Aspergillus 症

大韓結核協會 結核研究院

金 尙 材

= Abstract =

Aspergillosis

Sang J. Kim

*Department of Bacteriology, Korean Institute of Tuberculosis
Korean National Tuberculosis Association*

INTRODUCTION

Aspergilli are ubiquitous in the nature and their airborne spores are frequently inhaled into the human respiratory tracts in which they can cause the various forms of aspergillosis in susceptible individuals. Although aspergilli can produce otomycosis and rarely mycetoma in man, the most common and important forms of the disease, they cause, are pulmonary originated, allergic bronchopulmonary aspergillosis, aspergilloma and invasive aspergillosis. Definitive diagnosis of aspergillosis can be made by the demonstration of the fungus in affected tissue by culture and histopathological examinations. However, in many cases, such examinations are not available, and show a very poor productivity. The various immunological procedures, therefore, are very useful adjuncts in establishing the diagnosis of aspergillosis.

ALLERGIC BRONCHOPULMONARY ASPERGILLOSIS (ABPA)

Eighty percent or more of extrinsic asthma with pulmonary eosinophilia are related to aspergillus hypersensitivity in England. The spores of aspergilli can stimulate the production of IgE antibody particularly in atopic subjects, causing extrinsic, type I asthma upon subsequent introduction of aspergillus antigens. The production of precipitating antibody as well as IgE antibody leads to the development of allergic bronchopulmonary aspergillosis. Asthmatics are usually associated with fleeting nonsegmental lung shadow which is eosinophilic pneumonia, or with rather more persistent segmental shadows. Both types may be associated with febrile bouts and plugs. More than one third of such patients tend to have chronic asthma, usually extrinsic. After a few episodes, some patients may go into a remission and may have no more episodes. Some go into a remission for a period of months or even years and then appear to relapse. Recurrences eventually tend to cause irreversible lung damage. Aspergilloma, apical or midzone fibrosis, or bronchiectasis occur in affected areas. Some of the patients develop progressive airway

obstruction and ultimately go into respiratory failure. Non-atopic subjects may develop precipitins against aspergillus antigens upon heavy exposure, with the production of reactions in the bronchi demonstrable as extrinsic, late asthmatic reactions which appear after several hours, or reactions in the peripheral lung tissue, extrinsic allergic alveolitis. Diagnosis of ABPA is usually made on the basis of the skin test, serological and mycological examinations with clinical and radiological informations. Positive sputum culture significantly correlate with ABPA but it is indistinguishable from contamination. Of the asthmatics, 7.8~8.3% produced positive sputum culture and this figure is significantly higher than 1.5~3.4% of the patients with other lung diseases. Of the patients with ABPA, 82.6% produce culture positive and 91.3% of culture positives produce positive precipitin. The demonstration of antibody against aspergillus antigens in the sera has virtually diagnostic value. Levels of total IgE, specific IgE and precipitating antibody vary according to the disease activity. A rising level of IgE may portend a flare, while a stable or declining value implies disease remission. By radioimmunoprecipitation (RIP) assay total IgE level of over 82% of the patients with ABPA exceeded those of normal or other lung diseases and 91% show higher IgE level specific to aspergillus antigens than those of normal persons on radioallergosorbent tests (RAST). Positive IgE level will be nearly 100% if the serum specimens are collected during active disease state.

Ammonium sulfate tests (AST) with radiolabeled antigen showed 96% positive rate and the indirect fluorescent antibody tests produced 80% positives in ABPA. Fifty to 70% of ABPA produce positive precipitins against aspergillus antigens on double immunodiffusion tests (DID). However sera from the patients with asthma only react poorly to aspergillus antigens, showing 9~13% positive results, while sera from the patients with asthma plus pulmonary eosinophilia show 63~71% positive rate. If the serum specimens are concentrated this figure will be well over 90%. Counterimmunoelectrophoresis (CIE) can double or triple the positive rate obtained by DID in the subjects with asthma only. This technique certainly has advantages such as high yield of positives and fast result over DID. Many other procedures are available but either not fully evaluated or have some disadvantages. Skin tests are virtually diagnostic and 100% of ABPA respond type I immediate reaction upon intradermal injection of aspergillus antigens. Many patients also show late reactions. Twenty five percent of apparently normal subjects also show positive immediate reaction thus skin test alone can not verify positive diagnosis of ABPA. Corticosteroid therapy may suppress late skin reaction and precipitin reaction, therefore serum collection should be avoided during the therapy of this drug.

Lymphocytes from the patients with ABPA are highly reactive to aspergillus antigens, while the cells from aspergilloma patients are poorly reactive. This procedure needs further evaluation.

ASPERGILLOMA (M)

Aspergilloma is a compact mass of mycelium and cell debris (1~5cm in diameter) formed in ectatic bronchus or in the cavity without invasion of the lung parenchyma. About 15% of tuberculosis patients with open healed cavities had aspergillus fungus ball in England in 1970 survey. Fungus ball can be easily seen by radiological examination. Although a definitive diagnosis can be made by isolating the fungus from the resected fungus balls, the radiological, mycological and serological data can establish a satisfactory diagnosis before surgery. In many cases the fungus is continuously isolated from sputum

specimen, but we have to keep in mind that contamination is common. Some fungus balls are apparently dead therefore cultivation of the fungus is not possible. Demonstration of antibodies specific to aspergillus antigens is very useful to the diagnosis of this type of aspergillosis. If the sera were collected before the removal of fungus ball, nearly 100% of the cases produce antibodies against aspergillus antigens, demonstrable by any type of conventional serologic procedures. After removal of fungus ball antibody level wanes rapidly.

INVASIVE ASPERGILLOSIS

Invasive aspergillosis is a most important type of aspergillosis and usually occur in immunologically committed individuals who have reticulo-endothelial impairment or who are on immuno-suppressive treatment. Early diagnosis is so difficult in many cases that the prognosis is bad. Primary granulomatous lesions are formed in the lung with invasion of the fungal hyphae into lung parenchyma causing pyogenic pneumonitis. Some lesions may heal with calcification to form coin lesions, but in most cases necrosis progress and form a cavitation. Acute necrotizing pyogenic abscess spread beyond cavity. Vascular involvement occur causing thrombotic angiitis and the disease eventually spread hematogenously to other organs. Laboratory diagnosis of invasive aspergillosis solely depends on microscopical, cultural and histopathological examinations. The sputum may contain mycelial elements when the chest radiograph show extensive shadowing. In some cases precipitins to the species of *Aspergillus* involved are detectable in the serum. Serological diagnosis, however, is not possible in the cases of wide spread invasive aspergillosis because they do not produce a measurable antibody to aspergillus antigens. Demonstration of fungal components instead of antibody in the sera from the patients with wide spread invasive aspergillosis is in developmental stage in several laboratories.

CHARACTERIZATION OF ANTIGENS

The figures obtained by every serological procedures are not consistent between the different laboratories, mainly due to the absence of standardized antigen preparations. The multiplicity of antigens of varying specificity and potency provide a difficulty for the production of standardized materials. Variation of composition of reactive components in the preparations result from the age of culture, the conditions for growth such as media, position of growth and temperature, the qualitative and quantitative antigenic differences of strains and species of aspergilli, and the extraction procedures. The commonly used crude extracts contain the differing amount of nonantigenic materials. The different individual patterns of antibody response in exposed subjects also contribute difficulty to the preparation of standard materials. The suitable antigen preparations must be produced using a battery of appropriate strains of the fungus under reproducible procedures and must be devoid of nonantigenic materials and some interfering substances such as C-polysaccharides reactive with CRP and intrageneric cross reacting substances if any.

