

급성 천식발작시 혈장 및 요중 Endothelin 농도 변동

이화여자대학교 의과대학 내과학교실 및 의학연구소*

장중현, 신태림, 우가은, 김종선, 홍은순, 서기열, 차주현, 김미선, 김영선, 조영주

= Abstract =

Changes in Plasma and Urine Endothelin Levels During Acute Exacerbation of Asthma

Jung Hyun Chang, M.D., Tae Rim Shin, M.D., Ga Eun Woo, M.D.,
Jong Seon Kim, M.D., Eun Soon Hong, M.D., Gi Yeoul Seo, M.D., Joo Hyun Cha, M.D.,
Mi Seon Kim, M.D., Yeung Seon Kim, M.D., Young Joo Cho, M.D.

*Department of Internal Medicine and Medical Research Center, College of Medicine,
Ewha Womans University, Seoul, Korea*

Background : Recent studies have documented increased release of endothelin(ET) during acute attack of asthma. The purpose of this study is to observe the link between plasma level and urinary excretion of each and changes during acute exacerbation.

Method : Plasma and 24 hour urine were collected from sixteen asthmatics during acute exacerbation, twice ; first day of symptomatic exacerbation and two weeks after treatment. Controls were ten healthy normal subjects. All patients were treated with corticosteroid and beta-2 adrenergic agonist on admission. ET was determined by radioimmunoassay and had 100% cross reactivity with ET-1, 67% with ET-2, 84% with ET-3, and 8% with Big-ET.

Results : Plasma ETs were significantly elevated during acute attack of asthma compared with those in remission and controls. However, there was no significant changes in urine ET concentrations or total ET amounts in 24 hour urine during exacerbation upto two weeks. Those levels of urine ET in asthmatics were still higher than controls. ET concentrations in plasma or urine were not correlated with pulmonary functional parameters and hypoxemia.

Conclusion : The findings suggests that increased plasma ETs are related with exaggerated release during

*이화여자대학교 교내연구비 과제번호 95-61의 지원을 받았음.

본 논문 요지는 제5차 서태평양 알레르기학회에서 구연발표하였음.

acute asthma. Urinary ET excretion is increased in asthma. However, urine ET changes during exacerbation should be observed in a larger and longer scale.

Key words : Asthma, Exacerbation, Endothelin

서 론

Endothelin(ET)은 1988년 Yanagisawa등¹⁾에 의해 돼지동맥의 내피세포에서 추출된 21개의 아미노산 펩티드로 구성된 혈관 수축작용을 갖는 물질로서 그 존재가 처음으로 밝혀진 이래, 이 물질이 또한 강력한 기관지 수축작용이 있음이 그 후의 여러 연구에서 확인되었으며 천식환자의 기관지 점막 및 평활근에서 이것의 유리가 증가되어 있음이 입증된 바 있다^{2~4)}. 최근의 여러 연구에서 기관지천식 발작시에 기관지세척액, 혈장유리액과 뇨중 배출되는 ET의 관련성이 연구되고 있는 바, 혈중 및 요중 ET의 동태에 대해서는 정립된 연구결과가 없는 형편이다. 이에 본 연구는 임상적으로 호흡곤란을 호소하는 급성발작의 천식환자에서 회복과정에서 혈중 및 요중 endothelin의 변동을 관찰, 비교해 보고자 본 연구를 계획하였다.

대상 및 방법

1. 대상

1995년 12월 1일부터 1996년 11월 30일까지 이화여자대학교 부속 목동병원에 기관지천식의 급성적 발작으로 입원치료를 받은 중 고혈압, 울혈성심부전증, 신부전 또는 간기능장애등이 동반되지 않은 16명의 천식환자를 대상으로 임상적 지표와 함께 혈장 및 요중 ET 배출량을 조사하였다. 정상 대조군은 10명의 신체 건강한 성인으로 선정하였다.

2. 방법

1) 기관지 천식은 1991년 NIH에서 정의된 진단기준

⁵⁾에 따라 정의되었으며 급성 천식발작은 천식으로 인해 갑작스런 외래진료, 입원, 또는 응급실 방문할 때, 48시간 이상 부신피질호르몬제 및 기관지확장제 등 천식 치료에 반응하지 않고 천식증상이 지속될 때, 환자 평소의 최고 유속치에서 30% 이상 감소시, 또는 천식증상으로 흡입용 또는 경구용 부신피질호르몬을 2배이상 증량시⁶⁾로 정의하였다.

