

# 우리나라 성인에서 *Haemophilus influenzae* type b에 대한 항체 평가

이지현<sup>1,2</sup> · 김한울<sup>2</sup> · 이소영<sup>2</sup> · 김경호<sup>1,2</sup>

이화여자대학교 의과대학 소아과학교실<sup>1</sup>, 이화여자대학교 의과대학 의과학연구소 백신효능연구센터<sup>2</sup>

## Evaluation of Antibodies Against *Haemophilus influenzae* Type b in Korean Adults

Ji Hyen Lee<sup>1,2</sup>, Han Wool Kim<sup>2</sup>, Soyoung Lee<sup>2</sup>, Kyung-Hyo Kim<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics and <sup>2</sup>Center for Vaccine Evaluation and Study, Medical Research Institute, Ewha Womans University School of Medicine, Seoul, the Republic of Korea

**Purpose:** After the introduction of *Haemophilus influenzae* type b (Hib) vaccine in 1995 in Korea, it was included in the national immunization program in 2013. In the post-Hib vaccine era, some studies in other countries reported that invasive Hib disease affects adults, especially the elderly and immunocompromised persons, more often than it affects children. To evaluate disease susceptibility, quantitative and qualitative analysis of anti-polyribosylribitol phosphate (PRP) antibodies were carried out in Korean adults aged 20 to 85 years.

**Methods:** Sera were collected from 39 healthy adults (20 to 50 years of age) and from 30 elderly adults (75 to 85 years of age) who did not have immune-compromising conditions. The concentration of anti-PRP immunoglobulin G (IgG) and serum bactericidal indices (SBIs) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay and serum bactericidal assay.

**Results:** Geometric mean concentrations of anti-PRP IgG and geometric mean SBIs were 0.88 µg/mL (95% confidence interval [CI], 0.17 to 3.85) and 354 (95% CI, 50 to 2,499) in young adults and 1.67 µg/mL (95% CI, 0.53 to 5.24) and 449 (95% CI, 146 to 1,376) in elderly adults, respectively. When the threshold of seropositivity for anti-PRP IgG was applied as 0.15 or 1.0 µg/mL, which is the protective antibody level in children, seropositive rates were 87.2% or 53.8% in young adults and 100% or 60% in elderly adults. The seropositivity rates of the SBI (SBI ≥4) were 82.1% and 100% in the groups, respectively.

**Conclusions:** Most subjects in the adult and elderly adult groups display immunity to Hib based on quantitative and qualitative antibody levels, but not all. Because high immunization and low Hib circulation rates may reduce the natural Hib immunity in the population, monitoring Hib immunity as well as disease are needed continuously.

**Key Words:** *Haemophilus influenzae* type b; Antibodies; Adult; Aged

접수: 2017년 3월 3일

수정: 2017년 5월 30일

승인: 2017년 6월 10일

책임저자: 김경호

이화여자대학교 의과대학 소아과학교실

Tel: 02)2650-2857, Fax: 02)2650-2817

E-mail: [kaykim@ewha.ac.kr](mailto:kaykim@ewha.ac.kr)

## 서론

헤모필루스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae*)는 그람 음성 간구균(coccobacilli)으로 피막(capsule) 항원성에 따라 a형부터 f형까지 6가지가 있으며 59개월 이하의 소아에서 흔히 발생하므로 이들 연령에게 백신 접종을 추천한다<sup>1)</sup>. 영아와 소아의 침습 감염은 백신이 사용되기 전에는 b형(*H. influenzae* type b [Hib])이 침습 질환의 95%를

차지하며 b형 피막 다당은 polyribosylribitol phosphate (PRP)로 구성되어 있다<sup>2)</sup>. 1970년대 PRP를 사용하여 제조된 백신은 항원의 특성상 T 림프구 비의존 항원(T-cell independent antigen)이어서 2세 미만에게 접종 시 면역이 유도되지 않아 침습 감염에 가장 취약한 이들 연령군에게 접종할 수 없었으나 1980년대에 T 림프구 의존 항원(T-cell dependent antigen)으로 작용할 수 있는 몇 가지 PRP-단백결합 백신(PRP-protein conjugate vaccine)들이 개발되어 우리나라에도 1990년대에 도입되었다. 이들 백신들은 영아에게도 면역원성, 효능 및 효과가 우수하여 백신 도입 후 전 세계적으로 Hib 침습 질환 발생이 크게 감소하였다<sup>3,4)</sup>.

그러나 최근 보고에 의하면 아프리카에서 가장 처음 백신이 도입된 Gambia에서 백신 도입 후 소아 및 청소년에서 발생이 증가하고<sup>5,6)</sup>, 영국에서도 소아 및 성인에서 백신 도입 직후 Hib 감염이 감소하였다가 다시 유행 발생을 보고하였다<sup>7)</sup>. 그 원인을 규명하기 위해 Hib의 혈청역학 연구들이 진행되었으며, 질병 발생 감소로 인한 자연 부스팅 효과 감소를 원인으로 추정하고 있다. 그리고 노인 인구에서 암, 당뇨 등과 같은 질환으로 면역이 떨어져 있는 사람에게 침습적 세균 감염의 감염 보고가 늘고 있으며<sup>8-10)</sup>, 이에 따라 백신 접종 등이 권고되고 있다.

따라서, 국내에서도 Hib 백신 도입으로 Hib 감염이 감소하나, 더 이른 시기에 백신을 도입했던 외국의 사례를 비추어볼 때, 국내에서의 Hib 질환 증가 가능성 및 노인 집단의 면역 저하자 증가에 따른 침습 세균 감염의 증가 가능성을 염두에 두어야 한다. 따라서, 성인 및 노인에게서의 면역 저하자의 침습 세균 질환 발생 감시와 혈청역학에 관한 모니터링이 필요하여, 본 연구에서는 우리나라의 건강한 성인과 노인 혈청에서 항-PRP 면역글로불린 G (immunoglobulin G [IgG]) 농도와 기능을 측정하여 혈역학적 감시의 기초자료를 마련하고자 진행하였다.

