



Total IgG의 신속한 반정량 검사키트 ImmuneCheck™ IgG의 임상적 유용성

Clinical Usefulness of ImmuneCheck™ IgG for Rapid Semiquantitation of Total IgG

최진영¹ · 이상철^{1,2} · 박경희^{1,2} · 윤혜령³ · 김현숙⁴ · 박중원^{1,2}

Jinyoung Choi, M.D.¹, Sang Chul Lee, M.D.^{1,2}, Kyung Hee Park, Ph.D.^{1,2}, Heylyeong Yoon, Ph.D.³, Hyon Suk Kim, Ph.D.⁴, Jung-Won Park, Ph.D.^{1,2}

연세대학교 의과대학 내과학교실¹, 연세대학교 의과대학 알레르기연구소², 한신메디피아 진단검사의학과³, 연세대학교 의과대학 진단검사의학교실⁴
Department of Internal Medicine¹, Yonsei University College of Medicine, Seoul; Institute of Allergy², Yonsei University College of Medicine, Seoul;
Department of Laboratory Medicine³, Hanshin Medipia, Seoul; Department of Laboratory Medicine⁴, Yonsei University College of Medicine,
Seoul, Korea

Background: Conventional IgG assays require costly equipment and skilled experts. Semiquantitative measurement of total IgG using point-of-care testing devices may be the solution for these limitations. This study evaluated the reproducibility of the ImmuneCheck™ IgG assay (ProteomeTech Inc., Korea) and the correlation of its results with conventional laboratory IgG results in the serum and whole blood.

Methods: Both the serum and whole blood samples from 120 patients were used. To evaluate the intra-test reproducibility and inter-test correlation, intraclass correlation coefficient (ICC) analysis was used.

Results: The concentration of serum total IgG measured by cobas® 6000 (Roche Diagnostics, Switzerland) ranged from 690.4 to 2,756.4 mg/dL. The intra-test reproducibility of ImmuneCheck™ IgG was high (Serum ICC=0.724, $P<0.001$; Whole blood ICC=0.843, $P<0.001$). The inter-test correlation between the ImmuneCheck™ IgG and cobas® 6000 results was very good (Serum ICC=0.805, $P<0.001$; Whole blood ICC=0.842, $P<0.001$). Because there were no samples with a total IgG level lower than 600 mg/dL, the pre-existing serum samples were diluted and then the linearity tests were conducted. The intra-test reproducibility for the diluted serum samples was almost perfect (ICC=0.995, $P<0.001$), and the inter-test correlation between the ImmuneCheck™ IgG and cobas® 6000 results was also strong (ICC=0.992, $P<0.001$).

Conclusions: The ImmuneCheck™ IgG assay is reproducible and highly correlated with the conventional IgG assay for the serum and whole blood. It could be applied for the rapid detection of total IgG.

Key Words: Total IgG POCT, Rapid semiquantitation, Total IgG assay

서론

면역글로불린의 종류는 크게 5가지(IgG, IgA, IgM, IgD, IgE)가 있는데, 그 중에서 Immunoglobulin G (IgG)는 혈액 내 전체 면역

Corresponding author: Jung-Won Park

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine,
50-1 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Korea
Tel: +82-2-2228-1961, Fax: +82-2-2227-7932, E-mail: PARK.JW@yuhs.ac

Received: September 16, 2017

Revision received: February 8, 2018

Accepted: March 14, 2018

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

© 2018, 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/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

글로불린 중에서 약 70-80%를 차지한다[1]. IgG는 감염성 질환, 염증 반응, 자가면역질환, 알레르기성 질환, 혈액종양 등 다양한 질환에 관여하는 면역글로불린이다. 총 IgG의 정상범위는 연령에 따라 다르다[2-6]. IgG는 출생 이후부터 체내에서 생성되며, 대개 생후 10세가 되면 정상 성인의 혈청 농도에 도달한다[7]. 건강한 성인에서 총 IgG의 양은 연구문헌에 따라 소폭의 차이를 보일 수 있으나, 혈청 100 mL당 700-1,600 mg으로 알려져 있다. 그동안의 연구에서 총 IgG의 양은 여성보다 남성에서, 나이가 많을수록, 흡연자보다는 비흡연자에서, 정상 혈압보다는 고혈압(수축기 혈압 130 mmHg 이상, 이완기 혈압 85 mmHg 이상) 혹은 현재 항고혈압약제 복용 중인 경우 환자에서, 정상 체중보다는 BMI 30 kg/m² 이상에서 높다고 보고되었다[8, 9].

한편, B세포의 분화 및 발달에 결함이 있을 경우에는 면역글로불린의 양 또는 질에 문제가 발생하여 평생 동안 반복적인 감염성

질환을 앓는 경과를 보이게 된다[10]. 새로운 감염성 질환이 일 년에 6회 이상 반복되거나, 일 년에 2회 이상 심각한 호흡기계 감염성 질환 혹은 부비동염을 앓거나, 2개월 이상 항생제를 사용하고 있으나 효과가 떨어지거나, 심재성 피부 혹은 장기에 반복적으로 농양이 발생하거나, 만 1세 이후 지속적인 표재성 칸디다증을 앓는 경우에는 면역결핍 상태인지 의심하게 된다[11]. 이때 일차성 혹은 선천성 면역결핍질환 중 가장 흔한 형태인 체액성 면역결핍질환에 대한 선별검사로서 혈청 내 총 IgG 농도를 측정하게 되며 추후 추적관찰 시에도 IgG 농도를 측정하게 된다. 이외에도, 총 IgG 농도 측정을 통해 다발성 골수종이나 림프종과 같은 악성 혈액종양을 진단하는데 보조적인 역할을 할 수 있다[12].

