□ 원 저 □

결핵성 흉막염의 세포면역학적 특성에 관한 연구

— Adenosine Deaminase의 진단적 가치 및 증가기전에 관하여 —

서울대학교 의과대학 내과학교실 및 결핵연구소

정 기 석 · 정 희 순 · 한 성 구

심 영 수 · 김 건 열 · 한 용 철

= Abstract =

Immunologic Characteristics of Tuberculous Pleural Effusion

— Diagnostic Value and Mechanism of Increased Adenosine Deaminase Activity —

K.S. Jung, M.D., H.S. Chung, M.D., S.K. Han, M.D.,

Y.S. Shim, M.D., K.Y. Kim, M.D. and Y.C. Han, M.D.

Department of Internal Medicine and Tuberculosis Research Institute,

College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

To investigate the immunologic characteristics and the mechanism of increased adenosine deaminase (ADA) activity in tuberculous pleural effusion, we measured total lymphocyte, T-lymphocyte, helper T-cell (T_4), suppressor T-cell (T_8), T_4/T_8 ratio, antituberculous antibody (IgG) and ADA activity both in tuberculous pleural effusion and malignant pleural effusion.

1) Total lymphocyte count was 1844 ± 1289 cells/mm³ in tuberculosis and 1096 ± 1012 cells/mm³ in malignancy, which was increased in tuberculosis compared with malignancy ($p < 0.05$)

2) In tuberculous pleurisy, analysis of T-cell subpopulations showed that number of T_1 was 1945 ± 1072 cells/mm³, T_4 was 1594 ± 923 , T_8 was 507 ± 295 , and T_4/T_8 ratio was 3.72 ± 1.91 . The proportion of T cell subset revealed that T_1 was $77.90 \pm 7.37\%$, T_4 was $63.65 \pm 10.03\%$, T_8 was $19.96 \pm 6.45\%$.

3) In malignant pleural effusion number of T_1 was 758 ± 347 , T_4 was 539 ± 274 , which showed increased number of T_1 and T_4 in tuberculosis compared with malignancy ($p < 0.05$).

4) The titer of antituberculous antibody (IgG) was 0.58 ± 0.26 in tuberculosis and 0.45 ± 0.11 in malignancy. In spite of increased IgG titer in tuberculosis, the sensitivity and specificity were inferior to ADA in diagnosis of tuberculosis, suggesting that humoral immunity was less contributable to the pathogenesis of tuberculous pleurisy than cellular immunity.

5) When the ADA activity was over 40 U/L, the diagnostic accuracy of tuberculosis over malignancy was 92.5% in sensitivity, 82.4% in negative predictive value and 100% in specificity.

6) In spite of increased ADA level in tuberculous pleurisy, there was no definite correlation between pleural fluid ADA level and T-cell subpopulation.

In conclusion, above results necessitate a functional analysis of T-lymphocyte rather than morphologic appearance in the investigation of cellular immunity in tuberculosis pleurisy and estimation of ADA activity in pleural effusion is simple, not expensive and has a good diagnostic value.

* 본 논문은 1986년도 서울대학교병원 특진연구비의 보조로 이루어 졌음.

* 본 논문의 요지는 1986년도 제63차 대한결핵학회 추계학술대회에서 발표 하였음.

서 론

우리나라에서의 삼출성 흉막염의 원인질환으로 결핵은 아직도 많은 부분을 차지하고 있고 또 암성 흉막삼출증의 빈도도 점차 높아져가는 추세이다. 결핵성 흉막염은 주된 병인으로 세포성 면역의 역할이 중요시되고 있다. 폐결핵에 대한 면역학적 연구는 이미 여러 관점에서 밝혀진 바가 많고 결핵성 흉막염에 대해서는 현재 활발히 연구가 진행되고 있으나 국내에서는 많지 않은 실정이다. 결핵성 흉막출액에서 림프구의 수가 증가되고 특히 T⁺림프구의 증가가 뚜렷하며^{1,2)} 림프구의 분화와 성숙에 관여한다고 알려진 Adenosine Deaminase(이하 ADA로 약함) 활성도가 높다는 점등^{3~8)}에서 흉막삼출액의 면역학적 특성, 그 중에도 세포성 면역의 역할에 대해 규명할 필요가 있다. 또 ADA가 결핵성 흉막염에서 증가해 있는 것이 「림프」구아형들이나 항결핵항체의 역가와 어떤 관계가 있는지의 여부도 아직 밝혀진 바 없어 그 증가기전에 대한 연구가 필요하다.

저자들은 결핵성 흉막염환자의 흉막삼출액에서 총「림프」구, T⁺림프구, T⁺림프구아형, 항결핵항체중 IgG, ADA활성도 등을 측정하여 세포면역에 중요한 조력 T⁺림프구와 억제 T⁺림프구의 분포, ADA활성도와 T⁺림프구의 분포, 항결핵항체 간의 상관관계, 이들의 진단적 가치 등을 조사하고 이들 소견을 암성 흉막삼출액 환자소견과 비교관찰한 바 있어 보고하고자 한다.

