

Rifampicin 투여 폐결핵 환자의 T-임파구 저하증에 대한 Tubercin-3의 효과

鄭 泰 浩* · 金 松 明 · 李 聖 行**

=Abstract=

Effects of Tubercin-3 on Rifampicin induced T-lymphocytopenia in Tuberculosis Patients

Tai Ho Chung, * M.D., Song Myung Kim, ** M.D., Sung Haing Lee, ** M.D., FCCP.

Rifampicin has been widely hailed as the most effective antituberculosis antibiotics since the clinical use of streptomycin, but its immunosuppressive side effect was still annoying problem to be excluded.

This studies were carried out to determine the effect of Tubercin-3, tuberculous bacilli extraction with water, on Rifampicin induced T-lymphocytopenia in 5 cases of pulmonary tuberculosis who have never exposed to antimetabolites or steroid compounds.

After 2 weeks treatment of Rifampicin, all cases showed T-lymphocytopenia, active $13.0 \pm 2.3\%$ and total $43.1 \pm 4.4\%$. Followed by another 2 weeks treatment with Rifampicin combined with Tubercin-3, T-lymphocytes in peripheral blood returned to the normal limit, active $21.6 \pm 3.3\%$ and total $56.3 \pm 1.7\%$.

Tubercin-3 revealed the restoring activity of suppression of T-lymphocyte rosetts by Rifampicin.

서 론

1965년 Maggi¹⁾는 streptomycetes mediterraneus에서 추출한 chromophoric naphthohydroquinone계 항생물질 rifamycin 군 중에서 rifamycin SV의 한 유도체 rifampicin (rifamycin AMP, rimactan, rifadin)을 합성하였으며 이 물질이 몇종의 gram 음성 또는 gram 양성 세균에 대하여 항균성을 발휘하였으며 특히 isoniazid 등에 저항성을 가진 결핵균에 대하여 강력한 항

균작용을 함이 밝혀져 현재 여러 나라에서 주로 결핵 치료에 사용되고 있다. 그러나 rifampin이 실지 임상에서 사용된지 오래지 않아서 이 물질이 immunosuppression을 야기함이 문제시 되기 시작하였으며 초기에는 세포성면역과 체액성면역이 장애를 일으킨다는 보고가 나왔으나²⁾ 1975년 Gupta³⁾들에 의하여 체액성면역장애보다 혈액 중 T-임파구 기능 장애를 동반한 세포성면역장애가 하나의 부작용으로서 문제시됨이 밝혀졌다. 본 연구는 본대학 부속병원 흉부의과에 입원가료중인 결핵환자에게 rifampicin을 투여하여 말초혈액 중 T-cell rosettes의 감소됨을 관찰하였으며⁴⁾ 이 결핵균에서 추출한 비특이성 면역자극제 Tubercin-3을 rifampicin과 병합 투여하여 T-cell rosette의 부활함을 경험하여 보고하는 바이다.

자료 및 방법

1977년 6월부터 9월 사이에 본 대학병원 흉부의과에

*慶北醫大 生化學教室

**慶北醫大 胸部外科教室

*Department of Biochemistry, Kyungpook National University School of Medicine, Taegu, Korea.

**Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, Kyungpook National University School of Medicine, Taegu, Korea.

Table A. Clinical Case

No.	Name	Sex	Age	Clinical Diagnosis
1	Song D.	M	46	Pulmonary Tuberculosis, MA with Pyopneumothorax, BPF Lt.
2	Yim H.	F	32	Pulmonary Tuberculosis, FA with Pneumothorax, Rt.
3	Choo S.	M	56	Pulmonary Tuberculosis, FA with Pneumothorax, Rt.
4	Kim B.	F	36	Pulmonary Tuberculosis, MA with Pneumothorax, Rt.
5	Kwon S.	M	45	Pulmonary Tuberculosis, FA

Table 1. T-cell Distribution in Peripheral Blood of Normal Subjects.

