

폐결핵 환자의 말초 혈액 및 기관지 폐포세척액내의 임파구 아형과 세포성 매개면역과의 관계

순천향대학교 의과대학 내과학교실

어수택 · 차미경 · 이상무 · 김현태
정연태 · 우준희 · 김용훈 · 박춘식

= Abstract =

The Relationship between Cell-mediated Immunity and Subtypes of Lymphocyte in BAL Fluid and Peripheral Blood in Patients with Pulmonary Tuberculosis

Soo Taek Uh, M.D., Mi Kyung Cha, M.D., Sang Moo Lee, M.D., Hyun Tae Kim, M.D., Yeon Tae Chung, M.D.
Jun Hee Woo, M.D., Yong Hun Kim, M.D. and Choonsik Park, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Soonchunhyang University, Seoul, Korea

Background: The activated T lymphocyte by inhaled mycobacterial antigen may evoke cell-mediated immunity in patients with active pulmonary tuberculosis. These activated lymphocyte may influence the response of tuberculin-purified protein derivative (PPD) in skin test. But occasionally, anergy to PPD appear in patients with pulmonary tuberculosis in spite of active stage. Thus we evaluated the effect of change of subtypes of lymphocyte in bronchoalveolar lavage fluid (BAL) and peripheral blood on anergy to PPD in patients with active pulmonary tuberculosis.

Method: We performed tuberculin skin test and flow-cytometry analysis of lymphocytes obtained from BAL fluid and peripheral blood in 11 healthy normal volunteers and 20 patients with active pulmonary tuberculosis.

Results:

1) The composition of lymphocyte significantly increased in patients with active pulmonary tuberculosis when compared with that in healthy control (25.2 ± 4.8 vs $6.5 \pm 1.3\%$, $p < 0.01$), but composition of monocyte significantly decreased (69.6 ± 5.7 vs $89.2 \pm 1.4\%$, $p < 0.05$) in analysis of BAL fluid.

2) There were no differences in compositions of cells in BAL fluid between responders and non-responders to PPD.

3) The compositions of CD3 (+), CD4 (+), CD3 (+) IL-2R (+), CD3 (+) HLA-DR (+) significantly increased in BAL fluid when compared with those in peripheral blood in patients with active pulmonary tuberculosis. But the composition of CD8 (+), CD4/CD8 were not different between BAL fluid and peripheral blood.

4) There were no correlations between response to PPD and compositions of cells and lymphocyte subtypes in BAL fluid and peripheral blood in all patients with tuberculosis, responders, and non-responders, respectively.

Conclusion: From these results, we suggest no direct relationship between compositions of inflam-

*본 연구는 순천향 대학병원 부설 현암신장 연구소의 연구비의 보조로 이루어 졌음.

*본 논문의 요지는 1991년 제 72 차 대한 결핵 및 호흡기학회 추계학술대회에서 발표 되었음.

matory cells in bronchoalveolar lavage fluid and we could not rule out the possibility of compartmentalization of activated lymphocyte involving in anergy to PPD in skin test in patients with active pulmonary tuberculosis.

Key Words: Tuberculosis, Cell-mediated immunity, Lymphocyte

서 론

실험 방법

Mycobacteria 감염에 의한 폐결핵은 세포매개성 면역 반응이 관계한다고 알려져 있는 바, 먼저 mycobacteria가 흡입되면 기도의 대식세포에 의해 인지된 후, 그 항원성을 T 임파구로 전달하여 결국 T 임파구가 활성화되어 세포매개성 면역 반응을 나타낸다¹⁾. T 임파구의 활성화는 말초 혈액내의 가용성 interleukin 2 수용체의 증가 및 이들 증가가 폐결핵의 활동성과 병변부위와 상관관계가 있다는 보고²⁾로 보아 결핵성 질병에 주요한 역할을 하리라고 사료된다.

결핵 환자에서 tuberculin-purified protein derivative(이하 PPD로 약함)에 대한 피부 면역반응은 주로 세포매개성 면역반응에 의해 이루어지며, 특히 조력 T 임파구와 항원인지 세포인 대식세포가 주 염증세포로 작용하고 있다. 특히 이들 세포는 면역조직(immunohistological) 검사상 활성화되어 있는 것으로 보고하고 있다³⁾. 또한 활동성 폐결핵 환자의 임파구는 tuberculin에 감작되어 있어 PPD에 대한 검사 방법들을 포함한 기술적 오류 및 면역 기능을 떨어뜨리는 경우를 제외하고는 양성반응을 나타내어야 하나⁴⁾ 활동성 폐결핵 환자에서도 음성반응(anergy)을 나타내는 경우가 있다⁵⁾. 그러나 결핵성 늑막염 환자에서는 피부반응 검사상 음성의 원인을 주로 임파구의 구획⁶⁾ (compartmentalization)으로 설명하고 있는데 반해 활동성 폐결핵 환자에서의 피부반응 검사상 음성의 원인으로 영양실조⁷⁾, 고령⁸⁾, inhibitors⁹⁾, adherent monocytes등¹⁰⁾으로 설명하고 있지만 충분치 않다.

