

비용의 조직학적 분류에 따른 만성 비부비동염의 임상적 특징과 IL-33과 IL-25의 발현

충남대학교 의학전문대학원 이비인후과학교실, 의학연구소,¹ 단국대학교 의과대학 이비인후과학교실²

김성하¹ · 모지훈² · 정영준² · 허 준¹ · 박성제¹ · 나기상¹ · 김용민¹

Clinical Characteristics and Expression Pattern of IL-33 and IL-25 According to Histologic Classification in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyposis

Sung Ha Kim, MD¹, Ji-Hun Mo, MD², Young Jun Chung, MD², Jun Xu, MD¹,
Sung Jae Park, MD¹, Ki-Sang Rha, MD¹ and Yong Min Kim, MD¹

¹Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Research Institute for Medical Science, Chungnam National University School of Medicine, Daejeon; and ²Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Dankook University School of Medicine, Chonan, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : Many kinds of inflammatory cells and cytokines are suggested to be related to the pathophysiology of chronic rhinosinusitis with nasal polyposis (CRSwNP), but not yet fully understood. The objectives of this study were to classify CRSwNP patients according to histologic features and to reveal the roles of IL-33 and IL-25, on the pathophysiology of CRSwNP. **Materials and Method** : CRSwNP patients (n=122) were divided into 3 groups according to the type of nasal polyp; eosinophilic polyp (EP, n=38), neutrophilic polyp (NeuP, n=15) and non-eosinophilic non-neutrophilic polyp (NENN, n=63) groups. Clinical features and the expressions of IL-25 and IL-33 were evaluated among the groups. **Results** : The EP group showed many clinical features that were different from the other groups: increased prevalence of asthma and olfactory dysfunction, increased percentage of blood eosinophils, increased E/M ratio, and poor postoperative outcomes such as recurrent polyposis and the need for frequent use of oral steroids. Numbers of IL-33 and IL-25 positive cells were significantly higher in the EP group compared with the other groups in the lamina propria (p=0.001). **Conclusion** : These results suggest that patients with an eosinophilic polyp are clinically and pathogenetically different from patients with other types of polyps, and IL-25 and IL-33 are associated with the pathogenesis of chronic rhinosinusitis with eosinophilic polyps.

KEY WORDS : Nasal polyps · Sinusitis · Eosinophil · IL-25 · IL-33.

서 론

비용을 동반한 만성비부비동염(Chronic rhinosinusitis with nasal polyp, CRSwNP)은 비폐색, 후비루, 후각감퇴, 두통 등을 유발하여 삶의 질을 저하시키는 질환이다. 하지만 그 병인과 병태생리에 대하여는 아직 명확하게 밝혀져 있지 않다. 감염 또는 비감염성 염증 반응, 알레르기, 해부학적 이

상 등이 주요 발병 인자로 생각되며, 감염요인 중에는 곰팡이와 세균이 만성적인 점막의 염증을 일으키는데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.¹⁾²⁾

비용을 동반한 만성비부비동염 환자의 비용을 호산구성 비용과 호중구성 비용으로 구분하여 그 임상적 특성과 수술 후 경과를 관찰하려는 연구가 최근에 보고되었다.³⁾ 호산구성 비용은 조직 내 Th2 편향에 의한 호산구의 침윤, eotaxin의 발현의 증가, 조직의 재형성과 IL-17A의 발현증가에 의한 호산구증이 특징이다.⁴⁾⁵⁾ 호산구성 비용을 동반한 만성 비부비동염의 경우 수술적 치료로 치유가 어렵고 수술 후 재발이 잦은 임상적 특징을 보인다.³⁾ 이에 비해 호중구성 비용은

논문접수일: 2015년 1월 14일 / 수정완료일: 2015년 3월 10일

심사완료일: 2015년 5월 18일

교신저자: 김용민, 301-721 대전광역시 중구 문화로 282

충남대학교 의학전문대학원 이비인후과학교실, 의학연구소

Tel: +82-42-280-7696, Fax: +82-42-253-4059

E-mail: entkym@cnu.ac.kr

조직 내 호중구의 침윤이 특징인데 주로 부비동 내 삼출액으로 호중구가 모여들어 발생하는 호중구 염증반응에 의해 일어난다.⁶⁾⁷⁾ 또한, 호중구성 비용은 호산구성 비용과는 다르게 수술 후 좋은 경과를 보이는 것으로 알려져 있다.⁸⁾

IL-33과 IL-25는 주로 점막상피세포에서 외부의 다양한 자극에 의해 생성이 되는 선천성 싸이토카인으로 최근 이들 싸이토카인에 대해 다양한 기능과 특징들이 알려지고 있다. IL-33은 강력한 Th2 유도 싸이토카인으로 IL-4, IL-5, IL-13을 생성하고, 이들 싸이토카인의 아래단계에 영향을 미쳐 호산구증과 점액의 분비를 유발한다.⁹⁾ IL-33과 그 수용체 ST2에 의한 신호전달과정은 기도의 염증반응, 섬유증식질환, 류마티스관절염과 같은 질환의 병태생리에 관련이 있음이 알려져 있다.¹⁰⁻¹²⁾

IL-25는 IL-17계통의 싸이토카인으로 이 것 역시 Th2 염증반응을 유도하는 것으로 알려져 있다.¹³⁾¹⁴⁾ 난알부민을 이용한 알레르기 기도염증 동물모델에서 IL-25를 억제하면 기도의 과민반응과 기도염증이 감소하는 것을 알 수 있다.

선천성 림프양 세포(Innate lymphoid cells, ILCs)은 병원성, 비병원성 미생물체에 대한 선천면역과 조직의 재형성에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 세포군으로 최근 면역학분야에서 관심의 대상으로 떠오르고 있다.¹⁵⁾ ILCs는 형태학적으로 림프구 모양을 하고 있지만 항원 특이 세포 수용체가 없는 특징이 있다.¹⁶⁾ IL-25와 IL-33 모두 ILC2s를 자극하여 IL-5와 IL-13을 생성하고 Th2 면역반응을 일으키는 데 중요한 역할을 한다고 알려져 있다.¹⁷⁾ 최근 연구에 의하면 비점막 상피세포에서 생성된 IL-33이 점막하 공간에 존재하는 ILCs에 작용을 하여 비용을 동반한 만성비부비동염의 병태생리에 중요한 역할을 한다고 알려졌다.¹⁸⁾ Baba 등은 IL-33과 그 수용체인 ST2가 비용을 동반한 만성비부비동염 중 특히 호산구성 비용의 발병기전에 중요한 역할을 하며, 특히 호산구 표면에서 ST2의 발현이 증가함을 보고하였다.¹⁹⁾ IL-33의 호산구성 비용에서 발병기전에 미치는 영향은 보고되었지만 IL-25의 기능에 대한 연구는 상대적으로 취약하다. 따라서, 본 연구에서는 비용을 동반한 만성 비부비동염 환자의 비용을 조직학적인 소견에 따라 호산구성, 호중구성, 비호산구성-비호중구성 비용으로 구분하여 여러 임상적 특징과 술 후 경과를 비교하고자 하였고, 각 군의 비용조직에서 선천성 싸이토카인인 IL-25와 IL-33이 어떻게 발현이 되는지 알아보려고 하였으며, 이를 통해 IL-25와 IL-33이 비용의 병태생리에 관여 하는지 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

