

당뇨병 환자에서 효소면역법을 이용한  
췌장 소도세포 자가항체 측정의 유용성

연세대학교 대학원

의학과 사업단

송재우

당뇨병 환자에서 효소면역법을 이용한  
취장 소도세포 자가항체 측정의 유용성

지도 김 현 숙 부교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2000년 6월 일

연세대학교 대학원

의학과 사업단

송 재 우

# 송재우의 석사학위논문을 인준함

심사위원 김 현숙 

심사위원 송 경순 

심사위원 김 경래 

연세대학교 대학원

2000년 6월 일

## 감사의 글

이 논문을 쓰는데 많은 도움을 주신 김현숙, 송경순 지도교수님, 그리고 김경래 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

또한 저의 가장 가까운 곳에서 한결같은 시선으로 지켜봐준 사랑하는 아내와 가족들을 포함하여 항상 제게 관심과 격려를 아끼지 않으셨던 모든 분들께 감사를 드립니다.

마지막으로 함께 할 수는 없어도 사랑하는 마음은 영원할 저의 부모님께 이 논문을 바칩니다.

저자 씀

# 차 례

국문요약 .....	1
I. 서 론 .....	3
II. 재료 및 방법 .....	6
1. 대상군 .....	6
2. 방법 .....	6
가. ICA 검사 .....	7
(1) ELISA 방법을 이용한 ICA 검사 .....	7
(2) IFA 방법을 이용한 ICA 검사 .....	7
나. GADA 검사 .....	8
(1) ELISA 방법을 이용한 GADA 검사 .....	8
(2) RIA 방법을 이용한 GADA 검사 .....	8
다. IAA 검사 .....	8
(1) ELISA 방법을 이용한 IAA 검사 .....	8
(2) RIA 방법을 이용한 IAA 검사 .....	9
사. C-peptide의 측정 .....	9
아. ICA, GADA 및 IAA 검사의 양성률 분석 .....	9
III. 결 과 .....	9
1. ELISA 방법으로 측정한 각 자가항체 및 자가항체 조합의 양성률 .....	9
2. RIA 방법으로 측정한 각 자가항체의 양성률 .....	11
3. 연령에 따른 IAA 양성률 .....	12
4. 자가항체 유무에 따른 C-peptide 농도 .....	12
IV. 고 찰 .....	14
V. 결 론 .....	19

참고문헌 .....	20
영문요약 .....	27

## 표차례

Table 1. Clinical characteristics of the subjects .....	6
Table 2. Positive rate for autoantibodies with ELISA method in patients with diabetes mellitus .....	10
Table 3. Positive rate for autoantibodies with RIA method in 14 patients with type 1 DM .....	11
Table 4. Results of GADA by ELISA and RIA in type 1 DM patients and their family .....	11
Table 5. Results of IAA by ELISA and RIA in type 1 DM patients and their family .....	12
Table 6. Positive rates of IAA by ELISA and RIA according to the age groups in type 1 DM patients and their family .....	12
Table 7. C-peptide level(mean±SD) according to the presence of autoantibodies in type 1 DM .....	13

## 국문요약

### 당뇨병에서 효소면역법을 이용한 췌장 소도세포 자가항체 측정의 유용성

1970년대 당뇨병에서 췌장 소도세포 자가항체(islet cell autoantibodies, ICA)가 처음으로 거론된 이래 비교적 간편한 간접 면역형광법(immunofluorescent assay, IFA)의 임상적 적용과 함께 그 항원적 특이성에 대한 연구가 많이 진행되어왔다. 그 결과 glutamate decarboxylase (GAD), islet associated antigen (IA2), 또는 insulin 등이 주된 항원 성분임이 밝혀졌고 이들에 대한 각각의 자가항체에 대한 관심이 높아졌다. 이들 각각의 ICA 즉, GADA(GAD autoantibody), IA2A(IA2 autoantibody), IAA(insulin autoantibody)의 검색을 위하여 기존의 간접 면역형광법 대신 각 특이항원 또는 항원조합을 이용한 동위원소면역법(radioimmunoassay, RIA) 또는 효소면역법(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)이 새롭게 개발되어 소개되고 있다. 이 중 RIA법은 동위원소 사용의 불편함 외에도 대량 검체 처리를 위한 자동화가 어려운 반면 ELISA법은 대규모 선별검사나 자동화 측면에서 실용성이 더욱 높아 임상적 적용이 수월한 편이다. 그러나 아직 RIA에 비교한 ELISA법의 진단적 민감도 및 특이도에 대한 연구는 많지 않아 그 임상적 유용성이 불확실하다.

이에 본 연구에서는 제1형 당뇨병(14예: 남 5, 여 9, 연령  $8.4 \pm 3.8$ 세), 제2형 당뇨병(31예: 남 16, 여 15, 연령  $50.5 \pm 11.8$ 세) 및 건강인(32예: 남 16, 여 16, 연령  $50.8 \pm 11.8$ 세)을 대상으로 ELISA법으로 ICA, GADA, IAA를 각각 측정하여 각 대상군에서 양성률을 관찰하고 그 결과를 RIA 또는 IFA 결과와 비교하여 보았다. 또한 환자군에서 혈중 C-peptide를 측정하여 자가항체 양성 유무와의 상관성을 관찰하여 보았다.

그 결과, ELISA법으로 측정된 자가항체별 양성률은 제1형 및 제2형 당뇨병 환자에서 각각 ICA 7.1%, 9.7% ; GADA 21.4%, 19.4% ; IAA 35.7%, 19.4%로서 두 유형에 따른 차이는 없었다. 제1형 당뇨병에서 RIA법으로 측정된 자가항체별 양성률은 GADA의 경우 78.6%로서 ELISA법에 비해 양성률이 현저히 높았으나 IAA의 경우는 28.6%로서 양성률이 낮았다. 제1형 당뇨병에서 자가항체의 상호조합의 경우 각각의 양성률은 각각 ICA/GADA가 28.6%, ICA/IAA가 35.7%, GADA/IAA가 50.0%로서 GAD/IAA 조합의 양성률이 비교적 높았다. RIA법으로 측정된 결과 제1형 당뇨병 환자군에서 GADA 및 IAA의 양성률은 78.6%, 21.4%로, GADA가 ELISA 측정결과와 큰 차이를 보였으나 통계적 차이는 증명할 수 없었고, 두 검사방법 간의 일치율이 GADA 33.3%, IAA 66.7%밖에 되지 않았기 때문에 각 검사방법의 정확성을 확신하기 어려웠으며 양성률의 차이가 어떤 의미를 갖고 있는지 분석하기 어려웠다. 또한 소아에서 양성빈도가 높은 IAA는 환자의 연령을 10세를 기준으로 나눈 두 군간의 양성률에 유의한 차이가 없었다. 자가항체 양성 여부에 따른 혈청 C-peptide 농도도 유의한 차이를 보이지 않았다.