대상 및 방법

1. 대 상

총 57예의 흉막질환 환자를 대상으로 하였으며 결핵성 흉막염 40예와 대조군으로는 암성 흉막염 14예, 전신성 홍반성낭창에 동반된 흉막염 1예, 세균성폐염 1예, 급성 췌장염 1예등 17예 였다(Table 1).

결핵성 흉막염은 흉막조직검사나 흉막액의 결핵균도말 및 배양검사로 확진된 경우가 32예 였으며 나머지 8예는 치료경과를 포함한 임상진단 환자예였다. 암성 흉막염의 진단은 흉막액 세포진검사나 흉막조직검사로 암성종양이 확진된 경우였고 14예 모두 폐암이 선행질환이었다. 연령은 결핵성 흉막염환자가 31.8±14.0세, 암성 흉막염 환자가 53.3±15.2세로 암성질환 환자군에서 높았고 남

Table 1. Diagnosis in 57 Patients with Pleural Effusion

Tuberculosis	40
Biopsy proven	32
Clinically suspected	8
Malignancy	14
Miscellaneous	3
SLE	1
Parapneumonic effusion	1
Pancreatitis	1

녀의 비는 결핵성군에서 1.9 : 1, 암성군에선 1.8 : 1이었다.

2. 방 법

1) 흉막액의 일반적검사 및 흉막조직생검

대상환자의 흉막액에서 총단백량, 백혈구 및 적혈구의 수, 백혈구중 「림프」구, 중성구, 기타세포의 비율, 결핵균과 일반세균의 도말 및 배양검사, 세포진검사 등을 시행하였으며 Cope needle로 흉막생검을 실시하였다.

2) T⁺림프구아형 검사

환자의 흉막액 20 cc를 「헤파린」으로 처리한 주사기로 채취하여 가능한 한 빠른시간내에 단핵세포도말표본을 만들었다. 흉막액을 450 g로 10분간 원심분리하여 pH 7.2의 Hank's Balanced Salt Solution (이하 HBSS로 약함)을 넣은다음 Ficoll-Hypaque이 들어있는 시험관에 붓고 이를 다시 450 g로 30분간 원심분리하여 단핵세포층만 분리해낸다. 이를 3회 반복하여 단위 ml당 단핵구의 수가 10⁶개가 되도록 HBSS로 희석한 다음 slide glass 위에 paraffin 종이를 붙여 3개의 hole을 만들고, 준비된 단핵세포부유액을 50~100 μ l씩 넣고 4°C 냉장고에서 1시간동안 자연침강시킨 후 상층액은 버리고 인공바람으로 빠른시간내에 말려서 단핵세포도말표본을 만든다. 염색은 면역세포화학염색법을 사용하여 immunoperoxidase법의 peroxidase-anti-peroxidase(이하 PAP로 약함)법에 상응하는 Alkalinephosphatase-anti-alkalinephosphatase(이하 APAAP로 약함)법을 이용하였고⁹⁾ Avidin-Biotin-Peroxidase Complex 법보다 더 민감함 것으로 알려진 Vacca의 double bridge 기법을 사용하였다¹⁰⁾. 1차항체는 DAKO사의 T₁(mouse anti-human T-cell), T₄(mouse antihuman T-helper cell), T₈(mouse antihuman T-suppressor cell)을 사용하였으며 2차항체는 Sigma사의 antimouse immunoglo-

bulin을 사용하였다. APAAP는 alkaline phosphatase와 mouse에서 만든 단세포균항체와의 면역복합체로서 PBS로 1 : 50으로 희석하여 사용하였다.

염색순서는 도말표본을 고정한 후 1차항체, 2차항체를 차례로 넣고 APAAP를 넣은다음 발색제를 반응시키고 대조염색을 하였다. 결과분석은 400배 현미경하에서 1 mm² 격자안의 세포중 전체「림프」구와 APAAP에 양성으로 빨강게 반응한 세포를 관찰하여 그 수와 비율을 구하였고 3개의 hole에서 각각 4시야를 관찰하여 평균치를 구했다.

3) ADA활성도

ADA활성도는 흉막액 10 cc와 혈청 5 cc를 채취즉시 원심분리하여 상층액을 -20℃ 냉장고에 분리보관하였다가 Giusti¹¹⁾의 비색법을 이용하여 sphectrophotometry로 628 nm에서의 흡광도를 측정하여 Unit/Liter(U/L)로 표시하였다. 시약은 Sigma사의 Adenosine을 사용하였고 각각 2회 측정하여 평균치로 활성도를 구하였다.

4) 항결핵항체 (IgG)

ADA활성도 측정을 위해 냉장고에 보관된 흉막액을 사용하였다. 항원은 Mycobacterium tuberculosis(H₃₇ RV strain)를 1% phenol로 균을 사멸시켜 PBS로 세

Table 2. ADA Activity, Total Leukocyte, Lymphocyte and IgG in Pleural Effusion (mean ± S.D.)