대상환자

대상 환자의 모집은 2011년 12월부터 2013년 8월까지 충남대학교병원에서 비용을 동반한 만성비부비동염 또는 비중격만곡증으로 진단받고 부비동내시경수술 또는 비중격교정술을 받은 환자를 대상으로 하였다. 총 122명의 환자를 본 연구에 포함하였으며, 이중 116명이 비용을 동반한 만성비부비동염 환자였고, 6명은 비중격만곡증 환자였다. 비용 환자는 비내시경 검사 및 부비동 전산화단층촬영(CT) 결과 비용을 동반한 만성비부비동염으로 진단받고 부비동 내시경 수술을 받은 환자를 대상으로 하였다. 본 연구는 저자들이 속한 기관의 임상연구심의 위원회의 연구 승인하에 전향적으로 이루어졌으며 환자에 대한 임상적 정보는 의무기록을 후향적으로 분석하였다. 모든 환자로부터 수술 전 동의서를 받아 연구에 동의를 한 환자만을 실험대상에 포함시켰다. 자가면역 질환 등의 전신 질환이 있거나 unilateral nasal polyp, antrochoanal polyp, 수술 전 1개월 이내 항생제, 스테로이드 또는 점막수축제를 전신적 또는 국소적으로 투여한 경우, 이전에 비내시경 수술을 포함한 비부비동수술을 받은 환자는 대상에서 제외하였다. 대조군은 같은 기간 비중격 만곡증으로 진단받고 비중격 성형술을 시행한 환자 6례를 포함하였고 비내시경 검사 또는 CT에서 비부비동염이 있는 경우, 전신질환이 있는 경우, 수술 1개월 이내 항생제, 스테로이드, 점막수축제를 투여한 환자는 제외하였다. 부비동내시경수술 중 모든 환자에서 조직학적 분류와 면역조직화학염색을 위해 비용을 채취하였으며, 대조군 점막으로는 비중격수술 중 수포성 갑개(concha bullosa)가 있는 경우 중비갑개 점막을 채취하였다.

수술 전 평가

모든 환자에 대해 비루, 후비루, 비폐색, 두통, 후각이상(저후각증, 무후각증) 등의 증상 유무와 알레르기 비염, 천식, 아스피린 과민증 등의 동반질환을 조사하였다.

알레르기 비염은 병력에서 수양성 비루, 비폐색, 재채기, 비소양감 등의 증상이 3개월 이상 지속되고 알레르기 피부반응검사서 팽진의 크기가 3 mm 이상이거나 MAST(multiple radioallergosorbent test)에서 알레르겐 titer가 class 3 이상인 알레르겐이 있는 경우로 하였다. 기관지 천식과 아스피린과민증은 문진에서 의심되는 경우 호흡기내과에 진료를 의뢰하여 메타콜린 기관지 유발검사(metacholine bronchial provocation test)와 아스피린 경구 유발검사를 시행하여 진단하였다.

비용의 크기는 Lund-Kennedy scoring system에 따라 비

용이 없는 경우를 0점, 하비갑개의 상연까지 비용이 자라난 경우 1점, 하비갑개의 상연과 하연 사이까지 비용이 자라난 경우를 2점, 비용이 하비갑개 하연보다 더 아래까지 자라난 경우를 3점으로 분류하였고 양측의 내시경 점수를 합산하여 분석하였다.²⁰⁾

CT상의 질환의 범위는 Lund-MacKay CT score에 따라 상악동, 전사골동, 후사골동, 접형동, 전두동에 대해서는 혼탁이 없는 경우는 0점, 부분적인 혼탁은 1점, 전반적인 혼탁은 2점으로 평가하였으며, 부비동개구연합(OMU) 부위에 대해서는 혼탁 여부에 따라 0점과 2점만으로 점수를 매긴 후 양측의 점수를 합하여 평가 하였다.²¹⁾

호산구성 비용은 상악동에 비해 사골동이 주로 이환되어 있다고 알려져 있다. 따라서, 사골동의 이환 여부와 정도를 평가하기 위해 사골동/상악동 침범 비율(ethmoid/maxillary ratio,

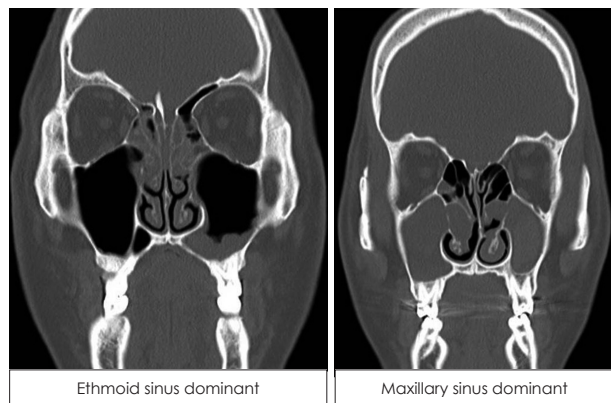


Fig. 1. Representative CT findings of ethmoid sinus dominant & maxillary sinus dominant CRSwNP.

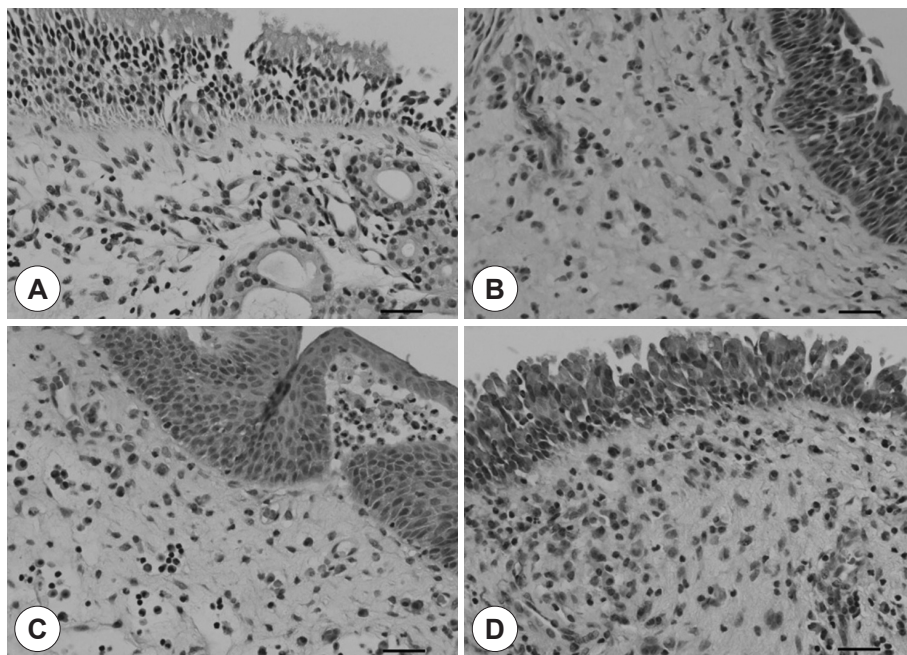


Fig. 2. Classification of patients with chronic rhinosinusitis with nasal polypsis according to the histopathologic feature of the nasal polyp. A: Control. B: EP. C: NP. D: NENP. H&E stain ($\times 400$). Scale bar: 20 μ m. EP: eosinophilic polyp. NP: neutrophilic polyp. NENP: non-eosinophilic & non-neutrophilic polyp.

E/M ratio)을 측정하였다. E/M ratio는 Lund-MacKay score에 따라 전사골동과 상악동에서만 점수를 측정하여 각각의 점수에 1점을 더하여 전사골동 점수를 상악동 점수로 나눈 것이다. 이 점수가 1보다 높게 측정되면 병변이 상악동 보다 전사골동을 더 침범했다고 해석할 수 있다(Fig. 1).²²⁾

수술 전 시행한 전혈구 검사(Complete blood cell count, CBC)에서 호산구 비율(Percentage of eosinophil, %)을 측정하였고, MAST에서 혈청 총 IgE를 측정하여 분석하였다.

