

신생아의 출생 체중에 따른 혈액 여과지 17 α -hydroxyprogesterone의 농도 분석 및 판정 기준 조정

녹십자의료재단

박승만 · 권애린 · 양송현 · 박은아 · 최재황 · 황미정 · 남현경 · 이은희

Analysis and Cut-off Adjustment of Dried Blood Spot 17 α -hydroxyprogesterone Concentration by Birth Weight

Seungman Park, Aerin Kwon, Songhyeon Yang, Euna Park, Jaehwang Choi, Mijung Hwang, Hyeongyeong Nam, Eunhee Lee

Green Cross Laboratories, Yongin, Korea

The measurement of 17 α -hydroxyprogesterone (17 α -OHP) in a dried blood spot on filter paper is an important for screening of congenital adrenal hyperplasia (CAH). Since high levels of 17 α -OHP are frequently observed in premature infants without congenital adrenal hyperplasia, we evaluated cuts-off based on birth weight and performed validation. Birth weight and 17 α -OHP concentration data of 292,204 newborn screening subjects in Greencross laboratories were analyzed. The cut-off values based on birth weight were newly evaluated and validated with the original data. The mean 17 α -OHP concentration were 7.25 ng/mL in very low birth weight (VLBW) group, 4.02 ng/mL in low birth weight (LBW) group, 2.53 g/mL in normal birth weight (NBW) group, and 2.24 ng/mL in heavy birth weight (HBW) group. The cut-offs for CAH were decided as follows: 21.12 ng/mL for VLBW and LBW groups and 11.14 ng/mL for NBW and HBW groups. When applied new cut-offs for original data, positive rates in VLBW and LBW groups were decreased and positive rates in NBW and HBW groups were increased. The cut-offs based on birth weight should be used in the screening for CAH. We believe that our new cut-off reduce the false positive rate and false negative rate and our experience for cut-off set up and validation will be helpful for other laboratories doing newborn screening test.

Key words: Newborn screening, 17 α -hydroxyprogesterone (17 α -OHP), Cut-off

서 론

선천성 부신 과형성증(Congenital adrenal hyperplasia)은 부신에서 스테로이드의 합성에 관여하는 효소의 선천적 결핍에 의해 발생하는 유전질환이다. 21-

hydroxylase (21-OH) 결핍증은 선천성 부신 과형성증의 가장 흔한 원인으로 상염색체 열성으로 유전된다. 21-OH가 결핍되면 17 α -hydroxyprogesterone (17 α -OHP)에서 1-deoxycortisol로의 전환이 일어나지 않아 코티졸 생성이 감소하고 부신피질 자극호르몬(adrenocorticotropic hormone, ACTH) 분비가 증가하여 부신피질의 증식을 유발한다^{1,2)}. 이로 인해 코티졸 전구물질과 남성 호르몬이 대량 생산됨으로써 특징적 임상증상이 나타나게 된다³⁾. 환아가 남자일 경우 조

책임저자: 이은희, 경기도 용인시 기흥구 이현로 30번길 107 녹십자의료재단
Tel: 031)260-9201, Fax: 031)8061-6302
E-mail: ehlee@gclabs.co.kr

기에 음모가 나타나며, 조기 골단 융합으로 작은 신장을 보이며, 여아에서는 외성기 남성화 현상, 음순, 유두, 피부 등의 흑색 변색을 보인다⁴⁻⁷⁾.

한국에서는 선천성 부신 과형성증으로 인한 생명에 위협을 주는 염분 소실성 탈수를 예방하고, 여아에서 조기 에 바른 성 결정을 하기 위해 미숙아를 포함한 모든 신생아에 대해 혈액 여과지를 이용하여 전혈의 17a-OHP를 측정하고 있다. 17a-OHP 농도는 만삭아에 비해 미숙아에서 매우 높아, 동일 기준을 적용할 경우, 미숙아에서 위양성의 비율이 높아지고 만삭아에서 위음성의 비율이 높아질 가능성이 있다. 따라서 신생아의 성숙도를 고려한 17a-OHP cut-off를 적용할 필요성이 있다^{8, 9)}.

