

Pronase 분말에 의한 직업성천식과 알레르기 비염 1예

아주대학교 의과대학 알레르기-류마티스내과학교실

김정은·김상하·김현미·예영민·서창희·남동호·박해심

A Case of Occupational Asthma and Allergic Rhinitis Due to Pronase

Jeong-Eun Kim, Sang-Ha Kim, Hyun-Mi Kim, Young-Min Ye, Chang-Hee Suh, Dong-Ho Nahm and Hae-Sim Park

Department of Allergy and Rheumatology, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

Empynase-S[®] is composed of a pronase, a kind of protease derived from *Streptomyces griseus*. It has been widely used to treat tissue edema in various inflammatory conditions. We experienced a case with occupational asthma and allergic rhinitis after the inhalation of Empynase-S[®] powder in workplace. A 29-year old woman visited our clinic with complaints of cough, sputum, dyspnea, sneezing and rhinorrhea for 5 months. She was a pharmacist and worked in the hospital pharmacy for 17 months. Her symptoms were aggravated during and after grinding tablet into powder. Total eosinophil count and serum total IgE level were elevated. The skin prick test with common inhalant

allergens and several suspicious medications showed a positive results to house dust mite (*Dermatophagoides pteronyssinus*), Empynase-S[®], and pronase. The result of methacholine challenge test was positive (PC₂₀ 22.9 mg/mL). Bronchoprovocation test with Empynase-S[®] solution showed an early asthmatic response. The presences of serum specific IgE and IgG4 antibodies to Empynase-S[®] and pronase were identified by ELISA. These findings suggest that pronase powder inhalation could induce occupational asthma and allergic rhinitis through the IgE-mediated mechanism. (Korean J Asthma Allergy Clin Immunol 2005;25:153-7)

Key words: Pronase, Asthma, Rhinitis

서 론

직업성천식의 원인 물질은 현재 300여 종 이상으로 기술되어 있고, 산업화와 함께 직업의 종류가 다양해지면서 직업성천식의 원인 물질도 다양해지고 있다. 이들 중 약제에 의한 직업성천식으로는 7-aminoccephalosporanic acid (7-ACA)¹⁻³⁾ 등의 항생제 또는 그 전구체와 α -amylase,⁴⁾ biodiastase⁵⁾ 등의 소화효소제제에 의한 증례들이 보고된 바 있다.

Empynase-S[®]는 단백분해효소인 pronase를 주성분으로 하는 약으로 각종 염증성 질환에 수반되는 부종, 종창에 사용된다. 해외에서 pronase E 분말을 다루는 병리 기사에서 pronase E 분말에 의한 직업성천식과 알레르기 비염이 보고된 바가 있으나⁶⁾ 이후 보고는 없으며, 국내에서의 pronase에 대한 직업성천식은 보고된 바 없다. 저자들은 최근 병원 약

사에서 pronase를 주성분으로 하는 Empynase-S[®] 분말 흡입에 의한 직업성천식과 알레르기 비염 1예를 경험하였고, Empynase-S[®]에 대한 피부단자시험과 Empynase-S[®]에 대한 특이 IgE, IgG₄ 항체를 면역효소법으로 측정하였기에 보고하는 바이다.

증 례

환 자: 29세 여자

주 소: 1개월간의 기침, 객담, 야간에 악화되는 호흡곤란과 코막힘, 재채기, 비루

현병력: 1년 5개월 동안 병원 약사로 근무하였고, 5개월간의 기침, 객담, 야간에 악화되는 호흡곤란과 코막힘, 재채기, 비루를 주소로 내원하였다. 이러한 증상은 경구용 정제 약물을 분말로 갈아서 조제하는 경우에 특히 Empynase-S[®] 분말을 다룰 때 증상이 발생하였으며 일을 마치고 집에 돌아온 후에도 지속되었다. 휴일이나 휴가 중에는 증상이 완화되었다.

