

## 급성 심근 경색 환자에 있어서 *Chlamydomphila pneumoniae* 검출

이원길, 권은희, 배혜경, 서장수, 송경은, 이난영, 원동일, 이정범\*

경북대학교 의과대학 임상병리학교실, 가정의학과교실\*

### Detection of *Chlamydomphila pneumoniae* in Acute Myocardial Infarction

Won-Kil Lee, Eun-Hee Kwon, Hye-Gyung Bae, Jang Soo Suh, Kyung Eun Song,  
Nan Young Lee, Dong Il Won, Jung Bum Lee\*

Department of Clinical Pathology, Family Medicine\*, Kyungpook National University, School of Medicine, Taegu

**Background:** There is growing evidence linking infection with *Chlamydomphila pneumoniae* with vascular diseases, such as atherosclerosis and myocardial infarction. However, the data remain inconclusive and the clinical importance of *C. pneumoniae* as vasculopathic is unclear. So, we intend to detect *C. pneumoniae* in acute myocardial infarction patients by microimmunofluorescence (mIF) and polymerase chain reaction (PCR).

**Methods:** Blood and peripheral mononuclear cells (PMNCs) of 24 myocardial infarction patients and 100 normal controls were collected. Serum were used in mIF and PMNCs in PCR. PMNC sample were tested for *C. pneumoniae* by 'touchdown' nested PCR. The first round PCR amplified DNA from both *C. pneumoniae* and *Chlamydomphila psittaci*, while the second round specially targeted *C. pneumoniae* allowing the two species to be differentiated.

**Results:** Seropositivity of IgG and IgM anti-*Chlamydomphila pneumoniae* antibody titers were 95.8% and 25% in myocardial infarction patients and 61% and 16% in control group, respectively. Positive rates of PCR of PMNCs were 8.3% in the patients and 15% in control group.

**Conclusion:** The results of mIF show that mIF positive rate in myocardial infarction was much higher than control group. So an association between *C. pneumoniae* and myocardial infarction can be concluded. But the opposite results of PCR of PMNCs needed further studies.

(Korean J Clin Microbiol 2003;6(1):81-87)

**Key words :** *Chlamydomphila pneumoniae*, myocardial infarction, microimmunofluorescence (mIF) polymerase chain reaction (PCR)

## 서 론

1999년에 Everett 등[1,2]은 16S와 25S 라이보솜 유전자의 염기서열을 분석하여 *Chlamydiaceae*에 속한

*Chlamydia* 속(屬)을 *Chlamydia*와 *Chlamydomphila* 두 가지로 나누어 재분류하였는데 *Chlamydia trachomatis*는 속명이 그대로 남아있고, *Chlamydomphila pneumoniae*와 *Chlamydomphila psittaci*는 속명을 바꾸게 되었다.

*C. pneumoniae*는 세포 내에서만 생존이 가능한 그람 음성 세균으로서 전 세계에 널리 퍼져 있는 가장 흔한 감염 원인 중 하나이며 잠복성 감염과 만성 감염을 주로 일으킨다. 급성 감염을 일으키는 경우는 호흡기를 주로 침범하지만 증상이 경하거나 미미한 지역사회 폐렴의 흔한 원인균이기도 한다[3, 4].

관상동맥 심장질환을 비롯한 죽상경화증은 세계적으로 인간의 유병률과 사망률의 주요 원인[5] 중 하나이며,

접수번호: CM 6-1-13

교신저자: 이원길

(700-422) 대구시 중구 동인동 2가 101

경북대학교 의과대학 임상병리학과 교실

TEL : (053) 420-5292 FAX : (053) 426-3367

E-mail : ikpaik@sanggyepaik.or.kr

\*본 논문은 2000년도 경북대학교병원 의학연구소의 연구비 지원에 의한 것임

Table 1. Age and sex distribution of myocardial infarction patients and control

Age	myocardial infarction			control		
	male	female	total	male	female	total
20-29	0	0	0	1	3	4
30-39	2	0	2	9	3	12
40-49	3	0	3	19	25	44
50-59	4	0	4	11	17	28
60-69	5	5	10	2	7	9
70-79	3	2	5	2	1	3
Total	17	7	24	44	56	100
Range	33-79	62-74	33-77	21-71	25-71	21-71
Mean	57.2	66.9	62.0	46.5	48.5	47.5

