

Development History of Pregnancy Test Technology

Young-Il Kwon

Department of Biomedical Laboratory Science, Shinhan University, Uijeongbu, Korea

임신진단검사기술의 발전사

권영일

신한대학교 임상병리학과

The history of the pregnancy test started in ancient Egypt with a germination test using wheat and barley. Since then, unscientific methods have been used from the days of Hippocrates and Galen to the Middle Ages when uroscopy was used, even until the early 1800s. On the other hand, since the mid-1800s, scientific methods and evidence have begun to emerge, which led to scientific research on the physiological characteristics of pregnancy. The first attempt to utilize these scientific findings was initiated with the bioassay by Aschheim and Zondek using rats and mice in 1927, and then developed into experiments using rabbits and frogs. The immunoassay method, which started in the 1960s, contributed greatly to the generalization of the pregnancy tests while improving the problems of the bioassay. In 1976, a pregnancy test kit was introduced that can be used at home, contributing to the popularization of pregnancy tests. Since the 1980s, technological advances in diagnostic tests have also been applied to pregnancy tests to further improve the reliability of the diagnosis of pregnancy. In the 2000s, the accuracy and ease of use of the pregnancy test kits for home use have improved drastically. This study examined the history and scientific development of the pregnancy test.

Key words: Bioassay, History, Immunoassay, Pregnancy test, Reliability

Corresponding author: Young-Il Kwon
Department of Biomedical Laboratory Science,
Shinhan University, 95 Hoam-ro, Uijeongbu
11644, Korea
Tel: 82-31-870-3711
Fax: 82-31-870-3719
E-mail: ivdtechnology@gmail.com

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Copyright © 2018 The Korean Society for Clinical Laboratory Science. All rights reserved.

Received: October 12, 2018

Revised: October 29, 2018

Accepted: October 29, 2018

서론

임신이나 수태 여부의 판단이나 결정은 인류뿐만 아니라 생물에게도 중요한 의미를 갖는다. 그러나 임신의 판단근거나 방법이 과학적으로 확립된 것은 진단검사의 과학적 방법론이 꽃을 피우기 시작한 약 100년 전부터이다. 임신진단의 역사적 기록은 고대 이집트에서 임신부의 요로 보리와 밀의 씨앗을 발아시키는 것으로 시작하였다. 이후 다양한 방법들이 증세[1]에까지 이어져 왔지만 이는 객관적 근거를 갖지 못한 무지와 거짓으로, 매우 비과학적 방법들이었다고 할 수 있다. 그러나 19세기 말 신체 특정 장기에서 분비되는 화학 메신저(chemical

messengers, 오늘날의 호르몬)가 소개되면서 1927년 Aschheim와 Zondek이 임신한 여성의 요를 랫드(rat)나 마우스(mouse)의 피하에 주사하는 bioassay (Aschheim-Zondek test, A-Z test)를 시작하였고, 이것이 임신진단검사가 과학적 근거를 갖게 되는 최초의 실험이 되었다[2]. 1930년에는 Jones가 사람용 모생식샘자극호르몬(human chorionic gonadotropin, hCG)이 태반에서 생성된다는 것을 증명함으로써 hCG가 임신 초기표식자로 활용되는 계기가 되었다[3]. 이후 Aschheim와 Zondek의 bioassay는 토끼, 두꺼비, 개구리 등을 활용하는 방법으로 발전하였다[4-8]. 이후 혈구와 latex를 이용한 면역검사법(immunoassay)이 출현하면서 임신진단검사의 편리성과 대중

성이 향상되는 단초가 되었다. 뒤이어 방사면역측정법(radio immunoassay, RIA)으로 β -hCG를 측정하게 됨으로써 검사의 신뢰도가 혁신적으로 향상되게 되었고, 이어서 효소면역검사(enzyme immunoassay, EIA) 등으로 발전하였다. 본 조사에서는 임신진단검사의 역사를 통해 나타난 비과학적 허구성과 과학적 사실에 근거해 오늘날의 검사신뢰도를 확보하게 된 역사적 기록들을 고찰하였다.

본 론

1. 임신진단에 대한 거짓검사와 비과학적 사실들

임신진단검사 역사는 마술과 신화, 정치 및 과학 등이 담겨 있는 인류사와 의학사의 의미 있는 역사이다. 고대 이집트(1350 BCE)에서는 밀과 보리의 씨를 이용하여 임신여부를 확인하였다. 임신한 여자의 소변을 밀과 보리 씨앗이 담겨져 있는 주머니에 소변을 보게 하여 밀이 발아되면 여아를 보리가 발아되면 남아를 의미한다고 하였고 모두 발아되지 않으면 임신이 아니라고 판단하였다[1]. 이 이론은 1963년 과학자들에 의한 확인시험에서 70%의 정확도를 나타내었다고 알려져 있다[9]. 고대 그리스(400 BCE 경)에서는 임신한 여자의 생식기에 양파를 넣은 후 다음날 여자의 호흡에서 양파 같은 냄새가 나면 임신이 아닌 것으로 판단하였다. Hippocrates는 물에 꿀을 넣어 섭취하게 한 후 아랫배가 팽만되면서 아프면 임신이라고 진단하였다. Galen은 Hippocrates의 임신검사에 대한 이론을 받아들였고 이는 중세까지 이어지고 응용되었다. 중세시대에 들어서면서 페르시아 의사인 Avicenna를 필두로 당시 *Piss Prophate* (소변 예언자)이라 불리는 의사들이 uroscopy (Figure 1)를 이용하여 질병 진단 및 임신진단을 하기 시작하였다. 1552년 기록에는 “임신한 여자의 소변은 미색을 띠는 맑고 열은 레몬색이며 표면에 거품이 있는 것”을 판정기준으로 하였다. 그러나 uroscopy는 현대의료의 기준으로 보면 질병을 진단하는데 있어 매우 제한적이고 비과학적 방법이다. 또한 wine을 소변에 넣어 단백질과의 응집 여부를 관찰한 것도 중요한 진단방법으로 활용되었다[9].

