

TT Virus Detection Using Different PCR Primer Sets in Healthy and Infected Individuals with Hepatitis B or C Viruses

Han-Sung Kim, Jae-Seok Kim, Wonkeun Song, Hee Jung Kang, Kyu Man Lee

Department of Laboratory Medicine, Hallym University College of Medicine, Anyang, Korea

Background: TT virus (TTV) infection is highly prevalent in the general population and in the patients infected with hepatitis B virus (HBV) or hepatitis C virus (HCV). The aim of the present study was to assess the positive rates of TTV DNA using different PCR primer sets in healthy and HBV or HCV-infected individuals in Korea.

Methods: TTV DNA was investigated in serum samples of 69 healthy individuals and 59 HBV-infected and 34 HCV-infected individuals by nested PCR assays using primers from N22 region, 5'-untranslated region (UTR), and 3' UTR of viral genome.

Results: TTV DNA was detected in 43% of total study populations using N22 primers, in 69% using 5' UTR

primers and, in 64% using 3' UTR primers. No significant difference was observed in the positive rates of TTV DNA between healthy and HBV or HCV-infected individuals.

Conclusion: The PCR assays for TTV DNA using 5' UTR primers and 3' UTR primers exhibited higher positive rates than that of the assay using N22 primers without any significant difference between healthy and HBV or HCV-infected individuals. (*Korean J Clin Microbiol* 2007;10:14-18)

Key Words: TT virus (TTV), Healthy individuals, Hepatitis B virus (HBV), Hepatitis C virus (HCV), Primers

서 론

1997년 일본에서 수혈 후 발생한 원인 불명의 간염 환자에서 처음 발견된 TT 바이러스(TTV)는 환자의 영문 이름 첫글자(TT)와 'transfusion-transmitted virus'라는 의미를 따서 TTV라고 명명하였다[1]. TTV는 외피가 없고, 약 3.8 kb 크기의 원형 단일 가닥 DNA 유전체를 갖는 바이러스이나, 일반적인 DNA 바이러스와는 달리 염기서열 중 유전적으로 매우 다양한 양상을 보이는 부위가 많다[2,3].

TTV 감염을 진단하기 위한 검사에는 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 이용하는데, 유전자의 다양성 때문에 사용하는 시발체의 조합에 따라 양성률에 큰 차이를 보인다[4,5]. TTV는 수혈 후 발생한 간염 환자에서 처음 발견되었으나, 건강한 사람[6,7]과 B형 간염 바이러스(hepatitis B virus, HBV) 및 C형 간염 바이러스(hepatitis C virus, HCV) 감염자[7,8]에서도 높은 빈도로 발견되고 있다. 국내에서는 헌혈자, 만성 간질환자, 혈액투석 환자 등을 대상으로 TTV의 양성

률에 대한 연구들이 보고되었고[9-12], HBV 및 HCV 감염자를 대상으로 한 연구도 소수 시행되었으나[13], 여러 가지 시발체의 양성률을 비교한 연구는 매우 드물다.

이 연구에서는 건강 성인과 HBV 및 HCV 감염자를 대상으로 TTV의 양성률을 조사하고, 특히 여러 가지 시발체에 따른 양성률 차이를 비교하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

건강 성인군 69명, HBV 양성자군 59명, HCV 양성자군 34명을 대상으로 하였다(Table 1). 건강 성인군은 건강 검진에서 특별한 이상 소견이 없으며, B형 간염바이러스 표면항원(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg) 검사와 HCV 항체 검사에서 음성 결과를 보인 성인이었다. HBV 감염자군은 HBsAg 양성이며, ALT (alanine aminotransferase)가 참고범위 내에 속하고 HBV DNA 음성 결과를 보인 HBV 보유자 30명과, HBsAg 양성이며, ALT가 증가하고, HBV DNA가 검출된 HBV 관련 간질환자 29명이었다. HCV 감염자군은 HCV 항체검사서 양성이며, HCV 역전사중합효소연쇄반응(reverse transcriptase PCR, RT-PCR) 양성인 성인이었다. 대상군에서 혈액을 채취한 후 혈청을 분리하여 DNA 추출 전까지 -70°C 에서 냉동 보관하였다.

