

PREG-Q™를 이용한 체외임신반응검사의 임상적 유용성 평가

김창기 · 이운형 · 임종백 · 원영철 · 권오현

연세대학교 의과대학 진단검사의학교실

Evaluation of Clinical Usefulness of PREG-Q™ as a Screening Test for Pregnancy

Chang Ki Kim, Woon Hyoung Lee, Jong-Baeck Lim, Young Chul Won, and Oh Hun Kwon

Department of Laboratory Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Among the many methods estimating the quantity of β -hCG for pregnancy testing in urine, immunochromatography is one of most widely used semi-quantitative detection method for its convenience to use and also for its rapid result reporting system. PREG-Q™ is a newly introduced semi-quantitative immunochromatography method for detecting b-hCG. Clinical usefulness of PREG-Q™ was evaluated as a screening test for early pregnancy detection.

Methods: Accuracy, detection limit, cross-reactivity with various glycoprotein hormones, interference study, and comparison study using total 100 urine samples from pregnant (50 samples) and non-pregnant women (50 samples) was evaluated.

Results: All the 50 urine samples of pregnant women showed positive results, and another 50 urine samples of non-pregnant women showed negative results with PREG-Q™. The lower detection limit of PREG-Q™ was 25 mIU/mL and the result was not affected by addition of glycoprotein hormones tested. Interfering substance causing false negative or false positive results enrolled didn't affect the test results in this study.

Conclusions: We conclude PREG-Q™ is an excellent test kit for pregnancy test, and is valuable especially for detecting early pregnancy.

Key Words : Pregnancy test, PREG-Q™, Immunochromatography, hCG

서 론

용모생식자극 호르몬(human chorionic gonadotropin, 이하 hCG)은 수정란이 착상된 직후 태반발육과 함께 생성되는 37,900 kDa의 당단백 호르몬이다[1]. hCG는 알파, 베타의 두 아단위로 구성되어 있으며 알파 아단위는 갑상선 자극호르몬(TSH), 황체자극호르몬(LH), 난포자극 호르몬(FSH)의 알파 아단위와 구조가 같고 베타 아단위는 hCG 특이적 구조를 지닌다[1,2]. hCG는 임신 후 7-10일 만에 요 중 농도가 25mIU/mL에 달하며 임신이 진행되면서 그 농도가 급격히 증가하게 된다[1,3]. 따라서 혈중 혹은 요에

서 증가되는 hCG를 검출하는 것은 매우 민감한 임신 반응 검사법으로써 임신 초기에도 사용할 수 있으므로 현재 그 중요성이 증가하고 있다. hCG를 검출하는 방법으로 지금까지 여러 가지 검사법이 소개되었다. 정성검사에는 direct agglutination, latex agglutination inhibition, hemagglutination inhibition, 면역크로마토그래피 등을 이용한 방법이 있으며 정량검사에는 radio immunoassay (RIA), enzyme immunoassay 등이 있다[1,4]. 현재 단클론성 항체를 이용한 면역크로마토그래피법이 초기 임신진단을 위해 주로 사용되고 있는데, 그 이유는 단클론성 항체를 이용한 체외임신진단 시약은 특이도와 민감도가 우수하며 사용 방법이 간편한 장점이 있기 때문이다[1,2,5]. 본 연구에서는 최근 hCG에 대한 단클론성 항체와 면역크로마토그래피법을 이용하여 국내에서 개발된 PREG-Q™ (YeongDong Pharmaceutical Corp., Seoul, Korea)의 초기 임신진단에 있어서의 임상적 유용성을 평가하고자 하였다.

교신저자 : 권오현

우) 120-752 서울특별시 서대문구 신촌동 134
의과대학 건물530호 연세대의 진단검사의학교실

전화 : 02)361-5861 FAX : 02)313-0956

E-mail : kohkoh@yumc.yonsei.ac.kr

재료 및 방법

본 연구에서는 특정 농도의 hCG 검체를 만들기 위해 농도를 알고 있는 hCG (Fitzgerald 730-AC40, 7000IU/mg by 3rd IS 75/53) 정도관리 물질을 Urinalysis control levels 1 (Bio-Rad Laboratories, CA, USA) 로 희석하여 사용하였다. 실험은 PREG-Q™ 제조사에서 제시한 방법을 이용하여 시행하였으며 hCG 농도 정량 측정이 필요한 경우 Advia centaur (Bayer, Ohio, USA) 로 측정하였다.

