

면역비탁법에 의한 HbA1c의 참고범위 설정

성균관의대 강북삼성병원 진단검사의학과

김재섭 · 박기현 · 유선우 · 이범희

Obtaining Reference Intervals of HbA1c by Immunoturbidimetry

Jae-Sub Kim, Ki-Hyun Park, Sun-Woo Yu, and Bum-Hee Lee

Department of Laboratory Medicine, Kangbuk Samsung Hospital, Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul 110-746, Korea

HbA1c is the major fraction of glycosylated hemoglobin, and used primarily to identify the average plasma glucose concentration over prolonged periods of time, mostly 2-3 months. It is used as markers for the diagnosis and monitoring of diabetic patients and increasingly used a marker in health screening check up for general populations. In this study, HbA1c was measured with Cobas integra 800 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), using immunoturbidimetry principles. We established the reference interval for HbA1c with Cobas integra 800 and evaluated its significance. The study subjects were 36,140 (male 57.5%, and female 42.2%) who visited the Health Promotion Center of a tertiary care center in Seoul for health checkup from January to September, 2008. HbA1c levels were measured with immunoturbidimetric method. Statistical evaluation was done with SPSS. Comparison between male and female was checked with Mann-Whitney test, and among age groups with Kruskal-Wallis test. Reference interval for HbA1c was from 4.8% to 6.1%. There was no significant difference between male and female with Mann-Whitney test ($P=0.539$). There was significant difference among age groups with Kruskal-Wallis test ($P<0.05$). Reference interval for HbA1c with Cobas integra 800 was 4.8~6.1%, which was different from conventional one, 4.4-6.4%. Establishment of reference interval for each principle is needed.

Received 23 April 2008/Returned for modification 3 June 2009/Accepted 25 June 2009

Key Words : Reference interval, HbA1c, Immunoturbidimetry.

I. 서 론

당뇨병은 인슐린의 작용부족에 의한 당대사 질환으로

서 고혈당을 초래하여 요 중으로 당이 비정상적으로 과잉 배설되는 질병으로, 사회, 경제적 수준의 향상과 더불어 그 발생이 증가하는 것으로 알려진 대표적인 성인병 중 하나이다. 증상은 유전적 요인에 의한 당뇨병 발병률이 30% 정도를 차지하고 환경적 요인과 유전적 요인을 가진 사람에게 여러 가지 요인의 작용으로 당뇨병이 나타났다(민, 1992; 김 등, 1995; Benjamin과 Sacks, 1994).

교신저자 : 김재섭. (우)110-746 서울시 종로구 평동 108번지 강북삼성병원 진단검사의학과
TEL : 02-2001-2376, 010-8874-2756
E-Mail : ascp@hanmail.net

지속적인 혈당조절을 위한 당뇨병 관리의 기준이 되는 지표에는 여러 가지가 있지만 그 대표적인 것으로 공복 혈당, 경구 당 부하 검사, 식후 2시간 혈당, 당화혈색소(HbA1c) 등이 있다(Koenig 등, 1976a). 1970년대 중반 이후 당화혈색소의 측정이 가능하게 되고 당화혈색소가 혈당과 상호관련이 있음이 알려진 이후 임상에서 당화혈색소는 당뇨병 조절의 감시지표, 당뇨병 조절과 당뇨병 합병증의 발생에 관한 지표, 당뇨병의 진단의 지표로서의 유용성이 검토되어 왔다(Koenig 등, 1976b). 당화혈색소는 최근 2~3개월간의 평균 혈당조절상태를 반영하는 중장기 표지자로서 당뇨의 진단 및 치료경과 관찰에 이용될 뿐만 아니라 건강검진의 한 종목으로 일반인의 대한 검사 시행도 급증하고 있다(이와 김, 2003).

