Tuberculosis and Respiratory Disease 결핵 및 호흡기질환, Vol. 42, No. 5, October, 1995

□ 원 저 □

활동성 폐결핵 환자에서 혈중 리소솜 효소의 활성도

울산대학교 의과대학 내과학교실 및 임상병리과학교실*

고윤석 · 최정은 · 김미경 · 임채만 · 김우성 · 지현숙* · 김원동

= Abstract =

Plasma Activity of Lysosomal Enzymes in Active Pulmonary Tuberculosis

Younsuck Koh, M.D., Jeong Eun Choi, M.D., Mi Kyung Kim, M.D., Chae Man Lim, M.D., Woo Sung Kim, M.D., Hyun Sook Chi, M.D.* and Won Dong Kim, M.D.

Department of Internal Medicine and Clinical Pathology, Asan Medical Center, College of Medicine University of Ulsan, Seoul, Korea*

Background: The confirmative diagnosis of pulmonary tuberculosis(Tb) can be made by the isolation of Mycobacterium Tuberculosis(MTb) in the culture of the sputum, respiratory secretions or tissues of the patients, but positive result could not always be obtained in pulmonary Tb cases. Although there are many indirect ways of the diagnosis of Tb, clinicians still experience the difficulty in the diagnosis of Tb because each method has its own limitation. Therefore development of a new diagnostic tool is clinically urgent. It was reported that silica cause some lysosomal enzymes to be released from macrophages in vitro and one of these enzymes is elevated in workers exposed to silica dust and in silicotic subjects. In pulmonary Tb, alveolar macrophages are known to be activated after ingestion of MTb. Activated macrophages can kill MTb through oxygen free radical species and digestive enzymes of lysosome. But if macrophages allow the bacilli to grow intracellularly, the macrophages will die finally and local lesion will enlarge. Then it is assumed that the lysosomal enzymes would be released from the dead macrophages. The goal of this investigation was to determine if there are differences in the plasma activities of lysosomal enzymes, β-glucuronidase(GLU) and β-N- acetyl glucosaminidase(NAG) , among the groups of active and inactive pulmonary Tb and healthy control, and to see if there is any possibility that the plasma activity of GLU and NAG can be used as diagnostic indicies of active pulmonary Tb.

Methods: The plasma were obtained from 20 patients with bacteriologically proven active pulmonary Tb, 15 persons with inactive Tb and 20 normal controls. In 10 patients with active pulmonary Tb, serial samples after 2 months of anti-Tb medications were obtained. Plasma GLU and NAG activities were measured by the fluorometric methods using 4-methylumbelliferyl sub-

이 논문은 1992년도 교육부 지원 한국학술진흥재단의 자유공모(지방 대학 육성) 과제 학술 연구 조성비에 의하여 연구되었음.

strates. All data are expressed as the mean ± the standard error of the mean.

Results: The activites of GLU and NAG in plasma of the patients with active Tb were 21.52 ± 3.01 and 325.4 ±23.37(nmol product/h/ ml of plasma), respectively. Those of inactive pulmonary Tb were 24.87 ±3.78, 362.36 ±33.92 and those of healthy control were 25.45 ±4.05, 324.44 ±28.66 (nmol product/ h/ml of plasma), respectively. There were no significant differences in the plasma activities of both enzymes among 3 groups. The plasma activities of GLU at 2 months after anti-Tb medications were increased(42.18 ±5.94 nmol product/h/ ml of plasma) in the patients with active pulmonary Tb compared with that at the diagnosis of Tb(P-value <0.05).

Conclusion: The results of the present investigation suggest that the measurement of the plasma activities of GLU and NAG in the patients with active pulmonary Tb could not be a useful method for the diagnosis of active Tb. Further investigation is necessary to define the reasons why the plasma activities of the GLU was increased in the patients with active pulmonary Tb after Tb therapy.

