

## 백서 기관지 천식 모델에서 난황에 의한 기도염증과 기도반응

울지외과대학 내과학교실\*, 중앙대학교 의과대학 내과학교실

나문준\*, 이병훈, 안창혁, 김재열, 박인원, 최병휘, 허성호

= Abstract =

### Airway Inflammation and Responses in the Bronchial Asthma Model in Sprague-Dawley Rats Sensitized by Ovalbumin

Moon Jun Na, M.D.\*, Byoung Hoon Lee, M.D., Chang Hyeok An, M.D.,  
Jae Yeol Kim, M.D., In Won Park, M.D., Byung Whui Choi, M.D., Sung Ho Hue, M.D.

*Department of Internal Medicine, Eul-Ji Medical College, Taejon, Korea\**

*Department of Internal Medicine, Chung-Ang University, College of Medicine, Seoul, Korea*

**Background :** To evaluate airway responses and inflammation to antigen in Sprague-Dawley rat asthma model, we examined airway responses, serial histologic changes of the lung, and the relationship between airway responses and airway inflammation after antigen airway challenge.

**Methods :** Sprague-Dawley rats were sensitized with subcutaneous injection of 10 µg ovalbumin(OA). Antigen airway challenges were done 14~16 days after sensitization and the sensitized rats were sacrificed 1h (A<sub>E</sub>), 6~8h(A<sub>L</sub>) and 1day(A<sub>D</sub>) after airway challenge, to examine the histologic changes of the lung. Airway responses were measured by body plethysmograph and recorded by enhanced pause(Penh) as an index of airway obstruction 6~8h after antigen challenges. Nonsensitized controls(10 rats) were also challenged with antigen and sacrificed 1 day later. Histopathologic examination of two trachea, large bronchi, small bronchi, and vessels was performed to evaluate the severity of inflammation and eosinophilic infiltration with H&E stain.

**Results :** In 17 of 20 rats(85%) in both groups, we observed airway responses. Among them, an early response(ER) in 15 rats(75%), an dual response in 5(25%), and an late response(LR) only in 2 rats(10%) displayed. There were no significant differences in the severity of inflammation among the trachea, large bron-

---

Address for correspondence :

Moon Jun Na, M.D.

Department of Internal Medicine, Eul-Ji Medical College Hospital

24-14, Mok-Dong, Chung-Gu, Taejon

Phone : 042-259-1203 Fax : 042-256-0620 E-mail : mjna@emc.eulji.ac.kr

chi, small bronchi and vessels in all groups after antigen challenge( $p>0.05$ ) and between early and late responders. The significant eosinophil infiltration was observed in 5 rats(50%) of AL( $p<0.05$ ) compared with in AE and controls. Also, eosinophil infiltration was observed in higher trend in LR(57.1%) compared to ER(40%)( $p>0.05$ ).

**Conclusion :** Sprague-Dawley rats sensitized with subcutaneous injection of OA showed a significant airway responses to antigen challenge. But antigen challenges caused a little eosinophil infiltration and no significant airway inflammation. Asthma model of Sprague-Dawley rats could be useful for antigen-induced airway responses, but this model has a limitation for the study of human asthma because of no significant pathologic change. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2000, 48 : 33-44)

**Key words :** Bronchial asthma, Sprague-Dawley rat, Ovalbumin, Airway inflammation, Airway response.

## 서 론

기관지 천식은 기도의 수축이 자연히 혹은 약물치료 후 호전되고, 기도의 염증을 특징으로 하며, 여러 가지 자극에 대한 기도의 반응성이 증가되는 것을 특징으로 하는 만성 염증성 기도질환이다. 천식의 병리학적 소견으로는 특징적인 만성 호산구성 기도염과 기관지염 양상으로 나타나고, 천식의 초기부터 기도 점막의 변화가 일어나서 기도 표면 상피의 탈락, 조직내 호산구 침윤, 망상 기저막의 비후 소견을 보일 수 있다<sup>1-4</sup>. 염증반응에 관여하는 가장 중요한 세포는 호산구로서 알레르기 질환의 말초혈액과 표적장기 내에서 증가되는 것으로 알려져 있으며<sup>5,6</sup>, 혈액과 기도 내 호산구의 증가는 기관지 천식의 중증도와 밀접한 관련이 있다<sup>7,8</sup>.

이전까지 천식 동물실험에서 사용되던 방법은 식도 내에 고무풍선을 넣거나 흉막강 내에 도자를 넣고 이를 이용해서 흉막강 내압, 호흡량, 공기의 유속을 측정함으로써 폐저항 (pulmonary resistance,  $R_L$ )과 동적 폐탄성 (dynamic compliance,  $C_{dyn}$ )을 구하는 방법이었다<sup>9</sup>. 그러나 체용적 변동기록법(body plethysmograph)을 이용한 기도 저항의 측정방법은 정교한 기술을 특별히 요하지 않고, 직접 폐에 분무되는 자극제에 대한 기도저항의 측정이 가능하며, 한번 측정 후 실험동물을 희생시키지 않고 기도 저항을 반복

적으로 측정할 수 있다는 이점이 있어<sup>10</sup> 최근의 천식 동물모델 연구에서 많이 사용되고 있다.

