

□ 원 저 □

폐결핵치료에 따른 항결핵항체의 변화에 관한 연구

서울대학교 의과대학 내과학교실

윤광선* · 이춘택 · 심영수 · 한용철

미생물학교실

조명제 · 차창룡 · 장우현

=Abstract=

Antimycobacterial Antibody Response in Patients with Pulmonary Tuberculosis during Chemotherapy

Kwang Sun Yoon, M.D., Choon Taek Lee, M.D., Young-Soo Shim, M.D.
and Yong Chol Han, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Seoul National University

Myung-Je Cho, M.S., Chang-Yong Cha, M.D. and Woo Hyun Chang, M.D.
Department of Microbiology

The precise assessment of response to therapy is still a problem especially in long-standing tuberculosis with destroyed lung and extrapulmonary tuberculosis which may invalidate the x-ray examination and regular laboratory test for such assessment. With enzyme-linked immunosorbent assay, the authors examined the antimycobacterial antibody response to therapy using sonificated tubercle bacilli extract(TE antigen) as antigen. The IgG activity was measured from 103 active tuberculosis patients during treatment and the following results were obtained.

1) In minimal active group, the antibody activities as absorbance at 492 nm in 3-4 months, in 7-8 months and in 10-12 months after therapy turned out to be 0.378 ± 0.077 , 0.354 ± 0.063 and 0.325 ± 0.069 respectively. In moderately advanced group, the activities were 0.554 ± 0.177 , 0.498 ± 0.118 and 0.365 ± 0.098 . In far advanced group, the activities were 0.957 ± 0.308 , 0.740 ± 0.294 and 0.425 ± 0.284 .

2) The antibody response during the early phase of therapy was examined before therapy, 1-2 months and in 3-4 months after starting therapy. In minimal active group, the activities as absorbance at 429nm were 0.372 ± 0.065 , 0.392 ± 0.080 and 0.355 ± 0.081 respectively. In moderately advanced group, they were 0.468 ± 0.155 , 0.517 ± 0.148 and 0.538 ± 0.150 and in far advanced group, the observed were 0.866 ± 0.259 , 0.773 ± 0.222 and 0.085 ± 0.243 .

3) The antibody changes were not significant during early phase of treatment but could be seen from 3-4 months after treatment. The decrease was more pronounced in moderately and far advanced groups.

* 윤내과의원

** 본 연구의 일부는 1984년도 서울대학교병원 특진연구비 보조로 이루어진 것임.

결핵의 올바른 조기 진단과 치료를 위해서는 질병의 정확한 경과 관찰 및 질병의 활동성에 대한 객관적 평가가 필수 조건인데, 현재까지는 흉부 X선 소견과 결핵균 도말 검사 및 배양 검사에 의존하고 있어 여러가지 어려운 점을 제시하고 있으며, 결핵 환자의 활동성 여부 및 치료 경과 판정에 어려운 경우가 많아 신속하고 정확한 새로운 진단 방법이 절실히 요구되고 있다¹⁾.

최근 결핵에 대한 면역학적 지식이 축적되면서 혈청 검사를 이용한 결핵의 진단 및 활동성 판정을 위한 연구가 진행되고 있다.

결핵 진단에 혈청 검사가 시도된 것은 1901년 Widal 등²⁾이 보체 결합 항체 검출에 성공한 이래 수많은 연구자들이 여러 종류의 항원과 다양한 검사법을 사용하여 그 결과를 보고하였다. 그러나 사용된 항원이 다양하고 검사법의 예민도와 특이성이 다르기 때문에 서로 상이한 결과를 보고하였다.

1972년 Engvall^{3,4)}이 효소 면역 측정법(enzyme linked immunosorbent assay: ELISA)을 개발하여 특이항체 측정에 있어 예민도, 신속성 및 재현성을 높이고 항체의 면역글로브린 class를 구별하여 측정할 수 있게 되어 각종 질병의 혈청학적 진단에 새로운 전기를 마련하였다. 1976년 Nassau 등⁵⁾이 최초로 결핵의 진단에 있어 효소 면역 측정법의 유용성을 보고한 이래, 이 방법을 이용한 여러 연구가 진행되었고 결핵 병변의 정도가 심할 수록 항체가 상승함이 관찰되었다⁶⁻⁸⁾.

동시에 치료에 따른 항체가의 변화에 대한 연구도 시도되어, Favez^{9,10)}은 1966년에 결핵 치료 중 PPD 항원에 대한 IgG 치가 감소하는 것을 보고하였고 Khomenko¹¹⁾도 비슷한 결과를 보고하였다.

Kalish 등¹²⁾도 활동성 결핵 환자군과 결핵 치료 후 2년에서 10년 및 10년 이상의 환자군을 비교한 결과, 치료기간이 길어질 수록 항체가가 감소한다고 보고하였다. 반면 Kaplan¹³⁾의 연구에 의하면 치료 도중에 결핵 항체가가 오히려 증가함을 나타내고 있다.

