

결핵과 BCG

조 상 현
결핵연구원

Mycobacteria의 일반적 특징

Mycobacteria에 속하는 세균들은 호기성이며 운동성이 없고 막대 모양(0.2~0.6×1.0~10.0 μm)으로, 세포벽에는 다량의 지질층이 있어서, Gram 염색법으로는 쉽게 염색되지 않고 항산성 염색에 의해 관찰되며(18), 일부 균종은 사람이나 동물에 감염성이 있다. *Mycobacterium ulcerans*를 제외한 다른 병원성 mycobacteria는 편성 세포내 기생체(facultative intracellular parasite)이며, 사람이나 동물의 대식세포(macrophage)에 침입하여 그 곳에서 증식한다(48). Mycobacteria는 일반적으로 두터운 지방성 세포벽을 갖고 있어서 Sauton 배지에서 배양할 경우 배양액 표면에서 증식하며(76), 일반적인 항생물질에 대해서 저항성을 갖고, 건조, 알칼리, 화학적 소독제에 비교적 견디는 능력이 강하다. 이와 같은 성질은 세포벽의 특이한 구조와 이에 따르는 낮은 투과성에 관련이 있는 것으로 생각된다(14). Mycobacteria는 chemotype IV 세포벽이라는 독특한 구조를 가지고 있어서 peptidoglycan층에 meso-diamino pimelic acid를 부가적으로 함유하며, muramic acid는 다른 세균들에서 발견되는 N-acetylation 대신 N-glycosylation되어 있다. 이 glycol group은 수소결합의 기회를 증가시켜서 peptidoglycan구조를 더욱 강화하는 기능을 하게 된다.

다른 중요한 특징으로는 다당류로서 arabinogalactan의 존재이다. 이것에는 70 - 90 개의 탄소 사슬 구조를 가지는 mycolic acid가 공유 결합되어 있다. 공유 결합되어 있지 않는 지질로는 trehalose-based lipopolysaccharide와 lipoarabinomannan이 확인되었다(48). Mycobacteria의 배양 시간은 매우 긴 편으로 *Escherichia coli*의 세대 시간이 평균 20 분인 반면에 BCG의 경우 24 시간 정도이다. 이렇게 세대 시간이 긴 이유로는 대사 속도가 *Escherichia coli*의 20%에 불과하고 한 개의 rRNA operon만을 가지고 있기 때문이나, 결핵균의 경우 *in vivo*상에서 다양한 세대 시간을 보이는 것으로 보아 균 자체의 병원성, 특정 기관내에서의 저해작용 등에 의해 결정되며 특히 폐나 비장에서의 증식이 다른 기관보다 상대적으로 활발하게 이루어짐을 알 수 있다. DNA의 염기조성은 G+C함량이 62-70%로 높은 편에 속한다. 유전학적 측면에서 mycobacteria의 연구가 상대적으로 다른 균종의 연구에 비해 늦은 것은 위와 같은 이유 외에도 돌연변이주나 영양요구주의 선별이 어려우며, 플라스미드의 발견

이 최근에서야 이루어질 정도로 드물고(81,82), 적당한 선택성 표지 또한 찾기가 쉽지 않았기 때문이다(95).

Mycobacteria의 기원

대부분의 mycobacteria는 유기물 분해와 질소고정능으로 주로 토양과 물에서 살 수 있지만, 일부 종들이 몇몇 동물과 사람에게 감염성을 띄게 되면서 인류의 역사에 등장하기 시작했다. 고대 힌두경전에서 tuberculosis는 *Rogaraj*(질병의 왕)라고 언급이 되고 있으며, 나병과 함께 대단히 두려운 존재로 알려지고 있었다. *Mycobacterium*이라는 속명도 진균성 세균이라는 뜻을 가지고 있으며, 이는 액체 배양시 특징적으로 나타나는 균집락 형태가 진균과 유사하다는데 관련이 있다. *Mycobacterium bovis*와 *Mycobacterium tuberculosis*는 서로 다른 동물에 감염하고, 생화학, 생리학적 검사로 쉽게 구별되지만, 둘다 *Mycobacterium tuberculosis* complex에 속하며, 매우 높은 DNA 상동성(6)과 면역학적 특징(104)으로 보아, 종으로 구별되기보다는 아종으로 인식된다. 또한 유전적 근연성으로 보아 인류가 가축을 기르기 시작한 기원전 8,000 - 4,000 년전 사이에 *M. bovis*에서 *M. tuberculosis*로 진화한 것으로 가정된다(109). 물론 명확한 진화적 관계가 밝혀지진 않았으나 생물학적 환경과 역사적 근거가 이러한 관점을 지지하고 있다. 특히 *M. tuberculosis*가 *M. bovis*보다 진화했다는 이유로서 *M. bovis*가 보다 숙주 범위가 넓지만 사람을 숙주로 하지 않는 데 비해, *M. tuberculosis*는 인간에 1차적으로 감염되고, 서로 감염경로와 임상패턴이 다르다는 것이다. 구체적으로는 미세 호기성인 *M. bovis*가 비폐결핵성 질환에 관련된 것에 비해 호기성인 *M. tuberculosis*는 호흡기질환에 관계되어 있다.

집단 정착생활을 시작한 신석기 시대에 목축과 우유섭취로 인간에게 *M. bovis*의 감염이 시작되었다(41). C¹⁴-연대측정 분석에 의하면, 기원전 4,000 년경에 유럽, 아시아, 아프리카로 목축이 확대되었으며 더불어 척수결핵(Pott's disease)의 흔적이 발견되고 있다(92). *M. bovis*의 감염으로 인한 척수결핵은 혈액이나 림프액에 의해 침투되어 일어나는데, 이러한 골 조직의 붕괴는 주로 척추 인측과 추간판에서 일어나며 척추의 흉요추 부분의 손상을 야기한다. 신석기 시대에서 발견된 많은 유골들이 척수결핵으로 추정되지만, 증명된 병인이 없으며, actinomycosis,

coccidioidomycosis, rheumatoid arthritis 등과 구별하기 어려운 점, 또한 매장 후 감염될 수도 있는 가능성 때문에 단순하게 항산성 균의 존재가 결핵에 의한 감염이었음을 입증하지는 못한다. 그러나 많은 경우에 있어서 결핵 감염시에 나타나는 특징적인 부위의 발견은 진단에 많은 도움을 줄 수 있다(9). 초기 결핵성 유골들은 기원전 4,000 - 1,000년경에 주로 Italy, France, Denmark, Jordan, Egypt 등에서 발견되고 있다. 이중에서도 기후적 특성과 보존기법이 발달한 이집트인의 유골이 많이 조사되었는데, 척수결핵으로 추정되는 특징적인 척추 후만증을 볼 수 있는 유사한 유골들이 많이 발견되었다(72). 이러한 연구결과는 첫째로, 기원전 1,000년경의 수천의 이집트 미이라로부터 폐결핵의 직접적인 증거는 발견되지 않았으며, 둘째, 기원전 1660년경에 쓰여진 파피루스 의학서에서도 폐결핵으로 인식될만한 어떤 증상에 대해서도 언급하고 있지 않다는 것이다(90). 이와 유사한 점은 기원전 1,000년경의 구약성서에서도 언급하지 않았고, 초기 헤브류인들에게 아예 "기침"이란 단어조차 없었다. 결국 당시 뛰어난 의술을 자랑하던 이집트인에 있어서 흉부, 특히 결핵은 그다지 중요한 문제가 아니었던 것 같다. 하지만 결핵의 진단은 객담, 객혈, 결핵균의 존재에 기초하므로 존재의 증거를 현재에 찾지 못한다고 해서 실제로 없었다는 증거는 되지 않는다(86).

기원전 500 년경에는 그리스로부터 인도까지 폐결핵에 대한 인식이 확산되어 의학서적에서 언급되었다. 앗시리아왕의 도서관에서 발견된 점토판 기록이 그것인데, 여기에서는 환자의 질은 가래, 혈담, 찬 피부, 발한, 숨소리의 변화 등에 대해 기재하고 있다. 힌두교에서는 이 병을 *soccha*(cough), 또는 *rajayakshma*(wasting)이라 불렀고, 그리스에서는 *phthisis*(to waste)로 로마시대에서는 *tabes*(=phthisis), 영어권 시대에서야 친숙한 결핵(consumption)이라고 되었다. 이 병에 걸린 환자를 기재할 때의 특징으로서는 한결같이 기침, 객담, 혈담, 체중감소 등이다. Hipocrates(B.C. 460-400)는 이병의 일반적 특징으로서 쇠약, 육체피로, 불의 흉조 등으로 적고 있다(86).

*M. bovis*의 경우 *M. tuberculosis*로의 돌연변이가 이미 *M. bovis*와 많이 접촉하여 저항성이 생긴 집단으로의 감염을 보다 쉽게 할 수 있었을 것이다. 이러한 자연도태압으로 인해 우유를 섭취하는 Indo-European 사람들에게서 *M. tuberculosis*가 진화되어 나왔을 것이라고 가정할 수 있다. 이러한 가정에 대해 고대 Indo-European의 후손들은 결핵에 대한 감수성이 다른 민족과 다르게 나타날 것이라는 것이다. 실제로 유당분해능이 있는 Indo-European 후손들은 그렇지 않은 민족에 비해 결핵에 보다 내성이 있다. 그 이유로는 Indo-European 후손들이 우유를 섭취하면서 유당분해 유전자를 갖게 되었고, 아프리카 고지대의 hemoglobin-S heterozygotes가 말라리아에 저항성을 획득한 것처럼, 유당분해 유전자가 결핵에 대한 보호역할에 관련이 있다는 것이다(93). 게다가 Indo-European 후손의 *M. bovis*와 *M. tuberculosis*에 대한 면역성은 감염된 우유의 섭취로부터 유래함을 알

수 있고, 최근의 연구에 의하면 유아기의 *M. bovis* 감염에 의한 면역성 획득은 성인의 *M. tuberculosis*에 대한 오랜 면역현상을 설명할 수 있다. 초기 Eurasian들에 있어서 기원전 1,000년경에 상대적으로 적은 척수결핵을 가졌던 이유로는 시대적으로 중요한 보건문제가 아니었고, 종교적 의식 외에는 가축의 부산물에 그다지 접촉하지 않았기 때문이다. 또 다른 한가지는 위와 같은 이유로 유전적으로 그 후손들은 높은 유당 흡수장애율을 보이고 있다. 유당 흡수장애와 결핵발병과는 매우 높은 관계가 있다(91). 또한 1988년 일본의 결핵발병률은 비슷한 규모의 보건의료비용을 지출하는 유럽공동체에 비해 4 배나 되는데, 일본의 유당 흡수장애율은 유럽의 11%에 비해 100%이다. 유당 흡수장애와 결핵발병과의 또 다른 증거는 뉴욕시 부랑자의 결핵 감염조사에서도 알 수 있다(62). 흑인의 44.9%, 히스패닉의 39.5%, 백인의 30.4%가 결핵으로 발병되었음은, 유당 흡수장애율이 흑인 75%, 히스패닉 52%, 백인 11%의 통계와 잘 부합된다. 요약하자면 *M. bovis*로부터 *M. tuberculosis*가 우유를 섭취해 온 Indo-European 사이에서 진화되어, 서유럽과 유라시아로의 이주를 통해 전파된 것으로 생각된다. 그 후 대규모의 도시가 발달하면서 인구이동, 상업교류로 인해 결핵은 빠르게 확산되었음을, 기원전 400년경의 *Veda*와 기원전 200년경의 중국의 의학서인 황제내경에서 결핵에 대한 언급이 있는 것으로 보아도 알 수 있다. 기원전 800 - 200년경에 번성했던 페루의 나즈카 유적에서 발견된 소년의 유골에서 척수결핵의 흔적이 확인되었으며, 또한 기원전 1,000년경의 유골에서 polymerase chain reaction(PCR)으로 tuberculosis complex의 존재가 확인되었다. 30,000년전에 연결된 베링해를 통해 북아메리카의 조상들이 유입되었지만 이때는 목축이 이루어지고 있지 않아서 결핵이 없었을 것이다.

