

## 결핵 환자의 치료경과 중 혈청 내 Cytokine 분비와 변화

이화여자대학교 의과대학 내과학교실, 미생물학교실\*

류연주, 김윤정, 권정미, 나윤주, 정유진<sup>†</sup>, 서주영<sup>†</sup>, 천선희

=Abstract=

### Circulating Cytokine Levels and Changes During the Treatment in Patients with Active Tuberculosis in Korea

Yon-Ju Ryu, M.D., Yun-Jung Kim, M.D., Jung-Mi Kwon, M.D., Youn-ju Na, M.D.,  
Yu-Jin Jung<sup>†</sup>, Ju Young Seoh, M.D.<sup>†</sup>, Seon Hee Cheon, M.D.

*Department of Internal Medicine, Department of Microbiology<sup>\*</sup>  
College of Medicine, Ewha Womans University, Seoul, Korea*

**Background** : The cell-mediated immune reaction to tuberculosis infection involves a complex network of cytokines. The extent of inflammation, tissue damage and severity of the disease suggested to be determined by the balance between extent and duration of the proinflammatory cytokine response versus those of the suppressive cytokines. The systemic cytokine response in pathogenesis of tuberculosis can be assessed by measuring serum cytokine levels.

**Method** : Serum interleukin-1 beta(IL-1 $\beta$ ), IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12(p40), tumor necrosis factor-alpha(TNF- $\alpha$ ), interferon-gamma(IFN- $\gamma$ ) and transforming growth factor-beta(TGF- $\beta$ ) levels were measured in 83 patients with pulmonary tuberculosis, 10 patients with endobronchial tuberculosis before treatment and 20 healthy subjects by using a sandwich ELISA. In patients with pulmonary tuberculosis, they were divided into mild, moderate and far advanced group according to the severity by ATS guidelines. To compare with those of pretreatment levels, we measured serum IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12(p40), TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  and TGF- $\beta$  levels in 45 of 83 patients with pulmonary tuberculosis after 2 and 6 months of treatment.

---

<sup>†</sup> 본 논문은 2001학년도 이화여자대학교 교수연구비 지원에 의한 것임

Address for correspondence :

**Seon Hee Cheon, M.D.**

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Ewha Womans University

# 110-126, 70, Chongro 6-Ka, Chongro-ku, Seoul, Korea

Phone : 02-760-5053 Fax : 02-760-5053 E-mail : shcheon@ewha.ac.kr

**Results :** 1) In sera of patients with active pulmonary tuberculosis(n=83), IL-1 $\beta$ , IL-6(p<0.05), TNF- $\alpha$ , and IFN- $\gamma$  were elevated and TGF- $\beta$  was decreased comparing to control. IL-2, IL-12(p40), IL-4 and IL-10 were similar between the patients with tuberculosis and control. 2) In endobronchial tuberculosis, IL-6 and TNF- $\alpha$  were elevated and TGF- $\beta$  was decreased comparing to control. IL-12(p40) seemed to be elevated comparing to pulmonary tuberculosis. 3) Far advanced tuberculosis showed markedly elevated IL-6 and IFN- $\gamma$  level(p<0.05). 4) The significant correlations were noted between IL-1, IL-6 and TNF- $\alpha$  and between IL-12, IL-2 and IL-4(p<0.01). 5) After 2 and 6 months of standard treatment, the level of IL-6 and IFN- $\gamma$  was significantly decreased(p<0.05).

**Conclusion :** These results showed that an altered balance between cytokines is likely to be involved in the extent of inflammation, tissue damage and severity of the disease tuberculosis. But, it should be considered diversities of cytokine response according to type of tuberculosis and immunity in clinical application and interpreting future studies.(*Tuberculosis and Respiratory Diseases* 2003, 55:140-152)

---

**Key words :** proinflammatory cytokines, suppressive cytokines, tuberculosis.

---

## 서 론

결핵의 감염과 발병은 균의 발병력 및 감염균수와 더불어 숙주의 방어기전과 면역반응 사이의 평형이 깨어질 때 발생된다. 결핵균에 감염되면 T 림프구와 대식세포가 주가 되는 세포 매개성 면역반응이 병태생리에 중요한 역할을 하는데, CD4<sup>+</sup> T 림프구가 결핵균 항원을 인식하면 활성화되어 조력 T1 림프구와 조력 T2 림프구로 분화되며 여러 종류의 cytokine을 국소적으로 분비하고 network system으로 작용하여 여러 병태생리적인 과정을 조절한다. 결핵 감염시에는 type 1 cytokine인 interferon-gamma(IFN- $\gamma$ )와 interleukin-2(IL-2)를 생산하는 조력 T1 림프구로의 분화가 주를 이루며 이 과정을 IL-12가 촉진하는 것으로 알려져 있다. 조력 T1 림프구는 IL-2에 의해 더욱 활성화되며, 대식세포는 IFN- $\gamma$ 에 의해 활성화되고 proinflammatory cytokine인 IL-1 $\beta$ , IL-6, tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )를 분비하여 염증반응과 세포 내 결핵균 사멸에 중요한 역할을 한다. 대식세포는 또한 면역 억제반응으로 결핵의 악화와 과도한 염증

반응에 의한 숙주조직 손상의 보호에 관여하는 suppressive cytokine인 IL-10과 transforming growth factor-beta(TGF- $\beta$ )를 분비하며, 조력 T2 림프구는 type 2 cytokine인 IL-4, IL-5, IL-6, IL-10등을 분비하여 결핵의 후기반응에 관여한다<sup>1-4</sup>. 따라서 cytokine간의 균형과 조합이 결핵 진행의 제한과 악화에 중요한 역할을 할 것으로 생각되며, 결핵의 이환과정에서 cytokine의 분비 및 변화와 역할을 파악하는 것이 질환의 병태생리를 이해하는데 크게 도움이 될 수 있다.

결핵의 국소적 병변 부위나 말초혈액에서 T 림프구, 단핵세포 등을 추출하여 결핵균 항원 등의 자극으로 분비된 cytokine의 양상이 보고 되고 있으며<sup>5-7</sup>, 혈청내 농도를 측정하여 전신면역 상태를 반영하는 결과들이 보고되고 있고 국소적 병변에서의 농도와는 다른 결과들을 보여주기도 한다<sup>8-11</sup>. 본 연구에서는 활동성 폐결핵 환자와 기관지 결핵 환자를 대상으로 proinflammatory, suppressive cytokine과 type 1, type 2 cytokine의 혈청 농도를 비교하고 폐결핵의 중증도에 따른 차이와 결핵 치료 경과에 따른 변화를 관찰하고자 하였다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 연구 대상

2000년 1월 1일부터 2001년 9월 31일까지 이화의료원 동대문 병원에 내원한 환자 중 흉부 방사선 촬영상 저명한 결핵병변이 있거나 객담 도말 혹은 배양검사에서 결핵균이 양성인 활동성 폐결핵 환자 83명, 기관지내시경 검사와 생검으로 확진된 기관지 결핵 환자 10명을 대상으로 하였다. 대상 환자들은 17세에서 82세까지의 연령분포를 보였다.

