

HIV 감염 환자에서 질병 경과 평가를 위한 혈액학적 지표들의 유용성

The Usefulness of Hematological Parameters for Assessing Disease Progression in Patients with HIV Infection

김현진¹ · 박영춘² · 구선희¹ · 권계철¹ · 김연숙³ · 손경목³ · 김지명¹

Hyun Jin Kim, M.D.¹, Yeongchun Park, M.D.², Sun Hoe Koo, M.D.¹, Gye Cheol Kwon, M.D.¹, Yeon-Sook Kim, M.D.³, Kyung Mok Sohn, M.D.³, Jimyung Kim, M.D.¹

충남대학교병원 진단검사의학과¹, 대청병원 진단검사의학과², 충남대학교병원 감염내과³

Department of Laboratory Medicine¹, Chungnam National University Hospital, Daejeon; Department of Laboratory Medicine², Dae Cheong Hospital, Daejeon; Division of Infectious Disease³, Department of Internal Medicine, Chungnam National University Hospital, Daejeon, Korea

Background: In patients with HIV, CD4⁺ T cell count and viral load are the main laboratory tests performed to assess clinical management. However, they require extensive resources. In this study, we aimed to determine whether hematological parameters measured using a hematology analyzer are useful as surrogate markers of CD4⁺ T cell count and viral load in HIV-infected patients.

Methods: Peripheral blood samples were obtained from 14 HIV-naïve, 105 HIV-treated, and 103 uninfected individuals. Hematological parameters were measured using the ADVIA 2120i hematology analyzer (Siemens Healthcare Diagnostics, USA).

Results: In HIV-naïve and -treated patients, the percentage of large unstained cells (%LUCs) was $2.5 \pm 1.6\%$ and $1.9 \pm 0.7\%$, respectively, compared to $1.6 \pm 0.5\%$ in HIV-uninfected controls. The %LUCs was higher in HIV patients with low CD4⁺ T cell count below 200/ μ L ($2.4 \pm 1.0\%$) or high viral load ≥ 200 copies/mL ($2.4 \pm 0.8\%$) than in other infected groups. Significant differences in lymphocyte count were observed between the HIV-naïve ($1.5 \pm 0.6 \times 10^9$ /L) and uninfected ($2.0 \pm 0.6 \times 10^9$ /L) groups as well as between HIV patients with CD4⁺ T cells ≥ 500 / μ L ($2.5 \pm 0.6 \times 10^9$ /L) and other infected groups. Neutrophil count varied between high viral load ($3.0 \pm 1.4 \times 10^9$ /L) and low viral load ($3.7 \pm 1.3 \times 10^9$ /L) groups. The CD4⁺ T cell count correlated with lymphocyte count ($r=0.642$, $P<0.0001$) and %LUCs ($r=-0.287$, $P=0.002$).

Conclusions: %LUCs, lymphocyte count, and neutrophil count are probable surrogate markers of CD4⁺ T cells and viral load.

Key Words: Large unstained cells, Hematological parameters, HIV, Antiretroviral therapy, CD4⁺ cell count, Viral load

서 론

사람면역결핍바이러스(human immunodeficiency virus, HIV) 감염 환자에서 항레트로바이러스 치료요법(antiretroviral therapy,

ART)은 후천면역결핍증후군과 관련된 사망률과 이환율을 효과적으로 낮춰왔으며 CD4⁺ T 세포수와 HIV 바이러스의 양은 HIV 감염 환자에서 독립적인 예후 인자로서 HIV 감염의 진행 경과를 추적하는 지표로 사용되어 왔다[1, 2].

만성 면역 활성화는 HIV 감염의 경과를 진행시키는 중요한 요인 중의 하나로 제시되는데 HIV 감염에서는 면역 활성화, 즉 T 세포의 활성화가 바이러스에 대한 방어 작용이 아니라 질병의 진행을 유발하는 역설적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다[2-5]. 이전의 보고[5, 6]에 의하면 원숭이 동물 실험에서 강한 T 세포의 활성화는 CD4⁺ T 세포수 감소와 관련되었으며 적절한 ART 치료 후에도 잔존하는 바이러스 단백질과 비특이적인 사이토카인 등에 의해 면역 활성화가 지속될 수도 있다고 하였다.

현재 HIV 감염 환자에서 CD4⁺ T 세포수와 HIV 바이러스의 양은 ART 전후의 경과를 예측하는 주요 지표로 추적 검사되는데 반해 면역 활성화 상태는 검사되지 않지만 면역 활성을 반영하는 다양

Corresponding author: Jimyung Kim

Department of Laboratory Medicine, Chungnam National University Hospital, 282 Moonhwa-ro, Joong-gu, Daejeon 35015, Korea
Tel: +82-42-280-7998, Fax: +82-42-257-5365, E-mail: jmkim@cnuh.co.kr

Received: October 16, 2015

Revision received: April 5, 2016

Accepted: April 29, 2016

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

© 2017, 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.

