

소아의 항 Human Herpesvirus 8 항체 양성률

한태희 · 정주영* · 김상우*

인제대학교 의과대학 상계백병원 진단검사의학과, 소아과*

= Abstract =

Prevalence of Antibodies to Human Herpesvirus 8 in Children

Tae Hee Han, M.D., Ju Young Chung, M.D.*, and Sang Woo Kim, M.D.*

Department of Diagnostic Laboratory Medicine and Pediatrics,
Sanggyepaik Hospital, Inje University College of Medicine, Seoul, Korea*

Purpose : Human herpesvirus 8(HHV-8), a gamma herpesvirus, was initially identified from Kaposi sarcoma(KS) lesions and has been known to be associated with several malignancies including Kaposi sarcoma. HHV-8 seroprevalence is variable by different geographic areas and populations. The prevalence of HHV-8 infection in Korean children is unclear. So, we investigated the prevalence of HHV-8 specific antibodies in healthy children in Seoul, Korea.

Methods : Sera were obtained from 112 children(age 1~15 years, 64 males and 48 females) who visited our hospital for routine health checkup and used for investigating seroprevalence of anti-HHV-8 antibodies. An indirect immunofluorescent assay was used to detect the IgG antibodies to the lytic viral antigen(Biotrin, Dublin, Ireland). A peptide mix ELISA kit was used to detect the IgG antibodies to peptides specific for HHV-8 open reading frame (ORF)(Biotrin, Dublin, Ireland).

Results : Of 112 children, 4 children younger than 6 years of age were seropositive to HHV-8[all 4(3.5%) were positive by IFA and 2(1.8%) were positive by ELISA].

Conclusion : These results suggest that the prevalence of antibody to HHV-8 in children in Korea is very low.

Key Words : Human herpesvirus 8, Children, Prevalence

서 론

Human herpesvirus 8(HHV-8)은 gamma herpesvirus에 속하며 Kaposi 육종, 원발성 effusion B-세

포 림프종, 다발성 Castleman 병과 연관이 있는 것으로 알려진다¹⁾. HHV-8은 초기에는 주로 성적 접촉에 의해서 감염되는 것으로 알려졌다²⁾. 하지만 Kaposi 육종의 유병률이 높은 지역의 소아에서 높은 항체 양성률이 보고되면서 수평적 감염이 중요한 감염 경로가 될 것으로 생각되고 있다^{3, 4)}.

혈청 항HHV-8 항체의 양성률은 전형적 Kaposi 육종의 유병률과 관련이 있고, 지역과 민족에 따라 크게 다르며, 특히 아프리카와 지중해 연안에서 미

이 연구는 2003년 인제대학교 교내 학술 연구비의 지원을 받았음.

책임저자 : 정주영, 인제의대 상계백병원 소아과

Tel : 02)950-1073, Fax : 02)950-1955

E-mail : pedchung@sanggyepaik.ac.kr

국, 유럽 및 다른 아시아 국가에 비해 높은 편이다^{5, 6)}. 최근 HHV-8에 의한 원발성 감염이 면역력이 정상인 소아에서도 발진이 동반된 발열성 질환의 양상을 보이는 것으로 보고되어, 발열성 질환의 원인 병원체로 감별하여야 할 가능성이 있다⁷⁾. 국내의 Kaposi 육종의 발생은 비교적 드문 편이므로, HHV-8 항체의 양성률이 높지는 않을 것으로 추정되지만 국내 소아를 대상으로 한 역학적 연구가 아직 없다. 이에 저자들은 HHV-8의 원발성 감염에 대한 연구에 앞서 국내 정상 소아에서 항 HHV-8 항체의 양성률을 알아보기 위해 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

항 HHV-8 항체의 양성률을 파악하기 위하여 2002년 2월부터 2003년 8월까지 인제대 상계백병원을 방문한 환자 중에서, 최근 3주간 발열 증상이 없었던 건강한 소아 112명을 대상으로 하였다. 대상 환자의 연령 범위는 1세부터 15세였으며, 성별은 남아 64명, 여아 48명이었다.

