL 내외의 차이를 보여 DIASTAT 항-CCP 검사는 2.4 U/mL로 낮아졌고,

AxSYM 항-CCP 검사는 8.4 U/mL로 높아졌다. 이는 각 제조사에서 제시하는 기준치를 그대로 사용할 경우 각 검사실에서는 최적의 진단적 유용성을 제공하지 못하게 됨을 의미한다. ROC 곡선의 최적 분별 한계치와 제조사 기준치 값의 차이가 크다면 각 검사실에서는 충분한 검토 후에 ROC 곡선의 최적 분별 한계치를 새로운 기준치로 정해서 사용하는 것을 고려하여야 할 것이다.

결론적으로 항-CCP 항체 검사들은 류마티스 인자 검사보다 민감도 및 특이도가 더 높아 류마티스 관절염의 진단에 유용할 것으로 사료되었으며, 96 well 평판 ELISA법의 DIASTAT 항-CCP와 AxSYM 항-CCP 검사의 진단적 유용성은 유사하였다. 임의 액세스가 가능한 AxSYM 항-CCP 검사는 빠른 결과가 필요하거나 검체 수가 적은 의료 기관에서 류마티스 인자와 함께 류마티스 관절염 진단에 유용하리라 사료된다.

요 약

배경 : 류마티스 관절염의 혈청학적 표지자로는 류마티스 인자가 미국 류마티스 학회의 분류기준에 포함되어 있으나 특이도가 낮은 단점이 있다. 본 연구는 최근 자동화된 면역장비에 검사가 가능한 항-CCP 항체 검사가 개발되어 96 well 평판 ELISA법의 항-CCP 검사와 진단적 유용성을 비교 평가하고자 하였다.

방법 : 총 172명의 혈청을 대상으로 류마티스 인자와 항-CCP 검사를 하였다. 류마티스 관절염 환자 52명, 전신성 루푸스, 쇼그렌 증후군, 재발성 류마티즘 등을 포함하는 질병 대조군 73명, 건강인 대조군 47명이 포함되었다. DIASTAT 항-CCP는 96 well 평판 ELISA법(Axis-Shield Diagnostics, UK), AxSYM 항-CCP는 microparticle EIA 장비인 AxSYM (Abbott Laboratories, USA) 장비를 이용하여 측정하였고, 류마티스 인자는 라텍스 면역비탁법(Toshiba 200 FR, Japan)으로 검사하였다. ROC곡선을 이용하여 각 검사법의 진단적 능력을 비교해 보았으며, AxSYM 항-CCP 검사의 직선성과 정밀성을 평가하였다.

결과 : 류마티스 인자, DIASTAT 항-CCP, AxSYM 항-CCP 검사의 민감도는 각각 78.8%, 84.6%, 그리고 82.7%이었다. 각 검사들의 특이도는 각각 72.5%, 88.3%, 88.3%이었다. ROC 곡선하 면적은 AxSYM 항-CCP 검사가 0.924, DIASTAT 항-CCP 검사는 0.886이었으며, 류마티스 인자가 0.847로 가장 낮았다. AxSYM 항-CCP 검사는 우수한 직선성을 보였으며, 검사 중 및 총 변이계수는 10% 이내였다.

결론 : AxSYM 항-CCP 검사의 진단적 유용성은 96 well 평판 ELISA법의 DIASTAT 항-CCP와 유사하였다. 임의 액세스

가 가능한 AxSYM 항-CCP 검사는 빠른 결과가 필요하거나 검체 수가 적은 검사실에서 유용하리라 사료된다.

감 사

본 연구에 시약을 제공해 주신 한국에보트 주식회사에 감사드립니다.

참고문헌

1. Kasper DL, Fauci AS, et al. eds. Harrison's principles of internal medicine. 16th ed. New York: McGraw-Hill, 2004:1968-76.
2. Boers M, Verhoeven AC, Markusse HM, van de Laar MA, Westhovens R, van Denderen JC, et al. Randomised comparison of combined step-down prednisolone, methotrexate and sulphasalazine with sulphasalazine alone in early rheumatoid arthritis. *Lancet* 1997;350:309-18.
3. Anderson JJ, Wells G, Verhoeven AC, Felson DT. Factors predicting response to treatment in rheumatoid arthritis: the importance of disease duration. *Arthritis Rheum* 2000;43:22-9.
4. Steiner G and Smolen J. Autoantibodies in rheumatoid arthritis and their clinical significance. *Arthritis Res* 2002;4(S):S1-5.
5. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315-24.
6. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, et al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000;43:155-63.
7. van Boekel MA, Vossenaar ER, van den Hoogen FH, van Venrooij WJ. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. *Arthritis Res* 2002;4:87-93.
8. Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, Tsuji G, Nakazawa T, Kawano S, et al. Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Ann Intern Med* 2007;146:797-808.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of the linearity of quantitative measurement procedures: a statistical approach; approved guideline. Document EP6-A. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2003.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of precision performance of quantitative measurement methods; approved guideline-2nd ed. Document EP5-A2. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2004.
11. Newkirk MM. Rheumatoid factors: host resistance or autoimmunity? *Clin Immunol* 2002;104:1-13.
12. Avouac J, Gossec L, Dougados M. Diagnostic and predictive value of anti-cyclic citrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Ann Rheum Dis* 2006;65:845-51.
13. Nielsen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MH, et al. Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum* 2004;50:380-6.
14. van Oosterhout M, Bajema I, Levarht EW, Toes RE, Huizinga TW, van Laar JM. Differences in synovial tissue infiltrates between anti-cyclic citrullinated peptide-positive rheumatoid arthritis and anti-cyclic citrullinated peptide-negative rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008;58:53-60.
15. Liao KP, Batra KL, Chibnik L, Schur PH, Costenbader KH. Anti-cyclic citrullinated peptide revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008;67:1557-61.
16. Lutteri L, Malaise M, Chapelle JP. Comparison of second- and third-generation anti-cyclic citrullinated peptide antibodies assays for detecting rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta* 2007;386:76-81.
17. Coenen D, Verschueren P, Westhovens R, Bossuyt X. Technical and diagnostic performance of 6 assays for the measurement of citrullinated protein/peptide antibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 2007;53:498-504.
18. Cho SY, Kang SY, Lee HJ, Lee WI. A comparative evaluation of the diagnostic value of anti-cyclic citrullinated peptide and rheumatoid factor in rheumatoid arthritis. *Korean J Lab Med* 2008;28:39-45. (조선영, 강소영, 이희주, 이우인. 류마티스 관절염 진단에 있어서 항-Cyclic Citrullinated Peptide 항체와 류마티스인자의 진단적 가치 비교 평가. 대한진단검사의학회지 2008;28:39-45.)
19. Salvador G, Gomez A, Vinas O, Ercilla G, Canete JD, Munoz-Gomez J, et al. Prevalence and clinical significance of anti-cyclic citrullinated peptide and antikeratin antibodies in palindromic rheumatism. An abortive form of rheumatoid arthritis? *Rheumatology* 2003;42:972-5.
20. Russell AS, Devani A, Maksymowych WP. The role of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in predicting progression of palin-

- dromic rheumatism to rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2006;33:1240-2.
21. Chan MT, Owen P, Dunphy J, Cox B, Carmichael C, Korendowych E, et al. Associations of erosive arthritis with anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and MHC Class II alleles in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2008;35:77-83.