Mycobacteria의 분류

1898년에 Theobald는 Koch가 1882년에 분리, 명명한 tubercle bacilli를 인형, 우형 결핵균으로 분리하고, 1946년에 Wells에 의해 서형 결핵균이 추가되었다. 이 3가지 결핵균종은 각각 *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *Mycobacterium microti*로 명명되었다. Table. 1에서 볼 수 있는 바와 같이 *Mycobacterium*은 크게 두 가지로 나눌 수 있는데, 지연발육형과, 신속발육형이 그것이다.

이 속은 41개의 종으로 분류되며(94), 그 후에도 계속적으로 균종정이 이루어지고 있다. 임상적 측면에서는 감염성 여부로 분류하여 obligate pathogen으로 *M. tuberculosis*와 *Mycobacterium leprae*를, 기회 감염원으로 일부 균종과, 전혀 감염성이 없거나 희박한 균종으로 나누기도 하는데, 이 중에서 특히 기회 감염원인 균종을 atypical 혹은 mycobacteria other than tuberculosis(MOTT)라고 한다.

이중에서 결핵을 일으키는 균종을 결핵균군(*Mycobacterium tuberculosis* complex)이라고 하며, 특히 사람에게 감염되는 결핵

Table 1. The Species of Mycobacteria

| | | | |
|---|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 1. <i>M. tuberculosis</i> complex | | | |
| <i>M. tuberculosis</i> | <i>M. bovis</i> | <i>M. africanum</i> | <i>M. microti</i> |
| 2. <i>M. avium</i> complex(MAC) and related species | | | |
| <i>M. avium</i> | <i>M. intracellulare</i> | <i>M. lepraemurinum</i> | <i>M. paratuberculosis</i> |
| <i>M. sylvaticum</i> | | | |
| 3. Slowly growing photochromogens | | | |
| <i>M. asiaticum</i> | <i>M. kansasii</i> | <i>M. marinum</i> | <i>M. simiae</i> |
| 4. Slowly growing scotochromogens | | | |
| <i>M. gordonae</i> | <i>M. scrofulaceum</i> | <i>M. szulgai</i> | |
| 5. Slowly growing non-chromogens | | | |
| <i>M. branderi</i> | <i>M. chelonae</i> | <i>M. gastri</i> | <i>M. hemophilum</i> |
| <i>M. farcinogenes</i> | <i>M. malmoense</i> | <i>M. nonchromogenicum</i> | <i>M. shimodei</i> |
| <i>M. shinshuense</i> | <i>M. triviale</i> | <i>M. terrae</i> | <i>M. ulcerance</i> |
| <i>M. xenopi</i> | | | |
| 6. Rapid growers | | | |
| <i>M. aichense</i> | <i>M. agri</i> | <i>M. aurum</i> | <i>M. austroafricanum</i> |
| <i>M. chelonae</i> | <i>M. chitae</i> | <i>M. chubuense</i> | <i>M. diernhoferi</i> |
| <i>M. duvalii</i> | <i>M. fallax</i> | <i>M. flavescens</i> | <i>M. fortuitum</i> |
| <i>M. gadium</i> | <i>M. gilvum</i> | <i>M. komossense</i> | <i>M. neoaurum</i> |
| <i>M. pulveris</i> | <i>M. parafortuitum</i> | <i>M. phlei</i> | <i>M. porcium</i> |
| <i>M. obuense</i> | <i>M. rhodesiae</i> | <i>M. senegalense</i> | <i>M. smegmatis</i> |
| <i>M. sphagni</i> | <i>M. thermoresistibile</i> | <i>M. tokaiense</i> | <i>M. vaccae</i> |
| 7. Non-cultivable or very poorly growing species | | | |
| <i>M. leprae</i> | <i>M. genevense</i> | <i>M. confluentis</i> | <i>M. interjectum</i> |
| <i>M. intermedium</i> | | | |

균은 Lehmann과 Neumann이 1896년에 *M. tuberculosis*라고 명명하였다. 소에 결핵을 일으키는 균은 Nocard가 1920년에 처음으로 분리하였고, Karlson이 1970년에 *M. bovis*로 명명하였다. 이러한 우결핵균은 주로 결핵에 걸린 소의 우유나 유제품을 섭취함으로써 편도선이나 장관 림프선을 통해 감염되는 것으로 보고 있다. 서형 결핵균은 쥐에서 결핵을 일으키며 1957년에 Reed가 *M. microti*로 명명하였다(94). 이러한 결핵균들은 계통분류학적 견지에서 볼 때 서로 가까워서 서로 다른 아종(sub-species)으로 분류해도 무방할 것으로 보는 학자도 많다.

결핵의 병인학

병인학적으로 결핵에 대한 개념은 19세기 후반까지도 두 개의 이론이 양립되어 있었다. 하나는 전염에 의한 것이고, 다른 하나는 유전이나 정신적 스트레스 또는 둘다에 의한 것이라는 개념이다. 이런 개념들이 서로 양립, 또는 같이 사용될 수 있었던 이유는 다른 전염성질환처럼 빠른 확산속도, 높은 감염성을 갖지 않았고, 주기적으로 나타나지도 않으며, 비교적 무해한 추세로서, 종종 임상적인 진행이 경감, 중지되고, 확실하게 대규모

적으로 창궐하지 않아서였지만, 결핵은 언제나 그곳에 존재했다. Indo-European Aryan들은 결핵의 병인을 유전적 감수성을 가진 사람의 스트레스로 인식했다. 이러한 스트레스는 과도한 피로, 슬픔, 단식, 임신, 흉부의 상처 등에 의한 것으로 야기된다고 믿었다. 인도의 마누 고대 법에 의하면 유전적 허약함으로 보았으며, 히포크라테스조차 전염성 질환으로 분류하면서도, 기본적으로는 비전염성이며 유전적 감수성에 의한 것으로 간주했다. 그 후계자들 역시 비전염성을 지지하며, 이것이 전염이 가능하다고 널리 믿고 있었다(16). 아리스토텔레스는 정확하게 전염성을 인식하고 공기중의 그 무엇인가를 받아들인 사람이 발병한다고 하였으며, 비로소 로마시대에 이르러 이것의 전염성을 믿게 되었다. 이 시대의 가장 뛰어난 의사인 Galen은 히포크라테스처럼 그 의미는 몰랐지만 존재에 대한 확신과 전파에 인식을 같이 했다(65).

Fracastoro는 "Germ Theory"를 통해 감염의 전달과 기작에 대해 흥미를 보였다. 그는 감염경로를 직접접촉, 옷이나 이와 유사한 종류, 공기의 3가지로 분류했다. 16세기에 이르러 결핵의 병인은 전염, 구조적, 유전적 세 가지로 받아들여지고 있었

다(87). 이 시기에는 북유럽의 실증주의와 남유럽의 민족주의가 대립한 시기이기도 해서 접근방법도 다음과 같이 달랐다. Richard Morton에 의해 영국에서 쓰여진 "Phthisiologia"에 의하면 중요도에 따라 11 가지로 병인을 열거했는데 첫째로 신체내 유해한 성분의 배출이 안될 때, 다음으로 정열이나 몰두로 인한 정신적 불균형, 7번째가 유전적, 9 번째가 감염이었다. 동시에 남유럽의 인식은 전염에 대한 이해로 기초 공중보건 정책에 힘을 쏟고 있었다. 비록 관점은 달랐지만 이 시기에 과학적 접근이 처음으로 시도되며, 증거에 대한 이해와 탐색이 이루어지기 시작했다(86). 18 세기에는 결핵은 전염병으로 인식될 정도로 널리 확산되기 시작했다. 급격한 도시화, 공업화로 인한 노동자들의 유입으로 인한 것이었다. 1722년에 Marten은 결핵은 전염이 확실하며, 감염은 "germs"에 의한다고 믿었다. 질병의 원인은 Animalcula종이나 매우 작은 물체가 가능하다고 생각했는데, 그는 현미경을 사용하여 새로운 정보들을 얻어냈다(86).

19 세기에 들어와 결핵에 대한 병리학과 진단 면에서 커다란 진전이 있게 된다. Laennec은 결핵에 있어서 업적을 많이 남겼고, 청진기와 그 사용법의 창시자이기도 하다. 그의 "Unifying theory of tubercle"이 1804년의 강의에서 처음으로 제안되었다(86). 이것은 과거의 여러 종류의 phthisis들이 결국 하나의 질병이라는 점과, 전에 Bayle에 의해 13 개 type에서 6 개로 줄인 것을 그는 2 개의 범주로 나누어 하나의 질병으로서 동공화와 석회화의 특징을 들었다. 하지만 그의 실수는 결핵의 감염성에 대한 인식이 부족한 것으로, 그는 강경한 비전염론자 였다. 그에 의하면 결핵은 도시의 산물로서 감염이 아니라 하층민의 고통과 불행에 의한 것이라고 하였으며, 자신의 경험에 따르면 다수의 사람이 결핵에 감염되었을 때, 도시를 떠나라고 한 것을 따른 사람은 많이 살아남은 반면 남아있던 사람은 모두 죽었다는 것을 예로 들고 있다. Schonlein(1839)는 처음으로 tuberculosis라는 말을 제안했다(86).

1865년에 Villemin에 의해 접종으로 사람으로부터 토끼에 결핵이 전파된다는 실험결과가 프랑스 의학학회에서 발표되었다. 그는 건강한, 젊은 말이 시골의 농장에서 뺨뺨한 군대막사로 옮겨지면 병에 걸려 죽는 것을 보고 결핵의 전파에 대한 가설을 세우게 된다. 접종실험은 폐와 다른 기관으로부터 얻은 tubercles의 혼합물을 사용하였고, 얻은 결론은 "결핵은 특정질환으로서 전염성을 가지고 인간에게서 토끼로 접종에 의해 쉽게 전파된다". 계속된 연구에서 그는 결핵이 여러 동물에 감염성이 있으며 tubercle뿐 아니라 환자의 객담이나 혈액도 감염원이라는 것을 밝혀냈다(86).

Koch의 결핵균 발견에 의해 결핵균 연구의 중심은 프랑스에서 독일로 옮겨지게 된다. 그 이유로는 두 국가의 의학적 연구 풍토의 차이에 기인하는데, 프랑스가 반복실험보다는 지식적 추론에 의존하는 측면 때문에 사실보다 앞서 나가는 경향이 있었기 때문이다. 예를 들어 그 시대에 Pasteur는 이미 모든 감염성 질환은 미생물에 의해 일어난다고 널리 받아들인 반면, Koch는

아직도 모든 미생물에 대한 입증이 끝나지 않았으며, 각각에 대한 실험결과에 의한 증거가 발견되어야 한다고 했다. 독일의 이러한 조심스럽고 엄격하며 반복된 실험에 의해 열매를 맺게 된다. Koch는 1881년에는 *Anthrax bacillus*를 발견하고, 결핵균의 발견은 1 년 뒤에 이루어지게 된다.

결핵의 진화학적 측면에서의 감염역학

Steele 등(97)에 의하면 *M. bovis*와 그 변종들이 구석기 시대부터 여러 동물에 감염되어 왔으나, 인간에게 1 차 감염대상이 아니었으므로 목축이나 사냥의 부산물로 인한 2 차감염의 형태로 이루어졌을 것이며, B.C. 7,000 년경에 농업의 시작으로 가축과 함께 생활하면서 접촉의 기회는 늘어나고, 감염도 많이 일어나게 되었으나, 심각한 상태는 아니었다. 결핵균은 새로운 숙주인 인간에서 보다 좋은 환경을 기다리며 돌연변이의 기회를 보고 있던 중, 집단사회가 정착되고, 돌연변이와 함께 새로운 숙주로의 이주가 시작되었다(38).