Key Words: Tuberculosis, Lysosomal enzymes, β-glucuronidase, β-N-acetyl glucosaminidase, Diagnosis

서 론

한국에서의 폐결핵은 그 유병률이 과거보다 다소 감소되었으나 아직도 5세이상 인구에서의 엑스선상 활동성 유병병율이 1990년 현재 1.8 %로 약 72만명의 환자가 이 질환으로 고생하고 있으며[1], 또한 그중 일부는 타인에게 질병을 전염시키고 있어 사회적인 문제가 되고 있다. 폐결핵의 임상에서의 문제는 활동성 폐결핵 여부의 정확한 진단이 쉽지 않다는 데에 있다. 폐결핵의 진단은 항산균(acid fast bacilli: AFB)인 결핵균이 배양되면 확진이 되나, 실제 임상에서는 세균학적으로 양성의 결과가 나타나지 않는 폐결핵 환자가 다수 존재하여 흉부 엑스선상 소견만으로는 폐암 및 폐렴 등의 비결핵성 폐질환과 구별이 불가능한 경우가 흔하고, 또한 과거 투약후 치유된 환자와의 감별진단이 어려운 경우도 있다. 따라서 활동성 폐결핵 진단을 위한 빠르고 확실한 진단방법이 임상에서 절실히 요구되고 있으며, 과거 면역학적 진단방법이 다수 시도되었으나 임상에 응용할 만한 진단방법의 개발에 실패하였고 중합효소연쇄반응을 이용한 분자생물학적 진단방법도 위양성의 문제점 등 아직 해결해야 할 여러가지 난관들이 있다[2,3].

β-glucuronidase(이하 GLU)와 β-N-acetyl glucosaminidase(이하 NAG)는 폐내 담식세포인 대식세포(macrophage)의 리소솜(lysosome) 효소들로서, 이산화규소가 폐내로 흡입되어 폐포내 대식세포에 의해서 탐식되고 이어서 대식세포가 파괴된다고 알려진 규폐증에서 NAG의 혈중농도가 증가한다는 보고가 있었다[4]. 폐결핵에서는 결핵균이 폐포내로 흡입되어 폐포대식세포에 의해 탐식된 후 다른 세균과 달리 대식세포내에서 사멸되지 않고 증식되다가 10일 이내에 대식세포가 파괴될 수 있는 것으로 알려져있다[5,6]. 또한 쥐에 BCG (Bacille Calmette-Guĕrin)를 정맥주입후 3주뒤 복강내 대식세포를 관찰하면 대식세포들이 크기가 커지고 세포내 리소솜 효소가 증가되는 것이 알려져있다[7]. 따라서 활동성 폐결핵에서는 폐암이나 폐렴 및 비활동성 폐결핵과는 달리 혈중내의 리소솜 효소가 증가될 것으로 추정된다.

본 연구는 결핵균이 검출되어 활동성 폐결핵으로 진단된 환자군과 비활동성 폐결핵군 및 건강대조군에서 혈중 NAG와 GLU의 농도를 측정하여 각군사이의 그 혈중농도의 차이를 비교함으로써 활동성 폐결핵에서 혈중 리소솜 효소가 증가 될 것이란 가설을 검증하여 활동성 폐결핵 진단에 이용될 수 있는지 알아보기 위하

여 시행되었으며, 아래와 같은 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

대상 및 방법

1. 대 상

대상군은 환자군으로서 객담 도말검사상 항산균 양성이고 배양검사상 결핵균 양성인 폐결핵 초치료 환자 20명과 객담검사상 균양성으로 폐결핵으로 진단받고 정해진 기간 투약후 완치 판정을 받은 비활동성 폐결핵 질환군 15명, 그리고 대조군으로는 비흡연자로서[8], silicosis나 asbestosis 등[4]에 관련된 직업력이 없고 일반적인 병력문진상 이상이 없으며 일반 신체검사 및 흉부단순촬영상 정상인 건강인 20명이었다. 환자군의 평균연령은 47세였고 남자 17명 여자 3명이었으며 비활동성 폐결핵군 및 건강대조군 의 평균연령은 각각 43세였고 남자가 각각 15명 및 10명, 여자가 5명씩이었다 (Table 1).