No. of cases	Sex	Age	W. B. C. (mm ³)	Percent of Lymphocytes	Lymphocytes (mm ³)	T-cell	
						Active % (mm ³)	Total % (mm ³)
1. Kim H.	M	33	8,500	27	2,295	31 (711)	58 (1,311)
2. Ro C.	M	17	8,550	25	2,137	33 (705)	64 (1,368)
3. Bang J.	M	19	7,000	36	2,520	27 (680)	60 (1,512)
4. Kim H.	F	41	6,550	28	1,834	44 (807)	63 (1,155)
5. Kim K.	M	31	5,050	44	2,222	40 (888)	57 (1,267)
6. Lee J.	F	44	5,400	21	1,134	36 (408)	66 (748)
7. Kim S.	F	36	10,300	28	2,884	32 (923)	65 (1,875)
8. Choi K.	M	35	5,900	41	2,419	23 (556)	64 (1,548)
9. Lee H.	F	45	9,000	29	2,610	35 (914)	73 (1,905)
10. Lee D.	M	34	6,700	25	1,675	33 (553)	75 (1,256)
Mean		33.5	7,295	30.4	2,173	33.4 (714.5)	64.5 (1,396.5)
SE		2.9	543	2.4	161.1	1.8	1.8

입원한 활동성 폐결핵환자 중 전일에 rifampicin을 투약된 일이 없고 antimetabolites 나 adrenocorticoids 등의 임파구 감소를 초래할만한 약품의 투약 경력도 없는 32세에서 56세까지의 5명을 조사 대상으로 하였다 (표 A).

Rifampicin을 투여하기 전에 PPD 검사를 하였으며 혈액을 채취하여 Wybran과 Minowata의 방법⁽⁴⁾⁽⁵⁾⁽⁶⁾에 따라 말초혈액 중 활동성 T-임파구와 총 임파구수를 측정하였으며 혈청을 분리하여 Helena사의 quick scan. Jr.와 electrophoresis system을 사용하여 cellulose acetate microzone 전기영동법⁽⁷⁾으로 혈청단백의 전기영동상을 얻었으며 총 단백질은 Erma사제 Refractometer를 사용하여 측정하였으며 IgG, IgA 그리고 IgM의 양은 Helena사의 Radioimmunodiffusion kit를 사용하여 측정하였다. 대조군과 실험군과의 백혈구수, T-임파구수 그리고 면역 globulin 치등의 평균치의 상호 비교는 students의 t-test에⁽⁸⁾ 의하였다.

성적 및 결과

정상인의 혈액 중 백혈구수와 T-임파구수는 표 1에 제시하였고 rifampicin 투여 전후와 Tubercin-3과 rifampicin 병합치료시의 말초혈액 중 백혈구와 T-임파구의 변동은 표 3에서 나타나 있다(표 2).

정상대조군의 백혈구수는 7,295±543/mm³이었으며 결핵환자군에서 rifampicin을 투여하기전 백혈구수는 8,420±2,559/mm³로서 정상범위였고 rifampicin 투여 2주 후의 검사에서는 7,180±607/mm³이었고 rifampicin 투여를 계속하면서 Tubercin-3을 병합투여한 후 2주째는 8,500±772.7로서 기간 중 변동은 없었다. 전 검사과정에서 백혈구가 5,000/mm³ 이하로 나타낸 예는 없었다.

임파구백분율 및 절대임파구수는 정상대조군에서는 30.4±2.4%, 2,173±161.1/mm³이었고 폐결핵 환자군에서 rifampicin 투여 전후 및 Tubercin-3을 병합투여한 후에 각각 29.4±5.0%, 2,038.8±206.1/mm³, 34.2±2.2%, 2,408.8±127.6/mm³, 42.5±2.9%, 3,677.4±552.9/mm³로서 Tubercin-3을 투여한 후에 절대임파구수의 증가를 나타내었다.

Table 2. Changes of T-lymphocyte during Rifampicin and Tubersin-3 Treatment in Pulmonary Tuberculosis Patients.

