

신생아 패혈증 환아에서 혈청 Tumor Necrosis Factor-Alpha(TNF- α) 수치의 변화

계명대학교 의과대학 소아과학교실 및 의과학연구소
이상락 · 박근수

I. 서 론

패혈증은 신생아, 특히 미숙아에 높은 이환 및 사망을 나타내는 질환의 하나로 이의 조기치료를 위해 조기진단을 하는 여러 검사방법이 알려져 있다(Gotoff, 1970 ; Feigin et al., 1992 ; Gotoff, 1992 ; Roberton, 1992). 그러나 대부분의 고식적인 검사법은 다른 질환에서도 양성을 나타내거나 신생아기에는 그 반응 결과가 다양하게 나타나 감수성과 특이성이 낮았다(Haider, 1972 ; Xanthou, 1972 ; Adler and Denton, 1975 ; Gotoff, 1992). 근래 cytokine의 일종인 tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) 수치가 신생아 패혈증의 조기 진단과 예후판정에 유용하게 이용된다는 보고(Girardin et al., 1990 ; Roman et al., 1993)가 있어 저자들은 신생아 패혈증 환아에서 TNF- α 의 변화를 측정하여 조기진단의 가능성을 알아보고자 이 연구를 시행하였다.

II. 연구대상 및 방법

1993년 6월부터 1994년 5월까지 1년간 계명대학교 동산의료원 소아과 신생아집중치료실에 입원하였던 환아 중 수유곤란, 간비대, 복부팽만, 기면, 발열 혹은 저체온 등 임상적으로 패혈증이 의심되었던 환아 26례를 대상으로 각각 입원 혹은 진단시 혈색소, 백혈구수, C-반응단백 및 진단시부터 1주일 간격으로 4회 TNF- α 를 측정하였으

며, 혈액배양검사로 균이 동정된 패혈증환아 18례를 만삭아 10례(I 군), 미숙아 8례(II 군)로, 균이 배양되지 않은 8례를 대조군(만삭아 7례, 미숙아 1례)으로 하여 그 결과를 비교분석하여 패혈증환아에서 TNF- α 의 변화를 알아보았다. 구체적 연구 방법은

1) TNF- α 검사 혈청의 채취 및 보관 : 환아에서 약 2ml의 혈액을 채취하여 곧바로 원심분리(2,000/rpm, 5분간)하여 얻은 상층의 혈청을 cry oival에 넣어 TNF- α 의 변화를 방지하기 위하여 -100°C 이하의 질소 냉동탱크에 보관하였다.

2) TNF- α 수치의 측정 : 검사시 보관된 시료를 상온에서 녹여서 DuPont사의 Human Tumor Necrosis Factor-alpha ELISA kit를 사용하여 미국 Well Scan사의 ELISA Reader로 측정하였으며

3) 통계분석으로 두군 비교는 Student t-test를, 세군 비교는 Kruskal-Wallis 1-way ANOVA test를 이용하였다.

III. 결 과

1. 일상 양상

평균 입원(진단) 나이는 대조군 16.9일, I 군 16.8일, II 군 22.3일로 유사하였으며, 남녀비도 세군 간에 유사하였고 평균 임신기간과 출생체중은 각각 대조군 38.9주, 3.16 kg, I 군 39.2주, 3.27 kg으로 두군간 유사하였으며 II 군은 미숙아군이어서

-신생아 패혈증 환아에서 혈청 Tumor Necrosis Factor-Alpha(TNF- α) 수치의 변화-

Table 1. Patient profile at diagnosis

	Control (n=8)	Group I (n=10)	Group II (n=8)
Age (day)	16.9±9.5*	16.8±9.1	22.3±7.5
Sex (M : F)	4 : 4	5 : 5	5 : 3
Gestational period(week)	38.9±1.9	39.2±1.3	31.4±2.2
Birth weight (kg)	3.16±0.50	3.27±0.45	1.45±0.24

* Mean ± standard deviation

Control : patients without sepsis ; urinary tract infection(3), necrotizing enterocolitis(2), cellulitis (2), aseptic meningitis(1)

Group I : sepsis in fullterm baby

Group II : sepsis in premature baby

31.4주, 1.45 kg이었다. 대조군은 요로감염증 3례, 괴사성장염 및 봉소염 2례, 무균성 뇌막염 1례이었다.