Diagnosis	ADA (U/L)	Total leukocyte (cells/mm ³)	Lymphocyte (cells/mm ³)	IgG (absorbance)
Tuberculosis (n=40)	75.54 ± 25.38 *	2536 ± 2321*	1844 ± 1287 **	0.58 ± 0.26***
proven (n=32)	75.45 ± 26.59	2541 ± 2589	1766 ± 1402	0.60 ± 0.28
suspected (n= 8)	75.89 ± 21.16	2521 ± 565	2156 ± 614	0.50 ± 0.15
Malignancy (n=14)	19.60 ± 4.77	1758 ± 1210	1096 ± 1012	0.45 ± 0.11

* P > 0.1, ** P < 0.05, *** P < 0.1 # P < 0.005 : Compared with malignancy

Fig. 1. Distribution of ADA activity in pleural fluid (mean ± S.D.).

척한 것을 초음파로 파쇄시켰다. 이를 원심분리하여 상층액에서 취한 항원을 Tubercle Extract 항원으로 하여 효소결합면역측정법(ELISA)을 이용하여 492 nm에서의 흡광도를 측정하여 2회의 평균치를 구하였다¹²⁾.

5) 통계적 처리

결핵성 흉막염과 양성 흉막염의 비교는 student t-test를 하였고 결핵성 흉막염에서 T「림프」구아형, IgG항체, ADA활성도간의 유의한 상관관계가 있는지 여부를 검정하였다.

결 과

결핵성 흉막염 40예와 양성 흉막염 14예에서 총백혈구수, 「림프」구의 비율, 항결핵 항체(IgG)의 역가, ADA활성도 등등은 Table 2에 표시한 바와 같은데 결핵성 흉막삼출액에서 백혈구수는 2536 ± 2321 cells/mm³(평균 $\pm$ 표준편차)였으며 양성에서는 1758 ± 1210 cells/mm³로 양군간의 유의한 차이는 없었다($p > 0.1$). 총「림프」구수는 결핵성에서 1844 ± 1287 cells/mm³, 양성에서 1096 ± 1012 cells/mm³로 결핵성에서 증가되어 있었다($p < 0.05$). ADA활성도는 결핵성이 75.54 ± 25.38 U/

L, 양성인 19.60 ± 4.77 U/L로 결핵성에서 현저히 증가되어 있었으며($p < 0.005$)(Fig. 1). 40 U/L를 경계기준으로 하면 양성 흉막염에 대한 결핵성 흉막염 진단의 예민도는 92.5%, negative predictive value는 82.4%였다. 혈청에서의 ADA의 증가가 흉막삼출액의 ADA활성도에 영향을 미칠것을 고려하여 혈청과 흉막액에서 ADA치의 비를 보았는데 결핵성이 3.41 ± 1.02 , 양성인 1.26 ± 0.50 으로 예민도 96.5%, negative predictive value 87.1%였다(Fig. 2). 흉막액의 항결핵항체는 결핵성이 0.58 ± 0.26 , 양성인 0.45 ± 0.11 이었다($p < 0.1$)(Fig. 3).

T「림프」구아형은 17예의 결핵성과 3예의 양성환자를 대상으로 하였는데 결핵성에서 총 T「림프」구(T₁)는 1945 ± 1072 cells/mm³, 조력 T「림프」구(T₄)는 1594 ± 923 cells/mm³, 억제 T「림프」구(T₈)는 507 ± 295 cells/mm³, T₄/T₈ 비는 3.72 ± 1.91 이었으며 양성에서는 각각 758 ± 347 cells/mm³, 539 ± 274 cells/mm³, 292 ± 146 cells/mm³, 2.13 ± 1.07 이었고, 결핵성에서 T₁과 T₄가 양성질환에 비해서 통계적으로 유의한 증가수치를 보였다(Table 3).

흉막삼출액의 총「림프」구에 대한 T₁, T₄, T₈의 비율

Fig. 2. Distribution of pleural effusion/serum ADA ratio (mean $\pm$ S.D.).

Table 3. T-cell Subpopulation in Pleural Effusion (cells/mm³)

Diagnosis	Pan-T	T ₄	T ₈	T ₄ /T ₈
Tuberculosis (n=17)	1945 ± 1072*	1594 ± 923**	507 ± 295 #	3.72 ± 1.91##
proven (n= 9)	2226 ± 1361	1866 ± 1146	503 ± 375	4.63 ± 2.18
suspected (n= 8)	1630 ± 543	1289 ± 493	510 ± 197	2.69 ± 0.81
Malignancy (n= 3)	755 ± 347	539 ± 274	292 ± 146	2.13 ± 1.07

* P < 0.05, ** P < 0.05 # P > 0.1 ## P < 0.1 : Compared with malignancy

Fig. 3. Distribution of IgG absorbance in pleural fluid (mean ± S.D.).

은 결핵성에서 각각 $77.90 \pm 7.37\%$, $63.65 \pm 10.03\%$, $19.96 \pm 6.45\%$ 였으며 양성에서는 $66.89 \pm 17.03\%$, $47.00 \pm 10.87\%$, $27.11 \pm 17.27\%$ 였다.

