

□ 원 저 □

폐결핵환자의 폐포대식세포 및 말초혈액내 단구세포에서 분비하는 과산화음이온의 비교 관찰*

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실

송정섭 · 이숙영 · 장지정 · 김영균 · 김관형 · 문화식 · 박성학

· Abstract =

Superoxide Generation by Blood Monocyte and Pulmonary Alveolar Macrophage in Patients with Pulmonary Tuberculosis

Jeong Sup Song, M.D., Suk Young Lee, M.D., Jie Jung Jang, M.D., Young Kyoan Kim, M.D.,
Kwan Hyoung Kim, M.D., Hwa Sik Moon, M.D. and Sung Hak Park, M.D.

Department of Internal Medicine, Catholic University Medical College, Seoul, Korea

Background: Mycobacterium tuberculosis is a facultative intracellular pathogen which persists and multiplies within macrophage. Competent cell mediated immunity by cooperation of both T lymphocyte and macrophage of the host is required to kill the Mycobacterium tuberculosis. But a precise understanding of the pathogenesis of tuberculosis infection in pulmonary alveolar macrophage has not been achieved. Research on the macrophage's basic microbicidal mechanism has elucidated the importance of oxygen-dependent or oxygen-independent components. Oxygen dependent processing begins with the reduction of oxygen by NADPH oxidase and generation of superoxide. In this study, the oxidative metabolic status of blood monocyte and pulmonary alveolar macrophage in patients with active pulmonary tuberculosis was accessed and compared with that of healthy control subjects to know whether there was a basic difference in superoxide generation by mononuclear cells between two groups.

Methods: Pulmonary alveolar macrophage was purified after performing BAL(bronchoalveolar lavage) through the bronchi of infected lesion by plastic adhesion method. Blood monocyte was purified by Ficoll-Hypaque method. Superoxide generation by blood monocyte and pulmonary alveolar macrophage was measured by ferricytochrome-C reduction method after either stimulated with PMA(phorbol myristate acetate) or non-stimulated states. We also measured the effect of pulmonary tuberculosis patient's serum on superoxide generation by monocyte.

*본 논문은 가톨릭 중앙의료원 임상연구비 보조로 이루어 졌음.

*본 논문의 요지는 1991년도 제43차 대한내과학회 추계학술대회에서 발표하였음.

Results:

1) Generation of superoxide by alveolar macrophage obtained from patients with pulmonary tuberculosis was little higher than those of controls, and PMA enhanced the generation of

2) Generation of superoxide by blood monocyte obtained from patients with pulmonary tuberculosis was little higher than those of control ($p > 0.05$), and PMA more enhanced the generation of superoxide in patients with pulmonary tuberculosis than those in controls ($p < 0.02$).

3) Patient's serum enhanced the generation of superoxide by blood monocyte obtained from patients with pulmonary tuberculosis and controls, but not in the case of PMA stimulated blood monocyte.

Conclusion: The present study suggest that the phenomenon of M.tuberculosis escape the microbicidal action of macrophage was not result of suppressed superoxide generation by blood monocyte and pulmonary alveolar macrophage, rather there might be a factor to stimulate the generation of superoxide by blood monocyte in pulmonary tuberculosis patient serum, but the comparison with effect of control's serum on superoxide generation needs further elucidation.

Key Words : Tuberculosis, Superoxide, Macrophage, Monocyte

서 론

폐포대식세포는 골수에서 기원하는 단구세포(monocyte cell)로 부터 분화되어 폐포에 도달하는 세포로, 결핵균에 대한 세포매개성 면역반응에 중요한 역할을 한다. 폐결핵 병인론은 아직 확실히 밝혀지지 않았지만, 결핵균이 폐포대식세포에 탐식되면 약 3~6주 후에 T 임파구가 감작되어 세포매개성 면역을 갖게된다. 효과적인 세포매개성 면역반응이 있으면 결핵균이 제거되면서 결절을 형성하여 치유되지만, 면역반응의 저하 또는 대식세포 활성화의 장애 등으로 감염된 사람의 5~15%는 폐결핵으로 발병한다¹⁾. 결핵균은 caseation necrosis 부위나 동공내에서 생존하기도 하고, 수는 훨씬 적지만 그래도 10^5 마리 이하로 폐포대식세포 내에서 서서히 성장을 지속한다.

폐포대식세포에 의해 결핵균이 살균되는 과정에는 충분한 양의 산소유리기, 즉 superoxide anion(O_2^-), hydrogen peroxide(H_2O_2), hydroxyl radical(OH^\cdot) 등이 필요하다. 과산화음이온(superoxide anion)은 직접적인 살균력은 강하지 않으나 반응성이 강한 hydrogen peroxide, hydroxyl radical 등의 전구체로

작용하며²⁾, 세포내에서 생성된 많은 양이 세포외로 분비되어³⁾ 측정하기가 용이하다.