이와같이 상충되는 결과를 검토하기 위해서 저자들은 효소 면역 측정법을 이용하여 항결핵요법 실시전, 도중 및 치료후의 Tubercle bacilli extract 항원(이하 TE 항원이라 약함)에 대한 IgG 치의 변화를 측정하여 의미있는 결과를 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

1. 대 상

1984년 1월부터 1985년 6월까지 서울대학교병원 내과 전염병동에 입원했던 환자와 내과 외래 환자중 객담 결핵균 검사 등으로 활동성 결핵으로 판정되었고 항결핵요법으로 호진된 환자 103명을 대상으로 하였다. 대상환자는 미국 National Tuberculosis and Respiratory Disease Association의 1969년도의 분류법에 의한 경증 47명, 중등증 35명 및 중증 21명으로 구분하여 각 군을 비교하였다.

정상 대조군으로는 결핵의 병력이 없는 건강한 의과 대학생중 피부 반응 검사에서 양성인 39명과 음성인 31명을 대상으로 하였다.

2. 방 법

1) 채혈 방법 및 혈청 준비

대상 환자는 치료전, 치료 시작 1~2개월, 3~4개월 7~8개월 및 10~12개월까지 5차례의 채혈을 원칙으로 하였으나 78명의 환자는 3~4개월, 7~8개월 및 10~12개월의 채혈이 가능하였고 32명의 환자는 치료전, 치료 시작 1~2개월 및 3~4개월의 채혈이 가능하였으며 5차례에 걸쳐 모두 채혈이 가능하였던 환자는 7명이었다.

환자로부터 채취한 혈액은 실온에서 응고시켜 4°C 냉장고에 보관한 후 다시 실온에서 1,500 xg 로 30분 동안 원심 분리하였다. 분리된 혈청은 0.5 ml씩 분주하여 -20°C 냉장고에서 보관하였다가 실험하기 직전에 상온에서 용해하여 사용하였다.

2) 표준 혈청 준비

본 실험의 재현성을 높이기 위하여 표준 양성 혈청과 표준음성 혈청을 사용하였다.

표준 양성 혈청은 객담검사서 결핵균 도말 염색 양성, 배양 검사 양성이며 흉부 X선 검사상 중등증 병변을 가지고 효소 면역 측정법에서 항체가가 높은 환자의 혈청을 사용하였다.

표준 음성 혈청으로는 결핵의 병력이 없고, 피부 반응에서 음성이고, 흉부 X선 소견이 정상이며, 효소면역 측정법에서 항체가가 낮은 건강한 의과 대학생의 혈청을 사용하였다.

3) 항원 준비

Mycobacterium tuberculosis(H₃₇RV strain)를

Sauton 배지에 대량 배양한 후 phenol 을 1%되게 첨가하여 균을 사멸시켰다. 사멸된 균은 pH 7.0의 phosphate buffered saline(PBS)으로 3회 세척하고 PBS에 재부유시킨 다음 초음파로 파쇄하였다. 파쇄된 균성분을 4°C에서 10,000 rpm으로 원심 분리하여 상층액을 모아서 냉동 건조시켜 사용하였다. 이 항원 성분을 TE 항원이라 명명하였고 본 실험을 위하여 대한 결핵 협회 결핵연구소에서 제조하여 공급받았다.

4) 효소 면역 측정법

실험¹⁾과 차²⁾의 방법을 사용하였다. 즉 항원을 carbonate buffer(pH 9.6)에 10 µg/ml의 농도로 녹여 polystyrene plate(Costar; serocluster 96 well EIA plate, flat bottom, catalog No. 3590, Lot# 2171)에 well 당 100 µl씩 분주하고 4°C 냉장고에서 18시간 동안 부착시켰다. 부착시킨 다음 증류수로 2회 세척하고 3% BSA(bovine serum albumin)-PBS-Tween 20 용액을 well 당 100 µl씩 첨가하여 37°C에서 3시간 방치하여 차단(blocking)시킨 후 BSA-PBS-Tween 20 용액으로 3회 세척한 후 즉시 사용하거나 건조시켜 냉장고에 보관하여 사용하였다.

환자 혈청을 상온에서 녹여 0.1% BSA-PBS-Tween 20 용액을 사용하여 1:400으로 희석한 후 well 당 100 µl씩 분주한 다음 37°C에서 1시간동안 항원 반응을 실시하였다. 반응이 끝나면 PBS-Tween 20 용액으로 3회 세척하였다. 그 후 peroxidase conjugated goat anti-human IgG(Cappel Laboratories, Lot #14468)을 0.1% BSA-PBS-Tween 20 용액으로 1:2000으로 희석하여, well 당 100 µl씩 넣고, 37°C에서 1시간동안 반응시켰다. 반응이 끝나면 PBS-Tween 20 용액으로 5회 세척하고 기질용액을 well 당 100 µl을 넣는다. 기질용액은 30% H₂O₂ 20 µl와 발색제인 orthophenylene diamine 4 mg을 phosphate-citrate buffer(pH 5.0) 10 ml에 혼합한 용액이다. 기질용액을 넣고 상온에서 25분간 반응시킨 다음 2N H₂SO₄ 용액을 well 당 100 µl씩 첨가하여 효소반응을 중지시켰다.

