

혈중 호염기구 수에 따른 성인 천식의 임상 양상 분석 및 호기 응축물 내 사이토카인과의 연관성 분석

심지수, 김민혜, 조영주

이화여자대학교 의과대학 내과학교실

Analysis of clinical features of adult asthma according to blood basophils and their association with cytokines in exhaled breath condensate

Ji-Su Shim, Min-Hye Kim, Young-Joo Cho

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Ewha Womans University, Seoul, Korea

Purpose: Although basophils are major effector cells involved in asthma, their pathophysiological role in asthma remains uncertain. In this study, we investigated the relationship between blood basophils, clinical features in asthmatics, and cytokines in exhaled breath condensate (EBC) which could be noninvasively obtained.

Methods: A total of 13 adult asthmatics were prospectively enrolled. We obtained information on demographics, asthma control levels, history of acute exacerbation as well as the asthma control test and Quality of Life Questionnaire for Adult Korean Asthmatics (QLQAKA) scores. Peripheral blood and EBC samples were collected, and pulmonary function test was also performed. The association between blood basophil count and clinical feature and severity of asthma or inflammatory cytokines in EBC was analyzed.

Results: The percentage of blood basophils was positively correlated with that of blood eosinophils (Spearman $r=0.665$, $P=0.013$). The number of acute exacerbations was significantly larger (1.2 ± 0.6 vs. 5.3 ± 5.8 , $P=0.049$) in the group with blood basophils ≥ 50 cells/ μ L, while the QLQAKA score was lower (68.8 ± 7.9 vs. 49.0 ± 12.0 , $P=0.028$). There were no significant differences in age, atopy status, smoking history, and forced expiratory volume in 1 second according to blood basophil count. Blood basophil count was positively correlated with interleukin-33 (IL-33) ($r=0.651$, $P=0.016$) and IL-17 ($r=0.732$, $P=0.004$) in EBC.

Conclusion: Blood basophils may be associated with frequent asthma exacerbations and lower quality of life due to asthma. IL-33 and IL-17 may be the key mediators that stimulate basophils to participate in the pathogenesis of asthma. (*Allergy Asthma Respir Dis* 2020;8:119-126)

Keywords: Asthma, Basophil, Exhaled breath condensate, Adult

서론

천식 환자의 객담에서 호염기구(basophil)가 증가되어 있다는 사실은 이미 1975년에 밝혀진 바 있으나 40여 년이 지난 지금까지도 호염기구가 천식의 병인 기전에서 어떤 역할을 하는지는 다른 염증 세포들에 비해 많이 연구된 바가 없다.¹ 호염기구는 염증이 일어나는 부위에 침윤하여 여러 종류의 사이토카인, 케모카인, 단백분해 효소(protease) 등을 분비함으로써 면역글로불린 E (immunoglob-

ulin E, IgE) 의존성 또는 비의존성 알레르기 염증 반응에 관여하는 것으로 알려져 있다.² 특히 호염기구는 인터루킨-4 (interleukin-4, IL-4) 공급의 큰 부분을 담당하며, IL-4는 대식세포(macrophage), 선천성 림프구 세포(innate lymphoid cell, ILC), 섬유아세포(fibroblast), 혈관내피세포(endothelial cell) 등에 작용하여 알레르기 염증반응을 유도하고 증강할 뿐만 아니라 호산구(eosinophil)의 침윤에도 관여한다.^{2,3} 즉, 호염기구는 알레르기 염증반응에 있어서 선천 면역반응(innate immune response)과 적응 면역반응

Correspondence to: Min-Hye Kim  <https://orcid.org/0000-0002-1775-3733>

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Ewha Womans University, 260 Gonghang-daero, Gangseo-gu, Seoul 07804, Korea
Tel: +82-2-6986-1642, Fax: +82-2-2655-2076, E-mail: mineyang81@ewha.ac.kr

• This study was supported by a grant from the Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology.

Received: October 16, 2019 Revised: December 5, 2019 Accepted: December 17, 2019

© 2020 The Korean Academy of Pediatric Allergy and Respiratory Disease
The Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology
This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

(adaptive immune response) 모두에 관여하는 것으로 생각된다.

천식에 있어서는 90년대 초반에 기도 조직 내 호염기구 수와 기도과민성 간의 연관성과 중증 천식으로 사망한 환자의 폐 조직에서 호염기구 수가 증가되어 있음을 보고한 연구가 있었고, 이후 알레르겐 투여 시 인간과 쥐의 폐 조직에 호염기구가 침윤한다는 사실이 밝혀진 바 있다.^{4,6} 천식의 병인 기전에 있어서 호염기구가 현재까지 알려진 것보다 좀 더 적극적이고 중요한 역할을 할 가능성이 있다. 최근에는 천식을 다양한 표현형(phenotype)과 내재형(endotype)이 혼합된 이질적인 질환(heterogeneous disease)으로 보고, 환자에서 이를 구별할 특성 및 생물표지자(biomarker)를 찾아냄으로써 천식 치료에 있어서도 정밀 의료(precision medicine)를 이루고자 하는 움직임이 대두되고 있으나, 아직 호염기구에 대해서는 연구가 충분하지 못한 실정이다.⁷ 이에 이번 연구에서는 성인 천식 환자를 대상으로 혈중 호염기구 수와 천식의 임상 양상과의 관계, 그리고 호기 응축물에서 측정된 염증성 사이토카인과의 연관성을 분석하였다.