	Leukocytes (/mm ³)	Percentage of Lymphocyte (%)	Lymphocytes (/mm ³)	T-cell			
				Active		Total	
				(%)	(mm ³)	(%)	(mm ³)
Control	7,295.0	30.4	2,173.0	33.4	714.5	64.5	1,396.5
	1,717.1	2.4	161.1	1.8	54.9	1.8	105.3
Before							
rifampicin	8,420.0	29.4	2,038.8	20.4	433.2	54.0	1,112.0
treatment	2,559.2	5.0	206.1	2.7	84.0	5.0	173.1
Rifampicin							
treatment	7,180.0	34.2	2,408.8	13.0	314.5	43.1	1,042.2
for 2 weeks	607.0	2.2	127.6	2.3	63.7	4.4	126.4
Rifampicin							
treatment	8,500.0	42.5	3,677.4	21.6	820.7	56.3	2,081.2
combined with Tubersin-3 for 2 weeks	772.7	2.9	552.9	3.3	160.9	1.7	254.8

Values are represent "Means±Standard Error"

Table 3. Changs of Serum Protein Electrophoretic Pattern during Rifampicin and Tubercin-3 Treatment in Pulmonary Tuberculosis Patient.

	Total Protein gm%	Albumin %	Globulin, %				A/G ratio
			alpha 1	alpha 2	beta	gamma	
Control	6.80	57.2	2.90	8.96	13.12	17.83	1.33
	0.03	1.1	0.16	0.26	0.43	1.09	0.05
Before							
lifampicin	7.42	49.3	3.64	9.66	12.82	24.54	1.07
treatment	0.27	5.1	0.30	0.58	0.37	4.36	0.21
Rifampicin							
treatment	7.36	44.2	3.58	11.76	13.20	27.22	0.82
for 2 weeks	0.20	2.9	0.16	0.40	0.42	2.30	0.12
Rifampian							
treatment	7.20	47.8	3.48	10.60	13.38	25.52	0.91
combined c Tubercin-3 for 2 weeks	0.13	2.8	0.39	0.72	0.63	2.42	0.10

Values are represent "Mean±Standard Error"

활동성 및 총 T-림파구의 백분율과 절대수는 정상대
조군에서 33.4±1.8%, 714.5±54.9/mm³, 64.5±1.8%
1,396.5±105.3/mm³ 이었다. 결핵환자의 rifampicin
투여전 활동성 T-림파구수는 20.4±2.7%, 433.2±84.0/
mm³ 총 T-림파구수는 54.0±5.0%, 1,112±173.1/mm³

로서 정상에 비하여 약간 감소된 상태에 있었고 rifa-
mpicin 을 2주간 투약한 후 활동성 T-림파구의 수는
13.0±2.3%, 314.5±63.7/mm³ 총 T-림파구수는 43.1
±4.4%, 1,042.2±126.4/mm³ 로서 더욱 감소하는 현
상을 나타내었다. Rifampicin 을 계속 투약하면서

Tubercin-3을 병용하여 사용한 후 2주 후에 검사한 활동성림파구는 $21.6 \pm 3.3\%$, $820.7 \pm 160.9/\text{mm}^3$ 총 T-림파구수는 $56.3 \pm 1.7\%$, $2,081.2 \pm 254.8/\text{mm}^3$ 로서 Tubercin-3을 투여하기전보다 상당히 증가하여 정상범위까지 회복하였다. 그리고 PPD 피부반응은 폐결핵 환자군에서만 3차에 걸쳐 실시하였는 바 처음 rifampicin 투여전에는 $+$ ~ $+++$ 였고 rifampicin 투여후에는 $+$ ~ $++$ 이내 였으며 rifampicin 과 Tubercin-3을 투여하였을 때는 $+$ ~ $++$ 로 유의한 변화가 없었다.

Rifampicin 투여전, rifampicin 투여 2주 후와 rifampicin 을 계속 투여하면서 Tubercin-3을 병합투여 2주째의 혈청총단백의 전기영동분획상의 변화는 표 3에 나타내었다. 총 단백질과 albumin, α_1 -, α_2 - 그리고 β -globulin 의 백분율은 치료기간중 정상범위에 있어 rifampicin 과 Tubercin-3의 영향을 받지 않는듯 하였다.