결론적으로, 제1형 당뇨병 관련 자가항체 측정을 위해서 ELISA 방법은 진단적 민감도가 낮음을 알 수 있었으며 향후 임상적 유용성을 높이기 위해서는 계속적인 개선 및 평가가 필요한 것으로 사료되었다.

---

핵심되는 말: islet cell autoantibody(ICA), glutamic acid decarboxylase autoantibody(GADA), insulin autoantibody(IAA), enzyme linked immunosorbent assay(ELISA)

# 당뇨병 환자에서 호소면역법을 이용한 췌장 소도세포 자가항체 측정의 유용성

<지도 김현숙 부교수>

연세대학교 대학원 의과학 사업단

송재우

## I. 서론

당뇨병은 조사방법에 따라 다르지만 1.0-6.6% 정도의 유병률<sup>1</sup>을 보이며 인슐린의존성 당뇨병(insulin dependent diabetes mellitus, IDDM)과 인슐린비의존성 당뇨병(non-insulin dependent diabetes mellitus, NIDDM)으로 구별되고, 병인에 따라 제1형 및 제2형 당뇨병으로 분류된다. 제1형 당뇨병은 만성 자가면역성 질환으로서 수 년간의 불현기를 거친 뒤 포도당 대사 이상 및 이에 따른 증상을 보이면서 임상적으로 발현되는 자연 병력을 갖고 있다.<sup>2</sup> 자가면역 반응의 기전은 췌장 소도세포의 주요 항원에 대한 항체 형성으로 야기되며<sup>3</sup> 일란성 및 이란성 쌍둥이를 대상으로 연구한 결과들은 HLA-DQ 와 DR, 인슐린 유전자 외에도 바이러스 감염 등의 환경적 요인들이 중요한 위험 인자로 강조되고 있다.<sup>4,5</sup> 특히 선천성 풍진 환자 및<sup>6-8</sup> 장바이러스에 노출된 태아에서 당뇨병의 위험성이 높다고 보고되었으며<sup>9,10</sup> 이러한 환경적 요인과 유전적 취약성이 함께 작용하여 인슐린 생산세포에 대한 자가면역 반응을 일으키는 것으로 생각되고 있다.

이러한 자가면역반응과 관련하여 췌장 소도세포 자가항체(Islet Cell Autoantibodies, ICA)가 1970년대 처음 거론되기 시작하였으며<sup>11</sup> 이 후 시행된 많은 연구 결과 제 1형 당뇨병 환자의 약 70-80%에서 ICA가 존재하는 것으

로 알려졌다<sup>2,12</sup> 또한 당뇨병으로 진행되는 많은 불현기 환자들에서도 ICA가 검출되기 때문에 ICA는 제1형 당뇨병의 진단 외에도 환자 가족을 추적 조사 하면서 당뇨병으로 진행되는지를 예측하는데 도움을 줄 수 있는 면역학적 검사항목으로 인식되고 있다.<sup>13</sup> 뿐만아니라 제1형 당뇨병 고위험군에서 병의 진행을 예방하기 위한 치료적 임상실험이 진행중므로<sup>14,15</sup> 이러한 예방요법에 따른 자가항체의 선별검사의 중요성이 더욱 커지고 있다.

한편 Groop 등에 의하면 제2형 당뇨병 환자의 14%가 ICA 양성이고, 이러한 환자를 추적관찰시 췌장 소도세포 기능이 더욱 감소되어 인슐린이 요구되었음을 보고하여 이들이 지진성 인슐린의존형당뇨병일 가능성을 시사하였다.<sup>16</sup> 이후에도 제2형 당뇨병의 임상양상을 보이면서 자가항체를 갖고 있는 환자군이 보고되어 왔으며,<sup>17</sup> 이러한 환자가 서양인의 경우 전체 제2형 당뇨병환자의 약 10-30%를 차지하는 것으로 알려져 있다.<sup>18</sup> 이 경우 유전적 감수성 및 자가항체와 관련된 자가면역기전에 의한 췌장 소도세포의 파괴가 서서히 일어나 수개월 내지 수년간의 인슐린비의존형 기간을 거쳐 인슐린의존형으로 진행되는 것으로 이해되고 있다. 따라서 자가항체의 측정은 이들 비전형군의 당뇨병 환자들을 진단하는데 활용될 수도 있다.

ICA는 IgG 자가항체들의 이질적 혼합체로서 췌장 소도세포의 ICA 표적 항원이 구체적으로 밝혀지기 전에는 인간 췌장의 조직표본을 이용한 간접면역형광법이 표준방법이었다. 이는 일회 검사로 여러 가지 자가 항체들을 동시에 관찰할 수 있는 장점이 있는 반면<sup>19</sup> 검사표준화 및 정량화를 위한 많은 연구들에도 불구하고<sup>20,21</sup> 조직염색법 자체의 문제점으로 인한 낮은 재현성과 검사실간 민감도 차이, ABO 혈액형이 O형인 양질의 인간췌장 조직 마련 등이 문제점으로 지적되어 왔다.<sup>22</sup> 현재는 다양한 ICA의 표적 항원들이 밝혀진 바 38 kDa 항원(phogrin), carboxypeptidase H, ICA 69, proinsulin 또는 insulin 등이 있다. 이 중 Glutamate decarboxylase(GAD) 65에 대한 자가항체(GADA)

와 islet associated antigen 2(IA2)에 대한 자가항체(IA2A)가 조직 표본에서의 ICA 염색 양상에 기여하는 주된 항원으로 알려져 있으며, GAD는  $\gamma$ -aminobutyric acid를 합성하는 glutamate decarboxylase의 동종효소이고<sup>23,24</sup> IA2는 췌장소도  $\beta$  세포에서 최근에 밝혀진 tyrosine phosphatase로서 979개의 아미노산으로 구성되어 있다.<sup>14,25</sup> 이러한 자가항원이 규명되면서 술식이 간편하고 재현성이 좋으며 정량이 가능한 검사를 개발하기 위한 많은 연구들이 이루어져 왔다.<sup>13</sup> 그결과 각각의 ICA 즉, GADA(GAD autoantibody), IA2A(IA2 autoantibody), IAA(insulin autoantibody)의 검색을 위하여 기존의 간접 면역 형광법 대신 각 특이항원 또는 항원조합을 이용한 동위원소면역법(radioimmunoassay, RIA) 또는 효소면역법(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)이 새롭게 개발되어 소개되어 왔다. 이 중 RIA법은 동위원소 사용의 불편함이 있는 반면 ELISA법은 대규모 선별검사나 자동화 측면에서 실용성이 더욱 높아 임상적 적용이 수월한 편이다. 그러나 아직 RIA에 비해 ELISA법의 진단적 민감도 및 특이도에 대한 연구는 많지 않아 임상적 유용성이 불확실하다. 이에 본 연구에서는 제1형 및 제2형 당뇨병과 건강인을 대상으로 ELISA법으로 ICA, GADA, IAA를 각각 측정하여 각 대상군에서 양성률을 관찰하고 그 결과를 RIA 또는 IFA 결과와 비교하므로써 진단적 유용성을 검토하여 보았다. 또한 환자군에서 혈중 C-peptide를 측정하여 자가항체 양성 유무와의 상관성을 관찰하여 보았다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 대상군

