

## 장결핵 생검조직을 이용한 병리학적 진단 방법에 관한 연구

가톨릭대학교 의과대학 임상병리학교실, 내과학교실\* 및 외과학교실\*\*

김경미 · 이안희 · 최규용\* · 오세정\*\* · 심상인

### Pathologic Diagnosis of Intestinal Tuberculosis in Endoscopic Biopsied Material

Kyoung Mee Kim, M.D., Anhi Lee, M.D., Kyu Yong Choi, M.D.\*  
Se Jeong Oh, M.D.\*\* and Sang In Shim, M.D.

Department of Clinical Pathology, Internal Medicine\*, and General Surgery\*\*  
Catholic University College of Medicine

The clinicopathologic features and the comparative analysis of diagnostic methods in 42 patients having intestinal tuberculosis were studied. In all the cases, clinical and colonoscopic diagnosis was confirmed by histological examination. Abdominal pain was the most common symptom (54%). Twenty nine patients had active pulmonary tuberculosis which was confirmed by a chest X-ray, or an AFB smear and a culture of sputum. A transverse ulcer with surrounding hypertrophic mucosa and multiple erosion was the usual colonoscopic findings. The granulomas were usually located in the just upper and lower portion of muscularis mucosa. The direct smear and culture of the fresh biopsy material showed AFB in 11 (32.4%) and 12 cases (36.4%) respectively. Ziehl-Neelsen staining in serially sectioned slides from formalin-fixed, paraffin-embedded tissue revealed AFB in 15 cases (35.7%). An immunohistochemical stain for *Mycobacterium bovis* was done in all cases and 13 cases were positive (31%). A polymerase chain reaction (PCR) was done and showed positivity in 4 out of 20 cases of fresh biopsy material and 12 out of 40 cases in paraffin embedded tissue. For the conclusive diagnosis of intestinal tuberculosis, a Ziehl-Neelsen stain is the most sensitive, fast, and cost-effective method. The diagnostic accuracy will be increased when other diagnostic methods such as tissue culture and PCR are coupled with this simple staining method. (Korean J Pathol 1997; 31: 754~764)

**Key Words:** Tuberculosis, Intestine, Diagnosis

접 수: 1997년 2월 5일, 게재승인: 1997년 4월 17일

주 소: 인천시 북구 부평동 665, 우편번호 403-016

삼보사애병원 임상병리과, 김경미

## 서 론

효과적인 항결핵 화학요법의 시행, 우유의 저온 살균법, BCG 접종 및 폐결핵의 전반적인 감소로 인하여 장의 결핵은 그 빈도가 매우 감소하여 서방에서는 매우 희귀한 병이 되었다<sup>1</sup>. 그러나 실제로 개발도상국에서의 폐결핵의 빈도는 아직도 높은 편이며 특히 후천성 면역결핍증 환자에서의 유병률은 계속적으로 증가하는 추세에 있다. 우리나라에서 결핵의 빈도는 전 국민의 1.8%이며 결핵에 의한 사망률 역시 높은 편이다<sup>2</sup>. 그러나 원발성 또는 합병증으로 나타나는 장결핵의 빈도는 상대적으로 매우 낮고 그 임상적 증상 또한 매우 다양하여 임상 및 병리 의사들이 그 가능성을 고려하지 않는 경우 유사한 다른 질환으로 오인하여 잘못된 치료를 받을 수도 있으므로 항상 감별진단시 고려해야 할 중요한 질병이다. 그러나 장결핵은 세침흡인검사가 불가능하고, 검체가 매우 적으며 숙련된 내시경 의사를 필요로 하는 등 그 진단에 매우 많은 장애가 뒤따른다. 그러나 최근까지 장결핵에 관한 국외의 문헌은 주로 임상 양상 혹은 대장경검사(colonoscopy) 등에 관한 연구에 국한되어 있고, 국내에서의 병리학 적 연구는 육안적 분석에 대해서만 기술이 되어있을 뿐이다<sup>3</sup>. 이에 저자들은 대장경 생검 및 조직 생검을 통하여 확진된 장결핵에 대한 임상 및 병리학 적 분석과 더불어 장결핵의 여러 진단방법, 즉 대변 및 생검 조직의 배양법, 생검조직을 같은 후 Ziehl-Neelsen염색을 실시하는 직접 도말 염색법, 고정된 조직의 Ziehl-Neelsen염색법, 면역 조직화학적 염색법, 신선 및 고정된 생검조직을 이용한 중합효소 연쇄반응법(Polymerase Chain Reaction, PCR) 등을 실시하여 각 진단 방법들에 있어서 양성률의 차이를 살펴보고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 연구 재료

1991년부터 1996년 3월까지 6년간 가톨릭의대 부속 성모자애병원에서 임상적으로 장결핵으로 진단 받은 전예에 대한 의무기록지를 검색하여 Gilinsky<sup>4</sup>가 제시했던 진단 범주, 즉 ① 병변에서 조직학적으로 *Mycobacterium tuberculosis*를 발견한 경우(17예); ② 건락성 괴사를 동반한 육아종이 발견된 경우(7예); ③ 조직의 배양 결과 *M. tuberculosis*가 자란 경

우(12예); ④ 항산균이 있건 없건간에 장간막의 림프절 절제 후 건락성 괴사가 발견된 경우(3예); ⑤ 임상, 방사선학 및 수술 소견이 복부 결핵에 합당하고 치료 후 반응이 나타난 경우(42예) 등의 조건 중 한 가지 이상에 해당하는 42예를 연구의 대상으로 하였다. 임상적으로 장결핵이 강력히 의심은 되었으나 충분한 추적관찰이 안된 7명의 환자는 연구의 대상에서 제외하였다. 환자의 성별 분포는 남자 20명, 여자 22명이었고, 연령 분포는 18세에서 66세까지로 평균 35.3세였다. 중합효소 연쇄반응을 위한 대조군의 DNA는 결핵 연구원으로부터 *M. tuberculosis* HR37 strain을 분주받아 DNA를 추출하여 사용하였다.

### 2. 연구 방법

1) 임상적 검색: 의무기록지를 보고 이환된 환자의 나이, 성별, 임상 증상, 폐결핵의 유무 및 활동성의 여부, 혈색소(hemoglobin)/적혈구 용적률(hematocrit)의 수치, 대장경의 소견 및 병변의 위치, 대변 및 객담의 도말후 결핵균검사, 그리고 Lowenstein-Jensen 배지(bioMerieux, France)에서의 배양 결과를 살펴보았다.

2) 병리조직학적 검색: 대장경을 통하여 신선조직을 채취한 후 조직을 갈아서 슬라이드에 도말하여 Ziehl-Neelsen염색을 실시한 후 현미경으로 관찰하여 acid fast bacilli(afb)를 관찰하였다. 나머지 생검조직은 10% 중성 포르말린에 고정 후 파라핀에 포매하여 보관된 블록을 연속 절편하여 H&E 염색 및 Ziehl-Neelsen염색을 시행하였다. 조직학적 검색을 하여 육아종의 존재 여부 및 위치, 구성하는 세포의 모양, 괴사의 유무, 다핵 거대세포의 유무를 살펴보고 육아종 주변 점막의 염증 정도를 관찰하였다. 두장의 Ziehl-Neelsen염색 슬라이드를 만들어 400배 및 1000배에서 관찰하여 afb의 수 및 존재부위를 기술하였다.

