

가와사키병 환아에서 면역글로불린 투여 전후의 혈중 Nitric Oxide와 Tumor Necrosis Factor- α 에 대한 연구

이화대학교 의과대학 소아과학교실

박지혜 · 신지선 · 홍영미

Serum Nitric Oxide and Tumor Necrosis Factor- α Levels in Patients with Kawasaki Disease

Ji Hye Park, M.D., Jee Seon Shin, M.D. and Young Mi Hong, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, Ewha Womans University, Seoul, Korea

Purpose : Kawasaki disease(KD) is a systemic panvasculitis that causes coronary artery lesions. KD is accompanied by immunoregulatory abnormalities. Nitric oxide(NO) can induce relaxation of blood vessels by activating guanylate cyclase in smooth muscle cells and high levels of NO may result in coronary artery lesions. We investigated tumor necrosis factor(TNF)- α and NO production before and after intravenous immunoglobulin(IVIG) therapy to study the roles of NO and TNF- α in KD with coronary artery lesions.

Methods : Serum levels of NO and TNF- α were measured in 24 patients with KD(group I, eight patients with normal coronary artery; group II, 16 patients with coronary artery lesions) and 23 controls(group III, 13 afebrile controls; group IV, 10 febrile controls). Blood samples from each subject were drawn before and after IVIG therapy and in the convalescent stage. Serum concentrations of NO and TNF- α were measured by enzyme linked immuno sorbent assay.

Results : The NO levels before IVIG therapy were significantly higher in group II than in group I, group III and group IV. After IVIG therapy the levels of NO were significantly higher in group I and group II than in group III. The TNF- α levels before IVIG therapy were significantly higher in group I and group II than in group III. The serum TNF- α and NO levels were higher before IVIG therapy and decreased through the convalescent stage in KD patients. In the acute stage of KD patients with coronary artery lesions, serum NO levels significantly correlated with white blood cells ($r=0.43$, $P<0.05$).

Conclusion : The serum concentration levels of TNF- α and NO were abnormally high in KD patients and NO concentrations were statistically higher in the KD patients with coronary artery abnormalities than those without coronary abnormality during the early stage of the KD. These results suggest NO may be involved in the development of coronary artery lesions. (**Korean J Pediatr** 2005;48:772-778)

Key Words : Kawasaki disease, Nitric oxide, Tumor necrosis factor- α

서 론

가와사키병은 주로 중소 크기의 동맥을 침범하는 급성 전신 혈관염으로 10-15%의 환아에서 심한 관상동맥의 병변이 나타나

는 것으로 알려져 있다¹⁻³⁾. 가와사키병은 후천성 심장병의 중요한 원인 중의 하나이나 관상동맥 병변이 발현되는 병인이나 기전에 대해서는 정확하게 알려져 있지 않지만 급성기에 단핵 세포, 보조 T 세포, B 세포 등의 활성화와 inteferon- γ , tumor necrosis factor(TNF)- α 등 다양한 사이토카인의 증가가 나타나는 것은 잘 알려져 있다. 가와사키병과 함께 소아에서 혈관염을 일으키는 대표적인 질환인 Henoch-Schönlein purpura에서 혈청 TNF- α 의 양이 증가한다는 보고가 있었으며⁴⁾ 이는 TNF- α 가 혈관염의 원인이 될 가능성을 강하게 시사해 준다.

접수 : 2005년 1월 30일, 승인 : 2005년 3월 9일
책임저자 : 홍영미, 이화의대 동대문병원 소아과
Correspondence : Young Mi Hong, M.D.
Tel : 02)760-5427 Fax : 02)745-9545
E-mail : hongym@chollian.net

내인성 nitric oxide(NO) 생성은 패혈증, 진신성 홍반성 루푸스, 쇼그렌 증후군, 류마티스 관절염 등 다양한 감염성, 류마티스성 질환에서 중요한 역할을 하며 혈관 내피세포에서 분비되는 NO는 혈관 평활근에 작용하여 혈관 확장을 유지한다^{5,6)}. 또한 동맥 손상 후 혈소판 응집과 백혈구 부착, 혈관 평활근 증식 등을 억제하는 등 여러 가지 혈관 보호 작용을 한다. 반면에 염증 자극에 대한 반응으로 대식 세포, 호중구, 심혈관 벽의 평활근으로부터의 NO가 다량 분비될 경우 동맥벽의 변성을 초래하는 것으로 되어 있다^{7,8)}. NO는 L-arginine이 NO synthase(NOS)에 의해 citrulline으로 전환되는 과정에서 생성되며 가와사키병 환자에서 NO의 생성을 촉진하는 NOS의 발현이 증가됨이 보고된 바 있다⁹⁾.

