



기관지폐포세척액의 이중음성 T 림프구와 폐질환의 연관성 분석

Evaluation of CD3+CD4-CD8- (Double-negative) T Cells in Bronchoalveolar Lavage Fluid: an Effective Tool for Pulmonary Disease Diagnosis

장해봉¹ · 이아진¹ · 김민지¹ · 전창호¹ · 서현석¹ · 현대성² · 김상경¹

Hae-Bong Jang, M.D.¹, A-Jin Lee, M.D.¹, Min-Ji Kim, M.D.¹, Chang-Ho Jeon, M.D.¹, Hun-Suk Suh, M.D.¹, Dae-Sung Hyun, M.D.², Sang-Gyung Kim, M.D.¹

대구가톨릭대학교 의과대학 진단검사의학교실¹, 내과학교실²

Departments of Laboratory Medicine¹ and Internal Medicine², Catholic University of Daegu, School of Medicine, Daegu, Korea

Background: Cellular analysis of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) is a useful diagnostic tool for interstitial lung diseases (ILDs). The lymphocytes in BALF consist of CD3+CD4+ T cells (T4), CD3+CD8+ T cells (T8), and a few B cells. However, sometimes, an increased number of CD3+CD4-CD8- T cells (double-negative T cells, DNTs) are noted in BALF. It is known that DNTs in the blood are associated with immunoregulation and autoimmune diseases. However, there are only few studies on DNTs in BALF. We evaluated the DNTs in BALF in patients with pulmonary diseases.

Methods: Immunophenotyping results of the BALF obtained from 122 pulmonary disease patients over an 8-yr period were reviewed. T-lymphocyte subsets (T4, T8, and DNT) and inflammatory markers were analyzed for each group of clinical diagnosis. T-lymphocyte percentage of more than 15% of the total cells was defined as BALF lymphocytosis, and DNT percentage of more than 5% of T lymphocytes was defined as high DNT.

Results: The most frequent diseases found in the patients were pneumonia (31.6%), autoimmune-related ILDs (18.0%), hypersensitivity pneumonitis (10.7%), and organizing pneumonia (10.7%). However, the occurrence of autoimmune-related ILDs was significantly high (40%) in patients with lymphocytosis and high DNT ($P=0.002$). All lung cancer patients showed lymphocytosis with high DNT. In addition, CD3-signal intensities of DNTs were significantly higher than those of other T-lymphocyte subtypes ($P=0.003$).

Conclusion: The number of DNTs in BALF was increased in patients with autoimmune-related ILDs and lung cancer. High DNTs in BALF are useful as supportive diagnostic tools for autoimmune-related ILDs.

Key words: Bronchoalveolar lavage fluid, T-lymphocyte subsets, Pulmonary diseases, Autoimmune interstitial lung diseases

서론

간질성폐질환(interstitial lung disease)은 폐실질을 침범하는 질환을 통틀어 일컫는 것으로 다양한 원인에 의하여 발생한다. 흉부

Corresponding author: Sang-Gyung Kim

Department of Laboratory Medicine, Daegu Catholic University, School of Medicine, 33 Duryugongwon-ro 17-gil, Nam-gu, Daegu 705-718, Korea
Tel: +82-53-650-4145; Fax: +82-53-653-8672, E-mail: sgkim@cu.ac.kr

Received: January 24, 2014

Revision received: April 21, 2014

Accepted: April 21, 2014

This article is available from <http://www.labmedonline.org>

© 2015, Laboratory Medicine Online

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

고해상도전산화 단층촬영(chest high-resolution computed tomography) 등의 영상진단 기술의 발달로 간질성폐질환의 원인 추정 및 감별진단에 큰 도움을 받을 수 있게 되었다[1]. 그러나 환자병력 및 임상소견, 영상소견으로 간질성폐질환을 감별할 수 없는 경우 추가적으로 기관지폐포세척술(bronchoalveolar lavage)의 시행을 고려할 수 있다[2].

기관지폐포세척액안의 세포들은 하부기관지 및 폐조직의 염증상태와 면역학적 상태를 반영하므로[3], 기관지폐포세척액의 세포분석은 간질성폐질환의 진단과 치료반응의 확인에 도움이 된다[1, 2, 4-6]. 기관지폐포세척액 세포성상의 참고치는 연구마다 조금씩 차이를 보이는데, 흡연을 하지 않는 건강한 성인에서는 대체적으로 85% 이상이 폐포대식세포(alveolar macrophage)이며 림프구는 10-15%, 호중구와 호산구가 각각 3%, 1% 미만, 편평상피세포와 섬모상피세포가 5% 미만으로 나타난다[2]. 기관지폐포세척액의 림프

구 중 절반 이상은 CD3+CD4+ T 림프구(T4)이며 그 다음으로는 CD3+CD8+ T 림프구(T8)가 많고, B 림프구는 5% 미만으로 구성되어 있어[8], 대부분의 검사실에서는 기관지폐포세척액의 림프구아형검사에 T4와 T8, T4/T8 비를 실시하고 있다.

