만성 간질환 치료 약제의 약물평가를 위한 객관적 검사모델 개발에 관한 연구(제 1 보)

- HBsAg 건강보유자에서의 ICG-Rmax와 경직장 thallium-201
검사법(shunt index)에 관하여 -

이민호 · 박문승 · 황선희 · 김목현 · 김덕언* · 조석신**

= Abstract =

Study of a Testing Model for Estimating the Efficacy of Drug for Chronic Liver Disease

Min Ho Lee M.D., Mun Seung Park M.D., Seon Ho Hwang M.D.,
Mok Hyun Kim M.D., Duck-An Kim*, Seok Shin Cho**

Department of Internal Medicine, Clinical Pathology* and Nuclear Medicine**
Hanyang University, College of Medicine, Seoul, Korea

Background : Analysis of variance of the intraindividuals with the ICG-Rmax and the per rectal thallium-201 liver scan (shunt index) is a way to find out their reproducibilities and also raises their utilities. Thus, it is considered as a facilitating evaluation of the drug effects in developing the remedies for the chronic liver disease.

Method : The ICG-Rmax and the per rectal Thallium-201 liver scan (shunt index) were taken 3 and 4 times at week intervals for each 16 HBsAg healthy carrier confirmed by a liver biopsy. ANOVA was used as statistical method.

Result : 1) The mean $\pm$ standard deviation of the shunt index and ICG-Rmax were 0.24 ± 0.10 , 3.59 ± 1.74 mg/kg/min.

* 본 연구는 1994년 선도기술개발사업 위탁연구비 지원에 의해 이루어졌음.
한양대학교 의과대학 내과학교실, 임상병리학교실*, 핵의학교실**
교신저자 : 이민호, 서울시 성동구 행당동 17번지
Tel (02) 290-8340, Fax (02) 298-9183

2) The variance of the individuals in the whole group was calculated as 0.001 ($p=0.884$) with the shunt index, so there was no statistical significance. Also, there were no statistical significances in the male group ($0.004, p=0.794$) and the female group ($0.0002, p=0.934$).

3) The variance of the individual in the whole group was calculated as 9.127 ($p=0.027$) with the ICG-Rmax, so there was statistical significance. Additionally, there was statistical significance in the male group ($6.573, p=0.032$) but, not in the female group ($3.755, p=0.401$).

4) In shunt index, 11/16 patients lie between mean $\pm$ 1SD, and 15/16 patients lie between mean $\pm$ 2SD. In ICG-Rmax, 2/16 patients and 14/16 patients respectively.

Conclusion : According to the results of the tests mentioned above, the reproducibility of the Thallium-201 liver scan is high but the that of ICG-Rmax is relatively low, compared to the former.

KEW WORDS : Per rectal Thallium-201 liver scan (shunt index) · ICG-Rmax · Reproducibility.

서론

우리나라는 B형 간염 바이러스의 만연지역으로 만성 B형 간염 바이러스 보유자로 있거나 만성 지속성 간염 및 만성 활동성 간염 등으로 있으면서 그 병의 경과가 악화와 호전을 거듭하며 간의 섬유화가 진행되는 환자가 많으며 또한 이들 중 상당수에서는 가장 예후가 나쁜 간암으로 진행되기도 한다.^{1, 2)}

그러나 현재까지는 특별히 권장할만한 간질환 치료제의 개발이 미비한 실정으로 앞으로는 간질환 치료제 개발에 많은 투자가 필요하며 또한 그렇게 되리라고 예측할 수 있다. 간질환 치료제 개발에는 간 세포의 염증정도에 대한 검사 외에도 그때그때의 병적 상태를 정확히 나타내는