과거 여러 연구에서 재태 기간 또는 출생 체중을 구분하여 cut-off를 제시하였으나 각 국가나 검사실마다 인구 집단 및 검사 방법의 차이가 있어 그대로 적용하는데 한계가 있었다. 이에 저자들은 본 검사실의 최근 3년간 신생아 선천성 대사이상 질환 선별검사 결과를 바탕으로 체중별 17a-OHP 결과를 분석하여 신생아 성숙도에 따른 cut-off 결정을 위한 연구를 진행하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2012년 1월 2일부터 2014년 10월 31일까지 녹십

자의료재단에 혈액 여과지를 이용한 신생아 선천성 대사이상 질환 선별검사가 의뢰된 292,204명의 결과를 익명화하여 분석하였다. 이중 체중 기록이 미비된 경우, 체중 1.00 kg 미만인 경우, 체중 5.00 kg 이상인 경우를 제외한 283,123명의 17a-OHP 결과를 체중과 함께 분석하였다.

출생 체중에 따라 1.00-1.49 kg은 최저 체중 출생아(Very low birth weight, VLBW), 1.50-2.49 kg은 저 체중 출생아(Low birth weight, LBW), 2.50-3.99 kg은 정상 체중 출생아(Normal birth weight, NBW), 4.00-4.99 kg은 과체중 출생아(Heavy birth weight, HBW)로 구분하였다(Table 1).

2. 검사 방법

병원에서 혈액 여과지에 전혈을 채취한 후 당일에 녹십자의료재단에 도착하였으며, 다음날 즉시 경쟁적 효소 면역측정법(competitive enzyme immunoassay, EIA, Bio-Rad, UK)으로 17a-OHP를 측정하였다. 검사는 시약 제조사의 안내 및 표준 검사 지침에 따라 시행하였으며 ng/mL 단위를 사용하였다. 기존의 17a-OHP cut-off는 12.0 ng/mL 였으며, 양성율 결과를 바탕으로 주기적으로 검증하였다. 연구기간 동안 17a-OHP cut-off 변동은 없었다. 1차 검사에서 cut-off 이상의 결과를 보인 경우, 동일 검체로 재검하였다. 재검 결과에서 cut-off 미만의 결과를 보인 경우, 재검 결

Table 1. 연도별 출생 체중 구분 및 체중별 17a-OHP 농도

Period	No. (%) of subjects (명)					Mean (SD) of 17a-OHP value (ng/mL)				
	VLBW	LBW	NBW	HBW	Total	VLBW	LBW	NBW	HBW	Total
2012	557 (0.53)	5,869 (5.54)	95,907 (90.48)	3,661 (3.45)	105,994 (100)	6.64 (8.63)	3.75 (3.55)	2.31 (1.93)	2.03 (1.57)	2.41 (2.18)
2013	626 (0.65)	5,829 (6.04)	86,803 (89.96)	3,232 (3.35)	96,490 (100)	7.53 (10.09)	4.13 (3.18)	2.63 (1.55)	2.33 (1.38)	2.74 (1.94)
2014	476 (0.59)	4,862 (6.03)	72,661 (90.11)	2,640 (3.27)	80,639 (100)	7.61 (9.04)	4.21 (3.52)	2.71 (1.58)	2.42 (1.34)	2.82 (1.95)
Total	1,659 (0.59)	16,560 (5.85)	255,371 (90.20)	9,533 (3.37)	283,123 (100)	7.25 (9.32)	4.02 (3.42)	2.53 (1.72)	2.24 (1.45)	2.64 (2.05)

Abbreviations: VLBW, very low birth weight; LBW, low birth weight; NBW, normal birth weight; HBW, heavy birth weight; SD, standard deviation.

과를 보고하였고, 재검 결과에서도 양성인 경우, 재채혈 검체를 요청하여 재채혈 검체를 검사한 결과를 최종 보고하였다.

적용하여 양성율을 재분석하였다.

