

천식 환아의 중증도 평가 및
기관지 과민성 지표로서 혈청
Eosinophil-derived neurotoxin
(EDN) 농도 측정의 의의

연세대학교 대학원

의 학 과

김 경 원

천식 환아의 중증도 평가 및
기관지 과민성 지표로서 혈청
Eosinophil-derived neurotoxin
(EDN) 농도 측정의 의의

연세대학교 대학원

의 학 과

김 경 원

천식 환아의 중증도 평가 및
기관지 과민성 지표로서 혈청
Eosinophil-derived neurotoxin
(EDN) 농도 측정의 의의

지도교수 김 규 언

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2005 년 6 월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

김 경 원

김경원의 석사 학위논문을 인준함

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

연세대학교 대학원

2005 년 6 월 일

감사의 글

이 논문을 무사히 마칠 수 있도록 은혜를 주신 하나님께 먼저 감사를 드립니다.

우선 제가 알레르기 및 호흡기 분야에서 공부할 수 있도록 배려해 주시고 또한 이 논문을 지도해 주신 김규언 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 많이 바쁘신 중에도 시간을 내주셔서 깊은 관심을 보여주시고 조언해 주신 손명현 교수님과 박중원 교수님께도 감사를 드립니다. 또한 항상 많은 도움을 주시는 송태원, 이경은, 양혜선 선생님과 성실한 모습이 늘 힘이 되는 동료인 김은수 선생님에게도 감사를 드립니다.

제 학위 과정 중에 큰 힘이 되어 주셨던 양가 부모님께 감사를 드립니다. 또한, 같은 자리에서 든든하게 힘이 되어주는 사랑하는 남편 주경훈에게도 늘 감사하며, 제가 힘들 때마다 저를 보며 웃어주는 사랑하는 딸 예은이는 제가 논문을 마치는데 큰 힘이 되었습니다.

저에게 도움을 주시고, 조력자가 되어주신 많은 분들을 다 글로 열거하지 못함을 아쉬워하며 이만 감사의 글을 마칩니다.

저자 씀

차 례

국문 요약	1
I. 서론	3
II. 재료 및 방법	8
1. 대상	8
2. 방법	9
가. 폐기능 검사 및 메타콜린 흡입 유발시험	9
나. 혈중 호산구수	10
다. 혈청 ECP (eosinophil cationic protein) 농도	10
라. 혈청 EDN (eosinophil-derived neurotoxin) 농도	11
마. 피부 단자 시험	11
3. 통계 방법	12
III. 결과	13
1. 아토피성 천식군, 비아토피성 천식군과 대조군 사이의 특성 분석	13
가. 아토피성 천식군, 비아토피성 천식군과 대조군 사이의 일반적인 특성	13
나. 아토피성 천식군, 비아토피성 천식군과 대조군 사이의 혈청 ECP 농도 비교	14
다. 아토피성 천식군, 비아토피성 천식군과 대조군 사이의 혈청 EDN 농도 비교	15
라. 혈액 내 호산구수에 따른 혈청 ECP 농도의 변화	16
마. 혈액 내 호산구수에 따른 혈청 EDN 농도의 변화	17
바. 혈청 ECP 농도와 혈청 EDN 농도의 상관관계	18

2. 천식의 중증도에 따라 분류된 군 사이의 특성 분석	19
가. 천식의 중증도에 따라 분류된 군의 일반적인 특성	19
나. 천식의 중증도에 따라 분류된 군 사이의 혈청 ECP 농도 비교	20
다. 천식의 중증도에 따라 분류된 군 사이의 혈청 EDN 농도 비교	21
3. 기관지 과민성에 따라 분류된 군 사이의 특성 분석	22
가. 기관지 과민성에 따라 분류된 군 사이의 일반적인 특성	22
나. 기관지 과민성에 따라 분류된 군 사이의 혈청 ECP 농도 비교	23
다. 기관지 과민성에 따라 분류된 군 사이의 혈청 EDN 농도 비교	24
라. PC ₂₀ 에 따른 혈청 ECP 농도의 변화	25
마. PC ₂₀ 에 따른 혈청 EDN 농도의 변화	26
IV. 고찰	27
V. 결론	31
참고문헌	33
영문요약	38

그림 차례

Fig. 1. Serum ECP levels differed significantly among atopic asthma, non-atopic asthma, and control groups	14
Fig. 2. Serum EDN levels differed significantly among atopic asthma, non-atopic asthma, and control groups	15
Fig. 3. Serum ECP showed a strong correlation to blood eosinophil count	16
Fig. 4. Serum EDN showed a strong correlation to blood eosinophil count	17
Fig. 5. There was also a strong correlation between EDN and ECP	18
Fig. 6. Serum ECP showed a significant difference among the groups that were divided by asthma severity	20
Fig. 7. Serum EDN showed a significant difference among the groups that were divided by asthma severity	21

Fig. 8. Serum ECP showed a significant difference among the groups that were divided according to airway responsiveness 23

Fig. 9. Serum EDN showed a significant difference among the groups that were divided according to airway responsiveness 24

Fig. 10. Serum ECP showed a weak, but significant correlation to PC₂₀ 25

Fig. 11. Serum EDN showed a weak, but significant correlation to PC₂₀ 26

표 차례

Table 1. Clinical characteristics of subject groups classified by diagnosis 13

Table 2. Characteristics of groups classified by asthma severity 19

Table 3. Clinical characteristics of subject groups classified by PC₂₀ 22

**천식 환자의 중증도 평가 및
기관지 과민성 지표로서 혈청 Eosinophil-derived
neurotoxin (EDN) 농도 측정의 의의**

목적: EDN (eosinophil-derived neurotoxin)은 ECP (eosinophil cationic protein)와 같이 기관지 천식에서 호산구성 염증 반응의 표지자로 알려져 있다. 최근 상품화된 ELISA kit를 이용하여 혈청 EDN 농도가 기관지 천식 환자에서의 중증도의 평가, 또한 기관지 과민성의 지표로서의 임상적인 유용성에 대하여 알아보하고자 하였다.

방법: 만 6세에서 15세 사이의 환자 151명을 대상으로 하였으며 아토피성 천식 환자는 72명, 비아토피성 천식 환자는 36명, 대조군은 43명이었다. 대상 환자에서 폐기능 검사, 메타콜린 흡입 유발시험, 혈액 내 호산구수, 혈청 ECP 농도, 혈청 EDN 농도 및 피부 단자 시험을 시행하였다. 메타콜린 흡입 유발 시험을 통해 얻어진 PC₂₀을 기준으로 4개의 군으로 (Group I: <1 mg/mL; Group II: 1-4 mg/mL; Group III: 4-16 mg/mL; Group IV: >16 mg/mL) 나누어 이들 군 간의 임상적 특성과 혈액 내 호산구 수, 혈청 ECP와 EDN 농도의 경향성을 분석하였다

결과: 혈청 EDN 농도는 혈청 ECP 농도와 같이 아토피성 천식군에서 비아토피성 천식군과 대조군에서보다 의미있게 높은 측정값을 보였고, 천식군 내에서 중증도가 심해짐에 따라 측정값이 통계적으로 유의하게 높아지는 경향을 보였다. 혈청 EDN 농도와 혈청 ECP 농도 사이에 의미있는 상관관계를 나타내었으며, 기관지 과민성 유무에 따라서 혈청 EDN과 혈청 ECP 농도가 유의한 차이가 있었으며 PC₂₀과 이들 측정값 사이에 의미있는 상관관계를 보여주었다.

결론: 혈청 EDN 농도는 혈청 ECP 농도와 같이 호산구성 염증반응을 나타내는 표지자로서 아토피성 천식 환자의 중증도 평가 및 기관지 과민성의 지표로서 유용하게 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

핵심되는 말 : EDN (Eosinophil-derived neurotoxin), ECP (Eosinophil cationic protein), 천식, 중증도, 기관지 과민성

천식 환자의 증증도 평가 및
기관지 과민성 지표로서 혈청 Eosinophil-derived
neurotoxin (EDN) 농도 측정의 의의

<지도교수 김 규 언>

연세대학교 대학원 의학과

김 경 원

I. 서론

호산구는 약 120년전 Paul Ehrlich에 의해서 발견되고 명명되어 지금까지 많은 질병과 관련되어 수많은 연구가 이루어지고 있다¹. 특히 천식에 있어서 호산구의 역할은 매우 중요하며 지금까지 병태생리, 진단 및 치료와 관련된 많은 보고가 있었고 현재에도 연구가 끊임없이 계속되고 있다.

천식 환자에서 기도의 염증 변화는 성인 천식에서와 마찬가지로 기도의 수축, 기도 상피의 손상 및 기도 벽의 비만세포와 호산구가 주를 이루는 염증세포의 침윤이 특징적으로 나타난다²⁻⁴. 이 중에서 특히 호산구와 그 매개물질들은 기도 수축, 기도 상피 손상 및 기관지 과민성(bronchial hyperresponsiveness)에 관여하며, 성인 천식과 마찬가지로 천식 환자의 기관지 세척액과 기도 조직에서 호산구 수와 매개물질들의 농도가 증가되어 있다⁴. 특히 기관지 과민성에 관하여는 많

은 연구들을 통해서 호산구가 기도 상피를 손상시킴으로 과민성을 유발하는데 중심적인 역할을 한다는 것이 알려졌다³.

