

## 인면역 글로불린 제제를 투여받은 환자에서 C형 간염바이러스 항체 (anti-HCV) 검출의 의의

영남대학교 의과대학 소아과학교실

이명균 · 이영환 · 신손문 · 하정옥

### 서 론

소아의 패혈증, 가와사끼병(Kawasaki disease), 특발성 혈소판 감소성 자반증(idiopathic thrombocytopenic purpura : ITP), 그의 면역결핍증등의 예방 및 치료에 있어서 정주용 면역 글로불린(intravenous immunoglobulin : IVIG)의 투여가 효과가 있다고 보고되고 있다.<sup>1-10)</sup> 그러나 최근에 다양한 공법으로 제조된 IVIG는 투여 후 급성 C형 간염등의 바이러스 질환의 전이가 보고<sup>11-13)</sup> 되고 있으며 급성 C형 간염의 감염여부는 환자 혈청의 Anti-HCV 검출법이나 중합효소연쇄반응법(polymerase chain reaction : PCR)을 실시하여 진단을 내리고 있다. 이에 저자들은 영남대학교 의과대학 부속병원 소아과에 입원해서 IVIG 치료를 받은 환자에서 anti-HCV 검사와 바이러스 검출을 위해 중합효소연쇄반응법을 실시하였고 간기능 검사도 추적 조사하여 IVIG투여시 C형 간염 바이러스의 전이 여부와 항체 검사의 의의를 알아 보기 위해 본 연구를 실시하였다.

### 대상 및 방법

연구대상은 1992년 9월부터 1993년 7월까지 영남대학교 의과대학 부속병원 소아과에 입원하여 IVIG를 투여 받았던 36례를 대상으로 조사를 하

였는데, 신생아에서는 IVIG를 체중 kg당 400mg을 5일간 연속적으로 투여하였고, 가와사끼병 환자에서는 체중 kg당 2gm을 한번 투여하거나 kg당 1gm을 2일간 연속 투여하였다. anti-HCV는 IVIG 투여 1주일 후 검사를 하였고, 3개월 뒤에 재 검사를 하였다. 3개월 뒤 anti-HCV가 양성으로 나온 경우에는 중합효소연쇄반응법을 실시하여 실제로 바이러스가 존재하는지 확인하였고, 간기능을 검사하기 위하여 Aspartate aminotransferase(AST), Alanine aminotransferase(ALT)를 IVIG투여 직전과 투여 후 1주일, 1개월, 3개월 뒤에 실시하였다. 간기능 검사는 검사 수치가 정상 최고치의 두 배 이상인 것을 비정상적으로 간주하였고 anti-HCV 역가는 0.32이상을 양성으로 간주하였다.

### 성 적

환아들의 연령은 1일부터 7세 사이였으며, 전체 환자 36례중 가와사끼병을 가진 환아가 28례였고 미숙아로 태어나서 패혈증이 동반된 경우가 5례, 만성설사, 관절염, 식도 기관루(T-E fistula)가 있으면서 패혈증이 동반된 경우가 각각 1례였다(표 1). IVIG투여 1주일 후에는 전례에서 anti-HCV가 양성이었으나 3개월 후에는 8례(22%)에서만 양성하였고, 간기능 검사 수치는 IVIG투여 1주일 후의 검사에서는 9례(25%)에서 비정상적인 소견

을 보였는데, 가와사끼병 환자에서 7례였고 신생아 패혈증에서 2례였으며, 1개월 뒤에는 모두 정상치를 나타내었다(표 2).

IVIG치료 3개월 후 anti-HCV가 양성인 환자 8례에서 가와사끼병을 가진 환자가 6명, 신생아 패혈증을 가진 환자가 2명이었으며, 이중 IVIG치

료 1주 후 비정상적으로 높은 AST 및 ALT치를 보인 경우는 가와사끼병을 가진 환자가 2명, 신생아 패혈증을 가진 환자가 1명이었다. anti-HCV 역가가 3개월 후에는 1주때보다 낮아졌고, 이 8례는 PCR검사를 실시하였으나 바이러스가 실제로 검출된 경우는 한례도 없었다(표 3).

