

C-형 간장염의 진단 (Chiron 항체의 검사법과 문제점)

인제대학교 의과대학 부산백병원 내과학교실

최 하 진

Measurement of AntiHCV Antibodies and Their Clinical Significances

Ha Jin Choi, M.D.

*Department of Internal Medicine, Pusan Paik Hospital Inje University College of Medicine,
Pusan, Korea*

비A비B형 간염(NANBH)은 수혈후간염의 약 90%을 점할 뿐아니라 간경변증과 간암으로 이행하는 율^{3,4,9)}이 매우 높다고 보고되어 있다. 그러나 비A비B형간염의 확실한 원인바이러스가 발견되지 못하여 정확한 진단법이 없었으므로, 실지 임상에서 매우 아쉬웠었다^{10,12)}.

1964년 Australia 항원이 발견되면서 부터 B형 간염바이러스의 항원항체계인 HBs와 antiHBs, HBc와 antiHBc 및 HBe와 antiHBe등이 속속 개발되어 임상에 널리 응용되고 있으며, 1973년에는 A형간염 바이러스와 그의 항체인 antiHAV, 1977년에는 D형 간염바이러스와 그의 항체인 antiHDV가 발견되어 간염치료에 비약적인 발전을 가져 왔다.

그러나 비A비B형 간염바이러스의 경우는 우리들의 기대와는 크게 어긋난 결과를 가져 왔다. 비A비B형 간염바이러스의 실체를 규명하는데 무한한 노력과 시간이 소비되었음에도 불구하고 연구과정은 지지부진하였고, 결과도 매우 실망적이 었었다. 전 세계의 모든 이 분야의 의학도들은 종래의 A, B 및 D형 바이러스들의 발견시에 사용하던 방법에 의거하여 연구하였었다. 병리학적으로는 전자현미경을

이용하여 그 형태를 추구하고 시도하였고, 아니면 면역학적으로 항원항체반응을 통한 검출방법을 개발하려고 지대한 노력을 경주하였으나, 불행히도 모두 실패로 돌아가고 말았다.

그러던 가운데 드디어 1988년 미구 Chiron사의 Choo, Houghton등^{1,2,4)}이 기발한 착상으로 유전자 공학적수법을 이용하여 비A비B형 바이러스의 유전자절편의 일부분을 클론하여 그 유전자절편이 코드하는 단백질이 만성비A비B형 간염환자의 혈청과 특이적으로 반응한다는 사실을 확실하게 발표하였다.

이 과정에서 사용된 cDNA 클론을 이용하여 비A비B바이러스의 전체의 유전자 구조를 완전히 규명하게 되었다. 길이는 10KB인 RNA 바이러스로서 양성쇄설로 구성되어 있음이 판명되어 C형 간염바이러스라고 명명하였다²⁾. C형 간염바이러스의 크로닝의 과정을 간단히 기술하면 두가지 방법으로 분류할 수 있겠다.

Chiron 사의 연구진이 사용한 bacteriophage lamda gt 11을 이용하는 면역스크리닝법과 또 다른 방법은 이미 알려져 있는 염기배열로서 프라이머(Primer)를 작성한 다음 Reverse Transcription

최하진 : C-형 간장염의 진단 (Chiron 항체의 검사법과 문제점)

