

가와사끼병 환자에서 혈장 및 호중구의 elastase
활성도와 관상동맥 증대와의 관계

연세대학교 대학원

의 학 과

심 준 용

가와사끼병 환자에서 혈장 및 호중구의 elastase
활성도와 관상동맥 증대와의 관계

연세대학교 대학원

의 학 과

심 준 용

가와사끼병 환자에서 혈장 및 호중구의 elastase
활성도와 관상동맥 증대와의 관계

지도 이 해 용 교수

이 논문을 석사학위 논문으로 제출함

2003년 7월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

심 준 용

심 준 용의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 _____인

심사위원 _____인

심사위원 _____인

연세대학교 대학원

2003년 7월 일

감 사 의 글

본 논문을 완성하기까지 지도해 주신 이 해용 교수님께 진심으로 깊은 감사를 드립니다. 또한 연구과정에 많은 도움을 주신 홍자현 선생님과 미흡한 논문을 관심으로 지켜봐 주신 윤정한 선생님, 차병호 선생님께도 감사의 뜻을 전합니다. 과거의 추억을 공유하고, 현재와 미래를 함께 만들어 가는 성실한 두 동생들과 아내에게 사랑을 보냅니다. 이 논문으로 말미암은 학위는 늘 든든한 성채처럼 희망과 격려로 지켜봐 주시는 부모님들과 작고하신 할머니께 바칩니다. 감사합니다.

저자 씀

차 례

그림 차례	iii
표차례	iii
국문요약	iv
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	3
1. 연구대상	3
2. 연구방법	3
가. 혈장과 백혈구 분리	3
나. Elastase 활성도 측정	3
다. 관상동맥 침범여부의 판정	4
라. 통계처리	4
III. 결과	5
1. 대상 환아들의 특성	5
2. 가와사끼병군에서 백혈구 수와 호중구 수의 변화	5
3. 가와사끼병군과 열성 질환군 사이의 혈장과 호중구 추출물에서의 elastase 활성도 차이	6
4. 가와사끼병군에서의 혈장과 호중구 추출물에서의 elastase 활성도 변화	6
5. 가와사끼병군에서의 관상동맥 직경	8
6. 가와사끼병군에서 elastase 활성도와 관상동맥 직경과의 관계	8
IV. 고찰	10
V. 결론	12
참고문헌	13
영문요약	16

그림 차례

- Fig 1. The comparison of elastase levels between on admission day and 4 weeks after onset in plasma and neutrophil extracts in Kawasaki disease patients----- 7
- Fig 2. The correlation between initial plasma elastase levels and coronary arterial diameters on 4 weeks after onset----- 9

표 차례

- Table 1. Clinical characteristics of patients----- 5
- Table 2. Comparison of inflammation index----- 6
- Table 3. Plasma elastase levels in Kawasaki disease patients and other febrile disease patients----- 7
- Table 4. Diameters of coronary artery on admission day and 4 weeks after onset in Kawasaki disease patients----- 8

국 문 요 약

가와사끼병 환자에서의 혈장 및 호중구의 elastase 활성도와 관상동맥 증대와의 관계

서 론 : 가와사끼병은 어린 소아에서 주로 발생하는 급성 열성 발진성 질환으로 치명적인 관상동맥 합병증을 일으킬 수 있다. 이 질환의 급성기에 관찰되는 호중구 증가와 이 때 분비되어 혈관염 유발에 관여하는 elastase는 가와사끼병의 관상동맥 합병증의 병인에 있어 중요한 역할을 할 것으로 생각된다. 이에 이 질환의 아급성기 합병증인 관상동맥 증대와 초기 elastase 활성도와의 상관관계를 분석하여 관상동맥 합병증의 예측인자로서의 elastase 활성도를 알아보고자 한다.

대 상 및 방 법 : 2001년 11월부터 2002년 1월까지 연세의료원 소아과에 가와사끼병으로 입원하여 치료받은 환자 10명을 대상으로 입원 당일과 발병 4주일 후에 말초 혈액 혈장과 호중구에서 elastase의 활성도를 각각 측정하였고 혈액을 채취한 날 심장 초음파 검사를 같이 시행하여 좌, 우측 관상동맥 근위부의 최대내경을 측정하여 상관관계를 비교 분석하였다. 또한, 가와사끼병에서 elastase 활성도가 유의하게 높은 것을 증명하기 위해 대조군으로 다른 열성 질환 환자 15명의 말초혈액 혈장과 호중구 추출물의 elastase 활성도를 측정하여 비교하였다.

결 과 :

1. 가와사끼병 환자들의 혈장 내 elastase 활성도는 6.19 ± 0.74 U/mL 로 열성 질환군의 4.86 ± 1.17 U/mL에 비해 유의하게 높았으나($P < 0.05$), 호중구 추출물의 elastase 활성도는 가와사끼병군과 열성 질환군 각각에서 6.35 ± 1.70 A/ μ g과 7.78 ± 4.14 A/ μ g으로 양군간 유의한 차이를 보이지 않았다.
2. 가와사끼병 환자에서의 초기 혈장 elastase 활성도와 아급성기 관상동맥의 증대 정도에는 유의한 관계가 없었다.