Table 1. Characteristics of IVIG treated patients

Diagnosis require IVIG tx.	Underlying disease	No. of cases(%)	Age(mean)	Sex		Combined drug
				M	F	
Kawasaki disease		28(77)	1-7yr(3.5)	18	10	Aspirin
Neonatal sepsis		8(22)				
	Prematurity	5(14)	1-10days(3.2)	3	2	Antibiotics
	T-E fistula	1(2)	15days	1		Antibiotics
	Septic arthritis	1(2)	27days	1		Antibiotics
	Chronic diarrhea	1(2)	15days	1		Antibiotics

tx. : treatment

Table 2. No. of patients with elevated AST/ALT & anti-HCV(+)cases after IVIG treatment(n=36)

Disease(No)	No. of elevated AST/ALP Pts			No. of HCA Ab(+)Pts	
	After 1 wk,	After 1 Mo,	After 3 Mo	After 1 wk,	After 3 Mo
Kawasaki disease	7	0	0	28	6
Neonatal sepsis	2	0	0	8	2
Total(%)	9(25)	0(0)	0(0)	36(100)	8(22)

Table 3. Changes of AST/ALT, HCV Ab titer and the result of PCR of the patients with persistent anti-HCV Ab(+) in 3 months after IVIG treatment

Case	Disease	AST/ALT(IU/L)			ant-HCV titer		PCR
		After 1wk,	After 1Mo,	After 3Mo	After 1wk,	After 3Mo,	
1	Kawasaki disease	25/40	23/48	30/25	> 2.0	1.613	-
2	〃	9/33	20/15	27/44	> 2.0	1.542	-
3	〃	105/150	58/60	66/23	> 2.0	1.354	-
4	〃	78/55	30/25	50/7	> 2.0	1.955	-
5	〃	126/248	17/44	49/30	> 2.0	1.655	-
6	〃	20/25	26/50	50/25	1.988	1.386	-
7	Neonatal sepsis	54/30	49/22	44/30	> 2.0	1.425	-
8	〃	198/255	55/20	40/39	> 2.0	1.508	-

## 고 찰

IV-immunoglobulin은 적어도 1000명의 사람에게서 얻은 신선한 혈장에서 냉에탄을 분획법(cold alcohol fractionation)에 의해 얻은 인면역 글로불린 G를 Polyethylene glycol로 처리하여 정맥주사용으로 제조된 회백색, 무취의 동결 진공 건조제<sup>3)</sup>이며 현재 국내에서 생산되고 있는 IVIG의 성분은 1병(1874mg) 중 주성분인 Polyethylene glycol처리 인면역 글로불린 G가 1000mg, 안정제인 인혈청 알부민이 200mg, 부형제인 포도당이 500mg, 염화나트륨이 174mg 포함되어 있다. 외국에서도 제조 공법이 조금씩 다른 Camimune-N, Gammapgard, Gammar-IV, Iveegam, Sandoglobulin, Venoglobulin-I등 여러 가지 상품명이나 있다.<sup>4)</sup> 현재 IVIG제제는 다양한 질환에 사용이 되고 있고 ITP에서는 혈소판수를 증가시켜 준다는 보고<sup>5)</sup>가 있으며 특히 가와사키병에서는 관상동맥이 확장되는 빈도를 낮추는 효과가 있는 것으로 알려져 있다.<sup>6)</sup> 그의 무감마글로불린혈증, Human immunodeficiency virus감염, 저출생아의 감염증등에는 IVIG가 면역조절작용에 영향을 주어 면역기능을 높여주고<sup>7-10)</sup> 중증근무력증(myasthenia gravis), Guillain-Barre증후군, 자가면역성 용혈성질환(autoimmune hemolytic disease)등<sup>3)</sup>에서는 면역복합체(immune complex)의 제거작용에 관여하는 것으로 알려져 있다.

