

아급성 괴사성 림프절 염에서 결핵균 및 비결핵성 미코박테륨에 대한 연구

이화여자대학교 의과대학 병리학교실
조민선·한운섭

= Abstract =

Study of *M. Tuberculosis* and Non-Tuberculous Mycobacterium in Subacute Necrotizing Lymphadenitis Using Multiplex PCR

Min-Sun Cho · Woon Sup Han

Department of Pathology, College of Medicine, Ewha Womans University

Objectives : Subacute necrotizing lymphadenitis is a self-limiting disorder that typically affects cervical lymph nodes of young women. Although autoimmune reaction and a viral etiology have been suggested, the definite cause has been uncertain. We evaluated the association of *M. tuberculosis* and non-tuberculous mycobacterium with this disorder.

Materials and Methods : From 1994 to 2002, Clinicopathological findings of 38 cases were reviewed. Multiplex nested PCR was done using DNA extracted from paraffin-embedded tissue. Sequencing analysis was done to the cases showing positive band.

Results : 3 cases among 38 (7.89%) showed amplified non-tuberculous mycobacterium DNA. Two cases are *M. gordonae* and one is *M. fortuitum* by sequencing analysis. All cases revealed no positive band for *M. tuberculosis*. Negative control cases showed no bands for both mycobacteriums.

Conclusion : Although 7.89% of cases showed amplified non-tuberculous mycobacterium DNA, more study is needed to confirm the association of non-tuberculous mycobacterium with subacute necrotizing lymphadenitis.

KEY WORDS : Subacute necrotizing lymphadenitis · Tuberculosis · Nontuberculous mycobacterium · Multiplex PCR.

서론

아급성 괴사성 림프절염은 주로 젊은 여성에서 발열이나 피로감, 피부발진 등의 전신증상과 함께 경부 림프절이 압통과 함께 커지고 후에 자연 치유되는 것을 특징으

로 하는 질환이다. 한국, 일본, 중국 등의 동아시아에서 주로 발생하는 지역적인 특성을 가진다¹⁻³⁾. 발생 원인에 대한 많은 연구가 있었으나 아직 확실히 밝혀지지 않은 상태이며, 이제까지 *Yersinia*⁴⁾, *Toxoplasma*⁵⁾, parvovirus B19⁶⁾, Epstein-Barr virus (EBV)⁶⁻⁹⁾, herpes simplex virus, cytomegalovirus (CMV)⁷⁾, human her-

pesvirus 6(HHV 6)¹⁰⁾, human herpesvirus 8(HHV 8)¹¹⁾ 등의 감염 가능성에 대해 연구가 이루어 졌으나 확실히 알려진 바는 없다.

최근 M. szulgai와 연관되어 발생한 아급성 괴사성 림프절염 예에 대한 보고가 있는 바¹²⁾, 저자들은 결핵균과 비결핵성 미코박테륨에 대해 multiplex nested PCR 방법을 이용하여 양성률을 검사하였다.

대상 및 방법

연구 대상은 1994년부터 2002년까지 이화여자대학교 목동병원에서 아급성 괴사성 림프절염으로 진단된 38예를 대상으로 하였다. 성별은 남자 5명, 여자 33명이었고 연령분포는 9세에서 67세였다. 경부 림프절이 37예로 대부분을 차지하였고, 1예는 서혜부 림프절이었다. 음성 대조군으로 6예의 반응성 증식이 있는 림프절을 포함하였다. 병리조직학적 소견은 림프조직구기(lymphohistiocytic stage), 탐식기(phagocytic stage), 괴사기(necrotic stage) 및 황색종양기(xanthomatous stage)의 4단계로 분류하였다.