한 혈청 표지자 및 세포 표지자가 HIV 감염에서도 평가되어 왔다. 그 대표적인 표지자로는 인터루킨-2, 인터루킨-6, C 반응단백 및 CD8⁺ T 세포 중 CD38의 발현 비율(%) 등이 있다[4]. 특히, T 세포의 활성화 정도를 반영하는 세포 표지자인 CD8⁺ T 세포 중 CD38의 발현 비율은 바이러스의 양과 독립적으로 감염 환자에서 질병의 진행과 관련되었다고 보고되었다[7, 8]. 그러나, 기존의 세포 활성화에 대한 검사는 비용적인 부담이 있거나 수행 과정이 기술적으로 복잡한 제한점이 있어 CD4⁺ T 세포수와 HIV 바이러스의 양을 보완하는 검사로 활용되기 위해서는 편리하고 쉽게 이용 가능한 지표들이 요구되고 있다.

최근 Vanker 등[4]은 백혈구 중 large unstained cells (LUCs)의 백분율이 ART를 받지 않은 HIV 감염 환자에서 비감염자에 비해 유의하게 높으며 세포 활성화 표지자인 CD8⁺ T 세포 중 CD38의 발현 비율뿐 아니라 CD4⁺ T 세포수와 상관관계를 나타냄을 보고하여 LUCs 백분율이 면역 활성을 반영하는 표지자로서 가능성을 가짐을 제안하였다. LUCs 백분율은 Siemens사의 자동혈구분석기에서 도출되는 특이적인 백혈구 백분율 항목 중 하나로 LUCs는 골수 세포형 과산화효소염색에 음성을 나타내며, 백혈구 감별계산에서 백혈구의 다른 분류에 맞지 않는 세포들을 의미한다. 일반적으로 바이러스에 의해 활성화된 림프구, 형질세포, 모발세포, 소아의 림프구, 모세포, 그리고 조혈모세포 등이 이에 포함된다고 한다[9, 10].

본 저자들은 자동혈구분석기에 의해 측정되는 LUCs 백분율을 포함한 여러 혈액학적 지표들이 초진단 시의 HIV 감염 환자 및 항바이러스제 치료를 받고 있는 환자에서 비감염자와 유의한 차이를 나타내는지 분석하였다. 또한, 혈액학적 지표들이 HIV 감염 환자에서 기존의 지표인 CD4⁺ T 세포수나 HIV 바이러스의 양과 관련되는지 평가하였다. 이를 통해 자동혈구분석기에 의해 측정된 혈액학적 지표들이 HIV 감염 환자의 질병 경과와 예후를 예측하기 위한 지표로서 유용성이 있는지 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2014년 4월부터 7월까지 내원한 105명의 ART를 받고 있는 HIV 감염을 가진 성인 환자(남 93명, 여 12명; 평균연령 44.1 ± 13.6 세), 14명의 치료를 시작하지 않은 HIV 감염 환자(남 14명; 평균연령 38.4 ± 12.5 세), 연령과 성별을 고려한 103명의 HIV 비감염 성인(남 91명, 여 12명; 평균연령 43.1 ± 11.5 세)을 대상으로 하였다.

2. 혈액학적 검사

EDTA 항응고제를 사용하여 채혈한 정맥혈 검체는 자동혈구분석기인 ADVIA 2120 system (Siemens Healthcare Diagnostics, Deer-

field, MA, USA)을 통해 백혈구 감별계산을 포함한 전혈구수 계산을 시행하였으며 채혈 후 4시간 이내에 검사를 완료하였다.

CD4⁺ T 세포수와 HIV 바이러스 정량검사는 HIV 감염 환자의 검체에 대해서만 내원 시와 3-6개월 후 추적 관찰 시 2차례 시행하였다. CD4⁺ T 세포수는 ADVIA 2120에서 측정된 림프구수와 유세포분석기에서 측정된 CD4⁺ T 세포의 백분율로부터 계산하였다. CD4⁺ T 양성 세포의 백분율은 헤파린을 항응고제로 하여 얻은 정맥혈 검체를 CD3-fluorescein-isothiocyanate (FITC), CD4-phycoerythrin (PE), CD8-PE의 단클론성 항체(Beckman Coulter, Marseille, France)를 이용하여 2색 분석법으로 측정하였으며 유세포분석기인 FC500 (Beckman Coulter)으로 분석하였다. 검체의 수집부터 결과 도출까지는 6시간 내 완료하였다.

HIV-1 RNA 정량검사는 EDTA 항응고제와 혼합한 정맥혈 검체로부터 혈장을 분리하여 CFX96 Real Time PCR 분석기(BioRad, Hercules, CA, USA)를 통해 실행하였으며 이 때 최소 검출 한계는 20 copies/mL이었다. 감염군의 정량검사에서 검출 한계 미만인 경우 바이러스의 양은 20 copies/mL로 간주하였다.

