

□ 원 저 □

폐결핵환자의 말초혈액에서의 $\gamma\delta$ T 림프구에 관한 연구⁺

서울대학교 의과대학 내과학교실 및 결핵연구소

심태선 · 유철규 · 김영환 · 한성구 · 심영수 · 김건열* · 한용철**

=Abstract=

$\gamma\delta$ T Cells in the Peripheral Blood of Pulmonary Tuberculosis

Tae Sun Shim, M.D., Chul Gyu Yoo, M.D., Young Whan Kim, M.D., Sung Koo Han, M.D.,
Young Soo Shim, M.D., Keun Youl Kim, M.D. and Yong Chol Han, M.D.

*Department of Internal Medicine and Tuberculosis Research Institute,
Seoul National University, College of Medicine, Seoul, Korea*

Background: T cell mediated immunity is important in the defense mechanism of tuberculosis. Since $\gamma\delta$ T cell receptor was found to react with 65 kD heat shock protein of *M.tuberculosis*, there have been some reports on the role of $\gamma\delta$ T cells in the defense against *M.tuberculosis*. But until now, the role of the $\gamma\delta$ T cells in tuberculosis is not clear.

Methods: We therefore measured the percentage of $\gamma\delta$ T cells of peripheral blood by flowcytometry before and after stimulation with Con-A, PPD and H37Ra lysate and compared between tuberculosis patients and healthy controls.

Results: $\gamma\delta$ T cells of peripheral blood in pulmonary tuberculosis patients was $7.5 \pm 5.2\%$, showing no difference compared with healthy control ($10.0 \pm 4.8\%$). But IL-2R(+) $\gamma\delta$ T cells were higher in tuberculosis compared with healthy control ($4.8 \pm 5.1\%$ vs. $1.8 \pm 2.8\%$). After stimulation with PPD or Con-A, the percentage of $\gamma\delta$ T cells showed no significant change, but IL-2R(+) $\gamma\delta$ T cells increased significantly in both tuberculosis ($17.9 \pm 13.4\%$, $57.6 \pm 20.2\%$ respectively) and healthy control group ($11.5 \pm 9.1\%$, $80.8 \pm 9.3\%$).

After stimulation with H37Ra lysate, percentage of $\gamma\delta$ T cells showed increasing tendency in healthy control group, but it was not statistically significant.

Conclusion: In this study, we could not demonstrate the role of $\gamma\delta$ T cells in the peripheral blood of pulmonary tuberculosis. It is suggested that further studies will be needed in the regional sites of *M.tuberculosis* infection.

Key Words: Tuberculosis, $\gamma\delta$ T cells, Peripheral blood

+ 본 논문은 1992년도 서울대학교병원 지정 연구비의 보조로 이루어졌음.

* 현주소는 단국대학교 의과대학 내과학교실

** 현주소는 삼성의료원 내과

서 론

우리나라는 과거에 “결핵왕국”으로 불리울 정도로 많은 결핵환자가 있었으나, 체계적인 결핵관리로 1990년에는 폐결핵 환자의 유병률이 1.8%¹⁾까지 떨어졌다. 그러나 이 숫자도 아직 선진국에 비하면 높은 편이다. 최근 서구에서도 AIDS환자의 증가와 함께 결핵의 유병률이 다시 증가하고 있는 추세이다. 결핵균 감염에는 세포매개성 면역기전이 중요한 역할을 하는 데, 개인의 면역상태에 따라 다양한 임상경과를 거치게 된다. T 림프구는 세포매개성 면역기전에서 중추적 역할을 하는 세포로서 T 림프구의 표면에 있는 TCR-CD3 복합체가 주요 직항원(MHC)의 제한하에서 항원을 인지하는 것으로 알려져 있다. 최근에 $\alpha\beta$ -TCR(TCR-2) 외에 γ 와 δ 의 두 폴리펩타이드로 구성된 $\gamma\delta$ TCR를 갖는 T 림프구가 발견되었다. $\gamma\delta$ T 림프구는 정상인 말초혈액 T 림프구의 1~10%^{2,3)}를 차지하며, 그 외의 임파기관에서도 비슷한 분포를 나타내고 있음이 밝혀졌다. $\gamma\delta$ T 림프구의 기능에 관하여는 여러가지 연구가 진행되어 비특이적 세포살해능과 Lymphokine 생성기능⁴⁾이 알려져 있지만, 아직 자세한 기능은 밝혀지지 않은 상태이다. 최근에 여러 가지 자극에 반응하여 세포내에서 증가하는 HSPs(Heat Shock Proteins)이 밝혀지기 시작했고, 이 HSP들이 여러 병원체들의 주요 항원이 되며, $\gamma\delta$ T 림프구가 *M. tuberculosis*의 HSP65에 반응한다는 보고가 있었다⁵⁾. 이에 저자들은 결핵균 감염에서 $\gamma\delta$ T 림프구의 역할을 알아보고자 폐결핵 환자의 말초혈액을 대상으로 하여 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1991년 7월부터 1991년 10월까지 서울대학교병원에 입원하였던, 폐결핵환자 22명과 건강대조군 16명을 대상으로 하였다. 폐결핵환자는 모두 세균학적으로 진단되었고, 다른 급만성의 전신질환이 없었다.

