

## 15세 이하의 어린이에서 중합효소 연쇄반응으로 검출된 Epstein-Barr 바이러스 감염의 임상적 특성

원광대학교 의과대학 소아과학교실, 진단검사의학교실\*

나종인 · 김옥란 · 성도경 · 유승택 · 이창우 · 최두영 · 오연균 · 조지현\* · 김종덕

= Abstract =

### Clinical characteristics of Epstein-Barr virus infection detected by polymerase chain reaction in children less than 15 years old

Jong-In Na, M.D., Ok Lan Kim, M.D., Do-kyoung Seoung, M.D., Seong-Taek Yoo, M.D., Chang Woo Lee, M.D., Doo-Young Choi, M.D., Yeon-Kyun Oh, M.D., Ji-Hyun Cho, M.D.\* and Jong-Duck Kim, M.D.

Department of Pediatrics, Clinical Laboratory Medicine\*, College of Medicine, Wonkwang University, Iksan, Korea

**Purpose :** Previously, Epstein-Barr virus (EBV) infection was diagnosed by serological examination; currently, many EBV antigen detection methods have been developed and applied clinically for diagnosing EBV infection. To delineate the clinical characteristics of EBV infection, clinical and laboratory findings were evaluated for patients who tested positive in EBV polymerase chain reaction (PCR).

**Methods :** EBV PCR was conducted in 352 patients admitted to the pediatric ward from January 2004 to December 2006, with more than 2 clinical signs such as fever ( $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$ ), exudative throat infection, lymphadenopathy, hepatitis of unknown etiology, and splenomegaly. The EBV viral gene was detected by PCR in 115 patients (32%), and the clinical characteristics of these patients were evaluated. Laboratory findings such as leukocytosis, thrombocytopenia, atypical lymphocyte, and alteration in aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) levels in peripheral blood were examined. The EBV-specific immunoglobulin M antibody (EBV-IgM Ab) was also tested.

**Results :** Most of the children were younger than 8 years (89%), and the male to female ratio was 1.3:1. Exudative throat infection and fever ( $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$ ) were observed in all patients. Cervical lymph node enlargement was seen in 36 patients (31%); leukocytosis ( $\text{WBC} \geq 10,000/\text{mm}^3$ ), in 54 patients (47%); and atypical lymphocyte ( $\geq 20\%$ ), in 28 patients (24%). EBV-IgM Ab was positive in 33 patients (29%). The younger patients had higher ALT levels and higher incidence of positive EBV-IgM Ab than the older patients.

**Conclusion :** The cumulative number of patients diagnosed to have EBV infection by PCR increased markedly for those under 8 years. ALT was higher and EBV-IgM Ab was detected more in younger patients with EBV infection. (**Korean J Pediatr 2008;51:1191-1197**)

**Key Words :** Epstein-Barr virus infection, Polymerase chain reaction

### 서 론

Epstein 등<sup>1)</sup>이 1964년 Burkitt 림프종 환자의 조직배양에서 처음으로 발견한 EBV는 DNA herpes 바이러스 중  $\gamma$ -herpes

바이러스에 속하며 Burkitt 림프종과 같은 몇 가지 종양 발생과 밀접한 관련성이 있는 것으로 밝혀졌다<sup>2)</sup>. 그러나 EBV는 다양한 급성 감염으로 열성 질환을 일으키며 어린 나이에서는 증상이 없거나 경미하고, 초 감염 연령과 임상증상은 지역 사회의 경제 환경에 따라 다르게 나타난다<sup>3)</sup>. 유럽에서는 10세 이후에 감염이 상대적으로 많아 전형적인 감염 단핵구증의 임상 양상을 보이는 경우가 많으나 우리나라에서는 5세까지 이미 대부분의 소아가 항체를 보유하여 초 감염 이후에 다양한 감염의 경과를 취한다<sup>4)</sup>.

일반적으로 감염된 바이러스를 직접 검출하는 바이러스 배양법은 바이러스 감염을 진단하기 위한 가장 정확한 방법이지만 배양조건이 까다롭고 결과를 확인하는데 다소 시간을 요하는 단점

Received : 22 February 2008, Revised : 9 June 2008,

Accepted : 2 September 2008

Address for correspondence : Jong Duck Kim, MD.

Department of Pediatrics, Wonkwang University College of Medicine,

344 Shonyong-dong, Iksan-si, Jeonbuk 570-711, Korea

Tel : +82.63-850-1100, Fax : +82.63-853-3670

Email : kjd20104@wonkwang.ac.kr

This paper was supported by Wonkwang University in 2006

이 있다<sup>5)</sup>. EBV 감염을 확인하기 위해서 EBV 에 대한 항체를 측정하는 혈청 검사를 하거나 직접 EBV 항원을 측정한다. 혈청검사 중 가장 많이 이용하는 EBV-IgM A & 검사법은 EBV 핵항원 (Epstein-Barr Virus nuclear antigen, EBNA), 초기항원 (early antigen, EA) 및 바이러스 캡시드 항원 (virus capsid antigen, VCA)을 이용하여 이에 대한 항체를 면역형광법 (immunofluorescent method)이나 효소면역법 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)으로 측정하며 이를 이용한 혈청학적 검사법은 자동화가 가능하고 민감도 및 정밀도가 우수하여 EBV 감염의 진단에 가장 많이 이용되고 있으며 진단 효율을 높이기 위하여 유전자 재조합법으로 합성한 항원을 사용하기도 한다<sup>6)</sup>. 또한, EBV의 항원성을 갖는 모든 바이러스 단백질 VCA, EA, EBNA를 모두 포함하는 복합 항원을 만들어 ELISA 법으로 EBV IgM 항체를 측정하는 검사도 이용된다<sup>7)</sup>.

