

결핵 환자에서 면역학적 지표로서의 sIL-2R, IFN- γ , Neopterin에 관한 연구

이화여자대학교 의과대학 내과학교실, 미생물학교실*

류연주, 유금혜, 김수현, 이종수, 천선희, 서주영*

=Abstract=

Soluble IL-2R, IFN- γ and Neopterin as Immunologic Markers in Patients with Tuberculosis

Yon Ju Ryu, M.D., Kum Hei Ryu, M.D., Su Hyun Kim, M.D.,
Jong Soo Lee, M.D., Seon Hee Cheon, M.D., Ju Young Seoh, M.D.

Department of Internal Medicine, Ewha Women's University, College of Medicine, Seoul, Korea

Background : The cell-mediated immune response plays an important role in tuberculosis. After being activated by mycobacterial antigens, T lymphocytes express a high affinity receptor (IL-2R) for interleukin-2 (IL-2) on their own surface and release a soluble fraction of the IL-2 receptor (sIL-2R) from the cell membrane into the circulation. Neopterin is a metabolite of guanosine-triphosphate, which is produced by stimulated macrophages under the influence of IFN- γ with a T lymphocyte origin. Therefore, the utility of sIL-2R, IFN- γ and the neopterin levels as immunologic indices of the cell-mediated immune response and severity of disease in patients with pulmonary tuberculosis was assessed.

Method : The serum sIL-2R, IFN- γ and neopterin levels were measured in 39 patients with pulmonary tuberculosis, 6 patients with tuberculous lymphadenitis prior to treatment and 10 healthy subjects. The serum and pleural sIL-2R, neopterin and ADA levels were measured in 22 patients with tuberculous pleurisy. The patients with pulmonary tuberculosis were divided into a mild, moderate and severe group according to the severity by ATS guidelines. To compare the results from these patients with those of the pretreatment levels, the sIL-2R, IFN- γ and neopterin levels were measured in 36 of the 39 patients(1 patient, expired; 2 patients were referred to a sanitarium) with pulmonary tuberculosis after 2 months of treatment.

Address for correspondence :

Seon Hee Cheon, M.D.

110-126, 70, Chongro 6-Ka, Chongro-ku, Seoul, Korea

Department of Internal Medicine, Ewha Womans University, College of Medicine,

Phone : 02-760-5053 Fax : 02-760-5053 E-mail : shcheon@ewha.ac.kr

Results : 1) The serum sIL-2R and IFN- γ levels were elevated in patients with tuberculosis when compared to those of healthy subjects ($p>0.05$). The neopterin concentration in the serum was significantly lower in patients with pulmonary tuberculosis(2967 ± 2132.8 pg/ml) than in healthy controls(4949 ± 1242.1 pg/ml)($p<0.05$). 2) In the pulmonary tuberculosis group, the serum sIL-2R and IFN- γ levels were higher in patients with severe disease than those in patients with mild and moderate disease. However, the neopterin levels declined as the pulmonary tuberculosis became more severe ($p<0.01$). 3) The mean serum sIL-2R and IFN- γ levels declined from 1071 ± 1139.4 U/ml to 1023 ± 1920.9 U/ml($p>0.05$), 41 ± 52.8 pg/ml to 22 ± 23.9 pg/ml($p<0.05$), respectively, after 2 month of treatment. The mean serum neopterin levels increased from 3158 ± 2272.6 pg/ml to 3737 ± 2307.5 pg/ml($p>0.05$) after a 2 month of treatment. These findings were remarkable in the severe group of pulmonary tuberculosis with a clinical correlation. 4) In the patients with tuberculous pleurisy, the serum sIL-2R and ADA were significantly higher than those in the pleural fluid, However, the neopterin levels in the sera and pleural effusion were similar.

Conclusion : On the basis of this study, sIL-2R, IFN- γ and neopterin measurements may not only provide an insight into the present state of the cell-mediated immune response, but also serve as parameters monitoring of the prognosis of the disease, particularly in patients with severe pulmonary tuberculosis. In addition, an assay of the pleural sIL-2R levels might signal a stimulated local immunity including T cell activation in the tuberculous pleural effusion.(*Tuberculosis and Respiratory Diseases* 2002, 53:294-308)

Key words : sIL-2R, IFN- γ , Neopterin, Cell-mediated immune response, Tuberculosis.

서 론

결핵 환자의 치료와 관리에 있어서 급성 반응인자(acute reactants)로써 C-반응성 단백질(CRP), 혈구 침강속도(ESR) 등의 검사, 체중감소, 호흡곤란 등의 임상적 변화 양상과 흉부 방사선학적 소견으로 결핵의 중증도를 결정하지만 이것으로 환자의 면역상태를 파악할 수는 없다. 결핵 환자에서 결핵 외의 원인에 의해서 질병이 악화되는 경우 감별하기 어려운 예가 종종 있으며, 후천성 면역결핍증 환자의 경우 증상이 모호하고, 객담 검사상 양성 환자가 적으며 흉부 방사선 소견이 비전형적이므로 결핵의 진단 자체가 어렵고 이로 인해 치료가 지연되는 경우가 많다. 결핵은 세포 매개성 면역반

응이 병태생리에 중요한 역할을 하는 감염성 질환으로 T 림프구와 대식세포가 면역반응에 중요한 역할을 담당하며 결핵균을 사멸시킬 뿐 아니라 숙주 조직을 파괴하여 결핵 병변을 형성시킨다¹. 결핵균 항원으로 T 림프구가 활성화되면 interleukin-2(IL-2)를 비롯한 여러 종류의 cytokine을 분비하며 활성화된 T 림프구에서는 α 와 β chain으로 구성된 IL-2에 대한 수용체(IL-2 receptor:IL-2R)가 만들어진다. 이 중 수용성 형태로 유리되기도 하는 α chain(soluble IL-2R:sIL-2R)은 세포표면의 수용체 표현의 정도와 비례하므로 T 림프구 활성화의 척도가 된다². 활성화된 T 림프구에서 분비되는 IFN- γ 는 대식세포의 결핵균 복제 억제 능력을 증가시키고 대식세포로부터 neopterin과 여러 cyto-

kine의 분비를 촉진시킨다³. Neopterin은 활성화된 대식세포에서 분비되는 물질로 활동성 결핵 외에도 세포 매개성 면역반응을 보이는 악성종양, 전신성 홍반성 낭창, 세포내 감염, 류마티스성 관절염, 급성 이식거부반응, 유육종증 등의 질환에서도 증가되며³, 최근에는 CD4+ T 림프구가 감소되는 후천성 면역결핍증 환자에서 결핵 활동성의 지표⁴로 연구되고 있다.

이에 저자는 본 연구에서 활동성 폐결핵 환자와 결핵성 림프절염 환자, 결핵성 흉막염 환자들을 대상으로 결핵의 중증도와 치료반응성 및 예후를 반영하는 지표로서 sIL-2R, neopterin, IFN- γ 를 측정하여 임상적 유용성을 판정하고자 하였다.

연구 대상 및 방법

1. 연구 대상

2001년 1월 1일부터 2001년 12월 31일까지 이화의료원 동대문 병원에 입원하였거나 혹은 외래로 내원한 환자 중 흉부 방사선 촬영상 저명한 결핵병변이 있거나 객담 도말 검사에서 결핵균이 양성인 활동성 폐결핵 환자 39명, 림프절 생검으로 확진된 결핵성 림프절염 환자 6명, 흉막 삼출액의 ADA가 증가되어 있거나 흉막 생검 조직검사로 확진된 결핵성 흉막염 환자 22명을 대상 환자군으로 하였다.