현재 주로 사용되는 총 IgG 정량 분석용 장비는 고가이며, 전문적 검사인력이 필요하고, 아울러 결과를 얻기까지 비교적 많은 시간이 소요되고, 환자가 병원에 내원해서 결과를 확인해야 하는 불편함이 있다. 따라서 일차진료를 담당하는 개인의원이나 진단검사 장비가 충분하지 않은 중소형 병원에서는 총 IgG 정량 결과를 당일에 보고받기가 어렵다. 이러한 진단검사방법의 한계를 해결하기 위해서는 고가의 장비를 요구하지 않으면서 간편하고 빠르게 총 IgG를 분석하는 방법이 필요하다.

ImmuneCheck™ IgG (ProteomeTech Inc., Seoul, Korea)는 총 IgG의 반정량 분석용 Point-of-care test (POCT) 키트로서, 경쟁적 면역분석법과 샌드위치 면역분석법의 두 가지 분석법을 함께 사용하여 기존의 POCT 키트의 단점을 극복한 분석키트이다.

본 연구에서는 ImmuneCheck™ IgG 검사를 반복한 결과치 비교를 통해 재현성을 평가함과 동시에, 현재 검사실에서 주로 사용

되고 있는 자동화 장비인 Roche사의 cobas® 6000 (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland)의 총 IgG 정량 결과 간의 상관성을 평가하여 임상적 유용성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 연구대상자 및 검체

본 연구는 2013년 10월부터 2016년 9월까지 세브란스병원 알레르기내과 외래에 내원하여, 연구 참여에 동의한 만 18세 이상의 성인 중 혈청과 전혈 검체가 모두 확보된 환자 120명을 대상으로 하였다. 환자는 무작위로 선정하여 후향적 연구를 진행하였다. 윤리적 연구 수행을 위하여 연세의료원 세브란스병원 연구심의위원회 (Institutional Review Board, IRB)의 검토, 승인 및 감독하에 연구를 진행하였다(IRB 번호: 4-2013-0397).

전혈과 혈청 검체는 채혈 후 검사 진행 전날까지 -70°C로 냉동 보관하였으며, 검사 전날 4°C의 냉장고로 옮겨 서서히 해동하여 검사에 사용하였다.

2. ImmuneCheck™ IgG를 이용한 검사 방법

혈액 검체 5 µL를 pipetting하여 반응 전액이 들어있는 용기 안으로 넣고 10~15초 동안 흔들어서 희석된 혈액 검체 4방울(100 µL)을 측정용 카세트의 투여창(S)에 떨어뜨린 후 20분 뒤 결과창의 결과를 결과판정판에 따라 판독하였다(Fig. 1). 혈액 검체 하나당 총 3번의 반복된 검사를 진행하여 각각의 결과값을 한 명의 평가자가 맨눈으로 판독하였다. 결과는 20개의 구간을 대표하는 구간 대표

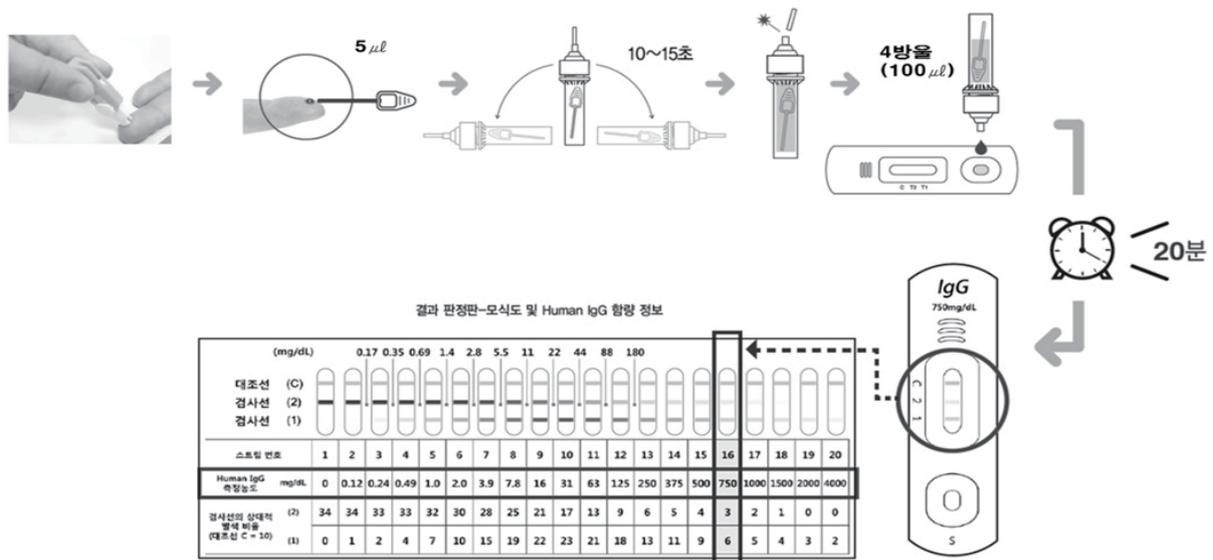


Fig. 1. Experimental process of ImmuneCheck™ IgG.

값에 따라 반정량적으로 보고하였다. 20개 구간의 대표값은 다음과 같았다: 0, 0.12, 0.24, 0.49, 1.0, 2.0, 3.9, 7.8, 16, 31, 63, 125, 250, 375, 500, 750, 1,000, 1,500, 2,000, 4,000 mg/dL.