연세대학교 의과대학 세브란스병원 및 영동세브란스병원에 내원한 환자 중 제1형 당뇨병 및 제2형 당뇨병으로 진단된 각 14예(남 5, 여 9, 연령  $8.4 \pm 3.8$  세) 및 31예((남 16, 여 15 연령  $50.5 \pm 11.8$ 세)의 환자와 제1형 당뇨병환자의 가족 5예를 대상으로 하였다. 당뇨병이 없는 대조군은 건강진단센터 의무기록을 조사하여 다른 내분비 질환 및 자가면역질환이 없는 건강성인 32명(남 16, 여 16, 연령  $50.8 \pm 11.8$ 세)을 선택하였다. 검체수집시 혈청학적 검사를 위한 혈청 검체용으로 plain tube에 5mL의 공복시 정맥혈을 채취하여 1 시간 이내에 각각 혈청 및 혈구를 분리하여  $-70^{\circ}\text{C}$ 의 냉동고에 보관하였다.

Table 1. Clinical characteristics of the subjects

	type 1 DM* (n=14)	type 2 DM*(n=31)
age(years)	$8.4 \pm 3.8$ (3-13)	$50.5 \pm 11.8$ (22-73)
duration(years)	$0.2 \pm 0.1$ (1/12-4/12)	$12.8 \pm 9.3$ (1/12-30)
fasting C-peptide (ng/mL)	$0.7 \pm 0.2$	$2.1 \pm 1.1$
fasting glucose (mg/dL)	$175 \pm 57$	$179 \pm 61$

\* diabetes mellitus

### 2. 방법

자가항체 검사를 위한 혈청 검체는 대상군으로부터 plain tube에 5 mL의 공복시 정맥혈을 채취하여 1 시간 이내에 각각 혈청 분리후  $-70^{\circ}\text{C}$ 의 냉동고에 보관하였다. 수집된 검체를 대상으로 ELISA 방법으로 ICA, IAA 및 GADA를

측정하였고, 면역형광법으로 ICA 검사를 실시하였다. 한 가지 자가항체라도 양성 결과를 보인 검체를 대상으로 C-peptide 수치를 측정하였다.

## 가. ICA 검사

### (1) ELISA 방법을 이용한 ICA 검사

Isletest<sup>TM</sup>-ICA ELISA 키트(Biomerica, Newport Beach, CA, USA)로 측정하였다. 췌장 항원 혼합물을 분리 정제하여 마이크로웰에 고정하여 상품화한 제품으로서 검사 술식은 제조사의 지시서 대로 다음과 같이 시행하였다. Strip을 마이크로플레이트의 프레임에 고정시키고, 플레이트에 음성 대조물질 2 wells, 양성 대조물질 2 wells, 나머지 well에는 검체 희석액을 100 uL씩 넣는다. 정해진 방법에 따라 검사를 실시한 후 음성 및 양성 대조물질과 대상검체의 흡광도(optical density, O.D.)를 Behring ELISA Processor II plus (Behringwerke, Marburg, Germany)를 이용하여 405 nm 파장에서 측정하였다. 흡광도 cut-off 치는 제조사의 검사 지침서에 따라 음성 대조군의 흡광도를 평균한 뒤 2.5배 하여 구하였다.

### (2) IFA 방법을 이용한 ICA 검사

영장류 췌장조직을 슬라이드에 붙여 상품화한 제품(SCIMEDX, NJ, USA)을 사용하였다. 혈청을 인산염완충액으로 1:4, 1:8로 희석하여 사용하였다. 슬라이드에 혈청희석액 25 uL를 떨어뜨린 뒤 30분 실온 배양한 후 인산염완충액으로 2회 세척하였다. 25-30 uL의 형광물질이 표지된 면역글로불린중합체를 떨어뜨린 뒤 30분 실온 배양한 후 인산염완충액으로 2회 세척하고 cover glass로 봉입한 후 형광현미경으로 관찰하였다. 형광현미경 관찰시 소도주변보다 소도세포 세포질에 강한 형광반응이 관찰되면 양성으로 판정하였으며, 형광이 없는 경우 음성으로 판정하였다.

## 나. GADA 검사

### (1) ELISA 방법을 이용한 GADA 검사

Isletest<sup>TM</sup>-GAD ELISA 키트(Biomerica, Newport Beach, CA, USA) 로 측정하였다. 정량적 ELISA 검사로 3개의 Calibrator와 음성 대조물질, 양성 대조물질 및 검체를 microplate의 각 well에 100 uL씩 넣은 후 동일 제조사의 Isletest<sup>TM</sup>-ICA ELISA 키트와 같은 방법으로 측정하였다. 제조사의 검사 지침서대로 GAD 값이 1.05보다 클 경우 양성으로 판정하였다.

### (2) RIA 방법을 이용한 GADA 검사

BRAHMS anti-GAD (Brahms Diagnostica GmbH, Germany) 키트를 사용하였다. 추적자로 I<sup>125</sup>-항 GAD 항체와 GAD 복합체를 사용하며 이밖에 항 GAD 항체가 부착되어 있는 튜브를 사용해 측정하였다. 표준물질 6개와, 검체, 대조물질 각 100 uL씩을 200 uL의 추적자와 혼합한 뒤 24-48 시간 정도 실온에서배양한다. 키트에 포함된 세척액 2 mL로 2회 세척한 후 각 튜브의 방사성 활성도를 측정한다. 표준물질로부터 표준곡선을 구하여 검체의 항체활성도를 계산하였다.

## 다. IAA 검사

### (1) ELISA 방법을 이용한 IAA 검사

Isletest<sup>TM</sup>-IAA ELISA 키트(Biomerica, Newport Beach, CA, USA) 로 측정하였다. 동일 제조사의 Isletest<sup>TM</sup>-ICA ELISA 키트와 같은 방법으로 측정하였다. 흡광도 Cut-off는 제조사의 검사 지침서에 따라 음성 대조군의 흡광도를 평균한 뒤 2.5배 하여 구하였다.