3. 통계학적 분석

비교 대상군 간 연속변수의 비교는 Student *t*-test나 Mann-Whitney U-test 및 Kruskal-Wallis test를, 빈도 비교는 chi-square test와 Fisher's exact test를 이용하였다. HIV 감염 환자들에서 혈액학적 지표들과 CD4⁺ T 세포수 간의 상관관계는 Spearman 상관계수를 이용하여 분석하였다. 통계 분석은 Analyse-it version 3.76 (Analyse-It Software, Leeds, England)를 이용하였으며, *P*값이 0.05 미만인 경우 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 감염 및 치료 여부에 따른 비교군간 혈액학적 지표, CD4⁺ T 세포수 및 바이러스의 양

HIV 비감염군, ART 치료중인 HIV 감염군 및 치료 전의 HIV 감염군 간에 혈액학적지표를 비교한 결과 림프구수와 LUCs 백분율은 세 군간 유의한 차이를 보였으나 혈색소, 백혈구수, 호중구수, 혈소판수는 차이가 없었다. 림프구수의 경우 ART 치료 전의 HIV 감염군은 $1.5 \pm 0.6 \times 10^9/L$ 로 비감염군($2.0 \pm 0.6 \times 10^9/L$) 및 ART 치료중인 감염군($2.0 \pm 0.8 \times 10^9/L$)에 비해 유의하게 낮았다($P=0.003$, $P=0.012$). 그러나, ART 치료중인 감염군의 림프구수는 비감염군과 차이가 없었다. 또한 LUCs 백분율에 있어서도 HIV 감염군($2.0 \pm 0.8\%$)이 HIV 비감염군($1.6 \pm 0.5\%$)에 비해 유의하게 높았으며($P=0.0008$), ART 치료 여부에 관계없이 ART 치료 전의 HIV 감염군($2.5 \pm 1.6\%$)과 치료중인 HIV 감염군($1.9 \pm 0.7\%$) 모두 비감염군

에 비해 높았다($P<0.0001$, $P=0.002$). 감염군 내에서도 ART 치료 전의 감염군이 치료중인 감염군에 비해 LUCs 백분율이 유의하게 높았다($P=0.012$).

ART 치료 전 감염군의 CD4⁺ T 세포수는 치료 중 감염군에 비해 유의하게 낮았으며 바이러스의 양은 치료 중 감염군 105명 중 31명에서만 검출 한계인 20 copies/mL 이상으로 검출되어 치료 중 감염군에서 바이러스의 양은 치료 전 감염군에 비해 유의하게 낮았다(Table 1).

2. ART 치료중인 HIV 감염군에서 CD4⁺ T 세포수에 따른 혈액학적 지표 및 바이러스의 양

ART치료 중인 HIV 감염환자를 CD4⁺ T 세포수에 따라 CD4 T1군(CD4⁺ T 세포수 <200/μL), CD4 T2군(200/μL ≤ CD4⁺ T세포수 <500/μL), CD4 T3군(CD4⁺ T세포수 ≥500/μL)으로 나누어 혈액학적 지표를 비교한 결과 혈색소치, 백혈구수, 림프구 및 LUCs 백분율만 비교군 간 차이를 나타냈다.

혈색소는 CD4⁺ T 세포수가 200/μL 미만으로 매우 낮은 CD4 T1군에서 CD4 T2군 및 CD4 T3군에 비해 유의하게 낮았으나($P=0.002$, $P=0.003$), CD4 T2군과 CD4 T3군 간에는 차이가 없었다. LUCs 백분율도 CD4 T1군에서 CD4 T2군 및 CD4 T3군에 비해 유의하게 높았으나($P=0.008$, $P=0.001$), CD4 T2군과 CD4 T3군 간에는 차이가 없었다.

백혈구수는 CD4⁺ T 세포수가 500/μL 미만으로 낮은 CD4 T1군 및 CD4 T2군에서 CD4⁺ T 세포수가 500/μL 이상으로 높은 CD4 T3군에 비해 유의하게 낮았으며($P=0.003$, $P=0.002$), 림프구수도 CD4 T1군 및 CD4 T2군에서 CD4 T3군에 비해 유의하게 낮았다

Table 1. Clinical characteristics and laboratory findings among HIV-treated, -naïve, and uninfected groups