3. 대조시험용 의로기기(Roche cobas® 6000)

Roche사의 cobas® 6000은 제조회사에서 제공한 표준화된 검사 프로토콜에 따라 혈청 검체로 검사를 진행하였다. Roche cobas® 6000의 총 IgG 검사는 within-run impression Coefficient variation (CV)은 3.9%, between-run CV (Total imprecision)는 3.0%이며, total inaccuracy (bias=[mean value - target value]/target value × 100%)는 1.2%이고, total error (total error=bias + 2 x CV)는 7.2%로 검증된, immunoturbidimetric assay방법을 이용한 검사기기이다[13].

Roche cobas® 6000의 총 IgG 검사 결과는 300 mg/dL 이하이거나 5,000 mg/dL 이상일 경우 재검을 진행하였고, 재검을 진행한 경우엔 재검 결과를 사용하여 분석을 하였다.

4. 재현성 평가

ImmuneCheck™ IgG의 재현성(reproducibility) 평가를 위해, 혈액 검체 하나당 총 3번의 ImmuneCheck™ IgG 검사를 진행하여 같은 검체에 대해 동일한 결과를 보이는지 알아보고자, 검사 내(intra-test) 급내 상관계수(intraclass correlation coefficient, ICC)를 구하여 검증하였다. 급내 상관계수는 동일한 검체에 대해 반복적으

로 동일한 검사를 시행하여 나온 결과 사이의 상관성(correlation)을 평가하거나, 동일한 검체에 대해 서로 다른 검사를 시행하여 나온 검사 결과 사이의 상관성을 평가하기 위해 사용되는 분석 방법이다. 본 연구에서는 3번의 반복된 ImmuneCheck™ IgG 검사를 시행하여 그 결과값을 동일한 한 명의 평가자가 맹눈으로 판독하였기에, 검사 내 급내 상관계수는 일차원 변량모델로 분석하였다.

5. 상관성 평가

ImmuneCheck™ IgG와 Roche cobas® 6000의 Total IgG 검사 결과를 이용하여 검사 간 급내 상관계수(inter-test ICC)를 구하여 상관성 평가를 시행하였다. 검사 간 급내 상관계수는 이차원 변량모델로 분석하였다.

각 검사방법마다 검사 가능한 검체의 종류가 다르고, Roche cobas® 6000의 경우엔 혈청으로만 검사가 가능하기 때문에, Roche cobas® 6000을 사용한 혈청 총 IgG 결과치를 가지고 전혈 총 IgG 수치로의 변환을 위한 방법이 요구되었다. 이에, Roche cobas® 6000을 사용한 혈청 총 IgG 결과값을 헤마토크리트(Hematocrit) 수치를 이용해 Fig. 2의 계산식에 대응하여 전혈에서의 총 IgG 값을 구하였다. 이렇게 계산되어 나온 전혈 총 IgG 값은 전혈로 ImmuneCheck™ IgG 검사 진행시의 총 IgG 측정값과 대조하여 검사 간 급내 상관계수를 구해 상관성 평가를 하였다(Fig. 2). 이때 사용한 헤마토크리트는 Advia 2120i (Siemens, Berlin, Germany) 또는 XN (Sysmex, Kobe, Japan)을 이용하여 전혈에서 측정하였다.

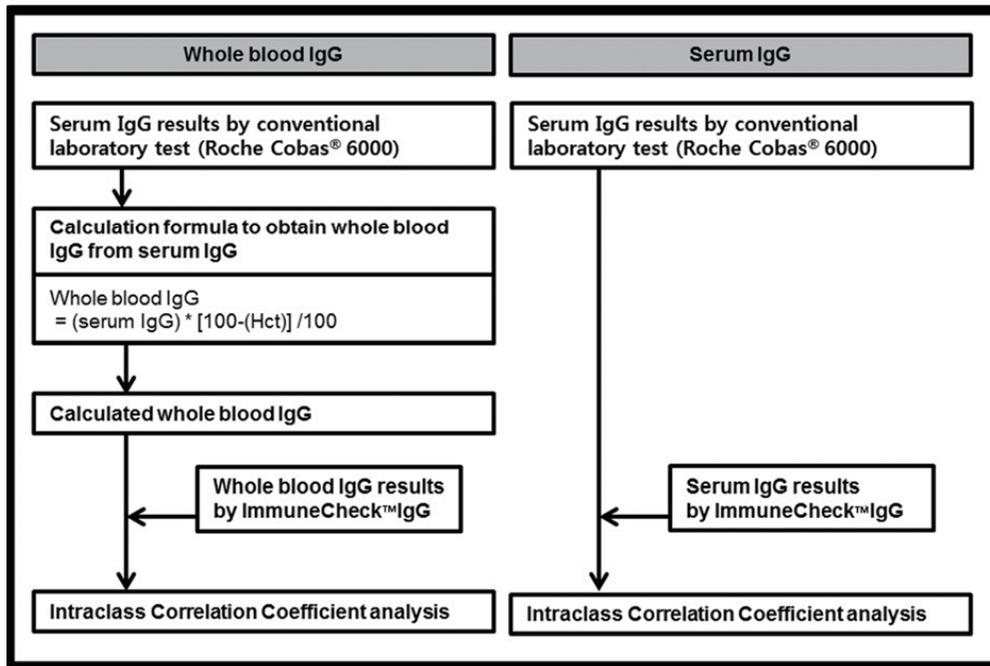


Fig. 2. Flowchart of ImmuneCheck™ IgG analysis.

6. 통계분석

통계프로그램은 SPSS version 23.0 (SPSS Inc., Chicago, USA)을 이용하였다. 급내 상관계수(ICC)가 0.81-1.00은 거의 완벽한 일치도(almost perfect agreement), 0.61-0.80은 강한 일치도(substantial agreement), 0.41-0.60은 중간 정도의 일치도(fair agreement), 0.21-0.40은 보통의 일치도(moderate agreement), 0.01-0.20은 약한 일치도(alight agreement), 0 이하는 거의 무시할만한 일치도 (poor agreement)를 보이는 것으로 판정하였다[14]. 각 검정에 있어서 P value < 0.05인 경우를 유의한 결과로 보았다.