환자의 비용에 침착된 호산구와 혈액의 호산구가 서로 연관성이 있는 지, 또한 비용에 침착된 호산구와 Lund-MacKay CT score가 연관성이 있는지 알아보고자 연관 분석을 시행하였다.

비용의 분류

비용은 조직 내 염증세포의 침윤 정도에 따라 호산구성(Eosinophilic polyp, EP), 호중구성(Neutrophilic polyp, NP), 비호산구성-비호중구성(Non-eosinophilic & neutrophilic, NENP) 비용으로 나누었다(Fig. 2). 비용조직을 H&E 염색을 한 후에 광학현미경을 보면서 세포가 비교적 균일하게 분포한 부위 10군데를 임의로 선택하여 400배 고배율로 호산구 및 호중구 수를 측정하였다.

평균 호산구 수가 100개 이상인 경우를 호산구성 비용(eosinophilic polyp, EP)으로, 100개 미만인 경우 중 평균 호중구 수가 20개 이상인 경우를 호중구성 비용(neutrophilic polyp, NP), 평균 호중구 수가 20 미만일 경우를 비호산구성-비호중구성 비용(non-eosinophilic & non-neutrophilic polyp,

NENP)으로 정의하였다.³⁾

수술 후 경과 관찰

부비동내시경수술 후 2주, 4주, 8주, 12주 간격으로 외래에서 추적관찰을 하였고, 추적기간 동안 모든 환자에게 국소 스테로이드와 저용량의 마크로라이드를 투여하였다. 추적기간 동안 점막의 부종이 심하거나 비용이 재발하는 경우, 후각기능의 소실이 있는 경우에는 경구 스테로이드(prednisolon 20~30 mg)를 1~2주간 처방하였다. 모든 환자에 대해 경구 스테로이드의 사용여부를 조사하였다.

수술 후 3개월이 경과한 후 외래에서 내시경으로 수술부위를 관찰하였다. 1992년 Kennedy가 제시한 기준에 따라 점막의 부종, 염증, 화농성 비루, 가피, 유착, 비용 등이 없는 경우를 수술 후 경과가 좋은 군으로 분류하였고, 이들 소견 중 하나라도 관찰이 되는 경우는 경과가 좋지 않은 군으로 분류하였다.²³⁾

수술 후 추적기간 동안 재발한 비용에 대해 수술을 시행하였는지 여부도 조사하였다.

HE stain and immunohistochemistry

10% 중성 포르말린 고정과 파라핀 포매를 거친 조직을 3 μ m 두께로 연속 절편을 만들었다. H&E 염색은 100% xylene으로 탈파라핀을 하고 무수알코올 90%, 75% 및 50% 에탄올에 각각 2분씩 처리하여 함수시켰다. 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위해 3% 과산화수소에 10분간 처리하고 증류수로 세척하였고 hematoxyline 용액에 3분, eosin 용액에 10분간 처리하고 탈수 후 봉입하였다.

면역염색은 100% xylene으로 탈파라핀을 하고 무수알코올 90%, 75% 및 50% 에탄올에 각각 2분씩 처리하여 함수시켰다. 내인성 과산화효소의 활성을 억제하기 위해 3% 과산화수소에 10분간 처리하고 증류수로 세척한 다음 50 mM Tris 완충용액(TBS, pH7.5)으로 수세하였다. 그 다음 비특이성 반응을 제거한 후 일차항체인 human IL-33에 대한 rabbit polyclonal antibody(Abcam, Cambridge, USA), human IL-25에 대한 rabbit polyclonal antibody(Abcam, Cambridge, USA)를 Tris 완충 용액에 1:200으로 희석하여 4°C에서 하

루 밤 동안 반응시켰다. 일차 항체 반응 후 Tris 완충용액으로 수세하고 각각에 맞는 이차항체를 실온에서 30분간 반응시켰다. Tris 완충용액으로 수세하고 발색제인 3, 3'-diaminobenzidine tetrachloride 용액을 가하여 발색반응을 관찰하면서 5분간 반응시킨 후에 봉입하였다.

면역조직화학염색을 마친 슬라이드는 광학현미경을 이용하여 무작위로 3곳을 선정하여 400배 배율로 관찰하였고, 면역반응을 보인 세포의 수를 측정하였다. IL-25와 IL-33은 상피층과 상피하층을 따로 각각 측정하였다. 염색결과 판독은 환자의 임상정보를 모르는 2명의 병리의사에 의하여 이루어졌다.

통계분석(Statistic analysis)

SPSS(version 20.0, SPSS, Inc., Chicago, IL)을 이용하였다. 성별, 나이, 동반 질환 유무, 후각 이상, Serum total IgE, 경과가 좋지 않은 경우, 경구 스테로이드, 재수술에 대해서는 independent T-test 로 분석하였다. CBC에서 호산구 비율, Lund-Mackay CT score, E/M ratio, IL-25, IL-33 양성 세포의 수를 One-way ANOVA method로 분석 후 Tukey method로 사후분석을 하였다. 비용에 침착된 호산구 수와 CBC에서 호산구 비율, Lund-MacKay CT score가 연관성이 있는지 Pearson correlation으로 분석하였다. 모든 결과값은 p값이 0.05 이하인 경우를 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

환자의 특성(Table 1)

116명의 CRSwNP 환자 중 남자가 78명, 여자가 38명이었다. 연령 분포는 12세에서 81세로 평균연령은 43.4세였다. 6명의 대조군은 남자가 4명, 여자가 2명이었고 연령분포는 18세에서 65세로평균 연령은 44.5세였다. 두 군 간에 성별과 나이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. CRSwNP 환자를 비용조직 내 침착된 염증세포에 따라 분류하였을 때 EP군이 38명, NP군은 15명, NENP군은 63명이었다. 대조군에서는 천식이 관찰되지 않았으나 EP군에서 38명 중 7명(18.5%), NP군에서 15명 중 1명(6.7%), NENP군에서 63명

Table 1. Patients characteristics

	Control (n=6)	EP (n=38)	NP (n=15)	NENP (n=63)
Sex, male, n (%)	4 (66.7)	22 (57.8)	12 (80)	44 (69.8)
Age, mean \pm SD	44.5 \pm 18.2	42.2 \pm 13.7	44.1 \pm 16.1	42.7 \pm 17.0
Asthma, n (%)	0	7 (18.5)*	1 (6.7)	3 (4.5)
Allergic rhinitis, n (%)	0	5 (13.2)	2 (13.3)	7 (11.1)

*: p < 0.05 compared with other groups. EP: eosinophilic polyp, NP: neutrophilic polyp, NENP: non-eosinophilic & non-neutrophilic polyp

Table 2. Clinical features of patients

	Control	EP	NP	NENP
Olfactory dysfunction, n (%)	0	32 (84.2)*	8 (53.3)	47 (69.1)
Blood eosinophil (%)	1.67 ± 1.4	6.8 ± 3.3**	2.1 ± 1.5	3.2 ± 1.7
Lund-kennedy endoscopic score	0	2.9 ± 1.0	2.8 ± 1.3	3.3 ± 1.2
Lund-mackay CT score	0	13.7 ± 3.8	12.5 ± 3.9	15.9 ± 5.2
E/M ratio				
Total	—	1.77 ± 0.8**	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.3
Rt	—	1.7 ± 0.7*	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.3
Lt	—	1.88 ± 0.2**	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.3