활성화된 호산구는 일반적으로 eosinophil cationic protein (ECP), major basic protein (MBP), eosinophil peroxidase (EPO)와 eosinophil protein X/eosinophil-derived neurotoxin (EPX/EDN)의 네 가지의 과립단백을 유리한다고 알려져 있고 최근 MBP2 (major basic protein 2)가 발견되었다⁵. 과립단백 중에서 동물실험을 통하여 MBP와 ECP가 기도 상피에 독성(cytotoxic) 효과를 가지는 것을 알게 되었으며, EDN은 ECP와 같이 기도 상피에 독성 효과를 가지면서 신경독성(neurotoxic) 효과도 가진다고 알려져있다⁴. 또 최근의 연구에서 ECP가 천식에서 폐 계면활성제(surfactant)의 기능장애를 유발하여 기도 수축을 일으킨다는 보고도 있었다⁶. 치명적인 천식에서 손상받은 기도 상피세포 주변에 MBP의 침착이 보였고, ECP는 경증 및 중등증 천식의 기관지 조직에서 발견되고 있다는 보고가 있었다³. 원숭이 기관지에 MBP를 직접 주입하면 메타콜린에 대한 반응성이 증가하는 것을 관찰할 수 있었고, 항원 자극 후 천식의 후기 반응기에 기관 세척액에서 ECP와 MBP의 농도가 증가한다는 것이 알려지게 되었다. 이러한 일련의 연구들을 통하여 조직 내의 호산구 과립단백이 천식의 병태생리에 중요한 역할을 수행한다는 것이 알려지게 되었다².

호산구 과립단백 중에서 MBP는 호산구 뿐 아니라 비만세포에서도 분비되는 반면에, ECP, EDN와 EPO는 호산구에서 특이적으로 분비되므로 이들이 MBP와는 달리 호산구의 활성화와 기도 염증의 간접적인 측정 방법이 되었다⁴. 혈청 ECP 농도는 호산구성 염증상태의 표지자로서 천식 진단, 천식의 중증도, 폐기능 및 기관지 과민성과의 연관성과 천식 치료의 효과를 감시하는 표지자로서의 역할에 관하여 가장

많은 연구가 이루어져 있으며⁷⁻⁹ 상용화된 방법이 있으므로 쉽게 접할 수 있어 많이 이용되고 있다. EPO의 유용성에 관하여는 아직 많은 연구가 이루어지지 않았으며 특히 소아에서 더 그러하며 그 연구들에서도 논란이 있다⁴.

천식에서 임상적인 상태와 염증의 정도, 특히 호산구 활성화의 정도와 연관된 염증의 중증도 및 호산구 과립단백의 농도와의 관련성에 대한 많은 연구들이 이루어지고 있다. 천식의 악화 시기에 혈액 내 저밀도의 호산구와 EG2 양성인 호산구가 증가하고, 호산구 표면에 CD11b의 발현이 증가하는 것이 관찰되었으며, 혈청 과립 단백질의 농도가 현저한 증가가 나타난다고 보고하였다². 그러나 호산구는 기도 염증에 비특이적이며, 혈청 ECP 농도도 마이코플라즈마 폐렴이나 바이러스 감염 등에서 증가할 수도 있으며 민감도와 특이도가 낮고 천식 진단의 유용성에 대해 아직까지 논란이 있어 단독으로 이용될 수는 없으며 보조적인 수단으로 이용될 수 있을 것으로 보고되고 있다⁴. 혈청 ECP 농도와 천식의 중증도와의 관련성에 있어서는 긍정적인 보고들이 많다^{2, 5, 7, 10-13}. 혈청 ECP 농도가 폐기능이나 기관지 과민성과의 연관성에 대하여는 논란이 있으며 아직은 좀 더 연구가 필요한 실정이다⁴. 최근 흡입 스테로이드 요법(inhaled corticosteroids)을 받는 환자에서 치료 효과의 감시 표지자로서의 과립단백의 유용성에 관한 여러 시도들이 이루어지고 있다. 일부 보고에서 긍정적인 결과를 보고하고 있어 주목받고 있으나 좀 더 잘 계획된 큰 규모의 연구가 필요할 것으로 생각된다^{4, 7-9, 14}. 또한 소아에서 천식을 예견하는 것은 천식 환자에서 질병의 진행이나 악화를 막는 위험 요소를 평가하는 것 만큼 중요하다. 이에 관한 호산구 과립단백의 연구는 천명이 들리는 영아에서 만성 천명의 예견지표로 혈청 ECP 농도가 연구되었으나

아직까지는 논란의 여지가 남아있다⁴. 최근 연구에 의하면 과립단백의 임상적 유용성에 관한 연구의 일환으로 천식 환아에서 임상 경과 악화의 예견인자로서 긍정적인 연구결과를 보고하였다^{2, 15}.

혈청 ECP의 농도는 체내에서 분비된 농도와 혈액이 응고될 때 시험관 내에서 분비되는 농도의 합으로 나타난다. 이렇게 시험관 내에서 응고될 때 유리되는 혈청 ECP가 혈액 내 체내에서 호산구가 활성화 상태에서 유리되는 ECP라고 할 수 있으며, 이 농도로 활성화된 호산구성 염증 상태를 반영할 수 있다¹⁶. 즉, EDTA로 처리된 혈장 ECP의 농도는 순환하는 혈중의 ECP 농도를 반영하며 혈청 ECP 농도는 호산구로부터의 ECP의 유리능(releasability)을 나타낸다⁴. ECP와 EDN은 온도, 원심분리 이전까지의 시간 및 혈액 채취 튜브의 종류 등에 의해 영향을 받을 수 있다. 또한 일부 보고자들은 ECP와 EDN이 일중 변동 및 계절에 의해 영향을 받는다고 하였다⁴. 더욱이 혈청 ECP의 유리는 칼슘과 혈액의 응고 상태에 의해 영향을 받는다고 보고되고 있다¹⁶.

EDN은 ECP와 약 70% 정도의 구조적인 유사성을 가진 매우 밀접한 과립단백이며 모두 신장으로 배설되나 EDN만이 소변에서 측정될 수 있다. 소변 EDN은 호산구의 회전율과 호산구의 탈과립 후 기관지 상피와의 연관성 및 요로 감염 등에 영향을 받으며, 그 절대 수치는 아직 보고되고 있지 않다⁴.

소아에서 천식의 진단은 어른과 달리 최대 호기 유속치 및 폐기능 검사 등에 협조가 어려운 점들이 있어 객관적인 평가가 쉽지 않고 또한 그 중증도의 분류 및 치료에 대한 반응의 평가에 정확도가 떨어질 가능성이 많다. 이러한 이유로 염증을 간접적으로 대변하는 표지자에 대한 연구가 특히 소아에서 지속적으로 요구되고 있다. 앞서 언급한

것과 같이 혈청 ECP 농도에 관한 많은 연구가 있었으며 현재에도 계속되고 있다. 그러나 이것의 정확한 역할 및 생물학적인 제한점들에 대해서는 아직 논란이 있으며, 혈청 ECP 농도 외에도 임상적으로 쉽게 적용할 수 있는 기관지 염증반응을 나타내는 표준화된 표지자에 대한 연구가 계속되고 있다.

이에 최근에 상품화된 ELISA kit를 이용하여 혈청 EDN 농도가 기관지 천식 환자에서의 중증도의 평가 및 기관지 과민성의 지표로서의 임상적인 유용성에 대하여 알아보려고 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 대상

2003년 1월부터 2004년 5월의 기간 동안 연세대학교 의과대학 세브란스병원 소아 알레르기 클리닉에 내원한 만 6세에서 15세 사이의 환자 151명을 대상으로 하였다. 남아는 88명 여자는 63명 이었고, 남녀비는 1.4 : 1이었으며, 평균 연령은 9년 6개월이었다. 대상 환자 중 아토피성 천식 환자는 72명, 비아토피성 천식 환자는 36명, 대조군은 43명이었다.

대상 환자 중에서 기도 폐쇄를 일으키는 다른 질병이 없으면서, 반복적이고 가역적인 호흡곤란과 천명이 관찰되어 천식으로 진단받았고 메타콜린 흡입 유발 시험에서 양성 소견 ($PC_{20} \leq 16$ mg/mL)을 보이며 β_2 항진제에 가역성을 보인 경우를 천식 환자로 구분하였다¹⁷⁻¹⁹. 또, 12종의 주요 흡입 항원으로 시행한 피부 단자 시험에서 한 개 이상의 항원에 대해 양성 반응을 보인 경우를 아토피군으로 분류하였다.

천식 환자들은 Joseph-Bowen 등¹⁰이 제시한 기준에 따라 중증도를 다음과 같이 분류하였다. 경증 천식은 지난 12개월 동안 1-2회의 천명 소견을 보였던 환자들로 분류하였고, 중등증 천식은 지난 12개월 동안 3-12회의 천명 소견을 보였던 환자들 중에서 평균적인 천명의 야간 증상이 일주일에 한번 미만인 환자들로 분류하였다. 중증 천식은 지난 12개월동안 다음 세가지 증상 중 적어도 한가지에 해당하는 경우로 분류하였다. 즉, 13회 이상의 천명 소견을 보였거나, 말을 할 수 없을 정도의 급성 발작이 적어도 1회 이상 있었거나 천명의 야간 증상이 평균적으로 일주일에 1회 이상 있었던 경우이다.

환아들은 모두 경구 또는 흡입 스테로이드 치료를 받기 전에 검사를 시행하였고, 최근 6개월동안 천식발작으로 인해 전신적 스테로이드 치료를 받았던 환자는 제외시켰다. 대조군은 정기적인 신체검진이나 예방접종을 위하여 내원한 환아 중에서 썩썩거림이나 반복적, 만성적 염증질환이 없는 환아를 선별하였고 이들은 적어도 최근 2주간 감염의 병력이 없는 환아들로 선별하였다. 대조군에 속한 환아들은 모두 시행한 피부 단자 시험에서 음성 소견을 보였고 알레르기나 다른 질병의 과거력이나 약물 복용력이 없는 환아들이었다¹⁸.

