흉막 질환에 있어서 Lysozyme 활성도 측정의 진단적 가치에 관한 연구

연세대학교 의과대학 내과학교실

김 형 중 · 광 승 민 · 안 철 민
김 성 규 · 이 원 영

= Abstract =

A Study on Diagnostic Value of Lysozyme Activity in Various pleural effusions

Hyung Jung Kim, M.D., Seung Min Kwak, M.D., Chul Min Ahn, M.D.

Sung Kyu Kim, M.D. and Won Young Lee, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea

Lysozyme (Muramidase), a lysosomal bacteriolytic enzyme originates in serum from decomposed polymorphonuclear neutrophils and monocytes, and is distributed widely in body fluids and tissues of humans.

In 1976, Klockars et al found high levels of lysozyme activity in tuberculous pleural effusion, but later the lysozyme activity level was stated to be of limited diagnostic usefulness. So we measured the levels of pleural and serum lysozyme activity in 82 patients with pleural effusions of various causes for evaluation of diagnostic usefulness, and following results were obtained.

1) Mean level of pleural ADA activity of tuberculous pleural effusions was 82.49 ± 41.51 U/L, and was significantly higher than that of malignant pleural effusions 28.47 ± 14.50 U/L ($p < 0.01$).

2) Mean level of pleural lysozyme activity of tuberculous pleural effusions was 14.09 ± 9.91 ug/ml, and was significantly higher than that of malignant pleural effusions 5.68 ± 3.55 ug/ml ($p < 0.01$).

3) Mean level of serum lysozyme activity of tuberculous pleural effusions was 5.02 ± 2.91 ug/ml, and was not higher than that of malignant pleural effusions 5.30 ± 5.64 ug/ml ($p > 0.01$).

4) Mean of pleural and serum ratio of lysozyme activity of tuberculous pleural effusions was 4.16 ± 4.26 , and was significantly higher than that of malignant pleural effusions 2.26 ± 2.46 ($p < 0.1$).

5) We have found a low correlation between pleural ADA and Lysozyme ($r = 0.45$; $p < 0.01$) in 82 patients with pleural effusions.

On conclusions we did not find definitive level of pleural lysozyme activity level and pleural and serum ratio of lysozyme activity due to considerable overlap of the individual values between the tuberculous and malignant pleural effusions.

서 론

흉막 질환은 예방 및 화학요법의 발달로 결핵성 흉막염의 빈도는 감소 추세에 있으나 전이성 암을 포함하여

악성 흉막염의 빈도는 현저히 증가하고 있는 실정으로서 이 질환들의 감별 진단은 임상적으로 중요하며 특히 폐 실질에 병변이 없거나 원발 병소가 확실하지 않은 경우 감별 진단이 문제가 될 수 있다.

흉막 질환의 원인을 규명하는 방법으로는 일반적인 흉

막액검사, 흉막액 세균검사, 흉막액 조직세포학적검사 등이 있으나 이러한 모든 검사에도 불구하고 Storey¹⁾은 약 10~25% 정도에서는 그 원인을 정확히 밝히기가 어렵다고 하였다.

이에 흉막 질환의 감별진단에 보조적인 도움을 주기위해 Carcinoembryonic antigen, CA 19-9 등의 종양 표지자 및 Lactic dehydrogenase, Adenosine deaminase 등과 같은 효소들은 비교적 측정이 간단하고 신속하게 결과를 볼 수 있어 임상에서 이용되고 있으며 최근에는 혈청학적 진단 및 면역학적 진단에 대한 연구가 활발히 진행중이나 감수성 및 특이성에 있어 괄목할만한 가치는 아직 확실하지 않다.

Lysozyme은 lysosome에 존재하는 용균성 효소로 혈청, 소변, 척수액 및 늑막액에 널리 분포하며¹⁹⁾ 특히 결핵, Sarcoidosis 및 Crohn's 질환과 같은 육아종성 질환의 혈청내에서 증가하는 것을 볼 수 있으며¹⁷⁻¹⁹⁾ 최근에는 흉막 질환에 있어서 흉막액의 Lysozyme 측정이 결핵성 흉막염 진단에 유용하다는 보고²⁰⁻²⁶⁾가 있어 이에 저자들은 흉막 질환 환자를 대상으로 흉막액과 혈청의 Lysozyme 및 ADA를 측정하여 진단적 가치를 비교 평가하여 보았다.