유세포분석을 이용한 림프구아형검사에서 한 시험관에 3색 이상의 염색을 시행한 경우에는 T4와 T8 외에도 CD3+CD4-CD8- T 림프구 분포를 확인할 수 있는데, 이를 이중음성T세포(double negative T cells, DNT)라 한다. 이러한 DNT는 대부분 T세포 수용체(T cell receptor, TCR)가 $\gamma\delta$ 타입인 경우가 많으며 면역조절기능 혹은 자가면역질환과의 연관성에 관한 연구들이 다수 보고되고 있다[9-13]. 하지만 이에 대한 연구들은 대부분 혈액세포에 대한 것으로 기관지폐포세척액에서 나타나는 DNT의 역할에 대해서는 보고가 드물다. 본 연구에서는 기관지폐포세척액의 DNT가 특정 폐질환과 연관성을 보이는지 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

2005년 7월부터 2013년 9월까지 8년 동안 대구가톨릭대학교병원 진단검사의학과로 의뢰된 기관지폐포세척액 검체 중 림프구아형검사가 시행된 145예의 분석결과를 대상으로 후향적 분석을 시행하였다. 동일한 환자의 검체가 연속적으로 의뢰된 경우에는 T 림프구 수가 더 많은 결과를 분석대상으로 하였으며, 동일한 환자라도 검사 시기가 다른 경우에는 그 결과들을 모두 분석대상으로 포함하였다.

2. 연구 방법

1) 기관지폐포세척액 유핵세포 감별검사(세포원심법)

기관지폐포세척액의 유핵세포백분율을 검사하기 위해 Shandon cytopsin III (Thermo, Pittsburgh, PA, USA)를 사용하여 세포원심분리를 다음과 같이 시행하였다. 기관지폐포세척액을 2,500 rpm으로 10분간 원심분리한 후 상층액을 제거한 침전물에 달걀알부민 2-3방울을 추가하여 혼합하였다. 이 혼합물을 슬라이드와 여과지가 들어있는 세포침전함에 1-2방울 넣고 1,500 rpm으로 2분간 세포원심하였다. 슬라이드는 Wright 염색한 후 광학현미경으로 200개의 세포를 관찰하여 유핵세포백분율을 계산하였다(Fig. 1).

2) 기관지폐포세척액 림프구아형검사

대상기간 동안 기관지폐포세척액의 림프구아형검사는 Optclone (Immunotech, Marseille, France) 시약을 사용하여 CD4-Fluorescein isothiocyanate (FITC)/CD8-Phycoerythrin (PE)/CD3-Phycoerythrin-Cyanin 5 (PC5)의 3색 염색을 시행하였다. 염색은

제조사의 지침에 따라 시험관에 시약 20 μ L와 기관지폐포세척액 100 μ L를 혼합하여 20분 동안 실온암소에 보관 후 Immunoprep (Beckman Coulter Inc., Brea, CA, USA)을 이용하여 적혈구용해 및 고정하였다. 분석은 Cytomics FC500 (Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA, USA) 유세포분석기와 CXP프로그램(Beckman Coulter)을 이용하여 분석하였다.

림프구 gating은 forward scatter와 side scatter (SS)를 사용한 림프구 gating으로 인한 오차를 줄이고 CD3- 림프구를 배제하기 위하여 CD3+와 SS low영역을 T 림프구로 정의하고 gating 하였다. T 림프구 아형 지표로는 T4 백분율(%), T8 백분율(%), T4/T8 비와 DNT 백분율(%) 및 CD3 신호강도(mean fluorescence intensity, MFI)를 분석하였다.

3) 분석 방법

CD3+/SS low gating된 T 림프구의 event가 1,000 미만인 20예와 T 림프구 아형의 분포가 명확하게 구분되지 않는 3예는 분석에서 제외하였다. 나머지 122예에 대하여 gating된 T 림프구가 전체 세포수의 15%를 초과하는 경우를 림프구 증가된 경우로, 15% 이하인 경우를 림프구 증가되지 않은 경우로 구분하였다. 마찬가지로 gating된 T 림프구 중에서 DNT가 5%를 초과하는 경우를 DNT가 증가한 것으로 정의하였다. CD3 신호강도비교는 DNT와 T4, T8 그룹을 각각 gating하여 CD3의 MFI를 비교하였다. 기관지폐포세척액의 T 림프구아형검사 당시의 CBC, WBC 감별계산, ESR 및 CRP를 확인하고 의무기록을 통하여 환자의 주 상병을 다음의 경우로 분류하였다.