활동성 폐결핵은 남자가 24명, 여자가 15명으로 평균연령은 37±17세였고, 결핵성 림프절염 환자는 남자가 1명, 여자가 5명으로 평균연령은 48±19세였다. 결핵성 흉막염 환자는 남자가 15명, 여자가 7명이었고 평균연령은 33±18세였다. 폐결핵 환자 39명을 ATS guidelines⁵에 따라 중증도를 분류하였고, 이 중 경증 결핵이 18명, 중등증 결핵이 14명, 중증 결핵이 7명이었다. 정상 대조군은 건강한 남녀 각각 5명씩 총 10명으로 결핵의 기왕력이 없으며 현재 호흡기 증상이 없고 세포성 면역장애가

울 수 있는 다른 질환이 없는 사람들로, 이들의 평균연령은 28±3세였다.

2. 연구 방법

1) 측정시기 및 검체채취

활동성 폐결핵 환자, 결핵성 림프절염 환자 및 정상 대조군에서 치료전 혈청 sIL-2R, IFN- γ 와 neopterin을 측정하였고, 결핵성 흉막염 환자에서 치료전 혈청과 흉막액에서 각각 sIL-2R, neopterin, ADA를 측정하였다. 활동성 폐결핵 환자 39예에서 결핵으로 사망한 1명과 외래추적 관찰 중에 결핵 요양소로 전원된 2명을 제외한 36명에서 초치료 2개월 후 혈청 sIL-2R, IFN- γ 와 neopterin을 측정하였다.

대상 환자들과 대조군의 말초 정맥혈 10 ml를 채혈하였고, 결핵성 흉막염 환자들은 흉수천자를 통해 흉막액을 채취하여 정맥혈과 흉막 삼출액을 각각 1,500 rpm에서 10분간 원심 분리하여, 혈청과 흉막 삼출액을 원심 분리하여 얻은 상층액을 eppendorf tube에 담아 검사 전까지 -70℃에 냉동 보관하였다.

2) 측정방법

(1) sIL-2R는 서로 다른 두 개의 epitope에 단일항체를 이용한 sandwich ELISA방법으로 Endogen human sIL-2R ELISA kit(Pierce-Endogen, Rockford, USA)를 이용하여 측정하였다. 항 sIL-2R에 대한 단일항체가 흡착된 stripwell plate에 대상 환자의 검체(혈청 및 흉막 삼출액)를 100 μ l를 가하여 검체내의 sIL-2R가 well에 흡착되어 있는 항체와 결합하게 하였다. 처음의 항 sIL-2R와 결합한 검체의 sIL-2R의 다른 epitope에 conjugate reagent를 결합시켜 2시간 동안 20-25℃에서 150 rpm으로 흔들면서 배양하여 sandwich를 형성시키고, 3회 세척으로 비결합물질을 제거하였다. 여기

Table 1. Characteristics of patients, baseline sIL-2R, IFN- γ and Neopterin levels in control and tuberculosis

	Control (n=10)	Pulmonary Tb (n=39)	Tb lymphadenitis (n=6)	Tb pleurisy (n=22)
Age	28 \pm 3	37 \pm 17	48 \pm 19	33 \pm 18
Sex(M : F)	5 : 5	24 : 15	1 : 5	15 : 7
sIL-2R(U/ml)	865 \pm 618.3	1166 \pm 1214.6	1079 \pm 1253.6	1038 \pm 910.8
IFN- γ (pg/ml)	3 \pm 1.4	48 \pm 62.9	17 \pm 20.9 ^f	-
Neopterin(pg/ml)	4949 \pm 1242.1	2967 \pm 2132.8*	3013 \pm 1877.3	2035 \pm 1216.4*

*p <0.05 when compared to the control group

^fn=4 (2 patients of tuberculous lymphadenitis group(n=6) are missing data)

Values are expressed as mean \pm SD

에 TMB(tetramethylbenzidine) substrate용액을 첨가하여 충분히 혼합한 후에 30분간의 배양 과정을 거쳐 450 nm의 파장에서 분광분석기로 sIL-2R를 측정하였으며, 예민도는 24 U/ml이었다.

(2) IFN- γ 는 Opt ELATH Human IFN- γ set (Pharming, San Diego, USA)를 이용하여 측정하였다. 항 IFN- γ 가 피복된 kit내의 microtiter well에 검체 100 μ l를 넣어 2시간의 배양과 5회의 세척 과정을 거친 후 단일항체와 Avidine-horseradish peroxidase conjugate를 함께 첨가하여 실온에서 1시간 동안 배양 후에 7회 세척하였다. TMB substrate용액을 첨가하여 450 nm에서 분광분석기로 IFN- γ 를 측정하였으며, 예민도는 5 pg/ml이었다.

(3) Neopterin은 Neopterin ELISA kit(Immuno-tech, Marseilles, France)를 이용하여 측정하였다. Neopterin에 대한 단일항체가 흡착된 microtiter plate에 검체를 25 μ l를 넣은 뒤, 두 번째 단일항체인 neopterin-peroxyase conjugate를 첨가하여 18-25°C에서 350 rpm으로 흔들면서 2시간동안 배양하고 2회 세척하였다. 여기에 TMB solution substrate를 첨가하여 30분간 배양한 뒤 분광분석기로 450 nm에서 neopterin을 측정하였으며, 예민도는 200 pg/ml이었다.

(4) ADA는 Hitachi 750 장비로 효소법을 이용하여 측정하였다. 검체 중의 adenosine deaminase의 작용으로 기질인 adenosine이 inosine과 암모니아가 되고 inosine에 purine nucleoside phosphorylase와 xanthine oxidase를 작용시켜 과산화수소가 생성되면 peroxidase를 반응시켜 rate assay로 ADA값을 구하여 U/L로 표시하였다.

3) 통계처리

모든 자료는 평균 \pm 표준편차로 표시했다. 통계는 Window용 SPSS 10.0 프로그램으로 paired t-test, ANOVA test, Pearsons correlation coefficient의 방법을 이용하였고 유의도(p value)가 0.05 미만인 경우에 통계학적 의의가 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. 대상 환자의 sIL-2R, IFN- γ 와 neopterin 수치

sIL-2R는 대조군 865 \pm 618.3 U/ml, 폐결핵 1166 \pm 1214.6 U/ml, 결핵성 림프절염 1079 \pm 1253.6 U/ml, 결핵성 흉막염이 1038 \pm 910.8 U/ml이었으며, IFN- γ 는 대조군 3 \pm 1.4 pg/ml, 폐결핵 48 \pm 62.9 pg/ml, 결핵성 림프절염 17 \pm 20.9 pg/ml로