연구 방법은 파라핀 포매 조직으로부터 추출한 DNA를 이용하여 결핵균 및 비결핵성 미코박테륨을 동시에 검사할 수 있는 multiplex nested PCR을 시행하였다. DNA의 추출 및 PCR은 상업적으로 이용할 수 있는 kit (NTM & MTB PCR kit, Neodin, Seoul, Korea)을 이용하였다. 파라핀 포매 조직을 블록의 크기가 작은 경우는 8µm의 두께로 5~6장, 블록의 크기가 큰 경우는 7µm 두께로 3~4장 박절하여 1.5ml 튜브에 담아 권장하는 방법에 따라 중류수를 이용하여 파라핀을 제거한 후, 파라핀을 제거한 조직에 DNA 추출액 50µl를 첨가하여 잘 섞고 100℃에서 10분간 가열한 후, 12000rpm으로 1분간 원심 분리하여 resin을 가라앉히고 상층의 액체 부분만을 nested PCR에 이용하였다. 첫번째 PCR 혼합액 15.5µl에 DNA를 4.5µl(총량 20µl)를 넣고 95℃에서 5분간 변성시킨 후 94℃ 30초, 68℃ 30초, 72℃ 30초로 35회 반응시키고 72℃에서 5분 연장하였다. 두번째 PCR 혼합액 18.5µl에 첫번째 PCR 산물 1.5µl를 넣고 95℃에서 5분간 변성시킨 후 94℃ 30초, 65℃ 30초, 72℃ 30초로 35회 반응시킨 다음 72℃에서 5분 연장하였다. 2% agarose gel에서 전기 영동하여 양성 띠를 확인하였다. 매회 검사할 때마다 kit에서 제공하는

양성 대조군과 음성 대조군을 병용 검사하였다. 비결핵성 미코박테륨은 이차 PCR 산물의 크기가 498염기쌍이고 결핵균은 이차 PCR산물이 498 염기쌍 및 134 염기쌍으로 두 밴드를 보이는 경우로 하였다(Fig. 1). 비결핵성 미코박테륨에 해당하는 양성 밴드를 보인 예에 대하여 염기서열검사법(Sequencing)으로 미코박테륨의 종을 확인하였다.

결 과

1. 임상 및 병리조직학적 소견

환자는 남녀 비가 6.6대 1로 여자에게 주로 발생하였고 평균 나이는 30.0세였다. 27명(71%)의 환자가 35세 이하였다. 37명의 환자가 경부림프절에서 발생하였고 일측 또는 양측에서, 하나 또는 여러 개의 림프절이 커져 있었다. 17명의 환자에서는 림프절의 증대와 함께 압통이 동반되었다. 전신증상 중에서 발열은 15명(45.5%), 피로감 6명(15.7%)에서 있었고 검사실소견 중 적혈구 침강속도는 21명의 환자에서 검사했는데 이 중 15명(71.4%)가 증가되어 있었다. 백혈구 수는 34명의 환자에서 검사했는데 이 중 백혈구감소증은 21명(61.8%), 백혈구 증가증은 1명(2.9%)에서 보였다. 3명의 환자는 과거 결핵으로 치료 받고 완치된 과거력이 있었다. 1명의 환자는 4년 전 아급성 괴사성 림프절염에 이환된 과거력이 있었다.

병리조직학적으로는 16명(42.1%)은 림프조직구기(lymphohistiocytic stage), 11명(28.9%)은 탐식기(phagocytic stage), 8명(21.1%)은 괴사기(necrotic stage), 3명(7.89%)은 황색종양기(xanthomatous stage)였다.

2. 결핵균 및 비결핵성 미코박테륨에 대한 PCR 결과

전체 38예의 아급성 괴사성 림프절염 중 3예(7.89%)

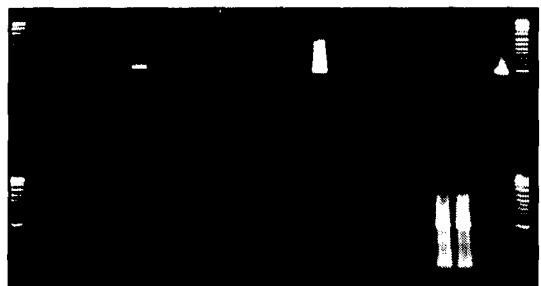


Fig. 1. 3 cases show positive band in a size of 498 base pairs on 2% agarose electrophoresis.

에서 비결핵성 미코박테륨에 양성인 밴드를 보였다(Fig. 1). 결핵균에 대해서는 모두 음성이었다. 음성 대조군인 5예의 반응성 증식을 보인 림프절 조직은 모두 음성이었다. 비결핵성 미코박테륨에 양성인 예에 대해 유전자 염기서열 분석(Sequencing)을 시행한 결과 2예는 *M. gordonae*였고 1예는 *M. fortuitum*이었다.

병리학적 소견과 비교해 보았을 때 *M. gordonae* 양성인 2예 중 1예는 과사기, 1예는 탐식기였고, *M. fortuitum*에 양성인 1예는 림프조직구기였다.

