

가슴막 삼출액 감별에 있어서
adenosine deaminase 2 isoenzyme 과
interferon-gamma release assay (IGRA)의
유용성

연세대학교 대학원

의학과

이 선 녕

가슴막 삼출액 감별에 있어서
adenosine deaminase 2 isoenzyme 과
interferon-gamma release assay (IGRA)의
유용성

지도 교수 용 석 중

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함.

2010년 1월 일

연세대학교 대학원

의학과

이 선 녕

이선녕의 석사 학위 논문을 인준함

심사위원 _____인

심사위원 _____인

심사위원 _____인

연세대학교 대학원

2010년 1월 일

감사의 글

석사 학위 논문을 마치며 지켜봐 주시는 모든 분 들에게 감사의 말씀을 드립니다. 내과 전공의를 시작하면서 시작된 호흡기 내과와의 만남으로 수석 전공의 생활과, 연구 강사, 그리고 석사 과정을 마칠 때까지 격려해 주시고 힘이 되어 주신 용석중 선생님께 감사 드립니다. 언제나 유머를 잃지 않으시며 격려를 아끼지 않으시는 신계철 선생님께 감사 드리며 환자를 진료하고 공부하는데 있어 도움이 필요할 때는 언제나 상세하게 알려주시고 독려해 주시는 리원연 선생님과 김상하 선생님 감사합니다. 논문 심사를 위해 소중한 시간 내어주신 어영 선생님께도 감사를 드립니다. 일년간 함께 연구강사를 하며 힘이 되어 주신 이낙원 선생님 감사합니다.

대학에 입학하면서부터 떨어져 지내 예쁜 딸 노릇을 못하지만 언제나 믿어주시고 지원해 주시는 아버지, 어머니에게 부족하지만 이 논문으로나마 기쁨을 드리고 싶습니다. 제 일에 바빠 챙겨주지 못하는 누나를 둔 동생에게 미안 한 마음과 고마운 마음을 담습니다. 바쁜 며느리 덕에 손자 보시느라 고생하시면서도 걱정해주시고 격려를 아끼지 않으시는 아버님, 어머님 감사합니다. 언제나 함께하는 사랑하는 남편과 돌 지나도록 엄마와 보낸 시간이 너무나 부족한 우리 아들 범서에게 곁에 있어주고 기쁨이 되어주고 힘이 되어 줘서 고맙다는 말을 전하고 싶습니다.

저 자 씀

차 례

차 례	i
그림차례	iii
표 차례	iv
국문요약	1
I. 서론	3
II. 대상과 방법	6
1. 대상	6
2. 방법	7
가. ADA의 측정	7
나. QuantiFERON TB Gold®의 측정	7
다. 통계 분석	8
III. 결 과	9
1. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액에서의 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비의 측정값	10

2. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액에서의 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비의 민감도, 특이도.....	12
3. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액에서의 QuantiFERON TB Gold® 의 측정값.....	14
4. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액에서의 QuantiFERON TB Gold® 의 민감도, 특이도	15
5. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액 또는 악성 가슴막액 감별을 위한 ADA2와 QuantiFERON TB Gold® 병용 시 민감도와 특이도	17
IV. 고 찰.....	18
V. 결 론.....	24
참고문헌	25
영문요약	33

그림 차례

그림 1. 각 군의 환자 분류	9
그림 2. 단핵세포 우세 삼출액 중 ADA 활성도 20 U/mL 이상인 결핵성 가슴막액과 비결핵성 삼출액, 악성 가슴막액에서 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비의 측정값	11
그림 3. 단핵세포 우세 삼출액에서 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액 감별을 위한 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비의 ROC 곡선.....	13
그림 4. 단핵세포 우세 삼출액에서 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액에서 QuantiFERON TB Gold® 의 측정값	15
그림 5. 단핵세포 우세 삼출액에서 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액 감별을 위한 QuantiFERON TB Gold® 의 ROC 곡선.....	16

표 차례

표 1. 단핵세포 우세 삼출액을 보인 결핵성 가슴막액과 비결핵성 삼출액, 악성 가슴막액에서의 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비의 측정값	10
표 2. 단핵세포 우세 삼출액에서 가슴막액의 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비를 이용한 결핵성 가슴막액의 감별력	13
표 3. 단핵세포 우세 삼출액을 보인 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액에서의 QuantiFERON TB Gold® 의 측정값	14
표 4. 단핵세포 우세 삼출액에서 가슴막액의 QuantiFERON TB Gold® 를 이용한 결핵성 가슴막액의 감별력	16

국문요약

가슴막 삼출액 감별에 있어서 adenosine deaminase 2 isoenzyme 과 interferon-gamma release assay (IGRA)의 유용성

가슴막액은 그 원인에 대한 감별이 중요하며, 삼출성 가슴막액인 경우에는 원인 감별을 위한 여러 가지 다른 지표들이 요구된다. 특히 단핵세포가 우세한 삼출성 가슴막액의 경우에는 결핵성 가슴막액과 악성 가슴막액과의 감별이 필요하다. Adenosine deaminase (ADA)의 동종 효소인 ADA2 는 대식세포와 단핵구를 중심으로 한 세포성 면역반응이 중요한 역할을 하는 결핵성 가슴막액에서 활성도가 증가되어 있다. Interferon-gamma release assay (IGRA) 는 잠복 결핵의 진단방법으로 주목 받고 있으며 활동성 결핵의 진단에도 이용될 가능성이 제시되고 있지만 결핵성 가슴막액의 진단에 이용한 연구는 최근 보고가 되고 있고 아직 결론에 이르지 못했다. 이에 가슴막액의 ADA2 동종효소의 활성도와 IGRA 의 측정이 결핵성 가슴막액을 감별해 내는 데 유용한지 확인하고 진단에 도움이 되는 cutoff value 를 제시하고자 하였으며, 두 가지 표지자를 병용했을 때 진단율이 증가하는지를 검토해 보고자 하였다.

가슴막액이 있는 457 명의 환자를 대상으로 ADA/ADA2 활성도와 IGRA 를 측정하여 분석하였다. 가슴막액을 여출액과 삼출액으로 나누고, 삼출액은 다시 결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액, 부폐렴성 가슴막액, 가슴 고름집, 그 외 다른 삼출액으로 구분하였다. ADA1 의 측정은 가슴막액에서 효소 면역법을 이용하여 측정하였으며 ADA2 는 선택적 억제제인 ENHA 를 첨가하여 남아 있는 ADA2 를

측정하였다. IGRA 는 enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit 인 QuantiFERON TB Gold[®]로 측정값을 구하였다.

결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액에서 ADA 는 각각 82.60 ± 60.19 U/L, 29.48 ± 16.55 U/L, ADA2 는 54.50 ± 23.08 U/L, 17.65 ± 9.11 U/L 였으며, ADA2/ADA 비도 각각 69.71 ± 11.95 U/L, $62.85 \pm 15\%$ 로 통계적으로 유의한 차이를 보였다. 결핵성 가슴막액을 진단하기 위한 가슴막액의 ADA 의 cutoff value 를 40 U/L 이상으로 하였을 때 민감도는 80%, 특이도는 88%였으며 ADA2 를 30 U/L 이상으로 하였을 때 민감도는 76%, 특이도는 99%였다. ADA2/ADA 비는 0.65 이상으로 하였을 때 민감도는 75%, 특이도는 60%였다. QFT-Gold 는 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액에서 각각 12.65 ± 17.56 IU/mL, 0.80 ± 1.76 IU/mL 로 통계적으로 의미 있는 차이를 보였다. cutoff value 가 0.35 IU/mL 이상 일 때 민감도는 83%, 특이도는 59.6%였다. 악성 가슴막액에서 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비 값은 27.76 ± 11.87 U/L, 16.21 ± 4.26 U/L, 62.34 ± 16.23 %로 결핵성 가슴막액과 비교 할 때 통계적으로 의미 있는 차이를 보였다. ADA2 와 QFT-Gold 을 병용했을 때 특이도와 양성 예측률은 모두 100%까지 증가되었다. 단핵세포가 우세한 삼출액에서 가슴막액의 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비, QFT-Gold 는 결핵성 가슴막액을 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액과 감별하는 데 있어 보완적인 표지자로서 유용하며 병용 사용시에는 더욱 유용할 것으로 생각된다.

