

□ 원 저 □

결핵성 흉막염 환자에 있어서 효소결합 면역분석법으로 측정된 Purified-Protein-Derivative와 Lipoarabinomannan-B에 대한 Immunoglobulin G 항체의 진단적 가치에 관한 연구

인하대학교 의과대학 내과학교실, 임상병리학교실, * 연세대학교 의과대학 미생물학교실**

문태훈 · 조철호 · 광승민 · 김진주* · 조상래**

= Abstract =

Immunoglobulin G Antibodies to Purified-Protein-Derivative and Lipoarabinomannan-B by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay in the Diagnosis of Tuberculous Pleural Effusion

Tai Hoon Moon, M.D., Chul Ho Cho, M.D., Seung Min Kwak, M.D.,
Jin Ju Kim, M.D.* and Sang Nae Cho, Ph.D.**

Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, * Inha University College of Medicine, Sunghnam, Korea
Department of Microbiology, ** Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Considering that both humoral and cell mediated immunities play an important role for human tuberculosis infection, enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) measurement of immunoglobulin G (IgG) antibody to mycobacterial antigens can be used for the serologic diagnosis of tuberculous pleural effusion.

Method: We measured absorbance values of IgG antibodies to purified-protein-derivative (PPD) and lipoarabinomannan-B (LAM-B) in the pleural fluid (PF) and the serum in 40 tuberculous (TPE) and 19 nontuberculous pleural effusions (NTPE).

Results:

- 1) The IgG antibodies to PPD and LAM-B were significantly ($P < 0.0005$) higher in the PF and the serum of TPE compared to NTPE.
- 2) The IgG antibodies to PPD and LAM-B in the serum were higher than that in PF.
- 3) Significant correlations were found between pleural and serum IgG antibodies to PPD and LAM-B.
- 4) With a cutoff value for IgG antibody to PPD in the PF of 0.091, sensitivity was 55.0% and specificity 94.7% in the diagnosis of TPE.
- 5) With a cutoff value for IgG antibody to LAM-B in the PF of 0.337, sensitivity was 50.0%

본 논문의 요지는 1994년도 제 79차 대한결핵 및 호흡기학회 추계학술대회에서 발표하였음.

and specificity 94.7% in the diagnosis of TPE.

6) The seropositive rates in TPE were not related to PPD skin test status, the amount of PF and coexisting active pulmonary tuberculosis.

Conclusion: The assay of IgG antibodies to PPD and LAM-B might be useful for the diagnosis of TPE. Our study suggests the mechanism of passive transfer of IgG antibodies to PPD and LAM-B from the serum to the PF through pleural tissue.

Key Words: Tuberculous pleural effusion, PPD, LAM-B, ELISA

서 론

흉막질환을 진단하고 그 기전을 이해하기 위하여 각종 면역학적 지표들에 대한 연구가 시행되어 왔으며 특히 결핵성 흉막염에서는 흉막강의 국소적인 세포성 면역이 항진되며 세포성 면역 활성도를 반영하는 여러 지표들이 증가^{1~10)}한다고 알려져 왔다. 결핵균 항원에 대한 항체를 측정하는 혈청학적 진단법은 Koch가 결핵균을 발견한지 16년 만인 1898년 Arloing에 의해 처음 시도¹¹⁾되었으며, 1976년 Nassau¹²⁾ 이후로 효소결합 면역분석법을 이용한 연구가 많이 발표되었다.

purified-protein-derivative(이후 PPD로 약함)와 lipoarabinomannan-B(이후 LAM-B로 약함)는 결핵균 항원의 일종으로 결핵성 뇌막염^{13~16)}과 폐결핵^{17~28)}의 경우 이들에 대한 항체가 증가하여 진단에 도움을 줄수 있다고 보고되어 왔다. 이에 저자들은 결핵성 흉막염 환자에 있어서 효소결합 면역분석법으로 측정한 PPD와 LAM-B에 대한 immunoglobulin G(이후 IgG로 약함) 항체의 진단적 가치에 관하여 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1992년 5월부터 1994년 7월까지 인하대학교 인하병원에 입원한 흉막염 환자중 원인이 확인된 59예를 대상으로 하였다. 결핵성 흉막염군은 40예로서 흉막액과 흉막조직의 결핵균 배양 검사로 진단하거나 흉막생검시 전락성 육아종 또는 만성 육아종성 염증소견을 보인 경우로 진단하였고, 비결핵성 흉막염군은 19예가 포함

되었다(Table 1).

2. 방 법

1) 검체의 처리

각 군에서 입원초기에 혈액 및 흉막액을 5~10cc 채취하여 혈액은 실온에서 2,000 rpm으로 30분간 원심분리시킨 후 분리된 혈청을 -20℃ 냉장고에 보관하였다가 실험하기 직전 상온에서 용해시켜 사용하였으며, 흉막액은 원심분리없이 -20℃에 보관하였다가 사용하였다.

2) 항 원

PPD 항원은 Statens Seruminstitut(Copenhagen, Denmark)에서 구입하였고, LAM-B 항원은 결핵균에서 anion exchange와 gel filtration chromatography에 의해 순수 정제된 것을 P.J. Brennen(Colorado State University, Fort Collins, Colorado, USA)에 의해 공급받아 사용하였다.