간기능 검사법이 필요하며 또한 간의 섬유화 정도 및 이에 따른 간내로의 혈류 이상을 확인할 수 있는 검사의 개발도 필요할 것으로 생각된다. 지금까지는 간의 혈청 화학 검사로서 간 기능의 염증 정도를 보여주는 GOT, GPT 외에 간의 배설 기능을 보여주는 빌리루빈 검사 및 합성 기능을 보여주는 알부민 검사 등이 이용되었으나 이러한 검사들은 간질환의 급성기에 간의 염증정도의 파악 및 간세포의 파괴유무를 조사하는 데는 도움이 되나 손상되지 않고 남아 있는 간조직의 잔존기능을 나타내지는 못하며 또한 간의 기능이 1/3 이하로 감소된 경우에도 그 의의가 크고, 간세포의 괴사후 나타나는 간의 섬유화 정도를 확인하는 검사로는 간조직 검사가 지금까지 가장 좋은 검사로 알려지고 있으나 이 또한 큰 단점은 동일한 환자에게 자주 반복해서 시행할 수 없다는 것이다.^{3,5)}

그러나, 최근 간의 잔존기능을 보는 검사로 인도사이아닌그린 최대제거율(ICG-Rmax)이 사용되고 있으며,^{6,7)} 간의 섬유화로 인한 간문맥-체순환 단락의 정도를 보는 검사로는 Thallium-201 동위원소를 이용한 경직장 간조영술 (경직장 Thallium-201 검사법)이 비침습적 검사로서 이용되고있다.⁸⁻¹²⁾ ICG-Rmax와 경직장 Thallium-201 검사법의 정상치에 더불어 개체내 분산을 조사하는 것은 상기 검사들의 재현성(reproducibility)을 알 수 있는 방법으로 이들 검사의 유용성을 높일 수 있고, 이러한 연구는 간질환 치료 약제 개발에서의 약효평가에 좀 더 도움이 되리라 사료된다.

대상 및 방법

1. 대 상

한양대학병원 소화기 외래에서 추적 관찰하는 환자로 간조직 소견이 정상인 HBsAg 건강 보유자 24명중 추적 관찰한 혈청 생화학 검사에서 이상이 있었던 8명을 제외한 16명을 대상으로 하였으며, 성별은 남자 8명, 여자 8명이었고, 평균연령은 32.7세(20세~57세)이었다.(Table. 1).

Talbe 1. Age and Sex distribution

Age (yr)	No. of Patients		
	Male	Female	Total
11-20	3	1	4
21-30	3	0	3
31-40	1	3	4
41-50	1	4	5
Total	8	8	16

2. 경직장 Thallium-201 검사법

피검자는 검사 3일전부터 모든 약제의 사용을 중단하였고, 검사 전날밤 피마자유 70cc를 복용하였다. 경식S상 결장경 검사법하에서 F14의 Nelaton's catheter를 항문에서부터 20cm상방까지 삽입한 뒤 이 관을 통해서 Thallium-201 20 MBq(0.5 mCi)를 주입하였다. Thallium-201을 주입한 뒤 일정 시간(20분) 경과 후에 간과 심장에서의 region of interests를 정한 뒤 그 부위들에서의 방사능을 동위원소 측정기로 측정하고 이를 컴퓨터로 계산하여 심장/간 비율을 구한 뒤 이 값을 단락지수(shunt index)로 잡았다.¹³⁾

3. ICG-Rmax 측정법

검사 전날 22시부터 금식시킨 후에 공복 상태에서 ICG를 증류수로 용해시켜 5 mg/ml로 만들어 이 용액을 0.5 mg/kg(저농도)의 부하량으로 약 20초에 걸쳐 정맥 주사한 뒤 반대측 상지에서 정맥 주사전, 주사후 5분, 및 10분에 3ml씩의 혈액을 채취하여 EDTA 채혈관에 보관시키고 5~6시간 후에는 5.0 mg/kg(고농도)의 부하량으로 같은 검사를 실시하였다.

채혈된 혈액을 즉시 원심 분리하여 혈장 1ml씩을 분리하였다. 저농도 시료의 경우에는 혈장 1ml에 생리식염수 2ml를 첨가하였으며, 고농도 시료의 경우에는 증류수도 혈장을 1 : 10의 비율로 희석한 후 희석된 혈장 1ml에 생리식염수 2ml를 첨가하였다.