그러나, 이러한 검사는 장기이식이나 자가면역질환 등으로 면역 억제제를 투여 받고 있는 환자, 선천성 및 후천성 면역 결핍증 환자, 혹은 면역글로불린을 투여 받은 환자에서는 검사 결과를 해석하기 어렵다는 단점이 있고, 정상인에서 대부분 EBV 항체가 양성이며 장기간 지속된다는 점에서 감염 단핵구증을 급성기에 진단할 때 EBV 특이항체 검사의 유용성이 제한적이다<sup>8)</sup>.

혈액에서 EBV DNA의 특정 염기서열을 PCR법으로 증폭하여 유전자를 찾아 EBV의 감염을 확인하는 중합효소 연쇄반응법이 개발된 이래 EBV 급성감염을 진단하기 위한 개선된 PCR 방법이 고안되었으며<sup>9-12)</sup> 국내 연구에서도 실시간 중합효소연쇄반응 이용하여 EBV DNA를 정량적으로 검출하여 진단에 이용한 연구결과가 보고되고 있다<sup>13)</sup>.

근래에 우리나라의 사회 경제적 발전으로 인하여 EBV 초 감염 연령이 점차 늦어지는 추세이므로 소아 연령에서는 전형적인 증상과 소견이 나타나지 않는 경우가 많아 EBV 감염의 진단이 쉽지 않은데, 임상 증상과 소견에 관련지어 EBV 감염을 고려해야 하는 어린이의 말초 혈에서 PCR을 이용하여 EBV 유전자를 검출하고, ELISA를 이용한 혈청검사로 EBV-IgM A & 측정하여 EBV 감염에 대한 임상적인 특성을 알아보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

2004년 1월부터 2006년 12월까지 원광대학병원 소아과 병동에 입원한 어린이 가운데 발열( $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$ ), 삼출성 인두 발적, 림프절 비대, 원인이 밝혀지지 않은 간염, 간비대, 비장 비대의 소견 가운데 2가지 이상을 볼 수 있었던 15세 이하 어린이 352명의 말초 혈에서 EBV 유전자를 검출하기 위한 PCR을 시행하였다. 352명의 대상 어린이 중 158예(45%)에서 PCR 양성이었으며 인두 삼출액이나 혈액배양 검사에서 세균이 배양되었거나 급성기 혈청검사서 다른 바이러스의 IgM 항체가 양성되었던 예를 제

외한 115예(33%)를 의무기록을 통해 후향적으로 분석하였다. 주요 임상 및 검사소견은 EBV PCR 검사에서 양성이며 EBV-IgM A & 검사는 음성 즉, EBV PCR (+)/IgM A & (-)인 82예의 어린이군(A 군)과 EBV PCR 검사와 EBV IgM A & 모두 양성 즉, EBV PCR (+)/IgM A & (+)인 33예의 어린이군(B 군)으로 구분하여 비교하였다. 또한, 일부 검사소견은 대상 어린이가 유아원 등의 집단 생활을 하기 전인 3세 이하, 대부분 항체를 보유하게 되는 3-5세, 초등학교 저학년인 6-9세, 이후 9-15세의 4연령군으로 나누어 각군간의 차이의 유효성을 통계적으로 검정하였다.

### 2. EBV 중합효소 연쇄반응

EBV PCR을 시행하기 위하여 전혈 200 mL를 High Pure Viral Nucleic Acid kit (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)를 이용하여 정제한 최종 50 mL에서 핵산을 추출하였으며, EBV의 internal repeat BamHI W fragment 일부를 Chan 등<sup>14)</sup>이 보고한 nested PCR 방법으로 증폭하였다. 이 과정을 간략하게 기술하면, 1차 PCR은 추출한 DNA 2 mL를 PCR 혼합물(PCR mix 999, Genotech, Daejeon, Korea)에 넣어 총 20  $\mu\text{L}$ 가 되게 하고  $94^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 반응시킨 다음  $94^{\circ}\text{C}$ - $58^{\circ}\text{C}$ - $72^{\circ}\text{C}$ 에서 각각 1분간씩 20회 반복하고 마지막에  $72^{\circ}\text{C}$ 로 10분간 반응시켰다. 1차 PCR에서 sense 및 antisense primer로 각각 5'-GGC AGA GGT AAA GGG ACG TT-3' 및 5'-GGG AAA GGT CAG GTT ACG TA-3'를 사용하였고, 2차 PCR은 1차 증폭산물 2  $\mu\text{L}$ 에 sense 및 antisense primer로 각각 5'-GTG TGC TAA GGC CAA CAC TC-3'와 5'-CTG AAA GGG AAA CAC GCG TT-3'를 추가하고 동일한 조건에서 30회 반복하여 최종  $72^{\circ}\text{C}$ 에서 5분간 반응시켰다. 각각의 검사에서 생리식염수액과 표준 바이러스 용액[B95-8 세포주(ATCC CRL 1612)로부터 추출한 DNA]으로 PCR을 시행하여 음성과 양성대조로 하였다.

### 3. 혈액검사 소견 및 혈청학적 검사

혈액검사는 입원 시 채취한 말초 혈에서 백혈구와 혈소판 수, AST, ALT, 비전형적 림프구를 검사하였으며, EBV-IgM A & 는 ELISA (Enzygnost<sup>□</sup> Anti-EBV IgM antibody, Dade Behring Inc. Newark, DE, USA)을 이용하여 측정하였다. 이 검사방법에서 이용된 항원은 EBV 진단에 필요한 모든 바이러스 단백을 포함하며, 검사에 이용하는 microtitration plate에 비활성화 된 EBV VCA, EBNA, EA 특이 항원이 coating 되어 EBV-IgM A &를 중합적으로 측정하며 이 검사에서 양성인 경우 EBV 일차 감염을 의미한다.

