

기관지천식환자에서 기도내 혈관분포정도(vascularity) 및 다른 기도 재구성 소견과의 연관성

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실

김승준, 이숙영, 김명숙, 노대근, 권순석,
김영균, 김관형, 문화식, 송정섭, 박성학

=Abstract=

Relationship Between Vascularity and Other Remodeling Parameters in Asthmatic Airway

Seung Joon Kim, M.D., Sook Young Lee, M.D., Myoung Sook Kim, M.D.,
Dae Keun Lo, M.D., Soon Seog Kwon, M.D., Young Kyoon Kim, M.D.,
Kwan Hyoung Kim, M.D., Hwa Sik Moon, M.D.,
Jeong Sup Song, M.D., Sung Hak Park, M.D.

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

Background : The pathological features in asthmatic airway remodeling are diverse. The aim of this study was to examine the degree of airway vascularity in relation to the other remodeling parameters in asthmatics.

Methods : Bronchial biopsies were done in 34 asthmatic patients, and 6 control subjects. The basement membrane thickness and the subepithelial thickness were measured in the hematoxylin-eosin stained tissue, and the degree of vascularity was measured using type IV collagen immunostaining.

Results : 1) Compared to the control subjects, the asthmatics showed a significant increase in the basement membrane thickness ($6.92 \pm 2.01 \mu\text{m}$ vs $9.67 \pm 2.84 \mu\text{m}$, $p < 0.05$) and the subepithelial thickness ($44.49 \pm 31.92 \mu\text{m}$ vs $121.22 \pm 72.79 \mu\text{m}$, $p < 0.05$). 2) Compared to the control subjects, the asthmatics showed a significant increase in the vascular area per unit submucosal area ($4.51 \pm 2.13\%$ vs $10.32 \pm 6.08\%$, $p < 0.05$). In addition, the number of vessels per unit submucosal area showed an increased tendency without statistical significance. 3) In the asthmatics, the number of vessels and the vascular area per unit submucosal area

Address for correspondence :

Young Kyoon Kim, M.D.

Department of Internal Medicine, Kangnam St. Mary's Hospital, The Catholic University of Korea
505 Banpo-dong, Seocho-ku, Seoul, 137-040, Korea

Phone: 02-590-2756 Fax: 02-599-3589 E-mail: youngkim@catholic.ac.kr

showed no correlation with the basement membrane thickness, the subepithelial thickness, the severity, the forced expiratory volume in 1 second(FEV₁), and the methacholine provocative concentration 20(PC₂₀).

Conclusion : This study showed that vascularity was an important parameter in asthmatic airway remodeling but it was not related to the other remodeling parameters such as the basement membrane thickness and the subepithelial thickness. Each of these asthmatic remodeling parameters may have a different clinical significance. Therefore, further studies will be needed. (*Tuberculosis and Respiratory Diseases* 2003, 54:191-198)

Key words : Asthma, Airway remodeling, Type IV collagen, Vascularity.

서 론

기관지천식은 가역적인 기도폐쇄를 특징으로 하는 질환이지만 오래되면 비가역적인 기도폐쇄로 진행된다^{1,2}. 이는 기도 재구성으로 인한 것인데 기관지천식환자에서의 기도 재구성은 병리학적으로 상피세포의 탈락, 기저막 두께의 비후, 기저막하부의 섬유화, 신생혈관의 증가, 평활근의 비후, 점액분비선의 증가 등 다양하다³⁻⁶. 이러한 기도 재구성이 진행할수록 기관지천식의 중증도가 심해지고 폐기능의 저하를 초래하며^{7,8} 치료에도 잘 반응하지 않으리라는 사실은 분명하므로 기도 재구성을 초래하는 관련인자를 찾아서 예방하는 것이 천식의 치료에 중요한 부분이 될 것이다^{9,10}.

한편 기도내 혈관분포정도는 기도 재구성을 일으키는 중요한 구성성분으로 알려져 있으며 비가역적 기도폐쇄를 일으키는데 관여할 것이라고 생각하고 있다¹¹⁻¹⁴. 이러한 혈관분포정도는 크게 두 가지 측면으로 나누어 생각해 볼 수 있는데 첫째는 기도내 단위면적당 혈관의 숫적인 증가 즉 혈관 신생이고 둘째는 기도내 단위면적당 혈관의 면적의 증가 즉 양적인 증가로 나누어 생각해 볼 수 있다¹⁴.

