



저작자표시-비영리-동일조건변경허락 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



동일조건변경허락. 귀하가 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공했을 경우에는, 이 저작물과 동일한 이용허락조건하에서만 배포할 수 있습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

의학박사 학위논문

급성 중증열성혈소판감소증후군과
쯔쯔가무시병에서 사이토카인과 케모카인 분석

**Cytokine and chemokine profiles in
acute severe fever with thrombocytopenia
syndrome and scrub typhus**

울 산 대 학 교 대 학 원

의 학 과

홍 선 인

**Cytokine and chemokine profiles in
acute severe fever with thrombocytopenia
syndrome and scrub typhus**

지도교수 김성한

이 논문을 의학박사 학위 논문으로 제출함.

2023년 8월

울산대학교 대학원

의학과

홍선인

홍선인의 의박박사 학위 논문을 인준함.

심사위원 이 상 오 (인)

심사위원 김 성 한 (인)

심사위원 정 용 필 (인)

심사위원 김 민 재 (인)

심사위원 박 성 연 (인)

울 산 대 학 교 대 학 원

2023 년 8 월

목 차

목 차	i
표 목차	ii
그림 목차	iii
국문요약	iv
서 론	1
재료 및 연구방법	4
1. 연구기간과 대상	4
2. 사이토키인 분석	6
3. 통계학적 분석	7
결 과	8
고 찰	34
참고문헌	39
영문요약	45

표 목차

Table 1. Baseline characteristics of SFTS and scrub typhus patients. -----	10
Table 2. Baseline characteristics of scrub typhus patients. -----	17
Table 3. The Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score. -----	19

그림 목차

Figure 1. Flow chart for patients included in the comparison between SFTS and scrub typhus. -----	12
Figure 2. Cytokine and chemokine levels that were comparable between SFTS and scrub typhus. -----	13
Figure 3. Cytokines levels that were highest in SFTS patients. -----	14
Figure 4. Cytokines that scrub typhus showed different pattern from SFTS and healthy control. -----	15
Figure 5. Comparison of the cytokines and chemokines in serum of patients with scrub typhus between those with high SOFA score and low SOFA score. -----	20
Figure 6. Time kinetics of the cytokines and chemokines in serum of patients with scrub typhus after admission. -----	22
Figure 7. Comparison of the cytokines and chemokines in serum of patients with scrub typhus between the acute and recovery phases. -----	25
Figure 8. Comparison of cytokines and chemokines in serum of survivors and non-survivors among patients with SFTS. -----	28
Figure 9. Plasma concentration of cytokines and chemokines in serum of survivors and non-survivors among patients with SFTS. -----	29
Figure 10. Time kinetics of the cytokines and chemokines in serum of patients with SFTS after admission. -----	31

국문요약

중증열성혈소판감소증후군(severe fever with thrombocytopenia syndrome, SFTS)과 쯔쯔가무시병(scrub typhus)은 동아시아 지역에 유행하는 감염성 질환으로 풍토성 진드기를 매개로 발생하며, 발열과 발진이라는 공통적인 임상양상을 보인다. 하지만 이 두 질환의 면역 발병기전에 대한 비교 연구는 제한적이다. 우리는 이번 연구에서 SFTS 와 쯔쯔가무시병의 질병경과 동안 사이토카인(cytokine)과 케모카인(chemokine) 레벨을 측정 후 비교를 하여, 이 질환들의 면역반응과 병인에 대해 알고자 하였다.

SFTS 환자는 국내 5 개의 대학병원에서 2015 년 7 월부터 2020 년 10 월까지 전향적으로 44 명을 모집하였고, 쯔쯔가무시병 환자는 1 개의 대학병원에서 2019 년 10 월부터 2020 년 12 월까지 전향적으로 49 명을 모집하였다. 또한 대조군과 비교하기 위하여 10 명의 건강한 지원자를 모집하였다. 혈장은 인터페론 알파(interferon alpha, IFN- α), 인터페론 감마(interferon gamma, IFN- γ), 인터류킨-6(interleukin-6, IL-6), 인터류킨-8(IL-8), 인터류킨-10(IL-10), 인터류킨-12p40(IL-12p40), 인터류킨-17A(IL-17A), 인터류킨-1 베타(IL-1 β), Interferon gamma induced protein 10kDa (IP-10/CXCL10), Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), Macrophage Inflammatory Protein-1 alpha (MIP-1 α), Regulated on activation, normal T cell expressed and secreted (RANTES/CCL5), 과립구 집락 자극인자(granulocyte-colony stimulating factor, G-CSF), 과립구 대식세포 집락 자극인자(granulocyte macrophage colony stimulating factor, GM-CSF), 종양괴사인자 알파(tumor necrosis factor-alpha, TNF- α), 혈관 내피세포 성장인자(vascular endothelial growth factor, VEGF), 총 16 가지 사이토카인과 케모카인에 대해 분석하였다. 31 개의

SFTS 환자의 혈장과 37 개의 쯔쯔가무시병 환자의 혈장을 사이토카인과 케모카인 비교에 사용하였다.

SFTS 환자와 쯔쯔가무시병 환자들의 임상적 특징을 비교하면, 평균나이는 SFTS 환자가 60 세, 쯔쯔가무시병 환자가 63 세로 통계적으로 유의하지 않았고($p=0.27$), 남성의 비율 또한 SFTS 환자가 57%, 쯔쯔가무시병 환자가 46%로 유의한 차이가 없었다($p=0.37$). 두 그룹의 진단 시기는 SFTS 환자가 3 월-8 월이 39%, 9 월-11 월이 61%로, 쯔쯔가무시병 환자가 9-11 월에 모두 진단된 것과 유의한 차이가 있었다($p<0.001$). 가피는 쯔쯔가무시병 환자에서 유의하게 많았고(18% vs. 100%, $p<0.001$), 피부 발진도 쯔쯔가무시병 환자가 유의하게 많았다(18% vs. 94%, $p<0.001$). 입원 후 해열까지 걸린 시간은 SFTS 환자가 유의하게 길었고(3 일 vs 1 일, $p<0.001$), 중환자실 입원 비율(36% vs 6%, $p=0.04$)과 사망률(14% vs 0%, $p=0.03$)은 SFTS 환자가 유의하게 높았다.

사이토카인 발현 패턴에는 세가지가 있었다. IL-6, IL-10, IP-10, GM-CSF 는 SFTS 와 쯔쯔가무시병에서 의미 있게 증가되어 있었다. IFN- α , IFN- γ , G-CSF, MCP-1, MIP-1 α , IL-8 은 SFTS 에서 의미 있게 증가되어 있었다. IL-12p40, TNF- α , IL-1 β , RANTES, IL-17A, VEGF 는 쯔쯔가무시병에서 SFTS 환자와 건강한 대조군과 비교하였을 때 의미 있게 다른 레벨을 보였다.

결론적으로 SFTS 와 쯔쯔가무시병은 중증도와 관련된 사이토카인의 증가 패턴이 유사하지만, 그 외 전염증성 사이토카인과 케모카인은 쯔쯔가무시병보다는 SFTS 에서 높았는데 이것은 SFTS 의 높은 중증도와 사망률에 영향을 끼쳤을 것으로 추정할 수 있고, 두 질환에서 T helper cell 관련 사이토카인과 VEGF 의 독특한 발현 패턴의 차이는

T cell subsets 구성의 차이와 감염 중 혈관 손상 기전에서 두 질환의 면역병태생리가 다른 점을 시사한다.

서 론

중증열성혈소판감소증후군(Severe fever with thrombocytopenia syndrome, SFTS)은 *Bunyvirales* 목 *Phenuiviridae* 과 *Bandavirus* 속에 속하는 *Dabie bandavirus* 또는 흔히 SFTS virus (SFTSV)로 불리는 바이러스에 의해 동아시아 국가(중국, 한국, 일본 및 기타 동아시아 국가)에서 발생하는 중증의 풍토성 감염병이다. SFTS 는 주로 작은소피참진드기(*Heamaphysalis longicornis*)를 매개로 전파되는데, 사람은 이 진드기가 흡혈과정에서 보균하고 있는 바이러스가 체내로 유입되고, 바이러스가 체내에서 증식하여 임상증상이 발생한다[1-2]. 따라서 SFTS 는 일반적으로 진드기와 접촉할 가능성이 높은 야외활동을 하는 사람들에게서 발생한다[3]. SFTS 의 임상증상은 바이러스에 노출된 후 4-15 일의 잠복기 후에, 발열, 근육통, 위장관 증상, 혈소판감소증, 백혈구감소증이 나타나고, 심한 경우에는 다발성 장기 부전(Multi-organ failure), 파종성 혈관내 응고병증(disseminated intravascular coagulation, DIC), 중추신경계 증상이 나타날 수 있다[2].

쯔쯔가무시병은 세포내 세균인 *Orientia tsutsugamushi*에 의해 발생하는 진드기 매개 질병이며 SFTS 가 풍토병인 중국, 한국 및 일본의 풍토병이다[4]. *Orientia tsutsugamushi*에 감염된 털진드기의 유충이 사람을 물어 체액을 흡인할 때 체내에 있던 *Orientia tsutsugamushi*가 사람의 인체내로 들어가 감염이 발생한다. 발열, 가피, 반구진성 피부 발진은 이 질병에 대한 특징적인 진단 단서이다[5]. 그러나 임상증상이 비특이적이거나, 가피 또는 피부발진이 없거나 간과하여 진단이 늦어지는 경우, 파종성

다기관 혈관염이 발생할 수 있다[6]. 또한 찻찻가무시병은 수막뇌염, 간질성 폐렴, 급성 호흡곤란 증후군, 심근염, 다기관 부전과 같은 심각한 합병증을 수반하는 중증 질환으로 나타날 수 있다[7-9].

SFTS 에 대한 효과적인 항바이러스요법은 없지만 찻찻가무시병은 독시사이클린과 같은 항생제로 치료할 수 있다. 찻찻가무시병의 사망률은 치료받은 환자의 경우 1.4%, 치료받지 않은 환자의 경우 6.0%인 것으로 보고되었고[10], SFTS 의 사망률은 16.2-32.6%로 보고되고 있다[11-12]. SFTS 와 찻찻가무시병 환자는 발열, 두통, 근육통, 진드기나 유충에 물릴 수 있는 야외활동 등의 임상적, 역학적 특징을 공유하기 때문에 이 두가지 질환을 감별하기는 어렵다. 특히 10-12 월에는 찻찻가무시병과 SFTS 의 유행시기가 겹치므로 진단이 특히 어렵다[1, 4, 13-14].

사이토카인은 인체 내에 핵을 가진 모든 세포에서 생산될 수 있으며 복잡한 조절 효과를 가지고 있는 비구조적인 단백질 물질이다. 숙주(host)에게 감염이 발생하면, 숙주 면역계가 활성화 되는 것이 숙주 방어기전의 하나인데, 이러한 숙주의 반응이 과도하게 되면 숙주에게 해가 되어 임상경과가 악화될 수 있다. SFTS 는 많은 양의 바이러스양에 노출되거나 인터류킨 1 수용체 길항제(Interleukin 1 receptor antagonist, IL-1Ra), IL-6, IL-10, G-CSF 및 MCP-1 과 같은 사이토카인에 의해 면역반응이 유도될 때 중증으로 발현될 수 있다[15-16]. 찻찻가무시병에서 임상증상의 중증도는 *O. tsutsugamushi* 균주의 혈청형과 감염된 숙주의 면역 반응에 의해 결정이 될 수 있다. 최근 연구에서 Astrup 등은 찻찻가무시병 129 명의 환자에서 MIP-1 β , IL-8, TNF- α , IL-6, IL-10 과 같은 사이토카인의 혈중 수치가 높은 것과, RANTES 가 낮은 수치를 보이는 것이 사망률과 관련이 있음을 확인하였다[17]. 그러나 두 질병의 발병기전은 아직 완전히 밝혀지지

않았으며, 특히 두 질병의 면역 반응 차이에 대한 비교연구도 제한적이다. 우리는 SFTS 와 쯔쯔가무시병에서 임상증상이 발생하는 동안 사이토카인과 케모카인의 발현 양상의 차이를 확인하고, 숙주의 면역 반응을 이해하기 위하여 이 두 질환이 발생한 환자의 혈청에서 16 개의 사이토카인과 케모카인을 측정하여 비교하였다.

재료 및 연구 방법

1. 연구기간과 대상

1) SFTS 환자군

본 연구에서 SFTS 환자는 2015 년 6 월부터 2020 년 10 월까지 서울아산병원, 경상국립대학교병원, 순천향대학교 서울병원, 중앙대학교병원, 동국대학교 일산병원 등 5 개 대학부속병원에 입원한 SFTS 확진 사례를 전향적으로 등록하였다.

SFTSV 감염은 원스텝 다중 실시간 역전사 중합효소 연쇄 반응(Real-time reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)으로 바이러스 리보핵산(Ribonucleic acid, RNA)을 검출하여 확인하였다. 검출을 위해 Qiagen RNeasy Mini Kit(Qiagen, Hilden, Germany)를 사용하여 혈장 샘플에서 RNA 를 추출하였다. SFTSV 를 검출하기 위해 세그먼트(segment) S 및 M 유전자를 정량화하고 인간 베타 액틴 유전자(beta actin gene)를 내부 대조군으로 사용하였다. 본 연구에 사용된 프라이머(Primers) 및 프로브(Probes)의 서열은 다음과 같다: SF 5'-CGAGAGAGCTGGCCTATGAA-3', SR 5'-TTCCCTGATGCCTTGACGAT-3', SP 5'-FAM-TGTCTTTGCCCTGACTCGAGGCA-BHQ1-3', MF 5'-ATGCTTGTGTCGTAAGAAGGC-3', MR 5'-CTAGACTTCCCCTGCCCACA-3', MP 5'-Cy5-ACTTTTGTGATGGATACGTAGGCTGGGGC-BHQ2-3', BAF 5'-ACTAACACTGGCTCGTGTGA-3', BAR 5'-CTTGGGATGGGGAGTCTGTT-3', and BAP 5'-HEX-AGGCTGGTGTAAAGCGGCCTTGG-BHQ1-3'. LightCycler Multiplex RNA Virus Master(Roche Diagnostics, Indianapolis, IN)를

사용하여 반응 혼합물을 제조하고, real-time RT-PCR 은 LightCycler 96 System(Roche Diagnostics, Indianapolis, IN)을 사용하여 제조업체의 지침을 일부 수정하여 수행하였다. SFTS RNA 유전자수(Copy number)는 생체외(*in vitro*) 전사체(transcript) RNA 의 Ct 값으로 만든 표준 곡선(standard curve)을 기반으로 결정하였다. 정량적 PCR 반응의 한계는 혈장 시료에서 4.3 copies/ μ L 였다.