2) 연구계획

천식의 급성적 발작으로 내원 당일 혈장을 채취후 천식의 치료에 들어갔으며 내원 첫날부터 다음날 같은 시간까지 24시간 소변을 수집하였다. 대상환자는 모두 첫 2~3일간 부신피질호르몬제 및 아미노필린을 정맥주사받았고 증상 경감시 경구형 제제로 치환하였다. 내원 첫날부터 베타-2 아드레날린 수용체 작용약을 함께 경구 또는 흡입형으로 투약하였다. 천식 발작 2주후 혈장 및 24시간 요를 2차로 수집하였다.

3) 폐기능검사

노력성호기량 및 일초노력성 호기량은 미국흉부학회에서 권장하는 방법⁷⁾에 따라 폐활량측정기(Sensor-medics 2200, U.S.A.)에 의해 측정되었다.

4) Endothelin의 측정

정맥혈 5cc를 채취하여 Aprotinin EDTA가 들어있는 시험관에 전혈을 넣고 가볍게 흔들어 혼합후 바로 4℃에서 원심분리하여 혈장을 분리하였고 24시간 요 검체는 농도가 0.05% NaN₃ 및 0.1% Ascorbic acid가 되도록 혼재된 병에 수집하여 전체 요량을 측정하고 그중 3cc를 취해 검사시까지 혈장 및 요 검체를 -80℃에 냉동보관하였다. Endothelin 분석은 다음에 기술된 방법에 의거하여 진행되었다. 100% 메

탄을 5cc, 증류수 5cc, 4% acetic acid가 포함된 증류수 5cc를 연차적으로 C-18 column에 통과시킨 후 검체 2cc와 4% acetic acid가 포함된 증류수 3cc가 섞인 산성화된 검체를 앞서 준비된 column에 중력을 이용하여 통과시키면서 endothelin을 추출하고 건조 과정을 거친 후 시료를 얻었다. 상기 시료를 방사면역 측정법으로 상판화된 ^{125}I -표지 Endothelin 시약 (Nichols Institute, U.S.A.)에 부착시킨 후 gamma counter(Cobra II, Packard, U.S.A.)에서 판독하였다. Endothelin의 교차반응성은 ET-1과 100%, ET-2와 67%, ET-3와 84%, 그리고 Big-ET과 8%이었다.

5) 통계분석

자료는 IBM 486 개인용 컴퓨터를 이용하여 SPSS 통계프로그램으로 분석하였다. 자료는 비모수적 방법에 의해 Chi-square검정, 두군간에 군내 비교는 Wilcoxon 부호순위 검정 및 군간은 Mann-Whitney 검정을, 세군간 비교는 Kruskal-Wallis 검정을, 그리고 Spearman 상관분석으로 분석하였으며 유의수준은 p값이 0.05이하인 경우 유의한 것으로 판단하였고 세군중에 두군간 비교시는 유의수준은 p값 0.017 이하로 정하였다.

결 과

1. 연구대상군의 임상상

천식환자군의 평균연령은 58세이며 그중 남자가 11명으로 69%를 차지하였다. 환자군과 정상 대조군간의 나이, 성별, 신장, 체중, 흡연력 유무, 혈중 크레아티닌, 그리고 혈청 전해질농도의 차이는 없었다. 환자군은 대조군과 비교시 LDL-콜레스테롤은 높았고, 동맥혈 산소압은 낮았으며, 탄산가스압은 약간 상승되어 있었으나 모두 통계적 유의성은 없었다. 폐기능 검사상 천식군의 노력성 호기량 및 일초 노력성 호기량이 유의하게 낮은 소견과 함께 일초 노력성 호기량의 노