Table 1. Classification and Characteristics of Patients

Classification	No	Age	Male:Female
TPE	40	38.1±17.2	2.1:1.0
confirmed by biopsy	37		
confirmed by AFB	10		
NTPE	19	53.8±16.1	1.1:1.0
Malignant effusion	6		
Parapneumonic effusion	4		
Empyema	3		
Hemothorax	2		
Parasite	2		
Transudate	2		

3) 효소결합 면역분석법

효소결합 면역분석법은 Voller등이 고안하고 조 등^{14,15)}에 의해 수정된 방법으로 다음과 같이 실시하였다. PPD 항원과 LAM-B 항원을 각각 10 μ g/ml와 0.2 μ g/ml가 되게 carbonate buffer(pH 9.6)에 희석한 후 U-bottom Micrititer^R plates(Dynatech Laboratories, Inc., Chantilly, Virginia, USA)에 well당 50 μ 씩 분주한 후에 37 $^{\circ}$ C에서 16~18시간 항원을 부착시켰다. 부착된 각 well을 0.05% Tween 20이 함유된 인산 완충 용액(phosphate buffered saline solution, pH 7.4, PBST)으로 세척한 후 PBST-0.5%(w/v) bovine serum albumin(BSA) 용액을 각 well에 100 μ 씩 넣은 후 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 항원이 부착되지 않은 부위를 blocking하였다. 그 후 well을 비운 다음 PBST-0.5%(w/v) normal goat serum(NGS) (Gibco Laboratories, Grand Island, New York, USA) 용액에 채취한 혈청을 1:300으로 희석하여 50 μ 씩 넣고, 37 $^{\circ}$ C에서 90분간 항원-항체반응을 진행시켰다. 다시 well을 세척한 후 PBST-0.5% NGS 용액에 1:5,000으로 희석된 affinity-purified peroxidase-conjugated goat anti-human IgG (Behring Diagnostics, Inc., San Diego, California, USA)를 50 μ /well씩 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 동안 반응시켰다. 다시 세척한 후 H₂O₂-O-phenylenediamine이 포함된 기질 용액을 50 μ /well씩 첨가하여 효소-기질 반응을 정지시킨 다음 photospectrometry를 이용하여 파장 490nm에서 흡광도를 측정하였다.

4) 결과 분석

각 환자는 효소결합 면역분석법으로 혈청 및 흉막액에서 PPD 항원과 LAM-B 항원에 대한 IgG 항체가를 측정하였다. 각 항원에 대한 항체 양성의 기준은 비결핵성 흉막염군의 평균치에 표준편차를 2배 더한 값으로 결정하였고 각 검사항목들에 대한 진단적 예민도(sensitivity), 특이도(specificity), 양성 예측치(positive predictive value), 음성 예측치(negative predictive value) 및 전체 정밀도(overall accuracy)를 계산하였다.

또한 흉막액 항체들이 흉막강 내에서 국소적으로 생성되었는지 혹은 흉막을 통해 혈액으로부터 유출되었는가를 알아보기 위해 흉막액/혈청 항체비를 계산하였고 흉막액 항체가와 혈청 항체가 사이의 상관관계를 알

아보았다. 마지막으로 결핵성 흉막염 환자의 흉막액 항체형성이 PPD 피부반응 결과, 흉막액의 양 또는 활동성 폐결핵 병발 여부에 따른 영향이 있는지 알아보았다. 흉막액의 양은 흉부 X-ray 소견에 따라 소량(흉격막의 반 이하를 차지할 때), 대량(한측폐의 반 이상을 차지할 때), 중등도(소량과 대량사이)로 분류하였고, PPD 피부반응 검사는 정제 튜베르쿨린 5TU를 전박 굴측부위에 피내주사하고 48~72시간 경과후 경결이 10mm 이상일 때 양성으로 판정하였다.

5) 통계 처리

각 측정치는 평균±표준편차로 나타내었고 통계학적 비교는 SAS 통계 패키지 program(SAS Institute Inc., USA)을 이용하여 Student unpaired t test, Pearson's correlation coefficient, Chi-squared test로 처리하였으며, p value 0.05 이하를 유의한 수준으로 간주하였다.

결 과

1. 결핵균 항원에 대한 항체가

혈청과 흉막액의 PPD 및 LAM-B에 대한 항체가는 결핵성 흉막염군에서 비결핵성 흉막염군에 비하여 유의하게 증가되어 있었다(Table 2). 흉막액/혈청 PPD 항체비와 흉막액/혈청 LAM-B 항체비는 1보다 작은 값을 보이면서 두 군간에 유의한 차이는 보이지 않았으며 흉막액/혈청 단백질비도 유의한 차이를 보이지 않았다.