T₁과 ADA활성도간의 변화관계는 서로 유의한 상관관계를 보이지 않았으며($r=0.1$) (Fig. 4). T₄와 ADA활성도간에도 상관계수 0.06으로 유의한 상관관계가 없었다(Fig. 5). T₄/T₈비와 ADA활성도간의 상관계수는 0.22로 서로 연관성이 없었다(Fig. 6). 또 항결핵항체와 ADA활성도간에도 상관계수 0.31로 역시 통계적으로 유의한 상관관계는 보이지 않았다(Fig. 7).

고 안

결핵의 병태생리에 세포성면역이 관여한다는 사실은

1891년 Koch가 결핵균에 의한 재감염시 저항력이 발생한다는 것을 밝힌 이래 많은 연구가 되어왔다.

결핵성 흉막염은 비교적 흔히 접하는 폐외결핵의 하나로 이 역시 흉막강내에서 국소적인 세포성면역이 중요한 역할을 하리라고 생각된다. 따라서 흉막삼출액에서 면역학적 지표들을 조사하는 것은 폐결핵에서 기관지세척물 검사와 마찬가지로 염증반응이 진행되고 있는 부위의 변화를 직접 반영한다는 점에서 의의가 크다고 하겠다. 실제로 결핵성 흉막삼출액에서 「림프」구의 비율이 높고 그 중에서도 T「림프」구가 말초혈액에 비해 증가되어 있으며 이런 T「림프」구를 PPD와 반응시켰을 때 말초혈액의 T「림프」구보다 lymphokine의 생성률이 높은점 등은⁽³⁾ 흉막강내의 국소성면역이 항진되어 있음을 시사하고 있다. Jerrold 등은 억제「림프」구를 제거한 말초혈액을

Fig. 4. Correlation between ADA activity and total T-lymphocyte in pleural fluid. (Closed circle : Tuberculosis, Open circle : Malignancy)

Fig. 6. Correlation between ADA activity and T₄/T₈ ratio in pleural fluid.

Fig. 5. Correlation between ADA activity and helper T-cell in pleural fluid.

Fig. 7. Correlation between ADA activity and IgG in pleural fluid.

PPD로 자극하면 T「림프」구가 증가하는 것으로 보아 억제「림프」구가 PPD에 반응하는 T「림프」구를 억제하고 있다고 하였다^{14,15)}. 또 Shiratsuchi 등에 의하면 PPD의 자극에 분화되는 세포는 T₄이고 T₈은 아니며 흉막삼출액에서 말초혈액보다 T₄/T₈비가 높다고 하였다¹⁶⁾. PPD에 반응하는 「림프」구가 증가되어 있는 것은 「림프」구의 흉막강내로의 이동현상이거나 (compartmentalization) 흉막강내에서 결핵균의 자극에 의한 「림프」구의 증식을 의미하는 것인데¹⁷⁾ Bergroth 등은 T「림프」구의 증식에 ³H-thymidine을 필요로 하는 것을 이용하여 T「림프」구의 국소적 증식이 숫적 증가의 원인일 것으로 추정했다¹⁸⁾.

한편 B「림프」구는 결핵성이나 암성 모두에서 말초혈액보다 흉막삼출액에서 절대수나 비율이 떨어져있다고 알려져 있어 이는 면역글로불린이 흉막삼출액에서 말초혈액보다 떨어져 있는 것과 일치하는 것이다²⁾.

T「림프」구아형은 Landsdorp 등의 단계적증강법과¹⁹⁾ Cordell 등의 APAAP법을 병용하여 내인성 peroxidase의 증가가 문제시 되는 도말표본의 염색에서 PAP법보다 우수하고 염색상태도 더 양호한 것으로 생각된다. 또 대조염색을 함으로써 형광법에 의한 것 보다 관찰이 용이하고 오래 보관하여 재검토할 수 있는 장점을 가지고 있다.

본 실험에서 T₄는 조력 T「림프」구 뿐만 아니라 단핵구의 표면항체를 동시에 인지하여 실제의 조력 T「림프」구수보다 약간 많게 관찰되는 것을 피할 수 없어서 총 T「림프」구보다 T₄와 T₈을 더한 것이 약간씩 많이 나타나고 있다.