과거력: 천식, 비염, 아토피피부염 및 다른 질환의 과거력 없음.

책임저자 : 박해심, 경기도 수원시 영통구 원천동 산 5번지
아주대학교 의과대학 알레르기-류마티스내과학교실, 우: 442-721
Tel: 031) 219-5150, Fax: 031) 219-5154

E-mail: hspark@ajou.ac.kr

접수: 2005년 2월 16일, 통과: 2005년 3월 31일

가족력: 특이소견 없음.

흡연력: 없음.

직업력: 1년 5개월 전부터 대학병원 약제실에 약사로 근무함.

진찰 소견: 청진상 천명을 비롯한 이상 소견은 없었고, 비경 검사상 점막비후소견을 보였다. 기타 특이소견은 없었다.

검사실 소견: 말초혈액 검사상 혈색소 14.1 mg/dL, 백혈구 7,310/ μ L였고, 총 호산구수는 710/ μ L였다. 방사선면역측정법으로 측정된 혈청 총 IgE 항체치는 250 IU/mL (1~183)로 증가되었고, CAP system으로 측정한 집먼지진드기에 대한 특이 IgE 항체치는 0.30 kU/L (0.00~0.35)로 정상이었다. 혈청 일반화학검사는 정상이었다. 50종의 흔한 흡입 항원 (Bencard Co., UK)과 국내에서 주로 섭취하는 음식물 항원을 이용한 알레르기 피부단자시험상 집먼지진드기(*D. pteronyssinus*)에 A/H (allergen/histamine) 비가 2+로 양성 반응을 보였고, 메타콜린 기관지 유발시험상에도 양성 반응(PC₂₀ 22.9 mg/mL)을 보였다. 흉부 및 부비동 방사선 사진은 정상이었다.

피부단자시험과 천식유발시험: 환자의 문진을 통하여 가루약 제조시 발생하는 증상과 관련이 있는 약물을 조사하였으며, 해당 약물인 Empynase-S[®] (pronase), Beszyme[®] (pancreatin, bromelain, dimethicone 성분의 복합제제), Suprax[®] (cefixime) 등의 세 가지 약제와 Beszyme[®]의 주요 성분인 pancreatin (Sigma Co., St. Louis, MO) 및 pancreatin의 주성분 α -amylase (EC 3.2.1.1; P 5147, Sigma Co., St. Louis, MO)에 대하여 피부단자시험을 시행하였다. 세 가지 약제는 각각 멸균 생리식염수에 녹인 후 원심분리하여 얻은 상층액에 동량의 glycerine (Sigma Co., St. Louis, MO)을 첨가하여 피부단자시험을 시행하였고 양성 대조액으로 0.1% 히스타민을, 음성 대조액으로 glycerine을 사용하였다. 피부단자시험 결과 Empy-

nase-S[®]에 강양성 반응(A/H 비: 6+, 팽진 크기: 12×10 mm)을 보였고, Beszyme[®]과 α -amylase에도 양성 반응(A/H 비: 3+, 팽진 크기: 5×4 mm)을 보였다(히스타민의 팽진 크기: 3×2 mm). Empynase-S[®]와 pronase (EC 3.4.24.31; A 6211, Sigma Co., St. Louis, MO), α -amylase에 대해 각각 10 mg/mL, 1 mg/mL, 0.1 mg/mL, 0.01 mg/mL, 0.001 mg/mL 농도에서 피부단자시험을 시행하였고, Empynase-S[®]는 0.01 mg/mL, pronase는 0.1 mg/mL, α -amylase는 1 mg/mL의 농도에서 A/H 비가 3+ 이상을 나타내었다. 1 mg/mL의 농도에서 비교해 볼 때 Empynase-S[®]와 pronase는 각각 6+ 이상, α -amylase는