결 과

3. 통계 분석

통계 분석을 위해 SPSS ver. 18.0 (IBM, US) 프로그램과 Excel (Microsoft, US)을 이용하여 분석하였다. 체중 및 17 α -OHP 결과를 검사 시기별, 체중별 분석하였으며, 이를 바탕으로 신생아 성숙도에 따른 새로운 cut-off를 산출하였다. 새로운 cut-off는 평균 +5SD로 하여 산출하였으며 기존의 17 α -OHP 결과에

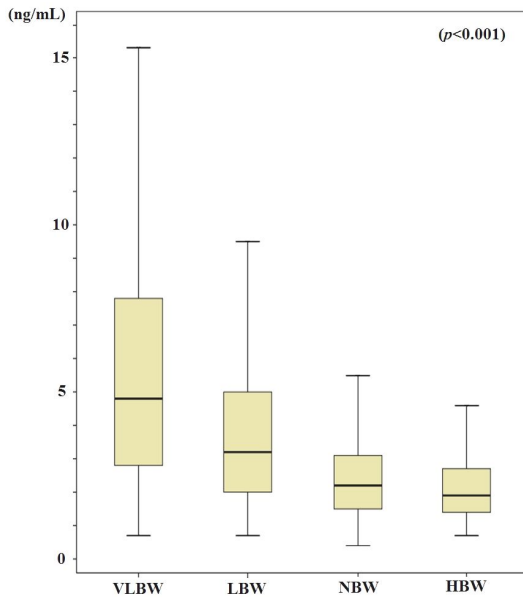


Fig. 1. 체중별 17 α -OHP 농도 분포.

1. 연도별 신생아 체중 분포와 17 α -OHP 농도

연구 기간 동안 VLBW, LBW, NBW, HBW group의 비율은 각각 0.59, 5.85, 90.20, 3.37% 였다. 체중별 17 α -OHP 평균(표준편차)은 VLBW group, 7.25 (9.32) ng/mL; LBW group, 4.02 (3.42) ng/mL; NBW group, 2.53 (1.72) ng/mL; HBW group, 2.24 (1.45) ng/mL였다. 체중이 증가할수록 17 α -OHP 농도와 group내 표본의 표준편차가 낮아지는 양상을 보였으며 group간 평균 비교 분석에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다($P < 0.001$) (Table 1, Fig. 1).

2. 신생아 체중별 cut-off 설정

선별검사의 cut-off 기준을 평균+5SD로 할 때 각 체중별 cut-off는 VLBW group, 53.88 ng/mL; LBW group, 21.12 ng/mL; NBW group, 11.14 ng/mL; HBW group, 9.5 ng/mL 였다. Cut-off는 체중이 증가할수록 감소하였다(Table 2).

3. 재설정 체중별 cut-off의 검증

기존 cut-off, 12.0 ng/mL를 적용했을 때 전체 양성 환자는 552명(0.195%)였으며 group별로 VLBW group, 181명(10.910%); LBW group, 214명(1.292

Table 2. 체중별 cut-off 기준

Wt. group	No. (%) of subjects (명)	17 α -OHP (ng/mL)				
		Median	Mean (SD)	Mean+4SD	Mean+5SD*	Mean+6SD
VLBW	1,659 (0.59)	4.80	7.25 (9.32)	44.55	53.88	63.2
LBW	16,560 (5.85)	3.20	4.02 (3.42)	17.7	21.12	24.53
NBW	255,371 (90.20)	2.20	2.53 (1.72)	9.42	11.14	12.86
HBW	9,533 (3.37)	1.90	2.24 (1.45)	8.05	9.5	10.95
Total	283,123 (100)	2.20	2.64 (2.05)	10.82	12.87	14.91

*Target cut-off values.

); NBW group, 149명(0.058%); HBW group, 8명(0.084%) 였다. 체중이 낮을수록 양성률이 증가하여 VLBW 그룹의 양성률은 NBW 그룹의 양성률 보다 188배에 높았다(Table 3).

체중별 cut-off는 각 group 별로 큰 차이가 있으나, VLBW group과 HBW group은 각각 0.59%, 3.37%로 비율이 낮고, 너무 세분화된 cut-off는 임상사의 해석에 어려움을 유발할 수 있어 VLBW, LBW group에 대해서는 LBW group의 cut-off, 21.12 ng/mL를, NBW, HBW group에 대해서는 NBW group의 cut-off, 11.14 ng/mL를 적용하여 기존 결과를 재분석하였다. 기존의 cut-off는 VLBW group에서 80%ile-90%ile 범위였으나 새로운 cut-off는 VLBW group에서 95%ile-99%ile 범위였으며, 기존의 cut-off가 LBW, NBW, HBW group에 따라 percentile value는 크게 변하는데 비하여, 새로운 cut-off는 LBW, NBW, HBW group 모두에서 99.5%ile-99.9%ile 범위에 속하여 일관된 양상을 보였다(Fig. 2).

