

루푸스항응고인자 검출을 위한 실리카응고시간의 유용성

이혜련¹ · 김지은¹ · 하수현² · 김현경¹ · 박선양³ · 조한익¹

서울대학교 의과대학 검사의학교실¹, 서울대학교병원 진단검사의학과², 서울대학교 의과대학 내과학교실³

Usefulness of Silica Clotting Time for Detection of Lupus Anticoagulants

Hye Ryun Lee, M.D.¹, Ji-Eun Kim, M.S.¹, Soo-Hyun Ha, M.T.², Hyun Kyung Kim, M.D.¹, Seonyang Park, M.D.³,
and Han-Ik Cho, M.D.¹

Department of Laboratory Medicine¹, Seoul National University College of Medicine; Department of Laboratory Medicine², Seoul National University Hospital; Department of Internal Medicine³, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : The presence of lupus anticoagulants (LA) is a strong risk factor for thrombosis in antiphospholipid syndrome. We investigated the usefulness of addition of silica clotting time (SCT) to the pre-existing dilute Russell's viper venom test (dRVVT) for detection of LA. Also, we analyzed differences in the thrombotic features and the characteristics of antiphospholipid antibodies between dRVVT and SCT.

Methods : A total of 167 patients positive for LA or anti-cardiolipin (anti-CL) antibody and 76 healthy controls were enrolled. The dRVVT and SCT were used for detection of LA. Anti-CL, anti- β 2-glycoprotein I (anti- β 2 GPI) and anti-prothrombin (anti-PT) antibodies were measured using commercial ELISA kits.

Results : In detection of thrombosis, the sensitivity of the combined test of SCT and dRVVT was 56.4%, which was higher than that of dRVVT alone (46.2%) or SCT alone (23.1%). The specificity of the combined test (80.9%) was comparable to that of dRVVT (81.9%). Also, odds ratio for predicting thrombosis was higher in the combined test than in dRVVT or SCT alone. When normalized LA ratio of the two tests was compared, the group of patients with higher ratio of SCT showed significantly higher prevalence of recurrent abortion and higher positivity of IgG types of anti-CL, anti- β 2 GPI and anti-PT than the group with higher ratio of dRVVT.

Conclusions : Addition of SCT to dRVVT can improve the detection sensitivity of thrombosis in LA test. And the high normalized LA ratio of SCT may be a useful parameter for detection of recurrent abortion. (*Korean J Lab Med* 2009;29:497-504)

Key Words : Dilute Russell's viper venom test (dRVVT), Silica clotting time (SCT), Antiphospholipid antibody, Antiphospholipid syndrome, Vascular thrombosis, Pregnancy morbidity

서 론

Received : March 14, 2009

Revision received : August 17, 2009

Accepted : September 1, 2009

Corresponding author : Hyun Kyung Kim, M.D.

Department of Laboratory Medicine, Seoul National University
College of Medicine, Seoul National University Hospital,
101 Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul 110-744, Korea
Tel : +82-2-2072-0853, Fax : +82-2-747-0359
E-mail : lukekhk@snu.ac.kr

Manuscript No : KJLM09-040

항인지질항체증후군(Antiphospholipid syndrome, APS)은 임상적으로 반복적인 정맥 혹은 동맥의 혈전증이나 반복되는 유산 병력과 함께, 혈액 검사에서 항인지질항체(antiphospholipid antibodies)가 발견되는 증후군이다[1]. 항인지질항체증후군은 원발성으로 발생하거나, 다른 자가면역질환, 특히 전신홍반루푸

스(systemic lupus erythematosus, SLE) 환자에서 이차성으로 발생할 수도 있다[2].

항인지질항체증후군에서 발견되는 항인지질항체의 종류에는 응고검사로 측정되는 루푸스항응고인자(lupus anticoagulant, LA)와 효소면역법(ELISA)으로 측정되는 anti-cardiolipin antibody (anti-CL) 항체, anti- $\beta 2$ glycoprotein I (anti- $\beta 2$ GPI) 항체, 그리고 anti-prothrombin (anti-PT) 항체 등이 있다[3, 4]. 이러한 항인지질항체의 임상적 유용성은 혈전증을 잘 예측하는데 있는데, 일반적으로 루푸스항응고인자가 항인지질항체증후군에서의 혈전증에 대한 위험도를 잘 예측하는 것으로 보고되고 있으며[5, 6], anti-CL은 루푸스항응고인자에 비해 혈전증과의 연관성은 낮은 것으로 알려져 있다[6]. Anti- $\beta 2$ GPI 항체는 혈전증이나 반복 유산과 같은 항인지질항체증후군의 임상상과의 연관성이 보고되면서[7], 2006년 개정된 항인지질항체증후군의 Sapporo 진단 기준에 추가되었다[8].