1999년도 우리나라 사망통계에 의하면 1위 뇌혈관질환에 이어, 심근경색과 협심증 등 관상동맥 심장질환이 2위로서 인구 십만 명당 39.1명이 사망하여서 다른 선진국들과 비슷한 실정[6]에 있다. 관상동맥 심장 질환의 전형적인 발생 위험인자로는 흡연, 고혈압, 당뇨병, 고지혈증 및 이 질환의 가족력 등이 있으나 이들 위험인자만으로는 충분한 설명이 되지 않는다. *C. pneumoniae*가 죽상경화증 특히, 관상동맥 심장질환의 발생과 진행에 직접 관계가 있다는 보고로는 1908년 William Osler 등[7]이 죽상경화증의 발생기전의 원인 인자로서 만성감염과 관련이 있다고 하였으나, 비교적 최근까지도 주목받지 못하였다. 1940년대 남미에서 성병성 림프육아종의 진단 목적으로 intradermal Frei 시험을 하여, 이들 환자에서뿐만 아니라 죽상경화증 환자에서도 가검 양성으로 나온다고 하여 최초로 클라미디아와 죽상경화증과의 관련성을 보고[8]하였다. 1980년대 이후부터 여러 연구자들에 의하여 *C. pneumoniae*와 혈관 질환과의 임상적인 관련성에 주목하게 되었으며, 혈청역학적, 병리학적 및 동물실험 연구로써 *C. pneumoniae*가 죽상경화증 특히, 관상동맥 심장질환의 발생과 진행에 직접 관련이 있다는 보고[9,10]가 있으나, 우리나라에서는 *C. pneumoniae*와 심근경색에 관한 연구[11]는 드물다. 이에 저자들은 심근 경색 환자에 있어서 *C. pneumoniae*와의 관련성을 알아보기 위하여 급성심근경색으로 확진된 환자들을 대상으로 *C. pneumoniae*에 대한 미세면역형광법(microimmunofluorescence : mIF)과 중합효소 연쇄반응(polymerase chain reaction : PCR) 검사를 시행하여 약간의 성적을 얻었기에 보고하는 바이다.

## 재료 및 방법

### 1. 대상

경북대학교병원 순환기 내과에서 심전도상 ST elevation이 있거나 심장 표지자인 효소 검사 소견에 의하

여 심근경색으로 확진된 환자 24명(남자 17명, 여자 7명)을 대상으로 하였으며, 건강증진센터에 내원한 사람 중 건강인 100명(남자 44명, 여자 56명)을 대조군으로 하였다(Table 1).

### 2. 가검물 채취

대조군과 환자 모두 혈액을 채취하여 EDTA가 들어있는 CBC용기와 항응고제가 들어있지 않은 시험관에 각각 3 mL씩 넣었다. 혈청은 한 시간 이내에 분리하였고, 즉시 검사를 하지 않으면 -70℃에 보관하였다가 검사에 사용하였는데 항-*C. pneumoniae* IgG와 IgM 항체 조사는 미세면역형광법으로 하였으며, 항응고제를 사용한 전혈은 말초혈액 단핵세포 내에 있는 *C. pneumoniae*를 중합효소 연쇄반응으로 검출하기 위한 것으로, 먼저 원심 분리하여 단핵세포를 분리한 다음 DNA를 추출하였다.

#### 1. 미세면역형광법[12]

**항원준비** : *C. pneumoniae* TW-183주를 HeLa 세포에서 배양하고, *C. trachomatis* 와 교차반응을 보기 위하여 McCoy세포에 배양한 다음, 기본체를 항원으로 사용하기 위해서 분획원심침전법으로 부분적으로 정제한 다음 Percoll내에서 밀도구배원심법으로 분리한다. 0.02% 포르말린이 함유된 인산완충용액으로 만든 2% 난황 용액에서 vortex mixer로 다시 잘 섞어 만든 기본체와 음성 대조로서 초음파로 처리한 HeLa 세포를 12 well multi-spot 슬라이드의 각 well 위에 각각 겹치지 않게 펜촉으로 접종한다. 항원 슬라이드를 실온에서 2시간 말린 후 15분간 아세톤으로 고정된 다음 사용할 때까지 얼려 놓는다.

**혈청검사** : 혈청을 인산완충용액(pH 7.2)으로 1:8에서 1:1024까지 2배수 연속 희석하여 슬라이드의 각 well에 순서에 따라 30  $\mu$ L씩 차례로 점적하였다. 37℃에서 30분간 암반응시키고 인산완충용액으로 10분간 2회 진탕하여 수세하였다. 슬라이드의 각 well에 인산완충용액으로 1:60으로 희석시킨 형광 표지된 항인면역글로블린(FITC-conjugated rabbit anti-human immunoglobulin : Dako사, 덴마크) G와 M을 각각 30  $\mu$ L씩 점적하여, 37℃에서 30분간 암반응시키고 인산완충용액으로 10분간 2회 진탕하여 수세한 후 형광현미경으로 관찰하였다. 혈청 중에 항-*C. pneumoniae* IgG나 IgM 항체가 있으면 fluorescein isothiocyanate가 부착된 항-인 IgG, IgM과 결합하여 형광을 나타내게 되는데 가장 높은 희석배수를 역가로 판정한다. 항-*C. pneumoniae* IgG가 1:32 이상일 때 과거감염으로 판독하며, IgG가 1:512 이상이거나, IgM이 1:16 이상일 때를 현재감염으로 판정하였다.