## 방법

### 1. 대상

본 연구는 Hib 백신 접종 여부와 관계없이 20세 이상 50세 이하의 건강한 성인 39명(성인군)과 면역 저하가 없는 75세 이상의 노인 30명(노인군)에서 수집한 혈청을 대상으로 하였다. 대상자들은 모두 혈청 수집 시 최근 7일 동안 항생제를 사용하지 않은 경우로 항체 기능 측정에 적절하였다. 혈청 수집 시 각 대상자의 서면 동의를 받았

으며, 본 연구는 대상 혈청 선정과 연구 방법 등을 포함하여 이화여자대학교 목동병원 기관생명 윤리심의위원회의 승인을 받았다(승인번호: EUMC 2017-02-019). 또한, 헬싱키 선언에 명시된 인체유래물연구와 관련된 윤리원칙에 따라 혈청을 분석하였다.

### 2. 항-PRP IgG 측정을 위한 효소결합면역흡착측정법

항-PRP IgG 측정을 위한 효소결합면역흡착측정법(enzyme-linked immunosorbent assay [ELISA])의 표적 항원으로 PRP (National Institute for Biological Standards and Control, Hertfordshire, UK)를 사용하였다. 그 밖의 시료와 방법은 이미 보고된 방법에 의하여 시행하였다<sup>11)</sup>. 표준혈청인 Lot 1983은 미국 Center for Biologics Evaluation and Research, Food and Drug Administration (FDA) (Silver Spring, MD, USA)에서 공급받았다. 정도 관리 혈청(quality control sera)은 이화여자대학교 의과대학 의과학연구소 백신효능연구센터에서 제조하여 사용하였다. 항원인 PRP를 살균된 1급 물(LiChrosolv, Merck Millipore, Darmstadt, Germany)로 1 µg/mL가 되도록 희석하여 준비하였다. PRP 항원을 96 well의 평평한 바닥(flat bottom)의 중등도 결합(medium binding) polystyrene 평판(Corning & Costar, Corning, NY, USA)에 50 µL씩 넣고 37°C에서 90분간 습기가 있는 상자에 넣어 코팅(coating)시켰다. 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. 표준혈청과 정도 관리 혈청 및 실험 혈청 검체는 실험 템플릿에 따라 각각 50 µL씩 주입하였다. 공백(blank) well은 비특이 배경 결합(background binding)을 평가하기 위하여 항원은 넣지 않고 항체 완충액을 50 µL씩 주입하였다. 이를 실온에서 1시간 동안 반응시키고 앞에서와 동일한 방법으로 세척 후, 50 µL의 희석된 goat anti-human IgG alkaline phosphatase conjugate (Southern Biotech, Birmingham, AL, USA)를 주입하였다. 다시 1시간 동안 실온에서 반응시킨 후 동일한 방법으로 세척하였다. 그 후 1 mg/mL 농도의 p-nitrophenyl phosphate (Sigma, St. Louis, MO, USA) 기질 용액을 각 well 당 100 µL씩 넣고 실온에서 1시간 반응시켰다. 각 well에 3 M의 NaOH를 50 µL씩 첨가하여 발색반응을 정지시킨 후 405 nm와 690 nm에서 흡광도를 측정하였다.

### 3. Hib에 대한 혈청 살상능 역가 측정

혈청 내 Hib에 대한 혈청 살상능 역가(serum bactericidal

index [SBI]) 측정은 미국 질병통제센터의 방법<sup>12)</sup>을 보완한 방법으로 본 백신효능연구센터에서 시행하였다<sup>4)</sup>. 시험에 사용된 Hib 세균은 Eagan 주(strain)로 미국 Center for Biologics Evaluation and Research, FDA의 Dr. Carl Frasch로부터 공급받았다.

SBI 측정을 위한 혈청은 56°C에 30분간 두어 보체를 불활성화시킨 후 사용하였다. 시험에 사용된 희석 완충액(dilution buffer)은 0.14 mM의 CaCl<sub>2</sub>와 0.5 mM의 MgSO<sub>4</sub>가 포함된 인산 완충용액을 사용하였다. 96 well의 둥근바닥(round bottom) polystyrene 평판에 10 µL의 혈청을 넣고 3배씩 단계 희석하였다. 각 well에 20 µL의 Hib 균 1,000개 집락형성단위(colony forming unit [CFU])를 첨가하여 이산화탄소 배양기(CO<sub>2</sub> incubator)에 넣어 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 15분간 반응시켰다. 반응 후 각 well에 25 µL의 아기 토끼 보체(baby rabbit complement, Pelfreeze, Browndeer, WI, USA)와 25 µL의 희석 완충액을 첨가하여 CO<sub>2</sub> 배양기에 넣어 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 60분간 반응시켰다. 최종 반응액 5 µL를 nicotinamide adenine dinucleotide (Sigma, St. Louis, MO, USA)와 헤민(hemin) (Sigma, St. Louis, MO, USA)이 포함된 brain heart infusion (BHI, Difco, Franklin Lakes, NJ, USA)을 한천 평판에 도포하고 액체가 다 흡수되면 25 µg/mL의 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (Sigma, St. Louis, MO, USA)가 포함된 액체 상태의 BHI 한천을 위에 부어 응고될 때까지 기다렸다. 평판을 CO<sub>2</sub> 배양기에 넣어 37°C, 5% CO<sub>2</sub>에서 16시간 동안 배양한 뒤 살아남은 세균 CFU를 세어 항체가 없는 well에 비해 50%의 CFU 감소를 보이는 혈청 희석배수를 SBI로 정하였다. 희석되지 않은 혈청에서 항체가 없는 well에 남은 CFU의 50%가 죽는 경우, SBI는 본 분석 시스템에서 4이다.

