Tuberculosis and Respiratory Diseases 결핵 및 호흡기질환, Vol. 48, No. 6, Jun, 2000

□원 저□

기관지 천식 환자에서 부신피질 스테로이드 투여 전후 유도객담내 Nitric Oxide 및 Cytokine의 변화

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실

김태연, 윤형규, 최영미, 이숙영, 권순석, 김영균, 김관형, 문화식, 박성학, 송정섭

= Abstract =

The Effect of Glucocorticoid on the Change of Nitric Oxide and Cytokine Levels in Induced Sputum from Patients with Bronchial Asthma

Tae Yon Kim, M.D., Hyeong Kyu Yoon, M.D., Young Mee Choi, M.D., Sook Young Lee, M.D., Soon Seog Kwon, M.D., Young Kyoon Kim, M.D., Kwan Hyoung Kim, M.D., Hwa Sik Moon, M.D., Sung Hak Park, M.D., and Jeong Sup Song, M.D

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

Background : It has been well known that bronchial asthma is a chronic airway inflammatory disorder. Recently, sputum specimen induced with hypertonic saline was introduced as a simple and useful noninvasive medium to investigate airway inflammation and symptom severity in patients with asthma. We examined the eosinophil, eosinophil cationic protein (ECP), interleukin(IL)-3, IL-5, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), and nitric oxide (NO) derivatives in induced sputum from patients with bronchial asthma in order to determine the role of NO and various inflammatory cytokines as a useful markers of airway inflammation or changes in pulmonary function tests and symptoms.

Methods : A total 30 patients with bronchial asthma received oral prednisolone 30 mg daily for 2 weeks. Forced expiratory volume in one second (FEV_1), total blood eosinophil count, and induced sputum eosinophil

Address for correspondence :
Jeong Sup Song, M.D.
Department of Internal Medicine, St. Mary's Hospital, The Catholic University of Korer
62 Yeoeudo-dong, Youngdeungpo-ku, Seoul, 150-713, Korea
Phone : 02-3779-1114 Fax : 02-780-3132 E-mail : jssong@cmc.cuk.ac.kr

count, ECP, IL-3, IL-5, GM-CSF, and NO derivatives were determined before and after the administration of prednisolone.

Results : Of the 30 patients, 13 (43.3%) were male and 17 (56.7%) were female. The mean age of patients was 41.8 years (range 19-64 years). Two patients could not produce sputum at the second study and 3 could not be followed up after their first visit. Two weeks after the prednisolone administration, there was a significant increase in FEV_1 (% of predicted value) from 78.1±20.6 % to 90.3±18.3 % ($P<0.001$). The eosinophil percentages in induced sputum were significantly decreased after treatment with prednisolone, with values of 56.1±27.2 % versus 29.6±21.3 % ($P<0.001$), and ECP were 134.5±68.1 μg/L versus 41.5±42.4 μg/L ($P<0.001$) respectively. After the prednisolone treatments, the eotaxin concentration also showed a decreasing tendency from 26.7±12.8 pg/ml to 21.7±8.7 pg/ml. There was a decreasing tendency but no significant differences in total blood eosinophil count (425.7±265.9 vs 287.7±294.7) and in the concentration of NO derivatives (70.4±44.6 μmol/L vs 91.5±48.3 μmol/L) after the prednisolone treatments. IL-3, IL-5, GM-CSF were undetectable in the sputum of most subjects either before the prednisolone treatments or after the treatments.

Before the prednisolone treatments, a significant inverse correlation was observed between FEV1 and sputum ECP ($r=-0.364$, $P<0.05$) and there was a significant correlation between sputum eosinophils and eotaxin ($r=0.369$, $P<0.05$)

Conclusion : The eotaxin and ECP concentration in induced sputum may be used as markers of airway inflammation after treatments in bronchial asthma. In addition, the measurement of sputum eosinophil percentages is believed to be a simple method displaying the degree of airway inflammation and airway obstruction before and after the prednisolone treatment in bronchial asthma. However, unlike exhaled NO, the examination of NO derivatives with Griess reaction in induced sputum is considered an ineffective marker of changing airway inflammation and obstructing symptoms. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2000, 48 : 922-931)

Key words : Bronchial asthma, Induced sputum, Nitric oxide, Cytokine.

