



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이학석사 학위논문

중추신경계 탈수초 질환에서
항MOG 항체의 세포 기반 분석 연구

Application of cell-based assay of
anti-myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody in
patients with CNS demyelinating diseases

울 산 대 학 교 대 학 원

의 과 학 과

김 승 미

중추신경계 탈수초 질환에서
항MOG 항체의 세포 기반 분석 연구

지도교수 이은재

이 논문을 이학석사학위 논문으로 제출함

2023년 08월

울산대학교 대학원

의과학과

김승미

김승미의 이학석사학위 논문을 인준함

심사위원 이 승 주 인

심사위원 김 양 식 인

심사위원 이 은 재 인

울 산 대 학 교 대 학 원

2 0 2 3 년 0 8 월

감사의 글

많은 분들의 도움으로 이 논문을 완성하고 석사과정을 마무리 지을 수 있었습니다. 이 지면을 빌어 감사의 마음을 전하고자 합니다. 연구를 시작한 날부터 이 논문을 완성하기까지 도움 주신 모든 분들께 감사드립니다.

우선, 석사 과정 동안 큰 가르침을 주신 저의 지도 교수님이신 이은재 교수님 감사드립니다. 방향을 제시해주시고 의미와 자부심을 가지고 연구할 수 있도록 고치시켜 주셔서 부족한 제가 여기까지 올 수 있었던 것 같습니다. 바쁘신 중에도 랩미팅 시간 내에 하나라도 더 가르쳐 주시고자 판서로 강의해 주신 교수님의 열의와 애정을 기억합니다. 지도를 받으며 연구하고 공부했던 지난 몇 년이 제 인생에 너무나도 뜻 깊은 시간들이었습니다. 석사 과정 동안 개인적인 대소사가 많았는데 끝까지 완수할 수 있도록 격려해주시고 학위 논문까지 잘 마무리할 수 있도록 끝까지 도움 주셔서 정말 감사드립니다.

논문 심사 과정에서 아낌 없는 지도로 많은 가르침을 주신 이승주 교수님, 김양식 교수님께도 감사드립니다. 바쁘신 중에도 시간 내어 주시고 꼼꼼하고 면밀하게 심사를 맡아 주셔서 논문이 잘 마무리 될 수 있었습니다. 결실을 맺을 수 있도록 큰 도움 주셔서 깊은 감사를 드립니다. 매 학기 가르침을 주신 모든 교수님들께도 감사드립니다.

또한 우리 LEJ 랩 연구원 선생님들과 뇌신경연구단 연구원 선생님들, 짧지 않은 시간 동안 동고동락하며 함께 연구하고 고민하고 웃었던 시간들 너무 감사했습니다. 필요한 때마다 주신 여러 선생님들의 도움으로 한 과정 씩 잘 해결하며 연구자로 성장할 수 있었습니다. 감사합니다.

그리고 우리 사랑하는 가족들 감사합니다. 학업을 잘 마무리 할 수 있도록 물심양면으로 도와주신 친정 부모님, 시부모님 감사합니다. 늘 응원해주는 우리 신랑과 이준이, 이나에게도 고마움과 사랑을 전합니다. 마지막으로, 부족한 저를 가장 선한 길로 인도해주시는 하나님께 감사드립니다.

국문 요약

연구 배경

Myelin oligodendrocyte glycoprotein(MOG)은 중추신경계의 희소돌기아교세포와 미엘린의 표면에 발현되는 단백질이다. 일부 뇌질환 환자 혈액에서 항-MOG 항체가 검출되는데, MOG 단백질을 쥐에 접종하면 뇌에 염증을 유도할 수 있어서 MOG 단백질이 “자가항원”으로서 작용할 것이라는 가설이 제기되어 왔다. 그러나 항-MOG 항체가 직접적이고 특이적인 질병항원(pathogenic antigen)으로서 작용하여 환자의 질환을 일으키는지, 혹은 이차적인 면역반응의 질병표지자로서 비특이적으로 희소돌기아교세포의 질병흔적을 나타내는지 분명치 않다. 이를 알기 위해서는 여러 뇌신경환자에서 항-MOG 항체 검사를 수행해야 하는데 기존의 항체 검사방법인 Western Blot과 ELISA 등은 분석 결과가 안정적이지 않아서 이를 제대로 확인할 수 없었다. 최근 개발된 세포 기반 분석법(Cell-based assay, CBA)은 안정적으로 항-MOG 항체를 검출할 수 있다. 본 연구에서는 CBA를 이용한 혈액 내 항-MOG 항체의 “질환특이성”과, CBA 반응정도에 따른 “질환활성도”를 분석 검정하고자 하였다.

연구 방법

본 연구는 두 가지 연구 축으로 진행되었다. 첫 번째 연구는 2018년 6월부터 2019년 2월까지 서울아산병원 신경과 탈수초클리닉에 방문하여 연구에 동의한 418명 뇌신경질환자들의 혈액 샘플을 대상으로 항-MOG 항체 유무 확인 검사를 했고, 두 번째 연구에서는 2018년 6월부터 2021년 12월까지 항-MOG 항체가 양성으로 검출된 37명 환자들의 77개의 샘플을 대상으로 분석이 이뤄졌다. 1개월 이내에 발병(attack)이 발생한 환자들을 “재발(Relapse)” 군으로 분류했고, 1개월 이후에 재발이 발생했거나 없었던 환자들은 “회복(Remission)” 군으로 분류했다.

중추신경계 탈수초 질환은 발표된 기준에 따라 다음과 같이 6가지 군으로 분류했다 (다발성 경화증(Multiple Sclerosis, MS, 118명), AQP4-IgG-양성 시신경 척수염 스펙트럼 장애(AQP4-IgG-positive NMOSD, 63명), AQP4-IgG-음성 시신경 척수염 스펙트럼 장애(AQP4-IgG-negative NMOSD, 19명), AQP4-IgG-음성 시신경염(AQP4-IgG-negative ON, 24명), AQP4-IgG-음성 척수염(AQP4-IgG-negative myelitis, 62명), 다른 중추신경계 탈수초 질환, 19명). 장애정도는 EDSS(Expanded Disability Status Scale) 점수로 나타냈고, 이는 정상 0부터 죽음 10까지로 구성되어 있다. CBA의 반응정도는 1:10으로 희석한 환자 샘

플을 반정량적으로 분석하였다. 형광 발현이 없는 정도를 0, 낮은 레벨의 발현을 1, 더 증가된 발현을 2-3, 강한 형광 발현 정도를 4로 매겨 점수화했다.