#### 2. 중합효소연쇄반응[13]

Table 2. Sequences of primers used for DNA amplification

Primer	Sequence	Position
External	333 bp products	
CP1(sense)	5' TTA CAA GCC TTG CCT GTC GG 3'	61-80
CP2(antisense)	5' GCG ATC CCA AAT GTT TAA GGC 3'	373-393
Internal	207 bp products	
CPC(sense)	5' TTA TTA ATT GAT GGT ACA ATA 3'	100-120
CPD(antisense)	5' ATC TAC GGC AGT AGT ATA GRR 3'	206-306

Table 3. Seropositivity of IgG and IgM anti-*Chlamydomphila pneumoniae* antibody in myocardial infarction patients and control group

	N	No.(%) with		
		IgG ≥ 1:32	IgG ≥ 1:512	IgM ≥ 1:16
Myocardial infarction				
Total	24	23( 95.8)	4(16.7)	6(25.0)
Male	17	17(100.0)	2(11.8)	4(16.7)
Female	7	6( 85.7)	2(28.6)	2(28.6)
Normal control				
Total	100	61( 61.0)	2( 2.0)	16(16.0)
Male	4	26( 59.2)	2( 4.5)	4( 9.1)
Female	56	35( 62.5)	0( 0.0)	12(21.4)

*C. pneumoniae*의 주외막단백(major outer membrane protein)의 유전정보가 등록되어 있는 *ompA*를 증폭하기 위하여 GeneAmp PCR system 9600(Perkin Elmer, USA)을 사용하여 이중중합효소연쇄반응(“touchdown” nested PCR)을 실시하였다.

**DNA분리** : 분리된 단핵세포를 핵산유리용액 300  $\mu$ L와 단백침전용액 100  $\mu$ L에 넣어서 13,000 × g에서 6분간 원심분리한 후 상층액 300  $\mu$ L를 취하여 isopropanol 300  $\mu$ L와 섞어서 흰색의 엉김이 생기면 다시 원심분리한 후 상층액을 버리고 70% 에탄올을 첨가하여 원심시킨 후 말린다. 재수화 용액을 넣고 65℃에서 1시간 동안 가열한다.

**시발체** : 주외막단백의 유전정보가 등록되어있는 *ompA*를 증폭하기 위하여 Bioneer사(한국)에 의뢰하여 제작하였다(Table 2). 바깥쪽 시발체는 *C. pneumoniae*와 *C. psittaci*를 동시에 증폭할 수 있으나 *C. trachomatis*의 *ompA* 유전자는 증폭되지 않게 고안하였다. 안쪽 시발체는 *C. pneumoniae*의 *ompA* 유전자의 변이 영역에 위치하여 있어 *C. pneumoniae*에 특이한 염기 서열이다.

**First round PCR** : 검체에서 분리된 DNA 10  $\mu$ L를 구성 시약인 10 X 완충용액, 0.4  $\mu$ M CP1 및 CP2 시발체(각각), PreMix [200  $\mu$ M dATP, dTTP, dCTP, dGTP(각각), 2.5 unit Taq DNA polymerase (Bioneer사, 한국), MgCl<sub>2</sub>]를 증류수에 넣고 광유(鑛油)를 넣는다. 반응 조건은 Don 등 [14]의 touchdown PCR법을 수정하여 사용하였다. 증폭조건은 변성 94℃에서 1분, annealing은 1분인데 매 2주기마다 1℃씩 낮추어 65℃에서 55℃까지 되게 하고, 연장은

72℃에서 1분씩 하여 20 주기를 증폭하였다.

**Second round PCR** : 첫번째 round의 증폭산물을 10배 희석하여 검체로 10  $\mu$ L 사용하고 CPC 및 CPD의 안쪽 시발체를 각각 1  $\mu$ M씩, MgCl<sub>2</sub>농도를 3 mM로 바꾸고 나머지는 첫 번째 PCR과 동일하게 하였다. 두 번째 PCR은 변성은 94℃에서 1분, annealing은 50℃에서 1분, 연장은 72℃에서 1분씩 30 주기를 증폭하였다.

**전기영동** : 첫 번째와 두 번째 PCR 증폭산물은 2% agarose gel 전기영동을 실시하여 ethidium bromide로 염색하여 폴라로이드 사진 촬영을 하였다.

## 결 과

대조군은 남자 44명, 여자 56명으로 총 100명이며, 평균 연령은 47.5세이었으며, 심근경색환자는 남자 17명, 여자 7명으로 총 24명이며, 평균 연령은 남자가 57.2세 여자가 66.9세로써 전체로는 62.0세이었다(Table 1).