결과의 분석은 UAB OPSOTITER 3.0 (UAB, Birmingham, AL, USA)을 사용하며 이는 SBI를 분석하기 위하여 만들어진 Excel (Microsoft, Redmond, WA, USA)을 기반으로 한 세트 지시(instruction), 원 자료(raw data), 보고(report)의 3개의 데이터시트(data sheet)로 구성되어 있다. 지시 데이터시트는 UAB OPSOTITER 3.0에 대한 일반적인 설명, 틀의 사용 방법과 평판의 설계를 보여주고, 원 자료 데이터시트에는 측정 정보, 가변 측정 변수, 검체 정보, 원 자료(CFU/지점)를 입력하는 곳이다. 보고 데이터시트는 결과 기록으로 원 자료 데이터시트에 입력했던 측정 정보와 CFU/지점을 바탕으로 SBI가 검체별로 나타난다.

#### 4. 통계분석

항-PRP IgG 항체가 및 SBI에 대한 기하평균 및 95% 신뢰구간을 구하였다. 기하평균의 두 연령군 간 비교는 로그 변환 값을 이용하여 Student t-test를 하였다. 항체 양성률은 소아에서 자연면역에 의한 방어 항체가인 0.15 µg/mL 및 백신 접종 후 방어력 항체가인 1.0 µg/mL를 기준으로<sup>12)</sup> 그 이상의 항체가를 보이는 개체의 수와 백분율을 구하고, SBI의 항체 양성률은 SBI 4 이상인 개체 수와 백분율을 구하였으며, 두 연령군 간의 비교는 chi-square 또는 Fisher's exact test로 분석하였다. 각 양성률의 95% 신뢰구간은 Clopper-Pearson confidence interval로 결정하였다. 항-PRP IgG 항체와 SBI 간 상관관계(r)는 로그 변환 값을 이용하여 피어슨의 상관관계(Pearson correlation)로 분석하였다. 유의 수준은 P<0.05로 하였다.

#### 결과

본 연구에서 사용된 혈청의 인구학적 정보는 Table 1에 나타내었다. 성인군의 연령 평균값은 31.6세, 중앙값은 33.0세, 노인군의 연령 평균값은 79.0세, 중앙값은 78.0세이었다. 성별은 남자가 성인군은 22명(56.4%), 노인군은 16명(53.3%)으로 두 군 간에 차이는 없었다. 성인군에서는 기저 질환을 가진 사람이 없었으며, 노인군에서는 면역반응

**Table 1. Demographic Characteristics of the Subjects**

Characteristic	Adult group aged 20–50 years (n=39)	Elderly group aged ≥75 years (n=30)	P-value
Age (yr)			
Mean	31.6	79.0	<0.001
Median	33.0	78.0	
Range	20–45	76–85	
Sex			
Male	22 (56.4)	16 (53.3)	NS
Female	17 (43.6)	14 (46.7)	
Underlying conditions			
Diabetes	0	1 (3.3)	NS
Cardiac disease	0	11 (36.7)	<0.001
Lung disease	0	0	
Cirrhosis	0	0	
Two or more*	0	4 (13.3)	<0.05

Values are presented as number (%).

\*Subjects with two or more of the following underlying conditions: diabetes, cardiac disease, lung disease, and cirrhosis.

Abbreviation: NS, not significant.

에 영향을 주지 않고 잘 조절되고 있는 당뇨 1명(3.3%), 심혈관 질환 11명(36.7%), 당뇨, 심혈관 질환, 폐 질환, 간경화 등 2개 이상의 질환을 보인 경우가 4명(13.3%)이었다.

각 연령군의 항-PRP IgG 항체가 및 SBI의 분포는 Fig.

**Table 2. Geometric Mean Concentrations/Indices and Seropositive Rates of Anti-PRP IgG Levels and Serum Bactericidal Indices in Adult and Elderly Groups**

Variable	Adult group aged 20–50 years (n=39)	Elderly group aged ≥75 years (n=30)	P-value
<b>Anti-PRP IgG</b>			
GMC (μg/mL)	0.88 (0.17–3.85)	1.67 (0.53–5.24)	<0.05
Seropositive rate (%)			
≥0.15 μg/mL	87.2 (72.6–95.7)	100.0 (88.4–100)	NS
≥1.0 μg/mL	53.8 (37.2–69.9)	60.0 (40.6–77.3)	NS
<b>SBI</b>			
GMI	354 (50–2,499)	449 (146–1,376)	NS
Seropositive rate (%)			
≥4	82.1 (66.5–92.5)	100.0 (88.4–100)	<0.05

Values are presented as 95% confidence interval.

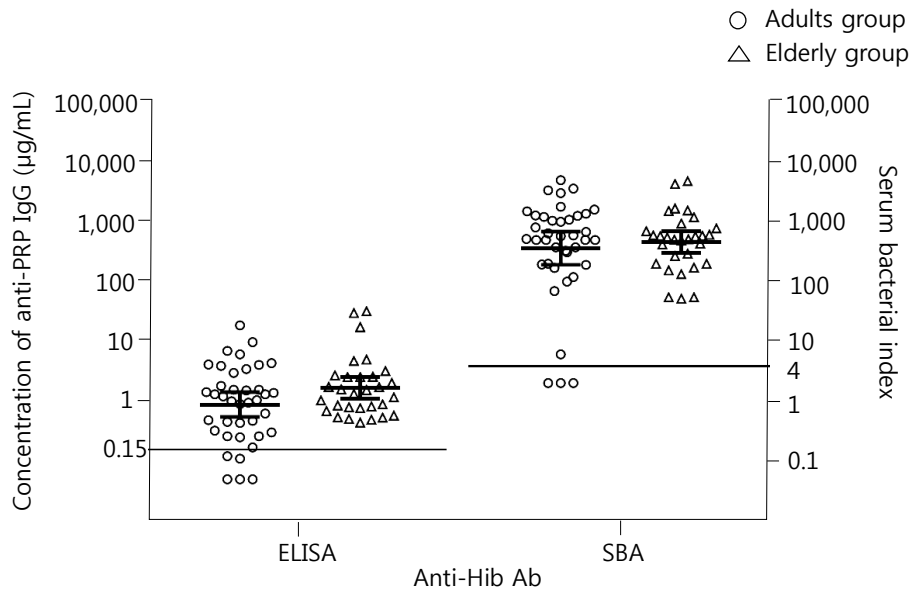
Abbreviations: PRP, polyribosylribitol phosphate; IgG, immunoglobulin G; GMC, geometric mean concentration; NS, not significant; SBI, serum bactericidal indices; GMI, geometric mean indices.