2. 방법

가. 폐기능 검사 및 메타콜린 흡입 유발 시험

폐기능 검사는 Vmax encore (VIASYS Healthcare Inc., Conshohocken, USA)로 측정하였고, 각 시점에서 3회 시행한 FEV₁의 최대치를 사용하였다. 대상 환아들은 폐기능 검사를 시행하여 FEV₁이 정상 예측치²⁰의 70% 이상인 것을 확인한 후 메타콜린 흡입 유발시험을 시행하였다. 메타콜린을 완충 생리 식염수에 녹여 각 농도(0.075, 0.15, 0.31, 0.62, 1.25, 2.5, 5, 10, 25 mg/mL)로 희석하여 Rosenthal-French dosimeter를 사용하여 0.6초 동안 DeVilbiss 646 nebulizer로부터 aerosol을 발생시켜 흡입시켰다. 환아들은 완충 생리 식염수를 5번 흡입하고 5분 간격으로 농도를 증가시켜 흡입하였고, FEV₁은 각 농도 흡입 후 60-90초 후에 측정하였다. FEV₁이 완충 생리식염수 흡입 후 수치보다 20%이상 감소할 때까지 농도를 증가시켜 흡입하여 용량 반응 곡선에서 2개 전후 시점을 연결하여 PC₂₀을 구하

였다. 200 µg의 salbutamol 흡입 후 FEV₁이 12% 이상의 회복을 보인 경우 가역성이 있다고 하였다^{11, 19}. 메타콜린 흡입 유발 시험은 실시하기 24시간 전부터 항염증제 및 β2 항진제의 사용을 중지하였다.

PC₂₀을 기준으로 4개의 군으로 (Group I: <1 mg/mL; Group II: 1-4 mg/mL; Group III: 4-16 mg/mL; Group IV: >16 mg/mL) 나누어¹⁹ 이들 군 간의 임상적 특성과 혈액 내 호산구 수, 혈청 ECP와 EDN 농도의 경향성을 분석하였다. Group I은 28명, Group II는 34명, Group III는 46, Group IV는 43명이었다.

나. 혈액 내 호산구수

NE-8000 system (Sysmax, Japan)의 eosinophil channel에서 측정되었다. 검체를 항 응고제인 K₂ EDTA가 들어있는 용기에 실온에서 보관하여 검체 채취 4시간 이내에 검사하였다. Alkali 용혈제(NaOH)로 적혈구는 용해시켰고 호산구의 백혈구는 세포질을 녹여 세포를 수축시켰다. Automatic discriminator에 의해 호산구의 절대치를 계수하였다.

다. 혈청 ECP (eosinophil cationic protein) 농도

4 mL 혈액을 SST 튜브 (Becton Dickinson, Mountain View, CA, USA)에 채취후 실온에서 60분간 응고시키고 4℃, 1300 g에서 10분간 원심분리하여 혈청만을 분리수거한 후 CAP radioallergosorbent technique (UniCAP; Pharmacia and Upjohn, Uppsala, Sweden)으로 혈청 ECP를 측정하였다¹¹

라. 혈청 EDN (eosinophil-derived neurotoxin) 농도

4 mL 혈액을 SST 튜브 (Becton Dickinson, Mountain View, CA, USA)에 채취후 실온에서 60분간 응고시키고 4℃, 1300 g에서 10분간 원심분리하여 혈청만을 분리수거한 후 새로운 튜브에 옮겨 담았다. 혈청은 원심분리 직후에 -20℃에서 측정 전까지 보관되었다. 혈청 EDN의 농도의 측정은 상품화된 ELISA Kit (7630, MBL, Nagoya, Japan)을 이용하였다.

Anti-human EDN antibody가 코팅된 microwell에서 100 µL의 혈청을 넣고 실온에서 1시간동안 incubation 하였다. Wash solution (MBL, Nagoya, Japan)으로 4회 세척한 후 100 µL의 Conjugate solution (MBL, Nagoya, Japan)을 첨가하고 1시간동안 incubation 후에 세척하였다. 100 µL의 TMB Chromogen Solution (MBL, Nagoya, Japan)을 첨가하고 다시 10분간 incubation 후 100 µL의 Stopping Solution (0.2 M sulfuric acid)을 첨가하여 반응을 종결시키고 30분 안에 microplate reader (VERSA max)로 OD 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 모든 혈청은 2회 반복하여 측정하였다.

마. 피부 단자 시험

피부 단자 시험은 12종의 주요 흡입항원(Torii & Co., Tokyo, Japan)을 사용하였고 0.5% 히스타민과 생리 식염액을 사용하여 각각 양성 및 음성 대조 검사를 시행하였다. 단자 시행 15분 후에 판독하였으며 팽진의 장경과 단경을 측정하여 그 합을 2로 나누어 판독 결

과를 얻었고²¹, 각 항원에 대한 팽진이 3 mm 이상인 경우를 양성으로 판정하였다²².

3. 통계 방법

모든 측정값은 mean±SD으로 표시하였다. PC₂₀는 25 mg/mL 이상 이었던 경우 100 mg/mL으로 간주하여 처리하였다. 아토피성 천식, 비아토피성 천식과 대조군의 3군간의 비교 및 메타콜린 흡입 유발 시험으로 얻어진 PC₂₀에 의해 분류된 4군 사이의 특성 분석은 One-Way ANOVA를 이용하여 비교하였다. 혈청 ECP 농도, 혈청 EDN 농도와 혈액 내 호산구수, PC₂₀과의 상관관계는 Pearson의 상관 계수를 구하여 비교하였으며, 상관관계가 있는 경우에는 선형 회귀분석을 실시하였다. PC₂₀에 의해 분류된 양성군과 음성군 간의 특성 비교는 Student T-test를 시행하였다. 통계는 SPSS를 이용하였으며 각각의 분석에서 $P < 0.05$ 인 경우에 통계학적 유의성이 있다고 하였다.

III. 결과

1. 아토피성 천식군, 비아토피성 천식군과 대조군 간의 특성 분석

가. 아토피성 천식군, 비아토피성 천식군과 대조군 간의 일반적인 특성

대상 환아는 151명으로 남아는 88명 여아는 63명이었고, 남녀 비는 1.4 : 1이었으며, 평균 연령은 9년 6개월이었다. 대상 환아 중 아토피성 천식 환아는 72명, 비아토피성 천식 환아는 36명, 대조군은 43명이었었다. 이들 각 군 간의 평균나이, 남녀 비, 기저치 FEV₁ (% predicted)은 유의한 차이를 보이지 않았으나 혈액 내 호산구수는 각 군 사이에 의미있는 차이가 있었다($P<0.001$) (Table 1).

Table 1. Clinical characteristics of subject groups classified by diagnosis

	Atopic asthma	Non-atopic asthma	Control
No. of subjects	72	36	43
Age (years)*	9.7±2.1	8.7±2.1	9.7±2.2
Sex (male/female)	44/28	21/15	23/20
Baseline FEV ₁ (% predicted)*	81.7±12.4	84.2±14.7	86.0±13.4
Eosinophil count (/μl)* ⁺	578.5±369.7	269.9±213.9	276.3±269.3

* mean ± SD

⁺ $P<0.001$

나. 아토피성 천식군, 비아토피성 천식군과 대조군 사이의 혈청 ECP 농도 비교

아토피성 천식군, 비아토피성 천식군과 대조군 사이의 혈청 ECP 농도의 측정값을 비교하였다. 아토피성 천식군은 $31.3 \pm 30.1 \mu\text{g/L}$, 비아토피성 천식군은 $15.9 \pm 26.1 \mu\text{g/L}$, 대조군은 $11.3 \pm 12.0 \mu\text{g/L}$ 으로 세 군간의 유의한 차이를 보였다($P < 0.001$). 아토피성 천식군과 비아토피성 천식군 사이($P < 0.01$)와 아토피성 천식군과 대조군 사이($P < 0.001$)는 유의한 차이를 보였으나, 비아토피성 천식과 대조군 사이의 차이는 통계적 유의성을 보이지 않았다($P = 0.305$) (Fig. 1).

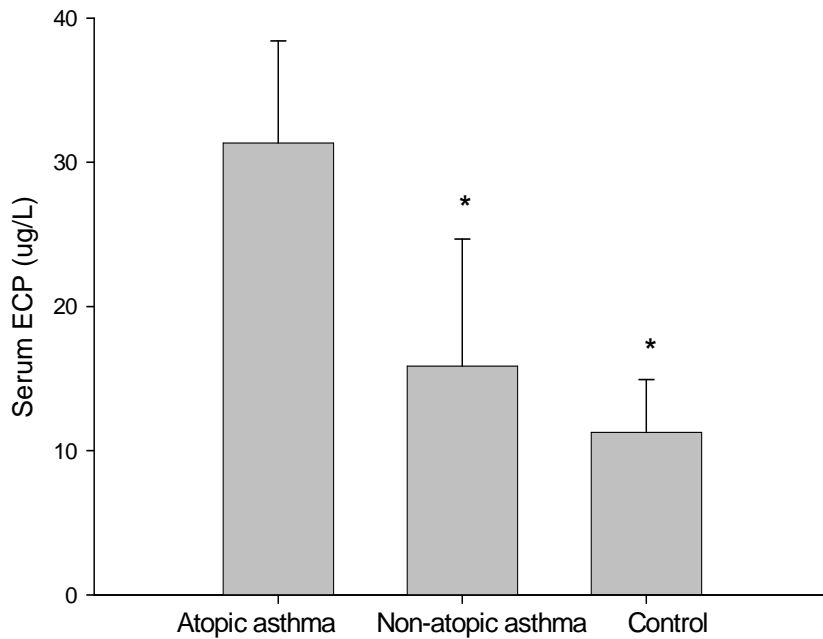


Fig. 1. Serum ECP levels differed significantly among atopic asthma, non-atopic asthma, and control groups (* $P < 0.01$, compared to atopic asthma group).