본 저자들은 Sprague-Dawley쥐에서 난황으로 감작시키고 2주 후에 난황을 흡입하여 국내에서 개발된 체용적 변동기록기(All Medicus, Korea)를 이용하여 기도 수축 반응의 발생을 확인하고, 기도 수축반응이 일어난 기도에서 항원에 의한 염증이 발현되는가를 확인하고자 하였다. 또한 백서의 기관지 천식 모델에서 항원 감작후 항원에 의한 기도내의 염증과 호산구 침윤이 사람에서와 동일하게 동반되는가를 증명하고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상동물 및 난황에 의한 감작

실험에 사용되는 동물은 체중 250~350g의 Sprague-Dawley rats(이하 백서라고 함) 30마리에 1.0mg 난황(chicken EA, grade V, Sigma Chemical Co. St. Louis, MO)을 1.0ml의 수산화 알루미늄(alum hydroxide) 용액에 침전시킨 용액 0.1ml와 1ml의 bordetella pertussis vaccine( $2 \times 10^9$  organism)을 섞어서 피하로 주입하여 감작 시켰다<sup>11</sup>. 항원 유발에 의한 폐조직의 변화를 관찰하기 위하여 감작후 14~16일에 항원 유발후 기도의 반응을 측정하면서

각 10마리씩 1시간(A<sub>E</sub>), 6시간(A<sub>L</sub>), 24시간(A<sub>D</sub>) 후에 사망시킨 3군으로 나누었다. 대조군(C) 10마리는 감작군과 동일한 방법으로 항원을 흡입하고 1일 후에 사망 시켰다.

## 2. 동물용 체용적 변동기록기(Body Plethysmograph)를 이용한 기도 반응의 측정

기도의 반응은 동물용 일실 체용적 변동기록기(One-Chamber Body Plethysmograph; All Medicus, Seoul, Korea)를 사용하여 비침습적인 편류류(bias flow)로 환기하는 체용적 기록법과 비침습적인 폐기능 분석법을 이용하여 평가하였다. 기도의 폐색이 있을 때 최대호기량에 이르는 시간이 짧아지고 호기시 호흡 파형의 굴곡성이 적어지는 특징적인 변화가 나타나는데, 이 변화는 기도 폐색의 정도를 나타내는 enhanced pause라는 지표로 표시된다. Enhanced pause는 한 주기의 호흡을 최대호기유량(Peak Expiratory Flow, PEF)/최대흡기유량(Peak Inspiratory Flow, PIF)의 비와 전반기 호기량(Former expiratory volume)에 비례하는 무차원의 수로 표시되며, 기도저항과 상관 관계가 좋은 것으로 알려져 있다.

Enhanced pause(Penh)를 구하는 공식은 다음과 같다.

$$\text{Penh} = \left[ \frac{T_e}{RT} - 1 \right] \times \frac{\text{PEF}}{\text{PIF}}$$

T<sub>i</sub> : 흡기시간

T<sub>e</sub> : 호기시간

PIF : 최대 흡기 순간유량

PEF : 최대 호기 순간유량

RT : Relaxation time

## 3. 항원에 의한 기도 반응의 측정

난황에 감작된 백서에게 14~16일 후에 항원 기도 유발시험을 시행하였다. 백서의 긴장 등에 의한 기도

의 조율(tone)의 변화를 줄이고 움직임에 의한 측정치의 변동을 줄이기 위하여 동물용 진정제인 Xylizine 7mg/kg을 복강 내로 주입하였다. 체용적 변동기록기의 측정실에 넣은 후 30분 정도 호흡을 안정시키고, 호흡이 안정되면 생리식염수를 Pariboy-inhaler를 이용하여 2분간 흡입한 후 5분, 10분, 15분에 Penh를 측정하여 가장 높은 Penh를 기저치로 사용하였다. 난황(5% wt/vol in saline)을 분무하여 2분 동안 흡입시키고, 처음 1시간 동안은 10분 간격으로, 이후는 30분 간격으로 6~8시간까지 폐기능을 측정하였다. 대조군도 동일한 방법으로 흡입한 후 폐기능을 측정하였다. 백서가 장시간의 측정 중에 움직임이 증가하면 Xylizine을 복강 내로 주입하였다.

기도의 반응은 동물용 일실 체용적 변동기록기(one-chamber body plethysmograph; All medicus, Seoul, Korea)를 이용하여 Penh 등의 폐기능의 지표를 측정하여 감작여부와 기관지 천식의 발생을 측정, 확인하였다. 의미 있는 기관지 천식의 발생 및 수축은 Penh가 연속 2회 이상 기저치의 150% 이상이면서 그 중 1회는 200% 이상 증가하였을 때 양성으로 판정하였다. 항원흡입후 1시간 내에 나타나는 양성반응을 조기반응, 3~8시간 이후에 나타나는 양성반응을 후기반응으로 분류하였다.