저자들은 일반세균이 폐포대식세포에 잡힌 후에는 항생제의 투여후 단기간 내에 살해되는 반면, 결핵균은 항결핵제를 투여해도 장기간 생존하는 것이 폐포대식세포에서 살균 작용을 할 수 있는 산소유리기 생성이 적은데 기인할 것으로 추정하여, 활동성 폐결핵 환자의 폐포대식세포 및 말초혈액내 단구세포에서 분비하는 과산화음이온의 양을 정상인과 비교 관찰하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

객담도말 검사 및 기관지폐포세척액 검사에서 항산균 양성으로 나온 치료전 활동성 폐결핵환자 21명과, 최근 6개월간 호흡기 증세가 전혀 없으며 기타의 전신 질환이 없는 비흡연자 13명의 대조군을 대상으로 하였다. 연령 분포는 폐결핵환자군이 27세부터 63세까지(평균연령 45.9 ± 18.2 세)였으며 이중 남자가 8명 여자가 13명 이었다. 대조군은 31세부터 65세까지(평균연령 48.1 ± 17.2 세)였으며 남자가 6명 여자가 7

명 이었다.

2. 기관지폐포세척

1% lidocain으로 국소마취하에 굴곡성 기관지경을 이용하여 먼저 기관지 및 기관세지를 관찰하고, 결핵 환자는 흉부 X-선상 폐결핵이 심한 기관분지에서 정상대조군은 우중엽이나 좌상엽에서 기관지경을 wedging 시킨 후 시행하였다. 세척액은 37℃로 가온한 생리적 식염수를 주사기를 이용하여 1회에 30mL를 주입한 뒤 흡입하였는데, 이를 7회 반복하여 총 210mL 시행하였다. 회수한 기관지폐포세척액은 두 겹의 거즈에 거른후 4℃ 상태의 siliconized glass ware에 모았다.

3. 폐포대식세포의 분리

기관지폐포세척액을 4℃에서 400g로 10분간 원심 분리하여 침전된 세포층을 hank's balanced salt solution(이하 HBSS)으로 세척하고, HBSS 배지에 세포수가 1×10^6 cells/mL 되도록 재부유 시켰다. 이 세포 용액을 55mm plastic petri dish에 5mL씩 분주 후 37℃, 5% CO₂ incubator에서 배양하였다. 1시간 후 상층액을 덜어내어 비흡착세포를 제거하고 흡착된 폐포대식세포를 rubber-policeman을 이용하여 분리한 뒤 HBSS로 세포수가 1×10^6 cells/mL 되도록 맞추는 후, trypan blue exclusion test로 폐포대식세포의 생존율을 측정하였다.

4. 말초혈액내 단구세포의 분리

Heparin 처리한 말초정맥혈 30 mL를 동량의 HBSS 배지에 희석한 후 ficoll-hypaque 용액(density 1.077 mg/mL) 위에 조심스럽게 중첩시킨 후, 400g로 30분간 원심분리하여 단핵세포층(mononuclear cell)을 분리하였다. 단핵세포부유액을 HBSS에 세포수가 1×10^6 cells/mL 되도록 조절한 뒤 폐포대식세포와 마찬가지로 plastic petri dish에 흡착시켜 부유된 세포는 제거하고 흡착된 단구세포(monocyte)를 분리하였다. 세포수가 1×10^6 cells/mL 되도록 HBSS에 재부유 시켰다.

5. 과산화음이온의 측정

Superoxide dismutase(SOD) inhibitable ferricytochrome-C reduction 방법으로 측정하였다. 즉, ferricytochrome-C(30ng/mL) 50uL와 폐포대식세포 또는 혈액내 단구세포 부유액(1×10^6 cells/mL) 500 uL를 반응시켰는데, 한쪽은 SOD(3ng/mL) 10uL를 첨가하고 다른한쪽은 SOD를 첨가하지 않았다. 37℃, 5% CO₂ incubator에서 1시간 배양한 후 4℃ 얼음에 이동시켜 반응을 중단시켰다. 4℃에서 500g로 10분간 원심 분리한 후 상층액을 얻어 spectrophotormeter를 이용하여 550nm 파장에서 흡광도를 측정하였다. SOD에 의해 억제된 과산화음이온의 양, 즉 SOD가 첨가된 상태의 흡광도와 SOD가 첨가된 상태의 흡광도 차이를 extinction coefficient($2.1 \times 10^4 M^{-1} cm^{-1}$)로 나누어 단위는 nmol/ 1×10^6 cells/hr로 표시하였다. 자극제로는 phobol myrystate acetate (PMA)(2ug/ml) 750uL 또는 결핵환자 혈청 750uL를 이용하였다.

6. 통계 처리

통계학적 유의성은 Student's paired 혹은 unpaired t- test로 검정하여 p 값이 0.05 이하를 유의수준으로 하였다.

