

기관지천식 환자에서 유도객담으로 평가한 기도염증과 기관지 과민성과의 관계

경상대학교 의과대학 내과학교실

정이영, 김현진, 정경원, 강미정, 김휘중, 정호영, 이종덕, 황영실

= Abstract =

Relationship Between Airway Inflammation Assessed by Induced Sputum and Airway Hyperresponsiveness in Asthmatic Patient

Lee Young Chung, M.D., Hyun Jin Kim, M.D., Gyeong Won Jeong, M.D.,
Mi Jeong Kang, M.D, Hwi Jong Kim, M.D., Hyo Young Chung, M.D.,
Jong Deog Lee, M.D., Young Sil Hwang, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Gyeongsang National University, Chinju, Korea

Background : Airway inflammation and hyperresponsiveness are recognized as major characteristics of bronchial asthma. Airway inflammation has usually been assessed by invasive methods, e.g. BAL or bronchial biopsy, but recent studies proposed induced sputum as another reliable and non-invasive tool to investigate airway inflammation in asthmatic patients. Thus, the relationship between airway inflammation assessed by induced sputum and airway hyperresponsiveness was investigated in asthmatic patient.

Method : Airway responsiveness was determined by the concentration that caused a 20% decrease in FEV₁ (PC₂₀) after inhaling incremental concentrations of methacholine. The numbers of inflammatory cells and the concentration of eosinophilic cationic protein(ECP) were assessed in induced sputum obtained by inhalation of hypertonic saline(3%).

Result : We analyzed sputum induced in 15 stable asthmatic patients.

The differential cell count(%) of macrophages, neutrophils, eosinophils and lymphocytes in induced sputum were $39.1 \pm 27.0\%$, $29.6 \pm 21.0\%$, $28.8 \pm 18.8\%$, $1.3 \pm 3.1\%$ respectively. The mean value of baseline FEV₁ (predicted) and ECP were $76.3 \pm 30.3\%$ and $1,101 \pm 833 \mu\text{g} / \text{L}$ respectively. The geometric mean value of PC₂₀

Address for correspondence :

Lee Young Chung, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Gyeongsang National University, Chinju, Korea.
92, Chilam-Dong, Chinju, 660-280, Korea

Phone : 0591-750-8068~8061 Fax : 0591-755-9078

was 0.56 mg/mL. The relationships between the sputum eosinophil and ECP in induced sputum, and between sputum eosinophil and degree of airway responsiveness(PC₂₀) were found to be significantly correlated ($r=0.81$, $p<0.05$ and $r=-0.78$, $p<0.05$, respectively). Sputum neutrophils and PC₂₀ were not correlated to each other ($r=0.11$, $p=0.69$) and a significant negative correlation was found between ECP and baseline FEV₁(predicted)($r=-0.62$, $p<0.05$).

Conclusion : The results of this study suggest that an induced sputum via a inhalation of hypertonic saline is useful to determine a patient's status of airway inflammation, and airway inflammation is one of the major causal factors in the development of bronchial hyperresponsiveness in asthmatic patients. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 1999, 47 : 517-524)

Key words : Airway inflammation, Induced sputum, Bronchial hyperresponsiveness.

서 론

기관지천식은 만성 기도염증(airway inflammation)과 기관지 과민성(airway hyperresponsiveness)을 특징으로 하는 질환이다^{1,2}. 천식의 병태생리에서 기관지 과민성은 기도염증이 주요기전으로 알려져 있으며³ 호산구가 중요한 역할을 하고 호산구 내의 여러 가지 과립단백질이 관여한다.

