

폐구균 다당질 백신 내 혈청형 6B에 의해 유도되는 교차 반응 혈청형 6A에 대한 기능적 면역

이화여자대학교 의과대학 소아과학교실

김 경 호

Functional Immunity to Cross-Reactive Serotype 6A Induced by Serotype 6B in Pneumococcal Polysaccharide Vaccine

Kyung Hyo Kim, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, Ewha Woman's University, Seoul, Korea

Purpose: *Streptococcus pneumoniae* serotype 6B and 6A are important pathogens in pneumococcal infections. It is commonly assumed that the 6B vaccines elicit antibodies cross-reacting with the 6A serotype and the cross-reactive antibodies protect against infections of 6A. To examine this assumption, we measured the opsonophagocytic capacity to serotype 6A and 6B in adults.

Methods: Twenty-four adults were immunized with pneumococcal PS vaccine that contains 6B PS. Their preimmune and postimmune sera were studied for the capacity to opsonize 6B and 6A serotypes with opsonophagocytic killing assay.

Results: Opsonization titers to 6B were significantly higher than those to 6A in preimmune and postimmune sera. Because significant increases of opsonization titers were observed in adults with polysaccharide vaccines for 6A(cross-reactive) serotype as well as for 6B(vaccine) serotype, 6B PS in vaccine elicited cross-protective antibodies to 6A, but not in all cases. One adult did not have detectable levels of opsonization titers to 6A after immunization.

Conclusion: Although 6B PS in pneumococcal PS vaccine elicits antibodies cross-reacting with 6A serotype in some adults, it may not occur always. This study should be extended to other age groups such as children and elderly people. The presence of the cross-protection should be directly determined in clinical trials of the pneumococcal vaccines as well as during the postlicensure monitoring surveys by serotyping the clinical isolates of pneumococci. (**Korean J Pediatr 2005;48:506-511**)

Key Words: *Streptococcus pneumoniae*, Pneumococcal polysaccharide type 6, Antibodies, Cross-reaction, Opsonins

서 론

폐구균(*Streptococcus pneumoniae*)은 인체에서 수막염과 폐혈증 등의 침습성 질환을 일으키는 주요 세균이며 폐렴, 급성 중이염 또는 급성 부비동염의 가장 흔한 원인균이다. 특히 어린 소아와 노인의 연령층 및 면역 결핍증, 신증후군, 무비증, 만성

심혈관계 질환, 만성 폐질환 및 당뇨병 등의 질환을 가진 경우 심한 폐구균 감염에 이환될 위험이 매우 높다.

전 세계적으로 여러 가지 항생체에 내성을 보이는 폐구균이 증가하고 있으며, 우리나라에서 분리되는 폐구균의 페니실린 내성률도 매우 높아¹⁾ 이로 인해 치료에 많은 어려움이 있으므로 예방이 더욱 중요하게 인식되고 있다.

폐구균 감염의 예방을 위해 사용 가능한 백신으로는 다당질 백신과 다당질-단백 결합 백신이 있다. 이 중 다당질 백신은 1983년부터 사용되기 시작하였으며 23개 혈청형의 폐구균에서 추출하여 정제한 다당질을 혼합하여 만들어졌다²⁾. 여기에 포함된 혈청형은 Danish 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17F(혹은 17A), 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F 및 33F로 혈청형 19F와 19A는 모두 포함된 반면 혈

본 논문의 요지는 2003년 한국소아감염병학회 추계학술대회에서 구연 발표됨.

접수: 2004년 11월 26일, 승인: 2004년 12월 31일

책임저자: 김경호, 이화여자대학교 의과대학 소아과학교실

Correspondence: Kyung Hyo Kim, M.D.

Tel: 02)760-5363 Fax: 02)765-3855

E-mail: kaykim@ewha.ac.kr

청형 6A는 6B와의 항원 다당질의 유사성과 이에 대한 교차 면역 반응 형성의 가능성으로 제외되었다. 다당질 백신은 2세 이하의 어린 소아를 제외한 전 연령층에서 사용 가능하며 다당질-단백 결합 백신은 2세 이하의 소아에서 접종이 추천되고 성인이나 노인에서의 사용 가능성은 아직 확립되지 않았다.