Recently we have made an effort to produce the preparations which could meet such requirements, to the utmost, using a strain of *A. fumigatus* NIH 5233. The fungus was found to grow well in completely synthetic asparagine glycerol medium. Four-day old mycelia were totally disrupted by vigorous mechanical shaking with 0.45mm glass beads. Such mechanically produced extract contained at least 52 precipitating antigens. The number of protein and carbohydrate components was maximal in 4-day old organisms and

decreased in older cultures. Conversely, the number of components in culture filtrates increased with longer incubation periods, but was only approximately one-half that produced by the 4-day-old mycelial extracts (ME). Mycelial extracts were then fractionated by precipitation with ammonium sulfate, by ion-exchange chromatography, and by gel filtration. The fractions were characterized chemically, by analytic polyacrylamide gel electrophoresis, and by test for serologic and biologic activity. The distribution of the antigens in the fractions was determined by double diffusion in gel and fused-rocket immunoelectrophoresis (FRIEP).

Activity greater than that of the parent materials serologically, in guinea pig skin tests, and in vitro lymphocyte transformation was observed with one fraction (APIFB) that was found in the 75% ammonium sulfate precipitable portion and was eluted early by gel filtration. Another ammonium sulfate-precipitable components (APIFA) and one that was not precipitable at 75% saturation of ammonium sulfate, but was firmly bound by ion exchange columns, were found to have activity equal or more to unfractionated ME. These fractions were also active by RAST for IgE in ABPA patients. A carbohydrate componts (ASII) comprising almost 40% of ME was found to be devoid of any immunologic activity. Commercially available preparations, ME and the fractions of *A. fumigatus* and extracts of 5 other aspergilli were evaluated in a blind manner for their abilities to detect antibody in 66 serum specimens from patients with aspergilloma, allergic bronchopulmonary and invasive aspergillosis, and unconfirmed aspergillosis. Although qualitative differences in antigen composition could be detected, commercial preparations compared favorably with the best experimental extracts in detecting positive specimens. Extracts from young, actively-growing myceliums were most effective and produced the largest number of precipitin bands. In contrast to all unfractionated preparations, several fractions that do not react with CRP of sera, yet were as effective as the best preparations in detecting sera positive for *Aspergillus*.

Seventy-three to 89% of the numbers of antigens detected between strains of *A. fumigatus*, *A. fumigatus* var. *ellipticus* and *A. phialiseptus* were shared. The degree of sharing between antigens of *A. flavus*, *A. fumigatus* series, and *A. niger* was much lower and ranged from 19 to 35%.

Enzyme-linked immunoassay (ELISA) offer a number of advantages includig exquisite sensitivity approaching that seen with procedures using radiolabeled reagents, simplicity, and quantitation. In several serum specimens in which no precipitins could be detected titers of up to 1:810 were recorded. The procedure should be a more useful adjunct in the diagnosis of aspergillosis than currently available routine tests. Poorly reactive polysaccharide components (ASII) have been detected in the sera from the rabbits with established invasive aspergillosis by radioimmunoassay or by a reverse ELISA inhibition technique. Development of sensitive technique in detecting polysaccharides liberated from the fungus in the sera seems to be promising in the diagnosis of invasive form of aspergillosis.

CONCLUSION

Aspergilli are ubiquitous in the nature, causing the various forms of aspergillosis. The diagnosis of aspergillosis largely depends on the mycological and immunological tests with appropriate specimens and reagents.

Different values were apparent in the mycological and serological tests in various forms

of aspergillosis. Precipitation tests are most valuable in the diagnosis of aspergilloma. Counterimmunoelectrophoresis is a most sensitive technique in [detecting precipitating antibodies to aspergillus antigens and this procedure can be suited for the diagnosis of allergic form of aspergillosis in addition to skin test. Sensitivity of serological procedures largely depend on the nature of the antigen preparations used. Most reactive components distributed maximally in the extracts from young actively growing mycelium. Proteinic substances separated from the mycelial extract can exclude poorly antigenic and C-polysaccharides and interspecific and intergeneric cross reactive substances.

序 論

Aspergilli는 利用할 수 있는 基質이 自然에 豊富하고 增殖할 수 있는 溫度 및 濕度範圍가 넓어 自然에 널리 分布하고 있어서 人類生活과 密接한 利害關係를 가지고 있는 菌群이다. 이들은 工業用 및 醫藥用品 各種 酵素劑의 生産을 비롯해서 各種 有機酸의 生産, 抗生物質의 生産, 脂肪生産 및 飼料生産 등에 利用되는 有益한 點도 많지만 反面에 aflatoxins나 ochratoxin과 같은 毒素을 生産해서 家畜이나 사람에 病害를 주는가하면 소나 양같은 家畜에 眞菌性流産을 일으키거나 家禽을 비롯한 鳥類에 病을 일으키고 그리고 누에와 같은 有益한 農業昆虫에 病害를 주기도 하는 有害한 면도 많다^{1,2)}. 그러나 무엇보다도 중요한 것은 aspergilli가 感受性이 있는 사람에게 病을 일으킨다는 점이다.

Aspergillus症은 그 發病에 있어서 나이, 性別 또는 人種別 差異가 없고 散發的으로 發生하며 全世界 어디서나 볼 수 있는 非傳染性 疾患이다³⁾. 職業이나 生活環境에 따라 이러한 眞菌에 接觸해서 露出되던 危險할 것으로 思料되나 그러한 露出보다는 오히려 非正常的인 感受性이 問題가 되고 있다. 即 日常生活中에 露出되는 抗原에 대해 IgE 抗體生産反應이 큰 傾向을 갖는 個體(atopy)에 있어서는, aspergilli에 의한 感作으로 過敏性을 갖게 되어 甚한 allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA)를 일으키고⁴⁾ 그리고 衰弱해진 個體나 結核을 비롯한 肺疾患을 앓고 있던가 白血病이나 癌을 앓고 있던지, 또는 어떤 이유로 免疫抑制劑를 사용한 경우에, 開放된 空洞이나 擴張된 氣管枝內에서 菌이 腐生的으로 增殖하여 aspergilloma (M)를 形成하던가, 또는 肺組織實質을 侵犯하여 흔히 致命的인 結果를 招來하는 invasive aspergillosis (IA)를 일으킨다³⁾. 그밖에도 外耳에 있는 耳脂나 脫皮組織等으로 된 頽廢物에 腐生하여 耳眞菌症(otomycosis)을 일으키기도 한다³⁾. 이와 같은 aspergillus症

의 가장 精確한 診斷은 該當病變으로부터 菌을 證明하는 일이지만 이것은 대부분의 경우 可能하지 않고 다만 그러한 病變으로부터 由來한 病理可檢物로부터 菌을 직접 觀察하거나 分離培養할 수 있다. 그러나 濕式塗抹에서 菌을 觀察하기는 어렵고 만일 관찰되면 대부분의 경우 病이 매우 甚하게 進行된 後이며, 菌의 分離培養은 단순한 汚染과 구별이 어렵다. 따라서 菌體成分에 對한 血清內抗體를 檢定하거나 皮膚反應檢査와 같은 免疫學的 診斷方法을 有用하게 이용하고 있다⁵⁻¹²⁾ 그러나 病型에 따라서는 예를 들어 invasive aspergillosis인 경우에는 아직 論爭이 있기는 하지만 적어도 全身에 넓게 轉移된 病變을 가진 患者의 血清內에는 菌體成分에 대한 抗體가 檢出되지 않는다¹³⁾. 비록 甚한 IA患者는 이처럼 예외가 되겠지만 그밖의 aspergillus症에 있어서는 免疫學的診斷方法이 매우 유용하게 이용되고 있다. 그러나 사용된 抗原의 性狀에 따라 試驗結果가 크게 影響을 받는다¹⁴⁾. 製品에 따라 抗原成分의 量的質의 多樣性을 볼 수 있고 그리고 그러한 多樣性은 심지어 同一會社製品中 製造時間에 따라서도 觀察되고 있어서 標準抗原製品의 생산이 切實하게 요구되고 있다.

本論文에서는 주로 肺에 오는 aspergillus症을 病型別로 實驗室內 診斷方法을 紹介하고 그리고 血清學的 診斷用 抗原의 生産과 그 特性에 關해 論하고자 한다.