기도염증의 정도를 측정하는 방법으로 침습적인 기관지내시경을 이용한 조직검사나 기관지 폐포세척액 등이 사용되어 왔으나 최근에 Maestrelli 등⁴과 Fahy 등¹⁰이 고장성 생리식염수(3%)를 이용한 유도객담과 기관지 폐포세척액으로 단백 분석과 함께 염증세포 수를 비교한 결과 두 연구 모두에서 정성적으로 유사하다고 보고하였다. 본 연구에서는 기도염증의 정도를 알기 위한 방법으로 유도객담을 이용하여 염증세포 수와 호산구가 분비하는 세포독성단백인 Eosinophilic cationic protein(ECP)농를 측정하고, 기관지 과민성의 정도를 측정하기 위해 메타콜린 기관지 유발 시험을 시행하여 기도염증과 기관지 과민성간의 상관관계를 관찰하였다.

연구대상 및 방법

1. 대 상

1998년 2월에서 1998년 8월까지 경상대학교병원 호

흡기 내과를 방문한 기관지천식의 기왕력이 있는 17명의 환자(남자 9명, 여자 8명)를 대상으로 하였다. 검사 시작 4주 이내에 호흡기 감염이 있었거나 객담을 배출할 수 없는 환자를 제외 대상으로 하였고, 17명 중 2명(여자)이 객담을 배출하지 못해서 15명이 연구에 참가하였다.

2. 방 법

1) 유도객담

검사 시작 12시간 전에 기관지 확장제 사용을 중단하고 용량계가 부착된 분무기를 이용하여 7분간 정상 호흡을 한 후에 FEV₁과 객담을 채취한다. 만약 FEV₁이 기저치보다 20% 이상 감소하면 생리식염수(3%) 흡입을 중단하였다. 이러한 방법으로 얻은 유도객담으로 염증세포수(호산구, 대식세포, 림프구, 호중구)와 ECP(eosinophilic cationic protein, $\mu\text{g/L}$)를 측정하였다.

2) 유도객담의 처리와 분석

객담의 처리는 2시간 이내에 시행하였으며 먼저 객담을 타액과 분리시킨 후 1cc를 pipet을 사용하여 15ml conical tube에 옮긴다. 4cc의 dithiothreitol 0.1%용액(Sputalysin 10%, Calbiochem Corp., San Diego, California.)과 이 용액의 완충제인 Dulbecco's phosphate buffered saline 4cc를 사용하여 객담의 점액결합(mucus bond)을 분리하고 48

μg nylon gauge로 거른 후 450rpm에서 6분 동안 원심분리 하였다. 상층액은 ECP 측정을 위해 -70℃에 냉장보관하고 침전된 세포들은 Wright 염색을 시행하여 염증세포 수를 측정하였다.

3) ECP 측정

UniCAP 시약(Pharmacia, Sweden)을 사용하여 UniCAP에 공유 결합된 anti-ECP를 환자 혈청중의 ECP와 반응시켜 세척 후 효소가 부착된 anti-ECP를 첨가하여 착체를 형성시킨다. 2시간 동안 반응시킨 다음 유리 또는 결합된 효소활성체를 세척, 분리하고 얻어진 착체를 전개시약으로 처리하고 다시 반응시켜 면역형광분석법을 이용하여 형광도를 측정하였다.

4) PC₂₀ 측정

기관지 과민성을 알기 위한 방법으로 메타콜린 기관지 유발시험을 시행하였는데 Chai 등¹⁵이 권장하는 방법에 따라 용량계(dosimeter)가 부착된 연무기(Devilbis Model 646, Rosenthal Co., U.K.)를 이용하여 먼저 생리식염수를 흡입하여 기저치 FEV₁을 측정하였다. 메타콜린(Sigma Chemical Co. U.S.A.) 농도를 0.07 mg/mL, 0.15 mg/mL, 0.31 mg/mL, 0.62 mg/mL, 1.25 mg/mL, 2.50 mg/mL, 5.0 mg/mL, 10 mg/mL, 25 mg/mL로 증가시키면서 각각의 농도를 흡입시킨 2분 후 FEV₁을 측정하여 25 mg/mL 미만농도에서 기저치 보다 FEV₁이 20% 이상 감소가 있을 때(PC₂₀ FEV₁) 메타콜린 기관지 유발시험 양성반응으로 판정하고 검사를 중단하였다.