대상 혈청은 실험을 하기 전까지 영하 70도에서 냉동 보관하였다. Lytic 바이러스 항원에 대한 IgG 항체 검사는 간접면역 형광검사 키트(Biotrin, Dublin, Ireland)를 사용하였으며, HHV-8의 ORF에 대한 특이 항체 검사는 peptide mix ELISA kit(Biotrin, Dublin, Ireland)를 사용하였다.

간접 면역 형광법 검사는 혈청을 1:64로 희석한 후, 혈청을 HHV-8이 감염된 림프구가 부착되어 있는 슬라이드에 20 μL씩 가하였다. 슬라이드를 항습 상자에서 37℃, 30분간 둔 후, PBS 담은 슬라이드 통에서 5분간 세척하였으며, PBS 교환한 후에 10분간 다시 세척하였다. 세척 후에 FITC가 부착된 IgG conjugate를 슬라이드에 20 μL씩 가하였고 세척은 전 단계와 동일한 방법으로 실시하였다. 슬라이드를 수용성 봉입제로 처리한 후에 형광 현미경으로 400배율에서 관찰하였다. 키트의 양성대조를 1:64까지 단계적으로 희석하여 관찰하였고 1:8을 1+의 기준으로 삼았다. 양성으로 판독된 혈청은 1:256까지 단계적으로 희석하여 검사한 후 항체 역가를 확인하였다.

Table 1. Prevalence of Antibodies to HHV 8 among the Children, Seoul, Korea

| Age group (years) | Number of children tested | No. positive(%) | |
|-------------------|---------------------------|-----------------|--------|
| | | IFA* | ELISA |
| ≤1 | 17 | 1(5.8) | 1(5.8) |
| 2~5 | 24 | 3(12.5) | 1(4.1) |
| 6~9 | 24 | 0(0.0) | 0(0.0) |
| 10~15 | 47 | 0(0.0) | 0(0.0) |
| Total | 112 | 4(3.5) | 2(1.8) |

*IFA : immunofluorescence assay

면역효소 검사법은(ELISA) 1:100으로 희석한 혈청과 양성 및 음성대조를 이용하였다. 희석된 혈청 200 μL을 microplate well에 넣고 1시간 실온에서 항온 후 세척하였다. 세척 후 1:100으로 희석된 conjugate 200 μL을 microplate well에 넣고 1시간 실온에서 항온 후 세척하였다. 세척 후 기질 200 μL을 microplate well에 넣고 30분간 실온의 암실에서 항온 하였다. 항온 후 microplate를 405 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. 검체의 흡광도가 음성 대조군의 흡광도보다 0.300 이상인 경우에 양성으로 판정하였다.

결 과

대상 환아는 총 112명이었으며 남아 64명, 여아 48명이었다. 1세 이하의 연령군은 17명이었으며, 2~5세 연령군 24명, 6~9세 연령군 24명, 10~15세 연령군은 47명이었다(Table 1).

HHV-8에 대한 혈청 항체 양성률은 간접 면역 형광검사법으로 3.5%(4/112), ELSIA로는 1.8%(2/112)였다. HHV-8 항체 양성이었던 소아는 각각 3세 1명, 4세 1명, 5세 2명이었으며, 여아 3명, 남아 1명이었다(Table 1). ELISA 검사로 양성인 나은 두 명은 간접 면역 형광검사법으로도 양성이었다(Fig. 1).

