

## 천식 소아에서 호기산화질소 농도와 기도 과민성, 혈액 호산구 수, 혈청 호산구 양이온 단백 농도와의 상관관계

고려대학교 의과대학 소아과학교실<sup>1</sup>, 고려대학교 안암병원 천식환경보건센터<sup>2</sup>

서현석<sup>1</sup> · 정보현<sup>1</sup> · 박하늘<sup>1</sup> · 서성철<sup>2</sup> · Bauer Siegfried<sup>1,2</sup>  
송대진<sup>1,2</sup> · 정지태<sup>1,2</sup> · 유 영<sup>1,2</sup>

### =Abstract=

#### Relationships between Fraction of Nitric Oxide, Airway Hyperresponsiveness, Blood Eosinophil Counts and Serum Eosinophil Cationic Protein in Asthmatic Children

Hyeon Seok Seo, MD<sup>1</sup>, Bo Hyun Chung, MD<sup>1</sup>, Ha Neul Park, MD<sup>1</sup>, Sung Chul Seo, PhD<sup>2</sup>  
Bauer Siegfried, MD<sup>1,2</sup>, Dae Jin Song, MD<sup>1,2</sup>, Ji Tae Choung, MD<sup>1,2</sup>, Young Yoo, MD<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Korea University College of Medicine, Seoul

<sup>2</sup>Environmental Health Center for Childhood Asthma, Korea University Anam Hospital, Seoul, Korea

**Purpose :** The measurement of fraction of nitric oxide (FeNO) is a noticeable tool that reflects airway inflammation in asthmatic patients. We wanted to find out the relationship between pulmonary function, bronchial hyperresponsiveness (AHR), blood eosinophilic inflammatory markers and FeNO level before and after methacholine bronchoprovocation test in asthmatic patients.

**Methods :** Fifty-five children, who visited the Allergy Clinic of Korea University Anam Hospital from March 2011 to February 2012, due to asthmatic symptoms, such as history of episodic wheezing or dyspnea during the previous year and resolved after using bronchodilators, were enrolled. We performed the baseline pulmonary function and methacholine bronchoprovocation test in the enrolled patients. Blood eosinophil counts and blood eosinophil cationic protein (ECP) were measured. FeNO levels were measured before and after the methacholine bronchoprovocation test.

**Results :** The mean FeNO levels (36.3 ppb) fell after methacholine bronchoprovocation test (25.7 ppb). Forced expiratory volume in one second (FEV<sub>1</sub>) %pred inversely correlated both with FeNO level before ( $R^2=0.07$ ,  $P=0.029$ ) and after ( $R^2=0.059$ ,  $P=0.01$ ) methacholine bronchoprovocation test. The provocative concentration, causing a 20% decrease in FEV<sub>1</sub> to methacholine (methacholine PC<sub>20</sub>) inversely correlated both with FeNO levels before ( $R^2=0.086$ ,  $P=0.001$ ) and after ( $R^2=0.141$ ,  $P=0.001$ ) the challenge. FeNO level measured at bronchoconstriction state significantly correlated with blood eosinophil counts ( $R^2=0.112$ ,  $P=0.028$ ). Serum ECP levels correlated FeNO level, neither before nor after bronchoprovocation.

**Conclusion :** The baseline FeNO levels were higher in asthmatic children. However, FeNO levels rather decreased after methacholine induced bronchoconstriction. Repeated spirometry maneuver was considered to have an effect on reducing FeNO levels. FeNO correlated with pulmonary function, airway AHR and blood eosinophil counts. [Pediatr Allergy Respir Dis(Korea) 2012;22:282-291]

**Key Words :** Asthma, Methacholine bronchoprovocation, Airway hyperresponsiveness, FeNO, Blood eosinophils, ECP

본 연구는 고려대학교 안암병원 환경부 환경보건센터 연구비(2011)로 일부 이루어 졌음.

접수: 2012년 6월 8일, 수정: 2012년 8월 20일, 승인: 2012년 9월 3일

책임저자: 유 영, 서울시 성북구 안암동 5가 126-1 고려대학교 안암병원 소아청소년과

Tel : 02)920-5090 Fax : 02)922-7476 E-mail : yoolina@korea.ac.kr

## 서 론

기관지 천식은 반복적인 천명, 가슴 답답함, 호흡 곤란, 지속적인 기침 등의 증상을 나타내며, 가역적 기도 폐쇄, 기도 과민성과 만성적인 기도 염증을 특징으로 한다. 이중 기도의 과민성은 기관지 수축제에 의해 기도가 좁아지는 기관지 반응의 정도가 정상보다 증가되어 있는 상태를 일컫는 것으로, 유전적인 측면과 기도의 생리학적 특징 이외에, 기도의 염증에서 기인하게 되며, 따라서 기도 과민성과, 염증 지표의 측정은 천식의 기전을 연구하는데 중요한 자료가 될 수 있다.

산화질소(nitric oxide, NO)는 내피 세포에서 생성되는 산소와 질소로 이루어진 화합물로서, 세동맥의 확장에 관여하는 확장 인자로 처음 알려지기 시작하였다.<sup>1)</sup> 이어 사람의 호기 내에 산화질소가 존재함이 밝혀졌고, 천식 환자에서 호기산화질소 농도(fraction of exhaled nitric oxide, FeNO)가 증가되어 있음이 밝혀지면서 기존의 천식의 특징을 밝히는데 사용되었던 지표들과의 관련성에 대한 많은 연구가 시행되어왔다.<sup>2,3)</sup> 기도 내 호기산화질소는 nitric oxide synthase (NOS)에 의해 L-arginine으로부터 생성된다. 현재까지 알려진 인체 내 NOS는 모두 세가지로, constitutional NOS (cNOS)로 불리는 endothelial NOS 및 neuronal NOS는 혈관 긴장도, 혈소판 활성화, 신경 전달 등에 관여하며, inducible NOS (iNOS)는 cytokine, endotoxin 등과 같은 염증성 자극에 의해 표현이 증가되는데 천식 환자에서의 호기산화질소 농도의 증가는 iNOS에 의한 것이다.<sup>4)</sup> 천식에서 기도 염증의 지표로써 임상적 유용성의 측면에서 호기산화질소의 역할은 논란이 있고<sup>5)</sup> 표준화 되어 있지 않다. 하지만 기존에 밝혀진 기도 염증의 지표들과 상관관계가 있으며,<sup>2,3)</sup> 천식의 중증도를 잘 반영하고,<sup>6,7)</sup> 기관지 확장제의 사용에 영향을 받지 않아<sup>8)</sup> 비침습적인 하기도 염증의 임상적 지표로서 각광받고 있고 많은 연구가 진행 중이다. 그 외에도 검사 비용이 저렴하고 시행이 간편하며 빠르다는 장점이 있다.