- ① 폐렴(pneumonia): 세균성, 바이러스성 및 비정형폐렴
- ② 자가면역관련(autoimmune-related): 자가면역질환이 확인되고 간질성 폐질환의 원인으로 의심되는 경우
- ③ 기질화폐렴(organizing pneumonia): 특발성 기질화 폐렴 및 폐쇄 세기관지 기질화 폐렴
- ④ 호산구성 폐렴(eosinophilic pneumonitis): 급성 및 만성 호산구성 폐렴
- ⑤ 과민성폐렴(hypersensitivity pneumonitis)
- ⑥ 폐암(lung cancer)
- ⑦ 결핵(tuberculosis)
- ⑧ 사르코이드증(sarcoidosis)
- ⑨ 기타: 구분이 불가능한 경우

4) 통계분석

검사지표들 간의 평균차이 및 상관관계를 평가하기 위하여 각각 *t* 검증과 피어슨 상관관계 분석을 사용하였고, 주 상병 간 교차 분석으로는 피어슨 카이제곱검정을 사용하였으며 *P*값이 0.05 미

만인 경우를 통계학적으로 유의하다고 해석하였다. 통계분석 프로그램은 IBM SPSS version 19 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 사용하였다.

결 과

122예의 환자들은 61명의 남성과 61명의 여성으로 평균 연령은 각각 59.3세와 61.7세로 나타났다. 성별 간 T4 (%)와 T8 (%) 및 T4/T8 비는 통계적으로 유의한 차이가 없었으나 DNT (%)는 남성에서 유의하게 높았다(5.46 vs. 3.75, $P=0.037$). 의무기록을 통해 확인한 122예의 환자들의 주 상병을 T 림프구의 증가유무(15% 기준)와 DNT 증가유무(5% 기준)로 구분하여 Table 1에 요약하였다. 전체 증례의 주 상병은 폐렴이 31.6% (51예)로 가장 높은 빈도를 보였으며 자가면역관련이 18.0% (22예)로 두 번째로 높게 나타났고, 기질 화폐렴과 과민성폐렴이 각각 10.7% (13예), 호산구성 폐렴이 9.8%

Table 1. Diagnosis and the results of BALF immunophenotyping of total 122 patients

Diagnosis	Number of patients				Total
	T cell > 15% DNT ≤ 5%	T cell > 15% DNT > 5%	T cell ≤ 15% DNT ≤ 5%	T cell ≤ 15% DNT > 5%	
Pneumonia	27	4	7	6	44
Autoimmune-related ILDs	8	12	2	0	22
Organizing pneumonia	10	3	0	0	13
EP	3	4	4	1	12
HP	10	3	0	0	13
Lung cancer	0	3	0	0	3
Tuberculosis	2	1	1	2	6
Sarcoidosis	5	0	0	0	5
Miscellaneous	3	0	1	0	4
Total	68	30	15	9	122

Abbreviations: BALF, bronchoalveolar lavage fluid; ILDs, interstitial lung diseases; DNT, double-negative T cell; EP, eosinophilic pneumonitis; HP, hypersensitivity pneumonitis

