

# Trimethoprim/Sulfamethoxazole 치료력이 없는 환자에서 발생한 Trimethoprim/Sulfamethoxazole 내성 *Pneumocystis jirovecii* 폐렴 1예

## A Case of Pneumonia Caused by *Pneumocystis jirovecii* Resistant to Trimethoprim/Sulfamethoxazole in the Absence of Previous Drug Exposure

안아리 · 장정현 · 성홍섭 · 김미나

Ari Ahn, M.D., Jeonghyun Chang, M.D., Heungsung Sung, M.D., Mi-Na Kim, M.D.

울산의대 서울아산병원 진단검사의학과

Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center and University of Ulsan College of Medicine, Seoul, Korea

*Pneumocystis jirovecii* pneumonia is a common opportunistic infection seen in patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection. Dihydropteroate synthase (DHPS) is a target of sulfa drugs, and mutations in *DHPS* gene are associated with failure in treatment and prophylaxis of *P. jirovecii* infections in HIV-infected patients. Here, we report a case of a patient with *P. jirovecii* infection, harboring *DHPS* gene mutations, who had not been previously treated with trimethoprim/sulfamethoxazole (TMP/SMX). A 50-yr-old man was admitted to the hospital with symptoms such as fever, cough, sputum, and sore throat. Chest computed tomography scanning revealed diffuse ground glass opacity in both the lungs, and the patient was diagnosed as having HIV infection with a CD4+ T cell count of 22/μL. Immunohistochemical test results were positive for *P. jirovecii*. He was treated with TMP/SMX; however, his symptoms and laboratory findings did not improve. The treatment was changed to clindamycin and primaquine, and his symptoms improved after 3 days. Molecular testing of the sample for the detection of *DHPS* gene mutations and the typing of mitochondrial large subunit rRNA (*mtlsurRNA*) revealed *DHPS* gene mutations at codon 55 and 57, respectively, and the case had type 3 *mtlsurRNA*. This case study illustrates that *DHPS* mutation test results can be positive even in patients without previous exposure to TMP/SMX.

**Key Words:** *Pneumocystis jirovecii*, Dihydropteroate synthase, HIV

## 서론

폐포자충(*Pneumocystis jirovecii*)은 원충(protozoan)이라고 알려져 있으나 뒤늦게 분자 연구를 통해 진균으로 밝혀진 기회 감염균으로 후천면역결핍증후군 환자에서 가장 빈번하게 기회 감염을 일으키는 원인균이다[1]. 폐포자충은 과거에 *Pneumocystis carinii*로 불리다가 사람과 동물에서 분리되는 *Pneumocystis*를 구분하기 위해 1976년에 처음으로 *P. jirovecii*가 제안되었다[2]. 미국 질병관리본부(U.S. Centers for Disease Control and Prevention)에서는 폐포자충으로 인한 폐렴의 치료와 예방에 trimethoprim/sulfamethoxazole (TMP/SMX)을 일차 약제로 추천하고 있다[3]. 1997년 Lane 등[4]에 의해 SMX 등의 설파 계열 약제의 표적이 되는 dihydropteroate synthase gene (*DHPS*)의 변이가 보고되었고, 설파 계열 약제 내성과의 연관성이 제기되었다. *DHPS* 4개 유전형 중 165번째와 171번째 뉴클레오타이드 모두 변이가 있을 경우 설파 계열 약제에 내성을 나타낸다고 알려져 있다[5]. 이후 *DHPS*의 55번째와 57번째 코돈에서의 비동의 변이(nonsynonymous mutation)가 폐포자충 폐렴 치료의 일차 치료제 실패의 원인이 된다고 알려졌다. 최근 폐포자충 폐렴에서 TMP/SMX에 내성이 생기는 경우가 증가하고 있으며 이 경우 clindamycin과 primaquine을 대체 약제로 사용하면 효과적이라는 연구가 있다[6, 7]. 현재 보고된 TMP/SMX 내성 폐포자충 감염 사례는 대부분 해당 약제에 대한 노출력이 있는 경