폐구균 다당질 항원에 대한 항체는 균을 옵소닌작용(opsonization)하여 탐식세포가 폐구균을 탐식하기 쉽게 해주는 방어 항체로^{3,4)}, 백신의 효과는 각 혈청형 다당질에 특이하게 반응할 수 있는 항체의 생성에 의해 결정되어지므로 이들 특이 항체의 측정을 통해 백신의 효과를 알 수 있다. 백신에 대한 항체 반응의 측정은 효소면역법(enzyme immunoassay)에 의한 양적 측정이 가장 잘 알려져 있고 표준화되어 세계적으로 사용되고 있다⁵⁾. 그러나 효소면역법은 면역글로불린 아형 중 IgG 측정을 위한 방법만이 표준화되어 있고, 간혹 항체 농도와 항원과의 친화력 등 기능과의 상관성이 낮은 항체가 발견되기도 하여⁶⁾, 백신에 대한 항체 반응을 검사 시 항체의 기능을 함께 측정하여 효소면역법에 의한 항체 반응 검사를 보완하도록 추천한다. 이를 위해 사용되는 opsonophagocytic assay에는 유세포 분석법(flow cytometry)에 의한 것과 opsonophagocytic killing assay (OPKA)가 있으며 효소 면역법보다 시행이 어렵고 시간과 노력이 많이 들어 일부 제한된 검사실에서만 시행이 가능하다⁷⁾.

본 연구는 건강한 성인에서 6B 혈청형이 포함되어 있는 폐구균 다당질 백신 접종 후 이와 교차 면역 반응을 일으키리라고 생각되어 23가 다당질 백신에 포함되지 않은 6A 혈청형에 대한 면역 반응의 생성 여부와 면역 반응이 생성된다면 생성된 면역 반응의 질적 차이가 있는지 알기 위해 성인에서 6B와 6A 혈청형에 대한 백신 접종 전과 후의 항체 기능을 OPKA로 측정하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

전에 폐구균 다당질 백신을 접종 받은 경험이 없는 건강한 성인 24명에게 이대 부속 동대문병원 소아과에서 23가 폐구균 다당질 백신(PNEUMO 23TM, 제일제당, Aventis Pasteur, Lyon, France) 0.5 mL을 근육주사로 접종하였고 접종 전과 접종 1개월 후 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 후 300 μ L씩 등분하여 5개의 바이알에 담아 검사 시까지 -20°C 이하에 보관하였다. 건강한 성인 24명의 평균 나이는 28세(24-31세)이었으며 남자 14명, 여자 10명이었다.

2. 방 법

1) HL-60 세포배양 및 분화 유도

HL-60(ATCC CCL-240) 세포를 10% 우태아혈청(fetal bovine serum, BioWhittaker, MD), 0.2% sodium bicarbonate 및 50 μ g/mL gentamicin이 함유된 RPMI 1640(Gibco, Grand Island, NY) 배지에 $2 \times 10^5 - 5 \times 10^5$ cells/mL의 농도로 37°C의

5% CO₂ 배양기에 배양하면서 3-4일에 한 번씩 배지를 교환하였다. 증식된 HL-60 세포는 50% 우태아혈청, 10% dimethyl-sulfoxide 및 40% RPMI 1640으로 조성된 배지에 1×10^7 cells/mL의 농도로 맞추어 액체 질소 통에 냉동 보관하였고, 필요시 동일한 배치(batch)의 세포를 해동하여 실험에 사용하였다.

HL-60 세포의 분화를 유도하기 위하여 세포 농도를 $2 \times 10^5 - 5 \times 10^5$ cell/mL로 만든 후 0.8% dimethyl formamide(DMF, Fisher Scientific, Pittsburgh, PA)를 첨가하여 배양하였다.

2) 폐구균

폐구균 혈청형 6B(strains DS2212-94)는 미국 질병통제센터(Center for Disease Control and Prevention, CDC, Atlanta, GA)에서 얻었으며 폐구균 혈청형 6A(strains SP85)는 미국 University of Alabama at Birmingham의 Dr. David Briles에게서 얻었다. 이들 두 균주는 0.5% 이스트 추출물(yeast extract)을 포함한 THY 액체배지에서 로그 상태(log phase)로 자라게 한 후 15% 글리세롤(glycerol)에 등분하여 다음 사용 시까지 -70°C에 보관하였다. 본 연구에서는 동일한 폐구균 로트(lot)를 전체 실험에서 사용하였다.

3) OPKA

6B와 6A 혈청형에 대한 백신 접종 전과 후의 혈청의 항체 기능을 알기 위해 OPKA를 시행하였다. OPKA는 검사의 정확도를 위해 동일한 혈청형에 대해서는 모든 혈청 검체를 대상으로 한번에 시행하여 검사 간의 차이가 발생하는 것을 방지하였다. 또한 인간 혼주 혈청(pooled serum)은 폐구균 다당질 백신을 접종 후 1개월에 4명으로부터 혈액을 채취하여 섞은 혈청으로 -20°C에 분할 보관한 후 OPKA의 대조군으로서 사용하였다. 혼주 혈청과 각 성인에게서 얻은 혈청은 OPKA 전에 56°C 수액조에 30분간 방치하여 보체를 불활성화 시킨 후 사용하였다.