대상 및 방법

1. 대상

2017년 5월부터 2018년 4월까지 이대목동병원 알레르기내과를 방문한 19세 이상 성인 천식 환자 중 대상자를 모집하였다. 기침, 천명음, 호흡곤란, 가슴답답함과 같은 천식에 합당한 임상 증상을 보이면서 기도 가역성 또는 기도과민성이 증명된 경우로 천식을 정의하였다. 기도가역성의 경우, salbutamol (Ventolin Evohaler, Galxo-SmithKline, London, UK) 400 µg을 흡입한 후 혹은 4주 간의 항염증 치료(전신 및 흡입 스테로이드) 후 1초간 강제호기량(forced expiratory volume in 1 second, FEV₁)이 기저치의 12% 이상이면서 200 mL 이상 증가하는 경우에 양성으로 판정하였다. 기도과민성은 프로보콜린(methacholine chloride USP, Methapharm Inc., Brantford, ON, Canada)을 이용한 기관지유발검사에서 PC₂₀ (provocative concentration causing a 20% fall in FEV₁)가 16 mg/mL 미만일 때 양성으로 판정하였다.

기관지확장증, 폐기종, 만성기관지염, 결핵으로 인한 파괴폐(tuberculous destroyed lung)와 같이 다른 만성폐쇄성폐질환이 동반되어 있거나 현증 감염병, 악성 종양, 또는 호흡기 증상에 영향을 줄 수 있는 심부전, 신부전이 동반된 경우는 대상군에서 제외하였다.

이 연구는 이대목동병원의 연구윤리심의위원회(Institutional Review Boards)의 심의를 통과하였고(승인번호: 2017-05-065), 모든 대상자로부터 서면동의서를 취득하였다.

2. 임상 정보 수집 및 평가

대상자들의 성별, 나이, 비만도(body mass index), 천식 진단 당시

나이, 천식 유병 기간, 천식 치료 약물의 종류 및 사용력, 등록 1년 이내의 천식 악화의 과거력(예정에 없던 외래/응급실 방문 및 일반 병실 혹은 중환자실로의 입원력, 천식 급성 악화로 인한 3일 이상의 전신스테로이드 치료 횟수), 지난 1개월간 천식으로 인한 결근 및 조퇴 유무, 아토피 유무, 흡연력, 알레르기질환의 동반 유무, 이외의 동반질환 유무, 알레르기질환의 가족력, FEV₁, 강제폐활량(forced vital capacity, FVC), FEV₁과 FVC의 비율(FEV₁/FVC), 천식 진단 당시 말초혈액의 총 백혈구 수, 호산구, 호중구, 호염기구 분율, 혈청 총 IgE를 조사하였다. 이때 아토피 양성은 피부단자시험에서 하나 이상의 흡입 항원에 양성(히스타민에 의하여 유발된 팽진이 3 mm 이상이고, 히스타민에 의해 유발된 팽진 크기보다 같거나 큰 경우)이거나 다중 알레르기 항원 검사(multiple allergen simultaneous test) (AdvanSure AlloScreen, LG Life Sciences, Seoul, Korea)에서 하나 이상의 흡입 항원에 대해 class 3 이상을 보이는 경우로 정의하였다. 대상자는 등록시점에서 천식조절검사(asthma control test, ACT) 및 한국 성인 천식 환자의 삶의 질 평가를 위한 설문(Quality of Life Questionnaire for adult Korean Asthmatics, QLQAKA)을 작성하였고, Global Initiative for Asthma 가이드라인에 따라 천식의 조절 상태를 다음 4가지 조건 중 0개에 해당할 때 조절(well controlled), 1-2개에 해당할 때 부분 조절(partly controlled), 3개 이상에 해당하면 조절 안됨(uncontrolled)으로 분류하였다: (1) 주간 증상이 1주에 3회 이상 있음, (2) 야간 증상 있음, (3) 활동 제약 있음, (4) 구제 약물의 사용이 1주에 3회 이상 있음.⁸ 최근 2주 동안의 주관적인 천식 상태를 종합적으로 판정하는 QLQAKA는 4개 영역(증상 6개 문항, 활동 장애 5개 문항, 정서반응 3개 문항, 환경요인에 대한 반응 3개 문항), 총 17개 문항으로 이루어져 있으며, 각 문항별로 5단계로 응답하도록 구성된다. Park 등⁹은 한 연구에서 QLQAKA의 종합점수의 차이가 0.5 이상일 경우 유의한 차이(minimal important difference)가 있는 것으로 보고한 바 있다.

3. 호기 응축물 수집 및 분석

호기 응축물(exhaled breath condensate, EBC)은 각 대상자의 연구 등록 시점에서 RTube (Respiratory Research Inc., Austin, TX, USA)를 이용하여 수집하였다. 대상자는 RTube의 마우스피스를 입에 물고 평상호흡을 10분 동안 수행하였고, 이를 통해 수집된 EBC 검체는 영하 70°C에 급랭 보관하였다. 이후 multiplexed, bead-based immunoassay (Milliplex Multi-Analyte Profiling human cytokine panel; Millipore, St. Charles, MO, USA)와 Luminex 3D detection platform (Luminex, Austin, TX, USA)을 이용하여 EBC 내 IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IL-17, IL-33, interferon-gamma (IFN-γ)를 측정하였다. 검사의 민감도는 다음과 같았다: IL-4, 4.5 pg/mL; IL-10, 1.1 pg/mL; IL-13, 1.3 pg/mL; IL-17, 0.7 pg/mL; IL-33, 6.2 pg/mL; IFN-γ, 0.8 pg/mL.