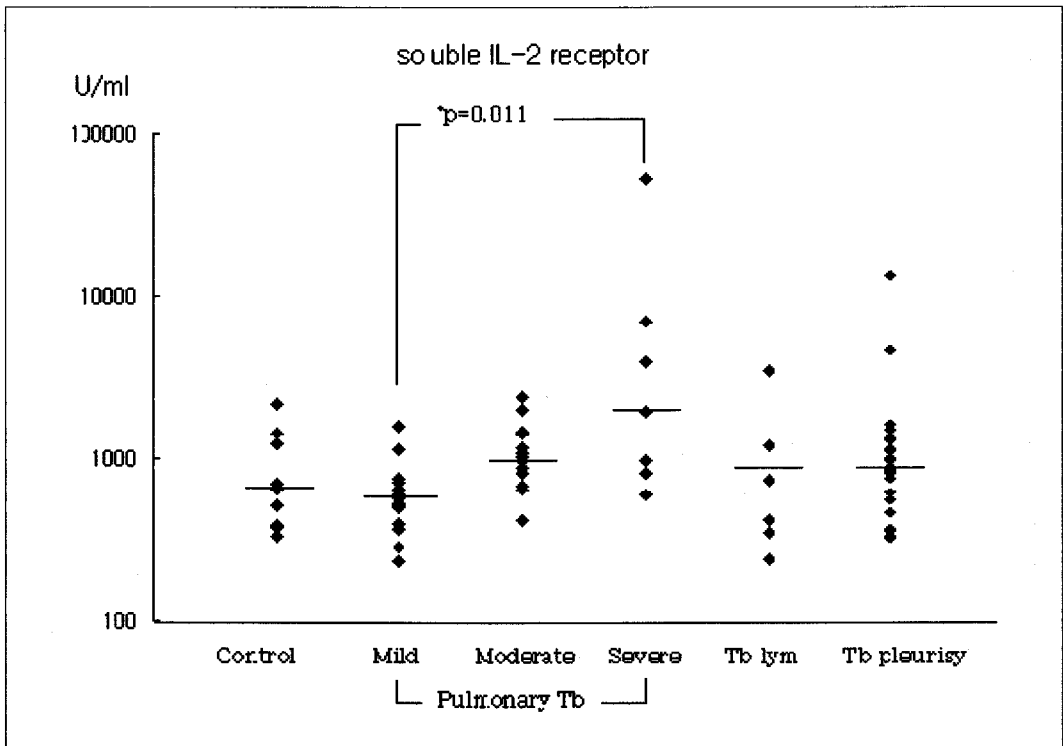


Fig. 1. Baseline sIL-2R levels in control, tuberculous lymphadenitis(Tb lym), tuberculous pleurisy and pulmonary tuberculosis (mild, moderate, severe).

결핵환자에서 대조군에 비하여 증가된 경향을 보였다($p>0.05$). Neopterin은 대조군 4949 ± 1242.1 pg/ml, 폐결핵 2967 ± 2132.8 pg/ml, 결핵성 림프절염 3013 ± 1877.3 pg/ml, 결핵성 흉막염이 2035 ± 1216.4 pg/ml로 결핵환자에서의 분비가 대조군에 비하여 상당히 감소되는 경향을 보였으며, 폐결핵군과 결핵성 흉막염군에서는 통계적으로 유의하게 감소되어 있었다($p<0.05$)(Table 1, Fig. 1, 2, 3).

2. 폐결핵 병변의 중증도에 따른 비교

활동성 폐결핵 환자 39명을 흉부 방사선 병변의 범위에 따라 중증도를 분류하여(American Thoracic Society 1969) 경증군 18명, 중등증군 24명, 중증군 7명에서 sIL-2R, IFN- γ 와 neopterin 수치를 비교하였다. sIL-2R는 대조군 865 ± 618.3 U/ml, 경

증군 674 ± 323.3 U/ml, 중등증군 1168 ± 537.2 U/ml, 중증군이 2558 ± 2527.4 U/ml로 결핵의 중증도가 심할수록 현저히 증가하는 경향을 보였다($p<0.01$). IFN- γ 는 대조군 3 ± 1.4 pg/ml, 경증군 31 ± 30.7 pg/ml, 중등증군 35 ± 48.8 pg/ml, 중증군 118 ± 103.1 pg/ml로 결핵의 중증도가 심할수록 통계적으로도 유의하게 증가하였다($p<0.001$). Neopterin은 대조군 4949 ± 1242.1 pg/ml, 경증군 4113 ± 2174.9 pg/ml, 중등증군 2498 ± 2132.4 pg/ml, 중증군이 1457 ± 1335.3 pg/ml로 sIL-2R, IFN- γ 와는 달리 결핵의 중증도가 심할수록 수치가 감소하는 경향을 보였다($p<0.01$)(Table 2, Fig. 1, 2, 3).

3. 폐결핵 환자에서 치료전과 2개월 후의 비교 및 임상적 중증도와와의 관련성

활동성 폐결핵 환자 39명중에 사망한 1명과 결핵

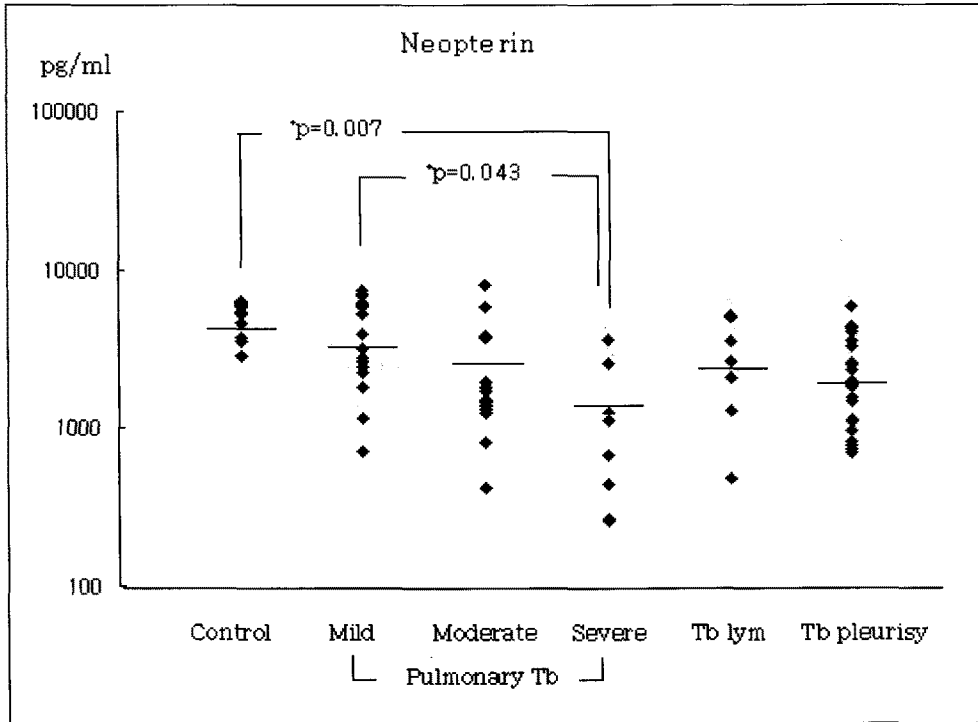


Fig. 2. Baseline Neopterin levels in control, tuberculous lymphadenitis(Tb lym), tuberculous pleurisy and pulmonary tuberculosis (mild, moderate, severe).

요양소로 전원된 2명을 제외한 36명에서 치료전과 치료후 2개월에 각각 sIL-2R, IFN- γ , neopterin과 혈구 침강속도(ESR)의 변화를 비교하였다. ESR은 치료 전에 각각 70 ± 29.5 mm/hr에서 2개월 후 29 ± 24.5 mm/hr로 유의하게 감소되었고($p < 0.0001$), sIL-2R는 치료 전에 1071 ± 1139.4 U/ml에서 치료 후 1023 ± 1920.9 U/ml로 감소하였으며($p > 0.05$), IFN- γ 는 치료전에 41 ± 52.8 pg/ml에서 치료후 2개월에 22 ± 23.9 pg/ml로 감소하였다($p < 0.05$). Neopterin은 치료전 3158 ± 2272.6 pg/ml에서 치료후 2개월에는 3737 ± 2307.5 pg/ml로 약간 증가하는 추세를 보였다($p > 0.05$)(Table 3, Fig. 4).