결 과

1. 연구 대상자의 기저 특징

총 120명의 환자가 본 연구에 참여하였으며, 이 중 헤마토크리트(hematocrit)는 2명의 환자에서 측정치가 없었기에 ImmuneCheck™ IgG의 검증에 사용된 전혈 검체는 총 118개였고, 혈청 검체는 총 120개였다.

연구 대상자 120명 중 남성은 44명, 여성은 76명이었으며, 나이는 18세부터 89세까지였고 평균 나이는 48.6세였다. Roche cobas® 6000으로 측정한 120명의 혈청 총 IgG의 범위는 690.4 mg/dL부터 2,756.4 mg/dL까지였고, 평균은 1,184.1 mg/dL이었다.

연구 대상자를 성별로 나누어 기저 특성을 분석하였다. 남성과 여성에서의 평균 연령은 각각 41.7세, 52.6세로 나타났고(P=0.003), 평균 헤마토크리트는 각각 44.9%, 39.9%로 나타났으며(P<0.001), 이들은 성별에 따라 유의한 차이를 보였다(Table 1).

연구 대상자를 30세 미만, 30세 이상 50세 미만, 50세 이상 70세 미만, 70세 이상의 네 군으로 연령별로 나누어 기저 특성을 분석하였다. 연령별로 남성의 비율은 각각 62.5%, 37.5%, 32.4%, 13.6%로 나타났고(P=0.006), 아토피성 질환 과거력은 각각 62.5%, 67.5%, 76.5%, 95.5%로 나타났고(P=0.047), 평균 헤마토크리트는 각각 43.9%, 42.1%, 41.8%, 38.7%로 나타났으며(P<0.001), 이들은 연령에 따라 유의한 차이를 보였다.

Table 1. Comparison of baseline characteristics between the male and female patients included in this study

| Item | Males (n=44) | Females (n=76) | P value |
|--|-----------------|-----------------|---------|
| Mean age, year (SD) | 41.7 (17.7) | 52.6 (19.4) | 0.003 |
| No. of patients with atopy* (%) | 30 (68.2) | 59 (77.6) | 0.258 |
| Mean of hematocrit, % (SD) | 44.9 (3.6) | 39.9 (3.3) | <0.001 |
| Mean of serum total IgG by Roche cobas® 6000, mg/dL (SD) | 1,162.4 (172.8) | 1,196.7 (298.2) | 0.426 |

*Atopy refers to the genetic tendency to develop allergic diseases, such as allergic rhinitis, asthma, and atopic dermatitis. Abbreviation: SD, standard deviation.

총 IgG의 수치가 600 mg/dL 이하로 낮은 검체는 기존의 IRB 승인을 받은 레지스트리 구축 연구에 동의한 환자들 중에서는 얻을 수 없었다(Table 2). 따라서 120명 연구대상자의 남은 혈청 검체 중 검체량이 충분하였던 5명의 검체를 반응전개액과 섞어 희석하여 총 15개의 희석 검체를 제작하였다. 희석 검체에 대해 각각 Roche cobas® 6000과 ImmuneCheck™ IgG 검사를 진행하여 총 IgG 결핍 혈청에 대한 상관성 평가를 진행하였다.

2. 기존 검체의 ICC 분석 결과

혈액 검체 각각에 대해 검체 하나당 총 3번씩의 ImmuneCheck™ IgG 검사를 진행 후 한 명의 평가자가 판독하였을 때 같은 검체에 대해 동일한 결과를 보이는지에 대한 재현성 평가를 위해 검증한 검사 내 급내 상관계수는 혈청 검체에서는 0.724이었으며, 전혈 검체에서는 0.843이었다(P<0.001).

혈액 검체에서 Roche cobas® 6000과 ImmuneCheck™ IgG 검사 간의 총 IgG 결과의 상관성을 평가하고자 검증한 검사 간 급내 상관계수는 혈청 검체에서는 0.805이었으며, 전혈 검체에서는 0.842이었다(P<0.001) (Table 3, Fig. 3).

Table 2. Comparison of the serum total IgG results obtained with Roche cobas® 6000 and ImmuneCheck™ IgG

| ImmuneCheck™ IgG results, mg/dL | Mean of total IgG results by Roche cobas® 6000, mg/dL (SD) |
|---|--|
| 0, 0.12, 0.24, 0.49, 1, 2, 3.9, 7.8, 16, 31, 63, 125, 250, 375, 500 | ND |
| 750 | 778.7 (66.1) |
| 1,000 | 1,008.1 (139.3) |
| 1,500 | 1,231.8 (161.7) |
| 2,000 | 1,645.5 (411.6) |
| 4,000 | ND |

Abbreviations: ND, no data; SD, standard deviation.

Table 3. ICC analysis of the test results for serum, whole blood, and diluted serum

| Specimen | ICC | 95% CI | P value |
|----------------------------|-------|-------------|---------|
| Serum | 0.724 | 0.626-0.800 | <0.001 |
| Intra-test reproducibility | | | |
| Inter-test correlation | 0.805 | 0.721-0.864 | <0.001 |
| Whole blood | 0.843 | 0.787-0.886 | <0.001 |
| Intra-test reproducibility | | | |
| Inter-test correlation | 0.842 | 0.772-0.890 | <0.001 |
| Diluted serum | 0.995 | 0.989-0.998 | <0.001 |
| Intra-test reproducibility | | | |
| Inter-test correlation | 0.992 | 0.975-0.997 | <0.001 |

Abbreviations: CI, confidence interval; ICC, intraclass correlation coefficient.