## 4. 병리표본 제작 및 관찰

기도 유발시험을 1시간, 6시간, 24시간에 관찰한 백서를 pentothal 40mg/kg로 복강 마취한 후 백서를 사망시켜 폐와 기관지를 절제하여 10% 포르말린으로 고정시키고 파라핀에 심은 후 4-5 μm 두께의 절편으로 제작하여 Hematoxylin-Eosin으로 염색하였다. 염증과 호산구 침윤의 정도를 기관, 대기관지, 소기관지 및 혈관 주위에서 관찰하였다. 염증의 정도는 염증세포 침윤의 정도에 따라 등급 0에서부터 등급 4까지 5등급으로 나누었다. 기도 및 혈관주위를 4등분하여 4분의 1미만의 침윤은 등급 1, 4분의 1이상에서 2분의 1미만을 등급 2, 2분의 1이상에서 4분의 3미

**Table 1.** Airway responses to antigen inhalation in each group

Group	Airway	Group	Airway	Group	Airway
AE	Responses	AL	Responses	AD	Responses
A <sub>E</sub> 1	E	A <sub>L</sub> 1	D	A <sub>D</sub> 1	E
A <sub>E</sub> 2	E	A <sub>L</sub> 2	D	A <sub>D</sub> 2	E
A <sub>E</sub> 3	E	A <sub>L</sub> 3	E	A <sub>D</sub> 3	N
A <sub>E</sub> 4	E	A <sub>L</sub> 4	N	A <sub>D</sub> 4	D
A <sub>E</sub> 5	E	A <sub>L</sub> 5*	L	A <sub>D</sub> 5	E
A <sub>E</sub> 6	E	A <sub>L</sub> 6	E	A <sub>D</sub> 6	D
A <sub>E</sub> 7	N	A <sub>L</sub> 7	E	A <sub>D</sub> 7	L
A <sub>E</sub> 8	N	A <sub>L</sub> 8	E	A <sub>D</sub> 8	E
A <sub>E</sub> 9	N	A <sub>L</sub> 9	D	A <sub>D</sub> 9	N
A <sub>E</sub> 10	E	A <sub>L</sub> 10	E	A <sub>D</sub> 10	E

E : Early response, L : Late response, D : Dual response, N : Negative response

\* : died 3hr after antigen challenge

만을 등급 3, 4분의 3이상의 침윤이 있으면 등급 4로 하였다. 호산구의 침윤은 염증부위에 호산구가 없으면 등급 0, 400배 고배율에서 10개미만을 등급 1, 10개 이상에서 20개미만을 등급 2, 20개 이상을 등급 3으로 하여 4등급으로 나누었다.

### 5. 통계 처리

통계 처리는 SPSS for Windows (Release 8.0)를 이용하여 independent-samples T-test, paired-samples T-test, chi-square test로 비교 분석하였다. p-value는 0.05 미만일 경우에 의미 있다고 판정하였다.

## 결 과

### 1. 난황 감작후 항원에 의한 기도반응

난황으로 감작시키고 항원 유발시험 후 1시간동안 조기반응을 관찰한 백서 30마리 중 22마리(73.3%)에서 조기 수축반응을 관찰하였다. 이들 중 20마리(A<sub>L</sub>

군과 A<sub>D</sub>군)는 조기반응과 후기반응의 빈도를 알아보기 위하여 항원 유발시험후 6~8시간 이상 관찰하였는데, 총 17마리(85%)에서 항원에 의한 기도의 수축반응을 보였다. 조기반응만을 보인 조기반응군(ER)은 10마리(50%)였으며, 조기반응과는 관계없이 후기 반응을 보인 후기반응군(L<sub>R</sub>)은 7마리(35%)였다. 후기반응군중 2마리(10%)는 후기반응만을 보였는데, 이중 1마리(A<sub>L</sub>5)는 3시간 후에 사망하였고, 5마리(25%)는 이중반응을 보였다(Table 1).

### 2. 항원유발 후 시간에 따른 염증반응의 증중도

항원 유발 후 염증반응은 기관, 대기관지, 소기관지, 혈관주위 등에서 1시간군(A<sub>E</sub>), 6시간군(A<sub>L</sub>), 1일군(A<sub>D</sub>)과 대조군(C) 사이에는 통계적으로 유의한 차이는 없었다(p>0.05, Table 2, 3, 4, 5).

### 3. 항원유발시험 후 시간에 따른 호산구의 침윤

항원 유발시험후 호산구의 침윤은 1시간군(A<sub>E</sub>)과 대

**Table 2.** The severity of inflammation and eosinophil infiltration at 30min after antigen airway challenge in sensitized rats(AE group).

No	Trachea	Large Bronchi	Small Bronchi	Vessel	Eosinophil
A <sub>E</sub> 1	+	++	+	+	-
A <sub>E</sub> 2	++	-	-	-	-
A <sub>E</sub> 3	+	+	+	+	-
A <sub>E</sub> 4	+	++	++	++	-
A <sub>E</sub> 5	+	+++	+	+	-
A <sub>E</sub> 6	+	-	-	-	-
A <sub>E</sub> 7	+	-	-	-	-
A <sub>E</sub> 8	++	+++	+	+	-
A <sub>E</sub> 9	+++	-	-	-	-
A <sub>E</sub> 10	++	+	+	++	-
mean	1.5±0.7	1.2±1.2	0.7±0.7	0.8±0.8	0

**Table 3.** The severity of inflammation and eosinophil infiltration at 6hr after antigen airway challenge in sensitized rats(AL group).