Aspergillus症을 일으키는 菌種

人體에 病을 일으키는 aspergilli는 그들이 自然에 얼마나 分布되어 있고, 그들의 胞子가 공기중에 얼마나 存在하며, 胞子の 크기가 쉽게 呼吸氣道를 통해 肺臟에 들어올 수 있는지도 중요하지만 이들이 37 C에서 增殖할 수 있고 그리고 人體組織成分을 이용할 수 있어야 한다. 그리고 病原성과 關聯된 毒素生産이 考慮될 수 있지만 아직 확실하게 證明된 것이 없다. 그러나 소나 양이 *A. fumigatus*에 感染되면 흔히 流産을 하는점^{3,15)}, 鳥類에 있어서 많은 양의 *A. fumigatus* 胞子에 露出되던 急性出血性病變(acute hemorrhagic

lesion)을 형성한다는 점등은 이 菌이 毒素을 生産할 可能性이 있다고 보고 있다⁹⁾. 臨床的 分離菌種들을 살펴 보면 거의 대부분의 aspergillus 症이 *A. fumigatus*에 의해 發病하고 있음을 알 수 있다. 이 菌은 耐熱性眞菌으로서 推積된 有機物이 다른 菌에 의해 醱酵될 때 發生하는 醱酵熱에 신속히 增殖하여 수많은 孢子가 氣流를 타고 퍼져나간다. 高溫多濕한 環境아래 有機物이 있는 곳이면 어디든지 이 菌이 增殖하므로 空氣中에 흔하게 存在하는 菌種이다. young 등의 報告에¹⁶⁾ 따르면 IA의 경우에 59%가 *A. fumigatus*에 의해 그리고 31%가 *A. flavus*에 의해 感染發病했다고 한다. ABPA나 M의 경우에는 90% 이상이 *A. fumigatus*에 의해 感染發病하였고 그다음으로 *A. flavus* 및 *A. niger*의 感染이 많다.^{6,8,25)} 그밖에 *A. amstelodami*, *A. clavatus*, *A. glaucus*, *A. nidulans*, *A. restrictus*, *A. terreus* 및 *A. versicolor* 등이 희귀하게나마 여러가지 型의 aspergillus 症을 일으킨다는 報告가 있다. Otomycosis에는 *A. niger*가 가장 많이 관련되고 있는 菌種이다.

Allergic bronchopulmonary aspergillosis (ABPA)

日常生活 중에 露出되는 抗原에 대해 IgE 抗體生産反應이 큰 傾向을 갖는 個體(atopy)에 있어서는, aspergilli에 의한 感作으로 過敏性を 갖게 되어 심한 ABPA를 앓게 된다. Atopy는 histocompatibility gene complex와 가까이 連結된 免疫反應因子(Ir因子)에 의해 決定되며 抗原을 吸收 또는 處理해서 IgE 抗體生産細胞에 露出示키는 能力이 높은 者로서, aspergilli 抗原에 대해 생산된 IgE 抗體가 結締組織이나 其他組織에 分布하고 있는 肥滿細胞(mast cell) 또는 血液內에 있는 好鹽基性細胞(basophil)의 表面에 FC部分으로 結合된다. 그後 같은 aspergilli에 再次 露出되면 菌體抗原이 肥滿細胞 表面의 IgE 抗體와 結合하여 抗體間에 橋梁이 形成되면 細胞表面에 酵素가 쏟아져나와 細胞內顆粒을 溶解 또는 排出하게 된다. 結局 顆粒속의 histamine, slow-reacting substance of anaphylaxis (SRS-A), bradykinin, eosinophil-chemotactic factor of anaphylaxis (ECF-A) 등 各種 mediator가 放出되어 氣管支에 痙攣 및 粘液分泌

Table 1. Laboratory Diagnosis of Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis^{5-10,18,26)}

	ABPA in general	Asthma only	Asthma plus pulmonary eosinophilia	Other lung diseases	Normal
Mycology					
Microscopy of wet or stained preparation	Nil				
Culture	83			1.5~3.4	
Serology					
Total IgE	82~100*			<18	<19
Specific IgE	91*				
AST	96				
IFA	100				
DID	50~70	9~13	63~71, ≥90**	0~9	0~6
CIE	60~75	32			
IE	55			0~0.3	
CF	46			0~1	0
IHA		14			
Skin test					
Type I	100	100	100		25
Type III		43			.
Type IV		50			

Numbers represent percent. *When the disease is in active state. **When the test sera are concentrated. AST=Ammonium sulfate test. IFA=Indirect fluorescent antibody. DID=Double immunodiffusion. CIE=Counterimmunoelectrophoresis. IE=immunoelectrophoresis. CF=Complement fixation. IHA=Indirect hemagglutination test.

를 일으켜서 喘息을 誘發하게 된다¹⁷⁾. 그리고 그러한 物質들이 放出되는 곳으로 好酸性細胞가 모여들게 되므로서 胸部 X-線寫眞上에 肺炎陰影이 관찰된다. 이러한 陰影은 쉬이사라지는 非分節性 陰影이거나 또는 오래동안 持續되는 分節性 陰影을 나타내게 된다. 그러한 시기에는 몇차례의 發熱과 plug(栓)가 있게 마련이며 이러한 患者의 1/3 가량은 결국 慢性外因性喘息을 앓게 된다. 이쯤되면 Type I 뿐만 아니라 Type III allergy도 관련한다. 患者에 따라서는 그러한 經過를 數次 겪은 뒤에 輕快해져 數個月 또는 數年동안 아무런 異狀없이 지내다가 다시 再發하게 된다. 數次的 再發은 결국 肺에 回復不能의 損傷을 주게 되어, 影響을 받은 部位에 氣管支擴張症, 纖維症 또는 菌腫等을 일으킨다. 患者에 따라서는 그러한 病變이 계속 진행되어 氣道閉鎖를 일으키고 결국 呼吸不全을 誘發하게 된다¹⁸⁾.

ABPA의 診斷은 臨床 및 X-線上 所見과 함께 皮膚反應, 血清學的 및 菌學的 檢查結果로 행하게 된다. 咯出한 plug를 顯微鏡 아래서 觀察하게 되면 매우 희귀하게나마 菌을 證明할 수 있는 경우가 있다. 患者의 咯痰을 培養하면 다른 胸部疾患을 앓고 있는 患者나 正常人의 咯痰에 비해 有意하게 많은 aspergilli가 分離培養되지만 이것을 단순한 汚染과 區別하기가 어렵다. 대체로 모든 喘息患者의 7.8~8.3%가 그들의 咯痰에서 aspergilli가 分離培養되었는데, 이 숫자는 다른 肺疾患患者의 1.5~3.4%分離率에 비하면 有意하게 높다¹⁹⁾. 表 1에서 보는 바와 같이 確實한 診斷이 내린 ABPA患者 約 83%의 咯痰에서 aspergilli가 分離培養되었다²⁰⁾. 그리고 菌이 分離培養된 患者의 血清은 거의 모두 沈降抗體를 檢出할 수 있었다는 報告¹⁹⁾도 있고 또 特異沈降抗體가 證明된 患者의 77%가 培養에 aspergilli가 分離되었다는 報告²¹⁾도 있다. 一般的으로 患者血清에서 aspergilli 抗原에 대한 抗體의 檢出이 ABPA診斷에 큰 도움을 준다. 總 IgE抗體量 및 aspergilli抗原에 대한 特異 IgE抗體量과 沈降抗體(주로 IgG)量은 病의 程度에 따라 다르다. 血清 IgE量이 증가하면 病이 進展하고 있음을 말해 주는 것이며 IgE量이 減少하면 病이 輕快해지고 있음을 나타낸다. Radioimmunoprecipitation assay(RIPA)에 의해 測定된 總血清 IgE量이 正常人이나 다른 胸部疾患을 가진 患者에 비해 현저히 높은 ABPA患者가 約 82% 정도 되고 radioallergosorbent test(RAST)에 의해 測定된 aspergilli抗原에 대한 特異 IgE抗體量이 正常人보다 높은 患者는 91%정도 된다^{22,23)}. 그러나 臨床的 症勢가 顯著할 때 血清을 採取해 檢查하면 거의 100%의 ABPA 患者가 높은 IgE 抗體値를 나타낸다^{18,22,24)}.