대조군의 미세면역형광법 성적은 항-*C. pneumoniae* IgG 항체가 1:32이상을 보인 과거감염의 경우는 남자가 44명 중 26명이 양성으로 나타나 59.2%이었고, 여자는 56명 중 35명으로 62.5%가 나타나 전체 100명 중 61명(61.0%)으로 나타났다. 급성심근경색 환자에서 과거감염은 남자는 17명 모두 양성(100%), 여자는 7명 중 6명이 양성(85.7%)으로 나타나 환자 24명 중 23명(95.8%)으로 나타났다. 대조군에서 IgG 항체가 1:512 이상인 현재감염의 경우는 남자 44명 중 2명(4.5%)이었고, 여자는 56명 중 한

Table 4. Results of polymerase chain reaction (PCR) of *Chlamydomphila pneumoniae* in peripheral mononuclear cells

No.	PCR positive(%)	
Myocardial infarction		
Total	24	2( 8.3)
Male	17	2(11.7)
Female	7	0( 0.0)
Normal control		
Total	100	15(15.0)
Male	44	6(13.6)
Female	56	9(16.1)

명도 없었으며, 급성심근경색 환자의 경우는 남자가 17명 중 2명(11.8%), 여자가 7명 중 2명(28.6%)이었다. 또한 IgM 항체가 1:16 이상으로 나타난 현재감염의 경우는 대조군에서 남자 4명(9.1%), 여자는 12명(21.4%)으로 전체 100명 중 16명(16.0%)으로 나타났으며, 급성심근경색 환자에서는 남자가 4명, 여자가 2명으로 24명 중 6명(25.0%)이 양성으로 나타났다(Table 3).

말초혈액 단핵구의 중합 효소연쇄반응은 대조군에서는 15명(15%, 남자 6명, 여자 9명), 환자에서는 24명 중 2명(8.3%)이 각각 양성으로 나타났다(Table 4).

대조군에서 시행한 모든 검사가 음성인 경우가 31명(31%), IgG 항체가 양성인 경우가 34명(34%), 다른 검사 하나가 양성인 경우가 6명(6%)으로 나타났으며, 2개 이상의 검사가 양성인 경우가 26명이었다. 심근경색환자는 모든 검사가 음성이 1명(4.2%), IgG만 양성인 15명(62.5%), 나머지 8명(33.3%)이 2가지 이상에서 양성을 나타내어 심근경색 환자에서 양성율이 훨씬 높았다.

## 고 찰

*C. trachomatis*와 *C. pneumoniae*의 DNA 상동성은 5% 미만[4]이며, 16S와 25S 라이보솜 유전자의 염기서열을 분석하여 *Chlamydia*속을 *Chlamydia*와 *Chlamydomphila* 두 가지로 나누어 재분류하여 *Chlamydomphila pneumoniae*와 *Chlamydomphila psittaci*는 속명을 바꾸게 되었다[1,2].

*C. pneumoniae*는 에너지를 숙주세포에 의존하므로 세포 내에서만 생존이 가능한 기생체로서 잠복성 감염이나 만성 감염을 주로 일으키는 전 세계에 널리 퍼져 있는 흔한 감염원인의 하나이다. 세계적으로 성인의 항체 양성율은 20 - 80%로 지역마다 다른데, 그 이유는 정확히 설명할 수 없으나 아직까지 밝혀지지 않은 독성인자나 유착물질의 분포가 지역적으로 다르거나 숙주의 감수성 요인이 높기 때문이라고 한다[15, 16].

세계적으로 관상동맥 심장질환이 유병률과 사망률의 주요 원인[4]이고, 1999년 우리나라의 사망통계에 의하면 2위가 심근경색, 협심증 등 관상동맥 심장질환으로서

비슷한 실정[5]이다. 김 등[17]이 우리나라 환자의 관상동맥과 경동맥의 죽종 28예 중 25예(89.3%)에서 *C. pneumoniae*를 증명하였으며, 또 사체에서 회수한 관상동맥 35예 중 13예(37.1%)에서 동맥경화 소견을 보여 관상동맥의 경화가 흔히 일어난다고 보고하였다. 그러나 죽종에서 *C. pneumoniae*가 분리되거나 증명된다고 해서 *C. pneumoniae*가 죽종의 원인이라고 단정할 수 없다. *C. pneumoniae*는 매우 흔한 균이기 때문에 염증성 조직에 이차적으로 침착할 수도 있기 때문에 Jackson 등[18]은 '방관자 가설(Bystander theory)'을 주장하였다. 또 Campell등[19]과 Ong 등[20]은 대동맥판, 간 혈관, 비장, 피부, 육아종 등 많은 조직에서 균증명이 되어 단순히 염증조직에 2차적으로 침착했다고 볼 수 있다고 했다.