서 론

현재까지 기관지 천식의 원인에 대해 충분히 밝혀지지 않고 있으며 새로운 치료법들이 계속 시도되고 있음에도 불구하고 천식의 중증도, 유병률, 사망률은 계속 증가되고 있는 실정이다[1]. 기관지 천식에서 기도의 만성 염증은 중요한 특징적인 병인으로 이러한 염증반응에는 호산구, 비만세포, 중성구, 림프구 등의 염증세포, 기도상피세포와 그들 세포에서 분비하는 nitric oxide(NO) 등의 매개 물질 및 여러 종류의 cytokine, 그 외 신경성 기전이 관여한다[2]. 기도의 염증상태를 평가하여 천식의 중증도를 측정하고, 증상이 없는 환자에서는 재발을 예측하며, 증상의 호전을 객관적으로 반영하는 지표로 이용하는 방법에 대한 여러 가지 연구가 진행되어 왔는데, 이중에서도 최근 고장성 생리식염수를 흡입시켜 객담 배출을 유도하여 객담에서 여러가지 인자들을 측정하는 비침습적인 방법이 기관지 폐포 세척이나 기관지생검 등의 침습적인 방법과 대등한 결과를 보이는 경우가 보고되고 있다[3,4]. 천식 환자의 기도 염증상태를 반영하는 인자들로는 혈청 및 객담내 호산구수, eosinophil cationic protein (ECP), major basic protein (MBP) 등의 매개물질과, interleukin(IL)-2, IL-3, IL-4, IL-5, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM

-CSF), eotaxin, nitric oxide (NO) 등이 보고되고 있다[5,6]. NO는 기도 염증 반응의 중요한 매개물질로 알려져 있으나, 기도염증에서 방어기전으로 작용하는지 또는 염증을 일으키는 원인인지 그 역할은 아직 분명치 않다. 생체내의 NO를 측정하는 방법으로는 고가의 장비인 chemiluminescence analyzer를 이용하여 호기가스에서 측정하는 방법이 많이 쓰이고 있지만, 천식환자의 유도 객담에서 Griess reagent를 이용하여 간접적으로 NO 유도체를 측정하는 방법의 유용성도 보고되고 있다[7].

또한 이들 염증매개물질과 cytokine의 혈중농도는 기관지 천식 환자의 치료에 쓰이는 대표적인 항염증제인 부신피질 스테로이드 투여시 감소되고, 이는 기관지 천식의 증상과 폐기능의 호전과도 동반되는 것으로 알려져 있다[5,8]. 이러한 인자들을 객담에서 측정하는 방법이 증상과 폐기능의 변화를 효과적으로 반영한다는 연구들이 일부 개별적으로 보고되고 있으나[9,10] 이런 인자들 사이의 상관 관계 및 임상증상과 폐기능 변화를 반영하는 지표로서의 의의는 정립되어 있지 않다.

본 연구에서는 비침습적이고 비교적 간단하게 측정할 수 있는 유도객담내 NO의 유도체를 측정하고 이를 항염증제인 glucocorticoid 투여 전후의 폐기능, 혈청내 호산구 및 객담내 호산구의 세포분율과 ECP의 변화, 그리고 IL-3, IL-5, GM-CSF, eotaxin의 객담내 농도 변화와의 상관관계를 조사하였다. 이러한 연관성을 조사함으로써 첫째, 기관지천식의 발생에 있어서의 NO의 역할을 밝히고, 유도객담에서 측정한 NO 유도체의 농도가 기관지 염증 정도와의 관계와 치료에 대한 반응의 지표로서 적용이 가능한지 여부를 호산구수, ECP, cytokine 등의 다른 인자들과 비교하여 판단하려 하였다. 둘째, 비교적 간단한 비침습적인 방법인 유도객담 검사에서 부신피질스테로이드에 의해 기도 염증을 반영하는 인자들의 변화가 관찰되는지를 조사하여 유도객담검사의 임상적 유용성을 확인하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1998년 12월부터 1999년 8월까지 가톨릭 의과대학 부속 성모병원에 내원한 환자들중 기관지 유발검사상 가역적인 기도폐색과 기관지 과민성이 증명된(즉 β_2-agonist에 의해 FEV_1 (forced expiratory volume in 1 second)이 20% 이상 개선되거나 methacholine 유발 검사에서 FEV_1이 20% 이상 감소된 경우) 기관지 천식 환자로서 부신피질 호르몬을 투여받지 않은 환자 30명을 대상으로 하였다.

2. 방 법

1) 연구개요

모든 연구 대상에서 검체를 얻기전 Spirometer(Medical Graphics Co., St. Paul, MN, USA)로 1초간 노력성 호기량(FEV_1)을 측정하였고 fenoterol (berotec, metered dose inhaler, Boehringer Ingelheim)을 2 puff(400 μg) 흡입시킨후 고장성 생리식염수를 이용한 유도객담검사를 시행하였다.

객담검사를 시행후 프레드니솔론(Solondo, 유한메디카)을 하루 30 mg씩 2주간 복용하게 한 다음, spirometer와 유도객담검사를 반복하였다. 프레드니솔론 경구 복용시 작용시간은 1.25-1.5일이므로 2주 복용후 최대 24시간내에 객담검사를 시행하도록 하였다.