## (2) RIA 방법을 이용한 IAA 검사

AIA-100 (Biosource, Belgium) 키트를 사용하였다. 100  $\mu$ L의 표준물질 및 검체를 동량의  $I^{125}$ -인슐린과 혼합하고 2시간 배양한 뒤 1 mL의 polyethylene glycol을 각각의 혼합물에 첨가하고 다시 15분간 배양한다. 15분간 1500g로 원심분리한 후 상층액은 버리고 남은 침전물로부터 방사성 활성도를 측정한다.

## 라. C-peptide의 측정

IMMULITE 장비 및 IMMULITE C-Peptide 시약(DPC, CA, USA)을 사용하여 제1형 당뇨병 환자 및 제2형 당뇨병 환자군 검체를 대상으로 C-peptide level을 측정하였다.

## 마. ICA, GADA 및 IAA 검사의 양성률 분석

각 환자군으로부터 채혈한 검체를 대상으로 각 자가항체 및 자가항체 조합의 양성률을 분석하였다. 또, 특이도 분석을 위해 건강증진센터 내원자 32명의 검체를 이용하였는데, 의무기록을 조사하여 다른 내분비 질환 및 자가면역질환이 없는 건강인을 선택하였다. 이 밖에 제1형 당뇨병 환자 및 가족을 10세를 기준으로 연령군을 나누어 IAA 양성률을 비교해 보았다. 각 자가항체와 췌장소도세포의 잔여기능과의 관계를 알아 보기 위해 제1형 당뇨병 환자군을 GADA와 IAA 양성 및 음성군으로 구분하여 각 군의 C-peptide 농도를 비교해 보았다. 각 군간의 비교는 Fisher의 직접확률법을 이용하였고 C-peptide 농도의 비교는 Mann-Whitney 검정을 사용하였다.

## III. 결과

### 1. ELISA 방법으로 측정한 각 자가항체 및 자가항체 조합의 양성률

제1형 당뇨병 환자군, 제2형 당뇨병 환자군 및 건강인군에서 면역형광법으로 측정된 ICA 결과는 제1형 당뇨병군에서만 3명이 양성을 보였다. 그리고 이들 양성 결과를 보인 환자들은 ELISA 방법의 GADA가 모두 양성이었으나, ICA ELISA 결과는 음성이었다.

ELISA 방법으로 측정된 각 자가항체의 양성률은 Table 2와 같았다. 제1형 당뇨병 환자 가족 5명에서 양성률은 ELISA 방법으로 GADA 40%, IAA 20%, ICA 0%, GAD와 IAA 조합은 60%이었다.

Table 2. Positive rate for autoantibodies with ELISA method in patients with diabetes mellitus

	Diabetes mellitus		healthy group (n=32)	P value <sup>†</sup>
	type 1 DM (n=14)	type 2 DM (n=31)		
ICA*(%)	7.1	9.7	0	0.932
GADA**(%)	21.4	19.4	0	0.874
IAA(%)	35.7	19.4	0	0.242
ICA or GADA*(%)	28.6	22.6	0	0.669
ICA or IAA(%)	35.7	29.0	0	0.658
GADA* or IAA(%)	50.0	29.0	0	0.179

\* islet cell autoantibody

\*\* glutamic acid decarboxylase autoantibody

† insulin autoantibody

‡ type 1 vs type 2

## 2. RIA 방법으로 측정된 각 자가항체의 양성률

제1형 당뇨병 환자 14명의 검체를 대상으로 RIA 방법에 의해 측정된 결과 양성률은 GADA 78.6%, IAA 28.6%로 나타났다(Table 3). 환자 가족 5명에서는 GADA, IAA 모두 0%이었다. 가족들을 포함한 19건의 검사에서 ELISA와 RIA 결과가 일치된 경우는 GADA 6건(33.3%), IAA 12건(66.7%) 뿐이었다(Table 4 & 5). ELISA 검사의 흡광도치와 RIA의 방사선계측치 측정치간 상관성은 GADA는 상관계수가 0.1345, IAA는 0.2488로 별로 상관관계가 없는 것으로 생각되었다.

Table 3. Positive rate for autoantibodies with RIA method in 14 patients with type 1 DM

	GADA	IAA	GADA or IAA
RIA(%)	78.6	28.6	85.7
ELISA(%)	21.4	35.7	50.0

\* p=0.272

\*\* p=0.407

† p=0.437

Table 4. Results of GADA by ELISA and RIA in type 1 DM patients and their family

		ELISA		Total
		Positive	Negative	
RIA	Positive	2 (11.1)	9 (50.0)	11 (61.1)
	Negative	3 (16.7)	4 (22.2)	7 (38.9)
Total		5 (27.8)	13 (72.2)	18 (100)

Numbers in the parentheses indicate %.

Table 5. Results of IAA by ELISA and RIA in type 1 DM patients and their family

		ELISA		Total
		Positive	Negative	
RIA	Positive	2 (11.1)	2 (11.1)	4 (22.2)
	Negative	4 (22.2)	10 (55.6)	14 (77.8)
Total		6 (33.3)	12 (66.7)	18 (100)

Numbers in the parentheses indicate %.

### 3. 연령에 따른 IAA 양성률

제1형 당뇨병 환자 및 가족들을 10세미만과 10세이상의 두 연령군으로 나누어 IAA 양성률을 비교하였으며 연령군에 따른 차이는 없었다(Table 6).

Table 6. Positive rates of IAA by ELISA and RIA according to the age groups in type 1 DM patients and their family

IAA(%)	Age(years)	
	<10(n=11)	≥10(n=8)
ELISA*	28.6	50.0
RIA†	42.9	16.7

\* p=0.447

† p=0.327

### 4. 자가항체 유무에 따른 C-peptide 농도

각 자가항체와 췌장소도세포의 잔여기능과의 관계를 알아 보기 위하여 제1형 당뇨병 환자군을 GADA와 IAA 양성 및 음성군으로 구분하고 각 군의

C-peptide 농도를 비교하여 보았으나 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 7).