대상 및 방법

1. 대 상

1987년 11월부터 1988년 12월까지 연세대학교 의과대학부속 영동 세브란스병원에 흉막 질환으로 입원하였던 환자중 세포 또는 조직학적으로 진단이 가능했던 결핵성 흉막염 48예와 악성 흉막염 18예를 대상으로 하였으며 악성 흉막염의 경우 원발부위는 13예에서 폐암, 위암 및 췌장암이 각각 1예이었으며 원발부위가 확실하지 않은

경우가 3예이었다. 특히 이들의 경우 흉막의 악성 여부는 조직학적으로 확인되었다. 그리고 대조군으로는 심부전증, 흉막염 및 복수를 동반한 간경변증 및 신기능의 저하를 보이지 않은 신증후군의 여출성 흉막염 환자 15예를 대상으로 하였다.

2. 방 법

1) 항응고제인 EDTA를 넣은 시험관에 환자의 흉막액과 혈액을 채취하여 3,000 rpm으로 10분간 원심 분리한후 상층액을 -20℃에 보관하였으며 Abrams needle로 흉막조직 검사를 동시에 시행하였다. 보관된 시료는 2주이내 Lysozyme activity를 측정하였다.

2) ADA의 활성도 측정은 Giusti 방법으로 adenosine이 inosine으로 전환되면서 생성되는 암모니아를 비색정량하였다⁷⁾.

3) Lysozyme의 활성도 측정은 pH 6.2인 phosphate buffer (66 mmol/L)에 기질인 Micrococcus Leisodecticus (Difco Laboratories)를 부유시킨 다음 시료를 혼합한후 용해되는 정도를 Coleman Spectrophotometer로 측정하는 turbidimetric kinetic method를 이용하였다²³⁾.

4) 각 군의 측정치는 평균±표준편차(Mean±SD)로 나타내었으며 각 군사이에 통계학적인 비교는 Student t-test로 처리하였으며 흉막액의 Lysozyme과 ADA의 상관 관계는 Linear regression 분석 방법으로 처리하였다.

결 과

1) 여출성 흉막염(15예), 결핵성 흉막염(46예)과 악성 흉막염(18예)의 각각에 있어서 흉막액의 ADA 및

Table 1. ADA and Lysozyme Activity Levels in Serum and Pleural Effusions and Ratio of Lysozyme Activity Levels in Various Pleural Diseases

No. of cases	Transudate (15)	Tuberculosis (48)	Malignancy (18)
PA (Unit/L)	23.38 ± 20.28	82.49 ± 41.51	28.47 ± 14.50
PL (ug/ml)	10.23 ± 5.27	14.09 ± 9.91	5.86 ± 4.55
SL (ug/ml)	4.66 ± 2.96	5.03 ± 2.91	5.30 ± 5.64
PL/SL	3.10 ± 2.17	4.16 ± 4.26	2.26 ± 2.46

PA : Pleural ADA, PL : pleural Lysozyme, SL : Serum Lysozyme
PL/SL : ratio of Pleural and Serum Lysozyme

Fig. 1. Pleural ADA activity levels in tuberculous and malignant pleural effusions.

Fig. 3. Serum Lysozyme activity levels in tuberculous and malignant pleural effusions.

Fig. 2. Pleural Lysozyme activity levels in tuberculous and malignant pleural effusions.

Fig. 4. Ratio of pleural and serum Lysozyme activity levels in tuberculous and malignant pleural effusions.

Lysozyme, 혈청의 Lysozyme 및 흉막액과 혈청의 Lysozyme비의 평균과 표준 편차(Mean $\pm$ SD)는 Table 1과 같다.

2) 여출성 흉막염과 삼출성 흉막염의 감별에 있어서 흉막액의 ADA는 여출성인 경우 23.38 ± 20.27 U/L, 삼출성인 경우 67.76 ± 43.51 U/L로 통계학적으로 의의가 있었으나($p < 0.01$), 흉막액 및 혈청 Lysozyme은 통

계학적으로 의의있는 차이가 없었다(Table 1).