핵심 되는 말: Adenosine deaminase, QuantiFERON TB Gold[®], 가슴막액, 결핵성, 악성

가슴막 삼출액 감별에 있어서
adenosine deaminase 2 isoenzyme 과
interferon-gamma release assay (IGRA)의

유용성

< 지도 용석중 교수 >

연세대학교 대학원 의학과

이선녕

I. 서론

가슴막액은 다양한 원인들에 의하여 생성되며 그 원인에 대한 감별이 중요하다. 가슴막액이 있을 때는 먼저 여출액과 삼출액으로 구별하게 되고 삼출성 가슴막액인 경우에는 원인감별을 위한 여러 가지 다른 지표들이 필요하다. 2007 년 WHO 에서는 우리나라를 중등도의 결핵 유행률을 보인 나라로 발표했다. 결핵성 가슴막액은 우리나라의 가슴막 삼출액의 흔한 원인으로 알려져 있지만 임상에서의 감별은 쉽지 않다. 결핵균 도말 검사나 생검, polymerase chain

reaction (PCR)은 만족스러운 결과를 보여주지 못하고 있다.^{1,2} 또한 결핵성 가슴막액에서 주로 단핵세포가 증가 되어 있지만 초기에는 다형핵 백혈구가 우세할 수 있어 부폐렴성 가슴막액과 감별이 어렵고³ 악성 가슴막액에서도 단핵 세포가 증가되어 있어 감별이 어려운 경우가 있다.

ADA 의 활성도는 결핵성 가슴막액의 진단에 유용한 검사법의 하나로 알려져 왔다.⁴ 그러나 부폐렴성 가슴막액에서도 ADA 활성도가 증가되어 있으므로 결핵성 가슴막액과 부폐렴성 가슴막액의 감별에는 어려움이 있다. 이에 ADA 동종효소의 유용성이 보고되고 있는데, ADA1 은 모든 세포와 조직, 특히 호중구와 림프구에서 활성을 갖고, ADA2 는 대식세포와 단핵구에서 활성을 갖는다고 알려져 있다. 결핵성 가슴막액의 발생기전에 대식세포와 단핵구를 중심으로 하는 세포성 면역반응이 중요한 역할을 하므로 ADA2 활성 증가에 따라 결핵성 가슴막액에서 총 ADA 의 활성도가 증가하는 것으로 알려져 있어 ADA2 의 활성도 측정이 삼출성 가슴막액의 감별진단에 도움이 된다는 보고가 있다.⁵

IGRA 는 잠복 결핵의 진단을 위한 새로운 방법으로 주목 받고 있는 검사법으로 잠복 결핵의 진단 뿐 아니라 활동성 결핵의 진단에도 잠재적 역할이 보고되고 있다.⁶ IGRA 는 두 가지 Kit 가 개발되어 사용되고 있는데 QuantiFERON TB Gold[®] (QFT-Gold: Cellestis Ltd., Carnegie, Victoria, Australia)와 T-spot.TB (Oxford Immunotec Ltd, Abingdon, UK)가 있다. 이중 QFT-Gold 는 BCG 백신 접종을 하지 않은 환자 군과 활동성 결핵 환자,⁷ AFB 양성인 환자에게 노출된 결핵 감염 위험이 높은 군,⁸ 활동성 결핵이 강력히 의심되는 환자를 대상으로 한 연구 등 활동성 결핵에 사용하기 위한 연구는

다양하게 이루어지고 있으나 IGRA 를 결핵성 가슴막액의 진단에 이용한 연구는 최근에 보고가 되고 있고 아직 결론에 이르지 못했다.

인구의 노령화와 면역억제 치료를 받는 환자가 늘어나면서 결핵을 통제하기 위한 추가적인 전략이 필요하게 되었다. 또한 결핵성 가슴막액을 다른 삼출액과 감별하기 위한 여러 가지 다양한 생화학적 표지자들이 소개되고 있는데 이에 본 연구는 ADA2 동종효소의 활성도와 최근 연구가 보고되고 있는 IGRA 를 가슴막액에서 측정하여 진단의 유용성과 진단에 도움이 되는 cutoff value 를 제시하고 두 가지 표지자를 병용했을 때 진단율이 증가 하는지를 검토해 보고자 한다.

II. 대상 과 방법

1. 대상

2007 년 7 월부터 2009 년 8 월까지 가슴막액으로 입원하여 진단적 가슴천자를 시행해 ADA/ADA2 활성도 검사와 IGRA 를 모두 검사한 457 명을 대상으로 환자의 의무 기록을 분석하였다. Light's criteria⁹ 와 입원 중 여출액의 원인이 될 수 있는 기저 질환에 대한 검사결과와 치료반응을 바탕으로 여출액, 삼출액으로 나누고 삼출액 중 결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액, 부폐렴성 가슴막액, 가슴고름집, 그 외 다른 삼출액으로 구분하였다. 가슴막액과 혈액에서 총 적혈구 및 백혈구 수, 총 단백질, 포도당, pH, lactate dehydrogenase (LDH), C-reactive protein (CRP), carcinoembryonic antigen (CEA)을 측정했다. 결핵성 가슴막액은 임상증상을 바탕으로 가슴막액과 가슴막 조직검사서 항산균이 존재하거나 동정될 때, 조직 검사서 진락 육아종이 보일 때, 폐 침윤이 동반되고 가래검사서 항산균이 존재 또는 동정되면서 종양 표지자, 가슴 전산화 단층 촬영 등에서 다른 원인에 의한 가슴막액을 배제할 수 있을 때 진단하였으며 결핵균이 증명되지 않은 경우에도 항 결핵 치료로 호전을 보인 경우에는 결핵성 가슴막액으로 진단하였다. 악성 가슴막액은 가슴막 조직 검사와 세포진 검사서 악성 세포가 증명되거나 원발 병소에서 조직 검사를 통해 악성이 진단된 환자에서 결핵 등 다른 원인의 가능성이 배제될 때 악성 가슴막액으로 진단하였다. 부폐렴성 가슴막액은 가슴 방사선 사진에서 폐렴이나 가슴고름집 병변이 있고 항생제 치료로 호전을 보인 경우 진단하였고 가슴고름집은 고름이 배액 되거나 부폐렴성 가슴막액에서 세균이 동정될 때 진단하였다. 그 외 다른

가슴막액도 원인 질환의 진단 기준에 합당하고 다른 질환을 배제할 수 있을 때 진단하였다.

2. 방법

가슴막액과 혈액 표본은 같은 날 시행된 것을 원칙으로 하였으며 공복여부를 고려하여 1 일전 후의 표본을 분석했다.

가. ADA 의 측정

ADA1 의 측정은 가슴막액에서 자동생화학검사분석장치 (TBA-200FR, TOSHIBA, Japan)로 측정하였으며 ADA2 는 erythro-9-(2-hydroxy-3-nonyl) adenosine hydrochloride (ENHA)를 첨가하여 ENHA 가 ADA1 의 선택적 억제제로 작용하는 것을 이용하여 남아 있는 ADA2 를 측정하였다.¹⁰ 결과는 U/L 로 표기하였다.

나. QuantiFERON TB Gold[®] 의 측정

가슴막액의 QFT-Gold 측정은 제조회사(Cellestis Ltd.,Carnegie, Victoria, Australia)의 지침에 따라 측정하였다. 가슴막 천자액을 채취하여 배양용기에 각각 1 mL 씩 분주하고 각 well 에 결핵균 특이 항원(Early Secretary Antigen Target-6(ESAT-6), Culture Filtrate protein(CFP-10))과 양성(mitogen, i.e., mitogen phytohemagglutinin 으로 자극) 대조 항원, 음성(nil, i.e., 항원이나 mitogen 으로 자극) 대조 항원을 첨가하여 16-24 시간 동안 배양 후 상청액을 모아 IFN- γ 을 Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) 방법으로 측정하여 판독하였다. QFT-Gold 양성 판정 기준은 전혈을 통한 참고치를

이용하여 mitogen 이 0.5 IU/mL 이상이거나 ESAT-6, CEP-10 둘 중의 하나가 0.35 IU/mL 이상일 경우 양성으로 판정하였다. 단, 환자의 면역 상태 (T 세포 기능 저하 또는 수의 감소)를 나타내는 mitogen 이 0.5 IU/mL 미만인 경우에는 불확정 결과로 판단했다.⁷ 결과는 IU/L 로 표기 하였다.

