

한국 소아에서 *Haemophilus influenzae* type b (Hib) 기초 예방 접종 후 항체 지속과 추가 접종에 대한 반응

이화여자대학교 의과대학 소아과학교실*, 미생물학교실†, 포천중문 의과대학 소아과학교실‡,
관동대학교 의과대학 소아과학교실§, 서울대학교 의과대학 소아과학교실||,
이화여자대학교 의학연구소 백신효능연구센터¶

이현주*·¶, 박소은‡·¶, 임수영†·¶, 최경민§, 이환종||, 김경호*·¶

Antibody persistence after *Haemophilus influenzae* type b (Hib) primary vaccination and response to boosters in Korean children

Hyunju Lee, M.D.*·¶, So Eun Park, M.D.‡·¶, Soo Young Lim, B.A.†·¶,
Kyong Min Choi, M.D.§, Hoan Jong Lee, M.D.||, and Kyung Hyo Kim, M.D.*·¶

Department of Pediatrics*, Department of Microbiology†, School of Medicine, Ewha Womans University,
Department of Pediatrics, College of Medicine, Pochon Cha University‡,
Department of Pediatrics, College of Medicine, Kwandong University§,
Department of Pediatrics, College of Medicine, Seoul National University||, Center for Vaccine
Evaluation and Study, Medical Research Institute, Ewha Womans University¶, Seoul, Korea

Purpose : Antibody persistence after primary series of *Haemophilus influenzae* type b (Hib) vaccine and responses to a boosters are little known in Korean children. We performed this study to evaluate the antibody titer in relation with a booster immunization of Hib vaccine in Korean children.

Methods : One hundred forty-four children aged 12-23 months old were enrolled in three university hospitals. The immunogenicity of a boosters with Hib vaccine was assessed in children previously primed with Hib vaccine. Antibody persistence was also assessed in children who had received 3 doses of Hib vaccine without a booster. Anti-polyribosylribitol phosphate (PRP) IgG antibody levels and bactericidal titers were determined by enzyme immunoassay and bactericidal assay at the Center for Vaccine Evaluation and Study, Medical Research Institute, Ewha Womans University.

Results : Prior to a booster in the second year of life, geometric mean antibody concentrations were 2.39 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and the percent of subjects who had a anti-PRP antibody level $\geq 1 \mu\text{g}/\text{mL}$ was 68.6%. After boosting, antibody concentration was 19.09 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and the percent of subjects who had a anti-PRP antibody level $\geq 1 \mu\text{g}/\text{mL}$ was 96.5%, which reflects previous immune priming. In subjects who had finished primary immunization only, the bactericidal titer was 3,946 and in subjects who had a booster, it was 11,205. Anti-PRP antibody level was correlated with serum bactericidal titer.

Conclusion : Many children aged 12-23 month old still had protective antibodies after recommended primary immunization only. A booster dose seemed to induce good anamnestic antibody responses in Korean children. (**Korean J Pediatr** 2007;50:449-456)

Key Words : *Haemophilus influenzae* type b, Antibodies, Immunization, Booster

서 론

접수 : 2007년 1월 22일, 승인 : 2007년 4월 15일
본 논문의 요지는 2006년 한국소아감염병학회
추계학술대회에서 구연 발표됨.

이 연구는 2006년 질병관리본부 연구비 지원에 의해 수행됨.
책임저자 : 김경호, 이화여자대학교 의과대학부속 동대문병원 소아과

Correspondence : Kyung Hyo Kim, M.D.
Tel : 02/765-5363 Fax : 02/765-3855
E-mail : kaykim@ewha.ac.kr

소아에게 수막염, 균혈증, 후두개염, 폐렴, 화농성 관절염 등
침습성 및 국소성 세균 감염을 일으키는 주요 균인 b형 헤모필
루스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae* type b, Hib)는¹⁾ 많
은 국가들에서 단백 결합 백신(protein conjugate vaccine)의
사용으로 발생률이 두드러지게 감소하고 있다²⁾.

우리나라에서도 1996년 이후 Hib 백신이 도입되어 선별적으로 사용되고 있는데 이는 우리나라 소아에서 Hib 감염에 매우 취약한 5세 미만의 소아에서의 자연 방어 항체가 연구 결과³⁾와 백신의 기초 접종에 대한 면역원성 연구 결과에 근거하고 있다⁴⁻⁷⁾.

세계보건기구에서는 1998년부터 Hib 백신을 정기 접종에 포함시키도록 권장하며⁸⁾ 전 세계의 100여개 이상 국가에서 필수 접종에 포함되어 있다⁹⁾. 그러나 국내에서는 아직 기본 접종 스케줄에 포함되어 있지 않은 상태이며 단지 소아과 학회에서만 적극적으로 접종을 권장하는 상태이다¹⁰⁾. 그러나 이미 민간의료기관을 중심으로 예방접종이 보편화되어 있어 2005년 이후 예방접종율은 약 50-60%에 이른다고 보고된 바 있고¹¹⁾ Hib 백신이 매우 안전하며 효과적인 백신임이 입증된 상황이므로¹²⁾ 이를 국가 필수 접종으로 도입하는 것은 이제 적극적으로 고려되어야 한다. 한편 Hib 백신의 접종 스케줄은 국가에 따라 차이가 있어 기초접종의 횟수는 2-3회로 다양하며 추가접종은 대부분의 국가에서 시행되고 있다²⁾. 그런데 국내 Hib 질환의 역학이 다를 수 있고 인종이나 민족에 따라 백신에 대한 면역 반응에 차이가 있으므로¹³⁻¹⁵⁾, 우리나라 소아들에게 어느 백신을 어떤 스케줄로 접종하는 것이 가장 적절한지에 대한 연구는 반드시 필요하다. 현재까지 우리나라 소아에서 Hib 기초접종에 관한 면역원성 연구는 많이 이루어졌으나⁴⁻⁷⁾, 추가접종에 관한 연구는 매우 부족하여 발표된 것이 없다.