저자들은 폐결핵 환자에서의 PPD에 대한 피부반응 검사는 병변 부위(폐)와 검사 부위(피부)가 다르다는 점에 착안하여 말초혈액 및 기관지 폐포세척액내의 임파구의 세포조성과 이들이 피부반응에 미치는 영향을 조사함으로써 활동성 폐결핵 환자에서의 PPD에 대한 피부반응 검사상 음성으로 나타나는 이유를 알아보려고 하였다.

1. 대상 환자군

정상대조군으로는 호흡기 질환이나 혹은 최근 2주 이내 호흡기 증상이 없으면서 비흡연자인 의과대학생 11명을 대상으로 하였고 모두 남자였으며, 그들의 평균 나이는 29세였다. 폐결핵 환자는 과거 결핵의 병력이 없으면서 객담 검사상 항산균 염색 양성이면서 흉부 사진상 병변이 있거나 혹은 객담 배양상 M. tuberculosis 양성인 20명이었으며, 이들은 모두 비흡연자였고 남자 11명, 여자 9명이었으며 이들의 나이는 평균 48세였다.

2. PPD 피부반응 검사

정상인 및 환자의 전박 내측부에 5 TU의 PPD(국립보건원에서 기증받음)를 6 mm 정도의 크기가 되게 피내 주사한 후 48시간째 경결(induration)의 크기를 측정하였는 바, 반응의 정도는 팔의 길이와 수직이 되는 거리로 표시하였다. 측정 방법은 "palpation"에 의해 결정하였으며, 양성의 기준은 10 mm 이상으로 하였다. 정상대조군에서는 양성을 보인 경우가 8에 었으며, 환자군에서는 7예에서 양성을 보였다.

3. 기관지 폐포세척술

기관지 폐포세척술은 고식적인 방법¹¹⁾으로 시행하였다. 간략히 기술하면, 굴곡성 기관지 내시경(Olympus, P-10, Japan)을 정상 대조군은 주로 우측 중엽에서, 폐결핵 환자는 병변 부위의 기관지 분지에 고정시킨후 37°C로 미리 가온된 생리식염수 20 mL을 분주후 50~100 mmHg의 음압으로 수거하여 버렸으며 이후 30 mL씩 생리식염수를 천천히 주입한 후 미리 얼음 속에 놓여진 flask에 모았으며, 투입된 증류수는 총 200~300 mL로 6회 내지 8회에 걸쳐 분주하였다. 획득한 폐포 세척액은 즉시 총량을 측정한 후 2장의 먼저스로 거른 다음 hemocytometer (American Optics, USA) 하에서 총 세포수를 계산하였고, 4°C에서 1500 RPM으로 10분간

원심분리 후 상층액은 버리고 세포수가 2×10^6 /mL 되게 하층액을 취하여 슬라이드를 만들어 diff-quick stain을 시행한 후 각각의 세포수를 측정하였다.

4. 말초 혈액 및 기관지 폐포세척액의 단핵구의 분리 및 T세포아형의 측정

단핵구의 분리는 Boytim의 방법¹²⁾을 이용하였으며 간략히 기술하면 말초혈액 단핵구는 heparin 500 unit가 포함된 주사기로 말초혈액을 채취하여 동량의 PBS (phosphate buffered saline, pH 7.4)와 잘 혼합한 후 비중이 1.07인 Ficoll-Hypaque solution(Pharmacia Co.) 위에 조용히 중첩한 후 500 g의 속도로 45분간 원심 분리하였다. 그리고 기관지 폐포세척액내의 세포는 직접 Ficoll-Hypaque solution에 중첩하였다. Ficoll-Hypaque solution과 PBS층 사이의 세포층을 꺼내 PBS로 2회 세척한 후 단클론 항체 (monoclonal antibody, 이하 mAb로 약함)로 염색 후 flow-cytometer (FACScan, Becton-Dickinson, USA)를 이용하여 T세포 아형을 측정하였다. 사용된 mAb로는 anti-Leu4 (CD3), anti-Leu2a (CD4), anti-Leu3a(CD8), anti-Tac (anti-interleukin 2 receptor), anti-HLA-DR (Becton-Dickinson, USA) 이었다. 간략히 기술하면 2×10^7 /mL의 단핵구에 50 μ L의 anti-Leu4, Leu2a, Leu3a를 첨가하여 4°C에서 30분간 배양한 후 0.2% bovin serum albumin이 함유된 PBS(PBS-BSA)로 2회 세척하였다. 이후 FITC가 부착된 goat-antimouse Ig을 2 μ L씩 분주하여 4°C에서 30분간 배양한 후 PBS-BSA로 세척하였다. 이중염색으로 phycoerythrin이 부착된 anti-Tac, HLA-DR 50 μ L를 이용하여 2차 염색을 시행하였으며 PBS-BSA로 1회 세척후 1% paraform aldehyde 용액에 고정시킨 다음 flow-cytometer로 5,000개의 임파구를 이용하여 그 아형을 측정하였다.

