

사람의 면기능의 평가방법

정 태 준

한양대학교 의과대학 중앙내과

서 론

현행 면역검사들의 응용한계

인체내의 면역체계가 잘 운용되는 지는 기능적으로 왕성한 면역세포들이 정상숫자만큼 존재하는 지에 따라 결정된다. 이들 면역세포들과 이들이 생산해내는 분비산물들(생체반응 조절물질)은 매우 복잡한 상호작용을 하면서 외부로부터 침입하는 세균 및 항원들로 부터 인체를 보호하는 것이다. 따라서 면역능의 결함으로 나타나는 임상상은 다음과 같은 특징을 가지고 있다. (1) 감염증의 빈발, (2) 적절한 치료에도 불구하고 감염증의 회복 지연, (3) 국소감염의 전신확산, 그리고 (4) 기회감염증의 발생이 그것이다. 면역능 저하의 장기적인 효과로는 암발생의 빈도가 늘어날 것이라는 주장이 있고 또한 면역통제기전의 상실로 인한 자가면역 질환 및 과민반응등이 나타날 것이다. 대개는 이러한 임상적 증상이 발생되어 면역계의 이상이 의심될 때 여러 면역측정법을 동원하여 면역능을 측정하게 된다.

면역능 검사가 필요한 대상은 대개 선천적 또는 후천성 면역결핍 질환이 의심될 때, 골수이식이나 기타 임파조직의 이식후 면역치료시, 이식의 거부 반응이나 암치료에 사용되는 약제 및 방사선 조사등에 의한 면역억제의 평가, 자가면역 질환에서 진단의 보조를 위하여, 백신치료시 면역상태의 판단과 효과관정을 위하여, 그리고 기타 임상 및 기초 연구자료로서 필요한 경우이다. 이상의 경우 임상 진단, 치료의 평가 및 예후관정을 위하여 행하게 되는 데 면역능 검사의 해석에는 다른 임상소견들, 특히 병력 및 진찰소견을 꼭 중요시하여 판단해야 한다.

면역반응의 각부분을 세세하게 판단할 수 있는 여러 검사법들이 개발되어 소개되고 있으나 아직 임상적 신뢰도가 높은 것은 많지 않다. 면역능 검사가 임상적으로 널리 이용되기 위하여는 첫째 질환에 대한 검사의 예민도와 특이도, 둘째 검사과정의 기술적 정확성이 확립되어야 할 것이다. 여러 검사들의 예민도와 특이도를 통해 그 예측치가 결정되어야 한다. 이를 위하여는 각 검사에 대하여 많은 수의 환자와 정상 대조군을 이용한 임상시험이 이루어져야 한다. 그러나 실제 이런 정보는 얻기가 매우 어려운 실정이다. 정도관리와 국제적으로 인정되는 시약표준의 설정, 그리고 통일된 검사 기술의 확립도 아직 되어 있지 않다.

면역검사는 특히 각개인의 신체적 환경적 요인에 따라 차이가 많다. 나이, 성별, 인종별, 시차별 차이가 있으며 영양상태나 사용하는 약제등에 의해서도 영향을 받게 된다. 더욱이 감염질환등을 앓고 있는 경우는 면역체계에 미치는 영향이 크므로 대개 면역능의 판정을 위하여는 아무 질환도 없는 상태에서 검사하는 것이 원칙이다.

사실 유용하고 기술적으로 통일된 검사들이 많이 있다. 위에 기술한 여러 한계를 인식하고 판단하면 면역검사는 매우 유용하게 임상에 응용될 수 있다.