*: $p < 0.05$ compared with other groups, **: $p < 0.001$ compared with other groups. EP: eosinophilic polyp, NP: neutrophilic polyp, NENP: non-eosinophilic & non-neutrophilic polyp, E/M ratio: Ethmoid/Maxillary ratio of modified Lund-Mackay CT score and this ratio was calculated from unilateral side

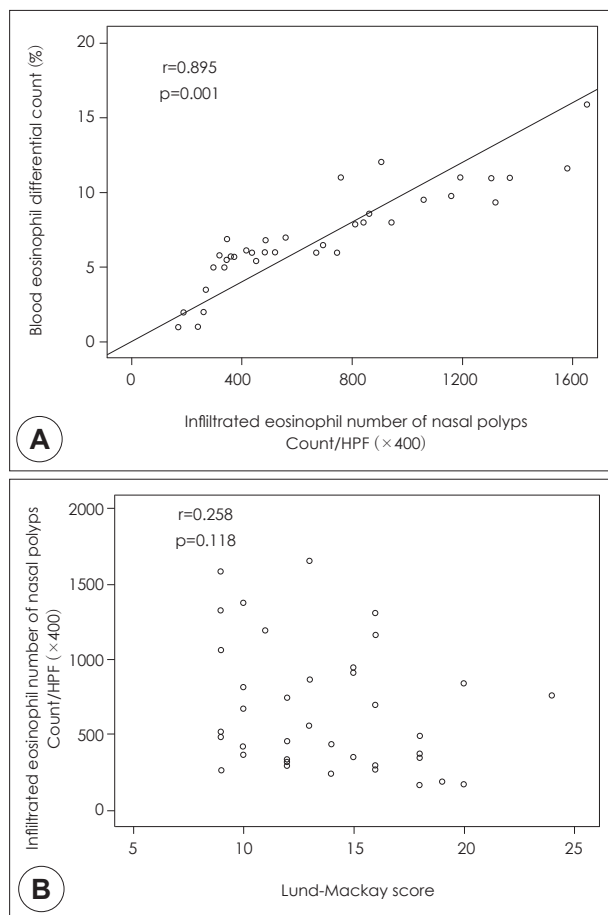


Fig. 3. Correlation of blood eosinophil differential count and infiltrated eosinophil number of nasal polyps (A) and Relationship of infiltrated eosinophil number of nasal polyp and Lund-Mackay score (B) in patients with eosinophilic nasal polyp.

중 3명(4.5%)에서 천식이 동반되었으며, EP군에서 다른 군들에 비해 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p=0.038$). 알레르기 비염은 대조군에서 관찰되지 않았으며, EP군에서 38명 중 5명(13.2%), NP군에서 15명 중 2명(13.3%), NENP군에서 63명 중 7명(11.1%)이 동반되었으며 각군간에 통계적으로 유의한

Table 3. Post-operative outcomes of patients

	EP	NP	NENP
Recurrent polyposis, n (%)	11 (29)*	2 (13.4)	4 (5.9)
Oral steroid therapy, n (%)	12 (31.6)*	1 (6.7)	4 (5.9)
Revision surgery, n (%)	—	—	2 (3.2)

*: $p < 0.05$, compared with other groups. EP: eosinophilic polyp, NP: neutrophilic polyp, NENP: non-eosinophilic & non-neutrophilic polyp

차이는 보이지 않았다($p=0.98$).

임상적 특징(Table 2)

환자의 주관적 증상 중 후각감소 또는 후각소실을 호소하는 후각이상 환자는 대조군에서는 관찰되지 않았고, EP군은 32명(84.2%), NP군 8명(53.3%), NENP군은 47명(69.1%)이었으며, EP군에서 다른 군들에 비해 통계적으로 유의한 차이를 보였다($p=0.014$).

평균 혈액 호산구 백분율(%)은 대조군이 1.7%, EP군은 6.8%, NP군은 2.1%, NENP군은 3.2%로 EP군에서 다른 군들에 비해 통계적으로 의미 있게 높았다($p=0.001$).

Serum total IgE 가 100 IU/mL 이상으로 증가한 환자는 대조군에서는 관찰되지 않았으며, EP군이 12명(31.6%), NP군이 4명(26.7%), NENP군은 15명(20.1%)으로 각 군 사이에 통계적으로 유의한 차이는 없었다($p=0.26$).

Lund-Kennedy endoscopic score는 EP군은 2.9 ± 1.0 , NP군은 2.8 ± 1.1 , NENP군은 3.3 ± 1.1 이었으며 각 군 사이에 통계적으로 유의한 차이는 없었다($p=0.78$).

Lund-Mackay CT score는 EP군이 13.7 ± 3.8 , NP군이 12.5 ± 3.9 , NENP군이 15.9 ± 5.2 이었으며 이 점수 역시 각 군 사이에 통계적으로 유의한 차이는 없었다($p=0.29$).

E/M ratio는 질환의 범위가 좌, 우측이 서로 다를 수 있으므로 좌, 우측을 따로 분석하였다. 우측 E/M ratio는 EP군이 1.7 ± 0.7 , NP군이 0.8 ± 0.2 , NENP군은 0.9 ± 0.3 으로 측정되

었고 EP군이 다른 군들에 비해 통계적으로 유의하게 높았다 ($p=0.003$). 좌측 E/M ratio도 EP이 1.9 ± 0.2 , NP군이 0.8 ± 0.2 , NENP군이 0.9 ± 0.3 이었고 EP군이 다른 군들에 비해 통계적으로 유의하게 높았다($p=0.001$).

환자의 비용에 침착된 호산구 수와 말초혈액 호산구 수는 서로 양의 상관 관계가 있었다(Fig. 3A, $p=0.001$). 하지만, 비

용에 침착된 호산구 수와 Lund-MacKay CT score는 사이에는 의미 있는 연관성을 보이지 않았다(Fig. 3B, $p=0.118$).

수술 후 결과(Table 3)

수술 후 12주째에 비내시경을 통해 관찰을 하였을 때 경과가 좋지 않은 환자는 EP군이 11명(29%), NP군 2명(13.4%),

Table 4. Number of IL-33 and IL-25 positive cells in the epithelium and subepithelium among the groups. Mean \pm SD/HPF ($\times 400$)

		Control	EP	NP	NENP
IL-33	Epithelium	38.0 \pm 9.3	40.9 \pm 9.2	46.2 \pm 8.8	39.3 \pm 8.2
	Sub-epithelium	19.0 \pm 7.6	70.0 \pm 10.8*	45.1 \pm 15.9 [†]	43.6 \pm 13.5 [†]
IL-25	Epithelium	26.3 \pm 8.1	32.4 \pm 8.7	34.6 \pm 8.7	28.9 \pm 10.1
	Sub-epithelium	14.5 \pm 4.6	60 \pm 11.5*	37.3 \pm 13.0 [†]	43.5 \pm 14.6 [†]

*: $p<0.05$ compared with other groups, [†]: $p<0.05$ compared with control group. EP: eosinophilic polyp, NP: neutrophilic polyp, NENP: non-eosinophilic & non-neutrophilic polyp