우키는 원인균이다[1]. 폐포자충은 과거에 *Pneumocystis carinii*로 불리다가 사람과 동물에서 분리되는 *Pneumocystis*를 구분하기 위해 1976년에 처음으로 *P. jirovecii*가 제안되었다[2]. 미국 질병관리본부(U.S. Centers for Disease Control and Prevention)에서는 폐포자충으로 인한 폐렴의 치료와 예방에 trimethoprim/sulfamethoxazole (TMP/SMX)을 일차 약제로 추천하고 있다[3]. 1997년 Lane 등[4]에 의해 SMX 등의 설파 계열 약제의 표적이 되는 dihydropteroate synthase gene (*DHPS*)의 변이가 보고되었고, 설파 계열 약제 내성과의 연관성이 제기되었다. *DHPS* 4개 유전형 중 165번째와 171번째 뉴클레오타이드 모두 변이가 있을 경우 설파 계열 약제에 내성을 나타낸다고 알려져 있다[5]. 이후 *DHPS*의 55번째와 57번째 코돈에서의 비동의 변이(nonsynonymous mutation)가 폐포자충 폐렴 치료의 일차 치료제 실패의 원인이 된다고 알려졌다. 최근 폐포자충 폐렴에서 TMP/SMX에 내성이 생기는 경우가 증가하고 있으며 이 경우 clindamycin과 primaquine을 대체 약제로 사용하면 효과적이라는 연구가 있다[6, 7]. 현재 보고된 TMP/SMX 내성 폐포자충 감염 사례는 대부분 해당 약제에 대한 노출력이 있는 경

**Corresponding author:** Heungsung Sung

Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center and University of Ulsan College of Medicine, 88 Olympic-ro 43-gil, Songpa-gu, Seoul 05505, Korea  
Tel: +82-2-3010-4499, FAX: +82-2-478-0884, E-mail: sung@amc.seoul.kr

**Co-corresponding author:** Jeonghyun Chang

Department of Laboratory Medicine, Asan Medical Center and University of Ulsan College of Medicine, 88 Olympic-ro 43-gil, Songpa-gu, Seoul 05505, Korea  
Tel: +82-2-3010-0750, Fax: +82-2-478-0884, E-mail: azacsss@naver.com

Received: May 1, 2016

Revision received: May 19, 2016

Accepted: May 21, 2016

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

© 2016, 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/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

우이고, 한국에서도 TMP/SMX 노출력이 있는 환자에서 *DHPS* 유전자 변이가 보고된 예가 1예 있었다[8]. 저자들은 국내에서 처음으로 TMP/SMX에 대한 노출력이 없는 사람면역결핍바이러스 감염 환자에서 발생한 TMP/SMX 내성 폐포자충 폐렴 증례를 보고하고자 한다.

## 증 례

50세 남자 환자가 4일 전부터 시작된 발열을 주소로 응급실에 내원하였다. 이 환자의 직업은 의료기기 도매상으로 수 년 전부터 설염(glossitis)으로 타원 이비인후과 외래에서 추적 관찰하고 있었다. 내원 2주 전부터는 아구창이 생겨서 니스타틴 가글로 치료하고 있었다. 내원 10일 전부터 발열과 기침, 가래, 인후통 등의 호흡기 증상이 동반되어 타원 응급실에 방문하였다. 내원 당시 시행한 흉부 컴퓨터단층촬영술에서 양측 폐 전반에 걸쳐 간유리 음영(ground glass opacity)이 보여 비정형 폐렴이 의심되었다. 환자는 해당 병원에 입원하여 ceftriaxone과 clarithromycin을 4일 투여받았으나 증상 호전이 없어서 폐포자충에 의한 비정형 폐렴 의심 하에 입원 5 일째부터는 TMP/SMX를 추가하여 치료하였다(Fig. 1). 총 6일 간의 약물 치료 후에도 환자의 임상 증상은 호전되지 않았다. 기관지 내시경 및 생검 등을 통한 정확한 진단 및 치료를 위해 타원에서 치료한 지 6일 되던 날 본원 응급실로 전원되었다. 내원 당시 시행한 말초혈액검사에서 백혈구 수  $3,500/\mu\text{L}$ , 헤모글로빈  $10.4\text{ g/dL}$ , 혈소