2. hCG에 근거한 bioassay의 발달

19세기에 들어서면서 임신한 여성의 소변에는 결정체나 세균이 포함되어 있을 가능성에 대한 이론 등이 소개되었지만 신뢰할 수 있는 충분한 이론적 배경을 마련하지 못했다. 그러나 성적 활동을 하는 여성들에게는 신체변화 등을 조심스럽게 관찰할 것을 권하였다. 19세기 말에는 신체 특정 장기에서 분비되는

화학 메신저(chemical messengers)가 소개되었고 Ernest Starling은 이를 호르몬이라 명명하였다[10]. 20세기 초에는 인간생식에 관한 연구가 심화되었고 Fraenkel은 임신 중에는 황체(corpus luteum)가 만들어지고 이것은 오늘날 알려져 있는 hCG에 의해 지지된다는 것을 설명하였다[11]. 또한 여성생식에 중요한 역할을 하는 progesterone을 확인하였다. 이와 같은 생식에 관한 연구들이 진행되면서 1920년대에는 유럽 전역의 여러 실험실의 과학자들이 토끼와 생쥐의 난소 발달과 성장을 촉진시키는 물질의 존재에 대해 연구를 하였고, 독일에서 Aschheim과 Zondek은 이 물질이 특히 황체 형성에 영향을 미친다고 언급하였다. 당시 과학자들은 이것이 임신부에서만 발견되는 현재 hCG라고 알려진 특정 호르몬이라는 것을 알아냈다. Aschheim와 Zondek은 이 호르몬이 뇌하수체 전엽에서 분비되어 난소기능에 중요한 역할을 한다고 주장하였다[12]. 그러나 1930년에 Jones는 hCG가 뇌하수체가 아니라 태반에 의해 생산되었다는 것을 증명하였다[3]. 그리고 이 증명은 임신초기 표지자로 hCG에 의존하게 되는 계기가 되었다.

이와 같은 지식에 근거하여 1927년 Aschheim와 Zondek은 “Aschheim-Zondek Test 혹은 A-Z test”라고 알려진 bioassay 임신진단방법을 최초로 개발하였다. 이 방법은 미성숙한 마우



Figure 1. Uroscopy is a medieval medical practice that visually inspects a patient's urine for pus, blood or other disease symptoms. The roots of uroscopy go back to ancient Egypt, Babylon, India, and were particularly emphasized in Byzantine medicine. Much of these methods are inaccurate or limited in diagnostic applications. However, it seems to be useful for determining such as turbidity of urine specimen due to bacterial infection or hemorrhage of urinary tract.

스나 랫드의 피하에 임신한 여성의 소변을 주입하는 것인데 소변에 hCG가 존재하는 경우 발정기 반응으로 열이 나는 것을 확인[2, 13]하고, 자궁각(uterine horns)의 비대와 난소에서의 황체화와 출혈소견도 관찰하는 시험이었다(Figure 2)[14]. Evans 등에 따르면 정상임신의 경우 A-Z test는 신뢰도가 높은 것으로 나타났다. 24 개 그룹에서 실시한 3,088 건의 검사에서 오류는 통상 1~2%가 나타난 것으로 보고하였으며, 무월경, 자궁 종양 등 임신과의 감별진단에 대한 유용성과 포상기태(hydatid mole), 융모막상피종(chorioepithelioma)을 진단하는데 있어서도 유용하게 활용할 수 있다고 보고하였다[2]. 그러나 Hannan의 보고에 의하면 5%에서 7%의 오류가 발생하였고, 임

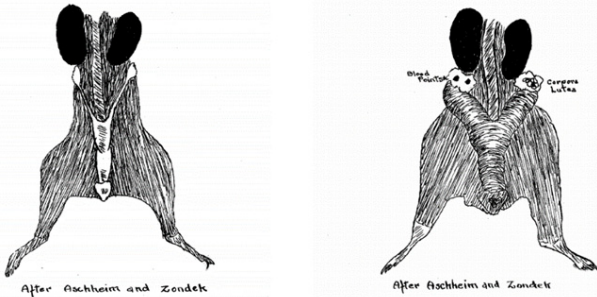


Figure 2. Aschheim-Zondek test. Left: non-pregnant; Right: pregnant. German scientists Selmar Aschheim and Bernhard Zondek developed the very first bioassay pregnancy test, known as the “A-Z test”, which identified the presence of hCG in urine. To test for pregnancy, a woman’s urine was subcutaneously injected into an immature rat or mouse. In the case of pregnancy, the rat would show an estrous reaction (be in heat) despite its immaturity and enlargement of the uterine horns, luteinization in the ovary and hemorrhage were also observed [16].

상적 조건에 따라 채집된 검체를 사용하면 오류를 2%로 낮출 수 있다고 주장하였다[15]. A-Z test는 독일 베를린을 중심으로 유럽 전역과 뉴욕, 부에노스아이레스 등에서 5,515 건이 실시되었다고 1931년 Zondek에 의해 보고되었다[16].

Friedman은 랫드를 토끼로 바꾸고 암컷 토끼의 귀 정맥에 임신이 의심되는 여성의 소변을 주입하는 시험(Figure 3)을 시행하였다(Friedman test) [1, 13, 17]. 소변에 hCG가 존재하면 토끼는 48 시간 이내에 배란을 하였다. 불행히도 이와 같은 난소반응을 관찰할 수 있는 유일한 방법은 토끼를 해부하는 것이었고 이로 인해 토끼를 희생시킬 수밖에 없었다. Cabrera이 수행한 검사에서 Friedman test와 랫드 난소 출혈검사에서는 97.6%의 일치율을 보여준 결과가 발표되어 토끼와 랫드에서 유사한 결과를 보여주었음을 알 수 있었다[18].

1930년 Hogben은 암컷 아프리카 발톱 개구리(Xenopus laevis, African clawed toad 혹은 African clawed frog)에게 임신한 여성의 소변이나 혈청을 주입하여 배란을 유도하는 실험을 실시하였는데 24시간 내에 알을 생산하는 경우 임신으로 진단하였다(Figure 4). 두꺼비 속(genus)의 이름을 따서 Bufo test라 명명되었으며 후에 다른 두꺼비와 개구리 종(species)도 사용되었다. 1938년 Elkan이 실시한 295 case의 Hogben test에서는 2,112마리의 개구리가 사용되었는데 임신을 나타내지 않는 명확한 결과를 하나도 관찰하지 못하였다는 보고와 2주 후 반복된 실험에서 몇 가지 부정적인 결과가 있었지만, 이것을 실패로 간주하지 않는다는 발표가 있었다[4].