지금까지 기관지천식이 진행할수록 기도 재구성을 이루는 각각의 요인들이 비슷한 진행정도를 보이면서 관련성을 가지는지 아니면 서로 다른 기전에 의해 진행하므로 기도 재구성 정도가 서로 관

련성을 보이지 않는지는 잘 알려지지 않았다.

본 연구에서는 기관지천식환자의 기도 재구성 성분 중에서 기도내 혈관분포정도를 단위면적당 혈관수 및 혈관면적으로 나누어 조사해 보고 이를 다른 기도 재구성 성분 중에서 기저막비후정도, 기저막하부의 비후정도와 비교해 보아 서로 연관관계가 있는지를 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

대조군(6명)은 흡연력 및 알레르기 질환의 병력이 없으며 호흡기 증상이 없는 정상인 또는 고립성 폐결절을 가진 환자를 대상으로 하였다. 천식환자군(34명)은 기관지천식의 특징적인 증상이 있으면서 가역성 검사상 FEV₁이 15% 및 200ml 이상 증가하거나, FEV₁이 60% 이상인 경우 메타콜린 기도유발 시험이 양성(methacholine PC₂₀ ≤ 25mg/ml)인 환자를 대상으로 하였다. 이들은 비흡연자로서 기관지경 검사 3주 이내에 호흡기 감염이 없고 적어도 최근 3주간 스테로이드제 등 항염증약물을 사용하지 않았던 환자를 대상으로 하였다. GINA guideline의 기관지천식의 중증도에 따라서 mild intermittent를 경증(6명), mild persistent와 moderate persistent를 중등증(11명), severe persistent를 중증(17명)으로 하여 3단계로 분류하였다¹⁵.

2. 기관지경 검사

4%의 리도카인으로 국소마취를 시행하고 midazolam (2-3mg)을 정맥주사한 후 굴곡성 기관지경을 이용하여 검사하였다. 먼저 기관지경을 우중엽 또는 설상분지에 고정시킨 후 (고립성 폐결절이 있는 대조군의 경우 병변 반대부위) 상엽과 하엽이 갈라지는 부위에서 기관지 점막조직을 3개 또는 4개 생검하였다.

3. 기저막 및 기저막하부의 두께 측정

기관지생검 조직을 즉시 10% 포르말린에 고정시킨 후 조직절편을 만들어 hematoxylin-eosin으로 염색하여 400배 광학현미경에서 기저막 두께를 측정하였다. 기저막 두께는 상피세포가 정상적으로 존재하는 부위의 기저막을 100 μ m 간격으로 5 군데 측정하여 평균치를 계산하였다. 기관지생검조직의 콜라겐 침착 정도를 보기 위해 Masson-trichrome 염색을 하였는데 기저막하부의 두께는 광학현미경 하에서 기저막 하방부터 평활근까지의 최단길이를 무작위로 3군데 측정하여 평균치를 계산하였다. 모든 길이의 측정은 computerized image analyzer program을 이용하였는데, 현미경으로 관찰하는 조직슬라이드의 이미지를 실시간으로 컴퓨터로 전송하여 모니터상에서 조직내의 실제길이를 측정하는 방법으로 기저막 및 기저막 하부의 두께를 측정하였다.

4. 점막조직에서 혈관분포 정도의 측정

혈관분포 정도를 보기 위해 type IV collagen에 대한 면역 염색을 하였다. 1차 항체로 monoclonal antihuman-type IV collagen antibody(DAKO, Denmark)를 사용하였고 면역염색방법은 DAKO사의 EnVision+ system을 이용하여 추천하는 방법

으로 시행하였다. 발색제는 DAB+를 대조염색으로 hematoxylin을 사용하였다.

5. 통계처리

기관지천식의 중증도 및 기도 재구성과 관련된 인자들의 항목을 검토하고 혈관분포 정도를 분석하였다. 통계분석은 independent sample T test 및 Pearson의 상관계수와 Anova 검정법을 이용하였으며, 모든 자료는 평균 \pm 표준 편차로 표시하였고 통계적 유의수준은 P 값이 0.05 미만일 때로 하였다.