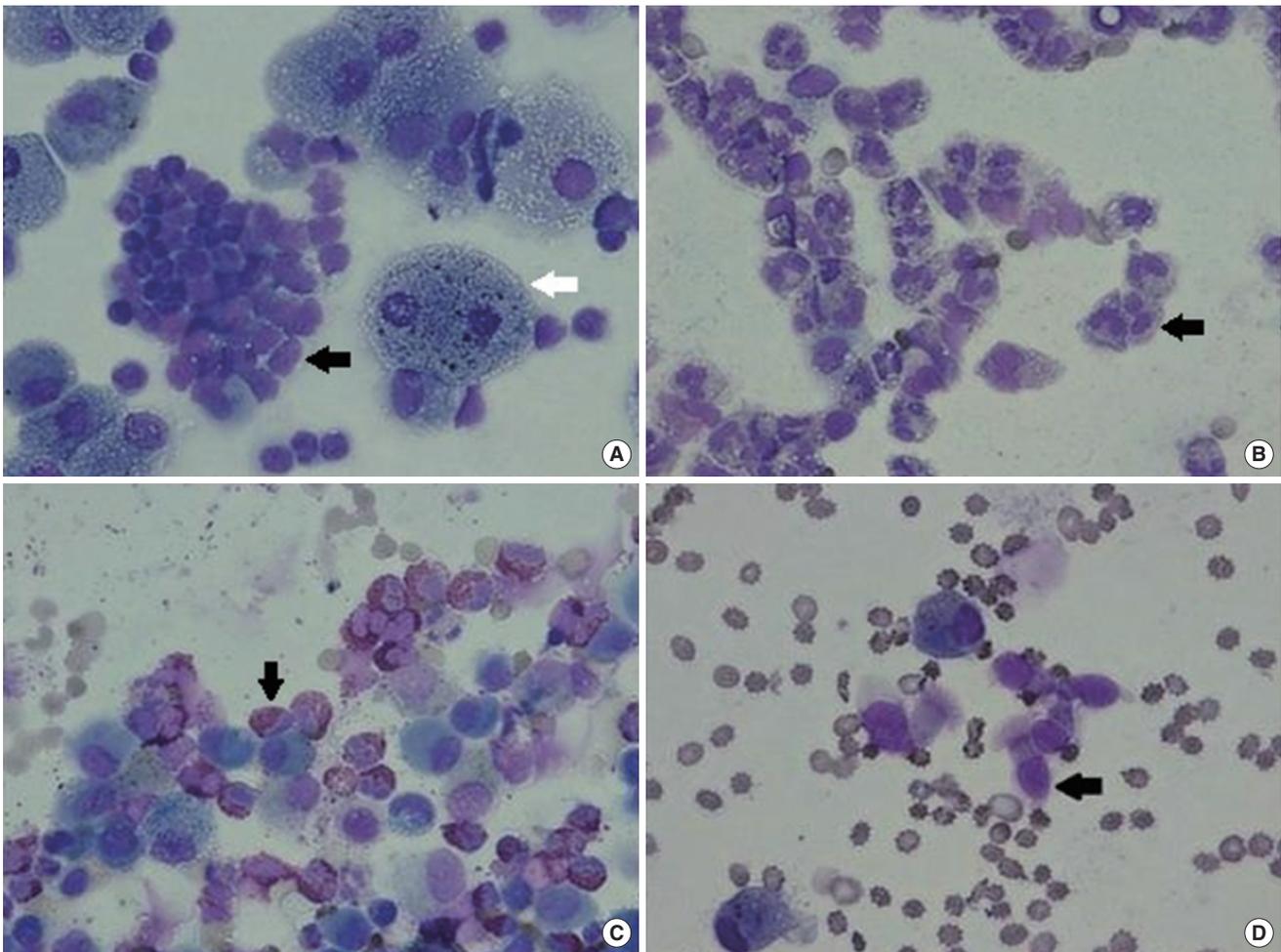


Fig. 1. Representation of nucleated cells in cytocentrifuged bronchoalveolar lavage fluid (Wright stain, ×600). (A) Lymphocytes (black arrow) and alveolar macrophages (white arrow); (B) Neutrophils (black arrow); (C) Eosinophils (black arrow); (D) Ciliated epithelial cells (black arrow).

(12예), 결핵 4.9% (6예), 사르코이드증 4.1% (5예), 폐암 2.6% (3예)의 순서로 나타났다. 1예의 후천면역결핍증후군 환자와 타 병원에서 스테로이드 치료를 받고 내원하여 진단을 내리지 못한 경우 및 복합적인 폐질환으로 감별할 수 없었던 증례는 기타로 구분하였다.

피어슨 카이제곱검정을 통해 그룹 간 상병을 비교한 결과 T 림프구가 증가하지 않은 그룹 혹은 T 림프구 증가가 있어도 DNT가 낮은 그룹들의 주 상병은 각 그룹 간 및 전체 주 상병 빈도와 유의한 차이를 보이지 않았으나($P=0.120$), T 림프구와 DNT가 모두 증가된 그룹은 다른 그룹과 비교하여 통계적으로 유의한 차이를 보였다($P=0.009$). 또한 기질화폐렴과 과민성폐렴 환자들은 모두 T 림프구가 증가한 그룹에 속했으며, 폐암 환자들은 3예 모두 T 림프구와 DNT가 증가된 그룹으로 나타났다.

DNT와 염증과 연관성을 확인하기 위하여 일반적으로 체내의 염증지표로 사용되는 CRP, ESR 및 절대호중구수(absolute neutrophil count, ANC)의 연관성을 확인하였다. CRP 및 ANC의 경우 기관지폐포세척액의 DNT (%)와 피어슨 상관관계 분석에서 통계적으로 유의한 상관관계를 보였으나(vs. CRP, $P=0.001$; vs. ANC,

$P=0.010$) 상관성은 각각 0.311, 0.233으로 낮게 나타났다. 하지만 ESR은 DNT와 유의한 관계를 보이지 않았다($P=0.087$).

또한 DNT가 증가한 39예를 통해 전체 T 림프구 세 가지 아형을 각각 gating하여 CD3 신호강도를 확인하였다(Fig. 2). *t* 검증을 이용한 T 림프구 아형별 CD3 신호강도는 DNT 그룹이 T4, T8 그룹보다 통계적으로 유의하게 높았다(vs. T4, 10.54 vs 8.19, $P=0.003$; vs. T8, 10.54 vs 8.03, $P=0.001$).