폐구균은 한번에 준비하여 등분하여 -70°C에 보관한 동일한 로트를 사용하였다. OPKA의 효과 세포로 사용한 HL-60 세포는 10% 우태아혈청과 0.8% DMF가 포함되어 있는 RPMI 1640에 5일간 배양하여 다핵구로 분화시켰다. 분화 후 HL-60 세포는 0.1% gelatin과 10% 우태아혈청이 포함된 Hanks' buffer에 10^7 cells/mL의 농도로 희석하여 OPKA에 사용하였다. 혈청도 같은 용액에 희석하여 사용하였다.

폐구균은 1,000 CFU/10 μ L를 20 μ L의 혈청과 함께 96 well microtiter 평판의 한 well에 넣었다. 30분간 실온에 배양한 후 40 μ L의 HL-60 세포액(4×10^5 /well)과 10 μ L의 아기 토끼 보체(baby rabbit complement, Pelfreeze, Browndeer, WD)를 각 well에 첨가하고 이들의 혼합액을 37°C에서 1시간 동안 흔들며 주면서 반응시켰다. 최종 반응액 5 μ L를 이스트 추출물이 포함된 Todd-Hewitt 한천 평판에 접종한 후 한천에 액체가 다 흡수되면 0.5%의 이스트 추출물과 100 mg/L의 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride(TTC, Sigma)이 포함된 액체 상태의 Todd-Hewitt 한천(50%)을 위에 붓고 응고될 때까지 기다렸다. 평판은 캔들자아(candle jar)에 넣어 37°C에서 12-18시간 보관

하였다. 평균에 자란 각 혈청형의 살아남은 세균의 집락을 세었다. 혈청의 오폐소닌작용 역가(opsonization titer)는 혈청이 포함되지 않고 보체만 포함된 대조군에서 살아남은 세균의 집락수와 비교해 그 50%의 집락수가 자란 실험 well에 포함된 혈청의 희석 배수로 규정하였다. 희석하지 않은 혈청이 포함된 well에서 대조군과 비교, 그 50%의 세균을 죽인 경우 오폐소닌작용 역가는 본 실험 조건에서 4로 하였으며 희석하지 않은 혈청에서도 50%의 세균을 죽이지 못하는 경우에는 측정 한계 이하의 오폐소닌작용 역가이므로 이러한 혈청의 오폐소닌작용 역가는 측정 한계 4의 1/2 값인 2로 정하였다.

3. 통계

조사한 자료에서 각 혈청형 혹은 백신 접종 전과 후의 오폐소닌 작용 역가의 비교는 Student t-test와 Pearson's correlation test를 사용하였다. 유의 수준은 $P < 0.05$ 미만으로 정의하였다.

결 과

1. 백신 접종 전과 후 오폐소닌작용 역가

전체 24명 성인에서 다당질 백신 접종 전후의 6B와 6A 혈청형에 대한 오폐소닌작용 역가의 분포는 Fig. 1과 같다. 다당질 백신 접종 전과 후 6B와 6A 혈청형에 대한 오폐소닌작용 역가의 기하 평균은 혈청형 6B에 대해서는 접종 전 297.0 ± 31.0 (범위 2-21,245)이었으나 후에는 $8,023.4 \pm 2.3$ (범위 1,301-26,244)으로 의미 있게 증가하였다($P < 0.001$). 혈청형 6A에 대해서는 접종 전 43.0 ± 19.7 (범위 2-12,497)이었으나 후에는 $2,995.1 \pm 3.0$ (범위 2-14,997)으로 의미 있게 증가하였다($P < 0.001$)(Table 1).

전체 24명 성인에서 백신 접종 전 6B에 대한 항체의 오폐소닌 작용 역가는 6A에 대한 항체의 오폐소닌작용 역가 보다 의미 있게 높았으며($P < 0.001$) 백신 접종 후에도 6B에 대한 항체의 오폐

소닌작용 역가는 6A에 대한 항체의 오폐소닌작용 역가 보다 의미 있게 높았다($P < 0.001$)(Table 1).

2. 백신 접종 전과 후 오폐소닌작용 역가 증가 배수

전체 24명 성인에서 백신 접종 전과 후 오폐소닌작용 역가의 증가배수의 기하 평균은 혈청형 6B는 27.1배(범위 1-4,800)이었고 혈청형 6A는 54.6배(범위 0.4-972)이었다.

백신 접종 전의 오폐소닌작용 역가에 비해 접종 후 오폐소닌작용 역가가 4배 이상 증가한 성인은 혈청형 6B와 6A에 대해 각각 62.5%였다. 이 중 6B와 6A 모두에서 증가한 경우가 10명(41.7%)이었으며 6B에 대해서만 혹은 6A에 대해서만 4배 이상 증가한 경우가 각각 5명(20.8%)이었고 두 가지 혈청형에 대해 모두 4배 이상 증가하지 않은 경우가 4명(16.7%)이었다.

