

□ 원 저 □

말초혈액의 림프구감소증을 동반한 중증폐결핵 환자들에서 골수 내의 림프구 분획과 사이토카인 소견

가천의대 길병원 호흡기내과, 진단검사의학과*

안창혁, 경선영, 임영희, 박계영, 박정웅, 정성환, 안정열*

=Abstract=

Lymphocyte Proportion and Cytokines from the Bone Marrow of Patients with Far-Advanced Pulmonary Tuberculosis with Peripheral Lymphocytopenia

Chang Hyeok An, M.D., Sun Yong Kyung, M.D., Young Hee Lim, M.D.,

Gye Young Park, M.D., Jung Woong Park, M.D.,

Sung Hwan Jeong, M.D., Jeong Yeal Ahn, M.D.*

*Division of Pulmonary Medicine, Department of Internal Medicine
and Department of Laboratory Medicine*,
Gachon Medical School Gil Medical Center, Incheon,*

Background : The poor prognostic factors of far-advanced pulmonary tuberculosis(FAPTB) are lymphocytopenia in the peripheral blood(PB)($<1,000/\text{mm}^3$) and T_4 -cell count $\leq 500/\text{mm}^3$. However, the cause of PB lymphocytopenia in FAPTB is unclear. The aim of this study was to analyze the lymphocyte proportion and cytokines of the bone marrow(BM) in FAPTB patients with peripheral lymphocytopenia in order to clarify whether the limiting step of the lymphocytopenia occurs in production, differentiation, or circulation.

Methods : This study included patients with FAPTB between August 1999 and August 2002 who visited Gachon Medical School Gil Medical Center. The exclusion criteria were old age(≥ 65 years), cachexia or a low body weight, shock, hematologic diseases, or BM involvement of tuberculosis. The distributions of cells in PB and BM were analyzed and compared to the control group. The interleukin(IL)-2, IL-7, IL-10, $\text{TNF-}\alpha$, Interferon- γ , and $\text{TGF-}\beta$ levels in the BM were measured by ELISA.

Address for correspondence

Sung Hwan Jeong, M.D.

Division of Pulmonary Medicine, Department of Internal Medicine, Gachon Medical School

Gil Medical Center, Guwol-1-dong, Namdong-gu, Incheon, 405-760, Korea

Phone : 032-460-3818 Fax : 032-469-4320 E-mail : jsw@ghil.com

Results : Thirteen patients(male : female=9:4) were included and the mean age was 42 ± 12 years. The proportion and count of the lymphocytes in the PB were significantly lower in the FAPTB group ($7.4 \pm 3.0\%$, $694 \pm 255/\text{mm}^3$ vs. $17.5 \pm 5.8\%$, $1,377 \pm 436/\text{mm}^3$, each $p=0.0001$ and 0.002). The proportion of immature lymphocyte in the BM showed a decreasing trend in the FAPTB group ($9 \pm 4\%$ vs. $12 \pm 3\%$, $p=0.138$). The IL-2(26.0 ± 29.1 vs. $112.2 \pm 42.4\text{pg/mL}$, $p=0.001$) and IL-10(3.4 ± 4.7 vs. $12.0 \pm 8.0\text{pg/mL}$, $p=0.031$) levels in the BM were significantly lower in the FAPTB group than those in control. The levels of the other cytokines in FAPTB group and control were similar.

Conclusion : These results suggest that the cause of lymphocytopenia in PB is associated with a abnormality IL-2 and IL-10 production in the BM. More study will be needed to define the mechanism of a decreased reservoir in BM. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2003, 55:449-458)

Key words : Far-advanced pulmonary tuberculosis, Lymphocytopenia, Bone marrow, IL-2, IL-10.

서 론

결핵은 매우 다양한 혈액소견을 보이는 것으로 알려져 있다. 특히 림프계에는 림프구증가증 또는 림프구감소증을 모두 관찰할 수 있다. 림프구증가증은 정상 면역반응으로 기인될 수 있으나, 림프구감소증은 CD4⁺ 림프구의 감소로 인한 전체 T-세포의 감소와 B-세포의 감소가 원인으로 알려져 있다^{1,2}. 말초혈액의 림프구감소증은 폐결핵 치료 후 정상화되는 것으로 보고 되고 있으나^{1,3,4}, CD4⁺ 림프구가 $300/\text{mm}^3$ 미만인 경우에는 면역력이 저하되어 중증도가 증가되고 매우 불량한 예후를 보이기도 하여^{5,6}, 폐결핵 진단 후 치료를 시작하여 림프구 수가 회복되기까지 환자에게 매우 치명적이 될 수도 있다. 몇몇 국외 논문에서 폐결핵에서의 림프구감소증을 보고하고는 있으나 정확한 기전은 아직 연구된 바 없다. 이에 서자들은 중증폐결핵(far-advanced pulmonary tuberculosis ; 이하 FAPTB로 약함) 환자에서 림프구감소증의 원인이 림프구의 생산, 분화, 순환 중 어느 단계의 이상으로 발생하는지 알아보고자 하였다. 특히 본 연구에서는 여러 단계 중 골수 소견에만 한정하여 림프구 생산의 이상 유무