검사방법은 제조회사가 제공하는 자동화 설비(ELISA Processor 999, Dade-Behring)을 이용하여 제조회사의 지침서에 따라 검사하였다. 환자에서 채취한 혈청 시료에서 EBV-IgM A & 분석은 최종 optical density가 0.2 이상이면 양성으로 판정하였다.

#### 4. 통계분석

비교 연령군 간의 차이를 알아보기 위하여 검사결과를 연속적인 변량은 *Kruskal-Wallis* 방법으로 검증하였으며, 비교 변량은  $\chi^2$  검정을 시행하였다. 통계적인 유의 수준은  $p < 0.05$ 로 정의하였다.

### 결 과

#### 1. EBV PCR

입원 초기에 대상 환자의 말초 혈에서 *EBV DNA*를 분리하여 *PCR*을 실시하였고, 이때 음성대조로 증류수를 사용하여 모든 과정에서 환자 검체와 동일하게 처리하였으며, 양성대조로는 *B95-8* 세포주(*ATCC* *RL* 1612)로부터 추출한 *DNA*를 사용하였고, 최종 증폭 산물을 1.5% agarose gel에서 100 volt의 전압을 걸어 30분간 전기영동 한 다음 *ethidium bromide*로 염색하여 192 base pair 밴드를 확인하였다. 환자로부터 채취한 검체는 6명을 단위로 음성 및 양성 대조와 함께 비교하였으며, 양성이었던 115명 전예에서 192 base pair에 선명한 band를 확인할 수 있었으나 모든 예에서 혈액 내에 존재하는 *EBV*에 대한 정량적인 측정치는 시행하지 않았다(Fig. 1).

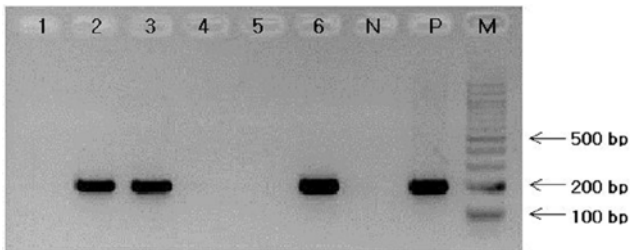


Fig. 1. Gel electrophoresis of PCR products for EBV (lane 1-6, patients' blood. Abbreviations: N, negative control; P, positive control; M, base pair size marker).

Table 1. Age and Sex Distribution of EBV Infection

Age and Sex	EBV PCR (+)/ IgM Ab (-) (n=82) (%)	EBV PCR (+)/ IgM Ab (+) (n=33) (%)	Total (n=115) (%)
Age (years)			
< 1	2 (2)	1 (3)	3 (3)
1-3	29 (36)	11 (33)	40 (35)
4-6	35 (43)	11 (33)	46 (40)
7-9	9 (11)	6 (18)	15 (13)
10-12	5 (6)	2 (6)	7 (6)
13-15	2 (2)	2 (6)	4 (3)
Sex			
Male	48 (59)	18 (55)	66 (57)
Female	34 (41)	15 (45)	49 (43)

#### 2. EBV 유전자 검출

2004년 1월부터 2006년 12월까지의 *PCR* 검사에서 양성이었던 총 115예 가운데 첫해부터 매년 각각 64예(56%), 33예(29%), 18예(16%)의 *EBV* 유전자가 검출되었다. 대상환자의 연령은 생후 4개월에서 15세 사이에 분포하였으며, 남아가 66명 여아가 49명으로 남녀 비는 1.3:1이었다. 연령별 분포는 4-6세 환자가 46예(40%)로 가장 많았고, 1-3세 환자 40예(35%)의 순이었으며 1세 미만의 어린이는 3예(3%)에서 관찰되었다(Table 1). 출생 후 5세까지 환자는 3세에서 최저 13예부터 5세에서 최대 22예 사이에 관찰되었으며 6세 이후에는 8예 이하로 급격한 감소를 보였다. 각 연령당 *EBV PCR* 양성 예의 누적 dot수는 8세에 이를 때까지 급격하게 증가하여 89%에 이르렀다(Fig. 2).

#### 3. 임상 소견

37.5°C 이상의 발열과 삼출성 인두 발적이 전예에서 있었고, 경부 림프절 비대가 39예(34%), 복통을 포함하는 복부 이상이 39예(34%), 비장 비대 19예(16%) 등의 소견을 보였다. *EBV PCR* (+)/*IgM Ab* (-)인 A군의 임상소견은 발열, 인두염, 림프절 비대 외에 복통, 기면이 82예 중 각각 16예(20%), 14예(17%)로 *EBV* 감염의 초기 비특이적인 소견이 우세하게 나타났고, *EBV PCR* (+)/*IgM Ab* (+)인 B군 33예 가운데 비장 비대와 간 비대가 각각 14예(42%), 10예(30%)로 A군에 비하여 전형적인 감염 단핵구증의 소견이 우세하게 나타났다(Table 2).