	HIV-uninfected (N = 103)	HIV-treated (N = 105)	HIV-naïve (N = 14)	P value
Male:Female	91:12	93:12	14:0	0.404
Age (yr)	43.1 ± 11.5	44.1 ± 13.6	38.4 ± 12.5	0.315
Hb (g/dL)	15.1 ± 1.1	14.7 ± 1.7	14.0 ± 1.9*	0.071
Leukocyte count (×10 ⁹ /L)	6.0 ± 1.5	6.3 ± 1.8	5.6 ± 1.5	0.181
ANC (×10 ⁹ /L)	3.3 ± 1.2	3.6 ± 1.4	3.5 ± 1.5	0.251
ALC (×10 ⁹ /L)	2.0 ± 0.6	2.0 ± 0.8	1.5 ± 0.6**†	0.011
LUCs (%)	1.6 ± 0.5	1.9 ± 0.7*	2.5 ± 1.6**†	0.005
Platelet count (×10 ⁹ /L)	239.0 ± 44.5	227.4 ± 72.1	224.5 ± 76.8	0.162
CD4 ⁺ T cell count (/μL)		496.1 ± 289.2	283.1 ± 181.8	0.006
HIV viral load (×10 ³ copies/mL)		23.0 ± 142.1	77.6 ± 297.8	<0.0001

Data are presented as mean ± SD.

*P value <0.05 compared to HIV uninfected group; †P value <0.05 compared to HIV in treatment group.

Abbreviations: ANC, absolute neutrophil count; ALC, absolute lymphocyte count; LUCs, large unstained cells.

($P<0.0001$, $P<0.0001$). 그러나, CD4 T2군과 CD4⁺ T 세포수가 보다 낮은 CD4 T1군 간에는 통계학적인 차이가 없었으며 호중구수도 CD4 T1군에서 CD4 T3군에 비해 낮은 경향을 보였으나 유의하지 않았다($P=0.066$).

바이러스의 양은 CD4⁺ T 세포수가 500/μL 미만으로 낮은 CD4 T1군 및 CD4 T2군에서 CD4⁺ T 세포수가 500/μL 이상으로 높은 CD4 T3군에 비해 유의하게 높았으나($P<0.0001$, $P=0.0001$), CD4 T1군 및 CD4 T2군 간에는 유의한 차이가 없었다($P=0.154$) (Table 2).

CD4⁺ T 세포수에 따른 차이를 나타낸 백혈구수, 림프구수 및 LUCs 백분율이 낮은 CD4⁺ T 세포수(<200/μL)를 가진 환자를 감별함에 있어 유용한지 보기 위해 백혈구수와 림프구수는 각각 정상 하한치인 4,000/μL, 1,500/μL를, LUCs 백분율은 비감염군에서 95% 참고범위의 상한치인 2.4%를 적용하여 민감도와 특이도를 분석한 결과 민감도(38.9-61.1%)에 비해 특이도(82.8-96.6%)가 높았으며 세 표지자 간 AUC의 차이는 없었다.

3. ART 치료중인 HIV 감염군에서 HIV 바이러스 양에 따른 혈액학적 지표와 CD4⁺ T 세포수

ART치료 중인 HIV 감염환자에서 치료 실패의 기준[11]인 HIV RNA 200 copies/mL를 차용하여 HIV RNA 양에 따라 HIV T1군(HIV RNA ≥200 copies/mL)과 HIV T2군(HIV RNA <200 copies/mL)으로 분류하고 비교군간 혈액학적 지표를 비교한 결과 낮은 CD4⁺ T 세포수를 가진 군에서 유의하게 낮았던 혈색소와 림프구수는 HIV RNA 양에 따른 비교군 간 차이가 없었다. 그러나 백혈구수는 200 copies/mL 이상의 HIV RNA를 가진 HIV T1군에서 유의하게 낮았으며 LUCs 백분율도 HIV T1군에서 유의하게 높아 CD4⁺ T 세포수뿐만 아니라 HIV RNA 양에 따른 비교군 간 차이가 유지

Table 2. Hematological parameters and HIV viral load among groups according to the CD4⁺ T cell count in HIV-treated patients

	CD4 ⁺ T cell count (/μL)			P value
	<200 (N = 18)	200-499 (N = 38)	≥500 (N = 49)	
Hb (g/dL)	13.8 ± 1.1**†	15.0 ± 1.6	14.9 ± 1.8	0.004
Leukocyte count (×10 ⁹ /L)	5.4 ± 2.6*	6.0 ± 1.5*	7.0 ± 1.4	0.0005
ANC (×10 ⁹ /L)	3.4 ± 2.0	3.5 ± 1.3	3.7 ± 1.2	0.139
ALC (×10 ⁹ /L)	1.3 ± 0.9*	1.7 ± 0.5*	2.5 ± 0.6	<0.0001
LUCs (%)	2.4 ± 1.0**†	1.8 ± 0.7	1.8 ± 0.5	0.003
Platelet count (×10 ⁹ /L)	222.4 ± 119.7	216.5 ± 68.4	237.6 ± 48.9	0.091
HIV viral load (×10 ³ copies/mL)	93.9 ± 314.5*	14.0 ± 50.7*	0.4 ± 2.8	<0.0001

Data are presented as mean ± SD.