4. 통계 분석

통계 분석은 IBM SPSS Statistics ver. 22.0 (IBM Co., Armonk, NY, USA)를 이용하였다. 모든 결과치는 평균 $\pm$ 표준편차 혹은 빈도(%)로 표현하였다. 두 군 간의 차이를 비교하기 위하여 Mann Whitney U-test, Pearson chi-square test 또는 Fisher exact test를 사용하였고, 상관관계의 분석은 Spearman correlation test를 이용하였다. P 값이 0.05 미만일 때 통계적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1. 대상 환자

총 13명의 연구 대상자의 평균 연령은 60.2 ± 14.4 세였고, 이 중 10명(76.9%)이 여성이었다. 평균 천식 진단 연령은 48.6 ± 16.4 세였으며, 아토피가 있는 환자는 8명(66.7%)이었다. 비흡연자가 76.9%였으며, 천식 진단 당시의 평균 호산구 수 및 호염기구 수는 각각 226.0 ± 246.1 cells/ μ L, 37.6 ± 24.6 cells/ μ L였고, FEV₁ 예측치의 평균은 $75.9\% \pm 17.8\%$ 였다. 이외 대상 환자들의 기본 특성과 검사결과는 Table 1에 요약하였다.

2. 혈중 호염기구 수에 따른 그룹 간 비교 분석

혈중 호염기구 수가 50 cells/ μ L 미만인 군과 이상인 군으로 나누어 천식의 임상 특성 및 여러 검사결과를 분석하였을 때, 혈중 호염기구가 50 cells/ μ L 이상인 군에서 지난 1년간 악화 횟수(1.2 ± 0.6 vs. 5.3 ± 5.8 , $P=0.049$)와 지난 1개월간 천식으로 인한 결근 및 조퇴 유무(0% vs. 66.6%, $P=0.038$)가 유의하게 높았고, 부분조절 및 조절안됨의 비율이 더 높았으며(20% vs. 100%, $P=0.014$) QLQAKA 점수는 유의하게 낮았다(68.8 ± 7.9 vs. 49.0 ± 12.0 , $P=0.028$). 폐기능에 있어서는 FEV₁ (mL, %predicted)와 FVC (mL, %predicted)에 있어서는 두 군 간 유의한 차이가 없었으나 FEV₁/FVC는 혈중 호염기구가 50 cells/ μ L 미만인 군에서 유의하게 낮았다(72.2 ± 4.5 vs. 81.7 ± 6.1 , $P=0.049$). 이외 연령, 아토피 유무, 흡연력, 혈중 호산구 수치에서 두 군 간의 차이는 관찰되지 않았다(Table 2). 전체적으로 분석했을 때 혈중 호염기구 수와 혈중 호산구 수의 상관관계는 유의하지 않았으나, 혈중 호염기구 분율과 혈중 호산구 분율은 유의한 양의 상관 관계를 보였다(Fig. 1).

3. 호기 응축물 내 사이토카인 농도와 혈중 호염기구 수와의 상관관계

혈중 호염기구 수와 EBC 내 IL-33 농도는 유의한 양의 상관관계를 보였고($r=0.651$, $P=0.016$), EBC 내 IL-17 농도 역시 유의한 양의 상관관계를 나타냈다($r=0.732$, $P=0.004$) (Fig. 2A, B). 한편, 혈중 호염기구 수와 EBC 내 IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, IFN- γ 농도와는 유의한 상관관계가 없었다(Table 3). 혈중 호염기구가 높은 군($\geq$

Table 1. Baseline characteristics of the study subjects (n = 13)

Characteristic	Value
Age, mean (yr)	60.2 $\pm$ 14.4
Male sex	3 (23.1)
Onset of asthmatic symptoms (yr)	45.9 $\pm$ 17.2
Age at asthma diagnosis (yr)	48.6 $\pm$ 16.4
Duration of asthma treatment (yr)	5.1 $\pm$ 6.7
Other allergic diseases	
Atopy	8/12 (66.7)
Allergic rhinitis	9 (69.2)
Aspirin hypersensitivity (AERD)	1 (7.7)
Family history of allergic disease	8 (61.5)
Smoking history	
Never smoker	10 (76.9)
Ex-smoker	3 (23.1)
Current smoker	0 (0)
Body mass index (kg/m ²)	23.8 $\pm$ 2.4
Laboratory findings	
WBC (/ μ L)	9,366.2 $\pm$ 4,363.7
Eosinophil (/ μ L, %)	226.0 $\pm$ 246.1 (2.9 $\pm$ 2.9)
Basophil (/ μ L, %)	37.6 $\pm$ 24.6 (0.4 $\pm$ 0.2)
Serum total IgE (IU/mL)	484.9 $\pm$ 538.2
ACT scores (total 25)	21.2 $\pm$ 3.4
QLQAKA scores (total 85)	64.2 $\pm$ 12.1
Pulmonary function test	
FEV ₁ (%predicted, mL)	75.9 $\pm$ 17.8 (1,879.2 $\pm$ 573.1)
FVC (%predicted, mL)	83.1 $\pm$ 19.2 (2,543.9 $\pm$ 813.0)
FEV ₁ /FVC ratio (%)	74.4 $\pm$ 6.2
Positive BDR	6/10 (60.0)

Values are presented as mean $\pm$ standard deviation or number (%).