결 과

1. 대상의 특성

기관지천식환자 34명과 대조군 6명의 평균연령 (43.6 \pm 17.7세 vs 44.8 \pm 10.2세, $P>0.05$) 및 남녀 비에서 유의한 차이는 없었다. 대조군은 정상인 3명, 고립성 폐결절환자 3명이었고 고립성 폐결절환자 중 1명은 카시노이드증으로 확진되었다. FEV₁은 중등증과 중증환자가 경증환자에 비해 의미 있게 낮았으며 기관지과민도를 보는 지표인 PC₂₀은 기관지천식의 중증도가 심할수록 감소하는 경향을 보였다(Table 1).

2. 기도 재구성과 관련된 조직소견

기관지천식환자에서 기도 재구성 정도를 관찰하고자 기관지생검조직에서 H-E염색을 시행하여 기저막 비후정도를 대조군과 비교하였으며(Fig. 1A, B), Masson-trichrome 염색으로 기저막하부부터 평활근까지의 비후정도를 대조군과 비교 관찰하였다(Fig. 1C, D). 기저막의 비후정도 및 기저막하부의 비후정도 모두에서 기관지천식환자가(각각 9.67 \pm 2.84 μ m, 121.22 \pm 72.79 μ m), 대조군에(각각 6.92 \pm

Table 1. Demographic characteristics of the subjects

	control (n=6)		mild (n=6)		moderate (n=11)		severe (n=17)	
	mean	range	mean	range	mean	range	mean	range
age, yr	44.8	26-54	56.3	25-86	41.5	18-64	40.4	18-61
sex (M:F)	5:1		1:5		6:5		13:4	
duration, year			4.9	0-20	7.0	0-20	8.0	0-30
FEV ₁ , % predicted			95.0	83-119	*79.1	62-113	†67.1	18-107
PC ₂₀ (mg/ml) †			9.1	0.9-22.6	3.8	0.3-21.2	3.6	0.4-14.9

*significant difference compared with mild asthmatics ($P<0.05$)

†significant difference compared with mild asthmatics ($P<0.05$)