결 과

1. 기관지폐포세척액내 세포분포

기관지폐포세척액의 총세포수는 폐결핵환자군이 $5.33 \pm 3.48 \times 10^7$ /mL이고, 정상대조군이 $1.96 \pm 0.81 \times 10^7$ /mL로 폐결핵환자군에서 유의하게 높았다($p < 0.05$). 이중 임파구와 호중구 백분율은 폐결핵환자군이 각각 48 ± 19 %, 20 ± 16 %로 대조군 19 ± 15 %, 5.6 ± 4.3 %에 비해 유의하게 높았고($p < 0.01$) 이로인해 폐포대식세포 백분율은 폐결핵환자군이 51 ± 17 %, 대조군이 82 ± 14 %로 폐결핵환자군에서 유의하게 낮았다($p < 0.02$). 호산구의 백분율은 폐결핵환자군이 2.1 ± 1.3 %, 대조군이 2.7 ± 1.5 %로 통계학적 차이가 없었다($p > 0.05$)(Table. 1, Fig. 1).

Table 1. Cell Profiles of Bronchoalveolar Lavage Fluid

	Patient	Control
Total Cell Count($\times 10^7/\text{mL}$)	5.33 ± 3.48	1.96 ± 0.81
Macrophage(%)	$51 \pm 17^*$	82 ± 14
Lymphocyte(%)	$48 \pm 19^*$	19 ± 15
Neutrophil(%)	$20 \pm 16^{**}$	5.6 ± 4.3
Eosinophil(%)	2.1 ± 1.3	2.7 ± 1.5

* $p < 0.01$ vs normal control

** $p < 0.02$ vs normal control

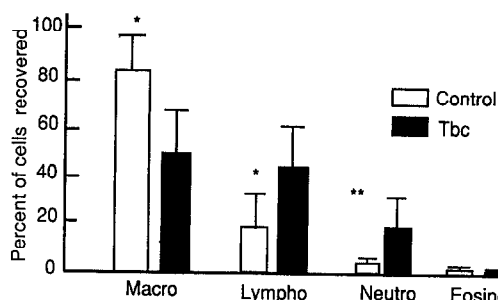


Fig. 1. Characterization of the type of inflammatory cells recovered through the BAL in control and Tbc group.

* : means $p < 0.01$ ** : means $p < 0.02$

2. 폐포대식세포에서 과산화음이온 생성

기저상태의 과산화음이온 생성을 폐결핵환자군과 대조군에서 비교하였는데, 각각 $2.40 \pm 1.94 \text{ nM}/1 \times 10^6 \text{ cells/hr}$, $2.18 \pm 0.99 \text{ nM}/1 \times 10^6 \text{ cells/hr}$ 로 통계학적 차이가 없었다($p > 0.05$)(Fig. 2). PMA로 폐포대식세포를 자극했을 때 폐결핵환자군의 경우 $15.64 \pm 9.10 \text{ nM}/1 \times 10^6 \text{ cells/hr}$, 대조군의 경우 $16.51 \pm 9.25 \text{ nM}/1 \times 10^6 \text{ cells/hr}$ 로 각각 기저상태 과산화음이온양 보다 유의하게 증가하였으며, 역시 두군 사이에 차이는 없었다($p > 0.05$)(Fig. 3).

3. 말초혈액내 단구세포에서 과산화음이온 생성

기저상태의 과산화음이온 생성은 폐결핵환자군이

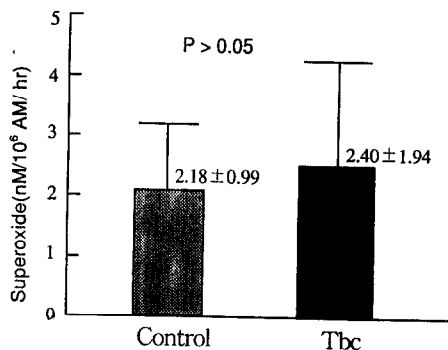


Fig. 2. Basal generation of superoxide by alveolar macrophages from control and Tbc group.

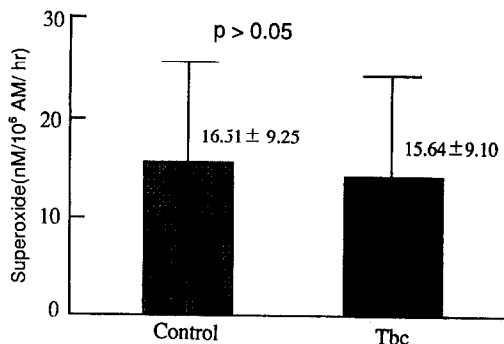


Fig. 3. Superoxide generation by alveolar macrophage after stimulation with PMA in control and Tbc group.