1980년대 초반부터 면역글로불린의 정맥주사가 ITP 환자의 혈소판수를 효과적으로 증가시킨다고 보고되기 시작했는데, 이러한 소견이 중요한 이유는 IVIG투여가 단순히 수동적으로 항체를 높이는 효과 이외의 다른 효과도 나타낼 수 있다는 것을 증명한다. IVIG의 효과를 처음에는 단순히 주사된 면역글로불린이 단핵구-식세포계(monocyte-phagocyte system)세포의 표면에 있는 Fc 수용체를 일시적으로 봉쇄하기 때문일 것이라고 생각했으나, 그 후 발표된 연구결과들은 IVIG가 ITP의 질병 경과에 실제적인 영향을 주는 것으로

인정하고 있다.<sup>6)</sup> 그러나 아직까지 우리들이 알고 있는 것은 IVIG의 주입시 일어나는 초기의 여러 가지 변화들 뿐이며 이제까지 나타난 IVIG의 다양한 임상적 반응을 살펴볼 때, IVIG의 효과는 개체와 질병의 진행 상태 각각에 대한 IVIG의 작용이 미묘하게 어우러져 나타난 결과라고 생각하고 있다.<sup>7)</sup> 이제까지 알려진 IVIG의 작용 기전은 다섯가지로 요약할 수 있는데 다음과 같다. 첫째, 혈액중의 세균성 항원을 포함한 면역복합체(immune complex)의 제거가 촉진되는 작용, 둘째, 면역복합체 또는 항체가 표적항원(target antigen)을 흡착하는 작용이 경쟁적으로 또는 입체적(steric)으로 저지되는 작용, 셋째, 골수로부터의 혈소판 생성이 증가되는 작용, 넷째, Fc수용체를 통해 발휘되는 식세포의 식작용이 비특이적으로 억제되는 작용, 다섯째, T와 B세포의 수와 기능에 영향을 주어 염증반응을 억제하는 면역 조절작용(immune modulation)등이 있다.<sup>8)</sup> 이상의 다섯가지 중 대부분 연구의 초점이 되고 있는 것은 마지막 두가지이며 Fc수용체에 대한 monoclonal AB(3GS)를 주사한 뒤에도 IVIG의 작용과 유사하게 혈소판 증가가 관찰되는 것으로 보아 IVIG의 이러한 작용이 Fc수용체를 특이적으로 봉쇄함에 따라 나타난다는 것을 알 수 있고, 면역조절작용 중 가장 두드러진 것은 억제 T세포(suppressor T cell)수의 절대적 증가로서, 이로 인해 보조(helper)세포/억제세포의 비가 뒤바뀌며 B세포의 기능도 저하된다.<sup>9)</sup>

부작용은 10% 미만에서 일어나며 특히 면역 결핍증이 없는 환자에서는 1% 미만에서 일어난다고 Haque등<sup>10)</sup>은 보고하고 있는데 이러한 부작용으로는 혈압 강하에 의한 속, 호흡 곤란이 있고 그의 과민반응으로 인한 두통, 발열, 구토, 발진, 소양감, 설사, 안면 홍조 등과 때로는 AST, ALT의 상승이 나타나고 그의 바이러스 감염 등이 최근에 보고되고 있다. 본 연구에서는 3명이 가벼운 발열과 발진을 나타냈을 뿐 별다른 증상은 관찰되지 않았다. IVIG 제제를 사용하는데 있어서 가장 중요한 문제점은 안전성이며 특히 감염성이 없어야 한다는 것인데, 다른 모든 혈액제제들처럼 IVIG도

간염과 AIDS의 감염여부를 조사한 공여자혈액으로부터 감염을 줄인다고 알려진 냉에탄올 분획법에 의해 분리는 되지만 완벽하지는 못한 상태이다. IVIG 투여후에 HCV 감염은 1988년에 William등<sup>11)</sup>에 의해 밝혀졌으며 Scottish National Blood Trasfusion Service에서 만들어진 IVIG를 투여한 34명의 환자에서 4명의 HCV감염이 보고되었고, 그 원인으로서는 채취한 혈장내의 높은 virus load가 제작공정에서 virus를 불활성화시키는 능력을 초과해 있을 때 감염이 일어난다고 지적하고 있다. 한편 Ralph등<sup>12)</sup>은 PH 4.25에서 만들어진 IVIG를 투여받은 18명의 환자를 26개월동안 추적조사 하였는데, AST, ALT의 경한 상승만 보였을 뿐 다른 감염의 증거가 없었다고 보고하고 있다.