Received 14 August, 2006, Accepted 26 September, 2006

Correspondence: Han-Sung Kim, Department of Laboratory Medicine, Hallym University Sacred Heart Hospital, 896, Pyeongchon-dong, Dongan-gu, Anyang 431-070, Korea. (Tel) 82-31-380-3932, (Fax) 82-31-380-3934, (E-mail) kimhan@hallym.ac.kr

2. 방법

(1) TTV 검사를 위한 DNA 추출: TTV PCR을 위한 DNA는 혈청 200 μL에서 High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche Diagnostics, Penzberg, Germany)를 사용하여 제조사의 지침에 따라 추출하였다. 추출한 DNA는 PCR 검사 전까지 -70°C에서 냉동 보관하였다.

(2) TTV 검출을 위한 PCR: N22 클론의 유전자 부위를 증폭하는 시발체 조합인 A, 5' UTR 부위를 증폭하는 시발체 조합인 B, 3' UTR 부위를 증폭하는 시발체 조합인 C의 3가지 조합을 이용하여[5] PCR 검사를 시행하였다. 세 가지 방법 모두 heminested PCR 방법으로, A 시발체 조합과 C 시발체 조합은 1차 반응의 antisense 시발체를 2차 반응에서도 antisense 시발체로 사용하였고, B 시발체 조합은 1차 반응의 sense 시발체를 2차 반응에서도 sense 시발체로 사용하였다(Table 2).

세 가지 방법 모두에서 1차 반응을 위한 반응액은 DNA 추출

액 4 μL와 AmpliTaq Gold DNA polymerase (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) 1 unit가 포함되고, dNTP 0.2 mM, MgCl₂ 1.5 mM, 각각의 시발체 0.25 μM 농도에 총량은 20 μL가 되도록 조성하였다. 2차 반응을 위한 반응액은 1차 반응산물 1 μL와 AmpliTaq Gold DNA polymerase 1 unit가 포함되고, dNTP 0.2 mM, MgCl₂ 1.5 mM, 각각의 시발체 0.25 μM 농도에 총량은 20 μL가 되도록 조성하였다. 반응 조건은 1차 반응과 2차반응 모두 94°C에서 9분간 반응 후 94°C 50초, 50°C 1분 20초, 72°C 2분의 반응을 40회 반복하였고, 최종적인 연장 반응은 72°C에서 7분간 실시하였다. 증폭된 2차 반응산물은 ethidium bromide가 0.5 μg/mL 포함된 2% agarose gel에서 전기영동하여 확인하였다.

(3) 염기서열 분석을 통한 PCR 반응산물 확인: 2% agarose gel에서 시발체 A의 PCR 반응산물이 위치한 부위를 잘라내어 AccuPrep Gel Purification Kit (Bioneer, Daejeon, Korea)를 이용하여 제조사의 지침에 따라 PCR 반응산물을 추출하고 정제하였다. 정제한 PCR 반응산물은 ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems)를 사용하여 염기서열 분석반응을 시행하였고, 에탄올을 이용하여 정제한 후 ABI PRISM 3730XL Analyzer (Applied Biosystems)로 염기서열을 분석하였다. 분석한 염기서열은 GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank>)에 등록된 TTV의 염기서열과 일치하는지 비교하였다.

(4) 혈청학적 검사: HBsAg 검사와 HCV 항체 검사는 효소면역법(micro-particle enzyme immunoassays, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA)을 사용하여 검사하였고, 제조사의 지침에 따라 검사를 시행하였다.

(5) HBV DNA 정량 검사: HBV DNA는 Digene Hybrid

Table 1. Demographic data of healthy, HBV-infected, and HCV-infected individuals

	No. of cases	Sex (M/F)	Age (year) mean±SD
Healthy individuals	69	50/19	43.3±12.0
HBV carriers	30	23/7	44.8±9.4
HBV liver disease	29	22/7	39.3±9.9
HCV-infected*	34	24/10	44.5±8.5
Total	162	119/43	43.1±10.6

*HCV-infected, positive for anti-HCV and HCV RNA.