3) 면역조직화학적 염색: 파라핀 포매 조직을 Probeon 슬라이드에 부착시킨 후 Microprobe Immuno/DNA stainer(microprobe system, Biomed)를 이용하여 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 일차 항체로는 항체 희석액(Biomed)으로 1000배 희석한 rabbit anti-*Mycobacterium bovis*(DAKO, Denmark)을 사용하였으며 이차 항체는 biotin이 부착된 universal antibody(Biomed)를 이용하였다. avidin-alkaline phosphatase 처리 후 Fast Red TR salt를 이용하여 발색시킨 후 헤마톡실린 대조염색 후 Crystal mount(Biomed) 후 강한 과립상의 적색으로 염색된 것만을 양성반응으로 판독

하였다.

4) 종합효소 연쇄반응법에 의한 결핵균의 증명

(1) DNA의 추출;

① 대조군 DNA의 추출; 분주받은 균주에 lysis buffer(0.1 M/l sodium hydroxide, 2 M/l sodium chloride, 0.5% SDS)를 가하고 5분간 끓여 멸균시킨 뒤 3주간 배양하이 균주가 모두 죽은것을 확인한 후 proteinase K로 처리한 후 통상적인 phenol extraction-ethanol precipitation방법으로 DNA를 추출하였다.

② 실험군 DNA의 추출; 포르말린 고정 후 파라핀 포매된 조직을 박질기로 5 μm 두께로 10개를 잘라서 eppendorf tube에 담았다. 파라핀 제거 후 digestion buffer [Tris(ph 8.5) 50 mM, EDTA 1 mM, 0.5% Tween 20] 100 μl와 proteinase K 200 μg/ml를 투여한 뒤 대조군과 같은 방법으로 DNA를 추출하였다. 신선 조직을 사용한 9예는 digestion buffer와 proteinase K를 넣는 단계부터 시작하였다.

(2) 종합효소 연쇄반응; *M. tuberculosis*의 반복적 DNA(IS6110)를 암호화(encoding)하는 396염기를 목표로 두개의 oligonucleotide primers(SP:5'-CCAGATGCACCGTCGAACGGCTGAT-3', ASP:5'-CGCTCGCTGAA-CCGGATCGATGT GT-3')를 이용하여 PCR용 혼합물 25 μl [MgCl<sub>2</sub> 5μl, 10X buffer 2.5 μl, dNTP(10 mM) 0.5 μl, primer 1(10 pmol) 1 μl, primer 2(10 pmol) 1 μl, Taq polymerase(AB, England) 0.125 μl, Uraacyl-N- Glycosylase(UNG) 0.25 μl, BSA(2.5 mg/ml) 5 μl, template DNA 5 μl, D.W 7.625 μl를 만들었다. UNG를 불활성화시키기 위하여 50°C에서 2분간 처리한 후, 94°C에서 3분간 DNA를 변성시켰다. 종합효소 연쇄 반응의 조건은 94°C에서 40초, 70°C에서 60초로 유지하여 40회 thermal cycler(Perkin-Elmer Cetus, CA, USA)를 이용하여 돌린 후 생성물 10 μl를 취하여 3%의 agarose gel에서 분석한 후 ethidium bromide로 염색하여 UV transilluminator(Spectroline TVC- 312A, Spectronics Cor., NY, USA)로 사진을 촬영하였다. 결과는 전기영동상 396염기의 분절을 보이는 경우를 양성으로 판독하였다. 위음성의 가능성을 배제하기 위해서 결과가 음성으로 나온 예들은 표지자(indicator) DNA를 첨가하여 다시 종합효소 연쇄반응을 실시한 뒤 비를 확인하였다.

5) 통계학적 분석; 각 진단방법들간의 민감도의 차이는 X<sup>2</sup>-test로 검정하였고, 육아종의 유무등 조직학적 소견에 따른 진단 방법의 민감도의 차이는 Measure of agreement를 사용하였다.

결 과

1. 임상적 소견

혈색소치는 8~12 g/100 ml로 남자 평균 10.8, 여자 평균 9.8 g/100 ml 였다. 임상적으로 복부 통증이 가장 흔한 증상이었고 그 외의 증상은 Table 1과 같다. 과거력과 흉부 X선의 결과, 재담에 대한 Ziehl-Neelsen염색 및 배양검사 등을 살펴보았을때 29예(76.3%)에서 활동성의 폐결핵이 관찰되었으며 3예는 검사 결과의 부족으로 폐결핵의 여부를 알 수 없었다.

2. 대장경 검사 소견

대상경 검사 소견상 횡행성의 궤양, 궤양 주변의 비후성 점막, 다발성의 미란, 출혈성 병소, 부종, 충

Table 1. Clinical manifestations of 42 intestinal tuberculosis patients

Abdominal pain	14(53.8%)
Loose stool or diarrhea	11(42.3%)
Weight loss	8(30.8%)
Poor oral intake	3(11.5%)
Bloody or tarry stool	3(11.5%)
Palpable mass	3(11.5%)
Fever and chills	2( 7.7%)
Dizziness	1( 3.8%)

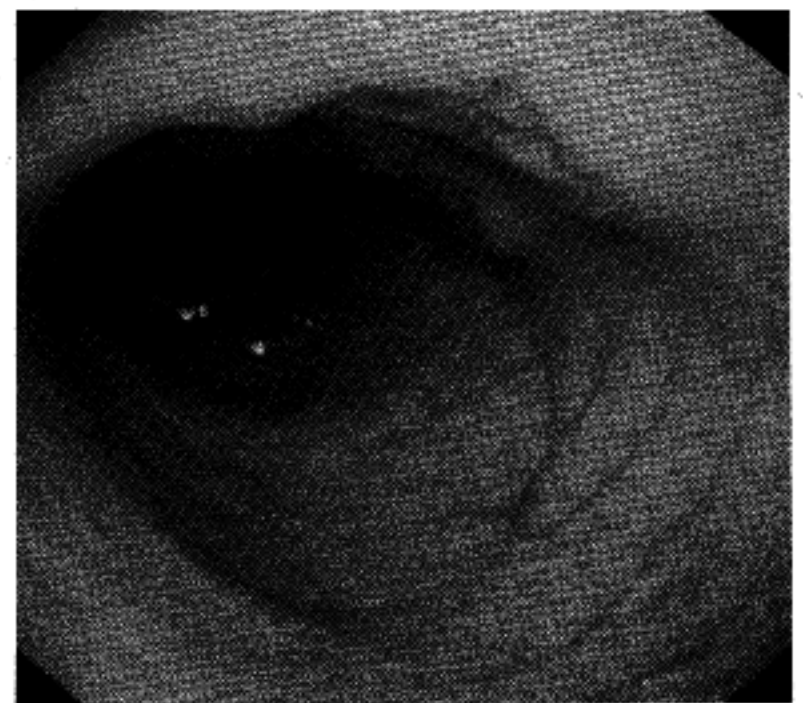


Fig. 1. Endoscopic image of typical transverse ulcers in intestinal tuberculosis.