폐결핵 환자의 중증군 7명에서 임상경과와 sIL-2R, IFN- γ , neopterin의 치료 전후 변화와의 관계를 살펴보았다. 입원 치료중 한달 이내에 사망한 1명의 환자에서 sIL-2R 52771.3 U/ml, IFN- γ 260.2

pg/ml로 각각의 지표 중에서 최대치를 보였으나, neopterin은 259.0 pg/ml로 최소치를 보였다. sIL-2R가 7030.7 IU/ml로 두 번째 최대치를 보인 환자는 치료 2개월 뒤 12088.5 IU/ml로 증가하고 neopterin은 치료전 2번째 최소치 264.0 pg/ml에서 치료 후에는 예민도 이하로 감소하였다. 이 환자는 항결핵제 투여 후에도 임상적 경과의 악화를 보이며 결핵성 장염과 후두염이 동반되었다. 진단당시 만성 알콜성 간염을 동반했던 환자는 sIL-2R이 600.5 U/ml에서 치료후 2개월 뒤 1063.2 U/ml로 약간 증가하였으나, IFN- γ 는 치료 전후 모두 예민도 이하로 낮았고 neopterin은 치료전 2541.0 pg/ml에서 9353.0 pg/ml로 크게 증가하였다. 이 환자는 초기에 임상증상 악화와 흉부 단순 촬영상 새로운 공동성 병변의 형성을 보였으나 치료 2개월 후에는 임상적 호전을 보였다. 다른 4명의 환자들

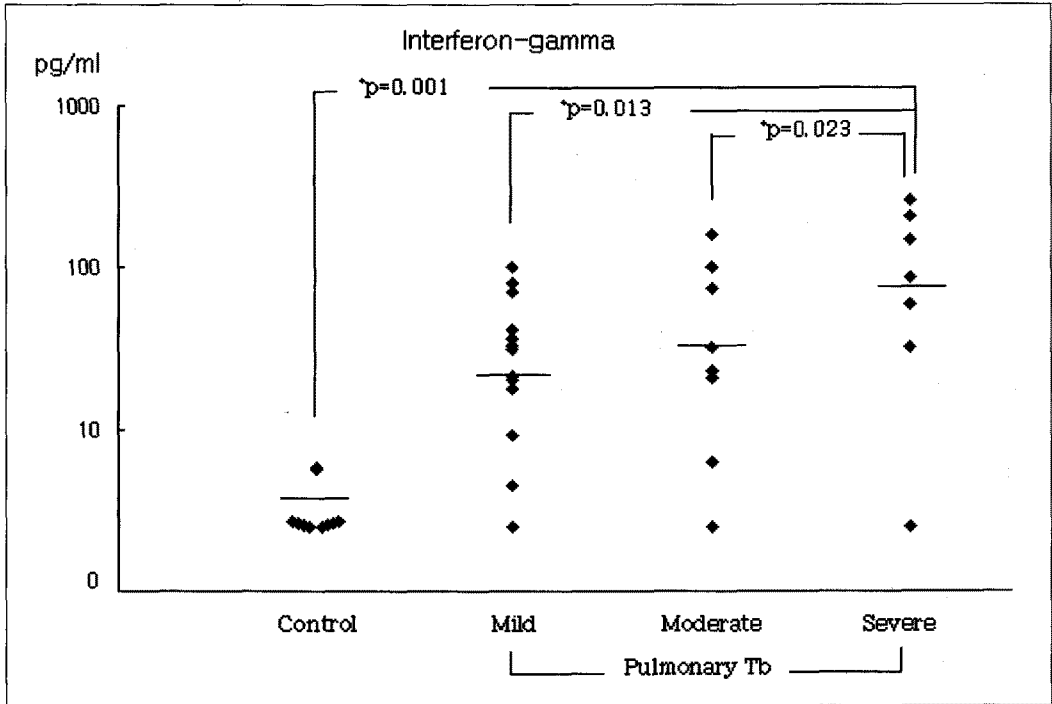


Fig. 3. Baseline IFN- γ levels in control and pulmonary tuberculosis (mild, moderate, severe).

은 항결핵제 투여후 sIL-2R와 IFN- γ 는 감소하는 경향을 보였고 neopterin은 증가하는 경향을 보였으며 임상적인 경과의 호전을 보였다.

4. 결핵성 흉막염 환자의 혈청과 흉막액에서 sIL-2R, Neopterin과 ADA의 비교

결핵성 흉막염 환자에서 sIL-2R와 ADA는 혈청과 흉막액에서의 농도를 비교해 보았을 때 흉막액에서 혈청에 비하여 훨씬 고농도의 값을 보여 ($p < 0.001$), 흉막액과 혈청에서 비가 sIL-2R와 ADA에서 각각 36 ± 24.7 , 3 ± 1.1 이었다. Neopterin은 혈청에서 2035 ± 1216.4 pg/ml, 흉막액에서 2035 ± 2249.4 pg/ml로 차이가 없었다(Table 4).

5. 폐결핵 환자에서 혈청 sIL-2R, IFN- γ 와 neopterin의 상관관계

폐결핵 환자 39명에서 sIL-2R와 IFN- γ 는 유의한

양의 상관관계를 보였다($r = 0.621$, $p < 0.0001$). 그러나 IFN- γ 와 neopterin은 경미한 역 상관관계를 보였으며($r = -0.351$, $p < 0.05$), sIL-2R와 neopterin간에는 유의한 상관관계를 보이지 않았다($r = -0.253$, $p > 0.05$).

고 찰

결핵은 대식세포에 의해 제시된 결핵균 항원과 T 림프구가 접촉하면서 림프구가 활성화되어 이를 주축으로 하는 세포 매개성 면역반응이 주를 이루는 질환이다. 활동성 결핵에서는 CD4+ T 림프구의 수는 감소하고 CD8+ T 림프구 수의 변화는 적은데, 이들은 결핵균 항원에 의해 모두 활성화되어 숙주가 결핵의 감염에서 회복되는데 참여한다. 특히 CD4+ T 림프구가 IL-2와 IFN- γ 등의 cytokine을 분비하여 항원 발현을 더욱 증강시키고 면역반응을 촉진시키는 중요한 역할을 한다¹.

Table 2. Characteristics of patients, baseline sIL-2R, IFN- γ and Neopterin levels according to the severity of pulmonary tuberculosis

	Control	Pulmonary tuberculosis(n=39)		
	(n=10)	Mild(n=18)	Moderate(n=14)	Severe(n=7)
sIL-2R(U/ml) [#]	865 ± 618.3	674 ± 323.3	1168 ± 537.2	2558 ± 2527.4
IFN- γ (pg/ml) ^{###}	3 ± 1.4	31 ± 30.7	35 ± 48.8	118 ± 103.1*
Neopterin(pg/ml) [#]	4949 ± 1242.1	4113 ± 2174.9	2498 ± 2132.4	1457 ± 1335.3*

*p<0.05 when compared to the control group

[#]n=4 (2 patients of tuberculous lymphadenitis group(n=6) are missing data)

Values are expressed as mean±SD

*p<0.05 when compared to the control group

[#]p<0.01 and ^{###}p<0.001 when compared to the patients within pulmonary tuberculosis group according to the ATS guidelines' severity(ANOVA)

Values are expressed as mean±SD

Table 3. Changes of sIL-2R, IFN- γ and Neopterin before and after 2 months of treatment in patients with pulmonary tuberculosis(n=36)

	Baseline	2 Months
ESR(mm/hr)	70 ± 29.5	29 ± 24.5**
sIL-2R(U/ml)	1071 ± 1139.4	1023 ± 1920.9
IFN- γ (pg/ml)	41 ± 52.8	22 ± 23.9*
Neopterin(pg/ml)	3158 ± 2272.6	3737 ± 2307.5

*p<0.05 and **p<0.0001 when compared to baseline level

Values are expressed as mean±SD

IL-2는 1976년 Morgan⁶에 의하여 T 림프구의 성장과 증식을 촉진하는 인자로 발견되었으며 활성화된 T 림프구에서는 IL-2R가 세포 표면에 발현되어 IL-2와 결합하면서 생물학적 작용을 나타낸다. Rubin²이 용해상태의 IL-2R를 발견하였고 정상인의 혈청에서는 100-500 U/ml로 낮으나 세포성 면역질환에서 상승하므로 활성화된 T 림프구의 지표가 되며, 면역기능을 평가 할 수 있는 치료적 접근법으로 활발하게 연구되고 있다.