고 찰

기관지폐포세척술은 폐생검술에 비해 상대적으로 안전하게 폐포의 면역상태를 확인하는 방법이다. 특별한 질환이 없는 경우 기관지폐포세척액의 세포성상은 나이, 연령 등의 요인에 따라 다르게 나타나지만 간질성폐질환 환자들에서는 기관지폐포세척액의 세포성상이 변화되어 나이, 성별 및 흡연 유무가 기관지폐포세척액의 세포성분에 큰 영향을 미치지 않는다[14]. 그러므로 기관지폐포세척액의 세포성상을 확인하여 간질성폐질환의 감별진단에 보

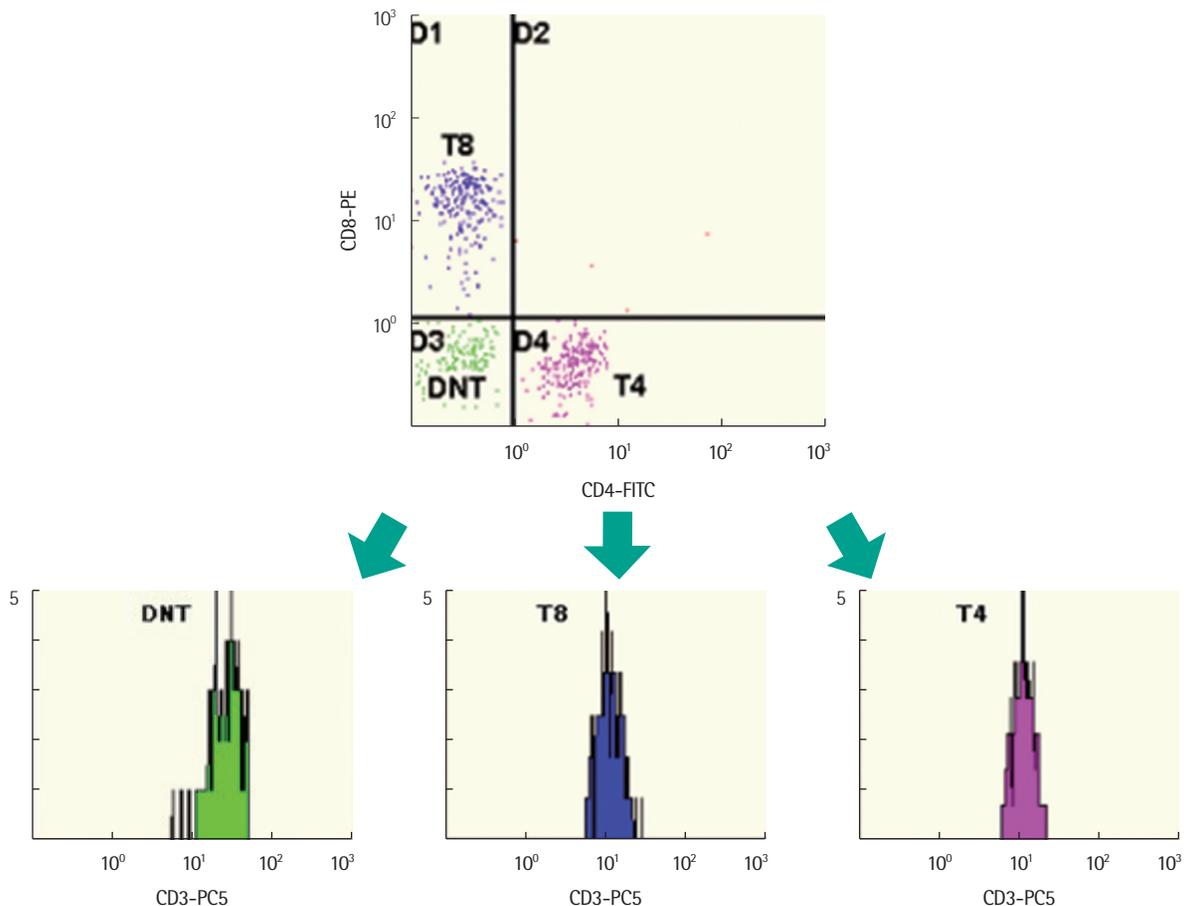


Fig. 2. CD3 mean fluorescence intensity of double-negative T (DNT, green) was higher than that of T8 (blue, 10.54 vs. 8.03, $P=0.001$) and T4 subtypes (purple, 10.54 vs. 8.19, $P=0.003$).

조적인 도움을 받을 수 있을 것으로 생각되고 있다[1, 2, 7]. 대표적으로 사르코이드증은 T4 세포의 급격한 증가가 일어나 기관지폐포 세척액의 T 림프구아형검사가 진단적 가치를 가지며, 혈청의 안지오텐신전환효소 증가 및 기관지폐포세척액의 CD3+CD4+ 세포를 확인하면 사르코이드증을 더 정확하게 진단할 수 있다[15]. 본 연구에서 확인된 5예의 사르코이드증 증례 모두에서도 T4의 확연한 증가로 인해 T4/T8 비가 4 이상으로 높게 나타나(11.41±4.64) 사르코이드증을 쉽게 감별할 수 있었다.