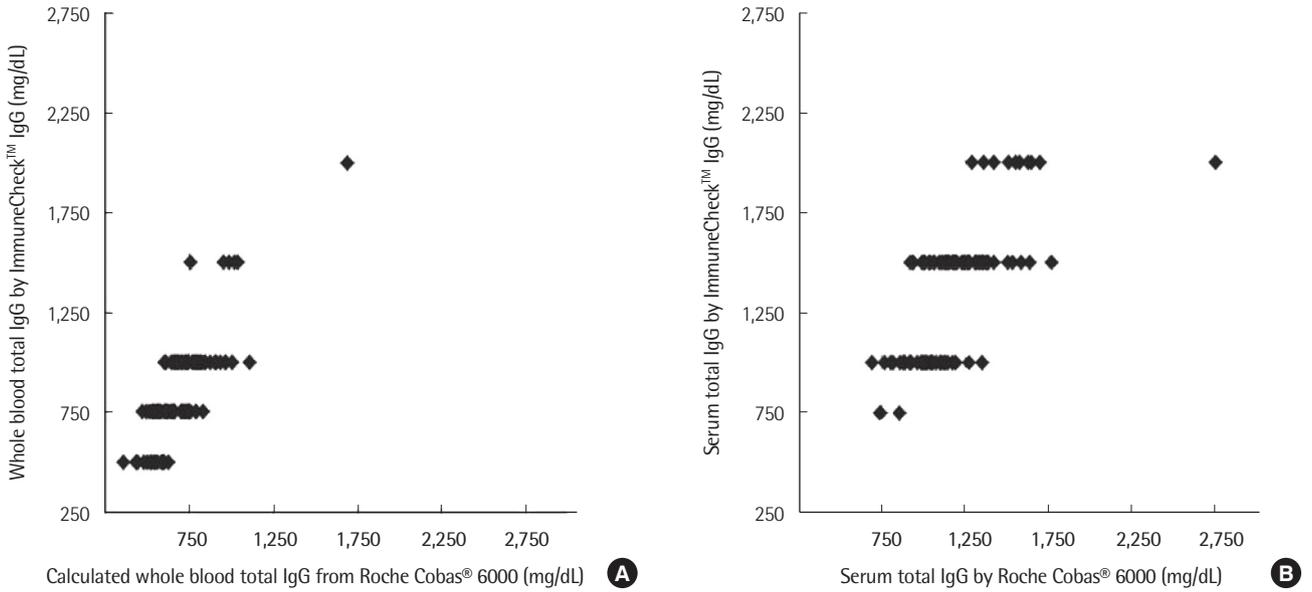


Fig. 3. Scatter plots of whole blood total IgG titers (A) and serum total IgG titers (B) obtained with ImmuneCheck™ IgG.

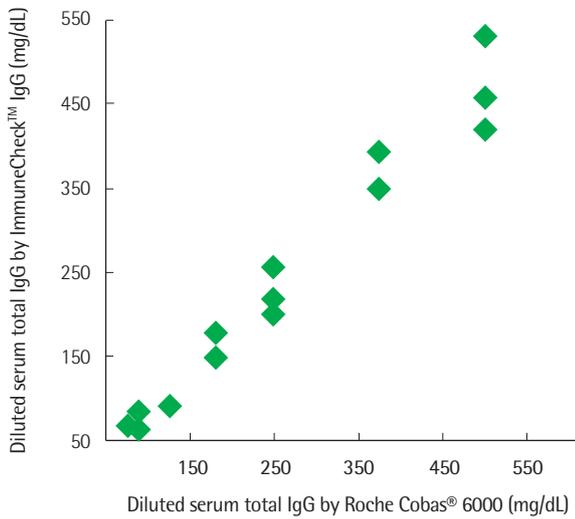


Fig. 4. Scatter plot of diluted serum total IgG titers obtained with ImmuneCheck™ IgG.

3. 희석 혈청 검체의 ICC 분석 결과

총 IgG가 정상보다 낮은 수치를 보이는 검체에 대한 검증을 위해, 연구대상자의 남은 혈청 검체 중 검체량이 충분하였던 5명의 검체를 반응전개액과 섞어 희석하여 총 15개의 희석 검체를 제작하였으며, 이에 대해 각각 Roche cobas® 6000과 ImmuneCheck™ IgG 검사를 추가로 진행하였다. 검체를 희석하는 비율은 모두 무작위로 결정하였으며 Roche cobas® 6000과 ImmuneCheck™ IgG 검사자 모두가 수치를 미리 예측하지 못하는 상태에서 검사를 진행하였다.

Roche cobas® 6000으로 측정된 희석 혈청 검체들의 총 IgG의 범위는 60.0 mg/dL부터 532.3 mg/dL까지였고, 평균은 234.1 mg/dL이었다. 희석한 전혈 검체에 대한 검사는 추가로 진행치 않았다.

희석한 혈청 검체 각각에 대해 검체 하나당 총 3번씩의 ImmuneCheck™ IgG 검사를 진행 후 재현성 평가를 위해 검정한 검사 내 급내 상관계수는 0.995이었으며, 희석한 혈청 검체에서 Roche cobas® 6000과 ImmuneCheck™ IgG의 총 IgG 결과의 상관성을 평가하고자 검정한 검사 간 급내 상관계수는 0.992이었다($P < 0.001$) (Table 3, Fig. 4).

4. 연구 대상자의 연령, 성별, 헤마토크리트에 따른 ICC 분석 결과

연구 대상자의 기저 특성에 따른 Roche cobas® 6000과 ImmuneCheck™ IgG의 총 IgG 결과 간의 상관성에서 차이를 보이는지 평가하고자 추가적 검사 간 급내 상관계수 검정을 진행하였다 (Table 4).