3. 혈청형에 따른 오폐소닌작용 역가의 변화

각 혈청형에서 24명 성인의 백신 접종 전과 후 오폐소닌작용 역가의 변화를 자세히 보면 혈청형 6B에서는 접종 전 측정되지 않았던 7명을 포함하여 23명에서 접종 후 역가가 현저히 증가하였으며 1명에서는 접종 전 이미 높은 6,500에서 접종 후 역가의

Table 1. Opsonization Titer to 6B and 6A Pneumococcal Serotypes in 24 Healthy Adults before and after Immunization with Pneumococcal Polysaccharide Vaccine

Serotypes	Opsonization titer(Geomean \pm SD)	
	Preimmune	Postimmune
6B(range)	$297.0 \pm 31.0^*(2-21,245)$	$8,023.4 \pm 2.3(1,301-26,244)^{*}, \dagger$
6A(range)	$43.0 \pm 19.7(2-12,497)$	$2,995.1 \pm 3.0(2-14,997)^\dagger$

* $P < 0.001$ between opsonization titers to 6B and those to 6A in preimmune or postimmune sera

† $P < 0.001$ between opsonization titers of preimmune sera and those of postimmune sera in serotype 6B or 6A

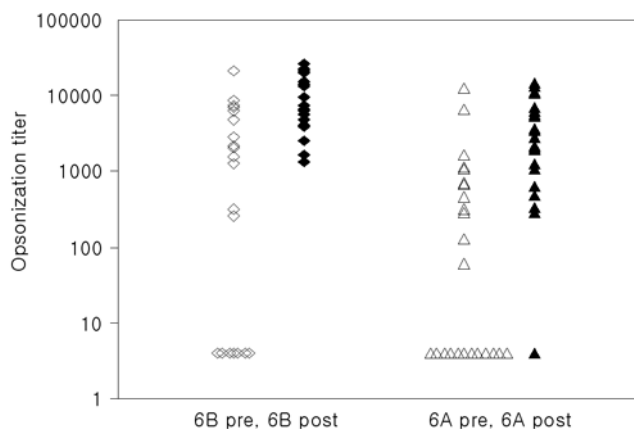


Fig. 1. Opsonization titers to 6B and 6A pneumococcal serotypes in 24 healthy adults before and after immunization with pneumococcal polysaccharide vaccine. Abbreviations : pre, pre-immune sera; post, postimmune sera.

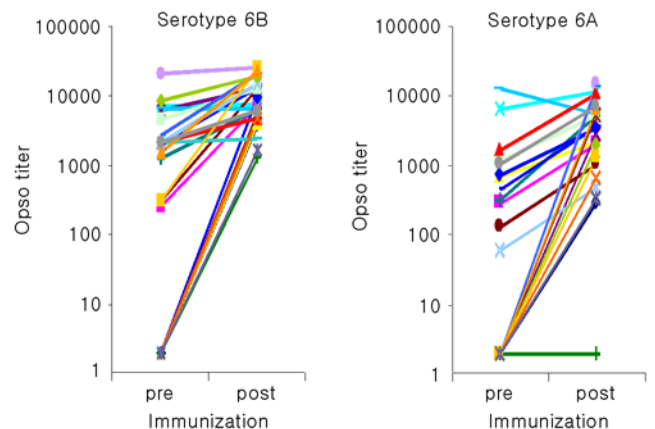


Fig. 2. Changes of opsonization titers to 6B and 6A pneumococcal serotypes in 24 healthy adults before and after immunization with pneumococcal polysaccharide vaccine. Abbreviations : pre, preimmune sera; post, postimmune sera; opso titer, opsonization titer.

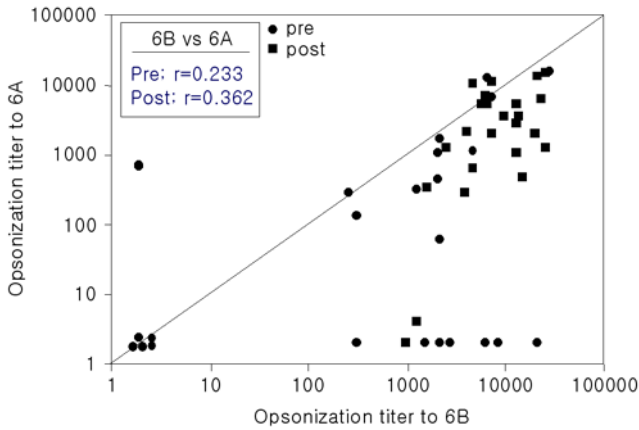


Fig. 3. Correlations of opsonization titers between 6B and 6A pneumococcal serotypes in 24 healthy adults before and after immunization with pneumococcal polysaccharide vaccine. Abbreviations : pre, preimmune sera; post, postimmune sera.

