

## 만성폐쇄성폐질환을 동반한 무기분진 노출 이직근로자의 혈중 림프구 아형분포에 미치는 영향요인

백진이\* · 신재훈 · 황주환 · 이유림 · 이종성 · 최병순

근로복지공단 직업환경연구원

## Influencing Factors of Peripheral Blood Lymphocyte subsets in Workers with Chronic Obstructive Pulmonary Disease Exposed to Inorganic Dust

Jin Ee Baek\* · Jae Hoon Shin · Joo Hwan Hwang · Youlim Lee · Jong Seong Lee · Byung-Soon Choi

*Institute of Occupation and Environment, Korea Workers' Compensation & Welfare Service*

### ABSTRACT

**Objectives:** Inorganic dust is known to be a risk factor for chronic obstructive pulmonary disease (COPD) regardless of smoking and pneumoconiosis. Adaptive and innate immunity, including lymphocyte infiltrate, are involved in the pathogenesis of COPD. The purpose of this study was to analyze the lymphocyte subsets in the blood of workers exposed to inorganic dust and confirm the influencing factors.

**Methods:** The general characteristics of the subjects (n=107) were analyzed through a personal questionnaire. Diagnosis of COPD was established according to pulmonary function tests with FEV<sub>1</sub>/FVC post bronchodilator lower than 70%, according to the Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) guidelines. For lymphocyte analysis, blood was stained with a fluorescent CD marker and analyzed by flow cytometry.

**Results:** The increase in CD4<sup>+</sup> T lymphocytes was associated with a decrease in age ( $\beta=-0.273$ ,  $p=0.008$ ) and an increase in the cumulative smoking amount ( $\beta=0.205$ ,  $p=0.034$ ). The increase in NK cells was associated with an increase in age ( $\beta=0.325$ ,  $p=0.001$ ) and a decrease in cumulative smoking ( $\beta=-0.220$ ,  $p=0.019$ ). The period of exposure to dust, %FVC predicted and %FEV<sub>1</sub>/FVC, and the relative population of peripheral blood lymphocytes did not show a statistically significant relationship.

**Conclusions:** CD4<sup>+</sup> T lymphocytes and CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> NK cells in peripheral blood were more related to age and cumulative smoking than the duration of dust exposure. Age and smoking are major risk factors for the development of COPD, so it can be predicted that peripheral blood CD4<sup>+</sup> T lymphocytes and CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> NK cells are related to the development of COPD in workers exposed to inorganic dust.

**Key words:** COPD, CD4<sup>+</sup> T lymphocytes, CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> NK cells, age, smoking

### I. 서 론

만성폐쇄성폐질환(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)은 외부로부터 유해한 입자나 가스상 물질을 흡입함으로써 폐의 비정상적인 염증반응을 동반


한 비가역적인 기류제한을 특징으로 하는 호흡기질환이다. 폐로부터 시작되어 개인마다 진행경과는 상이하지만 점진적으로 병이 진행되면서 복잡하고 다양한 전신 증상과 만성질환을 동반한다(Sin et al., 2006).


직업적으로 탄광부를 비롯한 여러 광물성 무기분진에


\*Corresponding author: Jin Ee Baek, Tel: 032-540-4984, E-mail: 100jin@naver.com


2F Incheon Labor & Welfare Complex, 478, Munemi-ro, Bupyeong-gu, Incheon 21417


Received: August 23, 2021, Revised: September 17, 2021, Accepted: September 29, 2021

 Jin Ee Baek <http://orcid.org/0000-0002-4932-8520>

 Joo Hwan Hwang <http://orcid.org/0000-0001-8849-3740>

 Byung-Soon Choi <http://orcid.org/0000-0003-3551-0804>

 Jae Hoon Shin <http://orcid.org/0000-0001-9436-6860>

 Jong Seong Lee <http://orcid.org/0000-0002-1672-0171>

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

노출된 작업자들에서 결정형 유리규산 등 분진노출로 인한 폐 염증반응 및 폐 조직의 섬유화로 인한 진폐증, COPD 등의 폐질환이 유발된다고 보고되었다(Hertzberg et al., 2002; Qian et al., 2016; Denis, 2016). 지금까지 보고된 많은 연구에서 흡연과 무기분진 모두 폐기능 저하의 위험요인으로 밝혀졌으며, 일단 일정수준 이상의 위험요인에 노출되면 노출이 중단되더라도 점진적인 폐기능 저하를 초래할 수 있으므로 분진노출 이직자에 대한 지속적인 관리가 필요하다(Porter et al., 2004).

COPD 병인에 관련된 요소는 산화스트레스, 단백분해효소-항단백분해효소 불균형, 면역세포, 노화 등이 서로 복합적으로 작용하며 발생하는 것으로 알려져 있다(MacNee, 2005). 림프구 아형의 비정상적인 조성과 폐포 손상은 관련성이 있다고 알려졌으며, 폐포 파괴 및 기류제한 중증도와 T 림프구의 수는 상관관계가 있다고 보고되었다(Aneal et al., 2008; Xuehai et al., 2009). 림프구와 COPD 관련 연구에서 소기도의 구조개형과 기도벽의 비후, 기도내 점액성 삼출액의 과분비, 그리고 림프구에 의한 염증은 COPD의 진행 및 중증도와 관련되어 있다고 보고되었다(Hogg, 2004).