활동성 폐결핵은 남자가 57명, 여자가 26명이었고, 기관지 결핵 환자는 남자가 1명, 여자가 9명이었다. 폐결핵 환자 83명을 중증도로 분류<sup>12</sup>하였고, 이 중 경증 결핵이 42명, 중등증 결핵이 34명, 중

증 결핵이 7명이었다. 폐결핵 환자 83명 중에 공동성 병변을 포함한 환자는 15명이었고, 재발성 결핵 환자는 23명이었다(Table 1).

정상 대조군은 건강한 남녀 각각 10명씩 총 20명으로 결핵의 기왕력이 없으며 현재 호흡기 증상이 없고 세포성 면역장애가 올 수 있는 다른 질환이 없는 사람들로 하였다.

### 2. 연구 방법

#### 1) 측정시기 및 검체채취

활동성 폐결핵 환자, 기관지 결핵 환자 및 정상 대조군에서 치료전 혈청 IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12(p40), TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ 를 측정하였다. 활동성 폐결핵 환자 83명중 45명에서 치료

**Table 1.** Patient's characteristics

	M/F	Cav	RC	Und
Pulmonary tuberculosis(n=83)	57/26	15	23	15
mild(n=42)	26/16	0	10	4
moderate(n=34)	25/9	12	11	8
far advanced(n=7)	6/1	3	2	3
Endobronchial tuberculosis(n=10)	1/9	0	0	0
Control(n=20)	10/10	-	-	-

Cav: cavitory tunerculosis

RC: Recurrent tuberculosis

Und: Underlying disease- DM or alcoholics

**Table 2.** Ciculating cytokine levels in patients with active tuberculosis and controls(pg/ml)

	Control	Pulmonary Tbc	Endobronchial Tbc
IL-1 $\beta$	9.2 $\pm$ 1.47	12.8 $\pm$ 3.0	10.2 $\pm$ 1.75
IL-6	5.5 $\pm$ 2.53	13.4 $\pm$ 3.86*	14.5 $\pm$ 4.14
TNF- $\alpha$	15.5 $\pm$ 3.03	21.6 $\pm$ 4.08	19.1 $\pm$ 2.97
IFN- $\gamma$	7.3 $\pm$ 3.0	13.1 $\pm$ 4.69	8.5 $\pm$ 2.85
IL-2	6.9 $\pm$ 2.37	5.4 $\pm$ 2.1	5.9 $\pm$ 2.77
IL-12	27.2 $\pm$ 2.52	22.2 $\pm$ 2.2	31.6 $\pm$ 3.25
IL-4	4.8 $\pm$ 1.63	4.4 $\pm$ 1.54	4.0 $\pm$ 1.06
IL-10	6.6 $\pm$ 2.77	5.0 $\pm$ 1.75	5.0 $\pm$ 1.54
TGF- $\beta$	133.7 $\pm$ 7.59	60.2 $\pm$ 4.15	54.8 $\pm$ 3.48

\*p<0.05 comparing to control

2개월과 6개월 후 각각 혈청 IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12(p40), TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$  을 재측정하였다.

대상 환자와 대조군의 말초 정맥혈 10 ml를 채혈하여 1,500 rpm에서 10분간 원심 분리하였고, 원심 분리한 후 얻은 상층액을 Eppendorf tube에 담아 검사 전까지 -70°C에 냉동 보관하였다.

## 2) 측정방법

(1) 냉동된 상층액을 실온에서 녹인 후 서로 다른 두 개의 epitope에 단일항체를 이용한 sandwich ELISA 방법으로 Opt EIA<sup>TH</sup> Human set(Pharmingen, San Diego, USA)를 이용하여 측정하였다. IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12(p40), TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$  각각에 대한 항체가 피복된 kit내의 microtiter well에 검체 100  $\mu$ l를 넣어 실온에서 2시간동안 배양하여 5회 세척하였고, 여기에 Avidine-horseradish peroxidase conjugate용액 100  $\mu$ l를 각각의 well에 함께 첨가하여 실온에서 1시간 동안 배양하여 7회 세척하였다. TMB

(tetramethylbenzidine) substrate용액을 첨가하여 충분히 혼합한 후에 30분간의 배양 과정을 거쳐 450 nm의 파장에서 분광분석기로 IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12(p40), TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ 를 측정하였다.

(2) 검사 예민도는 IL-1 $\beta$  15 pg/ml, IL-2 8 pg/ml, IL-4 8 pg/ml, IL-6 5 pg/ml, IL-10 8 pg/ml, IL-12(p40) 8 pg/ml, TNF- $\alpha$  5 pg/ml, IFN- $\gamma$  5 pg/ml, TGF- $\beta$  50 pg/ml 이었다.

## 3) 통계처리

cytokine의 농도를 측정한 후에는 log값을 취하여 통계 계산을 하였고, 결과 수치는 역 log를 취하여 산술값으로 표시하였으며. 모든 자료는 평균 $\pm$ 표준편차로 표시했다. 통계는 Window용 SPSS 10.0 프로그램으로 paired t-test, ANOVA test, Pearsons correlation coefficient의 방법을 이용하였고 유의도(p value)가 0.05 미만인 경우에 통계학적 의의가 있는 것으로 간주하였다.

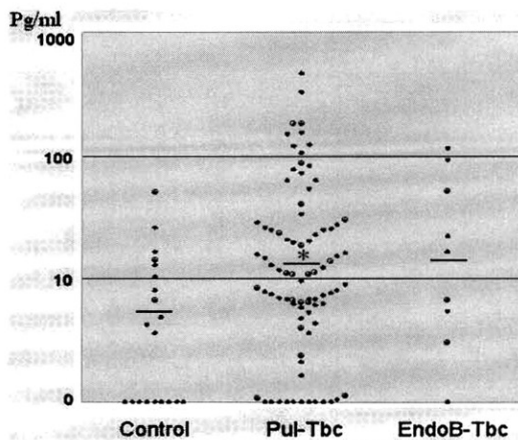


Fig. 1. Serum levels of IL-6 determined in patients with pulmonary tuberculosis, endobronchial tuberculosis and controls

\*  $p < 0.05$  comparing to control

— : mean value bar

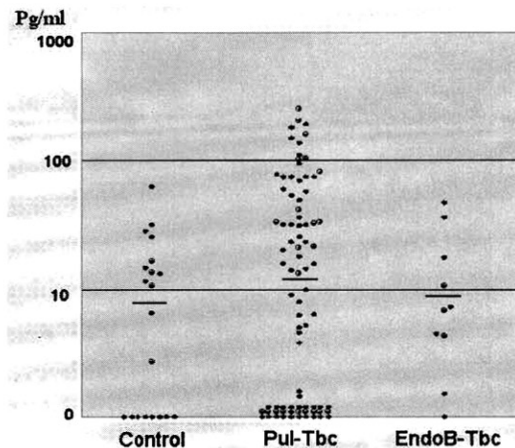


Fig. 2. Serum levels of IFN- $\gamma$  determined in patients with pulmonary tuberculosis and control