당화혈색소를 측정하는 방법에는 전하차이에 근거한 이온교환 크로마토그래피법(ion-exchange chromatography), 고성능액체크로마토그래피법(high performance liquid chromatography), 전기 영동법(electrophoresis), 등전점 전기영동법(isoelectric focusing) 등과 구조적 차이에 근거한 친화성크로마토그래피법(affinity chromatography)과 면역분석법(immunoassay)이 있다. 그 밖에 화학적 분석법으로는 광도분석법(photometry)과 분광분석법(spectrophotometry)이 있다. 결과는 방법에 상관없이 총 헤모글로빈에 대한 백분율로 표현 된다(Burtis 등, 2006).

임상검사가 질병을 진단하고 치료경과를 파악하는 데 이용되기 위해서는 정상인에 있어서 각 검사항목의 측정의 변동 즉 참고범위를 알아야 한다. 각 검사 항목의 범위는 인종, 성, 연령 및 생활환경에 따라 변동할 뿐만 아니라 각 검사실의 검사방법, 시약 및 측정기구에 의해서도 영향을 받는다. 그러므로 검사실마다 그 검사실에서 채택한 검사방법, 시약 및 측정 기구를 사용하여 참고범위를 정하는 것이 원칙이다. 그렇지만 참고범위를 정하는 데는 막대한 노력과 시간 및 비용이 들어간다. 그러므로 각 검사항목의 참고범위를 교과서, 논문 또는 시약의 설명서에 기재된 것을 사용하고 있는 경우가 적지 않다. 참고범위는 사용하는 기기 등에 의하여 어느 정도 차이가 있다. 어떤 집단의 참고범위는 일정한 폭이 있으므로 다른 집단의 개체에 따라서는 정상인 경우도 있으며 반대로 참고범위 내에 있지만 이상인 경우도 있다. 그러므로 각 검사실마다 검사항목에 관한 검사실 고유의 참고범위

를 갖는 것이 바람직하다.

그러므로 본 연구에서는 20세~60세 사이의 건강한 성인 남녀를 대상으로 면역분석법의 하나인 면역비탁법(immunotubidimetry)으로 HbA1c 검사를 하였고, 그 성적을 통계적으로 처리하여 참고범위를 산출하여 의미 있는 성적을 얻었기에 이를 보고하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 대상

서울의 모 종합병원 건강검진센터에서 2008년 1월 1일부터 9월 31일까지 건강검진을 받은 20세 이상 60세 이하 수진자를 대상으로 하였다. 이들의 성별 분포는 남자가 20,894명(57.8%), 여자가 15,246명(42.2%)이었고(Table 1), 연령분포는 20대 1,559명(4.3%), 3대 13,733명(38.0%), 40대 14,988명(41.5%), 50대 5,860명(16.2%)이었다(Table 2).

2. 방법

Integra 800 자동분석기(Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)를 이용하여 당화혈색소를 측정하였다. Integra 800에 적용된 면역비탁법은 검체 중의 항원(측정물질)에 대응하는 항체(또는 항체가 코팅된 미세입자)를 가하면, 항원 항체 반응에 의해 항원-항체 복합물이 생성되고, 이 복합물의 탁도는 검체 중의 물질량, 즉 항원량과 비례한다. 이 탁도를 측정해 기준 농도의 표준물질에 의해 작성된 검량선과 비교하는 것으로 농도를 측정한다.

3. 통계처리

수집된 자료는 SPSS(Statistical Package for the Social Sciences, for window 16.0)프로그램을 이용하여 통계학적 분석을 하였다. HbA1c 측정값에서 1/3법칙(CLSI, 2000)에 따라 outlier를 제거한 후 측정값 혹은 log 변환값을 Kolmogorove-Smirnov(K-S)분석을 통해 자료가 비정규분포로 확인됨에 따라 비모수법(2.5-97.5%)을 이용하였다. 또한 성별, 연령별로 평균값, 표준편차, 백분율 등을 구하였다. 남녀 간의 차이는 Mann-Whitney test로 분석하였고, 연령별 차이는 Kruskal-Wallis test로 분석하였다. 모든 통계분석 결과는 유의수준 0.05 이하에서 통계적으