†Dose of methacholine

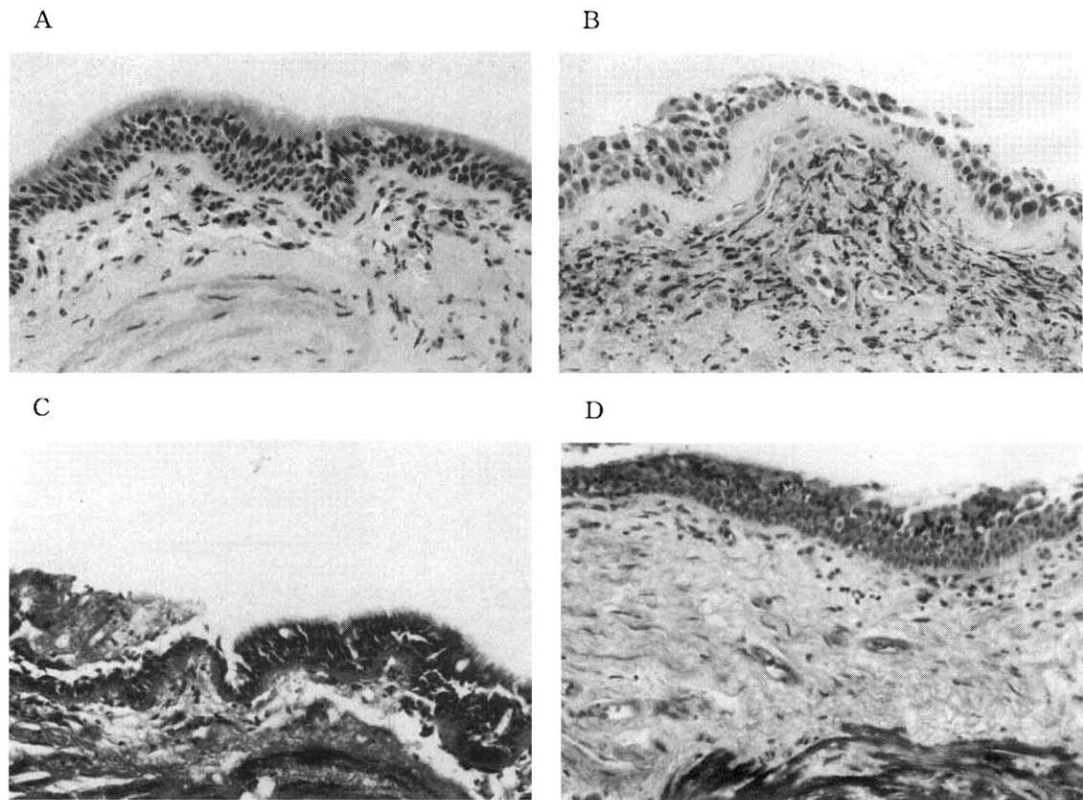


Fig. 1. Photograph of light microscopic findings of bronchial mucosa: (a) control subject (H-E stain, $\times 400$) (b) asthmatic patient (H-E stain, $\times 400$) (c) control subject (Masson-trichrome stain, $\times 400$) (d) asthmatic patient (Masson-trichrome stain, $\times 400$)

Asthmatics show loss of epithelial cells, thickening of basement membrane, increased inflammatory cell infiltration and subepithelial thickening.

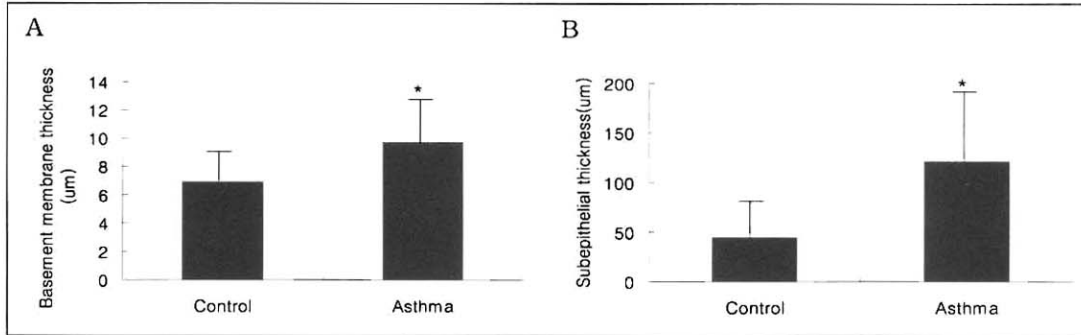


Fig. 2. Comparison of airway remodeling parameters between control and asthmatics. *significant difference compared with control ($P<0.05$).

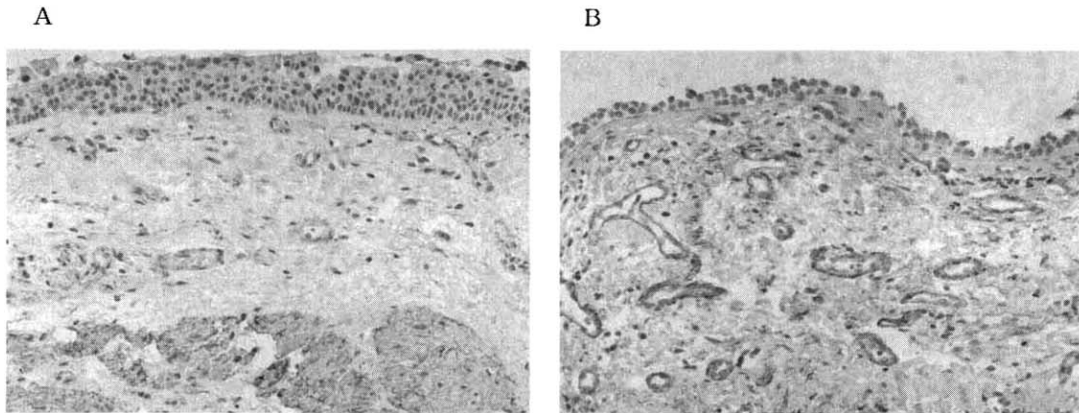


Fig. 3. The degree of vascularity in the bronchial mucosa: (a) control subject (type IV collagen immunostain, $\times 400$) (b) asthmatic patient (type IV collagen immunostain, $\times 400$)
Asthmatics show increased vascularity in the submucosal area.

$2.01\mu\text{m}$, $44.49\pm 31.92\mu\text{m}$) 비해서 유의하게 증가되었다(Fig. 2A, B).