5) 결과 분석과 통계 처리

결과는 평균 ± 표준편차로 나타냈고, 유도객담 내의 호산구수와 호중구수, ECP, 기저치 폐기능검사(FEV₁), 메타콜린 기관지 유발시험(Mch PC₂₀)의 관련성은 Pearson's correlation coefficient를 사용하였다. p값이 0.05미만일 때 통계학적으로 유의하다고 정의하였다.

Table 1. Baseline characteristics of the patients included

Demographic Feature	
Sex(male/female)	9/6*
Age(year)	39 ± 12
Duration(months)	62 ± 89
Mechacholine Challenge Test	
FEV ₁ (% predicted)	76 ± 28
PC ₂₀ (mg/mL)	0.65 [†]
Induced Sputum	
Total cells(mm ⁻²)	7 ± 6 × 10 ⁵
macrophages(%)	39 ± 27
lymphocytes(%)	1 ± 3
neutrophils(%)	29 ± 22
eosinophils(%)	28 ± 18
ECP(μg/L)	1,011 ± 833

*Data are expressed in mean ± SD

FEV₁: forced expiratory volume in one second

PC₂₀: provocative concentration of methacholine causing a 20% fall in FEV₁

ECP: eosinophilic cationic protein

[†]: geometric mean value

결 과

본 연구에 참가한 대상환자의 나이는 평균 39세(18-54세)였으며 천식유병기간은 58.8 ± 74.9개월이었다. 기저치 폐기능검사상 FEV₁은 예측치의 76.3 ± 30.3%였고 유도객담 검사상 대식세포 수는 39.1 ± 27.0%였으며 호중구, 호산구, 림프구는 각각 29.6 ± 21.0%, 28.8 ± 18.8%, 1.3 ± 3.1%였다. 유도객담 내의 ECP농도는 평균 1,101 ± 833 μg/L였고 메타콜린 기관지 유발시험으로 구한 기하평균 PC₂₀은 0.56 mg/mL로 나왔다(Table 1). 유도객담 내의 ECP농도는 기저치 폐기능검사 결과(FEV₁)와는 유의한 역상관계(r = -0.62, p < 0.05)를 보였고(Fig. 1), 유도객담 내의 호산구 수와 유의한 양의 상관관계(r = 0.81, p < 0.05)를 보였다(Fig. 2). 유도객담 내 호산구 수와

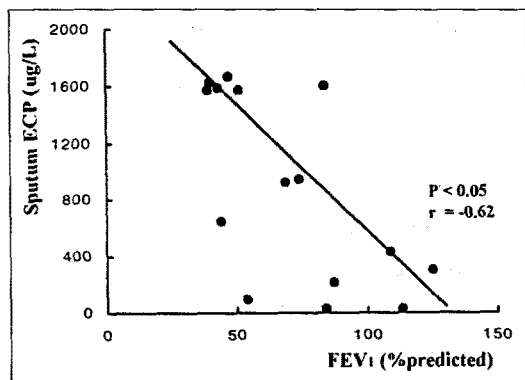


Fig. 1. Relationship between ECP and baseline lung function(FEV₁).

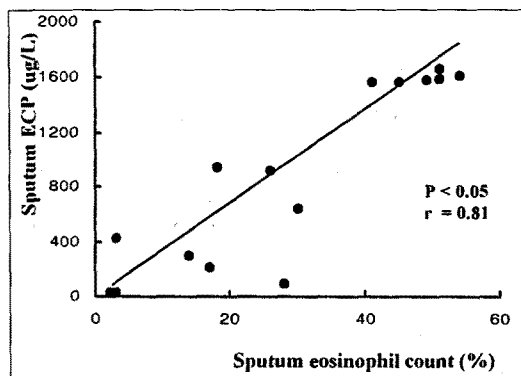


Fig. 2. Relationship between ECP and the percentage of eosinophil in induced sputum. (ECP : eosinophilic cationic protein)

메타콜린 기관지 유발시험으로 구한 PC₂₀간에는 유의한 역상관관계($r = -0.78$, $p < 0.05$)를 보였으나(Fig. 3), 유도객담 내의 호중구 수와 PC₂₀사이에는 유의한 상관관계($r = 0.11$, $p = 0.69$)를 나타내지 않았다(Fig. 4).