혈 및 내강의 협착(luminal narrowing)등의 소견들이 관찰되었다(Fig. 1). 누출관(fistula tract)과 협착(stricture)도 각각 1예에서 관찰되었다. 부위별로 보았을 때 회맹부(Ileocecal area)만 침범한 예들은 11예(26%)였고, 회맹부에서 시작하여 연속적으로 하행 결장까지 침범한 예들이 23예(55%), 분절성으로 결장을 침범하여 중간 중간에 정상점막을 보인 예들도 8예(19%)에서 관찰되었다. 궤양은 5 mm에서 8 cm까지

그 크기가 다양하였고 점막 표면은 결절성의 흐물 흐물한 정도를 보였다. 궤양은 비교적 얇았으며 대부분 경계가 지워지기는 하였으나 그 모양은 불규칙하였다.

### 3. 병리 조직학적 및 면역조직화학적 염색 소견

내시경 생검 후 formalin에 고정된 조직의 수는 두 개에서 여섯개 사이였다. 육아종은 전체 42예 중 31

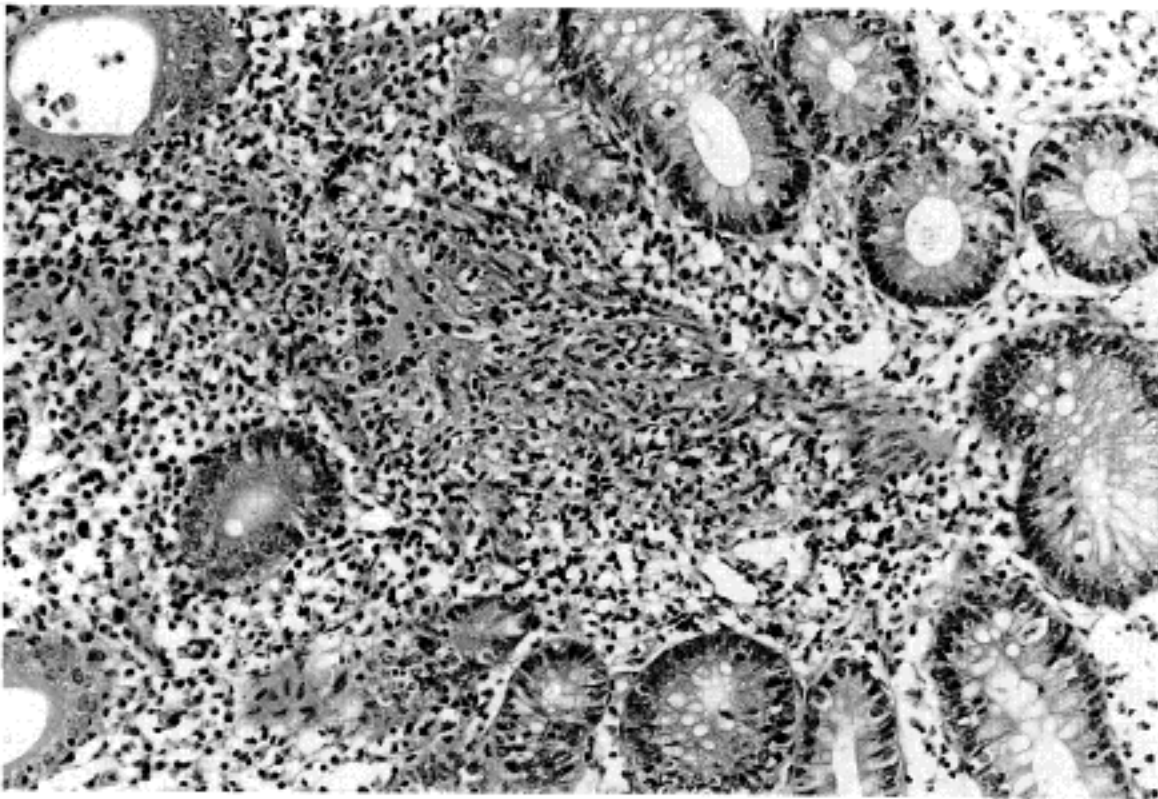


Fig. 2. A small granuloma is noted in the lamina propria of colonic mucosa. Around the granuloma, there is nonspecific chronic inflammatory cell infiltration.

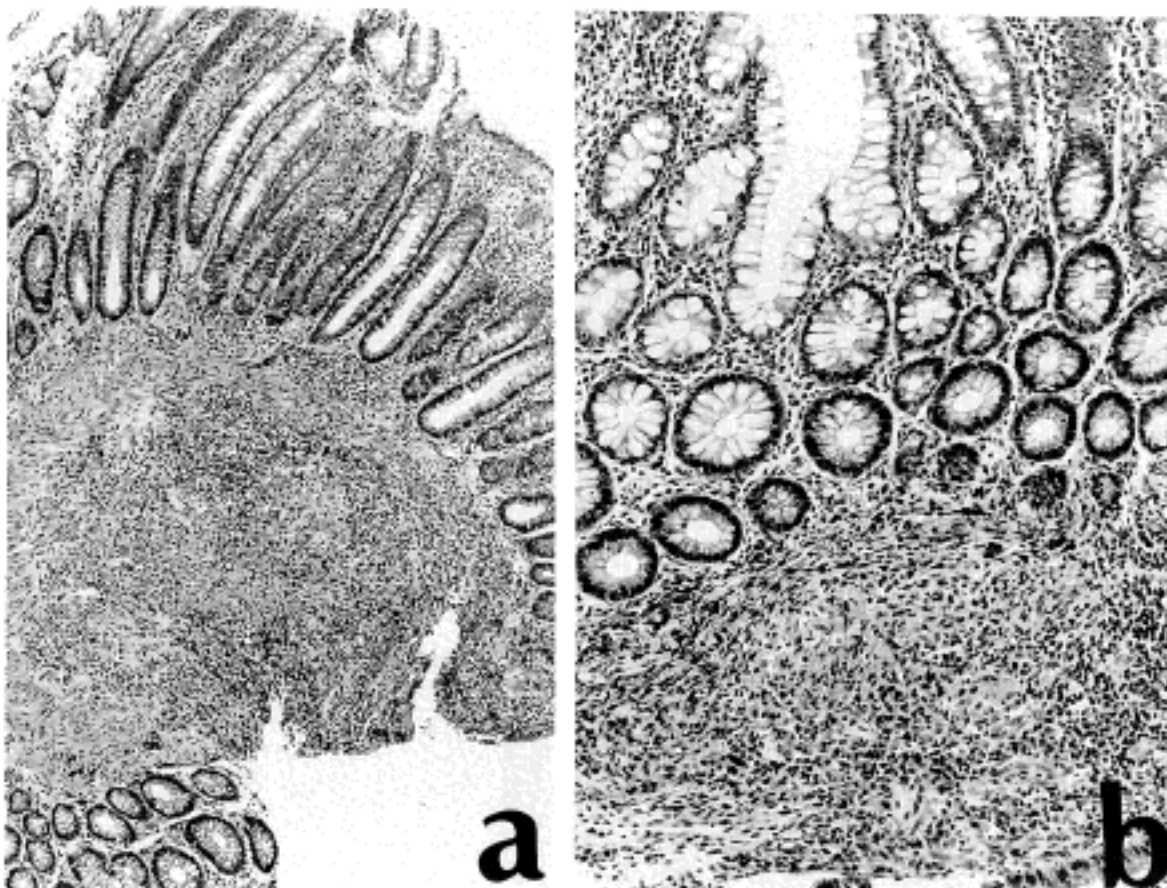


Fig. 3. In the biopsy specimen of nonulcerative nodular lesions, the granulomas were usually noted in the upper portion of submucosa(a) and area of muscularis mucosa(b).



