

# 결핵 코호트 구축 및 운영

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실 **민진수\***충북대학교 의과대학 내과학교실 **이기만**

\*교신저자 : minjinsoo@gmail.com, 042-220-2129

## 초 록

항결핵 치료의 실패 원인 중 하나는 내성 유전자 변이의 발생이다. 이 중 표현형 억제감수성 검사와 유전형 억제감수성 검사 결과의 불일치를 유발하는 돌연변이(disputed mutation)는 결핵 치료 실패나 부적절한 치료의 원인이 되기도 한다. 이는 주로 낮은 수준의 내성을 유도하지만 때때로 항결핵제의 효과를 떨어뜨려 치료기간의 연장이나 다제내성 결핵을 유발할 수도 있다.

본 원고에서는 2016년부터 2018년까지 진행하였던 결핵 코호트 운영 사업의 설립 및 운영 과정에 대하여 소개하고자 한다. 저자들은 폐결핵 환자를 등록하는 다기관 전향적 코호트를 구축하였으며, 이 연구의 목적은 다음과 같다. 첫째, 억제 내성의 특징 및 내성과 관련된 유전자 돌연변이를 확인하고 둘째, 표현형과 유전자형 억제감수성검사의 결과를 비교하고 불일치 여부를 확인하여 셋째, 내성 불일치 돌연변이(disputed mutation)를 갖는 결핵균에 감염된 환자의 치료 예후를 확인하기 위함이다. 이번 연구를 바탕으로 유전자 변이 형태에 따른 결핵의 진단 및 치료 개선 방안을 제시하고자 한다.

**주요 검색어 :** 결핵 코호트, 억제감수성검사, 유전자, 치료, 예후

## 들어가는 말

결핵은 전 세계 10대 사망원인 중 하나로 질병부담이 큰 질병이다[1]. 2018년 전 세계 202개국의 결핵 환자는 약 1,000만 명(인구 10만 명당 130명)이 발생하였으며, 결핵으로 인한 사망자수는 약 150만 명(인구 10만 명당 20명)으로 추정되었다. 이에 유엔(United Nations, UN)은 새천년 개발 목표(Millennium Development Goals, MDGs)와 지속 가능한 개발 목표(Sustainable Development Goals, SDGs)에 결핵관리 전략을 포함시키고 있으며, 세계보건기구(World Health Organization, WHO)에서는 결핵 퇴치 전략(STOP TB Strategy, 2000~2015)에 이어 결핵 근절

전략(END TB Strategy, 2016~2035)을 통해 전 세계의 결핵 발생과 사망을 감소시키기 위한 노력을 기울이고 있다. 결핵 근절 전략(END TB Strategy)에는 3가지 주요 목표가 있으며, 그 중 세 번째 목표가 '강화된 결핵 연구와 기술 혁신'이다. 여기에서는 결핵에 관한 새로운 진단 또는 치료 기법과 전략을 발견하고, 활용하는 것이 중요함을 강조하였다.

우리나라의 2018년 결핵 신환자수는 26,433명(10만 명당 51.5명)으로 최근 5년간 연평균 6.3% 지속적 감소 추이를 보이고 있다[2]. 하지만, 여전히 경제협력개발기구(Organization for Economic Cooperation and Development, OECD) 36개 회원국 중 결핵 발생률은 1위, 사망률은 2위를 기록하였다. 우리나라는 「결핵예방법

제5조에 따라 결핵관리종합계획을 수립 및 시행하고 있으며, 2022년까지 결핵발생률을 절반 수준으로 줄이는 것을 목표로 하는 '제2기 결핵관리종합계획(2018~2022)'을 마련하였다[3]. '결핵 연구 개발(R&D) 사업의 역량을 강화'하는 것은 주요 추진 전략 중 하나이다. 또한, 범부처 감염병 대응 연구개발 추진위원회는 '제1차 국가 감염병 위기대응 기술개발 추진전략'을 종료하였다. 이후 변화된 국가 감염병 위기현황을 반영하여 2016년 국가 방역체계 연계 및 강화를 위한 '제2차 국가 감염병 위기대응 기술개발 추진전략'을 수립하여 발표하였다[4]. 10대 중점분야 중 하나로 결핵을 선정하였으며, '결핵 퇴치를 위한 고도화된 결핵 관리 체계 및 결핵 발견, 치료, 예방, 효능 증대 등 획기적인 대응기술개발이 필요함'을 강조하였다.