5. 통계학적 분석

표본의 정규분포 여부는 Kolmogorov-Smirnov로 검정하였으며 검정결과 모든 표본은 비정규 분포를 보였으며, 모든 값은 평균 \pm 표준오차로 표시하였다. 정상대조군과 환자군 사이의 기관지 폐포세척 세포의 조성비의 차이는 Mann-Whitney U 검사로, PPD에 대한 반응의 크기와 기관지 폐포세척 세포의 조성비 사이의 상관 관계는 Spearman's rank 검사로, 환자군에서의 말초혈

Table 1. Cell Profiles of Bronchoalveolar Lavage Fluid in Patients with Active Pulmonary Tuberculosis and Normal Control (NC)†

Patient	Rate of recovery (%)	Total number of cell ($\times 10^4$)	Monocyte (%)	Lymphocyte (%)	Neutrophil (%)	Eosinophil (%)	Epithelial cell (%)
Total (20)*	51.1 \pm 2.7	35.8 \pm 5.4	69.6 \pm 5.7*	25.2 \pm 4.8*	4.2 \pm 1.2	0.40 \pm 0.25	0.56 \pm 0.21
PPD-responders (7)	55.7 \pm 4.1	39.1 \pm 7.0	62.3 \pm 10.2	33.7 \pm 8.9	3.7 \pm 1.8	0.03 \pm 0.03	0.29 \pm 0.25
no-responders (13)	48.6 \pm 3.5	34.0 \pm 7.5	73.5 \pm 6.8	20.7 \pm 5.4	4.4 \pm 1.6	0.61 \pm 0.38	0.71 \pm 0.29
NC (11)	51.9 \pm 4.1	23.6 \pm 6.2	89.2 \pm 1.4	6.46 \pm 1.3	1.3 \pm 0.3	0.06 \pm 0.03	3.03 \pm 0.90

* P < 0.05 vs normal control

parenthesis denotes the number of studied subjects

† Data are expressed as mean \pm standard error.

액과 기관지 폐포세척 세포의 임파구 아형의 차이는 Wilcoxon rank sum 검사로 검정하였으며, 상기 검정은 통계 package program인 SPSS-PC⁺를 이용하였다.

실험 결과

1. 기관지 폐포세척 세포의 조성비

기관지 폐포세척액내의 회수율은 정상대조군과 환자군 사이에 차이가 없었으며 (51.1 ± 2.7 vs $51.9 \pm 4.1\%$, $p > 0.05$), 총 세포수는 환자군에서 정상 대조군 보다 증가되어 있었지만 통계학적 차이는 없었다 (35.8 ± 5.4 vs $23.6 \pm 6.2 \times 10^4/\text{mm}^3$, $p > 0.05$). 단구세포(monocyte)는 환자군에서 정상 대조군에 비하여 유의하게 감소되어 있었고 (69.6 ± 5.7 vs $89.2 \pm 1.4\%$, $p < 0.05$), 임파구는 환자군에서 정상 대조군에 비하여 유의하게 증가되어 있었다 (25.2 ± 4.8 vs $6.5 \pm 1.3\%$, $p < 0.01$). 그 이외의 증성다핵구, 호산구, 상피세포는 정상군과 환자군 사이에 차이가 없었다. PPD에 대한 양성 반응을 보인 환자군과 음성 반응을 보인 환자군 사이의 기관지 폐포세척 세포 조성의 비는 차이가 없었다 (Table 1).

2. 환자군에서의 기관지 폐포세척 세포 및 말초 혈액의 임파아구의 비교

환자군에서 기관지 폐포세척액 내의 $CD3^+$, $CD4^+$ 임파구의 조성비는 말초 혈액보다 유의하게 증가되어 있었고 ($CD3^+$: 76.56 ± 2.18 vs $57.59 \pm 2.17\%$, $p < 0.001$; $CD4^+$: 51.24 ± 2.33 vs $35.20 \pm 2.32\%$, $p < 0.005$), $CD8^+$ 임파구 및 $CD4/CD8$ 의 비는 기관지 폐포세척액 및 말초 혈액 양자에서 차이가 없었다. 기관지 폐포세척액내의 $CD3^+$ IL-2R⁺, $CD3^+$ HLA-DR⁺ 임파구의 조성비는 말초 혈액보다 증가되어 있었다 ($CD3^+$ IL-2R⁺: 2.41 ± 0.57 vs $0.933 \pm 0.16\%$, $p < 0.005$; $CD3^+$ HLA-DR⁺: 16.92 ± 3.89 vs $3.94 \pm 0.70\%$, $p < 0.005$) (Fig. 1).