예에서 발견되어 발견율은 73.8%였다. 이 중 건락성 육아종은 7예(22.6%), 비건락성 육아종은 24예(77.4%)에서 발견되었다. 육아종이 비궤양성 혹은 결절성 병변에서 발견된 경우는 20예로 전체 육아종 중 65%를 차지하였는데, 비교적 깨끗한 주변점막을 배경으로 점막근육관(muscularis mucosa)에 인접한 점막의 하부나(Fig. 2) 점막하조직의 상부에서 주로 관찰되었다(Fig. 3a, b). 궤양성 병변에서 생검이 실시된 경우 육아종은 궤양의 기저부에서 주로 발견되었으며(Fig. 4), 이는 전체 육아종의 35%(11예)를 차

지하였다. Langhans 다핵 거대세포는 총 11예(26.2%)에서 발견되었는데 궤양성 육아종에서는 4예(57.1%)에서, 비궤양성 육아종에서는 7예(29.2%)에서 발견되어 궤양이 동반된 육아종에서 흔하였다. 육아종 주변의 점막이나 육아종을 형성하지 않는 부위의 고유점막에는 많은 예에서 상층의 고유점막에 부종이 관찰되었고, 중등도의 비특이적 만성 염증세포들의 침윤만이 관찰되었다.

34예에서 신선조직을 같은 후 도말하여 결핵균의 유무를 살펴보았는데 11예(32.4%)에서 항산성의 간균

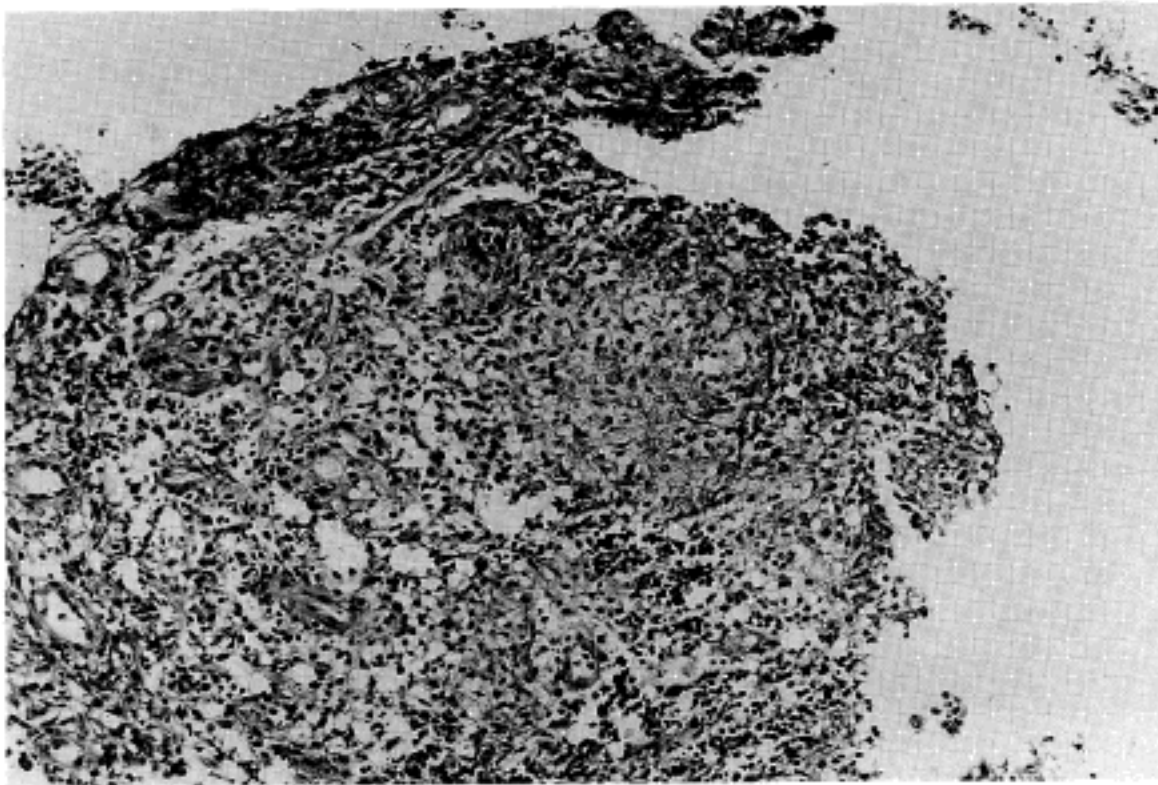


Fig. 4. In the biopsy specimen of ulcerative lesion, the granulomas were usually located in the base of ulcers.

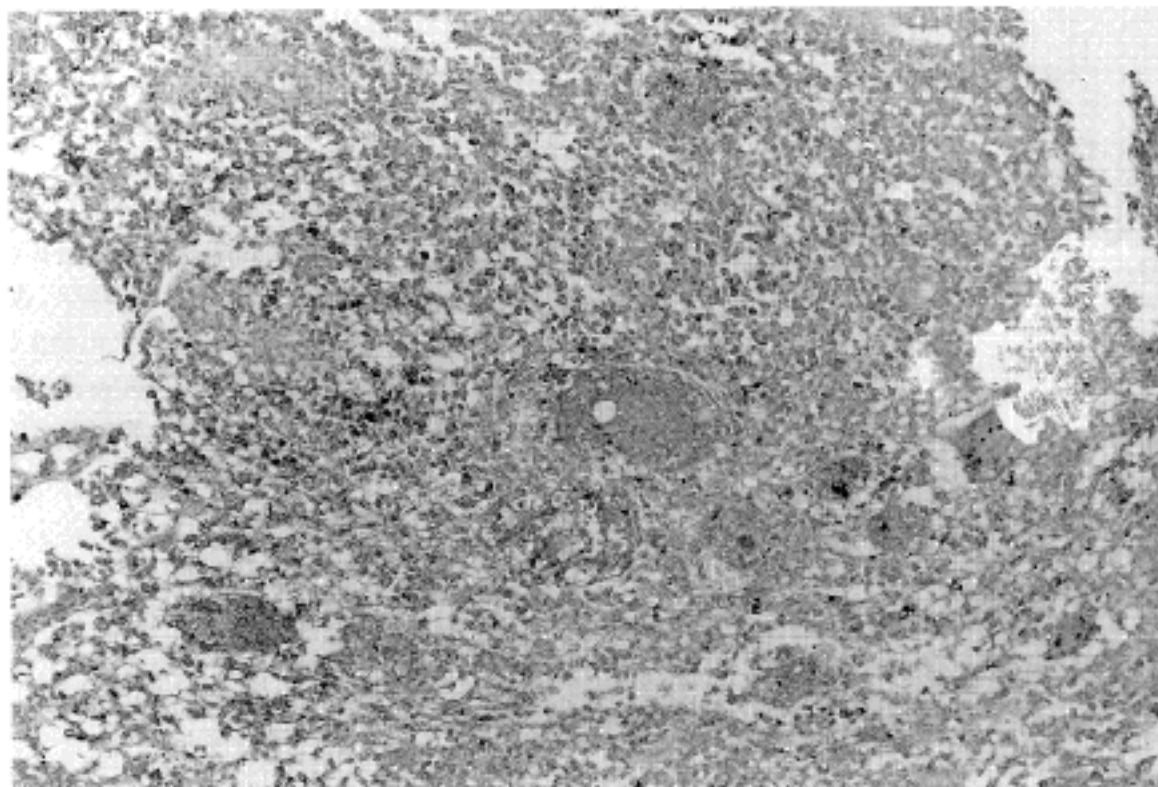


Fig. 5. Immunohistochemical stain showing fine granular red positivity in the necrotic areas, cytoplasm of multinucleated giant cells and epithelioid histiocytes( $\times 200$ ).