판 수  $269,000/\mu\text{L}$ 로 경증의 백혈구감소증과 빈혈 소견이 있었다. 환자는 내원 이튿날 기관지 내시경을 시행받았고 항-폐포자충 단클론 마우스 항체와 EnVision/HRP 키트(DAKO Corp., Carpinteria, Calif., USA)를 이용한 기관지폐포세척액의 폐포자충 면역화학염색에서 양성으로 확인되었다(Fig. 2). 의료진은 환자의 발열과 호흡기 증상을 포함한 임상 증상과 더불어 폐포자충 면역화학염색 양성 결과로 폐포자충에 의한 폐렴으로 진단하였다. 이어서 실시한 사람면역결핍바이러스(HIV) ELISA 검사에서 양성으로 확인되었고, 이후 웨스턴 블롯 확진검사에서도 마찬가지로 양성으로 나타났다. HIV RNA 정량검사 결과는  $1.5 \times 10^5\text{ IU/mL}$ 이었다. 림프구 아형 검사에서는 CD4+ T 세포의 비율이 7.2% (참고치, 24-55%), CD4+ T 세포 수는  $22/\mu\text{L}$  (참고치,  $338-1,134/\mu\text{L}$ )였다. RPR card로 실시한 매독 검사 결과 양성이었다. 의료진은 환자의 폐포자충에 의한 폐렴 치료를 위해 내원 전부터 사용하던 TMP/SMX으로 지속적으로 치료하면서 매독 치료를 위해 벤자틴 페니실린 G 240만 단위를 1주일 간격으로 3회 근육주사하기로 계획하였고, 사람면역결핍바이러스 치료를 위해 항레트로바이러스제 투약을 시작하였다.

14일 동안의 TMP/SMX 치료에도 불구하고 환자의 임상 증상은 호전되지 않았다. 의료진은 이를 일차약제 치료 실패로 판단하여 환자의 폐포자충 폐렴 치료 약제를 clindamycin과 primaquine으로 변경하였다. 환자의 치료 약제를 바꾼 후 임상 증상이 호전되었고 흉부 엑스선 촬영에서도 정상 소견을 보였다. 환자는 입원 22일 되던 날 퇴원하였고, 현재 항레트로바이러스제 치료를 지속하며