#### 4. 검사 소견

입원 초기 말초 혈 검사에서 백혈구 수는  $20,000/m^3$  이상인 경우가 115예 중 10예(9%)이었다. 혈소판 수는 11예(10%)에서  $100,000/m^3$  미만이었다. 말초 혈 도말 검사에서 비정형 림프구가 관찰된 예는 전체 115예 중 41예(35%)였고, 관찰된 림프구 중 20% 이상이 비정형 림프구인 경우는 28예(24%)이었다. A & T

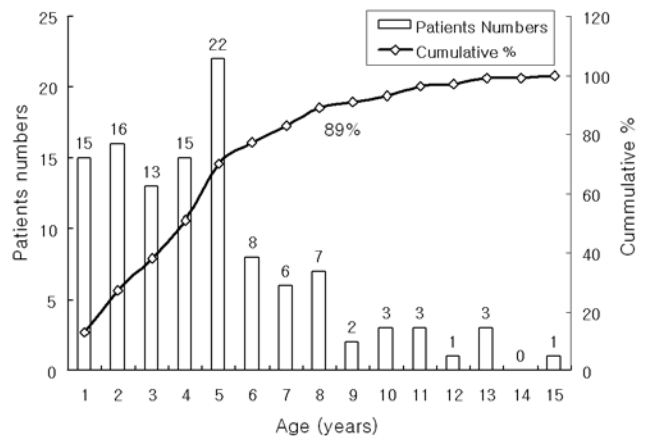


Fig. 2. Age distribution of PCR positive Epstein-Barr virus infection.

**Table 2.** Clinical Manifestations of EBV Infections

Age and Sex	EBV PCR (+)/IgM Ab (-) (n=82) (%)	EBV PCR (+)/IgM Ab (+) (n=33) (%)	Total (n=115) (%)
Fever ( $\geq 37.5^{\circ}\text{C}$ )	82 (100)	33 (100)	115 (100)
Throat injection	82 (100)	33 (100)	115 (100)
Cervical lymphadenopathy	21 (26)	18 (55)	39 (34)
Abdominal discomfort	16 (20)	4 (12)	20 (17)
Splenomegaly	5 (6)	14 (42)	19 (16)
Fatigue	14 (17)	4 (12)	18 (16)
Hepatomegaly	4 (5)	10 (30)	14 (12)
Skin rash	9 (11)	3 (9)	12 (11)
Headache	9 (11)	0	9 (8)

**Table 3.** Laboratory Findings of EBV Infection

Age and Sex	EBV PCR (+)/IgM Ab (-) (n=82) (%)	EBV PCR (+)/IgM Ab (+) (n=33) (%)	Total (n=115) (%)
WBC count (/mm <sup>3</sup> )			
< 10,000	48 (59)	13 (39)	61 (53)
10,000-20,000	28 (34)	16 (48)	44 (38)
$\geq 20,000$	6 (7)	4 (12)	10 (9)
Atypical lymphocyte (%)			
< 20	67 (82)	20 (61)	87 (76)
$\geq 20$	15 (18)	13 (39)	28 (24)
Platelet (/mm <sup>3</sup> )			
< 100,000	7 (9)	4 (12)	11 (10)
100,000-400,000	51 (62)	23 (70)	74 (64)
> 400,000	24 (29)	6 (18)	30 (26)
AST (U/L)			
< 50	59 (72)	19 (58)	78 (68)
50-100	16 (20)	7 (21)	23 (20)
> 100	7 (9)	7 (21)	14 (12)
ALT (U/L)			
< 50	68 (83)	16 (48)	84 (73)
50-100	5 (6)	6 (18)	11 (10)
> 100	9 (11)	11 (32)	20 (17)

**Table 4.** Laboratory Findings Among Different Age Groups of Patients with EBV Infection\*

Characteristics	Age group				Total (n=115)	p
	< 3 years (n=31)	3-5 years (n=50)	6-9 years (n=24)	10-15 years (n=11)		
WBC (/mm <sup>3</sup> )	10,848 (3040-42,130)	11,352 (2,740-27,020)	9,518 (2,260-32,510)	11,265 (1,820-25,200)	10,841 (1,820-42,130)	0.420
Lymphocyte (%)	41 (10-70)	32.4 (2-18)	31.4 (4-66)	39.1 (8-67)	35 (2-81)	0.241
Monocyte (%)	9.8 (2-17)	8.8 (1-23)	11 (1-23)	9.3 (2-16)	9.5 (1-23)	0.366
Platelet (/mm <sup>3</sup> ) $\times 10^3$	233.613 (7-500)	228.5 (29-471)	229.348 (50-371)	208.818 (43-345)	228.713 (29.9-500)	0.967
AST (U/L)	88 (17-771)	51 (7-328)	61.3 (18-215)	62 (21-160)	64 (7-771)	0.072
ALT (U/L)	92 (9-1,159)	42.8 (7-375)	64.5 (5-250)	82.3 (11-227)	64 (5-1,159)	0.008
Patients Numbers <sup>†</sup>						
Atypical lymphocyte ( $\geq 20\%$ )	13 (42)	10 (20)	3 (13)	3 (27)	29 (25)	0.637
EBV-IgM Ab (+)	7 (23)	15 (30)	8 (33)	3 (27)	33 (29)	0.020

Data were evaluated with Kruskal-Wallis\* and  $\chi^2$  test<sup>†</sup>

Abbreviations: WBC, white blood cell; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; EBV-IgM Ab, Epstein-Barr virus specific immunoglobulin G antibody; Atypical lymphocyte, atypical lymphocyte.