2. 방 법

1) 검체 채혈

대상자에서의 채혈은 채혈 전날 자정부터 금식후 다음날 오전에 시행하였으며 헤파린 처리된 용기에 검체를 담아 1시간 이내에 10분간 4℃에서 140G로 원심분리(Sorvall RT6000B, Dupont) 하여 혈장을 분리한뒤 다시한번 동일방법으로 10분간 원심분리하여 혈소판이 없는 혈장만 분리하여 효소 측정때까지 -70℃의 냉동실에 보관하였다. 활동성 폐결핵환자군에서는 투약에 따른 리소솜 효소의 변동이 있는지를 관찰하기 위하여 초진단시 및 항결핵제 투약후 2개월에 각각 채혈하였다. 항결핵치료는 6개월 요법으로서 이소니아지드(isoniazid), 리팜피신(rifampicin), 에탐부톨(ethambutol) 및 피라지나마이드(pyrazinamide)를 최초 2 개월 사용후 나머지 기간은 피라지나마이드를 제외한 나머지 약제들을 투약하였으며 활동성 폐결핵환자 모두에서 균이 음전되고 흉부방사선 소견상 호전되어 완치 판정을 받았다.

2) β-Glucuronidase 및 N-Acetyl-β-glucosaminidase 효소활동성 측정

두가지 효소 모두 4-methylumbelliferyl substrates를 사용한 형광측정법(fluorometry)으로 측정하였으며, 사용된 모든 시약은 Koch-Light Ltd (Haverhill, Suffolk, England) 제품을 사용하였다. 즉 β-Glucuronidase의 활동성 측정은 수정으로 만들어진 형광측정 시험관에 측정할 검체혈장을 50μl 넣고 pH 4.3인 citrate-phosphate buffer에 녹인 5mM 4-methylumbelliferyl-β-D-glucuronide trihydrate 0.1ml를 첨가한뒤 37℃에서 15분간 보온하면서 상호 반응 시킨뒤 0.17M glycine-sodium carbonate 2.8ml 를 첨가하여 상호반응을 중단시켰다. 시험관내 반응의 정도는 SLM 8000$_{TM}$ C spectrofluorometer(Perkin Elmer Co., U.S.A.)를 이용하여 흥분파장(excitation wavelength) 365nm 및 방출파장(emission wavelength) 450nm에서 흡광도의 크기로 측정하였다. 표준곡선은 pH 10.5의 glycine carbonate buffer에 4-methylumbelliferone의 농도를 0nM(buffer만 넣고 측정), 150nM, 300nM 및 600nM로 만들어 구하였으며 그림 1에서와 같이 각 농도에 비례하는 표준곡선을 얻었고(Fig. 1) 각 측정치는 이 표준곡선에 측정된 흡광도를 대입하여 구하였으며 매 실험때마다 표준치 측정을 함께 실시하였다. N-Acetyl-β-glucosaminidase 활동성의 측정은 β-glucuronidase 활동성의 측정방법과 동일하였으나 단지 검체를 1/50으로 희석한뒤 형광 유

Table 1. Characteristics of Each Groups

	Active Tb group	Inactive Tb group	Control	p-value
No.	20	15	20	
Age (mean±SD)	48.85±13.48	42.93±15.29	43.10±9.10	NS
(range)	(21~74)	(20~72)	(16~63)	
Sex(M : F)	17 : 3	10 : 5	15 : 5	NS

Tb: Tuberculosis M: male F: female NS: not significant

발물질로 2.5mM 4-methylumbelliferyl-2-acetamido-2-deoxy-β-D-glucopyranoside를 사용하여 측정한 것과 보온시간이 10분인 점만 달랐다[8].