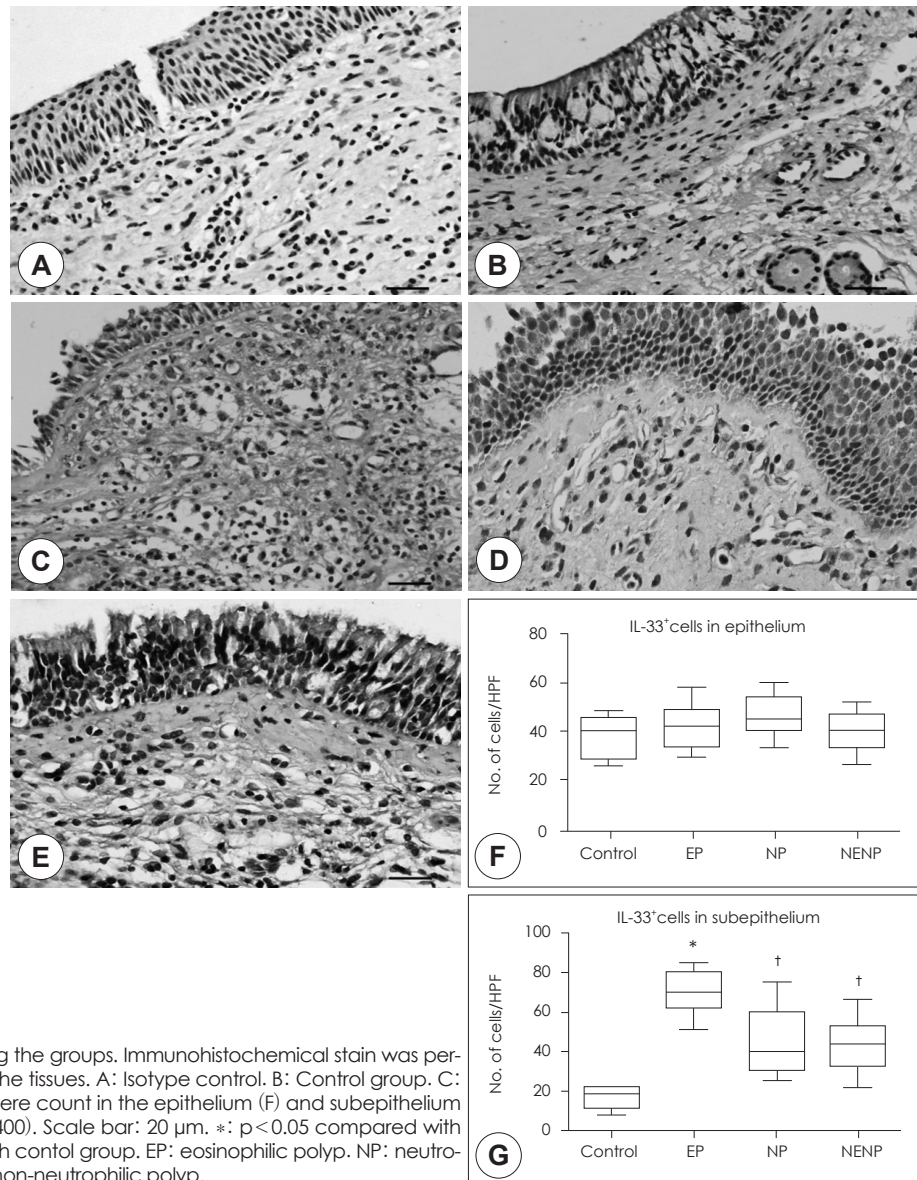


Fig. 4. Expression patterns of IL-33 among the groups. Immunohistochemical stain was performed to detect of IL-33 expression in the tissues. A: Isotype control. B: Control group. C: EP. D: NP. E: NENP. IL-33 positive cells were count in the epithelium (F) and subepithelium (G). Immunohistochemical staining ($\times 400$). Scale bar: 20 μ m. *: $p<0.05$ compared with other groups, [†]: $p<0.05$ compared with control group. EP: eosinophilic polyp. NP: neutrophilic polyp. NENP: non-eosinophilic, & non-neutrophilic polyp.

NENP군은 4명(5.9%)으로 EP군이 다른 군들에 비해 통계적으로 의미 있게 많았다($p=0.02$).

수술 후 12주 동안 경구 스테로이드를 투여한 환자는 EP군이 12명(31.6%), NP군이 1명(6.7%), NENP군이 4명(5.9%)이었으며, 이 수 또한 EP군이 다른 군들에 비해 통계적으로 유의하게 많았다($p=0.006$).

수술 후 경과관찰기간 동안 비용 절제술(Touch-up procedure)을 포함한 수술을 시행한 환자는 NENP군에서만 68명 중 2명(3.2%)이었으며, 각 군간에 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($p=0.64$).

Expression pattern of IL-33 and IL-25(Table 4)

IL-33은 비점막 상피층 세포와 상피하층 세포들에서 발현

이 되었다(Fig. 4). IL-33의 조직 내 발현은 비점막 상피층과 상피하층에서 따로 분석을 하였다. 비점막 상피층에서 IL-33을 발현하는 세포의 수는 대조군이 38.0 ± 9.3 , EP군이 40.9 ± 9.2 , NP군이 46.2 ± 8.8 , NENP군이 39.3 ± 8.2 였다. 그 결과 IL-33을 발현하는 세포 수는 상피층에서는 각 군 사이에 통계적으로 의미 있는 차이를 보이지 않았다(Fig. 4F). 상피 하층에서는 IL-33을 발현하는 세포의 수가 대조군이 19.0 ± 7.6 , EP군이 70.0 ± 10.8 , NP군이 45.1 ± 15.9 , NENP군이 43.6 ± 13.5 이었다. 상피 하층에서는 EP군이 NP군, NENP군, 대조군에 비해 IL-33을 발현하는 세포의 수가 통계적으로 유의하게 높았다. NP군과 NENP군 사이에서 의미 있는 차이를 보이지 않았지만, 두 군 모두 대조군에 비해 IL-33을 발현하는 세포의 수가 통계적으로 유의하게 높았다(Fig. 4G).