결과

첫 번째 연구에서 418명의 뇌신경환자의 혈액 샘플 중 18개의 샘플에서 항-MOG 항체가 검출되었다. 소수의 다발성경화증을 포함하여 AQP4 항체 음성인 시신경 척수염 스펙트럼 장애, 시신경염, 척수염 그리고 그 밖의 다른 탈수초질환 군에서만 검출되었다. 특히 1개월 이내에 재발한 환자군에서 항-MOG 항체가 더 많이 관찰되는 경향이 있었다. 결론적으로 CBA를 이용한 항-MOG 항체의 검사가 특정 탈수초 질환에만 특이적으로 나타나는 것으로 확인하였다.

두 번째 연구에서는 CBA를 통해 항-MOG 항체를 가지고 있는 환자들의 질병 중증도를 얼마나 반영하는 확인하고자 하였다. CBA를 통해 얻은 형광 발현 정도와 EDSS 그리고 뇌 내 신경세포 바이오마커 단백질을 비교하였다. 그 결과, CBA의 형광 발현 정도인 CBA 점수는 오히려 재발 시기보다 회복 시기에서 더 높게 나타나 질환의 활성도를 반영하지 않는 것으로 나타났고(재발 vs. 회복: 2 vs. 3(median), $p = 0.0106$), 질병의 중증도인 EDSS와도 연관이 없었으며($r = 0.0180$, $p = 0.3564$), 신경세포손상 바이오마커인 뉴로필라멘트와도 연관이 없었다($r = 0.09597$, $p = 0.4064$).

결론

CBA를 이용해서, 중추신경계 탈수초 질환에서 질병특이적으로 항-MOG 항체를 검출할 수 있었다. 특히 1개월 이내에 재발한 환자군에서 항-MOG 항체가 더 많이 관찰되는 경향이 있었다. 그러나 CBA의 신호정도를 분석했을 때, 그 점수와 질병활성도/중증도는 연관성을 나타내지 않았다. CBA를 이용한 항-MOG 항체 분석은 임상 현장에 도움이 될 것으로 기대되나, 정량분석의 임상 적용은 후속연구를 통한 발전이 필요하다.

목차

감사의 글	I
국문 요약	II
제1장 서론	1
1.1 연구배경 및 목적	1
1.2 연구가설	2
제2장 연구방법.....	3
2.1 연구절차 및 연구분석 방법	3
2.2 연구대상 및 기간	3
2.3 연구대상 질환 분류	4
제3장 결과	5
3.1 첫 번째 스터디의 결과	5
3.2 두 번째 스터디의 결과	5
제4장 고찰	7
4.1. 요약.....	7
4.2 시사점	7
4.3 원인 분석.....	7
4.4 향후 연구방향	8
제5장 결론	9
표.....	10
그림.....	11
참고문헌	18
영문 요약 (ABSTRACT).....	19

제1장 서론

1.1 연구배경 및 목적

신경세포는 전기신호를 이용하여 서로 소통하기 때문에 빠른 신호 전달이 중요한데, 이를 위해서는 “수초” 즉 myelin이라고 하는 신경을 둘러싸고 있는 조직이 매우 중요하다. 이 수초가 손상을 입어 벗겨지는 질환을 탈수초질환이라고 하는데[1], 갑자기 신경학적 악화를 나타내는 “재발”과 “회복”을 평생 반복적으로 나타내는 것을 특징으로 하며, 환자들마다 다양한 코스를 나타낸다. Myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG)은 중추신경계에서 희소돌기아교세포의 수초에 위치하며 희소돌기아교세포 표면 막에 필수적인 당단백질이다[2,3]. 이 단백질은 수초의 형성, 유지 및 분해에 중요한 역할을 한다고 알려져 있으며[4,5] MOG 유전자에 의해 인코딩되어 218개 아미노산으로 구성되어있다[6,7].

1970년대에 기니피그를 이용한 연구에서 MOG가 면역 반응을 유도하여 탈수초화를 일으킨다는 보고를 시작으로[8], 수십년 동안 실험적 자가면역 뇌척수염(Experimental Autoimmune encephalomyelitis, EAE) 마우스 모델에서 MOG의 역할을 검증하는 연구들을 통해 탈수초화의 자가항원 및 자가항체 표적으로 확인되었다[9,10,11]. 그러나 항-MOG 항체가 특이적인 질병항원(pathogenic antigen)으로서 작용하여 탈수초를 일으키는지[12], 혹은 면역반응의 질병표지자로서 비특이적으로 나타나는지 분명치 않다.

이를 알기 위해서는 여러 뇌신경환자들을 대상으로 항-MOG 항체 검사를 수행해야 하는데 기존의 항체 검사방법인 Western Blot과 ELISA 등은 병원성 구조적 에피토프에 대한 자가항체와 선형 에피토프를 표적으로 하는 항체를 구별할 수 없어 이를 제대로 확인할 수 없었다[13,14,15,16]. 최근 개발된 세포 기반 분석법(Cell-based assay, CBA)은 HEK293 세포주에 막단백질인 MOG 단백질을 형질주입 한 뒤에 환자 혈청이나 뇌척수액 내의 항체를 반응시키는 방법인데[17,18], 막단백질의 3차원 구조를 보존하여 반응을 시키는 만큼 기존의 검사방법에 비해 안정적이고 민감하게 항-MOG 항체를 검출할 수 있다[19,20].

따라서 본 연구에서는 세포 기반 분석법을 이용하여 검출한 항-MOG 항체가 뇌신경 질환에서 얼마나 “특이적”으로 나타나는지 살펴보고, 세포 기반 분석에 나타난 항-MOG 항체의 신호강도가 뇌신경질환의 활성도를 반영할 수 있는지 살펴보고자 하였다[21,22,23].

1.2 연구가설

세포 기반 분석법을 이용한 항-MOG 항체 검사는 질환특이적으로 질환을 구별해낼 수 있을 것이며, 세포 기반 분석법을 이용하여 항-MOG 항체가 검출되는 정도가 환자의 질환 활성도를 반영할 것이다.

제2장 연구방법

2.1 연구절차 및 연구분석 방법

연구에 동의한 환자들의 혈청을 채취하여 -80°C 의 초저온냉동고에 저장하였고 저장 후 2주 이내에 검사를 진행하였다. 분석 툴은 고정된 세포 기반 분석법을 이용하여 상용화된 제품(FA 1156-1010-50, EUROIMMUN®, Germany)을 사용하였다. MOG가 형질주입된 고정된 세포에 혈액을 1:10으로 희석하여 반응시키고, 독립된 연구자가 항체반응의 유무를 판정하였으며, 항체의 신호정도는 그 형광정도에 따라 0점에서부터 가장 강한 발현인 4점까지 점수를 매겨 평가하였다[24].

