

Inhibin-A를 추가한 Quad Test의 한국인 산모의 임신주수별 Median치에 대한 평가

의료법인 삼광의료재단 핵의학검사실¹, 함춘 여성 클리닉²

유자영¹ · 최삼규¹ · 조영숙¹ · 황도영²

Evaluation of Gestational Age Median Value by Use of the Quad Test with Dimeric Inhibin A for Korean Pregnant Women

Ja-Young Yoo¹, Sam-Kyu Choi¹, Young-Suk Cho¹, and Do-Young Hwang²

Department of Nuclear Medicine, Samkwang Reference Laboratories, Seoul 137-130, Korea¹,

Department of Hamchoon Women's Clinic, Seoul 137-878, Korea²

Human chorionic gonadotrophin (hCG) and unconjugated estriol (uE3) were added to AFP to make what is commonly known as the Triple test. The Triple test combines results from these three tests and has been a standard screening procedure for several years. Recent studies have demonstrated the usefulness of adding inhibin-A to Down's syndrome risk assessment. The Quad test adds dimeric Inhibin-A (DIA) to the three other markers and uses the same computer program to calculate risk factors. Testing was performed between 14 and 21 weeks of gestation. Sample size were 648 samples and period of study was from 1, July, 2004 to 30, September, 2004. Used analytical methods for AFP, hCG and uE3 were radioimmunoassay (RIA) and dimeric inhibin A was enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Adding dimeric inhibin-A as a fourth marker to the standard triple test increases the detection rate from 62% to 75% with a false-positive rate of 5%. The DIA based Quad test has been shown to be the most effective second trimester screening test for Down's syndrome suitable for routine use. Increased DIA values are observed during normal pregnancy where a bimodal pattern response is seen. Values increase during the first trimester, decline after 14 weeks, and re-ascend between 17-25 weeks. Values for DIA may be additionally elevated during a Down's syndrome pregnancy. Dimeric inhibin A is a glycoprotein hormone made by the ovary and placenta. DIA levels are twice as high in Down's syndrome pregnancies. AFP, hCG, and uE3 levels vary with gestational age, and incorrect gestational dating will influence results. DIA levels do not vary substantially with gestational age, resulting in greater screening accuracy. Although the Quad test is an improvement over the Triple test, it is important to underscore the fact that a positive test on both should be done. Most women who initially screen positive will be found to be carrying normal babies when amniocentesis and definitive diagnostic chromosome analysis are done.

Key Words : Quad test, Inhibin-A, Triple test, Down's syndrome

I. 서 론

Triple test 가 국내에서 시행된 지 이제 9년이 넘었고, 산전검진에서 기형아 검진은 필수 항목으로 인식되고 있다. 그의 성과로 그동안 이 검사를 통해 신생아에서의 다운증후군 발견은 현저히 줄어들었다. 검진 프로그램으로 현재까지 가장 높은 성과를 낳고 있는 Triple test 를 바탕으로 최근의 산전검진은 이 발견을 높이는 데 초점을 맞추고 모든 연구가 진행되고 있다. 이런 일환으로 많은 연구자들은 새로운 표지물질의 발견을 위해 태아와 태반에서만 선택적으로 생산되는 태아 관련 단백질의 분석에 몰두하고 있다. 현재 이러한 노력은 임신초기와 중기에 이용 가능한 몇몇 표지물질이 확인되어 실제 이용 중에 있다. 이러한 것들 중에 대표적인 임신초기 검진항목은 pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A)와 free β -hCG의 조합인 Dual test가 있으며, 임신중기에는 dimeric inhibin-A (DIA)가 있다. 하지만 검진 후 진행되는 검사의 어려움으로 인해 임신 초기 검진보다는 임신중기에서 좀 더 광범위하면서 보다 나은 발견율을 보이는 새로운 표지물질의 도입이 필요하게 되었다. 현재로서는 이러한 목적에 가장 잘 부합하는 것이 DIA라고 할 수 있다.

다시 말하면, 실제로 Triple test 에 비해 발견율이 더 높다고 인정되고 있는 임신초기검진 (PAPP-A + Free β -hCG + NT)이 그 다음 진단과정인 융모막 검사의 어려움으로 말미암아 대부분의 임상의들이 시행하지 않고 있다. 이러한 과정에 비추어 Triple test보다 한 차원 높은 결과를 제공하면서 이어지는 진단적인 검사도 지금과 크게 다르지 않아야 한다는 전제하에 도입된 것이 DIA이다. 보고자들에 따라 약간의 차이가 있기는 하지만 공통적으로 인정하는 것이 DIA가 Triple test와 더불어 시행될 때 더 효율적인 프로그램이 된다고 여러 논문지상에서 발표된 바가 있어 이 Quad test를 시행하고자 본 검사실과 합춘여성의원이 DIA를 기존의 Triple test에 추가하여 한국인 산모의 주수별 중앙값 산출을 해 보았다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

본 검사에 사용된 재료는 2004년 7월 1일부터 2004년 9월 30일까지 사이에 삼광의료재단에 산전 기형아 검진

을 의뢰한 28,633건을 대상으로 하였다. 이중 35세 이상의 검체는 2,140건으로 7.4% 를 차지하였다.