2) 객담유도 및 처리과정

연무기를 이용하여 3%, 4%, 5% 생리식염수를 각각 차례로 7분씩 흡입시켜 객담배출을 유도하였다. 각 7분간 흡입후 객담배출을 30초간 시도하였고, 객담이 나오지 않으면 생리식염수 흡입을 반복 실행하였다(총 30분간). 3%, 4%, 5% 생리식염수 흡입이 각각 다 끝나기 전이라도 충분한 양(2.0 g 이상)의

객담이 얻어진 경우에는 흡입을 중지하였다.

Pizzichini 들[11]의 방법에 따라 배양접시에 받은 유도객담을 타액과 선별하여, 15 ml falcon tube에 옮긴후 무게를 측정하였다. 객담량의 4배량의 0.1% dithiothreitol 희석액(DTT, Sigma chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 혼합하고 37℃ 수조에서 30분간 배양하였고 각 10분마다 vortex로 혼합시켜 주었다. 여기에 객담량과 동량의 Dulbecco's phosphate-buffered saline(D-PBS, pH 7.0, 10.6 g/L, GIBCOBRL, NY, USA)을 혼합하여 DTT의 작용을 중지시키고 37℃ 수조에서 5분간 배양후, 48 μm 나일론 거즈로 여과하고, 원심분리하여(1,500 rpm, 10분) 상층액은 NO 유도체, ECP, eotaxin, IL-3, IL-5, GM-CSF 등의 측정을 위해 -70℃에 보관하였다.

3) 유도객담 분석

침전물(pellet)의 양에 따라 D-PBS 200-1000 $\mu\ell$를 섞은후 총 세포수를 측정하고 1.0×10^6/ml로 맞추어 50$\mu\ell$의 세포혼합액으로 cytospin(Cytospin 2 ; Shandon, England)을 시행하였다. Cytospin 처리한 슬라이드를 Diff-Quick 염색하여 고배율(×400)하에서 총 200개의 염증세포를 대상으로 각각의 객담염증세포수를 전체 염증세포수에 대한 백분율로 표시하였다.

4) 혈중 총호산구수의 측정

프레드니솔론 투여 전후의 유도 객담 검사시의 혈액을 채취하여 EDTA로 처리한 후 Hinkelman 용액으로 호산구의 과립을 염색하였으며 400배 광학현미경하에서 호산구수를 측정하였다.

5) 객담 상층액 분석

① NO 유도체 측정

표준용액과 객담 상층액을 각각 50$\mu\ell$씩 취하고, nitrate는 nitrate reductase와 반응시켜 nitrite로 전환하고 Griess reagent와 반응시켜[12] 흡광도를 450 nm에서 plate reader를 이용하여 측정한 다음, 표준용액에서 측정된 발색도와 비교하여 총 nitrite의 농도를 mol/L 단위로 계산하였다.

② ECP 측정

객담 상층액 50$\mu\ell$를 취하여 자동화된 CAP system(Pharmacia & Upjohn Diagnostics AB, Uppsala, Sweden)을 이용하여 제조자의 방법에 따라 fluoroenzymeimmunoassay(FEIA) 방법으로 측정하였다[13].

③ Cytokine 측정

sandwich ELISA를 이용한 human cytokine ELISA kit를 이용해 제조사의 방법에 따라 IL-5, GM-CSF(Endogen, Woburn, MA, USA)와 IL-3, eotaxin(R&D, MN, USA)을 측정하였다. cytokine의 측정방법은 먼저 검체 50$\mu\ell$를 anti-murine cytokine-antibody가 부착된 96 well microplate의 각 well에 담은후 50$\mu\ell$의 biotinylated antibody를 첨가하여 실온에서 2시간 배양한 후 plate를 3회 세척하였다. 세척후 streptavidin HRP를 100$\mu\ell$씩 각 well에 첨가한 다음 다시 실온에서 30분간 반응시켰으며 3회 세척후 100$\mu\ell$의 TMB substrate 용액을 넣고 암실에서 30분간 발색반응이 일어나도록 하였다. 반응이 끝난후 100$\mu\ell$의 정지용액을 첨가하여 반응을 정지시킨 후 450 nm에서 plate reader를 이용하여 발색도를 측정한 다음 표준용액에서 측정된 발색도와 비교하여 cytokine의 농도를 계산하였다.

6) 통계분석

각 변수들의 측정치를 평균±표준편차로 표시하였고, 통계적 검정은 SPSS 8.0 프로그램을 이용하여 paired t-test, Pearson's correlation으로 하였으며, P 값이 0.05 미만일 때를 유의한 것으로 해석하였다.

Table 1. Effects of prednisolone treatment on FEV_1 and sputum parameters in patients with asthma.