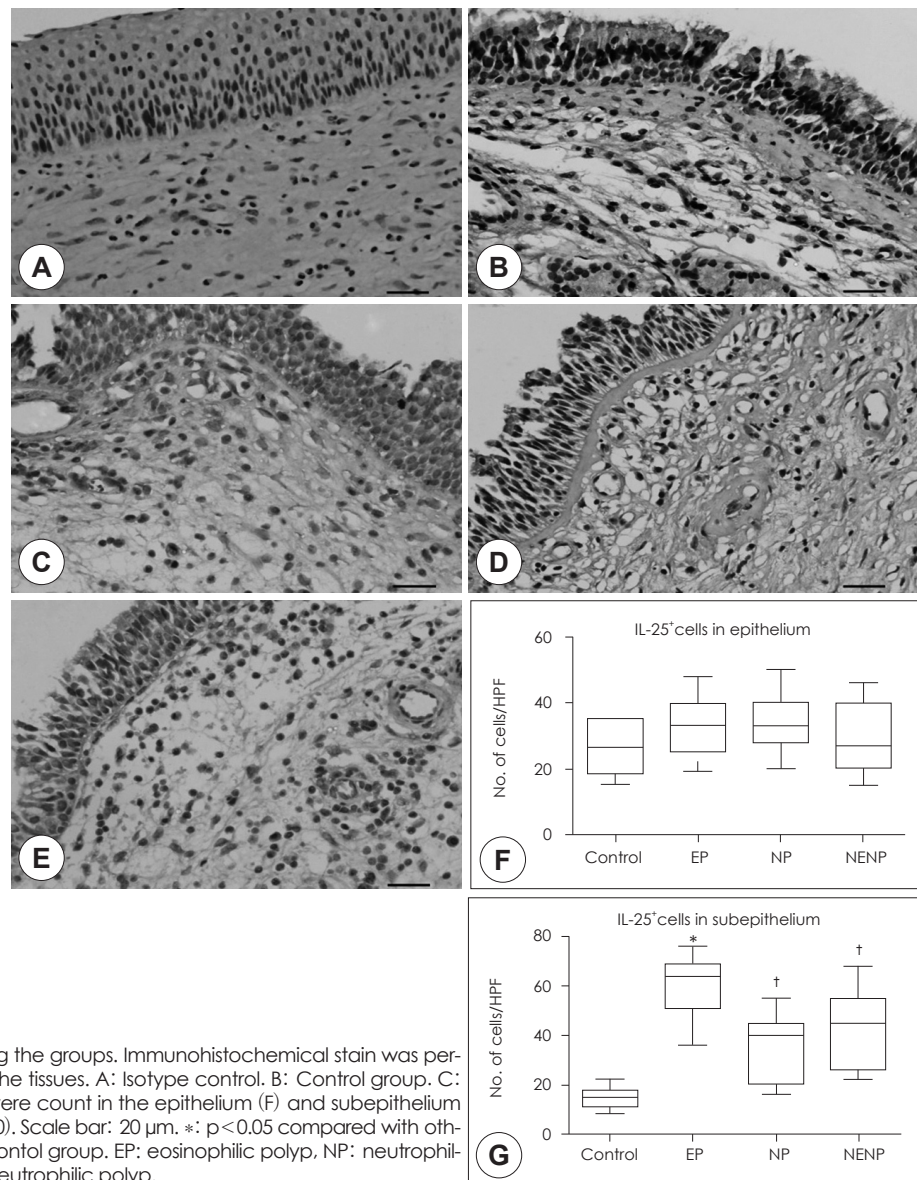


Fig. 5. Expression patterns of IL-25 among the groups. Immunohistochemical stain was performed to detect of IL-25 expression in the tissues. A: Isotype control. B: Control group. C: EP. D: NP. E: NENP. IL-25 positive cells were count in the epithelium (F) and subepithelium (G). Immunohistochemical staining ($\times 400$). Scale bar: 20 μ m. *: $p < 0.05$ compared with other groups, †: $p < 0.05$ compared with contol group. EP: eosinophilic polyp, NP: neutrophilic polyp, NENP: non-eosinophilic & non-neutrophilic polyp.

IL-25 역시 비점막의 상피층과 상피하층 세포들에서 발현이 되었다(Fig. 5). 상피층에서 IL-25를 발현하는 세포수는 대조군이 26.3 ± 8.1 , EP군이 32.4 ± 8.7 , NP군이 34.6 ± 8.7 , NENP군이 28.9 ± 10.1 이었고, 상피하층에서는 대조군이 14.5 ± 4.6 , EP군이 60 ± 11.5 , NP군이 37.3 ± 13.0 , NENP군이 43.5 ± 14.6 이었다. 상피층에서 IL-25를 발현하는 세포 수는 각 군에서 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았으나(Fig. 5F). 상피하층에서는 IL-25를 발현하는 세포 수는 EP군이 다른 군들에 비해 통계적으로 의미 있게 많았고, NP군과 NENP군 사이에 통계학적으로 의미 있는 차이를 보이지 않지만, 두 군 모두 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 많았다(Fig. 5G).

고 찰

만성비루비동염은 비용을 동반하거나 동반하지 않으며 모든 만성비루비동염 환자 중 약 20%가 비용을 동반하는 것으로 알려져 있다.²⁴⁾ 서양인의 비용은 주로 조직 내 호산구증과 그와 관련된 싸이토카인의 증가가 특징인 반면 동양인의 비용은 조직 내 호산구증이 없는 비용이 상대적으로 많다.²⁵⁾ 저자들은 비용환자를 호산구성 비용, 호중구성 비용, 비호산구성-비호중구성 비용으로 분류하였는데 116명의 환자 중 호산구성 비용이 38(33%)명, 비호산구성 비용이 78명(67%)으로 비호산구성 비용의 비율이 더 높음을 알 수 있었다. 한국인을 대상으로 한 다른 연구에서도 비호산구성 비용이 66.7%를 차지해 본 연구와 비슷한 분포를 보였다.²⁶⁾ 이 연구에서는 호산구성 비용에 비해 비호산구성 비용에서 기저막(basement membrane)의 두께가 통계적으로 의미 있게 얇다고 보고하였다.²⁶⁾ Ikeda 등은 조직 내 침윤된 호산구 및 호중구의 분포를 조사하여 호산구성 비용, 호중구성 비용, 비호산구성-비호중구성 비용으로 분류하였고 각각, 32.3, 20.7, 46.9%의 비율로 분포한다고 보고하였다.³⁾ 본 연구도 이들의 기준으로 비용을 분류하였고 호산구성 비용이 32.7%, 호중구성비용이 12.9%, 비호산구성-비호중구성 비용이 54.3%로 이들 연구와 비슷한 분포를 보였다.

비용의 유병율은 천식, 만성 섬유증, 아스피린 불내성 등의 질환에서 증가하는 것으로 알려져 있다. 하지만, 알레르기 비염의 경우 비용의 유병율에 거의 영향이 없다고 알려져 있다.^{27,28)} 본 연구에서는 천식이 동반된 환자의 비율이 호산구성 비용 환자에서 다른 군들에 비해 의미 있게 높았다. 천식이 동반된 만성 비루비동염 환자에서 비용이 천식의 국소적인 증상 발현에 의해 나타나는지 여부는 아직 확실하지 않다. 비용과 천식이 같이 동반된 경우 비용과 기관지 점막 모두 상피의 손상, 배상세포의 증식, 기저막의 비후, 세포외 기질의 축적, 섬

유화, 호산구 우위의 염증반응을 보이는 것으로 알려져 있다.^{29,30)} 따라서 천식과 비용은 서로 관련된 질환으로 생각되며, 특히, 호산구성 비용은 천식과 서로 밀접한 연관성이 있음을 알 수 있다.

호산구성 비용 환자에게 흔한 증상 중의 하나가 비폐색이다. 하지만, 많은 경우에 후각의 감소 또는 소실이 비폐색보다 더 조기에 나타난다고 알려져 있고 비호산구성 비용과 구별되는 증상 중의 하나라고 알려져 있다.³¹⁾ 본 연구에서도 후각감소와 후각소실을 포함한 후각이상을 호소하는 환자의 비율이 호산구성 비용에서 다른 군들의 환자에 비해 의미 있게 높았다. 후각이상은 CT촬영에서 확인 할 수 있는 후열의 혼탁화와 연관이 있고 후열의 염증상태는 전반적인 환자의 염증상태와 관련이 있을 수 있다.²⁰⁾ 하지만, 본 연구에서는 질환의 범위를 계측하는 방법 중의 하나인 Lund-Mackay CT score와 Lund-Kennedy endoscope score 결과 모두에서 세 군간에 의미있는 차이를 보이지 않았다. 따라서, 호산구성 비용 환자는 전도성 후각장애와 더불어 다른 요인에 의해 후각이상이 조기에 나타나는 것으로 생각되며 이에 대한 연구가 추가적으로 필요할 것으로 사료된다.

