

결핵세균학 및 결핵균 검사

—편 집 부—

6. 병원성

병을 일으키는 균의 능력을 병원성이라 하고 숙주의 감수성과 침범하는 균의 침습력에 의존한다.

결핵균과 나균은 생존을 전적으로 숙주에 의존하는 절대병원균인 반면에 일상적으로 무해한 부생균으로 살아 가다가 인체기생이 허용되는 상황에서 병원균이 되는 기회감염 mycobacteria도 많이 있다.

결핵균의 병원성은 다른 병원균들처럼 내·외독소를 생산하므로써 나타나는 것이 아니라 균의 숙주의 방어기전을 이겨내고 조직내에서 증식할 수 있는 능력과 숙주의 면역반응에 의해 발현된다.

발병력(독력)은 병원성의 정략적 척도로서 숙주 종류에 따라서도 다양하지만 균주에 따라서도 다르다.

발병력이 높은 균주와 낮은 균주를 흰 쥐 복강내에 동시에 접종하면 둘다 신속히 다형핵백혈구에 의해 탐식되지만 몇 시간 지난 다음에는 강독균만이 식균 세포에 유독해 세포밖으로 방출되는 것을

볼 수 있다.

결핵균은 비말핵에 의해 전파되며 흡입된 소수의 균이 폐포표면에 부착되면 폐포대식구에 의해 탐식되어 그 속에서 증식하기 시작한다. 최근 균의 기주세포(대식구)내 침범과 관련된 유전자가 동정되므로써 그 기전이 밝혀질 것으로 기대한다.

감염후 숙주내에 정상 면역력을 가진 개체이면 활성화된 T림프구와 대식구가 주축이 되는 특히 세포계재면역이 발현된다.

그 결과 tuberculin양성이 되고 균이 증식하고 있는 폐조직이 반고형의 괴사, 즉 건락괴사가 일어나 그 속의 균들이 대식구로부터 유리된다.

건락병변내의 조직으로부터 나온 독성물질과 낮은 산소분압이 균증식에 적합치 않아 균수가 신속히 감소하기 시작한다. AIDS환자처럼 세포계재면역이 손상된 개체에서는 균이 대식구내에서 증식을 계속한다.

정상개체에서는 반고형의 건락병변이 연화되어 액화하면 기관지로 배출되어서

파괴된 폐부위에 공동이 형성된다. 그 결과 산소분압이 올라가고 균증식에 좋은 조건이 마련되어 군수가 늘어나고 공동으로부터 다른 부위로 퍼져나간 균은 새로운 건락병변을 형성한다.

이런 일련의 과정에서 균의 환경이 변해 병변내 세가지 성상의 다른 균균이 관찰된다.

첫째 균균은 공동벽의 내면을 덮고 있는 액화건락괴사의 얇은 막에서 중성 pH아래 활발히 증식하는 균으로 항결핵제에 잘 반응한다. 그러나 군수가 많아서 (10^8) 단독 요법을 실시하면 출현 할 수 있는 내성균이 들어있다.

둘째 균균은 대식구내에 있는 균과 최근에 형성된 산성 pH의 건락괴사 부위에 있는 균으로 잘 증식할 수 없어 군수가 적다 (10^6). 균의 대사는 진행되고 있기 때문에 세포내로 침투 할 수 있는 항결핵제와 산성하에서 작용력이 있는 항결핵제에 대해서는 잘 반응한다. 군수가 적어 내성균은 없다.

셋째로는 건락괴사내에 있는 균으로 대사활성이 매우 좋지 않은 환경에 있는 균으로 군수는 적고 국소적 환경이 호전되면 간헐적으로 증식한다. 군수가 적어 내성균은 없지만 대사가 활발하지 못해 항결핵제에 대해 잘 반응하지 않고 충분한 치료후에도 잔존하는 경향이 있다.

