

천식 환아에서 요중 Eosinophil Protein X의 메타콜린 기관지 유발 시험 전·후의 변화

한양대학교 의과대학 소아과학교실

신수아 · 오재원 · 이하백

Differential Excretion of Urinary Eosinophil Protein X after Methacholine Challenge Test in Children with Asthma

Su-A Shin, M.D., Jae-Won Oh, M.D. and Ha-Baik Lee, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea

Purpose : Eosinophil is one of the important inflammatory cell involved in the airway inflammation in childhood asthma. It has been demonstrated that markers of eosinophil activation, including eosinophil cationic protein or eosinophil protein X (EPX), are increased in childhood asthma. Furthermore, they are related to disease activity and are assumed to be helpful in monitoring the treatment effect as urinary EPX (U-EPX) can be obtained easily and in a noninvasive way in children of all ages.

Methods : Twenty-five children (22 male and three female) aged 11.87 ± 3.82 years with stable asthma were challenged with methacholine and urine was collected from each child during the following periods: before methacholine challenge test (MCT); 0-3 hr after the end of MCT; 4-7 hr after the end of MCT; and 8-24 hr after the end of MCT. Bronchial reactivity was determined by using Dosimeter (Jaeger, Germany) with serially diluted methacholine from 0.05 to 25.0 mg. The FEV₁ less than 80% of baseline value were classified into positive MCT. U-EPX was measured with a sensitive and specific radioimmunoassay (Pharmacia & Upjohn AB, Uppsala, Sweden). Results were expressed as $\mu\text{gEPX}/\text{mmol creatinine}$.

Results : An early airway response after MCT was associated with an increase of U-EPX excretion for 0-3 hr after methacholine inhalation in comparison with baseline values. Most subjects showed a small increase in U-EPX excretion during late asthmatic response for 4-7 hr, which then decreased to normal level in 8-24 hr. Also, a tendency for a higher increase of U-EPX was associated with a lower threshold of methacholine challenge and a longer duration of asthma.

Conclusion : Measurement of EPX in urine is a noninvasive and easy method to assess the severity of airway inflammation in asthmatic children. It may be a helpful index of the events underlying the airway inflammatory responses during nonspecific bronchial challenge, and in monitoring asthma management. (*J Korean Pediatr Soc* 2003;46:495-499)

Key Words : Urinary eosinophil protein X, Methacholine challenge, Asthma, Disease activity, Monitoring

서 론

호산구는 기도의 염증반응과 관련된 중요한 요소 중 하나로¹⁾ 천식 환아에서 호산구 활성도를 반영하는 eosinophil cationic

protein (ECP) 혹은 eosinophil protein X (EPX) 치는 대부분 상승되어 관찰된다²⁻⁴⁾. 이러한 호산구 활성도를 나타내는 지표들은 천식의 질병 활성도와 관련되어 있으며 이를 이용해 치료 효과의 추적 및 판정에 도움을 줄 수 있다^{5, 6)}. 호산구 활성 지표들은 혈장, 비인두액, 객담 뿐 아니라 소변에서도 측정 가능하다. 요중 EPX는 모든 연령의 환아에서 비침습적으로 손쉽게 얻을 수 있는 장점이 있어^{7, 8)} 그 유용성이 더 크다 하겠다. 본 연구에서는 호산구 활성 지표로서 요중 EPX의 유용성을 살피고자 메타콜린 유발 시험을 시행하여 천식 병력의 기간, 기관지 과민 반응과의

본 논문은 2000년 한양대학교 교수연구비의 일부 보조로 이루어졌음.

접수 : 2003년 1월 6일, 승인 : 2003년 3월 7일

책임저자 : 이하백, 한양대학교병원 소아과

Tel : 02)2290-8385, 8380 Fax : 02)2297-2380

E-mail : hablee@hanyang.ac.kr

관계를 살펴 천식의 정도 판정 및 관리에 활용하고자 하였다.

대상 및 방법

경증 또는 중등증 천식 환아 중 증상이 조절되고 있는 8세에서부터 19세까지의 25명을 대상으로 천식 병력의 기간, 혈청 총 IgE치, 알레르겐 특이 IgE치, 호산구 수, 알레르겐 피부단자 시험, 메타콜린 기도 유발 시험을 시행하여 그 결과를 비교 분석하였다.