3. 점막조직에서의 혈관분포정도 및 다른 기도 재구성 소견과 연관성

기관지천식환자 및 대조군의 점막에서 혈관분포정도를 관찰하고자 type IV collagen에 대한 면역염색을 시행하였다(Fig. 3). 혈관분포정도는 점막하 단위면적당 혈관이 차지하는 면적과, 점막하 단위

면적당 총 혈관수 두 가지로 나누어 관찰하였으며 모두 computerized image analyzer program을 이용하여 측정하였다. 기관지천식환자가($10.32\pm 6.08\%$) 대조군에($4.51\pm 2.13\%$) 비해 점막하 단위면적당 혈관면적이 유의하게 높았으며 점막하 단위면적당 총 혈관수는 높은 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다(Fig. 4).

기관지천식환자에서 혈관분포정도를 다른 기도재구성 소견인 기저막 비후정도, 기저막하부의 비후정도, 그리고 임상적으로 기관지천식의 중증도,

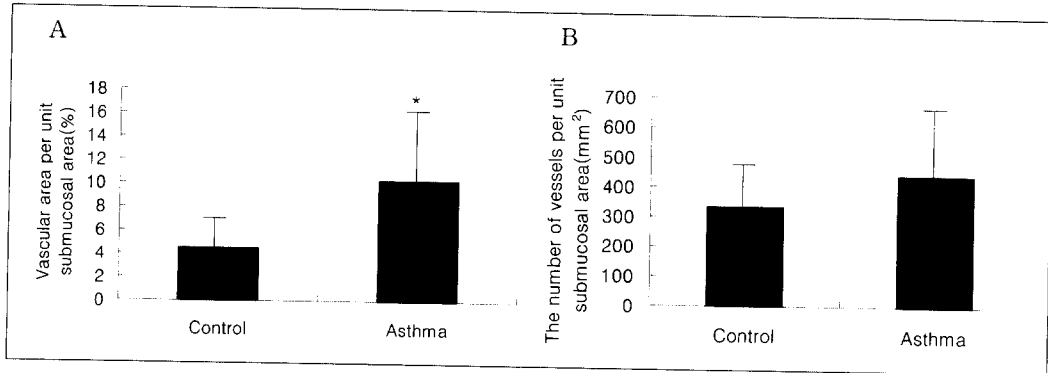


Fig. 4. Comparison of vascularity between control and asthmatics
*significant difference compared with control ($P<0.05$).

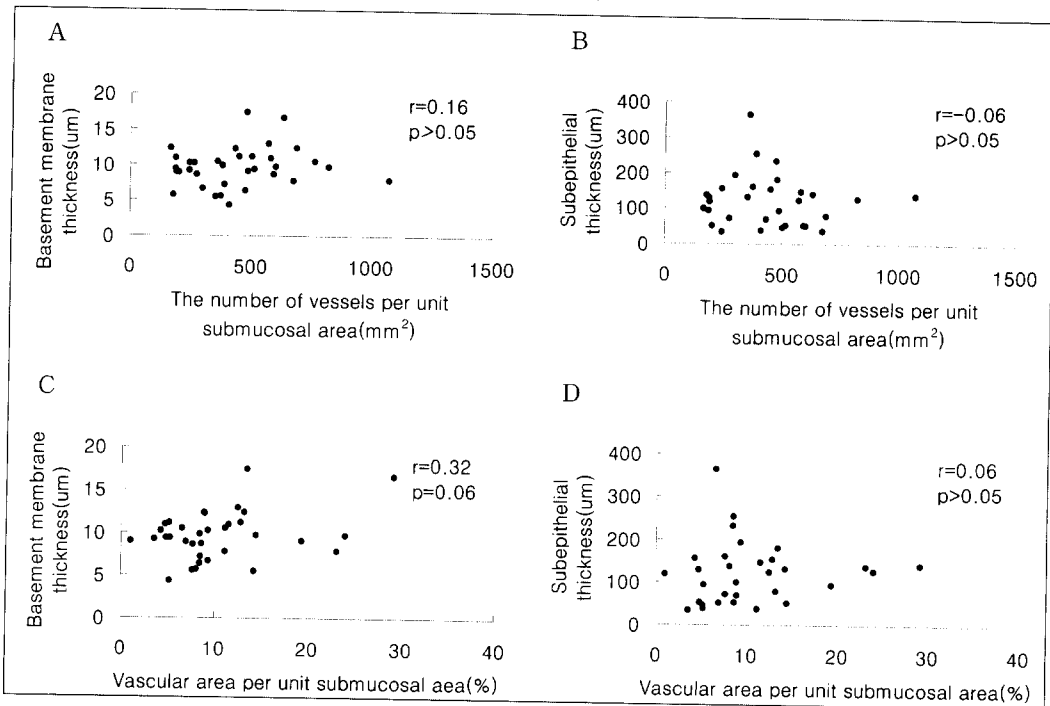


Fig. 5. Correlation between vascularity and other remodeling parameters in asthmatics.