다. 아토피성 천식군, 비아토피성 천식군과 대조군 사이의 혈청 EDN 농도 비교

아토피성 천식군, 비아토피성 천식군과 대조군 사이의 혈청 EDN 농도의 측정값을 비교하였다. 아토피성 천식군은 $80.1 \pm 34.6 \mu\text{g/L}$, 비아토피성 천식군은 $60.4 \pm 36.3 \mu\text{g/L}$, 대조군은 $52.8 \pm 34.4 \mu\text{g/L}$ 으로 세 군간의 유의한 차이를 보였다($P < 0.001$). 아토피성 천식군과 비아토피성 천식군 사이($P < 0.01$)와 아토피성 천식군과 대조군 사이($P < 0.001$)는 유의한 차이를 보였으나, 비아토피성 천식과 대조군 사이의 차이는 통계적 유의성을 보이지 않았다($P = 0.342$) (Fig. 2).

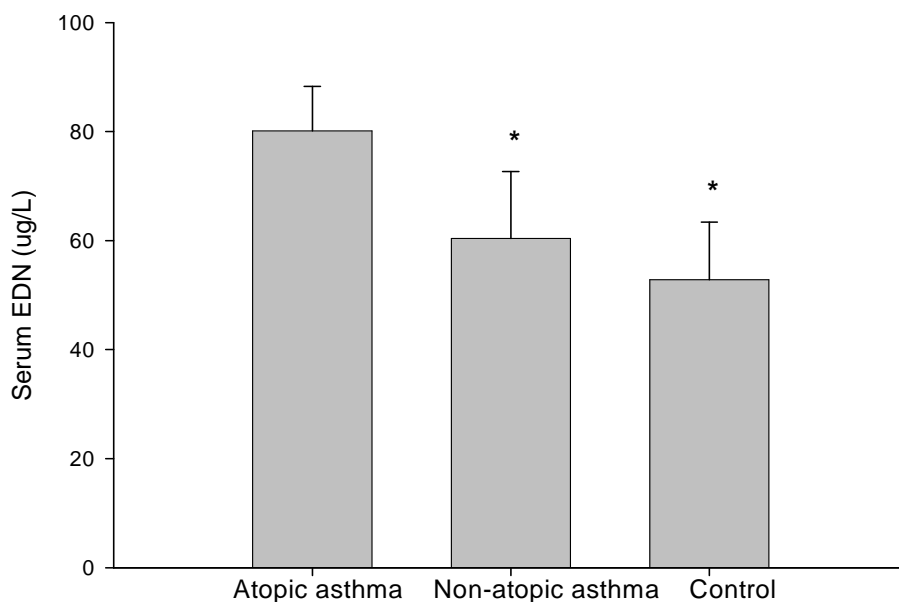


Fig. 2. Serum EDN levels differed significantly among atopic asthma, non-atopic asthma, and control groups (* $P < 0.01$, compared to atopic asthma group).

라. 혈액 내 호산구수에 따른 혈청 ECP 농도의 변화

대상 환자에서 혈액 내 호산구수에 따른 혈청 ECP 농도의 변화는 변수 사이에 $\gamma = 0.491$ ($P < 0.001$)으로, 통계적으로 의미있는 정의 (positive) 상관관계를 나타내었다(Fig. 3).

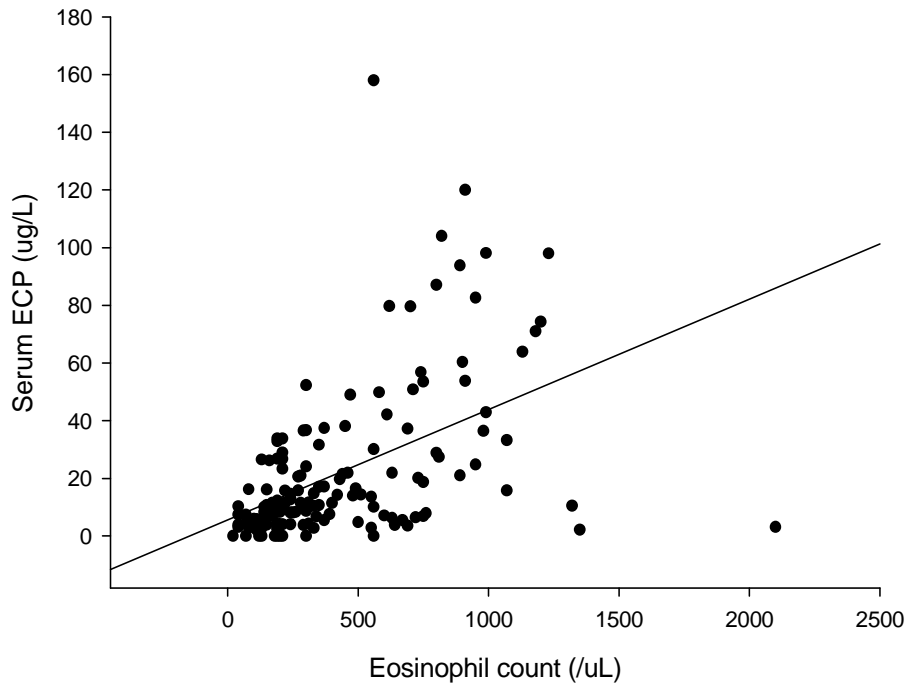


Fig. 3. Serum ECP showed a strong correlation to blood eosinophil count ($\gamma = 0.491$, $P < 0.001$).

마. 혈액 내 호산구수에 따른 혈청 EDN 농도의 변화

대상 환자에서 혈액 내 호산구수에 따른 혈청 EDN 농도의 변화는 변수 사이에 $\gamma = 0.457$ ($P < 0.001$)으로, 통계적으로 의미있는 정의 상관관계를 나타내었다(Fig. 4).

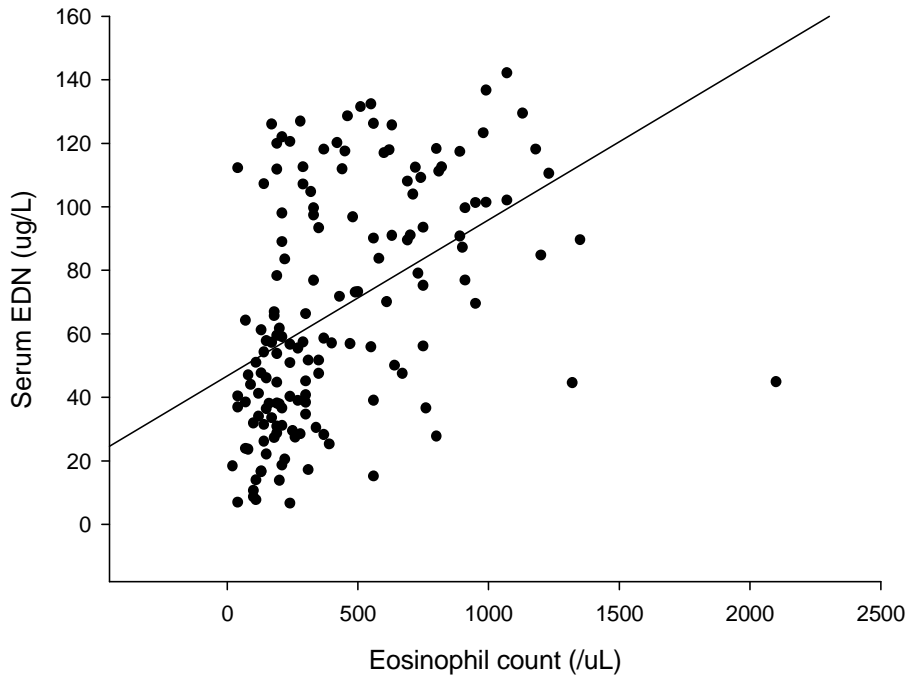


Fig. 4. Serum EDN showed a strong correlation to blood eosinophil count ($\gamma = 0.457$, $P < 0.001$).

바. 혈청 ECP 농도와 혈청 EDN 농도의 상관관계

대상 환자에서 혈청 ECP 농도 변화에 따른 혈청 EDN 농도의 변화는 변수 사이에 $\gamma = 0.443$ ($P < 0.001$)으로 통계적으로 의미있는 뚜렷한 정의 상관관계를 나타내었다(Fig. 5).

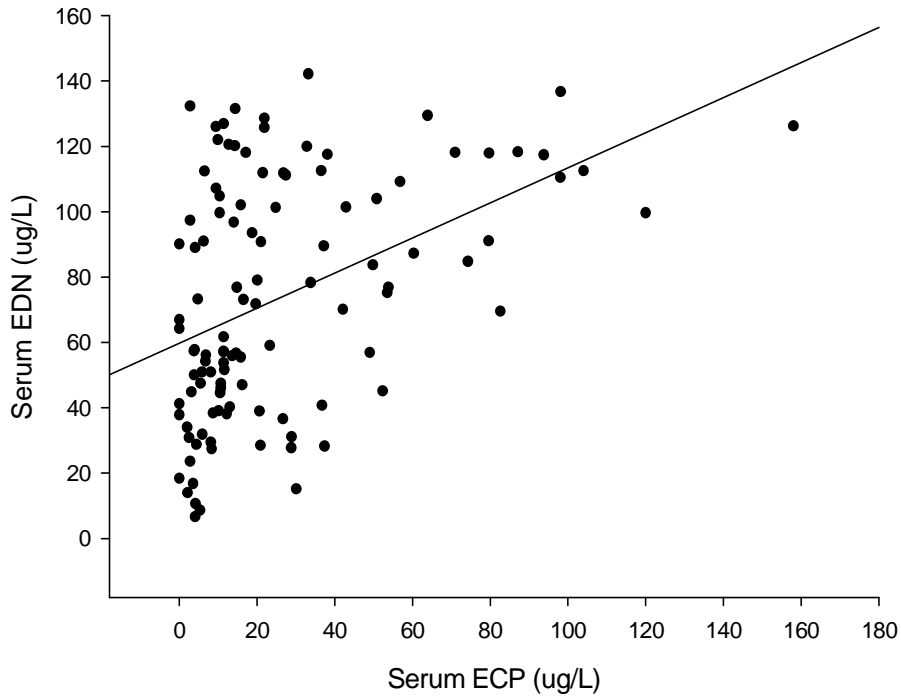


Fig. 5. There was also a strong correlation between EDN and ECP ($\gamma = 0.443$, $P < 0.001$).