그리고 放射性同位素(I^{125})를 結合한 抗原을 이용한 ammonium sulfate test(AST)로 96%의 ABPA 患者血清內에서 特異抗體를 檢出할 수 있었고²⁵⁾ 그리고 菌絲를 이용한 間接螢光抗體法(IFA)으로 檢査한 結果를 보면 100%의 ABPA 患者가 陽性反應을 보여 주었다. 매우 간단한 檢査法인 double immunodiffusion(DID)으로도 50~70%의 ABPA 患者血清에서 aspergilli 抗原에 대한 沈降抗體가 檢出된다^{6,7,8,25)}. 그러나 喘息만 있는 患者인 경우에는 陽性反應이 9~13%의 血清에서만 관찰되고 만일 好酸球浸潤에 의한 X-線上陰影이 결한 喘息患者인 경우에는 63~71%의 患者가 陽性反應을 보인다⁸⁾. 後者の 血清을 濃縮한 다음 檢査한다면 90% 이상의 陽性反應을 얻을 수 있다. Counterimmunoelectrophoresis(CIE)는 喘息만 있는 患者의 血清인 경우에는 DID 보다 거의 倍에 가까운 陽性反應을 찾아낼 수 있어서 매우 敏感한 方法일 뿐만 아니라 檢査結果도 빨리 얻을 수 있어서 利點이 많은 檢査方法이다^{9,26)}. 그외에도 血清內 aspergilli 抗原에 대한 抗體를 檢定하는 方法들이 있지만 아직 충분히 研究檢討되지 않았거나 아니면 어떤 不利한 點이 있다.

모든 ABPA 患者(100%)가 aspergilli 抗原의 皮內注射에 대해 Type I 反應을 나타내므로 皮膚反應檢査의 診斷價値는 크다²⁷⁾. 그러나 約 25%의 正常人도 陽性反應을 나타낸다는 報告도 있어서 皮膚檢査만으로 ABPA를 確診할 수 없다. 그리고 많은 ABPA 患者가 Type I 反應에 이어 遲延反應도 나타낸다.

Corticosteroid 療法을 받고 있는 患者에 있어서는 遲延皮膚反應이 抑制되고 그리고 沈降抗體量도 減少하기 때문에 이 療法을 받고 있는 동안에는 血清採取를 피해야 한다²⁴⁾.

ABPA 患者의 淋巴球가 M 患者의 淋巴球에 비해 aspergilli抗原에 대한 反應이 높다는 報告가 있지만 좀더 研究檢討되어야 할 것으로 본다²⁸⁾.

그리고 매우 희귀하지만 過敏性肺肺炎이 aspergilli에 의해 일어나는 경우가 있다. 이는 앞에서 이야기한 ABPA에서처럼 IgE 抗體에 의한 Type I 反應이 관련된 것이 아니고 抗原-抗體(주로 IgG 및 M) 複合體에 의한 Type III 反應 또는 細胞性反應인 Type IV 反應으로 일어나는 肉芽腫性病變이다.

Aspergilloma (M)^{12,25-27)}

M은 擴張된 氣管支內나 空洞內에 形成되는 aspergilli의 菌絲와 組織細胞破片들이 密集된 덩어리인 菌腫으로서 菌이 肺組織實質을 侵犯하는 일은 없다. 治療된 空洞을 가진 結核患者의 15%가 aspergillus 菌腫을 가지고 있다는 報告가 있다. 대부분의 M 患者에

Table 2. Laboratory Diagnosis of Aspergilloma^{5-12, 25-27)}

		Aspergilloma		Other lung diseases	Normal
		In situ	Removed		
Mycology					
Microscopy of wet or stained preparation		Rarely	0		
Culture		≥90	0	1.5~3.4	
Serology					
IFA	100				
AST	95				
DID		98~100	56	0~9	0~6
IE		100	33	0.3	
CF	79	100			
IHA	100				
LA	100				

Numbers represent percent.

있어서 X-線寫眞上에 菌腫이 쉽게 觀察된다. 決定的인 診斷은 切除한 菌腫으로부터 菌을 分離 同定하는 일이 겠지만 胸部 X-線寫眞, 喀痰의 菌分離培養 및 血清學的 檢査로 手術前에 診斷을 내릴 수 있다.

大部分의 M 患者 喀痰으로부터 菌이 分離培養되지만 亦是 단순한 汚染과 구별이 어렵고 경우에 따라서는 菌이 死滅해 培養해도 發育하지 않는다. 따라서 患者 血清內 aspergilli에 대한 特異抗體를 檢出하는 것이 M 診斷에 매우 효과적이다. 表 2에서 보는 바와같이 만일 M을 外科的으로 除去하기 전에 患者血清을 採取했다면 거의 100%의 患者가 현재 널리 사용되고 있는 各種血清學的 檢査法으로 쉽게 檢出할 수 있는 정도의 aspergilli에 대한 特異抗體를 가지고 있다. 그러나 菌腫을 除去하면 抗體量이 신속히 減少하여 抗體檢出率이 低下한다. 희귀하게나마 경우에 따라서는 菌腫이 自然的으로 溶解되기도 한다.

Invasive Aspergillosis (IA)^{3, 6, 8, 13)}

대체로 先天的 또는 後天的 免疫缺陷이 있는 患者에게 感染되어 發病하는 疾患으로서 앞서 이야기된 AB PA나 M과는 달리 aspergilli가 肺組織實質을 侵入하므로 거의 대부분의 경우 致命的인 結果를 낳는다. 健康이 몹시 衰弱해졌다던가 糖尿病, 白血病 또는 癌을 앓고 있던지 그로인해서 또는 다른 이유로 副腎皮質 hormone이나 기타 各種免疫抑制劑를 사용하는 個體에 發生하는 疾患으로서 그 豫後도 매우 나쁘고 그리고 感受性個體가 증가하고 있어서 매우 중요시되고 있는 疾患이다. 결국 致命的 結果를 낳는 나쁜 豫後의 주된

이유는 早期診斷이 어렵기 때문이다.

肺에 생긴 肉芽腫性 一次病變은 菌絲가 肺組織實質을 侵入해 化膿性肺臟炎을 일으키므로서 형성된다. 그 중 어떤 病變은 治癒되어 石灰化해 coin 病變을 형성하기도 하지만 대부분의 경우에는 壞死가 일어나 空洞이 형성되고 急性壞死性化膿性肺胞滲出物은 空洞周圍로 퍼져 나간다. 血管이 侵犯되면 血栓性脈管炎을 일으키고 菌은 결국 血流를 타고 다른 臟器로 轉移된다.

全身에 넓게 퍼진 IA의 檢査室診斷이란 현재로서는 단지 病理可檢物의 顯微鏡檢査 및 菌分離培養檢査에 의해서만 이루어지고 있다. 그러한 IA 患者는 血清內에 檢出할만한 양의 抗體가 없기 때문에 血清學的 診斷이 可能하지도 않고 그리고 皮膚反應檢査도 전혀 도움을 주지 못한다. 그러나 報告에 따라서는 IA 患者의 血清內에도 aspergilli에 對한 抗體를 檢出할 수 있는 정도의 양이 존재하는 경우가 많이 있으므로 血清學的 診斷에 매우 有用하다는 주장도 있다. 이는 아마도 病的 정도와 기간등이 연관된 문제로서 IA 診斷基準의 不分明 때문인 것으로 볼 수 있다. 최근에 抗體가 檢出되지 않는 甚한 IA 患者들의 血清內에서 菌體成分을 檢出하는 方法들을 몇몇 研究所에서 발전시키고 있지만 아직 실용단계에 있지 않다.^{33, 34)}

免疫學的 診斷用 抗原生産^{29-32, 34)}

各種病型의 aspergillus症의 血清學的 檢査는 病型과 그 程度에 따라서, 血清採取時期에 따라서, 感染菌種이나 菌株에 따라서, 사용된 抗原에 따라서, 抗體檢出方法에 따라서 다양한 結果를 얻게 된다. 病型에 따

른 抗體檢出率은 報告者에 따라 다른 數字를 보여주고 있는데 이는 곧 앞서 지적한 點들이 그 理由가 된다고 생각한다. 그 중에서도 특히 使用된 抗原의 性狀의 血清學的 檢査結果에 큰 영향을 미친다. 微弱한 反應을 하는 ABPA 患者의 血清으로 檢査할 경우에 抗原에 따른 陽性率의 差異는 매우 현저하다.