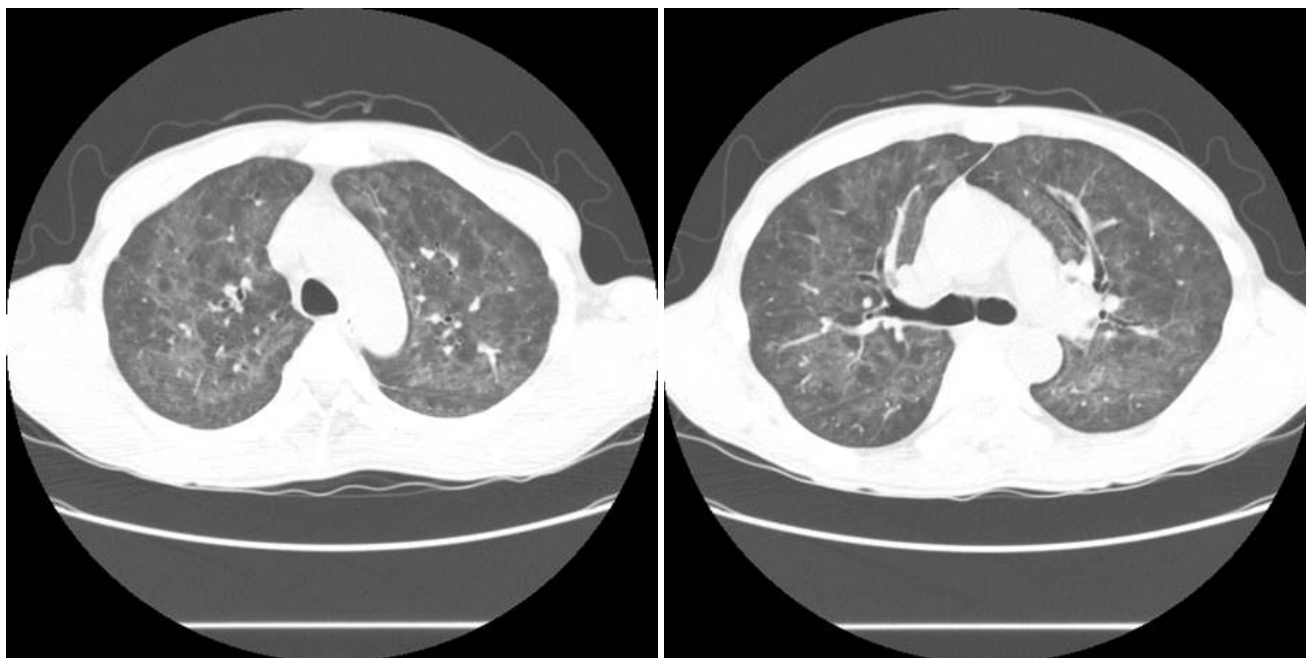


Fig. 1. Initial chest computed tomography reveals diffuse ill-defined ground glass opacities in both lungs, which indicates atypical pneumonia caused by cytomegalovirus or *Pneumocystis*.