3) 통계 처리

연령을 제외한 모든 결과치는 평균 ± 표준오차로 표기하였으며 각 효소 활동성의 표기단위는 nmol product/h/ml of plasma 이었다. 통계처리는 Sigma Stat 통계꾸러미(version 1.01, Jandel Corp.)를 사용하여 연령과 성별에 대한 각군사이의 차이는 Fisher's exact test를, 3군사이의 혈중 GLU 및 NAG 농도 차이의 통계적 유의성의 검정은 one-way ANOVA test로 검증하였고 폐결핵환자군의 치료전후의 혈중 GLU 및 NAG 농도의 차이는 paired t-test로 분석하여 P-값이 0.05 이하일때 유의성을 인정하였다.

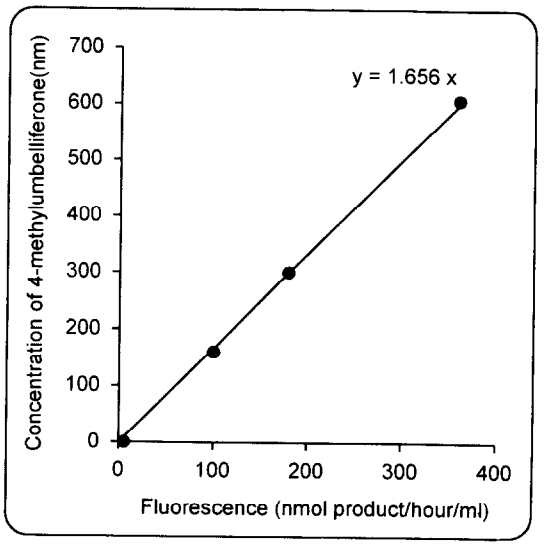

Fig. 1. A Representative standard curve.

결 과

1. 활동성 폐결핵군과 비활동성 폐결핵군 및 건강대조군 사이의 혈중 GLU와 NAG의 농도차이

활동성 폐결핵군의 GLU 및 NAG의 혈중 농도는 각각 21.52±3.01 및 325.4±23.37nmol product/h/ml of plasma(이하 단위표기생략)로서 비활동성 폐결핵군 24.87±3.78, 362.36±33.92와 건강대조군 25.45±4.05, 324.44±28.66 사이에 차이가 없었다(Table 2).

2. 활동성 폐결핵군에서 항결핵제 치료 전후의 혈중 GLU와 NAG의 농도차이

활동성 폐결핵 치료시작 2개월후 GLU의 혈중치는 42.18±5.94로서 치료전에 비해 통계적으로 유의하게 증가되었고(p값<0.05) NAG의 혈중농도는 359.2±39.53으로서 치료전과 차이가 없었다(Table 3, Fig. 2).

고 찰

활동성 폐결핵의 진단은 결핵균이 배양되면 확진이 되나, 실제 임상에서는 세균학적 진단의 결과가 나타나지 않는 폐결핵 환자가 다수 존재하여 흉부 엑스선상 소견만으로는 폐암 및 폐렴 등의 비결핵성 폐질환과 구별이 불가능한 경우가 흔할 뿐만 아니라 비활동성 폐결핵 환자와의 감별진단이 어려운 경우도 있다. 따라서 활동성 폐결핵 진단을 위한 빠르고 확실한 진단방법이 임상에서 절실히 요구되고 있다. 지금까지 다수의 면역학적 진단방법이 시도되었으나 임상에 응용할 만한 확

Table 2. Plasma Activities of GLU and NAG in Different Groups

Enzyme \ Group	Active Tb(n=20)	Inactive Tb(n=15)	Control(n=20)	p-value
GLU	21.52± 3.01	24.87± 3.78	24.45± 4.05	NS
NAG	325.40±23.37	362.36±33.92	324.44±28.66	NS