호산구성 비용의 특징 중 하나가 말초 혈액 내의 호산구의 증가이다. Hoover 등³²⁾은 약물 치료에 반응을 보이지 않는 만성 비루비동염 환자에서 말초혈액 호산구 수치가 $200/\mu\text{L}$ 이상인 경우 병변의 정도가 심하였고, $400/\mu\text{L}$ 이상인 경우 심한 병변을 가질 수 있는 양성 예측률이 92% 였다고 보고하였다. 본 연구에서도 호산구성 비용 군이 다른 군에 비해 말초혈액 호산구의 비율이 통계적으로 유의하게 높았고 비용조직 내의 호산구 수와 양의 상관관계를 보였다. 하지만, 질환의 범위 또는 심각도를 나타내는 Lund-Mackay CT score와 비용 내 호산구의 수는 통계적으로 유의한 상관관계를 보이지 않았다. 또한, 본 연구에서는 호산구성 비용 환자에서 수술 후 경과가 좋지 않은 경우가 더 많았고 경구 스테로이드의 복용도 통계적으로 의미 있게 많았다. 따라서, 말초혈액 호산구수는 조직 내 호산구 침윤과 관련이 깊고 술 후 경과에 영향을 미치는 인자로 고려할 수 있지만 수술 전 질환의 심각도와는 관련이 없다고 할 수 있다.

호산구성 비용은 상악동에 비해 사골동을 주로 침범한다고 알려져 있다.^{20,30)} 본 연구에서도 Lund-Mackay score는 세 군간의 통계적 차이를 보이지 않았으나, 호산구성 비용 환자의 평균 E/M ratio가 1 이상으로 다른 군에서보다 통계적으로 유의하게 높았다. 호산구성 비용에서 사골동의 병변이 더 두드러지게 나타나는 정확한 기전은 잘 알려지지 않았다. 호산구성 비용에서는 사골동과 상악동 점막 내 염증세포반응이 서로 다르다고 알려져 있다.³³⁾ 즉, 사골동에서는 상악동에 비

해 비만세포, Th2 세포 등이 더 많이 관찰되고 Th2 싸이토카인의 발현이 더 증가해 있다. 따라서, 호산구성 비염에서는 사골동에서 상악동에 비해 더 강력한 염증반응이 일어나는 것으로 생각이 된다.³³⁾ 또한, 호산구성 비염은 OMU를 침범하는 비호산구성 비염에 비해 주로 전, 후 사골동을 모두 침범하고 이로 인해 후사골동의 침범이 더 흔한 호산구성 비염에서 E/M ratio가 더 높게 나왔을 가능성도 있다.²²⁾

최근에 한국인을 대상으로 한 연구에서는 호산구성 비염군과 비호산구성 비염군 사이에 수술 후 내시경 점수에 의미 있는 차이가 없다고 하였다.³⁴⁾ 하지만, 호산구성 비염이 수술 후 불량한 예후를 보인다는 사실은 여러 연구에서 보고되어 왔다.¹⁷⁾²⁰⁾³²⁾ 본 연구에서도 호산구성 비염환자가 수술 후 비염의 재발과 경구 스테로이드의 사용이 통계적으로 유의하게 높았다. 하지만, 재수술의 비율은 각 군 사이에 의미 있는 차이가 없었는데 수술 후 추적기간이 짧았기 때문인 것으로 생각된다. 따라서 수술 후 각 군에서 예후를 판단하기 위해서는 보다 긴 기간 동안 추적관찰을 해야 할 것으로 생각된다.

천식과 다른 알레르기 질환들은 IgE, 호산구, IL-4, IL-5, IL-13등의 발현 증가를 특징으로 하는 면역학적으로 Th2에 편향된 염증반응을 보인다. 하지만, 최근에는 IL-25, IL-33, TSLP와 같은 또 다른 2형 싸이토카인들이 이러한 알레르기 질환의 병태생리에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 최근에 기술되는 선천면역세포들(innate immune cells)중 ILC2s가 이들 싸이토카인의 표적세포라고 할 수 있는데 이들 싸이토카인에 의해 유도된 ILC2s는 적응면역(adaptive immune response)과 무관하게 IL-5와 IL-13와 같은 Th2 싸이토카인을 다량으로 생산한다.³⁵⁾ 그 동안 소수의 연구에서 CRSwNP 환자에서 IL-33의 발현을 평가하였는데 아직까지 IL-33의 발현에 대해 일지된 견해는 없는 것 같다. Baba 등¹⁹⁾은 호산구성 비부비동염과 비호산구성 비부비동염 환자의 비염 조직에서 IL-33과 IL-33의 수용체인 ST2의 mRNA 발현을 측정하였는데 호산구성 비염에서 비호산구성 비염에 비해 ST2의 mRNA 발현은 증가하였지만 IL-33의 mRNA 발현은 차이가 없다고 보고하였다. 본 연구에서는 상피하층에서는 대조군과 비염조직간에 IL-33의 발현이 차이가 없었다. 하지만, 상피하층에서는 비염조직에서 대조군 점막조직에 비해 IL-33의 발현이 증가하였고 호산구성 비염에서는 그 발현이 더 증가 함을 알 수 있었다. IL-33은 대부분이 점막상피세포에서 발현이 되므로 상피층과 상피하층을 분리하여 분석하지 않으면 상피하층에서 IL-33의 발현에 차이가 상피층의 발현에 의해 가려질 수 있고, 이러한 효과는 우리의 연구 결과가 이전 연구와 차이를 보인 이유일 수 있다. Douglas 등³⁶⁾은 수술 후 6주 이상 재발성 비염이 지속되는 환자군과 그렇지 않은 군으

로 분류하여 비염 조직에서 IL-33의 mRNA의 발현을 분석하였는데, IL-33이 재발성 비염이 지속되는 환자군에서 3배 이상 높게 발현되었으며 통계적인 유의성을 보인다고 하였다. 이 결과는 염증의 심각도가 상피하층의 염증세포 침윤과 더 관련이 있으므로 상피하층에서 IL-33 발현의 차이가 비염 환자의 예후와 더 관련이 있음을 시사한다. IL-25는 IL-17계통의 선천성 싸이토카인(innate cytokine)으로 IL-33과 마찬가지로 Th2 염증반응을 유도하는 것으로 알려져 있다. 하지만, 만성 비부비동염에서 IL-25발현을 분석한 연구는 상대적으로 적다. 본 연구에서 IL-25의 발현을 각각의 군에서 측정하였으며 IL-33과 동일한 결과를 얻을 수 있었다. 본 연구에서는 IL-25와 IL-33을 발현하는 상피하층의 염증세포들에 대한 분석은 이루어지지 않았지만 향후 이들 세포들에 대한 특성을 밝히는 연구가 반드시 필요할 것으로 사료된다.

본 연구를 통해 드러난 호산구성 비염의 특징 들을 요약해 보면 다음과 같다. 호산구성 비염은 호중구성 비염과 비호산구성-비호중구성 비염에 비해 천식을 동반할 가능성이 높고, 후각장애를 호소하는 경우가 더 많고, 말초혈액 호산구 수가 더 높고, CT상에 상악동에 비해 사골동을 더 침범하고, 수술 후 더 좋지 않은 예후를 가지며, 따라서 경구 스테로이드 제제의 사용이 더 빈번하고, 상피하층의 염증세포들에서 2형 싸이토카인인 IL-25와 IL-33의 발현이 증가한다.

중심 단어 : 비염 · 비부비동염 · 호산구 · IL-25 · IL-33.