와 관련이 있는지를 우선 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1999년 8월부터 2002년 8월 사이에 가천의대 길병원에 내원한 FAPTB 환자들 중 말초혈액에서 림프구감소증이 발견되어 골수에 결핵균이 침범되었는지, 아니면 다른 골수질환에 의해서 림프구감소증이 발생하였는지 감별진단 위해 골수검사가 필요한 환자들을 대상으로 전향적 연구를 시행하였다. FAPTB 환자, 65세 이상의 고령, 악액질(cachexia)이나 저체중 등 전신 상태가 매우 안 좋은 경우, 쇼크(shock), 혈액학적 질환이 있는 경우, 골수 검사 상 결핵의 침범이 증명된 경우의 환자는 본 연구에서 제외하였다. 대조군은 소세포폐암 등과 같이 병기 결정을 위해 골수검사를 요하는 질환을 가진 환자들 중 골수 침범 소견이 없는 제한병기를 가진 환자들을 대상으로 하였다. 본 연구는 본원의 임상시험 연구 윤리위원회의 승인을 받았다.

Table 1. Baseline characteristics of patients

	FAPTB (n=13)	Control (n=8)
Age (years)	42±12	56±10
Male : female	9 : 4	6 : 2
Underlying diseases	Diabetes mellitus (n=3)	SCLC (n=7) Mesothelioma (n=1)

Values are expressed as mean±standard deviation.

FAPTB; far-advanced pulmonary tuberculosis,

SCLC; small cell lung cancer.

2. 방 법

1) 말초혈액과 골수에서의 세포 분획 분석

항결핵제를 투여 받기 전에 말초혈액과 골수의 검체를 통상적인 방법으로 채취하였다. 말초혈액에서는 백혈구의 각 세포들의 분획과 수를 분석하였고, 골수에서는 각 세포들의 분획을 분석하였다.

2) 골수흡입액에서 사이토카인(cytokines) 분석

치료 전 대상환자의 골수흡입액을 2,000rpm에서 10분간 원심 분리하여, 상층액을 eppendorf tube에 담아 검사 전까지 -70℃에 냉동 보관하였으며, 분석 직전에 녹여 사용하였다. 실험은 3회 반복하여 평균을 구하였다.

Interleukin(IL)-2, IL-10, TNF- α , interferon (IFN)- γ 의 농도는 Human IL-2, IL-10, TNF- α , IFN- γ , ELISA kit(Endogen, Pierce Biotechnology, Rockford, USA)를 이용하여 측정하였으며, 제작사의 지침에 따라 진행하였다. IL-7의 농도는 IL-7 ELISA kit(R&D, Minneapolis, USA)를, TGF- β 의 농도는 TGF- β ELISA kit(Amersham Pharmacia Biotech, NJ, USA)를 이용하여 측정하였다.

3. 통계학적 분석

모든 측정값은 평균±표준편차로 표시하였다. 통계

처리는 SPSS for Windows(release 11.0)를 이용하였다. FAPTB군과 대조군과의 차이는 independent samples T-test를 이용하였다. 말초혈액이나 골수의 세포 분획과 골수흡입액 내의 사이토카인 사이의 상관관계는 Spearman's rank order correlation 방법으로 분석하였다. P-value가 0.05 미만인 경우에 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 대상 환자의 특성

전체 FAPTB 환자 중 13명의 환자가 대상이 되었다. 남자가 9명, 여자가 4명이었으며 평균연령은 42±12세였다. 대조군은 총 8명으로 남자 6명, 여자 2명이었으며, 평균연령이 56±10세로 FAPTB군보다 평균연령이 높았다(Table 1).