재분석 결과 전체 양성 환자는 484명(0.171%) 였

으며 group별로 VLBW group, 82명(4.943%); LBW group, 67명(0.405%); NBW group, 323명(0.126%); HBW group, 12명(0.126%) 였다. 체중이 낮을수록 양성률은 증가하는 양상은 동일하였으나, VLBW group과 NBW group간의 차이는 줄어들었다. VLBW group과 LBW group의 양성 환자수는 기존 cut-off 대비 각각 99명, 147명 감소하였고, NBW group과 HBW group의 양성 환자수는 기존 cut-off 대비 각각 174명, 4명 증가하였다(Table 3, Fig. 2).

고 찰

신생아 선천성 대사이상 질환 선별검사에서 위음성 결과는 환자의 진단이 늦어지는 결과를 초래하고, 위양성 결과는 불필요한 2차 검사 및 재원기간 증가를 초래하므로 적절한 cut-off 설정 및 검증이 필요하다. 특히 17a-OHP 농도는 만삭아에 비해 미숙아에서 매우 높아, 동일 기준을 적용할 경우, 미숙아에서 위양성의 비율이 높아지고 만삭아에서 위음성의 비율이 높아질 가

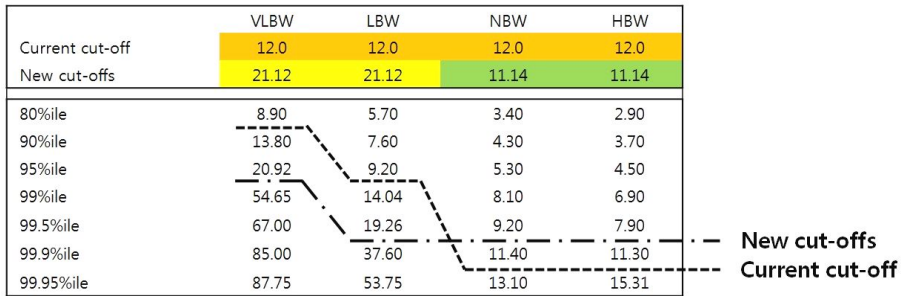


Fig. 2. Cut-off 변화에 따른 체중별 percentile 범주의 변화.

Table 3. 체중별 Cut-off 검증

Wt. group	No. (%) of subjects (명)	Current cut-off 적용 시 (12.0 ng/mL)		체중별 cut-off 적용 시 (VLBW and LBW, 21.12 ng/mL; NBW and HBW, 11.14 ng/mL)		양성 환자 증감
		Positive (%)	Negative	Positive (%)	Negative	
VLBW	1,659 (0.59)	181 (10.910)	1,478	82 (4.943)	1,577	-99
LBW	16,560 (5.85)	214 (1.292)	16,346	67 (0.405)	16,493	-147
NBW	255,371 (90.20)	149 (0.058)	255,222	323 (0.126)	255,048	+174
HBW	9,533 (3.37)	8 (0.084)	9,525	12 (0.126)	9,521	+4
Total	283,123 (100)	552 (0.195)	282,571	484 (0.171)	282,639	68 감소

능성이 있어 신생아의 성숙도에 따른 cut-off 적용이 필요하다^{8,9)}.

이미 타 연구들에서 재태기간과 출생 체중을 바탕으로 cut-off 제시된 바 있다. Kang 등은 99.5 percentile 농도를 cut-off 로 제시하였고, 그 농도는 재태기간에 따라 35주 이하, 36-37주, 38주 이상시 각각 57.65, 39.88, 33.52 ng/mL, 체중에 따라 2.49 kg 이하, 2.50-2.99 kg, 3.00 kg 이상시 각각 54.88, 43.86, 32.92 ng/mL 이었다¹⁰⁾. Oh 등도 99.5 percentile 농도를 cut-off로 제시하였고, 그 농도는 재태기간에 따라 30주 미만, 30-32주, 33-36주, 37주 이상시 각각 46.65, 45.19, 36.57, 14.05 ng/mL, 체중에 따라 1.0 kg 미만, 1.0-1.5 kg 미만, 1.5-2.5 kg 미만, 2.50 kg 이상시 각각 58.52, 51.36, 35.67, 18.33 ng/mL 이었다¹¹⁾. Ohkubo 등은 31주 이하, 32-35주, 36-37주, 38주 이상에서 각각에서 91.5, 16.2, 9.7, 8.5 ng/mL을 제시하였으며 Allen 등은 1.30 kg 미만, 1.30-1.69, 1.70-2.19, 2.20 kg 이상에서 각각 135, 115, 65, 55 ng/mL을 제시하였다^{12, 13)}. 그러나 각 연구자마다 신생아 성숙도를 판단하는 지표와 그 기준이 다르고, 검사법마다 결과의 차이가 있어, 검사실 별로 각각 설정할 필요성이 있다.