결국 標準化된 抗原製品의 缺如로 그러한 결과를 빚어내고 있기 때문에 標準抗原生産이 時急하다. 그러나 標準抗原의 製造에는 여러가지 어려움이 따르고 있는데 첫째 抗原의 特異성과 力價의 多樣성이 문제가 되고 있다. 대체로 생산된 抗原製品內의 反應力이 큰 抗原成分의 量的 多樣성은 주로 菌培養時間에 따라 使用培養基, 培養位置 및 溫度와 같은 菌培養條件에 따라, 使用된 菌種 또는 菌株에 따른 抗原成分의 定性 및 定量的 差異에 따라 그리고 抗原製造方法에 따라 나타난다. 둘째로 현재 널리 사용되고 있는 市販 또는 私製品들을 보면 非抗原成分의 含量이 서로 다르고 그리고 셋째로 aspergilli에 感染된 患者들의 抗體生産反應이 個體에 따라 다르다는 점 등이 또한 標準抗原 生産을 어렵게 해 주고 있다. 따라서 이러한 難關을 克服하려면 數株의 적합한 菌種을 이용하여 쉽게 再現할 수 있는 方法에 따라 抗原을 製造하고 그리고 非抗原成分, C-reactive protein과 反應하는 妨害物質에 불과한 C-polysaccharides 및 他菌種 또는 菌群과 交叉反應을 나타내는 成分들을 除去해야 한다. 이와같은 製品의 生産은 결코 容易하지 않아 아직도 많은 研究所에서

만족할만한 抗原生産에 盡力하고 있다.

著者は 앞에서 지적한 어려운 점들을 最大限으로 克服할 수 있는 標準抗原을 生産하고자 研究한 結果를 略述하고자 한다.

抗原製造에 사용된 菌種은 *A. fumigatus* NIH 5233 이었고 이 菌種은 매우 간단한 合成培養基에서도 잘 發育하는 菌이다. 이 菌을 asparagine glycerol medium에다 1週間 37°C에서 震盪培養하면 菌絲體量이 最大値에 이른다. 菌接種時 培養基의 pH가 中性이었지만 7日培養後에는 pH가 3.3까지 下降했다가 今後 다시 上昇하는데 이는 旺盛한 發育期에 有機酸이 增加하므로 pH가 下降하였다가 時間이 지남에 따라 有機酸이 利用되고 그리고 菌으로부터 遊離된 高分子代謝産物이나 自己分解에 의해 遊離된 菌體成分等的 緩衝作用으로 pH가 점차 上昇하는 것으로 본다. 강한 通氣와 攪拌을 해준 醱酵槽에다 培養하면 4日에서도 大量의 菌絲體를 얻을 수 있었다. 이렇게 培養한 菌絲를 직경 0.45mm 硝子球와 함께 Braun mechanical cell homogenizer로 CO₂로 冷却하면서 磨碎하여 水溶性抗原을 分離하여 Amicon concentrator(PMIO 사용), 透析管 및 冷凍乾燥器 등을 사용하여 濃縮 또는 乾燥하므로써 菌絲抗原을 製造하였다. 그리고 培養液抗原은 培養濾液을 濃縮하여 적은 分子量의 物質을 透析管으로 除去한 다음 冷凍乾燥하여 製造하였다. 이처럼 製造된 抗原들을 그들의 化學的性狀을 分析하고 그리고 白色家兔에 磨碎 菌絲體로 感作시켜 생산한 *A. fumigatus*에 對한 同種

Table 3. Changes in Composition of Mycelial Extracts and Culture Filtrates with Time of Incubation²³⁾

Antigen Preparations	P/C ratio*	Number of stained bands on analytical disc electrophoresis		Number of detectable antigens	
		Coomassie blue	Periodic acid-Schiff	Double-diffusion	Rocket immuno-electrophoresis
ME-4days	1.13	35	17	8	40
ME-week	0.83	23	11	5	28
ME-2weeks	0.67	21	9	4	23
M1E-4weeks	0.53	17	6	3	19
ME-6weeks	0.50	18	7	3	18
CF**-1week	0.29	6	ND††	1	4
CF-2weeks	0.38	8	ND	1	10
CF-4weeks	0.31	18	ND	2	18
CF-6weeks	0.34	22	12	3	21

*P/C ratio=protein/carbohydrate ratio

**CF=culture filtrate

†ME=mycelial extract

††ND-not done

Concentration in mg total substances; disc and rocket electrophoresis at 40mg/ml; double-diffusion at 1 to 20mg/ml depending on optimum number of bands produced.

Fig. 1. Sephadex G-75 column chromatography of the 75 per cent ammonium sulfate-precipitable components of mycelial extract. Photo insert depicts fused-rocket immunoelectrophoresis, with tubes pooled for each fraction.

抗血清을 이용한 DID 및 rocket-immunoelectrophoresis(RIEP)로 분석한 결과를 보면 표 3에 나타난 바와 같다. 즉菌絲體로부터抽出한抗原이培養濾液에서由來한抗原보다反應力이 큰抗原成分이 많고 그리고培養時間이 짧을수록 보다 많은抗原成分이菌絲로부터抽出되었다. 그런데培養濾液抗原은 그와 반대로培養時間이 오를수록 더 많은抗原成分이 얻어지는데 이는亦是菌細胞의自己分解에依存하고 있기 때문이다. 따라서 가장優秀한製品은醱酵槽에다 4日間培養한菌絲體로부터抽出한抗原이었으며家兔의同種抗血清을 이용하여 two-dimensional immunoelectrophoresis로 분석한 결과 52個以上の沈降抗原成分을觀察할 수 있었다. 이菌絲抗原(ME)이各種免疫學的檢査에 있어서 가장優秀한製品이라고 볼 수 있고 그리고特異性이 있고反應力이 높은抗原成分을分離 또는濃縮하는데 가장適合한母製品이라고 할 수 있다

菌絲抗原을 75% 飽和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 로沈澱시켜蒸溜水에 대해透析한 다음 Sephadex G-75 column을 통해分溜하였다. 그림 1에서 보는 바와 같이 크게 4分層로 나눌 수 있었고溶出順序에 따라 APIFA, APIFB, APIFC 및 APIFD라고 표시했는데 그順序는 곧 분

子 크기의順序와一致한다. 同種家兔抗血清으로 실시한 RIEP 결과를 보면 거의 대부분의抗原成分이 APIFA와 APIFB에分布되어 있음을 볼 수 있는데 그數와量을 비교해서 관찰해 보면 FB가優秀한分層임을 알 수 있다. 그림 2는母製品과各分層을 polyacrylamide gel electrophoresis(PAGE)에 의해分析해본 결과인데 ME의蛋白成分을 거의 모두 75% 飽和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 로沈澱(API)시킬 수 있음을 볼 수 있고 APIFA의主된抗原物質은分子의크기도 크고電荷가 낮아陰極쪽에分布하고 있는데 비해서 APIFB의主된成分들은分子크기도 다소 적지만 높게電荷되어 있어서陽極쪽에 많이分布하고 있다. 分子크기가 더 적고 더 높게電荷된 APIFC 성분은 더욱陽極으로 치우쳐 있음을 볼 수 있다. APIFA 성분은 periodic acid schiff(PAS)에도染色되기 때문에糖蛋白質이라고 보며其他分層은 거의 대부분蛋白質抗原이라고 본다. 75% 飽和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 에沈澱되지 않는物質(AS)로서分子量이 10,000 이상이고 ion exchange column(DE-52)에結合된物質 즉電荷를 가진物質(ASI)과電荷되어 있지않아 column에結合되지 않는物質(ASII)로 나눌 수 있었으며 ASI은糖蛋白質을 많

Fig. 2. Analytic disc gel electrophoresis of *Aspergillus fumigatus* fractions. Bottom of tubes were connected to the anode.