AERD, aspirin-exacerbated respiratory disease; ACT, asthma control test; QLQAKA, Quality of Life Questionnaire for Adult Korean Asthmatics; FEV₁, forced expiratory volume in 1 second; FVC, forced vital capacity; BDR, bronchodilator response.

50 cells/ μ L)과 낮은 군(< 50 cells/ μ L)으로 나누어 분석했을 때, 두 군 간 EBC 내 사이토카인 농도의 유의한 차이는 없었다. 혈중 호산구 수와 EBC 내 사이토카인 농도 간의 상관분석에서도 유의한 상관관계는 보이지 않았다. 이외 type 2 helper (Th2)군을 아토피 양성 또는 혈중 호산구 수 300/ μ L 이상으로 정의하고($n=8$), 이외의 경우를 비Th2군으로 정의하였을 때($n=5$), 두 군 간 혈중 호염기구 수와 EBC 내 사이토카인 농도에서 유의한 차이는 보이지 않았다.

4. 천식 악화 횟수에 따른 EBC 내 사이토카인 차이 분석

대상자들을 지난 1년간의 악화 횟수가 0 또는 1회인 군과 2회 이상인 군으로 나누어 분석했을 때 악화 횟수가 2회 이상인 군에서 EBC 내 IL-10 농도(4.93 ± 0.96 pg/mL vs. 4.18 ± 0.22 pg/mL, $P=0.0452$)와 IL-4 농도(30.20 ± 10.16 pg/mL vs. 24.87 ± 1.57 pg/mL, $P=0.031$)가 유의하게 낮았다(Fig. 3A, B). 이외 EBC 내 IL-5, IL-13,

Table 2. Differences in clinical features of asthma according to the number of basophils (n = 13)

Variable	Basophil <50/μL (n = 10)	Basophil ≥50/μL (n = 3)	P-value
Age (yr)	59.8 ± 14.3	61.3 ± 18.0	0.937
Male sex	2 (20.0)	1 (33.3)	1.000
Onset of asthmatic symptoms (yr)	45.7 ± 18.7	46.7 ± 14.0	0.811
Age at asthma diagnosis (yr)	48.5 ± 18.2	49.10 ± 10.8	0.811
Duration of asthma treatment (yr)	4.8 ± 7.6	6.3 ± 1.2	0.161
Other allergic diseases			
Atopy	6/9 (66.7)	2/3 (66.7)	1.000
Allergic rhinitis	7 (70.0)	2 (66.7)	1.000
Aspirin hypersensitivity (AERD)	0 (0)	1 (33.3)	0.231
Family history of allergic disease	7 (70.0)	1 (33.3)	0.510
Smoking history			1.000
Never Smoker	8 (80.0)	2 (66.7)	
Ex-smoker	2 (20.0)	1 (33.3)	
Current Smoker	0 (0)	0 (0)	
Body mass index (kg/m ²)	23.4 ± 2.7	25.0 ± 0.2	0.161
Laboratory findings			
WBC (/μL)	8,759.0 ± 4,493.9	11,390.0 ± 3,922.4	0.161
Eosinophil (%)	3.1 ± 2.9	2.2 ± 3.4	0.692
Eosinophil (/μL)	237.8 ± 251.8	186.5 ± 273.9	0.573
Serum total IgE (IU/mL)	593.4 ± 606.1	193.3 ± 179.5	0.571
Budesonide equivalent ICS dose (μg/day)	510.0 ± 230.0	633.3 ± 202.1	0.496
Current asthma control state, well:partly:un-controlled	8:0:2 (80.0:0:20.0)	0:2:1 (0:66.7:33.3)	0.014*
No. of acute exacerbations in previous year*	1.2 ± 0.6	5.3 ± 5.8	0.049
Hospitalization (general ward)	2 (20.0)	2 (66.7)	0.203
Steroid burst treatment	8 (80.0)	3 (100)	0.510
Absence from work due to asthma	0 (0)	2 (66.7)	0.038*
Pulmonary Function Test			
FEV ₁ (%predicted)	75.8 ± 20.4	76.0 ± 5.3	0.692
FVC (%predicted)	85.2 ± 21.1	76.0 ± 10.5	0.217
FEV ₁ /FVC (%)	72.2 ± 4.5	81.7 ± 6.1	0.049*
Positive BDR	4/7 (57.1)	2/3 (66.7)	1.000
ACT scores (total 25)	21.8 ± 3.5	19.0 ± 2.6	0.161
QLQAKA scores (total 85)	68.8 ± 7.9	49.0 ± 12.0	0.028*

Values are presented as mean ± standard deviation or number (%).

AERD, aspirin-exacerbated respiratory disease; WBC, white blood cell; ICS, inhaled corticosteroids; FEV₁, forced expiratory volume in 1 second; FVC, forced vital capacity; BDR, bronchodilator response; ACT, asthma control test; QLQAKA, Quality of Life Questionnaire for Adult Korean Asthmatics.