1. 정확도 시험

대상 검체는 2002년 11월에 신촌세브란스병원 진단검사학과에 검사 의뢰된 48명의 임신부와 2명의 임신용모종양 환자의 요 50 검체를 대상으로 하였다. 건강 대조군으로는 2002년 11월에 건강검진을 위해 내원한 50명의 비 임신 환자의 요 50 검체를 이용하였다. 대상 검체를 이용하여 PREG-Q™의 임상적 유용성을 평가하였으며 그 결과를 기존의 타 국내임신진단 시약과 국외시약의 검사 결과와 비교 평가하였다.

2. 검출한계농도 시험

검출한계농도를 측정하기 위해 hCG 농도를 0mIU/mL에서 700IU/mL까지 다양한 농도로 희석하여 PREG-Q™로 검사하였으며, 각 농도별로 5회 반복 검사하였다.

3. 교차반응 시험

hCG와 구조가 비슷한 당단백 호르몬인 LH, TSH, FSH가 본 시약에 미치는 영향에 대해서 실험하였다. LH (Fitzgerald 30-AI25, 8500IU/mg by 2nd IS 80/532), FSH (Fitzgerald 30-AF35, 1800IU/mg by 2nd IRP 78/549, WHO), TSH (Fitzgerald 30-AT15, 4IU/mg by 2nd IRP 80/558, WHO)를 0, 10, 25, 33.3, 100mIU/mL 농도의 hCG용액으로 희석하여 각각 LH 500mIU/mL, FSH 1000mIU/mL, 100uIU/mL의 농도로 만들어 발색을 관찰하였다. 각 농도별로 5회 반복 검사하였다.

4. 방해물질검사

본 진단시약의 검사 결과에 영향을 미칠 수 있는 여러 물질들의 영향을 알아보기 위해 방해물질을 hCG용액에 첨가하여 실험하였다. 방해물질은 사람의 요에 많이 포함되어 있거나 발색반응에 영향을 주어 위음성 혹은 위양성을 야기할 수 있는 물질로 선택하였다. 본 실험에서는 ascorbic acid (20mg/dL), caffeine (20mg/dL), glucose (2000mg/dL), human serum protein (2g/dL), urea (3900mg/dL), hemoglobin (500mg/dL), bilirubin (2mg/

dL) 등의 총 7가지 물질을 선택하였다. 각 물질을 100 mIU/mL, 25mIU/mL, 0mIU/mL 농도의 hCG용액에 각각 용해 시켜 검사하였다.

결 과

1. 정확도 시험

임신이 확인되었거나 기존 임신 반응 검사에서 양성으로 판정된 환자 50명에 대한 실험결과 PREG-Q™으로 실험하였을 때 50 검체 모두에서 양성으로 나왔다. 다른 제조사의 임신진단 시약도 역시 50 검체 모두에서 양성 나왔다. 건강 대조군의 50 검체의 hCG값은 모두 10mIU/mL보다 낮은 값이었으며 PREG-Q™와 국외시약은 모두 음성결과를 보였다. 다만 타 국내시약의 경우 한 검체에서 약한 양성반응을 보였지만 재검 결과 음성반응을 보였다.

2. 검출한계농도 실험

0mIU/mL에서 700IU/mL까지 다양한 농도로 희석된 hCG용액을 각 농도 별로 5회 반복 검사하였다. 검사 결과는 경험이 많은 두 사람의 검사자에 의해 각각 보고하도록 하였다. 사용한 국내,외의 세가지 진단시약 모두가 25 mIU/mL의 농도에서 약양성 결과를 보였다. 또한 농도가 높아지면서 발색이 증가했고 700IU/mL의 비교적 높은 농도에서도 prozone 효과 없이 양성을 보였다.

3. 교차반응

본 실험에서TSH, LH, FSH의 호르몬을 포함한 0, 10, 25, 33.3, 100mIU/mL 농도의 hCG를 PREG-Q™로 검사한 결과, 검출한계농도 실험 결과와 같이 25mIU/mL의 농도에서 약양성 결과를 보였으며 25mIU/mL 미만의 농도에서는 음성결과를 보였다. 또한 동일한 농도의 hCG에서 각 호르몬의 유무는 테스트 결과에 영향을 주지 못했다.