그 후 Multiscan(Titertek Model, Flow Laboratories)을 사용하여 각 시료의 IgG 치를 492 nm의 흡광도(Absorbance)로 측정하였다. 각 시료는 2 well씩 실험하여 산술 평균치를 내어 실험치로 사용하였으며 효소 면역 측정 실시일별, plate 별 번이를 상쇄하기 위하여 아래의 식을 이용하여 수정하였다.

검체의 수정 흡광도 = 검체의 흡광도

$$\times \frac{1}{\text{표준 양성 혈청 흡광도}}$$

Table 1. ELISA IgG Activities of Sera to TE Antigen Among Normal Healthy Persons

Tuberculin	Number	IgG
+	39	0.289±0.046
-	31	0.289±0.049
O.D. as absorbance at 492 nm		

결 과

1. TE 항원에 대한 정상 대조군 혈청내의 IgG 치

정상 대조군은 결핵 병력 및 소견이 없는 건강한 의과 대학생 70명으로서 모두 BCG 접종을 받은 적이 있었고 이 중 39명은 tuberculin 피부 반응이 양성이었다고 나머지 31명은 피부 반응이 음성이었다.

피부 반응이 양성인 군의 TE 항원에 대한 IgG 치는 0.289±0.046이었고 음성인 군의 IgG 치는 0.289±0.049로 양군 간에 유의한 차이가 없었다(Table 1).

2. 폐결핵 환자의 치료전 및 항결핵요법 실시 기간별 TE 항원에 대한 IgG 치의 변화

1) 항결핵요법 실시후 3~4개월, 7~8개월 및 10~12개월후 TE에 대한 IgG 치의 변화

항결핵요법 실시후 3~4개월, 7~8개월 및 10~12개월에 채혈이 가능했던 78명에 대한 항체가의 변화는 Table 2와 같다.

경증 결핵 환자 36명에서 결핵 치료 시작후 3~4개월에서의 항체가는 0.378±0.077, 7~8개월에서의 항체가는 0.345±0.063, 10~12개월에서의 항체가는 0.325±0.069로 치료에 따라 약간 감소하였다(P<0.01).

중증증 결핵 환자 27명에서는 3~4개월에서의 항체가는 0.554±0.177이고 7~8개월에서의 항체가는 0.498±0.118이었고 10~12개월에서의 항체가는 0.365±0.098으로 감소하였다(P<0.001).

중증 결핵 환자 15명에서는 3~4개월에서의 항체가는 0.957±0.308, 7~8개월에서의 항체가는 0.740±0.294, 10~12개월에서의 항체가는 0.425±0.284로 현저히 감소하였다(P<0.001).

위의 결과에서 결핵 병변의 정도에 따른 항결핵 항체가는 치료 3~4개월에서는 현격한 차이를 보여 결핵 병변이 심할수록 IgG 치가 높은 측정치를 보이고(P<0.001) 치료 후반기의 치유 단계에서는 항체가의 변화 폭이 줄어들어 유의한 차이가 없었다.

Table 2. ELISA IgG Activities of Sera to TE Antigen during Mid to Late Stage of Treatment

Clinical stage	Number of patients	Duration of treatment(months)			P-value
		3~4	7~8	10~12	
Minimal	36	0.378±0.077*	0.354±0.063	0.325±0.069*	P<0.01
Moderately advanced	27	0.554±0.177*	0.498±0.118	0.365±0.098*	P<0.001
Far advanced	15	0.957±0.308*	0.740±0.294	0.425±0.284*	P<0.001

O.D. as absorbance at 492 nm

Table 3. The Magnitude of Relative Change of IgG Activities of Sera during Mid to Late Stage of Treatment when the IgG Activities to TE Antigen in 3~4 Months is Set at 1.000

Clinical stage	Duration of treatment(months)			P-value
	3~4	7~8	10~12	
Minimal	1.000*	0.950±0.119	0.882±0.188*	P<0.01
Moderately advanced	1.000*	0.925±0.141	0.706±0.217*	P<0.001
Far advanced	1.000*	0.774±0.142	0.477±0.184*	P<0.001

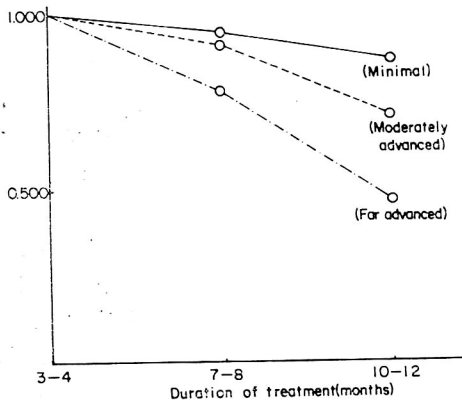


Fig. 1. The magnitude of relative IgG activities of sera during mid to late stage of treatment when the IgG antibody to TE antigen in 3~4 months is set at 1.000.

결핵 병변의 정도와 치료 경과에 따른 항체의 변화 정도를 파악하기 위해서 3~4개월의 항체를 1.000으로 하고 각 군에서의 치료 시기별 항체의 변화비를 구한 것은 Table 3과 Fig. 1에 표시된바와 같다.