본 연구는 12-23개월 사이의 소아들을 대상으로 추가접종을 받은 소아들과 받지 않은 소아들의 항 polyribosylribitol phosphate(PRIP) 항체가와 살균 역가(bactericidal titer)를 조사하여 면역원성에 근거한 추가접종의 필요성 여부를 확인하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2006년 6월부터 12월까지 이화여자대학교 의과대학 부속 동대문 병원, 포천중문의과대학 부속 강남 차병원, 관동대 의과대학 부속 명지병원에 내원하여 검사를 위해 혈액 채취의 기회가 있었던 12-23개월 사이의 소아 144명을 대상으로 하였다. 본 연구는 연구 시행 세 기관의 임상시험위원회 심의를 통과하였다. 보호자에게 혈액 채취 및 사용에 대한 설명문의 설명 후 서면 동의를 받았고 대상 소아의 혈액 검사 후 남은 혈청은 항 PRP 항체 검사를 위해 -20℃에 보관하였다. Hib 백신의 접종력은 각 소아들의 예방접종 수첩 기록을 확인하였고 기록이 없거나 접종 받은 백신이 불확실한 경우 접종 받은 의료기관에 확인하였다. 각 소아들의 병력을 확인하여 Hib 질환에 이환된 병력이 있는 경우, 면역학적 질환이 있는 경우, 면역 억제제, 면역글로불린 제제 혹은 수혈을 받은 경력이 있는 경우 등은 연구 대상에서 제외하였다.

2. 항 PRP 항체 검사를 위한 효소 면역법 (enzyme immunoassay, EIA)

항 PRP 항체가 효소면역법으로 이화여자대학교 의과대학 의과학연구소 백신효능 연구센터에서 측정하였다.

항 PRP 항체 측정을 위한 효소 면역법에 사용된 HbO-HA 항원은 Hib 단당질(oligosaccharide)을 인간 혈청 알부민에 결합시킨 것으로¹⁶⁾, 미국 University of Alabama at Birmingham, Pneumococcal and Hib Reference Laboratory의 Dr. Nahm으로부터 공급받아 사용하였다. 항원은 살균된 1급 물(Merck KGaA, Darmstadt, Germany)로 1 µg/mL이 되도록 희석하여 준비하였다. 표준 혈청은 미국 Center for Biological Evaluation and Research(CBER)의 표준 항-PRP 혈청(Lot 1983, CBER, Bethesda, MA, USA)¹⁷⁾을 Dr. Carl Frasch로부터 공급 받아 사용하였다. 표준 혈청의 항 PRP IgG 항체 농도는 60.9 µg/mL이다.

HbO-HA 항원을 96 well의 평평한 바닥(flat bottom)의 polystyrene 평판(Corning & Costar, Corning, NY, USA)에 50 µL 씩 넣고 37℃에서 90분간 습기가 있는 상자에 넣어 코팅시켰다. 항원이 코팅된 평판은 30초 동안 0.01%의 Brij 35가 포함된 pH 7.2의 tris 완충 용액(tris buffered solution)으로 흠뻑 적신 후 같은 용액으로 5회 세척하였다. 표준 혈청은 0.02% NaN₃와 0.05% Tween-20이 포함된 인산완충용액인 항체 완충액으로 희석하여 1/500의 희석 표준 혈청으로 제조하였다. 혈청과 정도 관리 혈청도 같은 항체 완충액으로 1/50으로 희석하였다. 미리 정해진 템플릿에 따라 표준 혈청, 검사 혈청 및 정도 관리 혈청을 각각 50 µL씩 첫 번째 well에 넣고 2배 연속 희석하였다. 공백(blank) well은 비특이 배경 결합(background binding)을 평가하기 위하여 항원은 넣지 않고 항체 완충액만 50 µL씩 주입하였다. 이를 실온에서 1시간 동안 반응시키고 앞에서와 동일한 방법으로 세척 후, 50 µL의 희석된 goat anti-human IgG-alkaline phosphatase conjugate(Southern Biotek, Birmingham, AL, USA)를 주입하였다. 다시 실온에 1시간 두어 반응시킨 후 동일한 방법으로 세척하였다. 그 후 1 mg/mL 농도의 p-nitrophenyl phosphate(Sigma, St. Louis, MO, USA) 기질 용액을 각 well당 100 µL씩을 넣고 실온에 1시간 반응시켰다. 각 well에 3 M의 NaOH를 50 µL씩 첨가하여 발색반응을 정지시킨 후 405 nm와 690 nm에서 흡광도를 측정하였다. 검사의 측정 한계는 0.15 µg/mL이며 혈청의 측정값이 0.15 µg/mL 미만인 경우는 측정한계의 반값인 0.08 µg/mL로 정하였다.

3. Hib에 대한 살균 능력(bactericidal activity) 측정

혈청 항체의 Hib에 대한 살균 능력 측정은 미국 질병통계센터의 방법¹⁸⁾을 보완한 방법으로 이화여자대학교 의과대학 의과학연구소 백신효능 연구센터에서 측정하였다. 시험에 사용된

Hib 세균은 Eagan 주(strain)로 미국 University of Alabama at Birmingham, Pneumococcal and Hib Reference Laboratory의 Dr. Nahm으로부터 공급 받았다.

살균 능력 측정을 위한 혈청은 56°C에서 30분간 보온하여 혈청에 포함된 보체를 불활성화 시킨 후 사용하였다. 시험에 사용된 희석 완충액은 0.14 mM의 CaCl₂와 0.5 mM의 MgSO₄가 포함된 인산 완충용액을 사용하였다. 96 well polystyrene microtiter 평판에 10 µL의 혈청을 넣고 2배 단계 희석하였다. 각 well에 20 µL의 Hib 균(1,000 CFU/20 µL)을 첨가하여 촛불 병(candle jar)에 넣어 37°C에서 15분간 반응시켰다. 반응 후 각 well에 25 µL의 아기 토끼 보체(baby rabbit complement, Pelfreeze, Browndeer, WI, USA)와 25 µL의 희석 완충액(dilution buffer)을 첨가하여 촛불 병에 넣어 37°C에서 60분간 반응시켰다. 최종 반응액 5 µL를 nicotinamide adenine dinucleotide(Sigma, St. Louis, MO, USA)와 hemin(Sigma)이 포함된 brain heart infusion(BHI, Difco, Franklin Lakes, NJ USA) 한천 평판에 도포하고 액체가 다 흡수되면 25 µg/mL의 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride(TTC, Sigma)가 포함된 액체 상태의 BHI 한천을 위에 부어 응고될 때까지 기다렸다. 평판을 촛불 병에 넣어 37°C에서 16시간 동안 배양한 뒤 살아남은 집락수를 세어 항체가 없는 well에 비해 50%가 죽은 혈청의 희석배수를 살균 역가(bactericidal titer)로 정하였다.