EDSS (Expanded Disability Status Scale)는 장애 정도를 정량화하는 방법인데 환자의 신경학적 장애 수준을 나타내며 정상 0부터 죽음 10까지로 구성되어 있다. 환자의 MOG 항체 신호정도와의 관계를 알아보기 위해 평가하였다.

Simoa는 극도로 민감하게 혈액의 분자를 검출해내는 분석 방법으로, 해당 연구에서는 혈액 내 신경세포 손상 마커인 뉴로필라멘트(Neurofilament, NfL) 그리고 성상세포 손상 마커인 GFAP (Glial fibrillary acidic protein)을 측정하기 위해 사용했다.

두 그룹간의 차이는 t-검정(t-test)으로 분석하였으며 비모수검정이 필요한 경우에는 만-휘트니 검정(Mann-Whitney U test)을 사용하였다. 두 변수 간의 관계를 알아보기 위해 피어슨 상관관계(Pearson correlation) 분석을 사용하였으며, 피어슨 상관관계수 r (Pearson Correlation Coefficient)이 (+) 일 때 양의 관계를, (-) 일 때 음의 관계를 나타내고 절댓값 1에 가까울수록 상관관계를 나타낸다.

2.2 연구대상 및 기간

첫 번째 스터디에서는 2018년 6월부터 2019년 2월까지 서울아산병원 탈수초 클리닉에 방문하여 연구에 동의한 418명의 뇌신경질환 환자를 대상으로 혈액 샘플을 채취하여 분석하였고, 두 번째 스터디에서는 2018년 6월부터 2021년 12월까지 기존 검사를 통해 항-MOG 항체가 검출된 37명의 환자들을 대상으로 각 다른 시점의 혈액 샘플을 포함하여 총 77개의 혈액 샘플을 채취하여 분석하였다. 환자들은 두 그룹으로 구별하였는데 혈액 채취 시점에서 1개월 이내에 발병(attack)이 있었으면 재발(Relapse) 그룹으로, 없었으면 회복(Remission) 그룹으로 분류하였다.

2.3 연구대상 질환 분류

중추신경계 탈수초 질환은 전통적인 방법에 따라 다발성경화증(Multiple Sclerosis, MS), AQP4 항체를 가지는 시신경 척수염 범주 질환(AQP4-IgG-positive NMOSD), AQP4 항체를 가지지 않는 시신경 척수염 범주 질환(AQP4-IgG-negative NMOSD), AQP4 항체를 가지지 않는 시신경염(AQP4-IgG-negative Optic neuritis), AQP4 항체를 가지지 않는 척수염(AQP4-IgG-negative myelitis) 그리고 그 밖의 다른 탈수초질환으로 분류되었다.

시신경 척수염 범주 질환(NMOSD)은 Wingerchuk criteria[25]를 기준으로, 다발성경화증(MS)은 Mcdonald criteria[26]를 기준으로 임상적 분류되어 진단되었다.

제3장 결과

3.1 첫 번째 스터디의 결과

약 8개월 간 서울아산병원 탈수초질환 클리닉 외래를 방문하여 연구에 동의한 환자들을 대상으로 항-MOG 항체 검사를 한 결과, 항-MOG 항체는 26%의 다른 뇌신경질환(Other diseases) 환자 샘플에서는 검출되지 않았고 74%의 탈수초질환 환자 샘플에서만 검출되어, 항-MOG 항체는 탈수초질환에서만 질병특이적으로 나타난다는 점을 시사하였다.

또한 탈수초질환 중 항-AQP4 항체를 가지고 있는 시신경 척수염 범주 질환 환자에서 역시 아무도 항-MOG 항체를 나타내지 않았다. 항-MOG 항체는 418명의 뇌신경환자의 혈액 샘플 중 18개의 샘플에서 검출되었는데, 주로 소수의 다발성경화증을 포함하여 AQP4 항체 음성인 시신경염, 척수염, 그리고 다른 탈수초질환 군에서만 검출되었다(그림 1).

이것은 항-MOG 항체가 항-AQP4 항체처럼 독립적인 병원성 항체일 가능성을 시사하였다.

“재발(Relapse)”, “회복(Remission)” 그룹으로 나누어 비교했을 때에 재발 그룹에서 항-MOG 항체를 가지는 비율이 더 높게 관찰되었는데(표 1), 발병(attack)이 1개월 이내에 있었던 “재발” 그룹에서 더 높은 혈청 양성 유병률을 나타냈다(그림 2). 따라서 질병활성도가 높을수록 혈청 양성 정도가 더 높게 나타날 가능성이 제시되어 두 번째 스터디로 진행되었다.

3.2 두 번째 스터디의 결과

세포 기반 분석법으로 항-MOG 항체를 검사할 때, 그 혈청 양성 정도가 질병활성도를 반영할 수 있을지 두 번째 연구를 통해 살펴보았다. 두 번째 연구에서는 이전에 항-MOG 항체 검사에서 양성이었던 37명의 환자들을 대상으로 하였고, 그 환자들의 서로 다른 시점의 샘플 77개를 모아서 분석했다. 세포 기반 분석법을 통해 얻은 형광 발현 정도에 따라 매긴 각 점수 별 분포는 2-3점대가 가장 많았고 그 다음은 0-1점대였다(그림 3).

“재발”과 “회복” 시기를 나누어 세포 기반 분석법의 점수 분포를 보았는데, 가설과 다르게 오히려 재발 시기보다 회복에서의 세포 기반 분석법 점수 값이 높게 나와서(재발 v s. 회복: (median) 2 vs. 3, $p = 0.0106$) 세포 기반 분석법이 질병의 활성도를 반영하지 못하는 것으로 해석된다(그림 3).

또한 세포 기반 분석법 점수는 “전체(Total)”, “재발(Relapse)” 그리고 “회복(Remission)” 그룹으로 나누어 확인해보아도 신경학적 심각도인 EDSS 점수와 연관이 없었으며(total :

$r = 0.0180$, $p = 0.3564$)(그림 4), 질병중증도를 반영한다고 잘 알려진 신경세포 손상 마커인 NfL의 값을 Simoa로 측정하여 비교했을 때에도 마찬가지로 연관성을 갖지 않았다(total : $r = 0.09597$, $p = 0.4064$)(그림 5). NfL과 비교하기 위해 측정한 성상세포 손상 마커인 GFAP도 세포 기반 분석법 점수와 연관성을 갖지 않았다(total : $r = -0.04438$, $p = 0.7015$)(그림 6). 연령에 따른 점수도 "재발", "회복" 그룹으로 나누어 비교했을 때에도 마찬가지로 연관성을 갖지 않았다(그림 7).