연령에 따른 T「림프」구의 변화를 보면 40세이하군과 60세이상군으로 나누었을 때 60세 또는 70세 이상에서 말초혈액의 T「림프」구가 감소되어있다고 보고되었다^{20,21)}. 본 연구에서는 대상환자중 결핵군은 평균 32세이나 대조군이 평균 53세로 60세에는 미치지 못하므로 연령차에 따른 T「림프」구 및 그 아형의 차이는 문제시 되지 않을 것으로 생각된다. 현재까지 결핵성 흉막염환자에서 흉막액과 말초혈액에서의 「림프」구아형을 비교한 성적에 따르면 T₄나 T₄/T₈비 등이 흉막액에서 의미있게 증가한 것으로 되어있으므로¹⁾ 여기서는 암성흉막삼출액을 대조군으로 하여 T「림프」구아형을 비교하였던 바 사례가 적기는 하나 결핵군에서 T₁과 T₄가 증가된 경향을 보였다. T₄/T₈비는 결핵성이 3.72±1.91, 암성이 2.13±1.07이

었는데 Bergroth등은 결핵성에서 2.7±0.8로 보고하였으며 흉막액의 단핵세포는 대개 휴지기의 세포로서 약 10%의 「림프」구만이 활성화된 상태로 있다고 하였다. 그러나 이 활성화된 「림프」구에서의 T₄/T₈비는 2.3±0.7로써 휴지기를 포함한 전체단핵세포에서의 비와 대동소이하었다¹⁾.

결핵의 병인으로 세포성면역이 주축을 이루기는 하나 흉막삼출액에서 항원·항체반응을 보고 다른 세포면역의 지표들이나 ADA활성도와와의 관계를 보고자 항결핵항체를 동시에 측정하였다. 항결핵항체의 측정은 ELISA방법으로 하였는데 이는 1972년 Engvall 등이²²⁾ 결핵의 면역학적 진단에 이용하기 시작했고 또 이를 이용해 결핵성 뇌막염환자의 뇌척수액에서 항체를 측정하여 좋은 성적을 얻었다는 보고가 있다²³⁾. 결핵성 흉막염에서도 이 등²⁴⁾이 IgG에 대하여 65%의 예민도와 97%의 특이도를 나타낸 것을 보고하였고 IgM, IgA에 비해 IgG가 진단적 가치가 있다고 하였다. 본 실험에서 IgG는 결핵에서 암성에 비해 증가되어 있었으나 ADA에 비해서는 예민도나 특이도가 떨어져 있었고 ADA활성도와 IgG간의 유의한 상관관계는 없었다(r=0.31).

ADA활성도의 결핵성 흉막염에 대한 진단적 가치는 이미 잘 알려져있으나 ADA활성도가 면역자극을 받은 T「림프」구에서 증가하고 흉막삼출액에서 말초혈액보다 현저히 증가되어 있다는 점에서 이 또한 국소성면역의 지표라고 보고 ADA의 활성도를 측정하였다. 앞의 보고들에서와 같이 암성에 대한 결핵성의 진단적 가치는 매우 높았으며 ADA활성도가 증가하는 그밖의 질환의 감별로는 농흉은 미생물학적 검사와 중성구의 증가등으로, 류마치스양관절염은 보체와 포도당을 측정함으로써 감별진단이 가능할 것으로 생각된다²⁵⁾. 또 임파종이나 백혈병에서의 증가는 악성세포의 발견이나 β₂-microglobulin 등으로 알수 있겠다²⁶⁾. 만일 활성도가 지나치게 높은 경우에는 암모니아에 의한 오염도 고려해야 할 것이다. 결핵성 흉막삼출액에서 ADA활성도는 보고자마다 차이가 있어 42.9±3.7 U/L(평균 ±표준편차)에서 101.6±9.3 U/L까지이고 국내에서는 70 U/L에서 80 U/L사이 가 많았다. 암성에서는 11.30±6.37에서 23.23±13.15로써 큰 차이가 없었다^{3-8,27)}. ADA활성도의 기준을 40 U/L로 했을 때 암성에 대한 결핵성의 예민도는 96.5%, 특이도는 100%였는데 이 등⁵⁾은 각각 90.4%, 86.3%로 보고하였고 Ocana 등²⁸⁾은 50 U/L를 경계기준으로하여 각

각 100%, 97%로 보고하여 비슷한 성적을 보였다. 따라서 ADA활성도가 낮으면 낮을수록 결핵성 질환의 가능성은 그만큼 떨어진다고 보아도 될 것이다. 결핵성 흉막염의 진단은 알려진 바와 같이 흉막삼출액의 결핵균배양 검사에서 20~30%, 흉막생검으로 50~80% 정도이므로 진단의 보조적 지표로 ADA의 가치는 충분히 인정될 수 있으리라 생각된다. 한편 뇌척수액에서도 결핵성 뇌막염 시 90%에서 6 U/L 이상이고 대조군은 4 U/L 이하로써 진단적 가치가 있다고 하였다²⁹⁾. 이와 같이 ADA는 검사 방법이 간단하고 비용이 적게들 뿐 아니라 진단적 가치가 높으므로 원인미상인 흉막삼출액의 초기 정규검사로, 결핵성과 암성의 감별이 요구될 때, 또는 시험적 치료의 시도전에 반드시 해야 할 검사라고 생각된다.

