

## 전립선특이항원검사 Kit에 의한 정액의 신속 검출법

대구지방경찰청 과학수사계<sup>1</sup>, 순천성가롤로병원 진단검사의학과<sup>2</sup>

임 채 원<sup>1</sup> · 이 종 훈<sup>1</sup> · 김 형 락<sup>2</sup>

### Forensic Evaluation of Prostate-Specific-Antigen (PSA) Rapid Test Kit for Identification of Human Semen

Chae-Won Lim<sup>1</sup>, Jong-Hoon Lee<sup>1</sup> and Hyung-Lak Kim<sup>2</sup>

*Department of Scientific Investigation Section, Daegu Metropolitan Police Agency, Daegu, 706-705, Korea<sup>1</sup>  
Department of Laboratory medicine, Suncheon St. Garollo Hospital, Suncheon, 540-719, Korea<sup>2</sup>*

It would be one of the most important tests that determination of semen in crime scene as a matter of significant evidences. Recently, it has been developed for the identification of semen in forensic specimens which was used simply, easily and reproductively. In this study, Prostate-Specific-Antigen (PSA) Rapid Test kit was evaluated for the forensic identification of semen and compared with one step semen inspection forensic rapid test kit. The sensitivity and specificity of the rapid PSA kit were examined in addition to the stability of PSA. The positive band of rapid PSA kit shown even with 1,000,000-fold diluted semen, which was at least 100 times higher than qualitative one step semen inspection forensic rapid test kit. PSA was detected in urine from normal male adult, however, it was not detected in urine from young boys and female body fluids. It was shown that PSA was very stable to resist boiling for 20 minutes and the effect of bacteria. In crime scene investigation, rapid PSA kit is expected to help to identify semen easily in the evidences.

Received 6 April 2009/Returned for modification 3 June 2009/Accepted 25 June 2009

**Key Words** : Semen, Prostate-Specific-Antigen (PSA), Sensitivity, Specificity, Stability

### I. 서 론

강간 등의 성범죄와 관련된 증거물들은 DNA 감정 전에 먼저 정액의 존재여부를 검사하게 된다. 현미경을 이용한 정자의 관찰이 가장 효과적이지만 성범죄 현장 증거물 내에는 온전한 형태의 정자가 많지 않은 경우가 있

다. 지금까지 널리 사용되어온 정액 검사법은  $\alpha$ -naphthyl phosphate를 기질로 하여 산성인산화효소(acid phosphatase, ACP)를 정성분석하는 방법이었다. 전립선 산성인산화효소는 1950년 Lundquist가 정액반으로부터 그 활성을 측정 한 이후 정액의 존재를 증명하는데 주로 이용되어왔다(Lundquist, 1950; Shiff, 1978; Hooft와 van de Voorde, 1990). 그러나, 산성인산화효소는 소량이긴 하지만 정액 이외에도 혈액이나 기타 인체분비물에도 존재하기 때문에(Lundquist, 1950; McCloskey 등, 1975; 전 등, 2007) 정액에 대해 보다 높은 특이성을 갖는 검사방법이

교신저자 : 임채원, (우)706-705 대구광역시 수성구 지산동720 대구지방경찰청 과학수사계  
TEL : 053-763-9564, 011-7290-0677  
E-Mail : dlacodnjs@hanmail.net

필요하게 되었다.

전립선특이항원(prostate specific antigen, PSA)은 분자량 34,000 dalton의 serin계 단백질 분해효소로 정액의 응고를 막는 기능을 가지고 있으며, 정액에 과량(0.5~3 mg/mL) 존재하며, 남성의 요에서도 미량 검출된다고 보고되고 있다(임과 박, 2004). 혈장 내 정상 PSA 농도는 0.1~2.6 ng/mL이지만 전립선암 환자의 경우에는 그 수치가 훨씬 높아진다. PSA는 전립선암 검사에 가장 유용하고 믿을만한 것으로 인정받아 왔으며, 법의학 증거물에서 정액의 존재 여부를 검사하는 방법으로도 매우 유용한 것으로 보고되었다(Sato 등, 2002).