2. 진단적 특성

혈청에서의 PPD 및 LAM-B에 대한 항체가의 양성

Table 2. Results of Laboratory Data

	TPE	NTPE	P value
Serum PPD	0.342 \pm 0.458	0.058 \pm 0.047	0.0001
Serum LAM-B	0.704 \pm 0.545	0.209 \pm 0.152	0.0001
Pleural PPD	0.274 \pm 0.416	0.036 \pm 0.027	0.0003
Pleural LAM-B	0.626 \pm 0.540	0.150 \pm 0.114	0.0001
P/S PPD	0.68 \pm 0.21	0.72 \pm 0.35	NS
P/S LAM-B	0.84 \pm 0.22	0.77 \pm 0.19	NS
P/S Portoein	0.75 \pm 0.06	0.66 \pm 0.22	NS

NS: not significant

P/S: Pleural/Serum

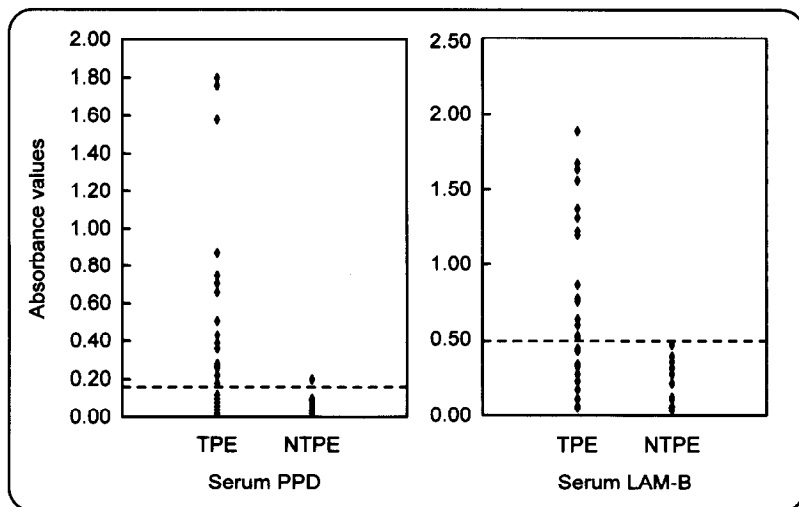


Fig. 1. IgG seroactivity to PPD & LAM-B in serum. Cutoff point of seropositivity was 0.151 for PPD and 0.512 for LAM-B.

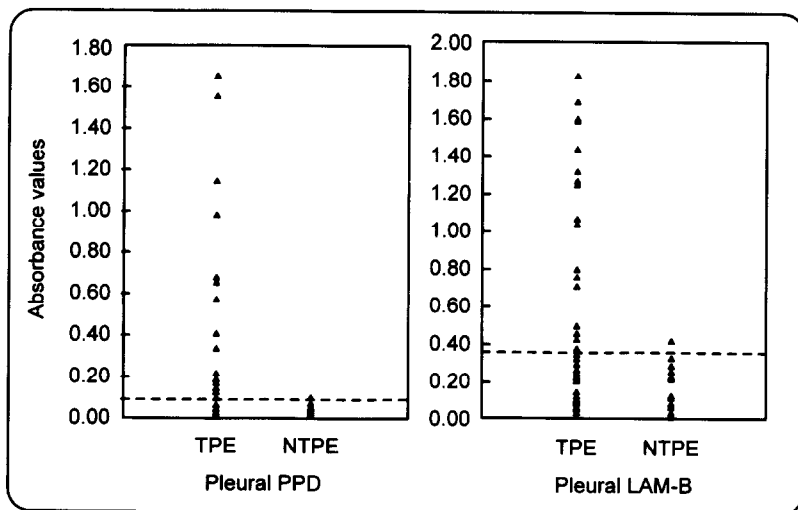


Fig. 2. IgG seroactivity to PPD & LAM-B in pleural fluid. Cutoff point of seropositivity was 0.091 for PPD and 0.377 for LAM-B.

기준은 각각 0.151과 0.512이었으며(Fig. 1), 흉막액에서의 양성기준은 각각 0.091과 0.377이었다(Fig. 2). 진단적 예민도는 혈청 PPD 항체가 47.5%, 혈청 LAM-B 항체가 57.5%, 흉막액 PPD 항체가 55.0%, 흉막액 LAM-B 항체가 50.0%로서 각 검사간에 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 3). 각 검사간의 특이도, 양성 예측치, 음성 예측치, 전체 정밀도에서도 유의한 차이를

보이지 않았다.

3. 흉막액 항체가와 혈청 항체가 사이의 상관관계

결핵성 흉막염군에서 흉막액 PPD 항체가와 혈청 PPD 항체가 사이에는 r value 0.9832, 흉막액 LAM-B 항체가와 혈청 LAM-B 항체가 사이에는 r value

Table 3. Diagnostic Test Characteristics

	Sen(%)	Spe(%)	(+)PV(%)	(-)PV(%)	OA(%)
Serum PPD	47.5	94.7	95.0	46.2	62.7
Serum LAM-B	57.5	100	100	52.8	71.2
Pleural PPD	55.0	94.7	95.7	50.0	67.8
Pleural LAM-B	50.0	94.7	95.2	47.4	64.4

Sen: sensitivity, Spe: specificity

(+)PV: positive predictive value,

(-)PV: negative predictive value

OA: overall accuracy

Table 4. Correlation Coefficient in TPE & NTPE

	r value	p value
In TPE		
Pleural PPD & Serum PPD	0.9832	0.0001
Pleural LAM-B & Serum LAM-B	0.9688	0.0001
In NTPE		
Pleural PPD & Serum PPD	0.6328	0.0036
Pleural LAM-B & Serum LAM-B	0.9367	0.0001

Table 5. Comparison of IgG Seroreactivity in Pleural Fluid between PPD Skin Test-Positive and -Negative TPE

PPD skin test	No	PPD(%)	LAM-B(%)
Positive	11	5(45.5)	7(63.6)
Negative	2	1(50.0)	1(50.0)
Total	13	6(46.2)	8(61.5)

Positive tuberculin skin test

-diameter of induration > 10mm after injection(5TU)

0.9688의 유의한 상관관계를 보이고 있다(Table 4).