*P value <0.05 compared to group with CD4⁺ T cells ≥500/μL; †P value <0.05 compared to group with CD4⁺ T cells between 200/μL to 499/μL.

Abbreviations: ANC, absolute neutrophil count; ALC, absolute lymphocyte count; LUCs, large unstained cells.

Table 3. Hematological parameters and CD4⁺ T cell count between groups according to the HIV viral load in HIV-treated patients

	HIV viral load (copies/mL)		P value
	≥ 200 (N = 17)	< 200 (N = 88)	
Hb (g/dL)	14.4 ± 1.7	14.8 ± 1.7	0.253
Leukocyte count(×10 ⁹ /L)	5.6 ± 2.1	6.5 ± 1.7	0.025
ANC (×10 ⁹ /L)	3.0 ± 1.4	3.7 ± 1.3	0.005
ALC (×10 ⁹ /L)	1.7 ± 0.7	2.1 ± 0.8	0.086
LUCs (%)	2.4 ± 0.8	1.8 ± 0.7	0.001
Platelet count (×10 ⁹ /L)	197.6 ± 91.2	228.2 ± 74.1	0.146
CD4 ⁺ T cell count (/μL)	236.6 ± 154.2	542.7 ± 283.5	0.0002

Data are presented as mean ± SD.

Abbreviations: ANC, absolute neutrophil count; ALC, absolute lymphocyte count; LUCs, large unstained cells.

되었다. 반면 CD4⁺ T 세포수에 따른 비교군간 차이가 없었던 호중구수는 200 copies/mL 이상의 HIV RNA를 가지는 HIV T1군에서 HIV T2군에 비해 유의하게 낮았다.

림프구 중 CD4⁺ T 세포수는 200 copies/mL 이상의 HIV RNA를 가진 HIV T1군에서 HIV T2군에 비해 유의하게 낮았으며 혈소판수는 두 군 간 차이가 없었다(Table 3).

바이러스의 양이 200 copies/mL 이상인 환자를 감별함에 있어 바이러스의 양에 따른 차이를 나타낸 백혈구수, 호중구수 및 LUCs 백분율의 유용성을 보기 위해 백혈구수와 호중구수는 정상 참고치의 하한치를, LUCs 백분율은 정상 참고치의 상한치를 적용하여 민감도와 특이도를 분석한 결과 민감도(17.7-47.1%)에 비해 특이도(85.2-93.2%)가 높았으며 세 표지자간 AUC의 차이는 없었다.

4. 질병 활성도 지표와 혈액학적 지표간 상관성

감염군에서 기존의 질병 활성도 지표인 CD4⁺ T 세포 및 바이러스의 양과 LUCs 백분율을 포함한 혈액학적 지표간의 상관관계를 분석했을 때, CD4⁺ T 세포수는 백혈구수 및 림프구수와 중등도의 양의 상관성을 나타냈으며($r=0.448$, $r=0.642$) LUCs 백분율과는 약한 역의 상관관계를 보였다. 반면 바이러스의 양은 백혈구수 및 림프구수와 약한 역의 상관성을 나타냈으나($r=-0.184$, $r=-0.199$) LUCs 백분율과는 상관성이 없었다(Table 4).

고 찰

자동혈구분석기에서 도출되는 새로운 분석 지표 중 하나인 LUCs는 지멘스의 장비에서 백혈구의 형태학적 분석 과정 중 분류되는 크기가 큰 과산화효소음성 세포로 알려져 있으며 혈액학적 종양질환에서 진단 및 예후와 관련되는 것으로 보고되어 왔다[12, 13].

또한 바이러스 감염[14]에서도 LUCs의 유용성이 연구되어 왔는데 바이러스 감염에서 LUCs가 증가하는 것은 바이러스에 의한 림

Table 4. Correlation between hematological parameters and established markers in 119 patients with HIV

		R	P value
CD4 ⁺ T cell count	Hb	0.140	0.128
	Leukocyte count	0.448	<0.0001
	ANC	0.165	0.073
	ALC	0.642	<0.0001
	Platelet count	0.167	0.070
	LUCs	-0.287	0.002
HIV viral load	Hb	-0.119	0.167
	Leukocyte count	-0.184	0.045
	ANC	-0.093	0.313
	ALC	-0.199	0.030
	Platelet count	0.005	0.958
	LUCs	0.115	0.213

Abbreviations: ANC, absolute neutrophil count; ALC, absolute lymphocyte count; LUCs, large unstained cells.

프구의 활성에 기인하는 것으로 추측되며 최근 Shin 등[15]은 수도 감염에서의 진단적 유용성을 보고하였다.