결 론 : 가와사끼병에서 다른 열성 질환에 비해 혈장 elastase 활성도가 유의하게 증가되어 있으나 아급성기의 관상동맥 증대와 급성기 elastase의 값에는 유의한 상관관계가 없어 관상동맥 합병증을 예측하는 인자로서의 elastase 역할에 대해서는 더 많은 연구가 필요하다고 본다.

핵심되는 말 : human neutrophil elastase, 가와사끼병, 관상동맥 증대

가와사끼병 환자에서의 혈장 및 호중구의 elastase 활성도와 관상동맥 증대와의 관계

<지도교수 이해용>

연세대학교 대학원 의학과

심 준 용

I. 서 론

가와사끼병은 5세 이하의 소아에서 주로 발생하는 원인이 밝혀지지 않은 급성 열성 질환으로 1967년 Kawasaki¹⁾에 의해 처음 기술된 후 일본과 동북아시아를 비롯한 전세계에서 많은 예가 보고되고 있다. 병리 조직학적으로 혈관염의 양상을 보이며, 급성기의 심근염, 관막염 및 심외막염과 아급성기의 관상동맥 확장 혹은 관상동맥류 등의 심각한 심장합병증을 초래할 수 있는^{2, 3)} 이 질환은 국내에서도 이 등⁴⁾이 10만명 당 34.6명 정도의 이환율을 보고한 바 있으며 세계적으로 매년 발생율이 증가하고 있다⁵⁾. 가와사끼병의 심장 합병증 중에서 대표적인 것은 관상동맥 병변으로 미국 Sandiagoz지역의 조사연구에 의하면 전체 가와사끼병 환자의 40%에서 관상동맥 확장이 관찰되었고 4%에서는 관상동맥류 소견이 관찰되었다⁵⁾. 또 초기에 치료를 하지 않은 환자의 경우에는 10-40%에서 관상동맥류가 발생하였다¹⁾. 이러한 관상동맥확장과 관상동맥류는 동맥류 내의 혈전 형성이나 관상동맥 협착으로 인한 심근 허혈 및 심근 경색증으로 사망을 초래할 수 있기 때문에⁶⁾ 가와사끼병의 심장 합병증을 감소시키기 위해서 병인에 대한 활발한 연구가 이루어지고 있다⁷⁾.

최근 보고되고 있는 병인으로는 보체계의 활성화⁸⁾, IL-6, IL-8, TNF- α 등의 사이토카인 생성 증가⁹⁾, 혈관 내피세포에서 HLA class II 항원¹⁰⁾ 및 ICAM-1 발현의¹¹⁾ 증가 등이 있고, 이들의 유발인자로 세균성 lipopolysaccharide-bound 호중구의 역할이 대두되고 있다¹²⁾. 세

균성 lipopolysaccharide에 의해 활성화된 호중구에서는 염증반응을 일으키는 여러 가지 물질을 생성하는데 그 중에 관상동맥 내피세포의 기능 이상과 심근세포 주위의 조직손상을 유발하는 것으로 elastase가 알려져 있다. 이는 활성화된 호중구 뿐만 아니라 림프구나 대식세포, 그리고 혈관 평활근 세포에서도 분비가 되는 것으로¹³⁾ 관상동맥염과 심근의 염증반응을 병리학적 소견으로 보이는 가와사끼병에서 중요한 역할을 할 것으로 생각된다. 최근 이런 elastase에 대한 억제제를 사용하여 관상동맥 합병증의 발생을 감소시켰다는 연구들이 보고되고 있어¹⁴⁾ 저자들은 가와사끼병으로 진단된 환자에서의 elastase 활성도와 관상동맥 직경과의 상관관계를 분석하여 가와사끼병의 합병증 정도의 예측인자로서의 elastase 활성도를 평가하고자 본 연구를 시행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 대상

2001년 11월부터 2002년 1월까지 연세의료원 소아과에서 가와사끼병으로 진단받고 입원 치료한 환자 10례를 대상으로 하였다. 진단기준은 1984년 Kawasaki Disease Research Committee in Japan¹⁵⁾ 중에서 전형적인 경우만 대상으로 하였다. 대조군은 같은 기간 내에 가와사끼병과 혈관염을 제외한 다른 열성질환으로 입원치료를 받은 환자 15명을 대상으로 하였고 각각의 질환군은 살모넬라 감염 2례, 화농성 관절염 1례, 기관지 폐렴 7례, 급성 인후염이 5례 이었다.