일반적으로 감염성 질환은 어린이에게서 높은 치사율을 보이지만, 집단 내에서 저항성은 각기 다르며, 세대가 거듭될수록 특정 질환에 대한 저항성은 천천히 그러나 꾸준히 증가된다. 예를 들어 홍역, 천연두, 페스트 등은 몇 세대만에 그 평형상태를 유지하지만 결핵은 수세기가 소요된다. 영양실조 등도 치사율을 높이지만, 유전적 저항성이 더욱 큰 요소이다. 자연선택에 의해 숙주의 저항성 유전자의 획득은 생존률을 높이지만, 전염병이 그 전염을 중지하고 소멸되거나, 효과적인 vaccine의 개발, 또는 치료제 등은 수많은 세대가 지난 후 오히려 저항성의 감소를 초래한다. 이러한 자연선택의 적용의 예로는 DDT와 모기, sickle cell과 malaria등에서 볼 수 있는 것(45)처럼 결핵균도 이것에 감수성이 있는 개체를 제거하면서 저항성을 가진 사람과 함께 진화해 왔으며 많은 시간이 지난 후, 약 400 년전에 유럽과 중동에 널리 퍼졌고 그후에는 차츰 감소해 갔다. 결핵은 물론 간혹 치명적이지만 심각한 사회문제로 대두되지는 않아서 역학적인 주목은 받지 못 했었다. 결핵이 아직은 심각하진 않았지만, 도시화와 빈민층의 증가는 유럽에서 환경적 요인의 변화를 가져와서, 1600년대 초기에 결핵의 발생은 급격히 증가하여, 200 여 년 간 서유럽 쪽으로 퍼져나갔다. 이로 인해 거의 모든 서유럽인들이 감염되었고, 그 중 25%가 사망하였다. 이 시기에 유럽과 북아메리카의 코카서스인에 있어서 매우 빠르고 산발적인 결핵의 전파는 감염된 유럽인 들과의 접촉에 의한 것이 주된 이유였다. 유럽의 식민지로 되기 이전의 American 원주민에겐 결핵은 안 알려지거나 드물었으며, 비록 그들이 가축을 기르지는 않았지만, *M. bovis*에 감수성인 동물과 접촉했을 것이고 일부는 결핵으로 발전할 수도 있었겠지만 일반적인 것은 아니었다(3).

결핵의 본격적인 발생은 1880년 이후 보호구역이나 병영막사에 강제 이주되면서 부터이다. 이때 주위 백인과의 접촉이 빈번하게 이루어지고 아이들이 밀집된 학교에서 감염은 급격히 늘

어한다. 결핵이 집단 내에서 발병하면, 초기에는 티프스와 같은 증세를 보이며, 치료하지 않으면 급속히 전염되고 사망하게 되며, 설사 살아남아도 폐질환으로 전이되어 타인을 감염시키게 된다. 흑인들 역시 노예로 미국에 오기 전까지는 결핵은 없었다(96). 그러나 백인에 노출되자 결핵으로 인한 사망률은 점차 증가하였고, 노예해방 이후 도시로 모여들면서, 결핵의 이환율과 사망률은 급격히 증가하여, 1912년에는 인구 10 만 명당 700 명이나 되었다. 비록 열악한 사회적 환경이라는 측면도 있지만 유전적인 저항력이 약한 것이 그 원인이었다. 1880년에서 1910년 사이에, 북아프리카의 남부 사하라 지역은 사실 결핵에 아무런 영향을 받지 않았다. Cummins 등(21)은 유럽인들이 아직 당도하지 않은 이곳은 결핵이 없다고 하였고, Lichtenstein과 Livingstone에 의하면 19 세기 전반기에 이를 때까지 남아프리카에서는 발견되지 않았기에, Greybowski는 1910년까지 결핵은 없었다고 추정하였다. 아프리카인들에게는 작은 균락을 이루는 이동가축의 형태로 생활하였기에 결핵균에게는 그다지 좋은 환경은 아니었다. 그러나 유럽과 이집트인들에게 노출된 이후 아메리카 인디언들처럼 유사한 양상으로 높은 치사율을 보이게 된다. 홍역, 천연두, 페스트 등은 인간 역사상에 여러 번 번창한 뒤 사라져 갔지만 결핵은 인간에게로 돌연변이된 후로 완전한 cycle을 끝내기에는 아직 시간이 너무 짧았다. 전세계적으로 한 번에 확산된 것도 아니고 지역마다 서로 다른 시기에 접촉한 뒤 번창하였기에 그런 것이다. 결핵의 전염은 방해받지 않는다면 새로운 숙주집단에 대해 완전히 정점에 이르기까지 50 - 75 년이 걸리고, 그 이후로 안정기에 들어가지만 발생률의 감소속도는 1 년에 1 - 2%로 완만하다(35).

특정지역의 역학적 상태에 대한 결정요인으로는 그 인구집단의 연령이 가장 큰 영향을 미친다. 전염 초기에는 주로 아동과 청소년에게서 많은 사망자를 내고, 진행될수록 노인 층으로 전이된다. HIV 발생이전의 서구에서는 결핵은 주로 노령 층으로 전이되고 있는 단계로서, 신환 발생률은 감소하고 있었으며, 치료중 재발에 의한 것이 대부분이었는데, HIV의 등장은 이런 구조를 근본적으로 뒤바꾸어 놓았다. 또 다른 문제는 1940년에서야 비로소 효과적인 항결핵약제가 사용되기 시작하여 각 나라에 신속히 보급되었으나, 아직도 많은 개발도상국에서는 비용 문제와 효과적인 결핵관리의 부재, 부적절하고 불규칙한 투약으로 인해 효율성이 떨어지고 있다. 항결핵요법은 제대로만 실행한다면, 치사율은 확실히 줄이고, 이병률은 완만하지만 낮출 수 있기 때문에 미국, 캐나다, 영국 등의 나라에서는 1 - 2%의 감소율을 6 - 10%까지 높이는 데 성공했지만 그 외 일부 개발도상국들은 가난과 관리 프로그램의 부재로 별로 효과를 보지 못했다(73). 게다가 HIV에 의한 감염이 1980년대에 들어와 폭발적으로 증가하고, 결핵 만연지역으로부터의 이민인구의 증가와 아울러 빈민계층에 대한 결핵관리의 소홀로 말미암아 선진국의 결핵감소는 정체되거나 오히려 증가하기 시작했다(23,99,100). 이런 추세대로라면 결핵환자가 연간 약 800만명정도 발생하고

있지만 수십년내에 약 1200만명으로 증가할 것이며, 항결핵제에 대해 내성을 가진 결핵균이 출현해서 치료 불가능한 결핵이 만연할 수 있다는 예측도 나오고 있다. 미국을 위시한 선진국들은 이점을 심각하게 받아들여 지금까지 등한시해왔던 결핵퇴치를 위한 투자와 연구 개발을 최우선 순위에 두고 있다. 우리나라의 경우 1965년 이후 5년마다 표본인구 선정에 의한 전국 결핵실태조사를 통해 결핵실태를 정확하게 파악하고 있으나, 선진국에 비해 아직도 높은 결핵감염위험에 노출되어 있는 실정이다.

결핵균에 대한 저항성

Lurie 등(61)은 선택적 계대로 *M. bovis*에 높은 저항성, 감수성을 가진 토끼를 선별하였다. 저항성 토끼는 감염후 국소적 병변만을 보이는 반면, 감수성은 급속히 확산되는 특징을 보였다. Forget 등(26)은 쥐를 이용한 실험에서 이러한 저항성 획득을, BCG 접종에 의해 유도되는 *Bcg*라는 유전자에 의한 것으로 가정하였고, 이것이 대식세포 활성화에 관여하는데 감수성인 개체는 그렇지 못하여 차이를 나타낸다고 생각했다. 그들은 이 유전자를 클로닝하고, 이와 유사한 유전자가 인간 염색체 2q 말단에 존재한다고 하여, 유전자 레벨에서 결핵균에 대한 감수성에 관한 최초의 보고를 하였다. 그들은 2 가지 모델을 제시하였는데, 첫째, 이 유전자는 기능적, 비기능적 부분으로 나뉘어져 있어서 비기능적 부분은 신호전달에, 기능적 부분은 단백질 kinase 활성이나 cAMP와 같은 2 차적인 매개자의 기능을 수행한다는 것이며, 둘째로 대식세포 활성화에 관계된 전사조절능을 가진 DNA 결합 단백질을 암호화한다는 것이다. Stead 등(96)은 *in vitro* 상태에서 대식세포내에서 *M. tuberculosis*의 복제에 대해 백인인 흑인보다 저항성을 가지고 있다고 하였고, McPeck 등(64)은 백인의 대식세포가 흑인의 것보다 2 배나 저항성인 것은 유전적인 HLA-DR 발현의 차이에 의한다고 보고하였고 이것은 유전적인 major histocompatibility complex(MHC) polymorphism이 외부 감염성 항원에 대해서 어떤 차이를 보이느냐에 따라 감수성이 결정된다는 것이다. 진화압에 따른 적응의 예는 이밖에도 많아서, 낫세포 빈혈증과 말라리아, 에스키모의 부신피질 과잉성이 인플루엔자 바이러스에 대한 저항성을 갖게 하는 것 등을 들 수 있다. 미국에서는 곧 흑인도 결핵에 대한 저항성을 획득할 것으로 보이지만, 아직 결핵에 광범위하게 노출되지 않았던 나라에서는 결핵이 만연한 지역으로의 이동이 매우 위험하고 치사율도 높을 수 있다.

결핵균의 전파와 병원성

1882년 Koch에 의해 결핵균의 정체가 밝혀진 후, 2 년 뒤인 1884년에는 guinea pig로의 공기에 의한 감염이 확인되었다. 그는 객담이 주요한 전파경로라고 생각했으며(32,33), 객담상의 먼지나 오염된 음식, 옷 등에 의해 간접적으로 전파된다고 생각했다.

결핵균의 공기감염에 대한 현대적 개념의 정립은 Wells(1941)

에 의해 이루어졌다. 그의 보고에 의하면, "droplet nucleus"라고 명명한 이것은 크기가 1 - 5 μm 정도로, 수분 층으로 둘러싸인 2-3개의 균을 포함하며, 기침으로 인해 외부로 나오면 수분이 증발되어 균체만 응집된다. 이것은 외부환경에 의해 생존기간이 달라진다. Riley(84,86)에 의하면 기니피를 이용한 공기감염 실험에서 매달 purified protein derivative(PPD) test와 부검을 통해 확인한 결과, 1 마리의 기니피를 감염시키는데 11,000 입방피트가 필요하며, 사람에게 대한 것과 일치했다. 이는 공기에 의한 감염의 확인으로, 이의 방지와 아울러 효과적인 자외선 조사에 의한 감염기회의 감소를 보여주었는데, 정확한 산술적 추산이라고 보기는 어렵지만, 1 개의 droplet nuclei로는 감염력이 낮아도, 오랜 기간 노출된다면 발병할 수 있다는 것이다. 현재까지 얼마나 많은 양의 결핵균이 흡입되어야 발병하는지는 아직 모르나, 균의 감염성, 폐포 대식세포의 활성, 폐포의 보호기작 등을 고려할 때, 약 5 - 200 개 정도이다.

결핵균에 의한 감염시, 첫 단계는 대식세포가 균을 둘러싸고, 이때 균의 감염성과 대식세포의 살상력이 대결하여, 그 결과로서 균이 증식, 또는 저해, 사멸하게 된다. 균을 둘러싼 대식세포는 외부로 보체계의 C5a와 같은 화학전달 물질을 방출하여 다른 대식세포를 불러들이거나, 단핵구를 순환시킨다. 두번째 단계는 공생기 혹은 대수증식기라고 불리며, 1 - 3 주간 서로의 병원성과 면역성이 균형을 이루고 있으면서, 균만 증식하는 기간이다. 단핵구는 이 기간 동안 균이 존재하는 장소로 집결을 계속한다. 셋째 단계로 감염으로부터 3 주후 세포개재 면역반응과 지연형 과민반응(delayed type hypersensitivity:DTH)이 시작된다. 균의 증식은 lymphokine-activated T-lymphocytes에 의해 억제되고, 대식세포도 사멸하여 결핵의 특징적 tubercle, granuloma를 형성한다. granuloma는 종종 중앙부에 석회화, 동공을 형성한다. Ghon focus는 상폐포엽하부나 하폐포엽 상부에 생기는 작은 lesion으로 석회화된 동공이나, 폐문절에 관련되어 있어서 PPD 검사처럼 감염의 증거로 간주된다. 넷째 단계는 가수분해 효소에 의한 석회부의 액화로 인해 결핵균 증식이 촉진된다. 폐부의 기관벽이 붕괴되고 다른 부분으로 전이도 일어난게 되어, 2 차(재활성) 결핵으로도 불려진다.