1947년 Galli-Mainini가 수컷 두꺼비(Bufo arenarum Hensel)의 피하에 임신부의 요를 주사하여 방광과 배설관에서

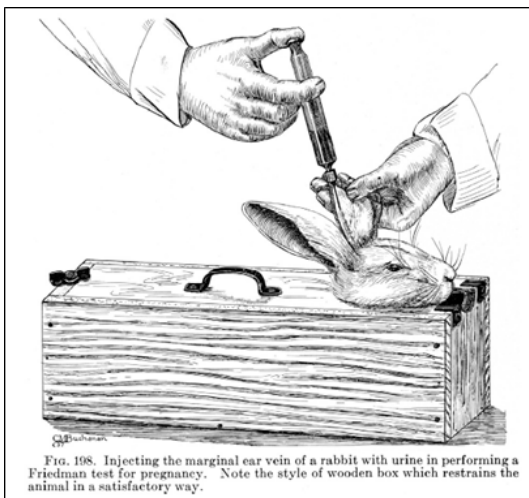


Figure 3. Illustration of injecting a pregnant woman’s urine into the rabbit’s ear vein (Friedman test). Roy Kracke’s Textbook of clinical pathology (Kracke, 1938, p513) [19].

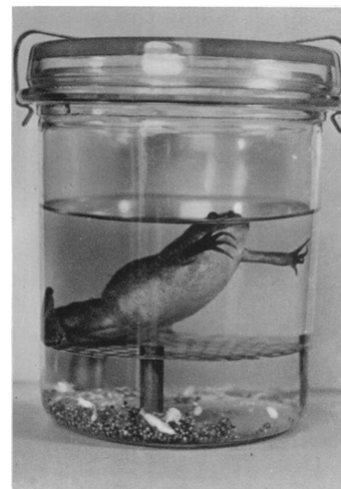


Figure 4. Bufo test is a pregnancy test that uses toads injected with urine of pregnant women to observe the eggs fall to bottom of jar [4].

발생된 정자를 현미경으로 확인하는 실험(Galli-Mainini test)을 실시하였다(Figure 5) [21]. Hainz가 이 실험의 유용성을 확인하는 실험을 실시하였는데 3시간 후에 정자발생 여부를 확인할 수 있었을 뿐만 아니라 실험개체를 5일 후 다시 사용할 수 있었으므로 bioassay 중 검사효율성과 경제적 측면에서 뛰어난 검사라고 평가하였다. 이때 추가로 두 종의 유럽 두꺼비 *Bufo bufo*와 *Rana temporaria*의 적합 가능성을 제기하였다[22]. Aznar-Ferreres 역시 1949년 Galli-Mainini 시험의 타당성을 확인하고 *Bufo marinus*와 *Rana pipiens* (leopard frog)의 적합성을 언급하기도 하여 두꺼비와 개구리 모두에게 공통적으로 이용할 수 있다는 것을 보고하였다[23-25].

A-Z test나 Friedman test는 설치류나 토끼를 희생시켜야 진단을 내릴 수 있었지만 *Bufo* test나 Galli-Mainini test는 실험에 사용된 생명체를 희생시키지 않고 임신진단을 내릴 수 있어 1950년대에는 그 효용성이 더욱 확대되었다. 그러나 bioassay 들은 비용이 많이 들었고 동물의 희생이 필요했으며, 결과를 얻기 위해서는 비교적 상당한 시간이 걸렸다. 또한, 이 검사는 hCG와 다른 물질인 황체형성호르몬(luteinizing hormone, LH)과의 유사성 때문에 임신 진단을 위한 호르몬 수치를 측정할 때 진단민감도가 낮은 단점이 있었다. 실제로 대부분의 bioassay에서 hCG가 예외적으로 높은 경우를 제외하곤 두 호르몬의 영향을 구별할 수 없었다[26].

1960년대 bioassay를 이용한 임신진단 검사방법이 hCG를 직접 측정하는 면역검사기술로 발전하자 일부 병원에서는 남아프리카에서 수입한 불필요한 아프리카 발톱개구리들을 야생에 방류하였다. Vredenburg 등의 연구에 의하면 이때 남아프리카에서 수입한 개구리에서 치명적인 곰팡이 *Batrachochytrium dendrobatidis*를 미국 도착개구리들에게 감염시켜 생애에 재앙을 불러왔고, 이와 같은 현상은 미국뿐만 아니라 전세계적으로

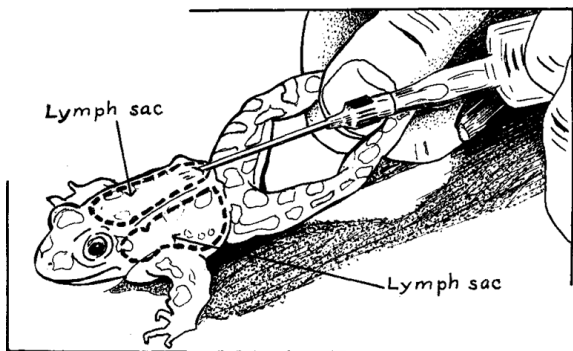


Figure 5. Galli-Mainini test, Technique to inject urine into lymph sac of male frog for pregnancy diagnosis [20].

유행하여 거대한 양서류의 감소를 일으켰다고 보고하였다[27].

3. 면역검사기술의 등장

항원·항체 반응을 이용한 면역검사의 출현은 진단검사의 역사에서 매우 중요한 의미를 갖는다. 임신진단검사 역시 면역 반응 기술을 이용한 대표적인 검사였다. 임신진단을 위한 최초 면역분석 기술로는 혈구응집억제반응(hemagglutination inhibition test)이 1960년대 초에 소개되었고, 이어서 라텍스를 이용한 응집억제반응(latex agglutination inhibition test)이 소개되었다. 1966년 진단검사의 golden standard라고 부르는 방사면역 측정법이 사용되기 시작하면서 임신진단검사의 신뢰도 역시 혁신적으로 향상되었다. 이어서 1970년대 초부터 시작된 효소를 이용한 면역검사 기술들이 도입되어 방사면역측정 기술을 대체하기 시작하였고 1980년대에는 안정되고 향상된 효소면역검사 기술들이 다수 출시되어 임신진단검사의 신뢰도를 향상시키는데 일조하였다.