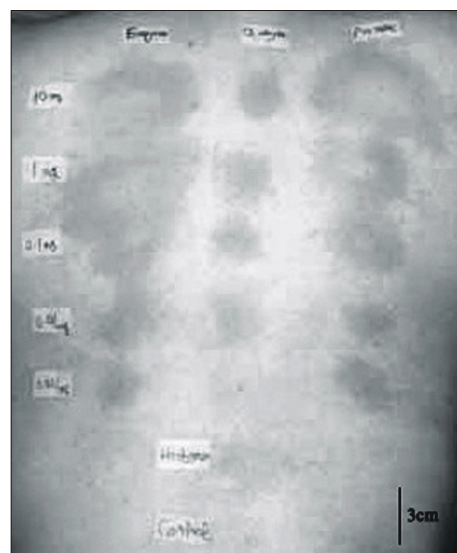


Fig. 1. Skin prick test (SPT) with 10 mg/mL, 1 mg/mL, 0.1 mg/mL, 0.01 mg/mL, 0.001 mg/mL (top to bottom) of Empynase-S[®] (left column), α -amylase (middle column) and pronase (right column). The lower two wheals and flares of the middle column are results of SPT with histamine (positive control, upper) and glycerin (negative control, lower).

Table 1. The results of skin prick test with Empynase-S[®], pronase and α -amylase

Concentration (mg/mL)	Empynase-S [®]		α -amylase		Pronase	
	Wheal (mm)	Flare (mm)	Wheal (mm)	Flare (mm)	Wheal (mm)	Flare (mm)
10	28×16	67×46	8×7	34×25	46×34	78×55
1	27×17	72×40	6×5	34×30	20×15	59×40
0.1	18×17	50×36	3×3	30×27	12×7	50×36
0.01	6×5	42×27	4×3	30×27	4×3	31×24
0.001	3×2	30×22	2×1	16×4	4×4	37×26
Histamine	Wheal	6×4 mm	Flare	36×30 mm		

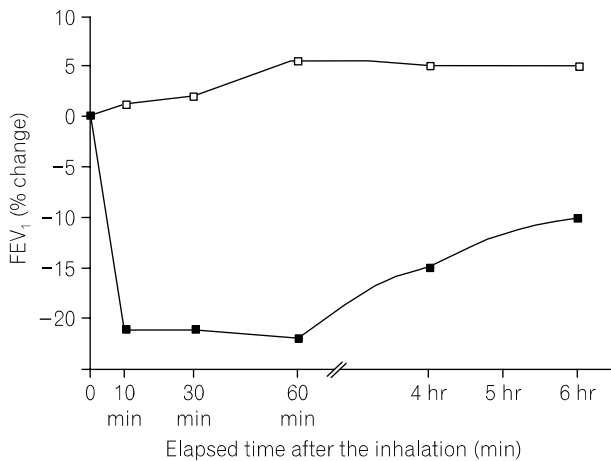


Fig. 2. The result of bronchoprovocation test with Empynase-S® extracts (closed square) and placebo (open square) in the patients.

3+의 반응이 관찰되었다(histamine 6×4 mm/36×30 mm, Table 1, Fig. 1).

Empynase-S® 0.01μg/mL 농도에서 시행한 피내시험의 반응이 5 mm 이상의 팽진이 관찰되어 이 농도로부터 시작하여 천식유발시험을 시행하였다. 대조 시험으로 생리식염수를 이용하여 폐기능의 기저치를 측정한 후 Empynase-S®를 0.01μg/mL에서부터 10배씩 농도를 높여가며 흡입하였고, 매 흡입 10분 후에 폐기능을 측정하였다. 천식유발시험은 646분무기(De Vilbiss Co., Somerset, Penn)를 사용하여 상시 호흡량으로 10회 호흡시키고, 10분 후에 Masterscope PC® (Jaeger Co., Wuérzburg, Germany)로 폐기능을 측정하였다. 생리식염수를 이용한 천식유발시험에서는 폐기능의 감소를 보이지 않았으나, Empynase-S®의 경우에는 10 mg/mL의 농도에서 흡입한 후 1분간 최대 호기량(FEV₁)이 기저치에 비해 20% 이상 감소하였고, 후기 반응을 관찰하기 위해 흡입 30분, 60분, 4시간, 6시간 후에 폐기능을 측정하였으나 관찰되지 않았다(Fig. 2). Empynase-S®에 의한 직업성 알레르기 비염을 확인하기 위한 비유발검사(nasal challenge test)는 시행하지 않았다.