4. 통계 분석

각 접종 군의 항체 측정치의 기하 평균을 구하였고 95% 신뢰구간을 나타내었다. 예방 접종력에 따라 나는 각 군별로 자연 면역에 의한 방어력이 있는 항체가인 0.15 µg/mL 이상인 개체의 수와 백분율을 구하였고 백신 접종 후 방어력이 있는 항체가인 1 µg/mL 이상인 개체의 수와 백분율을 구하였다. 이들 자료의 비교는 student t-test를 사용하여 P값을 구하였고 P값이 0.05 미만인 경우를 유의하다고 판정하였다.

결 과

1. 연구 대상의 인구학적 특성 및 예방접종력

연구 대상 144명 중, Hib 백신을 접종하지 않은 소아는 10명, 기초접종을 불완전하게 한 소아는 7명, 기초접종을 완료한 소아는 70명, 추가접종까지 완료한 소아는 57명이었다. 접종 받은 백신 종류를 조사한 결과, PRP-T를 접종 받은 소아는 107명(79.9%), PRP-OMP는 22명(16.4%), HbOC는 5명(3.7%)이었다. 이 중 기초접종을 불완전하게 한 소아는 모두 PRP-T로 접종받았으며 6명 중에서 4명이 1회, 3명이 2회 접종을 받았다. 기초접종을 완료한 소아 70명 중 PRP-T 접종은 57명(81.4%), PRP-OMP는 22명(15.7%), HbOC는 5명(2.9%)이었고 추가접종까지 완료한 소아 57명 중 PRP-T 접종은 43명(75.4%), PRP-OMP

는 11명(19.3%), HbOC는 3명(5.3%)이었다(Table 1).

각 군별로 대상들의 평균 나이는, Hib 백신을 접종하지 않은 군은 14.9개월, 기초접종을 불완전하게 한 군은 17.6개월, 기초접종을 완료한 군은 15.2개월 그리고 추가접종까지 완료한 군은 19.1개월이었다. 추가접종까지 완료한 군의 평균 나이는 기초접종을 완료한 군의 평균 나이보다 많았다(P<0.05). 접종 횟수에 따른 각 군별의 성별 차이는 없었다. 기초접종을 완료한 군과 추가접종까지 완료한 군 간에 백신 종류에 따른 나이와 성별의 차이는 없었다.

2. 백신의 면역원성

1) 백신 접종력에 따른 항 PRP 항체가

항 PRP 항체가의 기하 평균은 접종하지 않은 군이 1.03 µg/mL, 기초접종을 불완전하게 한 군이 2.08 µg/mL, 기초접종을 완료한 군이 2.39 µg/mL, 추가접종까지 완료한 군이 19.09 µg/mL이었다. 추가접종까지 완료한 군의 항 PRP 항체가는 기초접종을 완료한 군이나 접종하지 않은 군의 항체가보다 높았다

Table 1. Number of Subjects and Groups by Immunization Status and Vaccine Type

	No vaccine	Primary, partial*	Primary†	Booster‡	Total
None	10	0	0	0	10
PRP-T§	0	7	57	43	107
PRP-OMP	0	0	11	11	22
HbOC¶	0	0	2	3	5
Total	10	7	70	57	144

*children who did not finish primary Hib immunization
 †children who finished primary Hib immunization without a booster
 ‡children who finished primary Hib immunization and a booster
 §PRP-tetanus toxoid conjugate
 ||PRP-outer membrane protein conjugate
 ¶Haemophilus b oligosaccharide conjugate
 PRP, polyribosylribitol phosphate

Table 2. Geometric Mean Titer of Anti-PRP Antibody in Groups by Immunization Status

	No vaccine (N=10)	Primary, partial† (N=7)	Primary‡ (N=70)	Booster§ (N=57)
GMT (µg/mL)	1.03	2.08	2.39	19.09*
95% CI¶	0.48, 2.22	0.40, 10.90	1.64, 3.47	12.72, 27.92
Titer range	0.29-12.56	0.13-53.06	0.08-104.52	0.49-256.05

*P<0.05 booster vs primary or no vaccine group
 †children who did not finish primary Hib immunization
 ‡children who finished primary Hib immunization without a booster
 §children who finished primary Hib immunization and a booster
 ||geometric mean titer
 ¶confidence interval
 PRP, polyribosylribitol phosphate

($P < 0.05$, Table 2). 기초접종을 완료한 군과 추가접종까지 완료한 군에서 백신 종류에 따른 항체가의 차이는 없었다.

2) 백신 접종력에 따른 항 PRP 항체가의 양성률

항 PRP 항체가가 0.15 $\mu\text{g/mL}$ 이상인 비율은 접종하지 않은 군이 100%, 기초접종을 불완전하게 한 군이 85.7%, 기초접종을 완료한 군이 97.1%, 추가접종까지 완료한 군이 100%로 각 군간 양성률의 차이가 없었다. 항 PRP 항체가가 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 이상인

비율은 접종하지 않은 군이 30%, 기초접종을 불완전하게 한 군이 57.1%, 기초접종을 완료한 군이 68.6%, 추가접종까지 완료한 군이 96.5%였다. 추가접종까지 완료한 군은 다른 세 군에 비해 양성률이 높았다($P < 0.05$). 기초접종을 완료한 군은 접종하지 않은 군에 비해 양성률이 높았다($P < 0.05$, Table 3). 기초접종을 완료한 군과 추가접종까지 완료한 군에서 백신 종류에 따른 양성률의 차이는 없었다(Fig. 1).

3) 항 PRP 항체가와 살균 역가의 비교

살균 역가는 대상 소아 144명 중 무작위로 35명을 추출하여 시행하였다. 각 군별로 보면 Hib 백신을 접종하지 않은 소아는 5명, 기초접종을 일부만 한 소아는 2명, 기초접종을 완료한 소아는 14명, 추가접종까지 완료한 소아는 14명이었다. 평균 살균 역가는 추가접종까지 완료한 군이 11,205로 기초접종을 완료한 군의 3,946보다 높았다($P < 0.05$). 항 PRP 항체가와 살균 역가는 양의 상관관계에 있었다($R = 0.60$, Fig. 2).