고 찰

HHV-8은 AIDS 환자의 Kaposi 육종 조직에서 처음으로 발견되어 Kaposi 육종의 원인 병원체로

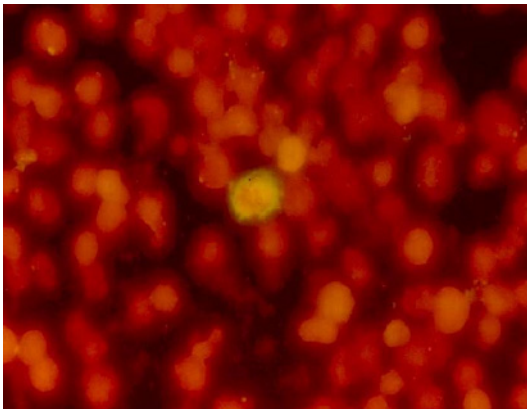


Fig. 1. This figure shows the positive finding with bright green fluorescent staining of HHV8 infected cells using indirect immunofluorescent assay for HHV-8 IgG antibody (×400).

의심되었으며, 이후 비호지킨 림프종의 일종인 원발성 effusion B-세포 림프종, 다발성 Castleman 병, multiple myeloma와 연관이 있는 것으로 알려졌다¹⁾. HHV-8의 병인은 아직 확실하지 않지만 다른 헤르페스 바이러스와 같이 상당한 기간 잠복 감염되어 있다가, 증식을 시작하면서 바이러스 oncogene인 ORF-K1, IL-8과 유사한 수용체이며 혈관신생 및 종양을 유발하는 viral G protein coupled receptor (vGCR), B-cell leukemia/lymphoma gene-2(bcl-2)과 FLICE inhibitory protein(v-FLIP), 혈관 신생을 유도하는 viral macrophage inflammatory protein-1(vMIP-1) 및 세포 변형을 유발하는 viral interferon regulatory factor(vIRF) 등의 다양한 바이러스 생성물들에 의해 Kaposi 육종이 유발되는 것으로 알려진다⁸⁾. 최근 Andreoni 등⁷⁾이 원인 불명의 발열 증상을 보인 면역 기능이 정상인 소아 86명 중 8명에서 발생한 HHV-8의 원발성 감염을 보고하였다. HHV-8 항체 양성 환자들의 평균 발열 기간은 10일이었고, 7명에서 흥반성 발진이 나타났으며 평균 6일 정도 지속된다고 하였다. 따라서 HHV-8은 성인에서 Kaposi 육종을 유발하는 원인뿐만 아니라 소아 발열성 질환의 원인 병원체 가능성에 대한 관심이 증가하고 있다.

HHV-8의 감염 빈도는 Kaposi 육종의 유병률과 비슷하며, 특히 북미와 유럽을 포함한 선진국에서는 Kaposi 육종에 걸렸거나 위험성이 높은 집단(예 :

동성애자)에서 주로 발견되고 일반 공혈자에서는 낮은 것으로 보고되었다^{5, 9)}. HHV-8 항체의 양성률은 지역에 따라 큰 차이를 보이게 되어, 북미와 유럽에서 0~15%, Kaposi 육종의 발병률이 비교적 높은 지중해 연안과 동유럽에서 4~24%, Kaposi 육종의 발병률이 매우 높은 아프리카 일부 지역에서는 60%의 양성률이 보고되었다^{5, 11~13)}. HHV-8는 다른 헤르페스 바이러스처럼 일단 감염되면 지속 감염이 되기 때문에 연령이 증가하면서 항체 양성률이 증가하게 된다¹⁴⁾.