— : mean value bar

## 결 과

### 1. 폐결핵과 대조군에서 혈청 cytokine의 농도

IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ 와 IFN- $\gamma$ 는 대조군에서 각각 9.2 $\pm$ 1.47 pg/ml, 15.5 $\pm$ 3.03 pg/ml, 7.3 $\pm$ 3.0 pg/ml, 폐결핵에서 각각 12.8 $\pm$ 3.0 pg/ml, 21.6 $\pm$ 4.08 pg/ml, 13.1 $\pm$ 4.69 pg/ml로 폐결핵 환자에서 대조군에 비하여 증가된 경향을 보였고( $p>0.05$ ), IL-6는 대조군에서 5.5 $\pm$ 2.53 pg/ml, 폐결핵군에서 13.4 $\pm$ 3.86 pg/ml로 폐결핵군에서 통계적으로 유의하게 증가되었다( $p<0.05$ )(Table 2, Fig. 1).

TGF- $\beta$ 는 대조군에서 133.7  $\pm$  7.59 pg/ml, 폐결핵에서 60.2 $\pm$ 4.15 pg/ml로 폐결핵에서의 분비가 대조군에 비하여 오히려 감소된 경향을 보였다( $p>0.05$ ).

IL-2, IL-12(p40), IL-4, IL-10은 대조군과 폐결핵 환자에서 특별한 혈청농도의 차이를 보이지 않았다(Table 2).

결핵 초회감염과 재발 환자간, 공동의 여부, 기

저질환 여부 및 남녀간 cytokine의 분비양상에는 유의한 차이가 없었다(data not shown).

### 2. 기관지 결핵의 혈청 cytokine의 농도

기관지 결핵 환자의 혈청 cytokine은 분비양상은 IL-6가 14.5 $\pm$ 4.14 pg/ml, TNF- $\alpha$ 가 19.1 $\pm$ 2.97 pg/ml로 폐결핵과 마찬가지로 대조군에 비하여 증가된 경향을 보였으며, TGF- $\beta$ 는 54.8 $\pm$ 3.48 pg/ml로 감소된 경향을 보였다. 그러나, IFN- $\gamma$ 는 8.5 $\pm$ 2.85 pg/ml로 폐결핵에서와는 달리 증가를 보이지 않았고, IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-12, IL-4 및 IL-10은 대조군과 비교하여 특별한 혈청농도의 차이를 보이지 않았다(Table 2, Fig. 1 & 2).

### 3. 폐결핵 병변의 중증도에 따른 비교

활동성 폐결핵 환자 83명을 흉부 방사선 병변의 범위에 따라 중증도를 분류<sup>12</sup>하여 경증군 42명, 중등증군 34명, 중증군 7명을 비교하였다. TNF- $\alpha$ 는

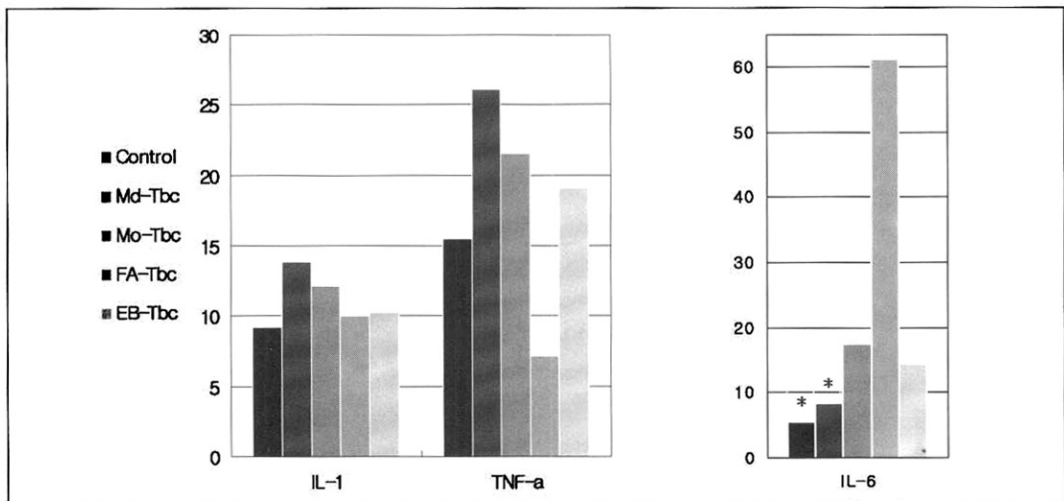
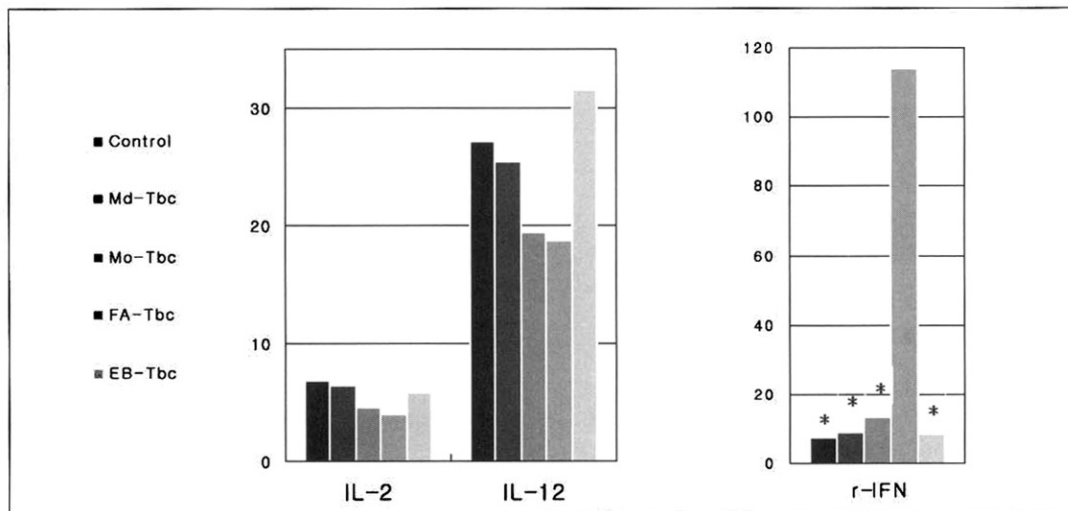


Fig. 3-1. Circulating cytokine levels according to severity and endobronchial tuberculosis.