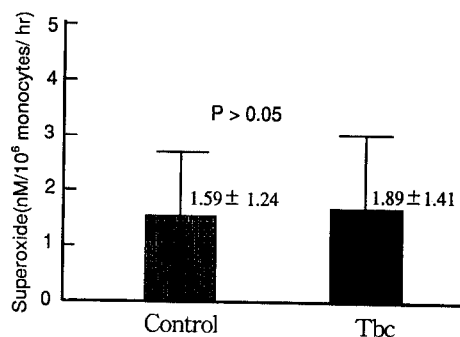


Fig. 4. Generation of superoxide from the peripheral blood monocytes in control and Tbc group.

$1.89 \pm 1.41 \text{ nM}/1 \times 10^6 \text{ cells/hr}$ 이고 대조군이 $1.59 \pm 1.24 \text{ nM}/1 \times 10^6 \text{ cells/hr}$ 로 차이가 없었다($p > 0.05$)(Fig. 4).

PMA로 자극했을 때 폐결핵환자군의 경우 41.7 ± 11.2 nM/ 1×10^6 cells/hr, 대조군의 경우 34.5 ± 7.34 nM/ 1×10^6 cells/hr로 폐포대식세포와 마찬가지로 기저상태 과산화음이온 생성보다 유의하게 증가되었는데, 폐결핵환자군이 대조군보다 유의하게 높았다($p < 0.02$) (Fig. 6).

한편 결핵환자 혈청을 혈액내 단구세포에 작용시켰을 때, 대조군의 경우 3.56 ± 2.20 nM/ 1×10^6 cells/hr, 폐결핵환자군의 경우 3.93 ± 2.14 nM/ 1×10^6 cells/hr로 두군에서 모두 의미있게 증가하였다($p < 0.05$). 반

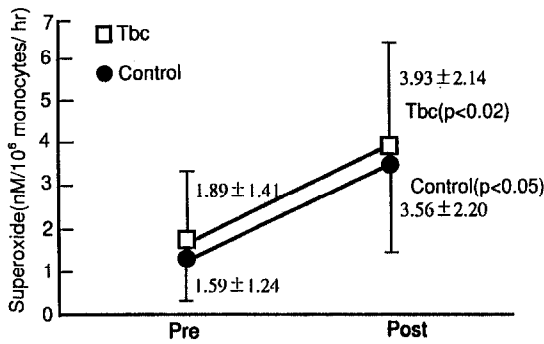


Fig. 5. Generation of superoxide from monocytes were increased after adding Tbc patient serum in culture media both in control(●) and Tbc group(□)

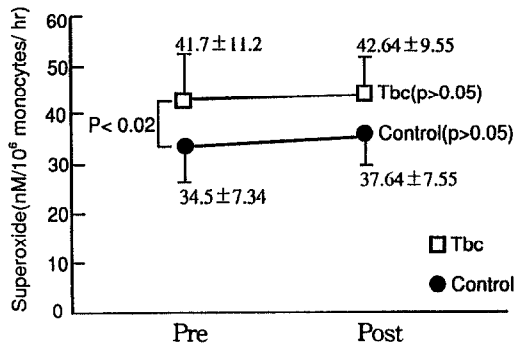


Fig. 6. Generation of superoxide from the stimulated monocytes with PMA was higher in the Tbc group(□). Addition of Tbc patients serum didn't increase the superoxide release both in control(●) and Tbc group (□).

면 PMA로 자극된 혈액내 단구세포는 결핵환자 혈청을 가하여도 과산화음이온 생성에 영향을 받지 않았다(Fig. 5, 6).

고 찰

폐포대식세포는 결핵균에 대한 세포매개성 면역반응에 중요한 세포이다^{1,4}. 폐포대식세포내에서 어떤 균이 살균되려면 충분한 양의 산소유리기가 필요하며 결핵균 살균에도 산소유리기가 관계하는 것으로 알려져 있다. 결핵균을 비롯한 다른 mycobacterium 즉 M.bovis, M.microti, M.intracellulare, M.leprae 등이 in vitro에서 산소유리기에 의해 살균되며⁵⁻⁹, 또한 독성 균주일수록 과산화음이온에 대한 저항성이 높고 비독성 균주는 쉽게 과산화음이온에 의하여 성장이 억제된다¹⁰. 그럼에도 불구하고 결핵환자에서는 결핵균이 폐포대식세포에서 계속 생존 번식하는데 이에 대한 원인은 아직 잘 규명되어 있지 않다. 반응성 산소 대사물(reactive oxygen metabolite)이 활성화된 폐포대식세포가 자체내 존재하는 결핵균을 죽이는데 관여할 것으로 추정되나 직접적인 증거는 없다¹¹. 실험실에서 xanthine과 xanthine oxidase를 반응시켜 과산화음이온과 과산화수소를 만들었을 때 결핵균은 살균되지 않았으나¹² 다량의 과산화수소(5×10^{-3} M)에는 살균된다는 보고도 있다¹³. Doubas 등¹⁴은 사람의 단구세포 유래성 부착세포가 결핵균에 대한 살균능력이 증가될 때도 반응성 산소 대사물의 증가는 없다고 하였다.