*P < 0.05.

IL-17, IL-33, IFN-γ 농도에서 두 군 간의 차이는 관찰되지 않았다.

고 찰

전형적인 알레르기 천식의 주된 병인 기전은 Th2 세포에서 분비되는 IL-4, IL-5, IL-13과 같은 type 2 사이토카인, 비만세포의 활성화, IgE의 생성, 호산구의 침윤 등으로 인한 기도의 만성염증과 기도과민성으로 설명되어 왔다.⁷ 호염기구의 표면에는 호산구, 비만세포와 마찬가지로 IgE가 결합할 수 있는 수용체가 발현되어 있고,

따라서 자극에 의한 탈과립화를 통해 IL-4와 같은 type 2 사이토카인을 분비하고 Th2 반응을 조절하는 부차적인 염증세포로 여겨졌다.² 최근 천식의 표현형(phenotype)과 내재형(endotype)에 대하여 많은 연구가 있었음에도 불구하고, 천식에서의 호염기구의 역할에 대해서는 많이 연구되지 않은 편인데 아마도 객담이나 혈액에서 검출되는 수가 굉장히 적은 세포이기 때문일 것으로 생각된다. 숫자는 적지만 호염기구는 기생충의 방어에 있어서 작동세포(effector cell)로 작용하고, IgE 의존성 만성피부병변이나 IgG 의존성 아나필락시스에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다.¹⁰

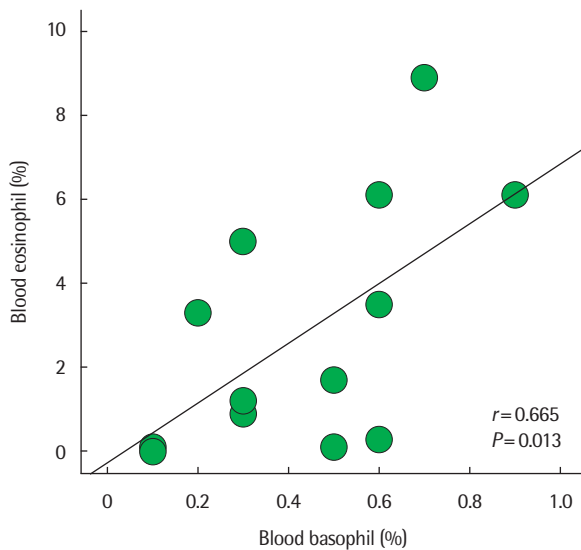


Fig. 1. Correlation plot between blood basophil (%) and blood eosinophil (%) in study population (total n=13). Spearman r correlation test was used to measure association between the 2 variables.

Table 3. The association between blood basophil count and inflammatory cytokines in exhaled breath condensate (EBC)

Cytokine in EBC	Spearman r	P -value
IL-4	-0.144	0.638
IL-5	0.235	0.440
IL-10	0.223	0.464
IL-13	-0.139	0.650
IFN- γ	-0.061	0.844

IL, interleukin; IFN, interferon.

*Aspergillus fumigatus*를 이용하여 유도한 알레르기 천식 쥐 모델에서 호염기구를 제거했을 때(depletion) 기관지폐포세척액(bronchoalveolar lavage fluid)에서 염증세포 전체의 숫자가 줄어들 뿐만 아니라 그 중 특히 호산구가 유의하게 낮았고, IL-4를 생성하는 Th2 림프구의 숫자 및 IgE 생성도 감소하였으며 기도과민성도 더 적었다.¹⁰ 실제 환자를 대상으로 한 연구에서도 대조군에 비해 천식 환자의 폐와 기도 조직 내에 호염기구가 증가된 것이 확인된 바 있다.^{4,5} 이를 통해 호염기구는 다른 염증세포들에 비해 그 숫자는 적으나 천식에 있어서 알레르기 염증반응의 핵심세포 중 하나임을 알 수 있다.

최근에는 비호산구성 천식에 비해 호산구성 천식 환자의 객담에서 호염기구 숫자가 더 높다는 것이 밝혀진 바 있다. 천식 환자에서 객담 내 호염기구는 객담 내 호산구와 양의 상관관계를 보였으나 FEV₁, FEV₁/FVC, 기관지확장제반응(bronchodilator response, BDR)과는 무관하였다.¹¹ 다른 연구에서도 객담 호염기구는 객담 내 호산구 및 비만세포와 양의 상관관계를 보이며 혈액 내 호산구와 호기산화질소(fractional exhaled nitric oxide)와도 연관되었으