본 연구에서 T 림프구와 DNT가 모두 증가된 그룹은 그 외 그룹들과 피어슨 카이제곱검정으로 비교하였을 때 상병명에서 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 이것은 다른 그룹들이 폐렴 상병의 빈도가 가장 높는데 비해 T 림프구와 DNT가 모두 증가된 그룹에서는 자가면역관련 간질성폐질환이 40% (12예)로 가장 높은 빈도를 보였기 때문이다. 그러므로 T 림프구와 DNT의 증가가 확인되는 경우에는 자가면역질환을 감별할 수 있는 추가적인 검사의 시행을 고려할 필요가 있겠다. 기질화폐렴, 과민성폐렴 및 폐암 환자들 또한 그룹 간 눈에 띄는 차이를 보였으나 증례수가 적어 통계적인 유의성은 확인할 수 없었다. 그러나 기질화폐렴 및 과민성폐렴 환자들은 모두 T 림프구가 증가한 그룹에 속하였고, 폐암 환자들은 3예 모두 T 림프구와 DNT가 증가된 그룹에서 나타났다.

DNT는 CD3+ T림프구 중에서 T4와 T8에 모두 속하지 않는 세포들로 정의되므로 $\gamma\delta$ T 림프구, 일부 자연살해 유사 T 세포, $\alpha\beta$ T 림프구의 DNT와 같이 드물게 관찰되는 T 림프구의 세 가지 아형들을 모두 포함한다[9]. 이 아형들은 TCR의 종류, CD49b의 발현 등의 차이를 보이지만 아직까지 이 세 가지 아형을 명확하게 구분할 수 있는 표지자는 알려지지 않았다. 본 연구는 후향적으로 진행되어 기관지폐포세척액에 있는 DNT의 TCR수용체나 기타 다른 표지자들을 확인할 수는 없었다. 그러나 본 연구에서 DNT가 자가면역관련 간질성폐질환 증례 및 폐암 증례에서 높은 연관성을 보이는 점을 고려하면, 기관지폐포세척액에서 나타나는 DNT는 항원제시 세포(antigen presenting cell)처럼 B 림프구와 T 림프구를 자극하여 자가면역질환을 유발하는 원인이면서 암환자에서 항암 면역기능과 관련성이 알려진 $\gamma\delta$ T 림프구[16]의 가능성이 높다고 생각된다. 위암 환자를 대상으로 시행된 연구에서도 DNT와 $\gamma\delta$ T 림프구가 유의한 양의 상관관계를 보이는 것으로 보고된 바 있다[17].

DBA/2 쥐를 이용한 연구에서 DNT가 높을수록 말라리아 감염에 대한 저항성을 보이는 것[18], HIV 감염에서 DNT가 CD4+ count와 상관관계를 보이는[19] 등 감염과 관련된 DNT의 면역조절 기능이 알려져 있다. 하지만 본 연구에 포함된 1예의 후천면역결핍 증후군 증례에서는 T4 5%, T8 89.2%, T4/T8 0.06, DNT 3.3%로 T4 및 T4/T8 비가 크게 감소되어 있었으나 DNT의 확연한 감소는 보이지 않았다. 감염 이후 폐조직에서 DNT가 증가한다는 보고가 있

는데[20], 기관지폐포세척액은 폐조직의 염증상태와 면역학적 상태를 반영하므로 기관지폐포세척액의 DNT와 염증상태의 관련성을 고려해 볼 수 있다. 하지만 본 연구에서는 DNT와 CRP, ANC의 상관관계가 0.3 정도로 낮게 나타나 감염 및 염증상태와 관련된 DNT의 면역조절기능에 대해서는 추가적인 증례와 연구가 필요할 것으로 생각된다.