초기 연구에서 HHV-8의 감염 경로는 거의 성적 접촉에 의하는 것으로 여겨졌다. HHV-8 발견 당시에 HIV에 감염된 미국 소아와 HIV-음성인 영국의 소아를 대상으로 시행된 연구에서 HHV-8 항체 양성률은 0%에 가까운 것으로 보고되었다^{15, 16)}. 하지만 최근 시행된 연구에서 건강한 미국 소아 30명 중 5명에서 HHV-8 항체가 양성(17%)이었으며, 양성 환자의 평균 연령은 4.4세였다¹⁷⁾. 또한 미국 소아 123명을 대상으로 한 다른 연구에서도 HHV-8 혈청 항체 양성률은 IFA에 의해 26%, ORF65 ELISA에 의해 17.1%, 총 10.6%의 소아에서 두 가지 검사 모두 양성이었다¹⁸⁾. 또한 브라질 원주민 소아에서 41%¹⁰⁾, 중앙 아프리카에서 사춘기 전 연령의 소아에서 HHV-8 항체 양성률이 40~50%에 달하며¹⁴⁾, 이집트의 소아에서 50% 이상인 것으로 보고되면서¹⁹⁾, 소아에서 HHV-8의 감염은 성적 접촉 외에 다른 경로가 있을 것으로 생각되기 시작하였다. HHV-8 항체 양성인 산모에게서 태어난 10세 이하의 소아의 HHV-8 항체 양성률이 항체 음성인 산모에게서 태어난 아이보다 높은 30% 이상으로, HHV-8의 모자간과 형제간의 가족 내 감염이 확인되기도 하였다²⁰⁾. 따라서 HHV-8의 수평 또는 가족간의 감염에는 타액을 통한 바이러스의 분비와 전파가 가장 중요한 역할을 하는 것으로 보인다²¹⁾. 소아에서 비-성적 접촉에 의한 HHV-8의 수평 감염은 비위생적인 환경 및 인구의 밀집과 연관이 있는 것으로 보인다. 최근 Martro 등²²⁾은 미국과 독일의 소아 787명을 대상으로 HHV-8 항체 양성률이 3~5%이고, 6개월~5세 사이에 높다고 보고하면서, HHV-8 항체 양성률이 낮은 지역에서도 소아간의 수평 감염이 중요하다고 하

였다. 본 연구에서 국내 소아의 HHV-8 항체 양성률은 IFA 검사법으로 3.5%, ELISA 검사법으로 1.5%로 Kaposi 육종의 유병률이 낮은 다른 선진국에서의 HHV-8 항체 양성률과 비슷한 결과를 보였다. 하지만 연구의 대상 수가 적은 편이고 대표성에 대한 한계점이 있으므로 최종적인 유병률로 보기는 어렵다.

HHV-8 감염의 진단은 K8.1, K12, ORF52, ORF65, ORFK8.1B, ORF57과 ORF71 등의 다양한 항원을 이용한 IFA, ELISA, Western blot 등의 방법으로 하게 된다²³⁾. HHV-8의 감염의 진단 방법은 표준화가 되어 있지 않고 검사 방법에 따라 HHV-8의 혈청 양성률에 차이가 있으며 일반적으로 IFA 검사법이 민감도는 높지만 특이도가 약간 떨어지는 것으로 알려진다²⁴⁾. 따라서 HHV-8의 항체 양성률에 대한 연구에서는 다양한 혼합항원이 적용된 키트를 이용하고, 최소한 두 가지 이상의 검사법을 병행하는 것이 바람직하다. 본 연구에서는 Biotrin사에서 이미 일치도에 대한 연구가 시행되었던 IFA 검사법과 혼합 항원을 이용한 ELISA 검사법(85.7%, 특이도 94.3%)이 이용되었으며 IFA 검사법의 양성률이 약간 높았다²⁵⁾. 일반적으로 Lytic 항원을 이용한 IFA 검사법이 잠복(latent) 항원을 이용한 IFA보다 양성률이 더 높은 것으로 알려지지만²⁾, 지금까지 알려지지 않은 다른 항원과의 교차 반응 때문일 가능성이 있다.

HHV-8은 Kaposi 육종을 유발할 뿐 아니라 소아에서 발진이 동반된 발열성 질환의 중요한 원인 병원체로 작용할 가능성이 있으며 향후 병인론과 소아에서의 임상적인 의미에 대한 충분한 연구가 요구된다. 본 연구 결과에 의해 국내 소아에서도 다른 선진국의 경우처럼 HHV-8 항체의 양성률이 낮은 것을 알 수 있었지만, 앞으로 발진이 동반된 소아의 발열성 질환에서 HHV-8 원발성 감염의 역할에 대한 추가적인 연구를 하여야 할 것으로 생각된다.