철분이 결핵균의 발육에도 필수적이라 그 양이 매우 적은 숙주체내에서 숙주의 iron chelator와 결합하여 얻는 능력도 병원성 결정인자의 하나로 볼 수 있다. 결핵균은 exochelin을 분비하여 철분

을 결합시킨 다음 세포벽에 있는 mycobactin으로 전해 세포내로 수송하여 필요한 철분을 얻는다.

7. Phage형

Mycobacteria를 침범하는 mycobacteriophage가 알려진 것은 1947년이지만 결핵균에 감염되는 phage는 1954년에 알려졌다.

모양을 보면 대개 작은 20면체두를 가지고 있고 음영색 전자현미경사진에서 6각형 머리와 짧은 꼬리부위를 볼 수 있다. 균종과 균주에 따라서 특정 phage에 대한 감수성이 달라서 phage형 분류에 이용되고 있다.

결핵균의 phage형 분류는 Baess가 처음 시도했고 현재 12종의 phage(MTPH = mycobacterial typing phages. human)가 그러한 목적에 이용되고 있다.

MTPH 2, 3, 4 및 5로 결핵균을 8가지 주요 phage형으로 분류하고 있다. 한국인 환자로부터 분리되는 균주들은 85.5%가 1형이고, 2형은 6.5%, 8형이 4.0%, 7형이 2.4%, 5형이 0.8%이다.

8. 분자유전학

최근 분자유전학의 발달로 결핵균의 DNA도서실이 구축되므로써 생물학적 의미가 있는 많은 항원 유전자가 cloning 되어 DNA염기서열 및 amino산 배열이 밝혀지고 있다.

결핵균도 다른 세균류들과 마찬가지로

로 하나의 환상 염색체 DNA (2.5×10^6 D)를 가지고 있으며 guanine/cytosine의 함량이 66.1~71.4%로 다른 세균들 보다 높은 편이다. 일부 mycobacteria에서는 plasmid가 발견되지만 결핵균에서는 아직 검출된 바 없다.

현재 활발히 진행되고 있는 결핵균 유전자 cloning을 통해서 heat shock protein 유전자와 ribosomal RNA 유전자를 비롯한 많은 항원유전자들의 염기서열이 밝혀지고 있다.

흥미롭게도 결핵균을 비롯한 자연발육 mycobacteria의 RNA 유전자는 하나인데 비해 신속발육 mycobacteria는 두 개를 가지고 있고 대장균은 7개를 가지고 있어서 결핵균의 느린 발육이 이 때문이 아닌가 보고 있다.

그리고 결핵균 염색체 DNA에는 균종 특이의 동일한 DNA 절편이 여러개로 존재하는 것이 밝혀져 있다. 그 중 일부는 insertion sequence로 알려진 mobile genetic element와 유사한데 예로 IS6110은 대장균의 IS3411과 매우 흡사하다.

그러한 IS element는 불규칙하게 삽입되어 있어서 적절한 제한효소로 균염색체 DNA를 절단했을 때 DNA 절편의 수와 크기가 다양하게 나타나 결핵균 균주들을 나눌 수 있는 유용한 방법(RFLP)으로 결핵감염의 역학적 연구에 이용되고 있다.

한국인 결핵환자로부터 분리되는 결핵균의 RFLP양상은 Europe 균주들과 다르며 결핵감염위험이 높은 지역과 흡사하다는 사실이 밝혀진 바 있다.

염기서열이 밝혀진 DNA 가운데서 균종 특히 DNA염기서열에 기초하여 합성한 oligonucleotide primers를 이용하여 병리검체내 균 DNA 또는 RNA를 template로 표적DNA 또는 RNA를 증합효소 연쇄반응(PCR)으로 합성하므로써 극소수의 균을 신속하고 특이하게 검출할 수 있는 방법이 개발되어 이용되고 있다.

특히 균염색체 DNA에 여러개로 존재하는 균종특이의 IS6110과 IS1081이 표적DNA로 널리 이용되고 있다. 그리고 rRNA는 균 1개에 약 10,000개가 있으므로 균종 특히 염기배열에 기초하여 합성한 표지 DNA로 균종 동정 및 검출에 이용하고 있다.