2. 말초혈액 소견

총백혈구수는 FAPTB군 10,508±4,842/mm³, 대조군 8,281±2,330/mm³으로 두 군간의 유의한 차이는 없었다. 그러나 림프구 분획은 FAPTB군(7.4±3.0%)이 대조군(17.5±5.8%) 보다 유의하게 낮았으며(p=0.0001), 림프구의 절대수도 FAPTB군(694±255/mm³)이 대조군(1,377±436/mm³) 보다 유의하게 낮았다(p=0.002)(Table 2).

Table 2. Findings of peripheral blood

	FAPTB	Control	<i>P</i> -value
WBC (/mm ³)	10,508±4,842	8,281±2,330	0.174
PMN (%)	81.4±18.0	73.3±7.1	0.166
Lymphocyte (%)	7.4±3.0	17.5±5.8	0.0001
Monocyte (%)	5.3±2.5	5.0±2.4	0.788
Eosinophil (%)	0.8±0.9	2.9±1.3	0.002
Basophil (%)	0.3±0.3	0.4±0.2	0.657
Hemoglobin (g/dL)	10.9±1.7	12.0±1.0	0.099
Hematocrit (%)	32.9±4.7	36.2±2.8	0.061
Platelets (×10 ³ /mm ³)	373±163	396±114	0.705

Values are expressed as mean±standard deviation.

FAPTB; far-advanced pulmonary tuberculosis,

WBC; white blood cells,

PMN; polymorphonuclear neutrophils

Table 3. Findings of bone marrow

	FAPTB	Control	<i>P</i> -value
Cell proportion			
Myeloid (%)	71±8	61±11	0.035
Erythroid (%)	14±6	22±10	0.048
Lymphocyte (%)	9±4	12±3	0.138
Others (%)	7±4	5±4	0.422
IL-2 (pg/mL)	26.0±29.1	112.2±42.4	0.001
IL-10 (pg/mL)	3.4±4.7	12.0±8.0	0.030
IL-7 (pg/mL)	10.7±4.2	10.1±3.0	0.695
TNF- α (pg/mL)	25.5±47.4	22.8±10.9	0.850
TGF- β (pg/mL)	1934±1698	1669±1296	0.701
IFN- γ (pg/mL)	11.2±7.9	6.0±6.4	0.137

Values are expressed as mean±standard deviation.

FAPTB; far-advanced pulmonary tuberculosis,

IL; interleukin, TNF; tumor necrosis factor, TGF; transforming growth factor, IFN; interferon.

혈색소(hemoglobin), 헤마토크리트(hematocrit), 혈소판(platelets) 수는 두 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 2).

3. 골수 내의 림프구 분획과 사이토카인 농도

골수 내 세포들의 분획 중 림프구는 FAPTB군(9±4%)이 대조군(12±3%)과 비교하여 적었으나 통

계적 유의성은 보이지 않았다($p=0.138$)(Table 3).

골수의 IL-2 농도는 FAPTB군에서 의미 있게 낮았고(26.0 ± 29.1 vs. 112.2 ± 42.4 pg/mL, $p=0.001$), IL-10도 FAPTB군에서 의미 있게 낮았다(3.4 ± 4.7 vs. 12.0 ± 8.0 pg/mL, $p=0.031$). IL-7, TNF- α , IFN- γ , TGF- β 농도는 두 군간에 의미 있는 차이를 보이지 않았다(Table 3).

골수의 IL-2 농도는 말초혈액의 림프구 수가 증

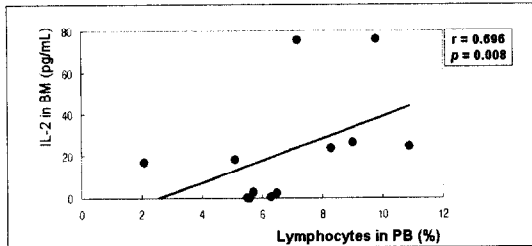


Fig. 1. Correlation between lymphocytes in peripheral blood and concentration of IL-2 in bone marrow.

BM; bone marrow, PB; peripheral blood.

가할수록 유의하게 증가하는 양상관 관계를 가졌으나($r=0.696$, $p=0.008$), IL-10 농도는 유의한 상관관계를 관찰할 수 없었다(Fig. 1).

고 찰

본 연구의 주요한 결과로는, 말초혈액 림프구감소증이 있는 FAPTB 환자의 경우 골수의 IL-2와 IL-10의 농도가 감소되어 있었는데, 특히 말초혈액 림프구가 감소된 환자일수록 골수의 IL-2 농도도 유의하게 감소했다는 것이다.