2. 천식의 중증도에 따라 분류된 군 사이의 특성 분석

가. 천식의 중증도에 따라 분류된 군의 일반적인 특성

천식 환아는 108명으로 남아는 65명 여아는 43명 이었고, 남녀 비는 1.4 : 1이었으며, 평균 연령은 9년 7개월이었다. 대상 환아 중 경증 천식 환아는 43명, 중등증 천식 환아는 37명, 중증 천식 환아는 28명이었다. 이들 각 군 간의 평균나이, 남녀 비, 기저치 FEV₁ (% predicted)은 유의한 차이를 보이지 않았다. 혈액 내 호산구수는 각 군 사이에 의미있는 차이를 보였다($P < 0.001$) (Table 2).

Table 2. Characteristics of groups classified by asthma severity

	Mild asthma	Moderate asthma	Severe asthma
No. of subjects	43	37	28
Age (years)*	9.0±1.9	9.4±2.5	10.0±1.6
Sex (male/female)	25/18	22/15	18/10
Baseline FEV ₁ (% predicted)*	85.5±13.8	79.9±11.8	81.5±13.5
Eosinophil count (/μl) ^{*+}	383.3±295.4	465.1±308.5	666.1±418.9

*mean ± SD

⁺ $P < 0.001$

나. 천식의 중증도에 따라 분류된 군 사이의 혈청 ECP 농도 비교

대상 환자 중에서 천식 환아는 경증, 중등증, 중증 천식의 세 군으로 재분류 하였다. 이들 경증 천식군, 중등증 천식군과 중증 천식군 사이의 혈청 ECP 농도의 측정값을 비교하였다. 경증 천식군은 19.7 ± 28.0 $\mu\text{g/L}$, 중등증 천식군은 23.8 ± 24.3 $\mu\text{g/L}$, 중증 천식군은 39.2 ± 35.1 $\mu\text{g/L}$ 으로 세 군 간의 유의한 차이를 보였다($P < 0.05$). 경증 천식군과 중증 천식군 사이는 유의한 차이를 보였으나($P < 0.05$), 경증 천식군과 중등증 천식군 사이, 중등증 천식군과 중증 천식군 사이에서는 통계적 유의성을 보이지 않았다(Fig. 6).

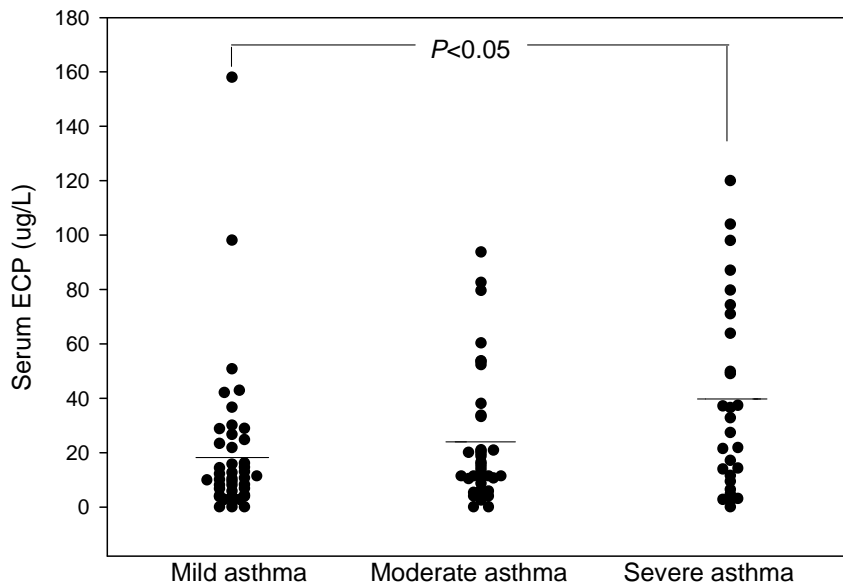


Fig. 6. Serum ECP showed a significant difference among the groups that were divided by asthma severity.

다. 천식의 중증도에 따라 분류된 군 사이의 혈청 EDN 농도 비교

대상 환자 중에서 천식 환자는 모두 경증, 중등증, 중증 천식의 세 군으로 재분류 하였다. 이들 경증 천식군, 중등증 천식군과 중증 천식군 사이의 혈청 EDN 농도의 측정값을 비교하였다. 경증 천식군은 $61.6 \pm 35.6 \mu\text{g/L}$, 중등증 천식군은 $69.7 \pm 32.6 \mu\text{g/L}$, 중증 천식군은 $96.8 \pm 31.7 \mu\text{g/L}$ 으로 세 군 간의 유의한 차이를 보였다($P < 0.001$). 경증 천식군과 중증 천식군 사이($P < 0.001$)와 중등증 천식군과 중증 천식군 사이($P < 0.01$)에는 유의한 차이를 보였으나, 경증 천식군과 중등증 천식군 사이에서는 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다(Fig. 7).

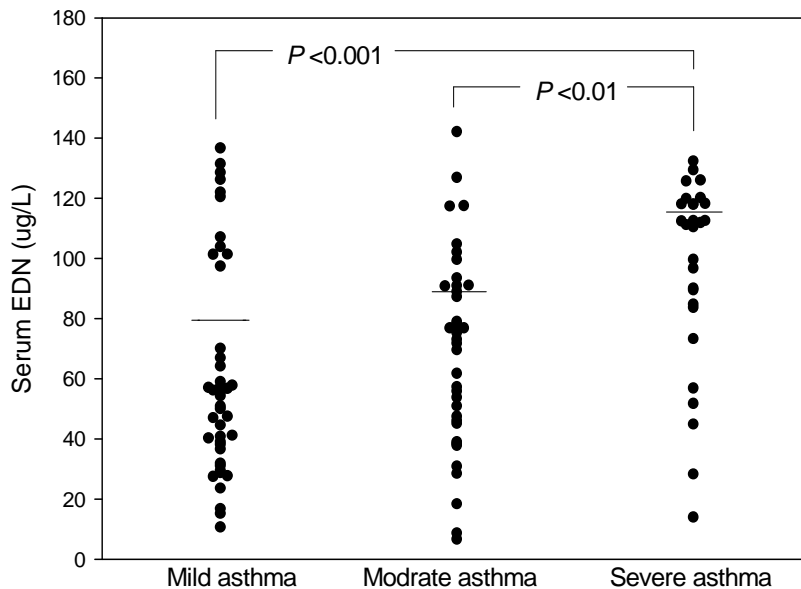


Fig. 7. Serum EDN showed a significant difference among the groups that were divided by asthma severity.

3. 기관지 과민성에 따라 분류된 군 사이의 특성 분석

가. 기관지 과민성에 따라 분류된 군 사이의 일반적인 특성

메타콜린 흡입 유발 시험으로 얻어진 PC₂₀에 따라 분류된 4군 중에서 I군은 28명, II군은 34명, III군은 46명, IV 군은 43명이었다. 이들 각 군 간의 평균나이, 남녀 비, 기저치 FEV₁ (% predicted)은 유의한 차이를 보이지 않았으나 혈액 내 호산구수는 각 군 사이에 의미있는 차이가 있었다($P<0.005$) (Table 3).

Table 3. Clinical characteristics of subject groups classified by PC₂₀

	Group I	Group II	Group III	Group IV
PC ₂₀ (mg/mL)	<1 mg/mL	1-4 mg/mL	4-16 mg/mL	>16 mg/mL
No. of subjects	28	34	46	43
Age (years)*	9.8±1.9	9.0±2.1	9.4±2.2	9.7±2.2
Sex (male/female)	13/15	21/13	31/15	23/20
Baseline FEV ₁ (% predicted)*	77.1±12.8	83.0±10.6	85.6±14.3	86.0±13.4
Eosinophil count (/μℓ) [†]	553.2±310.8	523.2±349.7	414.4±369.8	276.3±269.3

*mean ± SD

[†] $P<0.005$

나. 기관지 과민성에 따라 분류된 군 사이의 혈청 ECP 농도 비교

메타콜린 흡입 유발 시험으로 얻어진 PC₂₀에 따라 분류된 4군 중에서 혈청 ECP 농도의 측정값을 비교하였다. PC₂₀의 증가에 따라 혈청 ECP 농도가 통계적으로 유의하게 감소하는 경향이 있었다($P < 0.01$) (Fig. 8). PC₂₀ 16 mg/mL을 기준으로 기관지 과민성 양성군과 기관지 과민성 음성군으로 재분류하여 혈청 ECP 농도를 비교해 보았을 때, 기관지 과민성 양성군($n=108$)에서의 혈청 ECP 농도는 $26.2 \pm 29.6 \mu\text{g/L}$, 기관지 과민성 음성군($n=43$)은 $11.3 \pm 11.9 \mu\text{g/L}$ 로 두 군 사이에 유의한 차이가 있었다($P < 0.005$).