환자군중 PPD에 대한 양성 반응을 보인 군과 음성 반응을 보인 군 사이에는 기관지 폐포세척액내의 임파구의 조성의 차이 및 수에서 차이가 없었으며 (Table 2), 말초 혈액내의 임파구의 조성비에 있어서도 차이가 없었다 (Table 3).

3. PPD에 대한 팽진의 크기와 기관지 폐포세척 세포의 조성비 및 임파구 아형과의 상관 관계

결핵 환자군중 PPD에 대해 양성 반응을 보인 군과 음성 반응을 분리한 경우나, 환자군 모두를 합한 경우에도

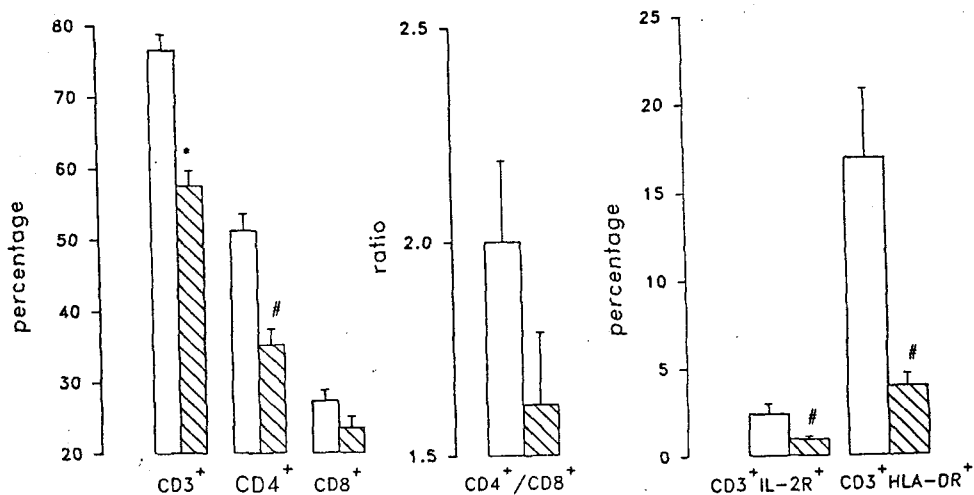


Fig. 1. Comparison of subtypes of lymphocyte from bronchoalveolar lavage (BAL) fluid (open) and peripheral blood (dashed) from patients with active pulmonary tuberculosis. The composition of $CD3^+$, $CD4^+$, $CD3^+$ IL-2R⁺, $CD3^+$ HLA-DR⁺ lymphocyte significantly increased in BAL fluid when compared with that in peripheral blood. * $p < 0.001$ vs BAL and # $p < 0.005$ vs BAL.

Table 2. Composition and Number of Subtypes of Lymphocyte in Bronchoalveolar Lavage Fluid from Patients with Active Pulmonary Tuberculosis*

	CD3 (+)	CD3, IL2-R (+)	CD4 (+)	CD8 (+)	CD4/CD8	CD3 (+), HLA-DR (%)
Composition (%)						
Responders (7)	79.5 ± 3.5	1.5 ± 0.3	55.8 ± 5.0	27.4 ± 2.7	2.2 ± 0.5	10.5 ± 3.4
No- Responders (13)	75.0 ± 2.8	2.9 ± 0.9	49.0 ± 2.3	27.3 ± 1.9	1.9 ± 0.3	20.1 ± 5.4
Number (× 10⁶/mL)						
Responders (7)	11.2 ± 4.2	0.3 ± 0.2	8.4 ± 3.1	4.4 ± 1.8	—	2.1 ± 1.0
No-responders (13)	6.5 ± 3.1	0.2 ± 0.1	4.2 ± 2.2	2.2 ± 1.1	—	1.4 ± 0.5

* Data are expressed as mean ± standard error.

Table 3. Composition of Subtypes of Lymphocyte in Peripheral Blood Fluid from Patients with Active Pulmonary Tuberculosis*

	CD3 (+)	CD3, IL2-R (+)	CD4 (+)	CD8 (+)	CD4/CD8	CD3 (+), HLA-DR (%)
Responders (7)	60.6±2.3	1.1±0.3	33.4±3.0	24.5±2.7	1.5±0.3	3.1±0.7
No- Responders (13)	55.7±3.2	0.8±0.2	36.3±3.3	23.0±2.1	1.7±0.2	4.6±1.0

* Data are expressed as mean ± standard error and percentage.