	Pre-Steroid	Post-Steroid
FEV_1, % predicted	78.1±20.6**	90.3±18.3**
Blood Eosinophil, /mm³	425.7±265.9	287.7±294.7
Sputum Eosinophil, %	56.1±27.2**	29.6±21.3**
ECP, μg/L	134.5±68.1**	41.5±42.4**
Eotaxin, pg/ml	26.7±12.8	21.7±8.7
NO derivatives, μm/L	70.4±44.6	91.5±48.3
IL-3, pg/ml	ND	ND
IL-5, pg/ml	ND	ND
GM-CSF, pg/ml	ND	ND

FEV_1=forced expiratory volume in 1 second ; ECP=eosinophilic cationic protein ; NO derivatives=sputum nitrite and nitrate ; ND = not detectable ; *P<0.05 **P<0.001

결 과

1. 대상환자의 특성

유도객담검사를 시행한 기관지천식 환자 30명중 남자는 13명(43.3%), 여자는 17명(56.7%)이었고 연령분포는 19세부터 64세까지였으며 평균연령은 41.8세였다. 또한 prick test에서 양성반응을 보인 알레르기성 천식 환자가 11명(36.7%), 내인성 천식 환자가 19명(63.3%)이었고 직업성 천식환자는 없었다.

대상 환자 30명중 2번째 방문시 5명이 제외되었는데, 이중 2명은 30분이상 유도객담검사를 시행하였지만 객담을 채취할수 없었으며, 나머지 3명은 방문하지 않았다. 유도객담검사와 프레드니솔론 복용중에 검사와 약제에 의한 부작용은 없었다.

2. 프레드니솔론에 의한 1초당 노력성 호기량(FEV_1)과 혈중 총 호산구수의 변화

대상환자들의 평균 1초당 노력성 호기량(% of predicted value)은 프레드니솔론 투여후 78.1±20.6%에서 90.3±18.3%로 개선되었다 ($P<0.001$). 혈중 총 호산구수를 측정한 경우는 15명이었으며, 평균 총 호산구수는 약제 투여후에 425.7±265.9에서 287.7±294.7로 감소하는 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지 않았다($P=0.098$) (Table 1).

3. 프레드니솔론에 의한 유도객담내 염증매개물질의 변화

평균 유도객담내 호산구비율은 약제 투여후 56.1±27.2%에서 29.6±21.3%로 의미있게 감소하였다($P<0.001$) (Table 1).

치료전후의 유도객담내 nitric oxide의 평균 농도는 유의한 차이가 없었다(70.4±44.6 μmol/L vs 91.5±48.3 μmol/L) ($P=0.077$) (Table 1). 객담내 평균 ECP 농도는 프레드니솔론 투여후 134.5±68.1 μg/L에서 41.5±42.4 μg/L로 유의하게 감소하였으나($P<0.001$), 객담내 평균 eotaxin 농도는 26.7±12.8 pg/ml 에서 21.7±8.7 pg/ml로 통계적으로 유의한 차이는 없었으나 감소하는 경향을 보였다($P=0.157$) (Table 1).

객담내 IL-3, IL-5, GM-CSF는 대부분의 환자에서 측정되지 않았다(>95%).

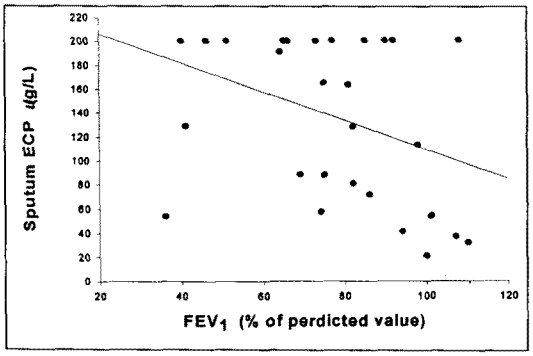

Fig. 1. Relationship between baseline(pre-steroid) FEV_1 and levels of ECP in induced sputum in patients with asthma($r=-0.364$, $P<0.05$, $n=30$).

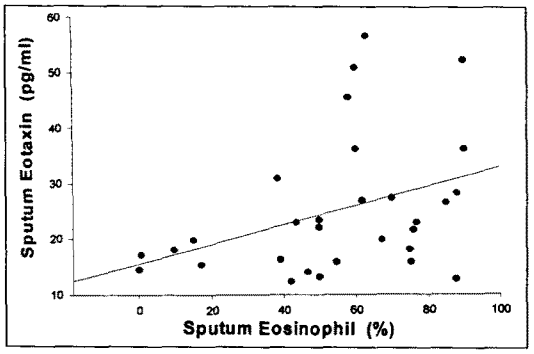

Fig. 2. Relationship between percentage of eosinophil and eotaxin level in induced sputum in patients with ashtma before prednisolone admini-stration($r=0.369$, $P<0.05$, $n=30$).