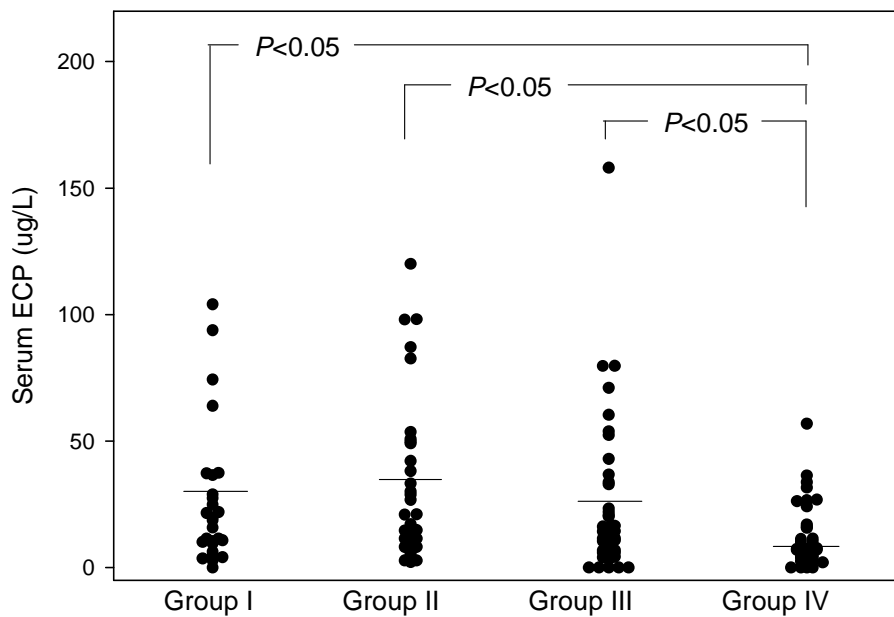


Fig. 8. Serum ECP showed a significant difference among the groups that were divided according to airway responsiveness.

다. 기관지 과민성에 따라 분류된 군 사이의 혈청 EDN 농도 비교

메타콜린 흡입 유발 시험으로 얻어진 PC₂₀에 따라 분류된 4군 중에서 혈청 EDN 농도의 측정값을 비교하였다. PC₂₀의 증가에 따라 혈청 EDN 농도가 통계적으로 유의하게 감소하는 경향이 있었다($P < 0.005$) (Fig. 9). PC₂₀ 16 mg/mL을 기준으로 기관지 과민성 양성군과 기관지 과민성 음성군으로 재분류하여 혈청 EDN 농도를 비교해 보았을 때, 기관지 과민성 양성군($n=108$)에서의 혈청 EDN 농도는 $73.5 \pm 36.2 \mu\text{g/L}$, 기관지 과민성 음성군($n=43$)은 $52.8 \pm 34.4 \mu\text{g/L}$ 로 두 군 사이에 유의한 차이가 있었다($P < 0.005$).

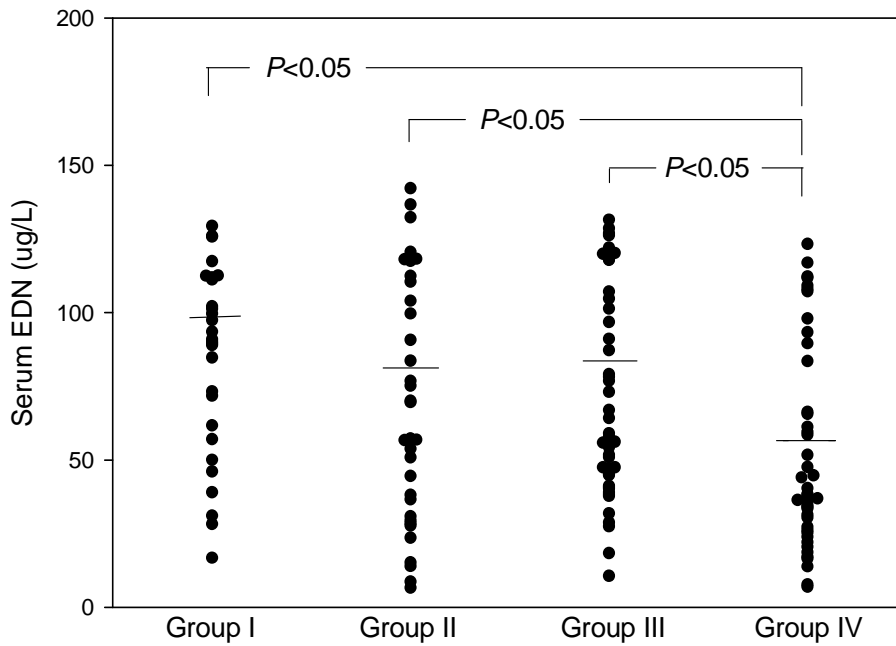


Fig. 9. Serum EDN showed a significant difference among the groups that were divided according to airway responsiveness.

라. PC₂₀에 따른 혈청 ECP 농도의 변화

대상 환자에서 메타콜린 흡입 유발 시험으로 얻어진 PC₂₀에 따른 혈청 ECP 농도의 변화는 변수 사이에 $\gamma = -0.274$ ($P < 0.005$)으로, 약하지만 통계적으로 유의한 역의(negative) 상관관계를 나타내었다 (Fig. 10).

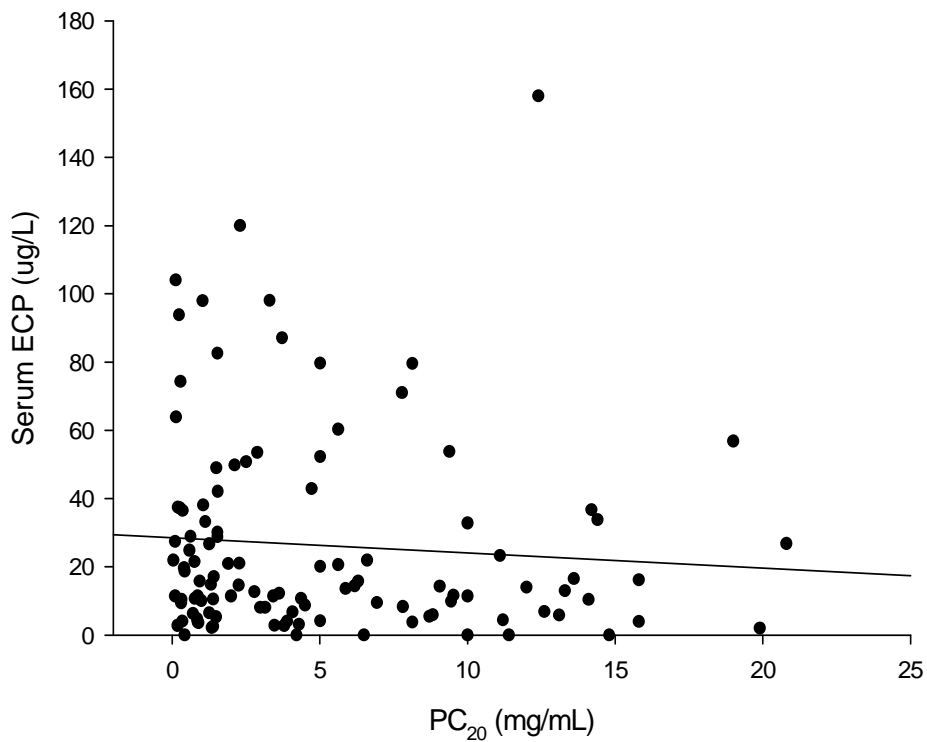


Fig.10. Serum ECP showed a weak, but significant correlation to PC₂₀ ($\gamma = -0.274$, $P < 0.005$).

마. PC₂₀에 따른 혈청 EDN 농도의 변화

대상 환자에서 메타콜린 흡입 유발 시험으로 얻어진 PC₂₀에 따른 혈청 EDN 농도의 변화는 변수 사이에 $\gamma = -0.281$ ($P < 0.001$)으로, 약하지만 통계적으로 유의한 역의(negative) 상관관계를 나타내었다 (Fig. 11).

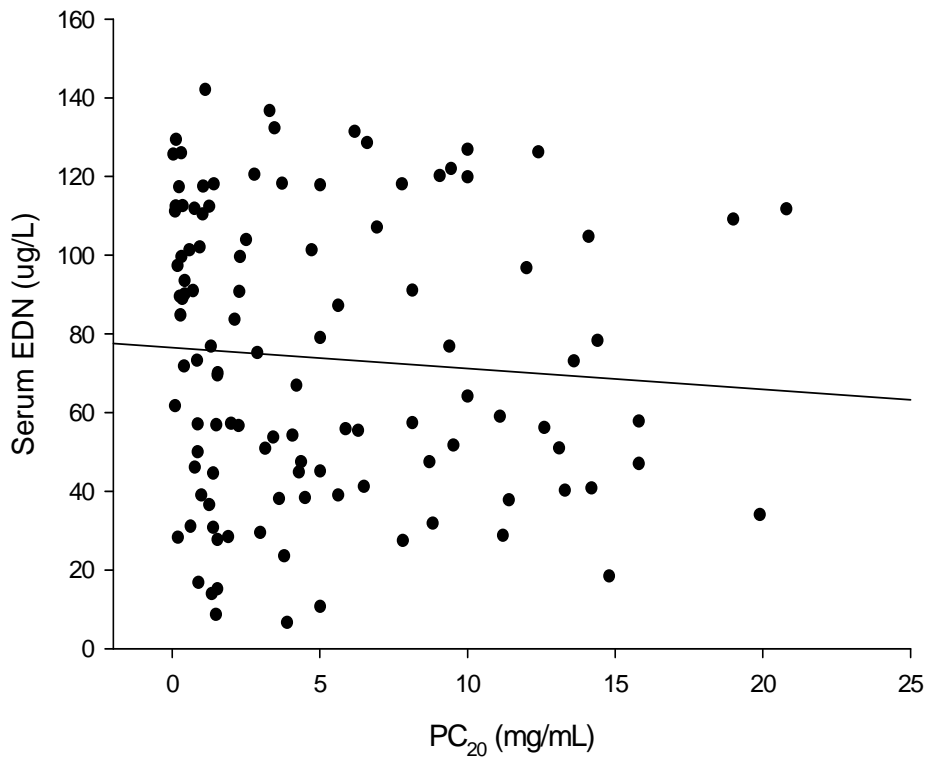


Fig.11. Serum EDN showed a weak, but significant correlation to PC₂₀ ($\gamma = -0.281$, $P < 0.001$).