메타콜린 기도 유발 시험은 Masterlab(Jeager, Germany) 기계를 이용, Chai 등⁹⁾의 방법을 변형하여 메타콜린 용액 농도를 0.05 mg/mL부터 25.0 mg/mL까지 점차 증가시켜서 폐활량(FVC)까지 5회 흡입한 후 1분 뒤 FEV₁치를 측정하고 기저치의 80% 이하로 감소한 때의 메타콜린 농도가 12 mg/mL 이하인 경우를 양성으로 판정하였다.

소변은 메타콜린 기도 유발 시험 전(7 p.m.-7 a.m.), 메타콜린 기도 유발 시험 0-3시간 후, 4-7시간 후, 8-24시간 후에 채취하였으며 요중 EPX 측정은 radio-immunoassay(Pharmacia & Upjohn AB, Uppsala, Sweden) 방법을 이용하였으며 결과는 $\mu\text{gEPX}/\text{mmol creatinine}$ 으로 기술하였다.

모든 자료는 윈도우용 통계 프로그램인 Statistica(StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA)으로 P값을 산정하여 각각 비교하였으며 통계적인 유의성은 $P<0.05$ 인 경우로 판정하였다.

결 과

1. 대상군의 특징

대상 환아의 평균 연령은 11.9세였고, 남아 22명(88.0%)과 여아 3명(12.0%)이었다. 이들 중 17명(68.0%)은 아토피성 천식이었으며, 메타콜린 기도 유발 시험 양성은 18명(72.0%)이었다. 대상 환아들을 메타콜린 기도 유발 시험 양성군과 음성군으로 각각 구분하여 각 군간의 연령, 성별, 아토피 병력, 천식 유병 기간, 알레르겐 피부단자 시험, 혈청 총 IgE치, 호산구 수와의 관계를 분석하여 이를 서로 비교하였다. 아토피 병력은 아토피 피부염이 있었거나 지니고 있는 경우를 양성으로 하였고, 알레르겐 피부단자 시험은 병력 청취 후 의심되는 알레르겐을 대상으로 시행하여 집먼지 진드기인 Dp-, Df-, 또는 이들 각각에 대해 히스타민 보다 넓은 경결을 보이는 경우를 양성으로 판정하였다. 메타콜린 기도 유발 시험 양성군과 음성군간의 연령, 성별, 아토피 병력, 천식 유병 기간, 알레르겐 피부 단자 시험, 혈청 총 IgE치, 호산구 수에는 유의한 차이가 없었다(Table 1).

2. 메타콜린 기도 유발 시험 전·후의 요중 EPX치

메타콜린 기도 유발 시험 양성군과 음성군에서 메타콜린 기도 유발 시험 전(7 p.m.-7 a.m.), 0-3시간 후, 4-7시간 후와 8-24시간 후의 요중 EPX치를 측정하였다. 메타콜린 기도 유발 시험

양성군에서 초기 기도 반응에 해당하는 유발 시험 0-3시간 후에 유발 시험 전의 기저치(mean \pm SE, $8.40\pm 3.11 \mu\text{gEPX}/\text{mmol creatinine}$)에 비해 요중 EPX의 유의한 상승(17.55 ± 5.01) 소견을 관찰할 수 있었다. 또한 메타콜린 기도 유발 시험 4-7시간 후인 후기 기도 반응에서는 요중 EPX가 약간 상승됨(12.24 ± 4.13)이 관찰되었으며 이후 8-24시간 후에는 유발 시험 전의 기저치 정도로 감소되는 양상(6.29 ± 1.37)을 보였다(Fig. 1A). 반면, 메타콜린 기도 유발 시험 음성군에서의 요중 EPX치의 변화는 양성군에서와는 다른 양상을 보였으며 기저치는 매우 광범위한 분포를 보였다(Fig. 1B).

