

담즙정체가 동반된 환자에서 혈중 고밀도지질단백질 콜레스테롤 농도의 검사방법에 따라 차이를 보이는 증례에 대한 고찰

Cholestasis Causes Discrepancy in HDL-Cholesterol Levels Measured Using Various Methods

김솔잎¹ · 전사일² · 이우창² · 김기수³ · 민원기²

Sollip Kim, M.D.¹, Sail Chun, M.D.², Woochang Lee, M.D.², Ghi-Su Kim, M.D.³, Won-Ki Min, M.D.²

인제대학교 의과대학 일산백병원 진단검사의학과¹, 울산대학교 의과대학 서울아산병원 진단검사의학과², 내분비대사내과³

Department of Laboratory Medicine¹, Ilsan Paik Hospital, Inje University College of Medicine, Goyang; Department of Laboratory Medicine², and Division of Endocrinology and Metabolism, Department of Internal Medicine³, University of Ulsan College of Medicine and Asan Medical Center, Seoul, Korea

Herein, we report a case in which cholestasis caused discrepancy in high-density lipoprotein (HDL)-cholesterol levels measured using various methods. The discrepancy in HDL-cholesterol level originated from the abnormal increase in the level of an unusual lipoprotein, apo E-rich HDL, in the patient's serum. An abnormal slow alpha-migrating lipoprotein was observed on agarose gel electrophoresis, and an abnormal large-sized HDL was observed in a lipoprotein subfraction study. The level of apolipoprotein E was elevated.

Key Words: HDL-Cholesterol, Cholestasis, Discrepancy

증례 소개

68세 남자 환자가 골다공증으로 인해 3년 전 발생한 등허리 압박골절의 경과관찰을 위해 내분비내과 외래를 방문하였다. 진료 당일 특별히 호소하는 증상은 없었고 신체 진찰에서도 특별한 이상은 발견하지 못하였다. 5년 전 알코올간경화로 이중생체공여간 이식(dual living donor liver transplatation)을 받은 후 쓸개길막힘이 발생하여 치료받은 적이 있었다. 4년 전에는 골다공증으로 인

한 왼쪽 대퇴골 골절이 있었고, 3년 전에는 백내장 수술을 받았었다. 간초음파에서는 오른쪽 이식 간이 위축되어 있었고, 간스캔에서는 간의 실질질환이 중증도로 악화되어 있었다. 골밀도(dual energy x-ray absorptiometry, DXA) 측정결과 T-점수는 -2.3이었다. 환자는 1년 전부터 고콜레스테롤혈증이 관찰되어 지질검사를 지속적으로 추적관찰 중이었다. 당일 및 과거의 일반화학검사 결과는 Table 1과 같았다. 저밀도지질단백질(low density lipoprotein, LDL)콜레스테롤 검사 결과가 Friedewald 공식에 맞지 않아 임상 의로부터 확인을 요청받았다.

Corresponding author: Won-Ki Min, M.D.

Department of Internal Medicine, University of Ulsan College of Medicine, Asan Medical Center, Pungnap 2-dong, Songpa-gu, Seoul 138-736, Korea
Tel: +82-2-3010-4503, Fax: +82-2-478-0884, E-mail: wkmin@amc.seoul.kr

Received: May 7, 2012

Revision received: May 11, 2012

Accepted: May 14, 2012

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

© 2012, 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.

증례 해결 과정

시약에 따른 지질검사가 차이를 보일 수 있으므로, 세 종류의 서로 다른 시약(Kyowa Medex., Tokyo, Japan; UniCel DxС system, Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA; Advia Chemistry System, Siemens Diagnostics, Deerfield, IL, USA)을 이용하여 재검사를 하였다(Table 2). 이상지질단백으로 인한 간섭 가능성을 확인하기 위하여 우무겔을 이용하여 지질단백질 전기영동(QuickGel LIPO, Helena Laboratories, Beaumont, TX, USA)을 시행하였다. 지질단