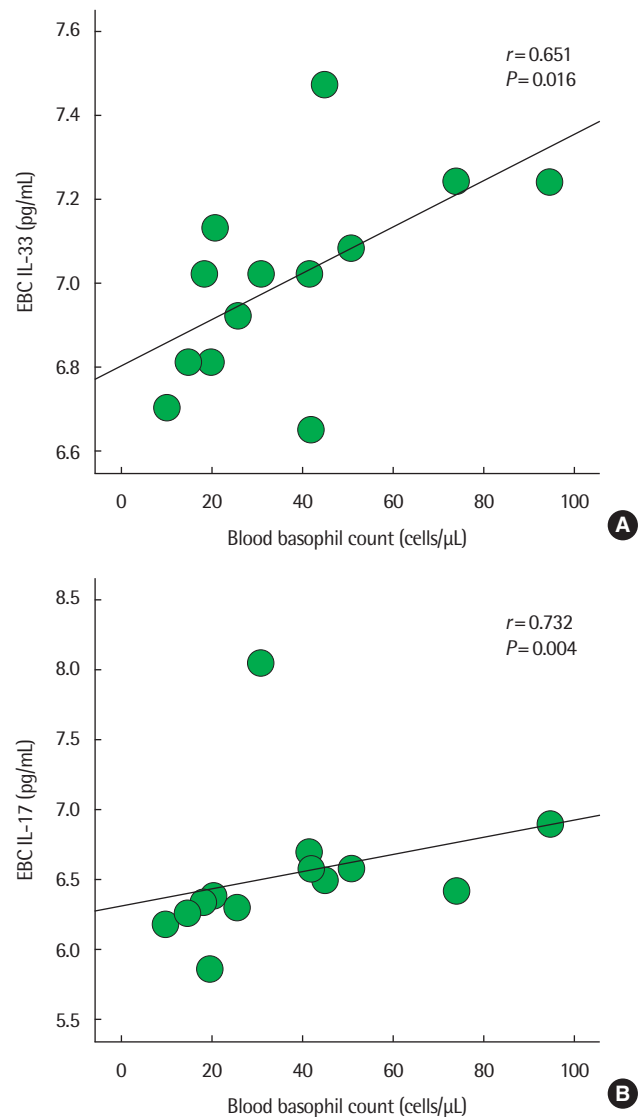


Fig. 2. The association between blood basophil count and inflammatory cytokines (A, IL-33; B, IL-17) in exhaled breath condensate (EBC). Spearman r correlation test was used to measure association between the 2 variables. IL, interleukin.

나 혈청 IgE 및 폐기능, 혈중 호염기구 및 호산구와는 관계가 없었다.¹² 그러나 객담 호염기구는 그 양이 미미하여 검출하기가 쉽지 않고, 정해진 임계값(cutoff value) 또한 확실하지 않은 실정이다.

천식 환자의 혈중 호염기구와 관련된 연구는 더욱 적는데, 혈중 호염기구는 기본적인 혈액검사만 시행하면 그 값을 얻을 수 있다는 장점이 있으며, 이 연구에서는 천식 환자의 혈중 호염기구를 중심으로 분석하였다. 저자들은 혈중 호염기구 50/ μ L를 기준으로 설정하였는데, 현재 천식에서 혈중 호염기구 수를 정량적으로 제시한 선행 연구가 거의 없어 적절하게 기준으로 삼을 수 있는 값이 없었으므로 이 연구 대상자들을 기준으로 분석했을 때 양군의 임상양상 차이가 가장 뚜렷하게 구분되는 값을 택하였다. 진단 당시의 혈

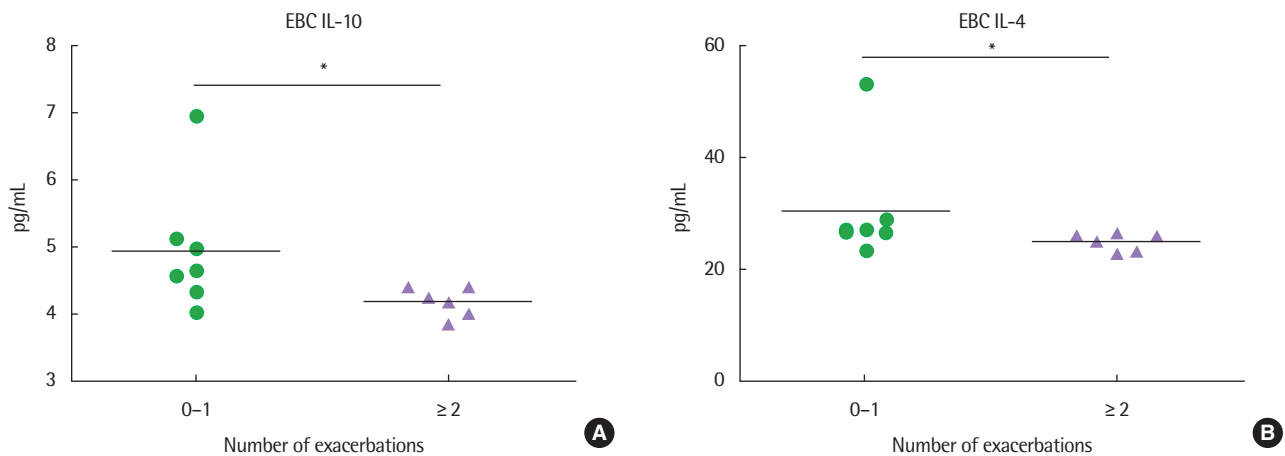


Fig. 3. Comparison of the level of inflammatory cytokines (A, IL-10; B, IL-4) in exhaled breath condensate (EBC) between the 2 groups which divided according to the number of asthma exacerbation within previous year. Number of exacerbations 0-1/yr (n=7), ≥2/yr (n=6). Mann-Whitney test was used. IL, interleukin. * $P < 0.05$.