한편 Iizuka 등¹⁰⁾은 가와사키병 환아에 있어 건강한 대조군에 비해 소변에서 nitrate와 neopterin이 증가되어 있었고 관상동맥 질환이 있는 군이 관상동맥질환이 없는 군보다 NO가 높다고 하였고, NO가 가와사키병에서 관상동맥 이상의 진전에 중요한 역할을 함을 제시하였다^{10,11)}. 그러나 이와 상반된 의견들도 제시되고 있다¹²⁻¹⁴⁾. Johanssoning 등¹⁵⁾은 NOS의 선택적 길항제인 aminoguanidine이 동맥류의 확대를 제한한다고 하였다. 저자들은 가와사키병 환아에 있어 혈청 TNF- α 와 NO의 농도를 시기별로 측정하여 면역글로불린 투여 전후의 변화를 알아보았으며 이들의 농도가 가와사키병에 있어서의 염증 반응과 관상동맥질환과의 연관이 있는지를 연구함으로써 가와사키병의 병태 생리와 치료에 대해 생각해 보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2003년 7월부터 2004년 7월까지 이화대학교 동대문병원 소아과에 입원한 가와사키병 환아 24명을 대상으로 하였다. 가와사키 질환의 진단 기준은 5일 이상의 발열, 화농이 없는 양측성 결막 충혈, 입술, 입안의 변화(입술의 홍조, 균열, 딸기 혀, 구강 발적), 부정형 발진, 급성기의 비화농성 경부 림프절 비대, 손발의 변화(급성기의 손발의 경성 부종과 홍조, 아급성기의 손발톱 주위의 막양 낙설) 등 6개 중에서 5개의 진단 기준에 맞는 경우를 전형적인 가와사키 질환으로 정의하였고 위의 증상 중에서 발열을 동반하며 4가지 이하를 만족시키는 경우 심초음파상에서 관상동맥의 확장이나 동맥류가 있는 경우를 비전형적 가와사키병으로 진단하였다. 이 중에서 관상동맥 병변이 없는 8명을 1군으로, 관상동맥 병변이 있는 16명을 2군으로 분류하였다. 같은 시기에 내원한 열이 없는 정상 소아 13명을 3군으로 대조군으로 하였고(3군), 열이 있는 다른 질환의 소아 10명을 4군으로 분류하였다. 모든 가와사키병 환자는 고용량 면역글로불린 2 g/kg을 10-12시간 동안 서서히 투여하였으며 초기에는 고용량 아스피린(50 mg/kg)을 복용하였고 발열이 소실된 뒤에는 저용량 아스피린(5 mg/kg)을 복용하였다.

2. 방법

가와사키병 환자의 면역글로불린 투여 전, 면역글로불린 투여 후 3-7일, 회복기(치료 시작 후 최소한 2개월 후)에 혈액을 채취하여 원심분리한 후 혈장을 분리하여 -70°C에 냉동 보관하였다. 가와사키군과 대조군의 연령, 발열 기간 등 임상 양상과 총 백혈구수, 단핵구수, 적혈구 침강 속도, C 반응 단백질과 혈중 NO, TNF- α 의 농도를 측정하였다. TNF- α 는 Quantikine human TNF- α (R&D System Inc. Minneapolis, USA)를 사용하여 Sandwich 효소 면역법을 이용하여 측정하였다. 특이적인 TNF- α 단 클론 항체가 코팅된 microplate에 표준액과 검체를 넣어 TNF- α 와 결합시켜 고정화된 항체로 만들었다. 그 후 세정 과정을 통해 비결합된 물질을 제거하고 TNF- α 에 특이적인 효소 결합된 다클론 항체를 각 well에 첨가하였다. 비결합된 항체-효소를 제거하고 기질 용액을 첨가하면 TNF- α 와 결합된 물질은 발색을 나타내며 이 때 발색 정지액을 넣고 Molecular Devices V-MAX 220 VAC ELISA 판독기(Molecular Devices, USA)를 이용하여 흡광도를 읽었다. NO는 효소 면역법을 이용하여 Total Nitric Oxide(DRG International Inc. USA) 시약으로 Molecular Devices V-MAX 220 VAC ELISA 판독기(Molecular Devices, Minneapolis, USA)를 이용하여 측정하였다.

3. 통계

통계 처리는 SPSS version 10.0을 사용하였다. 모든 값은 평균±표준편차로 나타내었고 통계분석은 ANOVA 검사를 이용하였다. 각 군들간의 통계학적인 유의수준은 $P<0.05$ 로 하였고 상관관계는 Pearson's correlation으로 비교하였다.

결 과

1. 대상 환아의 특징

가와사키군의 평균 연령은 정상 관상동맥군(1군)은 2.2 ± 1.2 세, 관상동맥 확장군(2군)은 3.0 ± 2.5 세, 열이 없는 대조군(3군)은 3.9 ± 2.4 세, 열이 있는 대조군(4군)은 3.3 ± 2.9 세로 각 군간의 유의한 차이는 없었다.