변화가 없었다. 혈청형 6A에서는 접종 전 측정되지 않았던 12명 중 1명을 제외한 11명을 포함하여 23명에서 접종 후 역가가 현저히 증가하였으며 1명에서는 접종 전과 접종 후 역가가 측정되지 않았다. 그러나 6A에 대해 백신 접종 전과 후 역가가 측정되지 않은 1명에서 6B에 대한 옅소닌 작용 역가는 접종 전에 비해 접종 후 현저히 증가하였다(Fig. 2).

4. 6B와 6A 혈청형에 대한 옅소닌 작용 역가의 상관 관계

성인 24명에서 6B와 6A 혈청형에 대한 항체 반응의 관련성을 관찰하면 백신 접종 전과 접종 후 모두에서 옅소닌 작용 역가의 상관관계는 없었다(Fig. 3)($P>0.05$).

고 찰

본 연구에서는 건강한 성인에게 23가 폐구균 다당질 백신 접종 후, 백신에 포함된 6B 혈청형에 대한 백신 접종 전과 후 항체 기능을 OPKA로 측정하였고 이와 교차 면역 반응을 일으키리라는 가정 하에 백신에 포함되지 않은 6A 혈청형에 대한 항체 기능도 백신 접종 전과 후 측정하여 이 두 가지 혈청형에 대한 항체 반응을 비교 분석하였다. 그 결과 성인에서는 백신 접종 전 이미 폐구균 6B에 대한 특이 항체의 기능인 옅소닌 작용 역가가 6A에 비해 높았고 다당질 백신 접종 후에도 이런 경향에는 차이가 없어 백신 접종에 의해 생성된 6B에 대한 항체의 옅소닌 작용 역가가 6A에 대한 역가보다 높았다. 그러나 6B 혈청형이 포함된 다당질 백신은 성인에서 6B에 대한 기능적 항체 형성을 의미 있게 증가시켰으며 이 백신은 비록 6A 혈청형이 포함되어 있지 않았지만 비슷한 피막 다당질 구조를 갖는 6A에 대한 항체 반응도 유도시킴을 알 수 있었다. 이 교차 반응 항체의 형성은 모든 사람에게서 반드시 일어나지는 않는 것으로 생각되는데 24명의 성인 중 1명에서는 다당질 백신에 의해 6B에

대한 항체 반응은 증가했으나 백신 접종 전 측정 한도 이하였던 6A에 대한 항체 반응은 접종 후에도 증가하지 않았기 때문이다.

폐구균의 혈청형은 현재까지 세균의 피막 다당질의 혈청학적 성질에 따라 90가지가 규명되어 있다⁸⁾. 이 피막 다당질에 대한 항체가 같은 혈청형 혹은 교차 반응하는 혈청형을 가지는 폐구균에 대한 방어 능력을 가진다. 현재 일부 소아와 성인에서 사용 가능한 다당질 백신은 23종의 혈청형에서 분리된 피막 다당질로 구성되어 있으며 이것으로 폐구균 감염의 90% 이상을 예방할 수 있다²⁾. 그러나 다당질 백신은 어린 소아에서는 면역원성이 없거나 낮으므로 다당질 단백질 결합 백신이 개발되었고 여기에는 제조상의 어려움 등으로 7가지 혈청형의 다당질과 단백을 결합시킨 항원이 포함되어 있다. 이와 함께 백신에 포함된 6B와 19F 등의 혈청형은 6A와 19A 등의 혈청형에 대한 교차 면역 반응 항체를 유도할 수 있다고 가정되었다²⁾. 그러나 연구에 의하면 교차 반응하는 혈청형에 대해 형성된 옅소닌 작용 역가는 그 혈청형 자체에 대해 유도된 항체의 옅소닌 작용 역가에 비해 낮으며 항체 반응도 잘 일어나지 않는다고 보고되었다⁹⁾.