2. 방 법

1) α -fetoprotein (A FP) 측정

α -fetoprotein은 RIA-Mat280 (Byk-Sangtec, Germany)을 사용하여 면역방사계수법 (IRMA)으로 측정하였다. 피복 시험관과 시약은 실온 상태로 복원시켰다. Total count를 제외한 standard, control, sample을 피복 시험관에 25 μ l 씩 분주하였다. 그 다음 I^{125} -anti-AFP를 300 μ l 씩 분주한 후 (total count는 plastic tube에 분주하였다.) 실온에서 400-600 rpm으로 교반기에서 3시간 반응시켰다. Free form과 binding form을 증류수로 세척하여 분리한 후 γ -counter로 1분간 cpm을 측정하여 표준 곡선에서 농도를 산출하였다.

2) Total hCG 측정

Total hCG 는 RIA-Mat280을 사용하여 방사면역법 (RIA)으로 측정하였다. 시험관과 시약은 실온 상태로 복원시켰다. Total count를 제외한 standard, control, sample을 피복시험관에 50 μ l 씩 분주하였다 (단, NSB는 plastic tube에 분주하였다.). 그 다음 tracer (I^{125} -labeled hCG)를 200 μ l 씩 분주한 후 (total count는 plastic tube에 분주하였다.) 실온에서 400-600 rpm으로 교반기에서 1시간 반응시켰다. Free form과 binding form을 증류수로 세척하여 분리한 후 γ -counter로 1분간 cpm을 측정하여 표준 곡선에서 농도를 산출하였다.

3) Unconjugated estriol (uE3) 측정

Unconjugated estriol은 RIA-Mat280을 사용하여 방사면역법으로 측정하였다. 시험관과 시약은 실온 상태로 복원시켰다. Total count를 제외한 standard, control, sample을 피복시험관에 50 μ l 씩 분주하였다 (단, NSB는 plastic tube에 분주하였다.). 그 다음 tracer (I^{125} -labeled uE3)를 500 μ l 씩 분주한 후 (total count는 plastic tube에 분주하였다.) 실온에서 400-600 rpm으로 교반기에서 1시간 반응시켰다. Free form과 binding form을 증류수로 세척하여 분리한 후 γ -counter로 1분간 cpm을 측정하여 표준 곡선에서 농도를 산출하였다.

4) Dimeric inhibin-A (DIA) 측정

DIA는 EL 800 (Bio-tek, USA)을 사용하여 효소면역측정법으로 측정하였다. Well과 시약은 실온 상태로 복원시켰다. Standard, control, sample을 coated well에 50 μ l씩 분주했다. 그 다음 sample buffer A를 50 μ l씩 분주했다. 또 sample buffer B를 50 μ l씩 분주했다. 실온에서 500-700 rpm으로 교반기에서 3시간 반응시켰다. Washing액을 이용한 automatic washer에서 6번씩 세척했다. 미리 제조해 놓은 antibody-enzyme conjugated 용액을 100 μ l씩 분주한 후 실온에서 500-700 rpm으로 교반기에서 1시간 반응시켰다. Washing액을 이용한 automatic washer에서 6번씩 세척했다. 100 μ l씩 TMB chromogen 용액을 분주한 후 빛을 차단하여 실온에서 500-700 rpm으로 교반기에서 15분간 반응시킨 후 100 μ l씩 stopping 용액을 가한 다음 30분 이내에 reader (450nm)에서 농도를 산출했다.

5) 통계처리 프로그램

Program-Hamchoon-US (Quadratic regression analysis)를 이용하였다.

III. 결 과

본 검사에 사용된 재료는 2004년 7월 1일부터 2004년 9월 30일까지 총 28,633 건을 대상으로 하였다. 이중 35세 이상의 검체는 2,140 건으로 7.4%를 차지하였으며 임신 14주부터 23주 미만으로 산출하였다 (Table 1).

Table 1. Multiple of median (MoM) value of second trimester

	Sample size	MoM
α -fetoprotein	28,192	1.036
Total hCG	27,886	0.971
Unconjugated estriol	27,885	1.151
Dimeric inhibin-A	3,070	0.910

각각의 검사항목의 임신주수별 중앙값들은 아래의 Table 2, 3, 4, 5 와 같다.