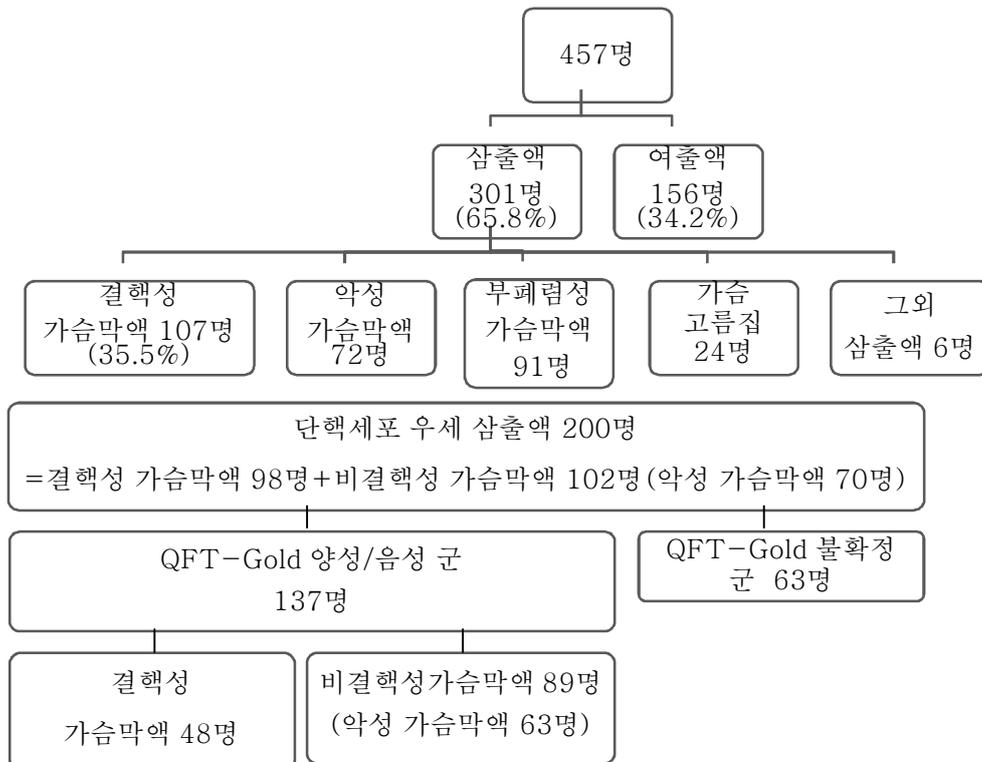
다. 통계 분석

윈도우용 SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하여 서로 다른 군간의 평균값은 독립 표본 T 검정으로 비교하였고, 통계학적으로 유의한 차이를 보인 값에 대하여 ROC (receiver operating characteristics) 곡선 분석을 통해 민감도와 특이도가 높게 측정되는 결정치를 구하였다. 측정치는 평균값±표준편차로 나타내었으며, P 값은 0.05 미만일 때 통계학적으로 유의하다고 판정하였다.

III. 결과

총 457 명의 환자를 삼출액과 여출액으로 분류하고 삼출액 중 단핵세포가 우세한 삼출액을 보인 환자를 분류하여 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비를 분석했다. 참고로 단핵세포가 우세한 삼출액을 보이지 않은 결핵성 가슴막액을 가진 환자는 9 명으로 8%(8/107)를 차지하고 있었다. 부폐렴성 폐렴 또는 가슴 고름집 환자의 26%(30/115)도 단핵세포가 우세한 소견을 보였다. 단핵세포 우세 삼출액 환자 중 QFT-Gold 가 불확정 결과를 보인 환자는 200 명중 63 명으로 31.5%이고 나머지 68.5% 환자에서 양성, 음성 해석이 가능했으며 이 환자들 137 명을 대상으로 QFT-Gold 자료를 분석했다(그림 1).

그림 1. 각 군의 환자 분류



1. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액에서의 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비의 측정값

단핵세포 우세 삼출액 200 명을 대상으로 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액에서 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비의 측정값을 비교했으며 (표 1) 모두 결핵성 가슴막액 군에서 통계적으로 유의하게 증가되어 있었다. 임상에서 감별이 어려운 ADA 활성도가 20 U/L 이상인 결핵성 가슴막액에서 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비는 82.60 ± 60.19 U/L, 54.50 ± 23.08 U/L, $69.71 \pm 11.95\%$ 으로 비결핵성 가슴막액의 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비 값(29.48 ± 16.55 U/L, 17.65 ± 9.11 U/L, $62.85 \pm 15\%$)과 비교 시 통계적으로 유의하게 증가하였고 악성 가슴막액(27.76 ± 11.87 U/L, 16.21 ± 4.26 U/L, $62.34 \pm 16.23\%$)과 비교 시 ADA2/ADA 비도 통계적 유의성을 보여주었다(그림 2).

표 1. 단핵세포 우세 삼출액을 보인 결핵성 가슴막액과 비결핵성 삼출액, 악성 가슴막액에서의 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비의 측정값

변수	결핵성 가슴막액 (n=98)	비 결핵성 가슴막액 (n=102)	P 값
ADA ¹	78.09±60.97	17.41±12.3	P<0.001*
ADA2 ¹	51.57±25.17	11.01±7.06	P<0.001*
ADA2/ADA 비 ²	70±11.65	66.17±14.79	0.044*
변수	결핵성 가슴막액 (n=98)	악성 가슴막액 (n=70)	P 값
ADA ¹	78.09±60.97	17.14±10.32	P<0.001*
ADA2 ¹	51.57±25.17	10.73±5.06	P<0.001*
ADA2/ADA 비 ²	70±11.65	66.74±12.78	0.088

*P<0.05

¹ 단위는 U/L 이고 그 값은 평균±표준편차로 나타냄.

² 단위는 %이고 그 값은 평균±표준편차로 나타냄.

그림 2. 단핵세포 우세 삼출액 중 ADA 활성도 20 U/mL 이상인 결핵성 가슴막액과 비결핵성 삼출액, 악성 가슴막액에서 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비의 측정값