**Table 2.** Results of various diagnostic methods in patients with or without granulomatous inflammation in the biopsy material

Case 4(Sur.N)	Sex/Age	Pul. tb	Ziehl-Neelsen stain		tissue culture	PCR			Immunostain
			fresh	/ fixed		fre	/	fix	
<b>Caseating granulomas</b>									
S91-3665	M/22	+	-	+	-	ND		ND	-
S92-2476	M/60	+	+	+	-	ND		+	+
S95-3122	F/24	-	-	-	-	+		-	-
S93-2234	F/33	+	ND	-	-	ND		-	+
S94-126	F/54	+	-	-	+	-		-	+
S95-995	F/24	-	-	+	-	-		+	-
S93-95	M/24	+	ND	-	ND	ND		-	+
<b>Noncaseating Granulomas</b>									
S91-3892	M/41	+	-	-	-	ND		-	+
S91-232	M/43	+	-	-	-	ND		-	-
S91-3606	F/24	+	ND	-	ND	ND		-	-
S92-2863	F/25	+	+	+	-	ND		+	+
S94-2502	M/39	+	+	+	+	ND		-	+
S94-1270	M/31	+	+	+	+	ND		+	+
S94-2318	F/35	+	+	-	+	-		+	+
S96-4172	M/61	+	+	+	ND	ND		+	-
S95-6422	M/34	+	-	+	-	-		ND	-
S91-2498	F/52	+	-	+	-	+		+	+
S95-1646	F/23	+	-	+	-	ND		-	-
S95-2989	F/35	+	+	+	+	-		-	+
S94-1438	F/25	+	+	-	+	+		-	-
S95-4398	F/18	+	+	+	-	+		-	+
S96-159	M/47	+	-	+	+	+		-	+
S95-536	M/24	+	-	-	+	+		-	-
S95-3785	M/49	-	-	-	-	-		-	-
S94-4737	F/39	+	-	-	-	-		-	-
S94-3918	F/28	-	-	-	+	-		-	-
S95-2994	M/38	-	-	-	+	-		-	+
S91-4111	M/18	+	ND	-	ND	ND		-	-
S94-886	F/42	NI	ND	-	ND	ND		-	-
S91-4015	M/66	+	-	+	ND	ND		+	+
S93-2544	F/38	-	ND	-	ND	ND		-	-
<b>No granulomas</b>									
S92-1964	F/25	+	-	-	-	ND		+	-
S93-1887	F/22	+	+	+	+	ND		+	+
S94-4983	M/36	+	+	-	-	ND		-	-
S95-7021	M/45	-	-	-	-	-		-	-
S91-2637	F/39	NI	ND	-	ND	ND		-	-
S96-3975	F/25	NI	-	-	-	-		+	-
S96-4962	F/50	-	-	-	-	-		-	-
S95-4763	M/39	-	-	-	-	-		-	+
S94-3126	F/26	+	-	-	+	-		-	-
S92-2786	M/35	+	ND	-	ND	ND		+	-
S95-3757	M/45	-	-	-	-	ND		-	-

\*ND: not done, NI: not informative, fre: fresh, fix: fixed.

이 관찰되었다. 33예에서는 생검한 조직을 갈아 배양 검사를 실시하였는데 12예(36.4%)에서 결핵균이 배양되었다. 모든 예에서 파라핀 포매된 조직을 이용하여 Ziehl-Neelsen염색을 실시하였는데 15예(35.7%)에서 항산성의 간균이 발견되었다. 이들 균은 주로 육아종을 구성하는 조직구 및 다핵 거대세포, 그리고 괴사부위에서 관찰되었다. 신선조직 및 고정조직 전체에서의 Ziehl-Neelsen염색 양성률은 45.2%였다. 면역조직화학적 검사상 총 42예중 13예(31%)에서 강한 과립상의 양성 반응이 상피양 세포, 괴사성 조직 내, 그리고 다핵거대세포의 세포질에서 관찰되었다 (Fig. 5). 이들 진단방법들간에는 통계학적으로 양성률에 차이가 없었다( $P > 0.05$ ). 그러나 육아종이 존재하는 경우의 결핵균의 양성률은 육아종이 발견되지 않은 경우보다 통계학적으로 유의하게 높았다( $P < 0.05$ )(Table 2, 3).

4) 종합효소 연쇄반응

20예에서 신선 조직을 이용한 종합효소 연쇄반응

을 실시하였는데 4예에서 양성을 보여 20%의 양성률을 보였다. 포르말린에 고정된 40예에서는 12예에서 양성을 보여 양성률 30%였다(Fig. 6). 양자를 합했을때 총 양성률은 41.5%였다(Table 2). 종합효소

Table 3. Comparison of various detection rate in the endoscopic biopsy material having granulomatous lesion and nongranulomatous lesion

Diagnostic methods	Granulomas(+)		Granuloma (-)
	Caseating	Noncaseating	
Fresh tissue AFB	1/5(20%)	8/25(32%)	2/ 9(22%)
Fixed tissue AFB	3/7(43%)	11/24(46%)	1/11( 9%)
tissue culture	1/6(17%)	9/23(39%)	2/ 9(22%)
PCR(fresh & fixed tissue)	3/6(50%)	10/24(42%)	4/11(36%)
immunostain	4/7(57%)	11/24(46%)	2/11(18%)

Table 4. Comparison of PCR with conventional methods in the detection of M. tuberculosis

No. tested	Fresh tissue AFB		Fixed tissue AFB		Culture		Immunostain		Total
	+ve	-ve	+ve	-ve	+ve	-ve	+ve	-ve	
PCR positive	8	8	10	7	6	8	9	8	17
PCR negative	3	14	5	19	6	12	8	16	24
Total	33		41		32		41		