Trepo와 Kawada<sup>13)</sup>는 IVIG를 근육내 주사했을 때보다 혈관내 주사했을 때 NANB(non-A non-B) 간염의 감염력이 5-20배 높았다고 보고하고 있다. 최근까지 알려진 간염 바이러스는 A, B, C, D 및 E형의 5종이 있고 C형과 E형 간염은 비교적 최근에 알려지기 시작한 간염으로 과거 NANB 간염이라고 불리던 것으로 1988년경부터 바이러스의 존재가 명확히 규명되기 시작하였다. 수혈등 경피전파와 관계있다고 생각되던 NANB형 간염의 원인이 현재 C형 간염바이러스로 밝혀졌으며, 과거 경구적으로 전파된다고 생각했던 NANB형 간염의 원인이 E형 간염 바이러스로 밝혀졌다.<sup>14)</sup> HCV는 single stranded RNA 바이러스로서 약 310-3033개의 아미노산기로 이루어져 있으며 현재 여러가지 변이형이 존재하며 지역에 따라 다른 형태의 HCV들이 분포되어 있는 것으로 밝혀져 있다. 현재까지 널리 사용되고 있는 C형 간염 항체 검사법은 c 100-3 (recombinant HCV c 100-3 peptide)을 항원으로 이용하여 환자의 혈액내에서 상응하는 항체를 검사하는 방법으로 방사 면역분석법(RIA, radioimmunoassay)과 효소 면역 흡착법(ELISA, enzyme linked immunosorbent assay)이 있다. C형 간염 바이러스 진단에 사용되는 항원인 c 100-3은 C형 바이러스 유전자 구조 중 비구조 부위(nonstructural region)의 NS3-NS4 부위에 해당하며, 이에 대한 항체인 anti-HCV(anti c 100-3)가 혈액내에

있는 사람은 HCV에 감염되었음을 의미한다고 보고되는 경우도 있다.<sup>15-18)</sup> 본 연구에서 혈청 anti-HCV 검사는 비교적 민감도와 특이도가 높은 Abott사의 제이세대 HCV EIA Kit를 사용하여 anti-c100-3를 효소면역흡착법으로 검사하였는데, 이것은 인 혈장 또는 혈청을 검체희석액으로 희석한 후 유전자(E.Coli, Yeast) 재조합 HCV항원이 흡착된 폴리스티렌 비드와 함께 배양하고 만일 검체중에 항체가 존재한다면 검체중의 면역글로블린은 흡착된 비드에 부착되는 원리이다. Esteban 등<sup>19)</sup>에 의하면 무작위 공혈자의 0.2-1.2%, 수혈후 NANB 간염환자에서 85%, 만성 NANB 환자에서 62%, 정주용 약물남용 환자에서 70%, 혈우병 환자에서 64%, 혈액투석 환자의 20%에서 Anti-HCV를 검출했다고 보고하고 있다. PCR법에 의한 DNA, RNA의 분석은 유전병의 진단, 감염성 세균 및 바이러스의 검출뿐 아니라 암세포에 일어나는 유전자 점변이(point mutation)의 검출, RNA를 주형(template)으로 하는 complementary DNA(cDNA)의 cloning등 그 응용범위가 여러분야에 걸쳐 있으며 바이러스 감염증에 이용되고 있는 것<sup>21, 22)</sup>으로는 Human T-cell leukemia virus, Human immunodeficiency virus, Hepatitis B, C virus, Human cytomegalovirus, Enterovirus, Epstein-Barr virus, Human herpes virus type 6, Varicella-zoster virus 등이 있다. HCV 감염 환자에서 바이러스를 검출하는데는 역전사와 PCR을 이용한 HCV RNA의 증폭이 이용되고 있는데 본 연구에서 HCV RNA 검출에 있어서 Nested PCR(nPCR)법을 이용하였는데, 이것의 원리는 한번 PCR을 시행한 후 PCR산물을 주형(template)DNA로 하여 PCR을 다시 한번 시행하는 것이다. PCR의 특이도는 증폭하고자 하는 DNA 염기 배열 양말단에 결합하는 primer에 의하여 결정되는데, nPCR에서는 이 primer를 2회에 걸쳐 사용하므로 1회만 사용하는 일반적인 PCR보다는 월등한 특이도를 보인다.<sup>23, 24)</sup> 하지만 PCR법은 HCV RNA를 감염 1-2주내에 검출할 수 있어 window period에서도 HCV감염을 찾아낼 수 있다는 장점은 있으나, 검사 과정이 복잡하고 숙련된 기술을 요하며 경제적인 부담이

있으므로 아직 보편화 되어 널리 사용되지 못하고 있는 실정이다.