따라서 이와 같이 교차 면역 반응에 의해 형성된 항체는 실제 폐구균에 대한 교차 방어 기능에도 충분한 역할을 할 수 없을 가능성이 있다고 주장되기도 한다⁹⁾. 본 연구에서도 6B가 포함된 백신 접종 후 6B에 대해 형성된 항체의 기능이 6A에 대한 항체의 기능에 비해 옅소닌 작용 역가가 의미 있게 높았고 이는 이미 보고된 Yu 등⁹⁾에 의한 연구와 일치하는 소견이다. 그러나 Yu 등⁹⁾의 연구에서는 본 연구에서와 달리 백신 접종 후의 항체 기능에 대한 연구만을 시행했고 백신 접종 전의 항체 기능의 차이는 관찰하지 않았다. 본 연구에서는 백신 접종 후 뿐만 아니라 접종 전의 6B와 6A에 대한 항체 기능의 차이도 관찰하였는데 6A에 대한 항체의 옅소닌 작용 역가가 6B에 대한 항체의 옅소닌 작용 역가에 비해 백신 접종 전 이미 의미 있게 낮았고 이와 같은 백신 접종 전의 차이가 6B가 포함된 백신의 접종 후 항체 반응에도 영향을 주었을 가능성을 배제할 수 없다. 즉 성인에서 6B와 6A 혈청형 간의 근본적인 면역원성의 차이가 6B가 포함된 백신 접종 후 6A에 대한 항체 반응에 영향을 주었을 가능성도 있다는 것이다. 이는 6B가 포함된 백신 접종 후 6A에 대한 항체 반응도 백신 접종 전에 비해 의미 있게 증가한 결과와 일치되는 소견이다. 이와 같은 점을 좀더 규명하기 위해서는 6B와 6A 간의 교차 면역 반응 형성 뿐 아니라, 마찬가지로 중요한 혈청형이며 우리나라에서 감염 빈도가 더 많은 것으로 알려진 19F와 19A¹⁰⁾ 간의 교차 면역 반응 항체에 관한 연구도 이루어져야 할 것으로 생각된다. 23가 다당질 백신에는 19F와 19A 혈청형 다당질이 모두 포함되어 있어 본 연구에서는 이와 같은 연구가 가능하지 않았다. 그러나 현재 개발되어 사용되고 있는 7가 단백질 결합 폐구균 백신에는 19F만 포함되어 있으므로 이와 같은 연구가 가능할 것으로 생각된다.

침습성 감염을 예방할 수 있는 폐구균의 각 혈청형에 대한 항체기는 아직 정확히 알 수 없지만 폐구균 감염을 예방하기 위

해서는 각 혈청형의 피막 다당질에 대한 항체가 최소한 0.20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 되어야 할 것으로 최근 보고되었다¹¹⁾. 이는 폐구균의 모든 혈청형에 일단 적용되는 것으로 가정되었고 0.20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상의 혈청내 항체는 옹소닌작용 역가 1:8에 해당된다고 한다¹¹⁾. 이 기준에 의하면 기존의 OPKA에서 옹소닌작용 역가 1:8은 희석하지 않은 혈청에서 대조군의 50% 세균이 죽는 것을 의미하므로 본 연구에서의 옹소닌작용 역가 측정 한계인 1:4와 비교할 만한 값이라고 생각되고 따라서 본 연구에서 혈청의 옹소닌 작용 역가가 측정 가능하였다면 이는 감염에 대한 예방 항체가로 가정되는 0.20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상의 기능적 항체가 존재한다고 생각할 수 있다. 따라서 이 기준에 의하면 본 연구에 참여한 성인은 다당질 백신 접종 전 이미 6B 혹은 6A 혈청형에 대해 각각 70.8% 혹은 50% 정도에서 방어 항체를 지니고 있으며 백신 접종 후에는 혈청형 6B에 대해서는 100%에서, 혈청형 6A에 대해서는 95.8%에서 방어 항체를 지니게 된다고 볼 수 있다.

본 연구에 참여한 성인에서는 백신 접종 전 혈청형 6B에 대해서는 70.8%에서 혈청형 6A에 대해서는 50%에서 이미 방어 항체를 가지고 있었는데 이들 성인 모두 폐구균 백신 접종의 경험 없이 침습성 폐구균 감염의 기왕력도 없음을 참고해 볼 때 이에 대한 설명으로 본 연구에 참여한 성인은 국소적 폐구균 감염이나 폐구균의 비인두 보균을 통해 면역 반응이 생성되었다고 생각해 볼 수 있으며 그밖에 폐구균 다당질 항원과 교차 면역 반응을 일으킬 수 있는 다른 미생물 항원에 의한 항체 형성도 가능한 기전일 수 있을 것이다¹²⁾.

ELISA로 측정할 항체에는 다양한 기능이나 친화력을 가진 항체들이 모두 포함되므로 OPKA로 측정할 항체의 기능과는 차이가 있다^{6, 13, 14)}. 따라서 폐구균 백신에 대한 면역 반응을 연구하는 경우 ELISA 방법에 의한 항체가에 추가하여 옹소닌작용 역가를 측정하여 보충하는 것이 권유되고 있다. Opsonophagocytic assay의 방법으로는 유세포 분석법, 방사선 검사법, 현미경 방법, 생존 세균수의 확인 등이 있다^{7, 15-17)}. 많은 수의 혈청을 대상으로 opsonophagocytic assay를 시행하기 위해서는 방법이 간편하고 용이하며 빠르고 쉽게 표준화 될 수 있어야 하는데 생존 세포수를 확인하는 OPKA는 그 방법 면에서 항체의 방어 기능과 가장 연관성이 높은 좋은 방법이지만 어렵고 시간과 노력이 많이 드는 단점이 있어 자주 시행되지 못하고 있으며 일부 제한된 검사실에서만 시행이 가능하다. 이런 제한점의 일부를 극복하기 위해 본 연구에서는 살아있는 집락의 수를 눈으로 확인하여 세는 대신 위에 덮는 한천에 TTC를 섞어 세균의 집락의 색을 붉은 색으로 변하게 한 후 자동화된 기계로 셀 수 있게 하여 검사에 필요한 시간을 크게 줄일 수 있었다¹⁸⁾.