본 연구에서 관상동맥 심장질환 발생의 위험인자를 조사한 결과 고혈압이 9명(37.5%, 남자 5명, 여자 4명), 당뇨병은 5명(20.8%, 남자 3명, 여자 2명), 흡연 13명(54.2%, 모두 남자), 과거 흡연경험자가 3명(12.5%, 남자 2, 여자 1명)으로 각각 나타났다. 그러나 심근경색증 환자 중 30%에서는 이들 위험인자가 없음에도 불구하고 심한 관상동맥 심장질환을 경험[21]하였고, 프랑스 사람들은 흡연을 많이 하여 위험인자가 높음에도 불구하고 포도주의 항산화 효과 탓에 관상동맥 심장질환으로부터 보호되어 유병률은 그다지 높지 않으므로[22] 이들 위험인자만으로는 충분한 설명이 되지 않는다. 네델란드에서 조사한 보고는 항-*C. pneumoniae* 항체 역가의 증가는 심장병에 의한 사망, 심근경색 혹은 협심증 등 관상동맥 심장질환을 발생시키는 독립된 위험인자라고 하였다.

1980년대 이후부터 여러 연구자들에 의하여 *C. pneumoniae*와 혈관 질환과의 특별한 임상적인 관련성에 주목하게 되었으며, 혈청역학적, 병리학 및 동물실험 연구로써 *C. pneumoniae*가 죽상경화증 특히, 관상동맥 심장질환의 발생과 진행에 직접 역할을 하고 있다는 증거가 계속 밝혀졌다[7, 9, 23]. 그러나, *C. trachomatis*와는 달리 *C. pneumoniae*의 검사방법은 잘 개발되어 있지도 않고 또한 표준화되어 있지 않은 것이 연구결과가 다양하게 나타나는 것과 관련이 있다고 사료된다. 검사방법으로는 세포배양법, 혈청 검사법 및 핵산 증폭방법이 있는데, 세포배양법은 비교적 노동력이 많이 들고, 예민도가 떨어지며 판독하는데 기술적인 숙달이 필요하다. 혈청검사법은 항체의 생산이 늦고, 특히 미세면역형광법이 비록 표준방법이라고 하나 수행하기가 어렵고, 표준화되어 있지 않고 판독이 주관적이며, *Chlamydia*의 다른 종과 *Bartonella*와 교차반응이 있으며, 또한 세포 배양법과 중합효소 연쇄반응 등 핵산검출법과 상관관계도 잘 되지 않는 경우가 많다고 한다. 또한 조직에서 *C. pneumoniae*의 DNA나 항원의 존재와 잘 일치하지 않기 때문에 죽상경화증과 같은 만성 질환에 있어서 *C. pneumoniae* 감염의 임상적 중요성을 분명하게 밝힐 수 있는 현재감염의 우수한 표지자가 요구되고 있으며, 중합효소 연쇄반응 등

핵산 증폭방법이 개발되고 있다[24]. 중합효소 연쇄반응과 같은 핵산증폭방법이 임상 검체에서 적은 수의 미생물을 검출할 수 있으나 검출결과는 차이가 많이 있다. 즉, 죽상경화증 조직에서 검출율이 0 - 100%로 보고[25]되고 있으며, 비슷한 예로서 이미 확인된 죽상경화로 인한 심장질환 환자에서 말초혈액 단핵세포내의 *C. pneumoniae* DNA의 검출은 9%[26]- 59%[27]사이로 다양하다. 이와 같은 차이는 분석법의 차이, 중합효소반응억제제 함유, 검체 채취의 차이와 적은 균 수에 따른 것이라고 한다. single PCR은 예민도가 낮으므로 양성결과를 확실하게 확인하기가 어려우므로 다른 분석방법이나 다른 임상가 검물로 확인할 필요가 있다[27].

Boman 등[28]은 핵산분석법을 도입할 때 고려해야 할 바를 가검물의 채취, 검체에서의 핵산추출법, 표적유전자의 선택과 시발체의 선택, 적절한 증폭조건 및 증폭산물의 검출과 위양성 및 위음성 확인법과 예방법, 새로운 방법과 과거 방법의 평가 등을 자세히 언급을 하였다. 특히 중요한 것은 몇 가지 음성대조의 사용을 포함한 위양성 확인 단계이다. 이 대조는 임상가검물을 처음 처리하는 DNA 추출에서부터 증폭산물의 검출까지 내내 같이 처리되어야 하며, 특이도를 더 높이기 위하여 모든 양성에 대하여 검체를 다시 추출하여 재분석을 할 필요가 있다. 또한 새로운 '실시간 중합효소 연쇄반응(real-time PCR)' 이 개발되어 임상검체에서 균의 검출을 개선했다는 보고[29, 30]도 있다.