Each Value(n mol product/h/ml of Plasma) are mean±SEM.
Tb : Tuberculosis, NAG : N-acetyl-β-glucosaminidase
GLU : β-glucuronidase NS : not significant

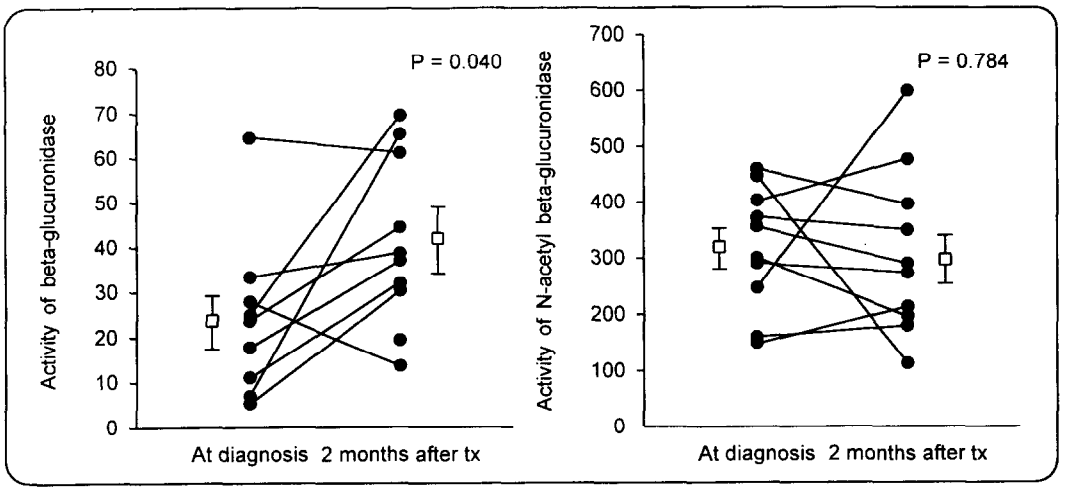

Fig. 2. Plasma lysozyme levels before and two months after treatment in ten patients with active tuberculosis.

Table 3. Plasma Activities of GLU and NAG Two Months after Treatment in ten Patients with Active Pulmonary Tuberculosis

Period / Enzyme	Diagnosis	2 Months after treatment	p-value
GLU	24.19± 5.30	42.18± 5.94	0.04
NAG	372.02±29.17	359.20±39.53	NS

Each Value(n mol product/h/ml of Plasma) are mean± SEM.

Tb : Tuberculosis

GLU : β-glucuronidase

NAG : N-acetyl-β-glucosaminidase

NS : not significant

실한 진단방법의 개발에 실패하였고 중합효소연쇄반응을 이용한 분자생물학적 진단방법도 위양성의 문제점 등 아직 해결해야할 여러가지 난관들이 있다[2,3].