루푸스항응고인자는 인지질의 작용을 억제하는 성질을 이용하여 인지질에 의존하는 응고검사의 응고시간을 연장시킴을 보임으로써 증명하게 된다. 이러한 원리를 이용한 검사법에는 dilute Russell's viper venom test (dRVVT), kaolin clotting time (KCT), silica clotting time (SCT), dilute prothrombin time, dilute activated partial thromboplastin time (aPTT) 등이 있는데[9, 10], 이 중에서 dRVVT와 KCT 방법이 루푸스항응고인자 검출을 위해서 흔히 사용되어 왔다[11]. 최근에는 kaolin 대신 silica를 사용하여 자동화가 가능한 SCT 방법이 소개되었지만[10], 국내에서는 SCT 방법보다는 dRVVT 또는 aPTT 방법이 널리 사용되고 있다.

이에 본 연구에서는 루푸스항응고인자의 검사법으로 기존에 사용하고 있는 dRVVT 방법에 최근 도입된 SCT 방법을 추가하였을 때 혈전증 예측의 민감도와 특이도를 분석하였다. 또한 루푸스항응고인자 양성인 검체에서 검사 방법(dRVVT, SCT)에 따라 혈전증 양상과 효소면역법으로 측정된 항인지질항체의 성상 차이를 분석하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2007년 3월부터 2008년 9월까지 서울대병원에서 루푸스항응고인자 검사를 시행한 환자들 중에서, 루푸스항응고인자 또는 anti-CL에서 양성인면서 와파린이나 헤파린과 같은 항응고제를 사용한 적이 없었던 환자 167명을 대상으로 하였다. 이들 환자

의 주 임상진단은 전신홍반루푸스(루프스신염 포함) 36명, 기타 자가면역질환(류마티스관절염, 쇼그렌증후군 등) 15명, 임신관련 합병증 19명, 깊은정맥혈전증 8명, 뇌경색 14명, 종양 7명, 기타 질환 68명이었다. 이들 환자의 의무기록에서 동맥조영술(arteriography), 정맥조영술(venography), 도플러초음파(Doppler ultrasonography), 자기공명혈관조영술(MR angiography) 등의 결과를 조회하여 환자의 동맥 또는 정맥의 혈전증 여부를 확인하였으며, 2006년 개정된 항인지질항체증후군의 Sapporo 진단 기준에 따라 반복 유산력 여부를 판단하였다[8]. 아울러 정상 건강인 76명을 대조군으로 포함하였다.

2. 방법

1) 루푸스항응고인자 검사

루푸스항응고인자 검출을 위해서 모든 검체에서 dRVVT와 SCT 두 가지 방법으로 모두 검사하였다. 혈소판 결핍혈장을 검체로 하여 dRVVT 검사 원리를 응용한 LAC Screen/LAC Confirm Kit (HemosIL, Instrumentation Laboratory, Milan, Italy)와 silica를 이용한 Silica Clotting Time Kit (HemosIL, Instrumentation Laboratory, Milan, Italy)를 이용하였다. 우선 인지질 양이 적어 루푸스항응고인자에 민감하게 하는 시약을 이용한 선별검사를 시행하였는데, 환자 검체에서의 응고 시간과 정상인의 응고 시간의 비를 계산하여 그 비가 정상범위(평균+2×표준편차)를 초과하는 경우에 확진검사를 시행하였다. 확진검사는 인지질이 풍부한 시약을 이용하여 연장된 응고 시간이 짧아지는 것을 통해 확인하게 되는데, 선별검사와 마찬가지로 환자 검체에서의 응고 시간과 정상인의 응고 시간의 비를 구하였다. 결과는 두 검사 모두 선별 검사에서의 응고 시간에 대한 확진 검사에서의 응고 시간의 비인 'normalized LA ratio'로 나타났다. dRVVT에서는 'normalized LA ratio'가 1.14 이상일 때, SCT에서는 1.16 이상일 때를 양성으로 판단하였다. Prothrombin time (PT)는 STA-Neoplastine CI Plus kit (Diagnostic Stago, Asnieres, France)를, aPTT는 STA-PIT kit (Diagnostic Stago, Asnieres, France)를 이용하여, 자동화 장비(STA-R Evolution, Diagnostica Stago, Asnieres, France)로 측정하였다.

2) Anti-CL 검사

효소면역법을 이용한 상품화된 APHL ELISA Kit (Louisville APL Diagnostics, Inc., Atlanta, GA, USA)를 이용하여 검사를 시행하였다. 결과 판정은 IgG와 IgM 모두 >20 GPL (IgG

phospholipid units)/MPL (IgM phospholipid units)일 때 양성으로 판정하였다.

3) Anti- β 2 GPI 검사

효소면역법을 이용한 상품화된 QUANTA Lite β 2-GPI IgG/IgM/IgA ELISA Kit (Inova Diagnostics, San Diego, CA, USA)를 이용하여 검사를 시행하였다. 결과 판정은 IgG, IgM, IgA 모두 >20 SGU (standard β 2 GPI IgG units)/SMU (standard β 2 GPI IgM units)/SAU (standard β 2 GPI IgA units)일 때 양성으로 판정하였다.