3. 메타콜린 농도와 요중 EPX치와의 관계

대상 환아들에서 요중 EPX치는 PC₂₀ 농도가 낮을수록 증가하는 경향을 보였다(Fig. 2). 메타콜린 기도 유발 시험을 기준으로 한 각 시간대의 요중 EPX치 중 특히 초기 기도 반응에 해당하는 메타콜린 기도 유발 시험 후 0-3시간 때의 요중 EPX

Table 1. Demographic Data between Positive and Negative Methacholine Challenge Test Group

	Positive MCT (n=18)	Negative MCT (n=7)
Age(yr)	12.78 \pm 0.97 [†]	9.54 \pm 0.54
Sex : M/F	16/2	6/1
Atopy history : +/-	12/6	5/2
Duration(yr)	4.76 \pm 0.79	2.42 \pm 0.99
Skin prick test : +/-	10/8	3/4
Serum IgE(IU/mL)	723.51 \pm 168.07	487.56 \pm 159.03
Blood eosinophil(/mL)	690.44 \pm 82.18	404.71 \pm 173.28

*There was no statistically significant differences was showed between demographic data($P>0.05$)

[†]Mean \pm Standard error

Abbreviation : MCT, methacholine challenge test

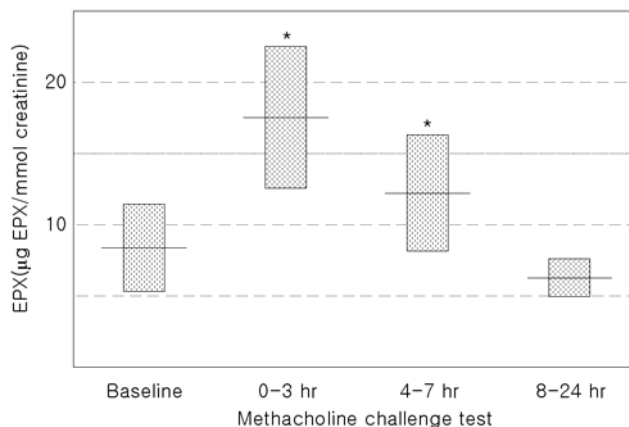


Fig. 1A. Mean values of urinary eosinophil protein X(EPX) excretion before and at different time points after methacholine challenge test(MCT) in positive MCT group(* $P>0.05$ in comparison with baseline value).

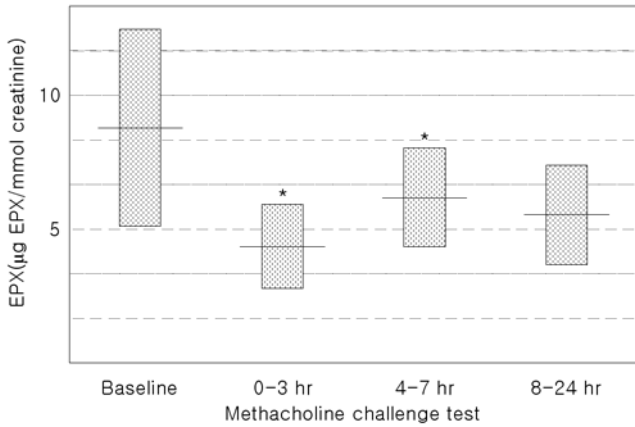


Fig. 1B. Mean values of urinary eosinophil protein X(EPX) excretion before and at different time points after methacholine challenge test(MCT) in negative MCT group(* $P > 0.05$ in comparison with baseline value).

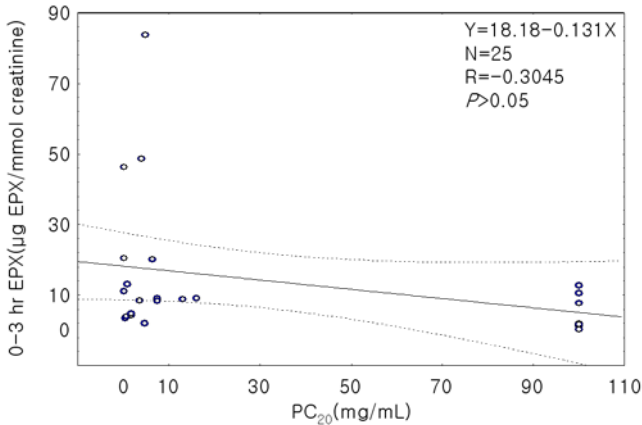


Fig. 2. There was a tendency to increase of urinary eosinophil protein X(EPX) excretion in subjects with lower threshold (PC_{20}) of methacholine challenge test.

수치에서 PC_{20} 와의 연관 관계가 더 뚜렷하였다.