결핵균의 세포벽

균의 각종 생물학적 특성 즉, 항산성 염색성, 유해한 물리화학적 환경이나 숙주방어수단에 대한 저항력 및 adjuvant 활성 등이 세포벽에 의해 나타난다. 세포벽은 여러 개의 분자가 공유 결합으로 이루어진 복합 고분자화합물로 구성된 딱딱한 골격이 60%를 차지하고 나머지는 그와 관계없이 세포벽을 이루고 있다. 원형질막에 접해 있는 세포벽 내면은 다른 세균 류에서도 볼 수 있는 murein층으로서 여러 개의 tetrapeptides가 내부로 인접한 분자들 중 D-alanine과 diaminopimelic acid 사이에 교차결합으로 연결되고 또 L-alanine이 N-acetylglucosamine과 muramic acid가 교차로 결합해 이루어진 muramyl layer에 연

결되어있다(13). 그물처럼 생긴 murein 층은 세포의 모양과 경직성을 갖게 해주며, 그리고 adjuvant 활성을 나타낸다.

Murein층 바깥은 분지한 다당류인 arabinogalactan이 덮고 있고 다당류 끝에 있는 arabinose에 긴 사슬의 지방산인 mycolic acid(MA)가 연결되어 있다(69). 약 10 nm 두께의 새끼줄처럼 생긴 이 내면 층은 구조적 투과장벽으로써 항산성 염색성을 띠게 한다. 약 10 nm 두께의 표층은 peptidoglycolipids나 phenolic glycolipids와 같은 mycosides, 황지질, cord-factor 등 다양한 화합물로 구성되어 있고 소수성이다. 유해한 환경에 저항력을 나타낼 뿐 아니라 숙주의 저항력을 극복하는데 중요한 역할을 한다. 바깥으로 노출된 당질류는 친수성이다. 세포벽 지방화합물의 약 25%가 표층의 유리지방이다.

세포벽의 지방화합물로는 긴 사슬의 tuberculostearic acid(TA), mycoserosic acid(MSA), phthienoic acid 및 mycolic acid등이다. TA가 여러 mycobacteria에서 발견되지만 다른 세균 류에서는 볼 수 없기 때문에 병리가검물로부터 이를 검출하여 균의 유무를 알아내는 방법으로 이용되고 있다(27). Mycolic acid는 corynebacteria와 nocardia에서도 발견되지만 탄소수가 28~60개로 mycobacteria의 60-90개 보다 적다. 결핵균의 mycolic acid는 세포벽의 골격을 이루는 mucopeptide arabinogalactan과 외부벽을 연결하고 있고, 균체의 소수성과 숙주내의 분해효소들에 대해 저항성을 갖게하는 주성분으로 생각되고 있다. INH는 이러한 mycolic acid의 합성을 저해함으로써 세포벽에 변형을 유도하는 것으로 알려져 있다. Trehalose sulfate에 MSA가 결합된 강산성의 황지질도 독성이 강한데 특히 균색인자와 결합되면 독성이 크게 증강된다. 황지질도 독성이 강한데 특히 neutral red와 결합해 끊는 물에서도 탈색되지 않아 이를 균의 발병력 여부를 가리는 방안으로 제안했지만 발병력이 큰 일부 균주는 소량 함유하고 있고, 병변조직내에서 증식한 균은 중성적과 결합하지 않아 발병력과 관련성이 의문시되었다. 그럼에도 불구하고 식포-리소좀 융합억제, 리소좀 효소 중화 및 균색인자와 결합해 강한 독성을 나타내는 점등을 고려해 볼 때 발병력을 나타내는데 기여할 것으로 추측한다. 병원성 균주의 표층화합물 가운데서 poly-L-glutamic acids(46)를 볼 수 있는데, 이도 역시 대식구내 식포-리소좀 융합을 억제할 뿐 아니라 탄소, 질소원으로도 이용될 것으로 보고 있다. 생물학적으로 중요한 표층지방인 mycosides는 응집반응에 의한 혈청형, 균의 집락형태 및 발병력 등에 관련되어 있을 뿐 아니라 mycobacteriophage의 수용체 역할도 한다. 따라서 이들을 대외관계 화합물이라고 부른다. 두 가지 주요 mycosides로 peptidoglycolipids와 phenolic glycolipids가 있는데 이들은 특이한 당을 가지고 있어서 독특한 항원결정기를 이루고 있다. 그리고 당이 없는 mycoside로 감독화 표지지방(attenuation indicator lipid)이 있는데 기니피에 대해 발병력이 낮은 남부 인도 결핵균에서 관찰되는 특이한 지방이다. 그러나 그러한 관련은 우연한 일치일 따름이며, 발병력을 잃은 변이주에서 phthiocerol dimycolate가 감소했다고 해서 이것

을 발병력과 관련 지우는 것도 마찬가지다. Phenolic glycolipids 중 가장 많이 함유된 mycoside A는 methyl기를 가진 rhamnose가 phenol ring을 통해 palmitic acid에 연결되어 있고, mycoside B는 mycocerosic acid에 연결되어 있다. Mycoside C라 부르는 peptidoglycolipids는 모든 mycobacteria에서 검출되지만 구조와 항원성 당질부가 서로 다르며, *Mycobacterium avium*군에서 혈청형을 결정한다. 그리고 이들 mycosides들은 대식구의 리소좀 효소로부터 균체를 보호하는 역할을 할 것으로 추측한다. Lipoarabinomannan은 대식구내에서 종양괴사인자 생산을 유도한다는 보고가 있다(88). 인지질(phospholipids)은 주로 세포막에 함유되어 있으며 항원성이 있어서 혈청학적 진단에 이용되기도 한다(83).

하지만 아직도 결핵균의 세포벽의 물질전달 기작은 특이한 세포벽 성분과 구조로 인해 명확히 밝혀지고 있지 않은 실정이다. 향후 새로운 결핵 치료제의 개발에 있어서 이러한 물질전달 시스템에 대한 연구가 필요할 것으로 보인다.

결핵균의 특이 항원

*M. tuberculosis*와 숙주인 인간의 상호작용은 균주의 독력에 의해 일부 결정되어지나 중요한 것은 숙주의 특이적, 비특이적 저항성에 의해 결정되며, 이 질병의 증상 발현에는 세포매개성(cell-mediated) 면역이 중요한 역할을 한다. 결핵의 특징은 지연형 과민반응(delayed-type hypersensitivity reaction)에 의해 활성화된 식세포의 응집체인 결절(tubercle)을 형성한다. 낮은 저항성을 가진 소수의 사람에서는 세균이 효율적으로 제어되지 못하여 급성 호흡기 감염이 발생하며, 광범위한 폐조직의 파괴가 발생되고, 신체의 다른 부위로 세균이 전파되어 사망하게 된다. *M. bovis*는 사람과 동물들에 대해 병원성을 지니고 있으며, 일반적으로 생유를 마시으로써 소화를 통해 사람에게 감염되고, 결국엔 호흡기로 퍼져 결핵의 전형적인 증상을 나타낸다. 그리고 결핵균은 편성 호기성이기 때문에 병소는 폐상엽과 신장같이 산소공급이 잘되는 장기에 주로 나타난다. 생체 내에서 결핵균은 단구, 망내피계 및 거대세포의 세포내에 증식한다. 최근 여러 학자들은 세균의 세포질 및 그들의 분비 배설물에서 항원 단백질을 분리하고, 이들 물질의 특징과 항원성 유무에 관해 많은 연구가 진행되었다(40). 그리고 이들 물질 중 여러 종류의 효소 및 단백질 분해효소(proteolytic enzyme)가 최근 여러 학자들에 관심의 대상이 되고 있다. 결핵균이 생체에 감염될 때 결핵균 항원에 의해 자극된 T 림프구에서 분비되는 lymphokines가 대식세포를 활성화시키고, 활성화된 대식세포는 탐식과정에 유리산소 잔기, tumor necrosis factor(TNF) 같은 세포독성 물질을 유리함으로써 세포내 병원성 물질을 사멸시키게 된다.

최근 superoxide 잔기의 실험적 발생과 방어기전에 대한 연구가 활발히 진행되고 있으며, 종양에 가장 효과적인 치료제 중의 하나인 adriamycin(ADM)은 산소 잔기의 생성을 유발하며 독성효과를 나타내고 있어 SOD와의 상호조절 및 유도 등에 대

해서도 연구되어 왔다. 이들 대사과정 중 superoxide dismutase(superoxide : superoxide oxido-reductase)는 호기적인 대사를 하는 기관에서 생성되는 superoxide(O_2^-)를 산소와 과산화수소($2O_2^- + 2H \rightarrow H_2O_2 + O_2$)로 전환시킴으로써 superoxide의 독성을 제거하는 효소이다. Superoxide radical은 NADPH 의존성 산화(70), Xanthine의 산화(63), 그리고 과립구가 식균작용을 하는 동안 human natural killer cell의 cytolytic 초기과정(85) 등의 생물학적 반응에 의해 생성된다고 보고되었다. 이 밖에도 결핵의 특이 항원에 대한 면역학적 연구가 활발히 진행되고 있는데, 그 중에는 mycobacteria의 배양여액을 열처리하여 얻은 PPD와 mycobacteria의 세포 추출물 혹은 배양여액 등에서 분리한 단백질 항원을 이용하여 질병의 진단과 예방에 이용하려는 연구가 여러 학자에 의해 진행되고 있다. Nagai 등(74)은 *M. bovis* BCG의 배양여액에서 분리한 단백질을 MPB70이라고 명명하였으며, 이들의 분자량은 18 kDa로 기니피크에 강한 피부반응을 나타낸다고 보고하였다. 또한 Jacqueline 등은 BCG의 배양여액에서 P64라는 64 kDa 단백질을 분리하여 이들을 skin test 항원으로 제조하여 실험한 결과 PPD보다 2 - 3배 더 강한 피부반응이 있다고 확인되었다. Yanez 등(108)은 enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) 방법을 이용하여 BCG의 세포추출물 단백질이 객담내의 mycobacteria의 항원을 검출하는데 유용하다고 보고하였다.

결핵균 항원에 관한 연구는 주로 방어항원을 밝히고 또한 보다 나은 진단시약을 개발할 목적으로 끊임없이 진행되어 왔다. 결핵에 대한 방어면역은 세포성 면역반응으로 이루어진다고 알려져 있기 때문에 방어항원을 규명하기 위한 시도는 자연적으로 T 림프구를 자극할 수 있는 항원의 검색에 집중되었다. 이런 방면의 초기연구에서는 사멸시킨 결핵균으로 면역한 마우스의 T 세포를 대상으로 항원검색이 시행되었다(79). 그 결과 65 kDa의 heat shock protein(hsp60)이 강한 면역성을 지닌 항원으로 판명된 바 있다. 그러나 살아있는 결핵균으로 처치한 쥐는 결핵에 대한 저항성을 잘 획득하는 반면 사멸시킨 결핵균에 의해서는 저항성을 거의 획득하지 못한다는 실험결과를 토대로 결핵균에 의한 분비항원이 방어항원으로서 중요하다는 사실이 제시되었다. 이러한 맥락에서 24 kDa의 MPT64와 ESAT-6와 같은 분비항원이 기니피크와 마우스에서 각각 주된 방어항원으로 작용한다고 밝혀졌는데(78), 사람과 동물 사이에 항원반응성이 다르므로 최근에는 사람의 T 세포를 자극할 수 있는 항원에 대해서 연구가 집중되고 있다.