2) Scrub typhus 환자군

쯔쯔가무시병은 2019 년 10 월부터 2020 년 12 월까지 창원 경상국립대학교병원에 입원한 환자를 전향적으로 등록하였다. 쯔쯔가무시병의 진단은 간접면역형광검사법(Indirect immunofluorescent antibody test, IFA)을 사용하여 환자 혈청의 Immunoglobulin M (IgM)과 IgG 를 *O. tsutsugamushi* 혼합 항원(Gilliam, Karp, Kato 및 Boryoung 항원)에 반응시켜 단일 IgG 역가가 1:320 이상 또는 2 개의 연속 검체 간에 IgG 가 4 배이상 증가한 경우 쯔쯔가무시병으로 진단하였다[18].

3) 건강한 대조군(Healthy controls)

10 명의 건강한 지원자가 사이토카인과 케모카인 분석을 위한 건강한 대조군에 등록되었다. 혈장 샘플은 각 환자로부터 입원일에 채취하여 EDTA 처리된 베큐테이너에서 채취하였다.

혈장 샘플을 전혈에서 즉시 분리하고 추가 분석까지 -80°C 에서 동결하였다. 연구 프로토콜은 참여 병원의 기관 검토 위원회(Institutional Review Board)의 승인을 받았다.

2. 사이토카인 분석

SFTS 와 쯤쯤가무시병으로 확인된 환자의 혈장 샘플을 세포측정 비드 어레이(cytometric bead array, CBA)를 이용하여 제조업체의 지침(BD Biosciences, San Jose, CA, USA)에 따라 16 개의 사이토카인과 케모카인의 양을 동시에 분석하였다. 실험 진행은 CBA 인간 사이토카인과 케모카인 키트 설명서에 맞춰 시행하였다. 혈장 샘플은 실온에서 해동한 다음 실험하는 동안에는 얼음(wet ice)에 보관하였다.

한 바이알의 동결 건조된 인간 사이토카인 표준물질을 분석 희석액(Assay Diluent) 4.0mL 으로 재구성한 다음 분석 희석액을 사용하여 연속 희석(serial dilution)방법으로 희석하여 0 에서 5000pg/mL 의 농도가 되도록 구성하였다.

이번 연구에 사용된 사이토카인 및 케모카인 포획비드는 IFN- α , IFN- γ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p40, IL-17A, IL-1 β , IP-10, MCP-1, MIP-1 α , RANTES, G-CSF, GM-CSF, TNF- α , VEGF 이다. 각각의 인간 사이토카인 및 케모카인 포획 비드 현탁액을(capture bead suspension) 10 μl 씩 첨가하여 포획 비드의 혼합물을 얻는다. 이후 포획 비드의 혼합물을 격렬하게 와류(vortex)시킨 후, 50 μL 포획 비드 혼합물과 50 μL 의 피코에리트린(Phycoerthrin, PE) 검출 시약을 환자의 혈장 샘플과 표준분석(Assay standards) 샘플에 분배하여 3 시간 동안 실온에 배양(Incubation)하였다. 3 시간뒤, 1ml 의 세척 완충액(Wash Buffer)을 사용하여 비드를 세척하고 200 x g 에서 5 분 동안 원심분리 하였다. 그런 다음 상청액을 흡인하고 조심스럽게 버린다. 비드를 세척하고 300 μl 의

세척 완충액에 재현탁 한 다음 유세포 분석기에서 분석하였다. FACS CANTO II 유세포 분석기, FACS Diva 소프트웨어(BD Biosciences) 및 FlowJo 소프트웨어(FlowJo LLC, Ashland, OR, USA)를 사용하여 데이터를 수집하였다.

3. 통계학적 분석

통계 분석을 위해 범주형 변수는 피어슨 카이제곱(χ^2 test) 검정과 피셔의 정확검정(Fisher's exact test)을 시행하였고, 연속형 변수는 만-위트니 U 검정(Mann-Whitney U test)을 사용하여 비교하였다. 모든 유의성 테스트는 양측 검정으로 시행하였고, p 값은 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다. 통계 분석은 GraphPad Prism 9.4.1(GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA)을 사용하여 계산하였다.

결 과

1. SFTS 환자와 쯤쯤가무시병 환자의 급성기 사이토카인과 케모카인 비교

SFTS 환자 44 명과 쯤쯤가무시병 환자 49 명이 등록되었다. SFTS 환자 중 생존자는 37 명(84.1%), 비생존자는 7 명(15.9%)이었고, 쯤쯤가무시병 환자 중 사망한 사람은 없었다. SFTS 환자 28 명과 쯤쯤가무시병 35 명에서 급성기 분석을 위한 임상정보가 확보되어 SFTS 와 쯤쯤가무시병 환자의 기본 임상 특성 및 검사 결과를 표 1 에 제시하였다. SFTS 환자군은 ICU 입원이 10 명(35.7%), 쯤쯤가무시병 환자군은 2 명(5.7%)으로 중증도에서 유의한 차이가 있었다($p = 0.004$). 증상 발현부터 입원까지의 시간은 SFTS 환자군이 중간값 6.5 일(interquartile range, IQR 5.0 – 7.0), 쯤쯤가무시병 환자군이 6.0 일(IQR 4.0-5.0)로 유의한 차이가 없었으나($p = 0.279$), 입원 후 해열이 되기까지의 시간은 각각 중간값 3 일(IQR 2.0-5.0), 1 일(IQR 1.0-2.0)으로 유의한 차이가 있었다($p < 0.001$).

SFTS 환자 44 명과 쯤쯤가무시병 환자 49 명의 환자 중 SFTS 환자 31 명과 쯤쯤가무시병 환자 37 명, 총 68 명의 혈장 검체를 사이토카인 분석에 이용할 수 있었다(그림 1). 16 개의 사이토카인을 발현 패턴에 따라 세 그룹으로 나누었다. 첫째, IL-6, IL-10, IP-10 및 GM-CSF 농도는 SFTS 와 쯤쯤가무시병 환자 간에 차이가 없었다(그림 2). GM-CSF 를 제외하고 환자의 사이토카인 수치는 건강한 대조군보다 유의하게 높았다($p < 0.01$). IFN- α , IFN- γ , G-CSF, MCP-1, MIP-1 α 및 IL-8 의 혈장 사이토카인 수치는 쯤쯤가무시병 환자 및 건강한 대조군과 비교하여 SFTS 환자에서 가장 높았다(그림 3).

이들 사이토카인 중 IFN- γ , G-CSF, MCP-1 및 IL-8 수치는 쯔쯔가무시병 환자와 건강한 대조군 간에 차이가 없었지만, IFN- α 수치는 쯔쯔가무시병 환자에서 가장 낮았다($p < 0.0001$). 또한 쯔쯔가무시병 환자의 초기 IL-12p40, TNF- α , IL-1 β , RANTES, IL-17A 및 VEGF 수치는 정상인 및 SFTS 환자와 차이가 있었다(그림 4). 쯔쯔가무시병 환자는 RANTES, IL-17A 및 VEGF 수치가 가장 낮았고 IL-12p40 수치가 가장 높았다. TNF- α 와 IL-1 β 의 수치는 SFTS 와 쯔쯔가무시병 환자 사이에서 비슷했지만 쯔쯔가무시병 환자는 건강한 사람보다 TNF- α 와 IL-1 β 가 더 낮았다($p < 0.05$).

Table 1. Baseline characteristics of SFTS and scrub typhus patients.

	SFTS (n = 28)	Scrub typhus (n = 35)	p value
Age (years), mean ± SD	60.1 ± 9.5	62.9 ± 10.2	0.27
Male gender	16 (57)	16 (46)	0.37
Season (months)			
Spring-Summer (3-8)	11 (39)	0	
Fall (9-11)	17 (61)	35 (100)	< 0.001
Eschar	5 (18)	35 (100)	< 0.001
Clinical characteristics			
Fever	27 (96)	35 (100)	0.44
Skin rash	5 (18)	33 (94)	< 0.001
Myalgia	19 (68)	14 (40)	0.03
GI symptom	17 (61)	12 (34)	0.04
Underlying diseases			
Previously healthy	14 (50)	22 (63)	0.31
Diabetes mellitus	7 (25)	9 (26)	0.95
Malignancy	2 (7)	4 (11)	0.68
Chronic liver disease	1 (4)	1 (3)	1.00
Chronic kidney disease	0	1 (3)	1.00
Chronic lung disease	3 (11)	0	0.08
Autoimmune disease	1 (4)	1 (3)	1.00
Immunosuppressive condition	0	0	1.00
Laboratory findings			
WBC (/μL), median (IQR)	1800 (1095-2725)	7460 (5400-9070)	< 0.0001
Hemoglobin (g/dL), median (IQR)	14.0 (13.0-15.0)	13.0 (11.8-14.0)	0.02
Platelets × 10 ³ (/μL), median (IQR)	58.5 (36.0-77.5)	120.0 (92.0-138.0)	< 0.0001
BUN (mg/dL), median (IQR)	14.0 (10.3-23.3)	15.7 (13.2-21.2)	0.40
Creatinine (mg/dL), median (IQR)	0.74 (0.53-0.74)	0.86 (0.62-1.04)	0.65
AST (IU/L), median (IQR)	270.5 (117.3-550.8)	124.0 (60.0-186.0)	0.002
ALT (IU/L), median (IQR)	108.0 (70.5-206.5)	101.0 (52.0-157.0)	0.49
CRP (mg/dL), median (IQR)	0.35 (0.20-0.68)	104.0 (66.8-170.6)	< 0.0001
Time from symptom onset to admission	6.5 (5.0-7.0)	6.0 (4.0-7.0)	0.28

(days), median (IQR)			
Time from hospital admission to defervescence (days), median (IQR)^a	3.0 (2.0-5.0) ^a	1.0 (1.0-2.0)	< 0.001
Time from hospital admission to hospital discharge (days), median (IQR)	9.0 (7.3-11.0)	5.0 (4.0-7.0)	< 0.0001
Clinical course			
ICU admission	10 (36)	2 (6)	0.004
In-hospital mortality	4 (14)	0	0.03
Treatment			
Doxycycline	25 (89)	35 (100)	0.08
Ribavirin	12 (43)	0	<0.001
Plasma exchange	18 (64)	0	<0.001
Convalescent Plasma therapy	2 (7)	0	<0.001

^a Data missed in 3 SFTS patients.

Abbreviations: WBC, white blood cells; BUN, blood urea nitrogen; AST, aspartate transaminase; ALT, alanine transaminase; CRP, c-reactive protein; ICU, intensive care unit; SD, standard deviation; IQR, interquartile range

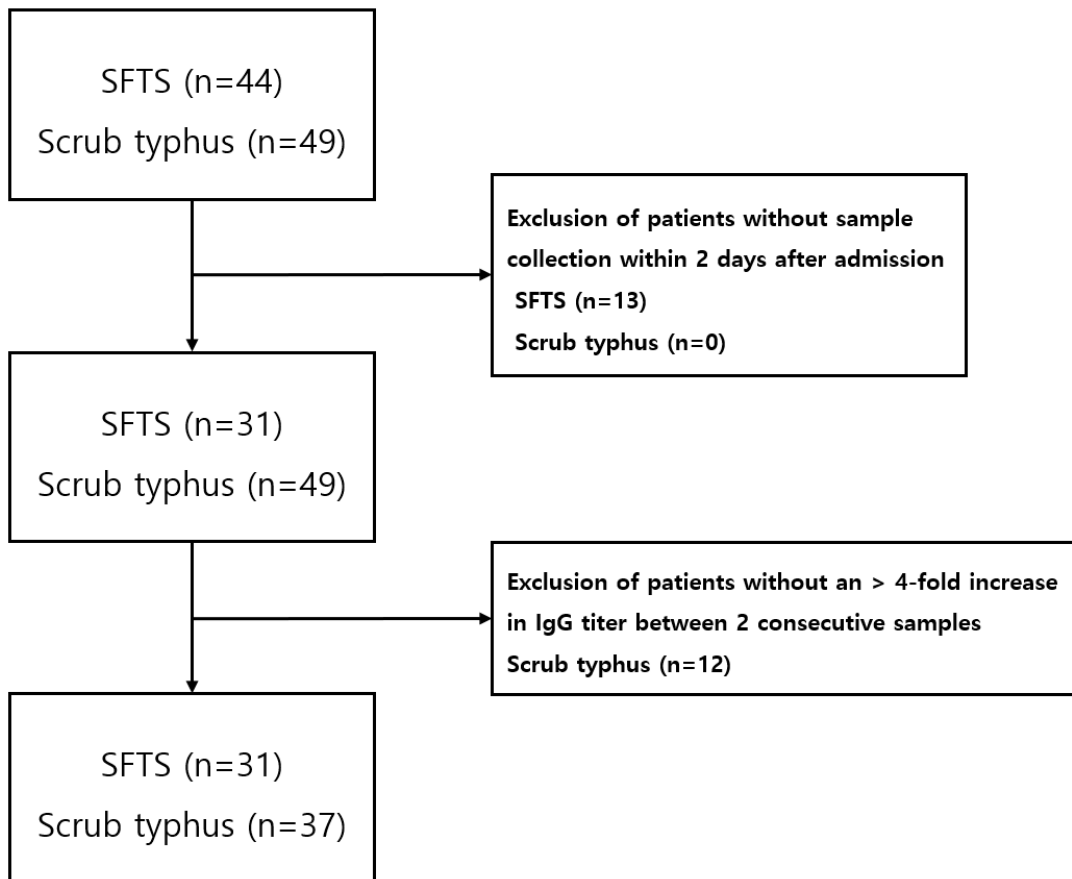


Figure 1. Flow chart for patients included in the comparison between SFTS and scrub typhus.