말초혈액의 림프구감소증의 발생 시, 골수 내의 생산 과정에서 문제가 생겨 기원세포 자체가 수적으로 적어서 야기될 수도 있고, 골수 내의 생산이 문제가 없더라도 흉선과 같은 기관에서의 분화에 문제가 생겨서 야기가 될 수 있는 등 여러 단계에서 그 원인을 찾아봐야 할 것이다. 본 연구에서는 이러한 여러 단계 중, 특히 골수 내에서 림프구의 수 자체가 적어서 말초혈액의 림프구감소증이 발생한 것은 아닌지 골수 내의 림프구와 그 기원세포의 분화를 측정하고, 림프구의 생산 및 분화, 활성화에 관련이 있는 것으로 알려진 몇몇 사이토카인들의 농도를 측정해 보았다. 말초혈액의 림프구 수가 적으면 골수 내의 림프구 수도 적을 것이라고 가정하고 골수 내의 림프구 분화를 측정해 보

았으나 대조군 보다 낮은 경향은 보였으나 통계학적 유의성은 없었다. 그러나 대상환자 수가 적어 좀 더 많은 수의 환자 대상을 통한 확인이 필요하다.

IL-2는 T 세포 성장인자(T cell growth factor; TCGF)로 알려져 있는 사이토카인으로 T 세포의 성장 및 분화의 진행에 영향을 준다⁷. 주로 활성화된 CD4+ 세포에서 생산되어 T 세포 매개 면역 반응에 매우 중요한 사이토카인으로 알려져 있어서 말초혈액의 림프구감소증이 있는 환자의 경우에 골수에서도 감소되어 있지 않을까 생각되어 측정하게 되었고, 예측대로 감소되어 있었다. 또한 말초혈액의 림프구 수가 적을수록 비례해서 골수 내의 IL-2 농도도 감소되어 있는 양상이었다. IL-2는 활성화된 CD4+ 세포에서 생산된 후 주로 근처의 T 세포에 영향을 주는 자가분비(autocrine) 또는 측분비(paracrine) 요소이다. 따라서, 대조군 보다 낮은 IL-2의 농도가 림프구가 적은 말초혈액 등의 외부에서 골수로의 IL-2의 유입이 적은 것을 반영하는 것인지, 아니면 골수 내에서 어떠한 기전으로 인해서 IL-2의 생산이 적어서 낮은 것인지는 본 연구의 데이터만으로는 알 수가 없었다. 물론 골수 내의 림프구 분획도 낮았지만 통계학적 유의성이 적어서 IL-2가 골수 내의 림프구 생산에 영향을 미쳤다면, 골수 내의 림프구 수가 적어서 IL-2의 생산이 낮았다든지 하는 결론은 내릴 수 없었다. 이에 대한 기전을 좀 더 명확히 하기 위해서는 말초혈액의 IL-2 농도의 측정을 통해 림프구가 낮은 말초혈액에서도 말초혈액의 IL-2 농도가 낮은지 확인이 필요하고, 골수 내에서의 IL-2의 mRNA 측정을 통해서 골수 내에서 IL-2의 생산 자체가 낮은 것이 아닌지 확인이 필요하겠다. 또한 좀 더 많은 환자군을 모집하여 골수 내의 림프구 분획의 통계학적 유의성을 재분석하는 것도 차후 연구를 통해 필요하겠다.

IL-10은 주로 활성화된 대식세포(macrophage)나

림프구에서 생산되는 것으로 알려져 있으며, 여러 사이토카인의 생산을 억제하거나 T 세포의 활성화를 억제하는 것으로 알려져 있다⁷. 림프구감소증이 있는 FAPTB 환자에서는 림프구의 수 자체뿐 아니라 활성화도 감소되어 있지 않을까 추정하였고 이에 따라 IL-10의 농도가 증가되었을 가능성이 높을 것으로 사료되어 측정하였다. 본 연구에서는 골수 내의 IL-10의 농도는 대조군 보다 낮았는데, IL-2와 마찬가지로의 경우로 림프구가 적은 말초혈액 등의 외부에서 골수로의 IL-10의 유입이 적어서인지, 아니면 골수 내에서 어떠한 기전으로 인해서 IL-10의 생산이 적어서 인지는 본 연구의 데이터만으로는 알 수가 없었다. 골수 내의 낮은 IL-10의 농도에 대한 기전을 좀 더 명확히 하기 위해서는 IL-2에서와 같이 말초혈액의 IL-10 농도의 측정, 골수 내에서의 IL-10의 mRNA 측정, 그리고 좀 더 많은 환자군을 모집하여 골수 내의 림프구 분획의 재분석 등의 차후 연구가 필요하다.