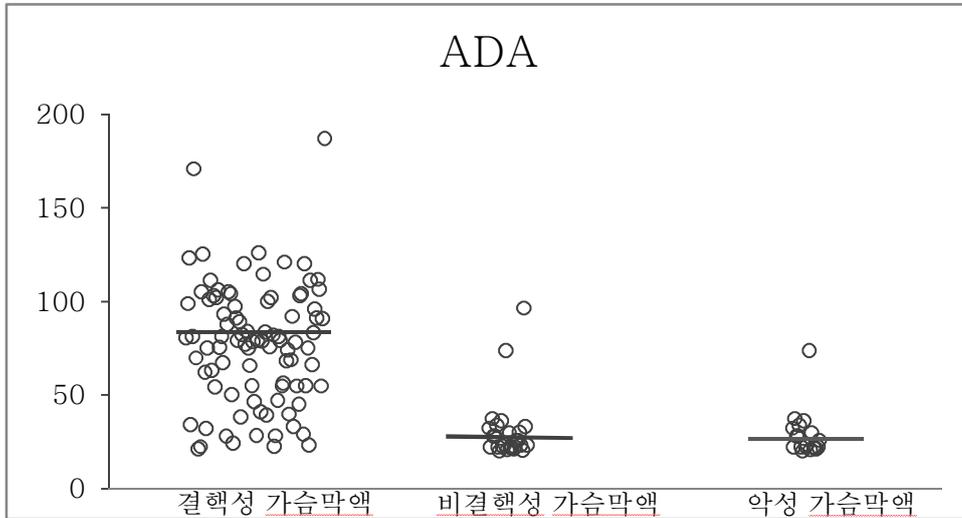


그림 2-1. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액에서 ADA 값

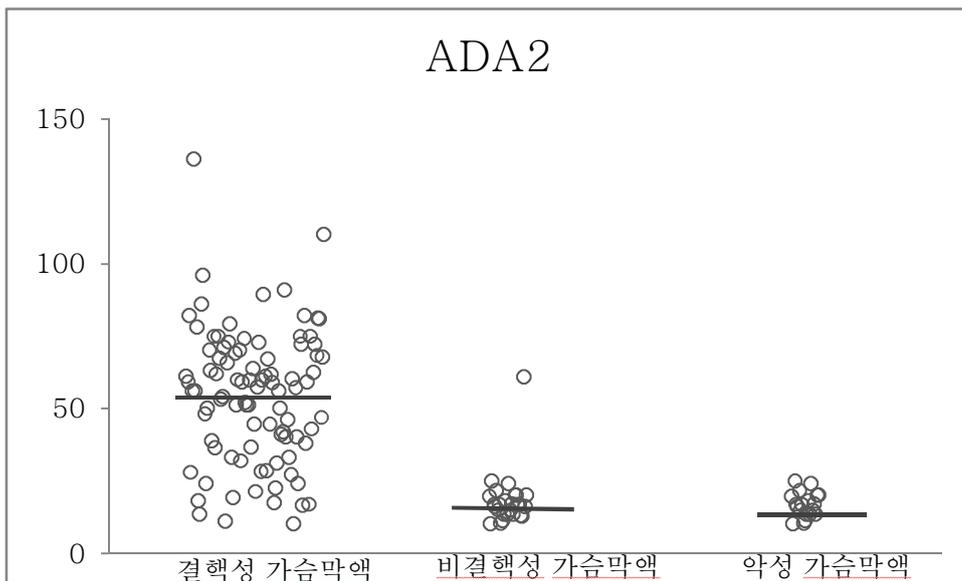


그림 2-1. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액의 ADA2 값

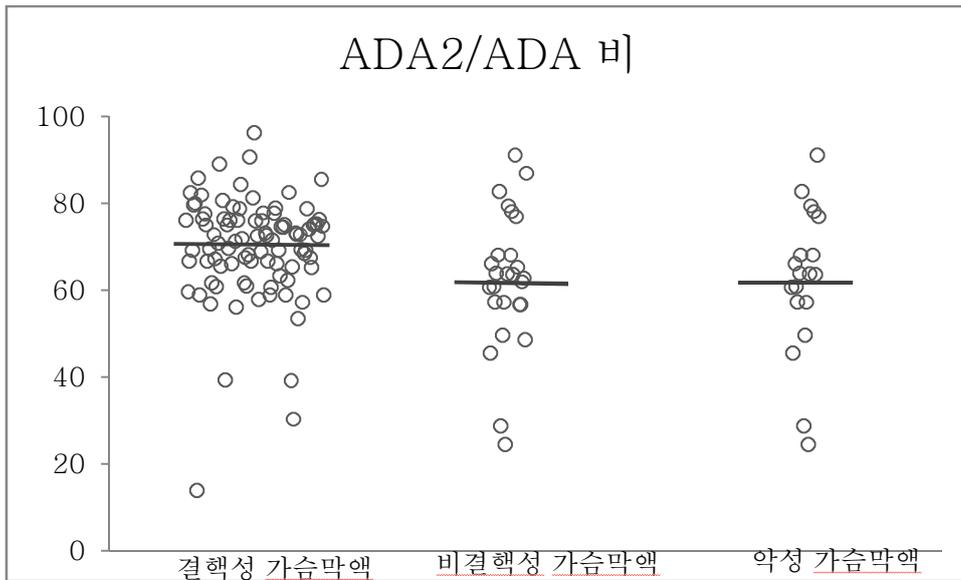


그림 2-3. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액의 ADA2/ADA 비

2. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액에서의 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비의 민감도, 특이도

결핵성 가슴막액과의 비교에서 유의한 차이를 보인 가슴막액의 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비에 대하여 민감도와 특이도가 가장 높게 유지되는 cutoff value 를 구하기 위하여 ROC 곡선을 이용하였다(그림 3). 가슴막액의 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비 값이 각각 40 U/L, 30 U/L, 0.65 일 때의 민감도와 특이도를 구하고 AUC (Area under the curve)를 확인하였다(표 2). 결핵성 가슴막액을 비결핵성 가슴막액과의 비교할 때 보다 악성 가슴막액과의 비교 시 특이도가 높은 경향을 보였다.

그림 3. 단핵세포 우세 삼출액에서 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액 감별을 위한 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비의 ROC 곡선

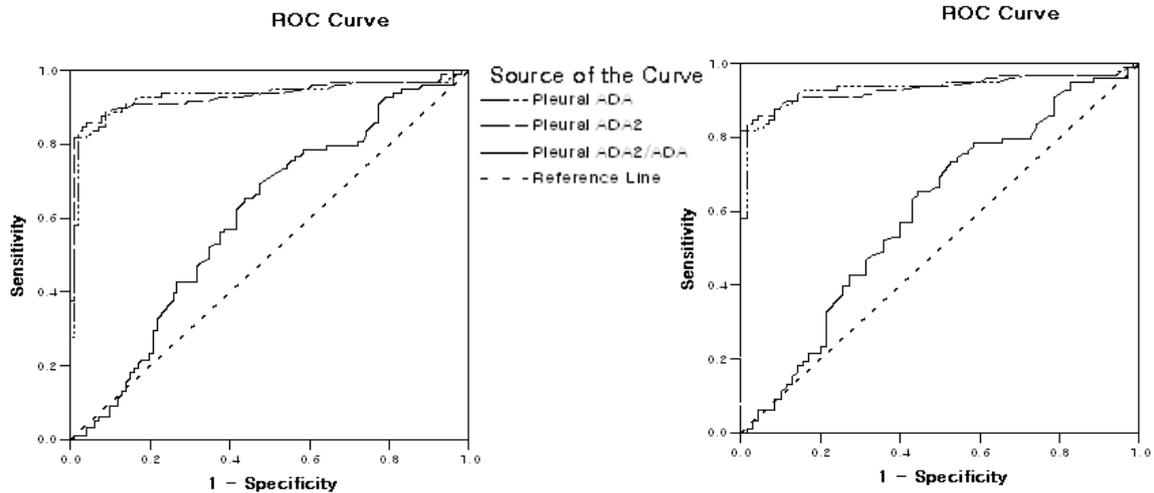


그림 3-1. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액

그림 3-2. 결핵성 가슴막액과 악성 결핵성 가슴막액

표 2. 단핵세포 우세 삼출액에서 가슴막액의 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비를 이용한 결핵성 가슴막액의 감별력

변수	비결핵성 가슴막액에 대한 결핵성 가슴막액의 감별력 (n=200)			
	sensitivity	specificity	AUC	P 값
ADA ≥ 40 U/L	80	88	0.930	P<0.001*
ADA2 ≥ 30 U/L	76	99	0.931	P<0.001*
ADA2/ADA 비 ≥ 0.65	75	60	0.603	0.012*
변수	악성 가슴막액에 대한 결핵성 가슴막액의 감별력 (n=168)			
	sensitivity	specificity	AUC	P 값
ADA ≥ 40 U/L	78	99	0.937	P<0.001*
ADA2 ≥ 30 U/L	76	100	0.935	P<0.001*
ADA2/ADA 비 ≥ 0.65	78	59	0.599	0.028*

*P<0.05

3. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액에서의 QuantiFERON TB Gold®의 측정값

QFT-Gold 불확정 결과를 보인 환자를 제외한 단핵세포 우세 삼출액 137 명을 대상으로 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액에서 QFT-Gold의 측정값을 비교하였다(표 3). QFT-Gold 는 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액과 비교 시 결핵성 가슴막액에서 증가되어 있었고 통계적으로도 의미 있는 차이를 보였다(그림 4).