2. 임상 양상과 말초 혈액 검사 소견

발열 기간은 1군은 3.5 ± 2.0 일, 2군은 4.1 ± 2.0 일, 3군은 0일, 4군은 4.3 ± 1.8 일로 1군, 2군, 4군이 3군에 비해 통계적으로 유의하게 길었다. 면역글로불린 투여 전의 총 백혈구 수는 1군에서 $9,475.0\pm 2,189.4/\text{mm}^3$, 2군에서 $10,681.2\pm 5,646.4/\text{mm}^3$, 3군에서 $8,415.4\pm 2,900.5/\text{mm}^3$, 4군에서 $8,270.0\pm 3,221.1/\text{mm}^3$ 으로 각 군간의 유의한 차이가 없었다. 호중구 수치는 1군, 2군, 3군, 4군에서 각각 $43.3\pm 21.7\%$, $49.0\pm 18.5\%$, $59.7\pm 9.4\%$, $39.0\pm 14.0\%$ 로 각 군간의 유의한 차이가 없었다.

염증반응 지표를 보면 적혈구 침강 속도는 각각 15.4±17.6 mm/hr, 40.6±38.6 mm/hr, 12.9±9.4 mm/hr, 18.6±18.3 mm/hr로 2군에서 1군과 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 높았으며($P<0.05$) C 반응 단백값은 각각 1.7±2.4 mg/dL, 5.5±9.7 mg/dL, 0.5±0.9 mg/dL, 0.5±0.4 mg/dL로 2군이 3군과 4군에 비해 통계적으로 유의하게 높았다($P<0.05$, Table 1).

3. 혈청 NO, TNF- α 의 비교

1) 면역글로불린 투여 전후, 회복기의 혈청 NO, TNF- α

면역글로불린 투여 전의 혈청 NO는 1군(13.2±5.7 μ mol/L), 2군(20.4±10.7 μ mol/L)과 4군(12.4±8.9 μ mol/L)이 3군(3.1±1.4 μ mol/L)보다 유의하게 높았고 2군이 1군과 4군에 비해 유의하게 높았다($P<0.05$, Table 2). 또한 혈청 TNF- α 는 2군(858.4±934.0 pg/mL)에서 3군(8.7±2.3 pg/mL)과 4군(226.7±647.2

pg/mL)에 비해 유의하게 높았으며 1군(522.4±859.6 pg/mL)도 3군에 비해 높았다($P<0.05$, Table 3). 면역글로불린 투여 후 NO는 1군(9.2±6.1 μ mol/L), 2군(10.3±5.8 μ mol/L), 4군(12.4±8.9 μ mol/L)이 3군(3.1±1.4 μ mol/L)에 비해 유의하게 높았으며($P<0.05$, Table 2), TNF- α 는 각 군별로 유의한 차이가 없었다(Table 3). 마지막으로 회복기의 NO는 4군(12.4±8.9 μ mol/L)이 1군(4.2±2.0 μ mol/L), 2군(5.3±3.6 μ mol/L), 3군(3.1±1.4 μ mol/L)에 비해 통계적으로 유의하게 높았고($P<0.05$, Table 2) TNF- α 도 4군(226.7±647.2 pg/mL)이 1군(8.7±1.9 pg/mL), 2군(12.2±10.5 pg/mL), 3군(8.7±2.3 pg/mL)에 비해 통계적으로 유의하게 높았다($P<0.05$, Table 3).

2) 면역글로불린 투여 전후의 NO의 변화

정상 관상동맥군에서 면역글로불린 투여 전 NO는 13.2±5.7 μ mol/L로 면역글로불린 투여 후의 10.3±5.8 μ mol/L와 회복기

Table 1. Clinical Characteristics before Intravenous Immunoglobulin Treatment

	Kawasaki disease		Control	
	CAD [§] (-)(n=8)	CAD(+)(n=16)	Afebrile(n=13)	Febrile(n=10)
Age(year)	2.2±1.2	3.0±2.5	3.9±2.4	3.3±2.9
Fever(days)	3.5±2.0*	4.1±2.0*	0	4.3±1.8*
WBC(/mm ³)	9,475.0±2,189.4	10,681.2±5,646.4	8,415.4±2,900.5	8,270.0±3,221.1
Neutrophil(%)	43.3±21.7	49.0±18.5	59.7±9.4	39.0±14.0
Monocyte(%)	6.5±3.8	6.5±2.7	6.2±2.3	6.4±2.3
Platelet(×10 ³ /mm ³)	364.9±134.5	414.4±202.8	340.6±108.4	378.7±158.6
ESR(mm/hr)	15.4±17.6	40.6±38.6* ^{†,‡}	12.9±9.4	18.6±18.3
CRP(mg/dL)	1.7±2.4	5.5±9.7* [†]	0.5±0.9	0.5±0.4

* $P<0.05$ vs afebrile control, [†] $P<0.05$ vs febrile control, [‡] $P<0.05$ vs CAD(-), [§]CAD: coronary artery dilatation

Table 2. Serum NO Levels before and after Immunoglobulin Treatment

	NO(μ mol/L)		
	Before IVIG [¶]	After IVIG [¶]	Convalescent stage
KD [§] with CAD (+)(n=16)	20.4±10.7* ^{†,‡}	9.2±6.1*	5.3±3.6 [†]
KD [§] without CAD (-)(n=8)	13.2±5.7*	10.3±5.8*	4.2±2.0 [†]
Afebrile control(n=13)	3.1±1.4	3.1±1.4	3.1±1.4 [†]
Febrile control(n=10)	12.4±8.9*	12.4±8.9*	12.4±8.9