마지막으로 DNT세포에서 증가된 CD3 신호강도는 세포분화과정 및 자가면역질환에서의 세포병리기전과 관련이 있는 것으로 보인다. 골수에서 유래된 원시세포(progenitor cells)는 흉선(thymus)으로 이동하여 미성숙한 DNT 단계를 거쳐 이중양성 T 림프구가 된 이후 T4 혹은 T8로 분화하게 된다[20]. Mixer 등[21]은 세포자멸사(apoptosis) 기전이 결핍된 쥐를 이용한 연구를 통해 흉선세포 발달과정 중 TCR/CD3 복합체의 신호강도가 강할수록 DNT가 증가함을 확인하였다. 세포자멸사 기전이 정상인 경우, TCR/CD3 복합체의 신호강도가 강한 DNT는 흉선에서 세포자멸사를 통하여 사라진다. 그러므로 대부분의 DNT는 흉선이 아닌 말초장기로 이주한 T 림프구들에 의해서 발생하며, Fas 세포자멸사기전에 돌연변이가 생긴 자가면역질환을 가진 환아에서 심각한 림프비대와 함께 DNT가 증가됨이 보고되었다[22]. 본 연구에서도 DNT의 CD3 신호강도가 다른 T 림프구 아형들에 비해 강하게 나타나는 것이 확인되었다. 이것은 자가면역관련 질환 등이 DNT의 세포자멸사 기전에 영향을 주었을 가능성을 시사하는 것으로 이에 대해서도 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Ciszak 등[23]에 따르면, 대표적인 자가면역질환인 전신성홍반성 루푸스(systemic lupus erythematosus, SLE)에서 T4의 TCR/CD3 복합체를 구성하는 요소인 CD3 ζ 사슬발현이 감소되고 이를 대체하는 Fc γ R가 증가한다. 일반적으로 휴식상태의 T 림프구는 TCR/CD3/CD3 ζ /ZAP-70 복합체를 가지고 있으나 활성화된 T4에서는 TCR/CD3/Fc γ R/Syk 복합체로 변하여 신호전달이 일어나 각종 사이토카인 등을 증가시키는데, SLE 환자에서는 T 림프구의 활성화 유무에 관계없이 활성화된 T4의 복합체가 증가하여 IL-2 등의 사이토카인 증가가 유도된다[24]. 자가면역질환에서 DNT의 증가가 유도되는 기전은 정확하게 확인되지는 않았으나 TCR/CD3 복합체의 변화로 인해 활성화된 T4와 유사한 신호전달이 발생하고 T 림프구의 세포분열 및 증식이 유도되면서 DNT의 증가가 일어났을 것으로 생각된다.

본 연구는 후향적으로 진행되었으며 상병명간 부족한 증례, 낮은 상관관계 등의 통계학적 한계점을 가지고 있어 기관지폐포세척액의 DNT에 대해서 결론을 내리기 위해서는 차후 더 많은 연구가 필요하다. 그러나 이러한 제한점에도 불구하고 자가면역관련 질환과 폐암에서 타 질환에 비하여 뚜렷한 DNT 증가빈도를 보여 차후 림프구증가성 간질성폐질환의 감별진단에 DNT가 보조적으로 사

용될 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

배경: 기관지폐포세척액의 세포분석은 간질성폐질환환자에서 유용한 진단도구로 사용된다. 기관지폐포세척액의 림프구들은 CD3+CD4+ T 림프구(T4)와 CD3+CD8+ T 림프구(T8), 그리고 일부 B 림프구로 구분된다. 그러나 가끔씩 CD3+CD4-CD8- T 림프구(DNT)가 확인된다. 혈액에서 확인되는 DNT는 면역조절기능과 자가면역 질환과 연관성이 알려져 있으나 기관지폐포세척액에서의 역할은 아직 명확하지 않다. 본 연구에서는 기관지폐포세척액의 DNT 증가 소견과 폐질환의 연관성을 알아보고자 하였다.

방법: 8년간의 122예의 유세포분석 결과를 확인하고 각 임상 진단 별 T 림프구 아형들(T4, T8, DNT)과 염증표지자를 후향적으로 분석하였다. 림프구가 15% 이상으로 증가된 경우를 림프구증가성질환으로, DNT가 5% 이상인 경우를 증가소견으로 구분하였다.

결과: 전체 환자군에서는 폐렴(31.6%), 자가면역관련폐질환(18.0%), 과민성폐렴(10.7%), 기질화폐렴(10.7%)의 순서로 상병의 빈도가 나타났다. 그러나 림프구 증가와 DNT 증가가 동반된 그룹에서는 자가면역관련폐질환 상병이 확연하게 높은 빈도를 보였다(40%). 모든 폐암 환자들은 림프구증가와 DNT 증가가 동반된 그룹에 속했다. 또한 DNT의 CD3 신호강도는 다른 T 림프구 아형들의 CD3 신호강도에 비해 유의하게 높았다($P=0.003$).

결론: 기관지폐포세척액의 DNT는 자가면역관련폐질환과 폐암에서 증가하는 소견을 보인다. 기관지폐포세척액의 DNT 증가소견은 자가면역관련 폐질환의 진단에 보조적인 도구로 사용될 수 있을 것이다.

REFERENCES

1. Meyer KC and Raghu G. Bronchoalveolar lavage for the evaluation of interstitial lung disease: is it clinically useful? *Eur Respir J* 2011;38:761-9.
2. Wuyts WA, Doooms C, Verleden GM. The clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;187:777.
3. Papisir SA, Kollintza A, Kitsanta P, Kapotsis G, Karatza M, Milic-Emili J, et al. Relationship of BAL and lung tissue CD4+ and CD8+ T lymphocytes, and their ratio in idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest* 2005; 128:2971-7.
4. Caillaud DM, Vergnon JM, Madroszyk A, Melloni BM, Murrin M, Dalphin JC, et al. Bronchoalveolar lavage in hypersensitivity pneumonitis: a series of 139 patients. *Inflamm Allergy Drug Targets* 2012;11:15-9.