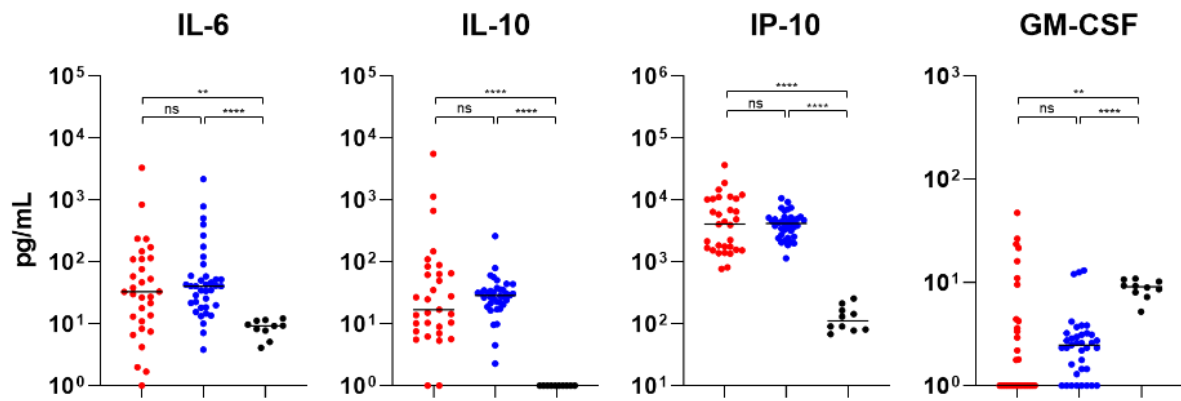


Figure 2. Cytokine and chemokine levels that were comparable between SFTS and scrub typhus. The plasma concentrations of IL-6, IL-10 and IP-10 levels of both SFTS and scrub typhus were higher than that of healthy control. On the other hand, GM-CSF levels of both diseases were lower than healthy volunteers. Red, SFTS; blue, scrub typhus; black, healthy control. ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$. ns, not significant.

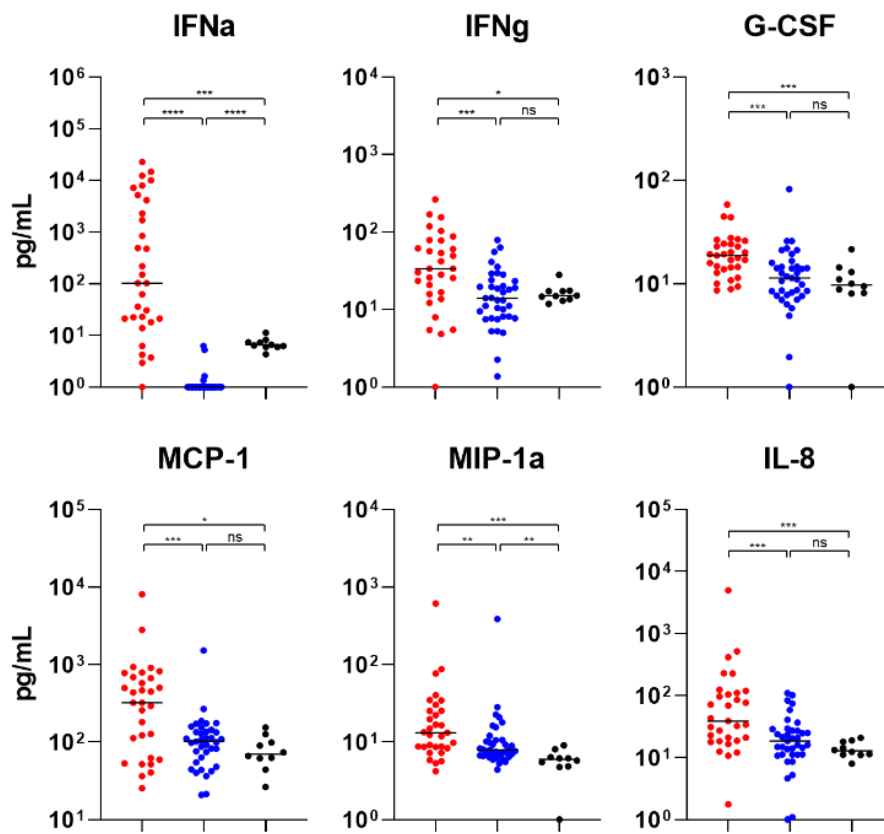


Figure 3. Cytokines levels that were highest in SFTS patients. The plasma concentrations of IFN- α , IFN- γ , G-CSF, MCP-1, MIP-1 α and IL-8 in SFTS were significantly higher than scrub typhus or healthy control. Red, SFTS; blue, scrub typhus; black, healthy control. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$. ns, not significant.

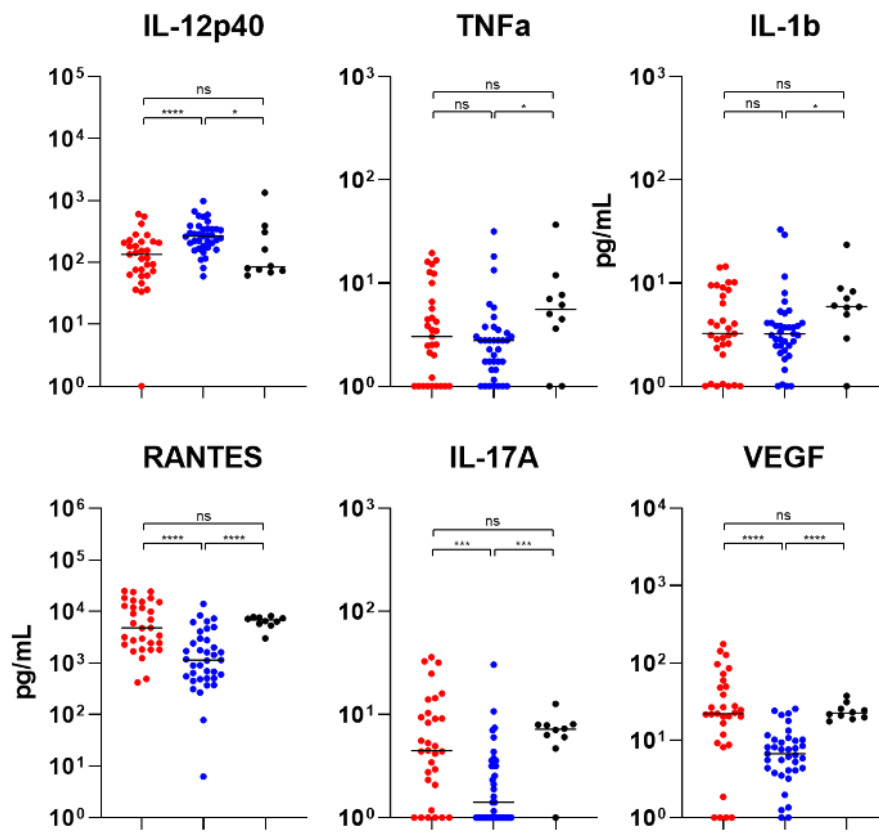


Figure 4. Cytokines that scrub typhus showed different pattern from SFTS and healthy control. The plasma concentrations of IL-12p40, TNF- α , IL-1 β , RANTES, IL-17A and VEGF were not different between SFTS and healthy control, whereas scrub typhus showed significant differences. Red, SFTS; blue, scrub typhus; black, healthy control. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$. ns, not significant.

2. 쯤쯤가무시병 환자에서 증증도에 따른 급성기 사이토퀀인과 케모카인 비교

등록된 49 명의 쯤쯤가무시병 환자의 기본 임상 특성 및 검사 결과는 표 2 에 제시되어 있다. 쯤쯤가무시병 환자를 Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score 5 점을 기준으로 high SOFA score 환자와 low SOFA score 환자로 나누어 16 개의 사이토퀀인과 케모카인 발현을 비교하였다(그림 5). IFN- γ 는 low SOFA score 환자의 혈중농도가 high SOFA score 환자보다 유의하게 높았다($p < 0.01$). 반면에 IL-1 β , IL-8, IL-17A, MIP-1 α , TNF- α 와 VEGF 는 high SOFA score 환자에서 유의하게 높은 것이 확인되었다. IL-10 은 high SOFA score 를 가진 환자들에서 상승되어 있는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다.

Table 2. Baseline characteristics of scrub typhus patients.

	Total (n=49)	high SOFA score (n=8)	low SOFA score (n=41)	p-value
Age (years), mean \pm SD	65.1 \pm 11.6	74.0 \pm 10.4	63.4 \pm 11.2	0.009
Male gender	23 (46.9)	4 (50)	19 (46.3)	>0.99
Clinical characteristics				
Fever	47 (96)	6 (75)	41 (100)	0.02
Skin rash	46 (94)	6 (75)	40 (98)	0.07
Eschar	46 (94)	7 (88)	39 (95)	0.42
Myalgia	17 (35)	1(13)	16 (39)	0.23
GI symptom	17 (35)	4 (50)	13 (32)	0.42
Altered mental status	5 (10)	4 (50)	1 (2)	0.002
Underlying diseases				
Previous healthy	27 (55)	2 (25)	25 (61)	0.12
Diabetes mellitus	15 (31)	5 (63)	10 (24)	0.05
Solid tumor	1 (2)	0	1 (2)	>0.99
Chronic liver disease	2 (4)	1 (13)	1 (2)	0.30
Chronic kidney disease	2 (4)	0	2 (5)	>0.99
Chronic lung disease	5 (10)	0	5 (12)	0.58
Immunosuppression	1 (2)	0	1 (2)	>0.99
Laboratory findings, median (IQR)				
WBC	8140 (5755 - 10435)	14770 (15778 - 17493)	6870 (5415 - 8855)	<0.0001
Hemoglobin	12.4 (11.8 - 13.8)	11.9 (10.6 - 12.2)	13.0 (11.8 - 14.1)	0.04
Platelets	121 (92 - 151)	105.5 (129.8 - 87.3)	128 (92 -159)	0.29
BUN	18.4 (14.4 - 25.2)	57.5 (48.9 - 92.6)	16.5 (13.7 - 30.0)	<0.0001
Creatinine	0.9 (0.7 - 1.1)	3.2 (1.4 - 5.3)	0.9 (1.0 - 0.7)	<0.0001
AST	111 (59 - 175)	52.5 (42.0 - 82.5)	130 (69.5 - 189)	0.004
ALT	86 (50.5 - 143)	65.0 (32.3 - 86.8)	101 (53 - 160)	0.03
Total bilirubin	0.9 (0.7 - 1.3)	1.41(0.7 - 3.5)	0.9 (0.7 - 1.2)	0.13
CRP	102 (67.2 - 142.3)	174.7 (112.2 - 337.1)	98.8 (61.4 - 121.9)	0.004
Clinical course				
Time from symptom onset to admission (days), median (IQR)	6 (4 - 7)	6 (2 - 8)	6 (4 - 7)	0.8

Time from hospital admission to defervescence (days), median (IQR)	1 (1 - 2)	1 (0 - 3.3)	1 (1 - 2)	0.29
Time from hospital admission to discharge (days), median (IQR)	6 (4 - 7)	19 (7.8 - 19)	5 (4 - 6)	<0.0001
ICU admission treatment	4 (8.2)	4 (50)	0	0.0001
doxycycline	48 (98)	7 (88)	41 (100)	0.16
azithromycin	25 (51)	6 (75)	19 (46)	0.25
combination	24 (49)	5 (63)	19 (46)	0.46

Abbreviations: WBC, white blood cells; BUN, blood urea nitrogen; AST, aspartate transaminase; ALT, alanine transaminase; CRP, c-reactive protein; ICU, intensive care unit; SD, standard deviation; IQR, interquartile range

Table 3. The Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) Score

	SOFA score				
	0	1	2	3	4
Respiration PaO ₂ /FiO ₂	>400	≤400	≤300	≤200 with ventilation support	≤100 with ventilation support
Coagulation Platelets×10 ⁹ /L	>150	≤150	≤100	≤50	≤20
Liver Total bilirubin (mg/dL)	<1.2	1.2-1.9	2.0-5.9	6.0-11.9	≥12.0
Cardiovascular Hypotension (μg/kg/min)	No hypotension	MAP <70 mmHg	Dopamine≤5 or Dobu (any dose)	Dopamine>5 or Epi≤0.1, norepi ≤0.1	Dopamine>15 or Epi≤0.1, norepi ≤0.1
Central nerve system GCS	15	13-14	10-12	6-9	<6
Renal Creatinine (mg/dL)	<1.2	1.2-1.9	2.0-3.4	3.5-4.90	≥5.0

GCS: Glasgow Coma Score, MAP: mean arterial pressure, Dobu: Dobutamine, Epi: Epinephrine,