기도 과민성은 다양한 흡입 자극 물질에 대해 기관지의 과도한 수축이 일어나는 현상으로, 천식 환자에서 특징적으로 관찰된다. 이러한 기도 과민성과 호기산화질소 농도와의 관계에 대한 여러 연구들에서<sup>9,10)</sup> 기도 과민성과 호기산화질소는 상관관계를 보인다. 이는 기도 과민성은 유전적 소인과 더불어 기도 염증 반응이 주된 원인이므로, 기도 염증의 임상적 지표인 호기산화질소 농도와 상관관계를 보이는 것

으로 생각된다. 기도 과민성과 기도 염증이 상관관계가 있다는 보고<sup>11-13)</sup>는 이를 뒷받침한다.

천식의 기도 염증 과정에 관여하는 여러 인자 중 호산구는 호산구 양이온 단백질(eosinophil cationic protein, ECP) 등 세포 독성 단백질과 화학 매개 물질들을 분비하여 기도 점막 상피 세포의 탈락과 점막 섬모 기관의 파괴를 가져오며 이러한 염증 반응이 천식의 병인에 중요한 역할을 한다. 이러한 염증지표들과 호기산화질소 농도의 관련성에 대한 여러 연구가 진행되었고,<sup>14,15)</sup> 연구에 따라 상관관계에 차이를 보여 그 원인에 대한 연구가 필요한 실정이다.

국내에서 안정기 천식에서 하기도 염증의 지표로서 호기산화질소에 대한 연구는 많이 발표되고 있고, 천식의 급성 악화를 예측하는 인자로서 호기산화질소에 대한 연구도 있으나,<sup>16)</sup> 기도 수축 상태에서 호기산화질소 농도와 혈액 호산구성 염증지표와의 관계에 대한 연구는 없었다. 이에 저자들은 메타콜린 유발 검사를 통하여, 기도 수축 상태에서 호기산화질소 농도를 측정하여, 천식 소아에서 기저 폐기능, 메타콜린 기도 과민성, 혈액 호산구 염증지표와 메타콜린 유발 시험 전, 후에 측정한 호기산화질소 농도를 비교 분석하는 연구를 시행하였다. 본 연구의 목적은 천식 소아에서 혈액 호산구성 염증지표들과 기도 수축 전, 후의 호기산화질소 농도의 상관관계를 알아보고자 함이다.

## 대상 및 방법

### 1. 대 상

2011년 3월 1일부터 2012년 2월 29일까지 1년동안 기침, 천명, 호흡 곤란을 증상으로 고려대학교 안암병원 소아 알레르기 호흡기 클리닉을 방문한 환자 중 아래의 기준을 만족하는 6-12세 환자 55명을 대상으로 하였다. 천식의 진단은 기침, 천명, 호흡 곤란의 천식의 전형적인 증상을 보이거나, 최근 1년 사이에 기관지 확장제에 의해 호전되는 천명음 또는 호흡 곤란의 기왕력이 있는 환자로 하였고, 이들 중 메타콜린 검사에서 provocative concentration causing a 20% fall in forced expiratory volume in 1 second (PC<sub>20</sub>)가 16 mg/mL 이하인 환자를 대상으로 하였다. 검사 4주 이내에 호흡기 감염이 있었거나, 1주 이내에 스테로이드 제제를 포함한 천식 치료 약물을 사용한 경우는 연구 대상에서 제외하였다.

## 2. 방 법

### 1) 폐 기능 검사

폐 기능 검사는 미국흉부학회와 유럽호흡기학회의 지침<sup>17)</sup>에 따라 시행하였다. 흡입 스테로이드제를 포함한 모든 천식 치료 약물은 폐 기능 검사 1주 전에 중단하도록 하였다. 폐 기능은 폐 기능 측정기(1022 Digital spirometer, VIASYS, Palm Springs, CA, USA)를 이용하여 측정하였으며, 1초간 노력성 호기량(forced expiratory volume in 1 second, FEV<sub>1</sub>), 노력성 폐활량(forced vital capacity, FVC) 수치는 3회 이상 측정된 값 중 가장 높은 수치를 택하였다.

### 2) 메타콜린 유발 시험

메타콜린 유발 시험은 Chai 등<sup>18)</sup>에 의해 기술된 방법을 변형하여 시행하였다. 간단히 설명하면 메타콜린을 완충 식염수에 녹여 각 농도(0.075, 0.15, 0.3, 0.625, 1.25, 2.5, 5, 10, 25 mg/mL)로 희석하여 준비한 후, 생리 식염수를 5번 흡입 후 기저 1초간 노력성 호기량(baseline FEV<sub>1</sub>)을 측정하고 각 농도를 순차적으로 흡입한 후 60-90초 사이에, 1초간 노력성 호기량을 반복 측정하였다. 이 수치가 생리 식염수 흡입 후의 기저 폐 기능 수치에 비해 20% 이상 감소할 때까지 농도를 순차적으로 증가시키고, 20% 감소하는 시점의 농도를 PC<sub>20</sub>으로 하였다.

### 3) 호기산화질소 농도의 측정

PC<sub>20</sub>에 도달한 시점에서 이 때를 메타콜린 유발 시험에 의한 기도 수축 상태라고 가정하고 더 이상의 유발 시험을 중지하였으며, 즉시 호기산화질소 농도를 측정하였다. 호기산화질소 농도의 측정은 상용 측정기(Niox Mino, Aerocrine AB, Solna, Sweden)를 이용하였다. 일반적인 측정 원칙은 기기설명서와, 미국흉부학회 지침<sup>19)</sup>에 따라 2회 검사를 시행하였다. 피검자는 1시간 이내에 음식을 섭취하거나 운동하는 것을 삼가고 편안한 상태의 앉은 자세에서 측정하였고 호기산화질소 농도의 측정값은 parts per billion (ppb)으로 표시하였다. 각 피검자는 코마개를 하고 마우스 피스를 물고 일방 통로를 통해 총폐 용량까지 들이킨 후 즉시 50 mL/sec의 속도에 맞추어 천천히 불어 내었으며 목표 호기속도와 실제 호기속도를 측정기 화면에 도시하여 피검자가 정해진 속도를 유지하도록 하였다. 이때, 5-10 cmH<sub>2</sub>O의 압력이 걸리게 하여 피검자의 구개법인두공(velopharyngeal aperture)이 닫히게 하여 비강 내 산화질소가 호기 중에 섞여 나오지 않게 하였다. 메타콜린 유발 시험 전 기저 폐 기능 상태와 유발 시험 후 기도 수축 상태에

서 각각 이와 같은 방식으로 호기산화질소 농도를 측정하였다.