혈청에서 ADA가 증가하는 질환이 있으면 흉막삼출액에도 반영이 될 것이고 또 이런 질환중에는 우리나라에 흔한 장티프스나 만성간질환 등이 있으므로 흉막삼출액과 혈청에서 ADA활성도의 비를 보는 것이 의미가 있을 것으로 생각되었다. 흉막삼출액에 혈청의 비는 결핵성에서 3.41 ± 1.02 , 암성에서 1.26 ± 0.50 으로 예민도 96.5%, 특이도 85.7%였으며 Petterson 등²⁷⁾은 결핵성에서 3.6 ± 0.5 로 보고하였다. 그러나 결과적으로는 진단율이 비슷하므로 이상의 질환들을 고려하기만 하면 단순히 흉막액의 ADA를 측정하는 것과 큰 차이는 없을 것으로 보인다. ADA는 인체내 널리 분포하고 있으며 특히 Lymphoid system에서 중요해서 「림프」구에서 적혈구의 10배 이상이고 활성화된 T「림프」구에서 많이 생성되는 것으로 알려져 있다^{30,31)}. 이런 ADA의 면역계통과의 관계는 T「림프」구의 분화나 단핵세포가 대식세포로 되는 과정에 관여한다고 한다³²⁾. Giblett는 1972년 세포성면역이 현저히 떨어진 두 환자에서 ADA의 결핍을 보고하였다³³⁾. ADA의 결핍이 있으면 ADA가 adenosine을 inosine으로 deoxyadenosine을 deoxyinosine으로 전환시키는 과정에서 「림프」구에 독성물질이 축적되는데 deoxynucleoside kinase와 deoxyadenosine-5'-triphosphate에 의해 DNA합성에 장애가 와서 세포성면역의 저하를 가져온다고 생각되고 있다^{34,35)}. 또 ADA의 억제제인 coformycin을 투여하면 정상「림프」구의 증식이 억제되고 T「림프」구의 기능장해를 초래한다³⁷⁾. Mitchell 등³⁷⁾은 T와 B「림프」구에 deoxyadenosine과 ADA억제제를 같이 투여하여 체외배양하면 T「림프」구만 선택적으로 파괴되는 것을 관찰하였다. ADA활성도

는 세포성면역기능이 작용하는 장티프스, 감염성단핵구증, 결핵, 바이러스성간염, 지중해열, 「브루셀로시스」 등에서 증가한다고 알려져 있다³⁸⁾. ADA는 말초혈액에 비해 흉막삼출액에서 현저히 높아서 흉막강내에서 국소적인 반응에 의해 생성되리라고 추정되는데 손상된 세포막을 통해 효소방출이 증가되고 대사평형을 위해 세포내의 단백질합성이 증가하는 과정에서 ADA도 증가할 것이라고 생각되고 있다. ADA의 주된 생성세포는 T「림프」구로 추정되며 이의 근거로 Barton 등은³¹⁾ 흉선피질 세포의 ADA가 「림프」절, 비장, 골수등의 「림프」구에서 보다 3~10배 높아서 ADA는 T「림프」구의 분화과정동안 현저한 변화가 있는 것을 관찰하였고 T「림프」구백혈병과 임파종에서도 ADA가 증가되어 ADA는 T「림프」구의 표식자로도 이용되고 있다는 점등을 들 수 있다. 또 Daddona는³⁹⁾ T「림프」구에서 B「림프」구 보다 ADA가 7~14배 증가한 것을 관찰하고 각각의 「림프」구 계열에서 ADA의 합성과 분해정도를 구하였다. 이에 의하면 ADA의 합성율은 T「림프」구가 B「림프」구의 약 2배이고 분해율은 T「림프」구의 반감기가 19~39시간 B「림프」구가 7~9시간으로써 3~6배 느렸다. 따라서 전체적으로는 6~12배의 차이가 있다고 보고하였다. 또 사람과 쥐에서의 T「림프」구성숙이 진행될수록 ADA는 떨어지나 미성숙 B「림프」구는 상관이 없다는 보고도 있다⁴⁰⁾. 이와 같이 ADA는 주로 T「림프」구의 증식 및 분화에 관여하므로 Ocana 등³¹⁾은 이들의 상관관계를 보았으나 특별한 관계가 없다고 하였다. 또한 ADA는 단백질농도, 총 「림프」구수와도 무관하였고 다만 lysozyme과는 유의한 상관관계를 보였다고 되어 있다⁸⁾. 따라서 저자들은 총 「림프」구나 T「림프」구는 물론 T₄, T₈, T₄/T₈비와의 관계를 보았으나 유의한 상관관계가 없었고 IgG도 같은 결과였다. 이것은 실제 어느정도가 기능을 가진 세포인지를 모르고 단순히 흉막강내에 축적되어 있는 세포를 보고있기 때문으로 생각되며 활성화된 T「림프」구와 ADA활성도간에는 직접적인 관련이 있을 것으로 생각된다.

결 론

결핵성흉막염의 면역학적 특성과 ADA활성도의 증가기전을 알아보고자 결핵성 흉막삼출액과 암성 흉막삼출액에서 총 「림프」구, T「림프」구(T₁), 조력 T「림프」구(T₄), 억제 T「림프」구(T₈), T₄/T₈비, 항결핵항체

(IgG) 및 ADA활성도 등을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 총 「림프」구수는 결핵성이 1844 ± 1287 cells/mm³ (평균 $\pm$ 표준편차) 암성이 1096 ± 1012 cells/mm³로 결핵성에서 높았다($p < 0.05$).