COPD는 흡입한 유해한 입자나 가스상 물질에 대한 폐의 염증반응에 의해 유발되는데, 이에 대한 면역학적 기전은 흡연, 무기분진 등 유해입자의 노출이 폐 상피세포에 손상을 주고 리간드(ligand)를 생성시켜 즉각적이고 비특이적인 선천면역반응이 먼저 유발된다(Janeway et al., 2002). 리간드를 TLR (toll-like receptor)가 인지하여 NF- $\kappa$ B (nuclear factor  $\kappa$ B)가 활성화되면 상피세포는 많은 염증매개물질을 생성해서 분비하고, 이 염증매개물질은 폐포대식세포와 호중구를 활성화시키고 이들에서 단백분해효소가 유리되면서 폐포 기저막이 분해되어 폐손상을 일으킨다(Di et al., 2002; Mills et al., 1999). 적응면역반응에도 TLR이 관여하는 것으로 알려져 있는데, 미성숙(immature) 수지상세포(dendritic cell)의 TLR에 조직손상 등으로 인한 리간드가 결합하면 림프절로 이동하여 미성숙 T 림프구를 CD4<sup>+</sup> T 세포 또는 CD8<sup>+</sup> T 세포로 활성화시킨다(Lambrech et al., 2001). CD4<sup>+</sup> T 세포는 대식세포, 호중구, 호산구, B 세포 등 다른 면역세포들을 손상된 조직으로 동원하고, 이로 인해 염증매개물질을 생성하고 단백분해효소 등이 분비되어 COPD를 더욱 악화시킨다 (Grumelli et al., 2004; Marina et al., 2002). CD8<sup>+</sup> T 세포는 손상된 세포를 직접 공격하는데 공격받은 세포는 자멸

(apoptosis)하거나, perforin, granzyme과 같은 단백분해효소에 의해 괴사(necrosis)된다. 이러한 세포 자멸은 폐실질 파괴를 유도하고, COPD 환자에서는 폐포대식세포의 기능이 감소하여 자멸된 세포의 잔여물이 완전히 없어지지 못하고 다시 자가항원으로 작용하여 염증을 더욱 악화시킬 수 있다(Grumelli et al., 2004). B 세포의 증가 역시 질병의 진행과 관련이 있다고 여겨지며(Cosio et al., 2009; Hogg et al., 2004), 바이러스나 세균감염으로 인한 염증반응을 증폭시키는 역할을 한다고 보고되었으나(Retamales et al., 2001; Kang et al., 2008) COPD에서 B 세포의 역할에 대해서는 아직 충분히 알려지지 않았다.

COPD 환자와 혈중 림프구 분석과 관련된 이전연구들은 일반인구집단을 대상으로 흡연과 관련된 연구들이 대부분으로, 광물성 분진노출 근로자와 같은 직업적 COPD 위험군 대상 연구는 아직 미흡한 실정이다. 이에 이번 연구에서는 COPD를 동반한 무기분진 노출 이직근로자들의 혈중 림프구의 아형을 분석하고 영향요인을 확인하고자 하였다.

## II. 대상 및 방법

### 1. 연구 대상

본 연구는 과거 탄분진, 결정형 유리규산 등 광물성 무기분진의 노출경험이 있는 이직근로자들로서 “만성폐쇄성폐질환 요양급여 및 휴업급여(최초분) 신청자에 대한 업무관련성 전문조사”를 위해 OO연구원에 내원한 근로자들 중 2015년도 OO연구원 기관생명윤리위원회의 연구계획 승인(IRB No. 2015-01-01, 2015. 05) 후 진행된 OO연구원 연구과제 “무기분진 노출 이직 근로자들의 림프구 아형분석 예비연구(Pilot study)” 수행을 위해 연구동의서에 자발적 서면동의를 받은 남성 107명을 대상으로 하였다.

### 2. 연구 방법

#### 1) 연구대상자의 일반적 특성

연구대상자들의 면접 설문조사를 통해 연령, 분진 노출기간, 흡연력 등의 일반적 특성을 조사하였다.

#### 2) 폐기능 검사결과

폐기능 검사결과는 미국흉부학회/유럽호흡기학회에서 권장하는 방법에 따라 수행된 “만성폐쇄성폐질환 요양급

여 및 휴업급여(최초분) 신청자에 대한 업무관련성 전문조사”의 자료를 사용하였다. 속효성  $\beta_2$ -기관지 확장제를 흡입한 후, 한국인 예측식(Choi et al., 2005)에 따라 분석된 노력성 폐활량(forced vital capacity, FVC) 및 노력성 일초간 호기량(forced expiratory volume in one second, FEV<sub>1</sub>)을 확인하였으며, 일초율(FEV<sub>1</sub>/FVC)이 70% 미만인 경우 COPD로 진단하였다.