2. 방 법

1) PPD 피부반응검사

5 TU/0.1ml의 PPD 시약 0.1ml를 전박 내측부위에 피내주사하고, 48시간 이후에 경결(induration)의 크기를 측정하였다.

2) H37Ra Lysate 만드는 법

Gulle, H. et al.⁶⁾의 방법을 변형하였다. H37Ra 균주를 Ogawa배지에서 3주간 배양하여 UVa 100mW/cm²로 100분간 조사하고, 얼음으로 냉각시키면서 60W에서 3분씩 3번 ultrasonication한 후⁷⁾, 300,000 xg에서 1시간 동안 ultracentrifugation(BECKMAN, TL-100 ultracentrifuge)하였다. 단백량은 BCA protein assay를 이용하여 측정하였다.

3) 유세포 계측

정맥혈을 채취하여 IMDM(Isocove's modified Dulbecco's medium)과 섞은 후 Ficoll-Hypaque(비중 1.007)을 이용한 density gradient centrifugation으로 단핵세포층을 분리하였다. 이 단핵세포의 일부분은 직접 유세포계측을 이용하여, $\gamma\delta$ T 림프구의 분포를 구하고, 나머지 부분은 PPD, Con-A, 그리고 H37Ra lysate로 자극한 후에 유세포계측을 시행하였다. 각 시험관 마다 10⁶개의 세포가 들어가도록 한 뒤 FITC-conjugated Anti TCR δ 1 Ab(T Cell Sciences)와 PE-conjugated Anti-Leu 4 Ab(Becton & Dickinson), FITC-conjugated Anti TCR δ 1 Ab와 PE-conjugated Anti-Leu 2a Ab(Becton & Dickinson), 그리고 FITC-conjugated Anti TCR δ 1 Ab와 PE-conjugated IL-2R Ab(Becton & Dickinson)를 각각 반응시킨 후에 30분간 4°C 냉장고에서 배양시킨 뒤 유세포계측(flowcytometry)을 시행하였다.

단핵세포의 나머지 부분은 자극원으로 PPD, Con-A, 그리고 H37Ra lysate를 넣은 후에 5% CO₂, 40°C에서 120시간동안 배양한 뒤 유세포계측을 시행하였다.

3. 통계처리 및 결과분석

통계처리 및 자료의 분석은 SPSSPC⁺ 통계 package를 이용하였으며, 유의성은 Mann-Whitney U검증법과 Wilcoxon검증법을 사용하였다.

결 과

1. 기저상태

건강대조군과 폐결핵균 사이에 $\gamma\delta$ T 림프구의 비율

은 각각, $10.0 \pm 4.8\%$ 와 $7.5 \pm 5.2\%$ 로 통계적으로 유의한 차이가 없었다(Table 1). 그러나 $\gamma\delta$ T 림프구중 활성화의 지표인 IL-2R가 양성인 비율은 각각, $1.8 \pm 2.8\%$ 와 $4.8 \pm 5.1\%$ 로 폐결핵군에서 유의하게 높았다($p < 0.05$). CD8양성률은 두 군간에 유의한 차이가 없었다.

2. 자극후 $\gamma\delta$ T 림프구의 비율의 변화

PPD로 자극후 건강대조군에서는 $\gamma\delta$ T 림프구의 비율이 기저치의 $108.3 \pm 27.0\%$ 로 증가하였고, 폐결핵군에서는 $120.0 \pm 71.1\%$ 로 증가하였으나, 양군간에 통계적으로 유의한 차이는 없었다. Con-A로 자극후에는 건강대조군에서는 오히려 비율이 감소하여 기저치 비율의 $69.6 \pm 27.0\%$ 로 되었고, 폐결핵군에서는 $104.4 \pm 96.5\%$ 로 변화하여 양군간에 통계적으로 유의한 차이를 보였다. H37Ra lysate로 자극한 후에는 각각 기저치의 비율의 $327.7 \pm 294.1\%$ ($n=3$)와 $101.6 \pm 39.8\%$ ($n=5$)로 변화하였으나, 예수가 적어서 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 2, Fig. 1, 2, 3).