* $P<0.05$ vs afebrile control, [†] $P<0.05$ vs febrile control, [‡] $P<0.05$ vs CAD(-), [§]KD: Kawasaki disease, ^{||}CAD: coronary artery dilatation, [¶]IVIG: intravenous immunoglobulin

Table 3. Serum TNF- α Levels before and after Immunoglobulin Treatment

	TNF- α (pg/mL)		
	Before IVIG [¶]	After IVIG [¶]	Convalescent stage
KD [‡] with CAD [§] (+)(n=16)	858.4±934.0* [†]	159.4±514.4	12.2±10.5 [†]
KD [‡] without CAD [§] (-)(n=8)	522.4±859.6*	180.7±471.4	8.7±1.9 [†]
Afebrile control(n=13)	8.7±2.3	8.7±2.3	8.7±2.3 [†]
Febrile control(n=10)	226.7±647.2	226.7±647.2	226.7±647.2

* $P<0.05$ vs afebrile control, [†] $P<0.05$ vs febrile control, [‡]KD: Kawasaki disease, [§]CAD: coronary artery dilatation, [¶]IVIG: intravenous immunoglobulin

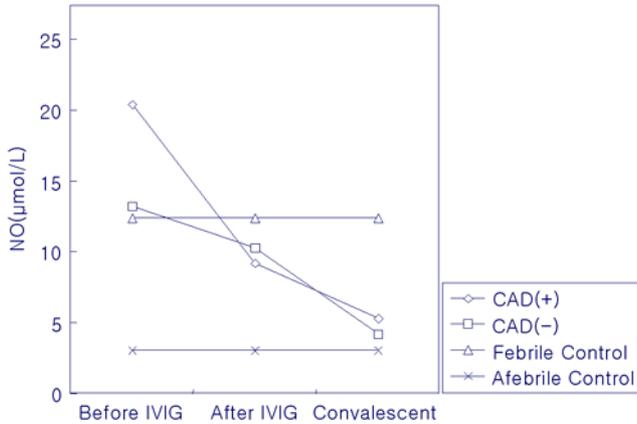


Fig. 1. Serial changes of serum nitric oxide levels in each groups. CAD: coronary artery dilatation, IVIG: intravenous immunoglobulin, NO: Nitric oxide.

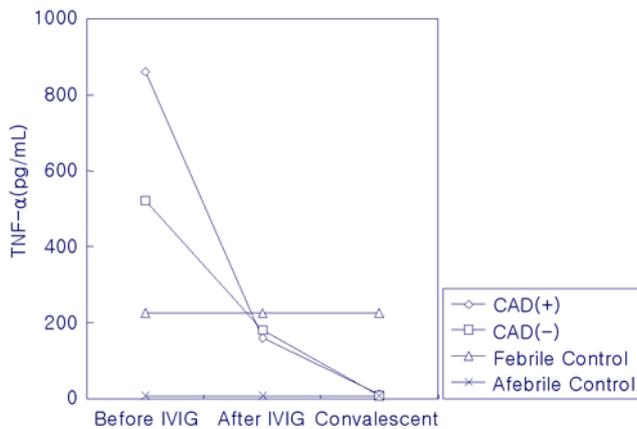


Fig. 2. Serial changes of tumor necrosis factor α levels in each groups. CAD: coronary artery dilatation, IVIG: intravenous immunoglobulin, TNF: tumor necrosis factor.

의 $4.2 \pm 2.0 \mu\text{mol/L}$ 에 비해 각각 유의하게 높았으며 ($P < 0.05$, Fig. 1) 면역글로불린 투여 후에도 회복기보다 유의하게 높았다. 관상동맥 확장군에서도 면역글로불린 투여 전 NO는 $20.4 \pm 10.7 \mu\text{mol/L}$ 로 면역글로불린 투여 후의 $9.2 \pm 6.1 \mu\text{mol/L}$ 와 회복기의 $5.3 \pm 3.6 \mu\text{mol/L}$ 에 비해 각각 유의하게 높았으며 면역글로불린 투여 후에도 회복기보다 유의하게 높았다 ($P < 0.05$, Fig. 1).

3) 면역글로불린 투여 전후의 TNF- α 의 변화

정상 관상동맥군에서 TNF- α 는 면역글로불린 투여 전 $522.4 \pm 859.6 \text{ pg/mL}$ 로 면역글로불린 투여 후의 $180.7 \pm 471.5 \text{ pg/mL}$ 와 회복기의 $12.2 \pm 10.5 \text{ pg/mL}$ 보다 각각 유의하게 높았다 ($P < 0.05$, Fig. 2). 관상동맥 확장군에서 TNF- α 는 면역글로불린 투여 전 $858.4 \pm 934.0 \text{ pg/mL}$ 로 면역글로불린 투여 후의 $159.4 \pm 514.4 \text{ pg/mL}$ 와 회복기의 $8.7 \pm 1.9 \text{ pg/mL}$ 보다 각각 유의하게 높았다 ($P < 0.05$, Fig. 2).