PSA는 정액검사에 몇 가지 이상적인 특징을 갖는데, 산성인산화효소의 경우 반감기가 질 내에서 약 14시간인데 비해 PSA는 27시간으로 매우 안정하다고 보고되었다(Graves 등, 1985; 임과 박, 2004). 또한 개와 고양이와 같은 애완동물이나 소, 돼지, 말의 요에서는 PSA가 검출되지 않는다(Hochmeister 등, 1999).

병원에서는 진단검사용으로 면역크로마토그래피 kit(Hochmeister 등, 1999; 임과 박, 2004)를 사용하고 있으며, 이 kit는 PSA 항원과 gold-conjugated monoclonal antibody 사이의 반응으로써 항원-항체 복합체가 모세관 힘으로 이동하다가 막에 고정된 2차 monoclonal antibody와 반응하여 짙은 갈색의 반응선이 나타나게 되는 원리를 사용하여 혈청 내 아주 미량으로 존재하는 PSA를 검출할 수 있다. 최근에는 진단검사용 면역크로마토그래피 kit와 동일한 검출 원리를 이용하여 5분 이내의 짧은 시간에 결과를 볼 수 있고 사용하기 쉬우며 높은 특이성과 민감도를 갖는 법의학 검사용 정액반응검사 kit가 개발되어 사용되고 있다. 그러나 이 kit의 경우 좀 더 정확한 정액반응검사 결과를 도출 할 수는 있으나, 독점생산으로 인한 입찰 경쟁이 되지 않는 비싼 가격의 문제점으로 인하여 실제 현장에서 사용할 때 부담이 많은 것이 현 실정이다.

이 연구에서는 병원에서 전립선암 검사용으로 사용하고 있는 면역크로마토그래피 kit를 이용하여 각종 성범죄 관련 증거물에서 정액의 검출 여부를 평가하고, 기존에 법의학 수사서에서 사용되던 kit의 단점인 고비용의 문제점을 해결하고자 하였다. 또한 PSA test kit의 신속성과 편리성이 사건현장에 이용되어 도움이 될 수 있는지 검토하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 재료

정액검사를 위한 시료로 정액 및 정액반, 남성의 요를 연구 대상으로 하였으며, 증거물 채취 과정에서 가장 많이 혼입될 가능성이 높은 여성의 분비물(요, 타액) 및 여성 혈청은 제공받아 사용하였으며, 상피세포는 여성의 소변으로부터 채집하여 사용하였다. 소변검체는 남성 연령별로 6검체, 여성 연령별로 3검체를 사용하였다.

또한 PSA test kit의 미생물에 대한 안전성을 알아보기 위하여 실제 사건현장에서 채취된 인체 분비물에서 가장 많이 배양, 동정된 *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*의 3 균주(김, 2001)를 순천성가톨릭병원 진단검사의학과 미생물 검사실에서 제공받아 사용하였다.

### 2. 검사방법

이 연구에서는 Semen inspection rapid test kit(Standard Diagnostics Inc., Yongin, Gyeonggi-Do, Korea)와 Prostate specific antigen test kit(Asan Pharm Co. Ltd, Seoul, Korea) 두 가지 kit를 이용하였다. 각 kit의 사용설명서에 따라 시행하였으며 다만 전개액으로 0.1% Tween 20과 0.1% Triton X-100을 사용하여 민감도에 미치는 영향을 살펴보았다. 어떠한 반응도 나타나지 않은 경우에는 재시험을 하였다. 또한 hook 효과에 의해 위음성을 나타내는 결과를 방지하기 위하여 검체를 충분히 희석하여 사용하였다.