No	Trachea	Large Bronchi	Small Bronchi	Vessel	Eosinophil
A <sub>L</sub> 1	++	-	-	-	++
A <sub>L</sub> 2	-	+	-	+	-
A <sub>L</sub> 3	+	+++	+	+	+
A <sub>L</sub> 4	+	++	-	++	-
A <sub>L</sub> 5	+++	-	-	-	-
A <sub>L</sub> 6	-	-	-	-	-
A <sub>L</sub> 7	+++	-	-	-	-
A <sub>L</sub> 8	+++	+	+	+	++
A <sub>L</sub> 9	+	++	+	++	++
A <sub>L</sub> 10	+	+++	++	+	+++
mean	1.5±1.2	1.2±1.2	0.5±0.7	0.8±0.8	1.0±1.2

조군(C)에서는 호산구의 침윤을 전혀 관찰할 수 없었으나, 6시간군(A<sub>L</sub>), 1일군(A<sub>D</sub>)에서는 각각 1.0±1.2, 0.4±0.7 등급으로, 6시간군(A<sub>L</sub>)에서는 5마리(50%), 1일군(A<sub>D</sub>)에서는 3마리(30%)에서 관찰할 수 있었다. 6시간군(A<sub>L</sub>)에서는 대조군(C)에 비해서 유의한 호산구의 침윤을 관찰할 수 있었다(p<

0.05, Table 2, 3, 4, 5).

#### 4. 항원에 의한 반응군에 따른 염증반응 및 호산구의 침윤

항원에 의한 기도수축의 반응은 조기반응과 후기반응

**Table 4.** The severity of inflammation and eosinophil infiltration at 1day after antigen airway challenge in sensitized rats(AD group).

No	Trachea	Large Bronchi	Small Bronchi	Vessel	Eosinophil
A <sub>D</sub> 1	+	+	-	++	-
A <sub>D</sub> 2	-	+	+	+	-
A <sub>D</sub> 3	-	-	+	+	-
A <sub>D</sub> 4	+	++	++	++	-
A <sub>D</sub> 5	+	+	+	+	-
A <sub>D</sub> 6	++++	+++	+	+	+
A <sub>D</sub> 7	++	+++	++	++	++
A <sub>D</sub> 8	+	+++	++	++++	-
A <sub>D</sub> 9	++	++	-	+	-
A <sub>D</sub> 10	+	+	+	+	+
mean	1.3±1.2	1.7±1.1	1.1±0.7	1.6±1.0	0.4±0.7

**Table 5.** The severity of inflammation and eosinophil infiltration at 30min after antigen airway challenge in nonsensitized rats(C group)

No	Trachea	Large Bronchi	Small Bronchi	Vessel	Eosinophil
C1	+++	+	-	+	-
C2	++	++	-	+	-
C3	+	+	+	+	-
C4	+	+	+	++	-
C5	+	+++	+	+	-
C6	++	++	+	-	-
C7	-	-	+	+	-
C8	++	+	+	+	-
C9	++	+	+	+	-
C10	+	+	-	+	-
mean	1.5±0.8	1.3±0.8	0.7±0.5	1.0±0.5	0

을 관찰할 수 있었던 6시간군(A<sub>E</sub>)과 1일군(A<sub>D</sub>)에서 조기반응군(조기반응만을 보인 백서, ER; n=10)과 후기반응군(이중반응과 후기반응만을 보인 백서, LR; n=7)으로 나누어 염증과 호산구 침윤의 정도를 비교, 관찰하였다. 조기반응군은 기관에서 1.2±1.0 이었으며, 후기반응군은 1.9±1.3으로 조기반응군에 비해 높은 경향을 보였다. 대기관지와 소기관

지에서는 조기반응군에서 1.4±1.2, 0.9±0.7 이었으며, 후기반응군에서 1.6±1.2, 0.9±0.9로 차이가 없었다. 혈관주위의 염증 역시 조기반응군에서 1.2±1.1, 후기반응군에서 1.1±0.9로 차이가 없었다. 호산구의 침윤은 조기반응군에는 10마리 중 4마리(40%)에서 0.7±1.1 등급이었으며, 후기반응군은 7마리 중 4마리(57.1%)에서 1.0±1.0으로 높았으나 통

**Table 6.** The severity of inflammation and eosinophil infiltration in early responders to antigen airway challenge in sensitized rats.

No	Trachea	Large Bronchi	Small Bronchi	Vessel	Eosinophil
A <sub>L</sub> 3	+	+++	+	+	+
A <sub>L</sub> 6	–	–	–	–	–
A <sub>L</sub> 7	+++	–	–	–	–
A <sub>L</sub> 8	+++	+	+	+	++
A <sub>L</sub> 10	+	+++	++	+	+++
A <sub>D</sub> 1	+	+	–	++	–
A <sub>D</sub> 2	–	+	+	+	–
A <sub>D</sub> 5	+	+	+	+	–
A <sub>D</sub> 8	+	+++	++	++++	–
A <sub>D</sub> 10	+	+	+	+	+
mean	1.2±1.0	1.4±1.2	0.9±0.7	1.2±1.1	0.7±1.1

**Table 7.** The severity of inflammation and eosinophil infiltration in late responders to antigen airway challenge in sensitized rats.