즉 경증 환자군에서는 7~8개월에서 항체의 비가 0.950±0.119, 10~12개월에서는 0.882±0.188로 감소하였고(P<0.01), 중증 환자군에서는 7~8개월에 0.925±0.141, 10~12개월에서는 0.706±0.217로 감소하였

고(P<0.001), 중증 환자군에서는 7~8개월에 0.774±0.142, 10~12개월에서는 0.477±0.184로 뚜렷한 감소를 보였다(P<0.001).

2) 항결핵요법 실시전 및 실시후 1~2개월, 3~4개월에서의 TE 항원에 대한 IgG 치의 변화

항결핵요법 실시 초기의 항체의 변화를 알기 위해 치료 시작전과 치료시작후 1~2개월, 3~4개월의 재혈이 가능했던 결핵 환자 32명에 대한 항체가 변화는 Table 4에서 표시된 바와 같다.

경증 환자에서는 치료전 항체는 0.372±0.015, 치료시작후 1~2개월에서 0.517±0.148, 3~4개월에 0.538±0.150로 유의한 차이가 없었다.

중등증 환자에서는 치료전 0.486±0.155, 치료시작후 1~2개월에서 0.517±0.148, 3~4개월에 0.538±0.150으로 유의한 차이가 없었다.

중증 환자에서도 치료전 0.866±0.259. 1~2개월 0.773±0.222, 3~4개월에 0.805±0.243로 유의한 차이를 보이지 않았다.

결핵 치료 초기 3~4개월간의 항체가 변화를 알기 위하여 치료 3~4개월에 얻어진 항체를 1.000으로 하고 치료전, 치료 시작후 1~2개월 및 3~4개월에서의 항체가 비를 비교한 것은 Table 5에서 표시된 바와 같다. 즉 경증 환자에서는 치료전의 항체가 비가 1.074±0.198, 치료시작후 1~2개월에 1.120±0.181로 차이가 없었다.

중등증 환자에서는 치료전의 항체가 비가 0.912±

Table 4. ELISA IgG Activities of Sera to TE Antigen during Early Stage of Treatment

Clinical stage	Number of patients	Duration of treatment (months)		
		0	1~12	3~4
Minimal	15	0.372±0.065	0.392±0.80	0.355±0.081
Moderately advanced	9	0.486±0.155	0.517±0.148	0.538±0.150
Far advanced	8	0.866±0.259	0.773±0.222	0.805±0.243

Table 5. The Magnitude of Relative Change of IgG Activities during Early Stage of Treatment when the IgG Activities to TE Antigen in 3~4 Months is Set at 1.000

Chinical stage	Duration of treatment(months)		
	0	1~2	3~4
Minimal	1.074±0.198	1.120±0.181	1.000
Moderately advanced	0.912±0.118	0.971±0.124	1.000
Far advanced	1.076±0.163	0.695±0.094	1.000

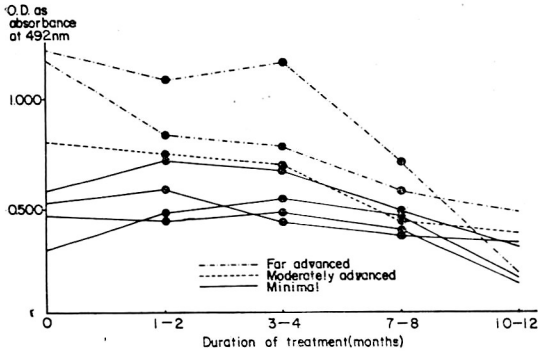


Fig. 2. ELISA IgG activities of sera to TE antigen from the seven patients who provided complete series of blood samples.

0.118, 치료시작후 1~2개월에 0.971±0.124로 유의한 차이가 없었다.

중증 환자에서는 치료전이 1.076±0.163, 치료 시작후 1~2개월에 0.965±0.094로 차이가 보이지 않았다.

3) 전 연구기간 동안 채혈이 가능했던 환자의 TE 항원에 대한 IgG 치의 변화

치료전부터 10~12개월의 치료 완료 단계까지 채혈이 가능했던 환자 7명(경증 4명, 중등증 1명 및 중증 결핵 환자 2명)의 치료에 따른 IgG 치의 변화를 도 2에 도시한 바와 같다.

치료 초반 3개월까지는 항체 역가의 변화가 뚜렷하

지 않고 3~4개월 이후에 항체가 감소하는 경향을 볼 수 있다.

고 안

결핵의 면역학적 지식은 많은 연구자에 의해서 업적이 축적되었다^{14~20)}. 그리고 Diena는 결핵을 혈청학적으로 진단하기 위한 조건으로, ① 단순한 감염에 의한 항체보다는 활동성 결핵에 의한 항체 생산을 검출할 수 있어야 하며, ② BCG 접종에 의한 항체 생산과 감별할 수 있어야 하고, ③ 비전형성 항산균에 의한 항체를 구별할 수 있어야 한다는 것을 제시하였다²¹⁾.