IgG, IgA 와 IgM 면역 globulin 의 분획은 표 4에 제시한 바와 같이 rifampicin 을 투여하기 전 IgG, IgA 및 IgM 양은 각각 $1,710 \pm 438.1 \text{mg/dl}$, $193 \pm 60.9 \text{mg/dl}$, $263.6 \pm 125.5 \text{mg/dl}$ 이었다. Rifampicin 을 투여하고 2주후는 IgG $1,663 \pm 157.8 \text{mg/dl}$, IgA $229. \pm 31.5 \text{mg/dl}$, IgM $130.4 \pm 13.6 \text{mg/dl}$ 였으며 Tubercin-3을 투여한 후의 IgG $1,731.5 \pm 109 \text{mg/dl}$, IgA 232.4

$\pm 28 \text{mg/dl}$, IgM $138.9 \pm 24.6 \text{mg/dl}$ 이었다.

IgG 는 rifampicin 투여전에 이미 약간 증가된 상태에 있었으며 rifampicin 투여 2주 후 약간 감소하였다가 rifampicin 과 Tubercin-3을 투여했을 때는 다시 증가하는 추세를 보였다. IgA 는 rifampicin 투여 전에는 정상범위에 있다가 rifampicin 투여 후부터 증가하였으며 그 후 별 변동을 보이지 않았다. IgM 은 rifampicin 투여 전 $263.6 \pm 125.5 \text{mg/dl}$ 로 증가된 상태에서 rifampicin 투여 후와 rifampicin 과 Tubercin-3을 병합 투여한 후는 $130.4 \pm 13.6 \text{mg/dl}$, $138.9 \pm 24.6 \text{mg/dl}$ 로서 정상으로 돌아가는 경향을 보였다.

고 찰

림파구는 2개의 subpopulation 인 T-림파구와 B-림파구로 구별되며 T-림파구는 세포성 면역에 또 B-림파구는 체액성 면역능력에 각각 기여한다는 것은 여러 학자들에 의하여 많은 문헌보고가 되어 있으며¹⁰⁾ 특히 mycobacterium 제 균에 대한 면역과정은 주로 세포성 면역이 중요한 역할을 함이 밝혀지고 있다¹¹⁾.

Dannenberg¹²⁾ 등은 가토에서 유독 결핵균이 침입하여 진행되는 국소적 병변의 발달과정을 연구하였고 이러한 결핵균에 의한 국소적 병소발견과 신체면역기전은 주로 세포성 면역능력에 의한다고 했으며 Malaviya¹³⁾, Coppel¹⁴⁾, Zeitz¹⁵⁾, Smith¹⁶⁾와 Mackaness^{16, 17)} 등도 이와 같은 연구를 시행한 바 있다. Mackaness^{16, 17)} 는 세포성 면역중 탐식세포의 활동과정이 비면역상태인 숙주에서 균의 증식에 대하여 숙주가 방어할 수 있는 가장 강력한 일차적 무기가 되어 있다고 하였으며 이러한 탐식세포의 활동은 림파구의 활동에 연결되어 있다고 생각하였다. 즉 유독한 결핵균이 체내에 침입하였을 때 국소 림파절의 paracortical area 에서 또는 비장에서 pyroninophilic blast cell 의 집단이 나타나는데 여기에 관여하는 것이 T-cell 이라는 것이다¹⁶⁾. 이와 같이 결핵균에 대한 세포성면역은 결핵감염에 대한 주된 숙주반응으로 진단이나 병리기전을 이해하는데 중요성이 인정되고 있다¹⁵⁾.

1972년 Wybran⁶⁾, Jondal⁷⁾ 등에 의하여 흉선의래성 림파구 즉 T-림파구의 면역적혈구 사이의 rosette 형성하는 성질을 이용한 Marker 가 연구됨으로서 세포성면역과 여러 가지 질병과의 연관도 밝혀지고 있다. 1973년 William¹⁸⁾ 등은 활동성 결핵환자의 림파구는 정상임을 보고하였다. 그러나 말기 폐결핵환자의 T-림파구의 저하나 anergy 형성은²³⁾ 이미 교과서에 나오게 된 일이다. 1975년 Malaviya 들은¹³⁾ 54명의 활동성 중등

Table 4. Changes of Serum Immunoglobulins during Rifampicin and Tubercin-3 Treatment in Pulmonary Tuberculosis Patient

	Total Protein (gm/dl)	Immune Globulin, (mg/dl)		
		IgG	IgA	IgM
Control	6.8	942.0	176.0	118.0
	0.03	60.5	16.1	8.8
Before				
rifampicin	7.42	1,710.0	193.0	263.6
treatment	0.27	438.1	60.9	125.5
Rifampicin				
treatment	7.36	1,663.0	229.0	130.4
for 2 weeks	0.2	157.8	31.5	13.6
Rifampicin				
treatment	7.20	1,731.5	232.4	138.9
combined with	0.13	109.0	28.0	24.6
Tubercin-3				
for 2 weeks				

Values are represent "Mean±Standard Error"

도 폐결핵 환자의 말초혈액중 T-림파구의 백분율을 조사하여 정상인과 차이가 없음을 보고하였다.