\* $p<0.05$  comparing to far advanced Tbc

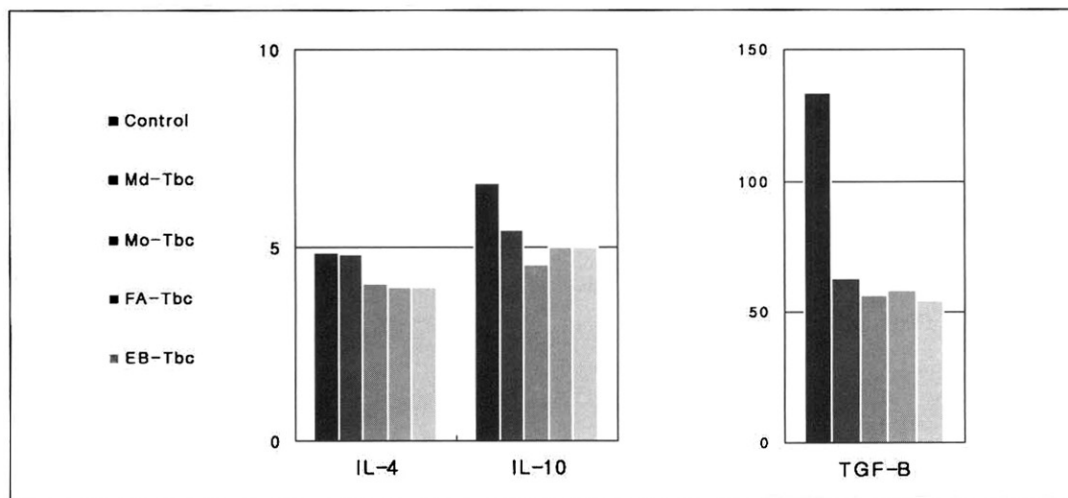
Md: mild, Mo: moderate, FA: far advanced, EB: endobronchial Tbc: tuberculosis



**Fig. 3-2.** Circulating cytokine levels according to severity and endobronchial tuberculosis

\* $p < 0.05$  comparing to far advanced Tbc

Md: mild, Mo: moderate, FA: far advanced, EB: endobronchial Tbc: tuberculosis



**Fig. 3-3.** Circulating cytokine levels according to severity and endobronchial tuberculosis.

\* $p < 0.05$  comparing to far advanced Tbc

Md: mild, Mo: moderate, FA: far advanced, EB: endobronchial Tbc: tuberculosis

경증과 중증증에서 대조군보다 증가된 경향을 보였으나 중증 폐결핵에서는 오히려 분비감소를 보였다. 그러나, 중증에서 대조군과 경증에 비하여

IL-6는 약 6배, IFN- $\gamma$ 는 약 12배의 현저한 분비 증가를 보였다( $p < 0.05$ ). 또한 결핵의 아형으로 생 각되는 기관지 결핵은 중증 폐결핵에서 IL-6와

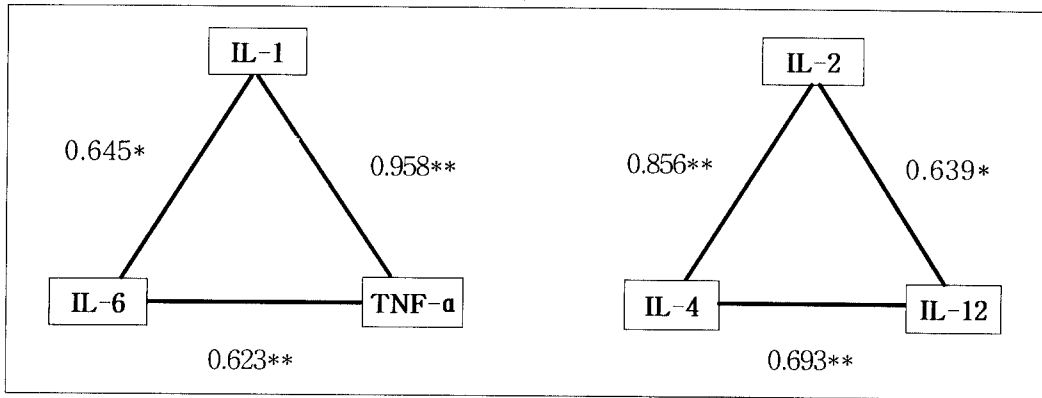


Fig. 4. Correlations between cytokines.  
\*\*p<0.01

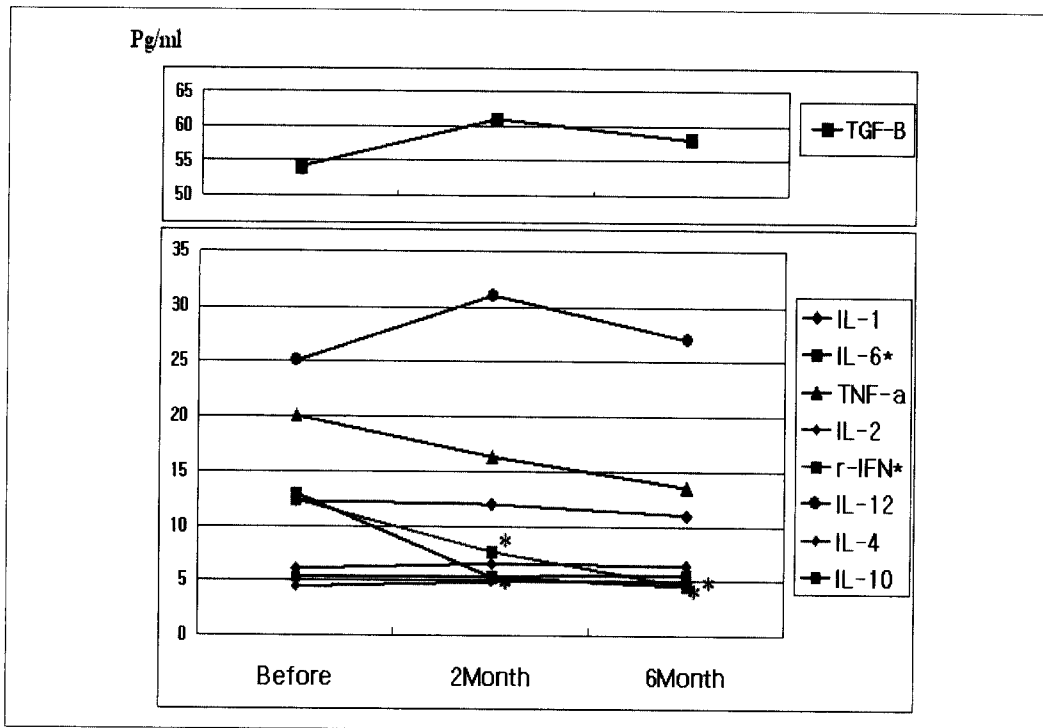


Fig. 5. Changes of cytokines levels in pulmonary tuberculosis before and during the treatment(n=45).  
\*p<0.05 comparing to before treatment

IFN-γ가 현저한 증가를 보이는 것과 달리 경증 및 중등증 폐결핵과 유사한 분비를 보였다(Fig. 3-1, 2, & 3).