결핵의 면역학적 연구에는 표준 항원과 standard test method가 필수적으로 필요하다. 결핵균의 단백질 항원인 PPD는 열처리 과정을 거쳤기 때문에 항원의 변질 가능성과 면역 반응력 감소의 문제가 제기되어 순수 항원에 대한 연구가 계속되었다.

1949년 Seibert²²⁾는 최초로 chemical fractionation을 통해 순수 항원의 분리를 시도하였다. 그는 결핵균 추출액을 alcohol과 acetic acid로 침전시켜 3개의 단백질(protein A, B and C)과 2개의 다당류(polysaccharide I and II)를 얻었다. 1971년 Janicki, Chaparas 및 Daniel은 결핵균 배양 여과액을 one dimensional electrophoresis를 시행하여 11개의 결핵주 항원을 분리하여 United States Japanese Reference Nomenclature을 제정하였다^{23,24)}.

1975년 Daniel²⁵⁾은 Antigen 5가 인형 결핵균과 우형 결핵균에 특이하다는 것을 발견하였고 1978년 immunosorbent affinity chromatography를 이용하여 antigen 5의 순수 분리에 성공하였다²⁶⁾. Balestrino²⁷⁾, Benjamin 등^{19, 28)}은 M. tuberculosis antigen 5를 결핵의 혈청 진단에 사용하여 PPD 항원을 포함한 기타 결핵균 항원보다 진단적 가치가 높음을 증명하였다. 그러나 순수 항원의 분리는 널리 임상에 이용하기 어려워 좀 더 쉬운 항원의 분리 연구가 함께 진행되었다. 현재까지 결핵 피부 반응의 표준 항원으로 사용되어 왔던 PPD 항원은 복합 항원으로 Antigen 5를 포함하고 있고, Tandon²⁹⁾, Radin³⁰⁾, Viljanen⁸⁾, Zeiss 등³¹⁾이 PPD 항원을 결핵의 혈청학적 진단에 이용하여 만족할 만한 결과를 얻어 순수 항원의 필요성에 의문을 제기하였다.

결핵균 항원을 준비하는데 있어 PPD의 문제점인 열처리 과정에서의 항원 변질을 방지하기 위하여 여러 연구자들이 다른 방법을 제시하였는데, 그 중 결핵균을 phenol 등으로 사멸시킨 다음 French press 또는 sonification으로 결핵균을 파쇄하여 항원을 추출하는 방법이 널리 적용되고 있다. Grange³²⁾ 및 Kiran 등³³⁾은 Mycobacterium sonificate를 항원으로 사용하여 좋은 결과를 얻었고 PPD 항원과 우수한 상관 관계가 있음을 증명하였다. 우리나라에서도 심등⁶⁾, 차등⁷⁾이 결핵균체를 sonificate한 것과 같은 항원성을 가지는 French press로 파쇄한 항원을 이용하여 결핵 혈청 진단을 하여 만족할 만한 결과를 얻었고, 역시 PPD 항원과 우수한 상관 관계가 있음을 입증하였다. 본 연구에서도 결핵균체를 sonificate한 TE 항원을 사용하여 결핵 환자군과 정상 대조군을 감별할 수 있었다.

항원 문제와 함께 항체의 측정 방법에 대한 연구도 많이 시도되었다. 1948년 Dubos와 Middlebrook는 적혈구 응집 반응으로 결핵을 진단할 수 있다고 보고하였다. 그 후 여러 연구자들이 침강시험법(precipitation)²¹⁾, 한천침강확산시험법(gel diffusion)³⁴⁾ 형광항체시험법(fluorescent antibody test)³⁵⁾ 및 방사면역측정법(radioimmunoassay) 등³⁶⁾ 수많은 방법을 개발하여 그 유용성을 검토하였다. 그러나 각 검사 방법이 예민도와 특이성이 다르기 때문에 전혀 상이한 결과를 보고하였다. 이 중 방사면역 측정법의 경우 예민도와 특이성이 다른 방법에 비하여 우수하나 방사능을 다루어야 하고 측정을 위한 특수한 시설이 필요하기 때문에 일반적으로 적용되기에는 난점이 많았다.

1972년 Engvall³⁷⁾이 효소 면역 측정법(ELISA)를 개

발하여 질병의 혈청학적 진단에 새로운 전기를 마련하였다. 효소 면역 측정법은 nanogram 정도까지 측정할 수 있는 예민도와 더불어 신속하게 다량의 표본을 처리할 수 있고 재현성이 높은 검사방법이고, 항체의 면역글로브린 class까지 구별하여 측정하므로 방사선 면역 측정법에서 사용하는 동위원소를 사용하지 않는 장점이 있어 여러 질병의 진단에 효용성이 높은 검사 방법으로 보고 있다.

1976년 Nassau⁵⁾가 결핵 혈청 진단에 효소 면역 측정법을 최초로 이용한 이래 Tandon²⁹⁾, Grange³²⁾, Daniel³⁶⁻³⁷⁾, Zeiss 등³¹⁾이 계속 결핵의 혈청학적 진단에 효소 면역 측정법의 효용성을 보고하였다.