4. 천식 병력의 기간과 요증 EPX치와의 관계

천식 병력의 기간과 요증 EPX치와의 관계에서는 병력의 기간이 오래될수록 요증 EPX의 유의한 증가 소견을 관찰할 수 있었다(Fig. 3). 특히, 초기 기도 반응 동안(메타콜린 기도 유발 시험 후 0-3시간)의 요증 EPX는 의미있는 증가 소견을 보였다.

고 찰

염증 반응은 이제 천식의 병태 생리의 이해에 있어 중요한 요소로 인식되고 있으며 이러한 염증 반응에는 여러 가지 세포들이 관여하고 이 중 호산구가 가장 중요시 된다. 이러한 기도 내 염증 반응의 조기 발견은 질환의 조기 예방 뿐 아니라 질병 상태의 변화에 따라 변화하므로 추적 관찰 및 치료에 유용하게

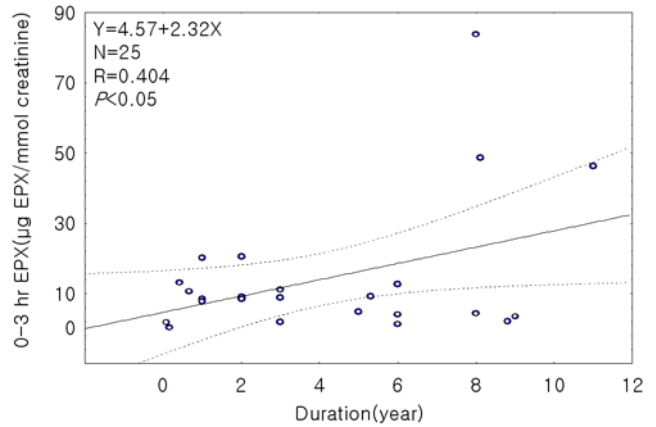


Fig. 3. There was a significant increase of urinary eosinophil protein X(EPX) excretion in subjects with the longer history of asthma.

이용될 수 있다¹⁰. 천식, 아토피성 피부염 및 호산구 활성화와 관련된 기타 다른 질환(기생충 감염, 호산구성 폐렴, 혈관염과 함께 육아종을 동반하는 Churg-Strauss 증후군, 간질성 폐질환, 호산구성 늑막 삼출, 호산구와 관련된 혈액 종양 질환 등) 상태에서 호산구 지표의 증가 소견은 혈장 및 기관지 세척액, 비인두액, 소변 등에서 관찰된다^{3, 6, 11-13}. 호산구는 광범위한 생물학적 영향력을 지녀 호산구 내의 세포질 과립, 산소 유리기, eicosanoids, sulfido-peptide 류코트리엔, 혈소판 활성화 인자, 사이토카인, 성장인자 등을 분비함으로써 위의 질환 등의 병태 생리 과정에 관여한다¹⁴⁻¹⁶. 활성화된 호산구에서 분비된 과립에서 기원한 단백질로는 기도 상피세포에 세포 독성으로 작용하는 major basic protein(MBP), eosinophil cationic protein(ECP), eosinophil peroxidase(EPO)와 *in vitro* 연구에서 호산구 탈과립의 지표로 이용되는 eosinophil-derived neurotoxin/protein X (EDN/EPX) 등이 있다¹⁷⁻²⁰. 그러나 이상의 호산구 지표들이 혈액을 채취함으로써 측정할 수 있는 반면 EPX는 소변에서 측정이 가능하여 최근의 연구들에서는 천식 환아에서 요증 EPX치를 측정하는 것이 질환의 추적 관찰에 유용하게 쓰일 수 있는지에 관심이 모아지고 있다. Tauber 등⁷의 연구를 포함한 여러 연구들에서 대조군에 비해 천식 환아에서 요증 EPX가 의미있게 상승함이 보고된 바 있으며^{12, 21}, 또한 천식 환아 중에서도 무증상군에 비해 증상이 있는 군에서 그 농도가 더 상승되어 있음이 보고되었다²². 이러한 연구들에 근거하여 본 연구에서는 메타콜린 기관지 유발 시험에 대한 반응 정도의 차이, 천식 병력 기간의 차이에 따라 요증 EPX치가 어떠한 연관성을 보이는지 관찰하였으며 메타콜린 기관지 유발 시험에 민감할수록(PC_{20} 농도가 낮을수록), 천식 병력의 기간이 오래될수록 요증 EPX가 증가하는 것을 알 수 있었다. 메타콜린 기관지 유발 시험과 요증 EPX가 연관성이 있는 반면 Tauber 등⁷의 연구에서는 단순 폐기능 검사와 요증 EPX 간에는 연관성이 없었다. 이것은 유발 시험 후 변화하는 기도내의 염증 반응에 호산구가 중요한 역할을 담

당한다는 것을 간접적으로 시사하는 것으로 보인다.