Table 1. Laboratory data of the patient

Analytes	At the time of the problem	4 yr ago	Reference interval
Protein (g/dL)*	7.9	NA	6-8
Albumin (g/dL)*	3.9	NA	3.3-5.2
AST (IU/L)*	165	NA	0-40
ALT (IU/L)*	211	NA	0-40
ALP (IU/L)*	994	NA	40-120
Bilirubin, total (mg/dL)*	4.2	NA	0.2-1.2
Cholesterol (mg/dL)*	348	169	0-199
Triglyceride (mg/dL)*	57	112	0-199
LDL-Cholesterol (mg/dL)*	117	92	0-129
LDL-Cholesterol (calculated)	291	74	
HDL-Cholesterol (mg/dL)*	46	73	>40
HDL-Cholesterol (lipoprotein EP)	289	NA	
HDL-Cholesterol (lipoprotein subfraction)	241	NA	
Apo A1 (mg/dL)	200.0		74-178
Apo B (mg/dL)	37.7		52-109
Apo E (mg/dL)	40		2.7-5.0

*We performed chemical tests by using the Kyowa reagent in the instrument Toshiba 200FR.

Abbreviations: NA, not available; EP, electrophoresis.

Table 2. Reexamination results of lipid profile in the patient

Analyte	Reagent (Instrument)		
	Kyowa (Toshiba 200FR)	Beckman Coulter (DxC)	Siemens (Advia)
Cholesterol (mg/dL)	357	356	327
Triglyceride (mg/dL)	61	60	60
LDL-Cholesterol (mg/dL)	123	NT	63
HDL-Cholesterol (mg/dL)	51.8	Suppressed	Suppressed
HDL-Cholesterol (diluted 3 times and multiplied by 3; mg/dL)	82.5	208.2	120

Abbreviation: NT, not tested.

백질 전기영동에서는 α 띠와 β 띠 사이에 넓고 느린 α 띠가 관찰되었다(Fig. 1). 좀 더 세밀한 분석을 위하여 입자 크기에 따른 분석이 가능한 저밀도지질단백질(low density lipoprotein, LDL) 소분획 전기영동(Lipoprint, Quantimetrix Corp., Redondo Beach, CA, USA)을 시행하였다. 정상인의 고밀도지질단백질(high density lipoprotein, HDL) 분획은 단일 정점을 보이는 반면, 환자에서는 정상적인 HDL 분획과 함께 입자 크기가 다양한 HDL 분획이 넓게 나타났(Fig. 2). 분획 비율로 계산한 HDL의 농도는 241 mg/dL로 측정되었고, LDL 및 초저밀도지질단백질(very low density lipoprotein, VLDL) 분획은 정상이었다. 혈청 아포지질단백질(apolipoprotein, apo) A-I 농도는 200.0 mg/dL (참고구간, 74-178 mg/dL), apo B는 37.7 mg/dL였고(참고구간, 52-109 mg/dL), apo E는 40 mg/dL (참고구간, 2.7-5.0 mg/dL)로 증가되어 있었다. APOE genotyping PCR (Seplex ApoE ACE genotyping kit, Seegene, Seoul, Ko-

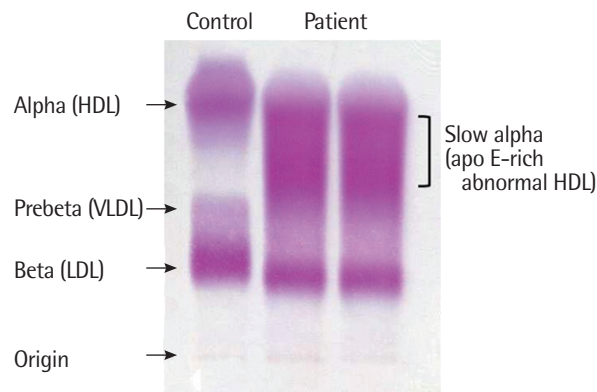


Fig. 1. Result of lipoprotein electrophoresis of the patient.