#### 4. 폐결핵에서 혈청 cytokine의 상관관계

폐결핵 환자에서 치료전 측정된 IL-2, IL-4, IL-12

간 및 proinflammatory cytokine인 IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  간에는 강한 양의 상관관계를 보였다( $p < 0.01$ )(Fig. 4). IFN- $\gamma$ 는 다른 cytokine과 유의한 상관관계를 보이지 않았다.

## 5. 폐결핵 환자에서 치료 전, 치료 2개월 및 6개월 후의 비교

진단 이후 외래 추적관찰이 가능했던 활동성 폐결핵 환자 45명에서 치료 전, 치료 2개월과 6개월에 각각 IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12(p40), TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ 의 혈청농도 변화를 비교하였다.

폐결핵 환자 45명에서 IL-6는 평균 수치가 치료 전 12.98 pg/ml에서 치료 후 2개월에 5.25 pg/ml, 6개월에 4.48 pg/ml로, IFN- $\gamma$ 는 치료 전 12.40 pg/ml에서 치료 후 2개월에 7.59 pg/ml, 6개월에 4.46 pg/ml로 각각 통계적으로 유의하게 감소되었고( $p < 0.05$ ), TNF- $\alpha$ 는 치료 전에 19.95 pg/ml, 치료 후 2개월에 16.26 pg/ml, 6개월에 13.52 pg/ml로 감소하는 경향을 보였다( $p > 0.05$ ). IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-10은 치료 전과 치료 후에 수치의 변화를 보이지 않았고, TGF- $\beta$ 와 IL-12는 치료 2개월 후에 경미한 증가 추세를 보였다가 치료 6개월에 다시 감소되었다( $P > 0.05$ )(Fig. 5).

## 고 찰

결핵 감염시 숙주는 복잡한 면역 반응을 보이며, 여러 가지 유전적, 환경적 요인에 의존하여 방어 면역반응과 과다한 조직파괴를 일으킬 수 있다. 결핵의 임상경과는 결핵균에 대한 숙주의 면역반응 정도에 따라 다르며 대식 세포와 T 림프구를 주축으로 하는 세포 매개성 면역반응이 병태생리에 중요한 역할을 한다. 세포 매개성 면역반응 과정에서 cytokine이 국소적으로 분비되어 면역과 염증반응

을 조절하는 생물학적인 매개역할을 하고, network system으로 작용하여 서로 다른 cytokine간의 균형과 조합으로 결핵의 제한과 악화를 조절한다<sup>1,3</sup>.

숙주의 CD4<sup>+</sup> T 림프구가 항원 제공세포에 의해서 전달된 결핵균 항원을 인식하게 되면 조력 T1 림프구 또는 조력 T2 림프구로 분화되며 이 과정을 결정하는 요인이 확실히 밝혀지진 않았지만 IL-12가 조력 T1 림프구로의 분화과정을 촉진하고<sup>13-16</sup> IL-4가 조력 T2 림프구로의 분화를 촉진하는 것으로 알려져 있다<sup>17,18</sup>. 결핵에 감염된 경우 특히 type 1 cytokine인 IL-2와 IFN- $\gamma$ 를 분비하는 조력 T1 림프구로의 분화와 활성화가 두드러진다. 분비된 IL-2는 조력 T1 림프구를 자극하여 증식을 촉진하고<sup>19</sup>, IFN- $\gamma$ 는 폐포 대식세포를 활성화시켜 결핵균 사멸에 중요한 역할을 한다<sup>20</sup>. 활성화된 대식세포는 proinflammatory cytokine인 IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ 를 분비하여 과다 생성시 국소적 염증과 조직파괴를 초래하기도 하고 급성반응으로 발열, 권태, 야간발한, 악액질 등을 야기하는<sup>6,21</sup> 동시에 suppressive cytokine인 IL-10과 TGF- $\beta$ 를 분비하여 과다한 염증반응과 조직파괴를 억제하는 작용에 관여한다<sup>22</sup>. 조력 T2 림프구는 type 2 cytokine인 IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 등을 분비하며 B 림프구의 성장 및 활성화로 체액성 면역반응을 촉진시켜서 결핵의 후기반응에 주로 관여한다<sup>4,17</sup>.

IL-1은 IL-2 수용체의 표현을 증진시켜 T 림프구의 분화와 IFN- $\gamma$ 의 분비를 촉진시키고 섬유아세포의 증식을 자극하여 섬유화를 조절하며 상처 치유효과를 보인다<sup>23,24</sup>. IL-6는 단핵구, 대식세포, 섬유아세포 등에서 분비되어 초기 IFN- $\gamma$ 의 생성을 유도하고 IL-6가 결핍된 쥐에서의 실험 결과로<sup>25</sup> 결핵의 내성에 중요한 역할을 함이 추정된다. TNF- $\alpha$ 는 결핵 감염시 숙주의 방어기전으로 대식세포의 탐식능력을 증진시키고 염증 및 조직파괴 등의 병태생리에 관여하는 양면성을 보인다<sup>26,27</sup>.



또한 결핵균이 감염된 쥐에서 항 TNF- $\alpha$  항체를 주입시 육아종 형성이 억제되고 균증식이 현저함을 보아 TNF- $\alpha$ 가 육아종을 형성하고 지속적으로 육아종을 성숙시켜 결핵균의 파종을 막아 결핵 감염에 대한 방어 작용에 필수적임을 알 수 있다<sup>28,29</sup>. IFN- $\gamma$ 는 결핵균에 대한 살균능을 증가시키며 IL-2, IL-12에 의해 분비가 증강되고 IL-4, IL-10에 의해 분비가 억제되는 것으로 알려져 있다. IFN- $\gamma$ 는 대식세포의 hydrogen peroxide 생산을 증가시켜 결핵균의 세포내 제거와 결핵균 복제 억제능력을 촉진하며, 대식세포를 감작시켜 TNF- $\alpha$  및 cytokine의 분비를 촉진시킨다. 그러나 과다 생성시 국소적인 염증과 조직의 파괴를 초래하기도 하며 결핵균을 많이 포함한 대식세포에서는 영향을 주지 못하기도 한다<sup>18,20</sup>.