그러나 rifampicin 이 결핵치료 임상에 도입된 초기에 이 물질이 체액성 및 세포성 면역장애를 가져온다는 사실이 보고되었으며²⁾ rifampicin 이 주로 RNA 합성 저해제임이 밝혀지고¹⁹⁾ Litwin 들은²⁰⁾ rifampicin 의 면역장애작용이 체액성 면역보다 세포성 면역장애에 있다는 것이 연구되었다. 본 연구에 보여준 결과도 Litwin 들의 논한 바와 같이 rifampicin 2주 투여 후에 말초혈액 중 면양적혈구와 rosette 를 형성하는 T-림파구의 감소를 나타내었다.

1974년 鄭⁴⁾은 인형결핵균 H37RV 에서 Tubercin-3 을 추출하여 인체 암울 치료하였으며 나중양형 나환자를 치료하는 과정 중에 나환자에서 저하한 T-림파구의 활동성을 회복하였다고 보고하였다²¹⁾.

Rifampicin 투여로 저하된 T-림파구의 정상회복을 위하여 Tubercin-3을 병합 사용한 본 연구에서도 rifampicin 과 Tubercin-3을 병합 사용한지 2주째에 벌써 전 환자의 T-림파구 기능이 대조군의 상태와 같이 되었음은 Tubercin-3의 rifampicin 투여로 야기된 T-림파구 저하중에도 유효함이 나타난 것이겠다. Youmans 은²²⁾ 폐결핵 환자의 체액성 면역은 감염된 세균에서 유래한 유독물질에 대한 counteract complement 존재하의 용해작용, 탐식세포에 의한 균탐식의 조성작용 등으로 이루어진다고 보고하였으며 폐결핵 환자의 혈청면역 globulin 의 상승을 보고 하였다. 본 연구에서도 두명의 환자에게 약한 정도의 hypergammaglobulinemia 를 경험하였다.

1970년 Paunescu²³⁾은 체중당 40 mg 의 rifampicin 을 가토와 guinea pig 에 투여하는 실험을 통하여 체액성 및 세포성 면역이 장애됨을 보고하였다. 사실 rifampicin 은 경구 투여로서 쉽게 높은 혈중농도에 도달하며 entero-hepatic recirculation 이 가능함으로서 체내 체류 시간도 길어 isoniazid 등에 내성이 형성된 폐결핵 치료에 좋은 2차약이나 40 mg/kg body weight 투여로서는 RNA polymerase 작용을 차단하며 상기 면역장애를 충분히 기대할 수 있다²⁴⁾. 그러나 1974년 Litwin 등은²⁰⁾ 결핵환자에 600 mg 의 rifampin 과 300 mg 의 isoniazid 를 투여한 후 경시적으로 조사한 연구에서 세포성 면역장애는 유의하였으나 immunoglobulin 의 합성저하는 임상적으로 유의하지 않다고 하였다. 본 연구에서도 immunoglobulin 의 기간 중 변동은 rifampicin 단독 투여시나 Tubercin-3과 병합 투여시에서 대조군과 유의한 차이를 보여 주지 않았으며 혈청단백의 전기영동상에도 별 변화를 보이지 않았다.

경북의대 흉부의과에 입원치료중인 5명의 중등증 혹은 중증 폐결핵과 합병증을 동반한 환자에서 rifampicin 을 투여하여 T-림파구 기능저하를 관찰하였으며 그 후 rifampicin 과 Tubercin-3을 병합 투여함으로써 T-림파구의 기능 정상화함을 인지하였다.

Tubercin-3은 rifampin 투여로 야기된 T-림파구 기능저하에 유효함이 밝혀졌다.