### 3) 혈액 채취 및 혈중 면역세포 분석

연구대상자의 혈액을 6 mL 진공채혈관(Vacurette, Greiner bio-one, Thailand)에 채취 후, 응고되기 전 EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) 튜브(BD Vacutainer, USA)에 담고 12시간 이내에 림프구아형 분석을 수행하였다. 혈중 림프구 분석을 위해 림프구 표면의 CD(cluster of designation) marker를 염색 후, 유세포 분석기(flow cytometry, FC500, Beckman Coluter, USA)를 통해 혈중 림프구아형인 CD4<sup>+</sup> T 세포(helper T cell), CD8<sup>+</sup> T 세포(cytotoxic T cell), CD19<sup>+</sup> B 세포 및 CD16<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> NK 세포(natural killer cell)의 상대구성비(relative count)를 확인하였다.

### 3) 자료분석

SPSS 17.0 프로그램(IBM SPSS statistics, USA)을 이용하여 통계분석을 수행하였다. 본 연구에 사용된 지표들의 정규성은 Kolmogorov-Smirnov을 통해 검증하였다. 연령, 분진노출기간, 흡연상태 및 흡연기간 등에 따른 혈중 림프구의 상대구성비(%) 평균비교는 t-test 또는 ANOVA test를 사용하여 확인하였으며 혈중 림프구아형에 미치는 영향요인은 선형회귀분석을 이용하여 검정하였다. 각 분석결과와 유의수준은 0.05로 하였으며 p값이 이보다 작을 때 통계적 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

## III. 연구결과

### 1. 일반적특성

본 연구의 연구대상자 107명은 모두 남성이며 일반적특성은 Table 1과 같다. 연구대상자의 평균연령은 71.49세였으며, 평균 분진노출기간은 16.63년이었다. 흡연자는 55명으로 연구대상자의 51.4%였으며, 평균 누적 흡연량은 19.92갑년(pack year)이었다.

**Table 1.** Characteristics of study subjects (N=107)

Characteristics	Remarks
Age, years; AM $\pm$ SD	71.49 $\pm$ 7.28
Exposure period, years; AM $\pm$ SD	16.63 $\pm$ 8.93
Current smoker; N (%)	55(51.4)
Cumulative smoking, pack-years	19.92 $\pm$ 18.06
%FVC predicted; AM $\pm$ SD	81.92 $\pm$ 12.76
%FEV <sub>1</sub> predicted; AM $\pm$ SD	63.69 $\pm$ 16.27
%FEV <sub>1</sub> /FCV; AM $\pm$ SD	54.46 $\pm$ 11.61
CD4 <sup>+</sup> T cells; %	38.73 $\pm$ 10.34
CD8 <sup>+</sup> T cells; %	21.15 $\pm$ 7.75
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> T cell ratio	2.14 $\pm$ 1.11
CD19 <sup>+</sup> B cell; %	12.84 $\pm$ 5.68
CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> NK cells; %	24.90 $\pm$ 11.92

Abbreviation: AM, arithmetic mean; CD, cluster of designation; FVC, forced vital capacity; FEV<sub>1</sub>, forced expiratory volume in one second; NK, Natural killer; SD, Standard Deviation

### 2. 일반적특성에 따른 혈중 림프구 분석

연구대상자들의 일반적 특성에 따른 혈중 림프구 분석 결과는 Table 2와 같다. CD4<sup>+</sup> T 세포의 상대구성비는 연구대상자의 연령에 따른 유의한 차이를 보였으며( $p=0.050$ ), 연령이 증가함에 따라 NK 세포의 상대구성비는 유의하게 증가하였다( $p=0.009$ ). 흡연여부에 따른 비교에서는 현재 흡연자의 혈중 CD4<sup>+</sup> T 세포의 상대구성비는 41.08%로 비흡연자의 36.24%에 비해 유의하게 높았으며( $p=0.014$ ), 흡연자의 혈중 NK 세포의 경우 20.64%로 비흡연자의 29.39%에 비해 유의하게 낮았다( $p<0.001$ ). 연구대상자들의 누적 흡연량이 많을수록 혈중 CD4<sup>+</sup> T 세포의 상대구성비는 유의하게 증가하였으며, 혈중 NK 세포의 상대구성비는 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의성은 없었다( $p=0.125$ ). %FVC 정상 예측치가 80% 미만인 경우 혈중 CD4<sup>+</sup> T 세포의 상대구성비는 유의하게 낮았으며( $p=0.010$ ), 혈중 NK 세포의 상대구성비는 유의하게 높았다( $p=0.020$ ). CD4<sup>+</sup> T 세포 및 NK 세포의 분진노출기간 및 일초량에 따른 유의한 차이는 없었다. CD8<sup>+</sup> T cell, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T cell ratio 및 CD19<sup>+</sup> B cell의 경우 각 변수들에 따른 평균비교에서 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