표 3. 단핵세포 우세 삼출액을 보인 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액에서의 QuantiFERON TB Gold®의 측정값

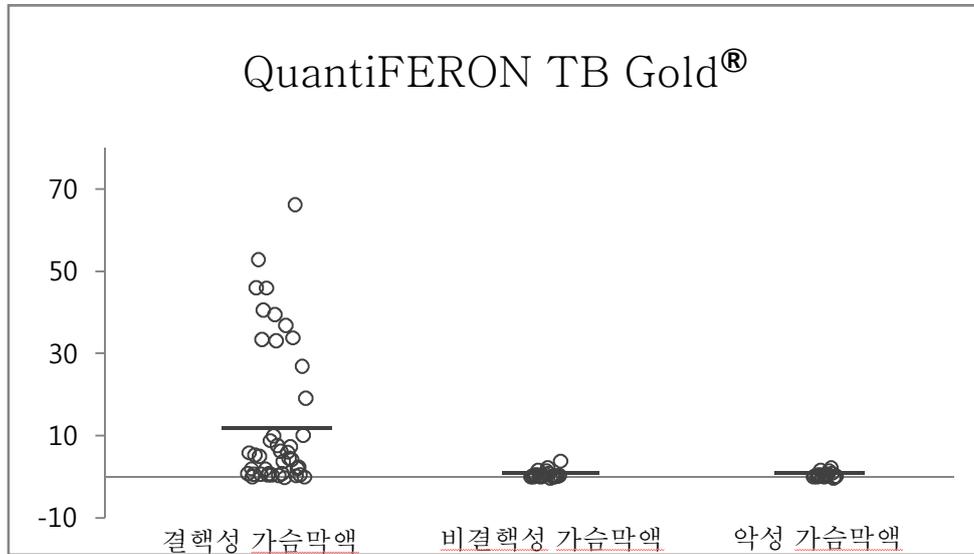
변수	결핵성 가슴막액 (n=48)	비 결핵성 삼출액 (n=89)	P 값
QuantiFERON TB Gold® ¹	12.65±17.56	0.80±1.76	P<0.001*

변수	결핵성 가슴막액 (n=48)	악성 가슴막액 (n=63)	P 값
QuantiFERON TB Gold® ¹	12.65±17.56	0.75±1.84	P<0.001*

*P<0.05

¹ 단위는 IU/mL 이고 그 값은 평균±표준편차로 나타냄.

그림 4. 단핵세포 우세 삼출액에서 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액에서 QuantiFERON TB Gold®의 측정값



4. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액에서의 QuantiFERON TB Gold®의 민감도, 특이도

QFT-Gold 는 결핵성 가슴막액과 비교에서 통계적 유의성을 보여 민감도와 특이도가 높게 유지되는 cutoff value 를 구하기 위하여 ROC 곡선을 이용하였다(그림 5). 비결핵성 가슴막액과의 비교에서 말초혈액에서 양성 판정기준으로 제시된 0.35 IU/mL 의 민감도는 83%, 특이도는 59.6%이었고 그 값을 3 IU/mL 로 설정하면 민감도 54%, 특이도 90%로 특이도를 증가시킬 수 있었고 ROC 곡선 아래 면적은 0.790 이었다. 악성 가슴막액에서도 유사한 결과를 보였으며 ROC 곡선 아래 면적은 0.783 이었다 (표 4).

그림 5. 단핵세포 우세 삼출액에서 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액 감별을 위한 QuantiFERON TB Gold® 의 ROC 곡선

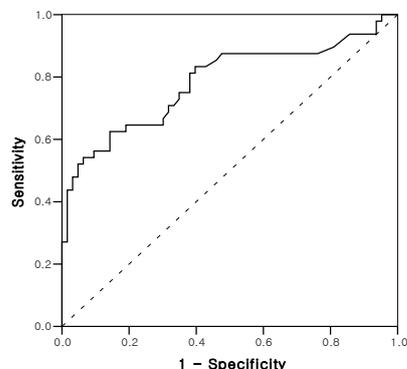
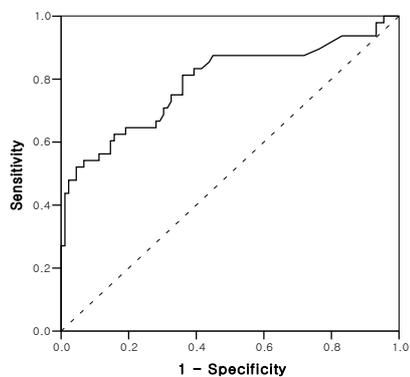


그림 5-2. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액

그림 5-3. 결핵성 가슴막액과 악성 가슴막액

표 4. 단핵세포 우세 삼출액에서 가슴막액의 QuantiFERON TB Gold® 를 이용한 결핵성 가슴막액의 감별력

변수	cutoff value (IU/mL)	비결핵성 가슴막액에 대한 결핵성 가슴막액의 감별력 (n=137)			
		sensitivity	specificity	AUC	P 값
	≥ 0.35	83	59.6		
	≥ 1	64	75.3		
	≥ 2	58.3	85.4	0.790	P<0.001*
	≥ 3	54	90		
Quanti- FERON TB Gold®	cutoff value (IU/mL)	악성 가슴막액에 대한 결핵성 가슴막액의 감별력 (n=111)			
		sensitivity	specificity	AUC	P 값
	≥ 0.35	83	58.7		
	≥ 1	64	77.8		
	≥ 2	58	85.7	0.783	P<0.001*
	≥ 3	54	90.5		

*P<0.05

5. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액 또는 악성 가슴막액 감별을 위한 ADA2 와 QuantiFERON TB Gold[®] 병용 시 민감도와 특이도

결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액을 감별하기 위한 cutoff value (ADA \geq 230 U/mL, QFT-Gold \geq 0.35 IU/mL)를 적용하여 ADA2 와 QFT-Gold 을 병용하면 민감도는 52.1%, 특이도는 100%를 보였다. 양성 예측도는 100%이었고, 음성 예측도는 79.5%이었다. 또한 악성 가슴막액과의 감별에서는 민감도 52.1%, 특이도 100%를 보였다. 양성 예측도는 100%이었고 음성 예측도는 73.3%이었다.

IV. 고찰

결핵성 가슴막액은 주로 가슴막 하 건락성 병변의 파열을 통해 가슴막 안으로 침범한 결핵균의 단백질 항원이 지연성 면역반응을 유발하여 생성된다고 알려져 있다. 지연성 과민반응은 림프구의 자극과 분화의 원인이 되고 이는 특정 림포카인을 생성하고 이 림포카인은 대식세포를 활성화시켜 항산균 억제 효과를 강화시킨다. 이런 이유로 결핵성 가슴막액에서는 주로 림프구가 증가되어 있고 가슴막액의 세포감별계수는 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액의 감별에 도움이 될 수 있다.^{11,12} 가슴막액 림프구/호중구 비가 0.75 이상을 결핵성 가슴막액의 진단 기준으로 함께 고려했을 때 특이도 97.5%로 증가하고 양성 우도비도 39.5 로 높게 나타남을 보고했다.¹³ 그러나 악성 가슴막액의 경우에도 림프구가 주세포이며 가슴막액에서 악성 세포가 발견되지 않을 경우 결핵성 가슴막액과의 감별이 어려운 경우가 있다. 그 외에도 단핵세포 우세 삼출액은 류마티스성 관절염이나 전신성 홍반성 루프스 같은 교원 혈관 질환에서도 발생할 수 있다.¹⁴ 또한 결핵균 유전체의 특정 genome 을 검출하는 PCR 은 결핵성 가슴막액에 대한 민감도가 20-81%이며 특이도는 78-100%로 알려져 있고 이론적으로 가장 특이도가 높지만 오염으로 인한 위 양성 가능성 있고, 위 음성율이 26%로 보고되기도 하였다.^{15,2} 이와 같이 결핵성 가슴막액과 악성 가슴막액을 감별하기 위한 여러 가지 보완적인 표지자에 대한 연구가 진행되고 있다. 이 중 본 연구에서는 가슴막액의 ADA2 동종 효소와 IGRA 를 결핵성 가슴막액을 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액과 감별하는 데 이용하고자 했다.