중 호염기구가 더 높은 군에서 지난 1년간의 악화 횟수가 더 높고 천식 조절 상태가 더 좋지 않으며, 천식 환자의 삶의 질을 평가하는 설문지의 점수 역시 유의하게 낮아 전반적으로 천식의 중증도가 더 높음을 알 수 있었다. 또한 혈중 호염기구 분율과 혈중 호산구 분율은 유의한 양의 상관관계를 보였고, 폐기능검사의 경우 FEV₁은 유의한 차이가 없었으나 FEV₁/FVC는 혈중 호염기구가 낮은 군에서 더 낮은 값을 보여주어 혈중 호염기구가 높은 군에서 기도폐쇄의 정도가 덜함에도 불구하고 악화 횟수가 더 잦을 가능성을 시사하였다. 문헌검색을 통하여 혈중 호염기구와 천식 환자의 임상 양상에 관한 초록 형태의 연구를 1건 찾을 수 있었다. 169명의 천식 환자를 대상으로 한 후향적 코호트 연구로, 이 연구에 따르면 혈중 호염기구는 혈중 호산구, 호기산화질소 수치와 연관되었으며 ACT 점수가 19 이하인 천식 환자에서 혈중 호염기구 수치가 더 높았으나 폐기능검사와는 유의한 연관성을 보이지 않는다고 보고한 바 있고, 이 때 악화력에 대해서는 기술되지 않았다.¹³ 이번 연구와 비교했을 때 혈중 호산구와 유의한 상관관계를 갖는다는 점은 공통되었으나, ACT 점수, 폐기능검사 결과에 있어서는 다른 결과를 보였다.

한편 호기 응축물 검사는 비침습적으로 기도 내 염증물질을 알아볼 수 있는 방법으로, 환자는 마우스피스를 입에 물고 정상호흡만을 지속하면 되므로 유도객담검사보다 수행이 용이하고, 기도 내의 사이토카인 및 류코트리엔, 프로스타글란딘, eotaxin, eosinophil cationic protein, nitrogen oxides와 같은 다양한 염증물질을 측정할 수 있다는 점에서 호기산화질소 측정보다 장점이 있다.^{14,15} 그러나 EBC에서 검출되는 여러 물질들이 구강에서 폐포까지 이르는 기도 중 어느 부위에서 유래하는지 정확히 특정할 수 없다는 점, 아직까지 EBC 검체 수집과 분석에 있어 표준화된 프로토콜이 정립되어 있지 않다는 점, EBC 내 염증 물질의 농도가 과호흡 등 호흡 패턴에 따른 영향을 받는다는 점은 EBC 검사의 제한점이다.¹⁶

천식 환자에서 EBC의 pH가 정상 대조군에 비하여 유의하게 낮고, 급성 악화 상태에서는 pH가 더욱 낮아진다는 것과 산화 스트레스의 지표인 과산화수소(H₂O₂)와 류코트리엔 농도가 천식 환자에서 증가되어 있다는 것을 밝힌 연구들이 있고, 사이토카인과 관련해서는 IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17의 농도가 천식 환자에서 증가되어 있었다는 보고가 있었다.¹⁷ 이 연구에서는 천식의 병인 기전에 있어서 호염기구의 역할을 밝히기 위하여 혈중 호염기구와 EBC 내 여러 염증성 사이토카인과의 연관성을 살펴보고, 혈중 호염기구 수치와 EBC 내 IL-33과 IL-17이 각각 유의한 양의 상관관계를 보임을 밝혔다.

자극을 받은 상피세포에서 생성되는 IL-33은 제2형 선천성 림프구 세포(group 2 innate lymphoid cells, ILC2s)로 하여금 IL-5, IL-13을 분비하도록 유도하여 type 2 염증반응의 개시에 중요한 역할을 하는 alarmin 사이토카인의 하나이다.¹⁸ 호염기구의 세포막 표면에는 IL-33 수용체가 발현되어 있으며 이는 IgE 비의존성 알레르기 염증반응 매개의 기전 중 하나이다.² 천식 환자를 대상으로 호염기구 표면의 epithelial cytokine receptors, 즉 IL-33 수용체, IL-25 수용체, TSLP 수용체의 발현에 대해 연구한 바를 보면, 일반인과 경증 천식환자에 비해서 중증 천식 환자의 호염기구 표면에 IL-33, IL-25 수용체의 발현이 더 높았다.¹⁹ 또한 천식 환자에서 IL-33, IL-25과 같은 alarmin 사이토카인이 호염기구의 활성화와 염증 부위로의 이동 능력을 증가시킨다는 보고도 있었다.²⁰ 이 연구에서는 호염기구가 더 높은 군에서 실제로 기도 내 IL-33 수치가 더 높음을 확인하였다. 비교적 최근 alarmin 사이토카인, 선천성 림프구 세포가 발견되면서 천식의 병인 기전에 있어서 선천성 면역반응의 중요성이 주목을 받고 있는데, IL-33이 제2형 선천성 림프구 세포를 자극할 뿐만 아니라, 호염기구 역시 자극함으로써 천식의 병인 기전에 기여할 것으로 생각된다.