1) 혈구응집억제검사와 라텍스응집억제검사

1960년대 초 Wide와 Gemzell이 임신진단방법으로 혈구응집을 억제하는 면역학적 방법으로 Wide-Gemzell test를 발표하였다[28]. 이 검사방법은 임신진단에 대한 최초의 면역학적 방법으로 200~300 IU/L까지 희석시킨 농도를 구별할 수 있었다는 보고와 반응소요 시간은 혁신적으로 짧아진 90분이 소요된다고 보고하였다. 이 방법은 검사과정에서 hCG 항체를 사용하지 않기 때문에 bioassay가 아닌 면역측정법으로 언급되었다[29, 30]. 이 검사는 소변검체와 anti-hCG시약을 반응시킨 다음 hCG를 감작시킨 양 적혈구를 반응시켜 혈구들의 응집여부를 확인하는 과정으로 진행되었다. 소변검체에 hCG가 존재하는 경우에는 anti-hCG와 먼저 반응함으로 뒤에 첨가되는 hCG 감작혈구와는 반응을 하지 않았다. 소변검체에 hCG가 없는 경우에는 anti-hCG가 hCG 반응혈구와 반응하여 응집현상을 보였다. 즉 임신이면 혈구들의 응집되지 않는 모양이 나타났고, 비임신이면 혈구들이 응집되는 모양을 보여주었다. 이 검사는 기존 bioassay보다 훨씬 빠르고 저렴했지만, 특히 임신 조기진단에 있어서는 비교적 민감하지 않았는데 그 이유는 다양한 약물과의 교차반응 때문이었다. 이런 종류의 문제들은 소변 안에 어떤 물질이 있어 거짓 음성이나 거짓 양성결과를 나타낼 수 있기 때문에 결과 판독에 주의를 요한다고 기술하였다[26]. 그러나 이와 같은 제약에도 불구하고 Fulthorpe 등의 연구에서는 혈구응집억제 반응을 이용한 방법에서 98.2% 정확도를 보여준 반면 음성 두꺼비를 이용한 검사에서는 92.8%의 정확도도 보여주

어 bioassay보다 혈구응집억제반응 검사의 결과가 우수한 것으로 보고되었다[31].

1970년 수행된 Petchclai와 Pongdherapol의 연구에서는 양 적혈구에 HCG를 감작시키기 위한 결합제로 glutaraldehyde를 사용한 새로운 미세혈구응집억제 방법을 소개하였는데 민감도를 0.25 IU/mL까지 향상시켰으며 재현성, 신속성, 경제성에서 가능성을 높인 검사방법으로 평가하였다[32]. 1970년대 이후에도 혈구응집억제 방법은 검사실에서 활발하게 사용되었다.

혈구응집억제방법이 소개된 이후 1962년 Robbins 등은 이와 유사한 측정법인 latex를 이용한 응집억제반응을 토끼 항체를 이용하여 소개되었다[33]. 1964년 Islami 등에 의하면 latex를 이용한 응집억제반응에서 Friedman test와 비교한 결과 좋은 상관성을 보였으며 임신기간에 따라 검사정확도가 91~100%의 결과를 보여주었다고 보고하였다. 뿐만 아니라 3분이 내로 결과를 산출할 수 있는 장점을 보고하였다[34]. 1969년에 상업적으로 판매되는 임신진단제품을 이용하여 Bell이 수행한 분석에서 위양성율이 0.5에서 19.5%까지 다양한 차이를 보인다고 보고하였다[35]. Cabrera는 면역학적검사의 신속성과 정확도 그리고 검사수행이 쉬운 것이 장점이지만 위양성과 위음성을 줄이기 위한 노력으로 혈구를 이용한 tube test와 latex slide test를 동시에 수행할 것을 권고하였다[18].

Hancsók 등이 1969년 Organon이 생산한 Pregnosticon-Planotest (latex slide test kit)와 Galli-Mainin Reaction을 이용한 비교실험을 381명의 여성에게 총 407번의 검사를 실시하여 얻은 결과에서 93.9%가 동일한 결과를 나타냈으며, 결과가 다른 23건의 사례 중에서는 21개 사례에서 Pregnosticon-Planotest 키트로 시행한 검사가 정확하다는 것이 입증하였다. 자궁의 임신의 경우 Pregnosticon-Planotest 키트는 80%에 대해 정확도를 나타냈으며, Galli-Mainin 검사에서는 68.8% 정확도를 나타냈다. 또한 Pregnosticon-Planotest 가 Galli-Mainin 검사보다 3.3~4일 더 빨리 임신을 조기에 감지하는 것으로 확인되었다[36]. 1974년 Dietrich와 French가 수행한 4개 제품의 slide test 비교 시험에서는 제조업체가 주장하는 신뢰도와 실제 수행 시 나타나는 신뢰도가 유사한 것으로 나왔다고 보고하였고, 당시 제품들의 분석민감도는 2,000~3,000 IU/L 로 제시되었다[37]. 1975년 Porres 등이 시행한 8개의 kit를 이용한 시험에서 분석민감도가 750~3,500 IU/L 인 것으로 제시되었고 이때 평가된 정확도는 93.4~95.37% 사이로 나타났다. 양성 소변검체에서 모두 일치된 양성결과를 보인 것은 78.28%로 나타나 제품간 신뢰도 차이가 유의하게 존재함을 알

수 있었다[38]. 이 latex 제품들 역시 혈구를 이용한 제품과 더불어 70년대와 80년대까지 병원검사실이나 의사진료실에서 사용되었다.

2) 방사면역측정법과 효소면역측정법

1950년대 후반 Yalow와 Berson이 방사면역측정법을 개발한 이후 진단검사 분야에는 획기적인 발전이 시작되었다. 1966년 Midgley가 최초로 방사면역측정법을 이용하여 hCG와 황체형성호르몬을 측정하였으며 이때 측정범위를 25 IU/L에서 5,000 IU/L까지 확대하였다[39]. 그러나 초기 RIA 기술로는 LH와 hCG를 구별하지 못했다. LH와 hCG의 교차반응을 극복하기 위해 LH가 간섭하지 않는 농도에서 시험하였지만 그 결과 hCG의 민감도가 나빠지는 결과가 발생하였다. 그러나 1972년 Vaitukaitis 등이 hCG의 beta subunit (β -hCG)를 측정할 수 있는 방사면역측정법을 개발함으로써 마침내 LH와 hCG를 구별할 수 있게 되었고 이로 인해 초기 임신진단검사의 정확도가 더욱 향상되었을 뿐만 아니라 위음성과 위양성 오류를 상당히 줄일 수 있게 되었다[26]. 이 측정기술은 후에 Biocept-G test 등의 상업용 slide kit 측정결과를 검증하는 방법으로도 사용되었다[40].