이러한 요중 EPX치는 혈장 내의 ECP/EPX 수치와 상관 관계가 있음이 여러 연구에서 알려진 바 있다²¹⁾. 소아 연령에서는 기관지경을 이용한 침습적인 방법 또는 혈액 채취 수기의 어려움 때문에 비침습적이고 손쉽게 얻을 수 있는 요중 EPX의 유용성은 소아 연령의 환아에서 더 크다 하겠다.

인체 내에서 생성되는 많은 생화학 물질들은 24시간 동안 동일하게 분비되지 않는다. O'sullivan 등²²⁾의 연구에 의하면 요중 EPX치의 분비는 주간 변동을 보여 오전 중에 최고치에 이르는 것으로 알려져 있다. 이에 본 연구에서는 EPX의 일중 변동에 의한 영향을 최소화하기 위하여 메타콜린 기관지 유발 시험을 오전 일찍 시행하였으며, 유발 시험 0-3시간 후인 오전 중에 기저치에 비해 의미 있는 상승 소견을 보임을 관찰할 수 있었다. 이에 비해 최근 들어 천식 환아에서 EPX와 함께 많이 연구되고 있는 LTE₄는 일중 변동 없이 일정한 요중 분비를 보이는 것으로 알려져 있어서²³⁾ 연구의 범위를 LTE₄까지 넓혀 동일 환아에서 동일 시간에 비교해 봄으로써 EPX의 유용성을 더 부각시킬 수 있을 것이다.

요 약

목적 : 천식 환아에서 호산구 활성도를 반영하는 ECP 혹은 EPX치는 대부분 상승되어 있으므로 이들 지표들은 천식의 질병 활성도와 관련되어 있어 치료 효과의 추적 및 판정에 도움을 줄 수 있다. 요중 EPX는 모든 연령의 환아에서 비침습적으로 손쉽게 얻을 수 있는 장점이 있다. 본 연구에서는 호산구 활성 지표로서 요중 EPX의 유용성을 살피고자 메타콜린 기도 유발 시험을 시행하여 천식의 병력 기간, 기관지 과민 반응과의 관계를 살펴 천식의 정도 판정 및 관리에 활용하고자 하였다.

방법 : 경증 또는 중등증 천식 환아 중 증상이 조절되고 있는 8세에서부터 19세까지의 25명을 대상으로 메타콜린 기도 유발 시험을 시행하고 소변을 채취하여 요중 EPX를 측정하였다.

결과 : 요중 EPX치는 초기 기도 반응(0-3시간)에서 유발 시험 전의 기저치보다 유의하게 증가하였다. 대부분 환아에서 요중 EPX는 후기 기도 반응(4-7시간)시 약간의 증가를 보이고 이후에는 기저치로 감소하는 양상이었다. 요중 EPX는 PC₂₀ 농도가 낮을수록, 천식의 병력이 오래될수록 증가하는 경향을 보였다.

결론 : 요중 EPX 측정은 비침습적이고 손쉬운 방법으로 기도 염증 반응 및 과민성을 평가하고 나아가 천식 관리에 유용하게 사용할 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

1) Labbe A, Aublet-Cuvelier B, Jouaville L, Beaugeon G, Fiani L, Petit I, et al. Prospective longitudinal study of urinary eosinophil protein X in children with asthma and chronic cough. *Pediatr Pulmonol* 2001;31:354-62.

2) Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barneon G, Ghavanian N, Enander I, et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med* 1990;323:1033-9.

3) Koller DY, Herouy Y, Goetz M, Hagel E, Urbanek R, Eichler I. Clinical value of monitoring eosinophil activity in asthma. *Arch Dis Child* 1995;73:413-7.