### 3. 민감도(sensitivity)

정액검사 kit(Semen inspection rapid test kit)와 전립선특이항원검사 kit(PSA test kit)의 민감도 비교를 위해 정액을 증류수를 이용하여 연속적으로 10배씩 6 단계로 계단희석하여 사용하였다.

### 4. 특이성(specificity)

정액검사 kit와 전립선특이항원검사 kit의 특이성 조사를 위해 먼저 연령별로 제공받은 남성의 요와 정액 내 함유된 남성의 전립선특이항원 외에 다른 물질에 의한 위양성이나 위음성 등의 교차반응 여부를 관찰하고자 하였

**Table 1.** Detection-sensitivity of a semen by semen inspection rapid test kit and PSA rapid test kit

Test	Concentrations							
	1x	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	
Semen inspection test kit with 0.1% Tween 20	-	+	+	+	+	±	±	
Semen inspection test kit with 0.1% Triton X-100	-	+	+	+	-	-	-	
PSA test kit with 0.1% Tween20	-	+	+	+	+	+	+	
PSA test kit with 0.1% Triton X-100	-	+	+	+	+	+	+	

다. 증거물 채취 과정에서 가장 많이 혼입될 가능성이 높은 여성의 요와 여성혈청, 타액, 질 상피세포 등의 인체분비물을 멸균 증류수를 이용하여 10배씩 계단희석하여 사용하였다.

상피세포는 여성의 소변 검체 중 상피세포 함유가 많은 검체로부터 다음과 같이 채집하였다. 현미경(×400, ×1000)으로 관찰하여 혈액 혼입 및 cast, 세균 등 및 기타 불순물이 거의 없고 상피세포가 많은 소변 검체를 선택하였다. 3500 rpm으로 원심 분리하여 침전된 상피세포를 사용하였다.

**5. 안정성(stability)**

정액 내의 전립선특이항원은 매우 안정한 것으로 알려져 있다. 이 연구에서는 정액의 보관온도 및 시간에서의 안정성을 실험하기 위해 정액을 증류수에 100배 희석하여 다양한 온도(-20℃, 4℃, 상온, 37℃, 56℃)에서 보관하면서 1주와 2주 후 정액검사 kit와 전립선특이항원검사

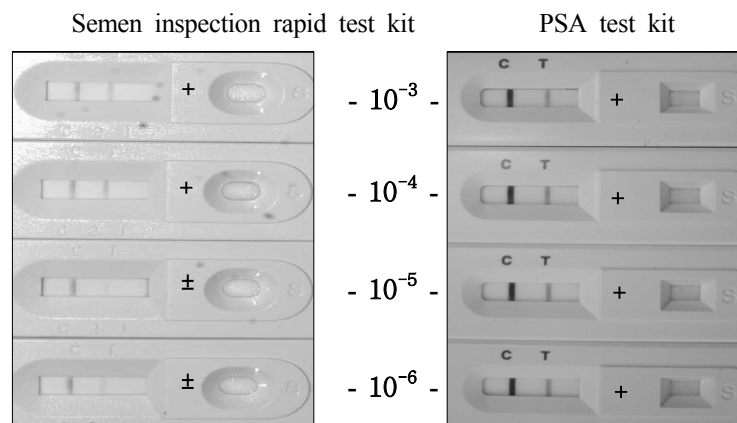
kit에 적용, 반응 결과를 비교하였다. 또한 96℃에서 5분, 10분, 15분, 20분간 끓인 후 검사를 실시하여 열 안정성을 평가하였다.

오염세균에 대한 안정성을 평가하기 위하여 *S. aureus*, *P. aeruginosa*, 그리고 *E. coli*을 멸균 증류수에 0.5 McFaland 탁도로 부유하여 사용하였다. 2007년 1월에 채취하여 상온에서 4개월간 정액반이 아닌 액체 상태로 보관하여 부패시킨 100배 희석한 정액과 균액을 1:1 비율로 혼합한 검체와 혼합하지 않은 균 부유액 두 가지를 각각 정액검사 kit와 전립선특이항원검사 kit에 적용하여 미생물의 영향을 평가하였다.