2. 진단시 혈액 검사소견

평균 혈색소는 대조군 14.1 gm/dl, I 군 12.9 gm/dl, II 군 12.7 gm/dl, 평균 백혈구수 대조군 13,500/mm³, I 군 9,790/mm³, II 군 14,640/mm³, 백혈구 과소증(<5,000/mm³) 혹은 백혈구 증가증

(>20,000/mm³) 빈도는 대조군 25%, I 군 30%, II 군 25% 등 모두 세균간 유사하였으며, 평균 C-반응 단백치는 대조군 3.3 mg/dl, I 군 7.8 mg/dl, II 군 7.4 mg/dl으로 패혈증군에서 대조군보다 높았으나 통계적 유의성은 없었다($p>0.05$).

Table 2. Laboratory findings at diagnosis(mean ± SD)

	Control (n=8)	Group I (n=10)	Group II (n=8)
Hemoglobin(gm/dl)	14.1±2.9	12.9±2.6	12.7±2.6
Leukocyte(/mm ³)	13,500± 5,900	9,790± 5,880	14,640± 6,290
Leukopenia (<5,000/mm ³) or leukocytosis (>20,000/mm ³), n(%)	2(25)	3(30)	2(25)
C-reactive protein(mg/dl)	3.3±3.7	7.80±3.5	7.4±4.5

3. 진단후 혈청 TNF- α 수치의 추적 검사

진단후 혈청 TNF- α 수치(평균±표준편차)의 변화는 진단시 대조군 9.1±24.0 pg/ml, I 군 238.2±234.6 pg/ml, II 군 9.0±17.8 pg/ml으로 I 군에서 대조군이나 II 군보다 유의하게 높았으며($p<0.05$), 1주후 대조군 10.4±15.6 pg/ml, I 군 276.8±347.5

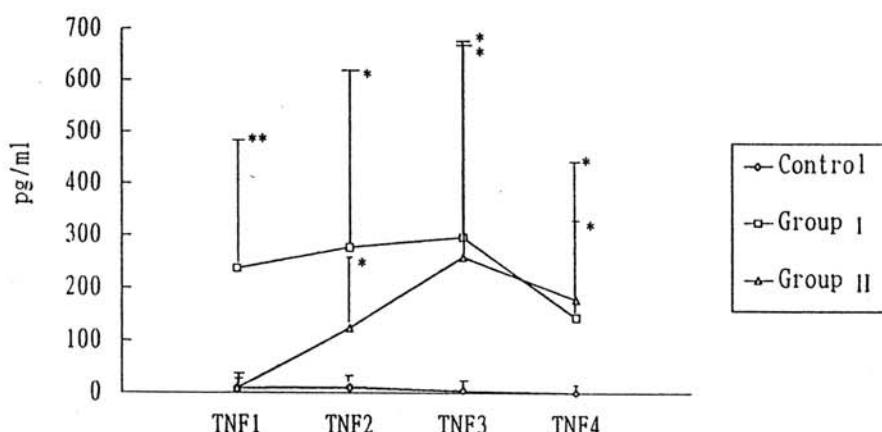


Fig. 1. Sequential changes of TNF- α level(pg/ml) after diagnosis.

** $p<0.05$ vs. control & group II

* $p<0.05$ vs. control group

TNF 1, 2, 3, 4 : TNF- α level at diagnosis and 1, 2m 3 weeks after diagnosis, respectively.

pg/ml, II 군 123.4 ± 143.0 pg/ml, 2주후 대조군 4.6 \pm 7.9 pg/ml, I 군 295.9 ± 383.1 pg/ml, II 군 257.7 ± 408.4 pg/ml, 3주후 대조군 0.5 ± 0.4 pg/ml, I 군 143.4 ± 177.8 pg/ml, II 군 177.4 ± 283.2 pg/ml으로 1주후부터는 패혈증군(I, II)에서 대조군보다 유의하게 높았고($p < 0.05$) I, II 군 사이는 유의한 차이는 없었다($p > 0.1$).