결핵 연구 개발 사업의 중요성이 대두됨에 따라 질병관리본부는 결핵 환자를 대상으로 다기관 전향적 코호트를 구축하였으며 결핵의 질병 기전, 감염 위험 요인 규명, 치료 효과의 신속 확인 등을 위한 연구 기반을 마련하고 있다. 본 원고에서는 2016년부터 2018년까지 진행하였던 결핵 코호트 운영 사업의 설립 및 운영 과정에 대하여 소개하고자 한다.

## 몸 말

### 1. 연구 배경

이소니아지드(Isoniazid, INH)와 리팜핀(Rifampicin, RIF)을 포함한 2개 이상의 약제에 내성이 있는 결핵균에 의해 발생한 다제내성 결핵(Multidrug-resistant tuberculosis, MDR-TB)은 우리나라에서 2018년 618명이 신고되었으며 이는 전년 대비 9.3% 감소한 수치이다. 다제내성 결핵은 오랜 치료 기간과 심한 부작용, 그리고 이에 따른 높은 치료 중단율 등으로 치료 성공률이 전 세계적으로 50% 정도에 그치고 있다. 다제내성 결핵의 진단은

전통적으로 배지를 이용한 표현형 약제감수성검사<sup>1)</sup>를 이용하여 진단되었으나, 결과 보고까지의 시간이 오래 걸리는 것이 주요 단점이다. 따라서 최근에는 신속하게 결과 확인이 가능한 결핵균 유전자형 약제감수성검사<sup>2)</sup>가 많이 이용되고 있다.

우리나라에서 현재 널리 사용되는 유전자형 약제감수성검사로 line probe assay인 MTBDR<sub>plus</sub> assay가 있다. 이는 이소니아지드와 리팜핀 내성 관련 유전자 돌연변이를 검출하는 방법이다. 이소니아지드 내성 진단은 *katG*, *inhA* 유전자의 돌연변이를 검출하고, 리팜핀 내성 진단은 *rpoB* 유전자의 돌연변이를 검출한다. 모든 약제 내성이 위의 유전자 돌연변이만으로 발생하는 것은 아니므로 약제내성 진단의 민감도는 100%에 이르지 못한다. 또한, 내성 유발 유전자 돌연변이가 존재하지만 표현형 약제감수성검사에서는 감수성으로 확인되는 경우가 있으며, 불일치의 원인으로 표현형 약제감수성검사에서 사용하는 약제의 임계농도가 잘못 설정되어 감수성으로 판단되지만 실제로는 내성을 유발하는 돌연변이가 있는 경우, 실제로 돌연변이가 약제내성과 무관할 가능성, 또는 내성 돌연변이가 발생했음에도 실제로는 타 보상기전에 의하여 감수성을 유지하는 경우 등이 있다[5]. 이렇게 유전자 돌연변이가 있지만 표현형 약제감수성검사에서 감수성으로 확인되는 경우를 내성 불일치 돌연변이(disputed mutation)라고 한다. 내성 불일치 돌연변이(disputed mutation)를 갖는 결핵균에 감염된 환자는 약제감수성결핵균에 감염된 환자보다 나쁜 예후와 관련되어 있다는 보고가 있으나 대부분 후향적 연구에 기반하고 있다. 또한, 특정 유전자 변이와 치료 예후의 상관관계를 확인하는 전향적 연구는 부족한 상황이다.