Table 1. Characteristics of the study group

	Bronchial asthma	Control subjects
Number	16	10
Age	58 ± 16	50 ± 21
Male	11 (69%)	4 (40%)
Height(cm)	163 ± 8	164 ± 6
Weight(Kg)	63 ± 11	57 ± 7
Smoker (%)	56	38
Creatinine(mg/dL)	1.0 ± 0.2	0.9 ± 0.2
LDL-cholesterol(mg/dL)	130 ± 45	80 ± 18
Sodium(mEq/L)	141 ± 2	140 ± 4
Potassium(mEq/L)	3.9 ± 0.6	4.4 ± 0.6
PaO ₂ (mmHg)	67 ± 18	80 ± 26
PaCO ₂ (mmHg)	42 ± 18	33 ± 6
FVC*(L)	67 ± 22	100 ± 20
FEV ₁ *(L)	54 ± 28	113 ± 24
FEV ₁ /FVC*	0.55 ± 0.16	0.85 ± 0.08

The values reported are expressed as mean ± SD. Parenthesis value represents percentage.

*p < 0.05, nonparametrically

력성 호기량에 대한 비가 55%로 폐쇄성 폐기능장애가 있음을 보여 주었다(Table 1).

2. 천식 및 정상대조군의 혈장 및 뇨 Endothelin 농도

혈장 및 뇨 ET은 천식군의 치료전, 치료후와 대조군 3군간에는 모두 유의한 차이를 보였다. 첫째로 혈장 ET은 급성악화시 평균 3.7mg/ml로 증가해 있다가 천식치료 2주후 2.4mg/ml로 유의하게 감소하였으며 이 농도는 정상대조군 수치와 비슷하였다(Fig. 1). 둘째로 뇨중 ET은 천식군에서 급성기에 47.9pg/ml에서 치료후 32.9pg/ml로 감소하는 경향을 보였으나 유의한 차이는 없었고 24시간 ET 배설량은 급성기 및 치료후에 유의한 변동은 없었으나 이들 수치는 정