IV. 고찰

본 연구에서 최근 상품화된 ELISA kit를 이용하여 측정²³ 혈청 EDN 농도와 혈청 ECP 농도가 아토피성 천식 환아에서 비아토피성 천식 환아나 대조군과 비교하여 유의하게 증가됨을 관찰할 수 있었다. 지금까지의 연구들에서 천식의 진단에 있어서 호산구 수와 호산구 과립단백의 유용성에 대해 논란이 있었다⁴. 과립단백 중에서는 특히 혈청 ECP 농도에 관하여 가장 많은 연구가 이루어 졌는데, 각 연구에서 상이한 결과를 나타냈던 원인 중 하나는 호산구수와 혈청 ECP와 같은 과립단백의 농도가 아토피 상태를 반영하기 때문으로 생각된다^{4, 24}. 본 연구에서 아토피성 천식군과 비아토피성 천식군을 나누어 비교해 보았을 때 유의한 차이를 보이면서, 대조군과 비아토피성 천식군 사이에는 유의한 차이를 보이지 않았던 것은 이러한 이유인 것으로 생각된다.

소아 천식의 표현형 중에서 아토피성 천식의 중요성은 성인까지 지속되는 경향을 보이는 천식의 유형으로 조기 흡입 스테로이드 치료가 고려되어야 한다는 점에 있다^{10, 25}. 이런 의미에서 천식 환아의 진단시에 아토피 유무는 중요한 의미를 지니며 혈청 ECP 농도 및 혈청 EDN 농도가 진단의 보조적인 수단으로 의미가 있다고 할 수 있다. 혈청 ECP 및 혈청 EDN 농도의 천식의 경과에 대한 직접적인 예측인 자로써의 임상적 유용성에 관하여는 앞으로 좀 더 연구가 필요할 것이다.

혈액 내 호산구수와 혈청 ECP 농도, 혈액 내 호산구수와 혈청 EDN 농도 사이에 모두 의미있는 정의 상관관계를 보였으며, 혈청 ECP 농도와 혈청 EDN 농도 사이에도 유의한 상관관계를 나타내었

다. 이것은 지금까지 쉽게 이용될 수 있었던 인자인 혈청 ECP 농도를 혈청 EDN 농도로 대체할 수 있는 가능성을 나타내는 것이라고 할 수 있다. 혈청 ECP 농도 측정의 임상적인 유용성은 검체를 채취하여 측정하는 과정에서 여러 가지 변수가 고려되어야 하는 것이 또 하나의 문제점으로 지적되어 왔다². 본 연구에서는 표준화된 처리과정으로 측정값의 변화를 최소화 하였다.

호산구성 염증반응이 천식의 중증도와 관련이 있다고 보고된 바 있다³. 호산구성 염증반응의 지표로 널리 이용되고 있는 혈청 ECP 농도는 임상증상의 중증도와 상관관계가 있다는 보고들이 많다^{2, 5, 7, 10-13}. 반면에 혈청 ECP 농도가 천식의 중증도를 반영하지 못한다는 보고도 있으나²⁶ 이 연구에서는 스테로이드 치료군까지 모두 포함시켰던 점이 다른 결과를 나타내었던 것으로 생각된다. Fujisawa 등²의 보고에 따르면 혈청 ECP 농도는 혈액 채취 시점의 임상상태를 반영하기보다는 좀 더 긴 기간동안의 상태를 반영한다고 하였다. 이것은 천식의 중증도와 밀접한 연관이 있다고 할 수 있다. 현재 천식의 중증도에 의한 분류는 일반적으로 Global strategy for asthma management and prevention¹⁷에 의한 분류를 따른다. 이 기준은 성인을 기준으로 분류한 것으로 소아천식의 적용에 적합 여부에 대하여 논란이 있다. 소아천식은 50% 이상이 경증 간헐적(mild intermittent) 천식으로 분류될 뿐 아니라, 이 분류의 기준이 되는 증상, 증상 완화제 사용 횟수와 폐기능 사이의 연관성이 떨어진다는 것이다²⁷. 이러한 이유로 다른 기준으로 분류하는 시도가 이루어지고 있으며, 특히 소아 천식에서 중증도를 평가하는 객관적인 지표의 제시는 충분히 그 의미가 있다. 본 연구에서는 최근의 연구에 이용된¹⁰ 증상 악화 횟수와 야간 증상을 기준으로 경증, 중등증 그리고 중증 천식의 세 군으로 나눈 분류를 적

용하여 분석하였다. 또한 모두 경구 또는 흡입 스테로이드 치료를 받기 전에 검사를 시행하였고, 최근 6개월동안 천식발작으로 인해 전신적 스테로이드 치료를 받았던 환자는 제외시켰고 최근 2주간 감염의 병력이 없는 환아들을 선별하였다. 임상 증상에 따라 분류된 중증도에 따라 혈청 ECP 농도는 증가하는 경향을 보였고, 경증 천식군과 중증 천식군 사이에 유의한 차이를 보였다. 혈청 EDN 농도 역시 천식의 중증도에 따라서 증가하는 경향을 보였고, 경증 천식군과 중증 천식군 사이에서와 중등증 천식군과 중증 천식군 사이에서 의미있는 농도의 차이를 나타내었다. 혈청 EDN 농도는 혈청 ECP 농도보다 중증도에 따른 군 사이에서 더욱 의미있는 차이를 보였으며, 이것은 혈청 EDN 농도는 혈청 ECP 농도보다 천식의 중증도에 대하여 더 예민한 지표로 사용가능함을 의미한다.

폐기능 또는 기관지 과민성과 호산구 과립단백 사이의 상관관계에 관하여는 논란이 있다^{10-11, 28-31}. Rao 등²⁹의 연구에서는 소아천식에서 혈청 ECP 농도와 혈청 EDN 농도가 폐기능과 상관관계가 있다고 보고하면서 중증도를 평가할 수 있을 것이라고 결론 짓고 있으며, Ferguson 등³⁰의 연구에서는 폐기능과 혈청 ECP 농도 사이에는 연관성이 없으며 천식의 활동성의 표지자로 이용되지 못할 것이라고 하였다. 본 연구에서는 기관지 과민성에 따라 분류된 네 군 사이의 혈액 내 호산구수, 혈청 ECP 농도 및 혈청 EDN 농도를 비교해 보았다. 이들은 각 군 사이에 통계적으로 유의한 차이가 있는 것으로 나타났는데, 각 군 사이를 비교해 보면, I군, II군, III군과 IV군 사이에 유의한 차이가 있었고 이것은 기관지 과민성 양성군과 음성군 사이의 차이로 인한 것으로 생각되며, 혈청 ECP 농도와 혈청 EDN 농도가 기관지 과민성 유무를 판별하는 지표로 사용 가능한지 알아보기 위해 기관지

과민성 양성군과 음성군으로 재분류하였을 때 두 경우 모두에서 유의한 차이를 나타내었다. 또한 기관지 과민성 양성군 내에서 메타콜린 흡입 유발 시험으로 얻어진 PC₂₀과 혈청 ECP 농도, PC₂₀과 혈청 EDN 농도의 상관관계는 약하지만 의미있는 상관관계를 얻을 수 있었다. 그런데 여기에서 유의할 점은 이것은 단지 기관지 과민성과 혈청 ECP 농도 또는 혈청 EDN 농도 사이의 상관관계가 있다는 것을 의미할 뿐, 이 결과로 천식의 중증도를 평가할 수는 없으며 천식의 중증도에 관하여는 앞서 언급한 결과로 평가되어야 한다는 것이다. 따라서 본 연구에서는 혈청 EDN 농도는 혈청 ECP 농도와 같이 기관지 과민성에 관하여는 그 유무를 판별할 수 있는 지표가 될 수 있을 뿐 아니라 양성군 내에서 기관지 과민성의 심한 정도에 따라 통계적으로 의미있는 상관관계를 나타냄을 알 수 있었다.

V. 결론

천식 환아에서 기도 염증의 복잡함과 그 표현형의 다양함을 고려할 때 어떤 단일 표지자로 진단하고 중증도를 평가하는 것은 어려운 일이다. 그러나 천식 환아는 진단과 그 중증도의 평가가 어려워 여러가지 연구들이 끊임없이 시도되고 있다. 본 연구에서는 천식 환아의 진단 및 중증도의 평가에 있어서 혈청 EDN 농도의 유용성을 평가하고자 하였으며, 많은 연구가 이루어졌었던 혈청 ECP 농도와 같이 평가하였다. 혈청 ECP 농도와 혈청 EDN 농도는 측정값의 범위가 넓어 정상과 천식 사이에 중복되는 범위가 넓을 뿐 아니라 민감도와 특이도가 낮아 단일 인자로 진단에의 이용에는 어려움이 있는 것은 사실이다.