1에 나타내었다. 항-PRP IgG 항체가의 기하평균 농도는 성인군에서 0.88 μg/mL, 노인군에서 1.67 μg/mL로 노인군이 성인군에 비해 기하평균 항체가가 의미 있게 높았다 (Table 2, Fig. 1). 항-PRP IgG 항체가가 0.15 μg/mL 이상은 성인군에서 87.2%, 노인군에서 100%이었고 항-PRP IgG 항체가가 1.00 μg/mL 이상은 성인군에서 53.8%, 노인군에서 60.0%로 각 농도에서 두 군 간 의미 있는 차이는 없었다. SBI의 기하평균은 성인군에서 354, 노인군에서는 449로, 노인군이 성인군에 비해 더 높았으나, 의미 있는 차이는 없었다. SBI 4 이상은, 성인군 82.1%, 노인군 100%로, 노인군이 성인군에 비해 의미 있게 높았다.

항-PRP IgG 항체가와 SBI는 전 연령군에서 유의한 선형 상관 관계를 보이긴 하였으나 r 값은 0.32로 낮았다. 노인군(r=0.36)과 성인군(r=0.42)의 개별 분석 시에도 마찬가지였다(Fig. 2).

### 고찰

침습 Hib 감염에 대한 항-PRP IgG 항체의 혈청 내 최소 방어 농도는 0.15 – 1.0 μg/mL이다<sup>13)</sup>. 핀란드에서 백신을



**Fig. 1. Anti-polyribosylribitol phosphate (PRP) immunoglobulin G (IgG) concentrations and serum bactericidal indices in healthy adult (n=39) and elderly (n=30). Black bars are geometric means and 95% confidence intervals and long horizontal lines represent anti-PRP IgG of 0.15 μg/mL and serum bactericidal index of 4. Abbreviations: ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; SBA, serum bactericidal assay; Hib Ab, *Haemophilus influenzae* type b antibody.**

접종하지 않은 사람들이 PRP에 대한 자연생성 항체가 0.15 µg/mL 이상이면 수막염 등 침습 감염에 대한 예방효능이 있는 것으로 보고되어<sup>14)</sup> 혈청 내 0.15 µg/mL 이상의 항체를 가질 경우 단기 방어가 가능하고, 장기적 방어를 위해서는 1.0 µg/mL 이상이 필요하다고 여겨진다. 그런데 대부분의 소아는 백신을 접종받지 않더라도 5세가 되면 PRP에 대한 자연생성 항체(naturally acquired antibody)를 가지게 되므로 Hib 백신은 건강한 5세 이상 소아에게는 접종을 권유하지 않는다.

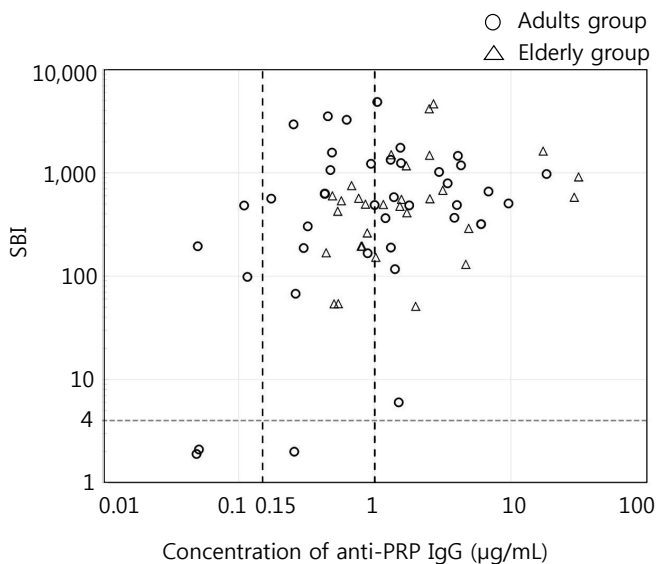
본 연구에서는 일부 국가에서 보인 Hib 질환의 발생 증가와 관련하여 국내에서의 상황을 알기 위해 일부 건강한 성인들과 노인들의 항-PRP 항체가와 항체 기능을 측정된 결과 연구 대상 노인군 전부와 대부분의 성인들은 Hib 감염에 대해 방어할 수 있는 적절한 면역을 보유하고 있음을 알 수 있었다.