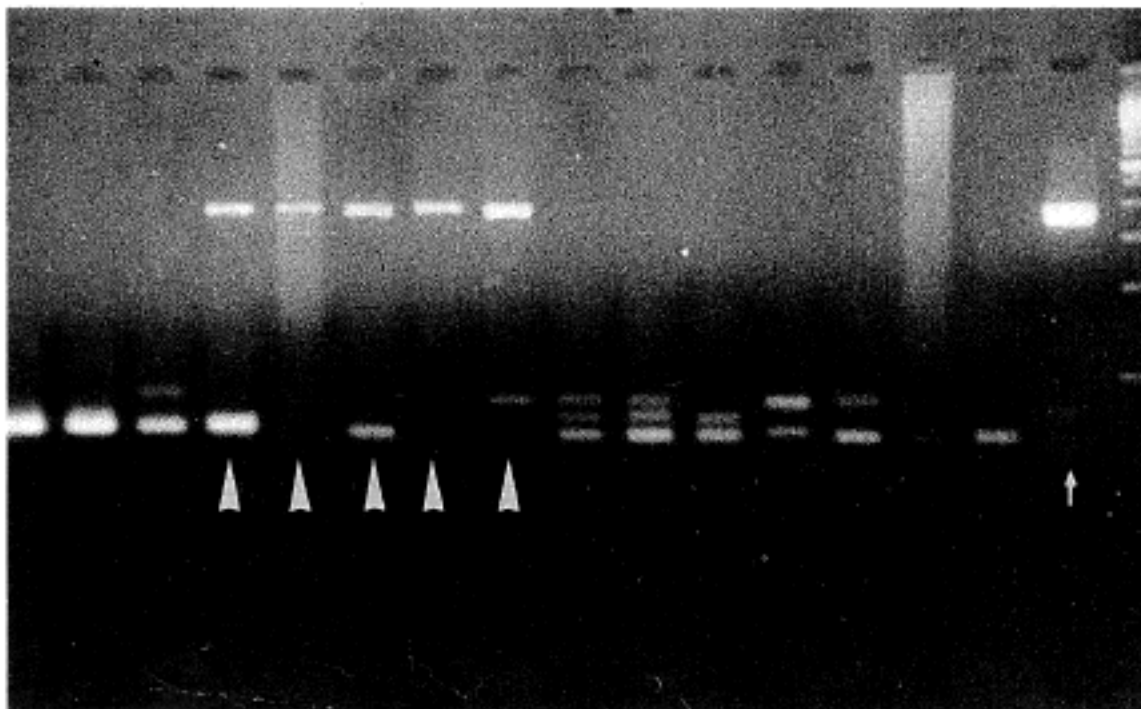


Fig. 6. Ethidium bromide stained agarose gel electrophoresis of PCR product from paraffin embedded endoscopic biopsy material from intestinal tuberculosis patients. There is distinct positive band in the site of 396 base pairs (arrow: positive control, arrow head: positive samples).

연쇄반응과 통상적인 다른 검사방법들간의 결과의 비교는 Table 4에 요약되어 있다.

## 고 찰

결핵은 세계 인구의 1/3을 전염시키고, 1년에 3백만명을 사망시키는 중요한 전염병이다<sup>5</sup>. 이러한 결핵의 원인이 되는 *Mycobacterium*에는 *M. tuberculosis*와 *M. bovis*의 두 종류가 있다. 이들은 호산성의 비운동성 간균으로 밀랍막(waxy coat)을 갖고있어 항산성 염색을 하면 붉게 염색되는 특징을 갖고있다<sup>6</sup>. 결핵은 주로 폐를 침범하지만 균의 독성이 강하거나 숙주가 균에 민감한 경우 진행되어 과종성(disseminated) 질환을 일으킨다. 그래서 예전에는 진행된 폐결핵 환자의 약 70%가 위장관의 결핵이 있었으나 화학요법이 도입된 후 점차 감소하여 최근에는 약 5%정도로 그 빈도가 감소되었다<sup>1</sup>. 따라서 서구에서는 임상적으로나 병리학적으로 폐결핵의 합병증으로 오는 장결핵을 접하기가 쉽지 않은 시대가 되었다. 그러나 면역억제 치료요법을 받는 사람이나 후천성 면역 결핍증 환자들에서는 폐결핵과 동반되지 않는 장결핵의 빈도가 급격히 증가하는 추세이다. 그리고 우리나라에서는 아직도 장관에 궤양성 병변이 띄엄띄엄 분포하는 skip병변을 보이는 경우 크론병보다는 장결핵을 먼저 감별해야 할 정도로 빈도가 높다.

본 연구의 결과 남 : 녀의 성비는 20 : 22였고, 평균 연령은 31.3세로 Bhargava들<sup>7</sup>의 결과(평균 30.2세)와 유사하였다. 임상, 방사선학 및 미생물학적으로 76.3%에서 활동성 폐결핵이 발견된 점은 Koo들<sup>8</sup>의 결과와 비교적 일치하였다. 결핵은 소화기계에 침범하는 경우 회맹부(ileocecal area)를 주로 침범하며 약 반수에서는 결핵종(tuberculoma)을 형성하여 임상적으로 축지되기도 한다<sup>9</sup>. 본 예들에서는 회맹부를 주로 침범하는 양상은 범예들과 유사하나, 축지된 종괴가 발견된 경우는 3예에 그쳤다. 이는 임상 발현 양상이 서구와 다르기 때문이 아니고 예전보다 조기에 결핵을 진단하는 율이 높아진 때문으로 생각되었다. 임상 증세는 특징적이지 않은 증상이 대부분이어서 특별한 진단적 중요성을 찾을 수는 없었다. 동통은 주로 하복부에 심하였으며 복수의 빈도가 극히 드문점이 대부분의 예에서 복수가 동반되는 복막 결핵과는 감별되는 점이었다. 검사실 소견상으로는 빈혈이 가장 흔한 소견이었는데 이것은 결핵균에 의한 직접적인 염증반응과 함께 증상으로

발현된 식욕감퇴와 만성적인 설사 등에서도 그 원인을 추측할 수 있었다.

병리의사들에게 있어서 결핵을 진단하는 것은 건락성 괴사를 동반하는 육아종을 보고 그 가능성을 추정하거나 Ziehl-Neelsen염색을 실시하여 항산성의 균을 관찰하는 것이 가장 손쉬운 조직학적 진단 방법이다. 육아종은 지속적인 결핵균 항원자극에 대한 세포성 면역반응 기전의 결과이며 적절한 육아종성 반응은 결핵감염을 저지시킬 수 있는 중요한 숙주 방어기전이다<sup>10</sup>. 그러나 육아종만 관찰되는 경우 결핵의 추정은 가능하나 확진이 불가능하고, 검체가 부족하여 조직학적 변화가 뚜렷하지 않을 경우 진단에 매우 큰 어려움이 있다. 이를 뒷받침하기위해 피부 검사(PPD skin test), 미생물 검사(Gram염색, AFB염색), 세균의 배양법등이 이용되었고 최근에는 분자생물학의 발전으로 핵산 탐침법 및 중합효소 연쇄반응 등을 이용한 진단 방법들이 시도되고 있다<sup>11</sup>.

본 연구에서 대장경을 통해 얻은 조직은 대부분 점막과 상층의 점막하 조직을 포함하였으며 궤양을 동반한 경우 괴사성의 기저부를 포함하였다. 육안적으로 결절성 병변에서 채취된 조직의 경우 깨끗한 배경하에 극히 소수의 육아종을 보이는 결핵 초기의 조직학적 소견들이 관찰되었는데, 이중 대부분의 육아종이 점막과 점막하조직의 경계부위인 점막 근육판에 인접하여 있어서 육아종을 관찰하기 위해서는 최소한 점막 근육판은 포함되어야 할 것으로 생각되었다. 본 실험에서는 육아종이 내시경적 소견과는 별 상관없이 결절성 및 궤양형등 많은 예에서 발견되어 총 발견율은 73.8%로 비교적 높은 편으로 추정되었으나 그 발견율에 대한 통계학적 근거자료가 거의 없어서 다른 실험과 비교할 수는 없었다. 위의 결과는 결절성 병변에서는 육아종이 발견되지 않았다는 Bhargava들<sup>12</sup>의 결과와는 상반되었는데, 그들의 연구에서는 생검 검체를 10개씩 채취하였음에도 불구하고 1예를 제외한 나머지 전 예에서 점막만이 생검에 포함되어 있었던 점을 감안할 때 검체가 적절치못한 때문으로 생각되었다. 따라서 조직학적으로 결핵의 가능성을 진단하기 위해서는 검체의 수가 중요한 것이 아니고 적절한 채취부위와 생검의 깊이가 훨씬 큰 영향을 미치는 요인임을 본 연구를 통하여 알 수 있었다. 본 연구에서 보면 육아종이 발견된 경우 결핵균의 발견률이 통계학적으로 유의있게 높았으므로 내시경 및 조직학적 검사를 할 때에 육아종을 찾으려는 노력을 하는 것이 필요하다고 생각되었다. 42예의 연구대상 중 육아종이