**III. 결 과**

**1. 민감도(sensitivity)**

PSA test kit는 1,000,000배 희석된 정액 100 μL까지 검출되었는데, 이는 동일한 시료의 정액검사 kit의 결과에



**Fig. 1.** Sensitivity of rapid PSA kit with respect to dilution solution. 0.1% Tween 20 was more effective than 0.1% TritonX-100. The detection limit of PSA kit was determined to 100 μL of 1,000,000-diluted semen, which was at least 100 times higher than Semen inspection rapid test kit.

**Table 2.** Detection-Specificity of a semen by semen inspection rapid test kit and PSA rapid test kit.

Tests	Body fluid		Male urine					Female urine			Saliva	Female serum	Epi. cell*
	Age		10	13	22	36	45	70	12	26			
Semen inspection test kit	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
PSA test kit	±	±	+	+	+	+	±	±	-	-	-	-	-

\* Epithelial cell

비해 100배 이상 높은 것이었다(Table 1, Fig. 1). 정액의 양이 너무 많을 경우 위음성의 반응이 나타나는 것을 확인할 수 있었으며, 이를 방지하기 위하여 정액을 100배 혹은 1,000배 희석하여 재검사한 결과 효과적이었다. 또한 정액 희석액 및 전개용액으로는 비이온성 계면활성제인 Triton X-100에 비하여 Tween 20이 정액검사용 kit의 경우 보다 효과적이었으나 PSA test kit의 경우에는 크게 영향을 받지 않아 민감도에 있어 더 좋은 결과를 보였다(Table 1).

**2. 특이성(specificity)**

사춘기 이후의 남성의 요에서는 정액반응검사 kit와 전립선특이항원검사 kit 모두 양성으로 반응하였으며, 1,000 배 까지 희석된 요에서도 모두 양성반응을 보였다. 그러나 사춘기 이전의 남성의 요와 여성의 요에서는 반응 결과, 정액검사 kit와 전립선특이항원검사 kit 모두 음성이었다. 남성과 여성에 관계없이 타액, 혈청, 상피세포에서는 모두 음성을 보여 증거물 채취 과정에서 가장 많이 혼입되어 위양성이나 위음성 등을 일으킬 수 있는 교차반응의 위험성 없이 정액검사 kit와 전립선특이항원검사 kit 모두 특이성에 있어서는 큰 차이를 보이지 않았다(Table 2).

**3. 안정성(stability)**

온도에 대한 안정성 시험 결과 정액검사 kit와 전립선특이항원검사 kit 모두 14일간의 냉동, 냉장, 실온, 그리고

56℃의 고온의 보관상태에서도 안정된 양성의 결과를 나타내었다(Table 3). 실제 상온에서 보관된 정액반의 경우 4년 후에도 PSA가 검출된다는 연구결과도 있다(Hochmeister 등, 1999; 임과 박, 2004). 열 안정성 시험 결과, 두 방법 모두 20분간의 비등에서도 양성의 결과를 보였다(Table 4, Fig 2). 미생물에 대한 안정성 시험 결과 사건현장에 혼입될 가능성이 많은 3가지 균 부유액 자체는 두 가지 방법에서 모두 음성의 결과를 보였고, 정액과 혼합한 검체에서는 모두 양성의 반응을 보여 크게 미생물의 영향을 받지 않고 안정한 것으로 나타났다(Table 5).