Table 3. Percentage of increased TNF- α Level(> 15 pg/ml)

	Control (n=8)	Group I (n=10)	Group II (n=8)
At diagnosis	12.5	80*	12.5
After 1 week	0	70*	62.5*
After 2 week	0	60*	62.5*
After 3 week	0	50*	50*

* $p < 0.05$ vs control

At diagnosis : group I sensitivity=80 %
specificity=87.5 %($p < 0.005$)
group II sensitivity=12.5 %
specificity=100 %($p > 0.1$)
After 1 week : group I sensitivity=70 %
specificity=100 %($p < 0.005$)
group II sensitivity=62.5 %
specificity=100 %($p < 0.05$)

4. 증가된 혈청 TNF- α 수치의 빈도

진단후 증가된 혈청 TNF- α 수치(>15 pg/ml)의 빈도는 진단시 대조군 12.5%, I 군 80%, II 군 12.5%로 I 군에서 대조군이나 II 군보다 유의하게 높았으며($p < 0.05$), 1주후 대조군 0%, I 군 70%, II 군 62.5%, 2주후 대조군 0%, I 군 60%, II 군 62.5%, 3주후 대조군 0%, I 군 50%, II 군 50%로 1주후부터는 패혈증군(I, II)에서 대조군보다 유의하게 높았고($p < 0.05$) I, II 군 사이는 유의한 차이는 없었다($p > 0.1$).

혈청 TNF- α 수치가 15 pg/ml 이상인 경우 패혈증 예전 가능성은 I 군에서 진단시 감수성 80%, 특이성 87.5%였고($p < 0.005$), 진단 1주후 감수성 70%, 특이성 100%였으며($p < 0.005$), II 군에서는 진단시 감수성 12.5%, 특이성 100%였고($p > 0.1$), 진단 1주후 감수성 62.5%, 특이

성 100%이었다($p < 0.05$).

5. 원인균에 따른 진단시 혈청 TNF- α 수치

진단시 그람양성균 패혈증 144.8 ± 221.3 pg/ml, 그람음성균 패혈증 106.5 ± 155.3 pg/ml으로 두군간 유사하였고 두군 모두 대조군보다 의미있게 높았다($p < 0.05$).

Table 4. TNF- α level at diagnosis in sepsis according to etiologic organism

	Control (n=8)	Gram(+) (n=14)	Group(-) (n=4)
TNF(pg/ml) (M \pm SD)	9.1 ± 24.0	$144.8 \pm 221.3^*$	$106.5 \pm 155.3^*$

* $p < 0.05$ vs control

IV. 고 칠

신생아기 패혈증의 발생빈도는 1,000명 출생아당 0.6~8명이, 특히 체중 1,000 gm이하에서는 50%이상의 높은 발생빈도를 보이며, 사망률이 1970년대까지는 90%서 근래 15~30%로 감소되었지만 여전히 높은 사망률과 이환률을 나타내고 있다(Feigin et al., 1992 ; Gotoff, 1992 ; Roberton, 1992).

신생아 패혈증은 첫 증상이 모호하거나 거의 없어 임상적으로 조기 진단이 어렵고 중증으로 진행되는 속도가 빨라서 조기진단과 치료가 신생아 사망률과 후유증 감소에 중요하다(Gotoff, 1970 ; Feigin et al., 1992 ; Roberton, 1992).

패혈증의 진단은 혈액배양에서 균의 성장을 확인하여 가능하나 이는 24~72시간 이상의 시간이 요하므로 조기진단에 이용하기는 어렵다(Gotoff, 1992).

과거 조기진단을 위한 검사방법으로 적혈구 침강속도(ESR)가 이용되었으나 이는 패혈증 이외의 다른 감염증이나 심한 출혈성 질환으로 인한 빈혈때도 증가되며 추적 관찰시 병의 호전 후에도 증가된 경우가 43%나 되는 단점이 있었고(Adler and Denton, 1975), 이 외에 C-반응 단백을 이용한 방법(Sabel and Hanson, 1974), hapt

oglobin(Salmi, 1973), immunoglobulin(Haider, 1972), 감염증시 증가된 탐식작용을 반영하는 nitro blue tetrazolium(NBT) 검사(Park, 1971), leukocyte alkaline phosphatase(LAP)(Gotoff, 1992) 등이 이용되기도 하였으나 일반적으로 큰 도움이 되지는 않았다(Gotoff, 1992).

그외 백혈구 과소($<5,000/\text{mm}^3$) 혹은 과다($>20,000/\text{mm}^3$)의 소견(Gregory and Hey 1972 ; Squire et al., 1979)과 immature form/total neutrophils비를 이용하기도 하나(Akenzua et al., 1974 ; Manroe et al., 1977 ; Squire et al., 1979), 이는 신생아 패혈증 때 다양한 결과가 나오는 단점이 있었다(Smith et al., 1956 ; Haider, 1972 ; Xanthou, 1972), 그외 민감하고 신속한 측정이 가능한 chromogenic limulus assay를 이용하여 균이 산생하는 내독소(endotoxin)를 직접 측정하기도 하나(Van Deventer et al., 1988)이 방법은 그람 음성균에만 조기 진단이 유용한 단점이 있다.