Norepi: Norepinephrine

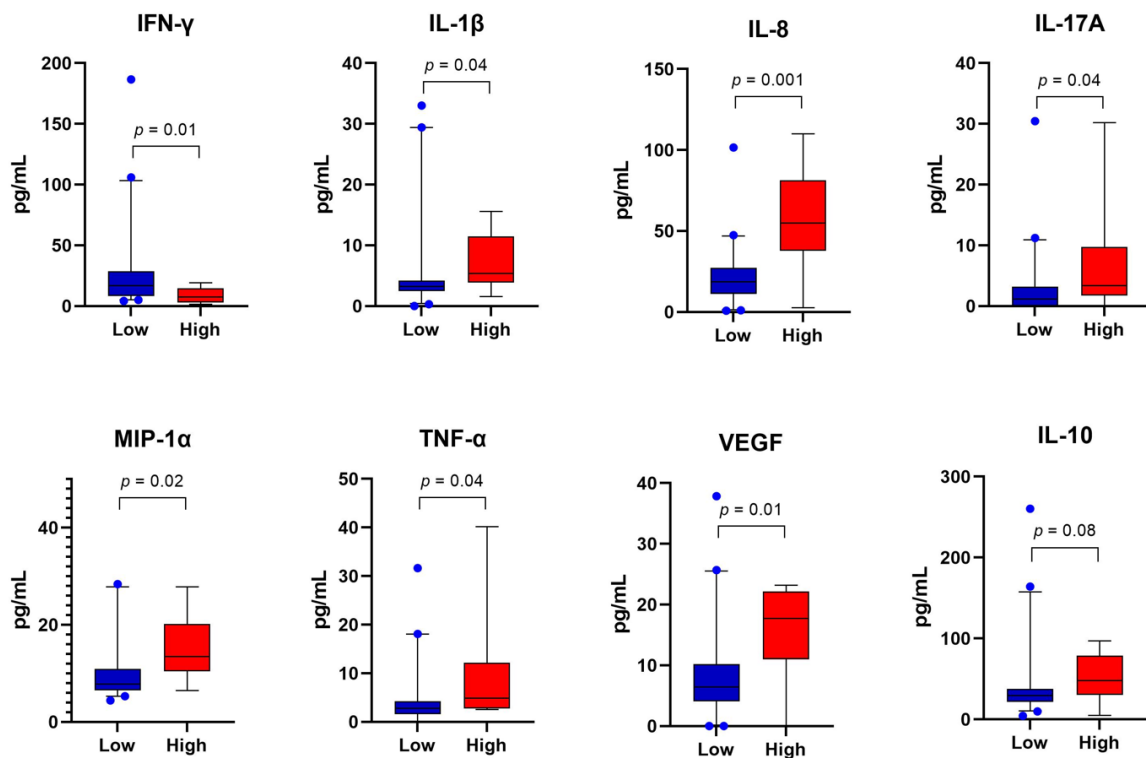
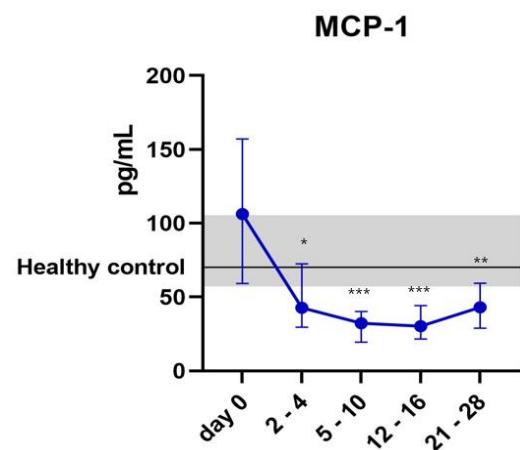
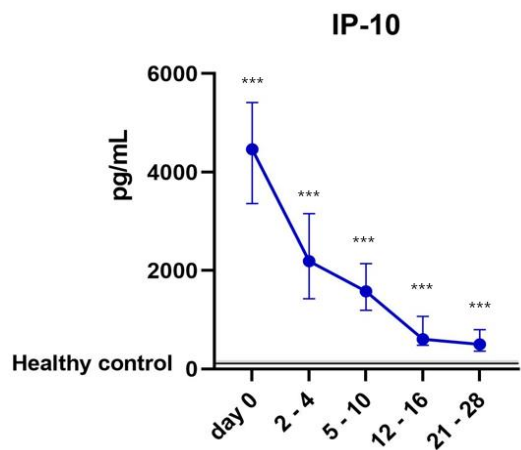
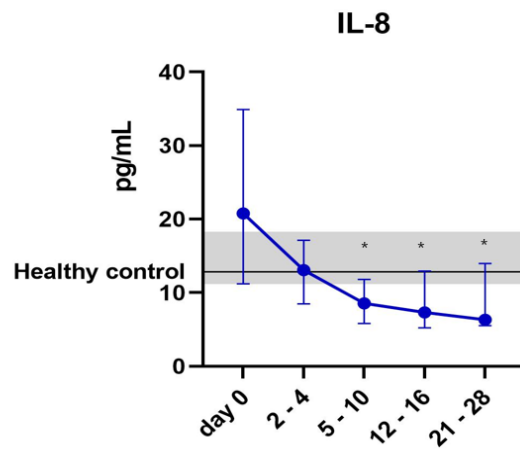
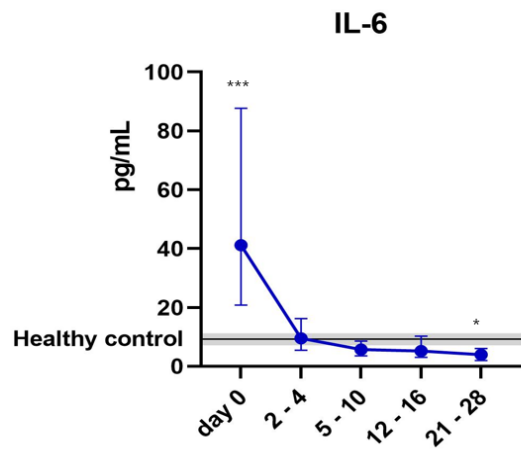
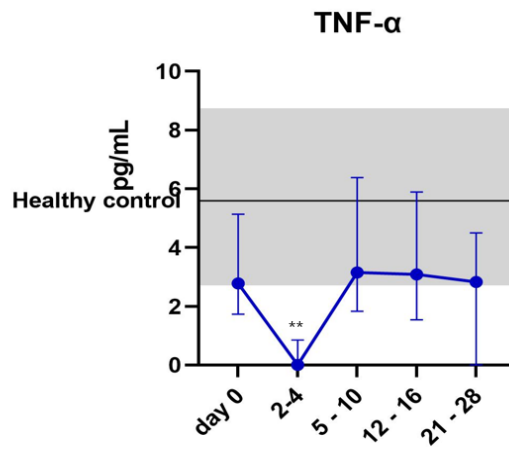
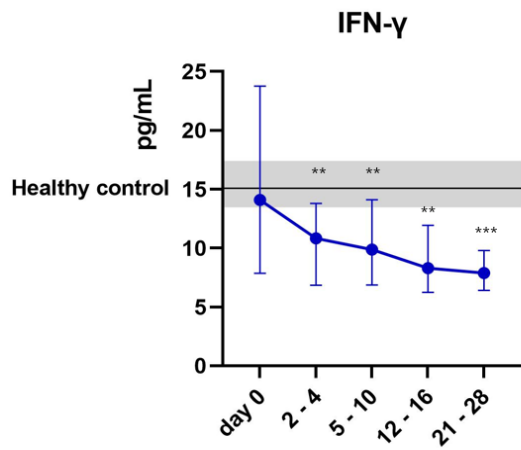


Figure 5. Comparison of the cytokines and chemokines in serum of patients with scrub typhus between those with high SOFA score and low SOFA score. The plasma concentration of IFN- γ in patients with scrub typhus of low SOFA score were significantly higher than in patients with high SOFA score, whereas the plasma concentration of IL-1 β , IL-8, IL-17A, MIP-1 α , TNF- α and VEGF in patients of high SOFA score were significantly higher than in patients with low SOFA score. IL-10 exhibited a tendency to be elevated in patients with high SOFA scores without significance. Patients with high SOFA scores are defined as individuals with a SOFA score of 5 or higher.

3. 쯤쯤가무시병 환자에서 시간에 따른 사이토키인과 케모카인의 변화 분석

49 명의 쯤쯤가무시병 환자를 입원일을 기준으로 입원일 당일은 day 0 으로 정하고, 2 일-4 일, 5 일-10 일, 12 일-16 일, 21 일-28 일로 나누어 건강한 대조군과 비교하여 시간에 따른 사이토키인과 케모카인의 변화를 분석하였다. 입원당일 시행한 0 일 검체로 IFN- γ , IL-8, MCP-1, G-CSF 를 쯤쯤가무시병 환자와 건강한 대조군을 비교하였을 때 유의한 차이가 없었으나 이후부터 쯤쯤가무시병 환자의 사이토키인 농도가 유의하게 낮아졌다. IP-10 의 농도는 0 일째 검사에서 쯤쯤가무시병 환자는 건강한 대조군과 유의하게 차이가 있었으며 21 일-28 일에 채혈한 검체까지 유의하게 농도가 높았다. VEGF 와 GM-CSF 는 0 일에 시행한 검체부터 21 일-28 일에 채취한 검체까지 쯤쯤가무시병 환자에서 의미있게 낮은 농도를 보였다.



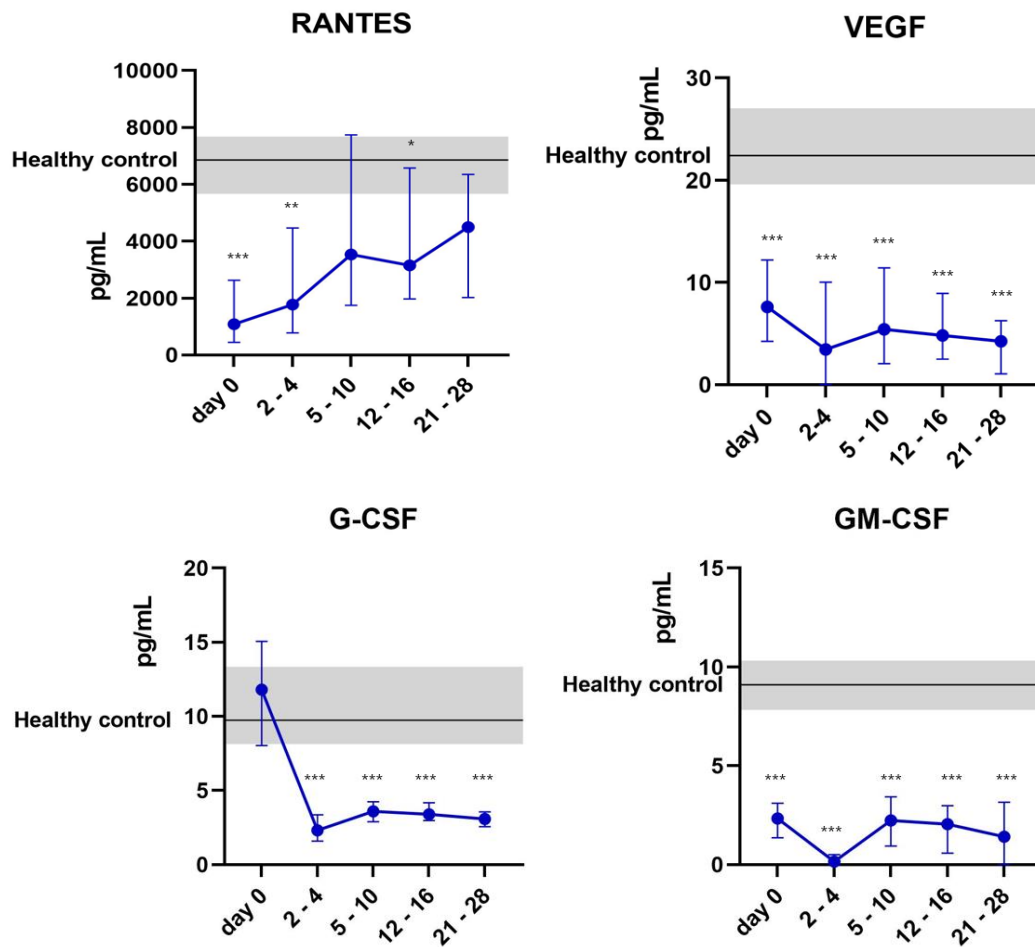


Figure 6. Time kinetics of the cytokines and chemokines in serum of patients with scrub typhus after admission. The numbers of analyzed samples were as follows: HD 0, n = 49; HD 2-4, n = 47; HD 5-10, n = 40; HD 12-16, n = 36; HD 21-28, n = 15. * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, *** $p < 0.0005$

4. 쯔쯔가무시병 환자에서 급성기와 회복기의 사이토카인과 케모카인 비교

49 명의 쯔쯔가무시병 환자 중 입원 당일에 49 명에서 검체를 확보할 수 있었고, 회복기에 해당하는 21 일-28 일은 15 명의 검체가 확보되었다. 15 명의 환자 중 high SOFA score 에 해당하는 환자는 3 명이었고, 중환자실 치료를 받은 환자는 2 명이었다. IFN- γ , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p40, IP-10, MCP-1, MIP-1 α , RANTES, G-CSF, GM-CSF, VEGF 는 급성기와 회복기의 농도가 유의하게 차이가 있었다. RANTES 의 경우 급성기보다 회복기의 농도가 유의하게 증가한 반면에, 나머지 사이토카인과 케모카인은 유의하게 감소하였다(그림 7).