**Table 2.** Relative population of peripheral blood lymphocytes as related to general characteristics

Characteristics	N	CD4 <sup>+</sup> T cells (%)	CD8 <sup>+</sup> T cells (%)	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> T cells ratio	CD19 <sup>+</sup> B cells (%)	CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> NK cells (%)
Age(years) <sup>†</sup>						
-69	39	41.88±9.78	20.14±6.61	2.33±1.06	13.99±5.20	20.81±10.53
70-79	56	36.53±10.01	22.27±8.65	1.98±1.14	12.50±6.23	26.33±11.64
80-	12	38.17±11.88	19.21±6.24	2.23±1.07	10.67±3.63	31.51±13.85
		(p=0.050)	(p=0.278)	(p=0.296)	(p=0.169)	(p=0.009)
Exposure period (years) <sup>†</sup>						
-9	25	40.41±10.69	21.60±9.47	2.30±1.27	12.42±5.83	23.25±12.47
10-19	45	39.66±9.66	20.34±7.20	2.20±0.99	12.73±5.26	24.41±11.12
20-	37	36.46±10.78	21.82±7.22	1.96±1.13	13.26±6.19	26.60±12.59
		(p=0.248)	(p=0.656)	(p=0.447)	(p=0.841)	(p=0.524)
Current smoking <sup>‡</sup>						
No	52	36.24±8.90	20.03±8.00	2.16±1.13	12.05±5.30	29.39±12.15
Yes	55	41.08±11.11	22.21±7.41	2.12±1.09	13.59±5.98	20.64±10.08
		(p=0.014)	(p=0.146)	(p=0.841)	(p=0.163)	(p<0.001)
Cumulative smoking (pack-years) <sup>†</sup>						
Never	20	33.72±8.97	21.76±8.52	1.83±1.04	11.85±5.54	29.13±12.88
0.1-20	44	38.86±10.30	20.13±7.24	2.21±1.04	13.40±6.02	25.23±11.39
21-	43	40.93±10.39	21.90±7.95	2.21±1.20	12.73±5.44	22.59±11.69
		(p=0.035)	(p=0.531)	(p=0.384)	(p=0.597)	(p=0.125)
%FVC predicted <sup>‡</sup>						
≥80	63	40.87±10.46	20.81±7.42	2.28±1.12	13.19±5.36	22.67±11.89
<80	44	35.67±9.46	21.63±8.26	1.95±1.07	12.33±6.14	28.08±11.35
		(p=0.010)	(p=0.595)	(p=0.129)	(p=0.444)	(p=0.020)
%FEV <sub>1</sub> predicted <sup>‡</sup>						
≥80	16	39.18±7.73	20.63±7.21	2.17±0.95	13.55±5.40	24.03±8.52
<80	91	38.65±10.76	21.24±7.87	2.14±1.14	12.72±5.75	25.05±12.46
		(p=0.852)	(p=0.771) <sup>‡</sup>	(p=0.912)	(p=0.590)	(p=0.755)

Arithmetic mean±Standard Deviation

<sup>†</sup>Calculated by ANOVA<sup>‡</sup>Calculated by t-testAbbreviation: AM, arithmetic mean; CD, cluster of designation; FVC, forced vital capacity; FEV<sub>1</sub>, forced expiratory volume in one second; NK, Natural killer

### 3. 혈중 림프구의 영향요인

혈중 림프구와 관련 변수들간의 다중회귀분석 결과, CD4<sup>+</sup> T 세포의 상대구성비 증가는 연령의 감소( $\beta = -0.273$ ,  $p=0.008$ ) 및 누적 흡연량의 증가( $\beta = 0.205$ ,  $p=0.034$ )와 관련이 있었고, NK 세포의 상대구성비 증가는 연령의 증가( $\beta = 0.325$ ,  $p=0.001$ ) 및 누적 흡연량의 감소( $\beta = -0.220$ ,  $p=0.019$ )와 관련이 있었다(Table

3). CD4<sup>+</sup> T 세포 및 NK 세포의 영향요인에 대한 결정 계수(adjusted R<sup>2</sup>)는 각각 0.073 및 0.117이었으며, F-test 검정 통계량의 유의확률은 각각 0.020 및 0.001로 추정된 회귀모형은 적절하였다. 연구대상자의 분진노출기간, %FVC 정상예측치 및 %FEV<sub>1</sub>/FVC와 혈중 림프구의 상대구성비는 통계적으로 유의한 관련성을 보이지 않았다.



**Table 3.** Independent factors associated with peripheral blood lymphocytes

Variables		B	SE	$\beta$	p-values
Dependents	Independents				
CD4 <sup>+</sup> T cell	Constant	66.139	11.462		p<0.001
	Age	-0.387	0.143	-0.273	0.008
	Cumulative smoking	0.117	0.055	0.205	0.034
	Adjusted R <sup>2</sup>	0.073			
	F	3.072(p=0.020)			
CD16 <sup>+</sup> CD56 <sup>+</sup> NK cells	Constant	-10.265	10.745		0.342
	Age	0.532	0.151	0.325	0.001
	Cumulative smoking	-0.145	0.061	-0.220	0.019
	Adjusted R <sup>2</sup>	0.117			
	F	8.021(p=0.001)			

Statistics were analyzed by backward stepwise method in multiple linear regression analysis.