**Table 4.** Heat stability of PSA

Tests	Boiling time (min)			
	5	10	15	20
Semen inspection test kit	+	+	+	+
PSA test kit	+	+	+	+

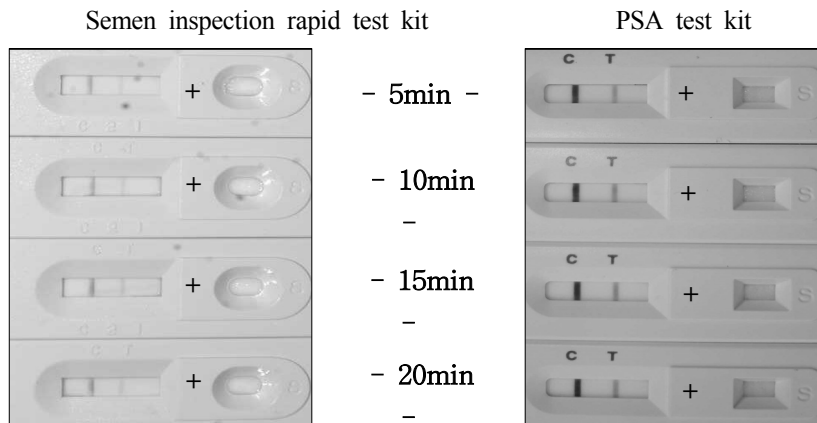
**Table 5.** Effect of bacteria on the stability of PSA

Tests	Bacteria		
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>
Semen inspection test kit			
bacteria only	-	-	-
semen with bacteria	+	+	+
PSA test kit			
bacteria only	-	-	-
semen with bacteria	+	+	+

**Table 3.** Effect of storage temperature on the stability of PSA

Tests	Temperature		-20℃		4℃		RT*		37℃		56℃	
	Days		7	14	7	14	7	14	7	14	7	14
Semen inspection test kit			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PSA test kit			+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

\* RT : room temperature



**Fig. 2.** Effect of boiling on the stability of PSA. 100-fold diluted semen solutions were boiled at 96°C for 5, 10, 15, and 20 minutes. then the stability of PSA was examined using semen inspection rapid test kit and PSA rapid test kit.

#### IV. 고 찰

살인사건이나 강간 등의 강력범죄 및 성범죄와 관련된 현장에 남겨진 증거물에서 정액 유무 감별은 초기 수사 방향 설정 및 사건 해결에 매우 중요한 부분을 차지하고 있다. 현재 모든 성범죄 현장 증거물들은 DNA 감정 전에 먼저 정액의 존재 여부를 검사하게 된다. 현미경을 이용한 정자의 관찰이 가장 효과적이지만 성범죄 현장 증거물 내에는 온전한 형태의 정자가 많지 않은 경우가 대부분이다(임과 박, 2004). 지금까지 널리 사용되어진 정액 검사법은  $\alpha$ -naphthyl phosphate를 기질로 하여 산성인산화효소를 정성분석 하는 방법이었다(임 등, 1999). 그러나, 산성인산화효소는 소량이지만 정액 이외에도 혈액이나 기타 인체분비물에도 존재하기 때문에 정액에 대해 보다 높은 특이성을 갖는 검사방법이 필요하게 되었다(임 등, 1993). 최근에 산성인산화효소를 정성 분석하는 방법보다 특이성과 민감성이 뛰어난 정액검사용 kit가 개발되어 사용되어지고 있으나 시약의 가격이 너무 비싼 단점과 결과를 비교, 분석할 시약이 없는 문제로 신뢰도가 부족하여 사건 현장에서의 활용성이 크게 떨어지고 있는 실정이다.