이 함유하고 있고 그리고 항血清과 反應力이 큰 抗原成

분이 많은데 비해서 ASII는 그러한 物質들이 缺如되었거나 매우 貧弱하였다. 이처럼 免疫學的 活性이 없는 ASII가 ME의 40%를 차지하고 있다. ME와 各分層의 生化學 및 血清學的 分析結果를 보면 표 4에 나타난 바와 같다. *A. fumigatus*로 感作시킨 guinea pig에 있어서의 皮膚反應檢査結果도 FB, FA 및 ASI 등에서 強하게 나타났고 感作動物의 淋巴節로부터 취한 淋巴球의 芽細胞變換反應도 그러한 抗原에 대해 強하게 나타났다. 皮膚反應으로 본 抗原의 特異성은 그림 3에서 보는 바와 같이 FB, FC 및 ASI 등이 가장 優秀했다. 그리고 ABPA 患者血清의 IgE 抗體와의 反應力도 FB, FA 및 ASI 등이 가장 높았다.

다음은 臨床的 有意性이 큰 菌種의 菌株 및 菌種間의 抗原의 關係를 同種 및 異種 抗血清을 이용하여 RIEP로 觀察한 結果를 보면 表 5와 그림 4에 나타난 바와 같이 *A. fumigatus* series (*A. fumigatus*, *A. fumigatus* var. *ellipticus* 및 *A. phialiseptus*) 內의 菌種이나 菌株들 사이는 抗原的으로 매우 가깝다는 사실을 알 수 있다. 그림 4에서 보는 바와 같이 *A. phialiseptus*(APS)에 대한 家兔의 抗血清과 ME 및 各分層을 비롯해서 *A. fumigatus* 004 및 005 그리고 *A. fumigatus* var. *ellipticus* AFE 등의 많은 沈降抗原이 反應하고 있을 뿐만 아니라 그러한 抗原成分中 많은 成分이 事實상 同一한 것임을 볼 수 있고, 이러한 現象은 그 反對되는 血清學的 反應에서도 볼 수 있었다. 그러나 *A. fumigatus* series와 *A. flavus* (AFV) 및 *A. niger* (ANG)와의 關係는 멀다. 後者の 두 菌種中에서 *A. flavus*가 *A. niger* 보다 *A. fumigatus* series에 더 가까운 경향을 보여주는데 이는 이러한 菌種들로 感染된 患者에서도 볼 수 있는 現象이다.

Table 4. Composition of *Aspergillus Fumigatus* Fractions

Fractions	P/C* ratio	Number of stained bands on analytical disc electrophoresis		Number of detectable antigens	
		Coomassie blue	Periodic acid-Schiff	Double-diffusion in agarose	Rocket immunoelectrophoresis
ME-4 days	1.13	35	17	8	40
APIFA	1.94	17	10	5	21
APIFB	0.97	18	9	5	19
APIFC	1.10	8	4	2	11
APIFD	1.60	8	2	1	3
ASI	0.65	10	9	4	16
ASII	0.08	1	1	2	0

*P/C=protein/carbohydrate

Fig. 3. Specificity of fractions of *Aspergillus fumigatus* in guinea pigs sensitized with homologous and heterologous species. Cross lines indicate SE. For explanation of terms, see text.

Table 5. Comparison of Antigens from *Aspergillus* spp. with Homologous and Heterologous Antisera.

Antisera against:	Antigens						Fractions of ME*					
	<i>A. niger</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. phialiseptus</i>	<i>A. fumigatus</i> var <i>ellipticus</i>	<i>A. fumigatus</i> 005	<i>A. fumigatus</i> NIH5233	APIFA	APIFB	APIFC	APIFD	ASI	ASI
<i>A. niger</i>	18 (100)	7 (30)	6 (26)	10 (31)	8 (32)	10 (29)	5 (28)	7 (30)	3 (21)	1 (25)	4 (25)	0
<i>A. flavus</i>	2 (11)	23 (100)	12 (52)	13 (41)	12 (48)	11 (32)	9 (50)	9 (39)	4 (29)	1 (50)	8 (50)	0
<i>A. phialiseptus</i>	2 (11)	3 (13)	23 (100)	23 (72)	17 (68)	22 (65)	12 (67)	17 (74)	12 (36)	2 (81)	13 (81)	0
<i>A. fumigatus</i> var <i>ellipticus</i>	2 (11)	4 (17)	19 (83)	32 (100)	19 (76)	27 (79)	17 (94)	23 (100)	11 (78)	2 (81)	13 (81)	1
<i>A. fumigatus</i> 005	2 (11)	5 (22)	18 (78)	22 (69)	25 (100)	21 (62)	13 (72)	15 (65)	11 (78)	2 (63)	10 (63)	1
<i>A. fumigatus</i> NIH5233	2 (11)	6 (26)	21 (91)	30 (94)	29 (116)	34 (100)	18 (100)	23 (100)	14 (100)	3 (100)	16 (100)	1

Numbers refer to the total number of precipitating antigens detected with each antibody.

Numbers in parenthesis refer to PQS (percent qualitative sharing).

Underscored values reflect homologous system.

*For abbreviations and further explanation, see text.

이제 著자가 생산한 抗原製品과 市販抗原을 各種病型의 aspergillus 症患者 42名의 血清으로 分析한 結果를 보면 表 6에서 보는 바와 같이 비록 抗原製品들 사이에

定性的 多樣性은 있을지라도 市販製品 (GL, HS, MA) 들도 ME와 比較될만큼 陽性反應者를 索出해 낼 수 있었다. 그러나 ME가 가장 많은 陽性反應者를 찾아낼 뿐만

Fig. 4. Fused rocket immunoelectrophoresis of extracts of species of *Aspergillus* and fractions of *A. fumigatus* with anti-*Aspergillus phialiseptus* serum. For definitions of abbreviations see text.

아니라 表 7과 그림 5에서 보는 바와같이 RIEP로檢出할 수 있는 沈降反應抗原成分이 ME에 가장 많이 분포되어 있다. 거의 모든 市販抗原은 數株의 菌을 오래동안 培養하여 菌細胞의 自己分解作用에 의해 菌體成分이 培養液에 遊離되어 나온 것을 濃縮하여 만들었기 때문에 變性の 염려가 있을 뿐만 아니라 抗原製造에 長時間을 要한다. 間歇的 攪拌으로 1年間 培養한 培養物의 濾液으로부터 抽出한 抗原인 CF가 同一菌株의 菌絲抗原 ME와 비교해 보면 反應力이 큰 抗原成分의 分布가 비슷하지만 결코 ME를 凌駕할 수 없기 때문에 菌絲抗

原을 製造해서 各種 免疫學的檢査에 이용하는 것이 바람직하다. 그리고 ME를 分溜했을 경우에 3~8% 정도의 陽性反應者를 찾아내지 못하는 短點도 있지만 그러나 反應力이 큰 抗原成分이나 特異성이 높은 抗原成分을 선택적으로 分離 또는 濃縮할 수 있는 長點도 있다. 가장 많은 患者의 血清과 反應하는 抗原成分을 含有한 分層은 ASI와 FB이었다. 즉 ME에 대해 36명의 患者가 陽性反應을 보여준데 비해서 ASI에 대해서는 35명이, FB에 대해서는 34명이, FA에 대해서는 33명이 그리고 FC에 대해서는 29명이 陽性反應을 나타내

Table 6. Double Immunodiffusion Analyses of Positive Clinical Serum Specimens from Confirmed and Unconfirmed Aspergillosis Cases with Commercial and Experimental Preparations of *Aspergillus* Antigens