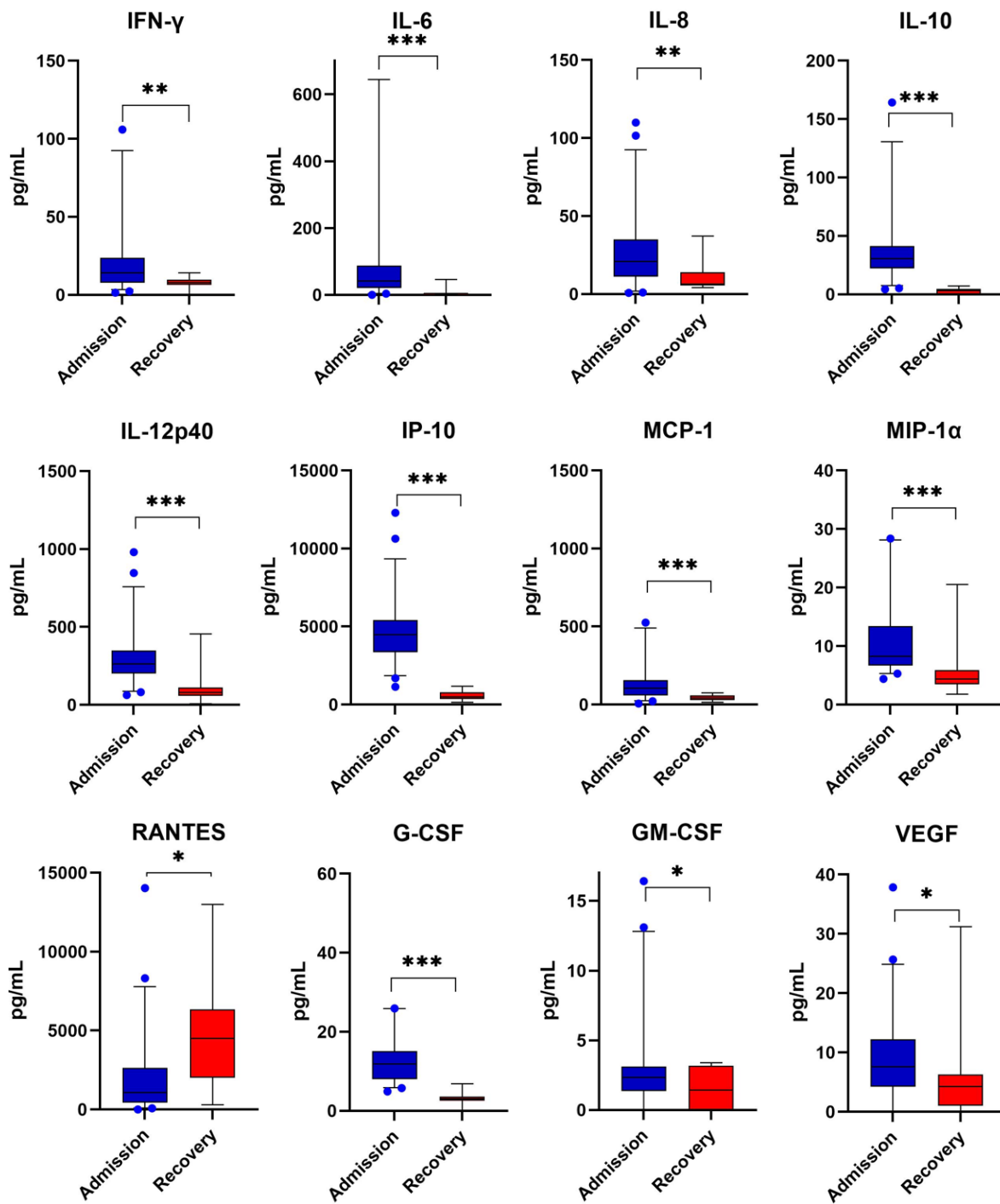


Figure 7. Comparison of the cytokines and chemokines in serum of patients with scrub typhus between the acute and recovery phases. * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, *** $p < 0.0005$

5. SFTS 환자에서 사이토카인과 케모카인의 분석

44 명의 SFTS 환자를 37 명의 생존자군과 7 명의 비생존자군으로 나누어 입원 1-2 일 내의 급성기 사이토카인과 케모카인을 비교하여 분석하였고(그림 8), 입원일 당일은 day 1 로 정하고 1 일-2 일, 3 일-4 일, 5 일-6 일, 7 일-8 일, 9 일-10 일, 11 일-12 일, 13 일-14 일, 15 일-16 일로 시간을 나누어 시간경과에 따른 사이토카인과 케모카인을 분석하였다.

비생존자는 생존자와 비교하였을 때, IFN- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, MCP-1, MIP-1 α , IP-10 및 G-CSF 의 혈장농도가 유의하게 상승되어 있었다(그림 9). 또한 이러한 사이토카인의 혈장 농도는 질병 경과 전반에 걸쳐 비생존자에서 현저하게 높았다. 질병 경과 동안 IFN- γ , IL-6, IL-8, MCP-1, MIP-1 α 및 G-CSF 가 상승하여 입원 5 일 후 비생존자에서 최대 수준에 도달하였다. 반면, IFN- α 는 모든 환자에서 입원 당일 최고치였으며 질병기간 전반에 걸쳐 감소하였고, IL-10 과 IP-10 의 혈장 농도는 입원 기간 동안 높게 유지되다 사망직전 다소 감소하는 경과를 보였다.

SFTS 환자 44 명의 사이토카인과 케모카인을 질병기간 동안 건강한 대조군과 비교 분석하여 그림 10 에 나타내었다. IFN- γ 는 입원 후 4 일째까지 IFN- α , MCP-1 은 입원 후 6 일째까지 유의하게 높은 수치를 보였으나 이후부터는 건강한 대조군과 차이가 없었다. IP-10 과 MIP-1 α 는 질병기간 동안 높은 수치를 보였고, GM-CSF 는 질병기간 동안 유의하게 낮은 수치를 보였다. SFTS 환자의 질병기간 사이토카인과 케모카인 변화를 쯔쯔가무시병 환자와 비교하면 SFTS 환자에서는 IFN- γ , IL-8, MCP-1, G-CSF 가 입원기간 초반에는 건강한 대조군에 비해 유의하게 높았으나, 5 일-10 일이후 건강한 대조군과 유의한 차이를 보이지 않은 반면, 쯔쯔가무시병 환자는 입원기간 초반에는 건강한 대조군과 유의한 차이를 보이지 않다가, 이후부터 유의하게 낮아졌다. VEGF 는

쯔쯔가무시병 환자에서는 건강한 대조군과 비교하였을 때 유의하게 낮은 수치를 보였으나 SFTS 환자에서는 차이가 없었다.

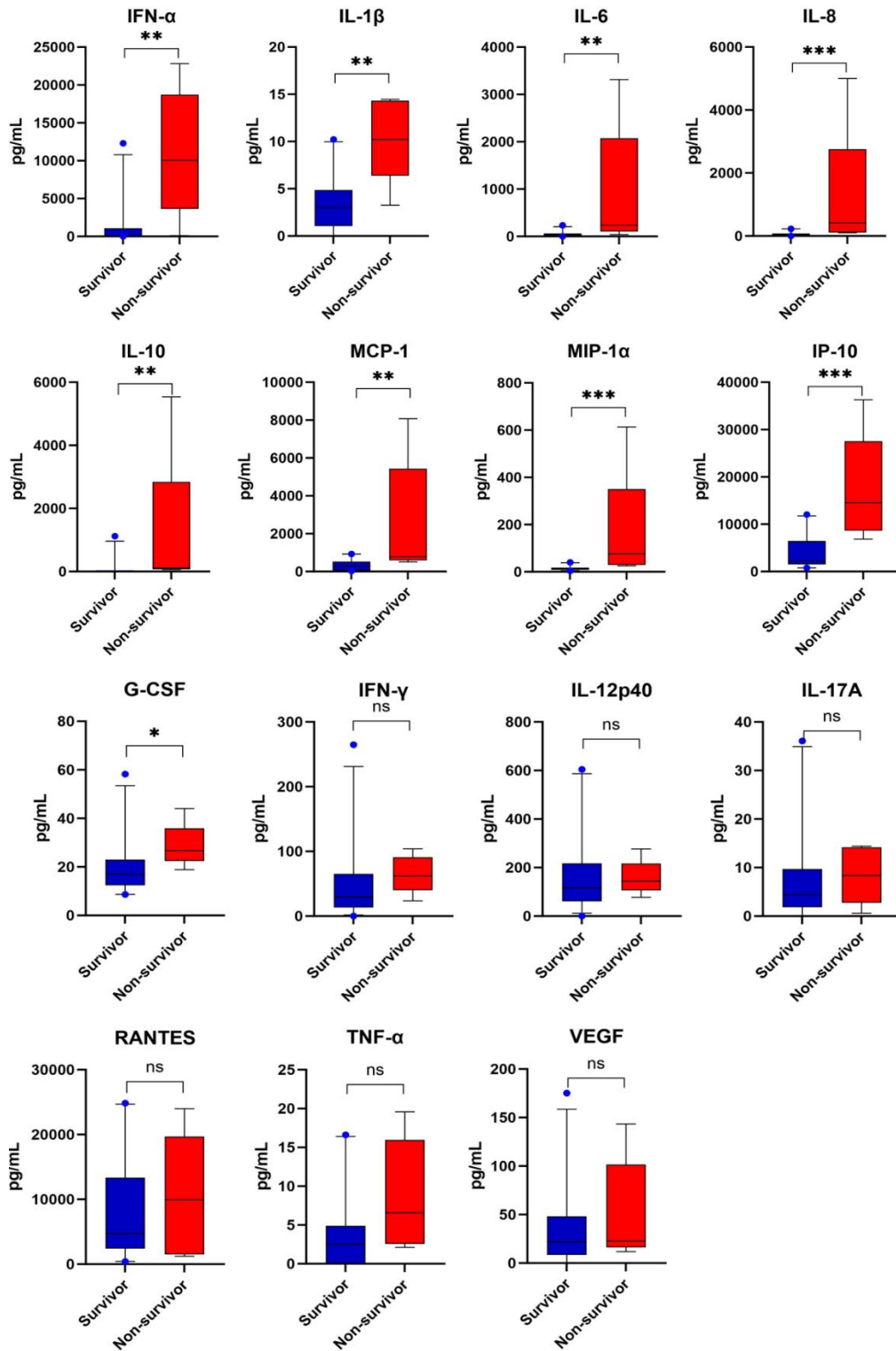
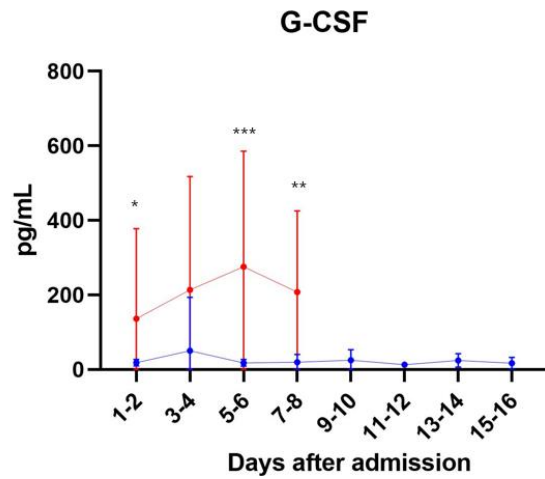
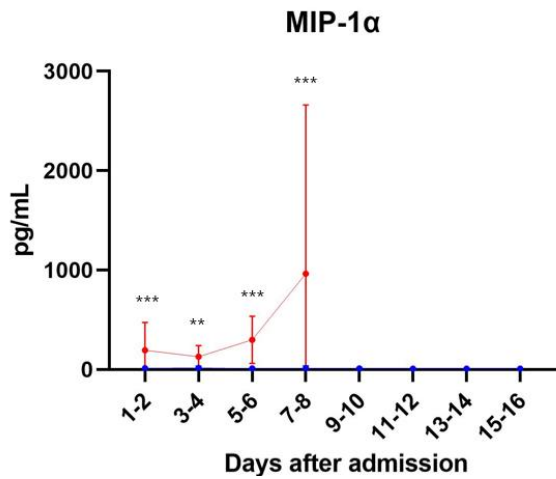
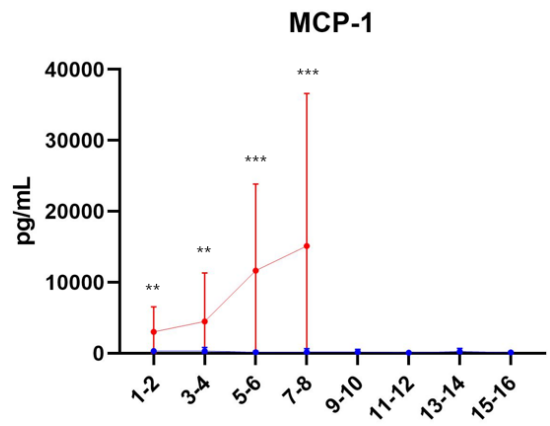
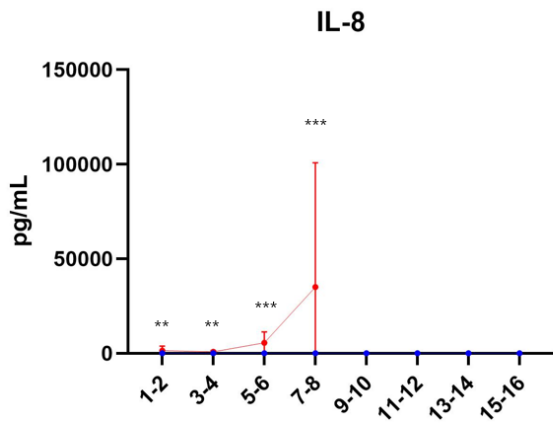
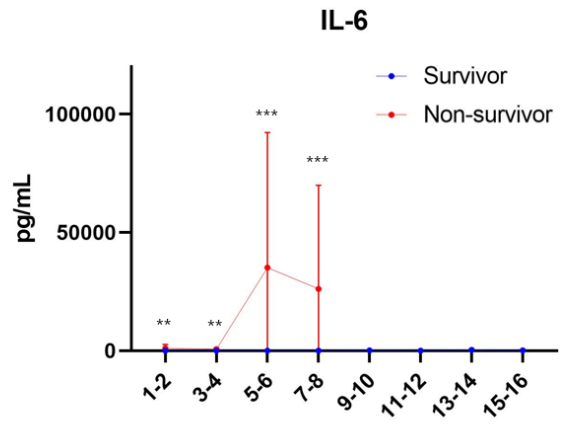
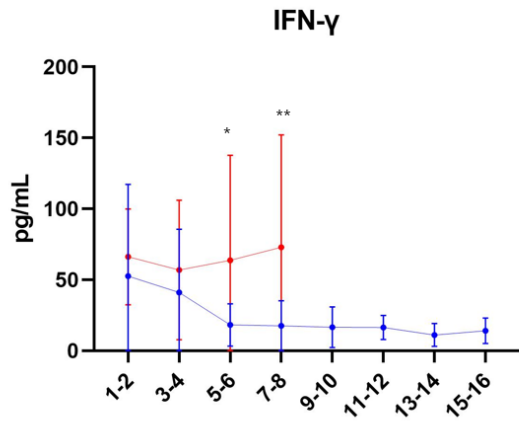


Figure 8. Comparison of cytokines and chemokines in serum of survivors and non-survivors among patients with SFTS. * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, *** $p < 0.0005$