최근에는 폐구균 단백 결합 백신이 개발되어 사용 가능하다. 단백 결합 백신은 면역 기억을 유발하므로 면역 반응이 우수하고 접종 후 생기는 항체가 높으며 옹소닌작용 등의 기능이 더 우수하다¹⁹⁾. 또한 단백 결합 백신은 백신에 포함된 혈청형의 비인두 보유율을 감소시켜 군집 면역을 유도할 수 있다는 장점도

있다. 그러나 7가지 혈청형만 포함되어 있어 예방 가능한 혈청형의 수가 매우 제한적이며, 혹 교차 면역 반응을 형성할 수 있는 혈청형까지 예방 가능하다고 할 경우 백신에 의한 예방 가능 혈청형의 범위가 좀더 확대될 수 있지만 이에 대해서는 더 많은 연구가 필요한 실정이다. 그 동안의 연구들에서는 각 교차 면역 혈청형에 대한 항체 반응을 효소면역법에 의해 측정하였고 OPKA 등과 같은 기능적 교차 반응 항체에 관한 연구는 많지 않으므로 향후 폐구균 단백 결합 백신 접종 전과 후의 항체의 기능적 교차 면역반응 형성에 대해 더 연구된다면 그 결과는 매우 중요하며 흥미로울 것으로 생각된다. 또한 이와 같은 연구는 한국인을 대상으로 꼭 시행되어야 할 것이다.

본 연구는 건강한 성인을 대상으로 6B가 포함된 다당질 백신에 대한 6A 혈청형의 교차 면역 반응 생성을 연구하였고 면역 반응 중 생성된 항체의 기능만 검사하였다. 향후 폐구균 백신에 대한 면역 반응이 건강한 성인과 다르다고 알려져 있는 소아와 노인을 대상으로 교차 면역 반응에 대한 연구가 시행될 필요가 있으며 6B와 6A 외에도 교차 면역 반응을 일으키리라고 생각되는 다른 여러 가지 혈청형에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한 교차 방어 형성의 유무는 여러 가지 폐구균 백신의 임상 연구와 백신 사용 후 환자 혹은 보균자에서 분리되는 폐구균의 혈청형 검사를 통한 임상 연구에서도 직접적으로 연구되어야 할 것이다.

요 약

목적 : 폐구균 혈청형 6B와 6A는 폐구균 감염의 중요한 원 인균이다. 6B 백신은 다당질 구조의 유사성으로 6A와 교차 면역 반응을 일으키며 6B에 의해 생성된 6A에 대한 항체는 감염에서 방어 작용을 할 수 있다고 생각되고 있다. 이를 규명하기 위해 성인에게 폐구균 백신 접종 후 형성된 6B와 6A에 대한 항체의 옹소닌 작용 능력을 측정하여 교차 면역 반응을 연구하였다.

방법 : 건강한 성인 24명에게 혈청형 6B만 포함된 폐구균 다당질 백신을 접종하고 접종 전과 접종 한달 후 혈청에서 혈청형 6B와 6A에 대한 특이 항체의 옹소닌 작용 역가를 OPKA로 측정하였다.

결과 : 6B에 대한 옹소닌 작용 역가는 백신 접종 전과 접종 후 모두 6A에 대한 역가보다 의미있게 높았다. 백신 혈청형인 6B에 대해서 뿐 아니라 교차 반응하는 혈청형인 6A에 대해 다당질 백신 접종 후 성인에서 옹소닌 작용 역가가 의미 있게 증가하였으므로 백신에 포함된 6B 다당질은 6A에 대해서 교차 방어 항체를 유도하였으나 모든 경우에 해당되지는 않았다. 1명의 성인에서 접종 후에도 계속적으로 6A에 대한 옹소닌 작용 역가가 측정되지 않았다.