### 2. 연구 목적

이번 전향적 코호트 연구에서는 우리나라의 항결핵제 내성의 임상적 특징을 확인하고자 하며, 코호트 연구의 목적을 다음의 3가지로 요약할 수 있다. 첫째, 약제 내성의 특징 및 내성과

1) 항결핵제가 포함된 배지와 포함되지 않은 배지에 결핵균을 접종하여 결핵균의 증식 여부를 보고 약제 내성 여부를 판정하는 방법이다.

2) 결핵균의 약제 내성과 관련된 유전자 변이를 분자생물학적 방법으로 확인하는 검사이다. 배지를 이용한 검사와 달리, 검사 소요시간이 짧아 통상적으로 '신속 내성 검사'로 칭해진다.

관련된 유전자 돌연변이를 확인한다. 둘째, 표현형과 유전자형 억제감수성검사의 결과를 비교하고, 불일치 여부를 확인한다. 셋째, 내성 불일치 돌연변이(disputed mutation)를 갖는 결핵균에 감염된 환자의 항결핵 치료 예후를 확인한다.

### 3. 코호트 연구 설계

이 연구는 2016년부터 2018년까지 세 개의 대학병원(충북대학교병원, 충남대학교병원, 일산백병원)에서 진행한 전향적 관찰 코호트 연구이다[6]. 폐결핵 환자 600명을 등록하였으며, 선정 기준은 19세 이상 성인이며, 폐결핵이 진단 또는 의심이 되어 항결핵 약제 복용을 계획하거나, 복용한 기간이 1개월 미만인 환자이다. 사례 보고서 양식을 사용하여 폐결핵 환자의 임상 및 역학 자료를 개별적으로 수집하였다. 추적 관찰 시기는 항결핵약제 복용 시작 후 2주와 4주, 2개월, 4개월, 6개월, 9개월이며 각 방문 시 결핵 치료 결과와 관련된 요인을 확인하기 위한 문진 및 평가가 이루어졌다.

모든 호흡기 검체는 4% N-acetyl-L-cysteine-Sodium hydroxide로 탈염용화하고 3000 g에서 15분간 원심분리하여 농축하였다. 결핵균 및 리팜피신 내성 유전자 돌연변이의 빠른 검출을 위해 각 병원에서 항산균 배양 검사<sup>3)</sup> 및 Xpert MTB/RIF assay를 실시하였다. 고체(3% Ogawa media) 및 액체(BACTEC MGIT 960 System) 배양 검사는 위탁한 중앙 검사 기관에서 일괄 시행되었다. 배양된 결핵균을 사용하여 표현형 억제감수성검사와 MTBDRplus assay를 시행하였으며, 표현형 억제감수성검사는 세계보건기구에서 권장하는 Löwenstein-Jensen 배지를 기반으로 하는 절대 농도법으로 시행되었다. 국립보건연구원서 MYCOTB MIC plate (Sensititre)를 기반으로 항결핵제의 최소 억제 농도(minimum inhibitory concentration, MIC)를 측정하였고 생어(Sanger) 염기서열 분석을 통해 내성 유전자의 돌연변이를 확인하였다.

결핵 치료는 결핵진료지침에 따라 이소니아지드, 리팜핀,

에탐부톨(Ethambutol, EMB), 피라진아마이드(Pyrazinamide, PZA)를 사용한 2개월 집중 치료와 이소니아지드, 리팜핀, 에탐부톨을 사용한 4개월 유지 치료로 구성된 6개월 표준치료를 기본으로 수행하였고 약제 내성이 동반된 경우 결핵진료지침에 따라 임상이가 판단하여 개별 치료를 하였다. 최종 치료 결과는 완치와 완료를 포함한 치료 성공과 실패, 중단 및 사망을 포함한 불량한 예후로 구분하였다.