모체혈청 내의 α -fetoprotein 의 주수별 중앙값은 주수가 증가함에 따라 농도 값이 증가하는 경향을 보였다.

Table 2. Observed median of α -fetoprotein (AFP)

Weeks	Sample size	Observed median (IU/ml)	%
14	438	32.86	1.55
15	4,334	37.55	15.37
16	10,867	43.80	38.54
17	8,112	48.46	28.77
18	3,085	55.74	10.94
19	898	64.36	3.19
20	299	77.80	1.06

또한 모체혈청 내의 total hCG의 주수별 중앙값은 주수가 14주를 기점으로 증가함에 따라 농도 값이 감소하는 경향을 보였다.

Table 3. Observed median of T-hCG

Weeks	Sample size	Observed median (IU/ml)	%
14	418	54.37	1.50
15	4,294	41.51	15.40
16	10,779	32.76	38.65
17	8,051	27.97	28.87
18	3,041	25.07	10.90
19	865	22.91	3.10
20	284	21.21	1.02

모체혈청 내의 unconjugated E3의 주수별 중앙값은 주수가 증가함에 따라 농도 값이 증가하는 경향을 보였다.

Table 4. Observed median of unconjugated E3 (uE3)

Weeks	Sample size	Observed median (nmol/l)	%
14	418	3.45	1.50
15	4294	4.51	15.40
16	10779	6.01	38.65
17	8051	7.61	28.87
18	3040	9.57	10.90
19	865	11.67	3.10
20	284	13.64	1.02

그 반면에 모체혈청 내의 DIA의 주수별 중앙값은 14 주를 기점으로 주수가 증가함에 따라 농도 값이 감소하여 18주에 최저값을 보이면서 다시 주수가 증가함에 따라 상승하는 경향을 보였다.

Table 5 . Observed median of inhibin-A

Weeks	Sample size	Observed median (pg/ml)	%
15	436	168.65	14.41
16	1,222	154.69	40.40
17	947	147.32	31.31
18	319	146.71	10.55
19	80	148.48	2.64
20	21	161.59	0.69

이 Quad test 중 inhibin-A에는 임신 14주부터 농도 값이 점차 감소하는 경향을 보이다가 임신 18주에서는 최저점에 도달하였다. 그리고 다시 임신 주수가 증가함에 따라 농도가 상승하는 경향을 보였다(Fig. 1). 이러한 pattern은 기존의 AFP나 hCG, uE3 처럼 감소 또는 증가하는 pattern과는 매우 상이한 결과를 보였다.

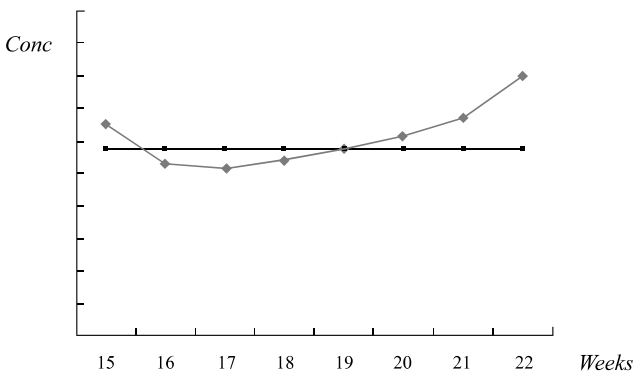


Fig. 1. Gestational age median value of inhibin-A.

IV. 고 찰

Inhibin은 transforming growth factor- β super family의 한 종류로 뇌하수체에서 생성되는 여포 자극 호르몬의 분비를 억제하는 heterodimeric 단백질으로 inhibin-A와 inhibin-B로 구성되어 있다. Inhibin-A는 α -subunit과 β_A -subunit로 이루어져 있으며, inhibin-B는 α -subunit과 β_B -subunit로 이루어져 있다. 이들의 subunit들이 유리형으로

혈액 속에 존재하기는 하나, 두 subunit가 결합되어야만 bioactive하다 (Wald 등, 1996). 이 중 inhibin-A는 생리주기와 임신초기에 corpus luteum에서 생성되며 생리가 시작되는 early follicular phase 때는 매우 낮은 농도로 존재한다 (Robertson DM 등, 1996). 임신 중 inhibin-A는 임신 10주경부터 corpus luteum의 쇠퇴로 인해 점차 농도가 감소하지만 17주 이후부터는 태반이 증가하여 다시 농도가 증가하는 bimodal pattern을 보이게 되며, 만삭 때가 되면 정점에 도달하게 된다.