REFERENCES

- 1) Taylor MJ, Ponikau JU, Sherris DA, Kern EB. Detection of fungal organisms in eosinophilic mucin using a fluorescein-labelled chitin specific binding protein. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;127(5): 377-83.
- 2) Bachert C, Gevaert P, van Cauwenberge P. Staphylococcus aureus superantigens and airway disease. *Curr Allergy Asthma Rep* 2002; 2:252-8.
- 3) Ikeda K, Shiozawa A, Ono N, Kusunoki T, Hirotsu M, Homma H, et al. Subclassification of chronic rhinosinusitis with nasal polyp based on eosinophil and neutrophil. *Laryngoscope* 2013; 123:E1-9.
- 4) Yao T, Kojima Y, Koyanagi A, Yokoi H, Saito T, Kawano K, et al. Eotaxin-1, -2, and -3 immunoreactivity and protein concentration in the nasal polyps of eosinophilic chronic rhinosinusitis patients. *Laryngoscope* 2009;119:1053-9.
- 5) Saitoh T, Kusunoki T, Yao T, Kawano K, Kojima Y, Miyahara K, et al. Role of interleukin-17A in the eosinophil accumulation and mucosal remodeling in chronic rhinosinusitis with nasal polyps associated with asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 2010;151:8-16.
- 6) Suzuki H, Takahashi Y, Wataya H, Ikeda K, Nakabayashi S, Shimomura A, et al. Mechanism of neutrophil recruitment induced by IL-8 in chronic sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 1996;98:659-70.
- 7) Suzuki H, Ikeda K. Mode of action of long-term low-dose macrolide therapy for chronic sinusitis in the light of neutrophil recruitment. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2002;1:117-26.

- 8) Soler ZM, Sauer D, Mace J, Smith TL. Impact of mucosal eosinophilia and nasal polyposis on quality-of-life outcomes after sinus surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2010;142:64-71.
- 9) Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 2005;23:479-90.
- 10) Lambrecht BN, De Veerman M, Coyle AJ, Gutierrez-Ramos JC, Thielemans K, Pauwels RA, et al. Myeloid dendritic cells induce Th2 responses to inhaled antigen, leading to eosinophilic airway inflammation. *J Clin Invest* 2000;106:551-9.
- 11) Wynn TA. Fibrotic disease and the T(H)1/T(H)2 paradigm. *Nat Rev Immunol* 2004;4:583-94.
- 12) Verri WA Jr, Guerrero AT, Fukada SY, Valerio DA, Cunha TM, Xu D, et al. IL-33 mediates antigen-induced cutaneous and articular hypernociception in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:2723-8.
- 13) Fallon PG, Ballantyne SJ, Mangan NE, Barlow JL, Dasvarma A, Hewett DR, et al. Identification of an interleukin (IL)-25-dependent cell population that provides IL-4, IL-5, and IL-13 at the onset of helminth expulsion. *J Exp Med* 2006 203:1105-16.
- 14) Fort MM, Cheung J, Yen D, Li J, Zurawski SM, Lo S, et al. IL-25 induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies in vivo. *Immunity* 2001;15:985-95.
- 15) Spits H, Di Santo JP. The expanding family of innate lymphoid cells: regulators and effectors of immunity and tissue remodeling. *Nat Immunol* 2011;12:21-7.
- 16) Spits H, Cupedo T. Innate lymphoid cells: emerging insights in development, lineage relationships, and function. *Annu Rev Immunol* 2012; 30:647-75.
- 17) Neill DR, Wong SH, Bellosi A, Flynn RJ, Daly M, Langford TK, et al. Nuocytes represent a new innate effector leukocyte that mediates type-2 immunity. *Nature* 2010;464:1367-70.
- 18) Shaw JL, Fakhri S, Citardi MJ, Porter PC, Corry DB, Kheradmand F, et al. IL-33-responsive innate lymphoid cells are an important source of IL-13 in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Am J Respir Crit Care Med* 2013;188:432-9.
- 19) Baba S, Kondo K, Kanaya K, Suzukawa K, Ushio M, Urata S, et al. Expression of IL-33 and its receptor ST2 in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Laryngoscope* 2014;124:E115-22.
- 20) Lildholdt T, Rundcrantz H, Bende M, Larsen K. Glucocorticoid treatment for nasal polyps. The use of topical budesonide, intramuscular betamethasone, and surgical treatment. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1997;123:595-600.
- 21) Lund VJ, MacKay IS. Staging in rhinosinusitis. *Rhinology* 1993;31 (4):183-4.
- 22) Sakuma Y, Ishitoya J, Komatsu M, Shiono O, Hiramasa M, Yamashita Y, et al. New clinical diagnostic criteria for eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Auris Nasus larynx* 2011;38(5):583-8.
- 23) Kennedy DW. Prognostic factors, outcomes and staging in ethmoid sinus surgery. *Laryngoscope* 1992;102(57):1-18.
- 24) Settipane GA. Epidemiology of nasal polyp. *Allergy Asthma Proc* 1996;17:231-6.
- 25) Zhang N, Van Zele T, Perez-Novo C, Van Bruaene N, Holtappels G, DeRuyck N, et al. Different types of T-effector cells orchestrate mucosal inflammation in chronic sinus disease. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:961-8.
- 26) Kim JW, Hong SL, Kim YK, Lee CH, Min YG, Rhee CS, et al. Histological and immunological features of non-eosinophilic nasal polyps. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2007;137:925-30.
- 27) Rinia AB, Kostamo K, Ebbens FA, van Drunen CM, Fokkens WJ. Nasal polyposis: a cellular-based approach to answering questions. *Allergy* 2007;62(4):348-58.
- 28) Sim JS, Kim SW, Lee KH, Cho JS. Significance of Peripheral Eosinophilia and Allergic Rhinitis in Chronic Rhinosinusitis. *Korean J Otolaryngol* 2008;51:234-9.
- 29) Bateman ND, Shahi A, Feeley KM, Woolford TJ. Activated eosinophils in nasal polyps: a comparison of asthmatic and non-asthmatic patients. *Clin Otolaryngol* 2005;30(3):221-5.
- 30) Dhong HJ, Ha BS, Rho HI, Bang EG, Lee CK. Histologic characteristics of chronic sinusitis with asthma. *Korean J Otolaryngol* 2002; 45:878-83.
- 31) Junichi I, Yasunori S, Mamoru T. Eosinophilic chronic rhinosinusitis in japan. *Allergology International* 2010;59:239-45.
- 32) Hoover GE, Newman LJ, Platts-Mills TA, Philips CD, Gross CW, Wheatley LM, et al. Chronic sinusitis: Risk factors for extensive disease. *J Allergy Clin Immunol* 1997;100:185-91.
- 33) Kamil A, Ghaffar O, Lavigne F, Taha R, Renzi PM, Hamid Q, et al. Comparison of inflammatory cell profile and Th2 cytokine expression in the ethmoid sinuses, maxillary sinuses, and turbinates of atopic subjects with chronic sinusitis. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 118:804-9.
- 34) Kim SY, Park JH, Rhee CS, Chung JH, Kim JW. Does eosinophilic inflammation affect the outcome of endoscopic sinus surgery in chronic rhinosinusitis in Koreans? *Am J Rhinol Allergy* 2013;27(6): e166-9.
- 35) Hams E, Fallon PG. Innate type 2 cells and asthma. *Curr Opin Pharmacol* 2012;12(4):503-9.
- 36) Reh DD, Wang Y, Ramanathan M Jr, Lane AP. Treatment-recalcitrant chronic rhinosinusitis with polyps is associated with altered epithelial cell expression of interleukin-33. *Am J Rhinol Allergy* 2010;24 (2):105-9.