4. 결핵성 흉막염 환자에서 PPD 피부반응 검사, 흉막액의 양, 활동성 폐결핵 병발에 따른 흉막액 항체가의 변화

결핵성 흉막염군중 13명에게 PPD 피부반응 검사를 시행하여 양성 11명, 음성 2명을 나타내었고 피부반응 양성환자의 경우 PPD 항체에 5예, LAM-B 항체에 7예

Table 6. Comparison of IgG Seroreactivity in Pleural Fluid According to the Amount of Pleural Fluid in TPE

Amount of pleural fluid	No	PPD(%)	LAM-B(%)
Minimal	12	7(58.3)	8(66.7)
Moderate	14	9(64.3)	7(50.0)
Massive	11	4(36.4)	3(27.3)
Total	37	20(54.1)	18(48.6)

minimal: less than half of hemidiaphragm

moderate: less than half of hemithorax

massive: more than half of hemithorax

Table 7. Comparison of IgG Seroreactivity in Pleural Fluid between Active Pulmonary Tuberculosis-Positive and -Negative TPE

Active pulmonary Tuberculosis	No	PPD(%)	LAM-B(%)
Positive	19	13(68.4)	11(57.9)
Negative	20	9(45.0)	9(45.0)
Total	39	22(56.4)	20(51.3)

가 양성을 나타내 의미있는 차이를 보이지 않았다(Table 5). 결핵성 흉막염군에서의 흉막액의 양은 소량이 12명, 중등도 14명, 대량이 11명 이었고, PPD 항체가는 각각 7예, 9예, 4예에서 양성을 나타내 의미있는 차이는 보이지 않았으며 LAM-B 항체가도 흉막액 양에 따른 차이를 보이지 않았다(Table 6). 결핵성 흉막염군에서 활동성 폐결핵을 동반한 환자는 19명 이었고 동반하지 않은 환자는 20명으로서 PPD 항체가는 각각 13예, 9예에서 양성을 나타내 의미있는 차이는 보이지 않았고, LAM-B 항체가도 활동성 폐결핵 동반에 따른 차이를 보이지 않았다(Table 7).

고 찰

결핵 질환의 확진은 체액분비물이나 조직에서 결핵균을 증명할 경우 가능하지만 소아나 병의 정도가 경미

하여 검체를 얻기 힘들거나 폐외 결핵인 경우 진단이 용이하지 않으며 결핵성 흉막염은 결핵균 배양검사로 20~25%, 흉막생검으로 60~80% 정도 확진이 가능²⁾하다고 한다. 최근 새로운 결핵 진단법이 많이 소개되어 BACTEC system(결핵균 배양을 조기에 감지할 수 있는 방사능 측정법), 핵산 탐침법, 결핵균 항원을 발견하는 면역학적 방법, 결핵균 항원에 대한 항체(주로 IgG)를 측정하는 혈청학적 방법, mycobacteriophage typing, 인체나 결핵균에서 만들어지는 생물학적 물질(ADA, tuberculostatic acid, species-specific mycolic acid 등)을 측정하는 방법등이 알려져 있다^{16,27)}.

결핵균 감염에 대한 인체 면역반응에 관하여 Bhatanger 등²⁹⁾은 세포성 면역과 체액성 면역이 역의 관계를 보인다고 하였고 Lenzini 등³⁰⁾은 심한 결핵감염에서는 세포성 면역계의 기능저하가 오는 반면, 항체가는 증가한다고 보고하였다. Tandon 등³¹⁾과 Ma 등³²⁾, 황 등¹⁷⁾은 PPD 항원과 항원 5를 이용한 연구에서 항체가와 폐결핵의 중증도 사이에는 상관관계를 보여 중증 폐결핵일수록 항체가가 높다고 하였다.

Shimokata 등³³⁾은 결핵성 흉막염 환자에서는 흉막액의 림프구 비율이 높고 그중에서도 T림프구가 말초혈액에 비해 증가되어 있으며, 이런 T림프구를 PPD에 반응시켰을 때 말초혈액의 T림프구보다 lymphokine의 생성율이 높으며 이러한 사실은 결핵성 흉막염 환자에서 흉막강내 국소적인 세포성 면역이 항진됨을 시사한다고 하였다. 이후 흉막염 환자를 대상으로 각종 면역학적 지표에 대해 많은 연구가 진행되어 결핵성 흉막염의 경우 국소적인 세포성 면역이 증가되어 있으며, soluble interleukin 2 수용체, ADA 및 interferon- γ 등은 세포성 면역의 활성도를 반영하는 지표로서 흉막액에서 유의하게 증가하여 결핵성 흉막염의 감별진단에 유용하게 이용^{1~10)}되고 있다.