Antigens	<i>Aspergillus fumigatus</i> series																A C T	A N D	A F V	A N G	Specific clinical diagnosis and complications
Patients	GL	HS	MA	CF	ME	FA	FB	FC	FD	ASI	ASII	004	005	AFE	APS						
1	2	2	2	1	2	2	2	1	0	2	1	1	2	2	2	0	0	1	0	ABPA	
1	3	4	2	3	4	2	3	1	0	1	0	2	2	4	4	1	0	0	0	ABPA	
3	3	4	3	4	4	3	4	1	0	2	0	3	2	3	4	0	0	0	0	ABPA	
4	1	1	1	2	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	1	0	ABPA	
5	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	0	1	1	0	2	0	0	0	0	ABPA	
6	4	6	7	7	7	5	9	2	1	4	1	5	4	5	1	1	0	1	0	M	
7	5	3	6	4	5	3	3	2	1	1	0	4	3	3	3	1	1	0	0	M	
8	4	4	4	4	4	2	3	2	1	2	0	6	3	4	2	0	0	1	0	M+TB	
9	3	2	3	3	4	3	3	1	0	2	1	4	3	2	3	1	0	0	0	M	
10	3	2	4	5	5	2	3	2	0	2	1	3	2	2	3	0	0	0	0	M+S+C	
11	2	2	4	3	2	2	3	1	0	1	1	3	2	4	3	0	0	0	0	M+TB	
12	3	3	6	6	5	5	4	3	0	2	0	1	3	2	2	0	0	0	0	M+S	
13	3	3	3	5	4	2	3	1	0	1	0	3	4	3	4	0	0	0	0	M	
14	2	2	3	2	2	2	1	1	0	1	0	0	1	2	1	0	0	3	0	M	
15	1	1	1	1	2	2	2	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	M	
16	1	1	2	1	1	2	1	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	M	
17	2	2	2	2	2	1	2	0	0	1	0	1	0	2	2	0	0	0	0	M	
18	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	3	0	M+TB	
19	4	4	5	5	5	2	3	2	0	2	1	4	3	4	3	1	0	4	1	IA	
20	3	3	5	5	6	4	2	2	0	2	1	3	4	4	3	2	1	2	2	P	
21	3	3	5	5	5	2	3	2	2	2	1	1	1	3	4	1	0	0	0	TB	
22	4	4	3	4	5	3	4	2	0	2	1	4	2	4	4	1	0	0	0	TB	
23	3	2	3	2	3	2	2	1	0	2	1	2	2	2	1	1	0	0	0	CF+DM	
24	2	2	2	2	2	1	2	2	1	1	1	1	1	1	2	0	0	0	0		
25	2	2	2	2	1	1	2	1	0	2	1	2	0	2	2	0	0	0	0		
26	1	1	0	2	1	1	1	1	0	1	1	1	1	2	1	0	0	1	0		
27	4	4	5	6	6	3	4	2	0	2	0	4	2	4	4	0	0	0	0		
28	4	3	4	4	4	3	4	1	0	1	0	2	3	3	2	0	0	0	0		
29	2	2	3	4	4	3	2	0	0	2	0	3	2	2	5	1	0	0	0	TB	
30	3	2	3	3	4	2	3	2	0	1	0	1	1	3	2	0	0	0	0		
31	2	2	2	2	2	1	2	2	0	2	0	2	2	1	2	0	0	0	0		
32	2	2	3	3	3	1	1	0	0	1	0	3	3	3	2	0	0	0	0		
33	2	1	2	3	2	2	1	0	0	1	0	3	2	1	2	0	0	0	0		
34	2	2	2	2	2	0	2	1	0	1	0	3	2	0	1	0	0	0	0		
35	2	1	2	1	2	1	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
36	0	0	0	2	2	1	2	1	0	0	0	1	0	2	2	0	0	0	0		
37	0	0	1	0	0	0	1	1	0	1	0	1	1	2	1	0	0	0	0		
38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	2		
39	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0		
40	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0		
41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5		
42	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0		
Total number of positive	34	34	35	35	36	33	34	29	5	35	15	34	35	33	36	10	3	11	4		

ABPA=Allergic bronchopulmonary aspergillosis. C=Cyst. CF=Cystic fibrosis. DM=Diabetes mellitus. IA=Invasive aspergillosis. M=Aspergilloma. P=Pneumonia. S=Sarcoid. TB=Tuberculosis. ACT=*A. clavatus*. AND=*A. nidulans*. AFV=*A. flavus*. ANG=*A. niger*
 For other abbreviations see text. Numbers in the table represent number of precipitin bands.
 Patients 1-19 had confirmed aspergillosis. Patients 20-42 had suspected but unconfirmed aspergillosis.

Fig. 5. Reactivity of serum specimen from Patient 21 with commercial and experimental antigen preparations and fractions of *Aspergillus fumigatus*. For definitions of abbreviations, see text. Fractions FA, FB, and FC are actually APIFA, APIFB, and APIFC. Fractions are described in text.

었다. 小分子分層인 FD와 中性糖類인 ASII는 매우 貧弱한 反應力을 나타내었다. 特히 ASII는 他菌種과 交叉反應도 많고 그리고 C-reactive protein(CRP)과 反應하기 때문에 반드시 診斷用 抗原製品으로부터 除去되어야 한다. 糖蛋白質抗原인 FA 分層도 비록 患者血清과의 反應力은 크지만 實驗動物의 皮膚反應에서 他菌種과 交叉反應이 큰 것을 볼 수 있었는데 이러한 現象은 抗原分子의 炭水化物部分 때문인 것으로 본다. 非抗原性이고 그리고 CRP와 反應하는 不必要한 成分인 ASII는 ME, CF 및 其他 모든 市販製品에서 볼 수 있는데 이물질은 特異抗體 檢出을 위한 血清學的 診斷用 抗原으로부터는 除去되어야 하지만 侵蝕性 aspergillus 症을 人爲의로 誘發한 動物의 血清에서 이러한 成分이 檢出되고 있어서, IA 患者의 血清으로부터 이물

질을 檢出할 수 있는 方法으로서 radioimmunoassay 나 enzyme-linked immunossay 등이 개발되고 있다^{33,34}.

結 論

Aspergilli는 自然에 널리 分布되어 있는 眞菌類로서 感受性에 있는 個體에 여러가지 病型의 aspergillus 症을 일으킨다. 이러한 疾患의 診斷은 적절한 可檢物과 試藥으로 菌學的 및 免疫學的 檢査를 실시하므로써 行할 수 있다. 그러한 菌學的 및 免疫學的 檢査는 病型에 따라 結果가 다르기 때문에 病型에 따라 各檢査方法의 診斷의 價値도 달라진다. M의 診斷에는 沈降抗體의 檢出이 매우 有用한데 檢査方法으로서 가장 感受성이 큰

Table 7. Precipitins to *Aspergillus* Antigens in Clinical Serum Specimens
Detected by Rocket Immuno-electrophoresis

Antigens Patients	GL	HS	MA	CF	ME	APIFA	APIFB	APIFC	ASI	ASII
21	14 (10)	9 (4)	11 (7)	16 (12)	17	13	12	9	9	0
22	10 (6)	7 (4)	12 (5)	15 (11)	15	13	10	8	9	1
20	14 (10)	13 (4)	12 (6)	14 (8)	14	13	12	7	9	1
29	11 (7)	11 (7)	7 (5)	13 (8)	14	10	11	4	6	1
7	10 (7)	9 (6)	8 (7)	10 (8)	11	7	10	3	5	0
30	2 (2)	3 (2)	2 (2)	4 (4)	5	3	3	2	1	0
36	1 (1)	1 (1)	1 (1)	3 (3)	4	3	4	4	4	0
32	3 (2)	6 (2)	5 (2)	4 (3)	3	3	4	6	5	1
26	2 (1)	4 (1)	2 (1)	3 (1)	2	3	3	2	3	0
37	0	0	1 (1)	1 (1)	1	1	1	1	1	0

Numbers in parentheses represent number of precipitin bands apparently joined with those of ME. Refer to table 6 for detailed information on patients and to text for information on fractions. GL=Greer Laboratories, HS=Hollister-Stier, MA=Microbiological Associates, CF & ME are culture filtrate and mycelial extract of *Aspergillus fumigatus*.