IFN- γ 는 T 림프구와 NK cell에서 분비되는 glycoprotein으로 결핵균에 대한 대식세포의 저항력을 증가시켜주는 않지만 결핵균에 대한 살균능을 증가시킨다. IFN- γ 는 대식세포의 hydrogen peroxide 생산을 증가시켜 결핵균의 세포내 제거와 결핵균 복제 억제능력을 촉진하며, 대식세포를 감

작시켜 TNF- α 및 cytokine의 분비를 촉진시킨다. 그러나 과다 생성시 국소적인 염증과 조직의 파괴를 초래하기도 한다⁷.

Neopterin은 guanosine triphosphate에서 유래하는 대사물질로 neurotransmitter 합성의 중요한 cofactor인 biopterin의 중간산물인 pyrazinopyridine의 복합체로 바이러스나 결핵균의 감염, 류마티스성 관절염, 전신성 홍반성 낭창, 급성 이식 거부반응과 같은 면역질환에서 혈청내 농도와 요중 배설이 증가한다고 알려져 있다. 활성화된 T 림프구에서 분비되는 IFN- γ 가 대식세포를 감작시키면 neopterin의 분비가 24시간 이내에 증강되어 2-3일 이면 최고에 이르고 사구체 여과와 세뇨관 분비를 통해 신장으로 배설되어 단핵구와 대식세포의 활성화의 지표로써 또한 세포 매개성 면역반응의 장

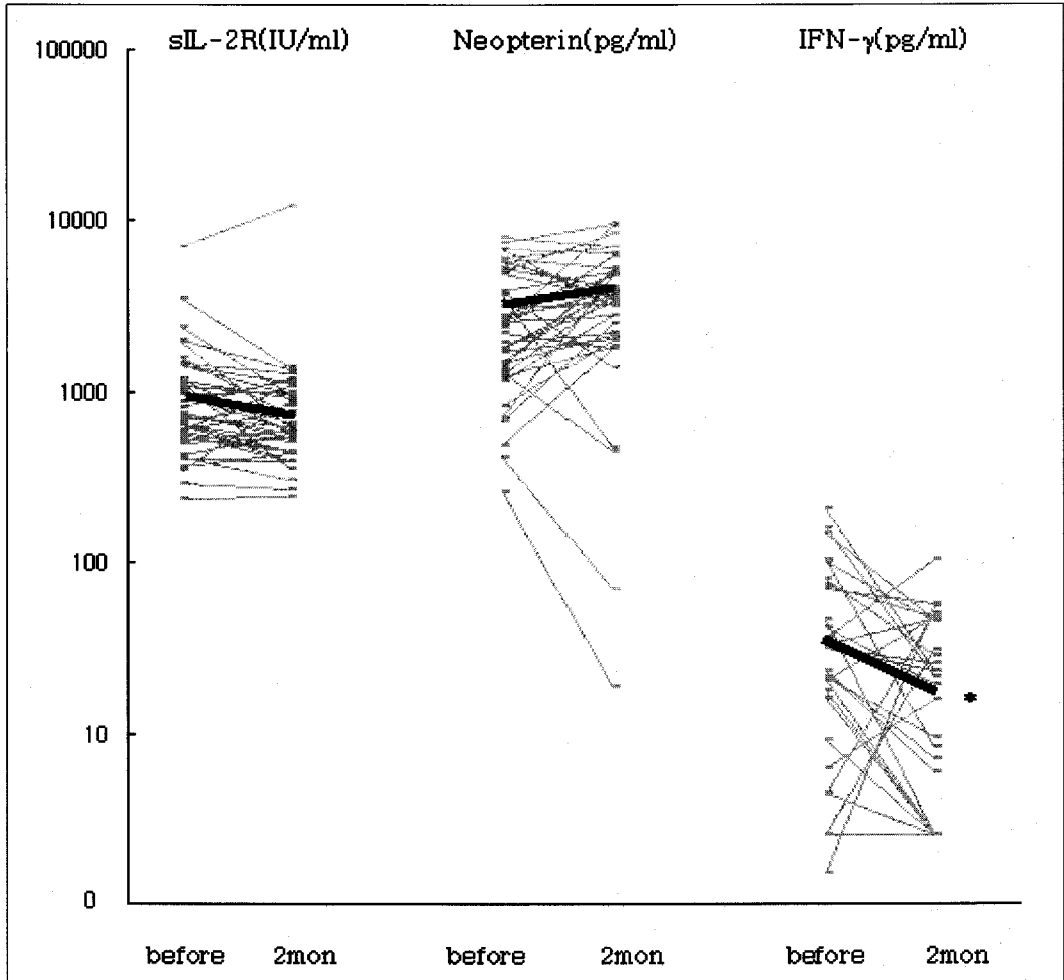


Fig. 4. Changes of sIL-2R, Neopterin and IFN- γ before and after 2 months of treatment in patients with pulmonary tuberculosis(n=36)

—line is mean value, *p<0.05 when compared to baseline level.

애를 알 수 있는 간접적인 지표로 연구되고 있다³. 최근엔 CD4+ T 림프구의 수와 기능이 저하된 AIDS 환자에서 결핵 등의 세포 매개성 면역질환이 발생했을 때 neopterin 활성화에 대한 연구⁴가 되고 있으며, 결핵 등 면역질환의 경과에서 임상상이나 흉부 방사선 촬영소견보다 먼저 변화한다는 보고³⁸도 있다.

본 연구에서는 폐결핵 환자에서 중증일수록 sIL-2R와 IFN- γ 는 통계적으로 유의한 증가를 보였으

며, neopterin은 감소하는 경향을 보였다(Table 2, Fig. 1, 2, 3). 흉부 방사선학적으로 중증일수록 숙주내의 결핵균의 수가 많이 증식된 상태이며 면역반응의 정도가 투입된 결핵균의 양에 비례한다면, sIL-2R와 IFN- γ 의 증가는 결핵균에 따른 체내 면역반응의 활성화를 보여주는 것으로 생각할 수 있으며 이는 활동성 폐결핵 환자의 병변이 크고 임상적으로 중증일수록 혈청내 농도가 높다는 다른 보고들과도 같은 결과³⁹⁻⁴⁴를 보였다. 그러나, 본 연

Table 4. Soluble IL-2R, Neopterin and ADA levels of serum and pleural effusion in patients with tuberculous pleurisy(n=22)

	serum	pleural effusion	pleural/serum
sIL-2R(U/ml)	1038 \pm 910.8	33628 \pm 38158.6*	36 \pm 24.7
Neopterin(pg/ml)	2035 \pm 1216.4	2035 \pm 2249.4	1 \pm 0.9
ADA(U/ml)	24 \pm 11.2	76 \pm 14.2**	3 \pm 1.1