제4장 고찰

4.1. 요약

이 연구에서는 기존의 항체 검사 방법에 비해 더 안정적이고 민감한 세포 기반 분석법을 이용하여 4년에 걸쳐 항-MOG 항체 분석을 수행하였다. 그 결과 항-MOG 항체는 탈수초 질환을 가진 환자들의 혈청에서만 검출되었고 그 외의 탈수초질환이 아닌 환자군에서는 검출되지 않았다. 이것은 탈수초에 중요한 항-MOG 항체의 유무를 검사하는 방법으로 세포 기반 분석법이 유용하며 질환특이적으로 섬세하게 질환을 구별해낼 수 있음을 뜻한다. 또한 1개월 이내에 발병(attack)이 있었던 재발(Relapse) 군과 발병한지 1개월이 넘은 회복(Remission) 군을 비교했을 때에, 재발 군에서 항-MOG 항체 양성인 환자들이 더 많았다. 이것은 질병활성도가 강한 시기의 환자가 질병활성도가 비교적 약한 시기의 환자보다 항-MOG 항체를 더 많이 가진다는 것을 뜻하며 이것을 세포 기반 분석법을 이용해 구별해낼 수 있음을 뜻한다. 세포 기반 분석법은 세포 표면의 MOG 펩타이드에 항-MOG 항체가 결합하여 형광을 발현하는데, 혈액 내 더 많은 항체가 존재하여 세포 표면의 펩타이드와 더 많이 결합하였을 때 형광의 세기가 더 강해지게 된다. 따라서 세포 기반 분석법으로 확인한 형광의 세기를 점수화 하였을 때 질환의 중증도와 연관성이 있는지 보고자 하였다. 그 결과, 세포 기반 분석 점수는 EDSS, NfL, GFAP, Age와 연관성을 갖지 못하였다.

4.2 시사점

해당 연구에서 세포 기반 분석법을 이용한 항-MOG 항체는 특정 뇌신경질환에서 특이적으로 나타나는 것을 확인했다. 특히 탈수초질환이 아닌 환자에서는 항-MOG 항체가 발견되지 않았으며, 항-AQP4 항체를 갖지 않는 척수염과 시신경염 환자에서 특이적으로 나타났다. 또한 1개월 이내에 재발한 환자군에서 항-MOG 항체가 더 많이 관찰되는 경향이 있었다.

4.3 원인 분석

세포 기반 분석법의 신호정도를 5단계로 나눠 분석했을 때 그 점수는 질병활성도나 심각도를 충분히 반영하지 못했다. 이는 형질주입 후 고정시킨 죽은 세포를 사용하였기 때문에 살아있는 세포를 이용하는 것에 비해 민감도가 떨어진다는 점과, 항체가 세포 표

면의 MOG 단백질과 결합했을 때 나타나는 형광 정도를 연구자가 육안으로 관찰 후 주관적으로 점수를 매겼다는 점에서 방법적 한계가 있다.

4.4 향후 연구방향

이를 극복하고자 형질주입된 살아있는 세포에 혈액 내 항체를 반응시켜 형광정도를 FACS로 반정량검사하여 분석하는 방법을 개발 중에 있다. 이것은 대조군 대비 형광세기가 강한 세포들만 추적하여 형광 세기를 측정하여 보여주는데, 대조군과 양성 군의 충분한 n수의 측정값으로 범위를 설정하고 그 범위 안에 속하면 양성, 그렇지 않으면 음성인 것으로 분석하고 그 값으로 항체의 양을 정량화할 수 있다. 이를 위해서는 범위를 설정할 수 있을 만큼의 충분한 n수의 측정값이 필요하다. 더 나아가 엑소좀 및 FCS (Fluorescence correlation spectroscopy)를 적용해서 정량하여 검사하는 방법까지 개발할 예정이다. 또한 아직까지 탈수초질환 마우스모델로 MS 모델인 EAE 모델만 존재하는데, 항-MOG 항체에 의해 탈수초가 유도되거나 탈수초가 일어나 항-MOG 항체가 분비되는 탈수초 동물 모델이 개발되면 항체의 체외 진단도구를 연구하는데 큰 도움이 될 것으로 보인다. 탈수초질환의 항-MOG 항체를 질병특이적으로 검사하고, 질병의 활성도를 혈액 내 항체의 양으로 신속하게 볼 수 있도록 더 많은 연구가 필요하다.

제5장 결론

세포 기반 분석법을 이용한 항-MOG 검사를 이용해서, 항-MOG 항체가 중추신경계 탈수초 질환에서 질병특이적으로 나타난다는 것을 확인하였다. 특히 최근 재발한 환자군에서 항-MOG 항체가 더 많이 관찰되는 경향이 있었다. 그러나 세포 기반 분석법의 신호 정도를 분석했을 때, 그 점수와 질병활성도/중증도는 연관성을 나타내지 않았다. 항-MOG 항체 검사를 이용해 환자의 중증도를 평가하기 위해서는 세포 기반 분석법보다 더 예민하고 객관적인 정량분석법이 필요할 수 있다. 결론적으로 세포 기반 분석법을 이용한 항-MOG 항체 분석은 혈액 내 질병특이적 항체 유무를 판별하는데 도움이 되고, 환자의 질병활성도/중증도를 반영하기 위해서는 후속연구를 통한, 보다 발전된 정량분석 방법개발이 필요하다.

표 1. 기저 특성(Baseline characteristics)

	Recent attack within 1 month		p
	With (n = 34)	Without (n = 271)	
Age at onset	42 [33.5-55.5]	40 [28-51]	0.211
Follow-up duration (years)	1.5 [1-7]	6 [2-11]	<0.001
Female	26 (76.5)	171 (63.1)	0.124
Onset attack			0.048
Optic neuritis	12 (35.3)	61 (22.5)	
Myelitis	9 (26.5)	137 (50.6)	
Brain lesion	9 (26.5)	56 (20.7)	
Optic neuritis + Myelitis	1 (2.9)	3 (1.1)	
Optic neuritis + Brain lesion	1 (2.9)	1 (0.4)	
Myelitis + Brain lesion	2 (5.9)	11 (4.1)	
Unknown	0 (0.0)	2 (0.7)	
Clinical course			
Monophasic	15 (44.1)	114 (42.1)	0.819
Annual relapse rate	1 [0.5-1]	0.4 [0.2-0.9]	<0.001
Diagnosis at last-follow-up			0.001
Multiple sclerosis	6 (17.6)	112 (41.3)	
AQP4-IgG-positive NMOSD	6 (17.6)	57 (21.0)	
AQP4-IgG-negative NMOSD	5 (14.7)	14 (5.2)	
AQP4-IgG-negative optic neuritis	8 (23.5)	16 (5.9)	
AQP4-IgG-negative myelitis	5 (14.7)	57 (21.0)	
Other demyelinating disease	4 (11.8)	15 (5.5)	
From the last attack to blood sampling	9 [4.9-19.3]	849 [232-2514]	<0.001
Immune modulating treatment at blood sampling	15 (44.1)	167 (61.6)	0.063
Expanded Disability Status Scale (EDSS)	3 [2-4.5]	2.5 [1.5-3.5]	0.258
MOG-IgG positive	7 (20.6)	11 (4.1)	0.002