RIA기술이 더욱 발전하면서 1974년 Saxena 등이 개발한 방사수용체분석법(radioreceptor assay, RRA)은 hCG 분석민감도를 5 IU/L까지 낮추었으며 이로 인해 임신 6~8일 만에 임신 여부를 결정할 수 있게 되었다. 분석시간도 1시간으로 획기적으로 감소시켰다[41]. 1982년 Senterfit와 Ikeda의 연구에 의하면 혈구응집억제반응 검사와 방사수용체검사에서 각각 98%와 96%의 정확도를 보여 혈구응집억제검사가 나와 조금 더 정확한 결과를 나타냈다고 보고하였다[42]. 1982년에는 Shimazu 등이 β -hCG 다클론항체(polyclonal antibodies) 대신 단클론항체(monoclonal antibodies)를 사용함으로써 검사결과와 신뢰성 향상에 중요한 발전을 이루게 되었다[43].

1970년대 초부터 시작된 효소를 라벨링하는 면역검사 기술들[44]은 1980년대 더욱 안정된 효소면역검사기술로 완성되었고[45] 정확하고 민감성이 향상된 측정법들로 다양한 기술적 발전을 이루었다.

3) 가정 임신진단검사의 시작

진단기술의 혁신을 계기로 Warner-Chilcott는 1976년 가정에서 사용할 수 있는 비처방(over-the-counter) 임신테스트 키트를 FDA로부터 승인을 받았고, 1977년 후반기에 시장에 출시하였다[46]. 출시 당시 검사설명서에는 95~98%의 정확도

를 갖는다고 표기되어 있었다. 하지만 초기 이 테스트 키트는 사용하기 쉽지 않았다. 이 키트는 검체 튜브와 튜브 홀더에 특수거울을 장착한 장치로 구성되었는데, 사용자가 거울을 통하여 튜브 바닥의 반응결과를 읽을 수 있도록 하였다. 결과가 나올 때까지 2 시간이나 소요됐다. 또한 이후 출시된 제품들도 비교적 높은 위음성 비율(25%)을 나타내었다. 이때 야기된 이런 문제들 중에는 단백질 간섭, 개선이 어려운 수준의 기술적 오류, 특정 약물과의 위양성 반응, 정도관리, 시약관리의 문제점 등이 존재하였다[47]. 1980년대 초부터는 EIA와 면역크로마토그래피 기술을 이용한 테스트 키트가 소개되었고[48], 1986년에는 hCG 단클론항체를 사용하는 키트들이 출시되어 검사의 신뢰도가 더욱 향상되었다[49]. 그러나 가정용 임신진단검사의 실제 정확도는 더 낮을 수 있다는 주장을 뒷받침하는 연구결과들이 발표되었는데 이 연구결과에는 검사실 환경에서 실시된 검사와 피검자가 스스로 한 검사를 수행했을 때 가정용 임신진단검사의 민감도와 특이도 그리고 정확도가 상당히 떨어진다고 보고하였다[50]. 1990년대에는 dipstick 기술을 사용하여 편리성과 오류 가능성을 줄일 수 있는 키트들이 시장에 출시되었다. 2003년에는 Clearblue에서 반응결과가 광학센서에 의해 읽혀지는 디지털 검사키트가 출시되어 검사결과를 단어(Not Pregnant 혹은 Pregnant)로 보여줌으로써 일반사용자의 오류를 획기적으로 줄이는 계기가 되었고[51], 2013년에는 임신 주수까지 표시되는 검사키트가 출시되어 임신진단키트의 사용 편리성 더욱 향상되었고, 훈련된 코디네이터와 일반인의 검사결과 일치율이 99.3%에 달해 사용오류 및 결과판독의 문제점이 상당부분

개선되었음을 보고하였다[52].

4) hCG subunit와 대사체의 측정

1990년대에는 임신진단에 대한 hCG의 연구는 hCG subunit와 대사체로 연구가 확대되었고[53], Stephen 등이 regular hCG와 과당화 hCG (hyperglycosylated hCG, H-hCG) 측정의 기술상 문제점을 제시한 이후 free β -subunit 등에 대한 유사한 연구들이 진행되었으며[54, 55], 검사의 정확도 향상을 위하여 효소면역검사, 방사면역검사[53] 그리고 현장검사(point-of-care testing)용으로 주요하게 사용되었다[56]. 2006년 Stenman 등은 hCG의 isoform 들을 그 기능 및 임상적 유용성에 따라 분류하였다. 그리고 이와 같은 분류가 임신진단을 넘어서 임신관련 장애 및 여러 종류의 암진단과 모니터링에 중요하다고 발표하였다[57].

결론

임신진단검사는 진단검사기술의 발전과 궤를 함께한 중요한 검사 아이템이다. 고대 이집트의 보리, 밀 발아시험으로부터 Hippocrates와 Galen을 거쳐 uroscopy를 활용하던 중세까지, 그리고 진단검사의 과학적 방법과 근거들이 태동하기 전인 1800년대 중반까지 임신진단방법에 대한 기록들이 남아 있지만 이 방법들은 옳지 않거나 무지에 의한 오류들이 대부분이었다.