4. 방해물질 검사

Ascorbic acid, caffeine, glucose, human serum protein, urea, hemoglobin, bilirubin 의 7종의 물질이 각각 포함된 hCG용액을 PREG-Q™로 측정된 결과는 각 농도에 대한 검출농도 한계실험과 같은 양상과 같이 모든 물질의 25mIU/mL의 hCG 용액에서 약한 양성반응을 보였다.

고 찰

RIA나 chemiluminescence immunoassay (CLIA)를 이용한 정량검사는 검체의 정확한 hCG 농도를 알 수 있어 임신의 경과 관찰, 임신용모종양 등의 부인과질환의 진단에 도움이 되나[1,4] 전문적인 시설과 인력이 필요하므로 초기

임신진단에는 적합하지 않다. 따라서 일반인들도 쉽게 사용할 수 있는 체외임신진단시약이 1960년대 초부터 도입되어 사용되고 있으며 또한 응급실에서 자궁외임신의 초기 진단에 많이 이용되고 있다[6,7]. 1994년 국내 요검사 정도관리 자료에 따르면 임신진단에 enzyme immunoassay가 가장 많이 사용되었고, direct agglutination와 latex agglutination inhibition가 다음으로 많이 사용되었다[8]. 따라서 면역크로마토그래피법이 일반적으로 사용된 것은 비교적 근래임을 알 수 있다. 면역크로마토그래피법을 이용한 임신진단시약이 과거에 이용되었던 agglutination inhibition법 보다 사용하기 간편하고 검사시간이 짧은 장점이 있으며 민감도와 특이도 또한 높다고 알려져 있다[2]. 본 실험에서 사용한 영동제약의 PREG-QTM 시약도 면역크로마토그래피법을 이용하여 새롭게 개발된 임신 반응 시약으로 양성, 음성 각 50 검체에 대하여 모두 정확한 결과를 보여 기존의 제품과 같이 높은 민감도와 특이도를 보였다. 비교 실험한 국내시약의 경우 비임신 정상 50 검체 중 한 검체에서 위양성을 보였다.

저자들은 여러 농도의 hCG용액을 PREG-QTM로 실험하여 이 검사법으로 검출할 수 있는 hCG의 한계농도를 알아 보았다. 제조사가 밝힌 최소 검출농도는 25mIU/mL이었으나 본 실험에서는 이 농도에서 비교적 약한 양성반응을 관찰할 수 있었다. 따라서 일반인들이 이 반응을 음성으로 인식할 가능성이 있을 것으로 생각된다. 25mIU/mL보다 높은 농도에서는 농도가 높아짐에 따라 반응 강도도 증가하였다. 항원-항체 반응을 이용한 면역크로마토그래피법은 높은 농도에서 초과된 항원의 prozone effect로 인해 위음성결과를 보일 수 있다. 그러나 PREG-QTM 시약은 700IU/mL의 비교적 높은 농도에서 정확한 결과를 보여 prozone effect는 없는 것으로 판단되었다. 정상임신에서 hCG 혈중 농도는 임신 8-10주경 100,000 IU/L로 최고를 이룬 뒤 점차 감소하기 때문에 임신이 진행되어도 정확한 결과를 얻을 수 있을 것으로 생각된다.

hCG는 TSH, LH, FSH의 알파 아단위가 hCG의 알파 아단위 같은 구조이고, 특히 LH의 경우 베타 아단위의 구조가 hCG와 많은 유사점이 있기 때문에[1] 이들 호르몬과 교차반응이 일어날 수 있다. 70년대 임신진단 시약에 대한 연구에서 초기 폐경여성의 요 검체를 대상으로 hCG를 측정 한 결과 위양성률이 55% 였다고 보고하였다[10]. LH는 특히 생리주기 중기에 요 농도는 최고 400IU/L까지 증가하며, 폐경기 여성에서는 그 두 배까지도 분비될 수 있다[10]. 이러한 교차반응의 문제는 hCG의 베타 아단위에 대한 단클론성 항체를 이용한 진단 방법이 소개되면서 많이 사라졌지만 높은 특이도를 가진 단클론성 항체가 개발되기 전까지 교차반응으로 인한 위양성이 여전히 존재하였다[4,10]. 본 연구에서 평가한 PREG-QTM 시약은 노중 hCG 검출 시 TSH, LH, FSH와의 교차반응 없이 정확한 결과

를 보였다.