표 7. C-peptide level(mean±SD) according to the presence of autoantibodies in type 1 DM

C-peptide	GAD		IAA	
	poitive	negative	positive	negative
type 1*(n=14)	0.6±0.1	1.0±0.6	0.9±0.6	0.9±0.6
type 2†(n=31)	2.3±1.4	2.0±1.0	1.9±1.0	2.1±1.2

\* p=0.883 for GADA. p=0.610 for IAA

† p=0.785 for GADA, p=0.726 for IAA

#### IV. 고찰

본 실험에서 ELISA 측정결과 나타난 ICA, GAD 및 IAA의 양성률은 제1형 당뇨병군에서 각각 7.1%, 21.4%, 35.7%로서 제2형 당뇨병군의 9.7%, 19.4%, 19.4%와 유의하게 큰 차이를 보이지 않았다. 이는 대상군 규모가 작기 때문에 각 군의 실제 양성률을 정확히 반영하지 못했기 때문일 수도 있겠지만, 본 연구에 포함되었던 제2형 당뇨병 환자의 상당수가 실제로는 지진형 인슐린 의존형 당뇨병일 가능성도 완전히 배제할 수는 없겠다. Irvine등은 성인에서 발생하는 인슐린비의존성 당뇨병의 10%이상이 지진성 인슐린의존형 당뇨병임을 강조하며 40세 이후 발생하는 인슐린의존형 당뇨병의 발생률이 과소 평가될 수 있음을 지적한 바 있다.<sup>18</sup> Lohmann등은 인슐린의존성을 보이는 당뇨병 환자군을 발병시기에 따라 40세 전후로 나누어 비교한 결과 40세 이후 발병한 경우 IA2 자가항체가 발견되지 않는 특징이 있으며 GAD나 IA2 외에 다른 췌장소도세포 자가항체가 당뇨병 발병의 중요한 원인이 될 것이라고 하였다.<sup>26</sup> 최근에는 지진성 인슐린의존형 당뇨병을 조기에 발견하여 인슐린 치료나 면역학적 중재 등으로 인슐린의존형으로의 진행을 줄이고자 하는 연구가 진행되고 있다.<sup>27</sup> Kulmala등의<sup>28</sup> 보고에 의하면 ELISA 검사법들의 민감도는 GADA 65%, IAA 56% 정도이며, 본 실험에서 각 자가항체의 양성률은 모두 이에 못 미치는 결과를 보였는데, 이는 제1형 당뇨병 발병 후 췌장소도세포의 소실에 따른 항원 손실로 자가항체가 감소한 것일 수도 있으나 환자군의 유병기간이 대부분 1년 미만인 것으로 보아 검사방법 간 차이에 의한 것이라고 생각할 수 있겠다. ICA와 GADA 조합의 양성률은 28.6%, ICA와 IAA 조합은 35.7%, GADA와 IAA 조합이 46.7%로서 GADA와 IAA 조합이 가장 높았다. RIA 법으로 측정할 경우 제1형 당뇨병 환자군에서 GADA 및 IAA의 양성률은 78.6%, 21.4%로 GADA가 ELISA 측정결과와 큰 차이를 보였다. 하지만 이는

통계적으로 의미있는 차이는 아니고, 두 검사방법간에 일치율이 GADA 33.3%, IAA 66.7%밖에 되지 않았기 때문에 각 검사방법의 정확성을 확신하기 어려웠으며 양성률의 차이가 어떤 의미를 갖고 있는지 분석하기 어려웠다.

당뇨병 관련 자가항체 발견 이후 제1형 당뇨병 환자 가족을 대상으로 한 추적조사 연구 결과들이 최근 보고되고 있다. Kulmala등의<sup>28</sup> 추적조사연구에서 각 채장소도세포 자가항체의 민감도 및 양성예측률은 GADA 69%, 42%, IA2A 69%, 55%, IAA 25%, 29%이었고, ICA면역형광법은 81%, 43%였다. GADA와 IA2A를 함께 측정할 경우 민감도 81%, 양성예측률 41%로 GADA와 IA2A 조합이 기존의 ICA면역형광법을 대체할 수 있다고 하였다. Colman 등의<sup>29</sup> 제1형 당뇨병 추적조사에서는 제1형 당뇨병 발병환자의 84%에서 GADA가, 90%에서 GADA 또는 IA2A가 검출된 반면, 면역형광법에 의한 ICA는 58%에서만 검출되었다. 한편 Ziegler등은<sup>30</sup> 제1형 당뇨병 부모의 자녀들을 추적 조사하여, 전체적으로 1.8%, 둘 이상의 자가항체를 갖는 경우 50%의 제1형 당뇨병 발병률을 보고하였다. 영유아들을 대상으로 한 이 연구에서는 IAA가 가장 흔히 그리고 다른 자가항체들보다 앞서 먼저 검출되는 것으로 나타났고 연령이 증가함에 따라 역가가 감소하는 변화 양상을 보여 영유아들의 제1형 당뇨병 관련 자가면역 상태를 선별할 수 있는 가장 신뢰할 만한 검사 항목이라 하였다. Ladenburger등은<sup>13</sup> GADA 및 IA2c (IA2의 세포내 부분) 자가항체 측정 결과를 조합할 경우, 특히 16세 이하 연령군에서는 민감도가 91%에 이른다고 보고하였다. Bonifacio등은<sup>25</sup> GADA와 IA2A를 일회 검사로 동시에 측정할 수 있는 radiobinding assay (RBA)를 제안하였으며, 실제로 Dittler등은,<sup>19</sup> GADA와 IA2를 동시에 측정하는 GAD/IA2-Combi 측정 검사를 사용하여 92%의 민감도를 구하였다. GADA 및 IAA를 각각 측정하는 경우 민감도는 96%라고 하였다.

과거 GADA 및 IAA의 측정을 위한 몇몇 ELISA 방법들이 소개되어 왔고

이에 대한 평가보고도 있었으나<sup>31</sup> 대부분 방사성 동위원소법에 의한 측정 방법에 비해 낮은 민감도를 보이는 것으로 알려져 있다. 1992년의 인슐린 자가항체 측정의 표준화를 위한 국제 Workshop에서는<sup>32</sup> 19개의 방사성동위원소변역측정법과 10개의 효소면역측정법을 포함한 평가연구 결과가 보고되었는데, RIA들이 제1형 당뇨병 환자 및 위험인군에서 더 높은 양성률을 보여, 당뇨병 발병 위험의 예측에 보다 유용한 것으로 보고되었다. 이 후 1998년 Combinational Islet Cell Autoantibody Workshop에서<sup>33</sup> 보고된 multicenter 실험에서는 RIA들 외에 4 가지 GADA ELISA 측정법과 1 개의 IAA ELISA 측정법이 포함되었는데 대부분의 RIA들이 민감도와 특이도면에서 ELISA법들보다 우수한 것으로 나타났다. 상대적으로 낮은 민감도 외에도, 시판되는 ELISA 방법들 간에 일관되지 못한 결과들 때문에 각 검사법의 비교평가에 앞서 이들 ELISA 방법들간의 표준화가 필요함도 지적되었다.<sup>34</sup>