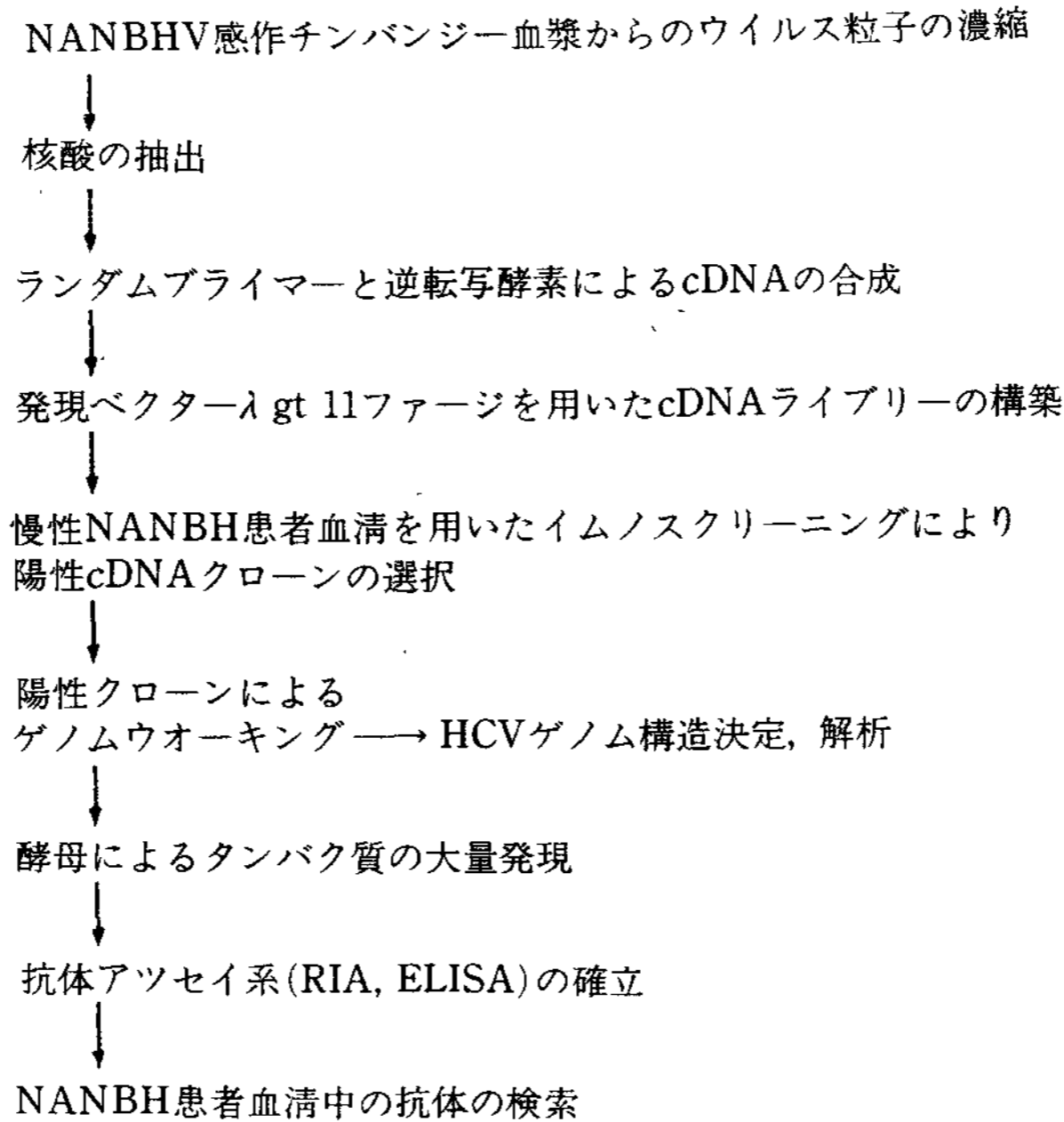


Fig. 1. Chiron 社による遺伝子工学を用いた, HCV のクローニング(林仲信, 志方俊夫論文에서).

Polymerase Chain Reaction(RT-PCR)법을 이용하여 극미량의 유전자를 증폭하는 방법이 있다.