4) Anti-PT 검사

효소면역법을 이용한 상품화된 ORGENTEC Anti-Prothrombin IgG/IgM ELISA Kit (ORGENTEC Diagnostik GmbH, Mainz, Germany)를 이용하여 검사를 시행하였다. 결과 판정은 IgG와 IgM 모두 10 U/mL 이상일 때 양성으로 판정하였다.

5) 통계분석

두 군 간의 비교는 t-test와 Chi-square test 또는 Fisher's exact test를 이용하였으며, $P < 0.05$ 인 경우 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다. 통계프로그램은 SPSS 12 system (SPSS Institute, Chicago, IL, USA)을 사용하였다.

결 과

루푸스항응고인자 검사를 시행한 167명의 평균 나이는 42세였고, 남녀 비율에서는 여자가 더 많은 비율을 차지하였다. 39명(23.4%)의 환자에서 혈전증이 있었으며, 동맥 혈전증 환자가 19명(11.4%), 정맥 혈전증 환자가 10명(6.0%), 그리고 반복 유산력이 있는 환자가 10명(6.0%)이었다. 정상건강인 76명의 평균

Table 1. Characteristics of studied population

		Patients	Healthy control
Number		167	76
Age	Mean \pm SD	42.2 \pm 20.4 yr	53.0 \pm 14.6 yr
	range	1-91 yr	18-81 yr
Gender	M:F	58:109	45:31
		(34.7%:65.3%)	(59.2%:40.8%)
Clinical features	Arterial thrombosis	19 (11.4%)	0 (0.0%)
	Venous thrombosis	10 (6.0%)	0 (0.0%)
	Recurrent abortion	10 (6.0%)	0 (0.0%)
	Total	39 (23.4%)	0 (0.0%)

나이는 53세였고, 남녀 비율에서는 남자가 약간 더 많은 비율을 차지하였다(Table 1). 167명 중 130명은 PT를, 128명은 aPTT를 루푸스항응고인자와 동시에 측정하였다. PT를 측정한 130명 중 14명(10.8%)에서 PT INR이 참고치(0.8–1.2 INR)보다 증가하였으며, aPTT를 측정한 128명 중 26명(20.3%)에서 aPTT가 참고치(29–45초)보다 연장되었다. 루푸스항응고인자는 PT INR이 증가한 14명 중 7명(50.0%)에서, 그리고 aPTT가 연장된 26명 중 17명(65.4%)에서 양성이었다.

혈전증 환자 39명을 대상으로 루푸스항응고인자를 검출하기 위해서 dRVVT를 이용하는 경우, 18명에서 루푸스항응고인자 양성 소견을 보여 민감도는 46.2%였다. SCT 방법만을 이용하여 루푸스항응고인자를 검출하는 경우, 39명 중 9명에서 양성 소견을 보여 민감도는 23.1%였다. dRVVT와 SCT 두 가지 방법을 모두 이용하여 하나라도 양성인 경우에 루푸스항응고인자 양성으로 판단하는 경우, 민감도는 56.4%로 상승하여, dRVVT만을 이용하는 경우에 비해 민감도는 10.2% 증가하였다. 특이도의 경우, dRVVT만을 이용하는 경우에는 81.9%였으나 dRVVT와 SCT 두 가지 방법을 모두 이용한 경우에는 특이도가 80.9%로 dRVVT만을 이용한 경우와 큰 차이를 보이지 않았다(Table 2). SCT 방법만을 이용하는 경우에는 특이도가 92.2%로 가장 높았다.

루푸스항응고인자 검사법에 따라 혈전증을 예측할 수 있는 위험도를 교차비(odds ratio)로 산출한 결과, dRVVT만을 이용하여 루푸스항응고인자를 측정하는 경우 혈전증 예측에 대한 교차비는 5.94 (95% 신뢰구간, 2.59–13.62)였다. SCT 방법만을 이용하는 경우 혈전증 예측에 대한 교차비가 5.10 (95% 신뢰구간, 1.81–14.37)이었다. dRVVT와 SCT 방법을 모두 이용하는 경우

Table 2. Sensitivity and specificity according to detection methods of lupus anticoagulant in predicting thrombosis

	Thrombosis		Sensi- tivity (%)	Speci- ficity (%)
	Present (N=39)	Absent (N=204)		
dRVVT				
Positive	18 (46.2%)	37 (18.1%)	46.2	81.9
Negative	21 (53.8%)	167 (81.9%)		
SCT				
Positive	9 (23.1%)	16 (7.8%)	23.1	92.2
Negative	30 (76.9%)	188 (92.2%)		
dRVVT or SCT*				
Positive	22 (56.4%)	39 (19.1%)	56.4	80.9
Negative	17 (43.6%)	165 (80.9%)		

*considered as positive when either dRVVT or SCT was positive.

Abbreviations: dRVVT, dilute Russell's viper venom test; SCT, silica clotting time.

혈전증 예측에 대한 교차비가 8.75 (95% 신뢰구간, 3.79–20.19)로 가장 높았다(Table 3).