면역 검사법

인체의 면역체계에 관여하는 주된 면역세포로는 T세포, B세포, NK세포, 단핵구 및 거식세포가 있고

표 1. Summary of immune competence testing

Immune Cells	Quantitation	Functional Assays
T Cells	FCM with MABs for CD2, 3 or 5.	Lymphocyte proliferation to mitogens or antigens. DTH skin testing.
T Cell Subsets	FCM with MABs for CD4 and CD 8.	Functional assays for help, suppression, or cytotoxicity.
B Cells	FCM with MABs for CD19, 20, anti-H and anti-L chains.	Serum Ig or its subclasses. Postimmunization antibodies.
NK Cells	FCM with MABs for CD16 or 56.	K562 cellular cytotoxicity and/or ADCC.
Complement	Immunocochemical component detection.	CH ₅₀ or specific hemolytic assay for components.
Neutrophils	Coulter counter	Biochemical and microbicidal.
Monocyte-Macrophage	Coulter counter or FCM with MBAs for CD14.	Biochemical and microbicidal.

FCM, Flow cytometry ; MABs, monoclonal antibodies ; DTH, Delayed type hypersensitivity ;

표 2. Summary of major tests for T cell immune competence

Test	Technique	Parameters Measured	Limitations and Comments
Total T Cells(numbers or percentages)	Flow cytometry with MABs to CD2, CD3 or CD5	Percentage of cells bearing these epitopes in a particular gated mononuclear cell population	Need absolute lymphocyte count to convert to T cell numbers ; no functional or cloned antigen specific information
T cell subsets(numbers and percentages) Helper-inducer cells Suppressor-cytotoxic cells	Flow cytometry with MABs to CD4 CD8	Percentage of cells in mononuclear cell gate that bear these surface molecules	CD4 also expressed on some monocytes ; both subsets are functionally heterogeneous (eg, CD8 contains suppressor and cytotoxic T cells)
Lymphocyte proliferation Mitogens and allogeneic cells	Lymphocyte culture with DNA synthesis detected by radioactive thymidine incorporation	Ability of polyclonal T cells to undergo activation to DNA synthesis	Does not define multiple possible defects in cellular physiology
Antigens	Same	Clonal proliferation to epitopes	Avoids the need to perform skin test for DHS ; relevant antigens may be unknown or unavailable for testing.

여기에 보체의 화학분자들이 참여한다. 면역능의 검사는 이들 각각에 대한 양적인 측정과 기능적 검사를 병행해야 한다. 표 1에는 이들 검사를 요약하여 놓았다.

1. T세포 및 Subsets

T세포는 형태학적으로 다른 임파구와 구별되는 특징이 없으므로 T세포에 특징적인 분자산물이나 항원을 이용하여 검색이 가능하다(표 2). 이 T세포에 널리 공존하는 항원표지중 대표적인 것이 CD3이다. 그외에도 여러 항원이 있으나 이는 일부 T세포에만 국한되든지 양적으로 표현이 적어 검색에

사람의 면기능의 평가방법

지장이 있다. 또는 T세포 이외에도 다른 세포에 공유되는 항원표지도 있어 T세포의 검색에는 도움이 되지 않는다. CD5는 B세포의 일부에도 나타나며 CD2는 NK세포와 공유한다. CD7은 일부 성숙된 T세포에만 소량 존재한다.

숫자의 정확한 계량을 위해서는 flow cytometry 법이 가장 믿을 만하다. 이때는 적어도 10,000개의 세포 이상을 세어야 하고 gating 기술에 따라 결과가 다를 수 있다. 그전에는 형광 현미경하에서 수를 직접 세는 방법을 써 왔으나 이는 주관적인 판단과 많은 노동력을 필요로 하는 단점이 있다.

T세포의 subsets는 주로 CD4와 CD8을 가진 세포로 나뉜다. 이 두 세포는 서로 정반대의 기능을 가지고 있다. CD4 양성 T세포는 보조/유도(helper/inducer) 세포이며 CD8 양성세포는 억제/세포독성(suppressor/cytotoxic) 기능을 가진 세포이다.