Table 2. Oligonucleotide primers used for TTV DNA detection

Primers	Sequences (5'-3')*	Localization	Product size
A set		ORF-1	
Sense (1st)	WCAGACAGAGGMGAAGGMAAYATG	nt 1900-1923	
Sense (2nd)	GGMAAYATGYTRTGGATAGACTGG	nt 1915-1938	271 bp
Antisense (1st, 2nd)	CTGGCATYTTWCCRTTTCCAAART	nt 2162-2185	
B set		5' UTR	
Sense (1st, 2nd)	GYACTTYCRAATGGCTGRGT	nt 97-116	
Antisense (1st)	CTTGCCCRDRGCCCCGCCAG	nt 229-248	136 bp
Antisense (2nd)	CCAGTCCCGAGCCCAATTG	nt 213-232	
C set		3' UTR	
Sense (1st)	GTGGGMSYTTCACTTGTCGGTGTC	nt 3087-3110	
Sense (2nd)	ARGTMRCYAAGCACTCCGAGCG	nt 3120-3141	271 bp
Antisense (1st, 2nd)	CMAATGGCRAGAAGATAAAGG	nt 3370-3390	

*W=A or T; M=A or C; Y=C or T; R=A or G.

Abbreviations: ORF, open reading frame; UTR, untranslated region.

Table 3. Frequency of TTV DNA positivity according to primers

	No. positive/no. tested (%)			
	A primers	B primers	C primers	A+B+C*
Healthy individuals	28/69 (41)	46/69 (67)	42/69 (61)	53/69 (77)
HBV carriers	13/30 (43)	22/30 (73)	20/30 (67)	24/30 (80)
HBV liver disease	13/29 (45)	21/29 (72)	20/29 (69)	23/29 (79)
HCV-infected	15/34 (44)	22/34 (65)	21/34 (62)	27/34 (79)
Total	69/162 (43)	111/162 (69)	103/162 (64)	127/162 (78)

*A+B+C: positivity with A or B or C primers.

Capture II HBV Test (Digene Corporation, Gaithersburg, MD, USA)를 사용하여 검사하였고, 제조사의 지침에 따라 검사를 시행하였다.

(6) **HCV RT-PCR:** HCV RT-PCR 검사를 위한 RNA는 혈청 200 μ L에 RNasin 40 U를 첨가한 후 TRI REAGENT-BD (Molecular Research Center, Inc., Cincinnati, OH, USA)를 가하고, 이소프로판올로 침전한 후 에탄올로 세척하여 추출하였다. HCV RT-PCR의 시발체로는 Inchauspe 등[14]이 고안한 5' untranslated region (UTR) 부위를 증폭하는 sense 시발체 (5'-GTCTTCACGCAGAA-AGCGTCTAGC-3')와 antisense 시발체(5'-ACTCGCAAGCACCTATCAGGCAG-3')를 사용하였고, 반응은 92°C에서 40초간 전변성 후, 92°C 20초, 54°C 20초, 72°C 20초의 전주기(precycle) 5회, 92°C 10초, 58°C 20초, 72°C 7초의 본주기(main cycle) 35회 및 92°C 20초, 60°C 20초, 70°C 1분 30초의 후주기(end cycle) 1회를 거쳐 이루어졌다. 반응산물은 ethidium bromide가 0.5 μ g/mL 포함된 2% agarose gel에서 전기영동하여 253 bp의 염색대를 확인하였다.

(7) **통계:** 시발체에 따른 TTV 양성률 비교, 건강 성인군과 HBV 및 HCV 감염자군 사이의 TTV 양성률 비교에는 카이제곱검정(chi-square analysis)을 이용하였고, *P*값이 0.05 미만인 경우 유의한 차이가 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. TTV 양성률

전체적인 TTV 양성률은 시발체 A를 사용한 경우 43% (69/162), 시발체 B를 사용한 경우 69% (111/162), 시발체 C를 사용한 경우 64% (103/162)로 시발체 A를 사용한 경우보다 시발체 B (*P*<0.0001)와 시발체 C (*P*=0.0002)를 사용한 경우가 유의하게 높은 양성률을 보였고, 시발체 B와 시발체 C를 사용한 경우 사이에는 양성률에 유의한 차이를 보이지 않았다(*P*=0.348). 세 가지 시발체 중 한 가지에서라도 양성을 보인 경우는 78% (127/162)였다. 세 가지 시발체 모두에서 TTV 양성률

은 건강 성인군, HBV 보균자군, HBV 관련 간질환자군, HCV 감염자군 사이에 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 3).