요 약

목적 : 최근 HHV-8는 면역력이 정상인 소아에서 원발성 감염에 의해 발진이 동반된 발열성 질환

을 유발하는 것으로 알려지고 있다. 본 연구는 국내 정상 소아의 항 HHV-8 항체 양성률을 알아보기 위해 시행되었다.

방법 : 항 HHV-8 항체의 양성률을 파악하기 위하여 인제의대 상계백병원을 방문한 환자 중에서, 최근 3주간 발열 증상이 없었던 건강한 소아 112명의 혈청을 대상으로 하였다. Lytic 바이러스 항원에 대한 IgG 항체 검사는 간접면역 형광검사법, HHV-8의 ORF에 대한 특이 항체 검사는 peptide mix ELISA 검사법을 사용하였다.

결과 : 대상 환자는 총 112명이었으며 남아 64명, 여아 48명이었다. 1세 이하의 연령군은 17명이었으며, 2~5세 연령군 24명, 6~9세 연령군 24명, 10~15세 연령군은 47명이었다. HHV-8에 대한 혈청 항체 양성률은 간접 면역 형광검사법으로 3.5% (4/112), ELSIA로는 1.8% (2/112)였다.

결론 : 국내 소아의 HHV-8 항체의 양성률은 비교적 낮았지만 앞으로 발진이 동반된 발열성 질환에서 HHV-8의 역할에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

참 고 문 헌

- 1) Chang Y, Cesarman E, Pessin MS, Lee F, Culpepper J, Knowles DM, et al. Identification of herpesvirus like DNA sequences in AIDS associated Kaposi's sarcoma. *Science* 1994;266:1865-9.
- 2) Lennette ET, Blackbourn DJ, Levy JA. Antibodies to human herpesvirus 8 in the general population and in Kaposi's sarcoma patients. *Lancet* 1996;348:858-61.
- 3) Whitby D, Luppi M, Sabin C, Barozzi P, Di Biase AR, Balli F, et al. Detection of antibodies to human herpes virus 8 in Italian children: evidence for horizontal transmission. *Br J Cancer* 2000;82:702-4.
- 4) Biggar RJ, Whitby D, Marshall V, Linhares AC, Black F. Human herpesvirus in Brazilian Amerindians: a hyperendemic population with a new subtype. *J Infect Dis* 2000;181:1562-8.
- 5) Huang LM, Huang SY, Chao MF, Lu CY,