Empynase-S®, pronase, α-amylase에 대한 특이 IgE, IgG₄ 항체 측정: Empynase-S®, protenase, α-amylase를 항원으로 하여 phosphate buffered saline (PBS)에 녹여 20μg/mL의 농도로 만들어 96-well microplate (Corning, NY)에 각 well당 100μL씩 넣고 4°C에서 12시간 이상 작용시킨 후 이를 0.05% PBS-Tween 20으로 3회 세척하였다. 비특이적 결합을 방지하기 위하여 10% fetal bovine serum-PBS를 각 well당 200μL씩 넣고 상온에서 1시간 작용시켰다. 3회 세척 후 일환자와 대조군 14명의 혈청을 1/2로 희석하여 50μL씩 넣고 30°C에서 1시간 동안 반응시키고, 다시 3회 세척 후에 1 :

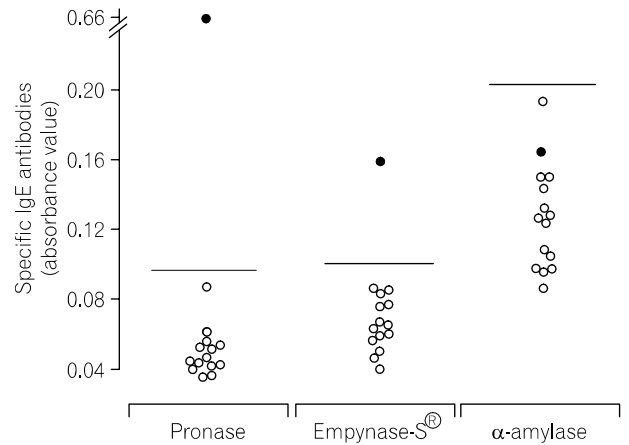


Fig. 3. Specific IgE bindings to pronase, Empynase-S® and α-amylase in sera of the patient (closed circles) and controls (open circles). The horizontal lines show positive cut-off values, which were derived from mean+3SD absorbance values of normal controls.

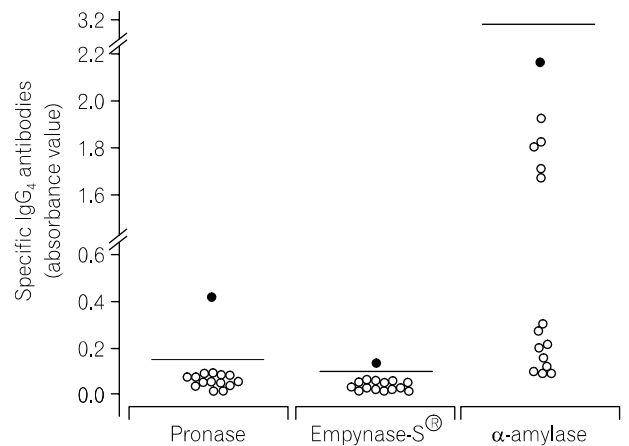


Fig. 4. Specific IgG₄ bindings to pronase, Empynase-S® and α-amylase in sera of the patient (closed circles) and controls (open circles). The horizontal lines show positive cut-off values, which were derived from mean+3SD absorbance values of normal controls.