루푸스항응고인자 검사를 시행한 167명 중 dRVVT 또는 SCT 방법으로 루푸스항응고인자가 양성인 환자는 총 61명(36.5%)이었다. 루푸스항응고인자 검사법(dRVVT, SCT)에 따른 항인지질항체의 성상을 비교하기 위해, dRVVT와 SCT 방법으로 구한 normalized LA ratio를 비교하여, dRVVT의 normalized LA ratio가 SCT 방법에서의 것보다 더 큰 환자는 'dRVVT군'으로 분류하였고, SCT 방법의 normalized LA ratio가 dRVVT에서의 것보다 더 큰 환자는 'SCT군'으로 분류하였다. 이에 따라 61명 중 44명은 dRVVT군으로 17명은 SCT군으로 분류되었다. 두 군 사이의 임상상과 항인지질항체의 성상을 비교한 결과는 Table 4와 같다.

두 군 사이에서 나이와 성별에서는 유의한 차이를 보이지 않

Table 3. Odds ratios according to detection methods of lupus anticoagulant for predicting thrombosis

	Odds ratio (95% confidence interval)	P value
dRVVT		
Negative	1*	
Positive	5.94 (2.59-13.62)	<0.001
SCT		
Negative	1*	
Positive	5.10 (1.81-14.37)	0.002
dRVVT or SCT†		
Negative	1*	
Positive	8.75 (3.79-20.19)	<0.001

*Reference category; †considered as positive when either dRVVT or SCT was positive.

Abbreviations: See Table 2.

았다. 임상상을 동맥 혈전증, 정맥 혈전증, 반복 유산력으로 분류하여 두 군 사이의 빈도를 비교해 본 결과, SCT군에서 통계적

Table 4. Clinical features and antiphospholipid profile of 61 patients with lupus anticoagulant classified according to detection methods of lupus anticoagulant

	dRVVT group* (N=44)	SCT group† (N=17)	P value
Age (yr)			
Mean±SD	33.9±18.7	34.2±21.8	NS
Sex			
M:F	17:27	6:11	NS
Clinical features			
Arterial thrombosis	6/44 (13.6%)	2/17 (11.8%)	NS
Venous thrombosis	6/44 (13.6%)	1/17 (5.9%)	NS
Recurrent abortion	2/44 (4.5%)	5/17 (29.4%)	0.015
aCL			
IgG	5/44 (11.4%)	7/17 (41.2%)	0.026
IgM	7/44 (15.9%)	3/17 (17.6%)	NS
Total‡	10/44 (22.7%)	7/17 (41.2%)	NS
anti-β2GPI			
IgG	2/44 (4.5%)	5/17 (29.4%)	0.015
IgM	3/44 (6.8%)	1/17 (5.9%)	NS
IgA	7/44 (15.9%)	5/17 (29.4%)	NS
Total‡	10/44 (22.7%)	7/17 (41.2%)	NS
anti-PT			
IgG	6/44 (13.6%)	7/17 (41.2%)	0.033
IgM	1/39 (2.6%)	0/12 (0.0%)	NS
Total‡	7/40 (17.5%)	4/14 (28.6%)	NS

*the patients with the ratio of the dRVVT exceeded that of the SCT; †the patients with the ratio of the SCT exceeded that of the dRVVT; ‡considered as positive when either IgG or IgM (or IgA in the anti-β2 GPI) was positive.

Abbreviations: dRVVT, dilute Russell's viper venom test; SCT, silica clotting time; NS, not significant; anti-CL, anti-cardiolipin antibody; anti-β2 GPI, anti-β2-glycoprotein I; anti-PT, anti-prothrombin.

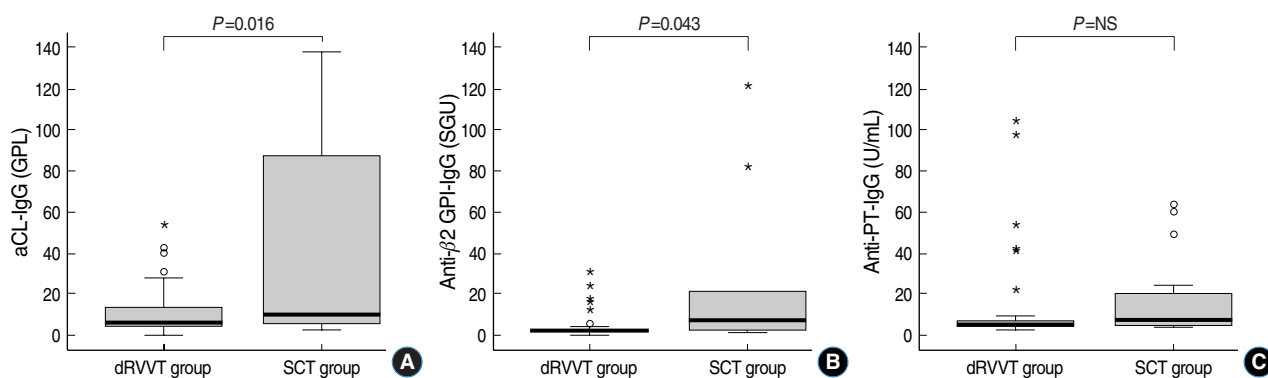


Fig. 1. Comparison of IgG values of anti-CL (A), anti-β2 GPI (B) and anti-PT (C) in patients with lupus anticoagulant classified according to detection methods of lupus anticoagulant. The mean levels of anti-CL and anti-β2 GPI show significantly higher values in SCT group than in dRVVT group ($P=0.016$ and $P=0.043$, respectively). Box and whisker graphs shows median, 25th and 75th percentiles, range and outliers (circles and asterisks) of IgG values.