Table 1. Comparison of HbA1c values and reference intervals according to gender

Sex	N	HbA1c (%)			Reference intervals*	P-value
		Mean	±	SD		
Male	20894	5.31	±	0.252	4.8 - 6.1	0.539
Female	15246	5.30	±	0.248	4.8 - 6.1	
Total	36140	5.31	±	0.251	4.8 - 6.1	

* Reference intervals of HbA1c was determined by the 2.5th and 97.5th percentiles of the underlying distribution of reference values.

로 유의하다고 판단하였다.

차이가 없었다(P=0.539)(Table 1).

III. 결 과

당화혈색소 결과 값은 K-S 분석결과 정규분포를 나타내지 않았으며(P<0.05)(Fig 1.), 따라서 비모수 검정을 통해 참고범위를 설정하였다.

1. 남, 녀 간의 차이

전체 36,140명의 HbA1c 결과는 평균 5.31(±0.251)%로 나타났고, 이 중 남자 20,894명(57.8%)의 결과는 평균 5.31(±0.252)%로 나타났고, 여자 15,246명(42.2%)의 결과는 평균 5.31(±0.248)%로 나타냈다. 설정된 참고범위가 남자, 여자 그리고 전체 집단에서 모두 동일하게 4.8~6.1%로 나타났으며 Mann-Whitney test결과 남녀간의 유의한

2. 연령별 차이

전체 36,140명 중 연령대별 분포는 20대가 1559명(4.3%)이고 당화혈색소 결과는 5.19(±0.197)%, 30대가 13,733명(38.0%)이고, 결과는 5.26%(±0.231)%, 40대가 14,988명(41.5%)이고 결과는 5.32%(±0.254)%, 50대가 5,860명(16.2%)이고 결과는 5.41%(±0.261)%로 나타났다. 참고범위는 20대 4.9~6.1% 30대 4.8~6.1%, 40대 4.8~6.1%, 50대 4.8~6.0%였고, 검정결과 연령별로 유의한 차이가 있었다(P<0.05)(Table 3).

3. 참고범위

종합해 볼 때 총인원은 36,140명이고, HbA1c 결과는 5.31(±0.251)%로 참고범위는 4.8~6.1%로 나타났으며, 현재 사용하고 있는 참고범위 4.4~6.4%와는 다소 차이가 있었다.

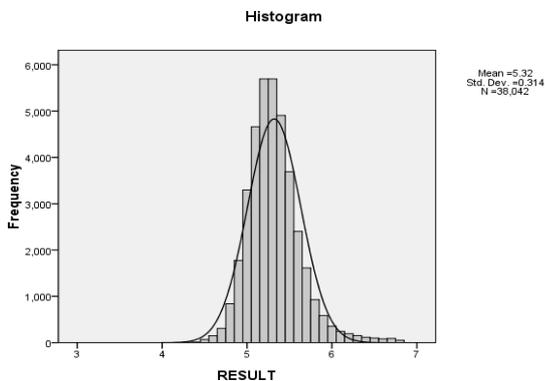


Fig 1. The distribution of HbA1c value in health check-up group by Cobas Interga 800

IV. 고 찰

HbA1c는 최근 1~3개월간의 평균적인 혈당조절 상태를 반영하며, 특히 가장 최근 1개월간의 혈당 변화를 잘 반영한다. 고농도의 포도당하에서 비효소적 반응에 의해 포도당이 혈색소에 부착되어 HbA1c가 생성된다. HbA1c는 당화혈색소 즉 HbA1 중 가장 많은 부분을 차지하며(약 80%), 포도당이 혈색소 베타사슬(β -chain)의 N말단에 있는 아미노산인 발린(valine)에 결합한 것이다. 정상인의 참고범위는 약 4.5~6.5%이나 이런 정상범위는 측정법간