결핵의 면역학

결핵의 원인균인 결핵균(*M. tuberculosis*)은 사람의 단핵구나 대식세포내에서 기생, 증식할 수 있는 세균이다. 이러한 결핵균이 사람이나 동물에 침입시 이에 대한 숙주의 면역반응은 매우 복잡한 양상으로 나타난다. 실제 결핵균에 감염되었다고 해서 모두 결핵으로 발병하는 것은 아니며, 오히려 감염자의 소수인

약 10%가 발병하고 대다수는 발병 없이 일생을 살게 된다. 이것은 균의 발병력과 감염균수, 숙주의 면역력과 생리적 요인에 의해 야기되는 것으로 추정된다(32). 현재 결핵 면역반응의 실패에 관한 가장 보편적인 확설은, 일차적으로 T 림프구가 여러 림프카인을 매개로 대식세포를 활성화시켜 대식세포내의 결핵균을 제거하도록 만들고, 만약 결핵균에 감염된 대식세포가 이를 원활히 수행하지 못할 때는 세포독성 T 림프구가 이들 대식세포를 죽임으로써 결핵균을 세포 밖으로 유리시키며, 이렇게 세포 밖으로 유리된 결핵균은 활성화된 인접 대식세포에 의해 처리된다는, 방어면역반응으로 인식되고 있다(77). 그러나 이처럼 숙주의 면역반응이 결핵에 대한 방어와 질병이라는 두 가지 상반된 결과를 초래하는 세부 기전에 대해서 아직까지 명확히 규명되어 있지 않다. 결핵에 대한 방어면역에 있어서 T 림프구가 중요한 역할을 담당한다는 사실은 흉선 적출 마우스의 결핵균에 대한 높은 감수성과 면역 T 림프구의 입양전달실험을 통해서 입증된 이후 그 세부기전에 관한 연구가 활발히 진행되었다(78).

호흡기를 통해 숙주 내로 침입한 결핵균은 일차적으로 폐세포 대식세포와 접촉하여 세포내로 들어간다. 이때 대식세포의 세포표면에 존재하는 CR1, CR3, CR4 수용체 및 mannose 수용체와 결핵균간의 접촉을 매개로 탐식과정이 이루어지며, 결핵균은 이들 수용체를 이용함으로써 대식세포의 활성화를 방지하는 것으로 확인되고 있다. 대식세포가 결핵균에 감염되면 IL-1, IL-6, TNF- α 및 chemokines와 같은 pro-inflammatory cytokine 들을 분비하여 염증반응이 시작되며, 면역반응의 조절 또는 세포분화증식 기능을 나타내는 IL-10, IL-12, TGF- β , M-CSF, GM-CSF, PDGF 등도 동시에 생성 분비된다. 한편 결핵균항원은 MHC class I 또는 II 분자, CD1b, CD1c와 결합되어 대식세포의 표면에 표출됨으로써 T 세포에 대한 항원제시가 이루어지는 것으로 밝혀져 있다(4). 결핵균에 감염된 대식세포와의 접촉에 의해서 활성화가 일어나는 T 림프구에는 크게 CD4⁺ T 세포, CD8⁺ T 세포, TCR $\gamma\delta$ ⁺ T세포 및 CD4⁺CD8⁻TCR $\alpha\beta$ ⁺ T세포 등 4 가지 종류가 있다. CD4⁺ T 세포는 생산 분비하는 사이토카인의 종류에 따라 Th1 및 Th2 아형으로 분류된다. 이중 결핵균의 항원으로 자극시 주로 Th1 세포의 활성화가 일어나며, IFN- γ 와 TNF- α 를 생성 분비함으로써 대식세포의 항균작용을 항진시켜 결핵에 대한 방어면역에 중추적 역할을 담당하는 사실이 확인되었다(59). 활성화된 대식세포가 나타내는 항균작용의 기전으로는 파고솟(phagosome) 내의 산성화 및 식균융합(phagolysosomal fusion)으로 인한 살균작용, 활성산소 매개체와 nitric oxide의 생산으로 인한 살균작용 등의 가능성이 제시되어 있다. CD4⁺ T 세포는 결핵균의 감염에 대한 방어면역 뿐만 아니라 DTH 반응도 매개하는 주된 세포로 알려져 있다. CD8⁺ T 세포는 INF- γ 를 생성분비하고 또한 결핵균에 감염된 대식세포를 죽이는 세포독성효과를 나타내는 것으로 관찰되었지만, 미약한 정도의 방어면역효과만을 나타내는 것으로 확

인되었다(52). 그러나 최근에 CD8⁺ T 세포의 기능을 없앤 β -2-microglobulin gene-knockout 마우스를 대상으로 결핵균을 감염시 질병이 계속적으로 진행되어 결국에는 사망하게 된다는 결정적인 관찰결과를 토대로 CD8⁺ T 세포의 방어면역학적 역할의 중요성이 다시 부각되었다. TCR $\gamma\delta$ ⁺ T 세포에 대해서는 이들 세포가 인지하는 결핵균항원의 형태 및 결핵면역 반응에서의 역할이 명확히 규명되어 있지 않다. 그러나 감염초기에 이 세포수가 현저히 증가하고, 또한 여러 가지 사이토카인의 생성 분비 및 세포독성효과를 나타내므로 감염초기에 어떠한 역할을 수행할 것으로 추정하고 있다(5). 매우 낮은 빈도로 존재하는 또 다른 세포인 CD4⁺CD8⁻TCR $\alpha\beta$ ⁺ T 세포는 항원인식시 CD1 분자의 제한을 받으며 단백질항원이 아닌 면역반응에서의 역할은 잘 알려져 있지 않다. 감염초기(2 주이내)에는 생체 내로 침입한 결핵균이 대식세포내에서 점차로 분열증식하며 이때 균체로부터 분비되는 단백질항원이 MHC class II 분자와 결합되어 대식세포의 세포막 표면에 표출됨으로써 CD4⁺ T 세포를 자극하게 된다. 또한 결핵균에 감염된 대식세포는 IL-12를 생산 분비하여 항원자극을 받는 CD4⁺ T 세포를 Th1 세포로 분화되도록 촉진시킨다. 이렇게 자극된 Th1 세포는 IFN- γ 를 비롯하여 여러 가지 cytokines를 생성분비하기 시작하여, 대식세포를 활성화시키고, 단백세포를 병변부위로 끌어들이므로써 granuloma의 형성이 시작된다. 이와 동시에 일부 자극된 CD4⁺ T 세포는 병변부위를 빠져나와 혈관이나 림프관으로 들어가서 DTH 또는 memory T 세포로서의 역할을 수행한다. 감염 2 - 4 주째는 CD4⁺ T 세포의 활성화가 최고조에 이르며, 병변부위의 IFN- γ 농도 또한 최고조에 도달하여 대부분의 결핵균이 급속히 제거된다. TCR $\gamma\delta$ ⁺ T 세포는 3 주경에 병변부위에서 최고의 숫자에 도달하게 되는데 이들 세포는 많은 수의 결핵균으로 감염되어 항균기능을 상실한 대식세포를 제거하는 기능을 수행할 것으로 추정하고 있다. 감염된 후 1달이 지나면 결핵균 감염으로부터 대부분 회복되는데 이 시기에 세포독성 CD4⁺ T 세포가 출현하게 된다. 이 세포는 잔존 결핵균을 내포하고 있는 대식세포를 없애는 최종 청소부로서의 기능을 수행한다(17). 이와같이 결핵균은 B cell에 의한 항체생성과 같은 체액성 면역계의 활성화(52,53), macrophage의 활성화(37), natural killer(NK) cells 및 lymphokine activated killer(LAK) cells의 활성화 등에 의한 면역반응의 유도 뿐 만 아니라, cytolytic T lymphocytes (CTL)(53), $\gamma\delta$ -T cells(12) 등에 의한 세포성 면역까지 유도한다는 것이다.

결핵균의 약제 내성

미생물학적인 입장에서 내성(resistance)과 감수성(susceptibility)은 상대적 용어로서, 약제에 감수성인 mycobacteria 집단내에도 약제내성 돌연변이 균이 포함되어 있다. 임상적인 정의는 균을 사멸시키거나 발육을 억제시킬 수 있는 약제농도하에서도 균이 생존, 증식할 수 있는 일시적 혹은 영속적인 균의 능력이

라 할 수 있다. 역학적으로는(28) 결핵균의 약제내성을 1차내성(primary drug resistance), 획득내성(acquired drug resistance), 또는 초회내성(initial drug resistance)의 3종류로 구분하고 있다. 1차내성이란 치료력이 전혀 없는 환자로부터 내성균이 발견될 때 지칭하는 용어로서 외부로부터의 내성균 감염에 의해 발생된다. 획득내성은 환자가 처음에는 약제에 감수성인 균을 가졌으나, 부적절하거나 불규칙적인 치료로 내성을 획득한 경우이다. 초회내성은 환자가 과거 치료력이 없다는데도 내성균이 분리되는 경우로, 사실 진정한 의미의 일차내성을 확인하기란 용이하지 않기 때문에 역학적으로는 일차내성보다는 초회내성이란 용어가 더 적합한 것으로 판단하고 있다(7). 약제내성 기전은 주로 유전자 전달에 초점을 맞추고 있는데, 접합, 형질전환, 형질도입, 핵산감염등에 의한 돌연변이는 mycobacteria에서 별로 증명된 바 없고, 내성인자(R-factor)에 의한것도 결핵균의 mycobacteria system에서만 드물게 보고되고 있다(20). 하지만 mycobacteria는 병리 생물학적 특성이 매우 이질적인 균집단이므로 균종에 따라서 약제내성 기전이 다를수도 있다고 보인다. 이러한 점은 향후 연구에서 밝혀지리라 사료된다. 결핵균에 있어서 자연발생적 돌연변이의 발생기전은 불명확하나 발생빈도는 매우 낮아 균집단(bacterial population)의 10^5 - 10^8 개에 1개 정도이다

Table 2. Spontaneous mutation rates in mycobacteria

| Mutation | Species | Mutation rate |
|------------------------|------------------------|---------------|
| Sensitivity-resistance | | |
| Isoniazid | <i>M. tuberculosis</i> | $10^8 - 10^9$ |
| | <i>M. avium</i> | $10^5 - 10^8$ |
| | <i>M. fortuitum</i> | 10^6 |
| Streptomycin | <i>M. tuberculosis</i> | $10^8 - 10^9$ |
| | <i>M. avium</i> | 10^5 |
| | <i>M. fortuitum</i> | 10^9 |
| | <i>M. kansasii</i> | 10^9 |
| PAS | <i>M. tuberculosis</i> | $10^8 - 10^9$ |
| Ethambutol | <i>M. tuberculosis</i> | 10^7 |
| D-cycloserine | <i>M. tuberculosis</i> | 10^9 |
| Rifampin | <i>M. tuberculosis</i> | 10^{10} |
| | <i>M. kansasii</i> | 10^9 |

Data from David - Gangadharam(28)

우리 나라는 새로 발견된 결핵환자에 대한 항결핵제의 표준 치료법으로 1991 년도부터 6 개월 단기 치료법(31)을 국가결핵관리체계 내에서 추천하고 있다. 이 치료법은 rifampicin(RFP), ethambutol(EMB), isoniazid(INH), pyrazinamide(PZA) 약제를 2 개월간 투여하고, 그 다음 4 개월간은 PZA를 제외한 나머지 약제를 계속 투여한다. EMB대신 streptomycin을 대용할 수도 있다(47). 초치료에 실패한 환자는 ethion-

amide(ETH), ofloxacin, kanamycin, cycloserine, para-aminosalicylic acid 등의 감수성 검사 후 사용될 수 있다. 그러나 항결핵제에 대한 부적절한 의사의 처방과 환자의 부적절한 결핵약 사용 또는 약제내성균의 감염 등으로 초치료용 항결핵제에 대한 내성균이 출현한다. 그러므로 항결핵제 내성균에 대한 신속 정확한 검사는 초치료에 실패하여 재치료를 해주어야 할 환자에 있어서는 매우 중요한 일이다.

현재 결핵균의 항결핵제 감수성 검사법은 minimum inhibitory concentration(MIC)법, proportion법, BACTEC 등이 사용되고 있으나, 신속하고 간단하며, 안전한 새로운 검사방법의 개발이 요구되고 있다. 이러한 요구에 따라, 유전자내 하나의 염기 돌연변이도 구별할 수 있는 PCR-single strand conformation polymorphism(SSCP)기법을 이용하여 결핵균 감수성 검사방법을 개발하려는 연구가 많이 시도되고 있다. 특히 RFP에 대한 내성균의 경우는 *rpoB* 유전자의 69 bp 내에서 내성균주의 95% 이상이 돌연변이를 일으키기 때문에 이러한 특성을 이용한 새로운 감수성 검사방법이 가능하게 되었다(22). RFP 감수성에 영향을 주는 유전자는 *rpoB*로서, RFP 내성균주를 검출하는 방법으로 PCR과 이형 접합체 형성이 이용되기도 하였으며(105), *rpoB* 유전자내 돌연변이를 확인하기 위하여 Kapur 등(51)은 PCR산물을 바로 염기서열결정하는 방법을 사용하였다. 최근에 De Beenhouwer 등(22)은 *rpoB* 유전자의 돌연변이가 빈번한 지역을 탐식자로 이용한 Line Probe Assay(LiPA)에 의하여 결핵균의 RFP 감수성 여부를 검사하였다.