4) Venge P. Eosinophil activity in bronchial asthma. *Allergy Proc* 1994;15:139-41.

5) Kristjansson S, Strannegrd IL, Strannegrd O, Peterson C, Enander I, Wennergren G. Urinary eosinophil protein X in children with atopic asthma: a useful marker of anti-inflammatory treatment. *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:1179-87.

6) Lugosi E, Halmerbauer G, Frischer T, Koller DY. Urinary eosinophil protein X in relation to disease activity in childhood asthma. *Allergy* 1997;52:765-9.

7) Tauber E, Halmerbauer G, Frischer T, Gartner C, Horak F Jr, Veiter A, et al. Urinary eosinophil protein X in children: the relationship to asthma and atopy and normal values. *Allergy* 2000;55:647-52.

8) Vincent Cottin, Philippe Deviller, Frdrique Tardy, Jean-Franois Cordier. Urinary eosinophil-derived neurotoxin/protein X: a simple method for assessing eosinophil degranulation in vivo. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:116-23.

9) Chai H, Farr RS, Froehlich LA, Mathison DA, McLean JA, Rosenthal RR, et al. Standardization of bronchial inhalation challenge procedures. *J Allergy Clin Immunol* 1975;56:323-7.

10) Agertoft L, Pedersen S. Effects of long-term treatment with an inhaled corticosteroid on growth and pulmonary function in asthmatic children. *Respir Med* 1994;88:373-81.

11) Wojnarowski C, Studnicka M, Khr J, Koller DY, Haschke N, Gartner C, et al. Determinants of eosinophil cationic protein in nasal lavages in children. *Clin Exp Allergy* 1998; 28:300-5.

12) Lonnkvist K, Hellman C, Lundahl J, Hallden G, Hedlin G. Eosinophil markers in blood, serum, and urine for monitoring the clinical course in childhood asthma: impact of budesonide treatment and withdrawal. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:812-7.

13) Shields MD, Brown V, Stevenson EC, Fitch PS, Schock BC, Turner G, et al. Serum eosinophilic cationic protein and blood eosinophil counts for the prediction of the presence of airways inflammation in children with wheezing. *Clin Exp Allergy* 1999;29:1382-9.

14) Weller P. The immunobiology of eosinophils. *N Engl J Med* 1991;324:1110-8.

15) Gleich GJ, Adolphson CR. Eosinophils. In: Crystal RG, West JB, editors. *The lung: scientific foundations*. New York: Raven Press, Ltd. 1991:581-90.

16) Kroegel C, Virchow JC Jr, Luttmann W, Walker C, Warner JA. Pulmonary immune cells in health and disease: the eosinophil leukocyte (Part I). *Eur Respir J* 1994;7:519-43.

17) Figas E, Motojima S, Gleich GJ. The eosinophilic injury to the mucosa of the airways in the pathogenesis of bronchial asthma. *Eur Respir J Suppl* 1991;13:123S-135S.

18) Venge P, Dahl R, Fredens K, Peterson CGB. Epithelial injury by human eosinophils. *Am Rev Respir Dis* 1988;138: 54-7.

- 19) Motojima S, Frigas E, Loegering DA, Gleich GJ. Toxicity of eosinophil cationic proteins for guinea pig tracheal epithelium in vitro. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:801-5.
 - 20) Fredens K, Dahl R, Venge P. The Gordon phenomenon induced by the eosinophil cationic protein and eosinophil protein-X. *J Allergy Clin Immunol* 1982;70:361-6.
 - 21) Koller DY, Halmerbauer G, Frischer T, Roithner B. Assessment of eosinophil granule proteins in various body fluids : is there a relation to clinical variables in childhood asthma? *Clin Exp Allergy* 1999;29:786-93.
 - 22) O'sullivan S, Roquet A, Dahlen B, Dahlen SE, Kumlin M. Urinary excretion of inflammatory mediators during allergen-induced early and late phase asthmatic reactions. *Clin Exp Allergy* 1998;28:1332-9.
 - 23) Asano K, Lilly CM, O'donnell WJ, Israel E, Fischer A, Ransil BJ, et al. Diurnal variation of urinary leukotriene E4 and histamine excretion rates in normal subjects and patients with mild-to-moderate asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1995;96:643-51.
-