Independent variables: age, exposure period, pack-year, smoking status (no/yes), mMRC, %FVC predicted, %FEV<sub>1</sub> predicted, %FEV<sub>1</sub>/FVC ratio

Abbreviation: CD, cluster of designation; B, regression coefficients; SE, standard error;  $\beta$ , standardized B; NK, Natural killer; R<sup>2</sup>, coefficient of determination

#### IV. 고 찰

노화는 만성호흡기질환의 중요한 위험 인자이며 연령이 증가할수록 폐기능이 저하되기 때문에 폐기능 저하의 위험요인을 분석하기 위해서는 연령을 고려해야 한다(Fletcher and Peto, 1977; Postma et al., 2015). Sandra 등은 흡연과 더불어 연령이 FEV<sub>1</sub>의 감소를 더욱 가속화한다고 보고하며 연령이 기류제한에 미치는 영향을 이해하는 것은 호흡기질환에서 중요하다고 제안하였다(Sandra et al., 2018). 노화와 혈중 림프구 세포의 관련성에 관한 연구에서 혈중 CD4<sup>+</sup> T 세포는 연령이 증가함에 따라 기능적, 양적인 측면에서 변화하는데(Julie et al., 2014; Li et al., 2019) 이번 연구에서도 연령에 따른 림프구의 차이를 확인할 수 있었다. 본 연구 대상자들의 연령, 흡연력 및 분진노출기간과 혈중 림프구의 관련성 분석에서 COPD 발병의 주요 위험 인자인 연령과 흡연이 CD4<sup>+</sup> T 세포 및 NK 세포와 유의한 관련성이 보였는데 이러한 결과는 COPD 환자의 발병에 CD4<sup>+</sup> T 세포 및 NK 세포가 관여 되어있을 가능성을 간접적으로 시사한다.

이번 연구에서 흡연자의 CD4<sup>+</sup> T 세포 상대구성비가 비흡연자에 비해 높았으며, 누적 흡연량이 많을수록 유의하게 높은 결과를 보였는데, 이는 과거 연구들과 유사한 결과이다(Schaberg et al., 1997; Helena et al.,

2014; Cristina et al., 2015). 흡연은 혈중 림프구의 수를 증가시키고 증가된 림프구는 죽상 동맥경화와 같은 질병의 위험인자라고 보고되었다(Danesh et al., 1998). 림프구 중 혈중 CD4<sup>+</sup> T 세포는 흡연과 관련하여 비흡연자에 비해 흡연자에서 15-50% 증가한다고 보고되었으며, 특히 기억 CD4<sup>+</sup> (memory CD4<sup>+</sup> CD45RO<sup>+</sup>) T 세포의 경우 흡연에 특이적 및 용량 의존적으로 증가한다고 보고되었다(Chavance et al., 1993; Akinori et al., 2004). Akinori 등의 연구에서 기억 CD4<sup>+</sup> T 세포가 흡연과 밀접한 양의 상관성을 보인다고 보고하였는데, 이는 지속적인 흡연에 의해 naïve T 세포에서 기억 CD4<sup>+</sup> T 세포로의 분화가 유도되기 때문이라고 하였다(Akinori et al., 2007). 기억 CD4<sup>+</sup> T 세포는 흡연에 대한 반응으로 지속적으로 증식하여 림프구의 노화를 가속화할 수 있는데, 최근 연구에 따르면 흡연에 대한 누적 노출은 순환 림프구의 말단소체(telomere) 단축을 증가시키며, 이는 흡연에 의한 노화촉진 효과를 시사한다고 하였다(Valdes et al., 2005). 흡연은 항원 특이 기억 T 림프구의 지속적인 증식으로 항원회상반응(antigen recall reaction)에 문제를 야기시키고, 이는 흡연자가 비흡연자에 비해 감염성 질환 발병률이 높아지는 이유가 될 수 있다고 보고되었다(Lidia et al., 2004). 이번 연구대상자들의 혈중 CD4<sup>+</sup> T 세포의 상대구성비가 비흡연자에 비해 흡연자

에서 컸는데, 이는 흡연에 의해  $CD4^+$  T 세포의 증식이 촉진된 결과로 판단되고, 결국 비흡연자에 비해 흡연자에서 폐질환뿐만 아니라 심장 및 감염성 질환 등 다른 질환의 동반을 야기할 위험성이 높다고 할 수 있다.

이번 연구결과, 혈중 NK 세포의 상대구성비가 비흡연자에 비해 흡연자에서 낮은 결과를 보였다. COPD의 발병과 진행에 적응면역 및 선천면역 세포들의 상호작용이 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데 NK 세포는 선천면역에 관련된 세포로 외부의 물질에 반응하여 면역반응 동안 전염증성(proinflammatory) 작용을 한다. 그러나 아직까지 COPD의 발병 및 진행에 구체적으로 어떠한 역할을 하는지는 명확히 밝혀지지 않았다. 지금까지 보고된 흡연 및 COPD와 NK 세포 관련 다수의 선행연구들은 연구대상자들의 선정기준과 조직 및 혈액 등 연구에 사용된 인체유래물의 차이 등으로 인해 연구결과가 일치하지 않는 경우가 많은데, 비흡연자에 비해 흡연자와 COPD 환자의 폐조직내 NK 세포는 증가하는 반면 혈중 NK 세포는 그 결과가 매우 다양한 것으로 보고되고 있다(Yafei et al., 2021).