Table 3. Comparison of HbA1c values and reference intervals according to age group

Age groups	N	HbA1c (%)			Reference intervals*	P-value
		Mean	±	SD		
20-30	1559	5.19	±	0.197	4.9 - 6.1	
31-40	13733	5.26	±	0.231	4.8 - 6.1	
41-50	14988	5.32	±	0.254	4.8 - 6.1	
51-60	5860	5.41	±	0.261	4.8 - 6.0	
Total	36140	5.31	±	0.251	4.8 - 6.1	<0.05

* Reference intervals of HbA1c was determined by the 2.5th and 97.5th percentiles of the underlying distribution of reference values.

의 편차 및 표준화의 어려움 때문에 각각의 검사실에 일괄적으로 적용할 수 없다.

HbA1c의 검사법은 크게 NGSP(National Glycohemoglobin Standardization Program) 법과, IFCC(International Federation of Chemistry Clinical Chemistry) 법으로 분류할 수 있다. IFCC 법은 Hb의 N-말단의 발린에 당이 결합된 HbA1c를 측정하는 방법이고, NGSP 법은 다른 당화 Hb이나 Hb 변체 등에 영향을 받기 때문에 IFCC 법이 참값에 더 가깝다고 볼 수 있다. 대부분의 치료 및 검사기관에서 NGSP 법 결과에 익숙해져 있고, IFCC 법의 결과도 NGSP 법의 결과로 변환하여 보고하고 있다. 이때 결과 변환 공식으로는 $NGSP\ HbA1c\% = 0.915 * IFCC\ HbA1c\% + 2.15$ 를 사용하고 있다. NGSP HbA1c%와 IFCC HbA1c% 결과는 1.79~1.90%의 차이를 보인다고 보고되었다(이 등, 2007).

국내 HbA1c 외부정도관리 조사결과 면역분석법을 이용한 Cobas Integra HbA1c를 채택한 검사실의 평균농도는 정상인 혈액에서 5.5% 변이계수 3.7%이었고, 고농도 정도관리물질에서 평균농도는 9.5%, 변이계수는 3.9였고, HPLC법을 이용한 Variant II를 채택한 검사실의 평균농도는 정상인 혈액에서 5.3%, 변이계수는 2.2%였으며, 고농도 정도관리 물질에서 평균농도는 9.9% 변이계수는 2.4%로 나타났다(송, 2007). 현재 세계적인 표준화 방향은 IFCC의 참고방법을 통한 표준화와 미국 NGSP의 비교방법을 통한 표준화 등 두개의 큰 틀이 있다. 두 방법 간의 장단점이 있으나 장기적으로 보면 참고방법을 통한 IFCC 표준화가 대세일 것이다(송, 2007).

본 연구에서는 2008년 1월부터 9월까지 건강한 성인을

대상으로 HbA1c 결과값을 분석한 결과 남녀간에는 유의한 차이가 없는 것으로 나타났으며, 연령별은 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다. 검사 결과 평균 5.31, 표준편차 0.251로 나타났고, 비모수법(2.5~97.5%)으로 참고범위로 설정하면 4.8~6.1%로 Charuruks 등(2005)의 연구에서 평균 5.47, 표준편차 0.34, 참고범위 4.79~6.15%와 비슷한 결과를 나타냈다. 현재 본 연구를 수행한 검사실에서 사용하고 있는 참고 범위는 4.4~6.4%로 Charuruks 등의 연구를 기초로 시약회사에서 권장한 참고 범위이다. 이는 외국인의 참고 범위이기 때문에 한국 사람의 참고 범위 적합하지 검증할 필요성을 느껴본 연구를 시행하였고, 결과적으로 본 연구에서는 참고범위를 4.8~6.1% 정도로 설정하는 것도 고려해 볼 필요가 있음을 알게 되었다.