3. 자극후 $\gamma\delta$ T 림프구 중 IL-2R 양성률의 변화

기저상태에 비해서 PPD자극후 증가된 IL-2R양성률은 건강대조군에서 $11.5 \pm 9.1\%$ 이고, 폐결핵군에서는

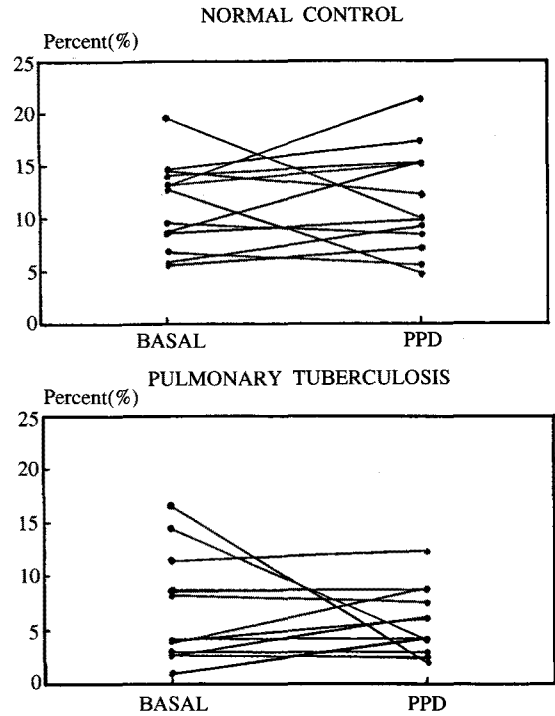


Fig. 1. Change of $\gamma\delta$ T cell ratio after PPD stimulation.

After stimulation with PPD, the percentage of $\gamma\delta$ T cells showed no significant change in both healthy control ($108.3 \pm 27.0\%$) and pulmonary tuberculosis group($120.0 \pm 71.1\%$).

Table 1. Comparison between Healthy Control and Pulmonary Tuberculosis Groups

	Healthy control	Pulmonary tuberculosis
Age	25.9 ± 1.8	$44.7 \pm 18.5^*$
PPD skin test(mm)	12.5 ± 6.1	$21.9 \pm 15.0^*$
$\gamma\delta$ T lymphocyte ratio(%)	10.0 ± 4.8	7.5 ± 5.2
IL-2R(\pm) $\gamma\delta$ T lymphocyte(%)	1.8 ± 2.8	$4.8 \pm 5.1^*$
CD8(\pm) $\gamma\delta$ T lymphocyte(%)	31.4 ± 10.1	35.9 ± 16.9

* $p < 0.05$

Table 2. Comparison of $\gamma\delta$ T cell Ratio after Stimulation

	Healthy control	Pulmonary tuberculosis
Basal ¹ (%)	10.0 ± 4.8	7.5 ± 5.2
PPD ² /Basal(%)	108.3 ± 40.2	120.0 ± 71.1
Con-A ³ /Basal(%)	69.6 ± 27.0	$104.4 \pm 96.5^*$
H37Ra ⁴ /Basal(%)	327.7 ± 294.1	101.6 ± 39.8

1 : $\gamma\delta$ T cell ratio in basal state

3 : $\gamma\delta$ T cell ratio after Con-A stimulation

* $p < 0.05$

2 : $\gamma\delta$ T cell ratio after PPD stimulation

4 : $\gamma\delta$ T cell ratio after H37Ra stimulation

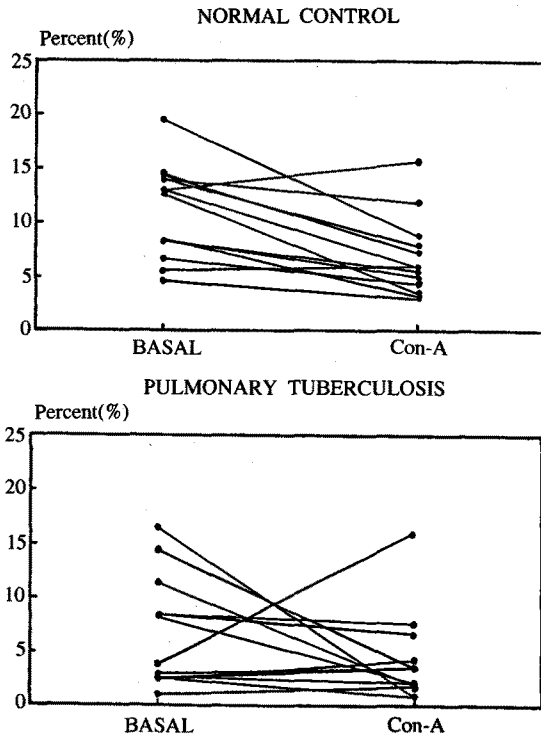


Fig. 2. Change of $\gamma\delta$ T cell ratio after Con-A stimulation.

After stimulation with Con-A, the percentage of $\gamma\delta$ T cells decreased in healthy control group($69.6 \pm 27.0\%$), but showed no significant change in pulmonary tuberculosis group($104.4 \pm 96.5\%$). But statistically, the changed ratio of the $\gamma\delta$ T cells showed no difference between both groups.