1997년 아프리카에서 가장 처음 Hib 백신이 도입된 Gambia의 경우, 백신 도입되기 전, 침습적 Hib 감염의 발

생률은 250/100,000명이었다. 1997년 백신 도입 후 2007년부터 2010년까지 5세 이하에서 5/100,000명 빈도로 잘 조절되었다. 그러나, 2011년부터 2013년 사이에 높은 백신 접종률에도 불구하고 Hib 감염이 증가하여 2013년 2-59개월에서 25/100,000명, 2-11개월에서 90/100,000명의 빈도로 보고되었다고 하였다<sup>5)</sup>. 다른 연구에서는 5세부터 37세에 이르는 427명을 대상으로 혈청의 항-PRP IgG 농도를 조사하였으며, 항체 양성률을 1.0 µg/mL 기준으로 하였을 때 5세부터 37세까지 56%-70%으로 낮게 측정되었다<sup>6)</sup>. 따라서 이 연구에서는 성인 연령에서도 침습 Hib 감염의 발생이 일어날 수 있음을 인지하고 관련 역학 등에 대해 지속적으로 연구가 필요하다고 하였다. 연구자들은 이와 같은 현상이 지역이나 인종의 문제인지 혹은 발생을 일으킨 Hib 균의 유전적 변이 때문인지에 대한 연구가 더 필요하다고 하였다<sup>5)</sup>.

한편 영국에서는 Hib 감염의 재출현과 관련된 요인을 감시하기 위해 학생들에게서 Hib 보균율을 연구하였는데 6-16세에서 4.2%가 보균하고 있었다<sup>13)</sup>. 그러나 385명의 성인에서의 보균율은 0%이었으며 성인들에서 항-PRP 항체가의 기하 평균은 0.47 µg/mL (95% CI, 0.37-0.59 µg/mL)이었다. 영국에서는 2002년부터 2003년까지 소아에서 침습 Hib 감염이 증가하면서, 15세 이상 청소년과 성인에서도 침습 Hib 감염의 증가가 함께 나타났다<sup>7)</sup>. 유행 기간 동안 30-39세 및 65세 이상의 연령에서 많았으며, 소아에서도 같은 기간 동안 Hib 감염이 유행하였다. 이러한 30-39세의 성인에서 혈청 내 항-PRP 항체 농도는 Hib 감염의 약한 증가 추세를 보인 2000-2002년 기간보다 이른 1991-1997년 기간 동안 감소추세를 보였다. 더욱이, 성인 Hib 감염의 경우 집안의 소아들과 자주 접촉하게 되는 부모와 조부모 연령대인 30세와 65세에서 두 번의 정점을 보였다. 따라서, 연구자들은 성인 Hib 감염의 증가는 소아의 감염 증가 양상과 관련이 있으며, 이는 백신으로 얻어진 군집 면역과 낮은 Hib 균의 순환이 소아 및 성인에서 자연면역 획득 기회를 줄인 것으로 보았고 백신이 일단 도입되면 성인이나 더 높은 연령에서의 질병의 역학에 예측하지 못했던 영향을 줄 수 있다고 하였다.

또한, 2012년에 Nix 등<sup>15)</sup>도, Hib 백신 도입 이후 소아보다는 성인, 노인 및 면역 저하자가 더 감염에 취약하다는 다른 연구들을 토대로, 만성신부전, 2형 당뇨, 만성폐쇄성 폐 질환, 다발골수종 환자를 대상으로 항-PRP 항체 농도 및 기능을 측정하였다. 그 결과, 다발골수종 환자 중 70%, 만성신부전 환자 중 58%는 Hib에 대해 측정 가능한 혈청 살상능이 없었다. 또한, 성인에서 Hib 감염으로 인한 괴사



**Fig. 2. Analysis of healthy adult (n=39) and elderly (n=30) sera to look for correlations between levels of anti-polyribosylribitol phosphate (PRP) immunoglobulin G (IgG) (X axis) and serum bactericidal index (Y axis). The correlation between anti-PRP IgG levels to serum bactericidal indices (SBIs) was moderately linear correlation (r=0.32, P=0.007) in all subjects (n=69). The results were the same when analyzed separately in only adult group (r=0.42, P=0.009). However, the correlation between anti-PRP IgG levels to SBIs was no correlation (r=0.36, P=0.052) in elderly group. The vertical dashed lines represent the protective anti-PRP IgG of 0.15 or 1 µg/mL, respectively and the horizontal dotted line represent serum bactericidal index 4.**

근막염 및 후두개염, 복막염과 같은 심각한 환자 보고도 계속되는 실정이다<sup>16-19</sup>. 캐나다의 경우, 공중 보건 가이드라인에서 해부학적 또는 기능적 무비증 환자나 항체 및 보체 결핍 환자와 같은 고위험군을 대상으로 성인 Hib 접종을 추천하기도 하였다<sup>20</sup>. 2013년 발표한 Collin 등<sup>21</sup>도, 2009-2012년 동안 영국 및 웨일스에서 Hib 감염에 대한 혈청역학 연구에서, 106명의 Hib 감염 케이스 중 73%가 성인 연령이었으며, 기존의 기저 질환이 함께 있는 경우가 77%였다. 또한 영국 및 웨일스에서 2000-2012년 동안 2002년 이후 전체적인 Hib의 발생률은 줄었으나, 매해 발생 케이스에서 연령에 따른 분포를 볼 때, 1-4세, 5-19세에는 비율이 확연히 줄어든 것에 비해, 45-64세 및 65세 이상의 연령에서 차지하는 비율이 증가했음을 알 수 있다.

이와 같은 결과 해외에서의 Hib 감염의 증가와 성인에서 혈청학적 취약성 확인 연구 결과가 보고되고 있으나, 국내에서는 전 연령에서의 혈청역학 자료가 없는 실정이다. 본 연구 결과에서 우리나라 성인의 경우 18세 이상 성인에서 0.15 µg/mL 이상은 약 90%에서, 1.0 µg/mL 이상은 약 62%에서만 양성이었다<sup>8</sup>. Gambia의 결과와 매우 유사하다. 노인에서도 1.0 µg/mL 이상을 보인 비율은 Gambia의 결과와 비슷함을 알 수 있었다. 따라서 본 연구의 대상자 수가 매우 제한적이기는 하지만 성인 및 노인을 포함한 대부분 우리나라 성인에서 적절한 농도의 Hib에 대한 IgG 항체 농도를 가지고 있었다. 그러나 일부에서는 충분한 항체 농도를 가지지 않았고, 점점 증가하는 노인 인구에서 당뇨, 고혈압, 암과 같은 질환 및 면역억제 치료의 증가로 인한 면역 저하자가 점차 증가하고 있어 침습 감염 질병 발생에 대한 감수성 감시가 필요하다. 물론 Hib 감염의 역학은 인구 집단의 혈청 항체 보유율 외에 Hib 보균율 및 균주의 병독성 변화 등 다른 많은 요인들이 관여하므로 이들 요인들에 대해서도 계속 감시가 필요하겠다.