본 연구진은 최근 3년간의 체중 및 17a-OHP 결과 분석을 통해 mean+5SD를 cut-off로 목표치로 설정

하였고, 이에 따라 저체중 출생아에 대하여 21.12 ng/mL, 정상체중 이상 출생아에 대하여 11.41 ng/mL의 cut-off 기준을 설정하였다. 더 세분화된 cut-off 설정도 가능하지만, 최저체중 출생아와 과체중 출생아의 비율이 매우 적고, 최저체중 출생아의 경우 위양성률이 약간 증가하더라도 저체중 출생아 기준을 적용하여 추적관찰이 필요할 것으로 판단하였다.

기존 cut-off는 VLBW group에서 80-90 percentile 농도, LBW group에서 95-99 percentile 농도, NBW, HBW group에서는 99.90-99.95 percentile 농도로, 체중별 percentile 범주에서 차이가 매우 컸다. 그러나 새로운 cut-off는 VLBW group에서 95-99 percentile 농도에 속하며, LBW, NBW, HBW group에서는 99.5-99.9 percentile 농도로 일정한 수준을 보였다(Fig. 2).

기존 cut-off를 적용했을 때 양성자수는 552명(0.195%)였다. 그러나 새로운 cut-off 적용시 양성자수가 484명(0.171%)로 감소하였다. VLBW, LBW group에서 양성자는 각각 99명, 147명 감소하였고, NBW, HBW group에서 양성자수는 각각 174명, 4명 증가하였다(Table 3). Cut-off 변경으로 인해 전체 양성자수는 감소하였으나, 체중별 cut-off 적용으로 인해, 저체중 출생아에서 위양성률과 정상체중이상 출생아에서 위음성률은 큰폭으로 감소하여 선별검사의 민

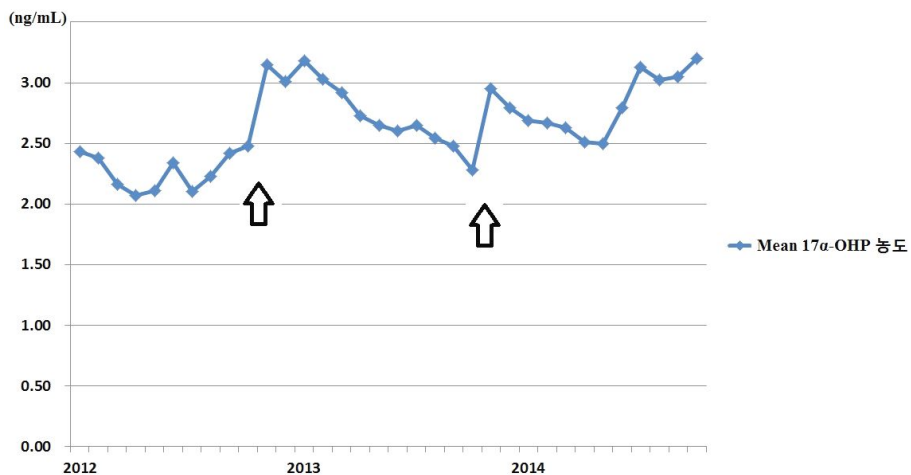


Fig. 3. 월별 17a-OHP 평균의 변화 추이.

감도와 특이도를 향상시키는데 도움이 될 것으로 예상된다.