고 찰

기관지천식은 가역적인 기도 폐색, 기도염증과 기관지 과민성을 특징으로 하는 질환이다^{1,2}. 기도의 만성 알레르기성 염증은 여러 가지 자극에 따른 조직이나 세포의 복합적인 상호작용을 통해 이루어지며 이러한 과

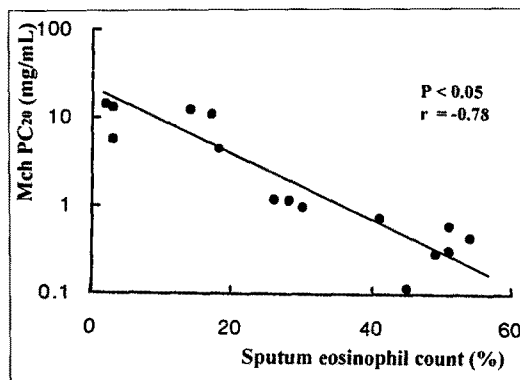


Fig. 3. Relationship between airway responsiveness and the percentage of eosinophil in induced sputum.

(Mch PC₂₀ : Provocative concentration of methacholine causing a 20% fall in FEV₁).

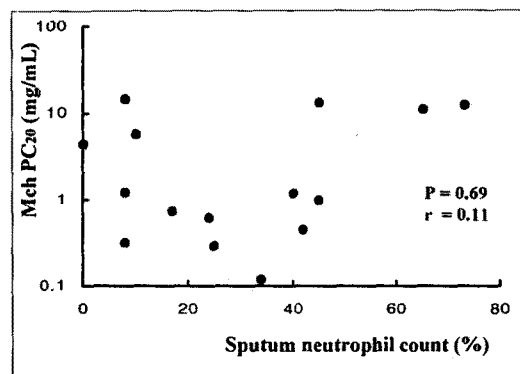


Fig. 4. Relationship between airway responsiveness and the percentage of neutrophil in induced sputum.

(Mch PC₂₀ : Provocative concentration of methacholine causing a 20% fall in FEV₁).

정에서 여러 가지 염증반응 매개물질과 세포들이 관여하고 있다.

기도염증을 알기 위한 방법으로 기관지 내시경을 이용한 기관지 폐포세척액^{17,20}, 기관지 생검^{18,19}, 등이 사용되어 왔으나 최근 여러 연구에서 유도객담이 기관지 생검과 기관지 폐포세척액을 이용한 결과와 비교해 볼 때 유사하다는 연구가 많이 나오고 있다. 예를 들면,

Fahy 등¹⁰과 Maestrelli 등⁹은 천식환자를 대상으로 유도객담과 기관지 폐포세척액을 통한 기도염증 인자를 비교하여 얻은 결과에서 두 방법이 정성적으로 유사하다고 보고하였다. 따라서 본 연구에서는 비침습적이고 안전하며 믿을만한 검사법으로 인정받고 있는 유도객담¹²⁻¹⁴을 이용하여 기도염증의 정도를 측정하였다.