최근 B군 연쇄상구균(group B streptococcus [GBS])에 의한 침습 감염 질환도 18년 동안의 인구 기반 분석에서 성인 특히 노인의 GBS 감염 질환의 발병률이 지속적으로 증가하고 있으며, 2007년에는 10만 명당 7.3건으로 증가했다고 한다<sup>22</sup>. 심각한 임상 증후군에 의한 사망률은 신생아보다 나이가 많고 당뇨와 같은 만성 질환이 흔한 노인에게서 현저히 높다고 보고되었다<sup>23</sup>. 그러므로 만성 질환을 가진 노인 인구가 증가함에 따라 과거 신생아와 소아에서 대부분을 차지하였던 침습 GBS 감염이 이 연령군에서 증가하는 바와 같이 비슷한 역학을 보였던 Hib 감염도 같은 발생의 변화를 보이는지 계속 추적 관찰할 필요

가 있겠다.

그동안의 연구에 의하면 항-PRP 항체들에는 다양한 특성을 가진 항체들이 포함되어 있다<sup>24</sup>. Hib 감염에 자연 노출군, PRP 백신 접종군, 다양한 Hib 단백 결합 백신 접종군에서 혈청 내 항-PRP 항체를 연구한 결과, 특히 항체에는 IgG, IgM 및 IgA 등이 모두 포함되어 있었으며 특히 IgM은 자연 노출군과 PRP 백신 접종군에서 전체 항체 중 차지하는 비율이 상대적으로 많았고 각 군에서 각 항체의 종류들은 기능적으로도 차이를 보인다고 보고되었다<sup>15</sup>. 한편 폐구균에서도 백신 접종에 의해 유도되는 면역을 평가하기 위해서는 항체의 기능과 농도 간 차이를 보이므로<sup>25-27</sup>, 최근에는 성인에서의 폐구균에 대한 백신의 면역반응 평가에서는 항체가 대신 항체 기능을 측정하도록 세계 보건기구와 미국 FDA에서 권고한다<sup>28</sup>. 이와 같은 이유로 본 연구에서는 혈청 내 항체 농도의 양적 측정뿐 아니라 항체의 기능도 측정하였다. 그 결과 SBI의 기하평균은 성인군에서 354, 노인군에서는 449이었고 SBI 4 이상을 보이는 혈청 양성률의 경우, 성인군은 82.1%, 노인군은 100%로 확인되었다. 따라서, 아직 성인이나 노인 연령에서 SBI의 침습 감염을 포함하여 Hib 감염에 대한 방어 기준이 설정된 바는 없지만, 한국의 성인과 노인에서 Hib에 대한 기능적 항체 방어력은 검사 대상 노인의 전체와 대부분의 성인에서 보유하고 있음을 알 수 있었다.

한편 본 연구에서는 혈청 내 항-PRP IgG 항체 농도와 SBI 간 유의한 상관관계를 보였으나 그 정도는 모든 대상 혈청에서 낮았고 이를 각 연령군으로 구분하여도 낮았다. 이는 혈청 내 IgG 항체 농도만 측정하는 ELISA와 달리 혈청 살상능은 혈청 내 Hib 균에 대해 특이 살상 기능을 가지는 다른 항체 종류 즉 IgM 등이 측정될 수 있기 때문으로 생각된다. 2016년 발표된 Cho 등<sup>29</sup>도, 폐구균 살상능을 평가하는 오프소닌 식세포 살상 분석법(opsonophagocytic killing assay)이 IgG 및 IgM 항체를 모두 측정함을 보고하였다. 향후 성인이나 노인에서는 항-PRP IgG 항체 농도뿐 아니라 항-PRP IgM 항체 농도에 대한 추가적 연구가 필요할 수 있겠다.

우리나라에도 Hib 백신이 도입되고 난 후 소아에서 침습 Hib 감염은 발생이 급격히 줄어들어 거의 보고되지 않고 있다<sup>30</sup>. 그러나 외국에서는 다양한 연령군에서의 Hib 감염의 발생 증가와 특히 성인 면역 저하자에게서의 발생이 보고되는 상황이다<sup>31,32</sup>. 그러므로 우리나라에서도 성인과 노인 연령군의 혈청 내 항체 농도 및 기능을 계속 감시한다면 Hib 감염의 발생 가능성을 어느 정도 예측하여 진단, 치료 및 예방에 적용할 수 있을 것이다. 특히 혈청역학

적 감시는 Hib 감염에 취약할 수 있는 성인 면역 저하자가 우선적 대상이 될 수 있겠다.