2. 연구 방법

가와사끼병의 경과 중 미세혈관염의 소견을 보이는 발병 10일 이내의 급성기와 관상동맥 확장 및 혈관 내피세포의 증식이 관찰되는 발병 4주일 후에 각각 말초혈액 검사와 혈장 및 호중구 추출물의 elastase 활성도를 측정하였다. 또한 혈액을 채취한 날 심장 초음파 검사를 같이 시행하여 관상동맥 주위 에코 증가의 유무와 좌, 우측 관상동맥 근위부의 최대 내경을 측정하여 관상 동맥의 확장 여부 및 확장정도에 대해 조사하였다. 대조군에서는 입원 당시 말초혈액 검사와 함께 혈장 및 호중구 추출물의 elastase 활성도를 측정하였다.

가. 혈장과 백혈구의 분리

환아의 정맥으로부터 혈액 10 mL를 채혈하여 100 IU의 헤파린이 섞인 튜브에 넣고, 6% dextran in 0.9% saline 용액 2.5 mL를 첨가하여 4°C에서 30분간 세워두어 혈장과 leukocyte rich elastase를 분리해낸 후 혈장은 elastase 활성도 측정 때까지 -180°C에서 보관하였다. Leukocyte rich upper layer를 튜브에 넣고 cold ammonium-chloride solution과 10분간 반응시켜 적혈구를 용혈시킨 후 200 xg에서 10분간 원심분리 시킨다. Pellet만 추출하여 8 mL의 FTA-ABS buffer를 넣은 후 200 xg에서 10분간 원심분리 시킨다. 세척 과정을 2-3회 반복한 후, pellet에 FTA-ABS buffer를 넣어 균질화되도록 섞은 후 elastase 활성도 측정 때까지 -180°C에서 보관하였다.

나. Elastase 활성도 측정

EnzCheckTM Elastase Assay Kit(Molecular Probes, Eugene, OR, USA)를 이용하여 측정

하였다. 백혈구 막의 용해를 위해서 cell lysis buffer(New England BioLab, Beverly, MA, USA)를 이용하였다. Microwell plate(12.7 X 8.5 cm; 96 flat bottom wells, Numc InterMed, Denmark)에 reaction buffer (Tris-HCl; 0.1 M, pH 8.0)를 well마다 50 μ L 씩 넣고, 100 μ g/mL의 DQ elastin을 50 μ L 씩 첨가하여 잘 섞어준다. 혈장과 백혈구 추출물을 10 μ g씩 넣고, negative control에는 reaction buffer 50 μ L를 넣어 실온에서 차광하고 30분 간 배양한다. Fluorescence microplate Leader LS 50B(Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA)로 excitation/emission 485/530 nm의 조건에서 fluorescence intensity를 측정하였다. 결과는 혈장의 경우 이미 elastase의 농도를 알고 있는 표준액으로 측정한 standard curve와 비교하여 활성도를 산출하였고, 백혈구 추출물의 경우에는 흡광도 값(absorbance; A)을 그대로 이용하였고 이것을 환아 말초 혈액 검사상 호중구 수의 비율로 보정하였다.

다. 관상동맥 침범여부의 판정

가와사키병으로 진단된 환아의 입원 당일과 발병 4주일 째에 이면상 심초음파검사를 시행하였다. 환아들의 좌 흉골연 단축상에서 좌, 우 관상동맥의 근위부를 관찰하였고 정지화면상에서 측정된 관상동맥의 최대내경을 직경으로 삼았다. 관상동맥의 확장이나 관상동맥류의 판정은 1984년 일본 후생성에서 발표된 기준¹⁵⁾과 Nakano 등¹⁶⁾의 연구에 나타난 기준을 따랐다. 정상 관상동맥의 내경을 체중에 따라 분류하면, 12.5 kg 미만의 경우는 2.5 mm 이하, 12.5 kg에서 27.5 kg 까지는 2.5-3.0 mm, 27.5 kg을 넘는 경우에는 3.0-5.0 mm가 정상치이다¹⁶⁾. 나이에 따른 분류로는 5세 미만의 경우에는 3.0 mm 이하, 5세 이상의 경우에는 4.0 mm이하가 정상치이다¹⁵⁾. 앞에서 기술한 정상내경의 1.5배 미만으로 커진 경우를 확장, 1.5배 이상으로 커진 경우는 동맥류로 정의하였다. 또한 관상동맥 주위로 1.0 cm의 넓게 증가된 echo 음영으로 정의되는 perivascular echo brightness를 심초음파 검사를 통해 확인하였다¹⁷⁾.

라. 통계처리

통계처리는 SPSS 11.0 for Windows 프로그램을 이용하여 시행하였다. 가와사키군과 열성 질환군의 비교에서는 Mann-Whitney U-test를 이용하였고, elastase의 활성도와 관상동맥 지름과의 관계비교에서는 Spearman's correlation을 이용하였다. 모든 측정값은 평균 \pm 표준 편차로 표시하였고, P 값은 0.05 미만의 경우에 유의한 것으로 판정하였다.