기도염증에 관여하는 염증세포들 중에서 특히 중요한 역할을 하는 호산구는 천식의 후기반응시기에 기도 내로 유입되어 세포막으로부터 platelet activating factor, prostaglandin F_{2α}, leukotriene C₄, leukotriene D₄ 등을 생성하여 이들에 의해 강력하게 기관지를 수축시키고, 혈관투과성을 증가시켜 이차적인 기도수축을 유발시킨다. 또한 이들의 세포 화학주성능에 의해 호산구 자신과 다른 염증세포를 유입시켜 천식반응을 지속시키며, major basic protein, ECP, eosinophil-derived neurotoxin, eosinophil peroxidase 등의 세포독성단백에 의해 기도점막을 손상시켜 점막 박탈 등을 초래하는 역할을 한다. 다른 연구^{8, 22, 25}에서 보고된 유도객담 내의 염증세포 수와 본 연구에서 측정된 염증세포 수를 비교, 분석해 보면 염증세포 수의 절대치는 유사하지만 각각의 염증세포가 차지하는 비율이 조금씩 차이가 난다. 객담으로 염증세포의 수를 측정하는데 있어서 활성화된 호산구는 탈과립이 되기 때문에 때때로 호중구와 구분이 잘 되지 않는 경우가 있고, 유도객담 처리과정에서 발생하는 세포용해(cell lysis)도 세포판독을 어렵게 하는 한 요인으로 작용할 것으로 생각된다. 그래서 이러한 유도객담의 검체판독은 신뢰성을 높이기 위해 임상적인 경험이 많은 알레르기 전문의가 시행하는 것이 보다 더 효율적이라고 생각된다.

ECP는 18.5-22kD, pI 11의 염기 단백질로 분자량이 다른 형태로 존재하며 분자량이 적을수록 강한 염기성을 띤다. 18.3 kD의 ECP-1과 16 kD의 ECP-2가 대표적으로 이들은 활성화 전의 호산구에 존재하며 유리 도중 용해과정을 거치면서 구조적 변화를 갖게 되어 활성화되고 기도점막의 섬모운동을 방해하고 직접 독성을 나타내는 역할을 한다¹⁶. 본 연구에

서는 Ronchi 등²³이 보고한 것과 같이 유도객담 내의 ECP와 기저치 FEV₁간에 의미 있는 상관관계를 보였고, 유도객담 내의 호산구 수와 호산구가 분비하는 세포독성단백인 ECP사이에도 유의한 연관성이 있었다.

기관지 과민성은 천식의 중요한 병태생리로서 여러 가지 비특이적인 자극에 반응하여 기도의 수축이 발생하는 상태로 과민성을 유발시키는 기전으로는 기도염증³과 기도 상피세포의 손상^{4, 5}, 자율신경계 조절의 이상⁷과 기도 평활근의 증식과 비후^{5, 6} 등이 있으며 특히 기도염증이 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 기도염증과 기관지 과민성간의 상관관계에 대한 연구로 Polosa 등²⁶은 유도객담을 이용한 염증세포 수와 기관지 과민성사이에도 유의한 상관관계가 있다고 보고한 반면, Crimi 등¹⁰은 관련이 없다고 보고하였다. 이와 같이 상반된 보고가 있어 본 연구를 시작하였고 본 연구에서는 유도객담 내의 호산구 수와 메타콜린 기관지 유발시험에 의한 Mch PC₂₀를 측정하였고 이들간에 유의한 상관관계가 있었다. Ronchi 등²³은 유도객담 내의 호산구 수보다는 ECP가 더 기관지 과민성과 연관성이 있다고 보고하고 있다. 호중구와 기관지 과민성간의 관계에서 Fabri 등²⁴은 isocyanate를 이용하여 천식을 유발시킨 연구에서 기도 내로의 다량의 호산구 유입과 기관지 과민반응이 관련성이 있다고 보고하였다. 이처럼 일부 직업성 천식의 병인기전에 호중구가 관여하고 있는 것으로 알려져 있으며 본 연구에서는 유도객담내의 호중구 수와 기관지 과민성간에는 통계학적으로 유의한 관련성이 없었다. 기도염증과 기관지 과민성과의 관계에서 이와 같이 서로 상반된 결과를 보이는 이유는 명백하지 않으나 연구에 참가한 환자의 임상적, 기능적인 특징의 다양성과 연구 방법 또는 통계 처리방법과 연관성이 있을 것으로 생각된다.

요 약

배 경 :

기관지천식은 만성적인 기도염증질환으로서 기도염증

으로 인해 기도 과민성과 가역적인 기도폐쇄양상을 나타내는 것으로 알려져 있다.