3) 삼출성 흉막염중 흉막액의 ADA는 결핵성의 경우 82.49 ± 41.51 U/L, 악성의 경우는 28.47 ± 14.50 U/L로 통계학적으로 의의가 있었다(Fig. 1).

4) 삼출성 흉막염중 흉막액의 Lysozyme은 결핵성의 경우 14.09 ± 9.91 μ g/ml, 악성의 경우는 5.68 ± 3.55 μ g/ml로 통계학적으로 의의가 있었다(Fig. 2).

Fig. 5. Relation between Lysozyme and ADA activity levels in pleural effusions.

5) 삼출성 흉막염증 혈청의 Lysozyme은 결핵성의 경우 $5.02 \pm 2.91 \mu\text{g/ml}$, 악성의 경우는 $5.30 \pm 5.64 \mu\text{g/ml}$ 로 통계학적으로 의의가 없었다(Fig. 3).

6) 삼출성 흉막염증 흉막액 및 혈청의 Lysozyme 비는 결핵성의 경우 4.16 ± 4.26 , 악성의 경우는 2.26 ± 2.46 으로 통계학적으로 의의가 있었다(Fig. 4).

7) 전체 흉막 질환 환자에서 흉막액의 Lysozyme과 ADA의 상관관계를 보면($r=0.45$ $p<0.001$)으로 상관관계가 없음을 알 수 있었다(Fig. 5).

고 안

우리나라와 같이 결핵성 흉막염이 흔하며 악성 흉막염이 증가하는 현실에서 결핵성 흉막염의 정확한 진단은 필수적이라 할 수 있겠다. 그러나 Storey등¹¹⁾이 기술한 것처럼 흉막 질환 10~25%에서는 모든 검사에도 불구하고 확진이 불가능한 것으로 알려져 있다. 이에 오늘날 흉막 질환의 감별 진단에 보조적인 도움을 주기 위하여 여러가지 암표지자 및 효소검사^{2~6,14)}가 널리 알려져 있으며^{7~13)} 최근에는 혈청학적 및 면역학적^{15,16)} 진단에 대한 연구가 보고되고 있으나 진단적 가치는 아직 확실하지 않은 실정이다.

특히 결핵성 흉막염의 경우 흉막액 및 혈청 adeno-

sine deaminase (ADA) 측정은 진단적 가치가 있는 것으로 이미 알려진 사실이며^{7~11)} 임상에서 많이 이용되고 있다.

Lysozyme (Muramidase)은 1922년 Fleming이 처음 기술한 Lysosome에 존재하는 용균성 효소로 호중구 및 단핵구로부터 혈액내로 유리되어 신장 기능에 의해 혈중 농도가 유지되며 혈액, 늑막액 등 체액 및 인체 조직에 넓게 분포하고^{18,19)} 있으며 결핵, Sarcoidosis, Crohn's disease 등과 같은 육아종성 질환에서 혈청내 Lysozyme이 증가하며^{20~26)} 특히 단핵구 기원의 백혈병에서 혈청 및 소변내 현저한 증가를 볼 수 있다¹⁷⁾.

결핵 질환 환자에 있어서 Lysozyme의 임상적 응용은 Perillie¹⁸⁾이 1973년 처음으로 폐결핵 환자에서 혈청내 Lysozyme이 증가한다는 것을 보고한 이래, 1976년 Klockars등²⁰⁾이 흉막액 Lysozyme 및 흉막액과 혈청 Lysozyme 비가 결핵성 흉막염 진단에 유용한 것으로 보고 하였으며 국내에서도 이 등^{25,26)}에 의한 보고가 있다.

결핵성 흉막염에서 흉막내 Lysozyme의 증가 기전으로는 결핵 병변에서 볼 수 있는 육아종성 병변의 epithelioid 세포 및 산재해 있는 단핵성 식세포에 많이 함유되어 있는 것으로 알려진 Lysozyme의 흉막내 분비에 의하여 Lysozyme이 없는 것으로 알려진 임파구와는

무관한 것으로 알려져 있다¹⁸⁻²⁰⁾.