고농도의 INH에서 내성을 보인 결핵균은 catalase-peroxidase 활성을 잃어버린 경우가 많다는 것이 알려졌다(67). Zhang 등(110)은 이 효소를 생성하는 유전자가 *katG*라는 것을 밝혀내고 이 유전자내의 결실이 있는 균주는 INH내성을 갖고 있다는 사실을 발견하였다(112). 그 후 INH와 ETH내성에도 관련이 있는 것으로 추측되는 *inhA* 유전자를 발견하였다(8). 따라서 이 두 유전자내의 돌연변이가 INH의 내성을 유도할 것으로 생각됨에 따라 이들 유전자내의 돌연변이에 대한 연구가 여러 학자들에 의해 발표되어 왔다(19,44,71,89,101,102). 이들 연구결과에 따르면, INH에 대한 내성균주들은 *katG* 유전자내에서 codon 463 Arg 부위에서 가장 많은 돌연변이를 나타냈다고 공통적으로 보고하였다. Banerjee 등(8)은 ETH와 INH에 모두 내성인 균주로부터 *inhA* 유전자를 분리하였고, 이 유전자의 돌연변이가 ETH와 INH 내성을 일으키는 원인으로 추정하였다. 이를 확인하기 위한 연구로 *inhA* 유전자의 돌연변이를 PCR-SSCP로 탐색하여 돌연변이 염기서열을 밝힌 연구도 있었다(44,71).

HIV감염과 도시지역 사회환경의 악화에 따른 다제내성결핵균의 출현, 결핵균의 mycobacteria의 감염과 발병이 증가되면서 약제 내성균 검출방법의 개선과 보다 효과적인 약제나 치료방법의 개발이 요구되고 있다. 최근 활발히 진행되고 있는 약제내성의 분자적 기작을 규명하기 위한 연구들은 이에 필요한 이해를 더욱 촉진시킬 수 있을 것으로 보인다.

결핵과 HIV

HIV 감염자가 결핵에 감염되면 발병이 급속히 진전된다는 것은 주지의 사실이지만 아직 정확한 이유는 밝혀지고 있지 않다. 이에 대한 많은 실험이 이루어지고 있지만 아직 HIV-환자와 정상인간의 식균작용이나 세포내 결핵균의 성장(66), cytokine의 비정상적 발현 등에서 차이점을 알아내지는 못했고, 결핵균의 HIV-환자 내에서 증식속진이 대식세포와 단순히 직접적인 관계가 있는 것은 아닌 것으로 보인다. 아마도 T-세포 또는 natural killer cell의 면역성 결핍이나, HIV 관련 cytokine 분비에 따른 간접적 요인이 가능할 것이다(75). 문제는 단순히 결핵의 발병 뿐 아니라 약제 다제내성 결핵균에 있어서의 위험성도 존재하고 있다는 것인데, 면역결핍성, 약제내성, 진단에 시간이 오래 걸리는 점등이 치사율을 매우 높이고 있다(24). RFLP를 통한 동종 결핵균에 의한 약제 다제내성 결핵균의 전염을 알아본 연구에 의하면, 같은 경로와 비슷한 감염율을 보이나, 보다 오랜 기간 동안 감염성을 지니고 있었다. 더구나 HIV-환자에 있어서 약제 다제내성 결핵균의 감염은 초기에 약제 다제내성 결핵균에 감염된 경우 또는 약제 감수성 결핵균이 약제 다제내성 결핵균으로 변환되는 경우가 있으나 자세한 기작은 알려지지 않고 있다. 위와 같은 이유로 미국의 Centers for Disease Control(CDC)에서는 지침을 만들어(15) 결핵환자에 의한 의료기관 내에서의 전파방지에 힘쓰고 있다.

BCG백신의 특성 및 재조합 BCG의 가능성

M. bovis BCG(Bacillus Calmette-Güerin)의 기원은 1908년 Albert Calmette와 Camille Guérin이 우형 결핵균(*M. bovis*)을 글리세린이 첨가된 beef-bile salt-potato 배지에서 3 주 간격으로 13 년간 230 번의 계대배양을 통해 병원성을 잃게 된 균주를 얻은 것에 기인한다. 1921년에 보고된 BCG의 표준균주는 그후 프랑스의 파스티르 연구소에서 현재까지 유지되고 있으며, 수백 개의 자손균주의 모체가 되었다(32,34). 국내에서는 대한결핵협회 결핵연구원에서 BCG백신을 생산하고 있다.

BCG백신의 생산에 있어서 균주는 약 2 주 간격으로 Sauton 배지에서 계대배양하며 배양온도는 37°C-38°C로 한다. 종균배양을 위해 배지에서 발육한 균막을 사용하여 식균하고 이를 같은 배지에서 7 - 10 일 간 정치 배양한다. 배지표면에 발육한 균막만을 여과 등의 방법으로 채취하고, 함수량이 약 70%가 되게 한 뒤 마쇄하여 1/4의 농도로 같은 배지에 1 ml 중에 40 mg의 농도로 희석하여 원액을 만든다. 원액은 무균시험, 염색시험, 유해부정균 등의 시험을 거친 뒤, 최종원액을 다시 무균시험, 염색시험, 균량측정시험, 피부반응시험, 열 안정성 시험, 역가시험 등을 거친 뒤 분병, 포장하게 된다(113).

현재까지 결핵에 대한 백신으로 널리 사용되는 BCG균주들로서는 Pasteur strain, Copenhagen strain, Tokyo strain, Glaxo strain 등이 있다(80). 1921년 Weille-Halle가 처음으로 사람에게 사용된 이후, BCG는 현재까지 30 억 이상의 인구가 접종

받았을 정도로 안정성이 검증된 백신으로 사용되어왔다(77). BCG는 *Mycobacterium bovis*의 변이 균주로 병원성이 없으며, adjuvant 기능을 가지고 있어 mucosal immunity를 잘 유도하며, 느린 성장을 하고 대식세포에 의해 포식되어도 쉽게 죽지 않고 한 번의 접종으로 면역성을 5 - 50 년간이나 유도할 수 있다. 또한 경제적인 면에 있어서도 생산 단가가 낮기 때문에 백신으로 활용하기에 좋은 조건들을 갖추고 있다.

따라서 이러한 BCG에 다른 병원체들의 epitope를 발현하도록 할 경우 각종 질병에 대해 각각 다른 백신을 사용해야하는 번거로움을 덜 수 있고(39), 의료비 부담을 줄일 수 있으며, 이미 사용되고 있는 BCG를 대체하여 효과적이고 새로운 multi-valent vaccine으로서 사용할 수 있다(30). 이러한 가능성은 오래 전부터 제시되었으나(11) 실제 연구에 있어서 어려움 들은 쉽게 풀리지 않았었다. 우선 BCG 균체안으로 재조합된 DNA를 넣어주기 위해서는 다음과 같은 조건이 충족되어야 한다(103). 첫째로 외부의 유전자를 mycobacteria내에 도입하는 효과적인 방법(57,60), 둘째로 재조합된 유전자를 복제, 발현할 수 있는 벡터(49), 셋째로 도입과 형질전환여부를 알 수 있는 특정 표현형(selectable phenotype)의 발현(55), 넷째로 발현된 재조합 단백질의 항원성 여부를 검정할 수 있는 항체 및 실험동물 등이다.

BCG의 형질전환에 필요한 벡터 개발을 위해 Snapper 등(95)은 *Mycobacterium fortuitum*에서 분리된 pAL5000(81)과 *E. coli* 플라스미드인 pIJ666을 cloning하여 *Mycobacterium-E. coli* shuttle 벡터인 pYUB12(11.2kb)를 개발, electroporation에 의해 BCG내로 도입하고, BCG에서 이 플라스미드가 안정적인 복제와 kanamycin내성을 보인다고 보고하였다. 그러나 자체 크기가 크고, multi cloning site로 사용할 제한효소 부위도 적으며, 형질전환 효율도 낮아서 실용적이지 못하였다.

1990년에 들어와서 pUC19에 pAL5000의 open reading frame(ORF)를 도입하여 pRR3라는 mini shuttle 벡터를 개발하였고(81), 이를 *M. smegmatis*에 형질전환하여 plasmid DNA 1 µg당 10⁴이라는 형질전환 효율을 얻었다. 1991년에는 Winter 등(107)이 pRR3에 HIV-1의 *nef* 유전자를 도입하여 BCG내에서 발현시켰다. 또한 Stover 등(98)은 integrative 벡터인 pMV361과 extra-chromosomal 벡터인 pMV261을 개발하였고, 이들 벡터를 BCG에 도입한 결과 plasmid DNA 1 µg당 10⁵ - 10⁶의 형질전환 효율을 나타내었으며, *lacZ* 유전자와 HIV-1의 항원유전자의 클로닝을 통해 쥐에서 면역성 유도를 보고하였다. 이와 같이 BCG의 형질전환이 electroporation기법의 도입으로 인해 가능해진 이래로 많은 연구자들이 특정 병원체에 대한 항원을 포함하거나, 분비할 수 있는 재조합 BCG가 항체반응을 잘 유도한다는 많은 보고가 이루어지기 시작했다(25,36,50). 그 외에도 많은 병원체들의 principal neutralizing determinant(PND)를 발현하는 재조합 BCG들은 각각의 특이항원에 대한 면역반응을 유도하여 감염을 억제할 수 있다고 보고하였다(10,56). HIV 관련 보고에서는 HIV의 V3 PND를 분비할 수 있는 재조합 BCG도 보고

되었다(18,50). 이 재조합 BCG로 면역시킨 쥐는 CTL(cytotoxic T lymphocytes)을 유도하였고, 이 PND peptide에 대한 항체를 유도했다. 면역을 유도한 기니피크로부터 추출한 혈청 IgG를 주입할 경우 갑상선이나 간을 이식 받은 severe combined immunodeficiency(SCID) mice가 HIV에 감염되는 것을 효과적으로 막아냈다. 또한 Gheorghiu 등(29)은 AIDS(acquired immunodeficiency syndrome) virus에 대한 특이적인 CTL을 유도하기 위한 백신의 매개체로서 BCG를 사용할 수 있는지를 알아보기 위해 Simian immunodeficiency virus(SIV)/rhesus monkey 모델을 사용하였다. 우선 BCG가 pan regulatory sequences의 조절하에 SIVmac nef을 발현하도록 만들었다. 이 rBCG-SIVmac nef을 주입한 결과 MHC class-I에 대응하는 CD8⁺ SIVmac gag에 특이적인 CTL 반응이 rhesus monkey에서 유도되었다(58,106). 그 외에도 Aldovini 등(2)은 BCG로부터 cytokine들이 분비되게 하여 면역반응을 유도하도록 할 수 있는 방법들을 개발했다. 이 보고들은 BCG를 백신의 벡터로 사용하는 것 뿐만 아니라 암치료에도 응용할 수 있음을 보여주고 있다(54). 1995년 이후 재조합 BCG의 개발은 박차를 가하기 시작하여 HIV-1의 항원 유전자의 도입에 대한 연구와, 그 외 다양한 항원으로서는 leishmania의 표면항원 유전자(1), *Schistosoma mansoni*의 glutathione S-transferase 유전자(56), measles virus의 nucleoprotein(112), *M. tuberculosis*의 표면 항원 유전자(42), *Listeria monocytogenes*의 hly 유전자(43) 등의 BCG내로의 도입과 발현이 보고되었다.