이 연구에서는 병원에서 전립선암 진단용으로 정액에 과량(0.5~3 mg/mL) 존재하며 혈청 내 아주 미량으로 존재하는 전립선특이항원을 검출하는 PSA test kit를 이용하여(전 등, 2007) 각종 성범죄 관련 증거물에서 정액의 존

재 여부를 증명함으로써 기존 법의학 검사용 정액검사 kit의 문제점을 해결하였으며 전립선특이항원검사 kit의 신속성과 편리성이 사건현장에 이용되어 도움이 될 수 있도록 응용하였다. 전립선특이항원은 전립선암 검사에 가장 유용하고 믿을만한 것으로 인정받아 왔으며, 법의학 증거물에서 정액의 존재 여부를 검사하는 방법으로도 매우 유용한 것으로 보고되었다(Sato 등, 2002). 본 연구 결과에서도 전립선특이항원검사 kit의 민감도는 최소 1,000,000배 까지 희석된 정액도 검출 가능하였으며 기존의 정액검사 kit에 비해 100배 정도의 우수한 민감도를 보여 임과 박(2004)이 보고한 민감도 결과보다 더 우수한 결과를 확인할 수 있었다.

병원에서 검출하고자 하는 혈중 전립선특이항원은 정상 전립선조직 이외에 전립선암, 전립선염과 같은 전립선 질환이나 급성 요폐, 수술 등과 같은 상황에서도 증가할 수 있어 전립선암 진단에서 높은 위양성률을 보일 수 있다고 보고되고 있다(Hudson 등, 1989; Oesterling, 1991; Glenski 등, 1992). 그러나 본 연구에서는 혈중 내 미량의 전립선특이항원 검출을 통한 전립선암 진단 목적이 아닌 혈중 내 전립선특이항원의 수치보다 50배 이상 많은 양의 전립선특이항원을 함유하고 있는 정액을 검출하는데 응용하였으므로 크게 문제가 되지 않을 것으로 판단되어진다. 실제 특이성 시험에서도 임과 박(2004)이 보고한 결과와 같이 성인 남성의 요를 제외한 다른 여러 종류의 인체분비물에 대해서 양성 반응을 나타내지 않았다. 전립

선택이항원 검사kit의 경우 정액이 묻어 있는 기질의 종류(청바지, 면봉, 거즈, 면, 일반종이 화장지, 필터페이퍼 등)에 따라서도 결과가 차이가 없으며, 또한 우리가 흔히 먹는 채소류(무우, 파, 양파, 당근, 마늘, 오이, 배추 등)에 대해서도 교차반응을 보이지 않고 특이성이 뛰어나 정액이 유류된 기질과 여러 가지 채소류 등에 의한 위양성이나 위음성 문제를 해결할 수 있다고 보고되었고(임과 박, 2004) 이는 본 연구에서도 확인되었다. 또한 사건현장에서 채취한 인체분비물에서 *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* 등의 대표적인 미생물을 분리하여 보고한(김, 2001) 연구결과를 근거로하여 미생물에 의한 교차반응을 확인하고자, 이 세 가지 세균을 두 kit에 적용한 결과 전립선 특이항원검사 kit의 경우 미생물과 부패된 정액에 대해서도 전혀 영향을 받지 않았으며, 온도, 열, 보관기간에도 전혀 영향을 받지 않고 양성으로 검출하는 것을 확인함으로써, 정액검사 kit에 비하여 특이성이나 안전성 면에서 우수한 결과를 확인할 수 있었다.

본 연구 결과 병원에서 이용하고 있는 전립선특이항원 검사 kit는 전립선특이항원을 면역크로마토그래피법을 이용해 빠른 시간 내에 쉽게 전립선암을 1차적으로 선별검사를 할 수 있도록 고안된 제품이나 전립선암 진단 목적이 아닌 증거물에서의 정액 검출시험 목적으로 법의학 실험실은 물론 성범죄 등 대부분의 강력사건 현장에서도 사용이 가능할 것으로 판단되었다. 비용 면에서도 기존의 정액검사 kit의 경우 국내 한 회사의 독점 생산으로 인한 입찰 경쟁이 되지 않는 문제로 전립선특이항원검사 kit에 비하여 개 당 10배 정도 가격이 비싼 단점을 가지고 있다. 이는 결국 사건현장에서나 법의학 실험실의 근무자들에게 있어 정액 검출 시험을 실시하는데 큰 부담감으로 작용하고 있다. 이에 민감도에 있어서는 더 우수한 결과를 나타내며, 특이성 및 안정성 등에서 기존 정액검사 kit의 반응결과와 크게 차이를 보이지 않는 등 가격적인 부분에서도 훨씬 저렴한 전립선특이항원검사 kit를 성범죄 관련 증거물에서 정액반응 검사를 실시하는데 적용하면 위의 문제점들은 해결 할 수 있을 것으로 생각된다. 또한 법의학 실험실이나 일선 사건현장, 기타 성폭력 업무 담당부서에서 즉각적인 정액 검출 검사를 실시하는데 실용화 시킨다면 증거 중심의 재판제도인 공판 중심주의를 대비 업무효율성 증대효과로 이어져 사건의 초동수사 및