는 37예(32%)에서 50 IU/L 이상이었고, 100 IU/L 이상으로 증가한 경우는 14예(12%)이었다. A군 27은 31예(27%)에서 50 IU/L 이상으로 증가하였고 100 IU/L 이상인 예는 20예(17%)이었다. A군과 B군의 검사소견의 비교에서 비정형 림프구가 20% 이상인 예는 A군이 82예 중 15예(18%), B군이 33예 중 13예(39%) 이었고 A군 27가 100 IU/L 이상인 경우는 A군이 14예(17%), B군이 17예(52%)로 B군이 감염 단핵구증의 전형적인 검사소견을 보이는 비율이 높았다(Table 3). < 3세, 3-5세, 6-9세, 10-15세의 연령군간 검사소견의 비교에서 백혈구, 림프구, 혈소판, A군 27는 각 연령군 사이에 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나, 3세 미만의 연령군에서 A군 27 평균치가 92 IU/L로 유의하게 높았으며 ( $P < 0.008$ ), EBV-IgM A군 27가 양성이었던 예는 3-5세 연령군에서 15예로 유의하게 많았다( $P < 0.02$ ) (Table 4). 총 115예의 EBV PCR 양성이었던 환자 중 EBV-IgM A군 27가 양성인 예는 33예(29%)로 나머지 82예(71%)에는 항체가 검출되기 전의 급성 감염 혹은 잠복 감염일 가능성을 배제할 수 없었다(Table 3, 4).

## 고찰

EBV는 인간 herpes 바이러스의 하나로  $\gamma$ -herpes 바이러스에 속하며 성숙한 EBV 입자의 직경은 150-180 nm 이고 이중나선 DNA와 capsid로 되어 있다<sup>(5)</sup>. EBV는 T 림프구 보다는 B 림프구 특히, DNA나 면역 글로불린 합성이 거의 일어나지 않는 휴지기의 성숙한 B 림프구에 주로 감염을 일으킨다. EBV가 이러한 성숙한 B 림프구에 감염을 잘 일으키는 이유는 성숙한 B 림프구에 바이러스 특이 세포막 수용체(virus specific membrane receptor)의 밀도가 증가되어 있기 때문일 것으로 추정하고 있다<sup>(6)</sup>.

Telenti 등<sup>(7)</sup>은 EBV의 급성기 초감염을 진단하기 위하여 PCR을 이용한 검사를 시행하였는데, 임상소견과 Monospot 검사가 양성인 전염성 단핵구증 환자 5명의 응고된 혈액에서 EBV의 capsid 단백 gp 220을 encoding하는 EBV genome (BamHI K)을 찾아내어 이를 복제하는 시발체(primer)를 만들어 PCR로 증폭하여 5명 전예에서 BamHI K를 증명하였다. EBV의 혈청검사에 양성인 건강한 성인의 혈액에 EBV가 감염된 림프구에 모여 있지만 혈액에 순환하는 EBV 유전자는 소량이므로 검사 결과에 영향을 미치지 않을 것으로 이들은 추정하였다.

Chan 등<sup>(4)</sup>의 연구에서는 임상 소견과 혈청검사로 EBV 감염을 진단하였던 예의 혈청에서 EBV B95-8주(strain)의 genome (BamHI W)을 복제하는 시발체를 이용하여 PCR로 증폭하였을 때 EBV 감염에 대한 감수성 80%, 특이도 94%, 음성 예측도 79%, 양성 예측도 95% 라고 하였다. 본 연구에서는 임상소견과 검사소견이 전염 단핵구증으로 의심되는 예의 전혈에서 EBV B95-8주의 genome (BamHI W)을 복제하는 시발체를 이용하여 EBV DNA 조각을 검출하였으며 Chan 등<sup>(4)</sup>이 혈청을 이용하여 시행한 연구와 비교하여 특이도가 낮을 것으로 추정된다. Stevens 등<sup>(8)</sup>의 연구에서는 EBV DNA를 임상 검체에서 검출하고자 할 때, 혈청

을 이용하는 것은 세포와 연관된 바이러스의 존재를 제외시키고, 조절이 되지 않는 세포의 붕괴가 있을 경우 바이러스 DNA를 과대평가 하거나 재현성이 없게 되어 바람직하지 못하다 하였다. 전혈을 이용하면 EBV가 숨어있을 지 모르는 모든 혈액 성분을 포함하게 되고 환자의 순환혈액에 있는 바이러스의 절대 숫자를 반영하기 때문에 분획되지 않은 전혈이 강력히 추천된다고 하였다. 따라서 본 연구에서 전혈을 사용하여 검사한 결과 감수성은 높아지고 특이성은 다소 감소한 결과를 보일 수 있다.

EBV 감염은 지역별로 차이가 있으며, 초 감염 연령은 사회, 경제적 환경에 따라 다르게 임상 증상도 상이하게 나타난다. 즉 경제적으로 빈곤한 국가나 개발도상국에서 EBV 초 감염은 어린 나이에 발생하여 대략 3세에서 6세 사이에 EBV 항체가 생성되고 이 시기의 감염 대부분은 불현성으로 경과하거나 드물게 감염 단핵구증의 전형적인 임상소견을 보게 된다<sup>(3)</sup>. 이에 반해 선진국의 EBV 초감염은 10-30세의 늦은 나이에 호발하며 이중 30-50%에서 감염 단핵구증의 임상소견을 보인다<sup>(4)</sup>. 본 연구에서는 대부분의 예(89%)가 8세 이전에 PCR 방법으로 EBV 유전자가 검출되어 EBV 감염 질환으로 진단되었으며 Cheng 등<sup>(9)</sup>이 시행한 연구에서의 결과인 7세 이하 76.8%와 유사하였다.