III. 결 과

1. 대상 환아들의 특성

가와사키병군과 열성 질환군의 입원 당시 나이는 평균나이 39.7±28.3 개월과 35.1±21.9 개월로 유의한 차이가 없었다($P=0.978$)(Table 1). 남녀비는 열성 질환군에서 남아 4명, 여아 11명으로 가와사키병 환자에서의 남아 6명, 여아 4명보다 여아의 비율이 더 높았으나, elastase 활성도는 성별의 차이와 무관한 것으로 알려져 있어 결과에 영향을 미치지 않을 것으로 생각된다. 입원 당시 환아들의 염증 지표인 백혈구 수, 호중구 수, C-반응성 단백질 농도에 있어서 가와사키병군은 각각 14,714±6,947/mm³, 10,584±7,005/mm³, 5.18±3.95 mg/dL 이었고 열성 질환군은 각각 12,204±4,488/mm³, 6,902±3,372/mm³, 5.23±4.98 mg/dL으로 모두 유의한 차이가 없었다($P=0.311$, $P=0.196$, $P=0.567$)(Table 2). 가와사키병 환아들의 치료 전 발열 기간은 평균 5.1±0.9 일이었다.

Table 1. Clinical Characteristics of Patients

	Kawasaki disease	Febrile disease
No. of patients	10	15
Male:Female	6:4	4:11
Age (month)	39.7±28.3	35.1±21.9

Values are mean ± SD.

2. 가와사키병군에서 백혈구 수와 호중구 수의 변화

가와사키병군에서 입원 당일과 발병 4주일 후에 측정된 백혈구 수는 각각 14,714±6,947/mm³과 9,359±3,890/mm³이었고 호중구 수는 각각 10,584±7,005/mm³과 4,578±3,554/mm³이었다. 이는 모두 유의한 차이가 있었다($P=0.011$, $P=0.001$)(Table 2).

Table 2. Comparisons of Inflammatory Index

	Kawasaki disease			Febrile disease	
	Admission day	4 weeks after onset	<i>P</i> -value*	Admission day	<i>P</i> -value†
WBC count (/mm ³)	14,714±6,947	9,359±3,890	0.011*	12,204±4,488	0.311
Neutrophil count (/mm ³)	10,584±7,005	4,578±3,554	0.001*	6,902±3,372	0.196
C-reactive protein (mg/dL)	5.18±3.95			5.23±4.98	0.567

Values are mean ± SD.

* Comparison between the inflammatory index Levels on admission day and 4 weeks after onset in Kawasaki disease patients

† Comparison between the inflammatory index Levels on admission day in Kawasaki disease patients and other febrile disease patients

‡ *P* < 0.05

3. 가와사키병군과 열성 질환군 사이의 혈장과 호중구 추출물에서의 elastase 활성도 차이

혈장 elastase 활성도는 가와사키병군에서 6.19±0.74 U/mL 로 열성 질환군의 4.86±1.17 U/mL에 비해 유의하게 높았으나(*P*=0.047), 호중구 추출물의 elastase 활성도는 가와사키병군과 열성 질환군 각각에서 6.35±1.70 absorbance(A)/μg과 7.78±4.14 A/μg으로 양군간 유의한 차이를 보이지 않았다(*P*=0.605)(Table 3).

4. 가와사키병군에서의 혈장과 호중구 추출물에서의 elastase 활성도 변화

가와사키병군에서의 입원 당일과 발병 4주일 후의 혈장과 호중구 추출물에서의 elastase 활성도는 혈장에서는 각각 6.19±0.74 U/mL와 6.02±1.24 U/mL이고 호중구 추출물에서는 6.35±1.70 A/μg와 8.67±2.21 A/μg로 모두 통계학적으로 의미 있는 차이를 보이지 않았다(*P*=0.393, *P*=0.796)(Fig. 1, Table 3).

Table 3. Plasma Elastase Levels in Kawasaki Disease Patients and Other Febrile Disease Patients

	Kawasaki disease			Febrile disease	
	Admission day	4 weeks after onset	<i>P</i> -value*	Admission day	<i>P</i> -value†
Plasma elastase levels(U/mL)	6.19±0.74	6.02±1.24	0.393	4.86±1.17	0.047‡
Elastase levels in neutrophil extracts (A/μg)	6.35±1.70	8.67±2.21	0.796	7.78±4.14	0.605

Values are mean ± SD.