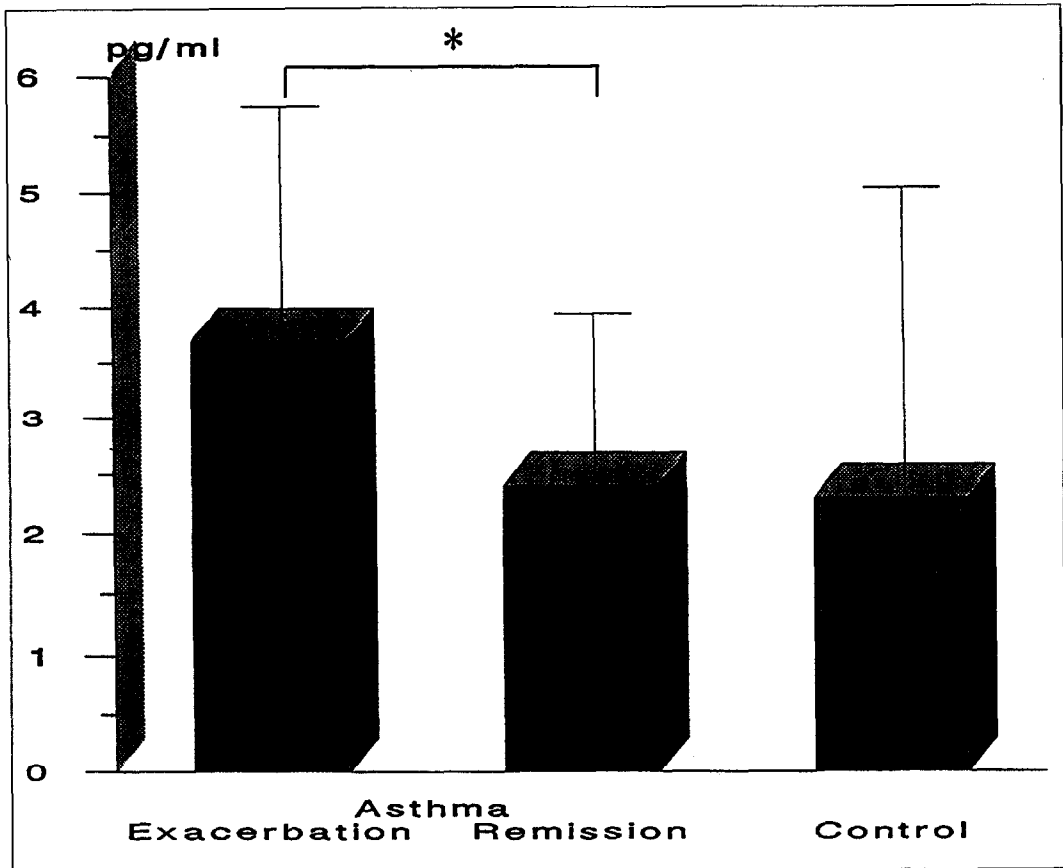


Fig. 1. Plasma endothelin in bronchial asthma and control subjects

* $p < 0.017$, nonparametrically

상군에 비해서는 유의하게 높았다(Fig. 2, 3). 요증 크레아티닌 농도를 교정한 요 ET농도도 천식악화시 $0.95 \times 10^{-7} (\pm 1.37 \times 10^{-7})$ 이 천식치료후 $0.52 \times 10^{-7} (\pm 0.45 \times 10^{-7})$ 로 감소하는 경향을 보이나 통계적 유의성은 없었고 정상대조군의 $0.13 \times 10^{-7} (\pm 0.09 \times 10^{-7})$ 에 비해서는 천식군에서 유의하게 상승되어 있었다.

혈장이나 요증 ET은 이들 상호간이나 폐활량지 및 저산소혈증의 정도와 통계학적으로 유의한 상관성은 관찰되지 않았다. 또한 혈장 및 요증 ET에 대해 영향을 줄 수 있는 기타 생화학적 인자들에 대해 상관성

분석 및 회귀분석을 하였으나 통계학적으로 연관이 있거나 영향주는 인자는 없었다.

고 찰

기관지천식의 가장 뚜렷한 특징중의 하나가 가역적인 기도폐쇄에 의한 기관지에서의 흡기 및 호기류의 제한을 초래하는 상태로서 환자에서는 천명음이나 발작적인 기침으로 나타난다. 천식환자에서 기도폐쇄는 기도의 평활근 수축에 의해 유발되며 기관지확장제 치료에 의해 완화된 만성폐쇄성폐질환과 구분되는 특징이