### 4. 연구자 및 연구기관 네트워크 구성

연구 참여기관의 결핵과 관련된 의료진(호흡기내과 및 진단검사의학과)을 중심으로 예방의학전문의와 연구 간호사가 연구자 네트워크를 구성하였다. 또한 국립보건연구원과 중앙검사기관과의 협의를 거쳐 연구기관 네트워크를 구성하였다. 총괄팀은 용역연구를 수행하며 행정업무를 담당하였고, 기관생명 윤리위원회의 심의 및 승인신청 업무를 수행하였다. 운영팀은 각 기관의 연구 담당자로 구성하였으며 검체 수집, 증례기록서 작성 및 연구자료의 전산화 등을 총괄하였다. 역학·분석팀은 표준화된 조사서 및 지침서를 개발하고, 코호트 데이터베이스의 자료를 정제하고 관리하며, 용역 사업의 연구 목표에 따른 성과 도출을 위해 자료를 분석하였다.

중앙검사기관의 역할은 다음과 같으며, 추가로 필요한 사항은 용역수행기관과 발주업체가 협의하여 진행하였다. ① 각 기관에서 채취된 검체를 중앙검사기관으로 운송한다. ② 각 기관에서 채취된 검체를 질병관리본부에서 요구하는 방법으로 시료를 제작한다. ③ 제작된 시료를 질병관리본부로 운송한다. ④ 각 기관에서 채취된 객담 검체를 이용하여 항산균 배양 검사 및 억제감수성검사를 시행한다. ⑤ 항산균 배양 검사에서 동정된 결핵균은 추가로 시료를 제작하여 질병관리본부로 보낸다.

### 5. 기여도 및 활용 방안

3) 항산균 배양 검사는 결핵을 확인할 수 있는 검사이다. 배양 검사에 사용되는 배지의 종류는 크게 고체배지와 액체배지로 나눌 수 있는데, 고체배지는 계란 성분의 배지인 Löwenstein-Jensen 배지가 표준배지이며, 오래 전부터 사용되어 온 방법으로 안정적이지만, 배양 여부를 확인하는데 3~8주의 시간이 소요되는 한계가 있었다. 액체배지의 개발로 배양양성 보고에 소모되는 시간을 줄일 수 있었으며, 다양한 자동화된 액체배지(BACTEC460, MGIT)들이 개발되었다.

내성 유전자 변이 형태에 따른 결핵 치료 결과를 확인하고 치료 약제의 추가나 치료 기간의 조절, 치료 종결 후 추적 관찰의 개선 방안 등을 탐구하여 '약제내성결핵<sup>4)</sup> 치료 지침'을 제시할 수 있다. 또한, 유전자기반 약제감수성검사 유무에 따른 치료 결과에 미치는 영향을 파악하고, 유전자기반 약제감수성검사의 중요성을 확인하여 보다 효과적인 '항결핵제 약제감수성검사 지침'을 제시할 수 있다.

## 맺는 말

이번 연구를 통하여 폐결핵 환자의 전향적 코호트를 구성하였으며 표준화된 작업지침서와 증례기록서에 따라 정기적인 추적 관찰을 시행하였고 임상 정보를 수집하고 검체를 자원화하였다. 전향적 코호트 연구의 장점은 시간 경과에 따라 연구 대상자를 추적하므로 연구 대상이 위험에 노출된 시기부터 질병이 발생하기까지의 전반적인 과정을 관찰할 수 있는 것이다. 결핵 코호트를 구축함으로써 다양한 자료를 전향적으로 정확하게 수집하는 것이 가능하고, 검체를 자원화할 수 있었다.

전 세계적으로 결핵 예방, 진단 및 치료의 연구 개발에 대한 관심과 지원이 늘고 있다. 예를 들어 결핵 확진 검사로 알려진 객담 배양 검사를 대체할 수 있는 혈액과 소변을 사용한 진단 검사 기술의 개발, 결핵 치료의 예후를 판정할 수 있는 표지자 개발, 그리고 이러한 표지자를 기반으로 한 결핵 단축치료 임상 연구는 결핵 퇴치의 중요한 초석이다. 결핵 코호트의 구축은 향후 이러한 결핵 연구를 시행할 수 있는 중요한 기반이 될 것이다.