* Comparison between the elastase levels on admission day and 4 weeks after onset in Kawasaki disease patients

† Comparison between the elastase levels on admission day in Kawasaki disease patients and in other febrile disease patients

‡ *P* < 0.05

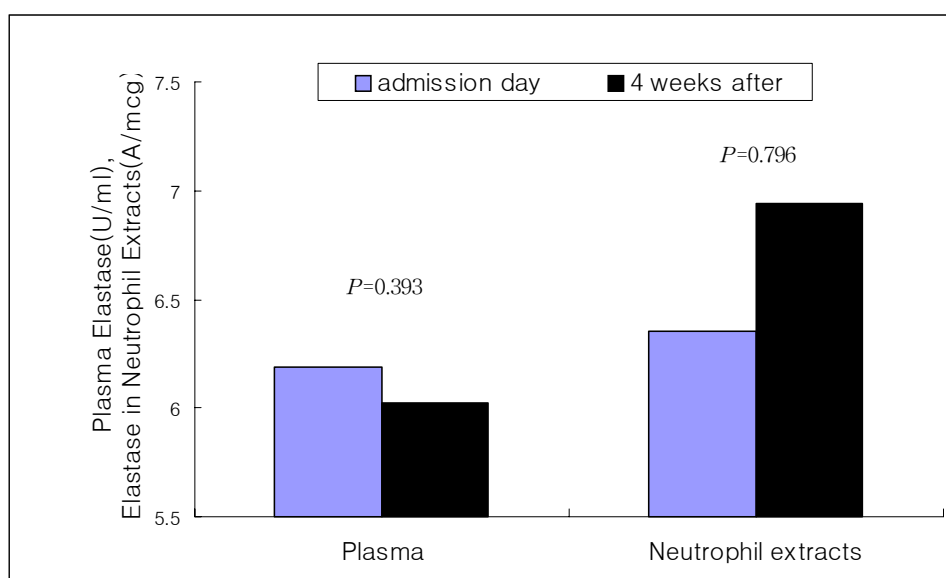


Fig. 1. The comparisons of elastase levels between on admission day and 4 weeks after onset in plasma and neutrophil extracts in Kawasaki disease patients. Plasma elastase levels were decreased in significantly, but the elastase levels in neutrophil extracts were increased on 4 weeks after onset. without statistical significance.

5. 가와사끼병군에서의 관상동맥 직경

가와사끼병 환자의 입원 당일과 발병 4주일 후에 각각 검사한 관상동맥의 직경은 평균 2.68 ± 0.81 cm과 2.24 ± 1.87 cm이었다(Table 4). 입원 당시 3레에서 관상동맥 증대를 보였고 2레에서 perivascular echo brightness(PEB)가 관찰되었다. 발병 4주일 후에 관상동맥의 증대를 보인 경우는 4례로 전체 가와사끼병 환자의 40%이었고, 관상동맥류를 보인 경우는 없었다. 입원 당시 PEB를 보인 두 레에서 발병 4주일 후에 관상동맥의 직경은 각각 2.2 cm, 2.4 cm로 증대 소견은 보이지 않았다.

Table 4. Diameters of Coronary Artery on Admission Day and 4 Weeks after Onset in Kawasaki Disease Patients

Kawasaki disease patients	Admission day (cm)	4 weeks after onset (cm)
Patient 1	3.0	2.3
Patient 2	2.2	3.0
Patient 3	2.3	2.7
Patient 4	3.0	2.1
Patient 5	2.1	1.5
Patient 6	2.3	2.6
Patient 7	2.5	2.2
Patient 8	2.1	1.4
Patient 9	3.8	2.6
Patient 10	3.5	2.0

6. 가와사끼병군에서 elastase 활성도와 관상동맥 직경과의 관계

가와사끼병군에서 입원 당일 시행한 혈장 elastase의 활성도와 발병 4주일 후의 관상동맥 직경과의 관계는 유의한 상관관계를 얻지 못했다($P=0.7$, $r=0.23$)(Fig. 2).

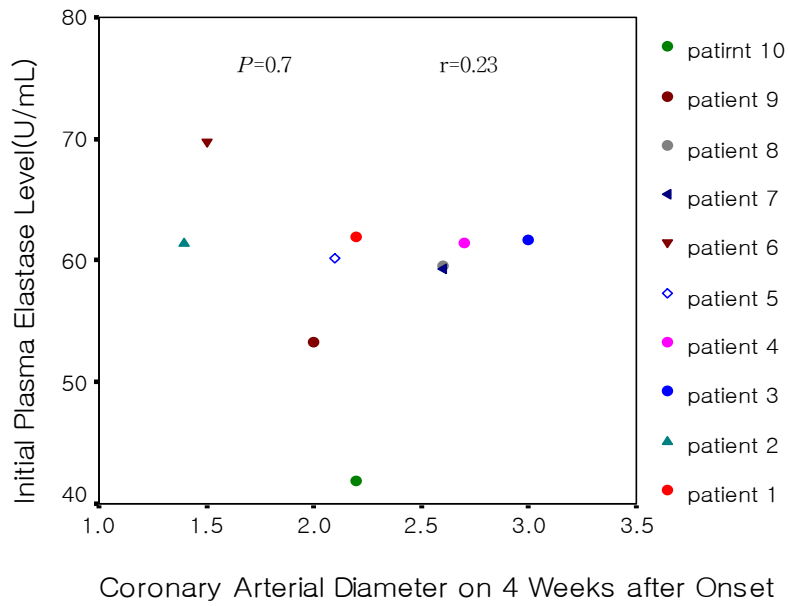


Fig. 2. The correlation between initial plasma elastase levels and coronary arterial diameters on 4weeks after the onset. There was no significant correlation between initial plasma elastase level and coronary arterial diameter.