일부 연구자들은 폐결핵 진단의 빠와 판결의 결핵 및 결핵성 뇌막염 등^{13, 38, 40)} 효소 면역 측정법을 적용하여 폐의 결핵 진단에 도움을 줄 수 있다고 보고하였다.

감염에 반응하는 면역글로브린은 여러 가지 있으며 이중 결핵 혈청학적 진단에는 IgG의 진단적 가치가 널리 인정받고 있으나 IgA와 IgM에서는 상반되는 결과가 나오고 있어^{8, 32, 51, 42)} 본 연구에서는 IgG만 측정하였다.

심한 결핵 환자에는 체액 면역이 우세하여 항체가 높게 관찰된다는 보고¹²⁾와 일치하게 Viljanen 등⁸⁾은 중증 결핵에서 항체를 측정한 결과 경증 결핵에서 보다 항체가 높음을 관찰하였다. 우리나라에서도 심등⁶⁾, 차등⁷⁾에 의해 확인되었다.

본 연구에서도 경증, 중등증 및 중증 결핵간의 항체가의 유의한 차이가 증명되었다.

이와같이 혈청내의 항체 검사로 결핵환자의 진단 가치가 입증되고 있으나 각 환자 개인을 비교할 때 항체가의 차이가 많고 외국과 달리 우리나라에서는 정상대조군에서 높게 측정되는 경향이 있어 차등⁷⁾의 보고에 의하면 IgG치의 특이성은 87%이고 예민도는 74%로 예민도가 떨어지므로 결핵의 유병율이 높은 우리나라에서는 환자 개개의 질병 여부와 재발 여부 결정에 더 큰 의의가 있을 것으로 생각된다.

결핵 치료에 따른 반응 여부와 항체가의 변화에 대해서는 일견상반되는 2가지의 연구 결과가 나와 있다.

Favez는 결핵치료중 PPD 항원에 대한 passive cohemagglutination법을 이용하여 매달 측정한 결과 74%에서 2개월이내, 88%에서 3개월이내에 항체가가 감소하는 것을 관찰하고 결핵 치료중 결핵균 수의 감소에 따른 생산이 줄어들어 항체가가 감소한다고 설명하였다^{9, 10)}.

또 Khomenko 등은 specific passive hemagglutin-

ation 반응을 이용하여 결핵 치료 시작 6개월 이후 항체가 감소하는 것을 관찰하였다¹¹⁾.

그러나 Kaplan 등은 microimmuno diffusion 을 이용하여 결핵 치료중 신원에서는 항체의 양성 반응율이 46%에서 60%로, 재발 환자에서는 66%에서 75%로 증가하고 항체가가 증가하는 것을 관찰하여 항결핵제 투여로 결핵균의 세포막이 파괴되면서 많은 항원이 환자의 면역세포에 노출되어 많은 항체가 생성된다고 설명하였다¹³⁾.

본 연구 결과에서는 결핵 치료 시작 초기 3~4개월까지는 임상 증상의 호전과 흉부 X선 소견의 호전 및 객담내의 결핵균 배출이 격감함에도 불구하고 항체가의 변화는 보이지 않았고 치료 중반기 이후에는 항체가가 감소하여 Khomenko 의 연구와 비슷한 결과를 보였다.

이는 치료 초기에는 결핵균수가 급격히 감소하나 균이 파괴되면서 많은 항원이 노출되어 항체가에는 유의한 변화가 보이지 않고 치료중반 이후에는 결핵균의 수가 매우 줄어들어 항체가가 감소한다고 설명할 수 있겠다.

본 연구결과의 또 다른 중요 소견으로는 중등증, 중증 결핵으로 초기 항체가가 높았던 환자에서 치료후 3~4개월후 항체가의 감소를 보여 치료 말기 및 치료후의 안정화 단계에서는 경증 환자와 유의한 차이가 없다는 점이다. 이는 실제 임상에서 어려움을 주고 있는, 흉부 X선 소견만으로 활동성 여부의 판정이 어려운 중등증 이상의 심한 결핵환자에서, 치료후 활동성 판정의 척도가 되어 항결핵요법의 기간을 결정하는데 큰 도움을 줄 수 있으리라고 생각되며, 재치료의 필요성 결정에도 도움이 되고, 치료기간 및 완치의 판정 기준이 특별히 없는 폐외결핵(extrapulmonary tuberculosis)의 경우에도 도움이 되리라 생각된다.

앞으로 환자의 수가 많아지면 최대 허용치를 정할 수 있어서 재발 여부의 진단에도 사용이 가능할 것으로 보이며 또한 세포 면역 반응의 변화도 함께 관찰하여야 할 것으로 판단된다.