어린이에서 감염 단핵구증은 무증상으로 경과하거나 열이 지속되며 상기도 감염, 인두 편도염, 림프절 종대, 간비장 비대 등의 임상 소견을 보인다. 사춘기 및 성인에서도 어린이와 유사한 증상을 보이며 피로감, 두통, 무력감 등의 전구증상이 2-5일간 선행되는 경우가 많다. 림프절 비대는 주로 경부 림프절에 나타나며 대부분 통증이 없다. 비장 비대는 50%, 간비대는 30-50%에서 볼 수 있으며, 연령이 어릴수록 잘 나타나지 않는다<sup>(20)</sup>. Jeon 등<sup>(21)</sup>은 EBV VCA IgM A군 27 양성인 어린이 38예에서 발열 79%, 림프절 종창 58%, 인두염 47%, 위장관계 증상 34%, 피부발진 29%, 간비장 비대 26% 등의 소견을 보고하였다. 본 연구에서는 37.5°C 이상의 발열과 인두염이 전예에서 관찰된 외에, 경부 림프절 비대 34%, 비장 비대 16%, 간비대 12% 빈도를 보여 지금까지의 연구와 다소 차이가 있으며 이는 감수성이 높은 EBV PCR 검사에 양성인 예에 대한 결과로 감염 초기에 PCR 검사가 시행되어 EBV 유전자가 검출되었기 때문으로 사료된다.

말초 혈 검사에서 감염 단핵구증의 특징은 림프구 증식이다. 특히 림프구가 50% 이상을 차지하며 대체로 백혈구 수치는 5,000-20,000/mm<sup>3</sup> 범위에 있고, 간혹 20,000/mm<sup>3</sup> 이상으로 증가하는 경우도 있다<sup>(22)</sup>. 비정형 림프구는 세포질이 풍부한 큰 단핵 세포로 Wright stain에 다양한 정도의 호염기성을 보인다. 그러나 비정형 림프구는 특소플라스마증, 거대세포바이러스 감염, 마이코플라스마 감염 등에서도 흔히 발견되고, 특히 건강한 성인에서는 약 12%의 순환 단핵세포가 비정형 림프구의 형태를 띠기 때문에 비정형 림프구가 전염성 단핵구증의 진단에 반드시 특이적인 것은 아니다<sup>(23)</sup>. 본 연구에서 비정형 림프구가 35% 이상에서 관찰되었으나 전 림프구의 20% 이상이 비정형 림프구로써 의의가 있는 경우는 24%에 그쳐서 많은 다른 연구들과 유사한 결

과를 보였다.

EBV에 의한 감염 단핵구증 환자에서 63,000-139,000/mm<sup>3</sup>의 혈소판 감소증은 50% 정도의 환자에서 나타나며 심한 혈소판 감소증은 드문 것으로 알려지고 있다<sup>24)</sup>. 무증상 혈소판 감소증(50,000-150,000/mm<sup>3</sup>)은 골수에서 거핵세포 감소로 인한 혈소판 형성이 저하되고 혈소판에 대한 자가항체와 비 기능 항진에 의한 혈소판 파괴가 주원인으로 간주되고 있고 대부분 2-8주 사이에 회복된다<sup>25)</sup>. Lee 등<sup>26)</sup>의 연구에서 혈소판이 100,000/mm<sup>3</sup> 이하로 감소를 보인 경우는 4.5%이었으나 본 연구에서는 혈소판이 100,000/mm<sup>3</sup> 미만인 예는 10%에서 나타났으며 혈소판 감소로 인한 임상 소견은 나타나지 않았다.

Sumaya 등<sup>22)</sup>은 4세 미만의 환자에서는 52.4%, 4세 이상의 소아에서는 77.8%에서 혈청 A IgG의 증가가 있었으나 대부분의 환자에서 3주 이내에 A IgG 및 A IgM가 정상으로 회복되었다고 하였다. 또한 Lee 등<sup>26)</sup>의 연구에서 A IgG가 100-500 IU/L로 중등도 상승을 보인 환자가 45.4%, 500 IU/L 이상 현저히 증가되었던 환자는 4.5%이었고, 평균치는 253.4±55.3 IU/L이었다. A IgM는 100-500 IU/L로 중등도 상승을 보인 환자가 40.9%, 500 IU/L 이상 현저히 증가되었던 환자는 22.7%이었고 평균치는 356.9±61.2 IU/L이었다. 본 연구에서는 A IgG와 A IgM가 각각 68%, 73%에서 50 IU/L 미만으로 정상범위였고 50-100 IU/L이었던 예는 각각 20%, 10%이었다. A IgG와 A IgM가 100 IU/L 이상이었던 예는 각각 12%, 17%이었으며 평균치는 각각 64 (7-771) IU/L, 64 (5-1159) IU/L이었다. 3세 미만의 연령군에서 A IgM가 평균 92 (9-1159) IU/L로 다른 연령군에 비하여 유의하게 높았다.

EBV 혈청 검사는 주로 EBV의 생물학적 활성도를 간접 면역형광법이나 ELISA를 이용하여 측정한다. 이들 검사는 EBV-VCA IgM, EBV-VCA IgG, EA, EBNA 항체 등을 측정하는데 EBV-VCA IgM 및 EBV-VCA IgG 항체는 급성기에 나타나며 EBV-VCA IgM 항체는 감염 후 4주에서 3개월 사이에 소실되거나 EBV-VCA IgG 항체는 거의 평생 지속된다. EA 항체는 감염 초기에 나타나서 3-6개월 사이에 소실되며, EBNA 항체는 회복기에 증가하여 거의 평생 지속된다<sup>27)</sup>. 그러나, 이러한 여러 종류의 항체를 각각 측정하는 검사와는 다르게 ELISA를 이용하여 EBV의 항원성을 갖는 모든 바이러스 단백질 및 VCA, EA, EBNA 항원을 모두 포함하는 EBV IgM A&B를 측정할 수 있게 되어 이용되고 있다. 이 검사법을 이용한 Schaade 등<sup>7)</sup>의 연구에서 초감염에 대한 상대적인 민감도와 특이도가 97%에 달한다고 보고하였고 Gutierrez 등<sup>28)</sup>은 EBV 초감염 발견에 대한 신뢰도에서 민감도, 특이도 모두 100%라고 보고하였다. 본 연구에서 EBV-IgM A&B는 33예(29%)에서 양성이었고 3세 미만의 연령에서 13예로 다소 높게 측정되어 다른 연령군에 비하여 유의한 차이를 보였다.