- Tien HF, Lee CY, et al. Geographical differences in human herpes 8 seroepidemiology. *J Med Virol* 2000;60:290-3.
- 6) Perna AM, Bonura F, Vitale F, Viviano E, Benedetto MAD, Ajello F, et al. Antibodies to human herpesvirus type 8(HHV 8) in general population and in individuals at risk for sexually transmitted diseases in Western Sicily. *Int J Epidemiol* 2000;29:175-9.
 - 7) Andreoni M, Sarmati L, Nicastrì E, Sawaf G, Zalabani M, Uccella E, et al. Primary human herpesvirus 8 infection in immunocompetent children. *JAMA* 2002;287:1295-300.
 - 8) Jenson HB. Human herpesvirus 8 infection. *Curr Opin Pediatr* 2003;15:85-91.
 - 9) Fujii T, Taguchi H, Katano H, Mori S, Nakamura T, Nojiri N, et al. Seroprevalence of Human herpesvirus 8 in human immunodeficiency virus 1-positive and human immunodeficiency virus 1-negative populations in Japan. *J Med Virol* 1999;57:159-62.
 - 10) Souza VA, Sumita LM, Freire W, Sato HK, Grandi JL, Pierotti LC, et al. Prevalence of antibodies to human herpesvirus-8 in populations with and without risk for infection in Sao Paulo state. *Brazil J Med Biol Res* 2004;37:123-7.
 - 11) Juhasz A, Remenyik E, Konya J, Veress G, Begany A, Andirko I, et al. Prevalence and age distribution of human herpesvirus-8 specific antibodies in Hungarian blood donors. *J Med Virol* 2001;64:526-30.
 - 12) Suchankova A, Stankova M, Roubalova K, Vandasova J, Bruckova M. Seroprevalence of HHV 8 antibodies among the general population and HIV positive persons in the Czech Republic. *J Clin Virol* 2003;28:70-6.
 - 13) Serraino D, Tedeschi RM, Songini M, Cepulic M, Caggiari L, Locatelli M, et al. Prevalence of antibodies to human herpesvirus 8 in children from Sardinia and Croatia. *Infection* 2000;28:336-8.
 - 14) Gessain A, Mauclore P, van Beveren M, Planoulaine S, Ayouba A, Essame-Oyono JL, et al. Human herpesvirus 8 primary infection occurs during childhood in Cameroon, central Africa. *Int J cancer* 1999;81:189-92.
 - 15) Simpson GR, Schultz TF, Whitby D, Cook PM, Boshoff C, Rainbow L, et al. Prevalence of Kaposi's sarcoma associated with herpesvirus infection measured by antibodies to recombinant capsid protein and latent immunofluorescent antigen. *Lancet* 1996;348:1133-8.
 - 16) Blauvelt A, Herndier BG, Orenstein JM. Propagation of a human herpesvirus from AIDS associated Kaposi's sarcoma. *N Engl J Med* 1997;336:1837-9.
 - 17) Jenson HB, McClain KL, Leach CT, Deng JH, Gao SJ. Evaluation of human herpesvirus type 8 infection in childhood langerhans cell histiocytosis. *Am J Hematol* 2000;64:237-41.
 - 18) Baillargeon J, Leach CT, Deng JH, Gao SJ, Jenson HB. High prevalence of human herpesvirus 8(HHV-8) infection in South Texas children. *J Med Virol* 2002;67:542-8.
 - 19) Andreoni M, El-Sawaf G, Rezza G, Ensoli B, Nicastrì E, Ventura L, et al. High seroprevalence of antibodies to human herpesvirus-8 in Egyptian children:evidence of nonsexual transmission. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:465-9.
 - 20) Bourboulia D, Whitby D, Boshoff C, Newton R, Beral V, Carrara H, et al. Serologic evidence for mother-to child transmission of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection. *JAMA* 1999;280:31-2.
 - 21) Pauk J, Huang ML, Brodie SJ, Wald A, Koelle DM, Schacker T, et al. Mucosal shedding of human herpesvirus 8 in men. *N Engl J Med* 2000;343:1369-77.
 - 22) Martro E, Bulterys, Stewart JA, Spira TJ, Canon MJ, Thacher TD, et al. Comparison of human herpesvirus 8 and Epstein Barr virus seropositivity among children in areas endemic and nonendemic for Kaposi's sarcoma. *J Med Virol* 2004;72:126-31.
 - 23) Wang YF, Lee SB, Cheng LC, Tai MH, Su IJ. Detection of serum antibodies to three different recombinant antigens of human herpes-

- virus 8 by immunoblotting : seroprevalence studies in Taiwan. Clin Chim Acta 2002;320:37-42.
- 24) Corchero JL, Mar EC, Spira TJ, Pellett PE, Inoue N. Comparison of serologic assays for detection of antibodies against human herpesvirus. Clin Diagn Lab Immunol 2001;8:913-21.
- 25) Schatz O, Monini P, Bugarini R, Neipel F, Schulz TF, Andreoni M, et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus serology in Europe and Uganda : multicenter study with multiple and novel assays. J Med Virol 2001;65:123-32.
-