mIF 검사 결과에 의하면 미국과 여러 다른 나라에서는 성인의 50% 이상에서 항-*C. pneumoniae* 양성을 보이고 있으며, 국내에서는 아직 이에 대한 자료가 충분하지 않지만, 정 등[31]은 헌혈자에서 77%와 화학검사를 시행한 사람에서 58%의 항체 양성을 보고하였으며, 최 등[32]과 오 등[33]은 건강인에서 조사한 항체보유율이 50%로 나타나, 본 연구 대조군의 양성 결과 65%와 비슷한 경향임을 알 수 있었다. 그러나 본 연구는 다른 연구자와는 반대로 성인 여자에서 항체 양성율이 성인 남자 더 높게 나타났다. mIF 검사에서는 항체의 출현이 느리기 때문에 회복기 혈청 검체의 채취를 3-4주 간격을 두고 해야 하며, 류마티스 인자가 있으면 IgM 항체가 위양성으로 나올 수 있다[4].

*C. pneumoniae* 급성감염은 2가지 유형이 있는데, 첫째는 초 감염이고, 둘째는 재감염이다. 초 감염은 보체결합 항체의 즉각적인 반응이 나타나나, 미세면역형광법의 IgM항체는 질병 시작 3주가 지나 나타나서 2달 이내에 떨어지기 시작하여 보통 4-6개월 후에는 사라진다. 재감염에서는 보체결합 항체와 IgM 항체가 나타나지 않고 IgG 항체 역가가 신속하게 증가하는데 보통 1-2주만에 1:512 이상 도달하며, 증가가 지속하여 어떤 사람에서는 3년이 지나서도 검출된다. 초감염에서 2차 혈청의 채취가 시작 후 3주 이내에 이루어지면, 항체반응을 놓칠 수 있고, 재감염에서는 보체결합 항체와 IgM 항체가 없기 때문에 급

성감염인지 아니면 과거감염으로 인한 항체 역가의 지속적인 증가인지를 구별할 수 없다. 따라서 혈청검사 결과를 판독하는데 있어서 이런 점들을 고려하는 것이 중요하다. 혈청검사의 진단은 한번의 높은 역가보다는 한 쌍의 검체에서 역가가 4배 증가하는 것이 훨씬 정확하며, 특히 과거에 여러 번 감염되어 지속적으로 항체가 높은 노인환자에서 더욱 그렇다[4]. 1988년 Saiku 등[11]은 급성 심근 경색을 나타낸 남자 38 명 중 26명(68%)에서 클라미디아 지다당류의 항원결정기에 대한 항체의 증가가 있었고, 대조군은 3%만이 증가가 있었다고 하였고, 더욱이 급성 심근경색증이 있는 환자에서 미세면역형광법으로 측정 한 항-*C. pneumoniae* IgG와 IgA 항체 역가를 대조군의 역가와 비교하여 유의하게 증가하였다고 보고하였는데, 본 연구에서도 이와 비슷한 결과를 보였다.

검사방법의 특이도와 예민도, 병소의 차이에 따른 문제로 *C. pneumoniae*의 혈관감염이 있다고 확인할 수 있는 간단하고 믿을 만한 검사법은 아직 없다. 항체 형성이 없는 만성 *C. pneumoniae*의 감염이 있기 때문에 혈청검사는 만성 감염에서는 신뢰도가 떨어지는 지표이다. *C. pneumoniae*가 단핵세포 내에 존재하므로 단핵세포를 이용하여 진단을 하게 되는데, 이는 활동성 결핵감염의 경우에 시행하는 중합효소연쇄반응 검사의 의의와 비슷하다고 할 수 있다. Naidu 등[33]은 말초혈액에서 *C. pneumoniae*의 DNA를 검출하는 중합효소연쇄반응 검사에서 대조군보다 심근경색이나 만성 관상동맥 심장질환이 있는 환자에서 더 많이 검출되었으며, 항체의 역가가 1:32이상에서 더 많았다고 하였고, 또한 말초혈액 단핵세포내의 *C. pneumoniae* DNA의 검출이 9%[24]- 59%[25]사이로 다양하게 나타났는데, 본 연구는 대조군(15%) 보다도 낮게 나타났다. 이것에 대한 것은 현재로서는 무어라 설명하기가 어렵고 추후에 더 연구가 필요하리라고 본다.