4) 백혈구수와 혈청 NO 사이의 상관성 연구

관상동맥 확장군에서 백혈구 수치와 혈청 NO는 유의한 양의 상관 관계가 있었다 ($r=0.430$, $P < 0.05$). 백혈구 수치와 TNF- α 는 유의한 상관 관계가 없었다.

고 찰

가와사키병의 급성기에는 원인은 확실하지 않지만 단핵구, T 세포, B 세포가 활성화되고 interleukin(IL-1), IL-2, IL-6, TNF- α 등의 사이토카인이 증가된다고 알려져 있다¹⁶⁾. TNF- α 는 내독소 및 여러 사이토카인의 자극으로 단구/대식 세포에서 주로 생성되어 인체의 모든 세포에 작용하여 세포자멸사를 일으키고 다른 사이토카인을 분비시키며 세포 독성을 갖는다. 또한 TNF- α 는 열성 질환에서 상승하며 가와사키병의 여러 증상을 일으키는 것으로 추정된다. Takahashi 등¹⁷⁾은 혈청 IL-6와 IL-8이 가와사키병 첫 주에 증가하고 그 후 감소함을 보고하였으며 TNF- α 역시 첫 주에 증가하여 발병 2주째까지 높다고 하였다. Furukawa 등¹⁸⁾은 가와사키병에서 단구/대식세포가 혈관의 염증 반응에 관여한다고 하였고 이와 동반하여 TNF- α 의 조직 내 및 혈중 농도의 증가가 관찰되었고 이때 TNF- α 의 증가는 관상동맥 병변의 발생과 밀접한 관계가 있다고 하였다. 그러나 Lee 등¹⁹⁾의 연구에서는 혈청 TNF- α 는 가와사키병 환아와 감염 환아에서 증가되었으며 가와사키병 환아에 비해 감염 환아에서 높았으며 Maury 등²⁰⁾은 혈청내 TNF- α 의 농도가 급성기에 증가하고 8-14일 사이에 최고에 이른다고 하였다. 본 연구에서는 TNF- α 가 가와사키병 환아에서 감염환자에 비해 유의하게 증가하였기 때문에 TNF- α 의 증가가 가와사키병 급성기의 여러 증상과 관계 있음을 알 수 있었으나 관상동맥류 발생과의 유의한 관계는 나타나지 않았다.

NO는 1980년 말에 발견되어 유기체 뿐만 아니라 면역 반응에 세포 독성 또는 조절 작용을 하는 분자에 중요한 역할을 한다. NO는 숙주 방어와 염증 반응에 있어서 중요한 역할을 한다. 여러 연구에서 패혈 쇼크, 전신성 홍반성 루푸스, 쇼그렌 증후군, 혈관염, 류마티스 관절염, 골관절염 등의 감염, 류마티스 질환에서 NO가 과도하게 생산되는 증거를 보인 바 있다^{5, 6)}. NO는 endothelial nitric oxide synthase(eNOS), inducible synthase(iNOS)의 두 가지 isoform에 의해 생성된다. 심혈관계에 생리적 또는 병리학적으로 다양한 역할을 한다. 정상 조직에 eNOS는 내피세포에 의해 발견되는데 iNOS는 정상적으로 발견되지 않는다. 혈관 손상 후 내피세포에서 NO의 유출은 평활근에 작용하여 혈관 확장을 일으키고, 혈소판 응집 억제 뿐만 아니라 중성구 흡착 억제를 통한 항 염증 효과를 포함한 몇 가지 중요한 혈관 보호 역할을 한다고 알려져 있고²¹⁾ 혈관염의 치유 과정에 중요한 역할을 한다는 설도 있다. 반면에 면역 자극에 의해 심혈관 벽으로부터 대식 세포, 호중구, 내피세포, 평활근에서 iNOS에 의해 일차적으로 생성되는 NO의 다량 방출은 동맥 벽의 변

성 및 속을 일으킨다. 혈관 내피세포의 표면적이 넓고 혈류와 맞닿아 있기 때문에 대부분의 nitrate는 내피로부터 기원한다고 할 수 있다²²⁾. NO는 동맥 벽의 변성을 일으키는 관여하고 동맥 벽의 손상을 일으켜 동맥류 형성으로 이끈다는 설도 있지만²³⁾, 가와사키병에서 NO가 유리하게 작용할 지 해롭게 작용할 지는 아직 연구 대상으로 남아있다. Yu 등²²⁾은 급성 가와사키병에서 말초 혈액백혈구와 순환하는 내피세포에서 iNOS 발현의 증가는 관상동맥류 발생과 관련이 있다고 보고하고 있다.