골수의 간질세포(stromal cell)에서 생산되어 B와 T 림프구 계열의 조혈성 기원(hematopoietic progenitor) 요소로 작용하는 IL-7도 골수 내의 농도가 낮지 않을까 가정 하에 측정하였으나, 골수 내의 림프구 분획이 유의하게 낮지 않았던 것처럼 IL-7의 농도도 유의하게 낮지 않았다.

TNF- α 는 감염 시 골수간세포(stem cell)의 분열(division)을 억제하고, 만성적으로 분비 시 림프구감소증이나 면역결핍증(immunodeficiency)을 야기하는 것으로 알려져 있다⁷. 골수 내의 TNF- α 농도는 대조군과 유의한 차이를 보이지 않아 결핵균 감염 시 TNF- α 가 골수에 직접적인 영향을 주어 림프구감소증을 발생시키지는 않는 것으로 생각된다.

TGF- β 는 활성화된 림프구 및 대식세포에서 생산되며, 대부분 면역 반응을 억제하는 것으로 알려져 있다⁷. 그래서 T 세포의 증식을 억제하거나 세포독성T림프구(cytotoxic T lymphocytes ; CTL)

의 성숙을 억제하는 등 림프구에 대해 길항작용을 한다. 골수 내의 TGF- β 의 농도가 낮음으로써 T 세포의 증식이나 성숙에 영향을 주지는 않았는지 측정해 보았으나 대조군과 유의한 차이를 관찰할 수 없었다.

활성화된 CD4+, CD8+, NK 세포에서 생산되는 IFN- γ 는 T 세포의 분화, 특히 CD4+의 Th1 subset으로의 분화를 촉진시킨다고 알려져 있고, IL-2와 IL-12에 의해 생산이 촉진된다고 알려져 있다⁷. 말초혈액의 림프구감소증이 골수 내의 IL-2와 상관관계가 있어 IL-2와 연관이 있는 IFN γ 의 농도를 같이 측정해 보았으나 대조군과의 유의한 차이는 없었다.

본 연구에서 측정한 대부분의 사이토카인들은 활성화된 림프구에서 생산되는 것들이다. 폐결핵 환자에서 여러 혈액학적 이상 소견이 관찰될 수 있으나, 특히 골수의 결핵증이 동반된 폐결핵 환자에서 말초혈액 림프구감소증이나 단구감소증(monocytopenia), 중증 빈혈 및 기타 혈액학적 이상 소견을 관찰한 연구들이 있다^{8,9}. 이러한 기존 연구들의 결과로 볼 때 골수의 결핵종에서 직접 분비된 사이토카인이 골수에 영향을 줄 가능성을 배제할 수 없으므로, 결핵균이 골수에 침범하여 골수검사 상 결핵증이 발견된 환자는 대상에서 제외하여 국소적 사이토카인 분비의 영향을 배제하기로 하였다. 그럼으로써 골수에 결핵이 침범하지 않은 FAPTB 환자에서는 어떠한 기전으로 림프구감소증이 발생하는지 알아보고자 한 것이다. 골수의 결핵균 도말 검사 상 양성이거나 중합연쇄반응(polymerase chain reaction ; 이하 PCR로 약함) 검사 상 양성, 또는 세포검사나 조직 검사 상 결핵증이 발견된 경우는 본 연구의 환자 대상군에서 제외하였다.

폐결핵 환자에 있어서 말초혈액의 사이토카인은 매우 다양한 양상을 보이는 것으로 보고되고 있다. T 세포의 활성화의 장애로 IL-2 생산이 감소되어