IV. 고 찰

가와사끼병은 5일 이상의 발열, 양측 결막 충혈, 입술과 구강의 변화, 부정형 피부 발진, 손발의 부종, 경부 임파선 비대 등의 증상을 보이는 전신적 혈관염이다⁵⁾. 이 질환은 특징적으로 초기에 혈관내막의 염증세포 침윤소견을 보이다가 진행되어 내피세포 및 탄력관의 파괴, 중막과 외막으로의 침윤확장 소견을 보이며 광범위한 관상동맥염과 관상동맥류를 형성한다¹⁸⁾. 아급성기의 합병증으로 발생한 관상동맥류나 관상동맥 확장은 급작스러운 사망을 초래할 수 있을 뿐 아니라, 소아에서 발병한 병력이 있는 경우에는 성인이 되어 혈관내벽의 비후와 혈전의 침착등에 인한 심근 경색 및 확장성 심근증으로 진행할 수도 있다¹⁹⁾. 현재 정맥용 면역제제와 아스피린이 치료제로 통용되고 있으나 이들의 사용만으로 합병증을 완전히 예방할 수 없기 때문에 가와사끼병의 심장 합병증을 예측할 수 있는 새로운 위험인자를 알아내고 그에 해당하는 치료법을 모색, 시도하는 연구가 활발히 진행되고 있다.

최근 lipopolysaccharide가 급성기 가와사끼병의 순환 호중구에 부착하여 순환 호중구를 활성화시킨다는 사실이 알려지면서 호중구와 관련된 분비 물질들에 관한 관심이 증대되고 있다⁵⁾. 저자들이 실험을 통해 정량 측정을 한 elastase도 활성화된 호중구에서 분비되는 것으로, 일종의 serine proteinase이다. 이는 주로 호중구 내 아주르친화성 과립에 저장되어 있고, 일부는 핵막, 골지체, 내형질세망, 사립체와 호중구 표면에 존재하는데²⁰⁾ 정상 상태에서 세포 외로 분비되면 90%가 α_1 -antitrypsin을 비롯한 α_1 -proteinase inhibitor와 결합하여 비활성 상태로 존재한다. 그러나 병적인 상태에서는 효소-억제제간 상호 균형이 깨어져 활성이 증가되고 elastin을 비롯하여 세포 외 기질 성분인 type I-IV collagen, proteoglycan, fibronectin을 분해한다. 이 중에서도 type IV collagen이 분해되는 경우에는 혈관 기저막이 붕괴되면서 호중구가 혈관 외부로 유출되고, 이로 인해 조직의 괴사를 초래할 수 있다¹³⁾.

또한 elastase는 IL-2, TNF- α , interferon 등의 사이토카인을 활성화시키고, ICAM의 발현도 증가시키며 혈관수축을 유발하는 것으로 알려져 있다. Elastase의 여러 가지 역할중에 혈관염을 일으키는 병인은 사구체 신증²¹⁾과 제 2형 당뇨의 혈관병증²²⁾ 등에서 이미 밝혀진 바가 있으며 대동맥류의 원인으로서도²³⁾ 이미 규명된 바가 있다. 최근 연구들에서 호중구에서 분비되는 elastase가 elastolytic activity와 collagenolytic activity를 가지는 matrix metalloproteinases를 활성화시켜 관상동맥 벽의 파괴와 관상동맥류 발생을 유발한다는 것이 밝혀져 elastase에 대한 관심이 증폭되고 있다^{24, 25)}. 전신적 혈관염인 가와사끼병에서 elastase 활성화도에 대한 연구가 최근 진행되고 있으나^{13, 26, 27)} 관상동맥 합병증의 직접적인 예측인자로서의 elastase의 관련성에 관한 자료는 없었다.