김 등(2008)의 연구에 따르면 당뇨병이 없는 일반인에서, HbA1c가 5.25~5.55% 이상일 때는 대사증후군 및 당뇨병의 전단계이며 심 혈관 질환 발생의 위험성을 지니는 공복혈당 장애에 대한 평가와 관리가 이루어져야 한다고 제안하고 있고, Dilley 등(2007)은 HbA1c를 대사증후군 발병을 예측할 수 있는 요소로 제안하며 그 기준치를 5.6%(sensitivity 67.6%, specificity 55.7%)로 제시하였다. 그러므로 HbA1c 참고범위 설정에서 대사증후군 및 당뇨병 전단계이며 심 혈관질환 발생의 위험성이 증가되는 기준치를 설정하여 선별검사로 이용할 수 있는 연구도 필요할 것으로 사료된다.

본 연구에서는 공복혈당이나 경구 당 부하 검사 등이 시행되지 않아서 진단되지 않은 당뇨병이나 내당능 장애를 가진 사람들이 포함되어 있을 가능성이 있으며,

HbA1c는 결과의 표준화가 어렵고 빈혈 등 혈색소에 영향을 미칠 수 있는 질환에 따라 그 수치가 정확히 검사되지 않을 수 있다는 제한점이 있으므로 다른 검사와 병행하여 더 많은 연구가 시행되어야 적용 가능한 좀 더 정확한 참고 범위 얻을 수 있을 것이다.

참고문헌

1. Benjamin RJ, Sacks DB. Glycated protein up date. Implications of recent studies, including the diabetes control and complication trial. *Clin Chem* 40:683-687, 1994.
2. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics 4th ed. Elsevier Saunders, St. Louis, US, 2006.
3. Charuruks N, Milintagas A, Watanaboonyoungcharoen P, Ariyaboonsiri C. Determination of reference intervals of HbA1C (DCCT/NGSP) and HbA1C (IFCC) in adults. *J Med Assoc Thai* 88(6):810-816, 2005.
4. Dilly J, Ganesan A, Deepa R, Deepa M, Sharada G, Williams OD, Mohan V. Association of A1c with cardiovascular disease and metabolic syndrome in Asian indians with normal glucose tolerance. *Diabetes Care* 30:1527-1532, 2007
5. Koenig RJ, Peterson CM, Kilo C, Williamson JR. Hemoglobin A1c as an indicator of the degree of glucose intolerance in diabetes. *Diabetes* 25:230-232, 1976a.
6. Koenig RJ, Peterson, Jones RL, Audek C. Lehrman M, Cerami A. Correlation of glucose regulation and hemoglobin A1C in diabetes mellitus. *N Engl J Med* 295:417-420, 1976b.
7. 김동현, 안윤옥, 최문기, 김대성, 이무송, 신명희, 배종면. 우리나라 성인 남성 당뇨병의 발생양상과 위험요인에 관한 전향적 코호트 연구. *예방의학회지* 32(4): 526-537, 1995.
8. 김진화, 최소라, 이재록, 신지혜, 이상준, 한미아, 박종, 배학연, 김상용. 당뇨병이 없는 성인에서 심 혈관 질환 위험요소 및 대사증후군과 당화혈색소의 상관관계. *당뇨병* 32(5):435-444, 2008.
9. 민현기. 한국인 당뇨병의 임상적 특성. *당뇨병* 16(3): 163-174, 1992.
10. 송정환. HbA1c 검사의 국내 현황 및 표준화 방향. *대한진단검사의학회지* 27(부록2):S426-S432, 2007.
11. 이수연, 김종원. Tosoh HLC-723 G7 Hemoglobin A1c 분석기 평가. *대한진단검사의학회지* 23(3):180-185, 2003.
12. 이진영, 홍기숙, 최영희. HbA1c 의 NGSP 결과와 IFCC 결과의 비교. *대한진단검사의학회지* 27(부록 2):S455, 2007.