말초혈액의 IL-2 농도가 감소한다는 보고가 있는 반면^{10,11}, 증가한다는 보고도 있다¹². IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-10, IFN- γ , TNF- α 의 말초혈액 농도도 증가된다는 보고도 있고 몇몇은 정상인과 유의한 농도 차이가 없다는 보고도 있으며¹²⁻¹⁵, 폐결핵 치료 전후나 중증도에 따라서 몇몇 사이토카인은 농도 차이를 보인다는 보고도 있다^{12,14}. 본 저자들도 FAPTБ 환자들을 대상으로 하여 생존군과 사망군에 대한 TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-10의 말초혈액 농도를 비교한 연구를 했으나 통계적으로 유의한 차이를 관찰하지 못하였다¹⁶. 이처럼 말초혈액의 사이토카인 농도는 보고자나 폐결핵의 중증도에 따라 다양한 양상을 보여 본 연구에서는 사이토카인의 말초혈액과 골수의 농도를 비교하지 않고 단순화 하여 골수 내 소견만을 보고자 하였다. 또한 금번 연구에서는 대상 환자가 단순한 FAPTБ가 아닌 림프구감소증을 동반한 환자이고 대조군 역시 골수검사의 특수성에 의해 정상 대조군 선정의 어려움으로 인해 이전 연구¹⁶와 연계 시키지는 못하였다. 차후 대상군과 대조군이 확대되고, 림프구감소증의 기전을 밝히는 다음 단계의 연구와 연계되면 말초혈액의 사이토카인과 골수 내 소견을 비교할 수 있을 것으로 예상된다.

투베르쿨린 검사는 결핵 환자에서 면역 기능을 확인하는데 도움을 줄 수 있는 것으로 알려져 있고, 림프구감소증과 투베르쿨린 피부 반응 정도와 연관이 있는 것으로 보고 되어 있다¹⁷. 하지만 투베르쿨린 검사 후 시간의 경과에 따라 말초 혈액의 T 세포의 수나 분화에 영향을 줄 수 있다는 보고가 있고¹⁸, 골수의 세포 분화에는 어떠한 영향을 주는지에 대한 보고는 드물다. 또한 중증의 폐결핵 환자를 대상으로 골수검사까지 시행해야 함으로 검사부터 치료 사이의 기간을 단축하다 보니 투베르쿨린 검사는 시행하지 못하였는데, 이것이 제한점 중의 하나가 될 수도 있겠다.

대조군은 골수침범이나 골수에 영향을 미치지

않는 질환자들을 대상으로 하였다. 아무런 질병이 없는 정상인을 대조군으로 하는 것이 가장 이상적이겠으나 실제로 어려움이 많아, 소세포폐암 환자들 중 골수검사 상 침범 소견이 없는 제한병기 환자들만 대조군에 포함시켰다. 중피종(mesothelioma) 환자는 다른 질환으로 의심되어 감별진단 위한 골수검사 후, 흉부 병변의 조직검사 상 중피종으로 밝혀져 대조군에 포함 되었다. 골수에 침범이 없는 소세포폐암이나 중피종 환자라고 해도 골수 내에 사이토카인의 농도에 전혀 영향을 주지 않았다고 증명할 수는 없으나, 기존 연구를 보면 소세포폐암의 경우 골수에 침범하게 되면 TGF- β 의 분비가 증가되어 IL-2가 감소한다든지^{19,20} 제한병기보다 진행병기(extensive disease)에서 IL-2와 IFN- γ 가 더 감소한다는 보고가 있다^{21,22}. 하지만 본 연구의 결과에서도 나와있듯이 대조군과 FAPTБ군의 TGF- β 와 IFN- γ 는 두 군간에 큰 차이가 없었고, 대조군의 IL-2도 감소된 것이 아니라 오히려 FAPTБ군 보다 높았다. 이것은 적어도 소세포폐암이 골수에 침범하지는 않았다는 것을 반증하는 것이라고 생각했고, 그래서 현미경적으로만 확인하여 제한병기의 소세포폐암이라는 것을 확인하고 PCR은 시행하지 않았다^{23,24}.

본 연구는 FAPTБ 중 말초혈액 림프구감소증이 발생하는 환자들을 대상으로 하여, 림프구감소증의 기전을 밝히는 일환으로 여러 단계들 중 골수 소견을 보고자 하였다. 대상 환자군이 적었다는 점, 기전을 밝혀야 할 여러 단계 중 일부분인 골수만 관찰했다는 점, 대조군의 선정 문제 등의 제한점이 있다. 그러나, 말초혈액 림프구감소증이 있는 FAPTБ 환자에서 골수의 IL-2와 IL-10의 농도가 감소되어 있고, 특히 말초혈액 림프구의 감소와 골수의 IL-2 농도가 유의한 연관 관계가 있는 것으로 볼 때, 골수 내 IL-2의 부족이 말초혈액 림프구감소증을 일으켰다든지 하는 몇몇 기전을 추측해 볼 수 있겠다. 향후 이에 대한 증명은 골수에서

추출한 백혈구 연층(buffy coat)에서 reverse transcription-PCR(RT-PCR)이나 northern blot 등을 이용한 사이토카인 mRNA 검사와 면역조직화학 염색(immunohistochemistry stain)을 시행하여 유전자 발현(expression)을 관찰하여 대조군과 비교 연구를 하면 IL-2나 IL-10의 저하에 대한 원인을 밝히는데 도움을 줄 것으로 사료된다.