사이토카인은 혈관 내피, media-adventitia 복합체, 혈관 평활근 내의 iNOS 합성을 유도하여 NO의 생성을 증가시킨다²⁴⁾. Maury 등²⁴⁾도 혈청내 TNF- α 의 농도가 급성기에 증가하고, 혈장내의 nitrate도 증가하는데 이는 TNF- α 와 같은 사이토카인의 증가가 NO의 생성을 자극하여 혈관의 손상을 초래한다고 보고하였다. 사이토카인이 NO의 생성을 초래하는 기전은 확실히 알려져 있지는 않지만 NOS 단백질 생성 과정에 관여하며 interferon- γ 나 TNF- α 가 NOS 유전자의 발현을 유도시키고 mRNA의 생성을 촉진시키고 활성화시키며 세포내에서 NO의 생성에 필요한 기질이나 보조 인자들의 운반을 돕는다고 밝혀진 바 있다. 본 연구에서는 혈청 TNF- α 와 NO가 정상 대조군에 비해 가와사키 질환에서 유의하게 높았으며 혈청 NO는 관상동맥류가 있는 가와사키군에서 관상동맥류가 없는 군보다 유의하게 높았다.

본 연구에서는 가와사키병 급성기에 혈청 TNF- α 와 NO가 각각 면역글로불린 투여 후와 회복기에 비해 증가되어 있었으나 혈청 TNF- α 와 NO 사이의 상관성을 밝힐 수는 없었으며 이는 TNF- α 가 증가하여 최고조에 달하는 시간과 NO가 증가하여 최고조에 달하는 시간이 달라 시간에 따른 연속적인 결과치의 비교가 필요할 것으로 생각된다.

가와사키병에서 전신적인 미세혈관염은 발병 10일내에 최고조에 달하며 25일 이내에 사라진다¹⁴⁾. 중소동맥의 염증이 나타나 12-20일내에 퍼져나가며 관상동맥 병변이 발생할 수 있다. Ike-moto 등¹²⁾의 연구에서는 발병 첫 주에서 셋째 주 사이에 혈장 nitrate가 증가하며 iNOS가 유도되어 nitrate의 증가와 혈관 손상을 야기한다고 하였다. 면역글로불린의 치료는 혈장 nitrate의 농도를 낮추지 못했고, NO 생성이 혈관염의 심각도와 비례하지 않았고 관상동맥류 형성의 예측 인자로 사용할 수 없다고 하였다. 저자들마다 가와사키병에서 관상동맥질환과 NO와의 상관성에 대해서는 서로 상반된 견해를 보이고 있으며 본 연구에서는 혈중 NO 농도는 급성 가와사키병에서 제일 높았고 백혈구와 혈중 NO치와의 양의 상관관계를 나타냈는데 이는 Yu 등²²⁾의 연구에서는 말초 호중구에서 iNOS 발현은 진단 당시 제일 높았고, 호중구에서 iNOS에 의해 생성되는 NO는 급성 가와사키병에서 관상동맥류 발생을 자극하는데 중요한 역할을 한다고 보고한 결과와 일치한다.

Aeberhard 등¹³⁾은 아스피린이 NOS 유전자의 발현을 방해하여 사이토카인으로 활성화된 macrophage 내에서의 NO의 생성

을 감소시킨다고 하였다. Nitrate의 농도는 오히려 관상동맥질환이 없는 군에서 관상동맥질환이 있는 군보다 높았으며 Fujiwara 등¹⁴⁾은 가와사키병 급성기에 관상동맥의 염증은 관상동맥질환이 없는 군에서도 나타난다고 하였으며 따라서 NO의 생성 정도가 혈관염의 경중도와 비례한다고 볼 수 없다고 하였다.

반면에 Wang 등⁹⁾의 연구에서는 관상동맥질환이 있는 경우가 관상동맥질환이 없는 경우보다 NO의 수치가 높았고 면역글로불린의 치료 후에 NO의 수치가 감소하였고, 면역조직화학염색과 역전사효소 증합효소 연쇄반응에서 단핵세포에서 iNOS mRNA의 발현이 면역글로불린 치료 후에 감소함을 밝힘으로써 면역글로불린이 NO 매개된 염증 반응과 관상동맥 확장을 감소시킴을 제시하였다.

Iizuka 등¹⁰⁾은 가와사키병 환아에서 정상 대조군보다 소변에서의 nitrite와 neopterin이 증가되어 있음을 보고하였고, 가와사키병에서 NO의 생성이 증가한다고 밝힌 바 있다. NO는 superantigen으로 매개된 사람의 림프구 증식의 필수적인 매개체임을 보고하였고²⁵⁾, Schussler 등²⁶⁾은 면역글로불린 주사가 guinea pig의 대동맥에서 용량 의존적으로 thrombin 형성과 NO 생성을 억제함을 보고하였다. 본 연구에서도 정상 대조군에 비해 가와사키병 환아에서 NO가 뚜렷이 증가하였고 관상동맥류가 있는 군에서 관상동맥류가 없는 군보다 유의하게 높았다. 면역글로불린 투여 후에 NO가 유의하게 감소함을 알 수 있었다.