ADA 는 purine 대사과정 중 adenosine 을 inosine 으로 분화하는 과정을 촉매하는 효소로 세포 내 미생물 감염 시 증가한다.¹⁶ ADA 는 1978 년 Later,

Piras¹⁷ 등에 의해 처음으로 결핵성 가슴막액의 진단에 이용되었다. ADA 는 ADA1, ADA1+cp, ADA2 의 여러 동종 효소가 있으며 주 효소는 ADA1, ADA2 로 다른 유전자 자리에서 코드화 되고 서로 다른 pH, Michaelis 상수, 기질 특이성을 보인다. Guisti 와 Galanti¹⁸ 이 발표한 비색법(colorimetric method)을 통한 총 ADA 측정의 특징은 다른 방법에 비해 비용이 절감되고 기술적 편이성이 있으며 이 방법을 통한 결핵성 가슴막액의 민감도와 특이도는 91~100%와 81~94%이었으며 양성 예측치과 음성 예측치는 84~93%와 89~100% 로 알려져 있고 진단적 cutoff value 는 40~60 U/L 로 다양하게 보고하고 있다.^{10,19,20} 가슴막액의 ADA 의 음성 예측치가 높아 결핵이 원인이 되는 가슴막액을 배제하는 데 도움이 될 수 있지만 결핵의 유병률이 낮은 지역에서는 위양성 결과를 나타낼 가능성이 높고 이는 불필요한 결핵 치료를 하거나 악성 질환과 같은 다른 진단을 위한 기회를 놓칠 수 있다. 또한 ADA 는 폐렴, 가슴 고름집, 림프종, 악성질환, 전신성 홍반성 루프스에서 높게 나타날 수 있다. 이에 반해 1992 년 Ungerer 등에 의해 밝혀진 ADA2 동종 효소는 대식세포와 단핵구에서 활성을 갖는다고 알려져 있다.²¹ 결핵성 가슴막액의 진단기준으로 ADA2/ADA 비를 50% 이상으로 했을 때 부폐렴성 가슴막액과 감별하는 민감도, 특이도, 양성 예측도, 음성 예측도는 각각 68%, 93%, 94%, 62%로 보고했다.²² 본 연구도 ADA2/ADA 비를 0.65 로 상향하여 분석했을 때 민감도가 각각 75%, 77% 로 증가하는 것을 확인하였다. 그러나 Vades 등은 높은 ADA2/ADA 비는 결핵과 가슴 고름집, 부폐렴성 가슴막액과의 감별에는 도움이 되나 악성 삼출액과 감별에는 도움이 되지 않는다고 발표했는데, 악성 삼출액에서 ADA2 와 ADA2/ADA 비가 높은 이유는 단정 지을 수 없으나 특정 악성질환에서 혈청 총 ADA 활성도가 증가되어 있고²³ 정상인의 혈청에서

대부분의 ADA 의 활성도는 ADA2 가 차지하고 있는데(70:30) 이는 ADA2 가 단핵구에서 활발하게 분비되거나 ADA1 보다는 혈청 내 ADA2 가 수명이 더 길기 때문이 아닌가 생각하고 있다.²¹ 또한 알려진 바와 같이 악성 삼출액에서 모세혈관의 투과도가 증가 하는 것으로 인해 가슴막 공간으로 ADA2 통과를 촉진되어 생기는 것으로 추측해 볼 수 있다.²⁴ 본 연구에서도 단핵세포가 우세한 삼출액을 보인 환자를 대상으로 분석한 경우에는 악성 가슴막액과의 통계학적 유의성을 보여 주지 못했다. 그러나 ADA 활성도 20 U/L 이상의 환자를 분석하면 통계학적 유의성을 보여주어 임상에서 감별이 어려운 ADA 증가 환자 군에서 ADA2 동종효소의 활성도 증가가 결핵성 가슴막액을 좀 더 시사하는 소견이라 할 수 있겠다.

ADA2 는 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액을 감별하는 데 우수하지만 악성 가슴막액과 감별에는 어려움이 있다. 이에 반해 IFN- γ 는 항원 자극에 대한 반응으로 T 림프구에서 분비되는 lymphokine 으로 결핵성 가슴막액에서 증가되어 있다. 결핵균의 침입에 대한 면역반응에서는 IFN- γ 을 주로 분비하는 Th1 세포에 의한 면역 반응이 중요한 역할을 하고, Th1 세포에 의한 면역 반응이 거의 일어나지 않는 악성 가슴막액에서는 IFN- γ 가 거의 측정되지 않기 때문에 이 차이를 이용하면 두 질환 감별에 도움을 얻을 수 있다.²⁵

잠복 결핵 진단을 위해 개발된 IGRA 는 *Mycobacterium tuberculosis* 에 노출된 기억 T 세포가 mycobacteria 항원에 재 노출되면 지연성 과민 반응으로 IFN- γ 을 생성하는 것을 원리로 한다. ESAT-6 와 CFP-10 을 포함한 RD-1 항원을 이용하며 이 항원들은 비정형 항상성 결핵균에 의해서는 표현되지 않고 *Mycobacterium bovis* 의 백신용 유전자 주에도 포함되지 않아 BCG 접종 환자 와 같이 tuberculin skin test(TST)에서 위 양성을 나타낼 수 있는 상태와

감별할 수 있다. IGRA 의 측정은 FDA (Food and Drug Administration)에서 승인된 QFT-Gold 와 T-spot.TB 를 이용하고 있다. QFT-Gold 는 전혈을 사용하여 ESAT-6, CFP-10 그리고 TB7.7 항원에 대한 T 세포의 IFN- γ 생성 양을 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay)로 측정한다. T-spot.TB 는 말초 혈액의 단핵세포를 이용하여 ESAT-6, CFP-10 에 대한 IFN- γ 생성 세포의 수를 ELISPOT (enzyme linked immunosorbent spot)으로 측정한다. IGRA 가 잠복 결핵 진단에는 우수한 특이성을 보이지만 활동성 결핵을 진단하는 역할은 아직 명확하지 않으며 결핵의 치료 중에도 양성 결과는 변하지 않는다.²⁶ 그리고 고령이나 결핵과 HIV 중복 감염인 경우, 영양불량, 항암 치료, 진행된 결핵 에서는 위 음성 결과나 불확정 결과를 보일 수 있다.²⁷ Baba 등은 HIV 감염 환자를 대상으로 한 연구에서 혈액 검사에서는 25%, 가슴막맥에서는 52%의 불확정 결과(indeterminate, low positive mitogen control)를 보고했다.²⁸ 본 연구에서는 31.5%에서 불확정 결과를 보였다. 불확정 결과는 대부분 림프구의 기능저하 또는 감소로 INF- γ 을 충분히 생성하지 못하거나 미숙한 검체 처리 때문에 나타날 수 있고, 결핵의 유병률이 높은 지역에서는 음성 대조군의 높은 반응률로 인해 불확정 또는 음성 결과가 많이 나타날 수 있다는 보고도 있다.²⁹ QFT Gold 를 전 환자를 대상으로 일반화하기는 어렵지만 BCG 백신 접종에 영향 받지 않고 활동성 결핵 환자에서 TST 보다 더 많은 양성 결과를 보여 주는 보고가 있어³⁰ 우리나라와 같이 중등도의 유병률을 보이고 BCG 백신 접종률이 높고 잠복 결핵보다는 활동성 결핵 관리에 심혈을 기울이는 지역에서는 임상에서 이용해 볼 수 있겠다. 한국인을 대상으로 한 연구에서 IGRA 의 활동성 결핵 진단 민감도는 70~90%, 특이도는 50~85%로 보고되었다.³¹ 결핵성 가슴막액에서 혈액에서 보다 높은 농도의 T 림프구는 보이는 것은 활동성 결핵 감염이 있는