*p<0.05 and **p<0.001 when compared to the serum level

Values are expressed as mean \pm SD

구에서 neopterin 값이 중증군으로 갈수록 감소하는 추세는 현재까지 보고된 연구들⁴⁸과 다른 결과이다. Neopterin은 활동성 결핵의 병변이 심할수록 요증 배설치가 높아지고^{8,15} 혈중 농도가 증가하며³⁴ 기관지 폐포 세척액¹⁶ 및 결핵성 흉막염 환자의 흉막 삼출액¹⁷에서도 증가되고, 치료 시작 후에 점차 감소하는 경향을 보이며 치료 종결후 재발된 환자에서 다시 증가한다고 하였다^{48,18}. 그러나, 활동성 결핵 환자의 단핵구와 정상인의 단핵구를 각각 추출하여 PPD 자극을 주었을 때 neopterin 분비 및 면역반응력이 결핵환자의 단핵구에서 감소하는 결과를 보였다¹⁹. 많은 결핵균을 탐식한 대식세포가 결핵균 항원의 영향으로 IFN- γ 에 의해 활성화되지 못하고²⁰ 따라서 neopterin의 분비도 저하되지 않을까 생각되었다. 본 연구결과에서 혈청내 IFN- γ 와 neopterin의 상관관계를 구한 결과는 중증도의 역상관관계를 보여 분비된 cytokines의 절대수치보다는 기능 및 수용체의 활성화치등과 숙주의 면역력의 관련성을 생각해 볼 수 있다.

항결핵제 치료후 sIL-2R, IFN- γ 와 neopterin을 추적하여 치료전과 비교해 본 결과에서 sIL-2R와 IFN- γ 는 감소하는 경향이었고, neopterin은 증가하는 경향을 보여서 2개월 치료후 병의 활동성 감소와 함께 숙주의 면역력 회복을 예측 할 수 있었다 (Table 3, Fig. 4). 활동성 폐결핵 환자에서 sIL-2R, IFN- γ 와 neopterin의 항결핵제 투여 전후 변화와 임상적 중증도와와의 관련성을 살펴보았을 때, 중증의 폐결핵으로 사망한 환자에서는 sIL-2R, IFN- γ

가 대상환자들 중에서 최고 수치를 보여 체내에서 증식된 결핵 항원의 수에 따른 초기 세포 매개성 면역반응의 활성화를 반영하였고, 동시에 neopterin은 대상 환자들 중 최소치를 보여 대조군이나 경증 환자에 비해 숙주의 면역력이 크게 저하된 상태임을 생각 할 수 있었다. 결핵균 항원을 많이 가지고 있는 대식세포는 IFN- γ 에 의한 활성화에 영향을 받지 않으며, 이는 결핵균의 항원 중 lipoarabinomannan(LAM)이 T 림프구와 대식세포의 면역기능을 억제하기 때문으로 보고된다²⁰. 또한 IFN- γ 의 분비능은 최대임에도 불구하고 IFN- γ 의 수용체 감소²¹나 활성화도 저하에 기인함을 고려할 수 있다. 실제 결핵환자에서 추출한 말초혈액의 단핵구를 PPD로 자극시킬 때 측정된 sIL-2R와 IFN- γ 는 정상인에서 추출한 세포를 자극시킬 때보다 유의하게 낮은 수치를 보였고, 치료를 시작하고 다시 추출한 단핵구로 검사했을 때 sIL-2R와 IFN- γ 의 농도가 증가한 연구결과들^{22,23}이 이를 뒷받침한다. 결핵균 항원의 자극을 받는 경우엔 IFN- γ 의 절대수치는 증가하지만 절대수치보다 활성도와 수용체수의 변화가 결핵의 활동성, 중증도와 관련이 있고 결핵균 항원의 부하된 수가 숙주의 면역반응을 지연시키고 방해할 것으로 생각된다. IFN- γ 는 세포 표면에 존재하는 수용체를 통해 효과를 나타내는데 난치성 결핵환자에서 많은 연구가 되고 있으며, 수용체의 유전자에 이상이 생기거나 인위적으로 수용체 유전자를 제거한 쥐에 결핵균을 감염시켰을 때 대조군에 비해 조직괴사가

심하게 일어나면서 급속한 경과를 밟아 조기에 사망한 결과들^{24,25}이 보고되었다. 또한 수용체 수의 감소 없이 반응이 감소된 경우도 보고되어 IFN- γ 의 활성화 효과가 다양한 결핵에 대한 면역반응을 보일 수 있음을 판단할 수 있다. 중증군 폐결핵 환자 중에 치료에도 불구하고 2개월 뒤 추적한 sIL-2R이 유의하게 증가한 환자는 임상적 경과에서 증상 악화와 장결핵, 결핵성 후두염의 동반으로 질병의 악화 및 중증도 증가와 관련되었음을 추측할 수 있었고, 치료경과가 좋은 다른 환자들과 비교하여 2번째 최소치를 보인 neopterin이 오히려 더 감소한 결과는 항결핵제 치료에도 불구하고 숙주의 면역력이 회복되지 않았음을 생각해 볼 수 있었다. 다른 중증군 환자들에서는 치료후 sIL-2R와 IFN- γ 가 감소하고 neopterin의 증가로 중증도 감소 및 면역력 회복을 반영하며 임상적인 호전과 상관성을 보였다. 전반적으로 폐결핵 환자에서 치료 전후의 sIL-2R, IFN- γ , neopterin의 변화는 IFN- γ 만이 통계적인 유의성을 보였는데, 이는 경증군과 중등증군에서의 수치의 변화가 적은데 기인 할 것으로 생각되었다.

홍막질환은 원인이 다양하고 진단 또한 용이하지 않은 경우도 있다. 최근 각종 면역학적 검사들의 유용성에 대한 연구가 활발하게 진행되어 결핵성 홍막염과 비결핵성 홍막염의 감별진단에 홍수의 sIL-2R, IL-6, IFN- γ , neopterin, lysozyme²⁶⁻³⁰의 이용이 연구되고 있다. 결핵성 홍막염도 전형적인 세포 매개성 면역이 관여하여 홍막내로 들어온 결핵균 항원에 대해 말초혈액으로부터 림프구의 이동에 따른 홍막내에 림프구 침윤이 중요한 기전으로 작용한다. 홍막액내에서 활성화된 림프구로부터 분비된 cytokine들의 임상적 유용성에 대한 연구가 ADA와 비교하여 진행되고 있다. 결핵성 홍막염

환자에서 홍막액의 sIL-2R는 비결핵성에 비해 유의한 증가 소견을 보였으나 혈청의 sIL-2R는 차이가 없었다는 연구결과^{26,28}와 비교하여 볼 때 본 연구에서도 정상 대조군과 혈청 sIL-2R 활성화치는 유의한 차이가 없었다. 본 연구에서는 결핵성 홍막염 환자에서 IFN- γ 를 측정하지는 않았으나 sIL-2R와 마찬가지로 정상 대조군과 혈청 농도는 비슷하고 홍막액내 농도가 결핵환자에서 유의하게 높았다는 보고들이 있어, 폐결핵과는 달리 결핵성 홍막염에서는 주로 국소적 면역반응이 주역할을 담당하므로 혈청에서의 검사는 큰 도움이 되지 않을 것으로 생각된다. 결핵성 홍막염에서 sIL-2R와 IFN- γ 는 대조군이나 다른 홍막염의 원인질환에서보다 유의한 증가를 보였으나 neopterin은 비특이적이었던 보고도 있다²⁶. 본 연구에서는 다른 원인의 홍막염 환자들과 비교하지 못했으나, 결핵성 홍막염 환자에서 혈청의 sIL-2R, ADA보다 홍막액내 수치가 통계적으로 유의하게 훨씬 높아서 국소 면역반응의 지표로 볼 수 있었으며, neopterin은 혈청과 홍막액에서 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 4). 이는 홍막액내의 림프구 증가가 주로 T 조력세포의 홍막내로의 이동에 의하여 홍막액에서 결핵성 면역을 담당하는 세포가 대식세포보다는 주로 T 림프구로서 활성화된 T 림프구에서 국소적인 면역반응에 의하여 sIL-2R와 IFN- γ 의 분비가 증가되는 것으로 생각된다³¹.