2. PCR 반응 산물 확인

시발체 A를 사용한 PCR에서 양성을 보인 53예의 PCR 반응산물의 염기서열을 분석하였다. 21예(40%)에서 분석이 가능한 TTV 염기서열을 얻을 수 있었고, 이 중 20예는 TTV에 특이적인 염기서열인 반면, 1예는 비특이적인 PCR 반응산물이었다.

고 찰

TTV 양성률은 사용한 시발체와 지역에 따라 큰 차이를 보인다[4,15]. 국내에서는 헌혈자 및 건강 성인을 대상으로 N22 유전자 부위의 시발체를 사용한 연구에서 2.0~20.5%의 양성률을[9,10,16], 5' UTR 부위의 시발체를 사용한 연구에서 41.7~98%의 양성률을 보였다[10-12].

이번 연구에서는 N22 유전자 부위의 시발체 A를 사용한 경우 전체적인 양성률은 43%로 기존의 N22 유전자 부위의 시발체를 사용한 국내에서의 연구 결과보다 높았다. N22 유전자 부위의 시발체는 염기서열에 adenine (A)과 thymine (T)이 많아서 증폭 효율이 높지 않고, 반응조건을 조금만 변화시켜도 증폭 효율이 크게 영향을 받는 것으로 알려져 있다[17]. 이번 연구에서 사용한 시발체 A는 Okamoto 등[18]이 고안한 시발체와 같은 부위를 증폭하는 시발체이나, 염기서열을 미세하게 수정한 시발체이다[5]. 기존의 연구에서 사용한 시발체와 염기서열이 조금 다른 시발체를 사용한 점과 DNA 추출 방법의 차이 등이 TTV 양성률에 영향을 끼쳤을 가능성이 있다.

5' UTR 부위의 시발체 B를 사용한 경우 69%의 TTV 양성률을 보여, 5' UTR 부위의 시발체를 사용한 박 등[10]이 보고한 결과에 비하여 낮은 양성률을 보였다. Takahashi 등[17]이 고안한 5' UTR 부위의 시발체를 사용한 PCR은 비특이적 반응이 있을 수 있으므로 반응산물의 염기서열을 분석하여 확인하는 것이 추천된다[2]. 박 등[10]은 Takahashi 등[17]이 고안한 시발

체를 사용한 PCR로 국내의 건강 성인 50명 중 49명(98%)에서 TTV를 검출하였으나, 반응산물의 염기서열 분석을 시행하지 않아서 위양성의 가능성을 배제할 수 없을 것으로 생각한다. 정 등[11]이 보고한 양성률 85.3%는 5' UTR 부위의 각기 다른 2가지의 시발체를 조합한 결과로 각각의 시발체에서는 69.3%와 66.0%의 양성률을 보인 점을 고려할 때 이번 연구와 큰 차이가 없는 결과로 생각할 수 있다.

3' UTR 부위의 시발체 C를 사용한 경우 전체적으로 64%의 TTV 양성률을 보여서 5' UTR 부위의 시발체의 양성률과 유의한 차이를 보이지 않았다. 3' UTR 부위의 시발체를 사용한 TTV 양성률에 대해서는 이번 연구가 국내 첫 보고로 다양한 환자군을 대상으로 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각한다.

3가지 시발체 조합을 사용한 경우 TTV 양성률이 78%로 증가하였으나, 여러 가지 시발체를 사용하여 TTV를 검사할 경우 민감도는 증가할 수 있는 반면, 특이도가 낮아질 가능성이 있다[2]. 이번 연구에서도 PCR 반응산물의 염기서열을 분석한 1예에서 TTV가 아닌 비특이적인 염기서열이 증폭된 것을 확인할 수 있었다. Takahashi 등[17]이 고안한 5' UTR 부위의 시발체를 사용한 PCR에서는 비특이적인 반응이 문제점으로 지적 되었으나[2], 다른 연구에서는 같은 시발체를 사용한 PCR 반응산물 19예가 모두 TTV에 특이적인 염기서열이었다고 보고하였다[5]. 이번 연구에서는 N22 유전자 부위 PCR 반응 산물에 대한 비특이적인 반응을 조사하였는데, 국내에서의 TTV 양성률을 정확하게 평가하기 위해서 최근 많이 이용되고 있으나, 비특이적인 반응이 문제가 되는 5' UTR 부위의 시발체를 사용하는 PCR의 위양성률을 파악하는 연구도 필요할 것으로 생각한다.