Table 3. Percentage of Subjects with Protective Level of Anti-PRP Antibody

	Number (%)			
	No vaccine (N=10)	Primary, partial [†] (N=7)	Primary [§] (N=70)	Booster (N=57)
<0.15 $\mu\text{g/mL}$	0 (0)	1 (14.3)	2 (2.9)	0 (0)
$\geq 0.15 \mu\text{g/mL}$	10 (100)	6 (85.7)	68 (97.1)	57 (100)
$\geq 1.0 \mu\text{g/mL}$	3 (30.0)	4 (57.1)	48 (68.6) [*]	55 (96.5) [†]

^{*} $P < 0.05$ primary vs no vaccine

[†] $P < 0.05$ booster vs other groups

[‡]children who did not finish primary Hib immunization

[§]children who finished primary Hib immunization without a booster

^{||}children who finished primary Hib immunization and a booster

PRP, polyribosylribitol phosphate

고 찰

본 연구에서 항 PRP 항체의 항체가는 기초접종만 완료한 군이 2.39 $\mu\text{g/mL}$, 추가접종까지 완료한 군이 19.09 $\mu\text{g/mL}$ 로 추가접종까지 완료한 군의 항 PRP 항체가는 기초접종을 완료한 군의 항체가보다 의미 있게 높았다. 항 PRP 항체가가 1.0 $\mu\text{g/}$

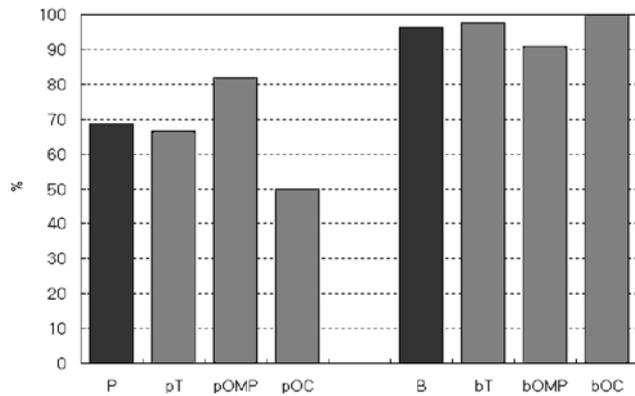


Fig. 1. Percentage of subjects with anti-PRP antibody titer $\geq 1.0 \mu\text{g/mL}$. There were difference in percentage of subjects with anti-PRP antibody titer $\geq 1.0 \mu\text{g/mL}$ between group which received a booster (B) and those did not (P) ($P < 0.05$). There were no significant difference in percentage of subjects with anti-PRP antibody titer $\geq 1.0 \mu\text{g/mL}$ according to different Hib vaccine type ($P > 0.05$). PRP, polyribosylribitol phosphate, P; children who finished primary Hib immunization without a booster, pT; children who finished primary Hib immunization only with PRP-tetanus toxoid conjugate (PRP-T), pOMP; children who finished primary Hib immunization only with PRP-outer membrane protein conjugate (PRP-OMP), pOC; children who finished primary Hib Immunization only with Haemophilus b oligosaccharide conjugate (HbOC), B; children who finished primary and a booster, bT; children who finished primary and a booster with PRP-T, bOMP; children who finished primary and a booster with PRP-OMP, bOC; children who finished primary and a booster with HbOC.

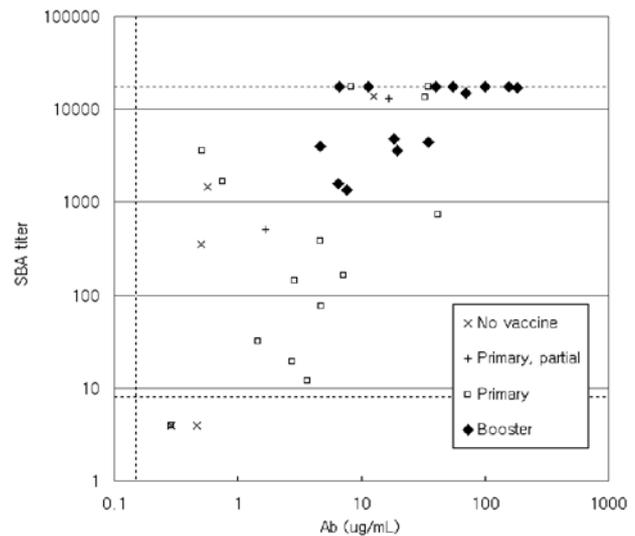


Fig. 2. Correlation between anti-polyribosylribitol phosphate (PRP) antibody titer and serum bactericidal titer. Anti-PRP antibody titer were correlated with serum bactericidal titer ($R = 0.60$). Bactericidal titer of booster group were higher than that of primary group ($P < 0.05$). Upper and lower horizontal dot line represents upper and lower limitation of serum bactericidal assay. Vertical dot line represents lower limitation of EIA. SBA, serum bactericidal assay. Primary, partial; children who did not finish primary Hib immunization, Primary; children who finished primary Hib immunization without a booster, Booster; children who finished primary Hib immunization and a booster.

mL 이상인 비율은 기초접종을 완료한 군이 68.6%, 추가접종까지 완료한 군이 96.5%로 추가접종까지 완료한 군이 의미 있게 양성률이 높았다. 또한 항 PRP 항체가는 살균 역가와 양의 상관관계에 있었다. 따라서 Hib 백신 기초접종 후 항 PRP 항체가는 감소하며 일부 소아에서는 방어 항체가보다도 낮은 정도로 떨어짐을 알 수 있었고 이 시기의 추가접종은 다시 항체를 크게 증가시킴을 알 수 있었다.

지금까지 우리나라 소아들의 Hib 백신 접종 후 항체가에 대한 연구는 PRP-T의 기초접종 완료 1-2개월 후의 항체가에 대한 자료가 대부분이다^{4-7, 19}. 우리나라 소아에서 기초접종 완료 1-2개월 후의 항체가는 PRP-T로 접종한 경우 14.3-21.98 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이며, 항체가가 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상인 비율도 96-100%로 외국의 75-94%보다 높았다²⁰⁻²². PRP-OMP에 대한 연구는 기초접종에 관한 것만 있는데, 국내에서 시행한 연구에서는 기초접종 완료 후 항체가는 8.04 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이고, 항체가가 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상인 비율은 86.9%로¹⁹ 외국의 경우인 55-79%와 비교하면 높았다^{20, 23, 24}. 따라서 이 연구들에 의하면 Hib 백신은 우리나라 영아에서 기초접종 후 외국의 연구 보고들에 비해 면역원성이 높은 결과들을 보였다.