본 연구에서 IL-1 $\beta$ , IL-6(p<0.05), TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ 는 결핵환자에서 대조군에 비하여 증가된 경향을 보였고, 특히 중증 결핵에서 IL-6와 IFN- $\gamma$ 의 분비 증가가 현저하였으며, TGF- $\beta$ 는 폐결핵과 기관지 결핵환자에서의 분비가 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 감소되어 있었다. 이러한 결과로 결핵 감염 초기에 숙주는 결핵균에 대한 방어 작용으로 조력 T1 림프구와 대식세포의 활성화로 proinflammatory cytokine인 IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ 의 분비를 증가시켜 IFN- $\gamma$ 의 증가와 결핵균에 대한 살균능을 증진시키는 것을 추정할 수 있다. Suppressive cytokine 중에서 TGF- $\beta$ 가 감소된 경향을 보인 것은 TGF- $\beta$ 가 결핵균에 대한 숙주의 과도한 면역반응으로 발생하는 조직파괴 및 염증을 방지하지만 면역 억제 효과로 결핵균을 증식시킬 수 있기 때문에, 자연 면역상 초기 감염에서는 억제된 것으로 생각해 볼 수 있었다. TGF- $\beta$ 는 고농도에서 항염증 작용을 하며, 결핵의 육아종에서 대식세포의 TNF- $\alpha$ 를 염색시에 TGF- $\beta$  농도와 역 상관관계를 보이는 실험 등에서<sup>21</sup> 추정할 수 있는 것처럼 TNF- $\alpha$ 의 생산을 하향 조절하는 역할을 한다<sup>30,31</sup>. IL-10은

IFN- $\gamma$  생성 억제에 중추적인 역할을 하며 T 림프구와 대식세포의 cytokine 분비를 억제하여 조력 T1 림프구 반응을 억제하는 것으로 알려져 있다<sup>22</sup>. 또한 과도한 TNF- $\alpha$  작용에 대한 방어 작용을 하며 IL-10과 TNF- $\alpha$  사이의 균형이 결핵균에 대한 조절과 전파에 중요한 역할을 한다<sup>32</sup>.

IL-2는 활성화된 T 림프구에서 분비되어 T 림프구의 성장과 증식을 촉진하며<sup>19</sup>, IL-4는 조력 T1 림프구의 반응을 억제하며 B 림프구의 성장과 체액성 면역을 증진한다<sup>17,18</sup>. 본 연구에서는 IL-2, IL-4는 대조군과 폐결핵 환자에서 별다른 수치의 차이를 보이지 않았다. 결핵환자에서 IL-2의 병변에서의 국소적인 증가를 보고하는 결과들도 있으나 국소적 분비의 증가와 혈청내 농도와 항상 비례하지는 않았다<sup>33</sup>.

IL-12는 면역 반응의 초기에 주로 항원 제공세포와 결핵균에 감염된 대식세포에서 분비되어 T 림프구와 NK 세포에 작용하여 IFN- $\gamma$ 의 생성과 살균능을 강화시켜 항결핵 작용을 나타내며, 조력 T1 림프구로의 분화 및 증식을 촉진하여 세포 매개성 면역반응을 시작하게 하는 핵심적인 인자로 알려져 있다<sup>11,13-16</sup>. 본 연구결과에서는 대조군과 폐결핵균간의 차이를 보이지 않았으나, 기관지 결핵균이 대조군, 폐결핵균에 비해 높은 결과를 보였다. 경증군에 비해 중등증과 중증군의 분비가 약간 낮은 경향을 보였으며 다른 보고된 연구결과에서도 결핵 환자의 혈청 IL-12와 대조군의 농도의 차이는 없었으나 도말 검사상 양성을 보일수록 혈청농도가 낮은 결과를 보여서, 강양성의 도말검사를 군 부하수가 많은 중증으로 고려하면 IL-12의 혈청농도와와의 관련성을 제시할 수 있다<sup>11</sup>.

본 연구에서 기관지 결핵 환자군과 폐결핵 환자는 cytokine의 분비양상의 차이를 보였다. 기관지 결핵에서 폐결핵에 비해 IL-12(p40)의 분비는 증가되고 폐결핵과는 달리 IFN- $\gamma$ 의 증가를 볼 수 없었던 결과는 중증 폐결핵과 비교할 때 그 차이

가 더욱 뚜렷해지며 또한 중증 폐결핵에서 TNF- $\alpha$ 의 감소와 IL-6의 증가를 보이는 것과는 반대로 기관지 결핵에서는 TNF- $\alpha$ 가 증가되었고 IL-6는 변화가 없었다. 따라서 기관지 결핵의 병태생리가 폐결핵과는 차이가 있으며 여기에 IL-12와 IFN- $\gamma$  및 TNF- $\alpha$ 와 IL-6가 관여할 것으로 추정할 수 있다. 이렇게 다른 cytokine의 분비 양상이 결핵의 형태를 결정하는 요인이 되는 것인지, 결핵의 형태에 따른 결과인지는 확실하지 않으나, 결핵 감염 초기에는 결핵균의 침입으로 인한 숙주의 면역반응으로 cytokine이 분비되어 결핵의 형태 결정에 영향을 주고, 결핵 병변의 진행 과정에서는 숙주의 면역반응에 역으로 영향을 주어 cytokine의 분비양상의 변화를 초래하는 것으로 결과적으로는 양면을 다 가지고 있는 것으로 생각된다.

중증 폐결핵 환자에서 IFN- $\gamma$ 와 IL-6가 유의하게 증가하였고, 폐결핵 환자 45명에서 IL-6와 IFN- $\gamma$ 는 치료 후 2개월과 6개월에 항결핵제 치료 전과 비교하여 각각 통계적으로 유의하게 감소된 결과를 보였다. 흉부 방사선편적으로 중증균일수록 숙주내의 결핵균의 수가 많이 증식된 상태이며 면역반응의 정도가 투입된 결핵균의 양에 비례한다면, IFN- $\gamma$ 와 IL-6의 증가는 결핵균에 따른 체내 면역반응의 활성화를 보여주는 것으로 생각할 수 있다. 그러나 다른 연구에서는 경증균이 중증균에 비해 혈청내 IFN- $\gamma$ 가 높았고 중증균에서는 IL-10이 높아서 이를 세포 매개성 면역력이 경증균에서는 더 높게 보존되어 있고 중증균에서는 면역력 억제가 되어있다는 설명을 하는 보고도 있다<sup>9</sup>. 결핵 국소병변 단핵구의 cytokine 분비와 병변부위로 이동하지 않고 남아있는 말초혈액 단핵구에서 분비되는 cytokine의 농도는 다르며, 전신적인 면역을 반영하는 혈청내 농도와도 다른 경향을 보이기도 하고 또한 국소적인 분비농도가 증가한 cytokine이라도 혈청내에서 모두 높게 측정되지는 않는다. TNF- $\alpha$ 는 치료 후 감소하는 추세를 보였는데,

Hsieh 등<sup>10</sup>과 Kim 등<sup>34</sup>은 폐결핵 환자의 정기적인 혈청검사상 TNF- $\alpha$ 의 감소정도가 적을수록 치료 반응성이 적었다고 보고하였다. TGF- $\beta$ 는 치료 후 증가소견을 보여서, 결핵균에 대한 숙주의 방어기전의 완화와 cytokine간의 균형을 회복하는 것을 관찰할 수 있었다.