No	Trachea	Large Bronchi	Small Bronchi	Vessel	Eosinophil
AL1	++	–	–	–	++
AL2	–	+	–	+	–
AL5	+++	–	–	–	–
AL9	+	++	+	++	++
AD4	+	++	++	++	–
AD6	++++	+++	+	+	+
AD7	++	+++	++	++	++
mean	1.9±1.3	1.6±1.2	0.9±0.9	1.1±0.9	1.0±1.0

계적으로 유의하지는 않았다( $p>0.05$ , Table 6, 7).

## 고 찰

난알부민으로 감작시키고 항원 유발시험후 1시간동안 관찰한 백서 30마리중 22마리(73.3%)에서 조기 수축반응을 보였다. 조기 및 후기반응의 빈도를 알아보기 위해 항원 유발시험후 6~8시간 이상 관찰한 20마리 중 17마리(85%)에서 항원으로 유발된 기도 수축반응이 비슷한 빈도로 나타났다. 이중 조기반응만을

보인 조기반응군(Early Responder, ER)은 10마리(50%), 후기반응군(Late Responder, LR)은 7마리(35%)이었으며, 이중에서 5마리(25%)는 이중반응(Dual Response, DR)을 보였고, 2마리(10%)는 후기반응만을 보였다. 또한 후기반응군(LR)중 1마리는 3시간 후 사망하였다. 이 결과는 근친 BN(Brown-Norway)쥐 천식 모델에서 조기반응이 10/15(67%), 후기반응이 10/13(77%)에서 발생하였고, 후기반응을 보인 쥐 중에서 3마리는 조기반응 없이 나타났다고 보고한 Eidelman 등<sup>12</sup>의 기관지 천식

발생 빈도와 유사하였다.

이전까지 천식 동물실험에서 기도 반응을 측정하던 방법은 식도 내에 고무풍선을 넣거나 흉막강 내에 도자를 넣고 이를 이용해서 흉막강 내압, 호흡량, 공기의 유속을 측정함으로써 폐저항(pulmonary resistance,  $R_L$ )과 동적 폐탄성(dynamic compliance,  $C_{dyn}$ )을 구하는 방법이었다<sup>9</sup>. 그러나 최근에 많이 사용하는 체용적 변동기록법(body plethysmograph)을 이용한 기도 저항의 측정방법은 정교한 기술을 특별히 요하지 않고, 직접 폐에 분무되는 자극제에 대한 기도저항의 측정이 가능하다. 또한 한번 측정후 실험동물을 희생시키지 않고 기도 저항을 반복적으로 측정할 수 있다는 이점이 있어<sup>10</sup> 최근의 천식 동물모델 연구에서 많이 사용되고 있다. 본 연구에서 사용한 체용적 변동기록기는 국내에서 처음으로 개발한 것으로서 내외부의 압력 차를 측정하여 망을 통과하는 순간의 유량을 구할 수 있다. 기존의 체용적 변동기록법은 실험동물의 목에 칼을 채운 이실(double-chamber) 체용적 변동기록기를 사용한 것이고, 이것을 사용하여 측정하는 기도 저항의 변화는 본 연구에서 사용한 일실 체용적 변동기록기로 측정할 수 있는  $Penh$ 의 변화와 거의 동일하다. 오히려 실험동물을 다루거나 기도 수축에 대한 칼의 영향을 제거할 수 있으므로 더욱 좋은 방법이라고 보고된 바 있다<sup>13</sup>.

최근의 체용적 변동기록기 실험에서 기관지 수축 시에 호흡신호의 주 변화가 호기의 초반기에 장치 내 압력신호의 파형 변화로 나타난다고 보고한 바 있다<sup>13</sup>. Hamelmann 등<sup>10</sup>은 이에 근거하여 흡기 및 호기에 발생하는 장치 내 압력신호(peak inspiratory pressure, PIP와 peak expiratory pressure, PEP)의 변화와 호기의 초기 및 후기의 시간 차이(pause)를 비교한 값, 즉 호흡주기의 변화와 호기시간의 연장으로 측정할 수 있는 enhanced pause( $Penh$ )의 변화를 비교한 실험에서, 측정된  $Penh$ 의 변화는 methacholine에 대한 흉막강 내압이나 폐저항의 변화와 관련이 깊고, 이러한  $Penh$  변화의 주된 원인은 기도의 수축 때문이라고 하였다. 또한  $Penh$ 로 측정된 기

도 과민성 증가의 측정은 혈청 내 IgE의 증가, 호산구의 폐침윤, 기도 저항의 상승과 연관성이 있고, 이를 근거로 기도 과민성과 호산구성 염증과의 관련성을 증명한 바 있어 향후에 폐저항과 기도 과민성의 평가에 있어서 유용한 지표로 생각된다.

기도의 항원 특이적 과민성은 항원흡입후 폐기능의 저하가 즉각적으로 나타나 1시간 내에 정상화되는 조기반응과 4~6시간에 발생하여 24~48시간 후에 정상화되는 후기반응으로 나뉜다<sup>15</sup>. 조기반응 및 후기반응은 동일한 항원에 의해 발생하지만 반복적인 항원 노출로 후기반응은 계속 지속되어 두 반응의 생리적 발현을 결정하는 요소가 서로 다를 것으로 판단된다<sup>16</sup>. 또한 조기반응 없이도 후기반응이 나타날 수도 있다<sup>12,17</sup>. 본 연구에서도 후기반응을 보인 7마리중 2마리에서는 조기반응이 나타나지 않았으며 현재까지 이에 대한 확실한 기전은 잘 알려져 있지 않다.