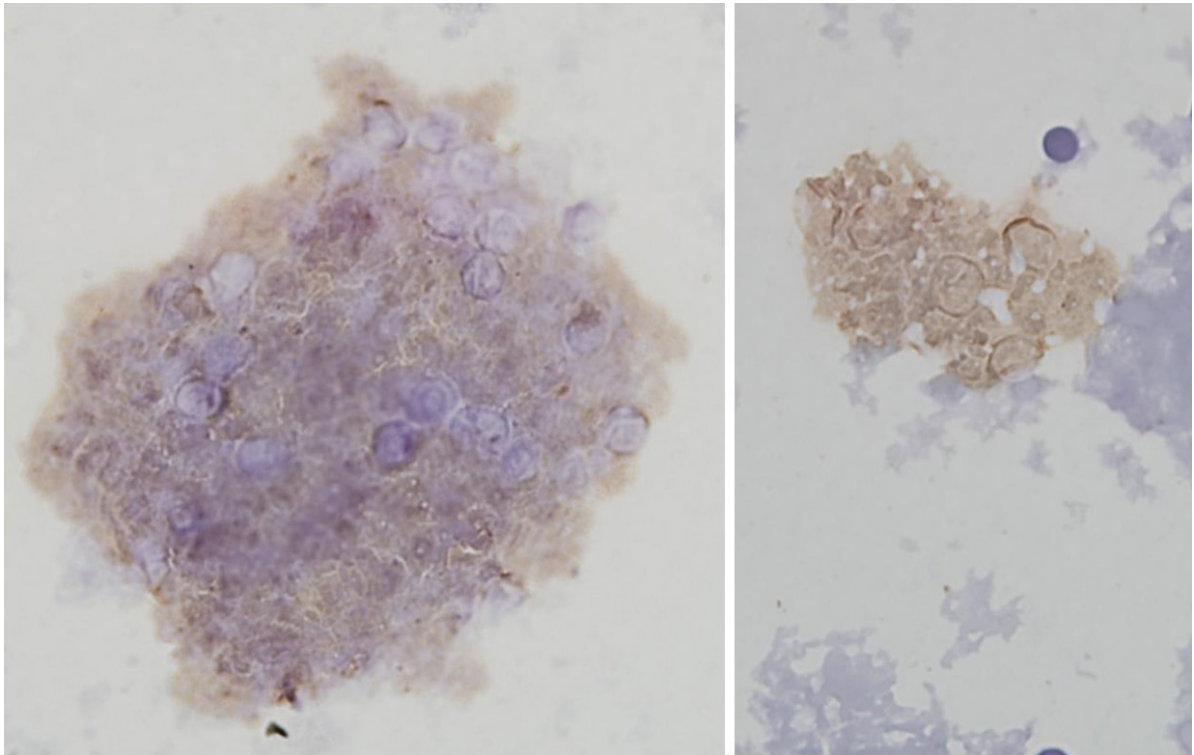


Fig. 2. Immunohistochemical stain of organism clusters from bronchoalveolar lavage using *Pneumocystis jirovecii* Clone 3F6 (DAKO Corp., Carpinteria, Calif., USA) (×400).

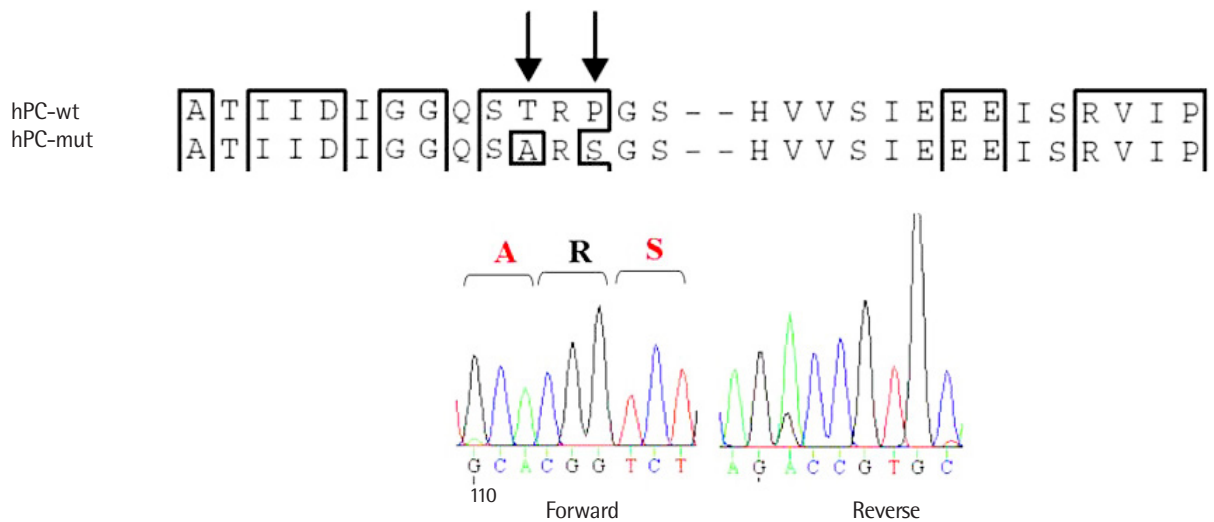


Fig. 3. *DHPS* mutation study of the patient shows synonymous mutation of Thr55Ala and Pro57Ser. The electropherogram indicates there are alanine and serine in 55th and 57th codon, respectively, instead of threonine and proline in wild type.

통원 치료하는 중으로 퇴원 후 4개월 후 검사에서 HIV RNA 정량 검사 결과 131 IU/mL 미만으로 유지되고 있었다.

환자의 일차약제 실패의 원인이 TMP/SMX 약제 내성 때문이었는지를 알기 위해 진단 당시 기관지폐포세척액 검체로 *DHPS* 유전자의 염기순서를 분석하였다. *DHPS* 유전자 부위의 증폭은 이중

중합효소연쇄반응 사용하였으며 첫 번째 반응에서의 시발체는 F1 (5'-CCT GGT ATT AAA CCA GTT TTG CC-3')와 B45 (5'-CAA TTT AAT AAA TTT CTT TCC AAA TAG CAT C-3')를 사용했고, 두 번째 반응에서의 시발체는 AHUM (5'-GCG CCT ACA CAT ATT ATG GCC ATT TTA AAT C-3')과 BN (5'-GGA ACT TTC AAC TTG