폐결핵 환자에서 치료전 측정된 proinflammatory cytokine인 IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  간에 강한 양의 상관관계를 보였고 IL-2, IL-4, IL-12 간에도 강한 양의 상관관계를 보였다. IL-1 $\beta$ 와 TNF- $\alpha$ 는 매우 강한 상관관계를 보였는데 ( $r=0.958$ ), 인체에서 결핵 감염 초기에 상호 촉진작용을 하는 것으로 알려져 있다<sup>21,24,29</sup>. IL-12는 조력 T1림프구로의 분화와 IL-2의 분비를 촉진하며 IL-4는 그와 반대의 작용을 한다. 따라서 IL-4와 IL-2, IL-4와 IL-12가 강한 상관관계를 보이는 것은 IL-2와 IL-12의 과도한 증가로 인한 조력 T1림프구 반응을 억제하려는 보상작용으로 생각할 수 있으며, IL-12의 IL-4에 대한 길항작용이 IL-4의 농도보다는 기능에 영향을 주리라고 추정해 볼 수 있다.

결핵 감염시 cytokine의 분비양상의 측정결과는 보고자들마다 차이를 보이며 cytokine의 절대수치 외에도 기능 및 수용체의 활성치등도 고려해야 하므로 임상적 유용성에 대한 제한점이 있는데 숙주 개체별 영양상태와 이차감염여부, 결핵의 중증도가 미치는 영향과 치료반응성에 대한 차이 등으로 설명해 볼 수 있다. 본 연구에서 TGF- $\beta$  등과 같이 정상 대조군에서도 0 pg/ml -2,000 pg/ml 까지 혈청 농도의 다양성이 큰 경우에는 임상적으로 사용하기 어려운 단점이 있다.

이상의 결과로 결핵의 병태생리에 있어서 여러 cytokine간의 균형과 조합의 변화가 숙주의 염증, 조직파괴 및 결핵의 중증도와 관련되어 있을 것으로 생각되지만 결핵의 행태나 면역반응 정도에 따른 다양성을 보여서 결과의 해석에 어려움이 있다.

결핵 환자에서 cytokine의 측정시 혈청내 농도를 측정하는 것이 용이하지만, cytokine는 국소적으로 분비되어 결핵 병변 부위에서는 증가되거나 전신적 순환계를 반영하는 혈청내 농도는 각기 다양성을 보이는 제한점이 있다. 본 연구 결과에 의하면 중증일수록 IFN- $\gamma$ 와 IL-6가 유의하게 증가하였고 항결핵제 치료 후, 치료 전과 비교해 본 결과에서 IL-6와 IFN- $\gamma$ 는 치료 후에 통계적으로 유의하게 감소되어 임상적으로 경과 판정에 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다. 현재는 면역학의 발달로 결핵의 예방과 치료에 새로운 방법을 모색하는 방안으로 cytokine의 network에 대한 연구가 활발하고 vaccine의 개발과 숙주의 방어기전을 증강시켜주는 면역치료에 대한 관심이 늘어나고 있으므로 결핵 환자에서 cytokine 측정의 임상적 이용에 대한 연구가 더욱 필요할 것으로 사료된다.

## 요 약

### 연구배경 :

결핵균 항원으로 세포 매개성 면역반응이 활성화되면 여러 종류의 cytokine이 분비되고 각기 다른 cytokine과 network system으로 작용하여 여러 병태생리적인 과정을 조절한다. 결핵 환자에서 염증반응, 조직파괴 및 질환의 중증도는 proinflammatory cytokine과 suppressive cytokine의 균형과 조합에 의하여 결정되며, 결핵 진행의 제한과 악화에 중요한 역할을 할 것으로 생각되고 있다. 따라서 결핵의 이환과정에서 cytokine의 분비 및 변화와 역할을 파악하는 것이 질환의 병태생리를 이해하는데 크게 도움이 될 수 있다.

### 대상 및 방법 :

활동성 폐결핵 83명, 기관지 결핵 10명의 치료전과 정상 대조군 20명에서 말초혈액을 채취하여 혈청을 분리하여  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였고, sandwich ELISA 방

법을 이용하여 혈청 IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12(p40), TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ 를 측정하였다. 폐결핵 환자 83명을 ATS guideline에 따라 중증도를 분류하였고, 추적관찰 중 탈락자를 제외한 45명에서 초치료 2개월과 6개월 후 각각 혈청 sIL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12(p40), TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ 를 재측정하였다.

### 결 과 :

1) IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ 는 폐결핵 환자에서 대조군에 비하여 증가된 경향을 보였고( $p>0.05$ ), IL-6는 폐결핵군에서 통계적으로 유의하게 증가되었다( $p<0.05$ ). TGF- $\beta$ 는 폐결핵과 기관지 결핵환자에서의 분비가 대조군에 비하여 감소된 경향을 보였으며( $p>0.05$ ), IL-2, IL-12(p40), IL-4, IL-10은 대조군과 폐결핵 환자에서 별다른 차이를 보이지 않았다. 2) 기관지 결핵 환자에서 IL-6, TNF- $\alpha$ 는 대조군에 비해 증가되고 TGF- $\beta$ 는 감소된 경향을 보였다( $p>0.05$ ). 폐결핵에 비해 IL-12(p40)의 분비는 증가된 경향을 보였다. 3) 결핵의 중증도가 심할수록 IFN- $\gamma$ 와 IL-6가 유의하게 증가하였고( $P<0.05$ ), 특히 중증군에서 현저하였다. 4) 폐결핵 환자에서 치료전 측정된 IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  간 및 IL-2, IL-4, IL-12 간에는 강한 양의 상관관계를 보였다( $p<0.01$ ). 5) 폐결핵 환자 45명에서 측정된 IL-6와 IFN- $\gamma$ 는 치료후 2개월과 6개월에 각각 통계적으로 유의하게 감소되었다( $p<0.05$ ).

### 결 론 :

이상의 결과로 결핵의 병태생리에 있어서 여러 cytokine간의 균형과 조합의 변화가 숙주의 염증, 조직파괴 및 결핵의 중증도와 관련되어 있을 것으로 생각되지만 결핵의 형태나 면역반응 정도에 따른 다양성을 보여서 결과의 해석과 cytokine 측정의 임상적 이용에 대한 연구가 더욱 필요할 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