근래 실험적 연구에서 패혈증의 유발원인이 되는 세균의 리포다당질 주입시 세균이 수분-수시 간내 숙주세포(대식세포, 단핵세포)로 부터 여러 종류의 내적 cytokine-즉, interleukin 1(IL-1), tumor necrosis factor(TNF), platelet activating factor(PAF) 등-을 분비하게 한다는 보고들이 있었고(Beutler et al., 1985 ; Beutler and Cerami, 1987 ; Remick et al., 1987 ; Cannon et al., 1990 ; Morris and Moore, 1991 ; Gotoff, 1992), Damas 등(1989)이 실제 소아 및 성인 패혈증 환자에서 TNF- α 수치는 패혈증의 심한 정도와 사망률과 밀접한 관계가 있지만 IL-1 β 는 증가가 미미하여 진단적 의미는 적다는 보고를 하여 혈청 TNF- α 수치 측정이 패혈증의 조기진단과 경과 예전을 위해 좋은 검사법이라 하였다.

신생아 패혈증에 대한 TNF 연구는 Burchett 등(1988)의 제대혈 단핵세포도 세균 리포다당질 주입시 성인에서와 유사한 TNF 증가 반응을 보인다는 보고와 Weatherstone과 Rich(1989)의 미숙아 단핵구에서 TNF의 생산이 만삭아에서 보다 의미있게 적어서 감염이 걸릴 위험성이 높다는 기전을 보고후 활발히 이루어지고 있다. Girardin

등(1990)은 혈청 TNF- α 수치가 15 pg/ml 이상인 경우 신생아 패혈증 환이일 가능성이 감수성 89%, 특이성 98%로 의미있다는 결과를 보고하였고, Roman 등(1993)은 정상치의 2 표준편차 이상 증가된 경우 즉 10 pg/ml 이상인 경우 신생아 패혈증 환아에서 감수성 91.3%, 특이성 100%를, 패혈증성 쇼크 환아에서는 감수성, 특이성 모두 100%로 나타나 조기진단을 위해 좋은 검사방법으로 보고하였다. 저자들의 연구에서는 패혈증이 있는 만삭아는 진단 초기에서부터 대조군보다 의미있게 높은 TNF- α 증가가 낮아서인지(Weatherstone and Rich, 1989) 다른 이유가 관여되는지는 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

패혈증 원인균에 따른 혈청 TNF- α 수치는 Girardin 등(1990)이 그람양성균 77.8 ± 5.1 pg/ml, 그람음성균 85.5 ± 5.0 pg/ml으로 유사한 결과가 나왔다고 하였으며, 저자들의 경우에도 진단시 그람양성균 144.8 ± 221.3 pg/ml, 음성균 106.5 ± 155.3 pg/ml으로 유사하였다.

동물실험에서 내독소 주입 후 증가된 혈청 TNF 수치의 반감기는 6분으로 짧아서 적절한 치료후 감소되었고(Beutler et al., 1985) 신생아 패혈증 환아에서도 임상호전 2일 이내 감소되는 것으로 보고되고(de Bont et al., 1993) 있으나 저자들의 연구에서는 수주동안 증가되어 있었으며 그 이유는 염증반응이 지속되어서인지 다른 이유때문인지는 더 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Roman 등(1993)은 생존한 패혈증 환아 53.0 ± 6.8 pg/ml보다 사망한 환아에서 231.7 ± 12.7 pg/ml로 TNF- α 수치가 의미있게 높아서 패혈증 환아 예후판정에 이용할 수 있을 것으로 보고하였다.

신생아 패혈증에서 다른 cytokine들과의 비교 연구에서 de Bont 등(1993)은 TNF- α 와 IL-6는 의미있게 증가되지만, IL-1 beta는 소량 증가되어 TNF- α 와 IL-6가 좋은 예전 지표라고 하였으며 Harris 등(1994)은 미숙아를 주 대상으로 한 연구에서 IL-6만 의미있게 증가되어 TNF- α 보다 더 좋은 예전 지표라 하였다.