저자들은 대조군과 폐결핵환자군에서 폐포대식세포와 말초혈액 단구세포를 얻어 oxidative metabolism를 비교하여 폐결핵환자군에서 어떤 기능적 장애가 있는지를 알아보려고 본 실험을 하였다.

기관지폐포세척액내 총 세포수는 폐결핵환자군에서 많았으며, 세포의 조성은 임파구와 중성구가 대조군에 비해 증가되어 있었다. 또한 폐포대식세포와 말초혈액 단구세포에서 분비하는 과산화음이온의 양은 대조군과 폐결핵환자군간에 차이가 없었으며, 이들 세포를 PMA로 자극시켰을 때 폐결핵환자군도 대조군과 마찬가지로 증가하였고 대조군의 말초혈액 단구세포를 결핵환자 혈청으로 자극하였을 때 과산화

음이온 분비가 증가 하는 소견을 보였다.

폐포대식세포에서 분비되는 과산화음이의온의 양을 cytochrome-c reduction 방법으로 측정하였는데, 폐결핵환자군의 in vivo 상태를 반영한다고 볼 수 있는 PMA 자극전은 대조군과 차이가 없었고, PMA로 자극했을 때도 차이없이 두군에서 모두 증가하였다.

이전 보고에서는 결핵균에서 나오는 sulphatide, 25 KDa glycoprotein에 의해 in vitro에서 과산화음이의온 분비가 감소한다고 하였다¹⁵⁻¹⁸⁾. 1992년 Jaswal 등¹⁹⁾은 폐결핵 환자에서 폐포대식세포를 얻어 과산화음이의온과 총산소유리기를 측정하였는데 정상대조군과 비교하여 폐결핵환자군에서 감소되어 있는 것을 관찰하여 폐포대식세포의 산소유리기가 결핵균 살균에 중요함을 제안하였으나, 본 실험에서는 이와는 달리 두군간에 차이가 없었다. 폐결핵환자에서 폐포대식세포에서 과산화음이의온 분비가 감소하는 기전은 위에서 언급한 것과 같이 결핵균에 의한 폐포대식세포 활성화 억제로 설명할 수 있지만, 본 실험에서와 같이 PMA 자극후 과산화음이의온 분비가 정상대조군과 마찬가지로 증가하는 것으로 보아 폐포대식세포내 과산화음이의온 분비 기전에는 결함이 없는 듯 하다. 이와는 달리 폐포대식세포가 활성화 되려면 임파구의 활성화,여러가지 cytokine 등 세포외적 요인도 필요하다. 본 실험은 폐포대식세포를 분리하여 in vitro에서의 과산화음이의온 분비를 관찰한 것이므로 앞으로 in vivo에서 폐포대식세포 활성화에 관여하는 세포외적 요인에 대한 연구도 필요할 것으로 생각된다.

한편 말초혈액 단구세포의 과산화음이의온 형성은 대조군과 폐결핵환자군에서 차이가 없었지만 PMA로 자극 했을 때는 대조군보다 폐결핵환자군에서 높았고, PMA에 의한 폐포대식세포의 과산화음이의온 생성 증가보다 더 현저하였다. 정상적으로도 말초혈액 단구세포의 산소유리기 형성은 폐포대식세포보다 높다. 이것은 말초혈액 단구세포는 폐포대식세포와 달리 myeloperoxidase가 존재하고 pH나 산소분압 등과 같은 국소요인의 차이에 의한다고 알려져 있다^{20,21)}. 폐결핵환자군에서도 마찬가지로 폐포대식세포에 비해 말초혈액 단구세포에서의 산소유리기 분비가 높는데 폐포대식세포는 결핵균과 직접 접촉하는데 반해 말초혈액 단구세포는 결핵균의 특이 항원이나 lymph-

hokine에 의해 분비되는 r-IFN 자극을 받기 때문인 것으로 설명한다²²⁾. 더우기 결핵환자 혈청으로 대조군 말초혈액 단구세포를 자극시켰을 때 과산화음이의온이 증가하였고, PMA로 자극한 뒤 결핵환자 혈청을 작용시켰을 때는 변화가 없었다. 대식세포의 산소대사물의 생성은 체내에서는 활성화(activation)와 자극(stimulation), 체외에서는 priming과 triggering 두 단계로 조절된다²³⁾. 체외에서 priming시키는 물질로는 LPS(lipopolysaccharide), MDP(muramyl dipeptide), IFN-r (interferon-r) 등이 있으며 triggering하는 물질로는 PMA, FMLP(formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine) 등이 있다^{24,25)}. 아마도 결핵환자 혈청에는 대식세포 산소대사물 생성을 활성화, 자극하는 물질이 있을 것으로 생각되며, 그 성분에 대해서는 추후 연구가 필요할 것으로 사료된다.