요 약

연구배경 :

말초혈액에서 림프구감소증이 있거나($<1,000/\text{mm}^3$) T4-세포의 수가 $500/\text{mm}^3$ 이하인 경우, 중증폐결핵의 좋지 않은 예후를 나타내는 것으로 알려져 있다. 하지만 중증폐결핵에서 어떠한 기전으로 말초혈액의 림프구감소증이 발생하는지는 아직 알려진 바 없다. 이에 연구자들은 말초혈액의 림프구감소증이 골수에서 림프구의 생성 및 분화 또는 순환 중에서 어떠한 단계의 이상으로 발생하는지 알아보고자 골수 소견을 관찰해 보았다.

방 법 :

1999년 8월부터 2002년 8월 사이에 가천의대 길병원에 내원한 중증폐결핵 환자들을 대상으로 하였다(FAPTB군). 65세 이상의 환자, 전신 상태가 안 좋은 환자나 쇼크, 혈액학적 질환이 있는 환자는 대상에서 제외하였다. 대조군은 골수침범이나 골수에 영향을 미치지 않는 질환자들을 대상으로 하였다. 각군에서 말초혈액과 골수의 세포 분획을 분석하였고, 골수에서 IL-2, IL-7, IL-10, TNF- α , IFN- γ , TGF- β 를 측정하였다.

결 과 :

총 13명의 환자가 대상이 되었으며(M:F=9:4) 평균 연령은 42 ± 12 세였다. 말초혈액에서 림프구 분획과 수는 FAPTB군에서 의미 있게 감소되었다($7.4 \pm 3.0\%$, $694 \pm 255/\text{mm}^3$ vs. $17.5 \pm 5.8\%$, $1,377 \pm 436/\text{mm}^3$, 각각 $p=0.0001$, 0.002). 골수에서의 림프

구 분획은 FAPTB군이 대조군 보다 적은 경향을 보였으나 통계적 의미는 관찰되지 않았다($9 \pm 4\%$ vs. $12 \pm 3\%$, $p=0.138$). 골수의 IL-2 농도는 FAPTB군에서 의미 있게 낮게 관찰되었고(26.0 ± 29.1 vs. $112.2 \pm 42.4\text{pg/mL}$, $p=0.001$). IL-10도 FAPTB군에서 의미 있게 낮았다(3.4 ± 4.7 vs. $12.0 \pm 8.0\text{pg/mL}$, $p=0.031$). IL-7, TNF- α , IFN- γ , TGF- β 농도는 두 군간에 의미 있는 차이를 보이지 않았다.

결 론 :

이상의 결과로 진행성 폐결핵 환자에서 말초혈액의 림프구감소증은 골수에서의 이상 소견과 연관이 있으리라고 추정되며, 이에 IL-2와 IL-10이 관련되어 있을 것으로 생각되나, 향후 림프구감소증 기전의 연구가 더 필요하리라 사료된다.

참 고 문 헌

1. Onwubalili J, Edwards A, Palmer L. T4 lymphopenia in human tuberculosis. *Tubercle* 1987;68:195-200.
2. Law K, Weiden M, Harkin T, Tchou-Wong K, Chi C, Rom WN. Increased release of interleukin-1 beta, interleukin-6 and tumor necrosis factor-alpha by bronchoalveolar cells lavaged from involved sites in pulmonary tuberculosis. *J Respir Crit Care Med* 1996; 153:799-804.
3. Beck J, Potts R, Kardjito T, Grange JM. T4 lymphopenia in patients with active pulmonary tuberculosis. *Clin Exp Immunol* 1985; 60:49-54.
4. Turett GS, Telzak EE. Normalization of CD4+ T-lymphocyte depletion in patients without HIC infection treated for tuberculosis. *Chest* 1994;105:1335-7.
5. Kony S, Hane A, Larouze B, Samb A,