본 연구는 소아가 아닌 한국 성인에서 Hib에 대한 anti-PRP IgG 및 SBI를 측정한 연구로 성인 및 노인에서 대한 국내 자료가 없는 상황이므로 첫 기초자료로 의미를 둘 수 있다. 하지만, 검사 대상 혈청 수가 적었다는 제한점이 있다. 한편 침습 Hib 감염에 대한 방어 농도로 인정되고 있는 항-PRP IgG 농도는 소아 연령을 대상으로 설정된 농도이며 과연 성인이나 노인에서 같은 혈청 내 농도가 침습 감염에 대한 방어에 적용될 수 있을지 연구된 바 없으므로 이에 대한 연구가 더 필요하겠다. 그동안 보고된 대부분의 연구에서는 성인에서 주로 항-PRP IgG의 혈청 내 농도를 양적으로 측정하였지만 본 연구에서는 그동안 거의 연구된 바 없는 항체의 기능을 성인과 노인에서 평가하여 보고하였고 항-PRP IgG 농도와의 상관성을 조사하였다. 이와 같은 연구는 향후 성인과 노인 연령군에서 폐구균 특이 항체 측정과 마찬가지로 항-PRP 항체를 평가하는 목적으로도 항체의 양뿐 아니라 항체의 기능 측정이 반드시 필요함을 보여주는 것으로 생각된다. 또한, 노인군에서 당뇨, 심혈관 질환 등과 같은 질환이 포함되었으며, 이러한 질환은 노인군에서 높은 비율로 발생하기 때문에 안정적인 건강상태(예: 잘 조절되는 당뇨, 심혈관 질환, 폐질환 및 간경화)를 가진 노인 환자를 대상에서 제외할 수 없었다.

결론적으로, 본 연구에서는 연구 대상 중 대부분의 건강한 성인과 노인 연령군에서 양적으로 그리고 기능적으로 적절한 Hib에 대한 특이 항체 방어력을 가지고 있음을 보여주었다. 하지만, 일부 성인 및 노인에서는 충분한 항체가 가지고 있지 않아, 향후 계속되는 백신 접종에 의한 군집 면역 유도와 낮은 Hib 균의 순환으로 Hib에 대한 자연면역 획득 및 면역 증강의 기회가 낮아진다면 성인과 노인군에서 만성 질환으로 인한 면역 저하자들을 기점으로 Hib 침습 감염이 다시 증가할 수 있다. 따라서, 인구 집단의 Hib 항체가 및 항체의 질을 지속적으로 평가하여 감염 역학 연구를 통한 감시를 지속하고, 면역 저하자와 같은 특수 집단에서의 백신 접종 등에 대한 근거자료 마련이 필요하다.

## 감사의 글

이 연구는 2016년 대한소아감염학회 학술상 및 식품의약품안전처 용역연구(16172감염병267)로 수행되었습니다.

## References

1. Chandran A, Watt JP, Santosham M. Haemophilus influenzae vaccine. In: Plotkin SA, Orenstein WA, Offit PA, editors. Vaccines. 6th ed. Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 2013:167-82.
2. Pittman M. Variation and type specificity in the bacterial species Hemophilus influenzae. J Exp Med 1931;53:471-92.
3. Kim KH, Lee H, Chung EH, Kang JH, Kim JH, Kim JS, et al. Immunogenicity and safety of two different Haemophilus influenzae type b conjugate vaccines in Korean infants. J Korean Med Sci 2008;23:929-36.
4. Kim HW, Kim KH, Kim J, Nahm MH. A high throughput serum bactericidal assay for antibodies to Haemophilus influenzae type b. BMC Infect Dis 2016;16:473.
5. Mackenzie GA, Ikumapayi UN, Scott S, Idoko O, Odutola A, Ndiaye M, et al. Increased disease due to Haemophilus influenzae type b: population-based surveillance in eastern Gambia, 2008-2013. Pediatr Infect Dis J 2015;34:e107-12.
6. Idoko OT, Roberts E, Cox M, Jafari J, Njie-Jobe J, Mackenzie G, et al. Antibodies against Haemophilus influenzae type b in The Gambia: investigating the extent of protection across age groups. Vaccine 2014;32:4620-4.
7. McVernon J, Trotter CL, Slack MP, Ramsay ME. Trends in Haemophilus influenzae type b infections in adults in England and Wales: surveillance study. BMJ 2004;329:655-8.
8. Dworkin MS, Park L, Borchardt SM. The changing epidemiology of invasive Haemophilus influenzae disease, especially in persons > or = 65 years old. Clin Infect Dis 2007;44:810-6.
9. Rubach MP, Bender JM, Mottice S, Hanson K, Weng HY, Korgenski K, et al. Increasing incidence of invasive Haemophilus influenzae disease in adults, Utah, USA. Emerg Infect Dis 2011;17:1645-50.
10. Shuel M, Hoang L, Law DK, Tsang R. Invasive Haemophilus influenzae in British Columbia: non-Hib and non-typeable strains causing disease in children and adults. Int J Infect Dis 2011;15:e167-73.
11. Kim KH, Lim SY. Validation of enzyme immunoassay for the quantitative measurement of human IgG antibodies specific for Haemophilus influenzae type b capsular poly-