결핵균은 세포내 병원균으로서 대식세포내에서 생존과 증식이 가능하며[9], 대식세포가 결핵균을 탐식후 결핵균을 사멸시킬 수 있을 정도로 충분히 활성화되면 결핵병변을 초래하지 않는다. 즉 대식세포는 결핵균을 탐식한 초기에는 서로 공생상태로 존재하나[10], 2~4주가 경과하면 세포매개 및 지연형 과민반응의 면역기전을 통한 활성화가 대식세포내에 일어나고, 이렇게 활성화된 대식세포는 미토콘드리아와 리소솜을 많이 함유함으로써 반응성산소종(reactive oxygen species)을 사용하는 산소의존성 및 리소솜내에 존재하는 가수분해효소를 이용한 산소비의존성과정을 통하여 결핵균을 살해하는 것으로 알려져있다[11]. 그러나 대식세포가 충분히 활성화되지 못한 경우는 대식세포내에서 균이 증식되고 결국 대식세포가 죽게되면서 병변을 주위에 번지게하여 결핵병변을 유발한다. 그러므로 세포내에서 증식된 결핵균을 충분히 사멸시키지 못하여 활동성 결핵병변이 유발된 경우에는 파괴된 대식세포로부터 증식된 결핵균과 함께 β-glucuronidase(GLU)나 N-acetyl-glucosaminidase(NAG)와 같은 리소솜 효소도 유리될 것으로 예측된다. 저자들의 이러한 추론은 이산화규소가 폐내로 흡입되어 폐포내 대식세포에 의해서 탐식되고 이어서 대식세포가 파괴된다고 알려진 규폐증에서 NAG의 혈중농도가 증가한다는 보고[4]와 활동성 대식세포로부터 이러한 리소솜 효소들은 자발적으로 분비되지는 않으며 대식세포내로의 입자의 탐식 등과 같은 특정자극에 의해서만 분비되는것[12]에 근거하였다. 이러한 가정에 연관된 생체외 실험으로는 활동성 폐결핵환자의 말초혈액에서 단핵구를 분리한후 배지내 분비된 리소솜 효소를 측정하면 활동성 폐결핵 환자에서 건강대조군이나 비활동성 결핵환자들에 비해 GLU 및 NAG 모두 증가되어 나타나며[13], guinea pigs들의 기

관지내로 결핵균을 투입하여 결핵에 감염시킨후 채취한 폐포대식세포에서 NAG에 대한 조직화학염색(histochemical stain) 이 증가되는 것이 알려져 있으나[14], 활동성 폐결핵환자에서 혈중 GLU 및 NAG 활성도 측정의 진단적 가치 여부에 대해서는 아직 보고된 바가 없다.

본연구는 결핵균이 검출되어 활동성 폐결핵으로 진단된 환자군과 비활동성 폐결핵군 및 건강대조군에서 혈중 GLU와 NAG의 농도를 측정하여 각군사이의 그 혈중농도의 차이를 비교함으로써 활동성 폐결핵에서 혈중 리소솜 효소가 증가 될 것이란 가설을 검증하고자 시행하였으며 이는 혈중내 효소의 측정이 활동성 폐결핵의 보조적 진단법으로 이용될 수 있는지의 여부에 대한 기초적 자료를 제공해 줄 수 있기 때문이었다. 이러한 연구배경과 목적으로 활동성 폐결핵환자의 혈장에서 상기 효소들의 농도를 측정한바 본 연구의 결과에서처럼 건강대조군이나 비활동성폐결핵군에 비해 혈장내 농도의 차이가 없는 것으로 나타나 결핵진단의 보조적인 방법으로는 이용할 수 없을 것으로 사료되었다. 이러한 결과에 대한 추론으로는 다음과 같은 몇가지 가능성을 생각할 수 있다. 첫째는 본 연구의 측정 방법에 연관된 오류로 인해 실제 혈중에 존재하는 GLU와 NAG의 양만큼 정확하게 검출하지 못했을 경우인데 표준 시약으로 측정하여 얻은 표준곡선과 또한 활동성 폐결핵환자의 치료후에 측정된 혈장내 GLU의 증가 등을 미루어 볼 때 측정방법상의 오류로 보기는 어렵다. 둘째는 이들 효소의 혈중 농도가 활동성 결핵환자의 진단시기에서 무작위로 채취된 시료에서 측정되었으므로 대식세포로부터 상기 효소들의 유리시기와 측정시기의 불일치의 가능성인데, 이는 활동성 결핵환자 20명중 GLU는 5명에서, NAG는 10명에서 정상인의 평균치보다 높게 측정된 점을 고려할 때 그 가능성을 배제할 수 없을 것으로 사료된다. 셋째는 활동성 폐결핵환자들에서 폐포대식세포의 활성화에 비하여 혈중내 대식세포의 활성화가 미비하여 이들 효소의 혈중내 유리정도가 낮거나 혹은 활성화된 폐포대식세포의 시멸시 유리될 이 효소들이 혈중내로 유입되지 못할 가능성도 있을 것으로 사료된다.