GCA ACC AC-3')을 사용하였고 두 번째 시발체로 염기서열분석을 실시하였다[9]. 환자의 *P. jirovecii* mitochondrial large subunit rRNA (*mtlsurRNA*) 유전형 또한 기존 참고문헌에서 제시한 방법을 따랐으며 이중중합효소연쇄반응을 이용하였다. 일차 반응을 위한 시발체는 PAZ102E (5'-GAT GGC TCT TTC CAA GCC CA-3')와 PAZ102H (5'-GTG TAC GTT GCA AAG TAC TC-3')로 일차 반응을 통해 사용하여 346 bp 크기의 생산물을 증폭하였으며, 이차 반응을 위한 시발체는 PAZ102X (5'-GTA AAA TAC AAA TCG GAC TAG G-3')와 PAZ102Y (5'-TCA CTT AAT ATT AAT TGG GGA GC-3')로 이차 반응으로 267 bp 크기의 생산물을 증폭했고 염기서열분석을 실시하였다[9]. 환자의 폐포자충은 *mtlsurRNA* type 3에 해당했고, *DHPS* 유전자 돌연변이 검사에서는 55번째 코돈이 트레오닌에서 알라닌으로 치환되었고, 57번째 코돈이 프롤린에서 세린으로 치환되었다(Fig. 3).

## 고 찰

폐포자충은 1940년대부터 사람의 질병과 관련이 있다고 여겨졌으며 2차 세계대전 이후에 미숙아와 신생아에서 간질성 형질세포 폐렴의 원인이 되었다[10]. 또한 면역이 저하된 사람에게서 산발적으로 폐렴을 일으키던 폐포자충은 1980년대 이후 사람면역결핍바이러스 감염이 급증하면서 사람면역결핍바이러스 감염 환자에서 폐렴의 주 원인이 되었다[11]. 폐포자충에 의한 폐렴은 사람면역결핍바이러스에 감염된 환자에서 잘 발생하며 CD4+ T 세포의 수가 200/μL 미만일 경우 생명을 위협하는 가장 흔한 위험이 되고, 현재 폐포자충에 의한 폐렴은 사람면역결핍바이러스 감염 환자의 질병과 사망의 주요한 원인이다[12].

폐포자충 폐렴에 대한 치료와 예방에는 TMP/SMX가 일차 약제이며 TMP/SMX에 의한 적극적인 화학 예방 요법으로 사람면역결핍바이러스 감염 환자의 폐포자충 폐렴 발생률이 감소하는 추세이다[3, 7]. 하지만 1992년에 처음으로 TMP/SMX과 dapsone의 표적 유전자 돌연변이 생김과 함께 설파계열 약물인 SMX에 내성이 유발되어 폐포자충 폐렴의 일차치료 실패의 원인이 될 수 있다고 알려졌다. 이러한 변이는 TMP/SMX에 노출력이 있는 군에서 주로 나타난다고 보고되었다. 변이 발생 가능성은 약제에 12개월 이상 노출되었을 경우 상대 위험도 1.16으로 유의하게 증가하였고, 1개월의 약제 노출력 증가당 상대 위험도는 1.06으로 발생률이 유의하게 증가하였다[13]. TMP/SMX 외에도 TMP/dapsone 혹은 clindamycin/primaquine 병합요법이 대체 약제로 쓰일 수 있는데 이 세 약제들 간에 치료 성적에 차이가 없다는 보고가 있다[14]. 그러므로 일주일 동안의 TMP/SMX 치료에도 반응이 없는 일차 치료 실패의 경우에는 *DHPS* 유

전자 돌연변이를 의심하여 대체 약제를 사용해야 한다.