부위로 항원 특이성 작동 림프구와 기억 T 세포가 이동하는 현상을 뒷받침하며 이를 근거로 활동성 결핵 있는 체액에서 IGRA 를 검사하는 시도가 시행되고 있다.^{32,33} 활동성 폐 외 결핵 진단을 위한 IGRA 의 진단적 정확도에 대한 자료는 아직 제한적이며 소규모 자료가 보고되고 있는데, ELISPOT 을 기본으로 하는 연구에서 민감도는 96-100%까지 보고하고 있으며^{34,35} ELISA 를 이용한 방법은 14-92%까지 다양하게 보고하고 있다.^{36,37} 가슴막염, 복막염, 뇌수막염, 심막염등의 활동성 결핵성 장막염이 있는 환자에서 공동 내 체액에서 측정된 IGRA 결과는 비 결핵군에 비해 의미 있게 높았으며(민감도 96.4%, 특이도 97.8%) 공동 내 체액 IGRA 의 ROC 곡선 아래 면적은 전혈의 IGRA (민감도 77.8%, 특이도 70.2%)와 공동 내 체액에서 측정된 ADA 보다 의미 있게 컸다.³⁸ 본 연구에서는 민감도 88%, 특이도 59%로 민감도는 높고 특이도는 낮은 결과를 보였다. 이는 우리나라와 같이 결핵의 유병률이 높은 국가는 잠복 결핵의 유병률 또한 높기 때문일 것으로 생각된다. IGRA 를 가슴막액에서 임상적으로 사용하기 위해서는 여러 가지 해결되어야 할 문제가 있는데 현재 사용하고 있는 IGRA 는 말초 혈액을 이용하도록 고안된 것으로 가슴막액을 이용한 자료는 입증된 것이 없어 대규모의 전향적 연구를 통해 최적의 검사를 위한 가슴막액의 양, 가슴막액의 세포 수, 항원의 농도제시가 필요하며, 가슴막액에서의 IGRA 의 cutoff value 가 대규모의 비교연구에서 확정되어야 할 것이다.^{29,39} 결핵의 유병률이 높은 지역에서는 잠복 결핵과 활동성 결핵 감별을 위한 새로운 항원이나 표지자에 대한 연구가 더 필요 할 것으로 생각되지만 현재 IGRA 는 여러 연구가 진행되고 결과가 보고되고 있어 결핵성 가슴막액을 감별하는 보완적이며 빠른 진단법으로 사용해 볼 수 있을 것이다.

IFN- γ 와 ADA 를 병용했을 때 결핵성 가슴막액의 진단에 있어 각각의 특이도보다 높은 83.8%를 보였고, IFN- γ 와 PCR 을 병용한 경우에는 거의 100%의 특이도를 보였다.² 본 연구에서는 결핵에 좀더 특이적인 ADA2 와 IGRA 를 병용하였고 양성 예측도와 특이도를 거의 100%까지 증가 시킬 수 있어 두 가지 표지자를 병용하면 결핵성 가슴막액의 감별에 도움이 될 것이다.

V. 결론

본 연구는 단핵세포 우세 삼출액을 감별하는데 있어서 결핵성 가슴막액을 감별하기 위한 표지자로 이미 연구가 많이 된 ADA 외에 결핵성 가슴막액에 좀더 특이적인 ADA2 동종 효소 활성도와 ADA/ADA2 비, QFT-Gold 를 가슴막액에서 측정하였다. 비결핵성 가슴막액이나 악성 가슴막액에 비해 결핵성 가슴막액에서 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비와 QFT-Gold 가 통계적으로 유의하게 증가되어 있었으며 비결핵성 가슴막액과 비교 시 가슴막액의 ADA 값이 40 U/L 이상일 때 민감도는 80%, 특이도는 88%이며 ADA2 값의 cutoff value 가 30 U/L 이상 일 때는 민감도는 76%, 특이도는 99%이었다. ADA2/ADA 비가 0.65 일 때 민감도는 75%, 특이도는 60%이었다. 악성 가슴막액과 비교 시에는 ADA 의 민감도는 78%, 특이도는 98.6% 이었으며 ADA2 의 민감도는 76%, 특이도는 100%이었다. ADA2/ADA 비의 민감도는 77.6%였고 특이도는 58.6% 이었다. QFT-Gold 의 cutoff value 가 0.35 IU/ml 일 때 민감도는 83%, 특이도는 59.6%였으며 악성 가슴막액으로 범위를 줄여 분석해 보면 민감도 83%, 특이도 58.7%이었다. 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액의 비교에서 ADA2 와 QFT-Gold 를 병용하면 민감도는 52.1%, 특이도는 100%를 보였다. 양성 예측도 역시 100%였다. 음성 예측도는 79.5% 이었다. 또한 악성 가슴막액과의 감별에서는 민감도 52.1%, 특이도는 역시 100%를 보였다. 양성 예측도 역시 100%였다. 음성 예측도는 73.3%이었다. 이상의 결과를 통하여 가슴막액의 ADA, ADA2, ADA2/ADA 비, QFT-Gold 는 단핵세포 우세 삼출액에서 결핵성 가슴막액과 비결핵성 가슴막액, 악성 가슴막액을 감별하는 데 보완적인 표지자로서 유용하며 병용 사용 시에는 특히 유용할 것으로 생각된다.

VI. 참고문헌

1. Fauci AS. Harrison s principle of internal medicine (New York: Mc Grow Hill, 2008), 1011,
2. Villegas MV, Labrada LA, Saravia NG. Evaluation of polymerase chain reaction, adenosine deaminase, and interferon-gamma in pleural fluid for the differential diagnosis of pleural tuberculosis. Chest 2000; 118:1355-64.
3. Seibert AF, Haynes J Jr, Middleton R, Bass JB Jr. Tuberculous pleural effusion. Twenty-year experience. Chest 1991; 99:883-6.
4. Ocana I, Martinez-Vazquez JM, Segura RM, Fernandez-de-sevilla T, Capdevila JA. Adenosine deaminase in pleural fluids: test for diagnosis of tuberculous pleural effusion. Chest 1983; 84:51-3.
5. Ungerer JP, Oosthuizen HM, Retief JH, Bissbort SH. Significance of adenosine deaminase activity and its isoenzymes in tuberculous effusions. Chest 1994; 106:33-7.
6. Ravn P, Munk ME, Andersen AB, Lundgren B, Lundgren JD, Nielsen LN, et al. Prospective evaluation of a whole-blood test using *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigens ESAT-6 and CFP-10 for diagnosis of active tuberculosis. Clin Diagn Lab Immunol 2005; 12:491-6.

7. Mori T, Sakatani M, Yamagishi F, Takashima T, Kawabe Y, Nagao K, et al. Specific detection of tuberculosis infection: an interferon-gamma-based assay using new antigens. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170:59-64.
8. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170:65-9.
9. Light RW, Macgregor MI, Luchsinger PC, Ball WC Jr. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med* 1972; 77:507-13.
10. Ungerer JP, Oosthuizen HM, Retief JH, Bissbort SH. Significance of adenosine deaminase activity and its isoenzymes in tuberculous effusions. *Chest* 1994; 106:33-7.
11. Leibowitz S, Kennedy L, Lessof MH. The tuberculin reaction in the pleural cavity and its suppression by antilymphocyte serum. *Br J Exp Pathol* 1973; 54:152-62.

12. Yamamoto S, Dunn CJ, Willoughby DA. Studies on delayed hypersensitivity pleural exudates in guinea-pigs. II. The interrelationship of monocytic and lymphocytic cells with respect to migration activity. *Immunology* 1976; 30:513-9.
13. Kim CH, Mo EK, Park SH, Hwang YI, Jang SH, Park YB. et al. Usefulness of the pleural fluid adenosine deaminase with lymphocyte/neutrophil ratio in the diagnosis of tuberculous pleurisy for a region of intermediate prevalence of tuberculosis. *Tuberc Respir Dis* 2009; 66:437-43.
14. Ocaña I, Martínez-Vázquez JM, Ribera E. Pleural fluid adenosine deaminase in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Chest* 1984; 86:273-4.
15. Ferrer J. Pleural tuberculosis. *Eur Respir J* 1997; 10:942-7.
16. Seto S, Carrera CJ, Wasson DB, Carson DA. Inhibition of DNA repair by deoxyadenosine in resting human lymphocytes. *J Immunol* 1986; 136(8):2839-43.