Abbreviations: See Table 4.

으로 유의하게 반복 유산력이 높게 나타났다($P=0.015$). 항인지질항체인 anti-CL와 anti- $\beta 2$ GPI, 그리고 anti-PT의 양성 빈도를 비교해 본 결과, anti-CL, anti- $\beta 2$ GPI, anti-PT의 IgG 형태의 양성률이 SCT군에서 모두 통계적으로 유의하게 높았다(각각, $P=0.026$, $P=0.015$, $P=0.033$).

SCT군과 dRVVT군 사이에 anti-CL, anti- $\beta 2$ GPI, anti-PT의 IgG 형태의 정량 결과를 비교해본 결과는 Fig. 1과 같다. anti-CL의 정량 결과, SCT군에서 41.2 ± 47.1 GPL (평균 \pm 표준편차)로 dRVVT군의 10.3 ± 11.8 GPL보다 통계적으로 유의하게 높은 값을 보였다($P=0.016$; Fig. 1A). Anti- $\beta 2$ GPI 경우에도 정량 결과, SCT군에서 37.6 ± 62.7 SGU로 dRVVT의 4.1 ± 6.3 SGU보다 통계적으로 유의하게 높은 값을 보였다($P=0.043$; Fig. 1B). 하지만 anti-PT의 경우에는 dRVVT군에서 12.5 ± 21.8 U/mL, SCT군에서 17.4 ± 20.2 U/mL로 유의한 차이는 나타나지 않았다($P=0.431$; Fig. 1C).

고 찰

여러 항인지질항체의 임상적 유용성은 혈전증의 예측에 있으며, 이에 따라 항인지질항체와 항인지질항체중후군에서 나타나는 혈전증 또는 반복 유산과의 연관성에 대한 연구가 많이 보고되고 있다[3, 5-7, 12-18]. 항인지질항체 중에서 루푸스항응고인자가 혈전증 예측에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있기 때문에, 루푸스항응고인자 검출을 위한 여러 가지 응고검사법이 많이 개발되었는데, 검사법들 중에서 dRVVT와 KCT 방법이 흔히 사용되어 왔다. dRVVT의 경우, 인지질과 칼슘의 존재하에 factor X 응고인자를 활성화시키는 viper venom을 이용하여 루푸스항응고인자를 검출하게 되는데, 루푸스항응고인자가 있는 검체에서는 인지질이 부족한 상태가 되어 응고시간이 연장된다. 이렇게 선별검사서 응고시간이 연장되면 확인검사를 시행하게 되는데, 확인검사는 충분한 양의 인지질을 첨가하여 선별검사서 연장된 응고시간이 다시 짧아지는 것으로 루푸스항응고인자 양성임을 증명한다. KCT 방법은 kaolin이라는 활성인자가 factor XII를 활성화시키면서 인지질 농도에 따른 응고시간을 측정하는 루푸스항응고인자에 민감한 검사법이다. 그러나 kaolin 시약은 혼탁하고 침전물을 형성하여 응고괴(clot)를 측정하는 광학적인 응고기기에는 적용할 수 없고 수기법만 가능한 단점이 있다. 따라서 최근에는 kaolin 대신 silica를 사용하여 자동화가 가능하게 된 SCT 방법이 도입되었다. SCT 방법은 액체 중에 분산되어 콜로이드 상태로 존재하는 silica가 factor XII를 활성화시키면서 인지질 농도에 따른 응고시간을 측정하는 검사

법이다. 침전물을 형성하는 kaolin과는 달리, 콜로이드 상태로 silica가 존재하기 때문에 전체 검사 과정을 자동화된 광학적인 응고기기에 적용할 수 있는 장점이 있다[10, 19, 20].