2) 결핵성흉막염에서 T₁는 1945 ± 1072 cells/mm³, T₄는 1594 ± 923 cells/mm³, T₈은 507 ± 295 cells/mm³, T₄/T₈비는 3.72 ± 1.91 이었고 총 「림프」구에 대한 비율은 T₁, T₄, T₈이 각각 $77.90 \pm 7.37\%$, $63.65 \pm 10.03\%$, $19.96 \pm 6.45\%$ 였다.

3) 암성흉막염에서는 T₁이 758 ± 347 cells/mm³, T₄가 539 ± 274 cells/mm³로 결핵성에서 T₁ 및 T₄가 암성에 비해 증가해 있었다($p < 0.05$).

4) 항결핵항체 (IgG)는 결핵성이 0.58 ± 0.26 , 암성이 0.45 ± 0.11 이었고 예민도나 특이도가 ADA에 비해 떨어지는 것으로 나타나서 체액성면역은 세포성면역에 비해 기여도가 크지않은 것을 반영하는 것으로 생각하였다.

5) ADA활성도가 40 U/L 이상이면 암성에 대한 결핵성의 진단율이 예민도 92.5%, negative predictive value 82.4%, 특이도 100%로 ADA측정은 간단하고 적은 비용으로 좋은 진단적 가치를 가지고 있는 것으로 생각된다.

(본 연구에 도움을 주신 송영옥, 신성태 선생님과 실험실의 손국희양에게 깊은 감사를 드립니다.)

REFERENCE

- 1) Moisan T, Chandrasekhar AJ, Robinson J, Mckena J, Marti G: Distribution of lymphocyte subpopulations in patients with exudative pleural effusions. *Am Rev Res Dis* 117:507, 1978
- 2) Petterson T, Klockars M, Hellstron PE, Riska H, Wangel A: T and B lymphocyte in pleural effusions. *Chest* 73:49, 1978
- 3) 차광수, 박병국, 엄석준, 이인수, 허성호, 신준현, 박실무, 김종숙: 늑막 삼출액과 복수에서의 Adenosine Deaminase 활성도에 대한 연구. *대한내과학회지* 25(4):364, 1982
- 4) 장상호, 장준, 손희영, 김성규, 김기호, 김경환: 흉막액 Adenosine Deaminase 활성도의 진단적 가치에 관한 연구. *대한내과학회지* 31(2):214, 1986
- 5) 이장훈, 김성규, 안철민, 장상호, 손희영, 김기호: 흉막염환자에 있어서 흉막액 Adenosine Deaminase 활

성도의 임상적 의의. *대한내과학회지* 31(6):781, 1986

- 6) Piras MA, Gakis C, Budroni M, Andreoni G: Adenosine deaminase activity in pleural effusions: an aid to differential diagnosis. *British Medical Journal* 23-30:1751, 1978
- 7) Maritz FJ, Malan C, Le Roux I: Adeosine deaminase estimations in the differentiation of pleural effusions. *SA Medical Journal* 62:556, 1982
- 8) Petterson T, Ojala K, Weber TH: Adenosine deaminase in the diagnosis of pleural effusions. *Acta Med Scand* 215:299, 1984
- 9) Cordell JL, Falini B, Erber WN: Immunoenzymatic labelling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal anti-alkaline phosphatase (APAAP Complexes). *J Histochem Cytochem* 32(2):219, 1984
- 10) 김준우: 한국인 결핵환자의 말초혈액 및 늑막삼출액에서의 T 림프구 및 그 아형들의 수적변화에 관한 면역세포화학적 연구. *서울대학교 의과대학 결핵연구소 연구보고* 1(1):61, 1987
- 11) Giusti G: Adenosine deaminase IN Bergmeyer HU(ed): *Methods of enzymatic analysis* 2nd ed Verlag Chemie Weinheim, Academic Press Inc, New York and London, pp 1092-1099, 1974
- 12) 심영수, 김종숙: 효소결합면역분석법을 이용한 결핵 진단의 유용성에 관한 연구. *중앙의대지* 9:187, 1984
- 13) Schimokata K, Kawachi H, Kishimoto H, Maeda F, Ito Y: Local cellular immunity in tuberculous pleurisy. *Am Rev Respir Dis* 126:822, 1982
- 14) Jerrold JE: Pleural fluid and peripheral blood lymphocyte function in tuberculosis. *Annals of Internal Medicine* 89(6):932, 1978
- 15) Fujiwara H, Okuda Y, Fukukawa T, Tsuyuguchi I: In vitro tuberculin-reactive lymphocytes from patients with tuberculous pleurisy. *Infection and Immunity* 35(2):402, 1982
- 16) Shiratsuchi H, Tsuyuguchi I: Analysis of T cell subsets by monoclonal antibodies in patients with tuberculosis after in vitro stimulation with purified protein derivative of tuberculin. *Clin Exp Immunol* 57:271, 1984
- 17) Hujiwara H, Tsuyuguchi I: Frequency of tuberculin reactive T-lymphocytes in pleural fluid and blood from patients with tuberculous pleurisy. *Chest* 89(4): 530, 1986
- 18) Bergroth V, Konttinen YT, Nordstrom D, Petterson T, Tolvanen E: Lymphocyte subpopulations, activation phenotypes, and spontaneous proliferation in