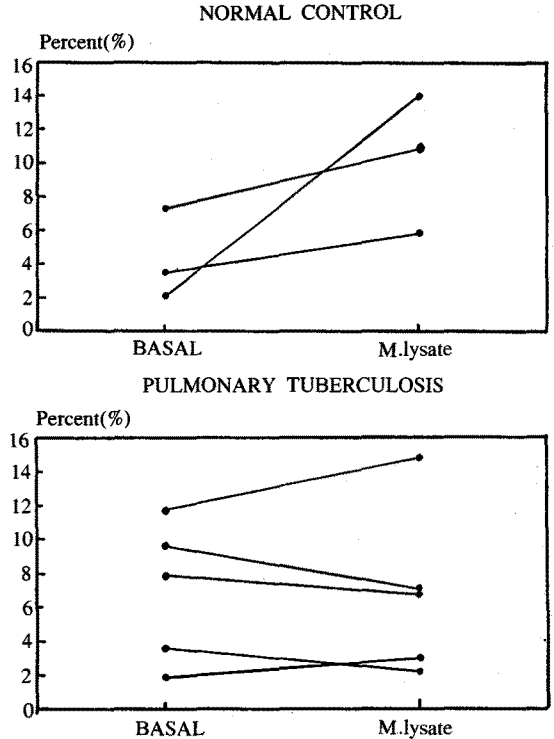


Fig. 3. Change of $\gamma\delta$ T cell ratio after H37Ra stimulation.

After stimulation with H37Ra lysate, percentage of $\gamma\delta$ T cells showed increasing tendency in healthy control group, but it was not statistically significant in both groups.

고찰

$17.9 \pm 13.4\%$ 로 양군간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 그러나 Con-A로 자극후에는 양군에서 각각, $80.8 \pm 9.3\%$ 와 $57.6 \pm 20.2\%$ 로 건강대조군에서 통계적으로 유의하게 높았다($p < 0.05$)(Table 3, Fig. 4, 5).

4. PPD 피부반응검사와 $\gamma\delta$ T 림프구 비율의 관계

PPD 피부반응검사의 경결의 크기(mm)와 말초혈액의 $\gamma\delta$ T 림프구의 비율(%)은 $r = -0.21$ ($p > 0.05$)로 유의한 상관관계를 보여주지 못했다(Fig. 6).

최근까지 우리가 알고 있었던, T 림프구는 α 와 β 의 두 폴리펩타이드로 이루어진 $\alpha\beta$ 수용체(TCR-2)를 가진 림프구이었다. 그러나 최근에 들어서 이와 다른 γ 와 δ 의 두 폴리펩타이드로 이루어진 항원수용기(TCR-1)를 갖는 T 림프구가 발견되었다^{8,9)}. $\gamma\delta$ T 림프구는 모두 CD2, CD5, CD7의 세포표면 표지자를 갖고 있지만 CD1, CD4, CD28, CD11b, CD16등은 부분적으로 소유하고 있는 이질적인 세포의 집단이다²⁾. $\gamma\delta$ T 림프구 발견 초기에는 흉선에 있는 $\gamma\delta$ T 림프구가 거의 CD4 음성, CD8 음성이어서 CD4(-), CD8(-)의 이중음성을 $\gamma\delta$ T 림프구의 표식자로 생각하였으나, 비장의 $\gamma\delta$ T 림프구의 50%, 그리고 말초혈액 $\gamma\delta$ T 림프구의 30% 정도가

Table 3. Comparison of IL-2R Expression of $\gamma\delta$ T Cells after Stimulation

	Healthy control	Pulmonary tuberculosis
Basal IL-2R(+)(%)	1.8±2.8	4.8± 5.1*
PPD ¹ (%) - Basal(%)	11.5±9.1	17.9±13.4
Con-A ² (%) - Basal(%)	80.8±9.3	57.6±20.2*

1 : IL-2R expression of $\gamma\delta$ T cells after PPD stimulation

* p<0.05

2 : IL-2R expression of $\gamma\delta$ T cells after Con-A stimulation

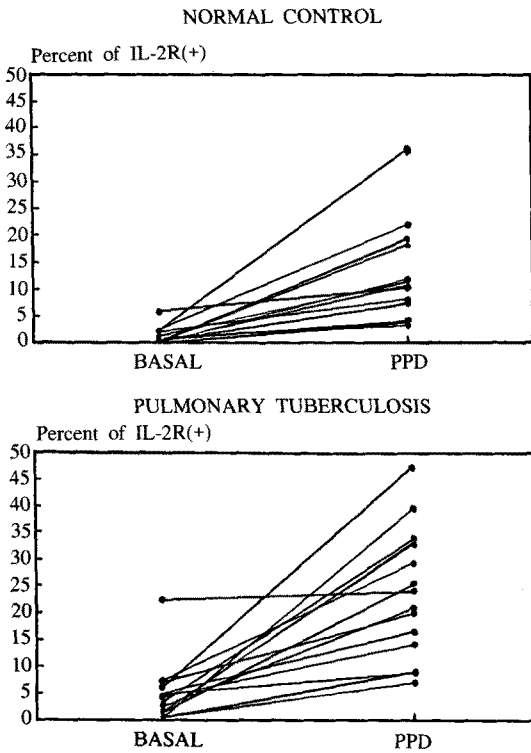


Fig. 4. Change of IL-2R expression of $\gamma\delta$ T cells after PPD stimulation.

After stimulation with PPD, the percentage of IL-2R(+) $\gamma\delta$ T cells showed significant increase in both healthy control and pulmonary tuberculosis groups ($11.5 \pm 9.1\%$ vs. $17.9 \pm 13.4\%$). But the increased ratio showed no difference between both groups.