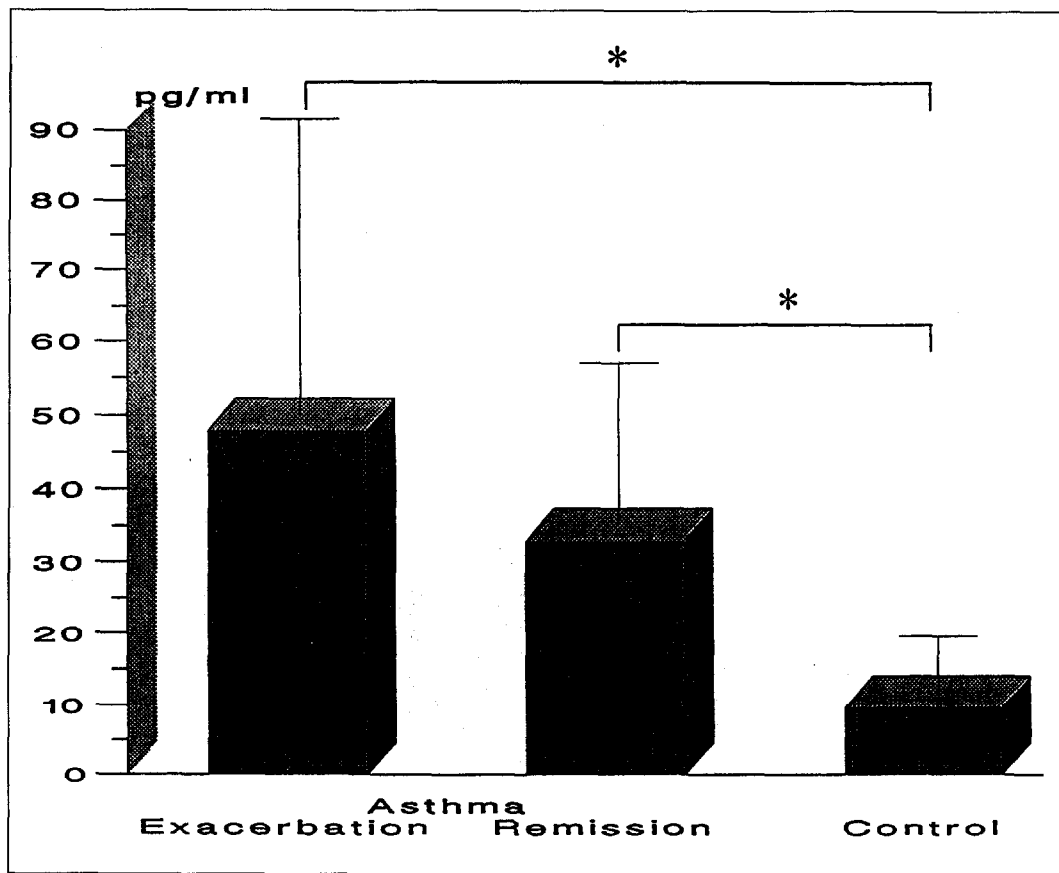


Fig. 2. Urine endothelins in bronchial asthma and control subjects

* $p < 0.017$, nonparametrically

다. 기관지수축은 점액의 과유출, 상피세포 손상, 기관지점액질의 탈락, 기도벽의 비후, 기도 평활근의 비후 및 중대와 상피세포성 기저막을 포함하는 세포외 기질의 비대 등에 의해 유발된다⁸⁾. 이런 반응들은 외인성 혹은 내인적 자극에 의해 비롯되는 cytokines에 의한 염증반응에서 유발되는데 이중 기관지 수축에 중요한 기능을 담당하는 ET은 기도조직에서 유리된다²⁾. ET은 기관지 평활근에 작용하여 기관지수축을 유발시키는 직접적인 작용 외에도 다른 cytokines과 연결되어 전달인자의 유리를 자극하거나⁹⁾ 평활근의 DNA 합성을 촉진하고 섬유아세포의 증식으로 평활근의 증

식 및 상피하 조직의 섬유화에 기여하는 등의 구조적 변화를 통한 기도 재형성의 기여¹⁰⁾, 또는 부교감성 신경에 의해 전달되는 작용기전을 갖고 있다⁸⁾. 인체의 ET은 유사 펩티드들인 ET-1, ET-2와 ET-3가 있다¹¹⁾. 기도에서 ET이 합성될 수 있는 세포에는 기도 상피세포, 내피세포, 대식세포, 폐 신경내분비세포 등이 있다¹²⁾. 그 중 폐에서 가장 많이 분비되는 ET-1의 생산 및 유리의 주장소는 기도상피세포이고^{3,4)} 기관지 평활근에 수용체가 있어^{2,4)} 강력한 기관지 수축 및 증식을 자극하는 작용을 한다¹³⁾. 그러나 ET-2 및 ET-3도 인체에서 ET-1과 비교하여 약 절반 정도의