본 연구에서 활동성 폐결핵환자군을 치료후 2개월뒤에 추적한 GLU 효소가 치료전에 비해 유의하게 증가되어 나타났으며(Fig. 2), 이소니아지드와 리팜피신으로 결핵치료시 혈중 GLU 및 NAG의 증가가 치료개시 4주이내에 나타나며 이는 비록 alanine transaminase의 증가는 관찰되지 않았으나 두 약제에 의한 간세포의 미세손상에 기인한 것으로 추정한 Perry 등의 연구결과와[15] 유사한 결과였으나 치료중 GLU 효소가 증가된 기전이 단순한 부수현상(epiphenomenon)인지 혹은 병의 진행에 따라 발현된 면역 형성에 따라 대식세포가 활성화 되어 대식세포로부터의 효소의 생성능이나 분비의 증가에 기인한 것인지, 또는 Perry 등이 추정한바와 같이 간세포의 미세손상에 의한 것인지는 본 연구의 자료만으로는 추정할 수 없었다.

결론적으로 활동성 폐결핵환자의 혈장내 GLU 및 NAG의 농도는 비활동성 결핵군이나 건강대조군과 차이가 없었으므로 상기 효소들의 측정은 활동성 폐결핵 진단의 방법으로서 유용하지 않는 것으로 사료되었고 병 경과에 따른 혈중 GLU치의 증가에 대하여는 앞으로 좀더 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

요 약

연구배경: 폐결핵의 진단은 결핵균이 배양되면 확진이 되나, 실제 임상에서는 세균학적 진단이 양성으로 나타나지 않는 폐결핵 환자가 다수 존재하므로 활동성 폐결핵 진단을 위한 빠르고 확실한 진단방법이 임상에서 절실히 요구되고 있다. β-glucuronidase(이하 GLU)와 β-N-acetyl glucosaminidase(이하 NAG)는 폐내 탐식세포인 대식세포(macrophage)의 리소솜(lysosome) 효소들로서, 이산화규소가 폐내로 흡입되어 폐포내 대식세포에 의해서 탐식되고 이어서 대식세포가 파괴된다고 알려진 규폐증에서 NAG의 혈중농도가 증가한다는 보고가 있었다. 또한 폐결핵에서도 세포내에서 증식된 결핵균을 충분히 사멸시키지 못하여 활동성 결핵병변이 유발된 경우 파괴된 대식세포로부터 증식된 결핵균과 함께 GLU나 NAG도 유리될 것으로 추정된다. 본 연구는 활동성 폐결핵환자의 혈중 리소솜 효소 활성도가 비활동성 결핵환자나 정상대조군보다 높은지 여부와 혈중내 리소솜 효소의 측정이 활동성 폐결핵

진단법으로 이용될 수 있는지의 여부에 대해 알아보고자 하였다.

방법: 결핵균이 검출되어 활동성 폐결핵으로 진단된 환자군과 비활동성 폐결핵군 및 건강대조군에서 GLU와 NAG의 혈장내 농도 차이를 비교하였으며 활동성 폐결핵환자군에서는 투약에 따른 리소솜효소의 변동이 있는지를 관찰하기 위하여 투약후 2개월 뒤에 상기 효소들의 활성치를 다시 측정하여 진단시의 값과 비교하였다. 두가지 효소 모두 4-methylumbelliferyl substrates를 사용한 형광측정법으로 측정하였다.

결과:

1) 활동성 폐결핵군과 비활동성 폐결핵군 및 건강대조군 사이의 혈중 GLU와 NAG의 농도차이: 활동성 폐결핵군의 GLU 및 NAG의 혈중 농도는 21.52±3.01 및 325.4±23.37nmol product/h/ml of plasma(이하 단위표기생략)로서 비활동성 폐결핵군 24.87±3.78, 362.36±33.92와 건강대조군 25.45±4.05, 324.44±28.66 사이에 차이가 없었다.