결핵성 홍막염에서 Lysozyme 측정의 가치를 보면 Klockars등^{20,22)}은 홍막액에서 의의 있게 증가함을 보고 하였으나 1976년 Wu등²¹⁾은 혈청의 Lysozyme이 진단적 가치가 적은 것으로 보고하였다. 그후 Asseo등²³⁾에 의해 홍막액의 Lysozyme 및 홍막액과 혈청의 Lysozyme 비가 결핵성 홍막염의 진단에 유용한 것으로 보고한 이래 1987년 Hernando등²⁴⁾은 결핵성 홍막염의 진단에 홍막액과 혈청의 Lysozyme 비의 기준을 1.2 이상으로 정했을 때 sensitivity 100 %, specificity 94.9 %, positive predictive value 94.7%, negative predictive value 100%와 accurate rate를 97.3%로 기술하였다.

이에 Lysozyme의 임상적 의의를 다시 확인해보기 위해 시행한 본 연구 결과 결핵성 홍막염에서 홍막내의 Lysozyme은 $14.09 \pm 9.91 \mu\text{g/ml}$ 로 Asseo등이 보고한 $12.04 \pm 0.84 \mu\text{g/ml}$ (Mean $\pm$ SE)로 유사하였으며 Klockars 및 Hernando등이 보고한 $21.2 \pm 7.2 \mu\text{g/ml}$ 및 $23.0 \pm 14.4 \text{ mg/dl}$ 보다 적은 수치였으나 이들 보고와 마찬가지로 악성 홍막염 $5.68 \pm 3.55 \mu\text{g/ml}$ 과의 감별에 통계학적인 의의가 있었다($p < 0.01$). 그러나 두군간의 홍막액내의 Lysozyme 수치의 중복으로 감별에 도움을 줄 수 있는 절대 값을 구할수는 없었다.

혈청내의 Lysozyme은 $5.02 \pm 2.91 \mu\text{g/ml}$ 로 Klockars, Asseo 및 Hernando등이 각각 보고한 $12.0 \pm 4.7 \mu\text{g/ml}$, $8.29 \pm 0.51 \mu\text{g/ml}$ 및 $9.42 \pm 3.92 \text{ mg/dl}$ 보다 적은 수치를 보였으나 이는 Perillie를 제외한 다른 보고자와 마찬가지로 악성 홍막염 $5.30 \pm 5.64 \mu\text{g/ml}$ 과의 감별에 통계학적인 의의는 없었으며($p > 0.1$) 이는 Lysozyme의 홍막내 생성에 기인하며 일단 혈액내로 유입된 Lysozyme 역시 분자량이 적어(MW: 15,000 daltons) 쉽게 신장을 통해 배설됨에 기인하는 것으로 알려져 있다¹⁹⁾. 그러나 단핵구성의 백혈병과 같은 혈액 질환에서는 심히 증가된 Lysozyme의 활성도에 의해 혈청 및 소변에 Lysozyme의 상승을 볼 수 있으며 이것이 이들 질환의 활성도의 지표로 사용되어 지고 있다¹⁷⁾.

Klockars, Asseo 및 Hernando 등은 결핵성 및 악성 홍막염에서 홍막내의 Lysozyme의 중복으로 좀더 감별 진단에 도움을 주기 위해 홍막액과 혈청 Lysozyme의 비를 측정하여 각각 임의로 1.10, 1.0 및 1.2 등의 절대 값을 제시하였으며 Hernando는 상기한 진단적 가치를 부여하였으나 본 연구 결과 결핵성 홍막염 4.16 ± 4.26 ,

악성의 경우 2.26 ± 2.46 으로 두군간의 통계학적 의의는 약간 있었으나($p < 0.1$) 두군간 수치의 중복으로 감별 진단에 도움을 줄 수 있는 절대 값을 구할 수 없었다.