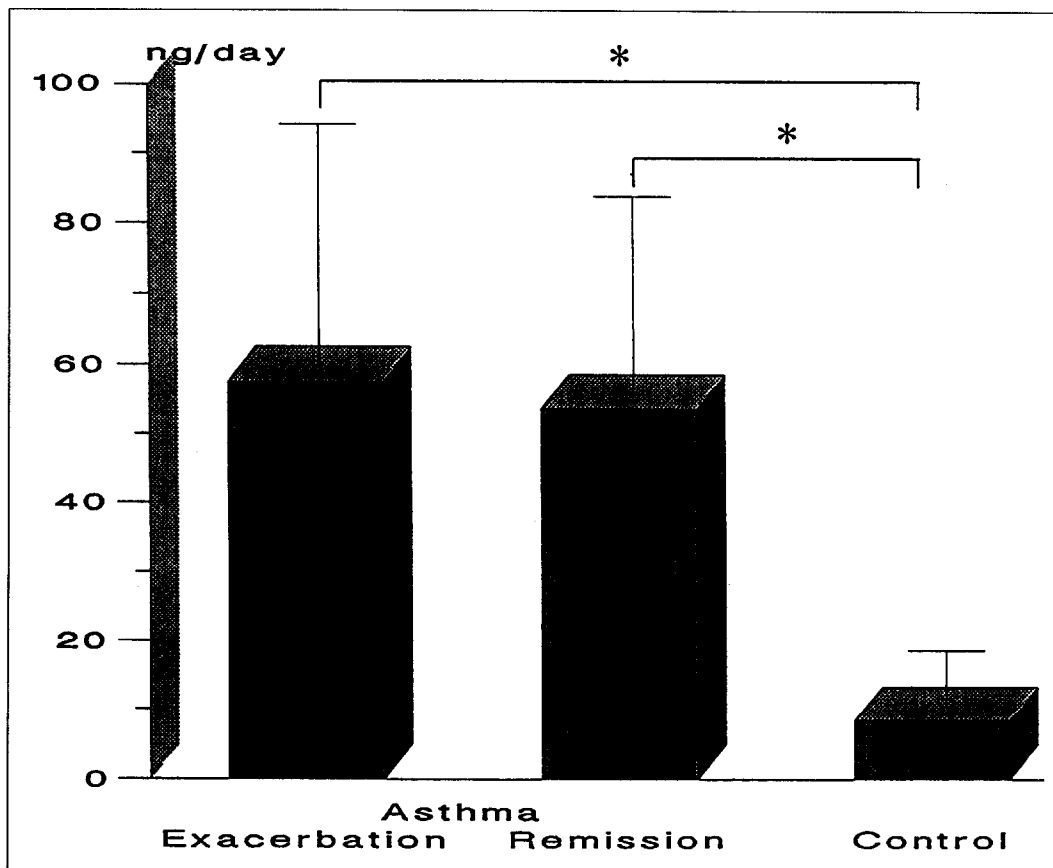


Fig. 3. Daily urinary endothelin excretion in bronchial asthma and control subjects

* $p < 0.017$, nonparametrically

기관지 수축력을 갖고 있는 것으로 알려져 있다¹⁴⁾. 본 연구에서는 ET 항체로서 3가지 ET 펩티드를 공통으로 인식할 수 있는 항체가 이용됐으므로 그중 어느 형의 펩티드가 보다 더 천식의 병인과 관련되는지에 대해 규명하지는 못하였으나 지금까지 연구보고에 근거시 ET-1이 가장 관련되어 있을 것으로 추정된다^{4, 8)}. 급성 천식환자의 기관폐포세척액에서 ET의 농도의 증가 및 기관지천식의 정도에 따른 점진적인 혈중 ET의 증가^{15, 16)}는 기관지 천식의 병인과 관련하여 ET이에서 합성이 증가되고 유리가 증가되었음을 입증해 주는 자료이다. 따라서 ET은 천식증상의 악화에 중추적

인 역할을 수행하는데⁸⁾ 그간의 여러 연구보고들을 고찰해 본 결과 천식이 악화시 기관지세척액내 ET은 상승 또는 저하의 상반된 결과들이 보고된 점에 비추어 혈장 및 요중 배설되는 ET의 동태에 대한 관찰의 의미가 있다. 본 연구결과 급성발작시 혈장 ET은 증가하였으며 천식의 치료에 따라 정상대조군치로의 의미 있는 하강을 보였으며 이는 Aoki등¹⁶⁾의 보고와 일치하는 결과이다. 한편 천식환자에서 요중 ET의 증가는 폐에서 생산 증가나 신장내 합성 또는 배출의 증가에 기인할 수 있다. 즉 ET이 저산소증시 폐 혈관수축으로 내피세포가 손상되면서 폐에서의 생산 증가로 요배