것은 CIE이며 이 방법은 M뿐만 아니라 ABPA의 診斷에도 皮膚反應檢査와 더불어 매우 有用하게 이용될 수 있다. 그런데 各種血清學的 檢査法의 感受性은 使用한 抗原의 性狀에 크게 의존하고 있다. 대체로 가장 反應력이 큰 抗原成分들은 活發하게 增殖하고 있는 어린 菌絲로부터 抽出한 抗原製品에 가장 많이 分布되어 있고 이러한 菌絲抗原으로부터 蛋白質成分을 分離하거나 濃縮하면 他菌群이나 菌種과 交叉反應을 일으키고 그리고 CRP와 反應하는 非抗原性多糖類를 除去할 수 있다.

參考 文 獻

1. Raper, K.B., and Fennell, D.I.: The genus *Aspergillus*. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1965.
2. 金尙材: 韓國產 aspergilli에 關한 分類學的 研究. 博士學位請求論文, 1971.
3. Emmons, C.W., Binford, C.H., Utz, J.P., and Kwon-Chung, K.J.: Medical mycology. Lea & Febiger, Philadelphia, 1977.
4. Pepys, J.: Pulmonary aspergillosis, in *Hypersensitivity diseases of the lungs due to fungi and organic dusts*. S. Karger, A.G., New York, 1969.
5. Bardana, E.J., McClatchy, J.K., Farr, R.S., and Minden, P.: The primary interaction of antibody to components of aspergilli. II. Antibodies in sera from normal persons and from patients with aspergillosis. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1972, 50: 222~234.
6. Coleman, R.M., and Kaufman, L.: Use of the immunodiffusion test in the serodiagnosis of aspergillosis. *Appl. Microbiol.* 1972, 23: 301~308.
7. Kim, S.J., Chaparas, S.D., and Buckley, H.

- R. : Characterization of antigens from *Aspergillus fumigatus*. IV. Evaluation of commercial and experimental preparations and fractions in the detection of antibody in aspergillosis. Amer. Rev. Respir. Dis. 1979, 120 : 1305~1311.
8. Longbottom, J.L., and Pepys, J. : Pulmonary aspergillosis : diagnostic and immunological significance of antigens and C-substance in *Aspergillus fumigatus*. J. Pathol. Bacteriol. 1964. 88 : 141~151.
9. Mackenzie, D.W.R., and Philpot, C.M. : Counterimmunoelectrophoresis as a routine mycoserological procedure. Mycopathologia, 1975, 57 : 1~7.
10. Tönder, O., and Rödsiether, M. : Indirect haemagglutination for demonstration of antibodies to *Aspergillus fumigatus*. Acta Pathol. Microbiol. Scand. (B). 1974, 82 : 871~878.
11. Walter, J.E., and Jones, R.D. : Serologic tests in diagnosis of aspergillosis. Dis. Chest, 1968, 53 : 729~735.
12. Warnock, D.W. : Indirect immunofluorescence test for the detection of *Aspergillus fumigatus* antibodies. J. Clin. Pathol. 1974. 29 : 911~912.
13. Young, R.C., and Bennett, J.E. : Invasive aspergillosis. Absence of detectable antibody response. Amer. Rev. Respir. Dis. 1971, 104 : 710~716.
14. Pepys, J. : Antigens and hypersensitivity pneumonitis. J. Allergy Clin. Immunol. 1978, 61 : 201~203.
15. Pier, A.C., Cysewski, S.J., and Richard, J. L. : Mycotic abortion in ewes produced by *Aspergillus fumigatus* : intravascular and intrauterine inoculation. Amer. J. Vet. Res. 1972, 33 : 349~356.
16. Young, R.C., Jennings, A., and Bennett, J.E. : Species identification of invasive aspergillosis in man. Amer. J. Clin. Pathol. 1972, 58 : 554~557.
17. Frick, O.L. : Immediate hypersensitivity, in *Basic and clinical immunology*, Lange, Los Altos, CA, 1976.
18. Turner-Warwick, M., et. al. : Immunologic lung disease due to *Aspergillus*. Chest. 1975, 68 : 346~355.
19. Pepys, J., Riddell, R.W., Citron, K.M., Clayton, Y.M., and Short, E.I. : Clinical and immunologic significance of *Aspergillus fumigatus* in the sputum. Amer. Rev. Respir. Dis. 1959. 80 : 167~180.
20. Khan, Z.U., Sandhu, R.S., Randhawa, H.S., Menon, M.P.S., and Dusaj, I.S. : Allergic bronchopulmonary aspergillosis : a study of 46 cases with special reference to laboratory aspects. Scand. J. Resp. Dis. 1976, 57 : 73~87.
21. Safirstein, B.H., D'Souza M.F., Simon, G., H-C Tai, E. and Pepys, J. : Five year follow-up of allergic bronchopulmonary aspergillosis. Amer. Rev. Respir. Dis. 1973, 109 : 450~459.
22. McCarthy, D.S., and Pepys, J. : Allergic bronchopulmonary aspergillosis, Clin. Allergy, 1971, 1 : 261.
23. Wang, J.L.F., Patterson, R., Rosenberg, M., Roberts, M., and Cooper, B. : Serum IgE and IgG antibody activity against *Aspergillus fumigatus* as a diagnostic aid in allergic bronchopulmonary aspergillosis. Amer. Rev. Respir. Dis. 1978. 117 : 917~927.
24. Imbeau, S.A., Nichols, D., Flaherty, D., Valdivia, E., Peters, M.E., Dickie, H., and Reed, C.E. : Allergic bronchopulmonary aspergillosis. J. Allergy Clin. Immunol. 1978, 62 : 243~255.
25. Bardana, E.J., Gerber, J.D., Craig, S., and Cianciulli, F.D. : The general and specific humoral immune response to pulmonary aspergillosis. Amer. Rev. Respir. Dis. 1975. 112 : 799~805.
26. Philpot, C.M., and Mackenzie, D.W.R. : A comparison of *Aspergillus fumigatus* antigens by counterimmunoelectrophoresis. Mycopathologia. 1976, 58 : 19~20.
27. Bardana, E.J. : Measurement of humoral antibodies to aspergilli. Ann. N.Y. Acad. 1974, 221 : 64~75.
28. Haslam, P., Lukoszek, A., Longbottom, J.L., and Turner-Warwick, M. : Lymphocyte sensitization to *Aspergillus fumigatus* antigens

- in pulmonary diseases in man. Clin. Allergy. 1976, 6 : 277~291.
29. Kim, S.J., and Chaparas, S.D. : Characterization of antigens from *Aspergillus fumigatus* I. Preparation of antigens from organisms grown in completely synthetic medium. Amer. Rev. Respir. Dis. 1978, 118 : 547~551.
 30. Kim, S.J. Chaparas, S.D., Brown, T.M. and Anderson, M.C. : Characterization of antigens from *Aspergillus fumigatus*. II. Fractionation and electrophoretic, immunologic and biologic activity. Amer. Rev. Respir. Dis. 1978, 118 : 553~560.
 31. Kim, S.J. and Chaparas, S.D. : Characterization of antigens from *Aspergillus fumigatus*. III. Comparison of antigenic relationships of clinically important aspergilli. Amer. Rev. Respir. Dis. 1979. 120 : 1297~1303.
 32. 金尙材, 酵素結合免疫分析法(ELISA)을 이용한 Aspergillosis 患者血清內 *Aspergillus fumigatus* 에 대한 IgG 抗體의 檢定, 結核 및 呼吸器疾患 1980, 27 : 27~33.
 33. Weiner, M.H., and Coats-Stephen, M : Immunodiagnosis of systemic aspergillosis. I. Antigenemia detected by radioimmunoassay in experimental infection. J. Lab. Clin. Med. 1979, 93 : 111~119.
 34. Bennett, J.E., and Kim, S.J. : Antigenemia in experimental aspergillosis. 1980. (in press)
-