발견되지 않은 3예에서도 Ziehl-Neelson염색상 균이 발견되었는데, 이중 2예는 피사부위에서, 그리고 1예는 새로이 슬라이드를 만들었을 때 육아종이 관찰되어서 비특이적 염증반응만 있는 경우 균이 발견되지 않음을 알 수 있었고 또한 결핵이 의심될 경우 피사성 궤양의 기저부가 발견될 경우 Ziehl-Neelson염색을 시행하여 균을 확인하는 것이 진단에 도움을 줄 수 있을 것으로 예측되었다. 그러나 결핵균의 유무와 건락성 피사의 존재 여부는 별다른 상관성이 발견되지 않았다.

본 실험에서는 내시경 생검조직을 이용하여 장결핵의 확진을 위해 생검조직의 도말법, 대변 및 생검조직의 배양법, 고정된 조직의 항산균 염색법, 면역조직화학적 염색법 및 중합효소 연쇄반응법 등의 여러가지 진단 방법들을 실시하였다. 일반적으로 Ziehl-Neelsen 항산균 염색법은 신속하고 비용이 적게 든다는 장점이 있으나 예민도가 낮아서 객담의 경우  $10^4/ml$  이상의 균이 존재해야만 검출이 가능하고 항결핵제 투여 후 균체막의 변화로 인해 비항산성을 보이는 경우에 위음성의 가능성이 높다는 단점이 있다<sup>13</sup>. 또한 항산균의 검출은 nocardia나 일부의 corynebacterium 에서도 양성반응을 보이는 수가 있어 추정진단에 불과하다는 주장도 있으나<sup>11</sup> 본 예들의 경우 결핵균에 의한 지연된 과민반응의 결과로 생긴 육아종이 많은 예에서 관찰되었고 연구의 대상이 임상적으로 결핵인 장조직이었으므로 다른 비특이적인 균들의 가능성은 배제할 수 있었다. 항산균 염색을 하여 나타나는 결핵균의 양성률은 비교적 낮은 편으로 림프절의 신선 검체를 사용하였을 때 약 25%에서 45%정도이다<sup>13</sup>. 본 연구에서는 신선 조직을 사용한 경우의 양성률이 32%, 고정된 검체를 사용한 경우가 36%로 총 45.2%의 높은 양성률을 보였는데 그 이유는 첫째, 본 실험의 대상군인 장결핵 환자 중 대부분이 활동성 폐결핵에 이환된 후 이차적으로 병발한 예들이었고, 둘째로 경험이 많은 내시경 의사에 의해 충분한 양의 검체를 적절한 장소, 즉 가장 병변이 심한 부위나 궤양의 기저부 등 병리학적 변화가 잘 나타날 수 있는 곳에서 생검을 실시한 것도 큰 이유이며, 셋째로는 항산균 염색을 여러 절편에서 실시하여 세심한 현미경 관찰을 하므로써, 10예에서는 하나의 균까지도 발견할 수 있어서 비교적 높은 양성률을 보였다고 생각된다.

배양검사법은 양성으로 나타나는 경우 특이도는 100%에 이르나 동정을 해야하는 번거로움이 있고 3~6주 이상의 배양시간이 소요될 뿐 아니라 균수가

적은 때에는 여러번 반복하여 시행하지 않으면 안된다<sup>14</sup>. 배양시간을 단축하기 위해 BACTEC배지가 개발되었으나 이 방법도 10~12일이 소요되고 비용이 비싸며 검사과정이 복잡하다는 단점이 있다<sup>11</sup>. 본 예에는 조직을 갈아 배양한 양성률이 36.4%로서 비교적 높은 편이었고, 배양된 균의 균집을 확인하여 균의 종류가 *M. tuberculosis* 라는 것을 확인 할 수도 있어서 장결핵의 진단에 큰 도움이 되었다.

면역조직화학적 염색에 의한 결핵의 진단은 1987년 Humphrey와 Weiner<sup>15</sup>에 의해 기술된 이후 여러 연구를 통해 검증되고 있는 결핵의 조직학적 진단 방법의 하나이다. 이것은 항원-항체 반응을 이용하는데, 균 자체 뿐만 아니라 균체의 벽을 구성하는 구성 성분이나 파괴된 균의 조각에도 양성 반응을 보이므로 균체에만 염색이되는 Ziehl-Neelsen염색에 비해 양성부위가 넓고, 양성 부위는 배경과 뚜렷한 대조를 보이므로 현미경의 저배율 시야에서도 쉽게 인지되는 장점이 있는 반면 양성 반응이 피사부위나 조직구의 세포질 내에 과립형으로 나타나므로 위양성 판단의 가능성이 높다는 단점이 있는데<sup>16</sup>, 본 실험을 하면서도 이러한 장단점을 모두 인지할 수 있었다. 면역조직화학적 염색의 결과와 Ziehl-Neelsen 염색의 결과는 매우 일치율이 높았으나, 균 발견율이 Ziehl-Neelsen염색에서 더 높았고, 내시경 생검조직의 경우 크기가 작은 편이어서 현미경을 이용하여 결핵균을 찾는 데에 큰 어려움이 없었기 때문에 장결핵의 진단에 있어서 위양성 판단의 가능성이 있는 면역조직화학적 염색의 중요성은 발견할 수 없었다.

최근에는 임상 검체에서 추출한 DNA를 이용하여 중합효소 연쇄반응 등 분자병리학적 방법들을 이용하여 결핵을 진단하려는 많은 연구가 진행되고 있다. 그러나 대부분의 결과들을 보면 결핵균의 발견률이 Ziehl-Neelsen 염색과 비교하여 별다른 차이가 없어서 많은 노력과 비용에도 불구하고 특수염색과 비교하여 중합효소 연쇄반응의 명백한 우위성은 확립시키지 못한 상태이다<sup>17</sup>. 기존의 결핵에서의 중합효소 연쇄반응은 대부분 객담, 뇌척수액, 폐조직 및 흉막액 등만을 이용하였고 장결핵에서의 중합효소 연쇄반응의 결과는 몇몇 증례보고 외에는 찾아볼 수 없었다. 본 실험에서는 많은 예에서 중합효소 연쇄반응을 실시하여 다른 통상적인 진단방법들과 비교를 하였는데 양성률은 비교적 높은 편이었으나 시간과 노력이 많이 요구되어 Ziehl-Neelsen 염색과 비교할 때 상대적인 우위성을 찾을 수는 없