이에 본 연구에서는 기존의 dRVVT와 새로 도입된 SCT 방법을 사용하여 루푸스항응고인자를 검출하였는데, dRVVT 또는 SCT 방법 단독으로 혈전증 환자에서 루푸스항응고인자를 검출하는 경우보다 dRVVT에 SCT 방법을 추가하는 경우 특이도에는 큰 변화 없이 민감도는 10% 이상 높일 수 있었다. 또한, dRVVT 또는 SCT 방법을 단독으로 사용하여 루푸스항응고인자를 측정하는 경우의 혈전증 예측에 대한 교차비는 각각 5.94와 5.10으로 차이가 없었지만, dRVVT와 SCT 방법을 모두 이용하는 경우 혈전증 예측에 대한 교차비는 8.75로 가장 높게 나타났다. Pengo 등[21]은 다양한 검사 방법을 통해 루푸스항응고인자 양성이었던 환자 231명의 검체를 대상으로 dRVVT와 KCT 방법으로 루푸스항응고인자 검사를 다시 시행하였다. 검사 결과, 146명(76%)에서는 두 방법 모두에서 루푸스항응고인자 양성하였고, 나머지 85명(24%)에서는 dRVVT 또는 KCT 방법으로 루푸스항응고인자를 검출할 수 있었다. 따라서 루푸스항응고인자를 검출할 때, 두 가지 방법을 모두 시행하는 경우 루푸스항응고인자를 100% 검출할 수 있다고 보고하였다. 또한, 본 연구에서처럼 dRVVT와 SCT 방법을 비교한 연구들[22, 23]에서는 dRVVT 또는 SCT 방법을 단독으로 사용할 때에 비해 두 방법을 함께 사용하여 루푸스항응고인자를 검출할 때 특이도에는 큰 변화 없이 민감도를 높일 수 있었던 것으로 보고하였다.

루푸스항응고인자의 검출을 위해서 1995년 International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH)의 Scientific and Standardization Committee의 Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody에 대한 소위원회에서는 루푸스항응고인자 검사 시 민감도를 높이기 위해서 검사원리가 다른 두 가지 방법으로 검출하는 과정을 거치도록 제안하였다[24]. 본 연구뿐만 아니라 많은 연구들에서 dRVVT에 KCT 또는 자동화된 SCT 방법을 추가하는 경우 루푸스항응고인자 검사의 민감도를 높일 수 있음에도 불구하고, 현재 국내 대부분의 검사실에서는 루푸스항응고인자 검출을 위해서 한 가지 방법으로만 검사를 시행하고 있는 실정이다. 이는 대부분의 상품화된 시약이 선별검사와 확인검사를 통합한 검사이므로 수기법에 비해서 비교적 우수한 민감도 및 특이도를 가질 것으로 기대하고 있기 때문으로 생각된다. 하지만 본 연구 결과 선별검사 한 가지로는 충분한 민감도를 가질 수 없었지만 dRVVT에 SCT 방법을 추가하는 경우 민감도의 상승을 기대할 수 있는 바, 두 가지 선별검사를 동시에 시행하여 그 중에서 한 가지라도 루푸스항응고인자가 양

성인 경우 확인검사를 시행하는 검사지침 확보가 필요할 것으로 생각된다.

Galli 등[25]은 항인지질항체를 갖고 있는 42명의 환자를 대상으로 dRVVT와 KCT 방법으로 구한 normalized LA ratio를 비교하여, dRVVT의 normalized LA ratio가 KCT 방법에서의 것보다 더 큰 경우에는 'dRVVT profile group'으로 분류하였고, KCT 방법의 normalized LA ratio가 dRVVT에서의 것보다 더 큰 경우에는 'KCT profile group'으로 분류하여 두 그룹 사이의 임상상과 항인지질항체의 성상을 비교하였다. 연구 결과, 'dRVVT profile group'에서 혈전증, 특히 정맥 혈전증의 빈도가 통계적으로 유의하게 높았으며, 반복 유산의 빈도는 두 그룹 간에 유의한 차이를 보이지 않았다. Anti- $\beta 2$ GPI의 정량 값을 비교했을 때는 'dRVVT profile group'에서 통계적으로 유의하게 높은 결과를 보였다. 그러나 본 연구에서 동일한 기준으로 루푸스항응고인자 양성인 환자들을 dRVVT군과 SCT군으로 나누었을 때 혈전증의 빈도는 두 군 간에 유의한 차이를 보이지 않았지만, 반복 유산력의 경우 SCT군에서 유의하게 빈도가 높았다. 또한, anti- $\beta 2$ GPI뿐만 아니라 anti-CL과 anti-PT의 IgG 형태의 양성 빈도가 모두 SCT군에서 유의하게 높았다. 이렇게 Galli 등의 연구 결과와 차이를 보이는 것은 Galli 등이 연구에 사용한 KCT 방법은 kaolin을 이용한 수기법으로 민감도가 낮은 반면, SCT 방법은 silica를 이용한 자동화법으로 보다 민감도가 높아진 것으로 해석할 수 있다. 또한 anti- $\beta 2$ GPI과 anti-CL의 IgG 형태의 정량 결과 역시 SCT군에서 통계적으로 유의하게 높은 수치를 보여, SCT 방법으로 검출되는 루푸스항응고인자의 경우 다른 항인지질항체의 존재를 더 잘 반영하는 것으로 생각된다.

과거에는 혈전증과 항인지질항체의 연관성에 대한 연구만 이루어지던 것에서, 최근에는 혈전증과 연관이 있는 항인지질항체의 항원 분석에 대한 연구까지 진행되고 있다. Laat 등[26]은 anti- $\beta 2$ GPI이 $\beta 2$ GPI의 특정 영역인 domain I에 작용하여 루푸스항응고인자로서 역할을 하고 혈전증과 연관성이 있다는 것을 보고하였다. 본 연구 결과, SCT 방법에서 검출된 루푸스항응고인자를 갖는 검체에서 더 높은 normalized LA ratio를 보이고 다른 항인지질항체와 연관성을 보이는 것으로 보아 향후 이러한 검체에 대한 항원 분석이 항인지질항체의 혈전증 예측에서의 유용성 평가에 중요한 역할을 할 수 있을 것이다.