결 론

결핵균을 초음파로 파괴하여 얻은 TE 항원을 사용하여 103명의 폐결핵 환자 혈청에서 결핵균에 특이항 IgG 항체가의 변화를 효소 면역 측정법으로 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 결핵치료 시작후 3~4개월, 7~8개월, 10~12개

월 시기의 환자 혈청에서 측정된 IgG 결핵 항체 측정치는 경증환자에게는 각각 0.378 ± 0.077 , 0.354 ± 0.063 및 0.325 ± 0.069 이었고, 중등증 환자에서는 0.554 ± 0.177 , 0.498 ± 0.118 및 0.365 ± 0.098 , 중증 환자는 0.957 ± 0.308 , 0.740 ± 0.294 및 0.425 ± 0.284 으로 각 군에서 치료 기간이 지남에 따라 유의하게 감소하였다 ($P < 0.01$).

2) 결핵 치료 초기의 IgG 결핵 항체 측정치는 치료 전, 치료 시작후 1~2개월 및 3~4개월에서 경증 환자에서는 각각 0.372 ± 0.065 , 0.392 ± 0.080 및 0.355 ± 0.081 이었고 중등증 환자에서는 0.486 ± 0.155 , 0.517 ± 0.148 및 0.538 ± 0.150 , 중증 환자에서는 0.866 ± 0.259 , 0.73 ± 0.222 및 0.805 ± 0.243 으로 각 군에서 치료기간에 유의한 차이가 없었다.

3) 이상의 결과와 전기간 채혈이 가능했던 7명의 결과를 종합하여 IgG 치의 변화는 결핵 치료 시작후 3~4개월까지는 뚜렷한 변화가 없으나 그 이후 항체가가 유의하게 감소함을 관찰할 수 있었고 이는 초기 항체가가 높은 중등증 및 중증의 결핵 환자에게 더욱 현저하였다.

REFERENCES

- 1) Glassroth JG, Rodins AG, Sniders DE: Tuberculosis in the 1980s. New Engl J Med 302: 1451, 1980
- 2) Widal F, Lesourd L: Presence d'une sensibilatrice dans le s'erum des tuberculeux. Sem Med Paris 1901:228, 1901
- 3) Engvall E, Perlmann P: Enzymelinked immunosorbent assay. ELISA III. Quantitation of specific antibodies by enzyme linked antiimmunoglobulin in antigen coated tubes. J Immunol 109: 129, 1972
- 4) Engvall E: ELISA: Enzyme-linked immunosorbent assay. Stockholm
- 5) Nassau E, Parsons ER, Johnson GD: The detection of antibodies to mycobacterium tuberculosis by micro enzyme linked immunosorbent assay(ELISA). Tubercle 57:67, 1967
- 6) 심영수, 김중숙: 효소 결합 면역 분석법을 이용한 결핵 진단의 유용성에 관한 연구. 중앙의대지 9: 187, 1984
- 7) 차창용, 김상재: 폐결핵환자 혈청내 결핵균 특이

- 항체의 Immunoglobulin class 별분포. 결핵 및 호흡기질환 30:172, 1983
- 8) Viljanen MK, Eskola J, Tala E: Enzyme-immunosorbent assay(ELISA) for antibodies to purified protein derivative of tuberculin (PPD). *Eur J Respir Dis* 63:257, 1982
 - 9) Favez GS, Jequier S, Villiemoz P: Demonstration and discrimination of distinct circulating antibodies during active tuberculosis in man. *Am Rev Respir Dis* 94:905, 1966
 - 10) Favez GS: Distinct circulating antibodies demonstrated in tuberculosis patients: Correlation between changes in antibody content of serum and clinical evolution. *Ann N Y Aca Sci* 154:128, 1968
 - 11) Khomenko AG, Averbach MM, Litvinov V I, Gergert V J, Chukanov V I: Effects of chemotherapy on the immunological characteristics of patients with primary destructive pulmonary tuberculosis. *Bull WHO* 62:763, 1984
 - 12) Kalish SB, Radin RC, Phair JP, Levitz D, Zeiss CR, Mytzger E: Use of enzyme-linked immunosorbent assay technique in the differential diagnosis of active pulmonary tuberculosis in humans. *J Inf Dis* 147:503, 1983
 - 13) Kaplan MH, Chase MW: Antibodies to mycobacteria in human tuberculosis I. Development of antibodies before and after antimicrobial therapy. *J Inf Dis* 142:852, 1980
 - 14) Koch R: Die Aetologie der Tuberkulose. *Berlin Klin Wochenschr* 19:221, 1882
 - 15) Bhatena D, Mohapatra LN, Mital GS, Ramalingas-Wami V, Nayak NC: The pulmonary tuberculosis lesions in North India: A study in medicolegal autopsies II. Bacteriological aspects. *Am Rev Respir Dis* 101:18, 1970
 - 16) Howard WL, Klopfensten MD, Steininger WJ, Woodruff E: The loss of tuberculin reactivity in certain patients with active pulmonary tuberculosis. *Chest* 57:530, 1970
 - 17) Bhatnager R, Malaviyanan S, Rajgopalan P, Kumar R, Bharadwaj: Spectrum of immune response abnormalities in different clinical forms of tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 115: 207, 1977
 - 18) Lenzini L, Rottoli P, Rottoli L: The spectrum of human tuberculosis. *Clin Exp Immunol* 27:230, 1977
 - 19) Benjamin RG, Debanne SM, Ma Y, Daniel TM: Evaluation of mycobacterial antigens in an enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) for the serodiagnosis of tuberculosis. *J Med Microbiol* 18:309, 1984
 - 20) Chaparas SD: Immunity in tuberculosis. *Bull WHO* 60:447, 1982
 - 21) Diena BB: Problems in the serodiagnosis of tuberculosis. *Ann Intern Med* 75:132, 1971
 - 22) Seibert FB: The isolation of three different proteins and two polysaccharides from tuberculin by alcohol fractionation. Their chemical and biological properties. *Am Rev Tuberc* 59: 86, 1949
 - 23) Daniel TM, Affroniti LF: Immunoelectrophoretic analysis of antigenic constituents of Seibert fractions of mycobacterial culture filtrates. Identification with the proposed United States Japanese reference nomenclature. *Am Rev Respir Dis* 108:1244, 1973
 - 24) Janicki BW, Chaparas SD, Daniel TM: A reference system for antigens of mycobacterium tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 104: 602, 1971
 - 25) Daniel TM, Todd LS: The species distribution of three concanavalin A reactive and concanavalin A nonreactive mycobacterial polysaccharides. *Am Rev Respir Dis* 112:361, 1975
 - 26) Daniel TM, Anderson PA: The isolation by immunosorbent affinity chromatography and physicochemical characterization of mycobacterium tuberculosis antigen 5. *Am Rev Respir Dis* 117:533, 1978
 - 27) Balestrino EA, Daniel TM, de Latini MDS, Latini OA, Ma. Y, Scocazza JB: Serodiagnosis of pulmonary tuberculosis in Argentina by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) of IgG antibody to mycobacterium tuberculosis antigen 5 and tuberculin purified protein derivative. *Bull WHO* 62:755, 1984