후천면역결핍증후군은 HIV에 의한 바이러스 감염질환이며 이전의 한 연구에서 LUCs 백분율이 항바이러스제 치료를 받기 전의 HIV 감염 환자군과 비감염군 사이에 유의한 차이가 있다고 하였다[4]. 본 연구에서도 환자 수가 많지 않았음에도 ART 치료를 받기 전의 HIV 감염 환자군의 LUCs 백분율은 $2.5 \pm 1.6\%$ 로 HIV 비감염자군 보다 현저히 높아 이전의 보고와 일치하였으며 ART 치료 중인 HIV 감염 환자군도 비감염자군과 비교하여 LUCs 백분율이 유의하게 높았다. 또한, LUCs 백분율은 ART 치료 중인 감염군에 비해 초진단 감염군에서 유의하게 높았으며 치료군 중 CD4⁺ T 세포수가 200/μL 미만으로 매우 낮거나 200 copies/mL 이상의 HIV RNA가 지속적으로 검출되는 감염군에서 비교군에 비해 유의하게 높았는데 이는 LUCs 백분율이 HIV 감염에서 림프구 활성도를 반영하며 치료 반응과 관련될 수 있음을 시사하는 것이다.

혈액학적 표지자를 HIV 감염군에서 평가한 이전 보고에 의하면 혈색소는 CD4⁺ T 세포수가 낮은 HIV 감염군에서 유의하게 낮아 감염 진행의 예후 인자로 제시되었으며 CD4⁺ T 세포수 및 바이러스의 양과는 독립적으로 환자의 예후를 예측할 수 있는 지표가 된다고 하였다[16, 17]. 림프구수도 CD4⁺ T 세포수를 반영하는 표지자로 항바이러스 치료 후 추적 관찰시 유용하다고 보고되었다[18]. 본 연구에서도 혈색소와 림프구수는 초진단 감염군에서 낮았을 뿐 아니라 치료군에서도 CD4⁺ T 세포수 200/μL 미만 치료군이 500/μL 이상 치료군에 비해 낮은 혈색소와 림프구수를 보여 CD4⁺ T 세포수와 관련되었다.

낮은 CD4⁺ T 세포수를 가진 HIV 치료군에서 혈색소 및 림프구수의 감소 원인에 대해서는 아직까지도 명확히 밝혀지지 않았으나 혈색소 감소는 erythropoietin 합성의 변화나 ART 부작용, 골수 억제 등이 원인으로 추측되고 있다[17]. 특히, 혈색소가 CD4⁺ T 세포

수 200/ μ L 미만 치료군에서 낮았으나 CD4⁺ T 세포수와 유의한 상관성을 보이지 않은 점은 혈색소 감소에 CD4⁺ T 세포수 감소와는 다른 기전이 작용함을 시사한다.

림프구수의 감소는 면역 체계의 만성적인 활성화에 의한 CD4⁺ T 세포의 세포 예정사[19]로 인한 CD4⁺ T 세포수 변화의 영향이라고 판단되며 특히, 백혈구수도 치료군에서 CD4⁺ T 세포수가 500/ μ L 이상인 환자에 비해 500/ μ L 미만인 환자에서 낮았다는 것은 CD4⁺ T 세포수 변화가 림프구수 및 백혈구수의 변화로 이어졌을 가능성을 제시한다.

바이러스 핵산량 200 copies/mL를 기준으로 바이러스의 양에 따른 혈액학적 지표를 평가했을 때 낮은 CD4⁺ T 세포수와 유의하게 관련되었던 백혈구수와 LUCs 백분율은 200 copies/mL 이상의 치료 실패군에서 비교군과 차이를 보인 반면, 림프구수는 바이러스의 양에 따른 차이가 없었고 낮은 CD4⁺ T 세포수와 유의하게 관련되지 않았던 호중구수가 치료 실패군에서 낮았다.

호중구감소증은 HIV 감염 환자에서 10-50%까지 다양하게 보고되며 조혈 전구세포나 조혈 인자에 대한 바이러스의 직간접적인 작용이 관련된다고 한다. Levine 등[20]은 호중구감소증의 발생은 낮은 CD4⁺ T 세포수 및 높은 바이러스 핵산량과 연관된다고 보고하였으며 본 연구에서도 호중구수는 통계학적으로 유의하지 않았으나 낮은 CD4⁺ T 세포수를 가진 감염군에서 비교적 낮고 바이러스의 양이 200 copies/mL 이상인 감염군에서는 유의하게 낮았다. 이는 기존의 표지자인 CD4⁺ T 세포수 및 바이러스의 양의 악화가 호중구감소증과 관련될 수 있음을 뒷받침하는 것이다.

백혈구수와 LUCs 백분율은 HIV RNA 200 copies/mL 초과군에서 비교군과 차이를 보였는데 해당군의 환자 모두에서 CD4⁺ T 세포수도 500/ μ L 미만으로 낮았다. 이를 감안할 때 낮은 CD4⁺ T 세포수가 백혈구수의 감소 및 LUCs 백분율의 상승에 영향을 미쳤으며 바이러스의 양이 직접적으로 두 혈액학적 표지자에 반영된 것은 아니라고 추측하였다.