본 연구에서 폐결핵 환자에서 중증군으로 갈수록 sIL-2R와 IFN- γ 의 활성화치가 증가하였고 neopterin은 감소하였다. 항결핵제의 투여로 결핵균 항원의 수가 감소된 후에는 sIL-2R와 IFN- γ 가 감소하고 neopterin은 증가하는 경향을 보였으며, 특히 중증군에서 수치의 변화가 컸다. 이상의 결과에서 홍부 방사선 소견상 중증일수록 T 림프구의 면역반응이 활성화되어 sIL-2R와 IFN- γ 가 증가하고, 결핵균 항원에 대한 대식세포 및 단핵구에서 숙주의 면역력 저하로 neopterin은 감소하여 sIL-2R,

IFN- γ 와 neopterin의 측정이 결핵의 중증도 판정에 도움이 될 것으로 생각되었다. 또한 항결핵제 투여 후 숙주의 면역반응을 유도하는 지표인 sIL-2R, IFN- γ 의 감소와, neopterin의 증가로 실제 면역력의 회복이 예측되었다. 이러한 결과는 경증군과 중등증군에 비하여 중증의 폐결핵환자에서 현저하여, 특히 중증군에서 치료 후에 sIL-2R, IFN- γ 와 neopterin을 추적 관찰하면 숙주의 면역반응상태, 임상적 중증도 및 치료 반응성을 예측하는데 도움이 될 것으로 생각된다. 또한 결핵성 흉막염 환자에서는 국소적인 면역반응의 활성화로 흉막액내의 면역학적 지표의 측정이 혈청 검사보다 특이적이며, 흉막액의 sIL-2R의 측정이 결핵성 흉막염의 진단에 유용할 것으로 생각된다. 면역학의 발달과 결핵의 발병기전에 대한 이해로 난치성 결핵환자들에 대해 항결핵제 치료와 더불어 숙주의 방어기전을 증강시켜주는 면역치료에 대한 관심이 늘어나고 있다. 그러므로 면역학적 지표로서의 의의와 더 나아가서 임상적 이용에 대한 연구가 더욱 필요할 것으로 사료된다.

요 약

연구배경 :

결핵은 세포 매개성 면역반응이 병태생리에 중요한 역할을 하는 감염성 질환이다. 결핵균 항원으로 T 림프구가 활성화되면 여러 종류의 cytokine을 분비하며 T 림프구의 분화와 증식, 대식세포의 활성화를 촉진한다. 본 연구에서는 결핵의 중증도, 숙주의 면역상태 및 예후를 반영하는 지표로서 활성화된 T 림프구에서 만들어지는 IL-2의 수용성 수용체인 sIL-2R와 IFN- γ 를 측정하였고 활성화된 대식세포에서 분비되는 neopterin을 측정하여 임상적 유용성을 판정하고자 하였다.

대상 및 방법 :

활동성 폐결핵 환자 39명, 결핵성 림프절염 환자 6

명의 치료전과 정상 대조군 10명에서 혈청 sIL-2R, neopterin, IFN- γ 를 측정하였고, 결핵성 흉막염 환자 22명에서 치료전 혈청과 흉막액에서 각각 sIL-2R, ADA, neopterin을 측정하였다. 폐결핵 환자 39명을 ATS guidelines에 따라 중증도를 분류하였고, 사망한 1명과 결핵요양소로 전원된 2명을 제외한 36명에서 초치료 2개월 후 혈청 sIL-2R, neopterin과 IFN- γ 를 측정하였다.

결 과 :

1) sIL-2R과 IFN- γ 는 결핵환자에서 대조군에 비하여 증가된 경향을 보였다($p>0.05$). Neopterin은 대조군 4949 ± 1242.1 pg/ml, 폐결핵 2967 ± 2132.8 pg/ml, 결핵성 림프절염 3013 ± 1877.3 pg/ml, 결핵성 흉막염이 2035 ± 1216.4 pg/ml로 결핵환자에서 대조군에 비하여 감소되는 경향을 보였으며, 폐결핵군과 결핵성 흉막염군에서는 통계적으로 유의하게 감소되어 있었다($p<0.05$). 2) 폐결핵의 중증도가 심할수록 sIL-2R와 IFN- γ 는 증가하였고, neopterin은 감소하였다($p<0.01$). 3) 폐결핵 환자 36명에서 치료 후 측정된 sIL-2R는 1071 ± 1139.4 U/ml에서 1023 ± 1920.9 U/ml로($p>0.05$), IFN- γ 는 41 ± 52.8 pg/ml에서 22 ± 23.9 pg/ml로 각각 감소하였고($p<0.05$), neopterin은 3158 ± 2272.6 pg/ml에서 3737 ± 2307.5 pg/ml로 증가하였다($p>0.05$). 이러한 결과는 경증군과 중등증군에 비해 중증군에서 현저한 변화를 보였고 임상적 경과와 상관성을 보였다. 4) 결핵성 흉막염 환자 22명에서 sIL-2R와 ADA는 혈청에 비하여 흉막액에서 유의하게 높은 값을 보였으나($p<0.001$), neopterin은 차이가 없었다($p>0.05$).

결 론 :

이상의 결과를 바탕으로 특히 중증군에서 치료 후에 sIL-2R, IFN- γ 와 neopterin을 추적 관찰하면 숙주의 면역반응상태, 임상적 중증도 및 치료 반응성을 예측하는데 도움이 될 것으로 생각된다. 또한 결핵성 흉막염 환자에서는 국소적인 면역반응의 활성화

화로 흉막액내의 면역학적 지표의 측정이 혈청 검사보다 특이적이며, 흉막액의 sIL-2R의 측정이 결핵성 흉막염의 진단에 유용할 것으로 생각된다.