T세포의 기능을 측정하는 것은 곧 여러 항원이나 수용체 자극물질에 의한 활성능을 관찰하는 것이다. T세포는 식물성 렉틴이나 항 CD3 항체로 자극하면 활성화되어 여러 생화학적 과정을 거쳐 핵산합성을 하게 된다. 이때 쓰이는 렉틴으로는 phytohemagglutinin, concanavalin A, pokeweed mitogen 등이 있다. 이외에도 복합 임파구 배양(MLC)에서는 동종 세포가 자극원으로 쓰인다. 항 CD3 항체는 직접 세포막의 T세포 수용체와 작용하여 매우 강한 활성신호를 보낸다. 이런 활성을 측정하기 위하여는

^3H -thymidine이 핵산 합성에 참여하는 정도를 관찰하게 되는 것이다. CD4나 CD8 양성 세포는 이들에 피톱에 대한 항체에 의해 증식반응을 보이지 않는다. 그러므로 각각의 고유기능인 helper, suppressor, 및 cytotoxic 기능을 검증해 나가야 한다.

항원 특이 T세포는 각 특이 항원에 의해 증식반응을 나타낸다. 이를 이용한 실험실내 증식검사를 하면 생체내 패취검사와는 달리 항원과의 접촉을 피할 수 있어 좋으나 이에 해당되는 경우가 많지 않다. 반면 지연형 과민반응을 피내검사로 하는 패취검사는 쉽고 널리 이용된다.

2. B세포

T세포와는 달리 B세포는 그 산물인 면역 글로부린(Ig)을 측정하는 경우가 많다. B세포 특이 표지로는 B세포 전반적으로 작용하는 CD19(Leu12, B4)과 CD20(Leu16, B1)이 있다. B세포 분화과정의 초기에 작용하는 CD10(CALLA, J5)과 CD22(Leu14)도 있으나 말초혈액내 B세포 기능을 평가하는데는 잘 사용되지 않는다. CD5는 T세포에도 나타나며 CD1은 흉선세포와 dendritic 세포에도 표현되어 있어 B세포 표지로는 제한이 있다. 형질세포의 표지인 PC-1이나 PCA-1은 임파선이나 비장 등의 형질세포 분포를 관찰하는 데 도움이 되나 말초혈액에서는 유용성이 없다(표 3).

면역 글로부린치의 측정은 B세포의 기능을 대

표 3. Summary of major tests for B cell immune competence

Test	Technique	Parameters Measured	Limitations and Comments
Total B cells (numbers or percentages)	Flow cytometry with AMbs to CD19 or CD20 or antibodies to H or L chains	Percentage of cells that express these epitopes in a particular gated mononuclear cell population	Need absolute count to convert to B cell numbers; no functional or antigen-specific information
Immunoglobulin concentrations (IgG, IgA, IgM)	Radial immunodiffusion or rate nephelometry with specific anti-H and anti-L chain antisera	Concentration of polyclonal immunoglobulin present in particular body fluid, eg, serum, cerebrospinal fluid, saliva	No clonal or antigen-specific information; results are highly age-dependent.
Antibody to specific epitopes or microorganisms	ELISA, radioimmunoassay, agglutination, precipitation, etc(see Chapter 18)	Titers of antibody to a specific epitope or group of epitopes on antigen from microorganisms	Deliberate immunization with pre and postantibody titers useful; anti A and anti B are IgM isohemagglutinins

변한다고 할 수 있다. 그러나 면역 글로부린치는 나이에 따른 변화가 많으므로 판독에 주의해야 한다. 대개 IgG, IgA, IgM치만으로 충분한다. B세포 기능측정의 또 다른 방법은 백신주사후에 그 항원에 대한 항체를 측정하는 것이다. Schick test는 디프테리아 백신을 접종한 사람에서 IgG의 항 디프테리아 항체를 측정하는 것이다. 주로 이용되는 항원은 Keyhole limpet hemocyanin, 연쇄상 폐염구균, tetanus toxoid, influenza virus vaccine등이 있다. 하지만 면역결핍이 강하게 의심되는 경우는 이와 같은 항원에 피폭되는 것이 매우 위험하므로 주의를 요한다.