조기반응의 중요한 매개체로는  $H_1$  수용체에 대한 histamine의 작용이 가장 중요할 것으로 판단되며<sup>18,19</sup>, 본 연구의 결과 SD쥐에서 조기반응의 발생률이 73%이었던 사실로 볼 때 비반세포의 연구에 SD쥐가 유용하게 사용될 수 있으리라 생각된다. 후기반응의 발생에 있어서 림프구의 역할은 잘 알려져 있지 않으나 림프구는 호산구 침윤과 같은 기도의 염증과 호흡생리의 변화를 총지휘하는 역할을 한다고 알려져 있다<sup>20,21</sup>.

본 연구 결과, 기도 내 염증반응은 대조군과 조기 및 후기반응군 모두에서 발생하였으며, 정도의 차이는 없었다. 또한 기도의 크기에 따른 차이도 없었고, 혈관 주위와 같은 특정 부위에 따른 차이도 없었다. 기도 과민성의 주 발생부위에 대해서는 많은 논란이 있다. 치명적 천식환자에서 호산구의 침윤이 대기도 및 소기도에 고르게 분포됨이 증명된 바도 있고<sup>22</sup>, 실제로 아토피성 천식 환자에서 IL-2 수용체( $CD_{25}$ ) 양성세포와 호산구 침윤, 호산구 활성화에 따른 ECP 분비 지표인  $EG_2$  양성세포 등의 분포가 중심 및 말초 기관지에 모두 분포한다는 보고<sup>23</sup> 등으로 볼 때 본 연구의 결과와 유사하여 특정 부위에 국한되지 않고 모든 기관



지에서 염증이 일어날 것으로 생각되고 있다.

호산구의 침윤 정도는 난황으로 감각시키지 않은 대조군(C)과 1시간군(A<sub>F</sub>)에서는 전혀 관찰할 수 없었다. 6시간군(A<sub>L</sub>)에서는 50%(5/10)에서 1.0±1.2 등급의 침윤이 관찰되었고, 1일군(A<sub>D</sub>)에서는 30%(3/10)에서 0.4±0.7등급의 침윤이 관찰되어 난황 유발후 6시간군(A<sub>L</sub>)은 대조군(C)에 비해서 유의한 호산구 침윤을 관찰할 수 있었다. 또한 항원에 의한 기도 수축반응에서 조기반응과 후기반응을 관찰할 수 있었던 17마리의 백서를 조기반응군(조기반응만을 보인 군, ER : n=10)과 후기반응군(후기반응만을 보인 군과 이중반응을 보인 군, LR : n=7)으로 나누어 염증과 호산구의 침윤의 정도를 비교한 결과, 기도의 각 다른 부위와 혈관주위의 침윤 정도는 큰 차이가 없었다. 그러나 호산구 침윤은 조기반응군(ER)의 경우 40%(4/10)에서 0.7±1.1등급, 후기반응군(LR)의 경우 57.1%(4/7)에서 1.0±1.0등급으로 관찰되어 통계적으로 유의한 차이는 없었으나 후기반응군에서 호산구 침윤이 약간 많은 것으로 나타났다. 이 사실로 볼 때 SD쥐에서는 항원에 의해서 유발되는 기도의 후기반응에 있어서 어느 정도 호산구가 관여하리라 생각된다. 그렇지만 염증 부위의 차이나 염증의 정도 및 호산구 침윤이 조기반응 및 후기반응에 따른 통계적인 연관성은 없어 SD쥐에서 후기반응에 대한 염증반응의 관련성은 확실하지 않았다. 이것은 SD쥐가 다른 쥐에 비해서 항원 유발에 대한 후기반응을 흔히 보이지 않기 때문이라고 생각된다<sup>24</sup>.

기관지 천식의 병리 소견은 치명적인 천식환자의 경우 상피 탈락과 함께 호산구 침윤이 뚜렷이 나타나고<sup>25</sup>, 급성 중증 천식 발작 시에도 호산구 수와 호산구 활성화 및 ECP 분비 지표인 EG<sub>2</sub> 양성세포가 증가되어 호산구의 역할이 중요하다<sup>26</sup>. 그러나 발작의 정도에 따른 차이가 있어 갑작스러운 발작으로 사망한 경우에는 중성구가, 천천히 발생하여 사망한 경우에는 호산구가 주로 발견되어 발생 시간에 따라 침윤 세포의 차이가 있을 수 있다<sup>27</sup>. 처음 경증 아토피성 천식으로 진단된 환자의 조직검사상 기도 표면 상피의 탈락, 망상층의

비후, 활성화된 T림프구 및 호산구와 같은 염증세포의 침윤이 발견되며, 이러한 상당한 염증조건이 호흡에 대한 기도의 수축반응의 변화를 초래한다<sup>2,4,28</sup>. 따라서 천식 환자에서 초기부터 조직의 파괴가 생기며 급성 및 만성 염증 변화를 보이므로 이는 경증의 천식 때부터 항염증제를 써야만 하는 근거가 된다<sup>29</sup>.