한편 국내에서 기초접종을 받은 소아들의 12개월 이후의 항체가의 변동에 관한 연구가 있는데, PRP-T 백신 기초접종 완료 후인 7-8개월의 항체가가 24.6 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 인데 추가접종을 하지 않고 19-20개월 사이의 항체가는 2.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 감소하였고, 항체가가 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상인 비율도 기초 접종 완료 후 98.3%에서 19-20 개월에 61.6%로 감소함을 보였다⁶.

국내의 추가접종에 대한 연구는 미발표 자료만 있다. 추가접종 전 15개월과 추가 접종 1개월 후인 16개월에 항체가를 측정하였는데, PRP-T의 경우는 1.27 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 29.31 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로, HbOC의 경우는 0.51 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 에서 34.95 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 증가하였고, 항체가 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상인 비율도 PRP-T의 경우 38%에서 91%로, HbOC의 경우 29%에서 98%로 증가하였다(미발표 자료).

본 연구에서 기초접종을 완료한 군과 추가접종까지 완료한 군을 비교해 보면, 항 PRP 항체가의 경우 각각 2.39 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 19.09 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었고, 항체가가 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상인 비율도 각각 68.6%, 96.5%로 추가접종까지 완료한 군에서 높은 비율을 보였다. 기초접종만 완료한 군에서 12-23개월 사이의 항체가가 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상인 비율이 68.6%로 이전 연구에서 우리나라 소아에서 기초접종 완료 후의 항체가가 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상인 비율이 86.9-100%로 높은 것에 비교하여 볼 때, Yang 등⁶의 연구에서와 마찬가지로 12개월이 지나면 항체가가 방어력이 있는 수준 이하로 감소한다고 여겨진다. 추가접종을 완료한 군에서는 우리나라 소아의 미발표 자료와 유사한 결과를 얻었다. 외국의 자료와 비교하여 보면, 항 PRP 항체가가 12개월 이후에 추가접종 전에는 0.18-0.41 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이었다가 추가접종 후에는 24.5-113.92 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 로 증가하며, 항체가가 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상인 비율도 추가접종 전에 14.1-31.9%에서 추가접종 후에 94.8-100%로 증가하였

다^{25, 26}. 외국의 자료와는 기초접종의 시기나 백신의 종류가 다양하여 직접적인 비교는 할 수 없으나, 경향은 비슷하였다.

한편 본 연구에서 기초접종만 완료한 군과 추가접종까지 완료한 군 간 백신 종류에 따른 면역원성의 차이가 있는지를 알아보고자 하였으며 통계적으로는 의미 있는 차이를 보이지는 않았다. 그러나 백신 종류가 주로 PRP-T로 접종한 백신 종류 중 약 80%를 차지하였고 PRP-OMP나 HbOC의 비율이 상대적으로 적었기 때문에 좀 더 연구가 필요하리라 생각된다. 외국의 연구에서는 각 백신은 영아에게 2, 4, 및 6개월에 접종 시 혈청 내 항체 반응 양상에 다소 차이가 있다고 보고되었다^{20, 27-29}. PRP-OMP는 2-4개월 영아에게 1회 접종으로 비교적 좋은 항체 반응을 보여 빨리 예방 효과를 얻을 수 있었으나 2회 또는 3회 접종해도 항체가의 증가가 많지 않았다. HbOC와 PRP-T는 2-3회 접종 후에야 우수한 항체 반응을 보이거나, 3회 접종 후에는 PRP-OMP를 2-3회 접종한 후보다 훨씬 높은 항체가를 보였다. PRP-OMP가 영아에서 1회 접종으로 항체 반응을 일으키는 정확한 기전은 알 수 없으나, 이의 운반체 단백질 T-세포 의존성 및 T-세포 비의존성에 의한 면역 보강 역할 2가지 모두 가지고 있기 때문인 것으로 추측되고 있다.

본 연구의 대상으로 추가접종까지 완료한 군의 평균 나이는 19.1개월로 기초접종을 완료한 군의 평균 나이인 15.2개월 보다 의미 있게 높았다. 하지만 Hib 백신이 도입되기 전의 우리나라 소아의 항 PRP에 대한 항체가를 측정된 연구에서 36개월 미만까지는 기하평균이 모두 0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 미만인 것으로 나타났으며 36개월이 넘어서야 0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상이 되었으며, 0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 인 비율도 36개월이 지나야 60%이상으로 상승하였다³. 또한 백신이 도입된 이후인 1995년 연구에서도 0.15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이상인 비율이 36개월 이전에서는 30-40% 정도를 유지하다가 36개월이 지나면 70%정도로 상승하는 것으로 보고되었다⁴. 따라서 12-24개월 사이의 소아들 간의 항체가 비교는 나이에 따라 큰 영향은 받지 않을 것으로 생각된다.

효소 면역법에 의한 항 PRP 항체가의 측정은 Hib에 대한 방어 능력을 예측하지만, 실제로 생체 내에서의 방어 능력과 항상 일치하는 것은 아니다³⁰⁻³². 효소면역법에 의해서는 면역글로블린 아형 중 IgG 만을 측정할 수 있고 경우에 따라서는 항체 농도는 높지만 항원과의 친화력이 낮은 등 기능적 면에서 효과가 낮은 항체가 함께 측정될 수 있기 때문이다³⁰⁻³². 따라서 백신에 대한 항체 반응을 검사 시에는 항체의 기능을 함께 측정하여 효소면역법에 의한 항체 반응 검사를 보완하도록 추천 한다²⁸. 이를 위해서는 항체의 친화력(avidity)이나 살균 역가를 측정할 수 있다^{18, 28, 32}. WHO의 전문 기술 보고서에 의하면 효과적인 Hib 백신은 옴소닌 혹은 살상 능력에 의해 측정되어지는 기능적 항체를 생성해야 한다고 하였다³³.