- tuberculous pleural effusions. *Chest* **91**(3):338, 1987
- 19) Landsdorp PM, Vanderkwast TH, Boer MD: Stepwise amplified immunoperoxidase staining I. Cellular morphology in relation to membrane markers. *J Histochem Cytochem* **32**(2):172, 1984
- 20) Nugel JE, Chrest FJ, Adler WH: Enumeration of T lymphocyte subsets by monoclonal antibodies in young and aged humans. *The Journal of Immunology* **127**(5):2086, 1981
- 21) Mascort-Lemone F, Delespesse G, Servais G, Kunstler M: Characterization of immunoregulatory T lymphocytes during aging by monoclonal antibodies. *Clin Exp Immunol* **48**:148, 1982
- 22) Engvall E, Perlmann P: Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA quantitation of specific antibodies by enzyme labeled anti-immunoglobulin in antigen coated tubes. *J Immunol* **109**:129, 1972
- 23) Sada E, Lopez-Vidal Y, Ruiz-Palacio GM, Leon SP: Detection of mycobacterial antigens in cerebrospinal fluid of patients with tuberculous meningitis by enzyme-linked immunosorbent assay. *Lancet* **2**:651, 1983
- 24) 이춘택, 심영수, 김건열, 한용철, 조명제, 차창룡 : 효소결합면역분석법을 이용한 결핵성능막염의 면역학적 진단법에 관한 연구. *결핵 및 호흡기질환* **33**(1):19, 1986
- 25) Petterson T, Klockars M, Weber T: Pleural fluid adenosine deaminase in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Chest* **86**(2):273, 1984
- 26) Adrian O, Vladution MD, Adler RH, Wells BF: Diagnostic value of biochemical analysis of pleural effusions. *Am J Clin Path* **71**:210, 1979
- 27) Niwa Y, Kishirnokat K: Carcinomatous and tuberculous pleural effusions comparison of tumor markers. *Chest* **87**(3):351, 1985
- 28) Ocana I, Martinez-Vazquez JM, Ribera E, Segura RM, Pascual C: Adenosine deaminase activity in the diagnosis of lymphocytic pleural effusions of tuberculous, neoplastic and lymphomatous origin. *Tubercle* **67**:41, 1986
- 29) Malan C, Donald PR, Golden M, Taljaard JJF: Adenosine deaminase levels in cerebrospinal fluid in the diagnosis of tuberculous meningitis. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **87**:33, 1984
- 30) Ocana I, Martinez-Vazquez JM, Segura RM, Fernandez-DE, Sevilla T, Capdevila JA: Adenosine deaminase in pleural fluids. *Chest* **84**:51, 1983
- 31) Barton R, Martiniuk F, Hirschborn R, Goldschneider I: The distribution of adenosine deaminase among lymphocyte populations in the rat. *J Immunol* **122**:216, 1979
- 32) Fischer D, Vanden Weyden MB, Snyderman R, Kelley WN: A role for adenosine deaminase in human monocyte maturation. *J Clin Invest* **58**:399, 1976
- 33) Giblett ER, Anderson JE, Cojen F, Pollara B, Meuwissen HJ: Adenosine deaminase deficiency in two patients with severely impaired cellular immunity. *Lancet* **2**:1067, 1972
- 34) Barton RW: The effects of induced adenosine deaminase deficiency on T-cell differentiation in the rat. *Cellular Immunology* **95**:297, 1985
- 35) Simmonds HA, Panayi GS, Corrigan V: A role for purine metabolism in the immune response: Adenosine deaminase activity and deoxyadenosine catabolism. *Lancet* **1**:60, 1978
- 36) Ballet JJ, Insel R, Morler E, Rosen FS: Inhibition of maturation of human precursor lymphocyte by cofomycin an inhibitor of the enzyme adenosine deaminase. *J Exp Med* **143**:1271, 1976
- 37) Mithchell B, Mejius E, Daddona PE, Kelley WN: Purigenic immunodeficiency disease: Selective toxicity of deoxyribonucleosides for T cells. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* **75**:5011, 1978
- 38) 강신덕, 김영도, 이상용, 유언호, 김종숙 : 정상인 및 장티프스환자에서의 adenosine deaminase 활성도에 관한연구. *대한내과학회지* **22**(8):612, 1979
- 39) Daddona PE: Human adenosine deaminase. *The Journal of Biological Chemistry* **256**(23):2496, 1981
- 40) Barton RW, Goldschneider I: Nucleotide-metabolizing enzymes and lymphocyte differentiation. *Mol Cell Biochem* **28**:135, 1979