Richard 등은 COPD환자의 혈중 NK 세포가 정상대조군에 비해 감소한다고 보고하였는데, 이러한 결과는 NK 세포의 표면 마커에 따라 달라질 수 있으며, 혈중 NK 세포가 감소하는 이유는 NK 세포가 폐조직의 염증부위로 유도되어 혈중 NK 세포의 수는 감소할 가능성이 있다고 하였다(Richard et al., 2009). 또 다른 연구에서도 NK 세포의 표면 마커에 따라 혈액 및 염증조직에 존재하는 NK 세포의 종류 및 그 기능이 다르며, 선택적으로 폐의 염증부위로 이동하게 되고 양과 기능이 억제되어 COPD 발병기전에 영향을 줄 수 있다고 하였다(Lucy et al., 2008).  $CD56^{dim}CD16^+$  NK 세포는 90% 이상이 혈액에 존재하고,  $CD56^{bright}CD16^-$  NK 세포는 대부분 염증반응이 있는 곳에 존재하며 세포의 기능 또한 차이를 보인다고 보고되었는데(Aur lie et al., 2009), 이번 연구의 NK 세포는  $CD56^+CD16^+$  NK 세포로써, 비흡연자에 비해 흡연자의 혈중 상대분포도가 낮은 결과를 보여 흡연에 대한 NK 세포의 면역반응에 의한 결과로 판단된다.

이번 연구에서 연구대상자들의 혈중  $CD8^+$  T 세포 및  $CD19^+$  B 세포는 연령, 흡연 및 분진노출기간 등의 영향변수들과 통계적으로 유의한 관련성이 없었다. 최근 보고된 흡연과 림프구의 관련성 연구에서 흡연이 혈중  $CD8^+$  T 세포 및  $CD19^+$  B 세포의 수와 그 기능을

증가시킨다고 하여 본 연구와 상이한 결과가 보고되었는데 연구대상자의 성별, 유전적 배경, 인종 또는 감염 여부 등에 따라 달라질 수 있다고 하였다(Qiu et al., 2017). 이번 연구의 연구대상자들은 모두 COPD 환자들로, COPD는 기류제한 중증도에 따라 림프구의 기도 침윤 양상이 달라지는데 경증(mild, GOLD 1)에서는  $CD8^+$  T 세포 및 B 세포에 비해  $CD4^+$  T 세포의 침윤이 더 많으며, 중증도가 악화되면(severe, GOLD 3)  $CD4^+$  T 세포보다  $CD8^+$  T 세포 및 B 세포의 침윤이 더 많다고 보고되었다(Yoo, 2009; Hogg, 2004). 이는 COPD의 중증도에 따라서 면역반응이 달라진다는 것을 의미하며 이번 연구의 혈중  $CD8^+$  T 세포 및  $CD19^+$  B 세포의 결과가 앞서 보고된 연구들과 상이한 이유가 될 수 있다.

다수의 선행연구에서 석탄분진, 결정형 유리규산, 석면 등의 노출에 의한 폐질환자들과 비노출 정상대조군의 림프구 분획이 유의한 차이가 있음을 보고하며 폐질환의 발병과 림프구의 관련성을 제시하였는데(Lee et al., 2002; Davis et al., 2001; Ulrich et al., 1987), 이번 연구의 연구대상자들은 모두 광물성 무기분진에 노출된 경험이 있는 COPD 환자들로, 비노출 정상대조군과의 림프구 분획 차이는 확인할 수 없어 COPD 발병과의 직접적인 관련성은 알 수 없었다. 직업적으로 석면 및 혼합형 분진에 노출된 석면폐증 및 진폐증 환자의 림프구 분획이 비노출 정상대조군뿐만 아니라 석면폐증과 진폐증 환자의 림프구 분획도 서로 다르다는 연구결과가 보고되었는데(Ulrich et al., 1987), 이는 노출되는 물질에 따라서 면역반응이 차이를 보일 수 있다는 것을 의미한다. 따라서 이번 연구는 COPD 환자 중 무기분진에 노출된 경험이 있는 근로자들의 면역반응에 미치는 영향인자를 확인하였다는 점에서 의미 있는 연구라고 할 수 있다.

이번 연구는 전체 림프구 중 상대 분포도만을 분석하여 림프구의 절대적인 양의 증감은 확인하지 못하였다. 혈중 림프구는 호흡기질환, 심장질환, 혈액질환 등 여러 다양한 면역관련 질환에 영향을 받을 수 있으므로 향후 연구에서는 림프구의 절대적 양의 변화량과 림프구들의 기능적 변화를 유도하는 관련 사이토카인 분석이 필요하였다. 또한 무기분진 비노출군과 정상대조군의 림프구 및 폐기능 분석을 추가하여 무기분진 노출에 의한 면역반응 및 COPD 발병의 영향요인 분석이 필요하였다.