질병 경과를 반영하는 기존의 지표인 CD4⁺ T 세포수 및 바이러스의 양과 혈액학적 지표간의 상관성을 분석한 이전의 연구[10]는 치료 전의 감염군에서 백혈구수, 호중구수, 림프구수 및 LUCs 백분율이 바이러스의 양과는 상관관계를 보이지 않았지만 CD4⁺ T 세포수와는 유의한 상관관계를 보였다고 보고하였다. 치료 중인 감염군도 포함된 본 연구에서는 백혈구수와 림프구수가 CD4⁺ T 세포수와 유의한 양의 상관성을 보였으며 LUCs 백분율도 CD4⁺ T 세포수와 약한 역의 상관성을 나타냈으나 호중구수는 약한 양의 경향성만을 보였다. 특히, 림프구수가 CD4⁺ T 세포수와 상관성이 우수하였는데 이는 최근의 연구 결과와 유사하였다[21, 22].

이전 보고와는 달리 백혈구수와 림프구수는 바이러스의 양과도 약한 역의 상관성을 보였는데 이는 CD4⁺ T 세포수와 바이러스

의 양간의 상관성($r=-0.255$, $P=0.005$)으로 인해 두 혈액학적 표지자가 바이러스 양과 관련되는 것으로 반영되었다고 사료된다.

결론적으로, LUCs 백분율은 HIV 감염 초기환자에서 증가하며 ART 치료 후에는 낮은 CD4⁺ T 세포수나 높은 바이러스 핵산량을 나타내는 환자에서 높게 유지되었다. 또한 CD4⁺ T 세포수는 림프구수와 유의하게 상관성을 나타내었으며 높은 바이러스 핵산량은 호중구수의 감소와 관련되었다. 그러므로 LUCs 백분율, 림프구수 및 호중구수의 혈액학적 지표는 CD4⁺ T 세포수와 바이러스정량검사가 용이하지 않은 경우 면역 활성화와 질병 활성도를 반영할 수 있는 보완적인 표지자로 활용 가능하다고 사료된다.

요 약

배경: 인간면역결핍바이러스(HIV) 감염 환자들에서 CD4⁺ T 세포수와 바이러스 핵산량은 임상 경과를 반영하는 주요 검사이지만 검사 수행 자원을 필요로 한다. 본 저자들은 자동혈구분석기로 측정되는 혈액학적 지표가 HIV 감염 환자에서 CD4⁺ T 세포수와 바이러스 핵산량을 반영하는 인자로서 유용한지 평가하고자 하였다.

방법: 말초 혈액 검체를 치료를 받지 않은 HIV 신환 감염자 14명, ART 치료 중인 HIV 감염환자 105명, 비감염대조자 103명으로부터 수집하였다. 혈액학적 지표는 자동혈구분석기인 ADVIA 2120i (Siemens Healthcare Diagnostics, USA)로 측정하였다. HIV 감염 환자에서는 CD4⁺ T 세포수와 바이러스 핵산량을 검사하였다.

결과: HIV 신환 감염군과 치료 중인 감염군에서 large unstained cells의 백분율(%LUCs)은 각각 $2.5 \pm 1.6\%$, $1.9 \pm 0.7\%$ 로 비감염대조군의 $1.6 \pm 0.5\%$ 에 비해 높았으며 낮은 CD4⁺ T 세포수($<200/\mu$ L) 혹은 높은 바이러스 핵산량(≥ 200 copies/mL)을 나타내는 HIV 감염군에서 %LUCs는 2.4 ± 1.0 , 2.4 ± 0.8 로 다른 감염군에 비해 높았다. 림프구수는 비감염 대조군($2.0 \pm 0.6 \times 10^9/L$)과 신환 감염군($1.5 \pm 0.6 \times 10^9/L$)간에 유의한 차이를 보였으며 500/ μ L 이상의 CD4⁺ T 세포수를 가진 HIV 감염군($2.5 \pm 0.6 \times 10^9/L$)과 다른 감염군 간에도 차이를 나타냈다. 호중구수는 높은 바이러스 핵산량의 감염군($3.0 \pm 1.4 \times 10^9/L$)과 낮은 바이러스 핵산량의 감염군($3.7 \pm 1.3 \times 10^9/L$) 간에 차이를 나타냈다. CD4⁺ T 세포수는 림프구수($r=0.642$, $P<0.0001$) 및 %LUCs ($r=-0.287$, $P=0.002$)와 상관성을 보였다.

결론: %LUCs, 림프구수 및 호중구수는 HIV 감염 환자에서 면역결핍과 질병 경과를 추적 관찰하는 데 이용되는 CD4⁺ T 세포수와 바이러스 핵산량을 반영하는 인자로서의 가능성을 가진다.