출이 증가한다는 설¹⁷⁾과 저산소증 자체가 신장 손상을 초래하여 ET의 유리를 증가시킨다는 주장¹⁸⁾으로 상반된 견해를 보이고 있다. 저산소증은 폐포 염증매개세포인 중성구나 대식세포를 자극하여 유리될 수 있고¹⁹⁾ ET이 허혈성 신손상후에 관찰되는 저관류 및 저사구체 여과에 작용하는 단백으로 기여한다는 주장도 있다²⁰⁾. 본 연구에서는 천식군의 저산소혈증이 대조군에 비해 낮지만 통계학적으로 유의한 차이가 없어 이 인자에 의한 노증 ET의 변동은 배제하였다. 경구용 스테로이드 치료후 천식환자의 기도점막에서 유리되는 ET의 감소와²¹⁾ 시험관내 hydrocortisone이 ET 유리를 억제한다는 보고²²⁾와 관련하여 급성 천식 발작이 치료되면서 혈중 및 요중 ET의 감소가 예견될 수 있다. Baraniuk 등²³⁾은 천식군의 요중 ET은 증가하나 ET-1 및 ET-3는 크게 증가하지 않음을 보고하였는데 이는 ET-1 및 ET-3 이외의 ET 물질이 혈중에 유리되고 배설됨을 의미한다고 주장하였으나 그 물질이 무엇인가에 대해서는 규명하지는 못하였다. 본 연구에서는 천식군에서 정상군에 비해 요유출된 ET이 유의하게 증가되어 있음을 관찰하였으며 치료후 혈장으로 유리되는 ET이 감소한 반면, 요중 ET은 치료 전후의 변동없이 계속 증가하여 있음이 관찰되었는데 교감신경성 치료제에 의한 신혈류 증가 및 신사구체여과율 증가에 따른 신배설의 증가 때문이거나 또는 급성발작후 진정된 기관지 수축에 따른 ET 유리는 감소하였으나 혈중 및 요중간의 척도의 차이로 요중 총 ET 배설량의 변화를 반영하지 못하였을 수 있다. 한편, ET과 FEV₁^{15, 16)} 및 PaO₂¹⁸⁾와의 역상관성의 보고는 ET의 유리에 기관지수축 및 기도과민성의 병인이 관련되어 있음을 시사해 주는 것으로서 천식의 병인에 있어 ET의 역할을 조명해 주는 단서가 될 수 있으리라 가정하여 조사해 보았으나 유의있는 상관성은 찾을 수 없었다. 이에 대해서는 향후 더 많은 대상으로 추가조사가 되어야 할 것으로 판단된다.

요 약

연구배경 :

최근의 기관지천식 병인과 관련한 여러 연구에서 천식 발작중에 폐장에서 과도하게 유리된 endothelin (ET)이 기관지 수축을 유발시키는 주요한 펩티드임이 확인되었다. 이 연구의 목적은 급성발작의 경과에 따른 혈장 및 요중치의 변동 및 상호 연관성을 관찰함에 있다.

방 법 :

연구대상은 16명의 급성 천식악화로 입원한 환자에서 내원당일과 치료 2주후의 2회의 혈장 및 24시간 요를 채취하였다. 정상대조군은 신체건강한 성인 10명으로 정하였다. 모든 천식환자는 입원당시 부신피질호르몬제, 베타-2 교감신경작용제, 아미노필린 제제를 투약받았다. ET은 방사면역측정법에 의해 측정되었으며 교차반응성에 있어 ET-1과는 100%, ET-2와 67%, ET-3와 84%, Big-ET과 8% 이었다.

결 과 :

혈장 ET은 천식환자의 치료후 및 대조군의 수치와 비교하여 천식악화시 유의하게 증가하였다. 그러나 요중 ET은 천식악화시 및 치료후에 유의한 감소가 관찰되지 않았으나 정상대조군에 비해서는 둘다 유의하게 증가되어 있었다. 혈중 및 요중 ET치는 폐기능 및 저산소혈증 등과 유의한 상관관계는 없었다.

결 론 :

천식의 급성악화시에 증가한 혈장의 ET은 폐장에서 유리되는 증가에 기인한 것으로 사료된다. 천식 발작 환자는 정상인에 비해 요중 ET의 배설이 증가하여 있었으나 치료 2주후까지는 유의한 감소가 관찰되지 않았다. 따라서 천식발작시의 요중 ET의 변동을 관찰하기 위해서는 좀더 긴 관찰기간 및 많은 환자를 대상으로 포괄적인 연구가 되어야 할 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구에 많은 조언을 주신 연세의대 홍천수 교수님과 자료수집에 도움을 준 이화의대 내과학 교실 의국원 및 김정환 기사님 여러분께 깊은 감사를 드립니다.