연구 대상자의 연령을 기준으로 30세 미만, 30세 이상 50세 미만, 50세 이상 70세 미만, 70세 이상의 4군으로 나누어 검사 간 급내 상관계수를 분석하였다. 혈청 검체에서의 검사 간 급내 상관계수는 30세 미만에서 0.743 ($P = 0.001$), 30세 이상 50세 미만에서 0.776 ($P < 0.001$), 50세 이상 70세 미만에서 0.833 ($P < 0.001$), 70세 이상에서 0.861 ($P < 0.001$)이었다. 전혈 검체에서의 검사 간 급내 상관계수는 30세 미만에서 0.695 ($P = 0.003$), 30세 이상 50세 미만에서 0.871 ($P < 0.001$), 50세 이상 70세 미만에서 0.857 ($P < 0.001$), 70세 이상에서 0.775 ($P = 0.001$)이었다.

Table 4. Inter-test ICC results for serum and whole blood according to age, gender, and hematocrit

| Specimen | | | ICC | 95% CI | P value |
|-------------|------------|----------------------------------|-------|-------------|---------|
| Serum | Age (year) | < 30 | 0.743 | 0.407-0.889 | 0.001 |
| | | 30-49 | 0.776 | 0.577-0.882 | < 0.001 |
| | | 50-69 | 0.833 | 0.665-0.917 | < 0.001 |
| | | ≥ 70 | 0.861 | 0.666-0.942 | < 0.001 |
| | Sex | Male | 0.600 | 0.267-0.782 | 0.002 |
| | | Female | 0.856 | 0.773-0.909 | < 0.001 |
| Whole blood | Age (year) | < 30 | 0.695 | 0.294-0.868 | 0.003 |
| | | 30-49 | 0.871 | 0.753-0.932 | < 0.001 |
| | | 50-69 | 0.857 | 0.711-0.929 | < 0.001 |
| | | ≥ 70 | 0.775 | 0.458-0.907 | 0.001 |
| | Sex | Male | 0.687 | 0.422-0.830 | < 0.001 |
| | | Female | 0.884 | 0.816-0.927 | < 0.001 |
| | Hct (%) | 1st quarter; Hct ≤ 38.98 | 0.909 | 0.805-0.957 | < 0.001 |
| | | 2nd quarter; 38.98 < Hct ≤ 42.00 | 0.790 | 0.570-0.898 | < 0.001 |
| | | 3rd quarter; 42.00 < Hct ≤ 44.20 | 0.801 | 0.576-0.906 | < 0.001 |
| | | 4th quarter; Hct > 44.20 | 0.687 | 0.324-0.855 | 0.002 |

Abbreviations: CI, confidence interval; ICC, intraclass correlation coefficient; Hct, hematocrit; 1st quarter, range of minimum to first quartile; 2nd quarter, range of first quartile to median; 3rd quarter, range of median to third quartile; 4th quarter, range of third quartile to maximum.

연구 대상자 성별에 따른 검사 간 급내 상관계수는 혈청 검체에서는 남성에서 0.600 ($P=0.002$), 여성에서 0.856 ($P<0.001$)이었고, 전혈 검체에서는 남성에서 0.687 ($P<0.001$), 여성에서 0.884 ($P<0.001$)이었다.

전혈 검체에서 헤마토크리트의 사분위 범위에 따라 4군으로 나누어 검사 간 급내 상관계수의 차이를 보이는지 분석하였다. 검사 간 급내 상관계수는 헤마토크리트가 가장 낮았던 첫 번째 사분위 범위에서 0.909 ($P<0.001$), 두 번째 사분위 범위에서 0.790 ($P<0.001$), 세 번째 사분위 범위에서 0.801 ($P<0.001$), 헤마토크리트가 가장 높았던 네 번째 사분위 범위에서 0.687 ($P=0.002$)이었다.

고 찰

총 IgG의 범위가 690.4 mg/dL부터 2,756.4 mg/dL까지인 검체를 이용한 경우 ImmuneCheck™ IgG의 검사 내 급내 상관계수는 혈청 검체에서 0.724, 전혈 검체에서 0.843으로 나타나, 혈청과 전혈 검체 모두에서 강한 일치도를 보였다. 또한, Roche cobas® 6000과 ImmuneCheck™ IgG의 검사 간 급내 상관계수는 혈청 검체에서 0.805, 전혈 검체에서 0.842로 나타나, 혈청과 전혈 검체 모두에서 거의 완벽한 일치도를 보였다.

총 IgG가 정상치보다 낮은 환자에서의 ImmuneCheck™ IgG의 선별 효과를 확인하기 위해 600 mg/dL 이하의 희석 검체로 평가한 경우에서 ImmuneCheck™ IgG의 검사 내 급내 상관계수는 0.995로 나타나, 거의 완벽한 일치도를 보였다. 그리고 Roche cobas® 6000과 ImmuneCheck™ IgG의 검사 간 급내 상관계수는 0.992로 나타

나, 거의 완벽한 일치도를 보였다. 따라서 혈청 희석 검체에서도 재현성과 상관성 모두 기존 제품과 동등한 성능임을 확인할 수 있었다.

혈청 검체에서의 연령에 따른 검사 간 급내 상관계수는 50세 미만 연령군은 각각 0.743, 0.776으로 나타나 강한 일치도를 보였고, 50세 이상 연령군은 각각 0.833, 0.861로 나타나 거의 완벽한 일치도를 보였다. 전혈 검체에서의 연령에 따른 검사 간 급내 상관계수는 30세 미만 연령군은 0.695로 나타나 강한 일치도를 보였고, 30세 이상 70세 미만 연령군은 각각 0.871, 0.857로 나타나 거의 완벽한 일치도를 보였으며, 70세 이상 연령군은 0.775로 나타나 강한 일치도를 보였다. 이를 통해, Roche cobas® 6000과 ImmuneCheck™ IgG 결과 간의 상관성은 연구대상자의 전 연령군에서 고르게 만족스러운 결과를 보임을 확인할 수 있었다.