고 찰

아급성 과사성 림프절염의 원인에 대해 여러 의견이 있으나 아직 확실히 밝혀지지 않은 실정이다. 전신 홍반성 루프스에서 보이는 림프절염과 비슷한 소견을 보이고 발열, 피부발진 등의 자가면역질환과 유사한 전신증상이 동반된다는 점에서 자가면역질환일 가능성을 추측하나 확실치 않다¹³⁾¹⁴⁾. 생검한 림프절 조직이 주로 T 세포, 특히 세포독성 T 세포의 증식, 세포 자멸사, 세포 잔여물을 탐식한 탐식조직구가 침윤하는 소견을 보여주고, 임상 소견상 자연 치유하는 특징을 보여주어 바이러스 감염의 가능성을 가장 의심해 왔다. 그러나 EBV, parvovirus B19, human herpesvirus 6, human herpesvirus 8, cytomegalovirus 등에 대한 연구에서 확실한 상관관계를 얻지 못한 상황이다⁶⁻¹¹⁾.

최근 *M. szulgai*와 연관되어 발생한 아급성 과사성 림프절염에 대한 중례 보고가 있고¹²⁾, 또한 아급성 과사성 림프절염에서 중국에는 림프절에 심한 과사가 발생한다는 점에서 본 연구자는 과사성 림프절 질환을 유발할 수 있는 원인 균인 결핵성 및 비결핵성 미코박테륨과 아급성 과사성 림프절염과의 연관성에 대해 연구하였다. 38명의 아급성 과사성 림프절염 환자의 약 7.89%에서 비결핵성 미코박테륨에 양성되었고 이 중 2예는 *M. gordonae* 이었고 1예는 *M. fortuitum* 이었다. 음성 대조군으로 시행한 6예의 반응성 림프절증식에서는 모두 음성의 결과를 얻었다.

비결핵성 미코박테륨은 물, 토양 등의 자연 환경에 널리 분포하는 균의 하나로서 대부분 항암화학요법이나 후천성 면역 결핍증과 같은 면역억제 또는 결핍환자에서 감염을 일으키고 정상인에서는 드물게 감염을 유발한다. 비결핵성 미코박테륨 중에 *M. avium*/*M. intracellulare*

complex, *M. kansasii*, *M. gordonae* 등이 대부분을 차지하고 임상적으로 의미있는 질환을 일으킨다고 알려져 있다. 이들은 주로 폐렴, 림프절염, 궤양성 피부병변, 연부조직농양, 면역억제환자에서 폐렴증 등의 질환을 유발하는 것으로 알려져 있다. 비결핵성 미코박테륨은 널리 분포하고 있는 균이며 불완전하게 소독된 물 등을 통해 병원 내 감염을 유발할 수 있다. 때로는 환자로부터 검체를 얻는 동안 또는 검사실내에서 검체를 처리하는 과정 중에 오염되어 위양성을 보일 수 있다¹⁵⁻¹⁷⁾. 따라서 본 연구에서 아급성 과사성 림프절염 38예 중 3예가 비결핵성 미코박테륨에 대해 양성 반응을 보였으나 원인균이라고 단정하기는 어렵다고 본다. 그러나 음성 대조군은 모두 음성 결과를 보여주어 관련이 있음을 시사한다고 볼 수 있다. 그러나 결론을 내리려면 더 많은 예가 양성을 보여야 한다고 생각한다.

요 약

목 적 :

아급성 과사성 림프절염의 원인으로 결핵균 및 비결핵성 미코박테륨의 가능성에 대해 알아보고자 하였다.

대상 및 방법 :

1994년부터 2002년까지 아급성 과사성 림프절염으로 진단된 38예를 대상으로 임상 및 병리조직학적인 소견을 검색하고, 파라핀 포매조직을 이용하여 결핵균 및 비결핵성 미코박테륨에 대해 multiplex nested PCR을 시행하고 양성인 예에 대해 유전자 염기서열분석을 시행하였다.

결 과 :

남녀 비가 6.6대 1 여자에게 주로 발생하였고 평균 나이는 30.0세였다. 37명의 환자가 경부림프절에서 발생하였다. 전체 38예 중 3예(7.89%)가 비결핵성 미코박테륨에 양성인 밴드를 보였고, 결핵균에 대해서는 모두 음성이었다. 음성 대조군은 결핵균 및 비결핵성 미코박테륨에 대해 모두 음성이었다. 유전자 염기서열 분석에서 2예는 *M. gordonae* 였고 1예는 *M. fortuitum* 이었다.