본 연구에서는 혈청 EDN 농도가 성인천식으로 발전되는 경향을 보이는 표현형인 아토피성 천식 환아의 진단에 유용함을 확인하였고 혈청 ECP 농도와 비슷한 정도의 차이를 나타내었다. 천식의 중증도의 평가에 있어서는 혈청 EDN 농도와 혈청 ECP 농도 두가지 모두에서 그 유용성을 확인할 수 있었다. 혈청 EDN 농도는 천식 환아의 중증도 평가에서 혈청 ECP 농도보다 좀 더 예민한 지표로 나타났다. 혈청 ECP 농도와 혈청 EDN 농도는 기관지 과민성에 관하여는 그 유무를 판별할 수 있는 지표가 될 수 있을 뿐 아니라 양성군 내에서 기관지 과민성의 심한 정도에 따라 통계적으로 의미있는 상관관계를 나타낼 수 있었다. 여기에 비용 및 검사 방법의 안정성을 고려하면 혈청 EDN 농도는 혈청 ECP 농도보다 앞으로 유용하게 사용될 임상적인 지표라고 사료된다. 나아가 혈청 EDN 농도의 천식 환아에서 치료의 방향을 결정하는 직접적인 예측인자로서의 유용성에 대한 연구

가 필요할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Gleich GJ. Mechanisms of eosinophil-associated inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:651-663.
2. Fujisawa T, Terada A, Atsuta J, Iguchi K, Kamiya H, Sakurai M. Clinical utility of serum levels of eosinophil cationic protein (ECP) for monitoring and predicting clinical course in childhood asthma. *Clin Exp Allergy* 1998;28:19-25.
3. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barneon G, Ghavanian N, Enander I et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med* 1990;323:1033-1039.
4. Wolthers OD. Eosinophil granule proteins in the assessment of airway inflammation in pediatric bronchial asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 2003;14:248-254.
5. Plager DA, Adolphson CR, Gleich GJ. A novel human homolog of eosinophil major basic protein. *Immunol Rev* 2001;179:192-202.
6. Hohlfeld JM, Schmiedl A, Erpenbeck VJ, Venge P, Krug N. Eosinophil cationic protein alters pulmonary surfactant structure and function in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:496-502.
7. Zimmerman B, Lanner A, Enander I, Zimmerman RS, Peterson G, Ahlsted S. Total blood eosinophils, serum eosinophil cationic protein and eosinophil protein X in childhood asthma: relation to disease status and therapy. *Clin Exp Allergy*

- 1993;23(7):564-570.
8. Lonnkvist K, Hellman C, Lundahl J, Hallden G, Heldin 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;107:812-817.
 9. Lowhagen O, Wever AMJ, Lusuardi M, Moscato G, De Backer WA, Gandola L, et al. The inflammatory marker serum eosinophil cationic protein (ECP) compared with PEF as a tool to decide inhaled corticosteroid dose in asthmatic patients. *Respir Med* 2002;96:96-101.
 10. Joseph-Bowen J, Klerk N, Holt PG, Sly PD. Relationship of asthma, atopy, and bronchial responsiveness to serum eosinophil cationic proteins in early childhood. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1040-1045.
 11. Niimi A, Amitani R, Suzuki K, Tanaka E, Murayama T, Kuze F. Serum eosinophil cationic protein as a marker of eosinophilic inflammation in asthma. *Clin Exp Allergy* 1998;28:233-240.
 12. Prehn A, Seger RA, Faber J, Torresani T, Molinari L, Gerber A, et al. The relationship of serum-eosinophil cationic protein and eosinophil count to disease activity in children with bronchial asthma. *Pediatr Allergy Immunol* 1998;9:197-203.
 13. Vanto T, Koskinen P. Serum eosinophil cationic protein in the evaluation of asthma severity in children. *Allergy* 1998;53:415-419.

14. Vatrella A, Ponticiello A, Parrella R, Romano L, Zofra S, Di Lava A, et al. Serum eosinophil cationic protein (ECP) as a marker of disease activity and treatment efficacy in seasonal asthma. *Allergy* 1996;51:547-555.
15. Sorkness C, McGill K, Busse WW. Evaluation of serum eosinophil cationic protein as a predictive marker for asthma exacerbation in patients with persistent disease. *Clin Exp Allergy* 2002;32:1355-1359.
16. Kato Y, Fujisawa T, Terada A, Iguchi K, Kamiya H. Mechanisms of eosinophil cationic protein release in the serum: Role of adhesion molecules. *Int Arch Allergy Immunol* 1999;120(S):60-64.
17. Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention. NIH National Heart Lung and Blood Institute. 2004. NIH Publication No. 04-3659.
18. Sedgwick JB, Vrtis RF, Jansen KJ, Kita H, Bartemes K, Busse WW. Peripheral blood eosinophils from patients with allergic asthma contain increased intracellular eosinophil-derived neurotoxin. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:568-574.
19. American Thoracic Society. Guidelines for Methacholine and Exercise Challenge Testing-1999. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:309-329.
20. 윤경애, 임형석, 김현, 고영률. 우리나라 학동기 아동의 폐기능 검사 추정 정상치. *소아과* 1993;36:25-37.
21. Backman A. Skin tests for epidemiologic studies. *Allergy*

- 1994;49:493-494.
22. Brown WG, Halonen MJ, Kaltenborn WT, Barbee RA. The relationship of respiratory allergy, skin test reactivity, and serum IgE in a community population sample. *J Allergy Clin Immunol* 1979;63:328-335.
 23. Morioka J, Kurosawa M, Inamura H, Nakagami R, Mizushima Y, Chihara J, et al. Development of a novel enzyme-linked immunosorbent assay for blood and urinary eosinophil-derived neurotoxin: a preliminary study in patients with bronchial asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;122:49-57.
 24. Remes S, Korppi M, Remes K, Savolainen K, Mononen I, Pekkanen J. Serum eosinophil cationic protein (ECP) and eosinophil protein X (EPX) in childhood asthma: the influence of atopy. *Pediatr Pulmonol* 1998;25:167-174.
 25. Martinez FD. Present and future treatment of asthma in infants and young children. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:169-174.
 26. 박중원, 김철우, 홍천수. 기관지천식 환자의 말초혈액 총 호산구수 및 혈중 eosinophil cationic protein 농도. *알레르기* 1997;17:260-269.
 27. Bacharier LB, Strunk RC, Mauger D, White D, Lemanske RF, Sorkness CA. Classifying asthma severity in children mismatch between symptoms, medication use, and lung function. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;170:426-432.
 28. 박양, 강희, 강은경, 고영률. 천식 증상 환자에서 기관지과민성의 지표로서 혈액 내 호산구와 혈청 호산구 양이온 단백질(ECP). *소아*

과 2002;45:1577-1584.

29. Rao R, Frederick JM, Enander I, Gregson RK, Warner JA, Warner JO. Airway function correlates with circulating eosinophil, but not mast cell, markers of inflammation in childhood asthma. *Clin Exp Allergy* 1996;26:789-793.
30. Ferguson AC, Vaughan R, Brown H, Curtis C. Evaluation of serum eosinophilic cationic protein as a marker of disease activity in chronic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1995;95:23-28.
31. Gruber W, Eber E, Pflieger A, Modl M, Meister I, Weinhandl E, et al. Serum eosinophil cationic protein and bronchial responsiveness in pediatric and adolescent asthma patients. *Chest* 1999;116:301-305.

Abstract

Clinical significance of serum eosinophil-derived neurotoxin (EDN) in diagnosis and evaluation of severity and bronchial hyperresponsiveness in childhood asthma

Kyung Won Kim

*Department of Medicine
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Kyu-Earn Kim)

Rationale: Through values obtained by the ELISA Kit, we attempted to evaluate the significance of EDN (eosinophil-derived neurotoxin) and ECP (eosinophil cationic protein) in the diagnosis and evaluation of severity and bronchial hyperresponsiveness in childhood asthma.

Methods: Serum ECP and EDN were compared between 72 children with atopic asthma, 36 children with non-atopic asthma, and 43 healthy controls. The FEV1 (forced expiratory volume at 1 sec) and provocation concentration inducing a 20% fall in FEV1 (PC₂₀) in the methacholine inhalation challenge test were measured. Four groups were classified based on PC₂₀ [Group I: <1 mg/mL; Group II: 1-4 mg/mL; Group III: 4-16 mg/mL; Group IV: >16

mg/mL, by American Thoracic Society, 1999], and serum ECP and EDN levels were analyzed.

Results: EDN levels differed significantly among atopic asthma, non-atopic asthma, and control groups (80µg/L, 60µg/L, 53µg/L, respectively, $p<0.001$), together with ECP levels (31µg/L, 16µg/L, 11µg/L, respectively, $p<0.001$). Furthermore, EDN showed a significant difference among the groups that were divided according to bronchial hyperresponsiveness (84µg/L, 69µg/L, 70µg/L, 53µg/L, respectively, $p=0.004$). ECP also showed a significant difference among these groups (26µg/L, 32µg/L, 23µg/L, 11µg/L, respectively, $p=0.007$). Both EDN and ECP showed a significant correlation to PC_{20} (EDN: $\Upsilon=-0.281$, $p<0.001$, ECP: $\Upsilon=-0.274$, $p=0.001$). EDN and ECP both showed a strong correlation to blood eosinophil count (EDN: $\Upsilon=0.457$, $p<0.001$, ECP: $\Upsilon=0.491$, $p<0.001$). There was also a strong correlation between EDN and ECP ($\Upsilon=0.443$, $p<0.001$).

Conclusion: Serum EDN, like ECP, as a marker of eosinophilic inflammation, may aid in the diagnosis of asthma and evaluation of severity and bronchial hyperresponsiveness in childhood asthma.

Key Words : EDN (eosinophil-derived neurotoxin), ECP (eosinophil cationic protein), Asthma, Severity, Bronchial hyperresponsiveness