19세기 후반 Starling에 의해 호르몬에 대한 연구가 시작되었고, 이 연구는 20세기 초 Fraenkel에 의해 황체형성과 이를 지

Table 1. Development and reliability of pregnancy test using bioassay

Test name	Start year	Test method	Interpretation	Accuracy (%)	Sensitivity (IU of hCG/L)
Aschheim-zondek test (A-Z test)	1927	A pregnant woman's urine was subcutaneously injected into an immature female rat or mouse.	Observation and dissection after 100 hours. In the case of pregnancy, the mouse would show an estrous reaction (be in heat) and great hypertrophy of the uterine horns, luteinization in the ovary and hemorrhagic follicles were also observed.	98 (average)	3,000~5,000
Friedman test	1929	Injection a pregnant woman's urine into a female rabbit's ear vein.	Dissection after 48 hours. Confirm ovulation and corpora hemorrhagic formation.	100, Similar accuracy to immature mice	100~1,800
Hogben test (Bufo test)	1930	A pregnant woman's urine or serum was subcutaneously injected into a female frog.	Confirm ovulation within 24 hours.	99.3	
Galli-Mainini test	1947	Injection a small amount of urine from a woman who suspects she is pregnant into the dorsal lymph sack of a male frog.	Microscopic examination of spermatozoa in urine within 3 hours	94~100	

Abbreviation: hCG, human chorionic gonadotropin.

지하는 현재 hCG라 불리는 호르몬의 존재를 인식하게 하는 계기가 되었다. Aschheim와 Zondek은 이 호르몬을 증명하기 위한 첫번째 bioassay로써 마우스와 랫드의 발정기 발열반응을 확인함으로써 임신 여부를 과학적으로 진단하기 위해 노력하였다. 이어 Friedman이 랫드 대신 토끼를 이용한 임신진단검사를 실시하여 A-Z test의 신뢰성과 유사성을 증명하였다. 1939년 Hogben은 암컷개구리에 임신한 여성의 소변이나 혈청을 주사하여 배란을 유도하는 실험을 실시하였고, Galli-Mainini가 1948년 수컷 두꺼비와 수컷 개구리의 정자발생 유도 실험을 실시하면서 검사소요시간과 민감도를 향상시켰다. 또한 A-Z test나 Friedman test는 시험에 이용한 동물을 희생시켜야 했지만 Bufo test나 Galli-Mainini test는 시험에 사용한 개구리나 두꺼비를 희생시키지 않아도 되어 검사의 효용성 측면에서 긍정적인 평가를 받았다. 이와 같이 동물에 근거한 bioassay는 1950년대까지 임신진단의 주류를 이루었고 60년대 후반까지 면역검사방법을 검증하는 비교실험으로 활용되었다. Table 1에서 정리한 바와 같이 동물을 이용한 실험결과는 현재의 기술 신뢰도와 비교할 때 민감도에서 유의한 차이가 존재하지만 중복실험을 통해 정확도를 향상시키는 노력은 높게 평가할 만하다 할 수 있다.

1960년대에는 항체 조작기술이 향상되면서 면역검사기술이 도입되었다. 임신진단을 위한 최초 면역분석기술인 혈구응집억제검사(Wide-Gemzell test)가 사용되었지만 시약의 안정성을 향상시킨 라텍스를 이용한 응집억제검사가 도입되어 검사의 안정성은 물론 편리성을 향상시키는 계기가 되었다. 1966년 방사면역측정법으로 hCG를 측정하기 시작하면서 검사신뢰도가 더욱 향상되었고 1972년에는 β-hCG를 측정하게 됨으로써

LH와 hCG의 교차반응을 줄일 수 있는 기술적 진보를 이루었다. 또한 β-hCG 다클론항체 대신 단클론항체를 사용함으로써 임신진단검사의 신뢰도를 혁신적으로 향상시켰다. 이와 같은 기술발전의 특징은 Table 2에 정리한대로 측정민감도의 향상과 검사시간의 단축이라는 효과로 나타났고 이와 같은 기술적 향상들은 효소면역검사기술과 화학발광면역분석법 등으로 계승되었다.

1976년 미국 가정에서 사용할 수 있는 비처방 임신테스트 키트를 US FDA로부터 승인받아 1977년에 시장에 출시하기에 이르렀지만 초기에는 검사소요시간과 민감도 그리고 전문가와 일반인들 간의 결과 차이가 존재하였다. 그러나 이와 같은 문제점은 면역크로마그래피 기술과 dipstick 기술의 향상으로 상당부분 개선되었고 문자로 결과를 보여주는 검사키트와 임신주수를 평가하는 시스템으로 향상되어 가정용 임신진단검사 제품의 사용편리성을 더욱 향상시켰다(Table 3).

Aschheim-Zondek으로부터 시작된 bioassay에서 immunoassay를 넘어 현재의 가정임신진단키트까지 임신진단의 신뢰도를 향상시키고자 하는 노력들은 진단검사기술의 발전과 함께 진행되어 왔다. 앞서 기술한 임신진단검사의 기술적 진보와 다양한 평가에서 보았듯이 측정민감도를 향상시키려는 노력이 임신진단검사 기술발전의 중요한 바로미터가 되었음을 알 수 있다. 추후 임신진단검사의 고도화는 hCG의 subunit들과 isoform들에 대한 측정기술을 발전시켜 진단의 신뢰도를 향상시키는 방향으로 진행될 것으로 보인다.

Table 2. Development and reliability of pregnancy test using Immunoassay

Analytical technique	Year	Time required (min)	Accuracy (%)	Sensitivity (IU of hCG/L)	Remarks
Hemagglutination inhibition test (Wide-Gemzell test)	1960~1973	90~120	98.4~99.6	750~1,000 (Compared with bioassay)	Using hCG antibody (1960)
Latex agglutination inhibition test	1962~1974	2~3	91~100	1,000~3,500 (Based on product insert papers)	
Radioimmunoassay	1966~1983	60~2,160	94~99.2	0.5~200	- Initially, hCG measurement (1966) - β-hCG measurement, Overcome the cross-reactivity problem between LH and hCG (1972) - β-hCG uses monoclonal antibodies instead of polyclonal antibodies (1982)
Enzyme immunoassay	1982~1990	10~120	-	2.7~50	
Chemiluminescent enzyme immunometric assay	1995~2007	10~30	-	0.5~1.2	Sensitivity improved by 2 to 10 times than RIA and colorimetric-EIA

Abbreviations: hCG, human chorionic gonadotropin; LH, luteinizing hormone; RIA, radio immunoassay; EIA, enzyme immunoassay.