혈청과 전혈 검체에서 연구대상자의 성별에 따른 검사 간 급내 상관계수는 남성에서 각각 0.600, 0.687로 나타나 강한 일치도를 보였고, 여성에서 각각 0.856, 0.884로 나타나 거의 완벽한 일치도를 보였다. Roche cobas® 6000과 ImmuneCheck™ IgG 결과 간의 상관성은 남성보다 여성에서 소폭 더 높은 추세를 나타냈으나, 모든 성별에서 만족스러운 결과를 보임을 확인할 수 있었다.

전혈 검체에서 헤마토크리트의 사분위 범위에 따라 4군으로 나누어 구한 검사 간 급내 상관계수는 헤마토크리트가 증가함에 따라 0.909, 0.790, 0.801, 0.687로 나타났다. 헤마토크리트 기준의 첫 번째 사분위 범위군과 세 번째 사분위 범위군에서 거의 완벽한 일치도를 보였고, 두 번째 사분위 범위군과 네 번째 사분위 범위군에서 강한 일치도를 보였다. Roche cobas® 6000과 ImmuneCheck™ IgG 결과 간의 상관성은 헤마토크리트가 44.2% 이상으로 높을 경우에

Table 5. Comparison between the conventional laboratory test (Roche cobas® 6000) and ImmuneCheck™ IgG assay

| Item | Roche cobas® 6000 | ImmuneCheck™ IgG |
|-----------------------|---|---|
| Minimum sample volume | Primary tubes: 700 µL Sample cup: 100 µL Micro cup (FTB): 50 µL | 2-5 µL |
| Recommended specimen | Serum | Serum, whole blood |
| Required time | 2-3 hours | 20 minutes |
| Physical dimensions | Width: 188-498 cm Height: 130 cm Depth: 98 cm | Width: 7 cm Length: 2 cm Height: 0.5 cm |
| Detection range | 0-5,000 mg/dL | 0-4,000 mg/dL |
| Analysis | Quantitative | Semiquantitative |

소폭 감소하는 경향을 보였으나, 모든 헤마토크리트 범위에서 만족스러운 결과를 보임을 확인할 수 있었다.

상기 결과는 추가적인 크로마토그래피 판독기(Chromatographic reader)를 사용하지 않고 맨눈으로 ImmuneCheck™ IgG를 검사결과를 판독한 것이다. 따라서 향후 검사 판독의 오차를 줄이기 위해서 크로마토그래피 판독기를 추가로 도입하여야 할 것으로 사료된다. 그러나 판독상의 주관성으로 인한 오차가 있을 수 있었음에도 ImmuneCheck™ IgG가 본 연구를 통해 높은 재현성과 기존 제품과의 높은 상관성을 보인 것은 제품의 성능이 우수함을 입증한 것이라 할 것이다.

본 연구에서 ImmuneCheck™ IgG 검사의 재현성과 상관성은 정상 혹은 높은 농도의 총 IgG 함유 혈청뿐만 아니라 총 IgG 결핍 혈청에서도 우수한 검사 내 및 검사 간 급내 상관계수를 보였다. 이는 ImmuneCheck™ IgG의 개발 목적 중 하나인 총 IgG 결핍을 일으키는 질환의 선별검사 및 조기진단에 적절하게 사용할 수 있음을 보여주는 것이다. 특히 ImmuneCheck™ IgG는 소량의 전혈 검체로도 총 IgG 측정이 가능하다. 이는 채혈 후 혈청 분리 작업을 거쳐야 하는 기존 검사법의 한계를 극복할 수 있게 해주기 때문에 향후 임상적 유용성이 클 것으로 기대된다(Table 5).

체액성 면역결핍환자에서 총 IgG 농도를 500 mg/dL 이상으로 유지하면 감염을 줄일 수 있고, 800 mg/dL 이상일 경우에는 호흡기 질환의 경과를 호전시키는 것으로 알려져 있다[15]. 면역결핍환자에서의 감염성 질환은 사망을 초래할 수도 있기 때문에 예방이나 적절한 조치를 위해 내원 당일에 즉시 정량 결과를 확인할 수 있는 것이 바람직하다. ImmuneCheck™ IgG 검사는 총 IgG의 측정치가 반정량적으로 나오는 검사이다. 총 20개의 구간(0, 0.12, 0.24, 0.49, 1.0, 2.0, 3.9, 7.8, 16, 31, 63, 125, 250, 375, 500, 750, 1,000, 1,500, 2,000, 4,000 mg/dL)으로 결과치가 표시되는데, 낮은 농도 범위에 있는지 여부를 파악하여 임상적 조치를 취하기에는 충분한 성능을 가지고 있다. 검사 시작 후 약 20분 후에 총 IgG 결과치를 반정

량적으로 확인하여 임상적 조치를 취한 후에 필요한 경우 추가 정밀검사를 수행하는 것을 고려할 수 있을 것이다.