었다. 본 실험에서 중합효소 연쇄반응의 양성물이 기존의 문헌들<sup>18,19</sup>에서 보인 양성물보다 낮은 이유는 ① 조직검체가 내시경 생검조직으로서 그 크기가 매우 작아 DNA의 양이 매우 적고, ② Ziehl-Neelsen 염색상 한개의 군이 관찰된 경우가 10에나 되었는데, 군의 수가 적은 조직에서 절편을 깎는 도중 군이 없는 부위에서 DNA를 추출할 가능성이 있으며, ③ 기왕의 높은 양성률을 보인 문헌의 경우 중합효소 연쇄반응을 실시한 예의 수가 다른 검사방법을 실시한 예들에 비해 상대적으로 매우 적으며, ④ 위 음성의 가능성을 고려할 수 있겠다. 그러나 네번째의 가능성을 최소화하기 위해 음성으로 나온 예들은 지표자 DNA(indicator DNA)를 첨가하여 중합효소 연쇄반응을 재시행하므로써 그 가능성을 배제할 수 있었다. 그렇지만 본 실험의 중합효소 연쇄반응 양성률이 상대적으로 낮은 것만은 아니어서 Manjunath 들<sup>21</sup>의 결과인 26.5% 보다는 상대적으로 높은 양성률을 보이기도 하였다. 비록 중합효소 연쇄반응의 전체 양성률이 Ziehl-Neelsen염색의 양성률에는 미치지 못하나 염색상 음성으로 나온 7예에서 중합효소 연쇄반응은 양성을 보여 이 두 방법을 동시에 실시할 경우 결핵균의 발견률을 훨씬 높이는 데에 기여할 수 있을 것으로 보이며, 배양검사와 같이 실시할 경우 양성률도 높이고 M. tuberculosis의 균종을 확인할 수도 있어서 높은 진단적 가치를 가질 것으로 생각되었다.

## 결 론

대장경 생검을 통하여 확진된 장결핵에 대한 임상 및 병리학적 분석과 더불어 장결핵의 여러 진단 방법, 즉 생검 조직의 배양법, 생검조직을 갈은 후 Ziehl-Neelsen염색을 실시하는 직접 도말 염색법, 고정된 조직의 Ziehl-Neelsen염색법, 면역 조직화학적 염색법, 신선 및 고정된 생검조직을 이용한 중합효소 연쇄반응법 등을 실시한 후 각 진단방법을 비교 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 임상적으로 가장 흔한 증상은 복통이었고, 검사실 소견상 대부분의 예에서 빈혈의 소견을 보였으며 장결핵 환자의 76.3%가 활동성 폐결핵을 갖고 있었다.

2. 대장 내시경 검사 소견상 주변 점막의 비후를 동반하는 궤양이 가장 흔하였다. 81%에서는 회맹부를 포함한 대장을 침범하였고, 연속적 혹은 분절성으로 대장만을 침범한 예들이 19%에서 관찰되었다.

3. 육아종은 73.8%에서 발견되었으며, 이중 괴사성 육아종은 22.6%, 비괴사성 육아종은 77.4%였다.

4. 육아종의 위치는 점막의 하부나 점막하조직의 상부 등 고유근에 인접하여 분포하였다.

5. 육아종이 발견된 경우가 발견이 안된 경우보다 결핵균의 발견률이 유의있게 높았다( $P < 0.05$ )

6. 조직학적으로 결핵의 가능성을 진단하기 위해서는 검체의 수가 중요한 것이 아니고 적절한 채취 부위와 깊이가 훨씬 큰 영향을 미치는 요인이었다.

7. 본 실험에서 시행한 대부분의 검사법이 30% 이상의 양성률을 보여 통계학적으로 유의한 차이는 없었으나, 배양법과 고정된 조직에서 시행한 Ziehl-Neelsen염색이 가장 민감도가 높은 검사방법이었다.

이상의 결과로 장결핵의 진단을 위해서는 육아종이 존재하는 경우 손쉬운 Ziehl-Neelsen염색을 실시하여 세심하게 관찰하는 것이 가장 손쉽고, 빠르며, 민감도가 높은 검사방법이었으며, 이를 배양법이나 중합효소 연쇄반응 등의 다른 진단법들과 병행할 때 장결핵의 확진율은 매우 높아질 것으로 기대된다.

## 참 고 문 헌

1. Sheahan DG, Rotterdam H. Small intestine. In: Biopsy diagnosis of the digestive tract. vol 2. New York: Raven Press, 1992: 383-5.
2. Hong YP. Epidemiology of tuberculosis on the basis of nation-wide tuberculosis prevalence surveys. J Kor Med Assoc 1991; 34: 468-76.
3. 서연립, 김용일. 결핵성 장염의 육안적 특성 분석. 대한 병리학회지 1986; 20: 42-8.
4. Gilinsky NH, Marks IN, Kottler RE, Price SK. Abdominal tuberculosis; A 10-year review. S Afr Med J 1983; 64: 849-57.
5. Bloom BR, Murray CJL. Tuberculosis: Commentary on a reemerging killer. Science 1992; 257(5073): 1055-64.
6. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Infectious disease. In Pathologic basis of disease. 5 th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1994: 305-79.
7. Bhargava DK, Tandon HD, Chawla TC, Tandon BN, Kapur BML. Diagnosis of ileocecal and colonic tuberculosis by colonoscopy. Gastrointestinal Endoscopy 1985; 31(2): 68-70.
8. Koo J, Ho J, Ong GB. The value of colonoscopy in the diagnosis of ileocecal tuberculosis. Endoscopy 1982; 14: 48-50.
9. Howell JS, Knapton PJ. Ileo-cecal tuberculosis. Gut

- 1964; 5: 524-9.
10. 백태현. 결핵의 병태생리. 결핵 및 호흡기 질환 1991; 38(4): 331-9.
  11. 신완식. 결핵진단의 면역학적 및 분자생물학적 방법. 결핵 및 호흡기 질환 1992; 39(1): 1-6.
  12. Bhargava DK, Tandon HD. Ileocecal tuberculosis diagnosed by colonoscopy and biopsy. Aust NZ J Surg 1980; 50: 583-5.
  13. Gupta Sk, Chugh TD, Sheiki ZA, Al-Rubah NA. Cytodiagnosis of tuberculous lymphadenitis-A correlative study with microbiologic examination. Acta Cytol 1993; 37: 329-32.
  14. Bates JH, Brennan PJ, Douglas GW, Feely JC, Glassroth J, Kohne DE, Martin WJ, Wayne LG, Zeiss CR. Improvements in the diagnosis of tuberculosis. Am Rev Respir Dis 1986; 134: 415-23.
  15. Humphrey DM, Weiner MH. Mycobacterial antigen detection by immunohistochemistry in pulmonary tuberculosis. Hum Pathol 1987; 18: 701-8.
  16. 조미연, 정순희, 양우익. 결핵균 발견에 관한 면역조직 화학적 염색과 Ziehl-Neelsen염색의 비교. 대한병리학회지 1993; 27: 243-8.
  17. Wit DE, Steyn L, Shoemaker S, Sogin M. Direct detection of Mycobacterium tuberculosis in clinical specimens by DNA amplication. J Clin Microbiol 1990; 28: 2437-41.
  18. Pietrzak J, Frei R, Senn HP, Moroni C. Comparison of polymerase chain reaction with standard methods in the diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1994; 13(12): 1079-83.
  19. Kaltwasser G, Garcia S, Salinas AM, Rioseco ML, Montiel F. Amplification of 2 different segments of Mycobacterium tuberculosis and its usefulness in the diagnosis of tuberculosis. Rev Med Chil 1993; 121(12): 1359-66.
  20. Manjunath N, Shankar P, Rajan L, Bhargava A, Saluja S, Shrinivas. Evaluation of a polymerase chain reaction for the diagnosis of tuberculosis. Tubercle 1991; 72: 21-7.
-