4. 기도염증 관련 인자간의 상호 연관성

측정한 인자들의 모든 가능한 조합의 상호 연관성에 대해 조사하였고, 치료전의 1초당 노력성 호기량(% of predicted)과 객담내 ECP의 농도사이에 의미있는 역상관관계가 있었고($r=-0.364$, $P<0.05$) (Fig. 1), 객담내 호산구비율과 eotaxin 농도 사이에 유의한 상관관계가 있었다($r=0.369$, $P<0.05$) (Fig. 2).

고 찰

기관지 천식 환자의 가장 중요한 특징적인 소견은 기도의 만성 염증반응이다. 기도 염증을 일으키는데 호산구가 중요한 세포이며 천식 발생에도 크게 관여하는데, 천식환자에서 혈중 총 호산구수가 정상인 경우도 있고, 객담내 호산구수가 혈중 총 호산구수보다 폐기능의 변화와 항염증 치료에 대한 반응을 더 잘 반영한다는 사실이 알려져[14,15] 객담검사의 중요성이 더욱 강조되고 있다. 그러나 자연배출 객담을 통해서는 검사에 적당한 객담검체를 얻기 어렵고, 기관지내시경 검사와 같은 침습적인 검사를 모든 환자에서 시행하기 어렵기 때문에, 고장성 생리식염수 흡입을 이용한 유도객담에서 호산구수와 활성화된 호산구에서 분비되는 ECP 등의 여러 인자들을 측정하는 방법이 최근들어 천식의 심한 정도와 기도염증을 평가하는데 시도되고 있다[4,6,16]. 이런 인자들중 기도의 염증을 반영하는 것으로 인정받는 단독인자는 아직 밝혀지지 않았고, 이들 사이의 상호연관성을 각각 모두 조사한 보고도 없다.

본 연구에서 부신피질 스테로이드에 의해 기관지 천식 환자의 폐기능이 개선되고, 혈중 총 호산구수와 달리 객담내 호산구비율과 ECP 농도가 감소되며, eotaxin의 농도가 감소경향을 가지는 것을 확인할수 있었으나, NO 유도체의 농도 변화는 없었고 IL-3, IL-5, GM-CSF는 측정되지 않았다.

NO는 기도내 여러 세포에서 분비되는 유리기(free radical)로서 L-arginine의 guanidinonitrogen에서 생성되는데 NO synthase(NOS)가 이 과정에서 L-arginine을 L-citrulline으로 전환시키는 작용을 한다. NOS는 유발형인 iNOS형태로 존재하고 이는 전사(transcription) 단계에서 조절되며 천식의 병인에서 중요한 cytokine인 IL-1β와 tumor necrosis factor(TNF)-α에 의해 활성화된다[17]. 기관지천식의 병인에서 NO는 염증반응을 유발하는 효과를 가질수 있으며 iNOS에 의해 생성된 다량의 NO는 천식의 악화요인으로 작용할 수 있다[18]. 호기가스에서 NO가 천식

환자에서 정상대조군에 비해 높게 측정되는 것이 알려져 있으며[19] 기관지천식 환자의 기도염증이 증가될 때 호기가스 NO 농도가 증가되고 이것은 부신피질스테로이드 투여로 감소되며[20] 이는 기관지천식 환자의 치료반응 평가에 있어 비침습적이고 측정하기 쉬운 유용한 지표로 알려져 있다[8]. 본 연구에서 유도객담내 NO 유도체의 농도는 부신피질 스테로이드 투여 전후로 변화가 없었는데, Crater 들[21]과 Jatakanon 들[22]도 호기가스 NO의 농도가 천식환자에서 더 높게 측정되고 FEV_1과 혈중 호산구수와는 상관관계가 있었으나 부신피질스테로이드 투여에 영향을 받지는 않았다고 하였으며, Chan-Yeung 들[23]은 스테로이드 치료 여부와 무관하게, 호기가스 NO의 농도와 기도과민성 그리고 임상증상 간의 연관성이 없다고 하였다. 그밖에도 최근 호기가스 NO의 농도와 기도과민성의 관련성을 증명할수 없었다는 논문들도 보고되고 있다[24-26]. 또 Silkoff 들[27]은 spirometer나 fenoterol 흡입제 등에 의해 호기가스 NO의 농도가 감소될수 있다고 하였다. 따라서 NO의 농도 측정에 있어 많은 변수들이 영향을 미치며, 기관지 천식의 염증 반응에서 NO의 역할과, 증상과 치료반응의 지표로서 유용한지는 아직 분명치 않은 것으로 생각된다.