1. Edwards D, Kirkpatrick CH. The immunology of mycobacterial diseases. *Am Rev Respir Dis* 1986;134:1062-71.
2. Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989;7:145-73.
3. Kaplan G, Freedman VH. The role of cytokines in the immune response to tuberculosis. *Res Immunol* 1996;147:565-72.
4. Seah GT, Scott GM, Book GA. Type 2 cytokine gene activation and its relationship to Extent of Disease in Patients with tuberculosis. *J Infect Dis* 2000;181:385-9.
5. Tsao TC, Hong J, Huang C, Yang P, Liao SK, Chang KS. Increased TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-6 levels in the bronchoalveolar lavage fluid with the upregulation of their mRNA in macrophages lavaged from patients with active pulmonary tuberculosis. *Tuber Lung Dis* 1999;79:279-85.
6. Barnes PF, Chatterjee D, Abrams JS, Lu S, Wang E, Yamamura M, et al. Cytokine production induced by *Mycobacterium tuberculosis* lipoarabinomannan. Relationship to chemical structure. *J Immunol* 1992;149:541-7.
7. 이숙영, 이상학, 신윤, 최지현, 현대성, 여동승, 김석찬, 문화식, 송정섭, 박성학. 활동성 폐결핵 환자에서 말초혈액 단핵구의 Th1 및 Th2 cytokine 분비양상. *대한내과학회지* 1999;56: 468-73.
8. Olobo JO, Geletu M, Demissie A, Eguale T, Hiwot K, Aderaye G, Britton S. Circulating TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , and IL-10 in tuberculosis patients and healthy contacts. *Scand J Immunol* 2001;53:85-91.
9. Dlugovitzky D, Torres-Morales A, Ratani L, Farroni MA, Largacha C, Moltenio, et al. Circulating profile of Th1 and Th2 cytokines in tuberculosis patients with different degrees of pulmonary involvement. *FEMS Immunol Med Microbiol* 1997;18:203-7.
10. Hsieh SM, Hung CC, Chen MY, Sheng WH, and Chang SC. Dynamics of plasma cytokine levels in patients with advanced HIV infection and active tuberculosis: implications for early recognition of patients with poor response to anti-tuberculosis treatment. *AIDS* 1999;13:935-41.
11. Verbon A, Juffermans N, van Deventer SJH, Speelman P, van Deutekom H, and van der Poll T. Serum concentrations of cytokines in patients with active tuberculosis(TB) and after treatment. *Clin Exp Immunol* 1999;115: 110-3.
12. American Thoracic Society. Diagnostic standards and classification of tuberculosis, 12th eds. New York. National Tuberculosis and Respiratory Disease Association 1969;68.
13. Manetti R, Parronchi P, Giudizi MG, Piccini MP, Maggi E, Trinchieri G, Romagnani S. Natural killer cell stimulatory factor(interleukin-12) induces T-helper type 1-specific immune responses and inhibits the development of IL-4 producing Th cells. *J Exp Med* 1993;177:1199-204.
14. Cooper AM, Kipnis A, Turner J, Magram J, Ferrante J, Orme IM. Mice lacking bioactive IL-12 can generate protective, antigen-specific cellular responses to mycobacterial

- infection only if the IL-12p40 subunit is present. *J Immunol* 2002;168:1322-7.
15. Holscher C, Atkinson RA, Arendse B, Brown N, Myburgh E, Alber G, Brombacher F. A protective and agonistic function of IL-12p40 in mycobacterial infection. *J Immunol* 2001;167:6957-66.
  16. Cooper AM, Roberts AD, Rhoades ER, Callahan JE, Getzy DM, Orme IM. The role of interleukin-12 in acquired immunity to *Mycobacterium tuberculosis* infection. *J Immunol* 1995;84:423-32.
  17. Muller KM, Jaunin F, Masouye I, Saurat JH, Hauser C. Th2 cells mediate IL-4 dependent local tissue inflammation. *J Immunol* 1993; 150:5576-84.
  18. Maggi E, Parronchi P, Manetti R, Simonelli C, Piccini MP, Rugiu FS, De Carli M, Ricci M, Romagnani S. Reciprocal regulatory effects of IFN- $\gamma$  and IL-4 on the in vitro development of human Th1 and Th2 clones. *J Immunol* 1992;148:2142-7.
  19. Kendall AS. Interleukin-2: Inception, Impact, and Implications. *Science* 1988;240: 1169-76.
  20. Flynn JL, Chan J, Triebold KJ, Dalton DK, Stewart TA, Bloom BR(1993), An essential role for interferon- $\gamma$  in resistance to *Mycobacterium tuberculosis* infection, *J Exp Med* 1993;178:2249-54.
  21. Hernandez-Pando R, Orozco H, Arriaga K, Sampieri A, Larriva-Sahd J, Madrid-Marina V. Analysis of the local kinetics and localization of interleukin-1 $\alpha$ , tumor necrosis factor- $\alpha$  and transforming growth factor- $\beta$  during the course of experimental pulmonary tuberculosis. *Immunology* 1997;90:607-17.
  22. Othieno C, Hirsch CS, Hamilton BD, Wilkinson K, Ellner JJ, Toossi Z. Interaction of *Mycobacterium tuberculosis*-induced transforming growth factor- $\beta$ 1 and interleukin-10. *Infect Immun* 1999;67:5730-5.
  23. Juffermans NP, Florquin S, Luisa Camoglio, A. Verbon, A.H. Kolk, P. Speelman, van Deventer SJH, van der Poll T. Interleukin-1 signaling is essential for host defense during murine pulmonary tuberculosis. *J Infect Dis* 2000;182:902-8.
  24. Junming Le, Jan Vilcek. Tumor necrosis factor and interleukin-1: Cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest* 1987;56:234-48.
  25. Ladel CH, Blum C, Dreher A, Reifenberg K, Kopf M, Kaufmann SH. Lethal tuberculosis in interleukin-6-deficient mice. *Infect Immun* 1997;65:4843-9.
  26. Hernandez-Pando R, Rook GAW. The role of TNF- $\alpha$  in T-cell mediated inflammation depends on the Th1/Th2 cytokine balance. *Immunology* 1994;82:591-5.
  27. Foley M, Lambert C, McNicol M, Johnson NML, Rook GAW. An inhibitor of the toxicity of tumor necrosis factor in the serum of patients of sarcoidosis, tuberculosis and Crohn's disease. *Clin Exp Immunol* 1990;80: 395-9.
  28. Kindler V, Shappino AP, Grau GE, Pignet PF, Vassali P. The inducing role of tumor necrosis factor in the development of bacterial granulomas during BCG infection. *Cell* 1989;56:731-40.
  29. Steven LK, Stephen WC, Robert MS, Joseph PL, Daniel GR. Cellular and molecular

- aspects of granulomatous inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1989;1:439-47.
30. Chantry D, Turner M, Abney A, Feldman M. Modulation of cytokine production by transforming growth factor- $\beta$ . *J Immunol* 1989; 142:4295-300.
31. Dai G, McMurray DN. Effects of modulating TGF- $\beta$ 1 on immune responses to mycobacterial infection in Guinea pigs. *Tuber Lung Dis* 1999;79:207-14.
32. Moore KW, O'Garra A, de Waal Mlefyt R, Vicira P, Mosmann TR. Interleukin-10, *Ann Rev Immunol* 1993;11:165-90.
33. Victoria S, William NR, Kendall AS, Eliazabeth PS, Peter AM, Jane MT, Zanvil AC, Kaplan G. Cytokine gene activation and modified responsiveness to interleukin-2 in the blood of tuberculosis patients. *J Infect Dis* 1993;168:1056-9.
34. Kim SJ, Kim HI, Lee YH, Kim SK. Production of tumor necrosis factor- $\alpha$  by alveolar macrophages from patients with pulmonary tuberculosis. *J Korean Med Sci* 1991;6:45-53.
-