Table 4. Correlation Between Cell Profiles of Bronchoalveolar Lavage Fluid with Response of Mantoux Test*

	Monocyte	Lymphocyte	Neutrophil	Eosinophil	Epithelial cell
Total	-.1656	.2511	-.1227	-.2639	-.2553
Responders	.1485	-.1181	-.1956	-.1828	-.5511
No- Responders	.0826	-.0402	-.2282	-.1381	.0830

* Data are expressed as correlation coefficient

PPD에 대한 피부반응과 기관지 폐포세척 세포의 조성 비 사이에는 모두 상관관계가 없었다(Table 4). 또한 결핵 환자군중 PPD에 대해 양성 반응을 보인 군과 음성 반응을 분리한 경우나, 환자군 모두를 합한 경우에도 PPD에 대한 피부반응과 기관지 폐포세척액 및 말초혈액내의 임파구아형의 조성과도 상관관계가 없었다 (Table 5).

고 찰

본 실험에서는 기관지 폐포세척액내의 염증 세포와 세포매개성 면역 반응과는 직접적인 관계가 없으며, 활동성 폐결핵 환자에서의 지연성 피부 반응의 저하는 임파

구의 구획에 의한 결과라는 것을 배제할 수 없었다.

폐결핵은 세포매개성 면역 반응, 즉 T임파구의 활성화가 폐결핵의 병인에 주요한 역할을 하며¹⁰⁾, 따라서 기관지 폐포세척액내의 임파구의 증가가 예상된다. 이는 폐결핵 환자의 기관지폐포 세척액내의 세포중 20.0%에서 30.1%까지의 분포로 임파구가 차지한다는 것으로 증명되어 있고¹⁴⁻¹⁶⁾, 본 실험에서도 임파구가 차지하는율은 25.2%로 상기 보고자들과 차이가 없었다. 본 실험에서는 정상대조군으로 건강한 의과 대학생을 선정하였기 때문에 모두 남자라는, 연령층이 좁다는 단점은 있지만, 다른 보고와는 달리 폐결핵이 전혀 없으므로 이들과 폐결핵환자의 기관지폐포 세척액내의 임파구의 조성의 차이는 의미가 있을 것으로 사료된다.

Table 5. Correlation Between Subtypes of Bronchoalveolar Lavage Fluid and Peripheral Blood and Response of Mantoux Test*

	CD3 (+)	CD3, IL2-R (+)	CD4 (+)	CD8 (+)	CD4/CD8	CD3 (+), HLA-DR (+)
Bronchoalveolar Lavage Fluid						
Total	.2470	-.2774	.2849	.1038	.0700	-.2318
Responders	-.2511	-.1642	-.5137	.2566	-.5188	-.1303
No- Responders	.4113	.0263	.4952	.3341	-.0626	.2317
Peripheral Blood						
Total	.2109	.2373	-.1418	.0183	-.0876	-.2201
Responders	-.1555	-.2154	.2898	-.5512	.5311	.0048
No- Responders	-.4632	.2710	-.5377	.0036	.0391	.2093

* Data are expressed as correlation coefficient

결핵성 늑막염 환자에서 피부반응 검사상 음성을 보인 경우 말초 혈액내의 PPD에 대한 lymphoblast transformation(임파아구 변형)은 저하되어 있었지만, 늑막액내의 임파구는 PPD에 대한 임파아구 변형은 뚜렷한 증식을 보였으며, 피부반응 검사상 양성을 보인 경우는 말초혈액 및 늑막액내의 임파구가 PPD에 대해서 뚜렷한 임파아구 증식을 보이는 사실로 보아¹⁷⁾ 결핵성 늑막염 환자의 지연성 피부 반응 저하는 작은 부분일지라도 최소한 '구획'이 관여되리라고 사료된다. 하지만 본 연구의 대상은 폐결핵 환자이므로 target organ(대상 장기)이 결핵성 늑막염 환자와 다르므로 저자들은 기관지 폐포세척술을 이용하여 직접적으로 병변 부위에 접근을 시도하였다. 폐결핵 환자의 기관지 폐포세척액내의 임파구의 조성비가 말초혈액내의 조력 임파구의 조성의 비보다는 증가되어 있다는 사실은 비록 기관지 폐포세척액내의 임파구의 PPD에 대한 임파아구 변형을 측정하지 않았더라도 활성화된 임파구의 병소내로의 이동을 배제할 수는 없을 것으로 사료된다. 따라서 향후 치료 전후의 기관지 폐포세척액내의 임파구 및 말초혈액의 임파구를 PPD로 자극시켜 임파아구 변형을 관찰하며, 동시에 Mantoux 검사를 실시함으로써 활동성 폐결핵 환자에서 지연성 피부 반응의 저하의 원인이 '구획'에 의한 것인지를 파악할 수 있으리라 사료된다.