V. 결 론

1993년 6월부터 1994년 5월까지 1년간 계명대학교 동산의료원 소아과 신생아집중치료실에 입원하였던 환아중 임상적으로 패혈증이 의심되었던 환아 26례를 입원(진단)시부터 1주일간격으로 4회 TNF- α 를 추적검사하여 혈액배양검사에서 균이 동정된 패혈증환아 18례를 만삭아 10례(I군), 미숙아 8례(II군)로, 균이 동정되지 않은 8례를 대조군으로 하여 그 결과를 비교분석하여 다음과 같은 결론을 얻었기에 보고하는 바이다.

1. TNF- α 수치는 Group I에서 진단시부터 3주후까지 대조군보다 유의하게 증가되어 있었고 ($p<0.05$), Group II에서는 진단시 대조군과 유사하였으나 1주후부터는 유의하게 높았다($p<0.05$).

2. Group I과 Group II 간의 TNF- α 수치는 진단시는 Group I에서 의미있게 높았으나($p<0.05$) 1주후부터는 유의한 차이는 없었다.

3. TNF- α 수치가 15 pg/ml 이상인 경우 패혈증 예전 가능성은 만삭아에서 진단시 감수성 80%, 특이성 87.5%, 진단 1주후 감수성 70%, 특이성 100%로 조기진단의 의의가 있었고($p<0.005$), 미숙아에서 진단시 감수성 12.5%, 특이성 100%, 진단 1주후 감수성 62.5%, 특이성 100%로 진단 1주후 의미가 있었다($p<0.05$).

4. 패혈증 원인균의 그람 양성과 음성에 따른 진단시 수치 측정이 만삭아에서는 유용하고, 미숙아에서는 좀 더 늦게 증가되는 것으로 생각되며 그람 양성과 음성균에 따른 혈청 TNF- α 증가 차이는 없는 것으로 생각된다.

-References-

- Adler SM, Denton RL. The erythrocyte sedimentation rate in the newborn period. *J Pediatr* 1975 ; 86 : 942.
- Akenzua GI, Hui YT, Milner R et al. Neutrophil and band counts in the diagnosis of neonatal infections. *Pediatrics* 1974 ; 54 : 38.
- Beutler BA, Milsark IW, Cerami A. Cachectin/tumor necrosis factor : production, distribution, and metabolic fate in vivo. *J Immunol* 1985 ; 135 : 3972.
- Beutler B, Cerami A. Cachectin : more than a tumor necrosis factor. *N Engl J Med* 1987 ; 316 : 379.
- Burchett SK, Weaver WM, Westall JA et al. Regulation of tumor necrosis factor/cachectin and IL-1 secretion in human mononuclear phagocytes. *J Immunol* 1988 ; 140 : 3473.
- Cannon JG, Tompkins RG, Gelfand JA et al. Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor in septic shock and experimental endotoxin fever. *J Infect Dis* 1990 ; 161 : 79.
- Damas P, Reuter A, Gysen P et al. Tumor necrosis factor and interleukin-1 serum levels during severe sepsis in humans. *Critic Care Med* 1989 ; 17 : 975.
- De Bont ES, Martens A, van Raan J et al. Tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-6 plasma levels in neonatal sepsis. *Pediatr Res* 1993 ; 33 : 380.
- Feigin RD, Adcock IM, Miller DJ. Postnatal bacterial infections ; In Fanaroff AA, Martin RJ(Eds) : *Neonatal-Perinatal Medicine*. 5th ed. St. Louis, Mosby Year Book, 1992 ; 619.
- Girardin EP, Berner ME, Grau GE et al. Serum tumor necrosis factor in newborns at risk for infections. *Eur J Pediatr* 1990 ; 149 : 645.
- Gotoff SP, Behrman RE. Neonatal septicemia. *J Pediatr* 1970 ; 76 : 142.
- Gotoff SP. Neonatal sepsis ; In Behrman RE, Kliegman RM(Eds) : *Nelson Textbook of Pediatrics*. 14th ed. Philadelphia, WB Saunders Co, 1992 ; 501.
- Gregory J, Hey E. Blood neutrophil response to bacterial infection in first month of life. *Arch Dis Child* 1972 ; 47 : 747.
- Haider SA. Serum Ig M in diagnosis of infection in the newborn. *Arch Dis Child* 1972 ; 47 : 382.
- Haider SA. Polymorphonuclear leukocyte count in diagnosis of infection in the newborn. *Arch Dis Child* 1972 ; 47 : 394.
- Harris MC, Costarino ATII, Sullivan JS et al. Cytokine elevations in critically ill infants with sepsis and necrotizing enterocolitis. *J Pediatr* 1994 ; 124 : 105.
- Manroe BL, Rosenfeld CR, Weinberg AG et al. The differential leukocyte count in the assessment and outcome of early-onset neonatal group B streptococcal disease. *J Pediatr* 1977 ; 91 : 632.
- Morris DD, Moore JN. Tumor necrosis factor activity in serum from neonatal foals with presumed septicemia. *J Am Vet Medi Assoc* 1991 ; 199 : 1584.
- Park BH. The use and limitations of the nitroblue tetrazolium test as a diagnostic aid. *J Pediatr* 1971 ; 78 : 376.
- Remick DG, Kunkel RG, Lerrick JW et al. Acute in vivo