Chiron사 연구진들은 HCV에 감염된 침팬지의 혈청으로부터 핵산을 추출한 다음, bacteriophage lamda gt 11에 주입하여 cDNA library를 구성하였다. 그 다음 환자의 혈청으로 cDNA library를 면역스크리닝하여 HCV 바이러스에 양성클론을 선택하였다. 이렇게 하여 얻은 클론을 genom working을 하여 지놈의 구조를 결정한 다음, 효모내에 주입하므로써 대량의 recombinant 항원인 C100Ag를 작성할 수 있었다. 이 C100Ag이 HCV 환자 혈청과 특이적으로 반응을 하였다. C100-3은 Chiron 사의 면역 스크리닝법에 의하여, 처음 발견된 C5-5-1 유전자절편을 포함한 363 아미노산을 코드하는 유전자(C100 영역)와 사람의 superoxide dismutase (SOD) 유전자를 효모내에서 융합시켜, 융합단백(C100-3)을 생산하였다. 본 융합단백(C100-3)에 대한 C100-3 항체를 검출하는 Elisa 법을 개발하여 임상에 널리 이용되고 있다(Fig. 1, 2).

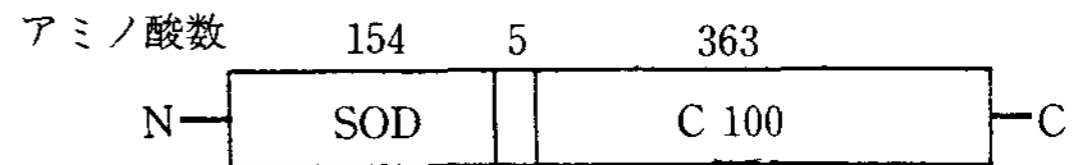


Fig. 2. 酵母によるSOD 融合 C100-3 発現. 단백질(林仲信, 志方俊夫論文에서).

그러나 본 C100-3 항체검출 법은 실제 임상에서 HCV 감염을 진단함에 있어서 다음과 같은 문제점들이 나타나고 있다.

- 1) C100-3 항체의 생산에는 환자가 감염된 다음 임상증상이 나타난 이후, 수개월이란 시간이 필요하다.
- 2) 알콜성간염, 자가면역성간염, 전격성간염 등에서 위양성반응이 나타날 수도 있다.
- 3) 대량의 공혈혈액에서 HCV를 스크리닝할 경우 HCV 보균자를 100% 검출할 수 없다.
- 4) 번 항체양의 증가나 감소는 반드시 감염의 임상경과나, 또는 예후와는 비례하지 않는다⁶⁾.