1,000 v/v biotin labeled goat anti-human IgE (Vector Lab, Burlingame, CA)와 IgG₄ (Sigma Co., St. Louis, MO)항체를 well당 100μL씩 넣고 1시간 작용시키고 다시 3회 세척하였다. 여기에 1 : 1,000 v/v streptavidine-peroxidase (Sigma Co., St. Louis, MO)를 well당 100μL씩 투여하고 30분간 작용시킨 후 3회 세척하였다. 발색제(3' 5'-tetramethylbenzidine one tablet, phosphate citrate buffer 10 mL, 30% H₂O₂ 2μL)를 well당 100μL씩 넣어 상온에서 10분간 발색 후 2N H₂SO₄로 발색을 중지시키고 plate reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다. 정상 대조군의 평균 흡광도에 3배의 표준편차치를

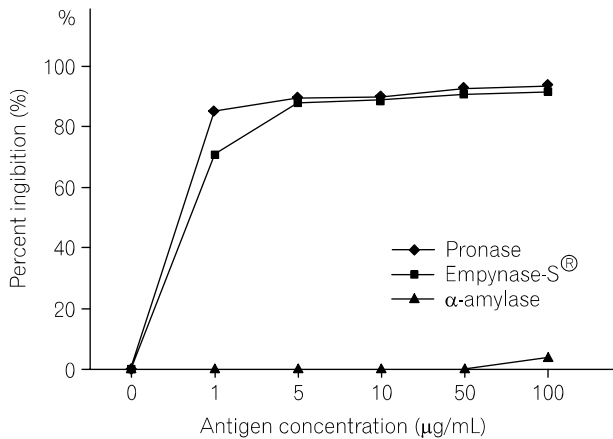


Fig. 5. IgE-ELISA inhibition test with additions of pronase, Empynase-S® and α-amylase.

더하여 cut-off치를 산출하여, 그 이상인 경우를 양성 반응으로 간주하였다. 특히 IgE, IgG₄ 항체 모두 Empynase-S®와 pronase의 경우에 각각 대조군에 비해 유의하게 증가되어 있었고, α-amylase의 경우에는 대조군과 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Fig. 3, 4).

면역효소억제시험: 환자의 혈청과 억제제로 1, 5, 10, 50, 100μg/mL의 Empynase-S®, pronase, α-amylase 등을 4°C에서 12시간 이상 반응시킨 후, 이를 20μg/mL 농도의 pronase가 부착된 microplate에 well당 100μL씩 넣고 3시간 작용시킨 후 항체 측정시와 같은 방법으로 IgE 항체에 대해 면역효소법을 시행하였다. 억제제 대신 동량의 PBS를 작용시킨 경우를 대조군으로 하였다. 특히 항체 결합의 억제 정도(%)는 [(대조군의 흡광도-억제제가 포함된 sample의 흡광도)/대조군의 흡광도]에 100을 곱한 값으로 정의하였다. 면역효소억제시험 결과 Empynase-S®와 pronase의 경우 1μg/mL의 농도에서부터 70% 이상의 억제 반응을 보였고 농도가 증가될수록 용량반응곡선 양상을 나타내었으며, Empynase-S®와 pronase의 반응 양상은 거의 비슷하였다. 반면 α-amylase의 경우에는 농도를 100μg/mL까지 증가시켜도 억제반응은 관찰되지 않았다(Fig. 5).

임상 경과 및 치료: 환자는 현 부서를 퇴직하고 흡입용 스테로이드제 치료 후 증상이 호전된 상태로 외래에서 추적 관찰 중이다.

고 찰

직업성천식을 유발하는 원인 알레르겐은 라텍스나 동물의 털, 비듬을 구성하는 단백질, 효소 등의 고분자량 물질과 acid anhydrides, isocyanates, 항생제 등의 저분자량 물질로 구