- saccharide. Korean J Pediatr 2007;50:143-50.
12. Peltola H, Kayhty H, Sivonen A, Makela H. Haemophilus influenzae type b capsular polysaccharide vaccine in children: a double-blind field study of 100,000 vaccinees 3 months to 5 years of age in Finland. Pediatrics 1977;60:730-7.
  13. Oh SY, Griffiths D, John T, Lee YC, Yu LM, McCarthy N, et al. School-aged children: a reservoir for continued circulation of Haemophilus influenzae type b in the United Kingdom. J Infect Dis 2008;197:1275-81.
  14. Kayhty H, Peltola H, Karanko V, Makela PH. The protective level of serum antibodies to the capsular polysaccharide of Haemophilus influenzae type b. J Infect Dis 1983;147:1100.
  15. Nix EB, Hawdon N, Gravelle S, Biman B, Brigden M, Malik S, et al. Risk of invasive Haemophilus influenzae type b (Hib) disease in adults with secondary immunodeficiency in the post-Hib vaccine era. Clin Vaccine Immunol 2012;19:766-71.
  16. Chalmers C. Necrotising fasciitis complicating Haemophilus influenzae type b epiglottitis in an adult. J Laryngol Otol 2010;124:807-9.
  17. Saito T, Matsunaga H, Matsumura Y, Segawa H, Takakura S, Nagao M, et al. Necrotizing fasciitis caused by Haemophilus influenzae type b in an elderly patient. J Clin Microbiol 2009;47:852-4.
  18. Chew CG, Clarkson AR, Faull RJ. Relapsing CAPD peritonitis with rapid peritoneal sclerosis due to Haemophilus influenzae. Nephrol Dial Transplant 1997;12:821-2.
  19. Neuhaus TJ, Iselin H, Nadal D. Haemophilus influenzae: a cause of peritonitis in peritoneal dialysis. Nephrol Dial Transplant 1996;11:199-200.
  20. Public Health Agency of Canada. Canadian immunization guide 2006. 7th ed. Ottawa: Public Health Agency of Canada, 2006.
  21. Collins S, Ramsay M, Campbell H, Slack MP, Ladhani SN. Invasive Haemophilus influenzae type b disease in England and Wales: who is at risk after 2 decades of routine childhood vaccination? Clin Infect Dis 2013;57:1715-21.
  22. Skoff TH, Farley MM, Petit S, Craig AS, Schaffner W, Gershman K, et al. Increasing burden of invasive group B streptococcal disease in nonpregnant adults, 1990-2007. Clin Infect Dis 2009;49:85-92.
  23. Edwards MS, Baker CJ. Group B streptococcal infections in elderly adults. Clin Infect Dis 2005;41:839-47.
  24. Jelonek MT, Chang SJ, Chiu CY, Park MK, Nahm MH, Ward JI. Comparison of naturally acquired and vaccine-induced antibodies to Haemophilus influenzae type b capsular polysaccharide. Infect Immun 1993;61:5345-50.
  25. Kim YJ, Hwang JY, Choi SH, Kong E, Kim Y, Park KS, et al. Antibody responses in hematopoietic cell transplantation recipients after vaccination against Haemophilus influenzae type b and Streptococcus pneumoniae. Korean J Pediatr Infect Dis 2014;21:81-95.
  26. Lee H, Nahm MH, Burton R, Kim KH. Immune response in infants to the heptavalent pneumococcal conjugate vaccine against vaccine-related serotypes 6A and 19A. Clin Vaccine Immunol 2009;16:376-81.
  27. Song JY, Moseley MA, Burton RL, Nahm MH. Pneumococcal vaccine and opsonic pneumococcal antibody. J Infect Chemother 2013;19:412-25.
  28. World Health Organization. Guidelines on clinical evaluation of vaccines: regulatory expectations. Proposed revision of WHO TRS 924, Annex 1 [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2004 [cited 2017 Nov 7]. Available from: [http://www.who.int/biologicals/BS2287\\_Clinical\\_guidelines\\_final\\_LINE\\_NOs\\_20\\_July\\_2016.pdf](http://www.who.int/biologicals/BS2287_Clinical_guidelines_final_LINE_NOs_20_July_2016.pdf).
  29. Cho HK, Park IH, Burton RL, Kim KH. Impact of IgM antibodies on cross-protection against pneumococcal serogroups 6 and 19 after immunization with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine in children. J Korean Med Sci 2016;31:950-6.
  30. Kim KH. Present status and prospects of Haemophilus influenzae type b (Hib) immunization. Korean J Pediatr 2006;49:242-50.
  31. Shinefield HR, Black S. Postlicensure surveillance for Haemophilus influenzae type b invasive disease after use of Haemophilus influenzae type b oligosaccharide CRM197 conjugate vaccine in a large defined United States population: a four-year eight-month follow-up. Pediatr Infect Dis J 1995;14:978-81.
  32. 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;143(6 Suppl):S163-87.



## 요약

**목적:** 1995년 한국에서 b형 헤모필루스 인플루엔자(*Haemophilus influenzae* type b [Hib]) 백신이 도입된 이후, 2013년 국가예방접종에 포함되었다. Hib 백신 도입 시기 이후 다른 나라의 일부 연구에 따르면, 침습적 Hib 질환은 소아보다 성인, 특히 노인 및 면역 저하 환자에서 더 자주 발생한다고 보고하였다. 따라서, 본 연구는 20-85세의 한국 성인에서 항-polyribosylribitol phosphate (PRP) 항체의 양적 및 질적 측정을 통하여 질병 감수성을 평가하고자 하였다.

**방법:** 혈청은 39명의 건강한 성인(20-50세)과 면역 저하 상태가 아닌 30명의 노인(75-85세)에서 수집하였다. 모든 피험자는 7일 이내에 항생제를 복용하지 않았다. 항-PRP 면역글로불린 G (immunoglobulin G [IgG]) 항체가 및 혈청 살상능 역가(serum bactericidal index [SBI])는 효소결합면역흡착측정법과 혈청 살상능 평가분석을 통해 측정하였다.

**결과:** 항-PRP IgG 항체가의 기하평균 및 SBI의 기하평균은 성인군에서 각각 0.88  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (95% 신뢰구간, 0.17-3.85) 및 354 (95% 신뢰구간, 50-2,499)이었고, 노인군에서는 각각 1.67  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (95% 신뢰구간, 0.53-5.24) 및 449 (95% 신뢰구간, 146-1,376)이었다. 소아에서 Hib 감염에 대한 방어 농도로 인정하고 있는 0.15 및 1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 을 적용하였을 때, 항체 양성률은 성인군에서 87.2%, 노인군에서 100%였다. SBI의 양성률(SBI  $\geq$  4)은 성인군에서 82.1%, 노인군에서 100%였다.

**결론:** 대부분의 성인군과 노인군에서 양적으로나 기능적으로 Hib 질환에 대한 방어 면역력을 가지고 있었으나 모두는 아니었다. 높은 면역력과 낮은 Hib 순환율은 인구에서 Hib에 대한 자연면역을 감소시킬 수 있으므로, Hib 면역과 질병에 대한 지속적인 감시가 필요하다.