Osorio 등²⁷⁾은 심부전인 동물을 대상으로 한 실험에서 혈장내 NO의 증가가 NO 생성의 증가가 아닌 NO 배설의 감소에 기인한다고 하였으며 신장 혈관염에 의해 신혈류가 감소하여 소변의 NO³⁻와 NO²⁻의 배설이 감소할 수 있다고 하였으나 Wang 등⁹⁾의 연구에서는 면역글로불린 치료 전후의 소변량, Ccr, 소변내 나트륨 배설량, 소변내 NO³⁻와 NO²⁻의 배설량을 비교한 결과 유의한 차이가 없었으며 면역글로불린 치료 후 혈청 NO³⁻와 NO²⁻의 감소는 소변내 NO³⁻와 NO²⁻ 배설의 증가가 아닌 혈액내 단핵세포로부터의 iNOS의 발현이 억제되기 때문이라고 밝혀 Osorio 등²⁷⁾과는 상반된 결과를 보고하고 있다. 본 연구에서는 검사에서 BUN과 creatinine이 정상이었으나 소변에서 NO의 배설량을 측정하지 못하였으므로 NO의 생성 감소가 면역글로불린 영향에 의한 것인지 아스피린 치료 효과인지를 판별할 수는 없었다.

또한 급성기, 아급성기, 회복기의 NO 농도만 비교하였으며 치료에 적용하기 위해서 NOS에 대한 분자, 면역 화학적인 비교 연구가 더 필요할 것이라고 생각된다. NO의 과생성이 가와사키병을 가진 환아에서 유리한지 해로운지 아직 분명하지 않다. 가와사키병에서 NO의 기전도 명확하지 않으므로 좀 더 연구가 되어야 할 것으로 생각한다.

요 약

목적 : 가와사키병은 면역 조절 인자의 이상을 동반하는 전

신적 혈관염으로 관상동맥질환을 초래한다. NO는 혈관내 평활근의 granulocyte cyclase의 기전에 영향을 미쳐 혈관의 이완을 유발하는 역할을 하며 과다하게 분비될 경우 혈관의 변성을 초래하는 것으로 알려져 있다. 본 저자들은 가와사키병에서 NO와 TNF- α 의 혈중 농도를 측정하여 관상동맥질환 발생과 연관이 있는지 알아보기 위해 본 연구를 실시하였다.

방 법 : 가와사키병 환자 24명을 관상동맥 확장이 없는 군(1군)과 관상동맥 확장이 있는 군(2군)으로 분류하여 각 군의 임상양상과 면역글로불린 투여 전과 후, 회복기에서의 NO, TNF- α 의 혈중 농도를 면역효소법(ELISA)으로 측정하여 비교하였다. 대조군으로는 같은 시기에 내원한 열이 없는 정상 대조군(3군) 13명과 열이 있는 대조군(4군) 10명으로 하였다.

결 과 : 면역글로불린 투여 전의 혈중 NO는 1군($13.2 \pm 5.7 \mu\text{mol/L}$), 2군($20.4 \pm 10.7 \mu\text{mol/L}$)과 4군($12.4 \pm 8.9 \mu\text{mol/L}$)이 3군($3.1 \pm 1.4 \mu\text{mol/L}$)보다 높았고 2군이 1군과 4군에 비해 유의하게 높았다($P < 0.05$). TNF- α 는 2군($858.4 \pm 934.0 \text{ pg/mL}$)에서 3군($8.7 \pm 2.3 \text{ pg/mL}$)과 4군($226.7 \pm 647.2 \text{ pg/mL}$)에 비해 유의하게 높았으며 1군($522.4 \pm 859.6 \text{ pg/mL}$)도 3군에 비해 높았다($P < 0.05$). 면역글로불린 투여 후 NO는 1군, 2군과 4군이 3군에 비해 유의하게 높았으며 TNF- α 는 각 군별로 유의한 차이가 없었다. 가와사키병 관상동맥 확장군과 비확장군 모두에 있어 NO와 TNF- α 의 혈중 농도가 면역글로불린 투여 전에 가장 높았고 면역글로불린 투여 후와 회복기로 갈수록 감소하였다. 또한 관상동맥 확장군에서 백혈구 수치와 혈청 NO는 유의한 양의 상관관계가 있었다($r = 0.430$).

결 론 : 가와사키병 환자에 있어 NO, TNF- α 의 혈중 농도가 유의하게 높았으며 NO의 농도가 관상동맥이 확장된 환자에서 비 확장군보다 의미있게 높은 것으로 보아 NO가 관상동맥질환에 관여할 것으로 생각한다.