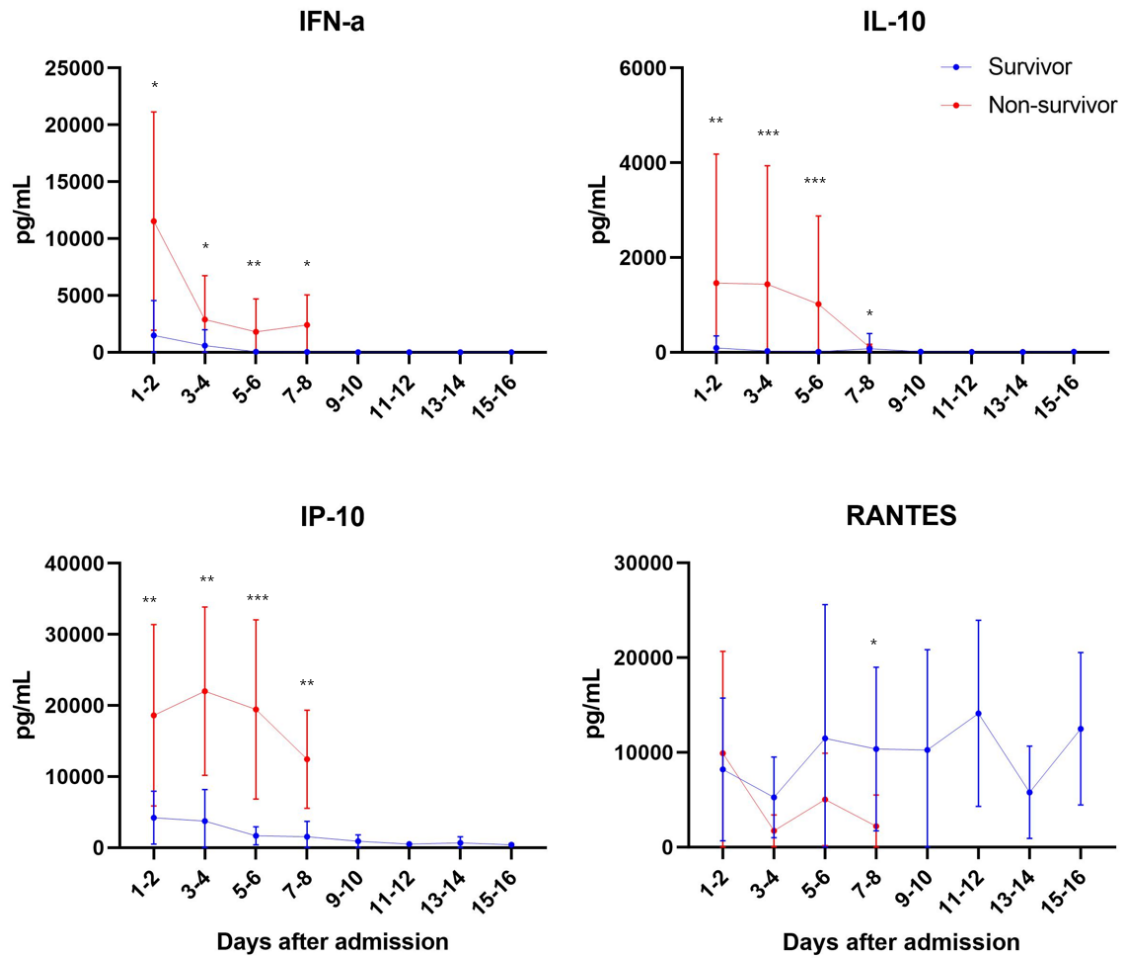
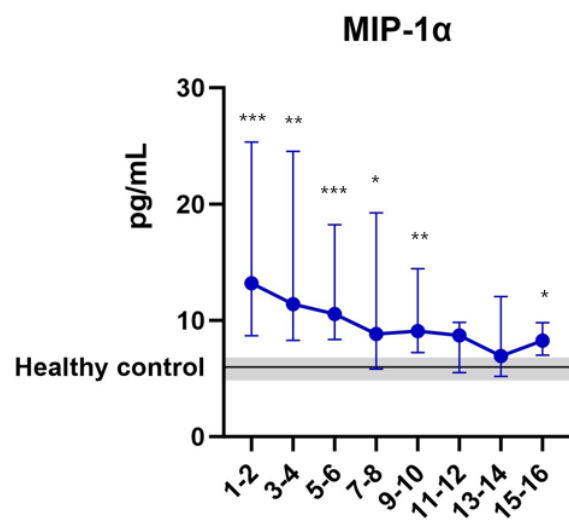
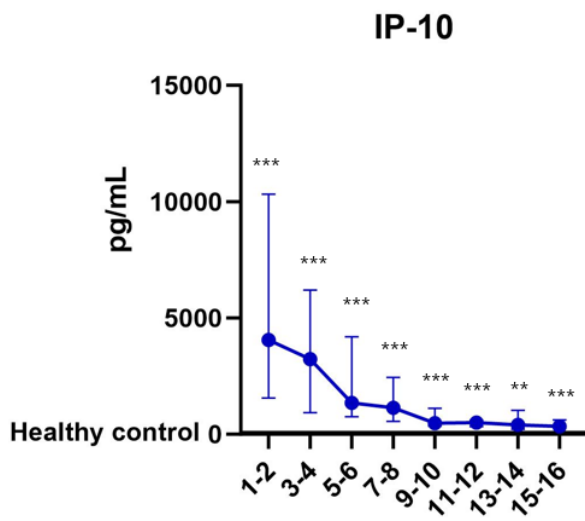
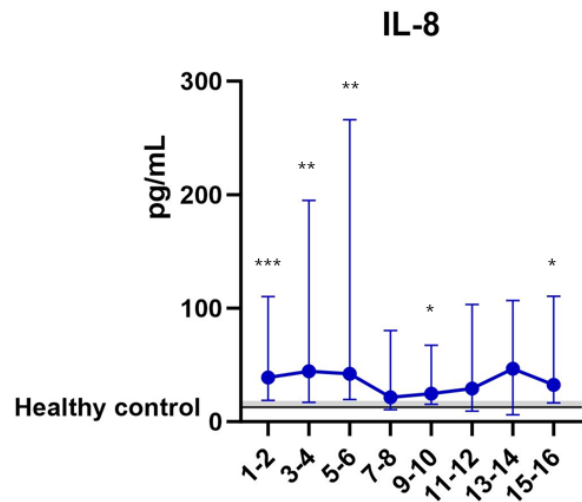
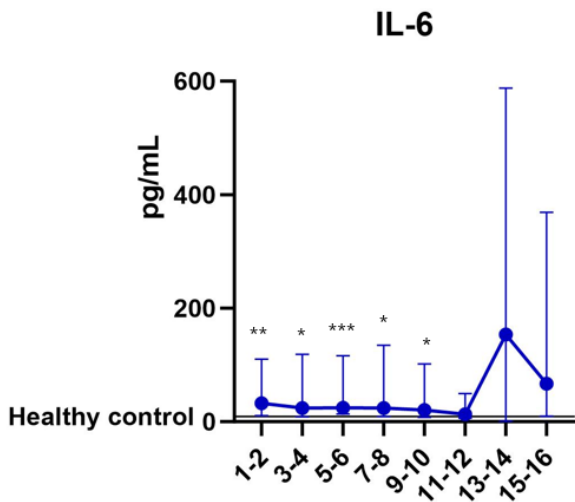
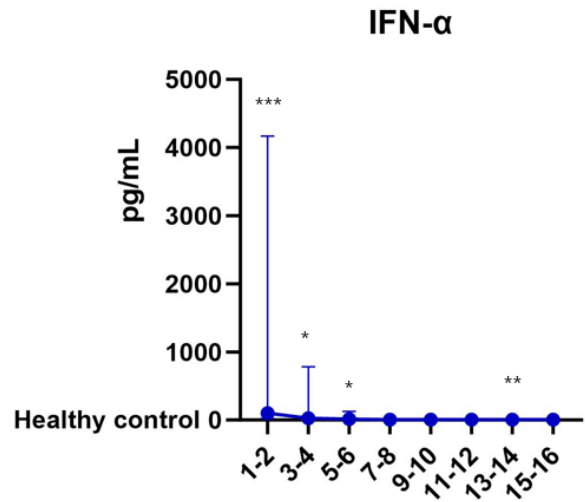
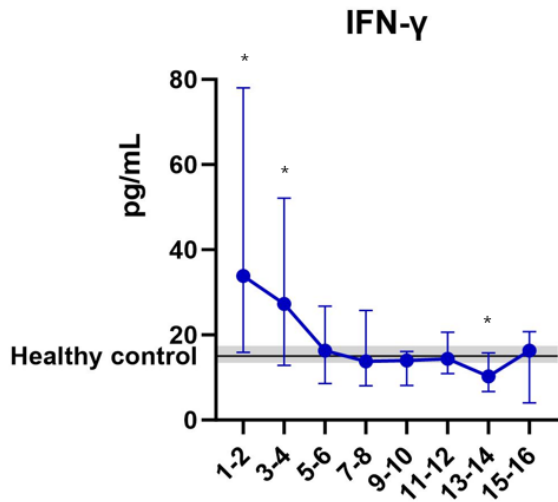
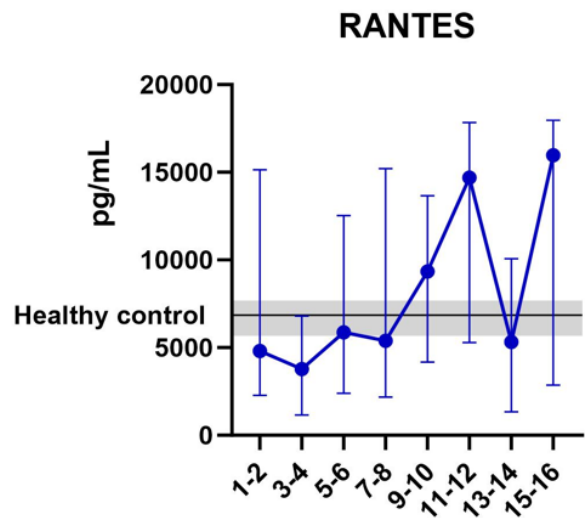
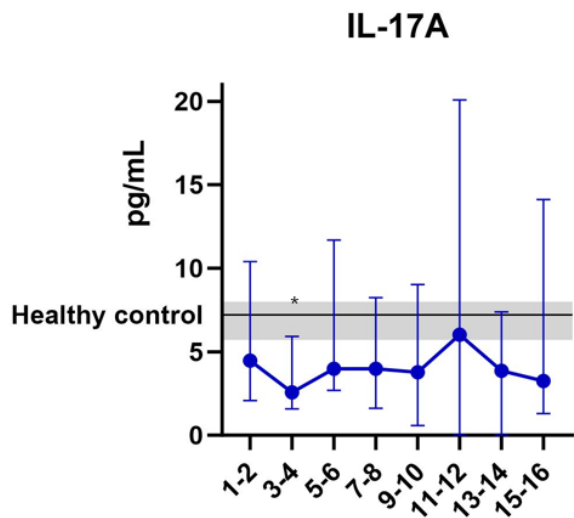
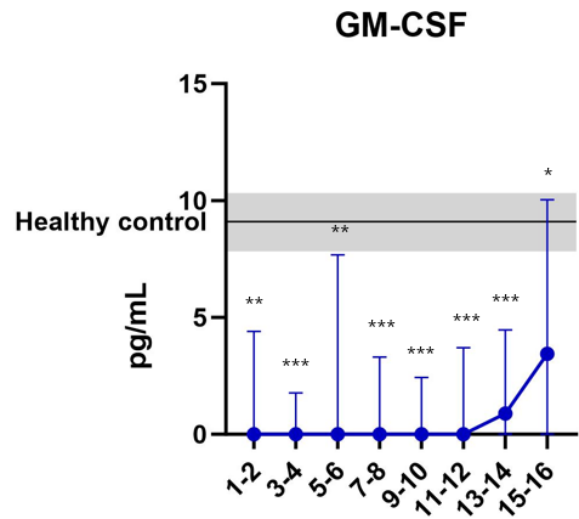
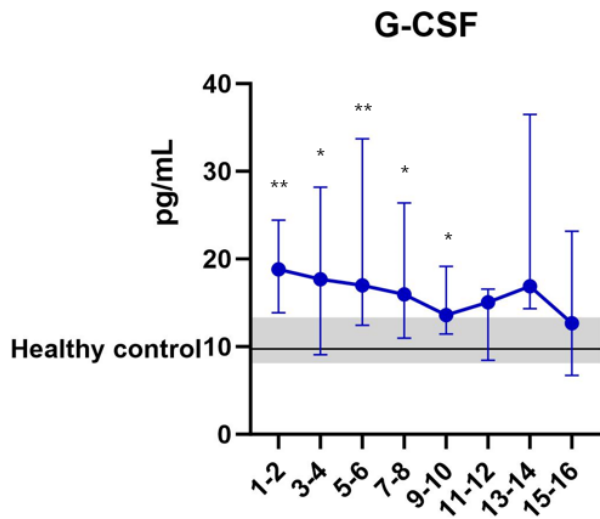
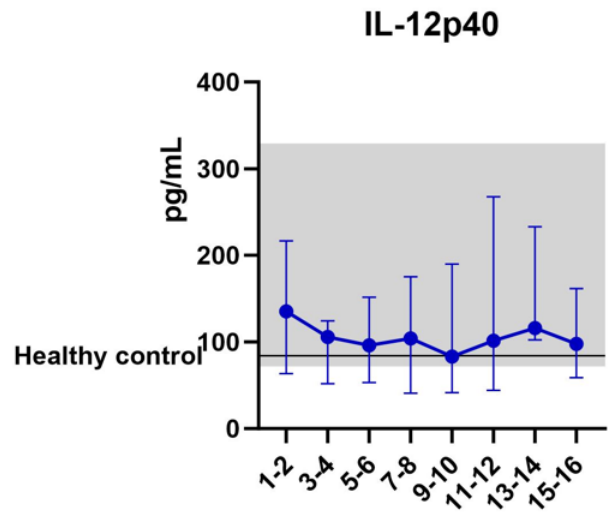
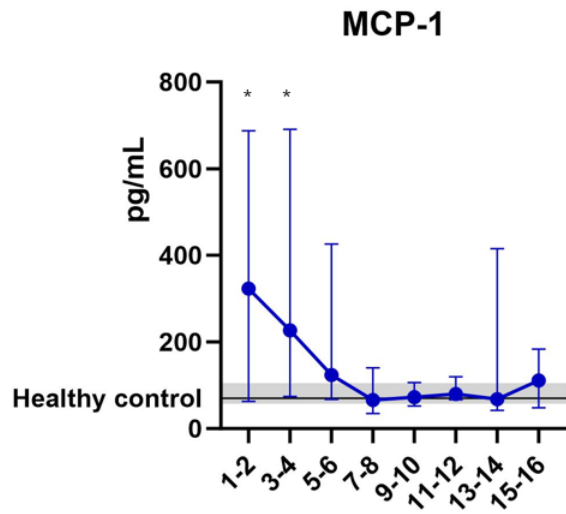