PCR 반응산물의 직접 염기서열 분석을 실시한 결과 염기서열 분석에 실패한 경우가 많았고(60%), 실패한 사례의 대부분에서 여러 가지 염기가 함께 나타나는 양상을 보였다. 이러한 양상을 보인 이유로는 TTV 감염 시 자주 나타날 수 있는 여러 가지 유전자형에 의한 혼합 감염[19]의 가능성, TTV 유전자 사이의 재조합[20]의 가능성 등을 고려할 수 있다. 향후 TTV PCR 반응산물의 염기서열을 분석할 경우, 직접 염기서열 분석 보다는 유전자 클로닝을 시행한 후 분석하는 것이 적절할 것으로 생각한다.

이번 연구를 통하여 국내의 건강 성인과 HBV 및 HCV 감염자에서 시발체에 따른 TTV 양성률을 확인할 수 있었다. 3' UTR 부위 시발체를 이용한 PCR은 국내에서 보고된 적이 없는 결과로 64%의 양성률을 보여서 5' UTR 부위 시발체의 양성률인 69%와 유사한 결과를 보였고, 3' UTR과 5' UTR 부위 시발체의 양성률이 N22 부위 시발체의 양성률보다 높았다. 세 가지 방법 모두에서 TTV 양성률은 건강 성인과 HBV 및 HCV 감염자 사이에 유의한 차이를 보이지 않았다.

참 고 문 헌

1. Nishizawa T, Okamoto H, Konishi K, Yoshizawa H, Miyakawa Y, Mayumi M. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;241:92-7.
2. Springfield C, Bugert JJ, Schnitzler P, Tobiasch E, Kehm R, Darai G. TT virus as a human pathogen: significance and problems. *Virus Genes* 2000;20:35-45.
3. Hino S. TTV, a new human virus with single stranded circular DNA genome. *Rev Med Virol* 2002;12:151-8.
4. Leary TP, Erker JC, Chalmers ML, Desai SM, Mushahwar IK. Improved detection systems for TT virus reveal high prevalence in humans, non-human primates and farm animals. *J Gen Virol* 1999; 80:2115-20.
5. Biagini P, Gallian P, Attoui H, Cantaloube JF, Touinssi M, de Micco P, et al. Comparison of systems performance for TT virus detection using PCR primer sets located in non-coding and coding regions of the viral genome. *J Clin Virol* 2001;22:91-9.
6. Das K, Kar P, Gupta RK, Das BC. Role of transfusion-transmitted virus in acute viral hepatitis and fulminant hepatic failure of unknown etiology. *J Gastroenterol Hepatol* 2004;19:406-12.
7. Al-Moslih MI, Abuodeh RO, Hu YW. Detection and genotyping of TT virus in healthy and subjects with HBV or HCV in different populations in the United Arab Emirates. *J Med Virol* 2004;72: 502-8.
8. Kao JH, Chen W, Chen PJ, Lai MY, Chen DS. TT virus infection in patients with chronic hepatitis B or C: influence on clinical, histological and virological features. *J Med Virol* 2000;60:387-92.
9. Kim EH, Cho HS, Lee CH, Kim KD. Prevalence of TT virus viremia in patients on hemodialysis and general populations. *Korean J Lab Med* 2003;23:113-8.
10. Park SH, Byun KS, Song JW, Yeon JE, Park CK, Lee CH. Transfusion-transmitted virus infection in Korean patients with acute and chronic liver disease of unknown etiology and healthy controls: influence of PCR primers on the detection of transfusion-transmitted virus. *Korean J Gastroenterol* 2003;41:119-25.
11. Chung JY, Han TH, Seong HK, Paik IK, Kim MJ. Transfusion-transmitted virus and TTV-like mini virus infection in blood products. *Korean J Lab Med* 2004;24:250-4.
12. Heo WB, Lee NY, Jeong KY, Lee WK. TT virus (TTV) infection in general population, chronic liver diseases, hemodialysis, and transfused patients. *Korean J Clin Microbiol* 2006;9:7-12.
13. Jeon MJ, Shin JH, Suh SP, Lim YC, Ryang DW. TT virus and hepatitis G virus infections in Korean blood donors and patients with chronic liver disease. *World J Gastroenterol* 2003;9:741-4.
14. Inchauspe G, Abe K, Zebedee S, Nasoff M, Prince AM. Use of conserved sequences from hepatitis C virus for the detection of viral RNA in infected sera by polymerase chain reaction. *Hepatology* 1991;14:595-600.
15. Abe K, Inami T, Asano K, Miyoshi C, Masaki N, Hayashi S, et al. TT virus infection is widespread in the general populations from different geographic regions. *J Clin Microbiol* 1999;37:2703-5.
16. Nakano T, Park YM, Mizokami M, Choi JY, Orito E, Ohno T, et al. TT virus infection among blood donors and patients with non-B, non-C liver diseases in Korea. *J Hepatol* 1999;30:389-93.
17. Takahashi K, Hoshino H, Ohta Y, Yoshida N, Mishihiro S. Very high prevalence of TT virus (TTV) infection in general population of Japan revealed by a new set of PCR primers. *Hepatol Res* 1998;