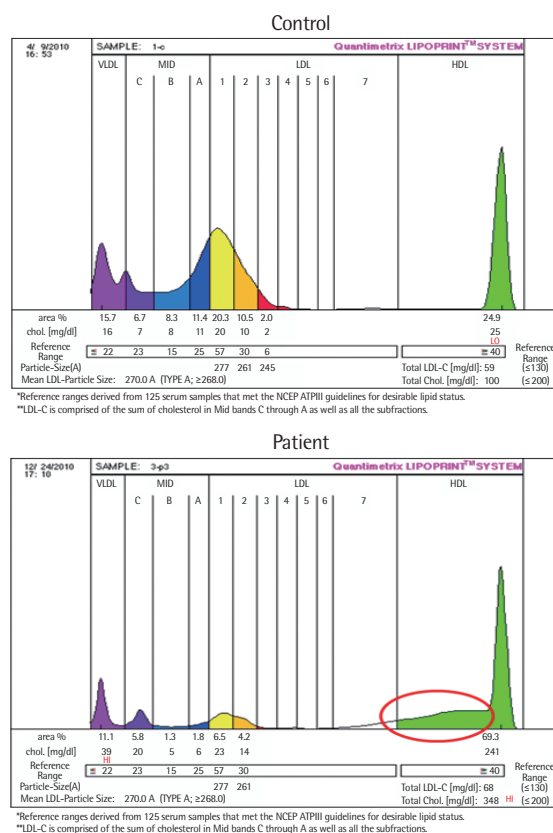


Fig. 2. LDL subfraction test result of the patient. The red circle shows the large-sized abnormal HDL fraction (b).

rea)에서 하나의 대립유전자에서만 388번째 염기서열이 thymine에서 cytosine으로 치환되어 e3/e4 결과를 보였다(NM_000041.2: c.388T>C, NP_000032.1:p.Cys130Arg, rs429358).

검사의학적 진단

쓸개즙정체로 인하여 생긴 비정상 apo E-rich HDL이 HDL콜레스테롤 균질법 검사에 영향을 미친 것으로 결론지었다.

상호 토론

김솔원 교수(진단검사의학과): 이 환자의 경우 지질검사 결과가 Friedewald 공식에 맞지 않았기 때문에 추가적인 검사를 시행하게 되었습니다. 어떤 경우에 지질검사 결과가 Friedewald 공식에 맞지 않게 되나요? 이런 경우 검사실에서는 어떻게 해결해야 하나요?

민원기 교수(진단검사의학과): Friedewald 공식은 LDL콜레스테롤을 직접 측정하는 균질법이 보편화되기 전에 주로 사용하던 방법입니다. Friedewald 공식은 두 가지 기본 가정에 근거를 두고 있습니다. 첫 번째는 중성지방의 대부분이 VLDL에 존재한다는 것이고 두 번째는 VLDL콜레스테롤과 중성지방의 비율이 일정하게 5라는 것입니다[1]. 따라서 식이섭취 후 킬로미크론이 존재하거나 중성지방이 높은 경우, 제3형 고지질단백혈증이나, 간질환, 당뇨병, 신장질환 등에 속발한 고지혈증이 있는 경우에는 VLDL콜레스테롤과 중성지방의 비율이 5와 달라져서 정확하지 않은 결과를 나타내게 됩니다[1]. LDL콜레스테롤 직접측정값과 계산값의 차이는 중성지방이 200-499 mg/dL인 경우 11.3% [2], 251-400 mg/dL인 경우 21.0%이므로[1], 이 정도 수준의 오차가 있는 경우엔 특별한 조치가 필요하지 않습니다. 그러나 이 증례환자의 경우에는, 채혈 전 금식을 하였고, 중성지방 농도가 정상범위였는데도 LDL콜레스테롤 계산값과 측정값이 148.4%의 차이를 보였으므로(290.6 mg/dL vs 117 mg/dL), 다른 측정 오차가 있을 것으로 생각하였습니다. 그 원인을 찾기 위해 서로 다른 원리를 이용하는 몇 가지 시약을 이용하여 재검사를 하는 한편, 측정범위의 상한치를 웃도는 높은 농도였을 가능성을 배제하기 위해 검체를 희석하여 검사하였습니다.

김: 세 가지 다른 시약으로 재검에 사용하였을 때 각각 다른 결과가 나온 이유는 무엇인가요? 이를 어떻게 해석해야 할까요?