2006년 개정된 항인지질항체증후군의 Sapporo 진단 기준에 따르면, 일시적인 루푸스항응고인자 양성을 배제하기 위해 적어도 12주 간격으로 2회 이상 측정하여 루푸스항응고인자 양성 여부를 확인하도록 하고 있다[8]. 그러나, 본 연구에서는 루푸스항

응고인자에 대해서 두 번 연속한 검사 결과를 이용하여 분석하지는 못하였다. 이러한 한계점은 혈전증이 있는 환자에서 바로 항응고제 치료를 시작하기 때문인데, 임상적으로 혈전증이 있을 때 항인지질항체증후군 진단이 환자의 치료나 예후에 반드시 필요한 경우가 드물기 때문인 것으로 생각된다.

저자들은 루푸스항응고인자 검사에서 기존의 dRVVT와 함께 SCT 방법을 추가하여 SCT 방법의 유용성을 평가하고자 하였다. 본 연구 결과, SCT 검사를 추가함으로써 혈전증 예측의 민감도를 높일 수 있었고, 특이도에서 큰 변화가 없음을 확인하였다. 또한, 본 연구는 자동화 검사로 새롭게 도입된 SCT 방법이 dRVVT에 비해 반복 유산력을 더 잘 반영하고, 효소면역법으로 검출되는 anti-CL, anti- $\beta 2$ GPI 항체 및 anti-PT 항체의 존재와 더 연관성을 보임을 확인했다는 점에서 의의가 있다. 본 결과가 국내 응고 검사실에서 루푸스항응고인자 검사 방법 선택 시 유용하게 사용되리라 판단된다.

요 약

배경 : 루푸스항응고인자는 항인지질항체증후군에서의 혈전증 예측에 유용한 검사이다. 본 연구에서는 루푸스항응고인자 검사 시 기존에 사용하고 있는 dilute Russell's viper venom test (dRVVT) 방법에 최근 도입된 silica clotting time (SCT) 방법을 추가하는 경우의 유용성을 평가하고자 하였다. 또한 루푸스항응고인자 검사 방법(dRVVT, SCT)에 따른 혈전증 양상과 효소면역법으로 측정된 항인지질항체의 차이를 분석하고자 하였다.

방법 : 루푸스항응고인자 또는 anti-cardiolipin (anti-CL) 항체가 양성인 167명의 환자와 정상건강인 76명을 대상으로 하였다. 루푸스항응고인자를 응고법인 dRVVT와 SCT 방법으로 측정하였으며, anti-CL 항체, anti- $\beta 2$ glycoprotein I (anti- $\beta 2$ -GPI) 항체, 그리고 anti-prothrombin (anti-PT) 항체를 상품화된 효소면역법 키트를 이용하여 측정하였다.

결과 : 혈전증 예측에서의 민감도는 dRVVT에 SCT 방법을 추가하는 경우 56.4%로, dRVVT 방법 단독(46.2%)으로 또는 SCT 방법 단독(23.1%)으로 사용하는 경우보다 높았다. 특이도는 dRVVT에 SCT 방법을 추가하는 경우 80.9%로 dRVVT를 단독 사용(81.9%) 하는 경우와 크게 차이가 나지 않았다. 또한 dRVVT 또는 SCT 방법을 단독으로 사용하는 경우에 비해, 두 가지 방법으로 루푸스항응고인자를 측정하는 경우 혈전증 예측의 교차비가 더 높았다. dRVVT의 normalized ratio가 더 높았던 군에 비해, SCT 방법의 normalized ratio가 더 높았던 군에

서 반복 유산력이 유의하게 높았으며, 항인지질항체인 anti-CL, anti- β 2 GPI, anti-PT의 IgG 형태의 양성률도 모두 유의하게 높았다.

결론 : 루푸스항응고인자 검사에서 dRVVT와 함께 SCT 방법을 추가하는 경우 혈전증 예측의 민감도를 높일 수 있다. 또한, SCT의 normalized LA ratio가 높은 경우, 반복 유산력과 같은 산과적 합병증 판단에 더 유용한 변수로 생각된다.