본 연구에서 살균 역가는 항 PRP 항체가와 양의 상관관계에 있었고, 추가접종을 완료한 경우가 기초접종을 완료한 경우에 비해 살균 역가가 높아 추가접종을 완료한 경우 항 PRP 항체의

양 뿐 아니라 기능도 향상됨을 알 수 있었다. 한편 본 연구에서는 항체가와 항체 기능의 상관계수가 0.6으로 기대치에 비해 낮았는데 이는 본 연구에서 살균 역가를 모든 혈청에 대해 동시에 시행하여 측정 최대치보다 높은 값을 가진 혈청의 경우 최대치의 값을 주었기 때문으로 생각된다. 효소 면역법에 사용되는 표준 혈청은 그 속에 포함된 물질 때문에 살균 능력 측정법과 같은 기능 측정에는 사용할 수 없다¹⁸⁾. 따라서 살균 능력 측정법을 여러 번 시행하는 경우 적절한 표준 혈청에 의한 값의 보정은 불가능하다. 그러므로 본 연구에서는 부정확한 살균 역가가 측정되는 우려 때문에 혈청을 더 희석하여 살균 역가를 재 측정하는 대신 일 회회 검사로 살균 역가를 정하였다.

Hib 추가 접종과 관련하여 1999년 이후 Hib 백신 접종에도 불구하고 다시 Hib 질환이 증가가 보고되었던 영국의 경험은 매우 유용하다. 영국의 Hib 백신 스케줄은 2, 3, 4개월에 접종하고 추가접종을 시행하지 않았다. 그런데, 접종 후 크게 감소하던 침습성 Hib 질환의 빈도가 1999년부터 2003년 사이에 스케줄대로 접종 받은 5세 이하의 소아들에서 점점 증가하는 것으로 나타났다³⁴⁻³⁷⁾. 영국에서는 이처럼 백신 실패율이 증가하는 요인으로 2, 3, 4개월의 짧은 간격으로 추천되는 기초접종 스케줄, 영국의 catch-up 프로그램 및 Hib 백신의 면역원성이 낮게 나타나는 DTaP-Hib 혼합 백신의 사용 등이 대두되었으며 접종 스케줄에 추가접종이 없었다는 점도 중요한 원인으로 생각되었다. 어떤 요인이 어느 정도의 문제가 되었는지는 정확히 알 수 없었으나 이후 영국에서는 2005년부터 Hib 백신의 접종 스케줄에 추가 접종을 추가하였다³⁸⁾. 한편, 네델란드에서는 DTwP와 Hib 백신을 3, 4, 5개월에 접종하고 11개월에 추가 접종하다가 같은 백신을 2, 3, 4개월에 접종하고 11개월에 접종한 후에 Hib에 의한 수막염과 후두개염이 증가하여, 네델란드의 경우 영국에서 도입된 면역원성이 감소한 혼합백신으로 인해 Hib 질환이 증가한 것이라고 설명할 수는 없다³⁹⁾.

추가접종의 필요성을 논할 때 중요하게 고려되는 것으로 백신의 목표 질환의 병태 생리적 특성과 백신 접종 후의 면역 기억과의 관계이다. 미생물에 감염 후 면역 기억이 얼마나 빨리 유도 되는지에 따라 그 미생물에 의한 질환에 이환될 가능성이 달라질 수 있다. B형 간염의 경우, 백신을 접종 받은 사람의 체내에 B형 간염 바이러스가 들어오면 백신에 의해 이전에 유도된 기억 세포들이 수일에 걸쳐 활성화되어 면역 반응을 일으키고 바이러스 복제를 억제하게 된다. B형 간염의 잠복기는 노출 후 4-12주 이상으로 백신 접종 후 다시 노출 시 기억 세포의 활성화에 걸리는 시간보다 훨씬 길기 때문에 기초 접종만으로 백신은 효과적으로 질환에 이행되는 것을 막을 수 있어서 체내 항체가가 매우 낮은 경우에도 효과적으로 감염을 방지하는 것이 가능하다. 따라서 B형 간염 백신은 추가접종 없이도 기초접종 시 유도된 면역 기억만으로 예방 효과가 있을 수 있다^{40, 41)}. Hib 단백 결합 백신의 경우에는 예방 접종 후 항체가가 매우 감소한 경우에도 추가 접종 후에 항체가가 다시 증가 하는 면역 기억이

확인된 바 있다²⁵⁾. 그러나 백신 접종 후 침습성 Hib 질환에 이환된 소아들에서도 면역 기억이 확인되었으므로 면역 기억의 유무만이 침습성 Hib 질환을 예방하는 데 효과적이지는 않다고 생각 된다⁴²⁾. Hib의 경우에도 기억 세포들이 감염으로부터 인체를 방어하는데 필요한 항체를 충분히 생성하기까지에는 시간이 필요하다⁴¹⁾. 그런데 Hib 감염의 경우에는 감염 후 빠른 속도로 질병으로 이환되므로 감염 당시 혈청 내 존재하는 항체가가 매우 중요한 역할을 하며 면역 기억에 의해 충분한 항체가 생성되는 동안 환아는 중증 감염으로 진행될 수 있다고 생각된다. 따라서 B형 간염과 피막 다당질을 가진 세균에 의한 감염에서의 면역 기억의 역할은 실제 질병을 예방하는 데 있어서는 중요성이 다르다.

Hib는 소아에서 높은 사망율과 합병증을 일으키는 중요 세균이므로 백신에 의한 예방은 필수적이다. 또한 Hib 백신은 세계적으로 매우 효과적이며 안전한 백신으로 입증되어 있다¹⁵⁾. 우리나라에서 Hib 백신이 기본 예방접종이 되기 위해서는 발생하는 Hib 질환의 종류, 발생 빈도, 호발 연령 등의 역학에 관한 연구, Hib 백신의 면역원성, Hib 백신의 효능, Hib 백신의 접종 가격, Hib 백신의 비용 대 편익 효과 등에 관한 충분한 연구가 필요하다. 본 연구는 동일한 소아에게 추가접종 전과 후 항체가의 비교 연구가 아니고 여러 소아에서 추가접종 유무에 따른 항체가 비교 연구라는 제한점이 있지만 지금까지 국내에 추가접종에 관한 우리나라 소아들의 면역원성 연구가 거의 없었기 때문에, 추가접종에 대한 기초 자료로서 의미가 있다고 생각된다. 본 연구를 통해 국내 소아의 Hib 백신 추가 접종의 필요성을 확인할 수 있었다. 향후 Hib 백신의 국내 기본 접종으로의 도입과 적절한 접종 스케줄의 결정을 위해 Hib 질병부담과 백신의 비용 대 편익 효과에 관한 연구가 필요할 것이라 생각된다.