### 4) 피부단자 시험

피검자의 전완전부에 검사하고자 하는 알레르겐 13종 주요 흡입 항원(*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *alternaria*, *aspergillus*, cat, dog, oak, alder, ragweed, mugwort, rye grass, hazel, cockroach)과 양성 대조액(히스타민), 음성 대조액(생리 식염수)을 한 방울씩 떨어뜨린 후, 26 gauge 바늘로 피부를 약간 들어올려 검사액이 표피까지 도달하도록 하였다. 각 알레르겐의 검사에는 각기 다른 바늘을 사용하여 검사액이 서로 섞이지 않게 하였다. 1분이 지나면 서로의 알레르겐이 섞여 묻지 않도록 조심하면서 떨어뜨린 항원(검사액)을 닦아 내었다. 검사 후 15분이 지난 뒤 팽진(부푼 정도)과 발적을 측정하여 결과를 판독하였으며, 팽진의 장경과 단경을 측정하여 평균 팽진의 크기를 결과로 사용하였다. 각 항원에 대해 팽진이 3 mm 이상이면서 양성 대조보다 큰 경우를 양성으로 판정하였으며, 한 개 이상의 항원에 대해 양성 반응을 보이는 경우를 아토피로 정의하였다.

### 5) 혈액 검사

피검자의 전완전부의 정맥혈을 채혈하여, 유세포분석(flowcytometry)의 원리를 이용하여, 백혈구 수와 백혈구 감별 계산(백분율 및 절대 수)을 측정하고, 이를 통해 혈액 호산구 수를 측정하였다. 호산구 양이온 단백 농도는 면역학적 검사 방법으로 피검자의 혈청을 항 호산구 양이온 단백 결합 브롬화시아판 황성 스폰지 매트릭스(anti-ECP-binding cyanogen bromide-activated cellulose spongelike matrix)가 들어있는 이뮤노캡(ImmunoCAP, Phadia AB, Uppsala, Sweden)에 넣고 검체 내 호산구 양이온 단백질과 항원-항체 면역 반응을 일으키면 이를 항 호산구 양이온 단백질 효소 결합체(anti-ECP enzyme conjugate)와의 기질과의 반응을 이용해 농도를 정량화하였다. 역시 면역학적 검사 방법을 통해 혈청 면역글로불린 E (IgE)를 측정하였다.

### 6) 통계 분석 방법

각종 결과 값의 비교는 SPSS ver. 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다. 연령과 폐 기능 지표는 평균±표준편차로 표시하였고, 메타콜린 PC<sub>20</sub>, 혈액 염증지표와 호기산화질소 값의 분포는 정규 분포를 따르지 않아 로그를 취한 뒤 값을 비교 하였으며, 그 결과는 기하 평균 값(1표준편차의 범위)으로 하였다. 호기산화질소와 다른 지표들과의 상관관계의 분석은 linear regression analysis를 이용하였으며, *P* 값이 0.05 미만일 때 통계적으

로 유의 하다고 판단하였다.

## 결 과

### 1. 대상자의 특성 및 폐 기능 검사 결과

기관지 유발 검사 전 후로 호기산화질소의 측정 및 폐 기능 검사, 혈액 검사(혈액 호산구 수와 혈청 호산구 양이온 단백 농도, 혈청 총 IgE 농도)를 시행한 총 55명의 대상자 중, 남자는 32명, 여아가 23명이었으며, 아토피 49명, 비아토피가 6명이었다. 연령(평균±표준편차)은 9.5±2.3세였다. 혈청 IgE 농도(기하 평균[1표준편차의 범위])는 317.2 (160.3-627.7) IU/mL, 혈액 호산구 수(기하 평균[1표준편차의 범위])는 295.9(129.2-677.6)/ $\mu$ L였으며, 혈청 호산구 양이온 단백 농도(기하 평균[1표준편차의 범위])는 17.9 (6.3-50.3)  $\mu$ g/L이었다.(Table 1)

**Table 1. Demographic Characteristics and Blood Eosinophil Markers in Asthmatic Children**

Characteristic	Value
Age (yr)	9.5±2.3
Boys/girls	32/23
Atopy (yes/no)	49/6
Total IgE (IU/mL)	317.2 (160.3-627.7)
Blood eosinophil counts (/ $\mu$ L)	295.9 (129.2-677.6)
Serum eosinophil atonic protein ( $\mu$ g/L)	17.9 (6.3-50.3)

Values are presented as absolute mean ( $\pm$ SD) or geometric mean (range of 1 SD). IgE, immunoglobulin E.

**Table 2. Pulmonary Function Parameters in Asthmatic Children**

Parameter	Value
FEV <sub>1</sub> %pred (%)	93.5±13.2
FVC%pred (%)	96.3±12.1
FEV <sub>1</sub> /FVC (%)	82.9±8.1
FEV <sub>1</sub> %fall (%)	27.9±7.4
FEV <sub>1</sub> %pred after challenge (%)	72.1±16.3
FVC%pred after challenge (%)	78.5±21.6
FEV <sub>1</sub> /FVC after challenge(%)	81.9±9.4
Methacholine PC <sub>20</sub> (mg/mL)	2.6 (0.8-9.1)

Values are presented as mean±SD or geometric mean (range of 1 SD). FEV<sub>1</sub>, forced expiratory volume in one second; FVC, forced vital capacity.

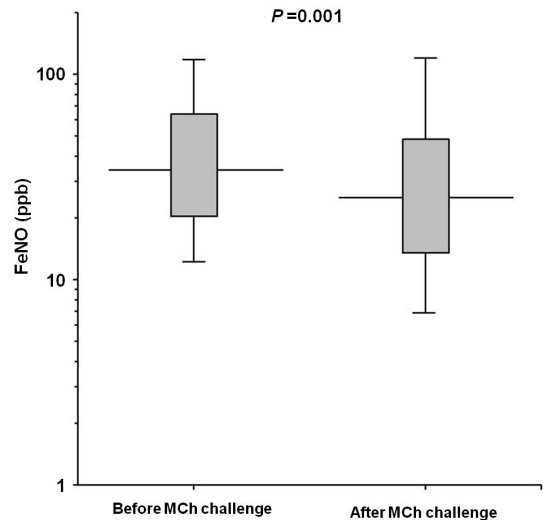
대상자들의 폐 기능 검사에서 FEV<sub>1</sub>%pred (평균±표준편차)는 93.5±13.2%, FVC%pred (평균±표준편차)는 96.3±12.1%, FEV<sub>1</sub>/FVC (평균±표준편차)는 82.9±8.1%, FEV<sub>1</sub>%fall (평균±표준편차)은 27.9±7.4%였으며, 메타콜린 PC<sub>20</sub> (기하평균[1표준편차의 범위])은 2.6 (0.8-9.1) mg/mL으로 측정되었다.(Table 2)