17. Piras MA, Gakis C, Budroni M, Andreoni G. Adenosine deaminase activity in pleural effusions: an aid to differential diagnosis. *Br Med J* 1978; 2:1751–2.
18. Giusti G, Galanti B. Colometric method. In: Bergemeyer HU, ed. *Methods of enzymetic analysis*. 3rd ed. Berlin, Germany: Verlag Chemie, Weinheim 1984; 315–23.
19. Valdés L, San José E, Alvarez D, Sarandeses A, Pose A, Chomón B, et al. Diagnosis of tuberculous pleurisy using the biologic parameters adenosine deaminase, lysozyme, and interferon gamma. *Chest* 1993; 103:458–65.
20. Burgess LJ, Maritz FJ, Le Roux I, Taljaard JJ. Combined use of pleural adenosine deaminase with lymphocyte/neutrophil ratio. Increased specificity for the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Chest* 1996; 109:414–9.
21. Ungerer JP, Oosthuizen HM, Bissbort SH, Vermaak WJ. Serum adenosine deaminase: isoenzymes and diagnostic application. *Clin Chem* 1992; 38:1322–6.

22. Kim KY, Kweon SH, Park JS, Jee YK, Lee KY, Kim YS, et al. Diagnostic Value of Adenosine Deaminase(ADA) and its Isoenzyme in Pleural Effusion. *Tuberc Respir Dis* 1998; 45:288–96.
23. Koehler LH, Benz EJ. Serum adenosine deaminase: methodology and clinical applications. *Clin Chem* 1962; 8:133–40.
24. Valdés L, San José E, Alvarez D, Valle JM. Adenosine deaminase (ADA) isoenzyme analysis in pleural effusions: diagnostic role, and relevance to the origin of increased ADA in tuberculous pleurisy. *Eur Respir J* 1996; 9:747–51.
25. Kim MS, Yang SE, Chi HS, Kim WS, Kim WD. The Usefulness of pleural IFN- γ level in differential diagnosis of tuberculous pleural effusion and malignant pleural effusion. *Tuberc Respir Dis* 1998; 45:280–9.
26. Ulrichs T, Anding R, Kaufmann SH, Munk ME. Numbers of IFN-gamma-producing cells against ESAT-6 increase in tuberculosis patients during chemotherapy. *Int J Tuberc Lung Dis* 2000; 4:1181–3.

27. Ferrara G, Losi M, D'Amico R, Roversi P, Piro R, Meacci M, et al. Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*: a prospective study. *Lancet* 2006; 367:1328–34.
28. Baba K, Sørnes S, Hoosen AA, Lekabe JM, Mpe MJ, Langeland N, Dyrhol–Riise AM. Evaluation of immune responses in HIV infected patients with pleural tuberculosis by the QuantiFERON TB–Gold interferon–gamma assay. *BMC Infect Dis* 2008; 8:35.
29. Joshi R, Pai M. Can pleural tuberculosis be diagnosed using interferon–gamma release assays? *Respiration* 2008; 76:128–30.
30. Ferrara G, Losi M, Meacci M, Meccugni B, Piro R, Roversi P, et al. Routine hospital use of a new commercial whole blood interferon–gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2005; 172:631–5.
31. Kang YA, Lee HW, Hwang SS, Um SW, Han SK, Shim YS, et al. Usefulness of whole–blood interferon–gamma assay and interferon–gamma

enzyme-linked immunospot assay in the diagnosis of active pulmonary tuberculosis. *Chest* 2007; 132:959–65.

32. Barnes PF, Lu S, Abrams JS, Wang E, Yamamura M, Modlin RL. Cytokine production at the site of disease in human tuberculosis. *Infect Immun* 1993; 61:3482–9.

33. Okamoto M, Hasegawa Y, Hara T, Hashimoto N, Imaizumi K, Shimokata K, et al. T-helper type 1/T-helper type 2 balance in malignant pleural effusions compared to tuberculous pleural effusions. *Chest* 2005; 128:4030–5.

34. Lalvani A, Pathan AA, McShane H, Wilkinson RJ, Latif M, Conlon CP, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163:824–8.

35. Meier T, Eulenbruch HP, Wrighton-Smith P, Enders G, Regnath T. Sensitivity of a new commercial enzyme-linked immunospot assay (T

SPOT-TB) for diagnosis of tuberculosis in clinical practice. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005; 24:529-36.

36. Munk ME, Arend SM, Brock I, Ottenhoff TH, Andersen P. Use of ESAT-6 and CFP-10 antigens for diagnosis of extrapulmonary tuberculosis. J Infect Dis 2001; 183:175-6.

37. Dewan PK, Grinsdale J, Kawamura LM. Low sensitivity of a whole-blood interferon-gamma release assay for detection of active tuberculosis. Clin Infect Dis 2007; 44:69-73.

38. Ariga H, Harada N. Evolution of IGRA researches. Kekkaku 2008; 83:641-52.

39. Dheda K, van Zyl-Smit RN, Sechi LA, Badri M, Meldau R, Meldau S, et al. Utility of quantitative T-cell responses versus unstimulated interferon- γ for the diagnosis of pleural tuberculosis. Eur Respir J 2009; 34:1118-26.

Abstract

Diagnostic value of adenosine deaminase 2 isoenzyme and interferon- γ release assay (IGRA) in differentiation of pleural effusions

Shun Nyung Lee

Department of Medicine
The Graduate school, Yonsei University
(Directed by Professor Suk Joong Yong)

For differentiation of monocytic exudate, conventional tests are not always helpful. The immune responses in tuberculosis is mediated by activated T lymphocyte that release cytokine such as Interferon (IFN)- γ . *Mycobacterium tuberculosis* specific antigens, ESAT-6 and CFP-10, induce IFN- γ . Adenosine deaminase (ADA)'s main role is proliferation and differentiation of lymphocyte. Many studies have been investigated the usefulness of ADA, IFN- γ in pleural fluid for diagnosis of tuberculous pleural effusion(TPE). Currently available IFN- γ release assay (IGRA), QuantiFERON[®]-TB Gold (QFT-Gold) may improve the diagnostic accuracy for tuberculosis infection. But, the diagnostic utility of QFT-Gold in pleural effusion has not been evaluated so much. The aim of this study was to

evaluate the diagnostic value of ADA, ADA2 activity and QFT-Gold in pleural fluid and diagnostic feasibility of combination of ADA2 with QFT-Gold.

We reviewed the medical records of 457 patients with pleural effusion. The pleural effusions were classified as transudates (TR, n=156), exudates (EX, n=295). Exudates were divided into tuberculous (TPE, n=107), malignant (ME, n=72), and parapneumonic effusions (PNE, n=92). Also the cases were designated as TPE or nontuberculous monocytic exudate (NTME, n=102). ADA was measured by Auto Analyzer (TBA-200FR, TOSHIBA, Japan). ADA2 was measured with same method using EHNA. QFT-Gold was measured released IFN- γ using ELISA. We analyzed with the Student t-test to compare of variables and ROC curve to get the sensitivity and specificity of the diagnostic test.

Pleural ADA in TPE (82.60 ± 60.19 U/L) are significantly higher than in NTME (29.48 ± 16.55 U/L, $P<0.001$) and ME (27.76 ± 11.87 U/L, $P<0.001$). Pleural ADA2 in TPE (54.50 ± 23.08 U/L) are significantly higher than in NTME (17.65 ± 9.11 U/L, $P<0.001$), and ME (16.21 ± 4.26 U/L, $P<0.01$). After excluding indeterminate results, the pleural QFT-Gold in TPE (12.65 ± 17.56 IU/mL) are significantly higher than in NTME (0.80 ± 1.76 IU/mL, $P<0.001$) and ME (0.75 ± 1.84 IU/mL, $P<0.001$). The specificities of ADA, ADA2, and QFT-Gold for TPE were 88%, 99% and 59.6% at the cutoff value of 40 U/L, 30 U/L, and 0.35 IU/mL. For differentiation of TPE from ME, the specificities of ADA, ADA2, QFT-Gold

for TPE were 98.6, 100 and 58.7% at the same cutoff value. The specificity for TPE was 100% with the combination of ADA2 and QFT–Gold.

The measurement of ADA, ADA2 activity and QFT–Gold Gold in pleural effusion is helpful in differentiation between TPE and NTME. Especially, these biomarkers will be useful in discrimination between TPE and ME. The combination of ADA2 and QFT–Gold allowed the increase of specificity.

Key words: Adenosine deaminase, QuantiFERON TB Gold, Pleural effusion, Tuberculosis, Malignancy