이상에서 SD쥐의 기관지천식 모델에서 항원에 대한 기도의 염증 반응이나 호산구의 침윤을 뚜렷이 관찰할 수는 없었지만, 기도 수축반응의 발생을 확인할 수 있었다. 또한 동물용 일실 비침습적 편이류(bias flow) 환기식 체용적 변동기록기는 쥐에서 알레르기성 기도 폐색의 정도를 측정하는데 유용하며, 난알부민으로 감각한 SD쥐는 항원에 의한 기도 반응의 연구에는 좋은 기관지 천식 모델로 생각한다. 그러나 기도 염증과 호산구 침윤 등과 같은 병리학적 연구나 후기반응의 연구에 대해서는 앞으로 더 많은 연구 경험의 축적이 필요할 것으로 생각된다.

## 요 약

### 연구배경 :

기관지천식은 기도의 과민성을 특징을 지닌 기도의 염증성 질환이며, 기관지천식에서의 기도 염증의 특성에 관한 연구는 기관지천식의 병인과 병태생리를 이해하는데 필수적이다. 본 연구의 목적은 백서에서 국내에서 개발된 일실 체용적 변동기록기를 이용하여 항원에 의한 반응을 관찰하여 기관지천식의 모델을 확립하고, 사람 기관지 천식과의 유사성을 알아보고자 백서의 기관지천식 모델에서 기도의 염증을 관찰하여 항원에 의한 기도의 반응 양상에 따른 차이를 비교하고자 하였다.

### 대상 및 방법 :

백서 30마리에 0.1mg의 난황을 피하로 주입하여 감각시키고, 감각후 14-16일 항원유발시험을 시행하여 각 10마리씩 3군으로 나누어 기도의 반응을 관찰하면서 1시간, 6-8시간, 24시간 후에 사망시켜 폐조직의 변화를 관찰하였다. 대조군 10마리는 감각군과 동일

한 방법으로 항원을 흡입하고 1일 후에 사망시켰다. 기도 반응은 동물용 일실 체용적 변동기록기를 사용하여 enhanced pause(Penh)를 지표로 측정하였다. 병리소견은 백서를 사망시켜 폐와 기관지를 절제한 후 Hematoxylin Eosin으로 염색하여 기관, 대기관지 및 소기관지 및 혈관주위에서 염증반응과 호산구 침윤을 관찰하였다.

**결 과 :**

항원 유발시험을 시행한 20마리중 총 17마리(85%)에서 항원에 의한 기도의 수축반응을 보였다. 이들중 15마리(75%)에서 조기반응을, 5마리(25%)는 이중반응을 보였고 2마리(10%)는 후기반응만을 보였다. 항원 유발 후 기관, 대기관지, 소기관지와 혈관주위에서의 염증반응은 1시간군, 6시간군, 1일군모두에서 대조군과 유의한 차이는 없었다( $p > 0.05$ ). 항원 유발시험후 호산구의 침윤은 1시간군과 대조군에서는 호산구의 침윤을 전혀 관찰할 수 없었으나, 6시간군은 5마리(50%)에서 호산구의 침윤을 관찰하였으며, 대조군과 유의한 호산구의 침윤을 관찰할 수 있었다( $p < 0.05$ ). 조기반응과 후기반응을 관찰할 수 있었던 6시간군과 1일군에서 조기반응군(조기반응만을 보인 백서,  $n=10$ )과 후기반응군(이중반응과 후기반응만을 보인 백서,  $n=7$ )에서 염증의 침윤은 모든 부위에서 유의한 차이는 없었다. 호산구의 침윤은 조기반응군에는 10마리중 4마리(40%)에서  $0.7 \pm 1.1$ 등급이었으며, 후기반응군은 7마리중 4마리(57.1%)에서  $1.0 \pm 1.0$ 으로 높았으나, 통계적으로 유의하지는 않았다( $p > 0.05$ ).

**결 론 :**

백서의 기관지천식 모델에서 항원에 의한 기도의 수축반응은 높은 반응률을 보였으나 기도의 염증반응을 유발하지는 않으며, 호산구의 침윤도 미약하다고 생각된다. 그러므로 백서 기관지 천식모델은 항원에 의한 기도 반응의 연구에는 좋으나, 사람의 만성 기관지 천식을 연구하기에는 적당치 못하다고 생각된다.

**참 고 문 헌**

1. Laitinen LA, Heino M, Laitinen A, Kava T, Haahtela T. Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1985;131:599-606
2. Beasley R, Roche WR, Roberts JA, Holgate ST. Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:806-17
3. Jeffery PK, Wardlaw A, Nelson FC, Collins JV, Kay AB. Bronchial biopsies in asthma : an ultrastructural quantification study and correlation with hyperreactivity. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140:1745-53
4. Laitinen LA, Laitinen A, Haahtela T. Airway mucosal inflammation even in patients with newly diagnosed asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:697-704
5. Kierszenbaum F, Ackerman SJ, Gleich GJ. Destruction of bloodstream forms of *Trypanosoma cruzi* by eosinophil granule major basic protein. *Am J Trop Med Hyg* 1981;30:775-9
6. Gundel RH, Gerritsen ME, Wegner CD. Antigen-coated sepharose beads induce airway eosinophilia and airway hyperresponsiveness in cynomolgus monkeys. *Am Rev Respir Dis* 1989;140:629-33
7. Bentley AM, Maestrelli P, Saetta M, Fabbri LM, Robinson DS, Bradley BL, et al. Activated T-lymphocytes and eosinophils in the bronchial mucosa in isocyanate-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:821-9
8. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barneon G, Ghavanian N, Enander I, et al. Eosinophilic in-