이러한 실제 임상에서 봉착되는 문제점들을 보완하려고 많은 연구들이 진행되고 있다. 그리하여 현

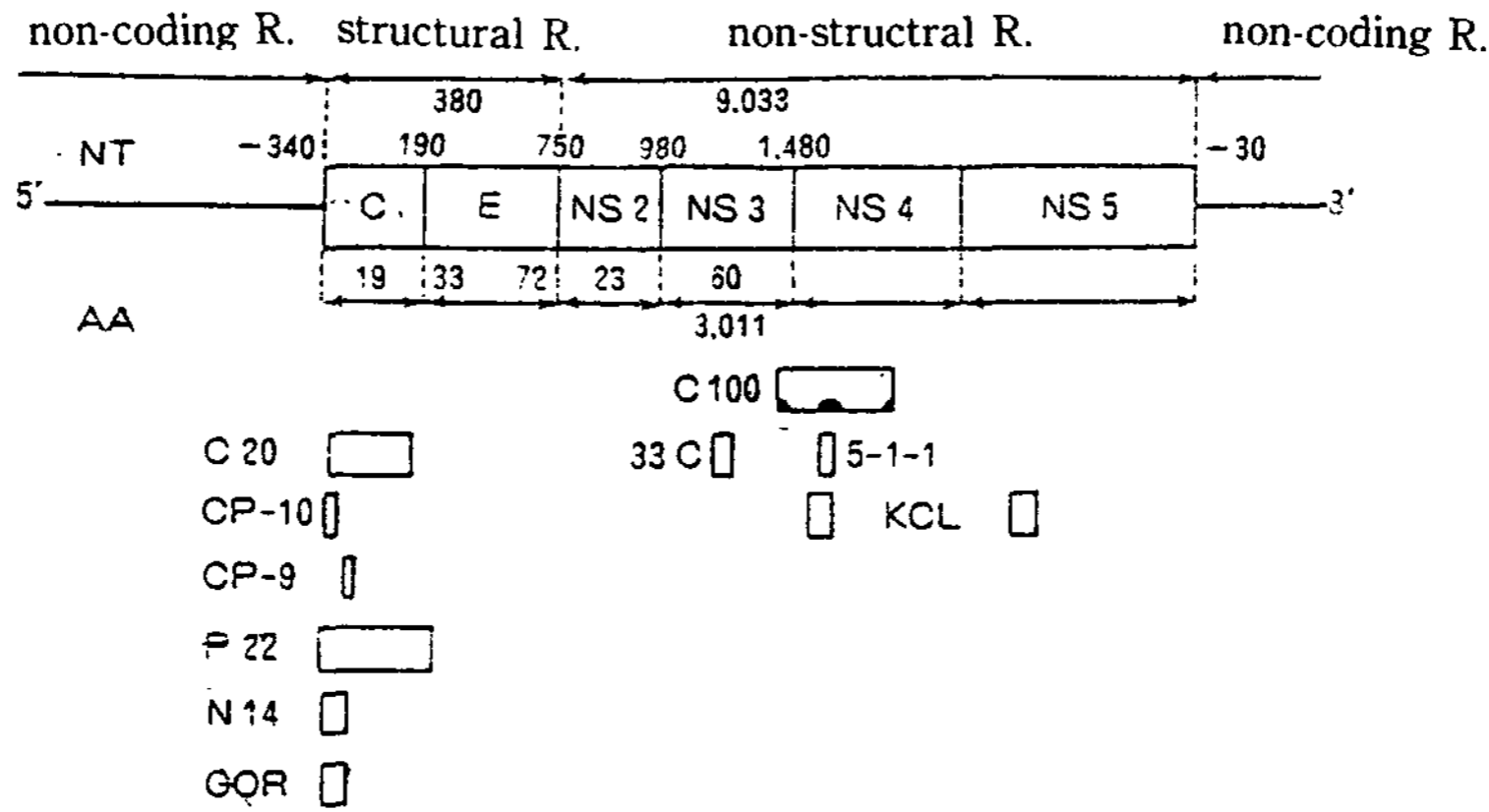


Fig. 3. 現在, 開發がすすめられている各種, HCV 抗体測定系に利用されているエピトープの 遺伝子上の局在(飲野四郎論文에서).

재까지 보고된⁷⁾ HCV의 여러 Epitopes을 표시하면 다음과 같다(Fig. 3).

Fig. 3에 표시된 여러 Epitopes를 이용한 항체측정계들을 자세히 살펴보면 후자는 비록 특이도는 높으나, 항체검출율이 떨어지던지, 혹은 위양성율이 높아서 특이도가 낮아지는 장단점이 있어 만족스러운 결과를 얻지 못하고 있는 형편이다. 그러나 일반적으로 HCV의 Cor 단백질부에 위치하고 있는 유전자부위에 대한 항체측정계의 특성으로는 alanine aminotransferase치가 최고치를 보여줄 시기에 대개 양성으로 나타난다. 그러므로 C100-3 항체측정계에 비하여 조기진단이 가능하고, C100-3 항체계보다 민감도가 높아서 보다 많은 환자들을 검출해낼 수 있다고 한다. 즉 C100-3 항체계에 양성인 경우는 물론이고, 음성인 환자들도 본 Cor 단백질의 항체계에는 양성으로 나타나는 예들이 있다고 한다. 또한 Cor 단백질에 대한 항체가 HCV의 양과 임상증상과의 상관관계⁷⁾가 있다고 한다.

그리고 흥미있는 사실은 Fig. 3에 표시된 gp33은 HCV의 외피(Envelop)을 코드하는 영역으로 추측되어 백신(Vaccine)의 개발에 주용할 것같으므로 앞으로 여기에 많은 기대가 모아지고 있다. 그 외에 gp70과 NS₃의 전반부에 대단히 중요한 Epitope가 존재하고 있다고 한다. 이와같이 여러가지 제각기 특징을 가진 Epitope들이 알려지므로 말미암아 몇

가지 Epitope들을 조합하여 보다 발병초기에 보다 민감도와 특이도가 높은 항원항체계를 개발하려는 노력이 계속^{7,8,9,10)}되고 있다.