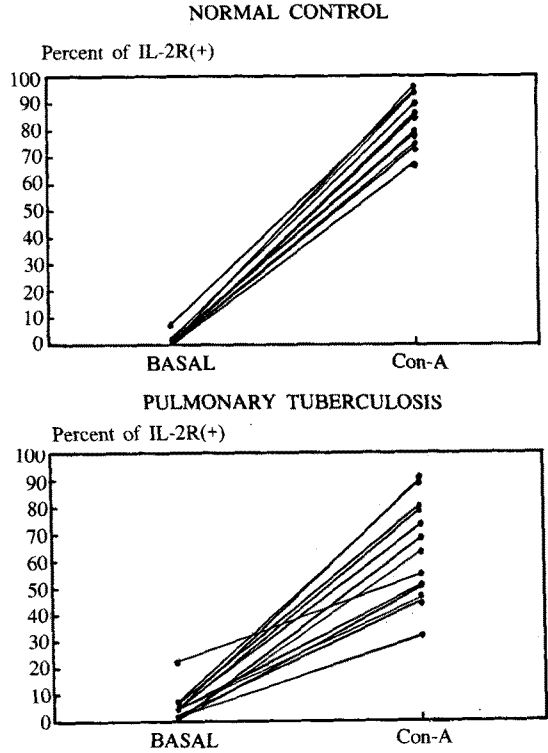


Fig. 5. Change of IL-2R expression of $\gamma\delta$ T cells after Con-A stimulation.

After stimulation with Con-A, the percentage of IL-2R(+) $\gamma\delta$ T cells showed significant increase in both healthy control and pulmonary tuberculosis group ($80.8 \pm 9.3\%$ vs. $57.6 \pm 20.2\%$). But the increased ratio of IL-2R(+) $\gamma\delta$ T cells was significantly higher in healthy control group than in pulmonary tuberculosis group ($p < 0.05$).

CD8 양성임이 밝혀져서 이중음성이 $\gamma\delta$ T 림프구의 표지는 아님이 밝혀졌다¹⁰⁾. 사람에서는 $\gamma\delta$ T 림프구는 흉선, 편도, 임파절, 그리고 비장등의 조직화된 임파선 장기와 장 또는 피부에 산재한 임파조직에 1~10%²⁾의 빈도로 균등하게 분포하고 있다. 반면에 mouse에서는 조

조직화된 임파선 조직(비장, 임파절, 흉선등)이나 말초혈액에는 낮은 비율(5% 이하)로 분포하지만 상피세포를 갖는 기관들, 즉, 피부, 소장, 그리고 생식기관(자궁, 질)등에 많이 존재하는 국소적 우세를 보여주고 있다. EBV³⁾,

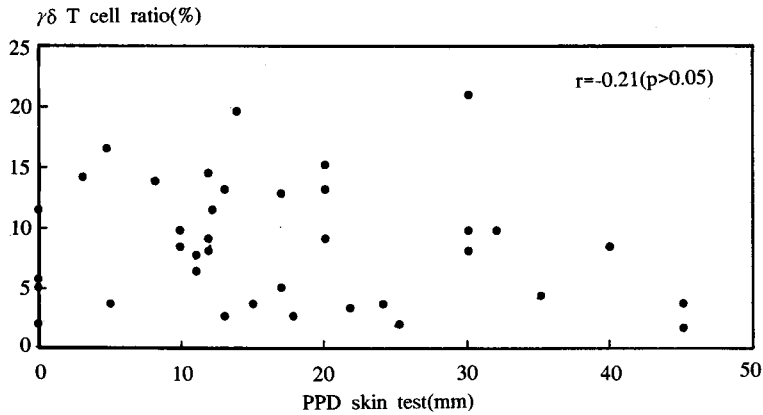


Fig. 6. PPD skin test and $\gamma\delta$ T cell ratio.

*P.fallciparum*¹¹⁾, *Listeria monocytogenes*, group A streptococci, 그리고 *Staphylococcus aureus* 등¹²⁾의 감염 시에도 숫적 증가와 함께 활성도도 증가함이 보고되었고, *Mycobacterium*의 항원에도 반응함이 보고되었다.

1. 폐결핵균과 건강대조군의 말초혈액에서 $\gamma\delta$ T 림프구의 분포

본 연구에서 $\gamma\delta$ T 림프구는 건강대조군의 말초혈액에서 $10.0 \pm 4.8\%$ (n=16), 폐결핵균의 말초혈액에서 $7.5 \pm 5.2\%$ (n=22)로 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 이 결과는 다른 논문들의 결과와도 일치하는 것으로, PPD 양성반응인 건강대조군, 결핵성 늑막염, 중증 폐결핵, 그리고 속립성 결핵 모두에서 말초혈액의 $\gamma\delta$ T 림프구의 비율에는 차이가 없었다(3~5%)¹³⁾. PPD비반응군인 건강대조군에서는 3~7%를 차지하였다¹⁴⁾. CD8 양성율은 각각, $31.4 \pm 10.1\%$ 와 $35.9 \pm 16.9\%$ 로 양군간에 차이가 없었으며, 다른 논문의 데이터와도 유사한 결과를 보여 주었다⁸⁾. 그러나 $\gamma\delta$ T 림프구 중 IL-2R 양성인 활성화된 형태는 건강대조군에서 $1.8 \pm 2.8\%$, 폐결핵군에서 $4.8 \pm 5.1\%$ 로 폐결핵군에서 유의하게 높아 있었다(p < 0.05).