분석 값은 숫자, 백분율, 평균, 표준 편차 또는 중앙값으로 표시하였다.

그림 1. 항-MOG 항체 검사 대상인 418명 환자의 질환 분포 원형차트와 각 질환 별 항-MOG 항체의 혈청 양성 분포 그래프

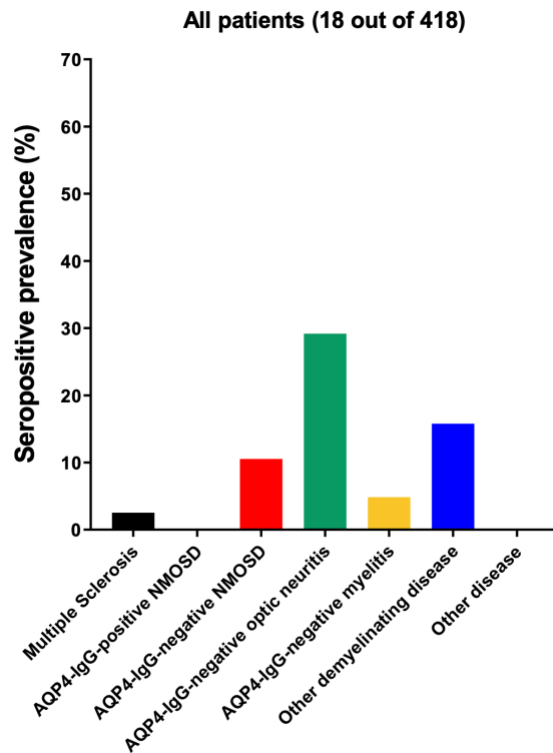
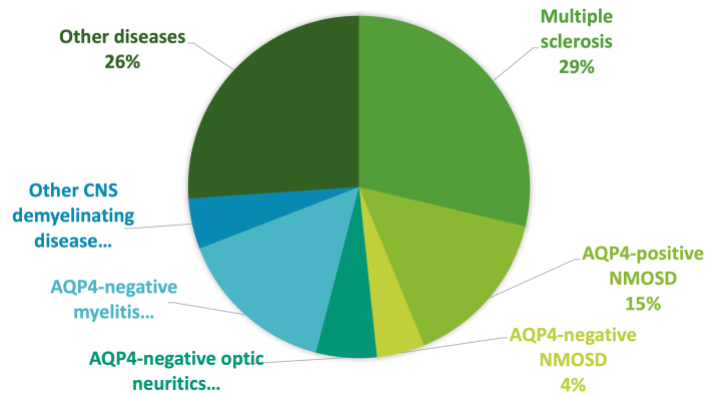


그림 2. 발병(Attack) 1개월 전후를 기준으로 나뉜 "재발", "회복" 두 그룹의 항-MOG 항체의 혈청 양성 분포 그래프

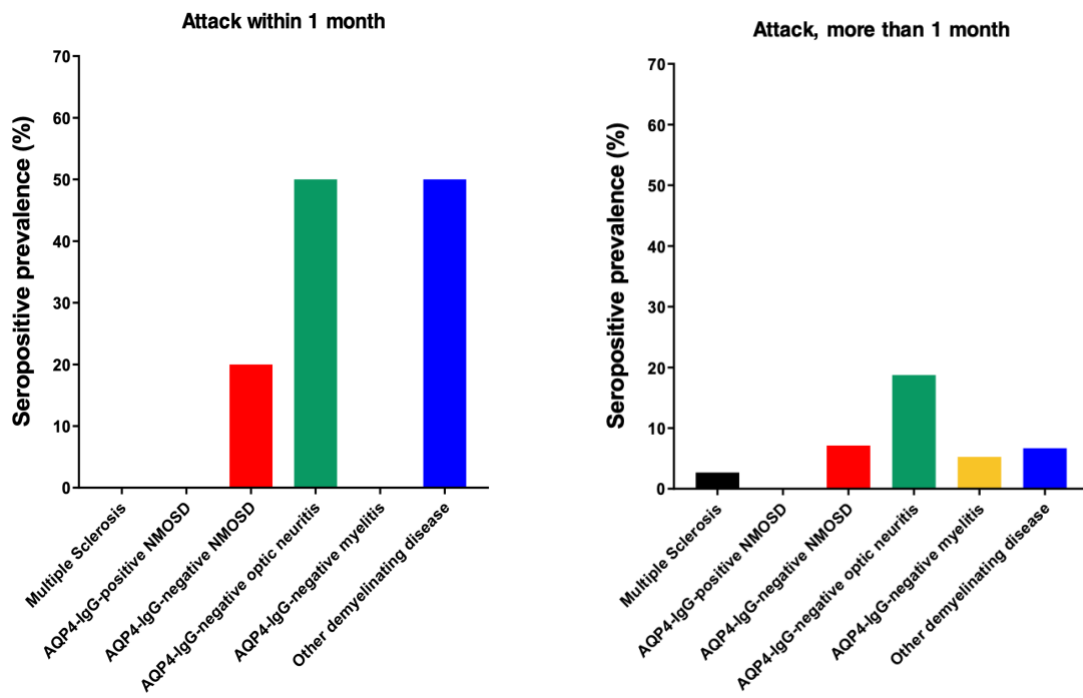


그림 3. 항-MOG 항체 혈청 양성인 77개 샘플의 세포 기반 분석 점수 분포 원형차트와 “재발”, “회복” 두 그룹의 세포 기반 분석 점수 비교 그래프