저자들이 당초 기대한 폐결핵환자의 폐포대식세포 결함은 여러 방면에서 설명되어지고 있다.폐포대식세포의 결핵균에 대한 살해능은 산소의존성 과정(oxygen dependent process)뿐만아니라 산소비의존성 정(oxygen independent process)도 있다²⁶⁾. Armstrong 등²⁷⁾은 결핵균을 포함하고 있는 phagosome이 lysosome과 융합되지 않는 것을 관찰하였다. 즉 죽거나 항체로 둘러싸인 결핵균은 어려움 없이 phagosome과 lysosome이 융합하는 것으로 보아 독성 결핵균이 이러한 융합을 억제하는 물질을 분비한다고 하였다. Myrik 등²⁸⁾은 독성 결핵균과 비독성 결핵균이 토끼 폐포대식세포에 미치는 영향을 비교하였는데 독성 결핵균이 phagosomal membrane을 파괴시키는 것을 관찰하였다. Phagosome-lysosome 융합을 억제하는 기전으로 결핵균에서 나오는 C-AMP, sulfatide 등이 제시되고 있다^{15,16,29,30)}.

이러한 살균능 변화 뿐만아니라 화학주성에도 결함이 관찰되는데, 이것은 결핵균 혈장이 정상인 단구세포의 화학 주성을 억제하는 것으로 보아 혈장 성분에 의한 이차적 변화로 설명하기도하고 폐포대식세포내의 결함으로 설명하기도 한다^{31,32)}.

또한 Eiller³³⁾은 circulating suppressor monocyte의 존재를 증명하여 antigen presenting cell으로써의 결함으로 설명한 적이 있고, mice에서 HLA-DR/Ia 음성인 대식세포는 antigen presenting cell의 기능이 떨

어져 있음이 알려져 있다^{34,35,36)}. 최근 Tweardy 등³⁷⁾도 폐결핵환자에서도 DR 표현율이 떨어져 있음을 관찰 하였다. 이렇게 폐포대식세포/단구세포의 결합이 effector function 뿐만 아니라 effector function에서도 여러 측면에서 보고되어지고 있는데 이는 폐포대식세포/단구세포의 다양성, 면역조절 유전인자의 영향, 결핵균 항원의 다양성 등과 연관이 있다.

폐포대식세포 결합뿐만 아니라 임파구 결합도 보고되어지고 있는데, 결핵환자에 있어서는 T 임파구가 특히 helper T 임파구 수가 감소되었고³⁸⁾, 단구세포를 PPD로 자극시 blast formation이 감소하는 것으로 보아³⁹⁾ 활동성 결핵인 경우에는 세포매개성 면역능도 감소된다고 알려져 있다.

저자들은 폐결핵환자 폐포대식세포의 과산화음이온 분비가 적을 것으로 생각하고 대조군과 폐결핵환자군 폐포대식세포와 말초혈액내 단구세포에서 분비되는 과산화음이온을 비교하였지만, 두군간에 차이가 없었으며 PMA로 자극했을 때 대조군과 마찬가지로 증가하였고 더구나 결핵환자 혈청으로 정상인의 말초혈액 단구세포를 자극했을 때 과산화음이온 분비가 증가하는 것으로 보아 폐포대식세포나 말초혈액 단구세포의 결합으로 과산화음이온 분비가 부족하여 결핵균이 폐포대식세포에서 장기간 생존하는 것으로 생각되지는 않는다. 오히려 결핵환자 혈청내에는 말초혈액 단구세포의 과산화음이온 분비를 자극하는 물질이 있을 것으로 생각되며, 결핵환자 혈청내에 세포면역능을 감소시키는 물질이 있다는 보고³⁹⁾를 참고하여 앞으로 폐결핵환자 혈청내에 단구세포를 활성화, 자극하여 과산화음이온을 분비시키는 물질을 찾고 또 이것이 세포매개성 면역반응을 억제하는 물질과 관련이 있는지를 연구하여야 할 것으로 사료된다.

요 약

연구배경 : 결핵균은 facultative intracellular pathogen으로 대식세포에서 생존 번식할 수 있으며, 결핵균이 체내에서 제거되려면 대식세포와 T 임파구에 의한 효과적인 세포매개성 면역반응이 필요하다. 폐포대식세포에 의한 결핵균 살균은 크게 산소의존성 과정과 산소비의존성 과정으로 구분되는데 산소의존

성과정은 NADPH oxidase에 의해 산소가 환원반응으로 과산화음이온을 생성하는 과정으로 시작된다. 저자들은 폐결핵환자의 경우 폐포대식세포의 산소유리기 생성의 이상으로 결핵균이 세포내 오래 생존 번식할 것으로 추정하여 폐결핵환자와 대조군에서 폐포대식세포와 말초혈액 단구세포를 분리하여 분비되는 과산화음이온의 양을 비교하여 보았다.