참고문헌

1. Abdelhak, S., Louzir, H., Timm, J., Blel, L., Benlasfar, Z., Lagranderie, M., Gheorghiu, M., Dellagi, K., and Gicquel, B. 1995. Recombinant BCG expressing the leishmania surface antigen Gp63 induces protective immunity against *Leishmania major* infection in BALB/c mice. *Microbiol.* 141:1585-1592.
2. Aldovini, A., and Young, R. A. 1996. Manipulation and potentiation of antimycobacterial immunity using recombinant Bacille Calmette-Guerin strains that secrete cytokines. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 98:934-939.
3. Allison, M. J., Mendoza O., and Pezzia, A. 1973. Documentation of a case of tuberculosis in pre-Columbian America. *Am. Rev. Respir. Dis.* 107:985-991.
4. Anderson, P. 1997. Host responses and antigens involved in pre-protective immunity to *Mycobacterium tuberculosis*. *Scand. J. Immunol.* 45:115-131.
5. Arruda, S., Bomfim, G., Knights, R., Huima-Byron, T., and Riley, L. W. 1993. Cloning of an *Mycobacterium tuberculosis* DNA fragment associated with entry and survival inside cells. *Science* 10(261):1454-1457.
6. Baess, I. 1979. Deoxyribonucleic acid relatedness among species of slowly-growing mycobacteria. *Acta. Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B.* 87:221-226.
7. Bai, G. H. 1995. Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. *The Mycroorganism and Industry.* Vol. 21, No. 1. 76-83.
8. Banerjee, A., Dubnau, E., Quemard, A., Balasubramanian, V., Um, K. S., Wilson, T., Collins, D., Lisle, G., and Jacobs, Jr W. R. 1994. *inhA*, a gene encoding a target for isoniazid and ethionamide in *Mycobacterium tuberculosis*. *Science* 263:227-230.
9. Bartels, P. 1907. Tuberkulose(Wirbelkaries) in der jungeren Steinzeit. *Arch. Anthropol.* 6:243-255.
10. Beliakvaia, V. A., Zakabunin, A. I. Dolgova, I. N., Belikov, S. I. Verevkina, K. N., and Kresnoborov, I. I. 1994. Design of an expression vector for delivery of *in vivo* recombinant biologically active proteins. 1. Synthesis of the antigenic determinant of HIV-1 gp120 and gp41 proteins in enterobacterial. *Mol. Gen. Mikrobiol. Virusol.* pp. 12-16.
11. Bloom, B. R., and Mehra, V. 1984. Vaccine strategy for eradication of leprosy. In: New Approaches to Vaccine Development. pp. 368-387.
12. Born, W., M.P. Happ, A. Dallas, C. Reardon, R. Kube, T. Schinnick, P. Brennan and R. O' Brien. 1990. Recognition of heat shock proteins and cell function. *Immunol. Today.* 11, 40-43.
13. Brennan, P. J. 1988. *Mycobacterium* and other actinomycetes. In Ratledge C. Wilkinson SG(Ed.). Microbial lipids, Vol 1, pp. 203-298. London. Academic Press Ltd.
14. Brennan, P. J., and Hiroshi, N. 1995. The envelope of Mycobacteria. *Annu. Rev. Biochem.* 64:29-63.
15. Centers for Disease Control. 1992. National action plan to combat multidrug-resistant tuberculosis. *Morbidity and Mortality Weekly Report.* 41:1-45.
16. Chadwick, J., and Mann, W. N. 1978. Hippocratic Writings. New York: Penguin Press. pp. 117-118.
17. Chan, J., and Kaufmann, S. H. E. 1994. Immune mechanisms of protection. In Bloom BR(ed), Tuberculosis: pathogenesis, protection and control, ASM Press, Washington DC, pp.389-415.
18. Cirillo, J. D., Stover, C. K., Bloom, B. R., Jacobs, W. R., and Barletta, R. G. 1995. Bacterial vaccine vectors and Bacillus Calmette-Guerin. *Clin. Infect. Dis.* 20:1001-1009.
19. Cockerill III, F. R., Uhl, J. R., Temesgen, Z., Zhang,

- Y., Stockman, L., Roberts, D., Williams, D. L., and Kline, B. C. 1995. Rapid identification of a point mutation of the *Mycobacterium tuberculosis* catalase-oxidase(*katG*) gene associated with isoniazid resistance. *J. Infect. Dis.* 171:240-245.
20. Crawford, J.T. and Bates, J.H. 1979. Isolation of plasmid from mycobacteria. *Inf. Imm.* 24. 979.
21. Cummins, S. L. 1920. Tuberculosis in primitive tribes and its bearing on the tuberculosis of civilized communities. *Int. J. Pub. Health* 1:137.
22. De Beenhouwer, H., Lhiang, Z., Jannes, G., Mijs, W., Machtelinckx, L., Rossau, R., Traore, H., and Portaels, F. 1995. Rapid detection of rifampicin resistance in sputum and biopsy specimens from tuberculosis patients by PCR and line probe assay. *Tuber. Lung Dis.* 76:425-430.
23. Dolin, P.J., M.C. Ravignion, and A. Kochi, 1994. Global tuberculosis incidence and mortality during 1990-2000. *Bull. W.H.O.* 72, 213-220.
24. Edlin, B. R., Tbkars, J. I., Grieco, M. H., Crawford, J. T., Williams, J., Sordillo, EM., Ong, K. R., Kilburn, J. O., Dooley, S. W., and Castro, K. G. 1992. An outbreak of multidrug-resistant tuberculosis among hospitalized patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N. Engl. J. Med.* 326(23):1514-1521.
25. Fennelly, G. J., Flynn, J. L., Meulen, V. T., Liebert, G., and Bloom, B. R. 1995. Recombinant Bacille Calmette-Guerin priming against measles. *J. Infect. Dis.* 172:698-705.
26. Forget, A., Skamene, E., Gros, P., Mialhe, A. C., and Turcotte, R. 1981. Differences in response among inbred mouse strains to infection with small doses of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect. Immun.* 32(1):42-47.
27. French, G. L., Chan, C. Y., Cheung, S. W., and Oo, K. T. 1987. Diagnosis of pulmonary tuberculosis by detection of tuberculostearic acid in sputum by using gas chromatography-mass spectrometry with selected ion monitoring. *J. Infect. Dis.* 156(2):356-362.
28. Gangadharam, P.R.J. 1984. Drug resistance in mycobacteria. p. 7-110. CRC Press, Inc. Florida.
29. Gheorghiu, M., Langranderie, M. R., Gicquel, B., and Leclerc, C. D. 1994. *Mycobacterium bovis* BCG priming induces a strong potentiation of the antibody response induced by recombinant BCG expressing foreign antigen. *Infection and Immunity* 62(10):4287-4295.
30. Gicquel, B. 1995. BCG as a vector for the construction of multivalent recombinant vaccines. *Biologicals* 23:113-118.
31. Girling, D. J. 1989. The Chemotherapy of Tuberculosis. Academic Press. The Biology of the Mycobacteria vol 3:285-318.
32. Grange, J. M. 1988. Mycobacteria and human disease. London. Edward Arnold. pp.62-89.
33. Grange, J. M., and Yares, D. M. 1989. Incidence and nature of human tuberculosis due to *Mycobacterium africanum* in south east england:1977-87. *Epidem. Inf.* 103:127-32.
34. Grange, J. M., Gibson, J., and Osborn, T. W. 1983. What is BCG. *Tubercle* 64:129-139.
35. Grigg, E. R. 1958. The arcana of tuberculosis. *Am. Rev. Tb. Pul. Dis.* 78:151-172, 426-453, 583-603.
36. Haeseleer, F., Pollet, J. F., Haumont, M., Bollen, A., and Jacobs, P. 1993. Stable integration and expression of the *Plasmodium falciparum* circumsporozoite protein coding sequence in mycobacteria. *Mol. Biochem. Parasitol.* 57:117-126.
37. Hahn, H. and S.H.E. Kaufmann, 1982. Role of cell-mediated immunity in bacterial infections. *Rev. Infect. Dis.* 3, 1221-1250.
38. Hamilton, W. D., Axelrod R., and Tanese, R. 1990. Sexual reproduction as an adaptation to resist parasites. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 87:3566-3573.
39. Hanson, M. S., Lapcevic, C. V., and Haun, S. L. 1995. Progress on development of the live BCG recombinant vaccine vehicle for combined vaccine delivery. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 754:214-221.
40. Harboe, M., and Nagai, S. 1984. MPB 70, a unique antigen of *Mycobacterium bovis* BCG. *Am. Rev. Respir. Dis.* 129:444-452.
41. Hare, R. 1967. The Antiquity of Diseases Caused by Bacteria and Viruses, a Review of the Problem from a Bacteriologist's Point of View. In D Brothwell, AT Sandison(Eds), *Diseases in Antiquity*. Springfield: Thomas. pp. 115-131.
42. Harth, G., Lee, B. Y., and Horwitz, M. A. 1997. High-level heterologous expression and secretion in rapidly growing nonpathogenic mycobacteria of four major *Mycobacterium tuberculosis* extracellular proteins considered to be leading vaccine candidates and drug targets. *Infection and Immunity* 65(6):2321-2328.
43. Hess, J., Miko, D., Catic, A., Lehmsiek, V., Russel, D. G., and Kaufmann, S. H. 1998. *Mycobacterium bovis*

- bacille Calmete-Guerin strains secreting listeriolysin of *Listeria monocytogenes*. *Microbiology* 95(9):5299-5304.
44. Heym, B., Honore, N., Truffot-Pernot, C., Banerjee, A., Schurra, C., Jacobs Jr, W. R., van Embden, J. D., Grosset, J. H., and Cole, S. T. 1994. Implications of multidrug resistance for the future of short-course chemotherapy of tuberculosis: a molecular study. *Lancet* 344:293-298.
 45. Hill, A. V. S., and Allsop, C. 1991. Common west african HLA antigens are associated with protection from severe malaria. *Nature* 352:595.
 46. Hirschfield, G. R., McNeil, M., and Brennan, P. J. 1990. Peptidoglycan associated polypeptides of *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Bacteriol.* 172:1005.
 47. Hong, Y. P., Kim, S. J., Kwon, D. W., Lew, W. J., Bai, G. H., and Lee, E. G. 1995. The counterplan for tuberculosis of Korea. Korean Institute of Tuberculosis, *Korean National Tuberculosis Association* pp. 1-34.
 48. Hunter, S. W., Gaylord, H., and Brennan, P. J. 1986. Structure and antigenicity of the phosphorylated lipopolysaccharide antigens from the leprosy and tubercle bacilli. *J. Biol. Chem.* 258(12):345-357.
 49. Jain, S., Kaushal, D., Das Gupta, S. K., and Tyagi, S. K. 1997. Construction of shuttle vectors for genetic manipulation and molecular analysis of mycobacteria. *Gene* 190(1):37-44.
 50. Kameoka, M., Nishino, Y., Matsuo, K., Ogara, N., Kimura, T., Yamazaki, A., Yamada, T., and Ikuta, K. 1994. Cytotoxic T lymphocyte response in mice induced by a recombinant BCG vaccination which produces an extracellular alpha antigen that fused with the human immunodeficiency virus type 1 envelope immunodominant domain in the V3 loop. *Vaccine* 12:153-158.
 51. Kapur, V., Li, L., Iordanescu, S., Hamrick, M. R., Wanger, A., Kreiswirth, B. N., and Musser, J. M. 1994. Characterization by automated DNA sequencing of mutations in the gene(*rpoB*) encoding the RNA polymerase β subunit in rifampicin resistant *Mycobacterium tuberculosis* strain from New York city and Texas. *J. Clin. Microbiol.* 32:1095-1098.
 52. Kaufmann, S.H.E. 1988. CD8+ T lymphocytes in intracellular microbial infections. *Immunol. Today.* 9. 168-174.
 53. Kaufmann, S.H.E. 1989. In vitro analysis of the cellular mechanisms involved in immunity to Tuberculosis. *Rev. Infect. Dis.* 11, S448-454.
 54. Kong, D., and Kunimoto, D. Y. 1995. Secretion of human interleukin 2 by recombinant *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect. Immun.* 63(3):799-803.
 55. Kremer, L., Baulard, A., Estaquier, J., Poulain-Godefroy, O., and Locht, C. 1995. Green fluorescent protein as a new expression marker in mycobacteria. *Mol. Microbiol.* 17:913-922.
 56. Kremer, L., Giveau, G., Baulard, A., Capron, A., and Locht, C. 1996. Neutralizing antibody responses elicited in mice immunized with recombinant bacillus Calmette-Guerin producing the *Schistosoma mansoni* glutathione S-transferase. *J. Immunol.* 156(11):4309-4317.
 57. Labidi, A., H.L. David and D. Roulland-Dussoix, 1985. Cloning and expression of mycobacterial plasmid DNA in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.* 30. 221-225.
 58. Lagranderie, M., Balazuc, A. M., Gicquel, B., and Gheorghiu, M. 1997. Oral immunization with recombinant *Mycobacterium bovis* BCG simian immunodeficiency virus nef induces local and systemic cytotoxic T-lymphocyte responses in mice. *J. Virol.* 71(3):2303-2309.
 59. Lim, D. G., Lee, K. Y., Jee, Y. K., Kwak, S. J., Kim, J. M. and Cha, C. Y. 1996. Evaluation of CD4+ T cell subsets in human tuberculosis. *J. Korean Soc. Microbiol.* 31:643-655.
 60. Lugosi, L., Jacobs, W. R., and Bloom, B. R. 1989. Genetic transformation of BCG. *Tubercle* 70:159-170.
 61. Lurie, M. B. 1964. Resistance to Tuberculosis. Cambridge: Harvard University Press. p.115.
 62. McAdam, J. M. 1990. The spectrum of tuberculosis in a New York City Men's shelter clinic(1982-1988). *Chest* 10:22-38.
 63. McCord, J. M., and Fridovich, I. 1968. The reduction of cytochrome C by Milk xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* 243:5753-5760.
 64. McPeck, M., Salkowitz, J., Laufman, H., Pearl, D., and Zwilling, B. S. 1992. The expression of HLA-DR by monocytes from black and from whites donor: Different requirements for protein synthesis. *Clin. Exp. Immunol.* 87(1):163-168.
 65. Meinecke, B. 1927. Consumption(tuberculosis) in classical antiquity. *Ann. Med. Hist.* 9:379-402.
 66. Meylan, P. R. A., Munis, J. R., and Richman, D. D. 1992. Concurrent human immunodeficiency virus and mycobacterial infection of macrophages *in vitro* does not reveal and reciprocal effect. *J. Infect. Dis.* 165:80-86.
 67. Middlebrook, G. 1954. Isoniazid-resistance and catalase