References

- Cuttica RJ. Vasculitis, Kawasaki disease and pseudovasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 1997;9:448-57.
- Suzuki A, Kamiya T, Arakaki Y, Kinoshita Y, Kimura K. Fate of coronary arterial aneurysm in Kawasaki disease. *Am J Cardiol* 1994;74:822-4.
- Kato H, Sugiyama T, Akagi T, Sato N, Hashino K, Maeno Y, et al. Long-term consequences of Kawasaki disease. *Circulation* 1997;94: 1379-85.
- Furukawa S, Matsubara T, Yone K, Hirano Y, Okumura K, Yabuta K. Kawasaki disease differs from anaphylactoid purpura and measles with regard to tumor necrosis factor- α and interleukin 6 in serum. *Eur J Pediatr* 1992;151: 44-7.
- Clancy RM, Amin AR, Abramson SB. The role of nitric oxide in inflammation and immunity. *Arthritis Rheum* 1988; 41:1141-51.
- Kroncke KD, Fehsel K, Kolb-Bachofen V. Inducible nitric oxide synthase in human disease. *Clin Exp Immunol* 1998; 113:147-56.
- Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxy radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:1620-4.
- Geng Y, Hansson GK, Holme E. Interferon- γ and tumor necrosis factor synergize to induce nitric oxide production and inhibit mitochondrial respiration in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 1992;71:2532-8.
- Wang CL, Wu YT, Lee CJ, Liu HC, Huang LT, Yang KD. Decreased nitric oxide production after intravenous immunoglobulin treatment in patients with Kawasaki disease. *J Pediatr* 2002;141:560-5.
- Iizuka T, Oishi K, Sasaki M, Hatanaka Y, Minatogawa Y, Uemura S, et al. Nitric oxide and aneurysm formation in Kawasaki disease. *Acta Paediatr* 1997;86:470-3.
- Tsukahara H, Kikuchi K, Matsuda M, Saito M, Hata I, Tsuchida S, et al. Endogenous nitric oxide production in Kawasaki disease. *Scand J Clin Lab Invest* 1997;57:43-7.
- Ikemoto Y, Teraguchi M, Ono A, Kino M, Yoshimura K, Kobayashi Y. Serial changes of plasma nitrate in the acute phase of Kawasaki disease. *Pediatr Int* 2003;45:421-5.
- Aeberhard EE, Henderson SA, Arabolos NS, Griscavage JM, Castro FE, Barrett CT, et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs inhibit expression of the inducible nitric oxide synthase gene. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 208:1053-9.
- Fujiwara T, Fujiwara H, Nakano H. Pathological features of coronary arteries in children with Kawasaki disease in which coronary arterial aneurysm was absent at autopsy. Quantitative analysis. *Circulation* 1988;78:345-50.
- Johanning JM, Franklin DP, Han DC, Carey DJ, Elmore JR. Inhibition of inducible nitric oxide synthase limits nitric oxide production and experimental aneurysm expansion. *J Vasc Surg* 2001;33:579-86.
- Takahashi M. Kawasaki syndrome. In: Allen HD, Clark EB, editors. *Moss and Adams' Heart Disease in Infants, Children and Adolescents*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins, 2001:1216-25.
- Takahashi H, Nakanishi T, Nishimura M, Tanaka H, Yoshimura M. Measurements of serum levels of nitrate ions in men and women: implications of endothelium-derived relaxing factor in blood pressure regulation and atherosclerosis. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992;20:S214-6.
- Furukawa S, Matsubara T, Jujoh K, Yone K, Sugawara T, Sasai K, et al. Peripheral blood monocyte/macrophages and serum tumor necrosis factor in Kawasaki disease. *Clin Immunol Immunopathol* 1988;48:247-51.
- Lee R, Park SH, Kim YJ, Kim SY, Kim HH, Lee WB. Comparison of cytokine expressions among Kawasaki disease and its symptom-related disease. *Korean J Pediatr* 2004;27:567-73.
- Maurly CP, Salo E, Pelkonen P. Elevated circulating tumor necrosis factor- α in patients with Kawasaki disease. *J Lab Clin Med* 1989;113:651-4.
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol Rev* 1991;43:109-42.
- Yu X, Hirono KI, Ichida F, Uese KI, Rul C, Watanabe S.

- Enhanced iNOS expression in leukocytes and circulating endothelial cells is associated with the progression of coronary artery lesions in acute Kawasaki disease. *Pediatr Res* 2004;55:688-94.
- 23) Fukuda S, Hashimoto N, Naritomi H, Nagata I, Nozaki K, Kondo S, et al. Prevention of rat cerebral aneurysm formation by inhibition of nitric oxide synthase. *Circulation* 2000;101:2532-8.
- 24) Stoclet JC, Muller B, Andriantsitohaina R, Kleschyov A. Overproduction of nitric oxide in pathophysiology of blood vessels. *Biochemistry* 1998;63:826-32.
- 25) Sriskandan S, Evans TJ, Cohen J. Bacterial superantigen-induced human lymphocyte responses are nitric oxide dependent and mediated by IL-12 and IFN-gamma. *J Immunol* 1996;156:2430-5.
- 26) Schussler O, Lantoin F, Devynck MA, Glotz D, David-Dufilho M. Human immunoglobulins inhibit thrombin-induced Ca^{2+} movements and nitric oxide production on endothelial cells. *J Biol Chem* 1996;271:26473-6.
- 27) Osorio JC, Xu X, Vogel T, Ochoa M, Laycock S, Hintze TH. Plasma nitrate accumulation during the development of pacing-induced dilated cardiac myopathy in conscious dogs is due to renal impairment. *Nitric Oxide* 2001;5:7-17.
-