결핵질환의 혈청학적 진단법은 Koch가 결핵균을 발견한 지 16년만인 1898년 Arloing¹¹⁾이 폐결핵 환자의 혈청으로 agglutination test를 처음 시도하였다. 1972년 Engvall과 Perlmann³⁴⁾이 ELISA를 처음 소개하였으며, 1976년 Naussau 등¹²⁾이 결핵진단에 효소결합 면역분석법을 이용하기 시작하였다. 효소결합 면역분석법은 여러 혈청학적 진단법 중에서 예민도와 신속성이 높으

며 동위원소 반감기에 따른 검사시간의 제약이 없으며 항체역가 측정시에 흡광도를 측정함으로써 객관적인 결과판정이 가능^{18,28)}하다. ELISA는 Ig class 각각에 대해 측정이 가능한 데 결핵환자 혈청내의 IgM은 비특이적이고 IgA는 특이적이지만 역가가 낮아 이용하기 어려운 반면 IgG 항체는 특이적이고 농도도 높아 결핵의 면역학적 진단에 주로 이용^{18,28,35)}되고 있다. 혈청학적 방법의 진단 기준치로는 대조군의 평균치에다 2배의 표준편차를 더한 값으로 정할 경우 진단 특이도가 97.7%로 알려져 있으며 대조군의 수가 많을수록 정확한 기준치를 정할 수 있다¹⁸⁾고 하였다. 진단법의 예민도는 채택된 측정법에 의해 좌우되며, 특이도는 사용한 항원에 의해 결정된다. 결핵균 항원에는 비정형 항산균과 교차반응을 나타내는 항원이 많으므로 결핵균에만 특이한 정제된 항원을 얻는 것이 무엇보다 중요하다. 1987년 Daniel과 Debanne 등¹⁸⁾은 ELISA를 이용한 결핵의 혈청학적 진단에 대해 정리보고를 하였는데 몇가지 종류의 항원(결핵균 배양액에서 얻은 정제되지 않은 항원, PPD, 정제 단백질항원인 항원 5와 6)을 이용하여 70~85%의 예민도와 다양한 특이도를 나타내었고 정제된 항원을 이용할수록 특이도가 높은 경향을 보였다.

PPD 항원은 결핵균을 배양한 후 정제하여 결핵감염 진단의 표준항원으로 널리 사용되고 있는 것으로 구성분상 3가지의 단백질 A, B, C와 2가지의 다당체 I, II로 이루어진 복합 당원^{14,15)}이다. 결핵성 뇌막염에서 PPD 항체가의 진단적 예민도는 59~70%, 특이도는 90%로 알려져 있으며^{13~15)}, 폐결핵 환자의 혈청 PPD 항체가의 진단적 예민도는 50~94%, 특이도는 85~98%로 보고^{17~20,22,25,28)}되어 있다. PPD 항체가는 치료 시작하면서 감소하기 시작하여 3년여에 걸쳐 감소^{18,25)}되며, 이전의 BCG 접종력이 PPD 항체가에 영향을 미치지 않는 것으로 보고^{17,18,25)}되었다.

본 연구에 이용된 LAM-B 항원은 genus Mycobacterium에 속하는 박테리아 세포벽의 주요성분으로서 이 항원의 다당류 측쇄는 mycobacterium species에 따라 다양하고 표면항원 특이도를 결정¹³⁾한다고 알려져 있다. LAM의 구조는 arabinose와 mannose의 반복되는 다당류 단위가 phosphatidyl inositol 단위에 연결되는 복잡한 당지질^{36,37)}으로서 대식세포의 mannose 수

용체와 LAM의 mannosyl 단위 사이에 수용체-리간드 작용³⁸⁾에 의해 대식세포에 포식되고 생물학적 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다. LAM은 대식세포에서 만들어지는 여러 cytokine(TNF, GM-CSF, IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10)의 생성을 유도³⁶⁾하여 결핵 감염 시 나타나는 발열, 체중감소, 조직괴사의 임상증상 및 ① IFN- γ 에 의한 대식세포 활성화를 억제, ② 결핵균의 증식을 조절하는 세포 매개성 면역을 억제, ③ 말초혈액 림프구의 항원에 대한 반응성을 감소, ④ 항원에 의한 T세포의 증식을 억제, ⑤ 고글로블린 혈증을 유도하는 등 면역 조절성 기능^{36,38~40)}을 담당한다고 보고되었다. 결핵성 뇌막염에서 뇌척수액 LAM 항체가의 진단적 예민도는 80~85%, 특이도는 96%로 알려져 있으며^{13~16)} 폐결핵 환자의 혈청 LAM 항체가의 진단적 예민도는 32~72.7%, 특이도는 91~100%이며^{21,23~25)} histoplasmosis, paracoccidioidomycosis 등의 진균류나 nocardiosis 등의 박테리아에서 교차반응이 나타날 수 있다고 보고^{13,21)}되었다.