결론 : 백신에 포함된 폐구균 혈청형 6B에 대한 다당질은 혈청형 6A에 대해 대부분 교차 면역 반응을 일으켜 기능적 항체 형성을 유발하지만 드문 경우 이런 교차 면역 반응이 형성되지

않는 경우도 있다. 앞으로 이에 대한 연구가 소아와 노인 등의 다른 연령 군에서도 시행되어야 할 것이다. 또한 교차 방어 형성의 유무는 폐구균 백신의 임상 연구와 백신 사용 후 분리되는 폐구균의 혈청형 검사를 통한 임상 연구에서 직접적으로 연구되어야 할 것이다.

References

- 1) Lee HJ, Park JY, Jang SH, Kim JH, Kim EC, Choi KW. High incidence of resistance to multiple antimicrobials in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* from a university hospital in Korea. *Clin Infect Dis* 1995;20:826-35.
- 2) Robbins JB, Austrian R, Lee CJ, Rastogi SC, Schiffman G, Henrichsen J, et al. Considerations for formulating the second-generation pneumococcal capsular polysaccharide vaccine with emphasis on the cross-reactive types within groups. *J Infect Dis* 1983;148:1136-59.
- 3) Brown EJ, Hosea SW, Hammer CH, Burch CG, Frank MM. A quantitative analysis of the interactions of anti-pneumococcal antibody and complement in experimental pneumococcal bacteremia. *J Clin Invest* 1982;69:85-98.
- 4) Joiner KA, Brown EJ, Frank MM. Complement and bacteria. *Annu Rev Immunol* 1984;2:461-91.
- 5) Wernette CM, Frasch CE, Madore D, Carlone G, Goldblatt D, Plikaytis B, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay for quantitation of human antibodies to pneumococcal polysaccharides. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:514-9.
- 6) Coughlin RT, White AC, Anderson CA, Carlone GM, Klein DL, Treanor J. Characterization of pneumococcal specific antibodies in healthy unvaccinated adults. *Vaccine* 1998;16:1761-7.
- 7) Romero-Steiner S, Libutti D, Pais LB, Dykes J, Anderson P, Whitin JC, et al. Standardization of an opsonophagocytic assay for the measurement of functional antibody activity against *Streptococcus pneumoniae* using differentiated HL-60 cells. *Clin Diagn Lab Immunol* 1997;4:415-22.
- 8) Henrichsen J. Six newly recognized types of *Streptococcus pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 1995;33:2759-62.
- 9) Yu X, Gray B, Chang S, Ward JI, Edwards KM, Nahm MH. Immunity to cross-reactive serotypes induced by pneumococcal conjugate vaccines in infants. *J Infect Dis* 1999;180:1569-76.
- 10) Chong Y, Lee K, Kwon OH, Henrichsen J. Capsular types and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolated in Korea. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995;14:528-31.
- 11) Jodar L, Butler J, Carlone G, Dagan R, Goldblatt D, Kayhty H, et al. Serological criteria for evaluation and licensure of new pneumococcal conjugate vaccine formulations for use in infants. *Vaccine* 2003;21:3265-72.
- 12) Reason DC, Zhou J. Correlation of antigenic epitope and antibody gene usage in the human immune response to *Streptococcus pneumoniae* type 23F capsular polysaccharide. *Clin Immunol* 2004;111:132-6.
- 13) Loeb MR, Anderson P, Porcelli S. Specificity problems with the ELISA for serotype-specific *Streptococcus pneumoniae*(Spn) antibodies. *Pediatr Res* 1996;39:177A
- 14) Yu X, Sun Y, Frasch CE, Concepcion N, Nahm MH. Pneumococcal capsular polysaccharide preparations may contain non-C-polysaccharide contaminants that are immunogenic. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999;6:519-24.
- 15) Jansen WT, Vakevainen-Anttila M, Kayhty H, Nahm M, Bakker N, Verhoef J, et al. Comparison of a classical phagocytosis assay and a flow cytometry assay for assessment of the phagocytic capacity of sera from adults vaccinated with a pneumococcal conjugate vaccine. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:245-50.
- 16) Vitharsson G, Jonsdottir I, Jonsson S, Valdimarsson H. Opsonization and antibodies to capsular and cell wall polysaccharides of *Streptococcus pneumoniae*. *J Infect Dis* 1994;170:592-9.
- 17) Weaver T, Hall CL, Kachel DL, Ward RP, Williams MD, Perry DG, et al. Assessment of in vivo attachment/phagocytosis by alveolar macrophages. *J Immunol Methods* 1996;193:149-56.
- 18) Kim KH, Yu J, Nahm MH. Efficiency of a pneumococcal opsonophagocytic killing assay improved by multiplexing and by coloring colonies. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10:616-21.
- 19) Black S, Fireman B, Lewis E, Ray P, Hansen JR, Elvin L, et al. Efficacy, safety and immunogenicity of heptavalent pneumococcal conjugate vaccine in children. Northern California Kaiser Permanente Vaccine Study Center Group. *Pediatr Infect Dis J* 2000;19:187-95.