Chiron 사이에서는 처음 사용하던 C100-3 대신에 Core 영역과 NS₃와 NS₄ 영역의 Epitope (C20 + 33c + 5-1-1)를 이용하여, 제이세대 HCV 항체검출법을 개발하였다.

본제이세대검사법은 현재까지 소개된 다른 항체측정법 보다 양성율이 높으므로 임상에서 HCV 감염진단이나, 공혈자 들중에서 보균자들을 색출하는데는 적합하다고 하겠으나, 일반주민들중에서 보균자를 색출함에 있어서는 위양성율이 높다는 사실을 염두에 두어야 할 것이다.

또 HCV 간염환자들의 임상경과와의 관련성을 연구하는데는 각개의 Epitope에 대한 항체의 양을 개별적으로 측정할 필요가 있을 것이다.

그리고 HCV RNA 측정법은^{7,11)} 매우 예민하여 유용하나, 여기에도 아직 문제점들이 있다. 몇개의 RNA까지도 검출해낼 수 있는 극히 예민한 검사법이므로 항상 위양성인 결과를 접할 수 있다. 설지 본 검사법을 시행함에 있어서 봉착하는 문제점들로서 RNA를 역전사효소를 작용시켜 c-DNA를 합성하는 단계에 있어서 반응조건이나, 또는 작성된 c-DNA를 프라이머로 이용하여 증폭할 때에 프라이머의 선택등 몇가지 까다로운 조건들이 있다. 그러

나 앞으로 PCR 법에 필요한 제반기구들이 더욱 개량되어, 또 조작법이 보다 간소화되면 비교적 용이하게 널리 임상에서 이용될 수 있을 검사법이 될 것으로 사료되는 바이다.

REFERENCES

- 1) Choo Q-L, et al: Isolation of a c-DNA Clone derived from a blood-borne Non-A Non-B viral hepatitis genome. *Science* **244**:359, 1989
- 2) Kuo G, Choo QL, Alter HG, et al: An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human Non-A, Non-B hepatitis. *Science* **244**:362, 1989
- 3) Alter HF, Purcell RH, Holland PV, Feinstone SH, Morow AG, Moritsugu Y: Clinical and serological analysis of transfusion-associated hepatitis. *Lancet* **ii**:838, 1975
- 4) Aach RD, Kalm RA: Posttransfusion hepatitis. Current Perspectives. *Ann Intern Med* **92**:539, 1980
- 5) Michael Houghton, Amy Weiner, Janmg Han, George Kuo and Qui-Lim Choo: Molecular biology of the hepatitis C viruses: Implications for Diagnosis, Development and Control of Viral Diseases Vol **14**, No. 2, 1991
- 6) 林仲信 志方俊夫: Chiron 抗体の検出法とその問題點. *内科* **67**卷 5號(1991-5) 67:825
- 7) 飲野四郎: C型慢性感染の診断と問題點. *内科* **67**卷 5號(1991-5) 67:873
- 8) 下遠野邦忠, 土方誠加藤宣之: C型 肝炎ウイルス研究の最近の進歩蛋白質 核酸 酸素 Vol **36** No. 10(1991)
- 9) 伊東進, 日比野眞吾 林廣茂 本田浩仁 清水一郎. HCV 抗体測定の問題點と將來
- 10) 박영민, 김선무 외: 한국인의 각종 질환에서 antiHCV의 검출양상: 대한내과학회지 제41권 제2호
- 11) 이호석, 임경옥: 중합효소연쇄반응법을 이용한 간염바이러스 검출: 감염 제23권 제4호 Vol **23**, No. 4, 229-233
- 12) 유재영: C형간염바이러스에 대한 최신지견: 人間科學 Vol. **13** No. 11, November 1989