결핵성 흉막염 진단에 있어서 혈청과 흉막액내 결핵균 항체에 대한 연구가 각각 보고되었다. Sada 등²⁴⁾은 혈청에서의 LAM 항체 측정으로 예민도 42.8%를 보고하였고, Daniel 등⁴¹⁾은 혈청에서 정원 항체인 TB-C-1에 대한 항체를 측정하여 예민도 57.1%, 특이도 75%를 보고하여 혈청에서의 결핵균 항체측정이 결핵성 흉막염 진단에 도움이 된다고 하였다. Murate 등⁴²⁾은 흉막액에서 직접 PPD 항체가를 측정하여 악성 흉막염과 유의한 차이를 보인다고 하였으나 Banchuin 등⁴³⁾은 두 군간에 유의한 차이가 없다고 보고하였다. 본 연구에서 혈청과 흉막액의 PPD 및 LAM-B 항체가는 결핵성 흉막염군에서 비결핵성 흉막염군에 비하여 유의하게 증가되어 있었으며 진단적 예민도는 47.5~57.5%, 특이도 94.7~100%로서 각 검사간에 유의한 차이는 보이지 않았다.

흉막액내 Ig이 증가하는 기전으로 첫째 국소적으로 흉막강에서 생성될 가능성과 둘째 전신적인 생성후에 흉막을 통해 유출될 가능성을 생각할 수 있다. 본 연구에서는 흉막액/혈청 항체비가 1보다 작으면서 흉막액 항체가와 혈청 항체가 사이에 유의한 상관관계를 보여 일차적으로 혈액내 항체가 증가한 후에 흉막강내로 유

출됨을 시사한다. Luetscher⁴⁴⁾는 흉막액내 단백질과 혈장 단백질은 동일한 전기영동 양상을 나타내고 각종 흉막질환에서 흉막액내 글로블린 분획이 혈액내 글로블린 분획보다 높은 경우는 발견할 수 없다고 하였고, Telvi 등⁴⁵⁾과 Shallenberger 등⁴⁶⁾은 흉막액의 단백질량은 혈장 단백질량보다 낮으며 면역 형광법으로 단백질을 보면 흉막조직의 세포안이 아닌 간질조직에서만 관찰된다고 하여 흉막액내 단백질은 국소적으로 만들어지는 것이 아니라 혈장 단백질이 간질조직을 통해 확산되어 생성되며 확산속도는 분자량에 반비례한다고 하였다. 따라서 결핵균 항원에 대한 체액성 면역반응은 국소적으로 일어나기 보다는 전신적으로 발생하며 혈장에서 증가된 항체가 흉막을 통해 확산되어 이차적으로 흉막액내 Ig이 증가하는 것으로 설명할 수 있을 것이다.

이미 전술한 바와 같이 폐결핵의 중증도와 결핵균 항체가 사이에 상관관계가 있다고 보고^{17,31,32)}되었으나, 본 연구에서는 결핵성 흉막염군에서 활동성 폐결핵 동반에 따른 항체가의 변화는 관찰되지 않아 결핵성 흉막염 자체가 항체가의 증가를 유도하는 것으로 생각된다. BCG 접종여부와 결핵균 항체가 사이에 연관성이 없음은 여러 연구에서 보고^{17,18,25)}되었으나, PPD 피부반응 결과에 따른 항체가의 변화에 대해서는 서로 다른 결과를 보고^{22,24,25,31,35)}하였는데 본 연구에서는 결핵성 흉막염군에서 PPD 피부반응 결과에 따른 항체가의 차이는 관찰되지 않았으며 흉막액의 양에 따른 차이도 관찰되지 않았다.

결론적으로 PPD와 LAM-B에 대한 IgG 측정은 결핵성 흉막염의 진단에 도움을 줄 것으로 사료된다. 본 연구는 진단당시에만 IgG를 측정한 것으로서 향후 IgG 추적조사를 통해 치료의 효과나 환자의 예후를 알고자 하는 연구가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

연구배경: 인체의 결핵균 감염에 대하여 체액성 면역와 세포 매개성 면역이 함께 관여하며 효소결합 면역 분석법으로 결핵균 항원에 대한 항체(IgG)를 측정하는 것은 결핵성 흉막염 진단법으로 이용할 수 있다.

방법: 1992년 5월부터 1994년 7월까지 인하대학교

인하병원에 흉막염으로 입원하였던 환자 중 원인이 확인된 결핵성 흉막염 환자 40예, 비결핵성 흉막염 환자 19예를 대상으로 하여 혈청 및 흉막액에서 PPD 항원과 LAM-B 항원에 대한 IgG 항체가의 함광도를 측정하였다.

결과:

1) 결핵성 흉막염군의 흉막액 및 혈청내 PPD와 LAM-B 항체가는 비결핵성 흉막염군보다 유의하게 높았다($p < 0.0005$)

2) 혈청내 PPD와 LAM-B 항체가는 흉막액내 항체가보다 높았다.

3) PPD와 LAM-B에 대한 흉막액 항체와 혈청 항체 간에는 의미있는 상관관계를 보였다.

4) 흉막액 PPD 항체의 결핵성 흉막염 진단기준을 0.091로 할 경우 진단적 예민도는 55.0%, 특이도는 94.7%를 나타내었다.

5) 흉막액 LAM-B 항체의 결핵성 흉막염 진단기준을 0.337로 할 경우 진단적 예민도는 50.0%, 특이도는 94.7%를 나타내었다.