이우창 교수(진단검사의학과): HDL 시약마다 서로 균질법 측정 원리가 다릅니다. 총 콜레스테롤 중 HDL콜레스테롤만 선택적으로 측정되도록 하는 방법이 다르며 현재까지 5세대 방법까지 나와 있습니다. Kyowa Medix HDL콜레스테롤 측정법은 2세대 균질법으로서, 킬로미크론과 VLDL을 차단하기 위해 cyclodextrin과 Mg^{2+} 를 사용합니다. 이후 polyethylene glycol 첨가하면, cholesterol esterase 및 cholesterol oxidase가 HDL콜레스테롤에 특이적으로 반응합니다[3]. Siemens 및 Beckman Coulter의 HDL콜레스테롤 측정은 5세대 균질법으로써, 두 가지 단계로 이루어집니다. 첫 번째 단계에서는 HDL이 아닌 지질단백질의 유리콜레스테롤이 cholesterol oxidase, peroxidase에 의해 녹아 버립니다. 두 번째 단계에서 계면활성제가 HDL지질단백질을 용해시키면 HDL콜레스테롤이 녹아 나와 효소와 반응합니다[3]. HDL은 각 입자마다 지질과 단백질의 함유비율이 다양하여 동질적이지 않으므로, 시약에

따라 HDL콜레스테롤 결과에 차이가 있을 수 있습니다[4]. 본 증례 환자의 경우에는 입자 크기가 큰 비정상 HDL이 시약에 따라 HDL콜레스테롤로 측정되는 정도가 달라서 결과 차이가 크게 생긴 것으로 보여집니다. 비정상 HDL이 존재하는 경우에는 균질법이 정확하지 않으므로, 전기영동, 입자 크기 검사, 아포지질단백 질검사를 추가하여 확인하는 것이 좋습니다.

김: 쓸개관정체는 콜레스테롤 검사에 어떤 영향을 주나요?

전사일 교수(진단검사의학과): 장기간의 쓸개관정체가 있는 환자에서 가장 눈에 띄는 변화는 혈장에 비정상적인 지질단백질인 lipoprotein X와 apo E가 풍부한 HDL이 나타나며 HDL 농도는 감소한다는 점입니다[5-10]. 이러한 현상은 중증알코올간염, 가족성 Lecithin cholesterol acyl transferase (LCAT) 결핍증에서도 보고된 바 있습니다[6].

쓸개관정체로 인해 독성과 무독성의 쓸개즙 성분이 간세포에 축적되면, 간세포의 합성 기능이 저하되어 아포지질단백질 및 주요 지질대사효소의 생성이 줄어듭니다[11]. 주요 지질대사효소에는 LCAT, Cholesteryl ester transfer protein (CETP), phospholipid transfer protein (PLTP)가 있습니다. 첫 번째로, LCAT는 apo A-I에 의해 활성화되는데, 콜레스테롤을 에스터형 콜레스테롤(cholesteryl ester)로 변환시킴으로서 HDL 표면으로부터 중심부로 이동하게 하고, 세포막으로부터 HDL로 콜레스테롤 유출을 촉진시킬 뿐 아니라 HDL 입자의 모양도 변화시킵니다. HDL은 초기(nascent)에는 원반 모양이지만, HDL 중심부에 cholesteryl ester가 축적되면 구형으로 바뀌게 됩니다[11]. 그러나, 쓸개즙정체 시에는 간세포에서 LCAT가 합성되지 않아 콜레스테롤 에스테르화가 되지 않으므로 모양변화가 없이 계속 원반모양을 나타냅니다[11]. 또한 apo A-I, apo A-II는 감소, apo E는 증가되어 있습니다[11]. 두 번째로, CETP는 과량의 cholesteryl ester를 HDL로부터 VLDL과 LDL로 이동시키는 역콜레스테롤운반(reverse cholesterol transport)를 담당합니다. 쓸개즙정체가 있으면 간세포의 CETP 합성이 상실되어 활성도가 감소됩니다. 따라서 cholesteryl ester가 HDL에 축적되므로 HDL 중심부 부피가 커지게 되어 apo E가 지속적으로 추가되어야 합니다[7]. 또한 apo E-rich HDL은 LDL 수용체에 높은 친화성을 가지므로, apo E 및 에스터형 콜레스테롤이 풍부한 HDL은 간의 LDL 수용체가 포화됨으로 대사가 느립니다[7]. 혈장 apo E 농도는 쓸개즙정체의 정도를 반영하며, Apo E-rich HDL은 LDL처럼 콜레스테롤을 세포로 운반할 수도 있습니다[9]. 마지막으로, PLTP는 인지질을 apo B 포함 지질단백질로부터 HDL로 옮겨줌으로서 HDL 입자의 크기와 지질비율을 조절하는 기능이 있습니다. 쓸개즙정체 시에는 간세포의 PLTP 합성능이 저하되어 순환 HDL 농도가 크게 감소합니다.