분할 수 있다. 고분자량 물질의 경우 대개 특이 IgE 항체 매개반응을 일으켜 직업성천식을 유발하지만, 저분자량 물질의 경우 특이 IgE 항체 매개반응 외에도 특이 IgG 항체 매개반응이나 세포독성 T림프구의 활성화 등의 면역학적 기전과 약물 자체의 직접적인 독성이나 약리학적인 작용 등의 비면역학적 기전으로도 직업성천식을 일으킬 수 있다.⁷⁾ 직업성천식의 진단에 있어 제일 중요한 것은 병력이다. 직업의 종류와 의심되는 원인 물질, 노출 기간, 노출 정도 등에 대한 자세한 병력청취가 되어야 한다. 또, 작업장에서 일하면서 기도폐쇄에 의한 증상이 생기고 작업장을 떠나면 증상이 호전되며 이전에는 작업장과 유사한 환경에 노출된 적이 없어야 한다.⁸⁾ 직업성천식의 위험인자로는 아토피, 다른 흡입성 알레르겐에 대한 감작, 흡연, 동반된 호흡기 감염, 유전적 취약성, 성대기능이상, 만성 위식도역류증을 비롯하여 베타 차단제, 비스테로이드성 항염증제, 안지오텐신 전환효소 억제제 등의 복용력 등이 있고, 이들에 대한 자세한 병력 청취가 필요하다. 이학적 검사를 통해 기도폐쇄의 징후를 확인할 수 있으나 정상이라고 해서 직업성천식을 배제할 수는 없다.⁷⁾ 실험실 검사로는 히스타민이나 메타콜린을 이용한 기관지 유발시험을 통하여 기도과민성과 가역성 유무를 관찰할 수 있으나 원인 알레르겐에 대한 노출이 중단된 지 오래된 경우 위음성이 나올 수 있다.⁸⁾ 또, 피부단자시험을 이용하여 일반적인 항원이나 원인 알레르겐에 대한 감작 상태를 예측할 수 있다.⁹⁾ 원인 물질을 이용한 천식유발시험은 좋은 진단적 검사가 될 수 있지만, 원인 물질을 잘못 판단했거나 노출 상황이 작업장과 일치하지 않았을 경우 위음성이 나올 수 있다. 제일 좋은 진단적 검사는 작업장에서와 작업장 밖에서의 지속적인 최대호기유속을 측정하는 방법이다. 하지만, 이 또한 환자의 순응도와 정직성에 따라 잘못된 결과가 나올 수 있음을 염두에 두어야 한다.⁸⁾ 직업성천식에서 면역학적 검사는 상품화, 표준화된 방법이 없는 경우가 많아 한계가 있다. 원인 항원에 대한 특이 IgE 항체 매개 반응으로 일어나는 직업성천식의 경우에는 특이 IgE 항체의 측정과 피부단자시험이 진단에 유용하지만, 알레르겐에 노출은 되었으나 직업성천식이 없는 경우에도 특이 IgE 항체는 증가될 수 있어 특이 IgE 항체의 증가 자체가 직업성천식과의 인과관계를 의미하는 것은 아니므로 해석에 유의해야 한다.⁷⁾

본 증례의 경우 혈청 총 IgE치가 증가되고, 일반적인 항원을 이용한 피부단자시험에서 집먼지진드기에 대해 양성 반응을 보여 아토피였고, 흡연력을 비롯하여 기타 위험인자는 없었다. Empynase-S®에 대한 피부단자시험에서 양성 반응을 보였고 Empynase-S®에 대한 혈청 특이 IgE 항체가 검출되었으며 Empynase-S®를 이용한 천식유발시험에서 양

성 반응을 보여 IgE 매개반응에 의한 기관지천식과 알레르기 비염으로 진단하였다. 또, 피부단자시험과 특이 IgE 항체 측정에 있어 Empynase-S[®]의 주성분인 pronase에 대해서도 비슷한 결과를 보였고, pronase를 이용한 면역효소억제시험에서 Empynase-S[®]가 pronase와 거의 비슷한 억제반응을 보여 Empynase-S[®]의 주성분인 pronase에 의한 것임을 확인하였다. 한편, Empynase-S[®]에 대한 특이 IgG₄ 항체도 같이 증가되어 있으나 감작항체로서 병인기전에 관여하는지에 대해서는 호염기구 유리능 검사 등을 이용한 확인과정이 필요할 것으로 생각한다.