방법 : 대조군과 폐결핵환자에서 폐포대식세포와 말초혈액내 단구세포를 분리하여 기저상태 및 PMA로 자극한 후 분비되는 과산화음이온의 양을 ferri-cytochrome-C를 환원시켜 나타나는 발색반응을 이용하여 측정하였고, 단구세포의 경우 결핵환자의 혈청에 의해 어떤 변화를 보이는지 관찰하였다.

결과 :

1) 폐포대식세포에서 분비하는 과산화음이온은 폐결핵환자군과 대조군 사이에 차이가 없었고, PMA로 자극을 했을 때도 두군 사이에 차이가 없이 모두 유의한 증가를 보였다.

2) 말초혈액 단구세포에서 분비하는 과산화음이온은 폐결핵환자군과 대조군 사이에 차이가 없었지만, PMA로 자극을 했을 때 두군에서 모두 유의한 증가를 보였고 폐결핵환자군이 대조군에 비해 높았다. 한편 결핵환자 혈청으로 폐결핵환자군과 대조군의 말초혈액 단구세포를 자극했을 때도 두군에서 모두 유의하게 증가되었다.

결론 : 폐포대식세포와 말초혈액 단구세포에서 분비하는 과산화음이온의 양은 정상인과 폐결핵환자에서 차이가 없었다. 따라서 폐포대식세포에서의 과산화음이온 분비가 부족하여 결핵균이 폐포대식세포내에서 장기간 생존하는 것으로 생각되지 않으며, 오히려 결핵환자의 혈청내에는 말초혈액 단구세포의 과산화음이온 분비를 자극하는 물질이 있을 것으로 생각되나, 정상인 혈청이 과산화음이온 생성에 미치는 효과에 대한 비교 연구가 필요할 것으로 사료된다.

REFERENCE

- 1) 김진열, 이계영, 현인규, 김영환, 한성구, 심영수, 한용철: 결핵균이 폐포대식세포의 기능에 미치는 영향에 관한 연구. 결핵 및 호흡기질환 39:526,

1992

- 2) 이희성: Superoxide 독성 작용. 대한내과학회잡지 **36**:451, 1989
- 3) Homan-Muller JWT, Weening RS, Roos D: Production of hydrogen peroxide by phagotizing human granulocytes. J Lab Clin Med **85**:198, 1975
- 4) Chaparas SD: The immunology of mycobacterial infection. CRC Crit Rev **9**:139, 1982
- 5) Edwards D, Kirkpatrick CH: The immunology of mycobacterial disease. Am Rev Resp Dis **134**:1062, 1986
- 6) Jackett PS, Aber VR, Lowrie DB: Virulence and resistance to superoxide, low pH and hydrogen peroxide among strain of *Mycobacterium tuberculosis*. J Gen Microbiol **104**:37, 1978
- 7) Ando MM, Sugs M, Sugimoto, Tokuomi H: Superoxide production in pulmonary alveolar macrophage and killing of BCG by superoxide generation system with or without catalase. Infect Immun **24**:404, 1979
- 8) Walker L, Lowrie DB: Killing of *Mycobacterium microtii* by immunologically activated macrophage. Nature **293**:60, 1981
- 9) Gangadharam PRJ, Edward CR: Release of superoxide anion from resident and activated mouse peritoneal macrophage infected with *Mycobacterium intracellulare*. Am Rev Respir Dis **130**:834, 1984
- 10) Sharp AK, Banerjee DK: Hydrogen peroxide and superoxide production by peripheral blood monocyte in leprosy. Clin Exp Immunol **60**:203, 1985
- 11) Qui PG: Perturbation of the normal mechanisms of intraleukocytic killing of bacteria. J Infect Dis **2**:S369, 1989
- 12) Moulder JW: Comparerial biology of intracellular parasitism. Microbial Rev **49**:298, 1985
- 13) Yamada Y, Saito H, Tomioka H, Jidoi J: Susceptibility of microorganisms to active oxygen species: sensitivity to the xanthine-oxidase mediated antimicrobial system. J Gen Microbiol **133**:2007, 1987
- 14) Brown AE, Holzer TJ, Anderson BR: Capacity of human neutrophils to kill *Mycobacterium tuberculosis*. J Infect Dis **156**:985, 1987
- 15) Douvas GS, Berger EM, Repine JE, Crowle AJ: Natural mycobacteriostatic activity in human monocyte derived adherent cells. Am Rev Respir Dis **134**:44, 1986
- 16) Edward CK, Hedegaard HB, Zlotnik A, Gangadharam PRJ, Jonson RB Jr, Pabst MJ: Chronic infection due to *Mycobacterium Intracellulare* in mice associated with macrophage release of prostaglandins E and reversal by injection of indomethacin, muramyl dipeptide or interferon. J Immunol **136**:1820, 1986
- 17) Pabst MJ, Gross JM, Bronza JP, Goren MB: Inhibition of macrophage priming by sulfatide from *Mycobacterium tuberculosis*. J Immunol **140**:634, 1988
- 18) Wadee AA, Cohen JD, Rabson AR: Gamma interferon reverses inhibition of leukocytes bactericidal activity from a 25-KDa fraction from *M. tuberculosis*. Infect Immun **55**:2777, 1987
- 19) Wadee AA, Clara AM: A 25-KDa fraction from *M. tuberculosis* that inhibits hexose monophosphate shunt activity, lysozyme release and H₂O₂ production: Reversal by gamma-IFN. Infect Immun **57**:864, 1989
- 20) Jaswal S, Dhand R, Sethi AK, Kohli KK, Ganguly NK: Oxidative metabolic status of blood monocytes and alveolar macrophages in the spectrum of human pulmonary tuberculosis. Scand J Clin Lab Invest **52**:119, 1992
- 21) Weissler JC, Lipcomb Mf, Vincent ML, Toews GB: Tumor killing by human alveolar macrophage and blood monocytes. Am Rev Respir