결 론 :

아급성 과사성 림프절염 38예 중 3예가 비결핵성 미코박테륨에 대해 양성 반응을 보였으나 확실한 연관성을 증명하기 위해서는 더 많은 예가 양성을 보여야 한다고 생각한다.

중심 단어 : 아급성 과사성 림프절염 · 결핵균 · 비결핵균
성 미코박테륨 · Multiplex nested PCR.

References

- 1) Kikuchi M : *Lymphadenitis showing focal reticulum cell hyperplasia with nuclear debris and phagocytes: a clinicopathological study*. *Nippon Ketsueki Gakkai Zassho* 1972 ; 35 : 379-380
- 2) Dorfman RF, Berry GJ : *Kikuchi's histiocytic necrotizing lymphadenitis: An analysis of 108 cases with emphasis on differential diagnosis*. *Semin Diagn Pathol* 1988 ; 5 : 329-345
- 3) Kuo TT : *Kikuchi's disease (histiocytic necrotizing lymphadenitis): A clinicopathologic study of 79 cases with an analysis of histologic subtypes, immunohistology, and DNA ploidy*. *Am J Surg Pathol* 1995 ; 19 : 798-809
- 4) Heikens J, Tel W, van de Stadt J, de Koning J, ten Napel CH : *Kikuchi's lymphadenitis: report of a Yersinia enterocolitica-associated case and an overview of aetiology and clinical outcome*. *Neth J Med* 1992 ; 141 : 222-228
- 5) Kikuchi M, Yoshizumi T, Nakamura H : *Necrotizing lymphadenitis: possible acute toxoplasmic infection*. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 1977 ; 376 : 247-253
- 6) Chiu CF, Chow KC, Lin TY, Tsai MH, Shih CM, Chen LM : *Virus infection in patients with histiocytic necrotizing lymphadenitis in Taiwan. Detection of Epstein-Barr virus, type 1 human T-cell lymphotropic virus, and parvovirus B19*. *Am J Clin Pathol* 2000 ; 113 : 774-781
- 7) Huh J, Chi HS, Kim SS, Gong G : *A study of the viral etiology of histiocytic necrotizing lymphadenitis (Kikuchi-Fujimoto disease)*. *J Korean Med Sci* 1998 ; 13 : 27-30
- 8) Cho KJ, Lee SS, Khang SK : *Histiocytic necrotizing lymphadenitis. A clinico-pathologic study of 45 cases with in situ hybridization for Epstein-Barr virus and hepatitis B virus*. *J Korean Med Sci* 1996 ; 11 : 409-414
- 9) Stephan JL, Jeannoel P, Chanoz J, Gentil-Perret A : *Epstein-Barr virus-associated Kikuchi disease in two children*. *J Pediatr Hematol Oncol* 2001 ; 23 : 240-243
- 10) Rodriguez JN, Aguayo DM, Elizalde J, Martino ML, Moreno MV, Lara C, et al : *Kikuchi-Fujimoto disease associated with acute infection by herpesvirus 6*. *Sangre (Barc)* 1996 ; 41 : 387-390
- 11) Huh J, Kang GH, Gong G, Kim SS, Ro JY, Kim CW : *Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in Kikuchi's disease*. *Hum Pathol* 1998 ; 29 : 1091-1096
- 12) Maek-a-nantawat W, Viriyavejakul P : *Mycobacterium szulgai lymphadenitis mimicking Kikuchi's disease in Thailand*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2001 ; 32 : 537-540
- 13) Biasi D, Caramaschi P, Carletto A, Residori C, Randon M, Friso S, et al : *Three clinical reports of Kikuchi's lymphadenitis combined with systemic lupus erythematosus*. *Clin Rheumatol* 1996 ; 15 : 81-83
- 14) Hu S, Kuo TT, Hong HS : *Lupus lymphadenitis simulating Kikuchi's lymphadenitis in patients with systemic lupus erythematosus: a clinicopathological analysis of six cases and review of the literature*. *Pathol Int* 2003 ; 53 : 221-226
- 15) Saiman L : *The mycobacteriology of non-tuberculous mycobacteria*. *Paediatr Respir Rev* 2004 ; 5 Suppl 1 : S221-223
- 16) Phillips MS, von Reyn CF : *Nosocomial infections due to nontuberculous mycobacteria*. *Clin Infect Dis* 2001 ; 33 : 1363-1374
- 17) Flint D, Mahadevan M, Barber C, Grayson D, Small R : *Cervical lymphadenitis due to non-tuberculous mycobacteria: surgical treatment and review*. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2000 ; 53 : 187-194