Lysozyme과 ADA는 각기 다른 세포에서 분비되지만 임상적으로 비슷한 양상을 보이는 효소로 Hernando등²⁴⁾은 홍막액의 Lysozyme과 ADA는 높은 상관 관계를 보이는 것으로 보고하였으며($r = 0.08$; $p < 0.001$), 특히 그는 홍막액과 혈청의 Lysozyme 비가 1.2 이상이며 홍막액의 ADA가 33 IU/L인 경우 결핵성 홍막염의 진단적 가치는 sensitivity 및 specificity가 100%로 보고하였다. 이에 본 연구에서도 홍막액의 ADA를 동시에 측정하여 본 결과 결핵성 홍막염 $82.49 \pm 41.51 \text{ U/L}$, 악성 홍막염 $28.37 \pm 14.50 \text{ U/L}$ 로 통계학적으로 의의가 있었으나($p < 0.01$), 문헌과는 달리 홍막액의 Lysozyme과 ADA는 비교적 상관관계가 적었다($r = 0.45$; $p < 0.001$).

결론적으로 본 연구 결과 홍막 질환에서 홍막액의 ADA와 Lysozyme은 상관관계가 적었으며 진단적 가치는 ADA가 높은 것을 알 수 있었으며 홍막액내의 Lysozyme 및 홍막액과 혈청 Lysozyme 비는 결핵성 홍막염 환자에서 의미 있게 증가해 있었으나 다른 보고와는 달리 두 군간의 감별에 도움을 줄 수 있는 절대 값을 구할 수 없었다. 이에 좀더 많은 환자를 대상으로 Lysozyme의 진단적 가치의 재평가가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

홍막 질환 환자에서 Lysozyme의 진단적 가치를 알아보기 위해 1987년 11월부터 1988년 12월까지 연세대학교 의과대학부속 영동세브란스병원에 입원했던 홍막염 환자 82명을 대상으로 홍막액과 혈청 Lysozyme을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 결핵성 홍막염의 홍막액 ADA의 평균치는 $82.49 \pm 41.51 \text{ U/L}$ 로 악성 홍막염의 홍막액 ADA의 평균치 $28.47 \pm 14.50 \text{ U/L}$ 보다 통계학적으로 의의 있게 높았다($p < 0.01$).

2) 결핵성 홍막염의 홍막액 Lysozyme의 평균치는 $14.09 \pm 9.91 \mu\text{g/ml}$ 로, 악성 홍막염의 홍막액 Lysozyme의 평균치 $5.68 \pm 3.55 \mu\text{g/ml}$ 보다 통계학적으로 의의

있게 높았다($p < 0.01$).

3) 결핵성 흉막염의 혈청 Lysozyme의 평균치는 $5.02 \pm 2.91 \mu\text{g/ml}$ 로 악성 흉막염의 혈청 Lysozyme의 평균치 $5.30 \pm 5.64 \mu\text{g/ml}$ 와 통계학적으로 유의 있는 차이가 없었다($p > 0.1$).

4) 결핵성 흉막염의 흉막액과 혈청 Lysozyme비의 평균치는 4.16 ± 4.26 으로 악성 흉막염의 흉막액과 혈청 Lysozyme비의 평균치 2.26 ± 2.46 보다 통계학적으로 유의 있게 높았다($p < 0.1$).

5) 전체 흉막 질환 환자에서 흉막액의 Lysozyme과 ADA 활성도의 상관관계는 적었다($r = 0.45$; $p < 0.001$).

결론적으로 결핵성 흉막염 환자에서 흉막액 Lysozyme과 흉막액과 혈청 Lysozyme비는 악성 흉막염 환자보다 유의 있게 증가되어 있었으나 각군의 수치의 중복으로 두 질환의 감별에 도움을 줄 수 있는 절대값을 구할 수 없었다.