이들 검체들은 교반기로 잘 혼합된 후 분광광도계를 이용하여 805 nm에서 흡광도를 측정하였으며, 이들 흡광도들은 미리 구한 표준 곡선에서 각각 상응하는 농도량으로 환산한 뒤 그 결과를 semi-log paper에 작도하여 각 부하량에 따른 혈중 소실율 $K(K = 0.693 / t_{1/2})$ 를 산출한 뒤 혈중 소실율에 부하량을 곱하여 ICG 제거율

R($R = K \times \text{용량}$)을 구하였다. Paumgartner방법에 따라 투여량 및 제거율의 역수로 Lineweaver-Burk Plot에 의한 회귀 곡선에서 ICG 최대제거율을 산출하였다.

Lineweaver-Burk Plot이란 Michaelis-Menten Plot을 선상으로 변형시킨 것으로서 혈중 제거율(R)의 역수를 Y축으로, ICG 부하량의 역수를 X축으로 작도하여 얻어진 회귀 곡선을 구하고 이 회귀 곡선이 Y축과 교차하는 점의 역수를 최대제거율(Rmax)로 잡았다.¹⁴⁾

4. 통계 처리 방법

간조적 소견이 정상인 HBsAg 건강 보유자군에서의 ICG-Rmax 및 단락 지수의 평균치와 표준편차를 구하였고 이들의 개체내 분산은 ANOVA(Analysis of Variance)를 이용하여 구하였다.

각 0.24 ± 0.10 , 3.59 ± 1.74 mg/kg/min 이었다 (Table. 2).

2) 단락지수는 전체군에서 개체내 분산이 0.001으로 나타났으며($p=0.884$) 성별차이는 남자에서 0.004($p=0.794$), 여자에서 0.0002($p=0.934$)로 나타나 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Table. 3).

3) ICG-Rmax는 전체군에서 개체내 분산이 9.127으로 나타났으며($p=0.27$) 성별로 나누어서 본 결과는 남자에서 6.573($p=0.032$), 여자에서 3.755($p=0.401$)로 나타나 여자에서는 유의한 차이가 없었으나 남자와 전체군에서는 유의하게 차이가 있었다(Table. 3).

4) 단락지수는 평균보다 ISD 이내를 보이는 경우가 11명/16명, 2SD 이내는 15명/16명인 반면 ICG-Rmax는 각각 2명/16명, 14명/16명 이었다.

결 과

고 안

1) 관찰기간 동안 지속적으로 생화학적 검사 소견이 정상이었던 16명을 대상으로 1주일간으로 관찰 동일인에서 각각 3회, 4회를 측정한 단락 지수와 ICG-Rmax의 평균 및 표준편차는 각

진행성 간질환의 병태생리는 크게 3가지 축의 상호작용으로 설명이 가능한데 이는 간세포의 염증 정도, 간세포 괴사 후의 섬유화와 간 혈류의 변화, 그리고 잔존 기능량을 나타내는 간 세

Table 2. Shunt Index and ICG-Rmax

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Sex	M	F	F	M	F	M	F	M	F	F	M	F	M	M	F	M
Age	26	42	36	22	35	23	43	34	57	47	26	31	20	41	20	20
Shunt index	0.23	0.20	0.16	0.26	0.20	0.41	0.24	0.19	0.22	0.27	0.24	0.14	0.26	0.15	0.23	0.26
	0.28	0.15	0.13	0.21	0.21	0.24	0.20	0.24	0.29	0.14	0.23	0.23	0.78	0.15	0.24	0.21
	0.27	0.15	0.16	0.25	0.18	0.33	0.21	0.19	0.18	0.27	0.22	0.22	0.34	0.27	0.25	0.24
ICG Rmax	2.60	1.19	3.89	5.20	5.20	3.90	2.64	8.00	7.80	4.46	3.39	4.87	2.60	5.67	2.84	2.60
	3.67	1.64	3.12	6.24	7.80	3.90	6.24	4.00	5.20	2.60	2.97	5.20	3.46	3.47	2.60	2.47
	4.10	1.20	5.20	5.40	1.40	1.25	6.24	3.68	7.09	3.67	3.90	2.60	2.31	1.39	6.50	2.31
	2.29	3.54	4.22	3.57	3.51	1.47	2.30	2.91	2.39	2.72	1.10	1.42	2.50	1.73	2.74	1.77