- 28) Benjamin RG, Daniel TM: Serodiagnosis of tuberculosis using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) of antibody to mycobacterium tuberculosis antigen 5. *Am Rev Respir Dis* 123:1013, 1982.
- 29) Tandon A, Saxena KC, Jamil Z, Gupta AK: Diagnostic potentialities of enzyme linked immunosorbent assay in tuberculosis using purified tuberculin antigen. *Tubercle* 61:87, 1980
- 30) Winters WD, Cox RA: Serodiagnosis of tuberculosis by radioimmunoassay. *Am Rev Respir Dis* 124:582, 1981
- 31) Zeiss CR, Kalish SB, Erlich KS, Levitz D, Metzger E, Radin R, Phair Jp: IgG antibody to purified protein derivative by enzyme-linked immunosorbent assay in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 130:845, 1984
- 32) Grange JM, Gibson J, Nassau E: Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): A study of antibodies to mycobacterium tuberculosis in the IgG, IgA and IgM classes in the tuberculosis, sarcoidosis and Crohn's disease. *Tubercle* 61:145, 1980
- 33) Kiran U, Shriniwas, Kumar R, Sharma A: Efficacy of three mycobacterial antigens in the serodiagnosis of tuberculosis. *Eur J Respir Dis* 66:187, 1985
- 34) Parlett RC, Yomans GP, Rehr C, Lester W: The detection of antibodies in the serum of tuberculous patients by an agar double-diffusion precipitation technique. *Am Rev Tuberc* 77:462, 1958
- 35) Toussaint AJ, Fife EH, Parlett RC, Affronti LF, Wright GL, Reich M, Morse WC: A soluble antigen fluorescent antibody test for serodiagnosis of mycobacterium tuberculosis test for serodiagnosis of mycobacterium tuberculosis infection. *Am J Clin Path* 52:708, 1969
- 36) Daniel TM, Oxtoby MJ, Pinto E, Moreno E: The immune spectrum in patients with pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 123:556, 1981
- 37) Daniel TM, Janicki BW: Mycobacterial antigens: A review of their isolation, chemistry and immunological properties. *Microbiol Rev* 42:84, 1978
- 38) Stroebel AB, Daniel TM, Lau JHK, Leong JCY, Richardson H: Serologic diagnosis of bone and joint tuberculosis by an enzyme-linked immunosorbent assay. *J Inf Dis* 146:280, 1982
- 39) Kalish SB, Radin RC, Levitz D, Zeiss CR, Phair JP: The enzyme-linked immunosorbent assay method for IgG antibody to purified protein derivatives in cerebrospinal fluid of patients with tuberculous meningitis. *Ann Int Med* 99:630, 1983
- 40) Sada E, Lopez-Vidal Y, Ruiz-Palacio GM, Leon SP: Detection mycobacterial antigens in cerebrospinal fluid of patients with tuberculous meningitis by enzyme-linked immunosorbent assay. *Lancet* 2:651, 1983
- 41) Kardjito, Handoyo I, Grange JM: Diagnosis of active tuberculosis by immunological methods. 1. The effect of tuberculin reactivity and previous BCG vaccination on the antibody levels determined by ELISA. *Tubercle* 63:269, 1982
- 42) Radin RC, Zeiss CR, Phair JP: Antibodies to purified protein derivative in different immunoglobulin class in the diagnosis of tuberculosis in man. *Int Archs Allergy Appl Immun* 70:25, 1983