해결에 많은 도움은 물론 특히 국가 예산절감 효과에 있어 큰 효과를 나타낼 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

1. Graves HC, Sensabaugh GF, Blake ET. Postcoital detection of a male-specific semen protein. Application to the investigation of rape. *N Engl J Med* 312(6):338-343, 1985.
2. Glenski WJ, Malek RS, Myrtle JF, Oesterling JE. Sustained, substantially increased concentration of prostate-specific antigen in the absence of prostatic malignant disease: an unusual clinical scenario. *Mayo Clin Proc* 67:249-252, 1992.
3. Hochmeister MN, Budowle B, Rudin O, Gehrig C, Borer U, Thali M, Dirnhofer R. Evaluation of prostate-specific antigen (PSA) membrane test assays for the forensic identification of seminal fluid. *J Forensic Sci* 44:1057-1060, 1999.
4. Hooft P, van de Voorde H. Comparative study of the sensitivity and specificity of the zinc and acid phosphatase spot tests for the detection of seminal stains. *Z Rechtsmed* 103:581-586, 1990.
5. Hudson MA, Bahnson RR, Catalona WJ. Clinical use of prostate specific antigen in patients with prostate cancer. *J Urol* 142:1011-1017, 1989.
6. Lundquist F. Medicolegal identification of seminal stains using the acid phosphatase test. *AMA Arch Pathol* 50:395-399, 1950.
7. McCloskey KL, Muscillo GC, Noordewier B. Prostatic acid phosphatase activity in the postcoital vagina. *J Forensic Sci* 20:630-636, 1975.
8. Oesterling JE. Prostate specific antigen: a critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. *J Urol* 145:907-923, 1991.
9. Sato I, Sagi M, Ishiwari A, Nishijima H, Ito E, Mukai T. Use of the "SMITEST" PSA card to identify the

- presence of prostate-specific antigen in semen and male urine. *Forensic Sci Int* 127:71-74, 2002.
10. Schiff AF. Reliability of the acid phosphatase test for the identification of seminal fluid. *J Forensic Sci* 23:833-844, 1978
  11. 김광운. 인체분비물 세균배양에 대한 고찰. 국립과학수사연구소연보 33:149-155, 2001.
  12. 임시근, 박기원. PSA 상용검사 kit에 의한 정액의 신속 검출법. 한국법과학회지 5(3):158-161, 2004.
  13. 임시근, 이영애, 이경룡, 김순희, 서지석, 최상규. 산성 인산화효소의 정성분석과 정량분석을 통한 정액의 검출. 국립과학수사연구소연보 31:175-181, 1999.
  14. 임영애, 박애자, 김영선. 전립선암에 있어서 Prostate-Specific Antigen과 Prostatic Acid Phosphate 검사의 진단적 유용성 평가. 대한임상병리학회지 13(4):529-535, 1993.
  15. 전형진, 김영식, 강대룡, 남정모, 김천일, 성도환, 김세중, 전상현, 조인래, 조진선, 홍성준, 최영득. 한국인에서 혈중 전립선특이항원의 연령별 정상치. 대한비뇨기과학회지 47(60):586-590, 2007.