GADA의 표적은 GAD의 입체배치에 의한 epitope으로 알려져 있다.<sup>35</sup> 그러므로 GADA 측정시 낮은 민감도가 GAD 단백을 플라스틱 재질의 ELISA microplate에 흡착시킬 때 나타나는 부분적 또는 전체적 단백질 변성 및 3차 구조 변화에 인한 것임은 이미 논의된 바 있다.<sup>36</sup> 이러한 변성을 극복하기 위해서 여러 가지 ELISA 방법의 변형들이 고안되었다. 항원대신 항체를 microplate에 흡착시켜 항원을 구조변형 없이 고정시키는 sandwich ELISA 방법<sup>37</sup> 및 Biotinylated GAD를 avidin coating된 microplate에 흡착시키는 방법등이 소개되었다.<sup>38</sup> 항원 물질의 변형을 막기 위한 또다른 방법으로 용액 내에서 면역복합체를 형성하도록 한 뒤 이 면역복합체나 잔여 유리 항원을 측정하는 방법이 제안되기도 하였다.<sup>39</sup> 예로 1996년에는 기존의 ELISA 방법을 변형시킨 direct ELISA 방법을 이용하는 GADA 측정법을 이용하여 RIA와 비교할 만한 민감도와 특이도를 구하였다. 혈청과 biotinylated GAD를 혼합하여 면역복합체를 형성한 후 잔여 biotinylated GAD를 streptavidin이 깔린 microplate에서

측정하는 방법으로 높은 비율의 혈청과 매우 낮은 농도의 biotinylated GAD를 혼합하는 것이 높은 민감도를 얻는데 매우 중요한 요건이었다.<sup>39</sup> 최근 소개된 ELISA 방법은 용합 단백질인 thioredonxin-GAD65 를 사용하였으며 항원의 합성 및 분리가 용이한 장점을 갖고 있으며 비교 측정방법인 radiobinding assay의 민감도 및 특이도인 79%, 97%와 거의 비슷한 79%, 93%의 민감도 및 특이도를 보였다.<sup>40</sup> 한편 1993년 "12th International Immunology and Diabetes Workshop"의 "1st GAD Antibody Workshop"에서 stiff-man 증후군 환자의 혈청이 International GAD reference standard로 정해졌고, 이후 1995년 보고에서는 이 새로운 표준화의 적용이 ELISA 방법들의 민감도에 긍정적인 영향을 미친 것으로 밝혀졌다.<sup>41</sup> 하지만 이후로 GADA나 다른 제1형 당뇨병 관련 자가항체 측정 ELISA의 민감도 개선이나 평가를 위한 연구 결과가 보고된 바가 없다.

IAA<sup>42</sup>가 제1형 당뇨병의 진단 당시 환자 나이와 관련 있다는 보고가 있으며, 특히 제1형 당뇨병 환자 가족들 중 10세 미만의 ICA 양성군에서 가장 양성률이 높은 것으로 알려져 있다. 따라서 IAA는 소아군에서 췌장 소도 세포에 대한 자가면역 발생의 중요한 지표 역할을 한다. 본 연구에서는 10세 미만과 10세 이상의 제1형 당뇨병 환자 및 형제들에서 ELISA에 의한 IAA 양성률은 각각 33.3%와 25.5% 였다. IAA는 인슐린 치료를 받지 않은 전구기 제1형 당뇨병환자 및 인슐린을 투여하는 환자에서 발견될 수 있지만, 이 외에 산발적으로 다른 질환에서도 발생할 수 있다. IAA와 관련된 다른 특정 내분비 질환이나 자가면역 질환이 있는 것은 아니지만, 이들 질환 환자들에서 2-24% 정도의 양성률을 보일 수 있다고 하였다.<sup>43</sup>

자가항체의 존재가 빠른 췌장소도세포의 소실과 연관있다는 보고가 있는 반면 일부 연구에서는 그 반대인 경우도 있다.<sup>44,45</sup> 본 연구에서 각 자가항체와 C-peptide 수치로 본 잔여 췌장소도세포 기능을 연관지을 수는 없었다. 1997

년 Ludvigsson등도 자가항체 측정이 제1형 당뇨병 환자의 췌장소도세포의 소실 예측에 별다른 도움을 주지 못한다고 보고하였다.<sup>42</sup>

전구기에 있는 제1형 당뇨병환자 및 성인에서 자가면역성 당뇨병 환자를 감별하거나 임신성 당뇨병 환자의 제1형 당뇨병 발병 위험을 예측하는 등 대규모 집단의 선별검사를 위해선 제1형 당뇨병 관련 자가항체를 비교적 편리하게 측정할 수 있는 ELISA 방법이 유용하다. 본 연구에서는 국내에 수입 시판되는 제1형 당뇨병 관련 자가항체 측정 ELISA 키트를 사용하여 환자군 및 건강인군에서 GADA, IAA 및 ICA를 측정해 보았으나 기존의 RIA 방법의 결과와 비교적 차이가 많았다. 따라서 아직도 ELISA 방법의 지속적인 개선 및 평가가 필요한 것으로 사료되었다.

## 결론

제1형 및 제2형 당뇨병군을 대상으로 자가항체 선별검사로서 ICA, GADA 및 IAA를 효소면역법으로 측정하여 각 자가항체와 자가항체 조합의 양성률, 특이도 연령 및 췌장소도세포의 잔여 기능과의 연관성을 살펴보고자 하였다.

1. 본 실험에서 사용한 ELISA 키트에 의해 측정된 각 자가항체별 양성률은 ICA 7.1%, GADA 21.4%, IAA 35.7%로서, 특히 GADA의 경우 ELISA법이 RIA법에 비해 양성률이 현저히 낮았으나 통계적 의미는 없었고, 결과 일치율이 낮았다.
2. 건강인 32명의 검체를 대상으로 ELISA 방법에 의해 ICA, GADA 및 IAA를 측정된 결과 모두 음성으로 나타나 특이도 100%를 보였다.
3. 각 자가항체 유무에 따른 혈청 C-peptide 농도의 차이는 없었다. 10세를 기준으로 한 각 연령군에서의 IAA 양성률에도 차이를 보이지 않았다.

전구기에 있는 제1형 당뇨병환자 및 성인에서 자가면역성 당뇨병 환자를 감별하거나 및 임신성 당뇨병 환자의 제1형 당뇨병 발병 위험을 예측 감별하기 위해서는 대규모 집단의 선별검사를 통해 제1형 당뇨병 관련 자가항체를 ELISA 방법으로 측정하는 것이 효율적일 것으로 생각되나, 아직 ELISA 방법의 시약은 좀더 개선되어야 하며 추후 평가가 필요할 것으로 사료되었다.