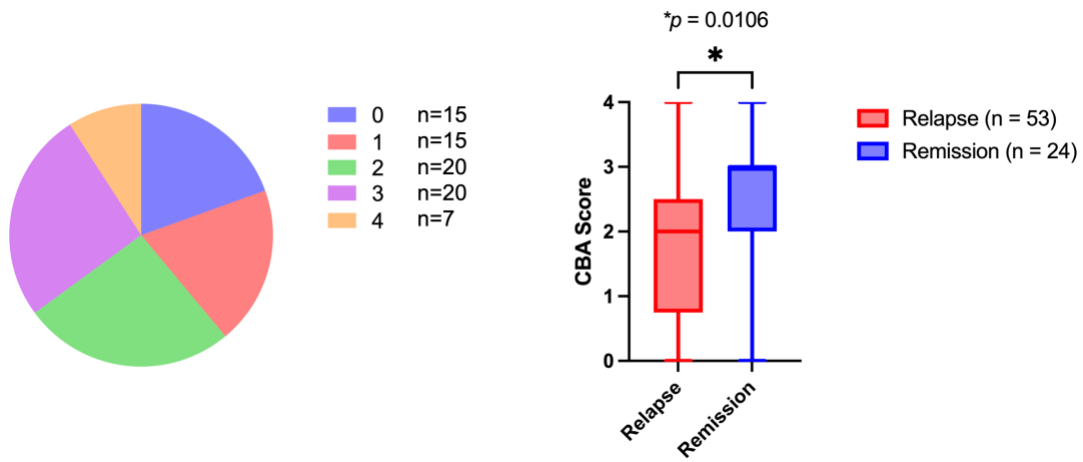


그림 4. "전체(Total)", "재발(Relapse)" 그리고 "회복(Remission)" 세 그룹에서 EDSS 점수에 따른 세포 기반 분석 점수의 상관관계 그래프

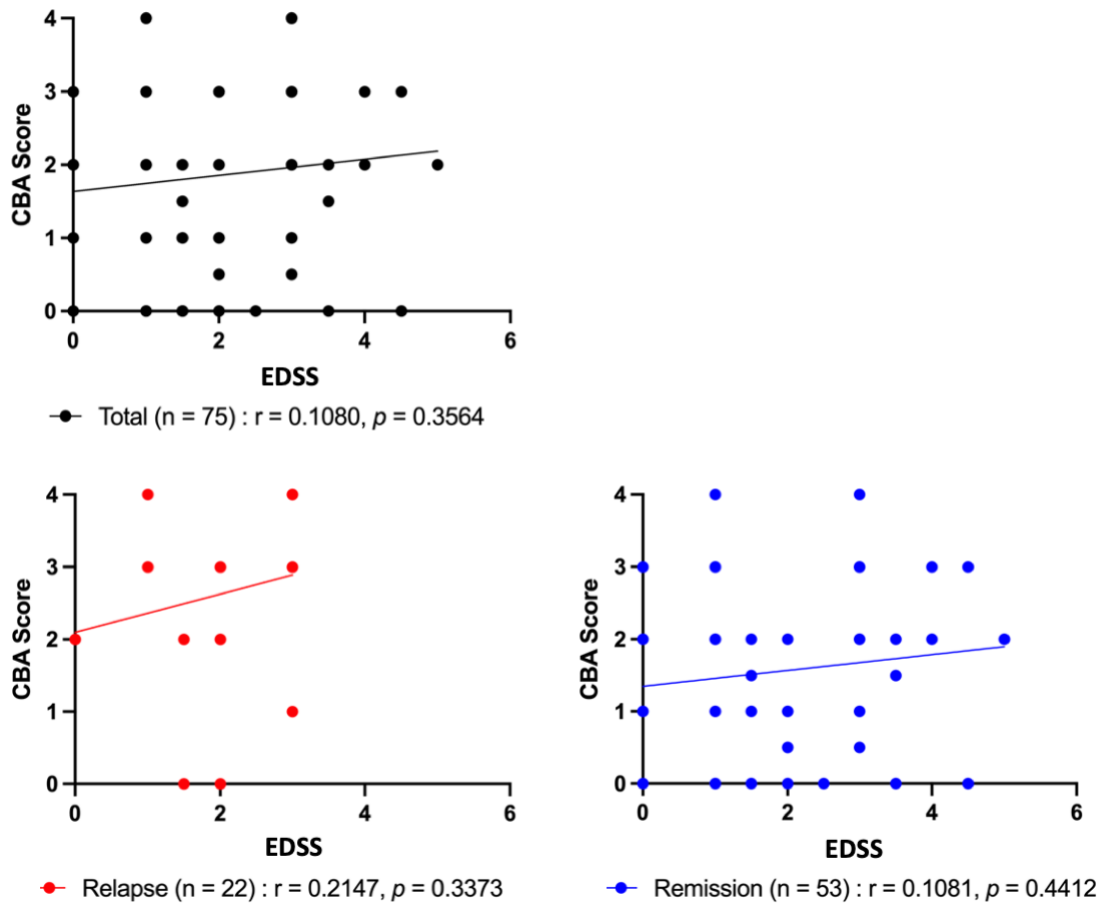


그림 5. "전체(Total)", "재발(Relapse)" 그리고 "회복(Remission)" 세 그룹에서 혈청 내 NfL 농도에 따른 세포 기반 분석 점수의 상관관계 그래프