임파구의 IL-2 수용체의 표현 및 HLA-DR 항원의 표현은 임파구의 활성화를 나타내는 지표로 잘 알려져 있다. 본 실험에서의 기관지 폐포세척액내의 임파구의 IL-2 수용체 및 HLA-DR 항원의 표현이 말초 혈액보다

증가되어 있다는 사실은 target 장기(폐)에서의 임파구의 면역조절 기능(immunomodulation)을 잘 보여주며, 이들의 증가와 말초혈액내의 활성화된 임파구의 감소 사이에는 숫적으로 일치하지는 않지만 최소한 활성화된 임파구의 '구획'이 주요한 역할을 하리라고 사료된다. 그리고 정상인의 말초혈액에서의 임파구의 HLA-DR 양성의 빈도는 평균 6.6%로¹⁸⁾ 본 실험에서의 활동성 폐결핵 환자의 말초혈액 임파구의 HLA-DR 양성 임파구의 빈도 3.9%보다 증가되어 있다는 사실은, 비록 실험방법의 차이 즉, 박동¹⁸⁾은 간접면역형광법(indirect immunofluorescence method)으로 본 연구에서는 유세포분석법(flow-cytometry)으로 차이가 있지만, 최소한 활동성 폐결핵 환자의 말초 임파구는 정상인에 비해 활성화되어 있지 않다는 사실이다. 그리고 최근의 보고에 의하면 상기 두 방법이 기관지폐포 세척액내의 임파구의 아형 분석에 있어서 차이를 발견할 수 없었으므로 박동의 실험을 인용하는 데는 무리가 없을 것으로 사료된다¹⁹⁾.

저자들은 기관지 폐포세척액의 조력 임파구의 수와 Mantoux 피부 반응과는 역 상관관계를, 그리고 말초혈액내의 조력 임파구의 수와 피부반응과는 상관관계를 보일 것으로 예상하였으나 실제로 모두 상관관계를 관찰할 수 없었다. 이는 김등²⁰⁾, 최등²¹⁾ 그리고 Kerby등²²⁾의 연구에서 조력/억제 임파구의 비, 조력 임파구의 수, 그리고 PPD에 의한 임파구 형성의 정도와 tuberculin 반응 검사에 양성으로 나타나는 피부의 홍색결절의 장축의 길이와 유의한 상관관계를 보여 본 연구와는 일치하지 않는 소견이었다. 하지만 다른 보고자들^{23,24)}에 의하면

상관관계가 없다고 보고하여, 현재까지도 논란의 대상이 되고 있다. 이러한 이유는 결핵환자의 말초혈액내 T 임파구의 수적 감소²⁵⁾ 및 interleukin 1의 감소²⁶⁾ 혹은 prostaglandin²⁷⁾이 T 임파구의 기능을 떨어뜨림으로써 야기되는지는 알 수 없지만 추후 더 연구되어야 할 것으로 사료된다.

폐결핵 환자에서의 피부반응의 저하는 결핵균에 대한 선택성 피부 반응의 저하인지 아니면 비특이적으로 모두 피부 반응이 감소되어 있는지 알 수 없지만 본 교실에서의 연구에 의하면 활동성 폐결핵 환자에서 결핵균 외에도 다른 항원에 대해서도 지연성 피부 반응이 저하되어 있음을 관찰할 수 있었다²⁸⁾. 이는 활동성 폐결핵 환자에서의 지연성 피부 저하가 한가지 요소에 의한 것보다는 여러 다양한 원인이 관계될 것으로 사료되므로 환자의 여러 요소 즉, 성별, 나이, 영양 상태등을 표준화하여 검사되어야 할 것으로 사료된다.

PPD에 대한 피부 반응 검사시 측정상의 오류를 줄이기 위한 한 방법으로 PPD-Tween을 이용하는 것이 syringe에 PPD가 비특이적으로 부착(adsorb)되는 것을 줄일 수 있어 적정량이 검사에 이용될 수 있으나⁴⁾, 본 실험에서는 PPD-Tween을 사용하지 않았으므로 가능한 syringe에 담고 난 후 빠른 시간내에 환자에게 주사하여 오차를 줄일려고 노력하였다. 또한 고령환자의 경우 circulating T 임파구의 수적 감소 및 기능의 감소로 인하여 PPD에 대한 피부 반응이 저하될 수 있으며 그리고 65세 이상에서 현저한 지연성 피부 반응의 저하가 관찰되어²⁹⁾ 본 실험에서는 환자의 연령을 모두 55세 이하로 규정하여 피부 반응 저하의 원인으로 결핵 이외의 다른 원인은 가능한 배제하였다. tuberculin 검사의 측정 방법은 "ball-point pen technique"과 "palpation"의 두 가지 방법이 있으며, Jordan등³⁰⁾은 "ball-point pen technique"이 sensitive 하다고 하였지만 두 가지 방법이 좋은 상관관계를 보인다고 하여 본 실험에서는 전통적인 방법인 "palpation"법을 이용하였다.