### 2. 기관지 유발 검사 전 후의 호기산화질소 농도

기관지 유발 검사 전 호기산화질소 농도의 기하 평균(1 표준편차의 범위)은 36.3 ppb (20.9-63.1)로 나타났으며, 기관지 유발 검사 후 기도 수축 상태에서 호기산화질소 농도는 기하 평균(1 표준편차의 범위) 25.7 ppb (13.8-47.9)로 기관지 유발 검사 전보다 유의하게 낮았다.( $P=0.001$ ) (Fig. 1)

### 3. 폐기능 지표와 기관지 유발 검사 전 후의 호기산화질소 농도와의 관계

기저 폐 기능(FEV<sub>1</sub>%pred)과 기관지 유발 검사 전 후의 호기산화질소 농도와의 상관관계를 분석한 결과 기저 폐기능은 기관지 유발 검사 전의 호기산화질소 농도와 유의한 음의 상관관계를 보였으며( $R^2=0.07$ ,  $P=0.029$ ), 기관지



**Fig. 1. Fraction of exhaled nitric oxide (FeNO) concentrations in before and after methacholine (MCh) challenge.** Geometric mean values are represented by the longer horizontal bars, and 1 SD ranges represented by the quadrangles. Maximum values and minimum values are represented by the shorter horizontal bars.

유발 검사 후의 호기산화질소 농도와도 역시 유의한 음의 상관관계를 보였다. ( $R^2=0.059$ ,  $P=0.01$ ) (Fig. 2)

#### 4. 메타콜린 기도 과민성과 기관지 유발 검사 전 후의 호기산화질소 농도와의 관계

메타콜린 기도 과민성과 기관지 유발 검사 전 후의 호기산화질소 농도와의 상관관계를 분석한 결과 메타콜린  $PC_{20}$  은 기관지 유발 검사 전의 호기산화질소 농도와 유의한 음의 상관관계를 보였으며 ( $R^2=0.086$ ,  $P=0.001$ ), 기관지 유발 검사 후의 호기산화질소 농도와도 역시 유의한 음의 상

관관계를 보였다. ( $R^2=0.141$ ,  $P=0.001$ ) (Fig. 3).

#### 5. 혈액 염증지표와 기관지 유발 검사 전 후의 호기산화질소 농도와의 관계

##### 1) 혈액 호산구 수와 기관지 유발 검사 전 후의 호기산화질소 농도와의 관계

혈액 호산구 수는 기관지 유발 검사 전의 호기산화질소 농도와 유의한 상관관계를 보이지 않았지만 ( $R^2=0.082$ ,  $P=0.211$ ), 기관지 유발 검사 후의 호기산화질소 농도와는 유의한 양의 상관관계를 보였다. ( $R^2=0.112$ ,  $P=0.028$ )

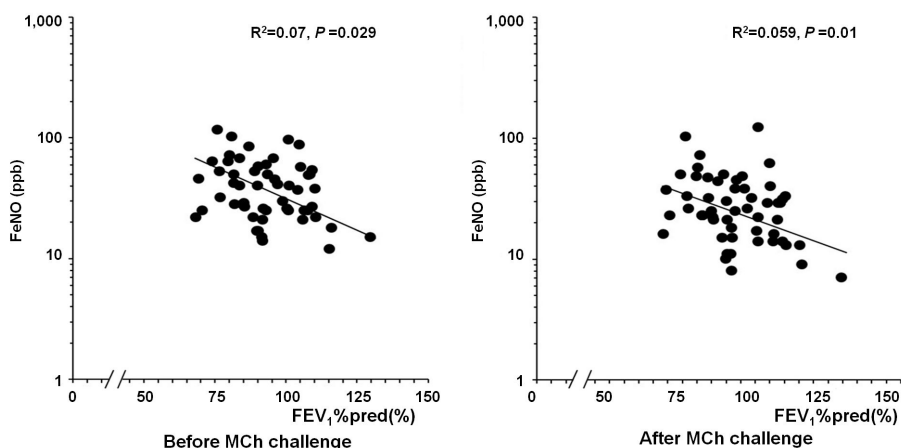


Fig. 2. Correlation between fraction of exhaled nitric oxide (FeNO) concentrations and  $FEV_1\%pred$ . FeNO values were correlated negatively with  $FEV_1\%pred$  before ( $R^2=0.07$ ,  $P=0.029$ ) and after methacholine (MCh) challenge. ( $R^2=0.059$ ,  $P=0.01$ )  $FEV_1$ , forced expiratory volume in one second.

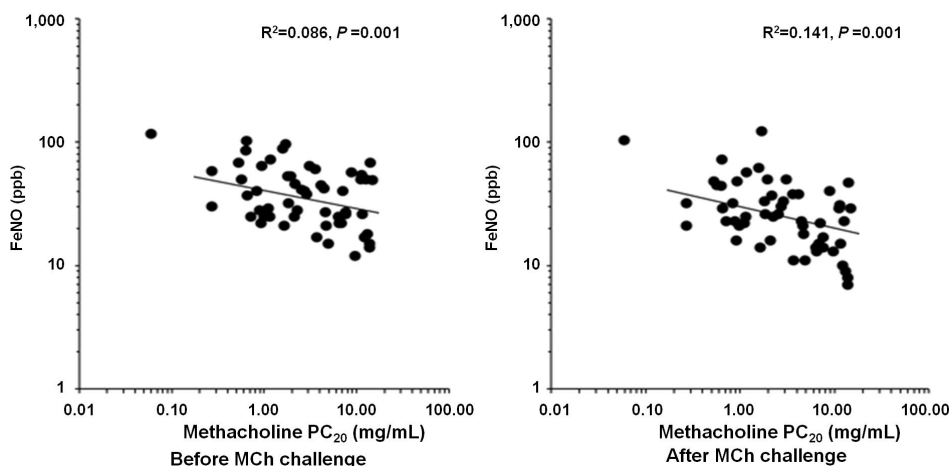


Fig. 3. Correlation between fraction of exhaled nitric oxide (FeNO) concentrations and methacholine (MCh)  $PC_{20}$ . FeNO values were correlated negatively with  $PC_{20}$  before ( $R^2=0.086$ ,  $P=0.001$ ) and after MCh challenge. ( $R^2=0.141$ ,  $P=0.001$ )

(Fig. 4)

## 2) 혈청 호산구 양이온 단백 농도와 기관지 유발 검사 전 후의 호기산화질소 농도와의 관계

혈청 호산구 양이온 단백 농도는 기관지 유발 검사 전의 호기산화질소 농도와 유의한 상관관계를 보이지 않았으며 ( $R^2=0.0001$ ,  $P=0.549$ ), 기관지 유발 검사 후의 호기산화질소 농도와도 유의한 상관관계를 보이지 않았다. ( $R^2=0.014$ ,  $P=0.203$ ) (Fig. 5)