요 약

목적 : 우리나라에서 Hib 백신을 기본 예방접종에 포함시키는 것을 고려할 때 우리나라의 Hib 질환의 역학, 우리나라 소아의 Hib 백신에 대한 면역 반응에 대한 연구가 있어야 한다. 본 연구는 우리나라 소아에서 면역원성에 근거한 추가접종의 필요성 여부를 확인하고자 하였다.

방법 : 2006년 6월부터 2006년 12월까지 이화여자대학교 동대문 병원, 강남 차병원, 관동대 명지병원에 내원하여 검사를 위해 혈액 채취의 기회가 있었던 12-23개월 사이의 소아 144명을 대상으로 하였다. 분리된 혈청으로 항 PRP 항체가를 효소면역법으로 측정하였고, 혈청 살균 능력 측정을 시행하였다.

결과 : 추가접종까지 완료한 군의 항 PRP 항체의 기하평균은 기초접종을 완료한 군이나 접종하지 않은 군의 기하평균보다 높았다($P<0.05$). 항 PRP 항체가가 1.0 $\mu\text{g/mL}$ 이상인 비율은 추가접종까지 완료한 군은 96.5%로 다른 세 군에 비해, 기초접종을 완료한 군은 68.6%로 접종하지 않은 군의 30.0%에 비해

양성률이 높았다($P < 0.05$). 평균 살균 역가는 추가접종까지 완료한 군이 11,205로 기초접종을 완료한 군의 3,946보다 높았다($P < 0.05$). 항 PRP 항체가와 살균 역가는 양의 상관관계에 있었다($R = 0.60$).

결론: 우리나라 소아는 Hib 백신의 기초 접종 후 12-23개월의 나이에 많은 경우에서 방어 농도 이상의 항체가를 여전히 가지고 있었다. 추가접종에 대한 면역 기억 반응도 좋아 추가 접종 받은 소아의 항체가는 받지 않은 소아에 비해 의미 있게 높았다. 우리나라에 Hib 백신의 기본예방접종으로의 도입과 접종 횟수를 결정하기 위해서 지속적인 연구가 필요하다.

감사의 글

본 연구를 위해 표준 항원을 제공해 주신 미국 University of Alabama at Birmingham의 Moon Nahm 교수, 표준 혈청을 제공해 주신 미국 Center for Biological Evaluation and Research의 Carl Frasci 박사께 감사를 드린다.

본 연구는 2006년 질병관리본부 학술연구 용역사업 “*H. influenzae* type b(Hib) 질병 부담 및 면역원성 분석에 관한 연구”의 연구비 지원에 의해 수행된 연구 중 일부이다.

References

- 1) Ward JL. Haemophilus influenzae. In: Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ, Kaplan SL, editors. Textbook of Pediatric Infectious Disease. 5th ed. WB Saunders Co, 2004:1636-55.
- 2) Watt JP, Levine OS, Santosham M. Global reduction of Hib disease: what are the next steps? Proceedings of the meeting Scottsdale, Arizona, September 22-25, 2002. J Pediatr 2003;143Suppl 6:163-87.
- 3) Lee HJ, Kim CH, Park CY, Shon YM, Oh SH, Chun CS, et al. Natural antibody against Haemophilus influenzae type b in a sample population of Korean children. J Korean Pediatr Soc 1993;36:1471-7.
- 4) Yoo ES, Park EA, Kim GH. Natural anti-PRP antibody level to Haemophilus influenza type b (Hib) and change of antibody level after three doses of vaccination. J Korean Pediatr Soc 1995;38:1201-9.
- 5) Kim JS, Cho SB, Lee HR, Park SK, Hwang PH. Immunogenicity and safety of Haemophilus influenzae type b polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccine (PRP-T) in Korean infants. Korean J Infect Dis 1996;28:225-32.
- 6) Yang PS, Seo JI, Noh KT, Yoo JH, Hwang KS, Hwang KG. Studies of the change of antibody titers after vaccination of Haemophilus influenzae PRP-T conjugate vaccine. J Korean Pediatr Soc 2002;45:987-93.
- 7) Chung EH, Kim YJ, Kim YK, Kim DH, Seo JW, Lee HJ. Immunogenicity and safety of a Haemophilus influenzae type b polysaccharide-tetanus toxoid conjugate vaccine (PRP-T; HiberixTM) in Korean infants. J Korean Pediatr Infect Dis 2003;10:71-80.
- 8) World Health Organization. WHO Position Paper on Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines. (Replaces WHO position paper on Hib vaccines previously published in the Weekly Epidemiological Record). Wkly Epidemiol Rec 2006;81:445-52.
- 9) WHO/UNICEF coverage estimates, 1980-2005, as of August 2006 192 WHO Member States. Date of slide: 19 October 2006. Available from: URL://http://www.who.int/nuvi/hib/slides/Products01.pdf
- 10) Korean Pediatric Society, Committee on Infectious Diseases. Guideline for immunization in Korean infants and children. 5th edition, Kwang Moon Press, Seoul, Korea, 2002 p163-80.
- 11) Kim KH, Park HS, Park BH, Kong KE, Kim OS, Paik SH, et al. A study of immunization rate in children of 2 year of age for intervention of immunization in local society. Program and Abstract. The Annual Fall Meeting of the Korean Society of Pediatric Infectious Diseases; 2006 Nov 11; Seoul. Seoul: The Korean Society of Pediatric Infectious Diseases, 2006:6.
- 12) Swingler G, Fransman D, Hussey G. Conjugate vaccines for preventing Haemophilus influenzae type B infections. Cochrane Database Syst Rev 2003;(4):CD001729.
- 13) Ward J, Brennenman G, Letson GW, Heyward WL. The Alaska H. influenzae Vaccine Study Group. Limited efficacy of a Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine in Alaska native infants. N Engl J Med 1990;323:1393-401.
- 14) Petersen GM, Silimperi DR, Rotter JI, Terasaki PI, Schanfield MS, Park MS, et al. Genetic factors in Haemophilus influenzae type b disease susceptibility and antibody acquisition. J Pediatr 1987;110:228-33.
- 15) Cryz SJ Jr, Furer E, Fredeking T, Cross AS, Sadoff JC, Que JU. Effect of race and blood group on the immune response to bacterial polysaccharide and conjugate vaccines. Lancet 1989;23:1533-4.
- 16) Phipps DC, West J, Eby R, Koster M, Madore DV, Quartaert SA. An ELISA employing a Haemophilus influenzae type b oligosaccharide-human serum albumin conjugate correlates with the radioantigen binding assay. J Immunol Methods 1990;135:121-8.
- 17) Madore DV, Anderson P, Baxter BD, Carlone GM, Edwards KM, Hamilton RG, et al. Interlaboratory study evaluating quantitation of antibodies to Haemophilus influenzae type b polysaccharide by enzyme-linked immunosorbent assay. Clin Diagn Lab Immunol 1996;3:84-8.
- 18) Romero-Steiner S, Fernandez J, Biltoft C, Wohl ME, Sanchez J, Feris J, et al. Functional antibody activity elicited by fractional doses of Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine (polyribosylribitol phosphate-tetanus toxoid conjugate). Clin Diagn Lab Immunol 2001;8:1115-9.
- 19) Kim KH, Kang JH, Kim JS, Kim JH, Park SE, Park EA, et al. A study for immunization schedule assessment of Hib vaccine in Korea. Program and Abstract. the 55th Annual Fall Meeting of the Korean Pediatric Society; 2005 Oct 21-22; Seoul. Seoul: The Korean Pediatric Society, 2005:68.
- 20) Granoff DM, Anderson EL, Osterholm MT, Holmes SJ, McHugh JE, Belshe RB, et al. Differences in the immunogenicity of three Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines in infants. J Pediatr 1992;121:187-94.
- 21) Fritzell B, Plotkin S. Efficacy and safety of a Haemophilus