요 약

연구배경: Mycobacteria 감염에 의한 폐결핵은 세포매개성 면역 반응이 관계한다고 알려져 있는 바, 먼저 Mycobacteria가 흡입되면 T 임파구가 활성화되어 세포매개성 면역 반응을 나타낸다. 결핵환자에서 tuber-

culin-purified protein derivative에 대한 피부 면역반응은 주로 세포매개성 면역반응에 의해 이루어짐으로 활동성 폐결핵 환자에서는 양성반응을 나타내어야하나 활동성 폐결핵 환자에서도 음성반응(anergy)을 나타내는 경우가 있다. 저자들은 폐결핵 환자에서 말초혈액 및 기관지 폐포세척액내의 임파구의 세포조성과 이들이 피부 반응에 미치는 영향을 조사함으로써 활동성 폐결핵 환자에서의 PPD에 대한 피부반응 검사상 음성으로 나타나는 이유를 알아보려고 하였다.

방법: 11명의 정상대조군, 20명의 활동성 폐결핵 환자를 대상으로 PPD에 대한 피부 반응 검사 및 말초혈액 및 기관지 폐포세척액의 임파구의 아형을 분석하였다.

결과:

1) 기관지 폐포세척액내의 임파구는 환자군에서 정상대조군에 비하여 유의하게 증가되어 있었고 (25.2 ± 4.8 vs $6.6 \pm 1.3\%$, $p < 0.01$), 단구세포(monocyte)는 환자군에서 정상대조군에 비하여 유의하게 감소되어 있었다 (69.6 ± 5.7 vs $89.2 \pm 1.4\%$, $p < 0.05$).

2) PPD에 대한 양성 반응을 보인 환자군과 음성 반응을 보인 환자군 사이의 기관지 폐포세척 세포 조성의 비는 차이가 없었다.

3) 환자군에서 기관지 폐포세척액 내의 $CD3^+$, $CD4^+$ 임파구의 조성비는 말초혈액보다 유의하게 증가되어 있었고 ($CD3^+$: 76.56 ± 2.18 vs $57.59 \pm 2.17\%$, $p < 0.001$; $CD4^+$: 51.24 ± 2.33 vs $35.20 \pm 2.32\%$, $p < 0.005$), $CD3^+IL-2R^+$, $CD3^+HLA-DR^+$ 임파구의 조성비도 말초혈액보다 증가되어 있었다 ($CD3^+IL-2R^+$: 2.41 ± 0.57 vs $0.93 \pm 0.16\%$, $p < 0.005$; $CD3^+HLA-DR^+$: 16.92 ± 3.89 vs $3.94 \pm 0.70\%$, $p < 0.005$).

4) 환자군중 PPD에 대한 양성반응을 보인 군과 음성 반응을 보인 군 사이에는 기관지 폐포세척액내의 임파구의 조성의 차이 및 수에서 차이가 없었다.

5) 환자군에서 PPD에 대한 피부반응과 기관지 폐포세척 세포의 조성비 사이에는 모두 상관관계가 없었으며, PPD에 대한 피부반응과 기관지 폐포세척액 및 말초혈액내의 임파구아형의 조성과도 상관관계가 없었다.

결론: 결론적으로 기관지 폐포세척액내의 염증 세포와 세포매개성 면역 반응과는 직접적인 관계가 없음을 알 수 있었으며, 활동성 폐결핵 환자에서의 지연성 피부 반응의 저하는 임파구의 구획에 의한 결과라는 것을 배

제할 수 없었다.

감사의 글

본 실험의 정상대조군으로 협조하여 주신 순천향대학교 의과대학 학생들께 진심으로 감사드리며, 기관지 폐포세척액의 처리 및 임파구 아형의 측정에 도움을 주신 순천향대학 부설 현암 신장연구소의 김은영 기사께 감사를 드린다.