임신 중 주요기능은 자세히 알려져 있지 않으나 태아와 태반의 발달에 관여하는 것으로 생각되는 (Wald 등, 1996) inhibin-A는 인종이나 insulin 투여 여부에 영향을 받지 않고 오직 산모의 체중에만 영향을 받는 안정적인 표지자로 인정된다. 다운증후군을 가진 산모의 혈청에서 inhibin-A의 수치가 높게 검출되었으며, 그의 중앙값은 1.79 MoM에 이른다 (Wald 등, 1996). 이 inhibin-A를 Quad test로 이용하였을 때 5%의 위양성률에서 다운증후군 발견율이 70%를 보였다 (Wald 등, 1996).

V. 결 론

1984년 모체혈청을 이용한 다운증후군 검진이 실용화되면서 산전 기형아 검진은 산전 진찰 과정의 하나로 간주되어 왔다. 90년대 초반에 이르러 모체 혈청의 AFP 이외에 total hCG, 혹은 free β hCG, uE3이 다운증후군 검진에 이용되면서 Triple marker screening의 시대가 열리기 시작했다. AFP 단독에 의한 다운증후군 발견율 35-40%보다 훨씬 높은 60-65%의 발견율을 기록한 Triple marker는 이미 한국 내 산모들이면 필수적으로 받아야 하는 검사 항목이 되었다. 임신 중 검진 프로그램으로 현재로서는 가장 훌륭한 성과를 거두고 있는 Triple marker는 검진의 기본 개념을 바탕으로 향후보다 나은 검진법으로 거듭나기 위해서는 추가적인 표지물질이나 소견이 절대적으로 필요하다. 이에 부합하여 이후 여러 marker들을 이용하는 다양한 분석방법이 다운증후군 검진을 위해 조사 연구되었으나 우리나라 실정상 DIA를 도입한 분석법인 Quadruple marker screening (일명 Quad test)가 가장 실현 가능한 검사법으로 여긴다.

이는 Triple marker에 비해 다운증후군 발견율이 78~80%에 달하는 것으로 향후 Triple marker의 대체 검진법으로 기대하고 있다. Triple test에 비해 거의 70-80%에 달

하는 다운증후군 발견율을 보이는 inhibin-A를 사용한 Quad test 분석법은 기존의 Triple test 보다 양수검사를 통한 사산의 횟수를 감소시킬 검사법으로 향후 Triple test 를 대체할 수 있는 검사법으로 기대할 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

1. Aitken DA, Wallace E M, Crossley JA. Dimeric inhibin-A as a marker for Down's syndrome in early pregnancy. *N Engl J Med* 334:1231-1236, 1996
2. Canick JA, Rish S. The accuracy of assigned risks in maternal serum screening. *Prenat Diagn* 18:413-415, 1998
3. Danforth D R. Inhibin-A direct marker of ovarian aging. *Fert & Sterility* 70(1):119-123, 1998
4. Groome NP, O'Brien M. Immunoassays for inhibin and its subunits: Further applications of the synthetic peptide approach. *J Immunol Methods* 165:167-176, 1993
5. Groome NP, et al. Detection of dimeric inhibin throughout the human menstrual cycle by two-site enzyme immunoassay. *Clin Endocrinol* 40(6):717-723, 1994
6. Muttukrishna SI. Measurement of serum concentrations of inhibin-A, β dimer during human pregnancy. *Clin Endocrinol* 42:391-397, 1995
7. Onda T, Tanaka T, Takeda O, Kitigawa M, Kuwabara Y, Yamamoto H, Jinuma K, Shimomura K. Agreement between predicted risk and prevalence of Down syndrome in second-trimester triple-marker screening in Japan. *Prenat Diagn* 18:956-958, 1998
8. Robertson DM. Inhibin forms in human plasma. *J Endocrinol* 144:261-269, 1995
9. Spencer K, Wallace E M, Ritoe S. Second trimester dimeric inhibin-A in Down's syndrome screening. *Prenat Diagn* 16:1101-1110, 1996
10. Vale WW, et al. The inhibin/activin family of hormones and growth factors. In Speron MA, Roberts AB. Peptide growth factors and their receptors. pp211-248, Handbook of experimental physiology, Springer-Verlag, Berlin, 1990
11. Wald NJ, Densem JW, George L, Muttukrishna S, Knight PG. Prenatal screening for Down's syndrome using inhibin-A as a serum marker. *Prenat Diagn* 16:143-153, 1996
12. Wald NJ, Watt HC, Hackshaw AK. Integrated screening for Down's syndrome based on tests performed during the first and second trimesters. *N Engl J Med* 341:461-467, 1999
13. Wald NJ. Prenatal screening for Down syndrome using inhibin-A as a serum marker. *Prenatal Diagnosis* 16:143-153, 1996