- influenzae type b capsular polysaccharide-tetanus protein conjugate vaccine. *J Pediatr* 1992;121:355-62.
- 22) Booy R, Hodgson S, Carpenter L, Mayon-White RT, Slack MP, Macfarlane JA, et al. Efficacy of Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine PRP-T. *Lancet* 1994;344:362-6.
 - 23) Santosham M, Wolff M, Reid R, Hohenboken M, Bateman M, Goepf J, et al. The efficacy in Navajo infants of a conjugate vaccine consisting of Haemophilus influenzae type b polysaccharide and Neisseria meningitidis outer-membrane protein complex. *N Engl J Med* 1991;324:1767-72.
 - 24) Harrison LH, Tajkowski C, Croll J, Reid R, Hu D, Breneman G, et al. Postlicensure effectiveness of the Haemophilus influenzae type b polysaccharide-Neisseria meningitidis outer-membrane protein complex conjugate vaccine among Navajo children. *J Pediatr* 1994;125:571-6.
 - 25) Goldblatt D, Miller E, McCloskey N, Cartwright K. Immunological response to conjugate vaccines in infants: follow up study. *BMJ* 1998;316:1570-1.
 - 26) Scheifele D, Law B, Mitchell L, Ochnio J. Study of booster doses of two Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines including their interchangeability. *Vaccine* 1996;14:1399-406.
 - 27) Kayhty H, Eskola J, Peltola H, Ronnberg PR, Kela E, Karanko V, et al. Antibody responses to four Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines. *Am J Dis Child* 1991;145:223-7.
 - 28) Schlesinger Y, Granoff DM. Avidity and bactericidal activity of antibody elicited by different Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines. The Vaccine Study Group. *JAMA* 1992;267:1489-94.
 - 29) Bulkow LR, Wainwright RB, Letson GW, Chang SJ, Ward JL. Comparative immunogenicity of four *Haemophilus influenzae* type b conjugate vaccines in Alaska Native infants. *Pediatr Infect Dis J* 1993;12:484-92.
 - 30) Anderson P, Johnston RB Jr, Smith DH. Human serum activities against Hemophilus influenzae, type b. *J Clin Invest* 1972;51:31-8.
 - 31) Schneerson R, Rodrigues LP, Parke JC Jr, Robbins JB. Immunity to disease caused by Hemophilus influenzae, type b. II. Specificity and some biologic characteristics of "natural", infection-acquired, and immunization-induced antibodies to the capsular polysaccharide of Hemophilus influenzae type b. *J Immunol* 1971;107:1081-9.
 - 32) Nahm MH, Kim KH, Anderson P, Hetherington SV, Park MK. Functional capacities of clonal antibodies to Haemophilus influenzae type b polysaccharide. *Infect Immun* 1995;3:2989-94.
 - 33) WHO Expert Committee on Biological Standardization. Fortynth report. *World Health Organ Tech Rep Ser* 2000; 97:i-vi, 1-106.
 - 34) Trotter CL, Ramsay ME, Slack MP. Rising incidence of Haemophilus influenzae type b disease in England and Wales indicates a need for a second catch-up vaccination campaign. *Commun Dis Public Health* 2003;6:55-8.
 - 35) McVernon J, Andrews N, Slack MP, Ramsay ME. Risk of vaccine failure after Haemophilus influenzae type b (Hib) combination vaccines with acellular pertussis. *Lancet* 2003;61:1521-3.
 - 36) Booy R, Heath PT, Slack MP, Begg N, Moxon ER. Vaccine failures after primary immunisation with Haemophilus influenzae type-b conjugate vaccine without booster. *Lancet* 1997;349:1197-202.
 - 37) Heath PT, McVernon J. The UK Hib vaccine experience. *Arch Dis Child* 2002;86:396-9.
 - 38) Cameron C, Pebody R. Introduction of pneumococcal conjugate vaccine to the UK childhood immunisation programme, and changes to the meningitis C and Hib schedules. *Euro Surveill* 2006;11:E060302.4.
 - 39) Rijkers GT, Vermeer-de Bondt PE, Spanjaard L, Breukels MA, Sanders EA. Return of Haemophilus influenzae type b infections. *Lancet* 2003;361:1563-4.
 - 40) Banatvala J, Van Damme P, Van Hattum H. Boosters for hepatitis B. European Consensus Group on Hepatitis B Immunity. *Lancet* 2000;356:337-8.
 - 41) Lambert PH, Liu M, Siegrist CA. Can successful vaccines teach us how to induce efficient protective immune responses? *Nat Med* 2005;11(Suppl 4):54-62.
 - 42) McVernon J, Johnson PD, Pollard AJ, Slack MP, Moxon ER. Immunologic memory in Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine failure. *Arch Dis Child* 2003;88:379-83.