2) 활동성 폐결핵군에서 항결핵제 치료 전후의 혈중 NAG와 GLU의 농도차이: 활동성 폐결핵 치료시작 2개월후 GLU의 혈중치는 41.18±5.23으로서 치료전에 비해 통계적으로 유의하게 증가되었고(p값<0.05) NAG의 혈중농도는 359.2±39.53으로서 치료전과 차이가 없었다.

결론: 활동성 폐결핵환자의 혈장내 GLU 및 NAG의 농도는 비활동성 결핵군이나 건강대조군과 차이가 없었으므로 상기 효소들의 측정은 활동성 폐결핵 진단의 방법으로서 유용하지 않는 것으로 사료되었고 병 경과에 따른 혈중 GLU치의 증가에 대하여는 앞으로 좀더 연구가 필요할 것으로 사료되었다.

참 고 문 헌

1) 홍영표: 결핵의 역학- 전국 실태조사 성적을 중심으로. 대한의학협회지 **34**:468, 1991

2) 신완식: 결핵진단의 면역학적 및 분자생물학적 방법. 결핵 및 호흡기질환 **39**:1, 1992

3) Good RC: Serologic methods for diagnosing tuberculosis. Annals of Int Med **110**:97, 1993

4) Koskinen H, Jàrvisalo J, Huuskonen MS, Koivula T, Mutanen P, Pitkänen E: Serum lysosomal enzyme activities in silicosis and asbestosis. Eur J Respir Dis **64**:182, 1983

5) Nardell EA: Pathogenesis of tuberculosis. In: Reichman LB, Hershfield ES, eds. Tuberculosis. p103-122, New York Marcel Dekker, 1993

6) Lowrie DB: Is macrophage death on the field of battle essential to victory, or a tactical weakness in immunity against tuberculosis? Clin Exp Immunol **80**:301, 1990

7) Blanden RV, Lefford MJ, Mackaness GB: Host response to Calmette-Guĕrin Bacillus infection in mice. J Exp Med **129**:1079-1107, 1969

8) Huuskonen MS, Jàrvisalo J, Koskinen H, Kivistő: Serum angiotensin-converting enzyme and lysosomal enzymes in tobacco workers. Chest **89**:224, 1986

9) Griffiths PA, Milsom JP, Lloyd JB: Plasma acid hydrolases in normal adults and children, and in patients with some lysosomal storage diseases. Clin Chim Acta **90**:129, 1978

10) Armstrong JA, Hart PD: Phagosome-lysosome interactions in cultured macrophages infected with virulent tubercle bacilli- Reversal of the usual nonfusion pattern and observations on bacterial survival. J Exp Med **142**:1, 1975

11) Dannenberg AM: Immune mechanisms in the pathogenesis of pulmonary tuberculosis. Rev Infect Dis **11**(S2):S369, 1989

12) Leoni P, Dean RT: Mechanisms of lysosomal enzyme secretion by human monocytes. Biochim Biophys Acta **762**:378, 1983

13) Jaswal S, Dhand R, Sethi AK, Kohli KK, Ganguly NK: Intracellular levels and extracellular release of lysosomal enzymes from peripheral blood monocytes in pulmonary tuberculosis patients. APMIS **101**:50, 1993

14) Chandrasekhar S, Mukherjee MK: Intracellular

tubercle bacilli-alveolar macrophage lysosomal enzymes interaction in experimental tuberculosis. Clin Immun Immunopath **56**:185, 1990

15) Perry W, Jenkins MV, Erooga MA, Stamp TCB: Elevation of plasma levels of lysosomal enzymes during treatment with rifampicin and isoniazid. Bioch Med **20**:153, 1978