그러나 이와는 대조적으로 *M.tuberculosis*로 감염된 국소병변에는 $\gamma\delta$ T 림프구가 증가됨을 보고한 많은 논문이 있는 데, *M.tuberculosis*로 immunize시킨 mouse의 draining 임파절에서 $\gamma\delta$ T 림프구의 비율이 증가되고 또한 활성도도 증가되어 있었다¹⁵⁾. 또한 결핵성 늑막염에서 늑막액의 $\gamma\delta$ T 림프구가 증가됨을 보고한 논문도

있었다¹⁶⁾. 또한 lepromin 피부반응 검사를 시행한 조직을 면역조직학적 검사를 이용하여 $\gamma\delta$ T 림프구가 전체 T 림프구의 25~30%를 차지하여 정상 조직에서 보다 5~8배 증가하여 있음을 보고하였다¹⁷⁾. 따라서 국소 병변부위에서 $\gamma\delta$ T 림프구의 분포를 알아보기 위한 연구가 더 필요하리라 생각된다.

말초혈액에서 PPD 비반응군($9.1 \pm 5.6\%$)과 PPD 반응군($8.3 \pm 5.1\%$) 사이에 $\gamma\delta$ T 림프구의 비율을 비교하였으나 유의한 차이는 없었다. 정상적인 항결핵 치료에도 반응하지 않았던 군을 난치성결핵으로 분류하여, 난치성 결핵(n=7)과 보통의 결핵군(n=15)을 비교하였으나 각각, 6.2 ± 4.5 , $8.0 \pm 5.5\%$ 로 유의한 차이는 없었다.

2. PPD자극후 말초혈액의 $\gamma\delta$ T 림프구의 변화

PPD 자극후 $\gamma\delta$ T 림프구의 비율은 폐결핵군에서는 기저치 비율의 $120.0 \pm 71.1\%$ 였으며, 건강대조군에서는 기저치 비율의 108.3% 로 모두 기저치보다는 증가하였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다. 활성화의 지표인 IL-2R의 양성률은 건강대조군과 폐결핵군에서 각각, $11.5 \pm 9.1\%$, $17.9 \pm 13.4\%$ 로 기저치에 비해서 의미있게 증가하였다. 그러나 증가의 폭은 양 군간에 유의한 차이는 없었다. 다른 논문에서 PPD자극에 대한 $\gamma\delta$ T 림프구의 반응은 다양하게 나타나고 있다. PPD 비반응군의 말초혈액의 $\gamma\delta$ T 림프구는 PPD에 반응을 보이지 않은 반면에¹⁴⁾, PPD 반응군의 말초혈액의 $\gamma\delta$ T 림프구는 PPD에 반응하여 $\gamma\delta$ T 림프구가 4%에서 16%로 증가하였다¹⁸⁾(본 연구에서는 건강대조군중 PPD 반응군과 PPD 비

반응군간에 유의한 차이는 없었다). 결핵성늑막염 환자를 대상으로한 다른 논문에서는 늑막액의 $\gamma\delta$ T 림프구는 PPD에 반응한 반면에 말초혈액의 $\gamma\delta$ T 림프구는 PPD에 반응을 보이지 않아서, 이는 PPD에 반응하는 $\gamma\delta$ T 림프구가 병변장소인 늑막강내로 이동(compartmentalization theory)하고 말초혈액의 T 림프구와 거대세포가 면역억제 작용을 하기 때문이라고 설명하였다¹⁹⁾. 또 다른 논문에서는 결핵양 나병환자를 대상으로 하였는데, lepromin 피부반응검사를 한 곳에서 뽑아낸 $\gamma\delta$ T 림프구는 PPD에 반응하였으며, 같은 환자의 말초혈액의 $\gamma\delta$ T 림프구도 PPD에 반응하였다¹⁷⁾. 이상과 데이터를 종합하여 보면, 대체로 국소 병변의 $\gamma\delta$ T 림프구는 PPD에 반응하지만, 말초혈액의 $\gamma\delta$ T 림프구는 다양한 반응을 나타내고 있다. 그러나 이런 PPD에 대한 반응과는 달리 M.tuberculosis를 직접 자극원으로 이용하였을 경우에는 거의 대부분의 논문에서 $\gamma\delta$ T 림프구가 반응함을 보여준다. 이에 우리는 H37Ra를 자극원으로 하여 실험을 시행하였다.