- 12:233-9.
18. Okamoto H, Nishizawa T, Kato N, Ukita M, Ikeda H, Iizuka H, et al. Molecular cloning and characterization of a novel DNA virus (TTV) associated with posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Hepato Res* 1998;10:1-16.
19. Okamoto H, Takahashi M, Nishizawa T, Ukita M, Fukuda M, Tsuda F, et al. Marked genomic heterogeneity and frequent mixed infection of TT virus demonstrated by PCR with primers from coding and noncoding regions. *Virology* 1999;259:428-36.
20. Worobey M. Extensive homologous recombination among widely divergent TT viruses. *J Virol* 2000;74:7666-70.

=국문초록=

한국인 건강 성인과 B형 및 C형 간염 바이러스 감염자에서의 시발체에 따른 TT Virus 양성률

한림대학교 의과대학 진단검사의학교실
김한성, 김재석, 송원근, 강희정, 이규만

배경: TT virus (TTV)는 건강인에서 매우 높은 빈도로 검출되는 바이러스로서 B형 간염 바이러스(HBV) 및 C형 간염 바이러스(HCV)에 감염된 환자에서도 빈번하게 발견된다. 이 연구에서는 국내 건강 성인과 HBV 및 HCV 감염자를 대상으로 여러 가지 시발체에 따른 TTV DNA의 양성률을 조사하고자 하였다.

방법: 건강 성인 69예, HBV 감염자 59예, HCV 감염자 34예의 혈청 검체를 대상으로 하였다. 이중중합효소연쇄반응(nested PCR)법으로 TTV DNA를 검사하였고, 각각 TTV의 N22 유전자 부위, 5' untranslated region (UTR), 3' UTR을 증폭시키는 3가지 시발체 조합을 사용하였다.

결과: 전체적인 TTV 양성률은 N22 유전자 부위의 시발체를 사용한 경우 43%, 5' UTR 시발체를 사용한 경우 69%, 3' UTR 시발체를 사용한 경우 64%였다. 각각의 시발체에 따른 TTV 양성률은 건강 성인군과 HBV 및 HCV 감염자군 사이에 유의한 차이를 보이지 않았다.

결론: TTV 양성률은 5' UTR과 3' UTR 시발체를 사용한 경우가 N22 유전자 부위의 시발체를 사용한 경우보다 높았고, 건강 성인군과 HBV 및 HCV 감염자군 사이에 차이를 보이지 않았다. [대한임상미생물학회지 2007;10:14-18]

교신저자 : 김한성, 431-070, 경기도 안양시 동안구 평촌동 896번지
한림대학교성심병원 진단검사의학과
Tel: 031-380-3932, Fax: 031-380-3934
E-mail: kimhan@hallym.ac.kr