콜레스테롤은 주로 쓸개즙을 통해 배설되고, 쓸개즙정체가 생기면 혈장 유리콜레스테롤과 인지질이 증가되므로, HDL에도 유리콜레스테롤과 인지질 함량이 높습니다[11]. 쓸개즙정체 시 쓸개즙염이 간세포에 축적되면 음성 farnesoid X receptor (FXR) 반응기전을 통해 apo A-II 유전자 전사가 억제됩니다[12]. 또한 HDL은 킬로미크론 표면 잔유물로부터 생성되기도 하므로 장내 쓸개즙 결핍으로 인한 킬로미크론 생성 감소 때문에 HDL이 감소되기도 합니다[11].

김: Apo E-rich HDL은 임상적으로 어떤 의미를 가지나요?

민: 혈장에서 apo E-rich HDL의 역할은 아직 명확하게 밝혀지지 않았으나, 작용하는 세포 표면 수용체가 다르므로 정상적인 HDL의 기능인 항혈전 효과를 가지지는 않을 것으로 생각됩니다. 다만 이번 증례에서 보듯이 HDL 검사에 간섭현상을 일으키므로 쓸개즙정체가 있는 환자에서는 검사결과 판독에 유의하여야 합니다. 비정상적인 지질단백이 존재하여 정확한 HDL콜레스테롤 측정이 되지 않는 경우에는 아포지질단백질을 직접 검사하는 것이 더 정확합니다.

김기수 교수(내과): HDL에는 apo A, C, E이 존재합니다. apoA-I이 인지질과 결합하면 원반모양의 HDL이 형성되는 반면, apo E-rich HDL은 공과 같은 모양이 됩니다. 또한 apo A-I 함유 초기 HDL은 혈액 내 콜레스테롤 운반에 중요한 역할을 하는 반면 apo E-rich HDL은 주로 뇌에서 콜레스테롤을 운반합니다[13]. 모든 HDL 콜레스테롤이 죽상경화증에 예방효과가 있는 소위 “좋은” 콜레스테롤은 아닙니다. 크기가 크고 apo A-I을 함유한 입자가 죽상경화증 예방에 효과가 있으며, 작고 밀도가 높은 HDL은 심혈관질환 위험도와 양의 상관관계가 있다고 알려져 있습니다[14]. 따라서 고전적인 HDL 측정보다는 HDL 분획 검사가 심혈관질환 위험도 판정에 유용합니다.

김: Apo E4와 E3는 HDL 대사에 미치는 영향이 차이가 있습니까?

전: apoE3는 apoE4는 HDL 대사에 대한 효과가 다릅니다. apoE3는 apoE4가 존재하는 경우보다는, HDL이 높거나 입자가 큰 HDL이 존재할 때 더 효과적으로 apo A-I을 킬로미크론 잔유물로부터 HDL로 운반해 온다고 알려져 있습니다. 이는 apo E가 HDL 대사에 있어서 isoform-특이효과를 나타낸다는 점을 뒷받침합니다[15]. 또한 apo E4 대립유전자는 관상동맥질환을 동반하거나 동반하지 않은 2형 당뇨병 발생과 관련 있다고 보고된 바 있습니다.

증례 중요점

1) 쓸개관정체가 있는 환자에서는 혈중 HDL콜레스테롤 농도가 균질법 검사시약에 따라 차이를 보일 수 있음. 이는, 시약에 따라

비정상 HDL을 측정하지 못하는 경우도 있기 때문임.

2) 이때, 지질단백질 전기영동이나 저(고)밀도지질단백질 소분획 전기영동 검사를 통해 비정상 HDL의 양을 확인할 수 있음. 관상동맥질환 위험도 예측에는 아포지질단백질 검사가 더 정확함.