## 참고문헌

1. Foster D. Diabetes mellitus. In: Fauci A, Brownwald E, Isselbacher K, Wilson J, Martin J, Kasper D et al, editors. *Harrison's principle of internal medicine. 14th ed. New York: McGraw-Hill; 1998. p. 2060-1.*
2. Riley WJ, Maclaren NK, Krischer JP, Spillar RP, Silverstein JH, Schatz DA, et al. A prospective study of the development of the diabetes in relatives of patients with insulin dependent diabetes. *N Engl J Med 1990;323:1167-72.*
3. Lernmark Å. Type I diabetes. *Clin Chem 1999;45:1331-8.*
4. Peterson JS, Kyvik KO, Bingley PJ, Gale EA, Green A, Dyrberg T, et al. Population based study of prevalence of islet cell autoantibodies in monozygotic and dizygotic Danish twin pairs with insulin dependent diabetes mellitus. *Br Med J 1997;314:1575-9.*
5. Redondo MJ, Rewers M, Yu L, Garg S, Pilcher CC, Elliott RB, et al. Genetic determination of islet cell autoimmunity in monozygotic twins. *Br Med J 1999;318:698-702.*
6. Forest JM, Menser MA, Burgess JA. High frequency of diabetes mellitus in young adults with congenital rubella. *Lancet 1971;II:332-4.*
7. McIntosh EDG, Menser MA. A fifty-year follow-up of congenital rubella. *Lancet 1992;340:414-5.*
8. Ginsberg-Fellner F, Witt ME, Fedun B, Taub F, Dobersen MJ, McEvoy RC, et al. Diabetes mellitus and autoimmunity in patients with congenital rubella syndrome. *Rev Infect Dis 1985;7:170-6.*
9. Dalquist G, Ivarsson S, Lindberg B, Forsgren M. Maternal enteroviral

- infection during pregnancy as a risk factor for childhood IDDM. *Diabetes* 1995;44:408-13.
10. Hyoty H, Hiltunen M, Knip M, Laakkonen M, Vagasalo P, Karjalainen J, et al. A prospective study of the role of Coxsackie B and other enterovirus infection in the pathogenesis of IDDM. Childhood Diabetes in Finland (DiMe) Study Group. *Diabetes* 1995;44:652-7.
  11. Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D. Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet* 1974;2:1279-83.
  12. Bruining GJ, Molenaar JL, Grobbee DE, Hoffman A, Scheffer GJ, Bruining HA, et al. Ten-year follow up study of islet cell antibodies and childhood diabetes mellitus. *Lancet* 1989;1:1100-3.
  13. Wiest-Ladenburger U, Hartmann R, Hartmann U, Berling K, Böhm B. Combined analysis and single step detection of GAD65 and IA2 autoantibodies in IDDM and replace the histochemical islet cell antibody test. *Diabetes* 1997;46:565-71.
  14. Gale EA. Nicotinamide. Potential for the prevention of type 1 diabetes? *Horm Metab Res* 1996;28:361-4.
  15. The Diabetes Prevention Trial for Type I Diabetes (DPT-1). Implementation of screening and staging of relatives. *Transplant Proc* 1995;27:3377.
  16. Groop L, Miettinen A, Meri S, Koskimies S, Bottazzo GF. Organ-specific autoimmunity and HLA-DR antigens as markers for  $\beta$ -cell destruction in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 1988;37:99-103.
  17. Groop L, Bottazzo G, Doniach D. Islet cell antibodies identify latent

- type 1 diabetes in patients aged 35-75 years at diagnosis. *Diabetes* 1986;35:237-45.
18. Irvine WJ. Classification of diabetes mellitus. In: Andreani D, Di Mario U, Federlin KF, Heading LG, editors. *Immunology of diabetes*. London: Kimpton; 1984. p. 293
  19. Dittler J, Seidel D, Schenker M, Ziegler AG. GADIA2-combi determination as first-line screening for improved prediction of type 1 diabetes in relatives. *Diabetes* 1998;47:592-7.
  20. Bonifacio E, Boitard C, Gleichmann H, Shattock MA, Molenaar JL, Bottazzo GF. Assessment of precision, concordance, specificity and sensitivity of islet cell antibody measurement in 41 assays. *Diabetologia* 1990;33:731-6.
  21. Lernmark A, Molenaar JL, van Beers WA, Yamaguchi Y, Nagataki S, Ludvigsson J, et al. The Fourth International Serum Exchange Workshop to standardize cytoplasmic islet cell antibodies: The Immunology and Diabetes Workshops and Participating Laboratories. *Diabetologia* 1991;34:534-5.
  22. Landin-Olsson M. Precision of the islet-cell antibody assay depends on the pancreas. *J Clin Lab Anal* 1990;4:289-94.
  23. Seissler J, Morgenthaler NG, Achenbach P, Lampeter EF, Glawe D, Payton M, et al. the DENIS2 study group: Combined screening for autoantibodies to IA2 and antibodies to glutamic acid decarboxylase in first degree relatives of patients with IDDM. *Diabetologia* 1996;39:1351-6.
  24. Bonifacio E, Genovese S, Braghi S, Bazziglucci E, Lampasona V,

- Bingley PJ, et al. Islet autoantibody markers in IDDM: risk assessment strategies yielding high sensitivity. *Diabetologia* 1997;38:816-22.
25. Bonifacio E, Lampasona V, Genovese S, Ferrari M, Bosi E. Identification of protein tyrosine phosphatase-like IA2 (islet cell antigen 512) as the insulin-dependent diabetes-related 37/40K autoantigen and a target of islet cell antibodies. *J Immunol* 1995;155:5419-26.
26. Lohmann T, Seissler J, Verlohren H, Schröder S, Rötger J, Dähn K, et al. Distinct genetic and immunological features in patients with onset of IDDM before and after 40. *Diabetes Care* 1997;20:524-9.
27. Zimmet P. Insulin therapy in type 1 and 2 diabetes-an epidemiological and clinical perspectives. *IDF Western Pacific Region Congress 1987 for World Views and Update on Insulin Therapy 1987*.
28. Kulmala P, Savola K, Petersen JS, Vahvasalo P, Karjalainen J, Loppönen T, et al. Prediction of insulin-dependent diabetes mellitus in siblings of children with diabetes. *J Clin Invest* 1998;101:327-36.
29. Colman PG, McNair P, Margetts H, Schmidli R, Werther GA, Alford FP, et al. The Melbourne pre-diabetes study: prediction of type 1 diabetes mellitus using antibody and metabolic testing. *Med J Aust* 1998;169:81-4.
30. Ziegler AG, Hummel M, Schenker M, Bonifacio E. Autoantibody appearance and risk for development of childhood diabetes in offspring of parents with type 1 diabetes: the 2-year analysis of the German BAYDIAB study. *Diabetes* 1999;48:460-8.
31. Gronowski A, Wong E, Wilhite T, Martin D, Smith C, Parvin C, et al. Detection of glutamic acid decarboxylase autoantibodies with the