## V. 결 론

COPD를 동반한 무기분진노출 이직근로자들을 대상으로 혈중 림프구 아형과 연령, 흡연 및 분진노출 등 COPD 관련변수 간의 관련성을 분석한 결과, 혈중 CD4<sup>+</sup> T 세포와 CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> NK 세포 모두 분진 노출기간보다 연령 및 누적 흡연량과 관련성이 있었다. 따라서 과거의 분진노출보다 현시점의 연령 및 흡연이 무기분진노출 근로자의 면역기능에 더 큰 영향을 주는 인자로 작용할 것이라고 판단된다. 본 연구에서 COPD 발병과 관련된 연령과 흡연이 CD4<sup>+</sup> T 세포 및 CD56<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> NK 세포와 밀접한 연관성이 있는 것으로 평가되므로 석재 가공업자, 시멘트 제조업 근로자 등 무기분진 노출 가능성이 높은 근로자들의 흡연에 대한 지속적인 관리가 필요하다.

## References

- Akinori N, Takeshi T, Shunichi A, Susumu S, Hiroyasu I. Lymphocyte subpopulations among passive smokers. *JAMA*. 2004;291(14):1699-1700. (<http://doi.org/10.1001/jama.291.14.1699-b>)
- Akinori N, Masaya T, Masahiro I, Yosei F, Takshi H et al. Relationship between cumulative effects of smoking and memory CD4<sup>+</sup> T lymphocyte subpopulations. *Addictive behaviors* 2007;23:1526-1531 (<http://doi.org/10.1016/j.addbeh.2006.11.007>)
- Aneal G. Steven RD. Role of T-lymphocytes and pro-inflammatory mediators in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary diseases. *International Journal of COPD*. 2008;3(4):531-541 (<http://doi.org/10.2147/copd.s1759>)
- Aur lie P, Tatiana M, Maud T, Emmanuel A, Fran ois H et al. CD56bright natural killer (NK) cells: an important NK cell subset. *Immunology*. 2009;126(4): 458-465. (<http://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2008.03027.x>)
- Chavance M, Perrot JY, Annesi I. Smoking, CD45RO<sup>+</sup> (memory), and CD45RA<sup>+</sup> (naive) CD4<sup>+</sup> T cells. *American review of respiratory diseases*. 1993;148: 237-240 (<http://doi.org/10.1164/ajrccm/148.1.237>)
- Choi JK, Paek DM, Lee JO. Normal predictive values of spirometry in Korean population. *Tuberc Respir Dis*. 2005;58:230-242 (<http://doi.org/10.4046/trd.2005.58.3.230>)
- Cosio MG, Saetta M, Agusti A. Immunologic aspects of chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2009;360:2445-2454 (<http://doi.org/10.1056/NEJMr0804752>)
- Cristina A, Antonella Ba, Evan OG, Alfredo N, Riccardo P et al. Effects of cigarette smoking on circulating leukocytes and plasma cytokines in monozygotic twins. *Clin Chem Lab Med* 2015;53(1):57-64. (<http://doi.org/10.1515/cclm-2013-0290>)
- Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. 1998;279(18):1477-1482. *JAMA*. (<http://doi.org/10.1001/jama.279.18.1477>)
- Davis GS, Holmes CE, Pfeiffer LM, Hemenway DR. Lymphocytes, lymphokines, and silicosis. *J Environ Pathol Toxicol Oncol*. 2001;20 suppl 1:53-65.
- Denis V. Drillers and mill operators in an open-pit gold mine are at risk for impaired lung function. *Journal of occupational and toxicology*. 2016;11:27. (<https://doi.org/10.1186/s12995-016-0114-9>)
- Di SA, Caramori G, Oates T, Capelli A, et al. Increased expression of nuclear factor-kappaB in bronchial biopsies from smokers and patients with COPD. *Eur Respir J*. 2002;20:556-563
- Fletcher C, Peto R. The natural history of chronic airflow obstruction. *Br Med J*. 1977;1(6077):1645-1648 (<http://doi.org/10.1136/bmj.1.6077.1645>)
- Grumelli S, Corry DB, Song LZ, Song L, Green L, et al. An immune basis for lung parenchymal destruction in chronic obstructive pulmonary disease and emphysema. *PLoS Med* 2004;1:e8 (<http://doi.org/10.1371/journal.pmed.0010008>)
- Helena F, Mikael M, Reza K, Johan G, Åsa MW et al. Distribution of T-cell subsets in BAL fluid of patients with mild to moderate COPD depends on current smoking status and not airway obstruction. *Chest*. 2014;145(4):711-712 (<http://doi.org/10.1378/chest.13-0873>)
- Hertzberg VS, Kenneth DR, Mary JR, Carol HR. Effect of Occupational Silica Exposure on Pulmonary Function. *Chest*. 2002;122(2):721-728. (<https://doi.org/10.1378/chest.122.2.721>)
- Hogg J, Chu F, Utokaparch S. The nature of small-airway obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *N Engl J Med* 2004;350:2645-2653 (<https://doi.org/10.1056/NEJMoa032158>)
- Janeway CA, Medzhitov R. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 2002;20:197-216
- Julie SL, Laura H. Aging of the CD4 T Cell Compartment. *Open Longev Sci*. 2014;6:83-91. (<http://doi.org/10.2174/1876326X01206010083>)