Table 3. Result of Analysis of Variance

	Source	D. F.	Sum of squares	Mean squares	F ratio	p value
TI scan	Total	2	0.0025	0.0012	0.1233	0.8843
	Male	2	0.0075	0.0038	0.2327	0.7944
	Female	2	0.0003	0.0002	0.0689	0.9336
ICG-Rmax	Total	3	27.3796	9.1265	3.2882	0.0267
	Male	3	19.7196	6.5732	3.3982	0.0315
	Female	3	11.2659	3.7553	1.1015	0.4008

포의 재생능력으로 구성되며 이 3축을 반영하는 검사법으로는 각각 GOT/GPT, 경직장Thallium-201 검사법, 그리고 ICG-Rmax 검사법 등이 있을 수 있다. 진행성 간 질환자의 현 상태를 파악하고 치료 약제의 효과 판정을 위해서는, 간 조직 검사나 방사선학적 영상진단과 같은 구조적 이상을 보는 검사법도 중요하지만 기능적이고 역동적인 간의 변화상태를 반영할 수 있는 검사법이 더욱 중요하다. 그 이유는 간은 기능적 기관(functional organ)으로서 구조적 변화없이도 약 30%의 잔존 기능량만 있다면 인체가 객관적으로 병적인 상태를 나타내지 않기 때문이다.

간은 인체에서 중요한 장기의 하나로 특히 인체가 섭취한 음식물이나 약물의 대사 과정에서 큰 역할을 하며 따라서 간의 기능에 이상을 초래하는 만성 간질환의 경우에는 이러한 대사 과정에서 변화가 생기게 된다. 간 질환시 환자에서의 비정상적인 약물 대사의 기전에는 크게 두 가지의 요인이 작용한다.¹⁵⁾ 일차적인 변화로는 간내 효소 활동도의 감소, 기능적 간 세포수의 감소, 동(sinusoid)으로의 혈류 감소, 문맥-체 단락의 형성, 동의 모세혈관화(sinusoidal capillarization)와 담즙 흐름 부전이 있고, 이차적인 변화로는 단백질 합성의 변화, 신 배설의 감소, 영양

실조와 내분비 기능의 변화가 있다. 급성 간질환이 진행되어 만성 활동성 간염 및 간경변으로 이행되면 간의 섬유화가 일어나고 이로 인한 간의 구조적인 변화로 문맥을 통해 간으로 유입되는 혈류에 변화가 일어나게 되어 측부로를 통한 혈류가 점차 증가하게 된다. 따라서 간에서 대사되는 여러 물질들의 대사 및 제거가 영향을 받게되며 그중 혈류 의존성이 커서 first pass metabolism이 큰 약물들, 즉 간 제거율이 높은 약물들(high extraction ratio drugs)의 경우 이러한 혈류의 변화들로 인해 약물대사에 많은 영향을 받게 된다. 반면 간 제거율이 낮은 약물들(low extraction ratio drugs)은 주로 간 세포내의 효소의 활동도에 영향을 받기 때문에 만성 간질환자에서 간의 기능적 용적 저하와 연관성을 보인다.¹⁶⁾ 또한 일부 약물들은 소장에서 first pass metabolism이 일어나는데 이는 소장에 존재하는 효소에 의해 약물이 대사되기 때문이며¹⁷⁾ 만성간질환자에서 관찰되는 장 점막이 울혈은 이와 같은 약물의 대사에 영향을 줄 것이다. 따라서 약물 대사의 측면에서 본다면 간 제거율이 높은 약물과 낮은 약물에 대한 객관적인 약효평가를 위해 간내 혈류변화 및 재생능력을 측정할 수 있는 경직장 Thallium 검사법과 ICG-Rmax 검사법이 중요하다.