Figure 9. Plasma concentration of cytokines and chemokines in serum of survivors and non-survivors among patients with SFTS. The numbers of analyzed samples were as follows: HD 1–2, n = 31 (survivor/non-survivor, 26/5); HD 3–4, n = 35 (31/4); HD 5–6, n = 29 (24/5); HD 7–8, n = 29 (25/4); HD 9–10, n = 19 (19/0); HD 11–12, n = 7 (7/0); HD 13–14, n = 6 (6/0); HD 15–16, n = 6 (6/0). * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, *** $p < 0.0005$





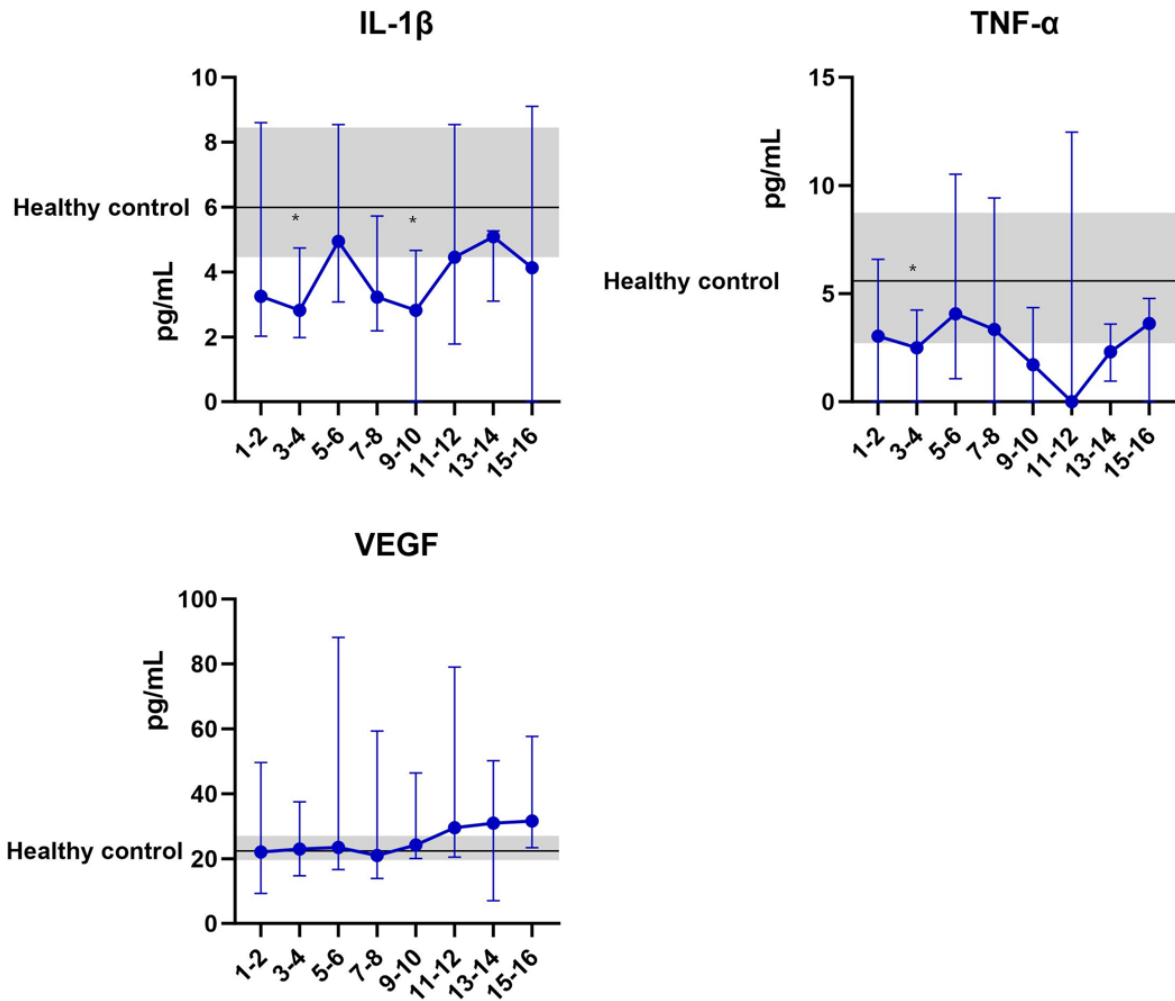


Figure 10. Time kinetics of the cytokines and chemokines in serum of patients with SFTS after admission. The numbers of analyzed samples were as follows: HD 1–2, n = 31; HD 3–4, n = 35; HD 5–6, n = 29; HD 7–8, n = 29; HD 9–10, n = 19; HD 11–12, n = 7; HD 13–14, n = 6; HD 15–16, n = 6. * $p < 0.05$, ** $p < 0.005$, *** $p < 0.0005$

고 찰

우리 몸은 외부에서 바이러스나 세균이 침입하면 즉각적으로 사이토카인을 방출하여 초기의 선천적 면역 반응이 시작되는데, 사이토카인은 급성 염증 반응에 중요한 역할을 한다. 사이토카인은 세포 신호 전달을 하는 작은 크기의 단백질로 대식세포, 림프구, NK 세포와 같은 면역세포가 외부항원을 만나게 되면 사이토카인을 만들고, 주변 면역세포를 모여들게 하며, 면역세포는 사이토카인을 만들어내어 연쇄반응이 발생한다. 면역반응이 과다하면 사이토카인 폭풍이라고 불리는 전신 염증성 임상 증상이 발생하여 이차 장기 손상도 발생할 수 있다. 그러므로 감염 질환에서 질병의 병태생리학적 특징을 논의하는 것은 중요하다[19]. SFTS와 쯤쯤가무시병의 발병기전은 아직 완전히 밝혀지지 않았는데, 이전 여러 연구에서 두 질병의 중증도는 병원체의 양과 인체내의 사이토카인의 양과 밀접한 관련이 있다고 보고하였다. 본 연구에서는 SFTS와 쯤쯤가무시병 환자의 사이토카인 양상을 분석하고 건강한 대조군과 비교하였다. 그 결과 두 개의 급성 열성 진드기매개 감염병의 초기 임상 증상이 유사해 보이는 부분이 있으나 두 질환은 서로 다른 사이토카인 프로파일(profile)이 있음을 발견하였다.

IL-6는 여러가지 다양한 종류의 작용을 하는 사이토카인으로 선천면역 뿐만 아니라 적응면역도 조절한다. 골수 전구 세포로부터 호중구 생성을 유도하고, 집락 자극 인자와 협조하여 작용하고, 적응면역에서는 B 세포의 성장을 자극한다. 또한 지속적인 바이러스 감염을 제어하기 위해 세포 반응을 높이는 데 필수적인 역할을 하며 다양한 감염 및 조직 손상에 대한 숙주 방어에 기여한다. IL-10은 면역 조절(immunoregulatory) 사이토카인으로 숙주 면역 반응을 억제하여 조직 손상을 방지하고 병원체를 성공적으로 제거하도록 도와준다. 유 등은 최근 치명적인 SFTSV 감염 환자에서 IL-6 및 IL-10 수치가

비치명적 질병보다 유의하게 높았다고 보고하였다[20]. 쯔쯔가무시병에서는 쯔쯔가무시균혈증이 있는 환자에서 IL-6, IL-10, IP-10 수치가 비균혈증 환자에 비해 높게 나타났다[21]. 본 연구에서는 이전에 보고된 바와 같이 두 질환 모두 급성기에 IL-6, IL-10, IP-10 수치가 상승하였다[22-24]. 다른 다양한 감염질환에서도 IL-6, IL-10, IP-10 이 질병의 중증도가 높을 때 상승되어 있는 것들이 확인되었다[25-28].

GM-CSF 는 활성화된 T 세포, 대식세포, 내피세포, 골수 기질세포에 의해 생성되고, 내분비 호르몬처럼 감염된 부위에서 생성되어 염증반응이 발생하여 호중구가 소모되었을 때 골수로부터 호중구를 이동시킨다. GM-CSF 는 선천면역과 후천면역 두가지가 적절히 구동되는 데에 필수적인 역할을 하는 염증성 사이토카인이지만, GM-CSF 의 과발현과 하류 신호 전달 경로의 활성화는 과염증과 세포 매개 조직 손상을 유발한다[29]. 본 연구에서 쯔쯔가무시병 환자는 건강한 대조군보다 GM-CSF 수치가 낮았지만 Eisermann 등은 쯔쯔가무시병 환자에서 건강한 대조군에 비해 GM-CSF 수치가 더 높다고 보고하였다[24]. SFTS 및 쯔쯔가무시병 환자에서 GM-CSF 의 역할에 대한 향후 추가 연구를 통해 질병 경과 동안 골수 계통 세포의 역할을 이해하는 데 도움이 될 것 같다.

IFN- α , IFN- γ , G-CSF, MCP-1, MIP-1 α 및 IL-8 수치는 그룹 중 SFTS 환자에서 가장 높았다. 이러한 혈중 사이토카인의 농도는 쯔쯔가무시병 환자에서도 의미있게 상승하고 쯔쯔가무시병의 질병 중증도와 상관관계가 있다는 것이 보고되었으나[17, 24, 30], 이번 연구에서는 쯔쯔가무시병 환자군과 건강한 대조군 간의 차이를 찾을 수 없었다. IL-6, IL-10, IP-10 과 함께 IFN- α , IFN- γ , G-CSF, MCP-1, MIP-1 α , IL-8 농도가 높을수록 급성 SFTS 의 질병 중증도와 관련성이 쯔쯔가무시병의 중증도와의 관련성보다는 높을 수도 있어 보인다.

IL-12p40 은 CD8+ T 세포에서 수지상 세포 이동, 대식세포 염증 및 IFN- γ 생산을 촉진하는 사이토카인이다. IL-17A 는 CTLA8 으로도 알려져 있는데 활성화된 T 세포에

의해 생성되는 전염증성(proinflammatory) 사이토카인으로 숙주방어, 세포 수송, 면역 조절 및 조직복구에 중요한 역할을 하고 선천적인 면역 방어에 핵심적인 역할을 한다. 본 연구에서 쯔쯔가무시병 환자는 IL-12p40 이 SFTS 환자와 건강한 대조군에 비해 가장 높았고 IL-17A 가 가장 낮았다. SFTS 와 쯔쯔가무시병의 T 세포 면역 반응에 대한 데이터는 현재까지 거의 없었고 최근 SFTS 감염 동안 말초 면역 세포의 구성과 표현형을 특징지은 두 가지 연구가 있었다[31-32]. 급성 SFTS 감염에서 Th1 subset 은 중요한 역할을 하고 있지 않았으나 쯔쯔가무시병에서는 도움 T 세포(T helper 1 cell ,Th1) 반응이 강한 것이 *O. tsutsugamushi* 를 세포 내에서 복제를 제한하는 데 필수적일 수 있는 것으로 확인되었고[33], SFTS 감염에서는 Th17 반응이 Th1 보다 더 중요한 것으로 보고되었다[31, 34]. SFTSV 와 *O. tsutsugamushi* 는 모두 혈관 내피 세포를 손상시키는 능력을 가지고 있지만 혈관 손상의 결과는 다른 것으로 보인다. SFTS 환자는 일반적으로 혈소판 감소증과 출혈 경향과 관련된 aPTT(activated partial thromboplastin time) 연장을 보였다[3]. 반면, 쯔쯔가무시병 환자에서는 면역세포 침윤을 동반한 혈관염이 주요 조직병리 소견이었다[6]. 이처럼 급성 SFTS 와 쯔쯔가무시병 사이에 혈관염의 발생기전이 다르기 때문에 VEGF 의 레벨에 유의한 차이가 있을 수 있겠다.

TNF- α 는 세포내 병원체(intracellular pathogen)에 의한 감염에서 숙주의 방어에 중요한 역할을 하며, 감염에서 세포매개 면역반응을 조절하는 역할을 한다. 이전 연구에서 중증 쯔쯔가무시병 환자의 경우 경증 환자에 비해 TNF- α 가 유의하게 높았고[17,22,35-36], 본 연구에서도 high SOFA score 환자에서 TNF- α 가 유의하게 높았다. IFN- γ 는 선천면역을 담당하는 자연살해세포(Natural killer cell, NK cell), 적응면역을 담당하는 Th1 세포와 CD8⁺ T 세포의 활성화에 의해 생성되고, 감염된 세포나 스트레스를 받는 숙주세포 혹은 IL-12 의 자극에 의해서 NK 세포는 IFN- γ 를 분비한다. 쯔쯔가무시병은 초기 선천반응이 중요하고, 쯔쯔가무시병에서 중증일수록 NK 세포의

활성도가 증가하여[36], 중증 쯔쯔가무시병 환자에서 IFN- γ 가 증가하는 경향이 있을 것으로 기대하였지만, 본 연구에서는 high SOFA score 를 가진 중증환자에서 IFN- γ 가 유의하게 낮아 이에 대한 추가적인 연구가 필요하겠다. IL-8 은 염증반응을 매개하는 전염증성 케모카인으로 단핵구, 호중구, 호산구 등을 감염부위로 이동시킬 수 있는 중요한 케모카인이다. 이전연구에서는 IL-8 이 쯔쯔가무시병의 중증도와 사망률에 강한 상관관계가 있었다[17]. 본 연구에서 IL-8 은 high SOFA score 를 가진 환자에서 low SOFA score 환자와 비교하였을 때 유의하게 증가하였으나, 건강한 대조군과 비교하였을 때 유의한 차이가 없었는데, 이것은 우리연구에서 모집된 환자의 중증도가 비교적 낮아 건강한 대조군과 차이가 없었을 수도 있을 것 같다. IL-17A 는 high SOFA score 환자의 경우 low SOFA score 환자보다 유의하게 높았고, SFTS 환자에서 쯔쯔가무시병 환자와 비교하였을 때 유의하게 높은 농도가 확인되었다. IL-17A 가 SFTS 와 쯔쯔가무시병의 질병 중증도에 의해 유의한 결과가 나온 것인지 아니면 질병의 차이에서 기인한 것인지 명확하게 하기 위해 더 많은 중증 쯔쯔가무시병 환자를 대상으로 수행한 연구가 필요해 보인다.