기관지천식의 병인에 관여하는 여러 세포중 T조력(TH) 림프구는 cytokine들을 분비하여 염증반응을 조절하는 중요한 역할을 한다. 활성화된 TH 림프구가 천식환자에서 증가되는 것이 관찰된바 있으며[28] 이중 TH2 림프구가 IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 등을 생산하여 즉시형 과민반응, 기관지천식과 같은 알레르기성 질환, 기생충 감염에 대한 방어작용 등에 관여한다[29]. 이들 lymphokine 중 알레르기 반응에 주로 관여하는 것은 IL-3, IL-4, IL-5 로서 IL-4는 IgE 합성에 관계하며 IL-3, IL-5, 그리고 GM-CSF는 호산구의 분화와 유지에 관여하는것으로 알려져 있다. IL-3, IL-5, GM-CSF는 대상환자 대부분에서 측정되지 않았는데, Konno 들[30]은 객담내 cytokine 검사 결과 IL-5, IL-6, ECP는 증상이 있는 천식 환자에서 정상인보다 높게 측정되었고, IL-2, IFN-γ, IL-3, GM-CSF는 정상인과 차이가 없었으며, cytokine과 ECP 사이에 상호 연관성이 증명되지 않았다고 하였다. 한편, Louis 들[13]은 객담에서 IL-5, GM-CSF가 측정되지 않았다고 보고하였는데, 객담내 cytokine의 측정이 어려운 이유로 cytokine이 점액질에 결합되어 여과한 후 상층액에서 검출하기 힘든 것으로 생각할수 있고, 그 외 다른 염증세포에서 분비되는 효소에 의해 일시적으로 불활성화되는 것으로 생각되고 있으나 정확한 원인은 알려져있지 않다[30].

호산구에서 분비되는 과립 단백질을 호산구의 활성도 측정에 이용하는 것은 널리 이용되고 있다. ECP, eosinophil protein X(EPX), eosinophil-derived neurotoxin(EDN), 그리고 major basic protein (MBP) 등이 조직 파괴성질을 가진 호산구유리 물질로 인정되고 있으며[31] 이중 ECP가 객담내에서 천식의 심한 정도와 기도염증상태를 반영하는 유용한 지표임이 이미 보고된바 있다[6].

Eotaxin은 호산구의 선택적인 화학주성(chemotaxis)을 유발하는 chemokine으로 기관지천식 환자의 기관지폐포세척액에서 높은 농도로 측정되고 기도상피세포와 점막하 조직에서도 eotaxin mRNA의 발현이 증가되어 있어 선택적인 호산구 동원에 의해 천식의 병인에 기여하는 것으로 생각된다[32]. 본 실험에서도 eotaxin은 IL-3, IL-5, GM-CSF 들과 달리 객담내에서 측정 가능하였고 부신피질 스테로이드 치료후에 감소하는 경향을 보여 기도염증상태를 반영하는 예민하고 중요한 객담내 측정인자로서의 가능성을 보여주었다.

이상의 결과로 유도객담내에서 측정 가능한 여러 인자중 eotaxin과 ECP가 기도염증 상태를 반영하는 유용한 지표로 이용될수 있을 것으로 생각된다. 그 외 객담내 호산구비율 측정도 치료에 따른 증상이나 염증의 변화를 손쉽게 관찰할수 있는 간단한 방법이라 생각된다. 반면 유도객담에서 Griess reagent를 이용한 NO 유도체의 측정은 이미 보고된 호기가스 NO와 달리 증상이나 염증상태의 지표로서 유용하지 않은 것으로 생각된다.

요 약

배경 및 목적 :

기관지천식의 중요한 특징적인 병인인 기도의 만성염증 상태와 증상의 변화를 판단하는 객관적인 지표로서 여러가지 방법이 시도되고 있는데 최근에는 비침습적이고 비교적 간단한 유도객담 검사로 침습적인 기관지 조직 검사나 기관지폐포세척술을 대신하려는 경향이 있다. 저자들은 기관지천식 환자의 유도객담에서 호산구, eosinophil cationic protein(ECP), interleukin (IL)-3, IL-5, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor(GM-CSF), 그리고, nitric oxide(NO)의 유도체를 측정하고, 객담내 NO 및 호산구와 관계가 있다고 알려진 cytokine들의 농도가 증상 및 기도의 염증상태를 반영하는 지표로서 이용될 수 있는지를 알아보고자 하였다.

방 법 :

기관지천식 환자 30명을 대상으로 2주간 경구용 프레드니솔론 30 mg을 투여하고, 약제 투여 전후로 1초간 노력성 호기량(FEV_1)과 혈중 총 호산구수, 그리고 유도객담 검사를 시행하여 객담내 호산구 비율과 ECP, IL-3, IL-5, GM-CSF, 그리고, NO 유도체를 측정하였다.