본 연구 결과, 급성기동안 가와사끼병 환자에서 다른 열성 질환군 환자들과 비교할 때 호중구 수의 유의한 상승은 없으면서 혈장 elastase 활성화도는 유의하게 증가되어 있어 이것이

급성기 가와사끼병의 병리에 중요한 역할을 할 것으로 생각된다. 또한 아급성기 동안 호중구와 백혈구의 유의한 감소가 관찰되었으나 혈장 elastase 활성도는 지속적으로 증가되어 있어 이는 지속적인 elastase 활성도가 아급성기의 관상동맥 합병증과 관련이 있음을 뒷받침하는 결과라고 볼 수 있다. 이를 이용하여 관상동맥 합병증의 정도를 예측할 수 있고, 그 정도에 있어 유의한 상관관계를 보인다면 elastase 억제제를 사용하여 관상동맥 합병증의 감소 효과를 기대할 수 있는지에 대해서도 검증해 보고자 하였다. 그러나 상관관계 분석에서 초기 혈장 elastase 활성도와 아급성기의 관상동맥 합병증과의 관계는 통계학적으로 유의성이 없었다($P=0.7$). 다른 연구들에 의하면 이론적으로 elastase 억제제를 사용하여 가와사끼병의 아급성기 합병증을 예방할 수 있고 실제로도 human trypsin 억제제인 ulinastatin 등의 elastase 억제제를 사용하여 유의한 효과가 있었다고 보고하고 있으나^{13, 14)} 저자들의 연구 결과, 관상동맥 합병증의 예방을 위해 elastase 억제제를 사용하는 것은 더 숙고하여 그 적응증을 정해야 하고, 보다 많은 임상예를 이용한 연구가 필요하다고 판단된다.

V. 결 론

가와사끼병 환아에게서 발병 초기에 관찰되는 호중구 증가와, 호중구에서 분비되어 혈관염을 유발하는 elastase가 이 질병의 병태생리에 관여할 것으로 사료되어 상호관계를 알아보고자 실험한 본 연구결과, 가와사끼병 환아들의 혈장 elastase 활성도는 대조군에 비해 유의하게 높았으며, 이는 가와사끼병의 심혈관계 합병증의 발생과 연관이 있을 것으로 생각되나 입원 당일 혈장 elastase 활성도와 발병 4주일 후의 관상동맥 증대 정도에는 유의한 상관관계가 없어 관상동맥 합병증을 예측하는 인자로서의 elastase 역할에 대해서는 더 많은 연구가 필요하다고 본다.

참 고 문 헌

- 1) Kawasaki T. Acute febrile mucocutaneous lymph node syndrome with lymphoid involvement with specific desquamation of the fingers and toes in children. *Jpn J Allergy* 1967;16:178-222.
- 2) Yutani C, Go S, Kamiya T, Hirose O, Misawa H, Maeda H, et al. Cardiac biopsy of Kawasaki disease. *Arch Pathol Lab Med* 1981;105:470-3.
- 3) Fujiwara T, Fujiwara H, Nakano H. Pathological features of coronary arteries in children with Kawasaki disease in which coronary arterial aneurysm was absent at autopsy. Quantitative analysis. *Circulation* 1988;78:345-50.
- 4) 박정숙, 서춘지, 조성훈, 이두봉. 소아급성 열성 피부점막 임파절 증후군 5례의 임상적 고찰. *소아과* 1973;16:61-7.
- 5) 길홍량. 가와사키병의 최신지견. *소아심장* 2002;6:75-80.
- 6) Schaller JG, Behrman RE, Kliegman RM, Arvin AM, Nelson WE. Rheumatic disease of childhood. In : Jane GS, editors. *Textbook of pediatrics*. 15th ed. Philadelphia : WB Saunders Co, 1996:678-80.
- 7) Yanagawa H, Touhong Z, Oki I, Nakamura Y, Yashiro M, Ojima T, et al. Effects of gamma-globulin on the cardiac sequelae of Kawasaki disease. *Pediatr Cardiol* 1999;20:248-51.
- 8) Kohsaki T, Abe J, Asahina T, Kobayashi N. Classical pathway complement activation in Kawasaki syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 1994;93:520-5.
- 9) Gupta M, Noel GJ, Schaefer M, Friedman D, Bussel J, Johann LR. Cytokine modulation with immune gamma-globulin in peripheral blood of normal children and its implications in Kawasaki disease treatment. *J Clin Immunol* 2001;21:193-9.
- 10) Terai K, Khono Y, Namba M, Umemiya T, Niwa K, Nakajima H, et al. Class II major histocompatibility antigen expression on coronary arterial endothelium in a patient with Kawasaki disease. *Hum Pathol* 1990;21:231-4.
- 11) Inoue Y, Kimura H, Kato M, Okada Y, Morikawa A. Sera from patients with Kawasaki disease induce intercellular adhesion molecule-1 but not Fas in human endothelial cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;125:250-5.
- 12) Takeshita S, Nakatani K, Kawase H, Seki S, Yamamoto M, Sekine I, et al. The role of bacterial lipopolysaccharide-bound neutrophils in the pathogenesis of Kawasaki disease. *J Infect Dis* 1999;179:508-12.