중심단어

sIL-2R, IFN- γ , Neopterin, 세포 매개성 면역반응, 결핵

참 고 문 헌

1. Edwards D, Kirpatrick CH. The immunology of mycobacterial diseases. *Am Rev Respir Dis* 1986;134:1062-71.
2. Laurence A. Rubin, Carole C Kurman Mary E. Fritz, William E. Beddison, Soluble interleukin-2 Receptors are released from activated human lymphoids cells in vitro, *Journal of Immunology* 1985;135:3172-7.
3. Christoph Huber, J. Richard Batchelor, Dietmar Fuchs, Arno Hausen, Alois Lang, Niederwieser D, Reibnegger G, Swetly P, Tropmair J, Wachter H, Immune response-associated production of Neopterin, Release from macrophages primarily under control of Interferon-gamma, *J Exp Med* 1984;160:310-6.
4. Hosp M, A.H. Elliott, J.G. Raynes, A.G. Hwigen, N. Luo, R. Zangerle, J.O.H. Pobee, H. Wachter, M.P. Dierich, K.P.W.J. McAdam and D. Fuchs, Neopterin, β 2-Mycroglobulin and Acute Phase Proteins in HIV-1-Seropositive and Seronegative Zambian Patients with Tuberculosis, *Lung* 1997;175:265-75.
5. American Thoracic Society, Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis, 12th edition. New York. National Tuberculosis and Respiratory Disease Association 1969:68.
6. Morgan RA, Ruscetti FW, Gallo RC, Selective in vitro growth T lymphocytes from normal human bone marrows, *Science*, 1976;193:1007-8,
7. Orme IM, Roberts AD, Griffin JP, Abrams JS, Cytokine secretion by CD4+ T lymphocytes acquired in response to mycobacterium tuberculosis infection. *J Immunol* 1993;151:518-25.
8. Fuchs D, A. Hausen, M. Kofler, H. Kosanowski, G. Reibnegger and H. Wachter, Neopterin as an index of immune response in patients with tuberculosis, *Lung* 1984;162:337-46.
9. Takahashi S, Y. Setiguchi, T. Nukiwa and S. Kira, Soluble Interleukin-2 Receptors in Sera of Patients with Pulmonary Tuberculosis, *Chest* 1991;99:310-3.
10. Rajalingam R, N.K. Mehra, N.K. J.N. Pande, R.C. Jain, R. Singla, Correlation of serum interleukin-2 receptor- α levels with clinical manifestations in pulmonary tuberculosis, *Tubercle and Lung Disease* 1996;77:374-9.
11. Aviles Ingles M.J., C. Contessotto, J. Ontanon Rodriguez, A. Garcia Alonso, M.Muro Amandor, M.C. Jordana, F.S. Gascon, R.A. Lopez, Serumsoluble interleukin-2 receptor: a useful indicator of the clinical course in pulmonary tuberculosis, *Tubercle and Lung Disease* 1995;76:130-5.
12. 고정희, 박성규, 백상현, 박찬권, 박병수, 안진영, 최우석, 박정규, 폐결핵 환자 혈청에서 수용성 Interleukin 2 수용체 및 Adenosine Deaminase 활성도에 관한 연구, *충남의대잡지* 1993;20:57-64.
13. Chan C.H.S., C.K.W. Lai, J.C.K. Leung,

- A.S.S. Ho, K.N. Lai, Elevated interleukin-2 receptor level in patients with active pulmonary tuberculosis and the changes following anti-tuberculosis chemotherapy, *Eur Respir J* 1995;8:70-3.
14. Christopher H.S. Chan, Kar-Neng Lai, Joseph C.K. Leung, and Christopher K.W. Lai, T lymphocytes Activation in Patients with Active Tuberculosis, *Am Rev Respir Dis* 1991;144:458-60.
15. 송재훈, 한성구, 심영수, 김건열, 한용철, 뇨중 Neopterin 측정을 이용한 폐결핵의 활동성 판정, 결핵 및 호흡기질환 1986;33:202-9.
16. Hassaan Mohamed K, A.A.M.T. Mobasher, FCCP, Abdel-Rahim I. Yousef, Adel Salah, BAL Neopterin. A Novel Marker for Cell-Mediated Immunity in Patients With Pulmonary Tuberculosis and Lung Cancer, *Chest* 2001;119:776-80.
17. Baganha M.F., A. Mota-Pinto, M.A. Pego, M.A.T. Marques, M.A. Santos Rosa and A.J.A. Robalo Cordeiro: Neopterin in Tuberculosis and Neoplastic Pleural Fluids. *Lung*. 1992;170:155-61.
18. Immanuel C., R. Rajeswari, F. Rahman, P. Paul Kumaran, V. Chandrasekaran, R. Swamy, Serial evaluation of serum neopterin in HIV seronegative patients treated for tuberculosis, *Int J Tuberc Lung Dis* 2001;5(2): 185-90.
19. Immanuel C., R. Swamy, M. Kannapiran, S. Vijayalakshmi, V. Sundaram, K. Jagannath, C.N. Paramasivan, Neopterin as a marker for cell-mediated immunity in patients with pulmonary tuberculosis, *Int J Tuberc Lung Dis* 1997;1(2):175-80.
20. Sibley LD, Adams LB, Krahenbuhl JL, Inhibition of interferon-gamma mediated activation in mouse macrophages treated with lipoarabinomannan, *Clin Exp Immunol* 1990;80:141-8.
21. 이재철, 유철규, 이춘택, 김영환, 한성구, 심영수, 난치성 결핵 환자의 단핵구에서 IFN- γ 활성화 효과 및 IFN- γ 수용체의 숫적 변화에 대한 연구, 결핵 및 호흡기 질환 1999;47:304-10.
22. Christina S. Hirsch, Zahra Toossi, Catherine Othieno, John L. Johnson, Stephan K. Schwander, Steven Robertson, Robert S. Wallis, Kay Edmonds, A. Okwera, R. Mugerwa, P.Peters and J.J. Ellner. Depressed T-Cell Interferon- γ Responses in Pulmonary Tuberculosis, Analysis of Underlying Mechanisms and Modulation with Therapy, *The Journal of Infectious Diseases* 1999;180:2069-73.
23. Ming Zhang, Yuanguang Lin, Dinakar V. Iyer, J. Gong, J.S. Abrams and P.F. Barnes, T-Cell Cytokines Responses in Human Infection with Mycobacterium tuberculosis, *Infection And Immunity* 1995;63:3231-4.
24. Newport MH, Huxley CM. Huston S, Hawrylowicz CM, Oostra BA, Williason R, A mutation in the interferon- γ receptor gene and susceptibility to mycobacterial infection, *New Engl J Med* 1996;335:1941-9.
25. Flynn JL, Chan J, Triebold KJ, Dalton DK, Stewart TA, Bloom BR(1993), An essential role for interferon- γ in resistance to Mycobacterium tuberculosis infection, *J Exp Med* 178:2249-54.
26. Chun-Shih Chiang, Chi-Der Chiang, Ju-Wen Lin, Pey-Ling Huang, Jao-Jia Chu.

- Neopterin, Soluble Interleukin-2 Receptor and Adenosine Deaminase Levels in Pleural Effusions. *Respiration* 1994;61:150-4.
27. 김종혁, 정복현, 문승환, 조호준, 이명구, 현인규, 정기석, 남송현, 류지소, 조현찬, 결핵성 흉막염에서 Soluble Interleukin-2R, Interleukin-6 및 Adenosine Deaminase 변화에 관한 연구, *대한내과학잡지* 1993;44:147-54.
28. Chang Shi-Chuan, Hsu Yen-Tao, Chen Yi-Chu, Lin Ching-Yuang, Usefulness of Soluble Interleukin-2 Receptor in Differentiating Tuberculous and Carcinomatous Pleural Effusions, *Arch Intern Med* 1994;154:1097-101.
29. Ito M., N. Kojiro, T. Shirasaka, Y. Moriwaki, I.Tachibana and T. Kokubu, Elevated Levels of Soluble Interleukin-2 Receptors in Tuberculous Pleural Effusions, *Chest* 1990;97:1141-3.
30. Valdes L., E. San Jose, D. Alvarez, A. Sarandeses, A. Pose, B. Choman, J. Manuel, Diagnosis of Tuberculous pleurisy using the Biologic parameters Adenosine Deaminase, Lysozyme and Interferon Gamma, *Chest* 1993;103:458-65.
31. 임건일, 김대수, 어수택, 정연태, 우준희, 김용훈, 박춘식, 결핵성 흉막염 환자에서 T 림프구 기능 및 IL-2 수용체 표현율에 대한 연구, *결핵 및 호흡기 질환* 1990;37:306-12.