## 3) 혈청 총 IgE와 기관지 유발 검사 전 후의 호기산화질소 농도와의 관계

혈청 총 IgE와 기관지 유발 검사 전 후의 호기산화질소 농도와의 상관관계를 분석한 결과 혈액 면역글로불린 E는 기관지 유발 검사 전의 호기산화질소 농도와 유의한 양의 상관관계를 보였으며 ( $R^2=0.114$ ,  $P=0.001$ ), 기관지 유발 검사 후의 호기산화질소 농도와도 역시 유의한 양의 상관관계를 보였다. ( $R^2=0.055$ ,  $P=0.001$ )

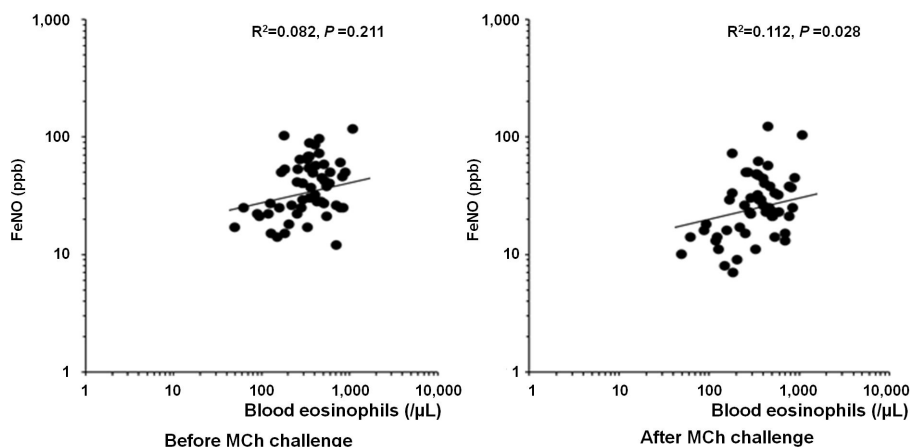


Fig. 4. Correlation between fraction of exhaled nitric oxide (FeNO) concentrations and blood eosinophils. FeNO values were correlated positively with blood eosinophils after methacholine (MCh) challenge ( $R^2=0.112$ ,  $P=0.028$ ) but were not correlated with blood eosinophils before MCh challenge. ( $R^2=0.082$ ,  $P=0.211$ )

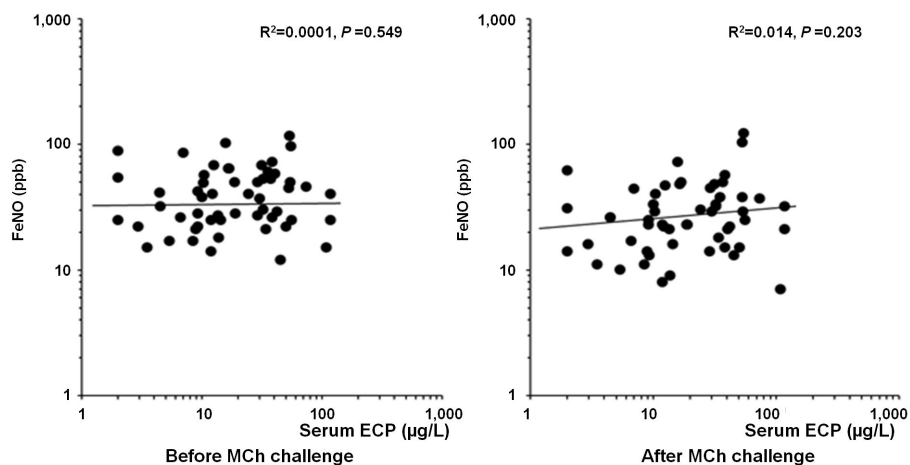


Fig. 5. Correlation between fraction of exhaled nitric oxide (FeNO) concentrations and blood eosinophil cationic protein (ECP). FeNO values were not correlated with blood ECP before ( $R^2=0.0001$ ,  $P=0.549$ ) and after MCh challenge. ( $R^2=0.014$ ,  $P=0.203$ )

## 고 찰

본 연구의 결과 천식 소아에서 메타콜린 유발시험 전 호기산화질소 농도는 기저 폐 기능과 유의한 음의 상관관계를 보였고, 메타콜린 PC<sub>20</sub>와도 역시 유의한 음의 상관관계를 보였다. 하지만, 혈액 호산구 수와, 혈청 호산구 양이온 단백질 농도와는 유의한 상관관계를 보이지 않았다.

메타콜린 유발시험 후 기도 수축 상태에서 호기산화질소 농도는 유발시험 전 보다 감소하였으며( $P=0.001$ ), 기저 폐 기능과 유의한 음의 상관관계를 보였고, 메타콜린 PC<sub>20</sub>와도 역시 유의한 음의 상관관계를 보였다. 또한 혈액 호산구 수와는 유의한 양의 상관관계를 보였지만, 혈청 호산구 양이온 단백질 농도와는 유의한 상관관계를 보이지 않았다.

산화질소 농도가 염증에 의해 증가하게 됨이 알려지면서, 만성 염증성 질환인 천식 환자에서 질병의 중증도 및 기도 과민성, 기존의 하기도 염증의 지표와 호기산화질소 농도의 관련성에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다.<sup>14,20-24</sup> 본 연구에서는 6-12세 사이의 천식 환자 55명을 대상으로 호기산화질소 농도를 측정하고 폐 기능, 메타콜린 기도 과민성, 혈액 호산구 염증지표와의 관련성에 대해 분석하였다. 특히 기저 폐 기능 상태에서 호기산화질소 농도를 측정하고, 메타콜린 유발시험 후 기도 수축 상태에서 호기산화질소 농도를 다시 한번 측정하였는데, 이를 통하여 기도 수축상태 전, 후의 호기산화질소 농도의 변화와 지표들과의 관련성에 대해 알아보려고 하였다.