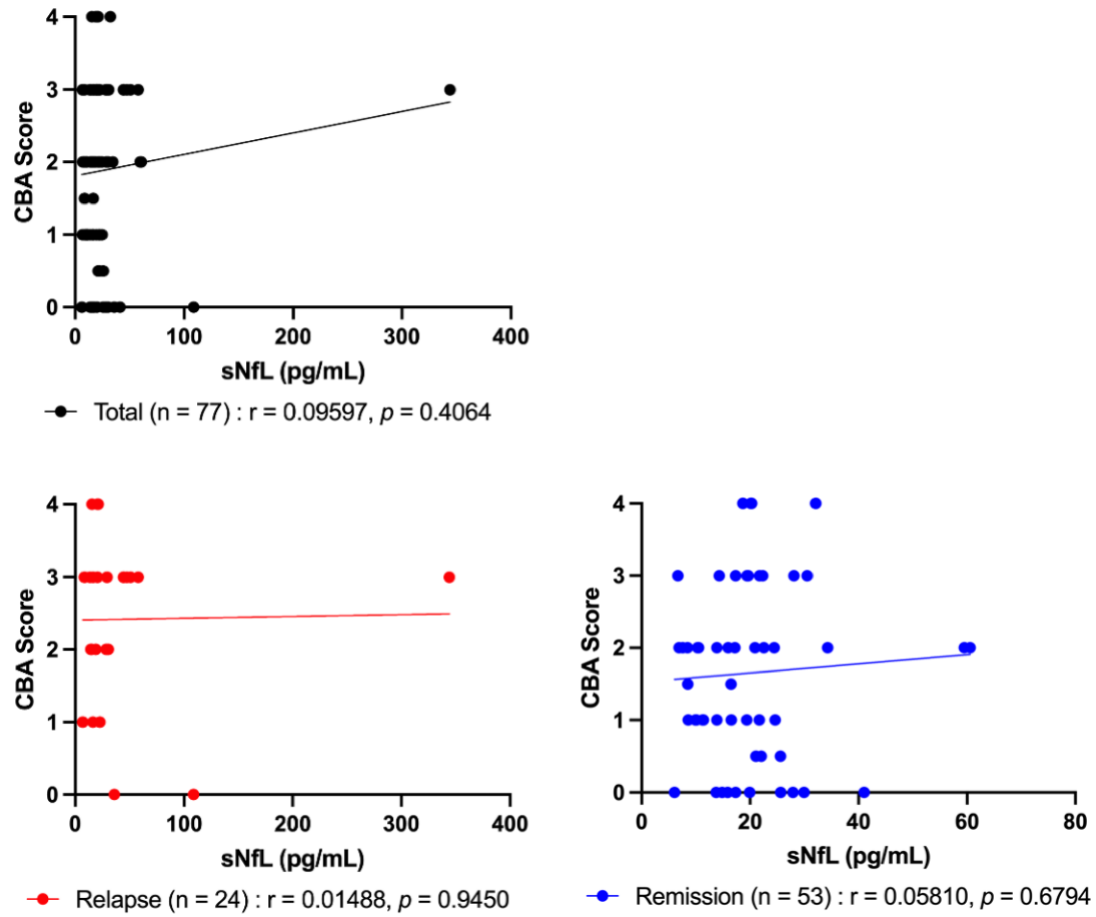


그림 6. "전체(Total)", "재발(Relapse)" 그리고 "회복(Remission)" 세 그룹에서 혈청 내 GFAP 농도에 따른 세포 기반 분석 점수의 상관관계 그래프

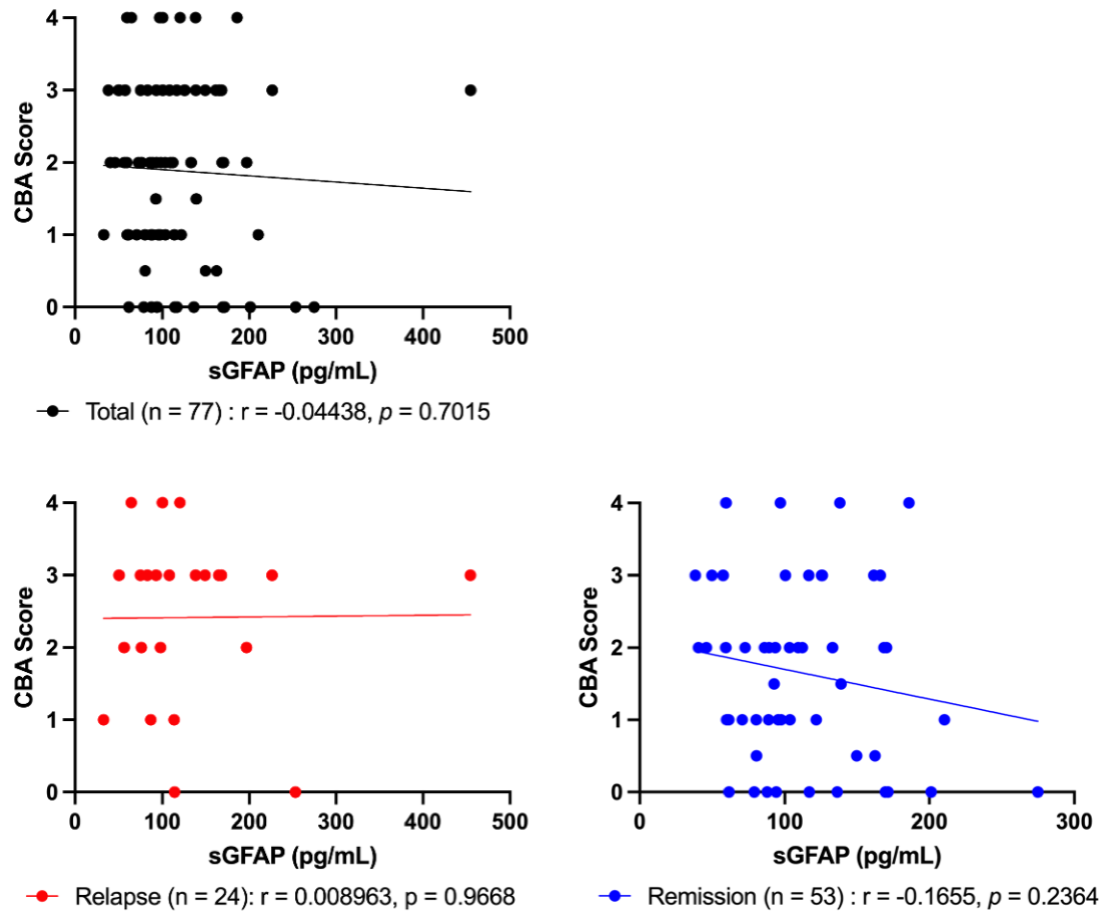
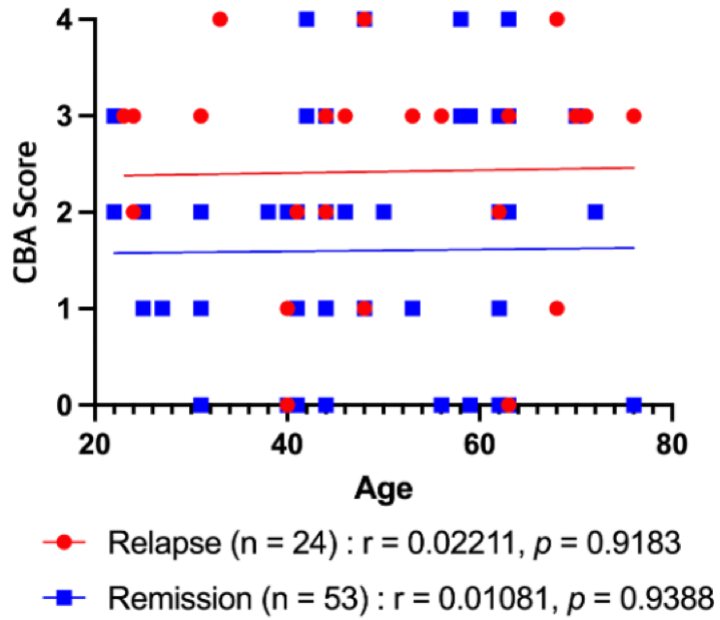