본 연구에서는 IVIG 투여 후 일시적으로 간기능 검사상 비정상적인 수치를 보인 예가 9례 있었으나 이들에 대한 추적 검사상 간기능 검사는 1개월 후부터 정상 수치를 보였고 3개월 후까지 anti-HCV가 양성이었던 3례에 대해서는 PCR검사법으로도 HCV가 검출되지 않았다. 따라서 이들이 HCV 감염에 의해서 간기능 검사의 이상을 초래했다고 보기는 어렵다. 또한 anti-HCV가 3개월 후까지 양성으로 나타난 예가 모두 8례 있었으나 이 중 5례에서는 경과중 간기능 검사상 정상 소견을 보였고 PCR 검사법상으로도 HCV가 검출되지 않았으므로, anti-HCV만으로 HCV 감염으로 단정할 수는 없다고 생각한다. 간기능 검사상 이상 소견을 보인 경우 중 6례에서는 3개월 후에 anti-HCV 음성을 나타내었으므로, IVIG 내의 보존제나 함께 투여된 aspirin, 항생제에 의한 일시적 간기능 검사상의 이상이라고 생각할 수 있다.

## 요 약

IVIG 제제 투여시 HCV 전파 여부와 anti-HCV 검사의 의의를 알아보기 위하여, IVIG를 투여 받았던 36례를 대상으로 조사한 결과 전례에서 IVIG 투여 후 1주일에 anti-HCV 양성을 보였으나 3개월 후까지 양성이었던 경우는 8례이었다. 이들에 대한 PCR검사를 실시한 결과 한 례에서도 바이러스가 검출되지는 않았다. 이것으로 보아 anti-HCV 양성 반응은 단순한 항체의 전이로 생각되며 HCV의 전파로 인한 감염을 의미하지는 않는 것으로 생각된다. 그러나 IVIG 투여 후 HCV 감염의 례가 보고되고 있고 본 연구에서는 많은 환자를 대상으로 여러시기에 제조된 IVIG 제품으로 장기간 조사해 보지 않았으므로 IVIG 제제의 제조 과정에서의 HCV 불활성화가 완전하지 못할 가능성을 배제할 수는 없다. 그리고 IVIG 제작을 위한 공혈자의 HCV screening은 철저하게 해야될 것으로 생각되며 앞으로 IVIG 제제 투여시 약제의 Lot No.

를 기록하여 문제점의 발생을 신중히 살펴볼 필요는 있다고 생각된다.

## 참고문헌

1. Rousell RH : Clinical safety of intravenous immune globulin and freedom from transmission of viral disease, *Lancet* : 322-326, 1986.
2. Engelhard D, Wamer JL, Kapoor N : Effect of intravenous immune globulin on natural Killer cell activity. *J Pediat* 108 : 77-81, 1987.
3. Fateh-Moghdam A, Wich A, Besinger U : High dose intravenous gammaglobulin for myasthenia gravis. *Lancet* i : 848-849, 1984.
4. Gutteridge CN, Veys P, Newland AC : Safety of intravenous immunoglobulin for the treatment of autoimmune thrombocytopenia. *Acta Haematol* 79 : 88-90, 1989.
5. Imbach P, Barandun S, Morell A, Rossi E, Vest M : High dose intravenous gammaglobulin for idiopathic thrombocytopenic purpura in childhood. *Amer J Hematol* 28 : 191-194, 1989.
6. Leung DYM, Burns JC, Newburger JW : Reversal of lymphocyte activation in vivo in the Kawasaki syndrome by intravenous gammaglobulin. *J Clin Invest* 79 : 468-472, 1987.
7. Lever AML, Webster ADB, Brown D : Non-A, non-B hepatitis occurring in agammaglobulinemic patients after intravenous gammaglobulin. *Lancet* ii : 1062-1064, 1988.
8. Macey MG, Newland AC : Modulation of T and B cell subpopulations during high dose intravenous immunoglobulin therapy. *Plasma therapy and Trasfusion Technology* 9 : 139-