- flammation in asthma. *N Engl J Med* 1990;323:1033-9
9. Pennock BE, Cox CP, Rogers RM, Cain WA, Wells JH. A noninvasive technique for measurement of changes in specific airway resistance. *J Appl Physiol* 1979;46:399-406
  10. Hamelmann E, Schwarze J, Takeda K, Oshiba A, Larsen GL, Irvin CG, et al. Noninvasive measurement of airway responsiveness in allergic mice using barometric plethysmography. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:766-75
  11. Renzi PM, al Assaad AS, Yang J, Yasruek Z, Hamid Q. Cytokine expression in the presence or absence of late airway responses after antigen challenge of sensitized rats. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996;15:367-73
  12. Eidelman DH, Bellofiore S, Martin JG. Late airway responses to antigen challenge in sensitized inbred rats. *Am Rev Respir Dis* 1988;137:1033-7
  13. Chong BT, Agrawal DK, Romero FA, Townley RG. Measurement of bronchoconstriction using whole-body plethysmograph: comparison of freely moving versus restrained guinea pigs. *J Pharmacol Toxicol Methods* 1998;39:163-8
  14. Vijayaraghavan R, Schaper M, Thompson R, Stock MF, Alarie Y. Characteristic modifications of the breathing pattern of mice to evaluate the effects of airborne chemicals on the respiratory tract. *Arch Toxicol* 1993;67:478-90
  15. Busse WW, Parry DE. Chapter 47. The biology of asthma. In: Fishman AP, Elias JA, Fishman JA, Grippi MA, Kaiser LR, Senior RM, editors. *Fishman's pulmonary diseases and disorders*. 3rd ed. McGraw-Hill, 1998. p. 721-33
  16. Wasserman S, Olivenstein R, Renzi P, Xu LJ, Martin JG. The relationship between late asthmatic responses and antigen-specific immunoglobulin. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:661-9
  17. Sorkness R, Johns K, Castleman WL, Lemanske RF Jr. Late pulmonary allergic responses in actively but not passively IgE-sensitized rats. *J Appl Physiol* 1990;69:1012-21
  18. Antonissen LA, Mitchell RW, Kroeger EA, Kepron W, Stephens NL, Bergen J. Histamine pharmacology in airway smooth muscle from a canine model of asthma. *J Pharmacol Exp Ther* 1980;213:150-5
  19. Rafferty P, Beasley R, Holgate ST. The contribution of histamine to immediate bronchoconstriction provoked by inhaled allergen and adenosine 5' monophosphate in atopic asthma. *Am Rev Respir Dis* 1987;136:369-73
  20. Olivenstein R, Renzi PM, Xu LJ, Yang JP, Martin JG. Effects of W3/25 monoclonal antibody on pulmonary inflammation and the late airway response in Brown-Norway rats. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:A528 (abstr.)
  21. Watanabe A, Rossi P, Renzi PM, Xu LJ, Guttmann RD, Martin JG. Adoptive transfer of allergic airway responses with sensitized lymphocytes in BN rats. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:64-70
  22. Carroll N, Cooke C, James A. The distribution of eosinophils and lymphocytes in the large and small airways of asthmatics. *Eur Respir J* 1997;10:292-300
  23. Azzawi M, Bradley B, Jeffery PK, Frew AJ, Wardlaw AJ, Knowles G, et al. Identification of activated T lymphocytes and eosinophils in bronchial biopsies in stable atopic asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:1407-13
  24. Olivenstein R, Renzi PM, Yang JP, Rossi P,

- Laberge S, Wasserman S, et al. Depletion of OX-8 lymphocytes from the blood and airways using monoclonal antibodies enhances the late airway response in rats. *J Clin Invest* 1993;92:1477-82
25. Gleich GJ, Motojima S, Frigas E, Kephart GM, Fujisawa T, Kravis LP. The eosinophilic leukocyte and the pathology of fatal bronchial asthma: evidence for pathologic heterogeneity. *J Allergy Clin Immunol* 1987;80:412-5
26. Azzawi M, Johnston PW, Majumdar S, Kay AB, Jeffery PK. T lymphocytes and activated eosinophils in airway mucosa in fatal asthma and cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1992;145:1477-82
27. Sur S, Crotty TB, Kephart GM, Hyma BA, Colby TV, Reed CE, et al. Sudden-onset fatal asthma. A distinct entity with few eosinophils and relatively more neutrophils in the airway submucosa? *Am Rev Respir Dis* 1993;148:713-9
28. Jeffery PK. Pathology of Asthma. *Br Med Bull* 1992;48:23-39
29. Beasley R, Burgess C, Crane J, Pearce N, Roche W. Pathology of asthma and its clinical implications. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:148-54