결 과 :

대상환자중 남자는 13명(43.3%), 여자는 17명(56.7%)이었고 연령분포는 19세부터 64세까지였으며 평균연령은 41.8세였다. 30명중 2명은 두번째 검사시 객담이 채취되지 않았고, 3명은 두번째 방문을 하지 않았다.

프레드니솔론 투여후 평균 1초당 노력성 호기량(% of predicted value)은 78.1±20.6 %에서 90.3±18.3%로 개선되었고($P<0.001$), 유도객담내 평균 호산구비율은 56.1±27.2%에서 29.6±21.3%로 ($P<0.001$), 객담내 평균 ECP 농도는 134.5±68.1 μg/L에서 41.5±42.4 μg/L로 유의하게 감소하였고($P<0.001$), 평균 혈중 총 호산구수는 425.7±265.9에서 287.7±294.7 로 감소하는 경향을 보였지만 통계적으로 유의하지 않았다.

유도객담내 NO 유도체의 평균 농도는 프레드니솔론 투여 전후로 유의한 차이가 없었으며(70.4±44.6 μmol/L vs 91.5±48.3 μmol/L) 평균 eotaxin 농도는 26.7±12.8 pg/ml에서 21.7±8.7 pg/ml로 감소하는 경향을 보였다. IL-3, IL-5, GM-CSF는 대부분의 경우에서 측정되지 않았다.

치료전의 1초당 노력성 호기량과 객담내 ECP의 농도 사이에 의미있는 역상관관계가 있었고($r=-0.364$, $P<0.05$), 객담내 호산구비율과 eotaxin 농도 사이에는 유의한 상관관계가 있었다($r=0.369$, $P<0.05$).

결 론 :

유도객담내에서 측정 가능한 여러 인자중 eotaxin 및 ECP가 치료에 따른 기도염증 상태의 변화를 반영하는 지표로 이용될수 있을 것으로 생각된다. 그 외 유도객담내 호산구비율 측정도 치료에 따른 증상이나 염증의 변화를 손쉽게 관찰할수 있는 간단한 방법으로 생각되지만 유도객담에서 Griess reagent를 이용한 NO 유도체의 측정은 기관지천식의 증상이나 염증상태의 변화를 반영하는 지표로서 유용하지 않을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Robertson CF, Heycock E, Bishop J, Nolan T, Olinsky A, Phelan PD. Prevalence of asthma in Melbourne schoolchildren. Br Med J 1991;302:1116-8
2. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barneon G, Ghavanian N, Enander I, Venge P, Ahlstedt S, Simony-Lavontaine J, Godard P, Michel FB. Eosinophilic inflammation in asthma. N Engl J med. 1990;32:1033-40
3. Fahy JV, Wang H, Lin J, Boushey HA. Comparison of samples collected by sputum induction and bronchoscopy from asthmatic and healthy sub-

jects. Am J Respir Crit Care Med 1995;152:53-8
4. Fahy JV. A safe, simple, standardized method should be used for sputum induction for research purpose. Clin Exp Allergy 1998;28:1047-9
5. Keatings VM, Jatakanon A, Worsdell YM, Barnes PJ. Effects of inhaled and oral glucocorticoids on inflammatory indices in asthma and COPD. Am J Respir Crit Care Med 1997;155:542-8
6. Fujimoto K, Kubo K, Matsuzawa Y, Sekiguchi M. Eosinophil cationic protein levels in induced sputum correlate with the severity of bronchial asthma. Chest 1997;112:1241-47
7. Kanazawa H, Shoji S, Yamada M, Fujii T, Kawaguchi T, Kudoh S, Hirata K, Yoshikawa J. Increased levels of nitric oxide derivatives in induced sputum in patients with asthma. J Allergy Clin Immunol 1997;99:624-9
8. Lim S, Jatakanon A, John M, Gilbey T, O'connor BJ, Fan Chung K, Barnes PJ. Effect of inhaled budesonide on lung function and airway inflammation : assessment by various inflammatory markers in mild asthma. Am J Respir Crit Care Med 1999;159:22-30
9. Robinson D, Qutayba H, Ying S, Bentley A, Assoufi B, Durham S, Kay AB. Prednisolone treatment in asthma is associated with modulation of bronchoalveolar lavage cell interleukin-4, interleukin-5, and interferon-γ cytokine gene expression. Am Rev Respir Dis 1993;148:401-6
10. Hargreave FE. Induced sputum and response to glucocorticoids. J Allergy Clin Immunol 1998;102:S102-5
11. Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A, Evans S, Morris MM, Squillace D, Gleich GJ, Dolovich J, Hargreave FE. Indices of airway inflammation in induced sputum : Reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. Am J Respir Crit Care Med. 1996;154:308-17
12. Verdon KP, Burton BA, Prior RL. Sample pretreatment with nitrate reductase and glucose-6-phosphate dehydrogenase quantitatively reduces nitrate while avoiding interference by NADP+ when the Griess reaction is used to assay for nitrite. Anal Biochem 1995;224:502-8
13. Louis R, Shute J, Biagi S, Stanciu L, Marrelli F, Tenor H, Hidi R, Djukanovic R. Cell infiltration, ICAM-1 expression, and eosinophil chemotactic activity in asthmatic sputum. Am J Respir Crit Care Med 1997;155:466-72
14. Baigelman W, Chodosh S, Pizzuto D, Cupples LA. Sputum and blood eosinophils during corticosteroid treatment of acute exacerbation of asthma. Am J med. 1983;75:929-36
15. Jatakanon A, Kharitonov S, Lim S, Barnes PJ. Effect of differing dose of inhaled budesonide on markers of airway inflammation on patients with mild asthma. Thorax 1999;54:108-14
16. 강석민, 김철우, 박중원, 홍천수. 기관지 천식 환자에 있어 고장성 생리식염수 흡입을 이용한 유도객담검사. 대한내과학회지 1997;52(6):797-804
17. Broide DH, Lotz M, Cuomo AJ, Coburn DA, Federman EC, Wasserman SI. Cytokines in symtomatic asthma airways. J allergy Clin Immunol. 1992;89:958-67
18. Barnes PJ. Nitric oxide and airway disease. Ann med. 1995;27;389-93
19. Karitonov SA, Yates D, Robbins RA, Logan-Sinclair R, Shinebourne EA, Barnes PJ. Increased nitric oxide in exhaled air of asthmatic patients. Lancet 1994;343:133-5
20. Yates DH, Kharitonov SA, Robbins RA, Thomas PS, Barnes PJ. Effect of a nitric oxide synthase