- Kang MJ, Lee CG, Lee JY, Dela Cruz CS, Chen ZJ et al. Cigarette smoke selectively enhances viral PAMP- and virus-induced pulmonary innate immune and remodeling responses in mice. *J Clin Invest* 2008; 118:2771-2784 (<http://doi.org/10.1172/JCI32709>)
- Lambrecht BN, Prins JB, Hoogsteden HC. Lung dendritic cells and host immunity to infection. *Eur Respir J* 2001;18:692-704
- Lee JY, Yoo KH, Ahn HR et al. The role of lymphocyte compartment and cytokine in coal workers pneumoconiosis. *Tuberculosis and respiratory diseases*. 2002;52:241-250
- Lidia A, Neal LB. Cigarette smoking and infection. *Archives of internal medicine*. 2004;164:2206-2216 (<http://doi.org/10.1001/archinte.164.20.2206>)
- Li M, Yao D, Zeng X, Dimitri K, Zhang Y et al. Age related human T cell subset evolution and senescence. *Immunity & Ageing*. 2019;24(16) (<https://doi.org/10.1186/s12979-019-0165-8>)
- Lucy F, Richard AU, Jonathan C, Jonathan RL. Killer cells in chronic obstructive pulmonary disease. *Clin Sci*. 2008;114(8):533-641. (<http://doi.org/10.1042/CS20070356>)
- MacNee W. Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary diseases. *Proc AM Thorac Soc*. 2005;2: 258-266 (<http://doi.org/10.1513/pats.200504-045SR>)
- Marina S, Margherita M, Paola PB, Graziella T, Cecilia B et al. Increased expression of the chemokine receptor CXCR3 and its ligand CXCL10 in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:1404-1409 (<https://doi.org/10.1164/rccm.2107139>)
- Mills PR, Davies RJ, Devalia JL. Airway epithelial cells, cytokines, and pollutants. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:S38-43
- Porter DW, Hubbs AF, Mercer R, Robinson VA, Ramsey D et al. Progression of lung inflammation and damage in rats after cessation of silica inhalation. *Toxicol Sci*. 2004;79:370-380. (<http://doi.org/10.1093/toxsci/kfh110>)
- Postma DS, Bush A, van den Berge M. Risk factors and early origins of chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet*. 2015;385(9971):899-909 (<http://doi.org/10.1183/09031936.00009015>)
- Qian QZ, Cao XK, Shen FH, Wang Q. Correlations of smoking with cumulative total dust exposure and cumulative abnormal rate of pulmonary function in coal-mine workers. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2016;12(5):2942-2948 (<https://doi.org/10.3892/etm.2016.3700>)
- Qiu F, Liang CL, Liu H, Zeng YQ, Hou S et al. Impacts of cigarette smoking on immune responsiveness: Up and down or upside down? *Oncotarget*. 2017;8: 268-284. (<https://doi.org/10.18632/oncotarget.13613>)
- Retamales I, Elliott WM, Meshi B, Coxson HO, Pare PD et al. Amplification of inflammation in emphysema and its association with latent adenoviral infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:469-473 (<https://doi.org/10.1164/ajrccm.164.3.2007149>)
- Richard AU, Jonathan RL, Ian T, Jonathan MC, & Lucy CF. Altered effector function of peripheral cytotoxic cells in COPD. *Respiratory Research* 2009;10(53):1-13 (<http://doi.org/10.1186/1465-9921-10-53>)
- Sandra HO, Peter ME, Monique Verschuren WM, Maarten S, Inge M et al. Aging-related trajectories of lung function in the general population—The Doetinchem Cohort Study. *PLOS ONE* 2018;13(5):1-16 (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197250>)
- Schaberg T, Theilacker C, Nitschke OT, Lode H. Lymphocyte subsets in peripheral blood and smoking habits. *Lung*. 1997;175(6):387-394. (<http://doi.org/10.1007/pl00007585>)
- Sin DD, Anthonisen NR, Soriano JB, Agusti AG. Mortality in COPD: Role of comorbidities. *Eur Respir J*. 2006;28:1245-1257 (<http://doi.org/10.1183/09031936.00133805>)
- Ulrich C, Bross KJ, Huck E, Guzman J, Matthys H. Lung and blood lymphocyte subsets in asbestosis and in mixed dust pneumoconiosis. *Chest*. 1987; 91(1): 110-112. (<http://doi.org/10.1378/chest.91.1.110>)
- Valdes A M, T Andrew, J P Gardner, M Kimura, E Oelsner, et al. Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *Lancet*. 2005;366(9486):662-664. ([http://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)66630-5](http://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66630-5))
- Xuehai Z, Aneal SG, Rachel G, Michael WS, Steven RD et al. Peripheral T cell Functions correlate with the severity of chronic obstructive pulmonary disease. *The journal of immunology*. 2009;182:3270-3277 (<http://doi.org/10.4049/jimmunol.0802622>)
- Yafei R, Le Y, Xiong J, Pei Y, Sun Y. NK Cells in the Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Front. Immunol*. 2021;12:1-11(<http://doi.org/10.3389/fimmu.2021.666045>)
- Yoo CG. Pathogenesis and pathophysiology of COPD. *Korean J Med* 2009;77:383-400

#### <저자정보>

백진이(전임연구원), 신재훈(연구위원), 황주환(전임연구원), 이윤희(전임연구원), 이종성(연구위원), 최병순(연구원장)