추후에 환자 수를 더 많이 하여 검사할 필요성이 있지만, 이번 연구로 급성심근경색증 환자에서 말초혈액 단핵세포에서 *C. pneumoniae* DNA의 검출이 비록 대조군보다 적었으나, 미세면역형광법 검사 결과가 정상 대조군보다 훨씬 높은 양성율을 나타내는 것으로 미루어볼 때 *C. pneumoniae*가 급성심근경색과 관련성을 나타낸다고 사료된다.

## 요 약

**배 경 :** *Chlamydomphila pneumoniae* 감염이 죽상경화증과 심근경색과 같은 혈관 질환 사이에는 관련성이 있다는 보고가 많이 되고 있다. 그러나 상반된 보고도 있으며, 또한 현재까지는 *C. pneumoniae*가 혈관질환을 유발한다는 데 대한 임상적 중요성도 확실하지 않다. 저자들은 급성심근경색과 *C. pneumoniae*와의 관련성을 조사할 목적으로 미세면역형광법(mIF)과 중합효소연쇄반응(PCR)법을 이용하여 *C. pneumoniae*를 검출하였다.

**재료 및 방법** : 24명의 급성심근경색환자와 100명의 정상 대조군을 대상으로 혈액을 채취하여 혈청은 mIF 법에 사용하였고, 말초혈액단핵세포는 PCR 검체로 사용하였다. mIF법은 IgG가 1:32 이상일 때 이전 감염으로 판독하며, IgG가 1:512 이상이거나, IgM이 1:15 이상일 때를 현재감염으로 판정하였다. *C. pneumoniae*의 *ompA*를 증폭하기 위하여 이중 증합효소연쇄반응("touchdown" nested PCR)을 실시하였으며, 첫 번째 PCR은 *C. pneumoniae*와 *Chlamydophila psittaci*를 모두 검출하나, 2 번째 PCR에서는 *C. pneumoniae* 만을 검출하여 감별하게 된다.

**결 과** : mIF성적은 IgG 항체가 1:32 이상을 보인 과거 감염의 경우는 대조군에서는 61.0% 고, 급성심근경색 환자는 95.8%이었고, IgM 항체가 1:16 이상인 현재감염의 경우는 대조군에서 16.0%, 급성심근경색 환자에서는 25.0%로 나타났다. 말초혈액 단핵구의 증합효소연쇄반응은 환자에서는 8.3%, 대조군에서는 15%로 각각 나타났다.

**요 약** : 급성심근경색증 환자에서 mIF 검사 결과가 정상 대조군보다 훨씬 높은 양성율을 나타내 *C. pneumoniae*가 급성심근경색과 관련성을 보였으나, 단핵구 증합효소연쇄반응에서는 대조군에서 양성율이 높아 이에 대한 추후연구가 필요하다고 사료된다.

**감 사** : *Chlamydophila pneumoniae*의 미세면역형광법과 세포배양법을 시행할 수 있도록 지도해주시고, 시약까지 공급해 주신 한양대학교 최태열 교수님께 심심한 감사를 드린다.

## 참고문헌

1. Everett KDE, Bush RM, Anderson AA. *Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam nov and Simkaniaceae fam nov, each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae including a new genus and five new species and standards for the identification of organisms. Int J of Syst Bacteriol* 1999;49:415-40
2. Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS, eds. *Bailey & Scott's Diagnostic microbiology. 11th. ed. St. Louis: Mosby, 2002;573-9.*
3. Schachter J, Caldwell HD. Chlamydiae. *Ann Rev Microbiol* 1980; 34:285-309
4. Kuo CC, Jackson LA, Campbell LA, Grayston JT. *Chlamydia pneumoniae(TWAR). Clin Microbiol Rev* 1995; 8:451-61
5. 정종호. 성인병정북. 한국경제신문 Jul 13, 2001; 41
6. Sumpter MT, Dunn MI. *Is coronary artery disease an infectious disease? Chest* 1997;112:302-3
7. Gupta S, Camm AJ. *Chronic infection, chlamydia and coronary heart disease. 1st ed Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1999: 23-60*
8. Boaz A, Rayner M. *Coronary heart disease statistics, British Heart Foundation/Coronary Prevention Group. Statistics Database;1995*
9. Gupta S, Camm AJ. *Is there an infective aetiology to atherosclerosis? Drugs Aging* 1998; 13: 1-7
10. Boman J, Hammerschlag MR. *Chlamydia pneumoniae and atherosclerosis: Critical assessment of diagnostic methods and relevance to treatment studies. Clin Microbiol Rev* 2002; 15:1-20
11. Saiku P, Mattila K, Nieminen MS, Huttunen JK, Leinonen M, Ekman M-R, et al. *Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic heart disease and acute myocardial infarction. Lancet* 1988; 8606: 983-6
12. 김선의, 최태열, 김신경, 김경숙. *Chlamydia trachomatis* 감염의 혈청학적 진단. 대한임상병리학회지 1999; 19: 522-8
13. 최태열, 김덕언, 최미연. 'Touchdown' PCR을 이용한 *Chlamydia pneumoniae* 검출. 대한임상병리학회지 1998; 18: 570-6
14. Don RH, Cox PT, Wainwright BJ, Baker K, Mattick JS. 'Touchdown' PCR to circumvent spurious priming during gene amplification. *Nucleic Acids Res* 1991; 19 : 4008
15. Dnesh J, Collin R, Peto R. *Chronic infection and coronary heart disease. Is there a link? Lancet* 1997; 350: 430-6
16. Weiss SM, Roblin PM, Gaydos CA, Cummings P, Patton DL, Schulhoff N, et al. *Failure to detect Chlamydia pneumoniae in coronary atheromas of patients undergoing atherectomy. J Infect Dis* 1996; 173: 957-62
17. 김선주, 김윤정, 맹국영, 박철근, 최태열. 죽상경화조직에서 면역화학염색법을 이용한 *Chlamydia pneumoniae* 검출. 대한임상병리학회지 2000; 20: 41-7
18. Jackson LS, Campbell LA, Kuo CC, Rodriguez DI, Lee A, Grayston JT. *Isolation of Chlamydia pneumoniae from carotid endarterectomy specimen. J Infect Dis* 1997; 173: 292-5
19. Campbell LA, Kuo CC, Grayston JT. *Chlamydia pneumoniae and cardiovascular disease. Emerg Infect Dis* 1998; 4: 571-9
20. Ong G, Thomas BJ, Mansfield AO, Davidson BR, Taylor-Robinson D. *Detection and wide spread distribution of Chlamydia pneumoniae in the vascular system and its possible implications. J Clin Pathol* 1996;