REFERENCES

- 1) Edwards D, Kirkpatrick CH: The immunology of mycobacterial disease. *Am Rev Respir Dis* 134:1062, 1986
- 2) Chan HS, Lai KN, Leung CK, Lai KW: T lymphocyte activation in patients with active tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 144:458, 1991
- 3) Fullmer MA, Shen JY, Modlin RL, Rea TH: Immunohistological evidence of lymphokine production and lymphocyte activation antigens in tuberculin reactions. *Clin Exp Immunol* 67:383, 1987
- 4) Snider DE: The tuberculin test. *Am Rev Respir Dis* 125:108, 1982
- 5) Nash DR, Douglas JE: Anergy in active pulmonary tuberculosis. A comparison between positive and negative reactors and an evaluation of 5 TU and 250 TU skin test doses. *Chest* 77:32, 1980
- 6) Fujiwara H, Okuda Y, Fukugawa T, Tsuyuguchi I: In vitro tuberculin reactivity of lymphocytes from patients with tuberculous pleurisy. *Infect Immun* 35:402, 1982
- 7) Zeitz SF, Ostrow JH, Van Arsdell PP: Humoral and cellular immunity in the anergic tuberculosis patient. *J Allerg Clin Immunol* 53:20, 1974
- 8) Carsella ED, Mochanko K, Braum M: Rosette-forming T cells in human peripheral blood at different ages cell. *Immunology* 12:323, 1974
- 9) Grieco MH, Chmel H: Acute disseminated tuberculosis as a diagnostic problem. *Am Rev Respir Dis* 10:554, 1974
- 10) Toosi Z, Sedor JR, Lapurga JP, Ondash RJ, Ellner JJ: Expression of functional interleukin 2 receptors by peripheral blood monocytes from patients with active pulmonary tuberculosis. *J Clin Invest* 85:1777, 1990
- 11) Reynold HY: Bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis* 135:250, 1987
- 12) Boyüm A: Separation of leukocytes from blood and bone marrow. *Scan J Clin Lab Invest* 97:77, 1968
- 13) Collins FM: The immunology of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 125:42, 1982
- 14) 김동순, 이봉춘: 활동성 폐결핵 환자의 기관지 폐포세척액 소견. *대한내과학회잡지* 34:12, 1987
- 15) 한성구, 조상현, 김준우, 김영환, 심영수, 김건열, 한용철: 폐결핵 환자에서 기관지 폐포세척액 및 말초혈액의 임파구 아형에 관한 연구. *대한내과학회잡지* 34:285, 1988
- 16) 천선희, 조철호, 김세규, 장 준, 김성규, 이원영: 활동성 및 비활동성 결핵 환자의 기관지폐포세척액 소견. *대한내과학회잡지* 41:332, 1991
- 17) Ellner JJ: Pleural fluid and peripheral blood lymphocyte function in tuberculosis. *Ann Int Med* 89:932, 1978
- 18) 박춘식, 정연태, 정상 기관지폐포세척세포의 면역 표현형. *대한내과학회잡지* 34:294, 1988
- 19) Padovan C, Allmeling A, Gerlach T, Behr J, Krombach F: Immunophenotyping of BAL lymphocytes. *Am Rev Respir Dis* 141:A233, 1990
- 20) 김준우, 심영수, 김건열, 한용철, 이원재, 장가용: 한국인 결핵 환자의 말초혈액 및 늑막 삼출액에서의 T 림프구 및 그 아형들의 수적변화에 관한 면역세포 화학적 연구. *결핵 및 호흡기 질환* 34:197, 1987
- 21) 최동철, 심태선, 조상현, 정기호, 현인규, 유철규, 김영환, 심영수, 김건열, 한용철: 폐 및 폐외결핵환자에서의 T 림프구 매개성 면역기능의 변화에 관한 연구. *결핵 및 호흡기 질환* 39:62, 1992
- 22) Kerby GR: Correlation of tuberculin skin reactions with vitro lymphocyte transformation. *Am Rev Respir Dis* 97:904, 1968
- 23) Mcfarland W, Heilman D: Comparison of lymphocyte transformation and intradermal reactions to tuberculin. *Am Rev Respir Dis* 93:742, 1967
- 24) Gump DW, Fekety RJ, Banetti J, Nosenzo C: Studies of human lymphocyte culture as an in vitro test of delayed hypersensitivity. *Am Rev Respir Dis* 95:470, 1967
- 25) 채장성, 김동집: 결핵환자의 세포성 면역. *가톨릭 대학 의학부 논문집* 36:139, 1983
- 26) Ben-Zvi A, Mizel SB, Oppenheim JJ: Generation of human peripheral blood stable E-Rosette-forming T cells by interleukin 1. *Clin Immunol Immunopathol* 19:330, 1981
- 27) Passwell JH, Dayer JH, Merler E: Increased pros-

taglandin production by human monocytes after membrane receptor activation. *J Immunol* **123**:115, 1979

- 28) 문승혁, 김현태, 어수택, 정연태, 우준희, 김용훈, 박춘식 : 폐결핵 및 결핵성 늑막염 환자에서의 세포매개성 면역 반응. *결핵 및 호흡기질환* **38**:463, 1991
- 29) Girad JP, Paychere J, Cuevas M, Fernandes B:

Cell-mediated immunity in an aging population. *Clin Exp Immunol* **27**:85, 1977

- 30) Jordan TJ, Sunderman G, Thomas L: Tuberculin reaction size measurement by the pen method compared to traditional palpation. *Chest* **92**:234-236, 1987