Table 3. Technical development and detection limit of home pregnancy test

Technical features & year	Reading time (min)	Detection limit (IU of hCG/L)	Remarks
False positive and false negative due to technical limitations (1976)	125	1,250	e.p.t. (Warner-Chilcott) The first in-home kit approved by the US FDA (1977).
Use immunochromatography technology (1980)	10~30	50~800	Lateral flow immunoassay
Use hCG monoclonal antibodies (1986)	4~85		
Use dipstick technology (1990)			
Display results with Digital screen, Not Pregnant or Pregnant (2003)	1~5	25~100	Clearblue Digital Pregnancy Test, the concordance rate between the trained coordinator and the general public was 99.3%
Pregnancy test with weeks indicator (2008)	1~5	10~25	Clearblue
Bluetooth-enabled pregnancy test (2016)			CES 2016

Abbreviations: EPT, early pregnancy test; CES, Consumer Electronics Show.

요약

임신진단검사는 고대 이집트에서 밀과 보리를 이용한 발아 시험으로 시작하였다. 이후 Hippocrates와 Galen을 거쳐 uroscopy를 활용하던 중세를 넘어 1800년대 초반까지도 비과학적 방법들이 사용되었다. 그러나 1800년대 중반 이후 과학적 실험방법과 근거들이 나타나기 시작하면서 임신의 생리학적 특성에 대한 과학적 연구들이 시작되었다. 이와 같은 과학적 연구 결과를 활용하려는 최초 시도는 1927년 Aschheim와 Zondek의 rat와 mouse를 이용한 bioassay로 시작되었고, 이후 토끼와 개구리를 이용하는 실험으로 발전하였다. 1960년대부터 시작된 면역검사방법은 bioassay의 문제점을 개선하면서 임신진단 검사를 일반화하는데 크게 기여하였다. 1976년에는 가정에서 사용할 수 있는 임신진단키트가 출시되어 임신진단을 대중화하는데 기여하였다. 1980년대 이후 진단검사의 기술적 진보는 임신진단검사에도 활용되어 임신진단의 검사신뢰도는 더욱 향상되었으며, 2000년대에는 가정용 임신진단키트의 정확도와 사용편리성이 혁신적으로 향상되었다. 본 조사에서는 임신진단 검사의 역사와 과학적 발전과정을 고찰하였다.

Acknowledgements: This work was supported in part by the SungHyun Meditech Laboratory History Museum (Cha Kyung-Hwan, CEO).

Conflict of interest: None

Author's information (Position): Kwon YI, Professor.

REFERENCES

1. Bayon HP. Ancient pregnancy tests in the light of contemporary knowledge. *Proc R Soc Med.* 1939;32:1527-1538.
2. Evans HM, Simpson ME. Aschheim-Zondek test for pregnancy-Its present status. *Cal West Med.* 1930;32:145-148.
3. Damewood MD, Rock JA. In memoriam: Georgeanna Seegar Jones, M.D.: her legacy lives on. *Fertil Steril.* 2005;84:541-542.
4. Elkan ER. The Xenopus pregnancy test. *Br Med J.* 1938;2:1253-1256, 1274-2.
5. Brody H. The use of the male leopard frog (*Rana pipiens*) as a pregnancy test animal. *Am J Obstet Gynecol.* 1949;57:581-585.
6. Giltz ML, Miller DF. Ways of improving the male frog test for pregnancy. *Ohio Journal of Science.* 1950;50:205-209.
7. Marsters RW, Black ME, Randall JD. An evaluation of the *Rana pipiens* male frog pregnancy test. *Am J Obstet Gynecol.* 1950;60:752-762.
8. Hon EH, Morris JM. Evaluation of male *Bufo americanus* and *Rana pipiens* for pregnancy testing. *Am J Obstet Gynecol.* 1956;71:331-341.
9. Office of NIH History. A thin blue line. A timeline of pregnancy Testing. Bethesda: National Institute of Health; Office of NIH History. 2018 [cited 2018 October 1]. Available from: <https://history.nih.gov/exhibits/thinblueline/timeline.html>.
10. Modlin IM, Kidd M. Ernest Starling and the discovery of secretin. *J Clin Gastroenterol.* 2001;32:187-192.
11. Simmer HH. The first experiments to demonstrate an endocrine function of the corpus luteum. On the occasion of the 100th birthday of Ludwig Fraenkel (1870-1951). *Sudhoffs Arch.* 1971;55:392-417.
12. Schneck P. Selmar Aschheim (1878-1965) and Bernhard Zondek (1891-1966). On the fate of 2 Jewish physicians and researchers at the Berlin Charité Hospital. *Z Arztl Fortbild Qualitatssich.* 1997;91:187-194.
13. Ferreira HP. The relative merits of the various biological tests for pregnancy. *Postgrad Med J.* 1954;30:355-359.
14. Ruediger EH. The Aschheim-zondek test for pregnancy. *Cal West Med.* 1936;44:157-159.
15. Hannan JH. The detection of the presence of the hormone of the anterior pituitary body in the urine as an aid to the diagnosis of pregnancy. *Proc R Soc Med.* 1930;3:634-639.
16. Olszynko-Gryn J. The demand for pregnancy testing: the Aschheim-Zondek reaction, diagnostic versatility, and laboratory services in 1930s Ruediger. *Stud Hist Philos Biol Biomed*