3. NK 세포

말초혈액 임파구에는 T세포와 B세포이외에 약 10~15%를 차지하는 NK세포가 있다. 이는 과립구를 세포질내에 가지고 있는 임파구로서 전감작의 과정이 없이 HLA항원의 제한도 받지 않고 여러 변이세포들에 독성을 나타낸다. 이 세포는 암세포의 파괴와 바이러스 질환의 방어에 중요한 역할을 한다. 최근에는 NK세포만의 결함이 있으며 감염증(특히 herpes infection)에 잘 걸리는 환자가 보고되고 있다. Chediak-Higashi증후군에서도 NK세포의 결함이 문제이다. NK세포의 표면항원은 CD56(NKH1)과 CD16(FcIgG)이며 NK세포의 수를 측정하는 데 이용된다. NK세포는 K562표적세포에 독성을 보이므로 NK세포 독성의 측정의 K562가 사용된다. NK세포는 ADCC도 중개하는 역할을 한다.

4. 탐식세포들

중성구, 단핵구 및 거식세포들은 아마도 체내에서 가장 원시적인 방어체제이다. 이들세포에 대한 단클론 항체도 개발되어 사용되고 있으며 기능을 측정하기 위한 방법도 많이 개발되어 있다. 대개는 hexose monophosphate shunt를 이용한 생화학적 방법들로서 NBT(nitro blue tetrazolium) 염기환원 검사나 chemiluminescence등이 있다.

5. 보 체

보체의 유전적 또는 후천적 결핍도 많은 감염증을 유발하는 원인이 된다. 보체가 인체의 방어기전에 관여하는 방법은 여러가지로서 ① opsonin으로의 작용(C3_a), ② 미세균주의 파괴(C1-C9), ③ 화학주성(C5_a), 그리고 ④ 혈관 투과성의 변화(C3_a, C4_a, C5_a)등을 들 수 있다.

C3-C9까지의 각 성분은 용혈능의 검사(CH₅₀)로 가능하다. 보체의 각 성분에 대해서는 특이 항체가 다 있어서 이를 이용한 radial diffusion이나 nephelometric test를 사용한다.

Literature cited

- 1) Good RA, Pahwa RN. The recognition and management of immunodeficient disorders. *Pediatr Infect Dis J* 7 : S2-S125, 1988
- 2) Van der valk P, Herman C. Biology of disease : Leukocyte functions. *Lab Invest* 57 : 127, 1987
- 3) Marti GE, Fleisher TA. Application of lymphocyte immunophenotyping in selected diseases. *Pathol Immunopathol Res* 7 : 319, 1988
- 4) Nicholson JKA. Using flow cytometry in the evaluation and diagnosis of primary and secondary immunodeficiency diseases. *Arch Pathol Lab Med* 113 : 598, 1989
- 5) Ahmed AR, Blose DA. Delayed hypersensitivity skin testing : A review. *Arch Dermatol* 119 : 934, 1983
- 6) Biron CA, Byron KS, Sullivan JL. Severe herpes infections in an adolescent without natural killer cells. *N Engl J Med* 320 : 1731, 1989
- 7) Jondal M. The human NK cell. *Clin Exp Immunol* 70 : 255, 1987
- 8) Ritz J. The role of natural killer cells in immune surveillance. *N Engl J Med* 320 : 1748, 1989
- 9) French MAH. Immunglobulins in health and di-

사람의 면역능의 평가방법

- sease. Immunology and Medicine series. *MTP Press, 1986*
- 10) Hamilton RG. Human IgG subclass measurements in the clinical laboratory. *Clin Chem 33 : 1707, 1987*
- 11) Fries LF, Frank MM. Complement and relative proteins : Inherited deficiencies. pp89, in : Inflammation : Basic principles and clinical correlates. Fallin JI, Goldstein IM, Snyderman R(editors). *Raven Press, 1988*
- 12) Ross SC, Denson P. Complement deficiency states and infections. *Medicine 63 : 243, 1984*
- 13) Borregarrd N. The human neutrophil : Function and dysfunction. *Eur J Hematol 41 : 401, 1988*
- 14) Boxer LA, Morganroth ML. Neutrophil function disorders. *Disease-a-Month 33 : 681, 1987*