3) 쓸개즙 정체가 있는 경우 간세포의 지질대사효소의 생성 기능 저하로 인하여 비정상 apo E-rich HDL이 생성될 수 있음. 비정상 apo E-rich HDL의 임상적 의의는 확실히 밝혀져 있지는 않으나 정상적인 HDL의 기능인 항혈전 효과는 없을 것으로 생각됨.

국문요약

저자들은 쓸개즙 정체 환자에서 HDL 균질법 검사시약에 따라 고밀도지질단백질 결과가 달랐던 증례를 보고하는 바이다. 이러한 결과 차이는 환자의 혈청에 비정상 지질단백질, 즉 apo E-rich HDL이 증가하였기 때문이었다. 지질단백질 전기이동에서는 느린 α 이동 띠가 관찰되었고, 저밀도지질단백질 소분획 검사에서는 입자의 크기가 큰 HDL이 관찰되었다. 혈청 아포지질단백질 E 농도는 증가되어 있었다.

참고문헌

1. Min WK, Park H, Jun KR, Chun S, Lee W. Factors affecting the difference between the low-density lipoprotein cholesterol concentrations measured directly and calculated using the friedewald formula. J Lab Med Qual Assur 2008;30:233-5.
2. Hur M, Kim CS, Park MJ, Kwak I, Lee KM. Analysis of low-density lipoprotein cholesterol by homogenous assay in comparison with friedewald formula. Korean J Lab Med 2003;23:104-8.
3. Remaley AT, Rifai N, Warnick R. Lipids, lipoproteins, apolipoproteins, and other cardiovascular risk factors. In: Burtis CA, Ashwood ER, et al., eds. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 5th ed. St. Louis: Elsevier, 2012:731-805.
4. Remaley AT and Warnick GR. HDL-C. The changing testing paradigm part 1. In: Clinical Laboratory News. Washington: American Association for Clinical Chemistry; 2007.
5. Clifton PM, Barter PJ, Mackinnon AM. High density lipoprotein particle size distribution in subjects with obstructive jaundice. J Lipid Res 1988;29:121-35.
6. Coulhon MP, Tallet F, Yonger J, Agneray J, Raichvarg D. Changes in human high density lipoproteins in patients with extra-hepatic biliary obstruction. Clin Chim Acta 1985;145:163-72.
7. Yamashita S, Sprecher DL, Sakai N, Matsuzawa Y, Tarui S, Hui DY. Ac-

- cumulation of apolipoprotein E-rich high density lipoproteins in hyperalphalipoproteinemic human subjects with plasma cholesteryl ester transfer protein deficiency. *J Clin Invest* 1990;86:688-95.
8. Chiba H, Osaka T, Iwasaki N, Suzuki H, Akizawa K, Fujisawa S, et al. Spurious elevation of serum high-density lipoprotein cholesterol in patients with cholestatic liver diseases. *Biochem Med Metab Biol* 1991; 46:329-43.
 9. Tallet F, Vasson MP, Couderc R, Lefevre G, Raichvarg D. Characterization of lipoproteins during human cholestasis. *Clin Chim Acta* 1996; 244:1-15.
 10. Black DD. Chronic cholestasis and dyslipidemia: what is the cardiovascular risk? *J Pediatr* 2005;146:306-7.
 11. Werner A, Kuipers F, Verkade HJ. Fat absorption and lipid metabolism in cholestasis. In: (TX) A, ed. *Madame Curie Bioscience Database* [Internet]; Landes Bioscience, 2000.
 12. Claudel T, Sturm E, Duez H, Torra IP, Sirvent A, Kosykh V, et al. Bile acid-activated nuclear receptor FXR suppresses apolipoprotein A-I transcription via a negative FXR response element. *J Clin Invest* 2002; 109:961-71.
 13. Lund-Katz S and Phillips MC. High density lipoprotein structure-function and role in reverse cholesterol transport. *Subcell Biochem* 2010; 51:183-227.
 14. Krauss RM. Lipoprotein subfractions and cardiovascular disease risk. *Curr Opin Lipidol* 2010;21:305-11.
 15. Hopkins PC, Huang Y, McGuire JG, Pitas RE. Evidence for differential effects of apoE3 and apoE4 on HDL metabolism. *J Lipid Res* 2002;43: 1881-9.