inhibitor and a glucocorticosteroid on exhaled nitric oxide. Am J resp Crit Care Med. 1995;152: 892-6

21. Crater SE, Peters EJ, Martin ML, Murphy AW, Platts-Mills TAE. Expired nitric oxide and airway obstruction in asthma with an acute exacerbation. Am J Respir Crit Care Med 1999;159: 806-11
22. Jatakanon A, Lim S, Chung KF, Barnes PJ. An inhaled steroid improves markers of airway inflammation in patients with mild asthma. Eur Respir J 1998;12(5):1084-8
23. Chan-Yeung M, Obata H, Dittrick M, Chan H, Abboud R. Airway inflammation, exhaled nitric oxide, and severity of asthma in patients with wetern red cedar asthma. Am J Respir Crit Care Med. 1999;159:1434-8
24. Gratziou C, Dassiou M, Roussos C. Exhaled nitric oxide and bronchial hyperreacitivity in atopic and nonatopic patients. Am J Respir Crit Care Med (abstract) 1998;157(Suppl.):A611
25. Lim S, Jatakanon A, Uasuf K, Chung F, Barnes PJ. Clinical utility of exhaled nitric oxide as a marker of disease activity in asthma. Am J Respir Crit Care Med (abstract) 1998;157 (Suppl.):A611
26. Sivak ED, Fahim M, Hakim TS. There is no relationship between exhaled nitric oxide and methacholine challenge test in mild asthma. Am J Respir Crit Care Med (abstract) 1998;157 (Suppl.):A611
27. Silkoff PE, Wakita S, Chatkin J, Ansarin K, Gutierrez C, Caramori M, McClean P, Slutscky AS, Zamel N, Chapman KR. Exhaled nitric oxide after β_2-agonist inhalation and spirometry in asthma. Am J Respir Crit Care Med 1999;159: 940-4
28. Kline JN, Hunninghaske GW. T-lymphocyte dysregulation in asthma. Proc Soc Exp Biol Med. 1994;207:243-53
29. Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets. Immunology Today. 1991;17:138 -46
30. Konno S, Gonokami Y, Kurokawa M, Kawazu K, Asano K, Okamoto K, Adachi M. Cytokine concentrations in sputum of asthmatic patients. Int Arch of Allergy Im munol. 1996;109:73-8
31. Koller DY, Nething I, Otto J, Urbanek R, Eichler I. Cytokine concentrations in sputum from patients with cystic fibrosis and their relation to eosinophil acitivity. Am J Respir Crit Care Med. 1997;155:1050-4
32. Lamkhioued B, Renzi PM, Abi-Younes S, Garcia -Zepada EA, Allakhverdi Z, Ghaffar O, Rothenberg MD, Luster AD, Hamid Q. Increased expression of eotaxin in bronchoalveolar lavage and airways of asthmatics contributes to the chemotaxis of eosinophils to the site of inflammation. Journal of Immunology. 1997;159:4593-601