### ① 이전에 알려진 내용은?

세계보건기구의 결핵 근절 전략(END TB Strategy)에는 3가지 주요 목표가 있으며, 그 중 3번째 목표가 '강화된 결핵 연구와 기술 혁신'이다. 이 부분은 결핵에 관한 새로운 진단 또는 치료 기법과 전략을 발견하고 활용하는 것이 중요함을 강조하였다.

### ② 새로이 알게 된 내용은?

2016년부터 2018년까지 세 개의 대학병원(충북대학교병원, 충남대학교병원, 일산백병원)에서 폐결핵 환자 600명을 등록하는 전향적코호트를 구성하였으며 표준화된 작업지침서와 증례기록서에 따라 정기적인 추적 관찰을 시행하고 임상 정보 수집과 검체 자원화를 수행하였다.

### ③ 시사점은?

전향적 결핵 코호트를 구축함으로써 다양한 자료의 정확한 수집과 검체를 자원화하여 결핵 예방, 진단 및 치료의 연구 개발을 시행할 수 있는 중요한 기반이 될 것이다.

## 참고문헌

1. 김진선, 신지연, 이재은, 공인식. 2018년 국제 결핵 현황. 주간 건강과 질병. 2019;12(52):2477-2487.
2. 김혜림, 신지연, 김희애, 이재은, 김중희, 공인식. 2018년 결핵환자 신고 현황. 주간 건강과 질병. 2019;12(13):366-371.
3. 질병관리본부. 제2기 (2018~2022) 결핵관리 종합계획(안). 질병관리본부. 2017년 11월 28일.
4. 국가과학기술심의회. 제2차 국가 감염병 위기대응 기술개발 추진전략 (2017~2021). 국가과학기술심의회. 2016년 4월 11일.
5. 심태선. 다제내성결핵의 진단과 치료. 대한내과학회지. 2015;88(5):509-517.
6. Min J, et al. Cohort Study of Pulmonary Tuberculosis (COSMOTB) identifying drug-resistant mutations: protocol for a prospective observational study in Korea. *BMJ Open*. 2018;8(10):e021235.

※ 이 글은 질병관리본부 국립보건연구원 세균질환연구과에서 발주한 다년도과제 「결핵 코호트 운영(2016~2018)(2016E4600301)」을 통해 수행한 연구 결과의 내용을 요약·정리하였습니다.

4) 한 가지 이상의 항결핵약제에 내성을 갖는 균을 배출하는 경우이다. 이전에 결핵치료를 받지 않았던 환자가 가지는 내성을 일차 내성이라고 하고, 치료 과거력이 있는 환자의 내성을 획득내성이라고 한다.

**Abstract**

## **Design of Multi-Center Prospective Cohort Study of Pulmonary Tuberculosis (COSMOTB)**

Min Jinsoo

Department of Internal Medicine, College of Medicine, The Catholic University of Korea

Lee Ki Man

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Chungbuk National University

One of the reasons for treatment failure is the development of drug resistance by gene mutation. Among these, disputed mutations that cause discrepancies between phenotype and susceptibility test results may lead to failure of initial standard treatment or inadequate treatment. It mainly induces low-level resistance; however, the effect of anti-tuberculosis drugs might be diminished, which may lead to prolonged duration of treatment or development of multi-drug resistance.

We conducted a prospective observational cohort study to enroll adult patients with pulmonary TB between November 2016 and September 2018 at three university-affiliated tertiary hospitals in South Korea. The purpose of this study was (1) to describe clinical characteristics of drug resistance and identify gene mutations related to drug resistance, (2) to compare results of phenotypic and genotypic drug susceptibility tests and identify discordant results, and (3) to assess treatment outcome of *Mycobacterium tuberculosis* with disputed mutation. This cohort study will explore ways to improve TB diagnosis and treatment according to types of drug resistance mutation. This manuscript introduces the establishment and operation of the TB cohort study.

**Keywords:** Tuberculosis (TB), Drug susceptibility test, Genotype, Treatment, Treatment outcomes

---