결론적으로, ImmuneCheck™ IgG는 혈청과 전혈 검체 모두에서 높은 재현성을 보였고 기존에 사용 중인 Roche cobas® 6000 검사 결과와 높은 일치도를 보여 우수한 성능을 확인할 수 있었다. 아울러 고가의 장비나 검사를 위한 전문인력이 필요하지 않으며, 비교적 적은 양의 검체로도 검사가 가능하고, 검사에 소요되는 시간이 적기 때문에, 우리나라의 일차의료 현장에서 유용하게 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

배경: 기존의 총 IgG 검사는 고가의 장비 및 관련 전문인력이 필요하며, 결과를 얻기 위해 상당한 시간이 소요된다. 이러한 한계를 극복하기 위해 반정량 분석법인 ImmuneCheck™ IgG (Proteome-Tech Inc., Seoul, Korea)가 새롭게 개발되었다. 본 연구는 혈청과 전혈에서 ImmuneCheck™ IgG의 재현성을 검증하고, ImmuneCheck™ IgG 반정량 분석법을 이용한 총 IgG 결과와 기존의 정량 검사방법을 이용한 총 IgG 결과 간의 상관성을 검증하고자 하였다.

방법: 환자 120명의 혈청 및 전혈 검체를 이용하여 ImmuneCheck™ IgG 검사를 시행하였고 혈청 검체를 이용하여 Roche사의 cobas® 6000 검사를 시행하여 그 결과치를 비교하였다. 검사 내 재현성과 검사 간 상관성을 평가하기 위해 급내 상관계수(intraclass correlation coefficient, ICC) 분석을 사용하였다.

결과: Roche cobas® 6000을 이용한 혈청 총 IgG 결과의 범위는 690.4 mg/dL부터 2,756.4 mg/dL까지였다. ImmuneCheck™ IgG의 검사내 재현성은 강한 일치도를 보이는 것으로 나타났다(혈청 ICC=0.724, $P<0.001$; 전혈 ICC=0.843, $P<0.001$), Roche cobas® 6000과 ImmuneCheck™ IgG의 총 IgG 값은 통계학적으로 우수한 일치도를 보이는 것으로 나타났다(혈청 ICC=0.805, $P<0.001$; 전혈 ICC=0.842, $P<0.001$). 연구대상환자에서 총 IgG가 600 mg/dL 미만인 검체가 없었기에, 기존 혈청 검체를 희석하여 추가로 검사를 진행하였다. 희석한 혈청 검체에서의 검사 내 재현성은 거의 완벽한 일치도를 보이는 것으로 나타났다(ICC=0.995, $P<0.001$), Roche cobas® 6000과 ImmuneCheck™ IgG의 총 IgG 결과 또한 통계학적으로 매우 우수한 일치도를 보임을 확인하였다(ICC=0.992, $P<0.001$).

결론: ImmuneCheck™ IgG는 혈청 및 전혈에서 신뢰할 수 있고, 자동분석기를 통해 얻은 기존 총 IgG 결과와 높은 상관성을 보이는 검사 방법으로, 일차의료현장에서 간편하고 빠르게 총 IgG 결과를 확인하는 데에 적용할 수 있을 것으로 기대된다.

이해관계

박중원은 프로테옴텍의 주식을 보유하고 있음.

감사의 글

이 연구는 중소기업청의 기술혁신개발사업 (과제번호 S2271899)의 지원을 받아 이루어졌음.

REFERENCES

- Schroeder HW Jr and Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. *J Allergy Clin Immunol* 2010;125:S41-52.
- Aalberse R. The role of IgG antibodies in allergy and immunotherapy. *Allergy* 2011;66 Suppl 95:28-30.
- Williams JW, Tjota MY, Sperling AI. The contribution of allergen-specific IgG to the development of th2-mediated airway inflammation. *J Allergy (Cairo)* 2012;2012:236075.
- Meulenbroek LA, de Jong RJ, den Hartog Jager CF, Monsuur HN, Wouters D, Nauta AJ, et al. IgG antibodies in food allergy influence allergen-antibody complex formation and binding to B cells: a role for complement receptors. *J Immunol* 2013;191:3526-33.
- Carmi Y, Spitzer MH, Linde IL, Burt BM, Prestwood TR, Perlman N, et al. Allogeneic IgG combined with dendritic cell stimuli induce antitumor T-cell immunity. *Nature* 2015;521:99-104.
- Niu N, Zhang J, Huang T, Sun Y, Chen Z, Yi W, et al. IgG expression in human colorectal cancer and its relationship to cancer cell behaviors. *PLoS One* 2012;7:e47362.
- Jefferis R and Kumararatne DS. Selective IgG subclass deficiency: quantification and clinical relevance. *Clin Exp Immunol* 1990;81:357-67.
- Gonzalez-Quintela A, Alende R, Gude F, Campos J, Rey J, Meijide LM, et al. Serum levels of immunoglobulins (IgG, IgA, IgM) in a general adult population and their relationship with alcohol consumption, smoking and common metabolic abnormalities. *Clin Exp Immunol* 2008;151:42-50.
- Puissant-Lubrano B, Peres M, Apoil PA, Congy-Jolivet N, Roubinet F, Blancher A. Immunoglobulin IgA, IgD, IgG, IgM and IgG subclass reference values in adults. *Clin Chem Lab Med* 2015;53:e359-61.
- Wood RA and Lederman HM. Immunoglobulin deficiency and recurrent upper respiratory tract infections. *JAMA* 1987;257:486.
- Slatter MA and Gennery AR. Clinical immunology review series: an approach to the patient with recurrent infections in childhood. *Clin Exp Immunol* 2008;152:389-96.
- Raje N and Dinakar C. Overview of immunodeficiency disorders. *Immunol Allergy Clin North Am* 2015;35:599-623.
- Supak Smolic V, Bilic-Zulle L, Fistic E. Validation of methods performance for routine biochemistry analytes at Cobas 6000 analyzer series module c501. *Biochem Med (Zagreb)* 2011;21:182-90.
- Landis JR and Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977;33:159-74.
- Bonagura VR, Marchlewski R, Cox A, Rosenthal DW. Biologic IgG level in primary immunodeficiency disease: the IgG level that protects against recurrent infection. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:210-2.