- Dis **134**:532, 1986
- 22) Kemmerich B, Rossing TH, Pennington JE: Comparative oxidative microbicidal activity of human blood monocytes and alveolar macrophage and activation by recombinant gamma interferon. *Am Rev Respir Dis* **136**:266, 1987
 - 23) Nathan CF, Murray HW, Wiebe MW, Rubin BY: Identification of interferon gamma as the lymphokine that activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. *J Exp Med* **158**:670, 1983
 - 24) Pabst MJ, Johnston RB: Increased production of superoxide anion by macrophage priming exposed in vitro to muramyl dipeptide or lipopolysaccharide. *J Exp Med* **151**:101, 1980
 - 25) Nathan CF, Murray HW, Wieve ME, Rubin BY: Identification of interferon-gamma as the lymphokine that activates macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. *J Exp Med* **158**:670, 1983
 - 26) Qui PG: Perturbation of the normal mechanisms of intraleukocytic killing of bacteria. *J Infect Dis* **148**:189, 1983
 - 27) Armstrong JA, Hart PD: Response of cultured macrophage to *Mycobacterium tuberculosis* with observation on fusion of lysosomes with phagosomes. *J Exp Med* **134**:713, 1971
 - 28) Myrivik QN, Leake ES, Wright MJ: Disruption of phagosomal membranes of normal alveolar macrophage by the H37 Rv strain of *Mycobacterium tuberculosis*. A correlate of virulence. *Am Rev Respir Dis* **129**:322, 1984
 - 29) Goren MB: Immunoreactive substances of mycobacteria. *Am Rev Respir Dis* **125**:50, 1982
 - 30) Kato M: Studies of biochemical lesion in experimental tuberculosis in mice. VIII. Effect of derivatives and chemical analogues of cord factor on structure and function of mouse liver mitochondria. *Am Rev Respir Dis* **98**:668, 1968
 - 31) Cmbell PB: Defective leucotaxis in monocytes from patients with pulmonary tuberculosis. *J Infect Dis* **139**:409, 1979
 - 32) Nielson H, Bennedsen J, Larsen SO, Rhodes JM, Viskum K: Defective monocyte chemotaxis in pulmonary tuberculosis. *Eur J Respir Dis* **22**:973, 1982
 - 33) Ellner JJ: Suppressor adherent cells in human tuberculosis. *J Immunol* **121**:2573, 1978
 - 34) Lu CY, Calamai EG, Unanue ER: A defect in the antigen-presenting function on macrophages from neonatal mice. *Nature* **282**:327, 1979
 - 35) Pierres M & Germain RN: Antigen-specific T cell-mediated suppression. IV. Role of macrophages in generation of L-glutamic acid-L-alanine-L-tyrosine (GAT) specific suppressor T cell in responder mouse strains. *J Immunol* **121**:1306, 1978
 - 36) Cowing C, Schwartz BD, Dickler HB: Macrophage Ia antigens. I. Macrophage populations differ in their expression of Ia antigens. *J Immunol* **120**:378, 1978
 - 37) Tweardy DJ, Schacter BZ, Ellner JJ: Association of altered dynamics of monocyte surface expression of human leukocyte antigen DR with immunosuppression in tuberculosis. *J Infect Dis* **149**:31, 1984
 - 38) Al-Tawil NG & Thewaini AJ: Study of the immunological status of patients with pulmonary tuberculosis. *Scand J Immunol* **8**:333, 1978
 - 39) Andrade-Arzabe R, Machado IV, Fernandez B, Blanca I, Ramirez R, Bianco NE: Cellular immunity in current active pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* **143**:496, 1991