- activity of tubercule bacilli. *Am. Rev. Tuberc. Pulm. Dis.* 69:471-472.
68. Minnikin, D. E. 1980. Mycobacteriological classification and identification. London. Academic Press. pp.189-256.
 69. Minnikin, D. E. 1982. Complex lipids: their chemistry, biosynthesis and roles. In Ratledge C, Stanford JL(Ed.), The biology of the mycobacteria. New York. Academic Press. Vol. 1. p.95.
 70. Misra, H. P., and Fridovich, I. 1971. the generation of superoxide radical during the autoxidation of ferredoxines. *J. Biol. Chem.* 246:6886-6890.
 71. Morris, S., Bai, G. H., Suffys, P., Portillo-Gomez, L., Fairchok, M., and Rouse, D. 1995. Molecular mechanisms of multiple drug resistance in clinical isolates of *Mycobacterium tuberculosis* *J. Infect. Dis.* 171:954-960.
 72. Morse, D., Brothwell, D. R., and Ucko, P. J. 1964. Tuberculosis in ancient Egypt. *Am. Rev. Respir. Dis.* 90:524-541.
 73. Murray, C. J. L., Styblo, K., and Rouillon, A. 1990. Tuberculosis in developing countries: Burden, intervention and cost. *Bull. Int. Tuberc. Lung. Dis.* 65:6.
 74. Nagai, S., Matsumoto, J., and Nagosuga, T. 1981. Specific skin-reactive protein from culture filtrate of *Mycobacterium bovis* BCG. *Infect. Immun.* 31:1152-1160.
 75. Nakajima, K., Martinez-Maza, O., Hirano, T., Breen, E. C., Nishanian, P. G., Salazar-Gonzalez, J. F., Fashey, J. L., and Kishimoto, T. 1989. Induction of IL-6 (B cell stimulatory factor-2/IFN- β) production of HIV-1. *J. Immunol.* 142:531-536.
 76. Nancy, D., 1994. Mycobacterium: Isolation, Maintenance, Transformation and Mutant selection. *Method In Cell Biology* 45:107-125.
 77. Orme, I. M. 1997. Progress in the development of new vaccines against tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 1(2):95-100
 78. Orme, I. M., and McMurray, D. N. 1996. The immune response to tuberculosis in animal models. In Rom WN and Garay S(eds), Tuberculosis, Little, Brown Inc. Boston, pp. 269-280.
 79. Orme, I. M., Andersen, P., and Boom, H. 1993. T cell response to *Mycobacterium tuberculosis*. *J. Infect. Dis.* 167:1481-1497.
 80. Osborn, T. W. 1983. Changes in BCG strains. *Tubercle* 64:1-13
 81. Ranes, M. G., Rauzier, J., Lagranderie, M., Gheorghiu, M., and Gicquel, B. 1990. Functional analysis of pAL5000, a plasmid from *Mycobacterium fortuitum*: Construction of a "mini" *Mycobacterium-Escherichia coli* shuttle vector. *J. Bacteriol.* 172(5):2793-2797.
 82. Rauzier, J., Moniz, J., and Gicquel, B. 1988. Complete nucleotide sequence of pAL5000, a plasmid from *Mycobacterium fortuitum*. *Gene* 71:315-321.
 83. Reggiardo, Z., Vazquez, E., and Schnaper, L. 1980. ELISA tests for antibodies against mycobacterial glycolipids. *J. Immunol. Meth.* 34:55.
 84. Riley, R. L. 1957. Infectiousness of air from a tuberculosis ward. *Am. Rev. Respir. Dis.* 85:511-525.
 85. Roder, J. C., Helfand, S. L., Werkmeister, J., McGarry, R., Beaumont, T. J., and Duwe, A. 1982. Oxygen intermediates are triggered early in the cytolytic pathway of human NK cells. *Nature* 298:509-572.
 86. Rom, W. N., and Garay, S. M. 1996. Tuberculosis. Little, Brown and Company(Inc). pp.1-140.
 87. Romagnoli, G. 1968. L'evoluzione del concetto della contagiosita e della profilassi della tubercolosi polmonare attraverso I secolo, dall' antichita' fino alla scoperta bacillo di koch. *G. Bacteriol. Virol. Immunol.* 6:233-273.
 88. Rook, G. W. A. 1990. Mechanisms of immunologically mediated tissue damage during infection. In Champion RH. Pye RJ(Ed.), Recent advances in dermatology. London. Churchill Livingstone. pp. 193-210.
 89. Rouse, D. A., and Morris, S. L. 1995. Molecular mechanisms of Isoniazid resistance in *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis*. *Infect. Immun.* 63:1427-1433.
 90. Rowling, J. T. 1967. Respiratory Disease in Egypt. In D Brothwell, AT sandison(Eds), Diseases in Antiquity. Spring field:Thomas. pp. 489-493.
 91. Schieber, G. J., Poullier J. P., and Greenwald, L. M. 1991. Health care systems in twenty-four countries. *Health Affairs* 10:22-38.
 92. Simmons, F. J. 1968. *A Ceremonial Ox of India*. Madison: University of Wisconsin Press. pp.234-276.
 93. Sjogren, I., and Sutherland, I. 1974. Studies of tuberculosis in man in relation to infection in cattle. *Tubercle* 56:113-127.
 94. Skerman, V. B. D., McGowan, V., and Sneath, P. H. A. 1989. Approved lists of bacterial name. American Society for Microbiology. pp.93-97.
 95. Snapper, S. B., Melton, R. E., Mustafa, S., Kieser, T., and Jacobs Jr, W. R. 1990. Isolation and characterization of efficient plasmid transformation mutants of

- Mycobacterium smegmatis*. *Mol. Microbiol.* 4(11):1911-1919.
96. Stead, W. W. 1992. Genetics and resistance to tuberculosis. Could resistance be enhanced by genetic engineering? *Ann. Int. Med.* 116:937-941.
 97. Steele, J. H., and Ranney, A. F. 1958. Animal tuberculosis. *Am. Rev. Tuberc.* 77:908-922.
 98. Stover, C.K., V.F. de la Cruz, T.R. Fuerst, J.E. Burlein, L.A. Benson, L.T. Bennett, G.P. Bansal, J.F. Young, M.H. Lee, G.F. Hatfull, S.B. Snapper, R.G. Barletta, W.R. Jacobs Jr. and B.R. Bloom, 1991. New use of BCG for recombinant vaccines, *Nature* 351, 456-460.
 99. Styblo, K. 1991. Epidemiology of tuberculosis. Selected papers Vol 24, Royal Netherlands Tuberculosis Association, Netherlands.
 100. Sudre, P., G. ten Dam, and A. Kochi, Tuberculosis: a global overview of the situation today, *Bull W. H. O.* 70, 149-159.
 101. Temesgen, Z., Satoh, K., Uhl, J., Kline, B., and Cockerill III, F. 1995. Evaluation of the utility of polymerase chain reaction single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) for detecting a point mutation in the *katG* gene of *M. tuberculosis*. 95th ASM general meeting, Session 38. novel antimycobacterial drugs and drug resistance. U-45. 124.
 102. Uhl, J. R., Kline, B., Abukhader, A., Zhang, Y., Williams, D., Roberts, G., Stockman, L., and Cockerill III, F. 1995. Association of two point mutation in the catalase-peroxidase (*katG*) gene of *Mycobacterium tuberculosis* with isoniazid resistance. 95th ASM general meeting, Session 38. Novel antimycobacterial drugs and drug resistance. U-46. 124.
 103. Villar, C., and Benitez, J. 1994. Perspectives and limitations of the mycobacterial expression system. *Arch. Med. Res.* 25:451-453.
 104. Wayne, L. G., and Diaz, G. A. 1979. Reciprocal immunological distances of catalase derived from strains of *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium tuberculosis*, and closely related species. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 29:19-24.
 105. Williams, D. L., Waguespack, C., and Eisenach, K. 1994. Characterization of rifampicin resistance in pathogenic mycobacteria. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 38:2380-2386.
 106. Winter, N., Lagranderie, M., Gangloff, S., Leclerc, C., Gheorghiu, M., and Gicquel, B. 1995. Recombinant BCG strains expressing the SIVmac251nef gene induce proliferative and CTL responses against nef synthetic peptides in mice. *Vaccine* 13:471-478.
 107. Winter, N., Lagranderie, M., Rauzier, J., Timm, J., Leclerc, C., Guy, B., Kieny, M. P., Gheorghiu, M., and Gicquel, B. 1991. Expression of heterologous genes in *Mycobacterium bovis* BCG: induction of a cellular response against HIV-1 Nef protein. *Gene* 109:47-54.
 108. Yanez, M. A., Coppola, M. P., Russo, D. A., Delaha, E., Chaparas, S. D., and Teager, JR. 1986. Determination of Mycobacterial Antigens in Sputum by Enzyme Immunoassay. *J. Clin. Microbiol.* 822-825.
 109. Zeuner, P. E. 1963. History of Domesticated Animal. New York. Harper Row. pp.201-204.
 110. Zhang, Y., Garbe, T., and Young, D. 1993. Transformation with *katG* restores isoniazid-sensitivity in *Mycobacterium tuberculosis* isolates resistant to a range of drug concentrations. *Mol. Microbiol.* 8:521-524.
 111. Zhang, Y., Heym, B., Allen, B., Young, D., and Cole, S. T. 1992. The catalase-peroxidase gene and isoniazid resistance of *Mycobacterium tuberculosis*. *Nature* 358:591-593.
 112. Zhu, Y. D., Fennelly, G., Miller, C., Tarara, R., Saxe, I., Bloom, B. R., and McChensney, M. 1997. Recombinant BCG expressing the measles virus nucleoprotein protects infant rhesus macques from measles virus pneumonia. *J. Infect Dis.* 176(6):1445-1453.
 113. 보건복지부. 1987. 생물학적 제제기준 및 시험방법 개정. pp.61-72.



조상현

- 1989 건국대학교 생물학과 학사
- 1991 건국대학교 대학원 석사
- 1994 미국 ATCC DNA Recombinant tech. 과정 수료
- 1997 일본 Takara 중앙연구소 연수
- 1998 미국 Tuberculosis Vaccine Workshop 참석
- 1999 건국대학교 대학원 박사
- 1991-현재 대한결핵협회 결핵연구원 재직