이번 사례의 경우 폐포자충 감염과 사람면역결핍바이러스 진단을 동시에 받은 경우로, 이전에 TMP/SMX 약제 노출력을 확인할 수 없었다. 비정형 폐렴을 의심한 직후부터 TMP/SMX를 사용한 것이 확인 가능한 최초의 약제 노출이었다. 따라서 이 환자에서는 TMP/SMX 노출에 대한 선택 압력에 의한 *DHPS* 내성 획득 가능성은 떨어진다. 2010년 Hauser 등[15]은 폐포자충 돌연변이를 세 가지 분류로 나누어 55번 코돈 하나에서만 돌연변이가 있는 경우(M1), 57번 코돈 하나에서만 돌연변이가 있는 경우(M2), 두 위치 모두에 돌연변이가 있는 경우(M3)로 지역에 따른 비율 차이가 있는지 조사하였다. 그 결과 지역에 따라 *DHPS* 돌연변이를 가지는 돌연변이 양성 폐포자충의 비율이 다른 것이 확인되었고 돌연변이가 있는 경우에는 M1, M2, M3 세 가지 돌연변이의 구성 비율도 지역에 따라 차이가 있었다. 또한 이 연구에서는 폐포자충 감염과 사람면역결핍바이러스 감염 진단을 동시에 받은 44명의 환자 중 20.5%에 해당하는 9명에서 본 사례에서처럼 *DHPS* 돌연변이가 양성이었다. 이 연구에서는 지역에 따라 *DHPS* 돌연변이의 역학 차이가 나타나는 이유는 화학 예방 요법의 차이가 아니라 사람 간 전파가 한 도시 내에서 일어나기 때문이라고 하였다. 2000년 Beard 등[16]은 *DHPS* 돌연변이뿐 아니라 *mtlsurRNA* 유형도 지역에 따른 차이를 보이는 것을 확인하였고 이 또한 인접 지역 내에서 사람 간의 전파가 발생하기 때문이라고 주장하였다. 국내에서 분리되는 폐포자충의 TMP/SMX 내성과 연관된 *DHPS* 유전자의 돌연변이는 매우 드물다[17]. 따라서 이 증례에서 관찰된 약제 내성 *DHPS* 유전자 변이는 사람면역결핍바이러스 감염 환자들에서 *DHPS* 유전자 변이를 가진 폐포자충의 사람 간 전파를 시사한다.

이 증례에서처럼 일차 약제인 TMP/SMX 노출력이 없는 환자에서도 *DHPS* 유전자 변이 폐포자충의 사람 간 전파가 있을 수 있다는 점을 유의해야겠다.

## 요 약

폐포자충은 사람면역결핍바이러스 감염 환자에서 흔한 기회감염균이다. *DHPS*는 설파계열 약물의 표적이 되는 부위로 *DHPS* 유전자의 돌연변이는 치료와 예방 실패와 연관 있다. 저자들은 설파계열 약물에 치료받은 경험이 없는 환자에서 *DHPS* 유전자 돌연변이가 있었던 폐포자충 감염 사례를 보고하고자 한다. 50세 남자가 발열, 기침, 가래, 인후통을 호소하여 내원하였다. 흉부 컴퓨터 단층촬영술에서 양측 폐 전반에 걸쳐 간유리 음영이 보였고 환자는 사람면역결핍바이러스에 감염되어 있었으며 CD4+ T 세포 수는 22/μL이었다. 면역조직화학염색에서 폐포자충이 양성이었다. 환자는 TMP/SMX로 치료받았으나 증상의 호전이 없어서 clindamycin

과 primaquine으로 치료 약제를 바꾼 후에 증상이 호전되었다. 분자 진단에서 *mtlsurRNA* 유형3이었고 *DHPS* 유전자 돌연변이가 55번째와 57번째 코돈에서 모두 양성이었다. 이 사례에서는 *DHPS* 유전자 돌연변이가 약제 노출력이 없어도 발생할 수 있기 때문에 환자를 치료할 때 유의해야 함을 시사한다.

## 감사의 글

이 연구는 (재)바이오나노헬스가드연구단 연구비(2핵심 5세부) 지원에 의해 이루어졌음(Grant Number H-GUARD-ERND2-5).