- Sci. 2014;47:233-247. <https://doi.org/10.1016/j.shpsc.2013.12.002>.
17. Friedman MH, Lapham ME. A simple, rapid procedure for the laboratory diagnosis of early pregnancies. *Amer J Obstet Gynecol.* 1931;21:405-410.
 18. Cabrera HA. A comprehensive evaluation of pregnancy tests. *Am J Obstet Gynecol.* 1969;103:32-38.
 19. Kracke RR. *Textbook of clinical pathology.* 1st ed. London: Baillière & Co.; 1938. p513.
 20. Miller DF, Wiltberger, PB. Some peculiarities of the male frog test for early pregnancy. *Ohio J Sci.* 1948;48:89-94.
 21. Galli-Mainini C. Pregnancy test using the male toad. *J Clin Endocrinol.* 1947;7:653-658.
 22. Haines M. Pregnancy test using the male toad. *Nature.* 1948;11:162:416.
 23. Aznar-Ferreres J. Pregnancy test using male anura. *Nature.* 1949;163:881-882.
 24. Carrain G. Rapid response to Galli-Mainini test in early diagnosis pregnancy. *Riv Ostet Ginecol Prat.* 1954;36:421-423.
 25. Floch H, Fauran P. Early diagnosis of pregnancy by the Galli-Mainini test. *Rev Pathol Gen Physiol Clin.* 1955;55:1260-1270.
 26. Vaitukaitis JL, Braunstein GD, Ross GT. A radioimmunoassay which specifically measures human chorionic gonadotropin in the presence of human luteinizing hormone. *Am J Obstet Gynecol.* 1972;113:751-758.
 27. Vredenburg VT, Felt SA, Morgan EC, McNally SV, Wilson S, Green SL. Prevalence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in *Xenopus* collected in Africa (1871-2000) and in California (2001-2010). *PLoS One.* 2013;15:8:e63791. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063791>.
 28. Wide L, Gemzell CA. An immunological pregnancy test. *Acta Endocrinol.* 1960;35:261-267.
 29. Butt WR, Crooke AC, Cunningham FJ. Immunological study of human gonadotrophins. *Proc R Soc Med.* 1961;54:647-648.
 30. Loraine JA. Assay of human chorionic gonadotrophin in relation to clinical practice. *J Reprod Fert.* 1966;12:23-31.
 31. Fulthorpe AJ, Parke JA, Tovey JE, Monckton JC. Pregnancy diagnosis by a one-stage passive haemagglutination inhibition method. *Br Med J.* 1963;20:1049-1054.
 32. Petchclai B, Pongdherapol U. A new microhemagglutination inhibition pregnancy test. *Am J Clin Pathol.* 1970;54:810-812.
 33. Robbins JL, Hill GA, Carle BN, Carlquist JH, Marcus S. Latex agglutination reactions between human chorionic gonadotropin and rabbit antibody. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1962;109: 321-325.
 34. Islami ZS, Fisher LM, Kupfer HG. Rapid slide test for pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1964;89:586-589.
 35. Bell JL. Comparative study of immunological tests for pregnancy diagnosis. *J Clin Pathol.* 1969;22:79-83.
 36. Hancsók M, Huber G, Páhoki I, Czeizel E. Experience with Pregnosticon-planotest, a 2-minute immunologic pregnancy test. *Zentralbl Gynakol.* 1969;91:1113-1116.
 37. Dietrich M, French JA. Evaluation of four slide test kits for the detection of human chorionic gonadotropin in urine. *Can Med Assoc J.* 1974;111:235-237.
 38. Porres JM, D'Ambra C, Lord D, Garrity F. Comparison of eight kits for the diagnosis of pregnancy. *Am J Clin Pathol.* 1975;64: 452-463.
 39. Midgley AR Jr. Radioimmunoassay: a method for human chorionic gonadotropin and human luteinizing hormone. *Endocrinology.* 1966;79:10-18.
 40. Boyko WL, Barrett B. Detection and quantitation of the beta-subunit of human chorionic gonadotropin in serum by radioimmunoassay. *Fertil Steril.* 1980;33:141-150.
 41. Saxena B, Hasan SH, Haour F, Schmidt-Gollwitzer M. Radioreceptor assay of human chorionic gonadotropin: detection of early pregnancy. *Science* 1974;184:793-795.
 42. Senterfit LB, Ikeda G. Early pregnancy testing: a comparison of hemagglutination inhibition and radioreceptor assay. *Am J Med Technol.* 1982;48:145-147.
 43. Shimizu SY, Present WA, Sevier ED, Wang R, Saunders RL. Chorionic gonadotropin measured by use of monoclonal antibodies in a two-site immunoradiometric assay. *Clin Chem.* 1982;28: 546-547.
 44. van Weemen BK, Schuurs AH. Immunoassay using antigen-enzyme conjugates. *FEBS Lett.* 1971;15:232-236.
 45. Wada HG, Danisch RJ, Baxter SR, Federici MM, Fraser RC, Brownmiller LJ, et al. Enzyme immunoassay of the glycoprotein tropic hormones-chorionic gonadotropin, lutropin, thyrotropin--with solid-phase monoclonal antibody for the alpha-subunit and enzyme-coupled monoclonal antibody specific for the beta-subunit. *Clin Chem.* 1982;28:1862-1866.
 46. Haarburger D, Pillay TS. Historical perspectives in diagnostic clinical pathology: development of the pregnancy test. *J Clin Pathol.* 2011;64:546-548.
 47. Fletcher JL Jr. Update on pregnancy testing. *Prim Care.* 1986; 13:667-677.
 48. Birnbaum S1, Udén C, Magnusson CG, Nilsson S. Latex-based thin-layer immunoaffinity chromatography for quantitation of protein analytes. *Anal Biochem.* 1992;206:168-171.
 49. Gelletlie R, Nielsen JB. Evaluation and comparison of commercially available pregnancy tests based on monoclonal antibodies to human chorionic gonadotropin. *Clin Chem.* 1986;32: 2166-2170.
 50. Doshi ML. Accuracy of consumer performed in-home tests for early pregnancy detection. *Am J Public Health.* 1986;76: 512-514.
 51. Scolaro KL, Braxton-Lloyd K, Helms KL. Devices for home evaluation of women's health concerns. *Am J Health Syst Pharm.* 2008;65:299-314.
 52. Gnoth C, Johnson S. Strips of hope: Accuracy of home pregnancy tests and new developments. *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 2014;74:661-669.
 53. Cole LA. Immunoassay of human chorionic gonadotropin, its free subunits, and metabolites. *Clin Chem.* 1997;43:2233-2243
 54. Butler SA, Khanlian SA, Cole LA. Detection of early pregnancy forms of human chorionic gonadotropin by home pregnancy test devices. *Clin Chem.* 2001;47:2131-2136.
 55. Cole LA. The hCG assay or pregnancy test. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50:617-630. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2011.808>.
 56. Gronowski AM, Cervinski M, Stenman UH, Woodworth A, Ashby L, Scott MG. False-negative results in point-of-care qualitative human chorionic gonadotropin (hCG) devices due to excess hCG beta core fragment. *Clin Chem.* 2009;55: 1389-1394. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.121210>.
 57. Stenman UH, Tiitinen A, Alfthan H, Valmu L. The classification, functions and clinical use of different isoforms of hCG. *Hum Reprod Update.* 2006;12:769-784.