M. *smegmatis*에서는 접합과 형질도입에 의한 DNA전이가 증명된 바 있지만 결핵균에서는 그런 아니라 형질전환도 관찰된 바 없다.

그리고 M. *smegmatis*로부터 plasmid와 대장균으로부터 유래한 transposon 및 plasmid를 이용하여 필요한 부위들만 취해 합성한 매체를 개발하여 유용한 유전자를 찾거나 새로운 vaccine 개발에 이용하고 있다.

9. 결핵 화학요법의 세균학적 견지

결핵을 성공적으로 치료하려면 내성균 출현에 의한 치료실패를 막고, 치료종결후 잔존균에 의한 재발을 막아야 한다. 환자, 결핵균, 항결핵제의 상호작용을 올바르게 이해하고 탐구하려면 다음의 사항들이 고려되어야 한다.

첫째는 항균제의 약리학적 성상으로 흡수, 대사, 배설, 분포(확산)뿐 아니라 시험관내 및 병변내 항균력과 환자에 대한 독성을 고려한 용량과 투여주기 등에 관한 것이다.

둘째로는 약제내성균 출현빈도로 무슨 약이던 단독으로 쓰면 생기므로 반드시 2제이상 병합요법을 실시해야 한다. 일반적으로 살균력이 강한 약일수록 단독요법시 내성변이균의 선택적 증식에 의한 내성이 더 잘 출현한다.

셋째는 병변내 균을 사멸하는 속도와 소수 잔존균을 제거하는 멸균력이다.

(1) 병변내 균의 성장

항균제란 균의 대사를 방해하여 증식을 정지시키거나 사멸하는 화합물이므로 균의 대사활동과 위치에 따라 항균력이 크게 영향을 받게 된다.

대체로 병변이 삼출성 전단계에서 건락화 초기에 이를 때 까지는 균수가 증가하고 많은 균들이 식세포(대식구)내에 있다.

허파에 광범위하게 퍼져 형성된 건락 병변내에서는 균수가 급격히 감소하는데 이는 염증세포나 대식구에 의해 일어나는 현상이 아니다. 그런 세포들은 건락 피사가 일어나는 동안에 다 파괴되어 제대로 역할하지 못한다.

건락병변이 피막으로 쌓이면 대개 치유되지만 그렇지 않고 연화되어 균증식과 함께 공동을 형성하기도 한다. 공동 내면측 가까이 있는 공동벽 부위에는 산소공급이 잘 되어 균수가 많지만 바깥쪽

으로 염증세포와 collagen 피막이 있는 부위에는 균수가 적다. 이처럼 다양한 진행과정에 있는 병변내 균들의 대사활동은 다양할 수밖에 없다.

Mitchison은 공동성 병변내 균들을 활발한 대사로 왕성하게 증식하는 많은 수의 균균, 소수이지만 휴면상태에 있는 균균, 가끔 또는 서서히 증식하는 일부 균균들이 있을 것으로 추정하고 이들에 대한 항균작용이 약제에 따라 다르다고 보고 있다.

건락병변이나 폐외 병변에는 대체로 균수가 적고 PZA처럼 산성하에서만 항균력이 있는 약제에 듣는 균이 있을 것으로 보고 있다.

건락병변은 pH가 중성이므로 아마 균수가 증가하는 삼출성 병변이 건락병변으로 이행되는 초기, 즉 균수가 급격히 감소하는 시기가 산성이 아닐까 추측하지만 증명된 바 없다.

대식구내 결핵균이 든 식포가 산성일 것으로 추측했으나 그렇지 않음이 증명된 바 있다.

그래서 아마 균의 pyrazinamidase에 의해 생긴 NH₃는 확산되어 나가고 pyrazinoic acid가 균주위에 축적되어 산성화 되지 않겠나 추측도 하지만 증명되지 않았다.

결국 잘 증식하는 균들을 없애야 증상도 호전되고, 전염성도 소실되며, 내성균 출현도 막을 수 있고 서서히 증식하는 균들도 빨리 없애야 재발을 막아 치료기간을 단축할 수 있다. (계속) †