Martinez 등<sup>29)</sup>은 말초혈에서 EBV DNA의 검출은 증상이 있는 감염과의 연관이 있으나 급성 감염과 잠복감염을 구별할 수 없다 하였다. Gan 등<sup>30)</sup>은 혈청에서 cell-free EBV DNA의 검출

은 감염 단핵구증의 지표가 될 수 있다고 하였다. 또한, Chan 등<sup>14)</sup>은 EBV VCA IgM A&B 검사 양성 혹은 EBNA A&B 음성이며 VCA IgG A&B 검사가 양성인 결과는 EBV 일차 감염을 진단하기 위한 신뢰할 만한 검사법이 아니며 이러한 목적이라면 보완 검사로 혈청에서 PCR로 EBV DNA를 검출하는 것이 유용하다고 하였다.

본 연구에서 EBV IgM A&B 검사가 음성이고, EBV 감염의 비 특이적인 증상으로 주로 발열 및 인두염이 있는 환자의 혈액에서 PCR로 EBV DNA가 검출된 경우와 대상 환자에서 EBV-IgM A&B 양성률이 낮은 것은 EBV 감염과는 관련이 없는 다른 원인에 의한 감염 질환의 일반 증상이거나, 발병 초기에 항체 생성이 되지 않았거나 혈청 검사로 검출할 정도의 수준에 도달하지 못했을 가능성과 함께 EBV PCR 검사가 민감도가 높아서 위양성의 결과를 보이거나 장기간 잠복해있는 EBV의 유전자가 검출되었을 가능성을 배제하기 어렵다. 최근에 개발되어 이용 중인 실시간 중합효소 연쇄반응은 EBV의 DNA copy를 정량화하고 급성 감염을 반영하는 cut-off치를 정하여 EBV PCR 검사의 정확성을 보완할 수 있을 것으로 사료된다.

**요 약**

**목적:** EBV 감염 질환은 발생 연령별로 임상 소견이 다양하며 혈청검사 소견이 상이하다. EBV 감염을 진단하기 위하여 혈청학적 검사가 주로 이용되어왔는데, 근래에는 EBV 항원을 검사하는 검사법이 활발하게 이용되고 있다. 이에, 임상 소견이 EBV 감염과 관련된 질환을 시사하는 환자의 혈액에서 중합효소 연쇄반응 검사로 EBV 감염을 확인, 혈청검사 결과와 비교하여 EBV 감염 질환의 임상 특성을 알아보려고 하였다.

**방법:** 2004년 1월부터 2006년 12월까지 EBV 감염을 의심할 수 있었던 352명을 대상으로 EBV PCR을 시행하여 115명에서 양성의 결과를 얻었으며 이들 환자에서 EBV-IgM A&B 검사를 시행하였다. 백혈구, 혈소판, 비정형 백혈구, A IgG, A IgM 등을 검사 하고 이들 임상소견과 검사소견을 EBV-IgM A&B 검사 음성인 예와 양성인 예를 비교하였다. 주요 검사 소견은 전예에서 생후 3세 미만, 3-5세, 6-9세, 10-15세의 4연령군으로 나누어 비교 평가 하였다.

**결과:** EBV PCR에서 유전자가 검출된 115예에서 8세 이하의 어린이가 대부분 이었고(89%), 남녀 비는 1.3:1이었다. 115전예에서 인두염과 37.5°C 이상의 발열이 있었다. 경부 림프절 비대는 39예(34%), 복통을 포함한 복부 이상 20예(17%)의 순으로 관찰되었다. EBV-IgM A&B는 33예(29%)에서 양성이었다. 말초혈에서 백혈구증가(WBC ≥10,000/mm<sup>3</sup>)는 54예(47%)에서 관찰되었고 비정형림프구(≥20%)는 28예(24%)에서 관찰되었다. 5세 이하에서 6세 이상의 연령군에 비해 A IgM가 높았으며 EBV IgM A&B가 양성인 예가 많았다.

**결론:** EBV 유전자를 PCR로 검사하여 발견한 연령별 분포

의 누적 예는 8세에 이르기까지 급격하게 증가하였으며 EBV-IgM 및 IgG가 양성인 환자에서 감염 단핵구증의 특징적인 소견을 보이는 예가 많았다. EBV 관련 감염질환 환자 가운데 연령이 어릴수록 IgG가 높고 EBV-IgM 및 IgG의 발현이 많았으나 이 외의 임상 및 검사 소견은 차이가 없었다.