REFERENCES

- 1) Storey DD, Dines DE, Coles DT: Pleural effusion. A diagnostic dilemma, JAMA 236:2183, 1976
- 2) Nystrom JS, Dyce B, Wada J, Bateman JR, Haverback B: Carcinopembryonic antigen titers on effusion fluid. Arch Intern Med 137:875, 1977
- 3) Klockars M, Lindgren J, Petterson T, Hellstrom PE, Norhagen A: Carcinoembryonic antigen in pleural effusions. Lancet 2:1057, 1978
- 4) Stanford CF, Neville AM, Laurence DJR. Concurrent assays of plasma and pleural-effusion levels of carcinoembryonic antigen in the diagnosis of pulmonary disease. Lancet 2:53, 1978
- 5) Niwa Y, Kishimoto H, Shimokata K: Carcinomatous and tuberculous pleural effusions: Comparison of tumor markers. Chest 87:351, 1985
- 6) 장양수, 장상호, 손희영, 김성규, 이원영, 김기호: 흉막염 환자에 있어서 혈청 및 흉막액의 CEA 및 Immunoglobulin 치에 관한 연구. 대한내과학회잡지 29:50, 1985
- 7) Giusti G: Adenosine deaminase: Methods of enzymatic analysis. ed. Bergmeyer New York Academic Press Inc, 1092, 1974
- 8) Piras MA, Gakis C, Brudoni M, Andreoni G: Adenosine deaminase activity in pleural effusions: An aid to differential diagnosis. Br Med J 2(6154): 1751, 1978
- 9) Ocana I, Martinez-Vazquez JM, Segura M, Fernandez-De-Sevilla T, Capdevilla JA: Adenosine Deaminase in pleural fluids. Chest 84:51, 1983
- 10) 장상호, 장준, 손희영, 김성규, 김기호: 흉막액 Adenosine deaminase 활성도의 진단적 가치에 관한 연구. 대한내과학회잡지 31:214, 1986
- 11) 이장훈, 김성규, 안철민, 장상호, 손희영, 김기호: 흉막염 환자에 있어서 흉막액 Adenosine deaminase 활성도의 임상적 의의. 대한내과학회잡지 31:781, 1986
- 12) Light RW, Ball WC Jr: Lactic dehydrogenase isoenzymes in pleural effusion. Am Rev Respir Dis 108: 660, 1973
- 13) 한성구: 삼출성 흉막염에서 LDH 및 그 Isoenzyme의 진단적 가치. 결핵 및 호흡기질환 32:259, 1985
- 14) Vladutiu AO, Brason FW, Alder RH: Differential diagnosis of pleural effusions: clinical usefulness of cell marker quantitation. Chest 79:297, 1981
- 15) Ridell M: Serodiagnosis of tuberculosis. Eur Respir J 1:587, 1988
- 16) 이춘택, 심영수, 김건열, 한용철, 조명제, 차창룡: 효소결합면역분석법을 이용한 결핵성 늑막염의 면역학적 진단법에 관한 연구. 결핵 및 호흡기질환 33:19, 1986
- 17) Osserman EF, Lawlor DP: Serum and urinary lysozyme(muramidase) in monocytic and monomyelocytic leukemia. J Exp Med 124:921, 1966
- 18) Perillie PE, Khan K, Finch SC: Serum lysozyme in pulmonary tuberculosis. Am J Med Sci 265:297, 1973
- 19) Klockars M, Reitamos S: Tissue distribution of lysozyme in man. J Histochem Cytochem 23:932, 1975
- 20) Klockars M, Petterson T, Riska H, Hellstrom PE: Pleural fluid lysozyme in tuberculosis and non tuberculosis pleurisy. Br Med J 1:1381, 1976
- 21) Wu KK, Burns CP, Barret DA: Pleural fluid lysozyme in human disease. Proc Soc Exp Biol Med 152:132, 1976
- 22) Klockars M, Petterson T, Riska H, Hellstrom PE, Nohagen A: Pleural fluid lysozyme in human disease. Arch Intern Med 139:73, 1979
- 23) Asseo PP, Tracopoulos GD, Kotsivolou-Fouskaki V: Lysozyme(muramidase) in pleural effusions and serum. Am J Clin Pathol 78:763, 1982
- 24) Hernando HR, Jimenez JF, Juncal LD, Garcia-Buela JP, Egana MT, Bueso JF: Meaning and diagnostic value of determining the lysozyme level of pleural

fluid. Chest 91:342, 1987

- 25) 이양근, 박종일, : 결핵성 및 비결핵성 삼출성 흉막염에서 Lysozyme 치의 변동. 대한내과학회잡지 24:766, 1981

- 26) 전기엽, 허영상, 권철, 이양근, 안득수 : 결핵성 및 비결핵성 복수에서의 Lysozyme 치의 변동. 대한내과학회잡지 27:1023, 1984