- 13) Lee JK, Zaidi SH, Liu P, Dawood F, Cheah AY, Wen WH, et al. A serine elastase inhibitor reduced inflammation and fibrosis and preserves cardiac function after experimentally-induced murine myocarditis. *Nat Med* 1998;4:1383-91.
- 14) Zaitso M, Hamasaki Y, Tashiro K, Matsuo M, Ichimaru T, Fujita I, et al. Ulinastatin, an elastase inhibitor, inhibits the increased mRNA expression of prostaglandin H₂ synthase-type 2 in Kawasaki disease. *J Infect Dis* 2000;181:1101-9.
- 15) Research Committee on Kawasaki disease. Report of the subcommittee on standardization of diagnostic criteria and reporting of coronary artery lesions in Kawasaki disease. Tokyo, Ministry of Health and Welfare 1984.
- 16) Nakano H, Ueda K, Saito A, Nojima K. Repeated quantitative angiograms in coronary arterial aneurysms in Kawasaki disease. *Am J Cardiol* 1985;56:846-51.
- 17) John S, Jose A, William H. Cost-effective use of echocardiography in children with kawasaki disease. *Pediatrics* 1999;104:1-3.
- 18) Amano S, Hazama F, Hamashima Y. Pathology of Kawasaki disease : I. Pathology and morphogenesis of the vascular changes. *Jpn Circ J* 1979;43:633-43.
- 19) Kato H, Inoue O, Kawasaki T, Fujiwara H, Watanabe T, Toshima H. Acute coronary artery disease probably due to childhood Kawasaki disease. *Lancet* 1992;340:1127-9.
- 20) Drauz K, Waldmann H. Enzyme catalysis in organic synthesis. In : Drauz K, Waldmann H, editors. *A comprehensive handbook*. 2nd ed. New York : Wiley-VCH, 2002:54-60.
- 21) Donovan KL, Davies M, Coles GA, Williams JD. Relative roles of elastase and reactive oxygen species in the degradation of human glomerular basement membrane by intact human neutrophils. *Kidney Int* 1994;45:1555-61.
- 22) Piwowar A, Knapik KM, Warwas M. Concentration of leukocyte elastase in plasma and polymorphonuclear neutrophil extracts in Type 2 Diabetes. *Clin Chem Lab Med* 2000;38:1257-61.
- 23) Chohen JR, Keegan L, Sarfati I, Danna D, Ilardi C, Wise L. Neutrophil chemotaxis and neutrophil elastase in the aortic wall in patients with abdominal aortic aneurysms. *J Invest Surg* 1991;4:423-30.
- 24) Allaire E, Hasenstab D, Kenagy RD. Prevention of aneurysm development and rupture by local overexpression of plasminogen activator inhibitor-1. *Circulation* 1998;98:249-55.

- 25) Nagase H, Suzuki K , Cawston TE. Involvement of a region near valine-69 of tissue inhibitor of metalloproteinases(TIMP)-1 in the interaction with matrix metalloproteinase 3(stromelysin 1). *Biochem J* 1997;325:163-7.
- 26) Inamo Y, Okuni M, Takeuchi S. Studies on serum elastase activity in patients with Kawasaki disease during the acute stage. *Acta Paediatr Jpn* 1984;26:113.
- 27) Inamo Y, Harada K, Okuni M, Kimoto K, Takeuchi S, Sakurabayashi I. Immunoreactive polymorphonuclear leukocyte elastase in complex with alpha₁-antitrypsin in Kawasaki disease. *Acta Paediatr Jpn* 1987;29:202-5.

Abstract

The Relationship between Human Neutrophil Elastase and Coronary Arterial Dilatation in Kawasaki Disease

Jun Yong Shim

*Department of Medicine
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Hae Yong Lee)

Purpose : Kawasaki disease is notorious for coronary arterial complication which is usually developed febrile disease in early childhood. Increased polymorphonucleus(PMN) cell levels in acute phase may associate with pathophysiology of Kawasaki disease. So we studied about the relationship between coronary arterial dilatation and elastase activity which was excreted from PMN cell and roles as a important factor for vasculitis.

Methods : 10 patients diagnosed as Kawasaki disease in Yonsei university medical center were examined between November, 2001 and January, 2002. In addition, 15 patients with other febrile diseases were also examined. Echocardiography was done in patients with Kawasaki disease on the first day of admission and 4 weeks after the onset of disease. At each time, venous samples were drawn and separated into plasma and leukocytes. In patients with other febrile disease, samples were drawn on admission. Elastase activities in plasma and neutrophil extracts were measured.

Results : The significant increased plasma elastase activity, 6.19 ± 0.74 U/mL, found in Kawasaki disease patients compared with the other febrile disease patients, 4.86 ± 1.17 U/mL ($P < 0.05$). And there was no significance between above two diseases about the elastase activity in neutrophil extracts. The relationship between initial elastase activity and the coronary arterial complication which was shown in subacute phase wasn't

significant.

Conclusion : The plasma elastase activity was increased in Kawasaki disease significantly but the initial plasma elastase activity in acute phase could not reflect the range of coronary arterial complication.

Key words : Kawasaki disease, Coronary arterial dilatation, Human Neutrophil Elastase