- 147, 1990.
9. Sandiland GP, Atrah HI, Templeton G, Cocher JE : In vivo and in vitro blocking of human lymphocyte Fc receptors by intravenous immunoglobulin. *J Clin Lab Immunol* 23 : 109-115, 1989.
  10. Haque RA, Yap PL, Mok J, Brettle RP : Treatment of human immunodeficiency virus antibody positive children with intravenous immunoglobulin. *Vox Sang* 55 : 65-74, 1985.
  11. Wiliam EA, Ochs HD, Fischer SH, Lee ML : Non-A non-B hepatitis after intravenous gammaglobulin. *Vox Sang* 45 : 15-18, 1988.
  12. Ralph H, Good L, Schiff RI : Non-A non-B hepatitis and the safety of intravenous immune globulin, PH 4.25. *Lancet* ii : 976-977, 1986.
  13. Trepo C, Kawada K : Evidence for immunosuppression by high dose gammaglobulin. *Experiment Haematol* 15 : 133-136, 1984.
  14. Dienstag JL : Non-A non-B hepatitis, Recognition, epidemiology and clinical feature. *Gastroenterology* 85 : 439-462, 1983.
  15. Bradley DW, Maynard JE : Etiology and natural history of post transfusion non-A, non-B hepatitis. *Semin Liver Dis* 6 : 56-66, 1986.
  16. Alter HJ, Purcell RH, Shin JW, Choo QL, Kuo G : Detection of antibodies to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 321 : 1494-1500, 1989.
  17. Esteban JI, Gonzale A, Hernandez JM, Viladomin L, Vidal X, Guardia J : Evaluatin of antibodies to hepatitis C virus in a study of transfusion associated hepatitis. *N Engl J Med* 323 : 1107-1112, 1990.
  18. Takada N, Takase S, Enomoto N : Clinical background of the patients having different types hepatitis C virus genomes. *J hepatol* 14 : 35-40, 1992.
  19. Esteban JI, Viradomiu L, Gonzalez : Hepatitis C virus antibodies among risk group in Spain. *Lancet* : 294-297, 1989.
  20. Debrovic A, Trainor KJ, Morley AA, : Detection of the molecular abnormality in chronic myeloid leukemia by use of the polymerase chain reaction. *Blood* 72 : 2063-2065, 1988.
  21. Manos MM, Ting Y, Wright DK, Lewis AJ, Broker TR, Wolinsky : The use of polymerase chain reaction amplification for the detection of genital human papilloma virus. *Cancer cells* 7 : 209-214, 1989.
  22. Hance AJ, Grandhamp B, Lecossier D, Bo-cart D : Detection and identification of mycobacteria by amplification of mycobacterial DNA. *Mol Microbiol* 3 : 843-849, 1989.
  23. Newton CR, Graham A, Powell S, Markham AF : Amplification and analysis of DNA sequences in single human sperm and diploid cells. *J Biol Chem* 264 : 6427-6437, 1989.

## - Abstract -

Meaning of Anti Hepatitis C Virus Antibody  
Detection in Patients Treated with Intravenous  
Immunoglobulin

Myong Gyun Lee, Young Hwan Lee, Son Moon Shin, Jeong Ok Hah

*Department of Pediatrics  
College of Medicine, Yeungnam University,  
Taegu, Korea*

To evaluate the meaning of anti-HCV detection in patients treated with IVIG, serum levels of aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransterase(ALT), HCV Ab titer were measured after treatment with IVIG in 36 patients diagnosed of Kawasaki disease or neonatal sepsis. Also polymerase chain reaction (PCR) for the detection of HCV was done in 8 patients with persistent HCV Ab positivity at 3 months after IVIG treatment.

The results were as follows

- 1) HCV Ab was positive in all 36 patients at 1 week after IVIG treatment, but in only 8 cases it was positive at 3 months after IVIG treatment.
- 2) AST, ALT were elevated in 9 cases at 1 week after IVIG treatment, but they were normalized in all cases at 3 months after IVIG treatment.
- 3) PCR for the detection of HCV was done in 8 patients with persistent HCV Ab positivity at 3 months after IVIG treatment, but HCV was not isolated in any cases.

These results suggested that detection of anti-HCV was merely transitory phenomenon of HCV Ab transmission, did not show any evidence of HCV infection due to HCV transmission.

Key Words : Intravenous immunoglobulin, Anti hepatitis C antibody