과거 천식 환자 28명을 대상으로 아토피의 지표들과 호기산화질소 농도와의 관계를 분석한 연구에서 혈청 총 IgE와 호기산화질소 농도가 유의한 양의 상관관계를 가짐을 보였다.<sup>20</sup> 또한, 다른 연구에 따르면 안정기 천식 환자에서 호산구의 절대치 및 백분율과 호기산화질소 농도는 알레르기 군에서 유의한 양의 상관관계를 보였다.<sup>14</sup> 이러한 결과는 기도 수축 상태에서 호기산화질소 농도와 혈액 호산구 수가 유의한 양의 상관관계를 보인 본 연구의 결과와 일치한다. 하지만, 본 연구에서는 기도 수축 전 호기산화질소 농도는 혈액 호산구 수와 상관관계를 보이지 않았다. 기도 수축 전 상태에서 기존의 연구 결과와 일치하지 않는 이유는 본 연구에서는 말초혈액 호산구 수를 측정했기 때문에, 호기산화질소 농도와 같이 직접적인 기도의 염증 상태를 반영하지 못했을 가능성이 있다. 말초 혈액이 아닌 기도 내 호산구를 측정하였다면, 유발검사 전, 후에 좀 더 일치하는 결과가 나왔을 가능성이 있으리라 생각된다. 또한, 2009년에 발표된

논문<sup>25</sup>에 따르면, 통계학적인 유의성은 보이지 않더라도, 스테로이드 중단 후 1주에서 4주 사이에 호기산화질소 농도가 증가하는 경향을 보이고, 기저치에 비해서는 스테로이드 중단 후 4주에 측정된 호기산화질소 농도가 기저치까지 회복되지 않은 점을 볼 때, 비록 검사 1주 전에 경구용 혹은 흡입용 스테로이드 치료를 중단하였지만 그 영향이 있을 수 있다는 점 또한 원인이 될 수 있을 것으로 생각된다. 호산구 양이온 단백질은 활성화된 호산구의 과립에서 분비되는 단백질 중 한 종류로 호산구 매개 염증 질환에서 호산구의 활성도를 간접적으로 측정할 수 있는 생물학적 지표로 이용되고 있다. 호산구 양이온 단백질 외에도 eosinophil derived neurotoxin 등 여러 다른 호산구 활성화 지표들이 있지만, 본 연구에서는 호산구 양이온 단백질이 측정이 용이하고, 널리 알려져 있으며, 데이터가 많이 축적되어 있는 장점이 있어 이를 이용하였다. 여러 호산구 활성화 천식 및 알레르기 비염 환자 271명을 대상으로 한 연구에서 혈청 호산구 양이온 단백질은 호기산화질소 농도와 유의한 양의 상관관계를 보였다는 연구<sup>15</sup>와는 달리, 본 연구에서 혈청 호산구 양이온 단백질은 호기산화질소 농도와 기도 수축 전 후 모두에서 상관관계를 보이지 않았다. 이는 혈청 호산구 양이온 단백질 농도가 계절과 시간, 채혈 방법 등에 따라 변하고, 특히 채혈 후 검체 보관 시간과 온도, 원심 분리, 보관 상태에 의해 큰 영향을 받기 때문에,<sup>26,27</sup> 이러한 오류를 줄이고자 노력하였으나, 일부 영향을 받았을 것이라 생각된다. 또한, 본 연구 대상 환자들이 비록 스테로이드제를 검사 1주일 전에 중단하였지만 앞에서 언급하였던 것처럼, 기존에 사용하였던 스테로이드제의 영향을 일부 받았을 것으로 생각된다.<sup>25</sup>

호기산화질소 농도와 폐 기능 검사와의 관계에 대해서는 이미 여러 연구자들에 의해 천식 환자에서 어느 정도의 상관관계가 있다고 보고된 바 있다.<sup>21</sup> 10-12세의 천식 환자 278명을 대상으로 한 연구에 따르면, 호기산화질소 농도는 기저 폐 기능, 1초간 노력성 호기량/노력성 폐활량과 유의한 음의 상관관계를 보였으며<sup>22</sup>, 5-16세의 천식 환자 49명에 대한 연구에서는 호기산화질소 농도는 기관지 확장제의 사용에 통계적으로 유의한 수준의 변화를 보이지 않으며 기저 폐 기능과 유의한 상관관계를 가진다고 하였다.<sup>23</sup> 이는 기도 수축 전 후로 호기산화질소 농도와 기저 폐 기능이 통계적으로 유의한 음의 상관관계를 보인 본 연구의 결과와 일치한다. 호기산화질소 농도의 측정이 폐 기능 검사상에서 큰 변화가 없거나 증상의 변화가 뚜렷하지 않은 환자에게서 임상적으로 천식의 조절 여부, 치료 및 예후를 예측할 수 있는 보완적인 검사로 사용할 수 있는 하나의 근거 자료가 될

수 있을 것으로 생각된다. 하지만 또 다른 연구에 따르면 4-15세의 천식 환자 80명에서 호기산화질소 농도는 1초간 노력성 호기량, 노력성 폐활량과는 유의한 상관관계를 보였으나 기저 폐기능과 1초간 노력성 호기량/노력성 폐활량과는 상관관계를 보이지 않았다.<sup>24)</sup> 호기산화질소 농도와 폐 기능 지표간의 상관관계가 연구에 따라 각각 다른 결과를 보인 이유로는 상대적으로 어린 연령대의 환자들에서는 폐 기능의 측정이 용이하지 않고 그 결과도 상대적으로 신빙성이 낮다는 점과, 호기산화질소 농도를 측정하는 방법에 따라 결과에 차이를 나타낼 수 있기 때문으로 생각된다. 또한 폐 기능 검사 자체는 기도의 염증을 직접적으로 반영한다기 보다는 기도의 생리를 반영하는 지표로서 기관지 폐쇄의 정도를 나타내며,<sup>28)</sup> 기도 내에서 기도의 폐쇄가 염증 반응보다 선행하여 일어나므로 질병의 중증도를 직접적으로 나타내지 못하기 때문인 것도 이유가 될 수 있다.

본 연구에서는 천식 환자군에서 메타콜린 PC<sub>20</sub> 값과 호기산화질소 농도간에 유의한 음의 상관관계를 보였다. 기도 과민성과 호기산화질소 농도의 관련성에 대한 여러 연구 결과들과 비교해보면, 천식 환자 121명을 대상으로 한 연구에서, 메타콜린 PC<sub>20</sub> 값과 호기산화질소 농도는 유의한 음의 상관관계를 보여,<sup>29)</sup> 본 연구의 결과와 일치한다. 이에 반해 안정기 경증 및 중등도 천식 환자 57명을 대상으로 혈청 호산구 양이온 단백 농도, 메타콜린 기도 과민성 및 호기산화질소 농도간의 관련성을 스테로이드 치료군과 비치료군으로 나누어 분석한 연구에 따르면, 전체 환자군, 스테로이드 치료군, 비치료군 모두 메타콜린 기도 과민성과 호기산화질소 농도 사이에는 유의한 상관관계가 없었다.<sup>30)</sup> 이와 같이 연구마다 상이한 결과를 보이는 것은 메타콜린과 같은 직접 유발 검사에 의한 기도 과민성이 기도 염증을 반영하지 못하기 때문에 호기산화질소 농도와 일관된 상관관계를 얻지 못하는 것일 수 있다. 간접 기관지 유발 검사의 하나인 Adenosine 5'-monophosphate (AMP) 기도 과민성에 비해 메타콜린 기도 과민성은 알레르기성 염증상태를 잘 반영하지 못함을 밝힌 연구 결과<sup>7)</sup>는 그러한 이론을 뒷받침한다. 따라서, 좀 더 충분한 수의 환자군을 대상으로 한 주의 깊게 계획된 전향적 임상 연구들을 통해 기도 과민성과 호기산화질소 농도의 관련성을 좀 더 명확히 밝혀야 할 것으로 생각되며 AMP 기도 과민성과 호기산화질소 농도간의 관련성 또한 연구가 되어야 할 것이다. 또한, 본 연구에서는 메타콜린을 통한 기도 수축 상태를 유발한 뒤 호기산화질소 농도를 측정하여, 안정 상태에서 측정한 호기산화질소 농도와 비교하였다. 기도 수축 상태에서 호기산화질소 농도의 기하평