- varelista ELISA. *Clin Chem* 1995;41:1532-4.
32. Greenbaum CJ, Palmer JP, Kuglin B, Kolb H. Insulin autoantibodies measured by radioimmunoassay methodology are more related to insulin-dependent diabetes mellitus than those measured by enzyme-linked immunosorbent assay: Results of the Fourth International Workshop on the Standardization of Insulin Autoantibody Measurement. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:1040-4.
  33. Verge CF, Stenger D, Bonifacio E, Colman PG, Pilcher C, Bingley PJ, et al. Combined use of autoantibodies (IA-2 autoantibody, GAD autoantibody, insulin autoantibody, cytoplasmic islet cell antibodies) in type I diabetes: combinational islet autoantibody workshop. *Diabetes* 1998;47:1857-66.
  34. Baron E, Weber Dana, Weide L. Lack of agreement among two commercial enzyme-linked immunosorbent antibody assays and a conventional immunofluorescence-based method for detecting islet cell autoantibodies. *Clin Diagn Lab Immunol* 1996;3:429-31.
  35. Richter W, Baekkeskov S. Autoreactive epitopes defined by diabetes-associated human monoclonal antibodies are localized in the middle and C-terminal domain of the smaller form of glutamate decarboxylase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:2382-6.
  36. Spangler BD. Binding to native protein by antipeptide monoclonal antibodies. *J Immunol* 1991;146:1591-5.
  37. Smith A, Wilson J. A modified ELISA that selectively detects monoclonal antibodies recognizing native antigen. *J Immunol Methods* 1986;94:31-5.

38. Bodmer D, Tiefenauer L, Andres R. Antigen versus antibody-immobilized ELISA procedures based on a biotinyl-estradiol conjugate. *J Steroid Biochem* 1986;6:1161-6.
39. Mehta HB, Vold BS, Minkin S, Ullman EF: DELISA. Sensitive nonisotopic assay for GAD65 autoantibodies, a key risk-assessment marker for insulin-dependent diabetes mellitus. *Clin Chem* 1996;42:263-9.
40. Papouchado M, Valdez S, Ermacora M, Ganan S, Poskus E. Highly sensitive and specific enzyme-linked immunosorbent assays for GAD65 autoantibodies using thioredoxin-GAD65 fusion antigen. *J Immunol Methods* 1997;207:169-78.
41. Pfutzner A, Forst T, Ambrosch A, Schmitz H, Lichtwald K, Beyer J. Determination of anti-GAD65 autoantibodies with an ELISA before and after standardization with the new international reference serum. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1995;103:123-5.
42. Ludvigsson J, Hellström S. Autoantibodies in relation to residual insulin secretion in children with IDDM. *Diabetes Res Clin Pract* 1997;35:81-9.
43. Nell LJ, Hulbert C, Arem R, Marshall RN, Rogers EG, Comstock JP, et al. Factors affecting the insulin autoantibody ELISA. *Autoimmunity* 1989;2:299-309.
44. Mustonen A, Knip M, Huttunen N, Puuka R, Kaar M, Akerblom H. Evidence of delayed B-cell destruction in type I diabetic patients with persisting complement-fixing cytoplasmic islet-cell antibodies. *Diabetologia* 1984;27:421-6.

45. Nerup J, Lernmark A. Autoimmunity in insullin-dependent diabetes mellitus. *Am J Med* 1981;70:135-41.

Abstract

Evaluation of Islet Cell Autoantibodies by ELISA  
in Patients with Diabetes Mellitus

Jae Woo Song

*Department of Medicine*  
*The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Associate Professor Hyon-Suk Kim)

Islet cell autoantibody as a predictor of type 1 diabetes mellitus(DM) has come into attention in 1970's, triggering the researches regarding the antigenic specificity and clinical usefulness. It has been known that an isoenzyme of glutamate decarboxylase(GAD), islet associated antigen(IA2) and insulin are the major target antigens of the autoantibody, which led to the introduction of radioimmunoassay(RIA) and enzyme linked immunosorbent assay(ELISA) for the measurement of the individual autoantibodies including GAD autoantibody(GADA), IA2 autoantibody(IA2A) and insulin autoantibody(IAA) in replacement of the conventional immunofluorescent assay. Generally, RIA methods have inconvenience of dealing with radioisotope while ELISA methods are favored for clinical utilization. However, comparison studies to support the clinical usefulness of ELISA methods has been rarely reported.

In this study measurement of ICA, GADA and IAA using commercial ELISA kit was performed to evaluate the positive rates of each antibody or its combination of each antibody in type 1 DM(14 subjects; M/F: 16/15, age:  $8.4 \pm 3.8$  years), type 2 DM(31 subjects; M/F: 16/15, age:  $50.5 \pm 11.8$  years) and normal healthy group(32 subjects; M/F: 16/16, age:  $50.8 \pm 11.8$ ). The test results were compared with those obtained with RIA method and IFA. Serum C-peptide levels were also determined to evaluate the possible relationship of the presence of antibodies to the residual function of islet cell.

Positive rates of autoantibodies measured by ELISA in type 1 DM and type 2 DM were 7.1% and 9.7% for ICA, 21.4% and 19.4% for GADA, and 35.7 and 19.4% for IAA, respectively. The positive rates measured by RIA were 78.6%, far exceeding that of ELISA method for GADA and 28.6% for IAA. The positive rates of combination studies were ICA/GADA(28.6%), ICA/IAA(35.7%), and GADA/IAA(50.0%) in type 1 DM. The positive rates for GADA and IAA using RIA were 78.6% and 21.4% respectively. The seemingly large difference in positive rate in GADA between the two methods could not be statistically affirmed, and the low accordance rate (GADA 33.3%, IAA 66.7%) permitted no further analysis of the difference between the two methods. Positive rates for IAA in two age groups divided by the age of 10 showed no significant difference. The presence or absence of the autoantibodies did not have any relationship to the C-peptide levels.

Large scale population screening to indicate a prediabetic state as well as to diagnose autoimmune diabetes in adults, requires development of

more accurate and reproducible ELISA methods.

---

Key Words : islet cell autoantibody(ICA), glutamic acid decarboxylase autoantibody(GADA), insulin autoantibody(IAA), enzyme linked immunosorbent assay(ELISA)