참 고 문 헌

1. Yanagisawa M, Kurihara S, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Goto K, Masaki T : A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 332 : 411, 1988
2. Mattoli S, Mezzetti M, Riva G, Allegra L, Fasoli A : Specific binding of endothelin on human bronchial smooth muscle cells in culture and secretion of endothelin-like material from bronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 3 : 145, 1990
3. Springall DR, Howarth PH, Counihan H, Djukanovic R, Holgate Polak JM : Endothelin immunoreactivity of airway epithelium in asthmatic patients. *Lancet* 337 : 697, 1991
4. Goldie RG, Henry PJ, Knott PG, Self GJ, Luttmann MA, Hay DW : Endothelin-1 receptor density, distribution, and function in human isolated asthmatic airways. *Am J Respir Crit Care Med* 152 : 1653, 1995
5. National Institutes of health : Guidelines for the diagnosis and management of asthma. Publication No.91-3042. Bethesda, MD, National Asthma Education Program, 1991
6. Chan-Yeung M, 장중현, Manfreda J, Ferguson A, Becker A : Changes in peak flow, symptom score, and the use of medications during acute exacerbations of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 154 : 889, 1996
7. American Thoracic Society. Standardization of spirometry-1987 update. *Am Rev Respir Dis* 136 : 1285, 1987
8. Hay DW, Henry PJ, Goldie RG : Is endothelin-1 a mediator in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 154 : 1594, 1996
9. Helset E, Kjaeve J, Hayge A : Endothelin-1 induced increases in microvascular permeability in isolated, perfused rat lungs requires leukocyte and plasma. *Circ shock* 39 : 15, 1993
10. Tomlinson PR, Wilson JW, Stewart AG : Inhibition by salbutamol of the proliferation of human airway smooth muscle cells growth in culture. *Br J Pharmacol* 111 : 641, 1994
11. Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya Y, Miyauchi T, Goto K, Masaki T : The human endothelin family : three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 86 : 2863, 1989
12. Michael JR, Markewitz BA : Endothelins and the lung. *Am J Respir Crit Care Med* 154 : 55, 1996
13. Hay DW, Henry PJ, Goldie RG : Endothelin and the respiratory system. *Trends Pharmacol Sci* 14 : 29, 1993
14. Advenier C, Sarria B, Naline E, Puybasset L, Lagente V : Contractile activity of three endothelins (ET-1, ET-2 and ET-3) on the human isolated bronchus. *Br J Pharmacol* 100 : 168, 1990
15. Redington AE, Springall DR, Ghatei MD, Lau LC, Bloom SR, Holgate ST, Polak JM, Howarth PH : Endothelin in bronchoalveolar lavage fluid and its relation to airflow obstruction in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 151 : 1034, 1995
16. Aoki T, Kojima T, Ono A, Unishi G, Yoshijima S,

- Kameda-Hayashi N, Yamamoto C, Hirata Y, Kobayashi Y : Circulating endothelin-1 levels in patients with bronchial asthma. *Ann Allergy* 73 : 365, 1994
17. Sofia M, Mormile M, Faraone S, Carratu P, Alifano M, Benedetto G, Carratu L : Increased 24-hour endothelin-1 urinary excretion in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration* 61 : 263, 1994
 18. Ohta K, Hirata Y, Schichiri M, Kanno K, Imori T, Tomita K, Marumo F : Urinary excretion of endothelin-1 in normal subjects and patients with renal disease. *Kidney Int* 39 : 307, 1991
 19. Sessa WC, Kav S, Zembowicz A, Anggard E, Hecker M, Vane JR : Human polymorphonuclear leukocytes generate and degrade endothelin-1 by two distinct neutral proteases. *J Cardiovasc Pharmacol* 17 : S34, 1991
 20. Simonson MS : Endothelins ; Multifunctional renal peptides. *Physiol Rev* 73 : 375, 1993
 21. Mattoli S, Soloperto M, Marini M, Fasoli A : Levels of endothelin in the bronchoalveolar lavage fluid of patients with symptomatic asthma and reversible airflow obstruction. *J Allergy Clin Immunol* 88 : 375, 1991
 22. Vittori E, Marini M, Fasoli A, De Franchis R, Mattoli S : Increased expression of endothelin in bronchial epithelial cells of corticosteroids. *Am Rev Respir Dis* 146 : 1320, 1992
 23. Baraniuk JN, Sabol MB, Milzman D, Becker KL : Endothelin is increased in urine during acute asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 151 (4), 2/2 : A388, 1995
-