## References

- 1) Epstein M A, Achong BS, Barr YM. Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet* 1964;1:702-3.
- 2) Gaffey M J, Weiss LM. Association of Epstein-Barr virus with human neoplasia. *Pathol Ann* 1992;27:55-74.
- 3) Fleisher G, Henle W, Henle G. Primary infection with Epstein-Barr virus in infants in the United States: Clinical and serological observations. *J Infect Dis* 1979;139:553-8.
- 4) Niedmann JE, Evans AS, McCollum RW, Subrahmanyam L. Prevalence, incidence and persistence of EB virus antibody in young adults. *N Engl J Med* 1970;282:361-5.
- 5) Haque J, Crawford DH. PCR amplification is more sensitive than tissue culture methods for Epstein-Barr virus detection in clinical material. *J Gen Virol* 1997;78:3357-60.
- 6) Gorgievski-Hrisoho M, Hinderer W, Nebel-Schickel H, Horn J, Vornhagen R, Sonneborn HH, et al. Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology. *J Clin Microbiol* 1990;28:2305-11.
- 7) Schaade L, Kleines M, Hausler M. Application of virus-specific immunoglobulin M (IgM), IgG, and IgA antibody detection with a polyantigenic enzyme-linked immunosorbent assay for diagnosis of Epstein-Barr virus infections in childhood. *J Clin Microbiol* 2001;39:3902-5.
- 8) Okano M. Epstein-Barr virus infection and its role in the expanding spectrum of human disease. *Acta Paediatr* 1998; 87:11-8.
- 9) Tamaki H, Byron KS, Sullivan JL, Somasundaran M. Detection and differentiation of Epstein-Barr virus strains by in situ polymerase chain reaction. *Mol Cell Probes* 1997;11: 237-41.
- 10) Yamamoto M, Kimura H, Honaka T, Hirai K, Hasegawa S, Kuzushima K, et al. Detection and quantification of virus DNA in plasma of patients with Epstein-Barr virus-associated diseases. *J Clin Microbiol* 1995;33:1765-8.
- 11) Meerkach A, Gruhn B, Eggerer R, Reischl U, Zintl F, Wutzler P. Semiquantitative PCR analysis of Epstein-Barr virus DNA in clinical samples of patients with EBV-associated diseases. *J Med Virol* 2001;65:348-57.
- 12) Niesters HG, Van Eester J, Fries E, Wolthers KE, Cornelissen J, Osterhaus ADME. Development of a real-time quantitative assay for detection of Epstein-Barr virus. *J Clin Microbiol* 2000;38:712-5.
- 13) Ko SY, Suh JS, Kim HM, Sohn JH, Yeh BJ, Lee JI, et al. Clinical review of Epstein-Barr virus viraemia in Korea children by using real-time PCR. *Korean J Pediatr Infect Dis* 2007;14:171-8.
- 14) Chan KH, Ng MH, Seto WH, Peiris JSM. Epstein-Barr virus (EBV) DNA in sera of patients with primary EBV infection. *J Clin Microbiol* 2001;39:4152-4.
- 15) Reedman RH, Klein G. Cellular localization of an Epstein-Barr virus associated complement fixing antigen in producer and nonproducer lymphoblastoid cell lines. *Int J Cancer* 1973; 11:499-520.
- 16) Wells A, Steen HB, Godal J, Klein G. Epstein-Barr virus receptor expression in correlated to cell cycle phase. *J Receptor Res* 1981;2:285-98.
- 17) Telenti A, Marshall WF, Smith JF. Detection of Epstein-Barr virus by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1990;28:2187-90.
- 18) Stevens JG, Prank J, Middledrop JM. Toward standardization of Epstein-Barr virus DNA load monitoring: unfractonated whole blood as preferred clinical specimen. *J Clin Microbiol* 2001;39:1211-6.
- 19) Cheng CE, Chang LY, Shao PL, Lee PJ, Chen JM, Lu CY, et al. Clinical manifestations and quantitative analysis of virus load in Taiwanese children with Epstein-Barr virus-associated infectious mononucleosis. *J Microbiol Immunol Infect* 2007;40:216-21.
- 20) Oh SH, Lee YH, Munn YH, Koh JS, Park YS, Moon HN, et al. Prevalence of Epstein-Barr virus (EBV) antibody in Korean. *J Korean Pediatr Soc* 1994;37:804-11.
- 21) Jeon SH, Woo CW, Lee JH, Lee KC, Tocko YC. Clinical manifestations and hematologic complications of Epstein-Barr virus infection in Korean children. *J Korean Pediatr Soc* 1998;41:1216-23.
- 22) Sumaya CV, Ench Y. Epstein-Barr virus infectious mononucleosis in children: Heterophil antibody and viral specific response. *Pediatrics* 1985;75:1011-9.
- 23) Wood JA, Frenkel EP. The atypical lymphocyte. *Am J Med* 1967;42:923-36.
- 24) Carter RL. Platelet levels in infectious mononucleosis. *Blood* 1965;25:817-821.
- 25) Park SY, Oh SH, Yang CH, Kim KY. Immunological changes and hematologic complications in children with Epstein-Barr virus infection. *Korean Pediatr Hemato-oncol* 1996;3:279-87.
- 26) Lee SK, Chung KS. Epstein-Barr virus hepatitis in children. *J Korean Pediatr Soc* 1994;37:1124-34.
- 27) Baehner RL. Infectious mononucleosis. In: Miller DR, Pearson HA, editors. *Blood diseases of infancy and childhood*. 4th ed. St. Louis: CV Mosby, 1978:572-83.
- 28) Gutierrez J, Rodriguez M, Muroto C, Piedrola G. Reliability of four methods for the diagnosis of acute infection by Epstein-Barr virus. *J Clin Lab Anal* 1997;11:78-81.
- 29) Martinez OM, Villanueva JE, Lawrence-Miyasaki L, Quinn M B, Cox K, Rams SM. Viral and immunologic aspects of Epstein-Barr virus infection in pediatric liver transplantation recipients. *Transplantation* 1995;59:519-24.
- 30) Gan Y, Sullivan JL, Sixbey JW. Detection of cell-free Epstein-Barr virus DNA in serum during acute infectious mononucleosis. *J Infect Dis* 1994;170:436-9.