- Cissoko S, Sow PS, Sane M, Maynard M, Diouf G, Murray JF. Tuberculosis-associated severe CD4⁺ T-lymphocytopenia in HIV-seronegative patients from Dakar. SIDA Research Group. *J Infect* 2000;41:167-71.
6. Pilheu JA, De Salvo MC, Gonzalez J, Rey D, Elias MC, Ruppi MC. CD4⁺ T-lymphocytopenia in severe pulmonary tuberculosis without evidence of human immunodeficiency virus infection. *Int J Tuberc Lung Dis* 1997;1:422-6.
7. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Chapter 12 Cytokines. Cellular and Molecular Immunology. 3rd ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company : 1997. p. 249-77.
8. Lombard EH, Mansvelt EP. Haematological changes associated with miliary tuberculosis of the bone marrow. *Tuber Lung Dis* 1993;72:131-5.
9. Singh KJ, Ahluwalia G, Sharma SK, Saxena R, Chaudhary VP, Anant M. Significance of haematological manifestations in patients with tuberculosis. *J Assoc Physicians India* 2001;49:790-4.
10. Ida T, Tanai S, Makiguchi K, Otomo N, Taniguchi K, Miyazato I, Chida M, Ichioka M, Marumo F. Interleukin-2(IL-2) in active pulmonary tuberculosis. *Kekkaku* 1991;66:723-6.
11. Ostanin AA, Khonina NA, Norkin MN, Leplina OY, Nikonov SD, Ogirenko AP, Chernykh HR. T cell functional disturbances in patients with pulmonary tuberculosis. *Russ J Immunol* 2000;5:53-62.
12. Dlugovitzky D, Torres-Morales A, Rateni L, Farroni MA, Largacha C, Molteni O, Bottasso O. Circulating profile of Th1 and Th2 cytokines in tuberculosis patients with different degrees of pulmonary involvement. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1997;18:203-7.
13. Knoring BE, Simbirtsev AS, Sakharova Ila, Kotov Alu, Pisareva NV, Resnianskaia TB. Production of cytokines in different forms of pulmonary tuberculosis. *Probl Tuberk* 1998;3:67-71.
14. Verbon A, Juffermans N, Van Deventer SJ, Speelman P, Van Deutekom H, Van Der Poll T. Serum concentrations of cytokines in patients with active tuberculosis(TB) and after treatment. *Clin Exp Immunol* 1999;115:110-3.
15. Vankayalapati R, Wize B, Weis SE, Klucar P, Shams H, Samten B, Barnes PF. Serum cytokine concentrations do not parallel Mycobacterium tuberculosis-induced cytokine production in patients with tuberculosis.
16. Jeong SH, Hwang JK, Park GY, Park JW, Park JK, Nam GH. Immunologic factors that influenced prognosis of far advanced tuberculosis. *Am J Resp Care Crit Care Med* 2001;163:A661.
17. Mikami M, Kawasaki Y. Two step tuberculin testing among elderly Japanese admitted to residential homes. *Kekkaku* 2000;75:643-8.
18. Jensen JR, Threstrup-Pedersen K. In vitro changes in cell mediated immunity following tuberculin skin testing in humans. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1982;90:109-16.
19. Liu SB. A study about the ability of interleukin-2 production, interleukin-2 receptor expression by lymphocytes from pati-

- ents with lung cancer. *Zhonghua Jie He He Hu Zi Za Zhi* 1992;15:34-51.
20. Fischer JR, Schindel M, Beulzebruck H, Lahm H, Krammer PH, Drings P. Decrease of interleukin-2 secretion is a new independent prognostic factor associated with poor survival in patients with small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 1997;8:457-61.
21. Szopinski J, von Kleist S, Rowinska-Zakrzewaska E, Panorska A, Roginska E, Rogala E. Interferon gamma and interleukin-2 secretion in whole blood cell cultures from small-cell lung cancer patients. *Tumour Biol* 2001;22:72-6.
22. Szopinski J, Ponarska A, Roginska E, Rogala E, Rowinska-Zakrzewaska E. The effect of small cell lung cancer extension on secretion of interleukin-2(IL-2) and interferon gamma(IFN gamma) in whole blood culture stimulated with mitogens. *Pneumonol Alergol Pol* 2001;69:26-32.
23. Ben-Ezra J, Hazelgrove K, Ferreira-Gonzalez A, Garrett CT. Can polymerase chain reaction help distinguish benign from malignant lymphoid aggregates in bone marrow aspirates? *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:511-5.
24. Saito T, Kobayashi M, Harada R, Uemura Y, Taguchi H. Sensitive detection of small cell lung carcinoma cells by reverse transcriptase-polymerase chain reaction for preprogastrin-releasing peptide mRNA. *Cancer* 2003;97:2504-11.
-