5)결핵성 흉막염군의 진단 양성률은 PPD 피부반응 검사, 흉막액의 양, 활동성 폐결핵 동반여부 등에 의해 영향받지 않았다.

결론: PPD와 LAM-B에 대한 IgG 측정은 결핵성 흉막염의 진단에 도움을 줄 것으로 사료된다. 아울러 PPD와 LAM-B에 대한 IgG는 수동적으로 흉막조직을 통해 혈청에서 흉막액으로 이동함을 제시하고 있다.

참 고 문 헌

- 정기석, 정희순, 한성구, 심영수, 김건열, 한용철: 결핵성 흉막염의 세포면역학적 특성에 관한 연구. 결핵 및 호흡기질환 34:223, 1987
- 이장훈, 김성규, 안철민, 장상호, 손희영, 김기호: 흉막염환자에 있어서 흉막액 adenosine deaminase 활성도의 임상적 의의. 대한내과학회지 31:781, 1986
- 이장훈, 장상호, 이흥렬, 박승민, 장중현, 김병일, 천선희, 김세규, 장준, 김성규, 이원영: 흉막삼출 원인질환의 감별진단에 있어서 흉막액 adenosine deaminase 활성도 및 carcinoembryonic antigen 병행측정의 임상적 의의. 결핵 및 호흡기질환 40: 35, 1993
- Ocana I, Martinez-Vazquez JM, Segura RM, Fernandez-De-Sevilla T, Capdevila JA: Adenosine deaminase in pleural fluids. Chest 84:51, 1983
- 장상호, 장준, 손희영, 김성규, 김기호: 흉막염 adenosine deaminase 활성도의 진단적 가치에 관한 연구. 대한내과학회지 31:214, 1986
- 김종혁, 정복현, 문승환, 조호준, 이명구, 현인규, 정기석, 남송현, 류지소: 결핵성 흉막염에서 soluble interleukin-2R, interleukin-6 및 adenosine deaminase의 변화에 관한 연구. 대한내과학회지 44:147, 1993
- Baganha MF, Pego A, Lima MA, Gaspar EV, Pharm B, Cordeiro AR: Serum and pleural adenosine deaminase. Chest 97:605, 1990
- 임현옥, 함종렬, 심대석, 황영실: 결핵성 늑막삼출과 비결핵성 늑막삼출에서의 가용성 Interleukin-2 수용체의 농도 결핵 및 호흡기질환 41:135, 1994
- Ribera E, Ocana I, Martinez-Vazquez JM, Rosell M, Espanol T, Ruibal A: High level of interferon gamma in tuberculous pleural effusion. Chest 93:308, 1988
- 김현태, 김효석, 박준영, 안영수, 이상무, 어수택, 김용훈, 박춘식: 결핵성 흉막염에서 interferon-gamma, adenosine deaminase와 carcinoembryonic antigen의 진단적 가치. 대한내과학회지 46: 212, 1994
- Arloing S: Agglutination de bacille de la tuberculose vraie. Comptes Rendues de l'Academie de Sciences 126:1398, 1898
- Nassau E, Parson ER, Johnson GD: The detection of antibodies to M.tuberculosis by ELISA. Tubercle 57:67, 1976
- Park SC, Lee BI, Cho SN, Kim WJ, Lee BC, Kim SM, Kim JD: Diagnosis of tuberculous meningitis by detection of immunoglobulin G anti-