기도염증의 정도를 측정하는데 있어서 유도객담이 내시경을 이용한 방법보다 비침습적이고 안전하며 반복적으로 시행할 수 있는 믿을 만한 검사 방법으로 인정을 받고 있다. 그래서 본 연구에서는 유도객담을 이용하여 기도염증과 기관지 과민성간의 상관관계를 관찰하였다.

방 법 :

기관지천식의 기왕력이 있는 17명의 환자를 대상으로 검사 시작 4주 이내에 호흡기 감염이 있었거나 객담을 배출할 수 없는 환자는 제외시켜 15명이 연구에 참가하였다.

기도염증의 정도를 측정하기 위해 고장성 생리식염수(3%)로 유도객담을 채취한 후 타액과 분리한 객담 1cc를 pipet을 사용하여 15ml conical tube에 옮긴다. 4cc의 dithiothreitol 0.1% 용액(Sputalysin 10%, Calbiochem Corp., San Diego, California.)과 이 용액의 완충제인 Dulbecco's phosphate buffered saline 4cc를 사용하여 처리한 다음 염중세포수와 ECP를 측정하였다.

기관지 과민성을 알기 위해 메타콜린 기관지 유발시험을 시행하여 PC₂₀을 구하였다.

결 과 :

기저치 폐기능검사상 FEV₁은 예측치의 76.3±30.3%였고 유도객담 검사상 대식세포 수, 호중구, 호산구, 림프구는 각각 39.1±27.0%, 29.6±21.0%, 28.8±18.8%, 1.3±3.1%였다. 유도객담 내의 ECP 농도는 평균 1,101±833 μg/L였고, 기하평균 PC₂₀은 0.56 mg/mL로 나왔다.

유도객담 내의 ECP농도는 유도객담 내의 호산구 수와 유의한 양의 상관관계($r=0.81$, $p<0.05$)가 있었고, 기저치 폐기능검사 결과(FEV₁)와는 유의한 역상관관계($r=-0.62$, $p<0.05$)를 보였다. 유도객담 내 호산구 수와 메타콜린 기관지 유발시험에 의한 PC₂₀간에는 유의한 역상관관계($r=-0.78$, $p<0.05$)를 보였으나, 호중구 수와 PC₂₀사이에는 유의한 상관관

계($r=0.11$, $p=0.69$)를 나타내지 않았다.

결 론 :

유도객담은 천식환자에서 기도염증의 정도를 반영하는 안전하면서도 유용한 검사이며 호산구의 침윤으로 인한 기도염증이 기관지천식 환자에서 기관지 과민성을 유발시키는 주요한 원인인자로서 관여할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Expert Panel Report 2, National Asthma Education Program Expert : Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma, National Heart, Lung, and Blood Institute. *NIH Publication*. No. 97-4051A, May 1997
2. National Heart, Lung, and Blood Institute, National Institutes of Health. International consensus report on diagnosis and treatment of asthma, *Eur Respir J*. 5:601, 1992
3. Brusasco V, Crimi E, Giaiorio P, Lantero S, Rossi GA. Allergen-induced increase in airway responsiveness and inflammation in mild asthma. *J Appl Physiol*. 69:2209-14, 1990
4. Dunnill MS, Massarell GR, Anderson JA. A comparison of the quantitative anatomy of the bronchi in normal subjects, in status asthmatics, in chronic bronchitis and in emphysema. *Thorax*. 24: 176-79, 1969
5. Laitinen LA, Heino M, Laitinen A. Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am Rev Respir Dis*. 131: 599-606, 1985
6. Brewster CE, Howarth PH, Djukanovic R. Myofibroblasts and subepithelial fibrosis in bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 3:507-11, 1990
7. Barnes PJ. State of the art : Neural control of