3. H37Ra 자극후 말초혈액의 $\gamma\delta$ T 림프구의 변화

PPD에 대한 일치하지 않는 반응 때문에 H37Ra lysate로 직접 자극하여 실험을 하였는데, 예수(n=8)가 적어서 충분한 데이터를 얻을 수 없었다. 건강대조군(n=3)에서는 $4.4 \pm 2.8\%$ 에서 $10.3 \pm 4.1\%$ 로, 폐결핵군(n=5)에서는 $6.9 \pm 4.1\%$ 에서 $6.8 \pm 5.0\%$ 로 변하여 오히려 건강대조군에서 더 H37Ra lysate에 반응한 것처럼 나왔는데, 예수가 적어서 통계적으로 유의하지는 않았다. heat-killed M.tuberculosis를 이용하여 PPD반응군, 결핵성늑막염군, 중증 폐결핵군, 그리고 속립성 결핵군을 대상으로 한 다른 논문에서는 기저상태에서 말초혈액의 $\gamma\delta$ T 림프구는 3~5%를 차지하였으나, M.tuberculosis로 자극후 각각, $25 \pm 4\%$, $30 \pm 7\%$, $9 \pm 3\%$, 그리고 $2 \pm 1\%$ 로 변하여 면역기능이 떨어진 중증 폐결핵과 속립성 결핵을 제외하고는 모두 증가된 양상을 보여주었다¹³⁾. PPD 비반응군을 대상으로 killed M.tuberculosis를 자극원으로 한 다른 실험에서도 말초혈액의 $\gamma\delta$ T 림프구는 1~7%에서 25~50%로 증가하였다¹⁴⁾. 이렇게 M.tuberculosis에는 일관되게(M.tuberculosis의 자극에 반응하여 $\gamma\delta$ T 림프구의 비율이 증가) 반응하는 양상을

보이면서도 PPD에는 다양한 반응을 보이므로, 여러 연구에서 M.tuberculosis의 어떤 부분이 과연 $\gamma\delta$ T 림프구에 자극을 하는지(항원성을 나타내는지) 알아보았다.

Pfeffer K등²⁰⁾은 자외선으로 살균한 Mycobacterial lysate를 이용하여 실험하였는데, $\alpha\beta$ T 림프구는 주로 Mycobacterial lysate의 30kD이상의 부분에 반응하였고 $\gamma\delta$ T 림프구는 3kD이하의 부분에 주로 반응하였다. 또한 Mycobacterial lysate를 protease로 처리한 후 자극을 하였을 때, $\alpha\beta$ T 림프구는 자극이 되지 않은 반면에 $\gamma\delta$ T 림프구의 자극에는 전혀 영향을 미치지 않았다. 또한 이 실험에서 아주 극소수의 $\gamma\delta$ T 림프구만이 HSP65에 반응하였다. 따라서 대다수의 $\gamma\delta$ T 림프구는 peptide가 아닌 carbohydrate나 glycolipid에 반응할지도 모른다.

4. Con-A 자극후 말초혈액의 $\gamma\delta$ T 림프구의 변화

Con-A는 비특이적 유사분열 자극물질이다. 폐결핵군에서는 기저치의 비율에 비하여 유의한 차이는 없었다. 같은 비특이적 유사분열 자극물질인 PHA로 자극한 Kabelitz D등¹⁴⁾의 예에서도 $\gamma\delta$ T 림프구의 비율의 변화는 없었다. 그러나 자극 후 말초혈액의 $\gamma\delta$ T 림프구중 IL-2R양성율의 비율의 증가는 건강대조군에서 $80.8 \pm 9.3\%$, 폐결핵군에서 $57.6 \pm 20.2\%$ 로 건강대조군에서 유의하게 높았는데, 아마도 폐결핵군의 말초혈액에 있는 $\gamma\delta$ T 림프구는 M.tuberculosis에 특이적인 반응을 하는 세포들만이 많이 증가되어 있는 반면에 건강대조군에서는 Con-A에 비특이적으로 반응하는 $\gamma\delta$ T 림프구가 많기 때문으로 생각된다.

요 약

연구배경: $\gamma\delta$ T 림프구가 새로 발견된 이후 아직 명확한 기능이 밝혀지지 않았지만, M.tuberculosis의 HSP65에 반응함이 보고되었다. 아직도 결핵의 유행률이 높은 현실을 감안하여 폐결핵환자를 대상으로 하여 본 연구를 시행하였다.

방법: 16예의 건강대조군과 22예의 폐결핵군에서 말초혈액을 채취하여 PPD, Con-A, 그리고 H37Ra lysate로 자극하였으며, 자극전후의 $\gamma\delta$ T 림프구의 비율과 활성도를 유세포계측을 이용하여 측정하였다.

결과:

1) 건강대조군의 말초혈액의 총 T 림프구 중에서 $\gamma\delta$ T 림프구의 비율은 $10.0 \pm 4.8\%$ 이었고, 폐결핵군에서는 $7.5 \pm 5.2\%$ 로 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

2) PPD, Con-A, 그리고 H37Ra lysate로 자극한 후에도 $\gamma\delta$ T 림프구의 비율은 유의한 변화가 없었다.