## REFERENCES

- Edman JC, Kovacs JA, Masur H, Santi DV, Elwood HJ, Sogin ML. Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of the fungi. *Nature* 1988;334:519-22.
- Stringer JR, Beard CB, Miller RF, Wakefield AE. A new name (*Pneumocystis jirovecii*) for *Pneumocystis* from humans. *Emerg Infect Dis* 2002;8:891-6.
- Kaplan JE, Benson C, Holmes KK, Brooks JT, Pau A, Masur H, et al. Guidelines for prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *MMWR Recomm Rep* 2009;58:1-207; quiz CE1-4.
- Lane BR., Ast JC, Hossler PA, Mindell DP, Bartlett MS, Smith JW, et al. Dihydropteroate synthase polymorphisms in *Pneumocystis carinii*. *J Infect Dis* 1997;175:482-5.
- Volpe F, Dyer M, Scaife JG, Darby G, Stammers DK, Delves CJ. The multifunctional folic acid synthesis *fas* gene of *Pneumocystis carinii* appears to encode dihydropteroate synthase and hydroxymethyldihydropterin pyrophosphokinase. *Gene* 1992;112:213-8.
- Walker DJ and Meshnick SR. Drug resistance in *Pneumocystis carinii*: an emerging problem. *Drug Resist Updat* 1998;1:201-4.
- Bellamy RJ. HIV: treating *Pneumocystis* pneumonia (PCP). *BMJ Clin Evid* 2008; 2008.
- Lee SM, Cho YK, Sung YM, Chung DH, Jeong SH, Park JW, et al. A case of pneumonia caused by *Pneumocystis jirovecii* resistant to trimethoprim-sulfamethoxazole. *Korean J Parasitol* 2015;53:321-7.
- Melanie TU. *Pneumocystis*. In: Versalovic J, ed. *Manual of clinical microbiology*. 10th ed. Washington, D.C.: ASM Press, 2011.
- Gajdusek DC and Feinberg J. *Pneumocystis carinii*; etiologic agent of interstitial plasma cell pneumonia of premature and young infants. *Pediatrics* 1957;19:543-65.
- Wilkin A and Feinberg J. *Pneumocystis carinii* pneumonia: a clinical review. *Am Fam Physician* 1999;60:1699-708, 1713-4.
- Fisk DT, Meshnick S, Kazanjian PH. *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients in the developing world who have acquired immunodeficiency syndrome. *Clin Infect Dis* 2003;36:70-8.
- Kazanjian P, Locke AB, Hossler PA, Lane BR, Bartlett MS, Smith JW, et al. *Pneumocystis carinii* mutations associated with sulfa and sulfone prophylaxis failures in AIDS patients. *AIDS* 1998;12:873-8.
- Safrin S, Finkelstein DM, Feinberg J, Frame P, Simpson G, Wu A, et al. Comparison of three regimens for treatment of mild to moderate *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with AIDS. A double-blind, randomized, trial of oral trimethoprim-sulfamethoxazole, dapsone-trimethoprim, and clindamycin-primaquine. ACTG 108 Study Group. *Ann Intern Med* 1996;124:792-802.
- Hauser PM, Nahimana A, Taffe P, Weber R, Francioli P, Bille J, et al. Interhuman transmission as a potential key parameter for geographical variation in the prevalence of *Pneumocystis jirovecii* dihydropteroate synthase mutations. *Clin Infect Dis* 2010;51:e28-33.
- Beard CB, Carter JL, Keely SP, Huang L, Pieniazek NJ, Moura IN, et al. Genetic variation in *Pneumocystis carinii* isolates from different geographic regions: implications for transmission. *Emerg Infect Dis* 2000;6:265-72.
- Kim T, Lee SO, Hong HL, Lee JY, Kim SH, Choi SH, et al. Clinical characteristics of hospital-onset *Pneumocystis* pneumonia and genotypes of *Pneumocystis jirovecii* in a single tertiary centre in Korea. *BMC Infect Dis* 2015;15:102.