균은 25.7 ppb, 기도 수축 전 호기산화질소 농도는 기하 평균 36.3 ppb로 기도 수축 상태의 호기산화질소 농도가 기도 수축 전의 호기산화질소 농도보다 유의하게 낮았다. 호기산화질소 농도는 천식의 중증도를 잘 반영하고, 천식의 항염증 치료의 정도를 반영하는 지표라는 점에서, 기도 수축 상태에서 호기산화질소 농도가 높을 것으로 예상한 것과 반대의 결과를 보였다. 이에 대해서 산화질소는 Nitric oxide synthase에 의해 L-arginine으로부터 염증성 자극에 의해 생성되는 물질이라는 점을 고려해 볼 필요가 있다. 기도 수축 전 상태에서 호기산화질소 농도를 측정할 후, 메타콜린 유발 검사 후, 즉각적이고, 반복적인 호기산화질소 농도의 측정은 L-arginine으로부터의 산화질소의 생성이 충분치 못했을 가능성이 있다. 또한, 기도의 직경이 메타콜린에 의해 좁아진 것 또한 기도 수축 상태에서 호기산화질소의 농도를 낮추는데 기여를 했을 것으로 생각되며, 반복적인 노력성 호기 폐 기능 측정 자체도 이유가 될 수 있다.<sup>31)</sup> 그리고 위에서 언급한 것과 같이 메타콜린 유발 검사 자체가 AMP 유발 검사에 비해 실제 천식의 급성 악화에 가까운 기도 염증을 유발하지 못한다는 것 또한 원인이 될 수 있을 것으로 여겨진다.

결론적으로 기도 염증의 간접 지표의 하나인 호기산화질소 농도는 반복적인 폐활량 검사로 인해 감소될 수 있다. 호기산화질소 농도와 기저 폐 기능, 메타콜린 PC<sub>20</sub> 값은 수축 전 후 모두에서 유의한 음의 상관관계를 보이며, 기도 수축 상태에서 측정한 호기산화질소 농도와 혈액 호산구 수는 유의한 양의 상관관계를 보였다. 본 연구의 강점은 메타콜린 유발 기도 수축 상태 전 후로 호기산화질소 농도를 측정하여, 각각을 비교하였다는 점에서 기존 연구와 차별화를 보이며, 약점은 메타콜린 유발 검사 후 호기산화질소 측정을 1차에만 하여 시간대별의 변화를 보지 못한 점, 충분한 수의 대상군을 확보하지 못한 점을 들 수 있다. 앞으로 호기산화질소 농도는 천식 악화 및 재발을 예측하는 임상적 도구로서, 또한 폐 기능 검사를 시행하기 힘든 어린 환자들에게서 천식의 진단, 치료 방법의 결정 그리고 장기적으로 천식 환자의 관리에 유용할 것으로 생각되나, 향후 호기산화질소 농도의 측정 방법이나 과정에 대해서 보다 표준화된 기준을 만들고, 임상에서 활용 시 반복적인 검사에 의해 호기산화질소 농도가 변화할 수 있다는 것을 고려해야 한다.

## 요 약

**목 적:** 호기산화질소 농도의 측정은 천식 환자에서 시행



이 간편하며, 빠르고 비침습적인 하기도 염증의 임상적 지표로서 최근 각광받고 있다. 본 연구는 천식 소아에서 폐 기능, 메타콜린 기도 과민성, 혈액 호산구 염증지표와 메타콜린 유발시험 전, 후에 측정된 호기산화질소 농도 사이의 연관성을 알아보고자 하였다.

**방법:** 기침, 천명, 호흡 곤란 등 천식 증상으로 고려대학교 안암병원 소아알레르기 호흡기 클리닉을 방문한 환자 55명에서 폐 기능 검사, 메타콜린 유발 검사, 혈액 호산구 수와 혈청 호산구 양이온 단백 농도를 측정하고, 메타콜린 유발 검사 전 기저 폐 기능 상태와 유발 시험 후 기도 수축 상태에서 호기산화질소 농도를 측정하였다.

**결과:** 메타콜린 유발시험 후 호기산화질소 농도는 평균 25.7 ppb (13.8-47.9)으로 유발시험 전 36.3 ppb (20.9-63.1)에 비해 유의하게 낮았다. ( $P=0.001$ ) 기저 폐 기능과 호기산화질소 농도는 유발시험 전 ( $R^2=0.07$ ,  $P=0.029$ )과 후 ( $R^2=0.059$ ,  $P=0.01$ ) 모두에서 유의한 음의 상관관계를 보였다. 호기산화질소 농도와 메타콜린 PC<sub>20</sub>의 상관관계는 유발 시험 전 ( $R^2=0.086$ ,  $P=0.001$ )과 후 ( $R^2=0.141$ ,  $P=0.001$ ) 모두에서 유의한 음의 상관관계를 보였다. 호기산화질소 농도와 혈액 호산구 수는 유발시험 전  $R^2=0.082$ ,  $P=0.211$ 이었으나 후에는  $R^2=0.112$ ,  $P=0.028$ 로 기도 수축 상태에서만 유의한 양의 상관관계를 보였다. 호기산화질소 농도는 혈청 호산구 양이온 단백 농도와 유의한 상관관계를 보이지 않았다.

**결론:** 호기산화질소 농도와 기저 폐 기능, 메타콜린 PC<sub>20</sub>은 유의한 음의 상관관계를 보이며, 기도 수축 상태에서 측정된 호기산화질소 농도와 혈액 호산구 수는 유의한 양의 상관관계를 보였다. 기도 염증의 간접 지표의 하나인 호기산화질소 농도는 반복적인 폐 기능 검사 자체로 인해 감소될 수 있다.