Agglutination법과 단클론성 항체를 이용한 enzyme immunoassay법을 이용한 hCG 검사법은 TSH, LH, FSH 등과 같은 호르몬 이외의 물질에 의한 간섭현상이 보고되었다[1]. 특히 단백질과 혈뇨가 있을 경우 임신 반응 검사에서 위양성 결과를 보일 수 있다는 많은 보고가 있었다[7,9-11]. 그러나 여러 체외 임신진단 키트를 비교 평가한 연구에서 단클론성 항체를 이용한 제품의 경우 이런 간섭 현상이 없었다고 보고하였고[10], 이번 실험결과 PREG-QTM는 단백질과 혈색소를 포함한 7종의 물질에 의해간섭을 받지 않았다.

결론적으로 hCG의 베타 아단위에 대한 높은 특이도를 지닌 단클론 항체를 이용한 영동제약의 PREG-QTM 임신진단 시약은 48명의 임신부와 2명 임신용모종양 환자 및 50명의 건강대조군의 뇨 검체를 대상으로 요 중 hCG를 측정 한 결과 높은 민감도와 특이도를 보여 임상적 유용성을 보였다.

요 약

배 경: 임신 진단을 위한 beta-hCG를 측정방법에는 여러 가지가 있다. 그 중 면역크로마토그래피법이 널리 사용되고 있는데, 사용하기 간편하고 결과가 빨리 나오는 장점이 있기 때문이다. PREG-QTM은 국내에서 새로이 개발된 체외임신진단시약으로써 면역크로마토그래피법을 이용하였다. 저자들은 임신진단에 있어서 PREG-QTM의 임상적 유용성을 평가하였다.

방 법: PREG-QTM의 평가를 위해 정확도, 검출한계농도, 다른 당단백 호르몬과의 교차반응, 간섭물질실험 그리고 비임신 건강대조군 요검체(50검체)와 임신부의 요검체(50검체)를 이용하여 기존시약과 비교실험을 시행하였다.

결 과: PREG-QTM는 음성검체와 양성검체에 대해 모두 정확한 결과를 보였으며 다른 시약의 결과에 합당한 결과였다. 최소검출농도는 25 mIU/mL였고, 결과는 여러 당단백 호르몬에 영향을 받지 않았다. 또한 어느 간섭물질도 위음성 혹은 위양성을 유발하지 않았다.

결 론: hCG에 특이적인 단클론성 항체를 이용한 체외임신진단 시약인 PREG-QTM는 초기 임신진단에 있어서 임상적 유용성이 있을 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

1. Ashwood ER. Clinical chemistry of pregnancy. In : Burtis CA, Ashwood ER, ed. Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia : WB Saunders, 1999:1736-75.
2. Osikowicz G, Beggs M, Brookhart P, Caplan D, Ching S, Eck P, et al. One-step chromatographic immunoassay for

- qualitative determination of choriogonadotropin in urine. Clin Chem 1990;36:1586
3. Braunstein GD, Rasor J, Adler D, Danzer H, Wade ME. Serum human chorionic gonadotropin levels throughout normal pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1976;126:678-81.
 4. Witherspoon LR, Shuler SE, Joseph GF, Baird EF, Neely HR, Sonnemaker RE. Immunoassays for quantifying choriogonadotropin compared for assay performance and clinical application. Clin Chem 1992;38:887-94.
 5. Mishalani SH, Seliktar J, Braunstein GD. Four rapid serum-urine combination assays of choriogonadotropin (hCG) compared and assessed for their utility in quantitative determinations of hCG. Clin Chem 1994;40:1944-9.
 6. 박재형, 박삼식, 정제명. 응급실 내원 자궁외임신 환자의 임상적 고찰. 대한응급의학회지 1998;9:75-84.
 7. Cadoff E, Daniel A. Effect of urinary proteins on in vitro immunological tests for pregnancy. Am J Med Technol. 1983;49:173-6.
 8. 김진규, 조성식, 김순량, 김경동, 민원기, 이갑노. 요검사 외부정도관리 결과보고(1994년). 임상병리와 정도관리 1995;17:65-80.
 9. Sheehan C, Carreiro E. Evaluation of five kits for detecting choriogonadotropin in urine. Clin Chem 1985;31:875-7.
 10. Gelletille R, Nielsen JB. Evaluation and comparison of commercially available pregnancy tests based on monoclonal antibodies to human choriogonadotropin. Clin Chem 1986; 32:2166-70.
 11. Porres JM, D'Ambra C, Lord D, Garrity F. Comparison of eight kits for the diagnosis of pregnancy. Am J Clin Pathol 1975;64:452-63.