- human airways in health and disease. *Am Rev Respir Dis.* 134:1289-304, 1986
8. Crimi E, Spanevello A, Neri M, Rossi GA, Brusasco V. Dissociation between airway inflammation and airway hyperresponsiveness in allergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 157:4-9, 1998
 9. Maestrelli P, Saetta M, Stefano AD, Calcagni PG, Turato G, Ruggieri MP, Roggeri A, Mapp CE, Fabbri LM. Comparison of leukocyte counts in sputum, bronchial biopsies, and bronchoalveolar lavage. *Am J Respir Crit Care Med.* 152:1926-31, 1995
 10. Fahy JV, Wong H, Liu J, Boushey HA. Comparison of samples collected by sputum induction and bronchoscopy from asthmatic and healthy subjects. *Am J Respir Crit Care Med.* 152:53-58, 1995
 11. Pizzichini MM, Efthimiadis A, Evans S, Popov TA, Hussack P, Pizzichini E, Dolovich J, Hargreave FE. Spontaneous and induced sputum to measure indices of airway inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 154:866-9, 1996
 12. Gibson PJ, Girgis-Gabardo A, Morris MM, Mattoli S, Kay JM, Dolovich J, Denburg J, Hargreave FE. Cellular characteristics of sputum from patients with asthma and chronic bronchitis. *Thorax.* 44:693-99, 1989
 13. Pin I, Gibson PG, Kolendowicz R, Girgis-Gabardo A, Denburg J, Dolovich J, Hargreave FE. Use of sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *Thorax.* 47:25-29, 1992
 14. Fahy JV, Liu J, Wong H, Boushey HA. Cellular and biochemical analysis of induced sputum from asthmatics and from healthy subjects. *Am Rev Respir Dis.* 147:1126-31, 1994
 15. Chai H, Farr RS, Froelich LA, Mathison DA, Mclean JA, Rosenthal RR, Sheffer AJ, Spector SL, Tawnley RG. Standardization of bronchial inhalation challenge procedures. *J Allergy Clin Immunol.* 56:323-27, 1975
 16. Fukuda T, Gleich GJ : Eosinophil heterogeneity. *J Allergy Clin Immunol.* 83:36-73, 1989
 17. Chan-Yeung M, Leriche J, Maclean L, Lam S. Comparison of cellular and protein changes in bronchial lavage fluid of symptomatic and asymptomatic patients with red cedar asthma on follow-up examination. *Clin Allergy.* 18:359-65, 1988
 18. Djukanovic R, Wilson JW, Britten KM, Wilson SJ, Walls AF, Roche WR, Howarth PH, Holgate ST. Quantitation of mast cells and eosinophils in the bronchial mucosa of symptomatic atopic asthmatics and healthy control subjects using immunohistochemistry. *Am Rev Respir Dis.* 142:863-71, 1990
 19. Ollerenshaw SL, Woolcock AJ. Characteristics of the inflammation in biopsies from large airways of subjects with asthma and subjects with chronic airflow limitation. *Am Rev Respir Dis.* 142:500-506, 1992
 20. Wardlaw AJ, Dunnette S, Gleich GJ. Eosinophils and mast cells in bronchoalveolar lavage in subjects with mild asthma. *Am Rev Respir Dis.* 137:62-69, 1988
 21. Pizzichini E, Pizzichini MM, Efthimiadis A. Indices of airway inflammation in induced sputum; reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med.* 154:308-17, 1996
 22. Polosa R, Renaud L, Cacciola R, Prosperini G, Crimi N, Djukanovic R. Sputum eosinophilia is

- more closely associated with airway responsiveness to bradykinin than methacholine in asthma. *Eur Respir J.* 12:551-56, 1998
23. Ronchi MC, Piragino C, Rosi E, Stendardi L, Tanini A, Galli G, Duranti R, Scano G. Do sputum eosinophils and ECP relate to the severity of asthma? *Eur Respir J.* 10:1809-13, 1997
24. Fabbri LM, Boschetto P, Zocca E. Bronchoalveolar neutrophilia during late asthmatic reactions induced by toluene diisocyanate. *Am Rev Respir Dis.* 136:36-42, 1987
25. 강석민, 김철우, 박종원, 홍천수. 기관지천식 환자에서 고장성 생리식염수 흡입을 이용한 유도객담 검사. *대한내과 학회지.* 52(6):797-804, 1997