REFERENCES

1. Maggi, N., Pallanza, R., Sensi, P.: *New derivatives of rifamycin SV. Antimicrob. Agents Chemother.*, 5:765, 1965.
2. Paunescu, E.: *In vivo and suppression of humoral and cellulon immunological response by rifampicin. Nature (Lond)*, 228:1188, 1970.
3. Gupta, S., Grieco, M.H., and Siegel, I., *Suppression of T-lymphocyte rosettes by rifampin. Studies in normals and patients with tuberculosis. Ann. Intern. Med.*, 82(4), 484: Apr, 1975.
4. Chung, T.H.: *Test for T-cell rosette forming lymphocyte in human peripheral blood. J. Korean Med. Assoc.*, 19:874, 1976.
5. Chung, T.H.: *Anti-tumor effect of a tuberculo-protein complex, Tubercin-3 and its isoelectrofocusing analysis. J. Korean Med. Assoc.*, 17:427, 1974.
6. Wybran, J., Carr, M.C., and Fudenberg, H.H.: *The human Rosette Forming Cell as a maker of a population of thymus-derived cells. J. Clin. Invest.*, 51: 2537, 1972.
7. Jondal, M., Holm, G. and Wigzel, H.: *Surface Makers on human T and B lymphocytes. A large population of lymphocytes forming non-immune rosettes with sheep red blood cells. J. Exp. Med.*, 136:207, 1972.
8. 金鍾律, 金在植, 金重明, 전기영동법의 임상적 응용 1977. 경북의대논문집.
9. *Documenta Geigy, Scientific Tables sixth edition, J.R. Geigy S.A., Basle, Switzerland. 1962.*

10. Good, R.A. Fisher, D.W.: *Immunobiology*, published Sinauer Associate, Inc. Connecticut, U.S.A, 1973.
11. Weir, D.M.: *Immunology for undergraduates*, published Churchill Livingstone, Edinburgu, England, 1973.
12. Dannenberg, A.M., Meyer, O.T., Esterly, J.R., and Kambara, T.J.,: *The local nature of immunity in tuberculosis, illustrated histohemically in dermal BCG lesions*. *J. Immunol.*, 100:931, 1968.
13. Malaviya, A.N., Sehgal, K.L., Kumar, R., and Dingley, H.B.: *Factors of delayed hypersensitivity in pulmonary tuberculosis*. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 112 (1):49 1975.
14. Coppel, S., and Youmans, G.P.: *Specificiy of acquired resistance produced by immunization with mycobacterial cells and mycobacterial fractions*. *J. Bacteriol.*, 97:114, 1969.
15. Smith, JA, Reichman, LB.: *lymphocyte transformation. An aid in the diagnosis of tuberculosis in patient with nonreactive skin test*. *Am. Rev. Resp. Dis.* 106:194. 1972.
16. Mackaness, G.B.: *The immunological basis of acquired cellular resistance*. *J. Exp. Med.*, 120: 105, 1961.
17. Mackaness, G.B.: *The immunology of antituberculous immunity*. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 97: 337, 1967.
18. Williams, R.C., Deboard, J.R. Mellbye, O.J., and others.: *Studies of T and B lymphocytes in patients with connective tissue diseases*. *J. Clin. Invest.*, 52:283, 1973.
19. Vall-spinosa, A., Lester, T.W.: *Rifampin: Characteristics and role in the chemotherapy of tuberculosis*. *Ann. Intern. Med.*, 74:758, 1971.
20. Litwin, A, Brooks, S.M., and Claes, F.: *A pilot study concerning the early immunosuppressive effects of rirampin in man*. *Chest*, 65:548, 1974.
21. Chung, T.H.: *Treatment of lepromatous leprosy with Tubercin-3, the tuberculo-protein complex*, 8th Seminar on Tropical Medicine (International). Institute of Tropical Medicine Yonsei University, Seoul Korea June 2, 1977.
22. Youmans, G.P.: *Relation between delayed hypersensitivity and immunity in tuberculosis*. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 111(2):109, Feb. 1975.
23. Zeitz, S.J., Ostrow, J.H., Van Arzdel, P.P. Jr.: *Immunologic features of the anergic tuberculosis patient (abstract)*.