간 제거율이 높은 약물을 평가하기 위해 측부로 통한 간 혈류의 변화를 양적으로 측정하는 방법인 경직장 Thallium-201 검사법에서는 적장으로 주입된 Thallium-201 동위원소가 상적장 정맥, 하장간 정맥, 간문맥을 차례로 거쳐 간에 대부분의 동위원소가 흡착(uptake)되는 것이 정상이다. 그러나 만성간질환이 진행되어 측부를 통한 혈류가 더 많아진 경우에는 간 보다는 심근 등 기타 장기에 더 많은 양의 동위원소가 흡착된다. 따라서 Thallium-201 검사법을 이용해서 심근과 간에서의 방사능 활동도를 측정하고 비율을 계산함으로써 단락지수(shunt index)를 구하고 측부를 통한 혈류량을 간접적으로 측정할 수 있어 1982년 Tonami 등이 개발한 뒤로 널리 사용되고 있다.⁸⁻¹²⁾

간 제거율이 낮은 약물의 약효 평가를 위해서는 간의 잔존 기능량(hepatic reserve function)을 보는 것이 중요한 의미를 가지며 검사 방법으로는 간내 제거율을 정량적으로 측정하는 ICG-Rmax 검사법이 있다. 또한 이 방법은 간염 제거술의 일종으로 이전에 사용되는 bromsulphalein(BSP) 검사보다 부작용이 극히 적고 간내에서의 포획반응이 전혀 없으며 장간 순환이나 간의 배설 및 조직 침착이 없어서 간기능이 심하게 저하된 경우에도 간기능 예비력을 정확히 반영하여 주기 때문에 1970년 Paumgartner 등이 보고한 이래로 임상적으로 널리 사용되고 있다.¹⁹⁻²⁰⁾

만성 간 질환자에서 약물치료의 효과 판정을 위해서는 이상에서 언급한 두가지의 검사법이 유용하며 검사결과 판정의 기준치 산정을 위해 저자들은 B형 간염 바이러스 건강보유자에서의 경직장 Thallium-201 검사를 이용한 단락지수의 평균(±표준편차)을 0.24 ± 0.07 로, ICG-Rmax는 4.15 ± 2.21 mg/kg/min(범위 2.46~9.21)으로 이

미 발표한 바 있다.¹³⁾ 정상치를 측정할 때 가장 바람직한 대상군은 간 조직 검사, 혈청 생화학적 간검사 및 B형 간염 바이러스 표지자 검사도 정상인 대상군을 찾아야 되는데 이러한 대상군을 찾는 것은 윤리적인 문제로 불가능하고 B형 간염바이러스에 감염된 환자에서 현실적으로 바이러스를 완전히 제거하지 못한다면 간 조직 검사 및 생화학적 간검사가 정상인 간염 바이러스 보유자가 B형 간염 바이러스가 원인인 진행성 만성 간질환자에 대한 최종 목표가 될 수 있다 하겠다. 또한 이들 검사법의 평균과 더불어 각 검사법의 재현성을 알아보고 비교함으로써 검사 결과를 판독하는데 보다 도움이 될 것으로 생각된다.

본 연구에서 조사한 경직장 Thallium-201 검사는 3회에 걸쳐 시행한 값의 분산 분석이 통계학적으로 유의한 차이가 없어 동일인에서 반복 시행한 경우 일정한 값을 갖는 것으로 판단되어 재현성이 있음을 알 수 있었다. 이에반해 ICG-Rmax는 4회에 걸쳐 시행한 수치의 분산이 통계학적으로 유의한 차이가 있어 이는 Thallium-201 검사법에 비해 재현성이 떨어짐을 나타내는 것이다. 성별로 비교해 보면 ICG-Rmax와 경직장 Thallium-201 검사 모두 여자 보다는 남자에서 개체내 분산이 크게 나타났고 특히 ICG-Rmax에서는 통계적으로 유의한 차이가 있었다. 이 결과는 앞으로 보다 연구가 필요하겠지만 남자들이 보다 더 활발한 사회 활동과 빈번한 음주, 흡연 등 여러변수를 가지고 있어 이로 인한 것이 아닐까 사료된다.

이상의 결과로 경직장 Thallium-201 검사는 재현성이 높는데 반해 ICG-Rmax는 상대적으로 재현성이 낮음을 알 수 있었다. 만성 간질환 환자에서는 염증정도를 나타내는 GOT/GPT 이외에 이러한 검사를 이용한 주기적인 추적 관찰이

병의 진행과정을 보다 정확히 나타내 주고 또한 각종 치료 약물들의 약효판정에 필요한 것으로 생각되며 생화학적 간검사와 경직장 Thallium-201 검사는 큰 변화없이 ICG-Rmax만 큰 값의 변화가 있을 때는 다시 ICG-Rmax 검사를 고려해 볼 필요성이 있음을 인지할 수 있었다.