참고문헌

- McNeil HP, Chesterman CN, Krilis SA. Immunology and clinical importance of antiphospholipid antibodies. *Adv Immunol* 1991;49: 193-280.
- Alarcon-Segovia D, Deleze M, Oria CV, Sanchez-Guerrero J, Gomez-Pacheco L, Cabiedes J, et al. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. A prospective analysis of 500 consecutive patients. *Medicine (Baltimore)* 1989;68:353-65.
- Roubey RA. Autoantibodies to phospholipid-binding plasma proteins: a new view of lupus anticoagulants and other "antiphospholipid" autoantibodies. *Blood* 1994;84:2854-67.
- de Laat B, Mertens K, de Groot PG. Mechanisms of disease: antiphospholipid antibodies-from clinical association to pathologic mechanism. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2008;4:192-9.
- Amoroso A, Mitterhofer AP, Del Porto F, Garzia P, Ferri GM, Galluzzo S, et al. Antibodies to anionic phospholipids and anti-beta2-GPI: association with thrombosis and thrombocytopenia in systemic lupus erythematosus. *Hum Immunol* 2003;64:265-73.
- Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Lupus anticoagulants are stronger risk factors for thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood* 2003;101:1827-32.
- Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Anti-beta 2-glycoprotein I, antiprothrombin antibodies, and the risk of thrombosis in the antiphospholipid syndrome. *Blood* 2003;102:2717-23.
- Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, Branch DW, Brey RL, Cervera R, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006;4:295-306.
- Wisloff F, Jacobsen EM, Liestol S. Laboratory diagnosis of the antiphospholipid syndrome. *Thromb Res* 2002;108:263-71.
- Derksen RH and de Groot PG. Tests for lupus anticoagulant revisited. *Thromb Res* 2004;114:521-6.
- Galli M, Dlott J, Norbis F, Ruggeri L, Cler L, Triplett DA, et al. Lupus anticoagulants and thrombosis: clinical association of different coagulation and immunologic tests. *Thromb Haemost* 2000;84:1012-6.
- Bervers EM, Galli M, Barbui T, Comfurius P, Zwaal RF. Lupus anticoagulant IgG's (LA) are not directed to phospholipids only, but to a complex of lipid-bound human prothrombin. *Thromb Haemost* 1991;66:629-32.
- Ebeling F, Pettersson T, Muukkonen L, Vahtera E, Rasi V. Beta-2-glycoprotein I antibodies in patients with thrombosis. *Scand J Clin Lab Invest* 2003;63:111-8.
- Forastiero RR, Martinuzzo ME, Cerrato GS, Kordich LC, Carreras LO. Relationship of anti beta2-glycoprotein I and anti prothrombin antibodies to thrombosis and pregnancy loss in patients with antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost* 1997;78:1008-14.
- Oosting JD, Derksen RH, Bobbink IW, Hackeng TM, Bouma BN, de Groot PG. Antiphospholipid antibodies directed against a combination of phospholipids with prothrombin, protein C, or protein S: an explanation for their pathogenic mechanism? *Blood* 1993;81: 2618-25.
- Oosting JD, Derksen RH, Entjes HT, Bouma BN, de Groot PG. Lupus anticoagulant activity is frequently dependent on the presence of beta 2-glycoprotein I. *Thromb Haemost* 1992;67:499-502.
- Roubey RA, Pratt CW, Buyon JP, Winfield JB. Lupus anticoagulant activity of autoimmune antiphospholipid antibodies is dependent upon beta 2-glycoprotein I. *J Clin Invest* 1992;90:1100-4.
- Viard JP, Amoura Z, Bach JF. Association of anti-beta 2 glycoprotein I antibodies with lupus-type circulating anticoagulant and thrombosis in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1992;93:181-6.
- Chantarangkul V, Tripodi A, Arbini A, Mannucci PM. Silica clotting time (SCT) as a screening and confirmatory test for detection of the lupus anticoagulants. *Thromb Res* 1992;67:355-65.
- Norbis F, Barbui T, Galli M. Diluted Russell's viper venom time and colloidal silica clotting time for the identification of the phospholipid-dependent inhibitors of coagulation. *Thromb Res* 1997;85:427-31.
- Pengo V, Biasiolo A, Gresele P, Marongiu F, Erba N, Veschi F, et al. Survey of lupus anticoagulant diagnosis by central evaluation of positive plasma samples. *J Thromb Haemost* 2007;5:925-30.
- Devreese KM. Evaluation of a new silica clotting time in the diagnosis of lupus anticoagulants. *Thromb Res* 2007;120:427-38.

23. Grypiotis P, Ruffatti A, Pengo V, Tonello M, Biasiolo A, Zamboni D, et al. Use of a new silica clotting time for diagnosing lupus anticoagulant in patients who meet the clinical criteria for antiphospholipid syndrome. *J Clin Lab Anal* 2006;20:15-8.
24. Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I. Criteria for the diagnosis of lupus anticoagulants: an update. On behalf of the Subcommittee on Lupus Anticoagulant/Antiphospholipid Antibody of the Scientific and Standardisation Committee of the ISTH. *Thromb Haemostasis* 1995;74:1185-90.
25. Galli M, Ruggeri L, Barbui T. Differential effects of anti-beta2-glycoprotein I and antiprothrombin antibodies on the anticoagulant activity of activated protein C. *Blood* 1998;91:1999-2004.
26. de Laat B, Derksen RH, Urbanus RT, de Groot PG. IgG antibodies that recognize epitope Gly40-Arg43 in domain I of beta 2-glycoprotein I cause LAC, and their presence correlates strongly with thrombosis. *Blood* 2005;105:1540-5.