REFERENCES

1. Deeks SG. Immune dysfunction, inflammation, and accelerated aging

- in patients on antiretroviral therapy. *Top HIV Med* 2009;17:118-23.
2. Ipp H, Zemlin AE, Erasmus RT, Glashoff RH. Role of inflammation in HIV-1 disease progression and prognosis. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2014; 51:98-111.
3. Haas A, Zimmermann K, Oxenius A. Antigen-dependent and -independent mechanisms of T and B cell hyperactivation during chronic HIV-1 infection. *J Virol* 2011;85:12102-13.
4. Vanker N and Ipp H. Large unstained cells: a potentially valuable parameter in the assessment of immune activation levels in HIV infection. *Acta Haematol* 2014;131:208-12.
5. Appay V and Sauce D. Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences. *J Pathol* 2008;214:231-41.
6. Silvestri G, Sodora DL, Koup RA, Paiardini M, O'Neil SP, McClure HM, et al. Nonpathogenic SIV infection of sooty mangabeys is characterized by limited bystander immunopathology despite chronic high-level viremia. *Immunity* 2003;18:441-52.
7. Liu Z, Cumberland WG, Hultin LE, Kaplan AH, Detels R, Giorgi JV. CD8+ T-lymphocyte activation in HIV-1 disease reflects an aspect of pathogenesis distinct from viral burden and immunodeficiency. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998;18:332-40.
8. Hazenberg MD, Otto SA, van Benthem BH, Roos MT, Coutinho RA, Lange JM, et al. Persistent immune activation in HIV-1 infection is associated with progression to AIDS. *AIDS* 2003;17:1881-8.
9. Buttarello M and Plebani M. Automated blood cell counts: state of the art. *Am J Clin Pathol* 2008;130:104-16.
10. Vanker N and Ipp H. The use of full blood count and differential parameters to assess immune activation levels in asymptomatic, untreated HIV infection. *S Afr Med J* 2013;104:45-8.
11. Lalama CM, Jennings C, Johnson VA, Coombs RW, McKinnon JE, Bremer JW, et al. Comparison of three different FDA-approved plasma HIV-1 RNA assay platforms confirms the virologic failure endpoint of 200 copies per milliliter despite improved assay sensitivity. *J Clin Microbiol* 2015;53:2659-66.
12. Takubo T, Kubota Y, Oguma S, Ueda T, Shibata H, Nakamura H, et al. Classification of acute non-lymphocytic leukemia according to the distribution picture of peroxidase activity and cell size: correlation between the classification and therapeutic response. *Blood Cells* 1983;9:501-14.
13. Lanza F, Moretti S, Letorraca A, Scapoli G, Rigolin F, Castoldi G. Flow cytochemical analysis of peripheral lymphocytes in chronic B-lymphocytic leukemia. Prognostic role of the blast count determined by the H*1 system and its correlation with morphologic features. *Leuk Res* 1992;16:639-46.
14. Nixon DF, Parsons AJ, Eglin RP. Routine full blood counts as indicators of acute viral infections. *J Clin Pathol* 1987;40:673-5.
15. Shin D, Lee MS, Kim do Y, Lee MG, Kim DS. Increased large unstained cells value in varicella patients: A valuable parameter to aid rapid diagnosis of varicella infection. *J Dermatol* 2015;42:795-9.
16. Obirikorang C and Yeboah FA. Blood haemoglobin measurement as a predictive indicator for the progression of HIV/AIDS in resource-limited setting. *J Biomed Sci* 2009;16:102.
17. Mocroft A, Kirk O, Barton SE, Dietrich M, Proenca R, Colebunders R, et al. Anaemia is an independent predictive marker for clinical prognosis in HIV-infected patients from across Europe. EuroSIDA study group. *AIDS* 1999;13:943-50.
18. Schreiber T and Friedland G. Use of total lymphocyte count for monitoring response to antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2004;38:257-62.
19. Gougeon ML, Lecoœur H, Dulioust A, Enouf MG, Crouvoiser M, Goujard C, et al. Programmed cell death in peripheral lymphocytes from HIV-infected persons: increased susceptibility to apoptosis of CD4 and CD8 T cells correlates with lymphocyte activation and with disease progression. *J Immunol* 1996;156:3509-20.
20. Levine AM, Karim R, Mack W, Gravink DJ, Anastos K, Young M, et al. Neutropenia in human immunodeficiency virus infection: data from the women's interagency HIV study. *Arch Intern Med* 2006;166:405-10.
21. Dalela G and Baig VN. Correlation between total leukocyte count, absolute lymphocyte count, hemoglobin, erythrocyte sedimentation rate and CD4 count in HIV/AIDS patients. *Int J Curr Microbiol App Sci* 2015; 4:366-71.
22. Chen J, Li W, Huang X, Guo C, Zou R, Yang Q, et al. Evaluating total lymphocyte count as a surrogate marker for CD4 cell count in the management of HIV-infected patients in resource-limited settings: a study from China. *PLoS One* 2013;8:e69704.