## 참 고 문 헌

- Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-6.
- Jatakanon A, Lim S, Kharitonov SA, Chung KF, Barnes PJ. Correlation between exhaled nitric oxide, sputum eosinophils, and methacholine responsiveness in patients with mild asthma. *Thorax* 1998;53:91-5.
- Mattes J, Storm van's Gravesande K, Reining U, Alving K, Ihorst G, Henschen M, et al. NO in exhaled air is correlated with markers of eosinophilic airway inflammation in corticosteroid-dependent childhood asthma. *Eur Respir J* 1999;13:1391-5.
- Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled markers of pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1693-722.
- Tsujino I, Nishimura M, Kamachi A, Makita H, Munakata M, Miyamoto K, et al. Exhaled nitric oxide--is it really a good marker of airway inflammation in bronchial asthma? *Respiration* 2000;67:645-51.
- Lanz MJ, Leung DY, White CW. Comparison of exhaled nitric oxide to spirometry during emergency treatment of asthma exacerbations with glucocorticoids in children. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1999;82:161-4.
- Stirling RG, Kharitonov SA, Campbell D, Robinson DS, Durham SR, Chung KF, et al. Increase in exhaled nitric oxide levels in patients with difficult asthma and correlation with symptoms and disease severity despite treatment with oral and inhaled corticosteroids. *Asthma and Allergy Group. Thorax* 1998;53:1030-4.
- Yates DH, Kharitonov SA, Barnes PJ. Effect of short- and long-acting inhaled beta2-agonists on exhaled nitric oxide in asthmatic patients. *Eur Respir J* 1997;10:1483-8.
- Baek HS, Park YR, Kim JH, Oh JW, Lee HB. Nitric oxide correlates with exercise-induced bronchoconstriction in asthmatic children. *Pediatr Allergy Respir Dis(Korea)* 2011;21:99-107.
- Steerenberg PA, Janssen NA, de Meer G, Fischer PH, Nierkens S, van Loveren H, et al. Relationship between exhaled NO, respiratory symptoms, lung function, bronchial hyperresponsiveness, and blood eosinophilia in school children. *Thorax* 2003;58:242-5.
- Louis R, Sele J, Henket M, Cataldo D, Bettiol J, Seiden L, et al. Sputum eosinophil count in a large population of patients with mild to moderate steroid-naïve asthma: distribution and relationship with methacholine bronchial hyperresponsiveness. *Allergy* 2002;57:907-12.
- Van Den Berge M, Meijer RJ, Kerstjens HA, de Reus DM, Koeter GH, Kauffman HF, et al. PC (20) adenosine 5'-monophosphate is more clo-

- sely associated with airway inflammation in asthma than PC(20) methacholine. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1546-50.
13. Brusasco V, Crimi E, Pellegrino R. Airway hyperresponsiveness in asthma: not just a matter of airway inflammation. *Thorax* 1998; 53:992-8.
14. Silvestri M, Sabatini F, Spallarossa D, Fregonese L, Battistini E, Biraghi MG, et al. Exhaled nitric oxide levels in non-allergic and allergic mono- or polysensitized children with asthma. *Thorax* 2001;56:857-62.
15. Choi BS, Kim KW, Lee YJ, Baek J, Park HB, Kim YH, et al. Exhaled nitric oxide is associated with allergic inflammation in children. *J Korean Med Sci* 2011;26:1265-9.
16. Gelb AF, Flynn Taylor C, Shinar CM, Gutierrez C, Zamel N. Role of spirometry and exhaled nitric oxide to predict exacerbations in treated asthmatics. *Chest* 2006;129:1492-9.
17. Beydon N, Davis SD, Lombardi E, Allen JL, Arets HG, Aurora P, et al. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: pulmonary function testing in preschool children. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:1304-45.
18. 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.
19. Dweik RA, Boggs PB, Erzurum SC, Irvin CG, Leigh MW, Lundberg JO, et al. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 184:602-15.
20. Ho LP, Wood FT, Robson A, Innes JA, Greening AP. Atopy influences exhaled nitric oxide levels in adult asthmatics. *Chest* 2000;118: 1327-31.
21. Strunk RC, Szeffler SJ, Phillips BR, Zeiger RS, Chinchilli VM, Larsen G, et al. Relationship of exhaled nitric oxide to clinical and inflammatory markers of persistent asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:883-92.
22. Saito J, Inoue K, Sugawara A, Yoshikawa M, Watanabe K, Ishida T, et al. Exhaled nitric oxide as a marker of airway inflammation for an epidemiologic study in schoolchildren. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:512-6.
23. Colon-Semidey AJ, Marshik P, Crowley M, Katz R, Kelly HW. Correlation between reversibility of airway obstruction and exhaled nitric oxide levels in children with stable bronchial asthma. *Pediatr Pulmonol* 2000;30:385-92.
24. Ko HS, Chung SH, Choi YS, Choi SH, Rha YH. Relationship between exhaled nitric oxide and pulmonary function test in children with asthma. *Korean J Pediatr* 2008;51:181-7.
25. Mehta V, Stokes JR, Berro A, Romero FA, Casale TB. Time-dependent effects of inhaled corticosteroids on lung function, bronchial hyperresponsiveness, and airway inflammation in asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2009; 103:31-7.
26. Venge P, Bystrom J, Carlson M, Hakansson L, Karawacjzyk M, Peterson C, et al. Eosinophil cationic protein (ECP): molecular and biological properties and the use of ECP as a marker of eosinophil activation in disease. *Clin Exp Allergy* 1999;29:1172-86.
27. Wolthers OD. Eosinophil granule proteins in the assessment of airway inflammation in pediatric bronchial asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 2003;14:248-54.
28. Covar RA, Szeffler SJ, Martin RJ, Sundstrom DA, Silkoff PE, Murphy J, et al. Relations between exhaled nitric oxide and measures of disease activity among children with mild-to-moderate asthma. *J Pediatr* 2003;142:469-75.
29. Choi BS, Jee HM, Park YH, Kim KW, Sohn MH, Kim KE. Relationship between exhaled nitric oxide concentration and pulmonary function/airway hyperresponsiveness in asthmatic children. *Pediatr Allergy Respir Dis(Korea)* 2009; 19:291-9.
30. Piacentini GL, Bodini A, Costella S, Suzuki Y, Zerman L, Peterson CG, et al. Exhaled nitric oxide, serum ECP and airway responsiveness in mild asthmatic children. *Eur Respir J* 2000; 15:839-43.
31. Deykin A, Massaro AF, Coulston E, Drazen JM, Israel E. Exhaled nitric oxide following repeated spirometry or repeated plethysmography in healthy individuals. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161(4 Pt 1):1237-40.