-신생아 패혈증 환아에서 혈청 Tumor Necrosis Factor-Alpha(TNF- α) 수치의 변화-

- effects of human recombinant tumor necrosis factor. Lab Invest 1987; 56 : 583.
- Roberton NRC. Neonatal septicemia ; In Roberton NRC(Ed) : Textbook of Neonatology. 2nd ed. Edinburg. Churchil Livingstone, 1992 ; 943.
- Roman J, Fernandez F, Velasco F et al. Serum TNF levels in neonatal sepsis and septic shock. Acta Paediatr 1993 ; 82 : 352.
- Sabel KG, Hanson LA. The clinical usefulness of C-reactive protein(CRP) determination in bacterial meningitis and septicemia in infancy. Acta Paediatr Scand 1974 ; 63 : 381.
- Salmi TT. Haptoglobin levels in plasma of newborn infants : with special reference to infections. Acta Paediatr Scand 1973 ; 61 : 241.
- Smith RT, Platou ES, Good RA. Septicemia of the newborn : current status of the problem. Pediatrics 1956 ; 17 : 549.
- Squire E, Favara B, Todd J. Diagnosis of neonatal bacterial infection : hematologic and pathologic findings in fatal and nonfatal cases. Pediatrics 1979 ; 64 : 60.
- Van Deventer SJH, Buller HR, Ten Cate JW et al. Endotoxemia : an early predictor of septicemia in febrile infants. Lancet 1988 ; 1 : 605.
- Weatherstone KB, Rich EA. Tumor necrosis factor/cachectin and interleukin-1 secretion by cord blood monocytes from premature and term neonates. Pediatr Res 1989 ; 25 : 342.
- Xanthou M. Leukocyte blood picture in ill newborn babies. Arch Dis Child 1972 ; 47 : 741.

=Abstract=

The Change of Serum Tumor Necrosis Factor-alpha(TNF- α) Level in Neonatal Sepsis

Sang Lak Lee, M.D., Geun Soo Park, M.D.,

Department of Pediatrics, Keimyung University

School of Medicine and Institute for Medical Science, Taegu, Korea

Sepsis is a major cause of morbidity and mortality during the neonatal period, especially in premature infant.

To evaluate the predictive value of serum tumor necrosis factor-alpha(TNF- α) level in neonatal sepsis, the authors obtained serum and checked the TNF- α level at admission(or diagnosis), 1, 2 and 3 weeks after diagnosis respectively on 26 neonates who had symptoms of sepsis and were admitted at the NICU of the department of Pediatrics, Dong-San Hospital, Keimyung University during a period of 1 year from June 1993 to May 1994.

According to the gestational age and the result of the blood culture, they were divided into 3 groups, a control group which did not have sepsis, group I which had sepsis in fullterm babies, and group II which had sepsis in premature babies.

The following results were obtained

1. At Diagnosis, serum TNF- α level was significantly higher($p<0.05$) in group I (238.2 ± 234.6 pg/ml) than in the control(9.1 ± 24.0 pg/ml) and group II (9.0 ± 17.8 pg/ml). And during 1-3 weeks after diagnosis, serum TNF- α level was significantly higher($p<0.05$) in group I and group II than in the control group.
2. During 1-3 weeks after diagnosis, serum TNF- α levels were similar between

group I and group II.

3. The sensitivity and specificity of increased serum TNF- α level(>15 pg/ml) as an index of sepsis were 80 %, 87.5 % in fullterm($p<0.005$), and 12.5 %, 100 % in premature($p>0.1$) groups at diagnosis. And those were 70 %, 100 % in fullterm($p<0.005$), and 62.5 %, 100 % in premature($p<0.05$) groups at 1 week after diagnosis respectively.

4. The mean serum TNF- α levels were similar between gram(+) and (-) sepsis.

Key Words : Tumor necrosis factor-alpha(TNF- α), Neonatal sepsis.