Pronase는 거의 모든 펩티드 결합을 가수분해하는 엔도엑소펩티다아제로 실험실 등에서 단백분해과정에 자주 쓰이는 효소이며, *Streptomyces griseus*, *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*) 등의 세균에서 만들어지고 pronase A에서 E 등 여러 종류가 있다. Pronase에 의한 직업성천식은 1999년 Kempf 등에 의해 처음 보고되었는데,⁶⁾ 환자는 *B. subtilis*에서 추출된 pronase E를 자주 사용하는 병리기사로 pronase E를 용액으로 이용할 때는 천식 증상이 없었으나 pronase E 분말을 다룰 때 천식 증상이 발생하였고, 피부단자시험과 특이 IgE 항체 측정에서 pronase E에 대해 양성 반응을 관찰하였다. 천식유발검사는 시행되지 않았으나 pronase E 분말에 의한 천식 및 비염 증상이 IgE 매개반응에 의한 반응일 것이라는 제안은 본 연구의 결과와 일치한다.

직업성천식의 일차적 예방은, 원인 항원에 대한 노출위험이 큰 작업장에서 직업성천식이 이환될 가능성이 높은 종사자를 찾고 노출 정도를 가능한 한 줄임으로써 직업성천식이 생기지 않게 하는 것이고, 이차적 예방은 이러한 작업장에 종사하는 사람들 중 직업성천식 환자를 조기 발견하여 치료하고 원인 항원을 회피하게 하는 것이다. 본 증례의 경우에는 퇴직과 함께 천식에 대한 약제를 사용하면서 직업성천식과 알레르기 비염은 호전되었다. 추후 효소 분말을 비롯하여 여러 약제에 대한 노출 위험이 있는 직업 종사자에 있어서 직업성천식의 일차적 예방을 위해 여러 약제들에 대한 노출 정도와 감작률에 대한 연구가 필요하다.

결론

저자들은 아토피 소인을 가진 병원 약사에서 Empynase-S[®] 분말 흡입 후 발생한 직업성천식과 알레르기 비염 1예를 경험하였고, 그 병인 기전은 IgE 매개 반응에 의한 것이라고 생각한다. 이는 향후 효소에 의한 직업성천식의 병인기전을 밝히고 이의 진단과 치료, 예방을 위한 연구의 기초 자료가 될 수 있겠다.

참고문헌

- 1) Oh JH, Park SW, Lee GT, Kim KU, Jeoung SW, Uh ST, et al. A case of occupational asthma induced by 7-aminocephalosporanic acid (7-ACA). *Allergy* 1997;17:586-91
- 2) Min TH, Cho DS, Kwon NH, Lee BW, Kang BH, Son JS, et al. Occupational asthma induced by cephalosporin precursor. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2003;23:90-4
- 3) Oh KS, Lee TW, Choi KH, Shin HS, Kim MK. Two cases of occupational asthma induced by 7-ACA and ACT. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2003;23:534-8
- 4) Lee SJ, Kim HY, Suh YJ, Kim SS, Lee SK, Nahm DH, et al. Occupational asthma in medical personnel caused by inhalation of pancreatic extracts. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2000;20:184-92
- 5) Cho YJ, Kim MK, Kim YY. A Case of occupational asthma due to biodiastase. *Allergy* 1989;9:181-5
- 6) Kempf W, Oman H, Wuthrich B. Allergy to proteases in medical laboratory technicians: a new occupational disease? *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:700-1
- 7) Anthony M. Occupational asthma. *Immunol Allergy Clin North Am* 2001;21:489-501
- 8) Malo JL, Chan-Yeung M. Occupational asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:317-28
- 9) Gruchalla RS. Drug metabolism, danger signals, and drug-induced hypersensitivity. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:475-88