그림 7. "재발(Relapse)", "회복(Remission)" 두 그룹에서 나이에 따른 세포 기반 분석 점수의 상관관계 그래프



참고문헌

- [1] Schluesener HJ et al., J Immunol., 1987;139:4016-4021
- [2] Linnington C, J of Neuroimmunol., 1984;6:387-396
- [3] Quarles R.H., Cell. Mol. Life Sci., 2002, 59, 1851-1871
- [4] D Pham-Dinh et al., Proc Natl Acad Sci U S A, 1993 Sep 1;90(17):7990-4
- [5] Dale RC, Neurol. Neuroimmunol. Neuroinflamm., 2014;1, e12
- [6] D Pham-Dinh et al., J Neurochem, 1994;63:2353-2356
- [7] Hilton A.A., J. Neurochem., 1995, 65, 309-318
- [8] Lebarm R., J. Immunol., 1976, 116, 1439-1446
- [9] Gold R et al., Brain, 2006;129:1953-1971
- [10] Linnington C, Am J Pathol, 1988;130:443-454
- [11] Jegou J. -F., J. Immunol., 2007, 178, 3323-3331
- [12] Jarius S., Mult. Scler., 2016, 22, 1541-1549
- [13] Wurster et al., Autoantibodies, 591-598,
- [14] Breithaupt C, J Immunol., 2008;181:1255-1263
- [15] Menon K. K., J, Neurochem., 2002, 69, 214-222
- [16] Reindl M., Brain, 1999, 122, 2047-2056
- [17] Mader et al., J Neuroinflammation, 2011 Dev 28;8:184
- [18] Reindl et al., Nat Rev Neurol., 2013 Aug;9(8):455-461
- [19] Waters P J et al., Neurology, 2019 Mar 12;92(11):e1250-e1255.
- [20] Jarius S., J, Neuroinflamm., 2018, 15, 134
- [21] Lopez-Chiriboga, A. S. et al., JAMA Neurol., 75, 1355–1363 (2018).
- [22] Wang L. et al., Eur. J, Neurol., 26, 168–174 (2019).
- [23] Cobo-Calvo A., Neurology, 2018, 90, e1858-e1869
- [24] Water P J et al., Neurol.: Neuroimmunol. Neuroinflamm., June 2015; 2 (3)
- [25] Dean M. Wingerchuk et al., Neurology, 2015 Jul 14; 85(2): 177–189.
- [26] Alan J. T., The Lancet Neurology, 2017 volume 17, issue 2, p162-173

영문 요약 (Abstract)

Background

Myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) is a protein expressed on the surface of oligodendrocytes and myelin in central nervous system. Anti-MOG antibodies have been detected in the blood of some patients with brain disorders. It has been hypothesized that MOG protein acts as an "auto-antigen" because it can induce inflammation in the brain when administered to mice. However, it is unclear whether anti-MOG antibodies directly act as pathogenic antigens, causing the patient's disease, or if they represent non-specific markers of disease traces in oligodendrocytes through secondary immune reactions. To determine this, anti-MOG antibody tests need to be performed in several brain disorder patients. However, conventional antibody detection methods such as Western Blot and ELISA have shown inconsistent results, making it difficult to confirm this hypothesis. The recently developed Cell-based assay (CBA) can reliably detect anti-MOG antibodies. In this study, we aimed to analyze the "disease specificity" of anti-MOG antibodies in blood using CBA and examine the "disease activity" based on the intensity of CBA reactions.

Methods

This study was conducted in two main phases. In the first phase, from June 2018 to February 2019, blood samples were collected from 418 neurological disease patients who visited the Demyelinating disease Clinic at Asan Medical Center and agreed to participate in the study. Anti-MOG antibody tests were performed on these samples. In the second phase, from June 2018 to December 2021, analysis was conducted on 77 samples from 37 patients who tested positive for anti-MOG antibodies. Patients who experienced an attack within one month were classified into the "relapse" group, while those who did not experience a relapse or had a relapse after one month were classified into the "remission" group. CNS demyelinating diseases were classified into six groups according to established criteria: Multiple Sclerosis (MS, 118 patients), AQP4-IgG-positive Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder (NMOSD, 63 patients), AQP4-IgG-negative NMOSD (19 patients), AQP4-IgG-negative Optic Neuritis (ON, 24 patients)

nts), AQP4-IgG-negative Myelitis (62 patients), and other CNS demyelinating diseases (19 patients). The degree of disability was assessed using the Expanded Disability Status Scale (EDSS), ranging from 0 (normal) to 10 (death). The CBA score was analyzed semi-quantitatively by diluting patient samples 1:10 and scoring the absence of fluorescence as 0, low-level expression as 1, increased expression as 2-3, and strong fluorescence expression as 4.

Results

In the first phase, anti-MOG antibodies were detected in 18 out of 418 blood samples from neurological disease patients. They were only detected in certain demyelinating disease groups, including a small number of multiple sclerosis cases, AQP4 antibody negative NMOSD, optic neuritis, myelitis, and other demyelinating disorders. Specifically, there was a tendency for more anti-MOG antibodies to be observed in patients who relapsed within one month. In conclusion, the examination of anti-MOG antibodies using CBA confirmed its disease-specific detection limited to certain demyelinating disorders.

In the second phase, we aimed to determine how well the CBA reflects the severity of the disease in patients with anti-MOG antibodies. We compared the fluorescence expression level obtained from the CBA with the EDSS scores and neuronal biomarker proteins in the brain. The results showed that the fluorescence expression level, represented by the CBA score, did not reflect the disease activity compared to the relapse or remission period (relapse vs. remission: (median) 2 vs. 3, $p = 0.0106$). It was also not correlated with the severity of the disease measured by EDSS ($r = 0.0180$, $p = 0.3564$) or neuronal damage biomarker neurofilament ($r = 0.09597$, $p = 0.4064$).

Conclusion

Using CBA, anti-MOG antibodies could be specifically detected in CNS demyelinating diseases. There was a tendency for more anti-MOG antibodies to be observed in patients who relapsed within one month. However, when analyzing the signal intensity of CBA, the score did not correlate with disease activity or severity. The analysis of anti-MOG antibodies using CBA is expected to be helpful in clinical settings, but the clinical application of quantitative analysis requires further research.