FEV₁, PC₂₀ 등과 관련성을 조사하였으나 모두에서 통계적인 유의성을 관찰할 수 없었다(Fig. 5).

고 찰

기관지천식은 기관지과민성에 의한 가역적인 기도

폐쇄를 일으키는 질환으로 잘 알려져 있으나 최근 비가역적인 기도폐쇄로 이행할 수 있으며 만성폐쇄성폐질환의 양상을 보이기도 하는데 이러한 비가역적 기도폐쇄를 유발시키는 것은 기도 재구성과 연관이 깊다¹². 기도 재구성을 이루는 구성성분은 상피세포의 탈락, 기저막 두께의 비후, 기저막

하부의 섬유화, 신생혈관의 증가, 평활근의 비후, 점액분비선의 증가 등 다양하며^{3,6} 지금까지는 주로 기저막의 비후정도 및 기저막하부의 비후정도에 대한 연구가 많았으나 혈관분포정도도 관련한다는 것이 최근 알려지면서 기도 재구성에 혈관분포정도의 역할 등에 대한 연구가 진행중이다¹¹⁻¹⁴.

이러한 기도 재구성을 이루는 구성성분들은 시간경과에 따라서 더욱 심해질 것으로 생각되나 진행속도가 비슷하게 일어날 것인지, 아니면 환자들에 따라서 각각의 구성성분들이 차이를 보이면서 진행할 것인지 여부에 대해서는 알려진 바가 없으며, 기관지천식의 기도 재구성에서 angiogenesis를 일으키는 관련인자로 지금까지 VEGF, bFGF, angiogenin 등이 알려져 있으나^{12,13} 이것이 Th2 사이토카인 및 다른 기도 재구성 성분과 어떤 관련성이 있는지 여부 등도 알려진 것이 없다.

본 연구에서는 기관지천식환자가 대조군에 비해 기저막의 비후 및 기저막하부의 두께 비후로 기도 재구성 정도가 증가한 것을 확인하였고 점막 단위면적당 혈관면적의 증가가 관찰되어 혈관분포정도도 기도 재구성을 일으키는 중요한 구성성분임을 확인할 수 있었다. 하지만 점막 단위면적당 혈관수는 증가하는 경향을 보였을 뿐 통계적인 의미는 관찰되지 않았는데 이는 이전의 Chu 등¹⁴의 보고와 비슷한 양상이었다. 증가된 혈관분포정도가 다른 기도 재구성 성분인 기저막 비후정도 및 기저막하부의 비후정도와 직접적인 연관성이 관찰되지 않았는데 이 결과로 보아 각각의 기도 재구성의 성분은 동시에 진행하기보다는 시간경과에 따라 진행경과가 서로 다르거나 또는 서로 다른 기전에 의해 발생할 것으로 생각해 볼 수 있다.

본 연구의 제한점은 한 시점에서의 혈관분포정도를 다른 기도 재구성 성분들과 비교하였는데, 각각의 기도 재구성의 성분들이 시간경과에 따라 어떻게 변화하는지의 진행정도를 보는 것이 중요할 것으로 생각한다. 그리고 혈관분포정도에 따른 임

상적인 연관관계도 관찰할 수 없었는데, 기관지천식의 중증도, FEV₁, PC₂₀ 등의 임상소견은 여러 기도 재구성 성분들이 함께 작용을 할 것이므로 특정한 두 가지의 구성성분이 결정요인으로 생각하기는 어려울 것이다. 따라서 기도 재구성을 이루는 구성성분들은 각각 서로 다른 임상적인 의미를 가질 것으로 사료되며 이러한 요소들에 대한 추후 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

연구배경 :

기관지천식에서 기도 재구성과 관련되는 병리학적 소견은 다양하다. 본 연구의 목적은 기관지천식 환자의 기도내 혈관분포정도 및 다른 기도 재구성 소견과의 관련성을 알아보는데 있다.