본 연구과정에서 월별 17 α -OHP 평균의 변화를 분석한 결과, 월별 평균의 변동 정도를 확인할 수 있었다 (Fig. 3). 특히 2012년 10-11월 사이, 2013년 10-11월 사이에 17 α -OHP 평균값의 급격한 상승이 있었음을 확인할 수 있었다. 이에 내부정도관리, 외부정도관리, 시약 변경 기록, 검사 장비 관리 기록을 리뷰한 결과, 2012년 10-11월 기간에 시약의 Lot 변동이 있었으며, 당시 시약 비교 평가 결과와 내부정도관리 기록에서 평균값의 변화와 일치하는 경향성을 보였음을 확인하였다. 2013년 10-11월 기간에는 검사자 변경 기록을 확인할 수 있었고, 당시 내부정도관리 기록에서도 동일한 경향의 변화가 있었음을 확인하였다. 장기간 동일 회사 시약을 사용하더라도, 시약의 Lot 변화, 검사자 변경, 장비 유지 보수에 따라 결과의 변화가 있을 수 있으므로, 반드시 통계적 분석을 통한 주기적인 cut-off 검증이 필요함을 확인하였다.

본 연구는 신생아 및 산모의 병력, 제태기간, 다태아 여부, 양성 결과 환아의 예후 등의 임상 자료가 부족하여 폭넓은 분석을 시행하지 못하였다. 신생아 선천성 대사이상 질환 선별검사 결과뿐만 아니라, 다양한 임상정보를 포함한 검사실 정보 시스템의 운영 및 분석이 필요할 것으로 판단된다. 17 α -OHP 결과 분석에 있어서, 신생아 성숙도의 판단 기준으로 체중만으로 분석을 시행하였다는 한계가 있으나, 단일 검사 기관으로서 3년간 약 29만건의 17 α -OHP 결과를 분석하여 cut-off를 설정하고 검증하였기에 향후 선별 검사의 정도관리 및 타 검사기관의 cut-off 설정에 도움이 될 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

- 1) White PC, Speiser PW. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Rev* 2000;21:245-91.
- 2) Speiser PW, White PC. Congenital adrenal hyperplasia. *N Engl J Med* 2003;349:776-88.
- 3) Miller WL, Levine LS. Molecular and clinical ad-

vances in congenital adrenal hyperplasia. *J Pediatr* 1987;111:1-17.

- 4) Klingensmith GJ, Garcia SC, Jones HW, Migeon CJ, Blizzard RM. Glucocorticoid treatment of girls with congenital adrenal hyperplasia: effects on height, sexual maturation, and fertility. *J Pediatr* 1977;90:996-1004.
- 5) Migeon CJ. Comments about the need for prenatal treatment of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:836-7.
- 6) Pescovitz OH, Comite F, Cassorla F, Dwyer AJ, Poth MA, Sperling MA, et al. True precocious puberty complicating congenital adrenal hyperplasia: treatment with a luteinizing hormone-releasing hormone analog. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;58:857-61.
- 7) Mulaikal RM, Migeon CJ, Rock JA. Fertility rates in female patients with congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *N Engl J Med* 1987; 316: 178-82.
- 8) Nordenstrom A, Wedell A, Hagenfeldt L, Marcus C, Larsson A. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: 17-hydroxyprogesterone levels and CYP21 genotypes in preterm infants. *Pediatrics* 2001;108:E68.
- 9) Allen DB, Hoffman GL, Fitzpatrick P, Laessig R, Maby S, Slyper A. Improved precision of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia using weight-adjusted criteria for 17-hydroxyprogesterone levels. *J Pediatr* 1997;130:128-33.
- 10) Kang MS, Nahm CH, Choi JW, Jeon YH, Im MW, Lee CH, Pai SH. Analysis of Blood Spot 17-Hydroxyprogesterone Concentration According to Gestational Age and Birth Weight. *Korean J Clin Pathol* 2001;21:104-8.
- 11) Oh KI, Kim SJ, Kim DH, Kim JK, Jun YH, Choi JW, Lee JE. Reevaluation of Neonatal Screening Test for Congenital Adrenal Hyperplasia. *J Korean Soc Pediatr Endocrinol* 2006;11:192-8.
- 12) Ohkubo S, Shimozawa K, Matsumoto M, Kitagawa T. Analysis of blood spot 17 alpha-hydroxyprogesterone concentration in premature infants-proposal for cut-off limits in screening for congenital adrenal hyperplasia. *Acta Paediatr Jpn* 1992;34:126-33.
- 13) Allen DB, Hoffman GL, Fitzpatrick P, Laessig R, Maby S, Slyper A. Improved precision of newborn screening for congenital adrenal hyperplasia using weight-adjusted criteria for 17-hydroxyprogesterone levels. *J Pediatr* 1997;130:128-33.