3) $\gamma\delta$ T 림프구 중에서 IL-2R(+)인 비율은 건강대조군에서 $1.8 \pm 2.8\%$, 그리고 폐결핵군에서는 4.8%로 폐결핵군에서 유의하게 높았다.

4) PPD 또는 Con-A로 자극후 양군 모두에서 IL-2R(+)의 비율은 통계적으로 유의하게 증가되었다.

5) PPD 피부반응검사와 말초혈액의 $\gamma\delta$ T 림프구의 비율간에는 유의한 상관관계가 없었다.

결론: 본 연구에서는 폐결핵환자의 말초혈액에서 $\gamma\delta$ T 림프구의 역할을 규명할 수 없었다. 국소병변에서의 $\gamma\delta$ T 림프구에 대한 연구가 더 필요하리라 생각된다.

REFERENCES

- 1) 홍영표 제 6차 한국 결핵 실태조사 결과. 1990
- 2) Groh V, Porcelli S, Fabbi M, Lanier LL, Picker LJ, Warnke RA, Bhan AK, Strominger JL, Brenner MB: Human lymphocytes bearing T cell receptor γ/δ are phenotypically diverse and evenly distributed throughout the lymphoid system. *J Exp Med* **169**:1277, 1989
- 3) Paoli PD, Gennari D, Martelli P, Cavarzerani V, Comoretto R, Santini G: $\gamma\delta$ T cell receptor-bearing lymphocytes during EBV infection. *J Infect Dis* **161**:1013, 1990
- 4) Brenner MB, McLean J, Dialynas DP, Strominger JL: Identification of a putative second T-cell receptor. *Nature* **322**:145, 1986
- 5) Born W, Happ MP, Dallas A, Reardon C: Recognition of heat shock proteins and $\gamma\delta$ cell function. *Immunology Today* **11**:1990
- 6) Gulle H, Schoel B, Kaufmann SH: Direct blotting with viable cells of protein mixtures separated by two-dimensional gel electrophoresis. *J Immunol Methods* **133**:253, 1990
- 7) Emmrich F, Thole J, Embden J, Kaufmann SH: A recombinant 64 kilodalton protein of *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guerin specifically stimulates human T4 clones reactive to Mycobacterial antigens. *J Exp Med* **163**: 1024, 1986
- 8) Raulet DH: The structure, function, and molecular genetics of the $\gamma\delta$ T cell receptor. *Annu Rev Immunol* **7**:175, 1989
- 9) Brenner MB, J McLean, H Scheft, J Riberdy, SL Ang, JG Seidman P Delvin MS Krangel: Two forms of the T-cell receptor γ protein found on peripheral blood cytotoxic T lymphocytes. *Nature* **325**:689, 1987
- 10) Bucy RP, Chen CH, Cooper MD: Tissue localization and CD8 accessory molecule expression of T $\gamma\delta$ cells in humans. *J Immunol* **142**:3045, 1989
- 11) Roussilhon C, Agrapar M, Ballet JJ, Bensussan A: T lymphocytes bearing the $\gamma\delta$ T cell receptor in patients with acute *Plasmodium falciparum* Malaria. *J Infect Dis* **162**:283, 1990
- 12) Munk ME, Gatrill AJ, Kaufmann SH: Target cell lysis and IL-2 secretion by $\gamma\delta$ T lymphocytes after activation with bacteria. *The J Immunol* **145**: 2434, 1990
- 13) Barnes P, Grisso P, Modlin R: Correlation of the $\gamma\delta$ T cell response with clinical manifestations of tuberculous infection.
- 14) Kabelitz D, Bender A, Schondelmaier S, Schoel B, Kaufmann SH: A large fraction of human peripheral blood γ/δ + T cells is activated by *Mycobacterium tuberculosis* but not by its 65-kD heat shock protein. *J Exp Med* **171**:667, 1990
- 15) Janis EM, Kaufmann SH, Schwartz RH, Pardoll DM: Activaton of $\gamma\delta$ T cells in the primary immune response to *Mycobacterium tuberculosis*. *Science* **244**:713, 1989
- 16) Okubo Y, Kusamas, Yano A: PPD-specific proliferative respense in humans. *Microbiol Immunol* **26**:511, 1982
- 17) Modlin RL, Pirmez C, Hofman FM, Torigian V,

- Uyemura K, Rea TH, Bloom BR, Brenner MB: Lymphocytes bearing antigen-specific $\gamma\delta$ T-cell receptors accumulate in human infectious disease lesions. *Nature* **339**:544, 1989
- 18) Haregewoin A, Soman G, Hom RC, Finberg RW: Human $\gamma\delta^+$ T cells respond to mycobacterial heat-shock protein. *Nature* **340**:309, 1989
- 19) Tsuyuguchi I: Clinical immunology of tuberculosis. *Kekkaku* **65**:591, 1990
- 20) Pfeffer K, Schoel B, Gulle H, Kaufmann SH, Wagner H: Primary responses of human T cells to mycobacteria: a frequent set of $\gamma\delta$ T cells are stimulated by protease-resistant ligands. *Eur J Immunol* **20**:1175, 1990