방 법 :

기관지천식환자(n=34)와 대조군(n=6)을 대상으로 기관지점막조직생검을 시행하였다. HE 염색으로 기저막 및 기저막하부의 두께를, type IV collagen 면역염색을 하여 혈관분포정도(점막하 단위면적당 혈관의 수와 혈관면적)를 image analyzer를 이용하여 측정하였다.

결 과 :

1) 기관지천식환자에서 대조군에 비해 기저막 두께 ($6.92 \pm 2.01 \mu\text{m}$ vs $9.67 \pm 2.84 \mu\text{m}$, $p < 0.05$) 및 기저막하부의 두께 ($44.49 \pm 31.92 \mu\text{m}$ vs $121.22 \pm 72.79 \mu\text{m}$, $p < 0.05$)가 유의하게 높았다.

2) 기관지천식환자에서 대조군에 비해 점막하 단위면적당 혈관면적은 유의하게 높았으며 ($4.51 \pm 2.13\%$ vs $10.32 \pm 6.08\%$, $p < 0.05$) 점막하 단위면적당 혈관수는 높은 경향을 보였으나 통계적인 유의성은 없었다.

3) 기관지천식환자에서 점막하 단위면적당 혈관면적 및 혈관수는 기저막 두께, 기저막하부의 두께, 기관지천식의 중증도, FEV₁, PC₂₀ 등과 유의한

상관관계가 없었다.

결 론 :

본 연구결과 혈관분포정도가 기관지천식환자의 기도 재구성에 중요한 요소임을 확인할 수 있었으나 다른 기도 재구성의 요소들과는 직접적인 관련성은 없었다. 따라서 각각의 기도 재구성의 요소들은 서로 다른 임상적인 의미를 가질 것으로 사료되며 이러한 요소들에 대한 추후 연구가 필요할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Brown PJ, Greville HW, Finucane KE. Asthma and irreversible airflow obstruction. *Thorax* 1984;39:131-6.
2. Schachter EN, Doyle CA, Beck GJ. A prospective study of asthma in a rural community. *Chest* 1984;85:623-30.
3. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, White R, Vic P, Godard P et al. Asthma: a disease remodeling the airways. *Allergy* 1992;47:3-11.
4. Redington AE, Howarth PH. Airway wall remodelling in asthma. *Thorax* 1997;52:310-12.
5. Jeffery PK, Wardlaw AJ, Nelson FC, Collins JV, Kay AB. Bronchial biopsies in asthma. An ultrastructural, quantitative study and correlation with hyperreactivity. *Am Rev Respir Dis* 1989;140:1745-53.
6. Roche WR, Beasley R, Williams JH, Holgate ST. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. *Lancet* 1989;1:520-4.
7. Cho SH, Seo JY, Choi DC, Yoon HJ, Cho YJ, Min KU et al. Pathological changes according to the severity of asthma. *Clin Exp Allergy* 1996;26:1210-9.
8. 김승준, 이숙영, 박용근, 김명훈, 김석찬, 권순석, 김영균, 김관형, 문화식, 송정섭, 박성학. 기관지천식환자의 기도 재구성과 기관지폐포세척액 세포의 transforming growth factor- β 1 및 basic fibroblast growth factor 발현과의 관계. *천식 및 알레르기* 2002;22:532-9.
9. Broide DH, Lotz M, Cuomo AJ, Coburn DA, Federman EC, Wasserman SI. Cytokines in symptomatic asthma airways. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:958-67.
10. Hoshino M, Nakamura Y, Sim JJ. Expression of growth factors and remodelling of the airway wall in bronchial asthma. *Thorax* 1998;53:21-7.
11. McDonald DM. Angiogenesis and remodeling of airway vasculature in chronic inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:S39-45.
12. Hoshino M, Takahashi M, Aoike N. Expression of vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor, and angiogenin immunoreactivity in asthmatic airways and its relationship to angiogenesis. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:295-301.
13. Hoshino M, Nakamura Y, Hamid QA. Gene expression of vascular endothelial growth factor and its receptors and angiogenesis in bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:1034-8.
14. Chu HW, Kraft M, Rex MD, Martin RJ. Evaluation of blood vessels and edema in the airways of asthma patients: Regulation with clarithromycin treatment. *Chest* 2001;119:416-22.
15. Global initiative for asthma ; global strategy for asthma management and prevention NHLBI/WHO workshop report, 2002, National Institute of Health.