- 49: 102-6
21. Criqui MH, Ringel BL. *Does diet or alcohol explain the French paradox? Lancet* 1994;344:1719-23
  22. Falk E, Shah PK, Fuster V. *Coronary plaque disruption. Circulation* 1995; 92: 657-71
  23. 이원길. 죽상경화증. 대한임상미생물학회지 2001; 4(1):78-81
  24. Smieja M, Mahony JB, Goldsmith CH, Chong S, PetrichA, Cherneskt M. *Replicate PCR testing and probit analysis for detection and quantitation of Chlamydia pneumoniae in clinical specimens. J Clin Microbiol* 2001; 39: 1796-801
  25. Apfalter P, Assadian O, Blasi F, Gaydos CA, Kundi M, Makristathis A, et al. *Reliability of nested PCR for detection of Chlamydia pneumoniae DNA in atheromas: Results from a multicenter study applying standardized protocol. J Clin Microbiol* 2002; 40: 4428-34
  26. Wong YK, Dawkins KD, Ward ME. *Circulating Chlamydia pneumoniae DNA as predictor of coronary artery disease. J AM Coll Cardiol* 1999; 34: 1435-9
  27. Boman JS, Soderberg S, Forsberg J, Birgander LS, Allard A, Persson K, et al, *High prevalence of Chlamydia pneumoniae DNA in peripheral blood mononuclear cells in patients with cardiovascular disease and middle-aged blood donors. J Infect Dis* 1998; 178: 274-7
  28. Boman J, Gaydos CA, Quinn TC. *Molecular diagnosis of Chlamydia pneumoniae infection. J Clin Microbiol* 1999; 37: 3791-9
  29. Tondella MLC, Talkington DF, Holloway BP, Dowell SF, Cowley K, Soriano-Gabarro M, et al. *Development of evaluation of real-time PCR-based fluorescence assays for detection of Chlamydia pneumoniae. J Clin Microbiol* 2002; 40: 575-83
  30. Kuoppa Y, Boman J, Scott L, Kumlin U, Eriksson I, Allard A. *Quantitative detection of respiratory Chlamydia pneumoniae infection by real-time PCR. Clin Microbiol* 2002; 40:2273-4
  31. 정운섭, 이경원, 김현숙, 권오현, 김상래, 윤갑준. *Chlamydia pneumoniae에 대한 헌혈자. 감염* 1993: 25: 131-8
  32. Choi TY, Kim DA, Kim SK, Kang JO, Park SD, Jung SR. *Prevalence of specific antibodies to Chlamydia pneumoniae in Korea. J Clin Microbil* 1998: 36; 3426-8
  33. 오명돈, 김선주, 김성민, 김의종, 최강원. 지역사회 획득 폐렴의 원인으로서는 *Chlamydia pneumoniae*의 중요성에 관한 연구. *감염* 1995; 27: 45-9
  34. Naidu BR, Ngeow YF, Kannan P. *Evidence of infection obtained by polymerase chain reaction in patients with acute myocardial infarction and coronary heart disease. J Infect Dis* 1997; 35: 199-200[letter]