- bodies to purified protein derivative and lipoarabinomannan antigen in cerebrospinal fluid. *Tubercle and Lung Disease* **74**:317, 1993
- 14) 김원주, 김윤중, 박수철, 이병인, 윤경한, 조상래, 김주덕: 결핵성 뇌막염 진단에서 중합효소 연쇄반응법(PCR)과 효소결합 면역분석법(ELISA)의 비교연구. *대한신경과학회지* **10**:1, 1992
 - 15) 박수철, 김원주, 이병인, 이병철, 김승민, 조상래, 김주덕: 뇌척수액내 결핵균 항원 PPD와 LAM-B 항체가(IgG) 측정에 의한 결핵성 뇌막염 진단에 관한 연구. *대한신경과학회지* **8**:256, 1990
 - 16) Daniel TM: New approaches to the rapid diagnosis of tuberculous meningitis. *J Infect Dis* **155**: 599, 1987
 - 17) Hwang PH, Kim JS: PPD-specific IgG and IgG subclasses in the sera of pulmonary tuberculosis patients. *J Kor Med Sci* **8**:1, 1993
 - 18) Daniel TM, Debanne SM: The serodiagnosis of tuberculosis and other mycobacterial diseases by enzyme-linked immunosorbent assay. *Am Rev Respir Dis* **135**:1137, 1987
 - 19) Zeiss CR, Kalish SB, Erlich KS, Levitz D, Metzger E, Radin R, Phair JP: IgG antibody to PPD by ELISA in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* **130**:845, 1984
 - 20) Koshino T, Nishioka S, Fujimura M, Okafuji K, Kanamori K, Mori T, Matsuda T, Kitao T, Kondo K, Hayashi S: ELISA for IgG antibody to PPD of patients with pulmonary tuberculosis. *Kekkaku* **59**:621, 1984
 - 21) Sada E, Aguilar D, Torres M, Herrera T: Detection of lipoarabinomannan as a diagnostic test for tuberculosis. *J Clin Microbiol* **30**:2415, 1992
 - 22) Gupta AK, Jamil Z, Srivastava VK, Tandon A, Saxena KC: Antibodies to PPD in pulmonary tuberculosis and their correlation with PPD skin sensitivity. *Indian J Med Res* **78**:484, 1983
 - 23) Bothamley GH, Rudd R, Festenstein F, Ivanyi J: Clinical value of the measurement of Mycobacterium tuberculosis specific antibody in pulmonary tuberculosis. *Thorax* **47**:270, 1992
 - 24) Sada E, Brennan PJ, Herrera T, Torres M: Evaluation of lipoarabinomannan for the serological diagnosis of tuberculosis. *J Clin Microbiol* **28**:2587, 1990
 - 25) Kalish SB, Radin RC, Phair JP, Levitz D, Zeiss CR, Metzger E: Use of an ELISA technique in the differential diagnosis of active pulmonary tuberculosis in humans. *J Infect Dis* **147**:523, 1983
 - 26) Near KA, Lefford MJ: Use of serum antibody and lysozyme levels for diagnosis of leprosy and tuberculosis. *J Clin Microbiol* **30**:1105, 1992
 - 27) American thoracic society / Centers for disease control: Diagnostic standards and classification of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* **142**:725, 1990
 - 28) 신원식: 결핵진단의 면역학적 및 분자생물학적 방법. *결핵 및 호흡기질환* **39**:1, 1992
 - 29) Bhatnager R, Malaviyanan S, Rajgopalan P, Kumar R, Bharadwa J: Spectrum of immune response abnormalities in different clinical forms of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* **115**:207, 1977
 - 30) Lenzini L, Rottoli P, Rottoli L: The spectrum of human tuberculosis. *Clin Exp Immunol* **10**:154, 1990
 - 31) Tandon A, Saxena RP, Saxena KC, Jamil Z, Gupta AK: Diagnostic potentialities of ELISA in tuberculosis using purified tuberculin antigen. *Tubercle* **61**:87, 1980
 - 32) Ma Y, Wang YM, Daniel TM: ELISA using M.tuberculosis antigen 5 for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in China. *Am Rev Respir Dis* **134**:1273, 1986
 - 33) Shimokata K, Kawachi H, Kishimoto H, Maeda F, Ito Y: Local cellular immunity in tuberculous pleurisy. *Am Rev Respir Dis* **126**:822, 1982
 - 34) Engvall E, Perlmann P: ELISA III. Quantitation

- of specific antibodies by enzyme-labeled antiimmunoglobulin in antigen-coated tubes. *J Immunol* **109**:129, 1972
- 35) Kardjito T, Handoyo I, Grange JM: Diagnosis of active tuberculosis by immunological methods. *Tubercle* **63**:269, 1982
 - 36) Barnes PF, Chatterjee D, Abrams JS, Lu S, Wang E, Yamamura M, Brennan PJ, Modlin RL: Cytokine production induced by *Mycobacterium tuberculosis* lipoarabinomannan. *J Immunol* **149**: 541, 1992
 - 37) Chatterjee D, Roberts AD, Lowell K, Brennan PJ, Orme IM: Structural basis of capacity of lipoarabinomannan to induce secretion of tumor necrosis factor. *Infect Immun* **60**:1249, 1992
 - 38) Schlesinger LS, Hull SR, Kaufman TM: Binding of the terminal mannosyl units of lipoarabinomannan from a virulent strain of *Mycobacterium tuberculosis* to human macrophage. *J Immunol* **152**:4070, 1994
 - 39) Sibley LD, Adams LB, Krahenbuhl JL: Inhibition of interferon-gamma-mediated activation in mouse macrophages treated with lipoarabinomannan. *Clin Exp Immunol* **80**:141, 1990
 - 40) Chan J, Fan X, Hunter SW, Brennan PJ, Bloom BR: Lipoarabinomannan, a possible virulence factor involved in persistence of *Mycobacterium tuberculosis* within macrophages. *Infect Immun* **59**:1755, 1991
 - 41) Daniel TM, de Murillo GL, Sawyer JA, Griffin AM, Pinto E, Debanne SM, Espinosa P, Cespedes E: Field evaluation of ELISA for the serodiagnosis of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* **134**:662, 1986
 - 42) Murate T, Mizoguchi K, Amano H, Shimokata K, Matsuda T: Antipurified-protein-derivative antibody in tuberculous pleural effusions. *Chest* **97**:670, 1990
 - 43) Banchuin N, Sarasombath S, Pumprueg U, Danpukdee K, Pimolpan V: Anti-PPD IgG responses in tuberculous pleurisy. *J Med Assoc Thai* **70**:321, 1987
 - 44) Luetscher JA: Electrophoretic analysis of the proteins of plasma and serous effusions. *J Clin Invest* **20**:99, 1941
 - 45) Telvi L, Jaubert F, Eyquem A, Andreux JP, Labrousse F, Chretien J: Study of immunoglobulins in pleura and pleural effusions. *Thorax* **34**:389, 1979
 - 46) Shallenberger DW, Daniel TM: Quantitative determination of several pleural fluid proteins. *Am Rev Respir Dis* **106**:121, 1972