본 연구에는 세가지 주요한 한계점이 있다. 첫째, 쯔쯔가무시병의 급성기에 대한 정의가 연구마다 다양하게 존재하였다. 이전 연구에서는 급성기로 정의된 날짜의 범위가 1 주에서 4 주까지 광범위하게 다양하였다[22, 24, 30]. 이러한 이질성으로 인해 본 연구 결과를 다른 연구 결과와 직접적으로 비교하기가 어렵다. 둘째, 우리는 두 질병 환자의 말초 면역 세포의 표현형 분석을 수행하지 않았다. 이로 인하여 병원균 제거에 기여하는 세포 매개 면역 반응에 대한 이해에 제한이 있을 수 있다. 셋째, 본 연구는 증상시작일을 기준으로 검체를 분류하지 않고, 입원일을 기준으로 검체를 분류하여 사이토카인 분석을 수행하였다. 시기가 다른 사이토카인이 같은 그룹으로 분석되는 오류가 발생하였을 수 있겠다.

결론적으로 급성 SFTS 와 쯤쯤가무시병은 중증의 임상경과를 보이는 경우 사이토카인의 증가 패턴이 유사하다. 하지만 전염증성 사이토카인과 케모카인의 양이 급성 쯤쯤가무시병에서 보다는 SFTS 에서 많은데 이것이 급성 SFTS 에서 더 높은 질병 중증도와 사망률에 기여할 수 있다. T helper cell 관련 사이토카인과 VEGF 의 독특한 발현 패턴은 T cell subsets 구성의 차이와 감염 중 혈관 손상 기전의 차이를 반영할 수 있어 보인다.

참고문헌

1. Liu Q, He B, Huang SY, Wei F, Zhu XQ. Severe fever with thrombocytopenia syndrome, an emerging tick-borne zoonosis. *Lancet Infect Dis* 2014;14:763-72.
2. Yu XJ, Liang MF, Zhang SY, Liu Y, Li JD, Sun YL, Zhang L, Zhang QF, Popov VL, Li C, Qu J, Li Q, Zhang YP, Hai R, Wu W, Wang Q, Zhan FX, Wang XJ, Kan B, Wang SW, Wan KL, Jing HQ, Lu JX, Yin WW, Zhou H, Guan XH, Liu JF, Bi ZQ, Liu GH, Ren J, Wang H, Zhao Z, Song JD, He JR, Wan T, Zhang JS, Fu XP, Sun LN, Dong XP, Feng ZJ, Yang WZ, Hong T, Zhang Y, Walker DH, Wang Y, Li DX. Fever with thrombocytopenia associated with a novel bunyavirus in China. *N Engl J Med* 2011;364:1523-32.
3. Seo JW, Kim D, Yun N, Kim DM. Clinical Update of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome. *Viruses* 2021;13.
4. Watt G, Parola P. Scrub typhus and tropical rickettsioses. *Curr Opin Infect Dis* 2003;16:429-36.
5. Park SW, Lee CS, Kim JH, Bae IG, Moon C, Kwak YG, Kim BN, Lee JH, Ryu SY, Jang HC, Hur J, Jun JB, Jung Y, Chang HH, Kim YK, Hwang JH, Kim YS, Jeong HW, Song KH, Park WB, Kim ES, Oh MD. Severe fever with thrombocytopenia syndrome: comparison with scrub typhus and clinical diagnostic prediction. *BMC Infect Dis* 2019;19:174.
6. Seong SY, Choi MS, Kim IS. *Orientia tsutsugamushi* infection: overview and immune responses. *Microbes Infect* 2001;3:11-21.

7. Song SW, Kim KT, Ku YM, Park SH, Kim YS, Lee DG, Yoon SA, Kim YO. Clinical role of interstitial pneumonia in patients with scrub typhus: a possible marker of disease severity. *J Korean Med Sci* 2004;19:668-73.
8. Park JS, Jee YK, Lee KY, Kim KY, Myong NH, Seo PW. Acute respiratory distress syndrome associated with scrub typhus: diffuse alveolar damage without pulmonary vasculitis. *J Korean Med Sci* 2000;15:343-5.
9. Ben RJ, Feng NH, Ku CS. Meningoencephalitis, myocarditis and disseminated intravascular coagulation in a patient with scrub typhus. *J Microbiol Immunol Infect* 1999;32:57-62.
10. Bonell A, Lubell Y, Newton PN, Crump JA, Paris DH. Estimating the burden of scrub typhus: A systematic review. *PLoS Negl Trop Dis* 2017;11:e0005838.
11. Li H, Lu QB, Xing B, Zhang SF, Liu K, Du J, Li XK, Cui N, Yang ZD, Wang LY, Hu JG, Cao WC, Liu W. Epidemiological and clinical features of laboratory-diagnosed severe fever with thrombocytopenia syndrome in China, 2011-17: a prospective observational study. *Lancet Infect Dis* 2018;18:1127-37.
12. Choi SJ, Park SW, Bae IG, Kim SH, Ryu SY, Kim HA, Jang HC, Hur J, Jun JB, Jung Y, Chang HH, Kim YK, Yi J, Kim KH, Hwang JH, Kim YS, Jeong HW, Song KH, Park WB, Kim ES, Oh MD. Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome in South Korea, 2013-2015. *PLoS Negl Trop Dis* 2016;10:e0005264.
13. Sun J, Lu L, Wu H, Yang J, Ren J, Liu Q. The changing epidemiological characteristics of severe fever with thrombocytopenia syndrome in China, 2011-2016. *Sci Rep* 2017;7:9236.

14. Wu YC, Qian Q, Magalhaes RJ, Han ZH, Haque U, Weppelmann TA, Hu WB, Liu YX, Sun YS, Zhang WY, Li SL. Rapid Increase in Scrub Typhus Incidence in Mainland China, 2006-2014. *Am J Trop Med Hyg* 2016;94:532-6.
15. Sun Y, Jin C, Zhan F, Wang X, Liang M, Zhang Q, Ding S, Guan X, Huo X, Li C, Qu J, Wang Q, Zhang S, Zhang Y, Wang S, Xu A, Bi Z, Li D. Host cytokine storm is associated with disease severity of severe fever with thrombocytopenia syndrome. *J Infect Dis* 2012;206:1085-94.
16. Hu LF, Wu T, Wang B, Wei YY, Kong QX, Ye Y, Yin HF, Li JB. The Regulation of Seventeen Inflammatory Mediators are Associated with Patient Outcomes in Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome. *Sci Rep* 2018;8:159.
17. Astrup E, Janardhanan J, Otterdal K, Ueland T, Prakash JA, Lekva T, Strand Ø A, Abraham OC, Thomas K, Damås JK, Mathews P, Mathai D, Aukrust P, Varghese GM. Cytokine network in scrub typhus: high levels of interleukin-8 are associated with disease severity and mortality. *PLoS Negl Trop Dis* 2014;8:e2648.
18. Yun JH, Hwang HJ, Jung J, Kim MJ, Chong YP, Lee SO, Choi SH, Kim YS, Woo JH, Kim MY, Kim SH. Comparison of chest radiographic findings between severe fever with thrombocytopenia syndrome and scrub typhus: Single center observational cross-sectional study in South Korea. *Medicine (Baltimore)* 2019;98:e17701.
19. Fajgenbaum DC, June CH. Cytokine Storm. *N Engl J Med* 2020;383:2255-73.
20. Yoo JR, Kim TJ, Heo ST, Hwang KA, Oh H, Ha T, Ko HK, Baek S, Kim JE, Kim JH, Lee J, Kang MJ, Yoo MS, Kim JM, Lee KM, Lee KH. IL-6 and IL-10 Levels, Rather Than Viral Load

and Neutralizing Antibody Titers, Determine the Fate of Patients With Severe Fever With Thrombocytopenia Syndrome Virus Infection in South Korea. *Front Immunol* 2021;12:711847.

21. Münch CC, Upadhaya BP, Rayamajhee B, Adhikari A, Münch M, En-Nosse N, Kowalski K, Eickmann M, Bauer C, Manandhar KD, Keller C. Multiple *Orientia* clusters and Th1-skewed chemokine profile: a cross-sectional study in patients with scrub typhus from Nepal. *Int J Infect Dis* 2023;128:78-87.

22. Kramme S, An le V, Khoa ND, Trin le V, Tannich E, Rybniker J, Fleischer B, Drosten C, Panning M. *Orientia tsutsugamushi* bacteremia and cytokine levels in Vietnamese scrub typhus patients. *J Clin Microbiol* 2009;47:586-9.

23. Bora T, Khan SA. Evaluation of Th1 and Th2 immune response in clinical and sub-clinical scrub typhus infection. *Hum Immunol* 2019;80:503-9.

24. Eisermann P, Rauch J, Reuter S, Eberwein L, Mehlhoop U, Allartz P, Muntau B, Tappe D. Complex Cytokine Responses in Imported Scrub Typhus Cases, Germany, 2010-2018. *Am J Trop Med Hyg* 2020;102:63-8.

25. Kwon JS, Kim JY, Kim MC, Park SY, Kim BN, Bae S, Cha HH, Jung J, Kim MJ, Lee MJ, Choi SH, Chung JW, Shin EC, Kim SH. Factors of Severity in Patients with COVID-19: Cytokine/Chemokine Concentrations, Viral Load, and Antibody Responses. *Am J Trop Med Hyg* 2020;103:2412-8.

26. John SH, Kenneth J, Gandhe AS. Host biomarkers of clinical relevance in tuberculosis: review of gene and protein expression studies. *Biomarkers* 2012;17:1-8.

27. Ferreira AS, Baldoni NR, Cardoso CS, Oliveira CDL. Biomarkers of severity and chronification in chikungunya fever: a systematic review and meta-analysis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 2021;63:e16.
28. Tramontini Gomes de Sousa Cardozo F, Baimukanova G, Lanteri MC, Keating SM, Moraes Ferreira F, Heitman J, Pannuti CS, Pati S, Romano CM, Cerdeira Sabino E. Serum from dengue virus-infected patients with and without plasma leakage differentially affects endothelial cells barrier function in vitro. *PLoS One* 2017;12:e0178820.
29. Hamilton JA. GM-CSF in inflammation. *J Exp Med* 2020;217.
30. Iwasaki H, Takada N, Nakamura T, Ueda T. Increased levels of macrophage colony-stimulating factor, gamma interferon, and tumor necrosis factor alpha in sera of patients with *Orientia tsutsugamushi* infection. *J Clin Microbiol* 1997;35:3320-2.
31. Li MM, Zhang WJ, Weng XF, Li MY, Liu J, Xiong Y, Xiong SE, Zou CC, Wang H, Lu MJ, Yang DL, Peng C, Zheng X. CD4 T cell loss and Th2 and Th17 bias are associated with the severity of severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS). *Clin Immunol* 2018;195:8-17.
32. Li H, Li X, Lv S, Peng X, Cui N, Yang T, Yang Z, Yuan C, Yuan Y, Yao J, Yuan Z, Li J, Ye X, Zhang X, Zhu S, Peng K, Liu W. Single-cell landscape of peripheral immune responses to fatal SFTS. *Cell Rep* 2021;37:110039.
33. Soong L. Dysregulated Th1 Immune and Vascular Responses in Scrub Typhus Pathogenesis. *J Immunol* 2018;200:1233-40.

34. Kwon JS, Kim MC, Kim JY, Jeon NY, Ryu BH, Hong J, Kim MJ, Chong YP, Lee SO, Choi SH, Kim YS, Woo JH, Kim SH. Kinetics of viral load and cytokines in severe fever with thrombocytopenia syndrome. *J Clin Virol* 2018;101:57-62.
35. Kim HL, Park HR, Kim CM, Cha YJ, Yun NR, Kim DM. Indicators of severe prognosis of scrub typhus: prognostic factors of scrub typhus severity. *BMC Infect Dis* 2019;19:283.
36. Chung DR, Lee YS, Lee SS. Kinetics of inflammatory cytokines in patients with scrub typhus receiving doxycycline treatment. *J Infect* 2008;56:44-50.
37. Kang SJ, Jin HM, Cho YN, Kim SE, Kim UJ, Park KH, Jang HC, Jung SI, Kee SJ, Park YW. Increased level and interferon- γ production of circulating natural killer cells in patients with scrub typhus. *PLoS Negl Trop Dis* 2017;11:e0005815.

Cytokine and chemokine profiles in acute severe fever with thrombocytopenia syndrome and scrub typhus

The Graduate School of the University of Ulsan

Department of Medicine

Sun In Hong

In East Asia, severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) and scrub typhus, the common endemic tick-borne diseases sharing common clinical manifestations, are becoming public health concerns. However, there are limited data on the comparative immune-pathogenesis between both diseases. We compared cytokine profiles between SFTS and scrub typhus for further understanding of immune responses during disease courses. We prospectively enrolled confirmed cases of 44 SFTS and 49 scrub typhus patients from July 2015 to December 2020. In addition, 10 healthy volunteers were enrolled for healthy controls. The plasma samples were analyzed for 16 cytokines, by cytometric bead array. A total 68 plasma samples including 31 (45.6%) from SFTS and 37 (54.4%) from scrub typhus were available for cytokine measurement. There are three cytokine expression patterns: increased levels in both SFTS and scrub typhus (IL-6, IL-10, IP-10, GM-CSF); highest levels in SFTS (IFN- α , IFN- γ , G-CSF, MCP-1, MIP-1 α , IL-8); distinct levels in scrub typhus (IL-12p40, TNF- α , IL-1 β , RANTES, IL-17A, VEGF). Although acute

SFTS and scrub typhus patients exhibited partly shared expression patterns of cytokines related to disease severity, the different profiles of cytokines and chemokines might contribute to higher mortality in SFTS than in scrub typhus. Discrete patterns of helper T cell-related cytokines and VEGF might reflect differences of CD4 T cell responses and vascular damages between diseases.