5. Jara-Palomares L, Martin-Juan J, Gomez-Izquierdo L, Cayuela-Dominguez A, Rodriguez-Becerra E, Rodriguez-Panadero F. [Bronchoalveolar lavage findings in patients with diffuse interstitial lung disease: prospective study of a cohort of 562 patients]. *Arch Bronconeumol* 2009; 45:111-7.
6. Capelozzi VL, Faludi EP, Balthazar AB, Fernezlian Sde M, Filho JV, Parra ER. Bronchoalveolar lavage improves diagnostic accuracy in patients with diffuse lung disease. *Diagn Cytopathol* 2013;41:1-8.
7. Picinin IF, Camargos PA, Marguet C. Cell profile of BAL fluid in children and adolescents with and without lung disease. *J Bras Pneumol* 2010;36:372-85.
8. Goldman L and Schafer AI. Respiratory structure and function. In: Reynolds H, ed. *Goldman's Cecil Medicine*. 24th ed. Elsevier: Saunders, 2012:523-7.
9. Hillhouse EE and Lesage S. A comprehensive review of the phenotype and function of antigen-specific immunoregulatory double negative T cells. *J Autoimmun* 2013;40:58-65.
10. Dean GS, Anand A, Blofeld A, Isenberg DA, Lydyard PM. Characterization of CD3+ CD4- CD8- (double negative) T cells in patients with systemic lupus erythematosus: production of IL-4. *Lupus* 2002;11:501-7.
11. Anand A, Dean GS, Quereshi K, Isenberg DA, Lydyard PM. Characterization of CD3+ CD4- CD8- (double negative) T cells in patients with systemic lupus erythematosus: activation markers. *Lupus*.2002;11: 493-500.
12. Crispin JC, Oukka M, Bayliss G, Cohen RA, Van Beek CA, Stillman IE, et al. Expanded double negative T cells in patients with systemic lupus erythematosus produce IL-17 and infiltrate the kidneys. *J Immunol* 2008; 181:8761-6.
13. Crispin JC and Tsokos GC. IL-17 in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol* 2010;2010:943254.
14. Song KS, Heo WB, Won DI. [Comparative analysis of bronchoalveolar lavages in interstitial lung diseases]. *Korean J Lab Med* 2007;27:221-7.
15. Hyldgaard C, Kaae S, Riddervold M, Hoffmann HJ, Hillberg O. Value of s-ACE, BAL lymphocytosis, and CD4+/CD8+ and CD103+/CD4+/CD4+ T-cell ratios in diagnosis of sarcoidosis. *Eur Respir J* 2012;39:1037-9.
16. Su D, Shen M, Li X, Sun L. Roles of $\gamma\delta$ T Cells in the pathogenesis of autoimmune diseases. *Clin Dev Immunol* 2013;2013:985753.
17. Lee AJ, Kim SG, Chae HD, Lee GH, Shin IH. $\gamma\delta$ T cells are increased in the peripheral blood of patients with gastric cancer. *Clin Chim Acta* 2012;413:1495-9.
18. Bakir HY, Tomiyama-Miyaji C, Watanabe H, Nagura T, Kawamura T, Sekikawa H, et al. Reasons why DBA/2 mice are resistant to malarial

- infection: expansion of CD3int B220+ gammadelta T cells with double-negative CD4- CD8- phenotype in the liver. *Immunology* 2006;117:127-35.
19. Liang Q, Jiao Y, Zhang T, Wang R, Li W, Zhang H, et al. Double Negative (DN) [CD3(+)CD4(-)CD8(-)] T cells correlate with disease progression during HIV infection. *Immunol Invest* 2013;42:431-7.
 20. D'Acquisto F and Crompton T. CD3+CD4-CD8- (double negative) T cells: saviours or villains of the immune response? *Biochem Pharmacol* 2011;82:333-40.
 21. Mixer PF, Russell JQ, Morrisette GJ, Charland C, Aleman-Hoey D, Budd RC. A model for the origin of TCR-alphabeta+ CD4-CD8- B220+ cells based on high affinity TCR signals. *J Immunol* 1999;162:5747-56.
 22. Fisher GH, Rosenberg FJ, Straus SE, Dale JK, Middleton IA, Lin AY, et al. Dominant interfering Fas gene mutations impair apoptosis in a human autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Cell* 1995;81:935-46.
 23. Ciszak L, Pawlak E, Kosmaczewska A, Potoczek S, Frydecka I. Alterations in the expression of signal-transducing CD3 zeta chain in T cells from patients with chronic inflammatory/autoimmune diseases. *Arch Immunol Ther Exp* 2007;55:373-86.
 24. Krishnan S, Farber DL, Tsokos GC. T cell rewiring in differentiation and disease. *J Immunol* 2003;171:3325-31.