References

- 1) 정숙향, 이효석. 간암의 원인. 대한의학협회지 1992; 35: 8-13
- 2) 김정룡, 김진욱, 이효석, 윤용범, 송인성. 만성 간염 및 간경변증환자의 자연경과와 생존률에 관한 연구. 대한내과학회지 1994; 46: 168-180
- 3) Scheuer PJ. Liver biopsy in the diagnosis of cirrhosis. Gut 1970; 11: 275-278
- 4) Soloway RD, Baggenstoss AH, Schoenfield LJ, Summerskill WHJ. Observer error and sampling variability tested in evaluation of hepatitis and cirrhosis by liver biopsy. Digestive Disease 1971; 16: 1082-1089
- 5) Albert J. Czaja, Herschel A. Carpenter. Sensitivity, Specificity, and Predictability of Biopsy Interpretations in Chronic Hepatitis. Gastroenterology 1993; 105: 1824-1832
- 6) Hunton DB, Bollman JL, Hoffman HN. The Plasma Removal of Indocyanine Green and Sulfobromophthalein: Effect of Dosage and Blocking Agents. J Clin Invest 1961; 40: 1648-1655
- 7) Caesar J, Shaldon S, Chiandussi L. The use of indocyanine green in the measurement of hepatic blood flow and as a test of hepatic function. Clin. Sci. 1961; 21: 43-57
- 8) Bradley-Moore PR, Lebowitz E, Green MW. Thallium-201 for medical use II. Biologic behavior. J Nucl Med 1975; 16: 151-155
- 9) Nakamura T, Nakamura S, Kaneko T. Measurement of extrahepatic shunted blood flow in liver cirrhosis. J Lab Clin Med 1962; 60: 889-901
- 10) Shiomi S, Kuroki T, Kurai O. Portal Circulation by Technetium-99m Pertechnetate Per-Rectal Portal Scintigraphy. J Nucl Med 1988; 29: 460-465
- 11) Tonami N, Nakajima K, Hisada K, Kobayashi K. A Noninvasive Method for Evaluating Portal Circulation by Administration of Tl-201 per Rectum. J Nucl Med 1982; 23: 965-972
- 12) D'Arienzo A, Celentano L, Scuotto A, Sierri PD, Lombardi V, Squame G, Mazzaca G. Thallium-201 per Rectum for the Diagnosis of Cirrhosis in Patients with Asymptomatic Chronic Hepatitis. Hepatology 1988; 8: 785-787
- 13) 황선호, 박문승, 한동수, 손주현, 윤병철, 함준수, 기춘석, 박경남, 이민호: 간조직소견이 정상인 HBsAg 건강 보유자에 대한 임상적 연구. 대한 내과 학회지 1995; 49: 753-759
- 14) 김 완, 정화순, 최태열, 김춘원: 간암 및 간경변증 환자에서의 ICG-Rmax 측정의 의의. 대한임상병리학회지 1987; 7: 19-26
- 15) Schiff L, Schiff ER. Disease of the liver. 7th ed. Eastwashington Philadelphia, Lippincott, 806, 1993
- 16) 서울대학교 의과대학 편. 임상약리학. 초판. 서울대학교 출판부, 137-155, 1995

- 17) Robin DW, Lee MH, Hansan SS, Wood AJJ. *Triazolam in cirrhosis : Pharmacokinetics and pharmacodynamics. Clinical pharmacology and therapeutics* 1993;54:630-637
- 18) 김미향, 이정운, 권오현, 박규은, 선영규. 간 절제를 위한 ICG-Rmax의 유용성 및 새로운 참고치 산정. *대한임상병리학회지* 1992; 12: 283-289
- 19) Paumgartner G, Prost P, Krainse R, Leevy CM. *Kinetics of Indocyanine Green Removal from the Blood. Ann NY Acad Science* 1970; 170: 134-147
- 20) Moody FG, Rikker LF, Aldrete JS: *Estimation of the Functional Reserve of Human Liver. Ann Surg* 1974; 180: 592-598