EBC 내 IL-17 역시 호염기구가 더 높은 군에서 유의하게 높았는데, IL-17은 비만 또는 대기오염 등에 의해 유발되는 호중구성 천식의 발병에 중요한 type 3 사이토카인으로, 비만과 연관되는 천식에서는 Nlrp3 inflammasome 경로를 통해 대식세포에서 분비된 IL-1 β 가 선천성 림프구 세포를 활성화시켜 IL-17을 분비하게 함으로써 천식을 유도한다고 알려져 있고, 오존으로 유도한 천식 모델에서는 자연 살해 T세포로부터 분비되는 IL-17이 중요한 것으로 알려져 있다.²¹ 호중구, 비만세포, 제3형 선천성 림프구 세포(ILC3), Th17세포, Th 22세포에서 분비된 IL-17A, IL-17F, IL-22, IL-26과 같은 사이토카인이 관여하는 반응을 type 3 염증이라고 한다. 중증 천식 환자 일부에서 경증 천식에 비해 IL-17의 발현이 증가되어 있고, 이러한 IL-17의 증가는 기도의 호중구성 염증과 관련되어 있다는 연구가 있었다.²² 그러나 천식 발병에 있어서 IL-17과 호염기구간의 관계에 대해서는 연구된 바가 거의 없으며, 최근 쥐 모델에서 호염기구에서 기인한 IL-6가 Th17로의 분화를 조절한다는 내용이 보고된 바 있다.²³ 이번 연구결과는 전형적인 type 2 염증뿐만 아니라, type 3 염증으로 인한 천식의 발병기전에도 호염기구가 관련되어 있을 가능성을 시사한다.

끝으로 호염기구와 관계없이 악화 횟수에 따라 EBC 내 염증물질의 차이가 나는 부분이 있는지 살펴보았을 때, 악화 횟수가 지난 1년간 2회 이상인 군에서 EBC 내 IL-10과 IL-4 농도가 유의하게 낮았다. IL-10은 대표적인 면역 억제성 사이토카인으로, 알레르겐에 의한 Th2 반응을 억제시키고 최근에는 천식 쥐 모델에서 알레르겐에 대한 IFN- γ 반응도 억제하는 것으로 밝혀졌다.²⁴ IL-10은 억제성 사이토카인이므로 천식 악화가 더 많은 군에서 그 농도가 낮았을 것으로 판단된다. 다만, 대표적인 type 2 사이토카인인 IL-4가 악화가 더 많은 군에서 낮게 나타난 부분에 대해서는 더 많은 대상으로 추가 연구가 필요할 것으로 생각한다.

이번 연구에서는 천식 환자에서 혈중 호염기구 수에 따라 천식의 임상 양상에 차이가 있는지 살펴봄으로써 천식 표현형 지표로서의 혈중 호염기구의 가능성에 대해 탐색하고자 하였고, 이와 함께 혈중 호염기구 수에 따른 호기 응축물 내 염증성 사이토카인 차이를 관찰하여 호염기구가 천식의 병인기전에 관여하는 부분에 대한 새로운 지식을 규명하고자 하였다. 호산구가 객담 호산구, 혈중 호산구 모두 그 기준을 갖고 있는데 반해 호염기구 같은 경우는 알레르기 염증반응의 핵심세포임에도 불구하고 지금까지 연구가 많지 않고, 특히 혈중 호염기구 수를 다룬 연구는 거의 없었다. 이번 연구결과들을 종합하여 보면 전반적으로 혈중 호염기구가 높은 군에서 천식으로 인하여 삶의 질이 더 떨어졌고, 천식이 잘 조절되지 않고 악화 횟수가 더 높게 나타났으며, 혈중 호염기구 수는 호기 응축물 내 IL-33, IL-17과 유의한 양의 상관관계를 보였다. 이번 연구의 제한점으로는 대상군의 숫자가 많지 않다는 점과 정상 대조군이 없다는 점, 유도객담검사를 시행하지 않아 객담 호염기구 및 객

담 호산구와의 관계를 보지 못한 점, 호기산화질소 검사를 시행하지 못한 점이 있다. 천식이 다양한 임상 양상을 보이는 이질적인 염증성질환임을 고려하면, 각 표현형에 따라 호염기구의 역할이 다를 수도 있으리라 생각된다. 이번 연구를 단서로 하여 추후 더 많은 대상자를 통한 추가 연구가 필요할 것으로 생각한다.

REFERENCES

- Kimura I, Tanizaki Y, Saito K, Takahashi K, Ueda N, Sato S. Appearance of basophils in the sputum of patients with bronchial asthma. *Clin Allergy* 1975;5:95-8.
- Miyake K, Karasuyama H. Emerging roles of basophils in allergic inflammation. *Allergol Int* 2017;66:382-91.
- Fux M, von Garnier C. Sputum basophils and asthma diagnosis: dawn of a new era? *Allergy* 2017;72:1437-9.
- Koshino T, Teshima S, Fukushima N, Takaishi T, Hirai K, Miyamoto Y, et al. Identification of basophils by immunohistochemistry in the airways of post-mortem cases of fatal asthma. *Clin Exp Allergy* 1993;23:919-25.
- Koshino T, Arai Y, Miyamoto Y, Sano Y, Takaishi T, Hirai K, et al. Mast cell and basophil number in the airway correlate with the bronchial responsiveness of asthmatics. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;107:378-9.
- Macfarlane AJ, Kon OM, Smith SJ, Zeibecoglou K, Khan LN, Barata LT, et al. Basophils, eosinophils, and mast cells in atopic and nonatopic asthma and in late-phase allergic reactions in the lung and skin. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105(1 Pt 1):99-107.
- McDonald VM, Fingleton J, Agusti A, Hiles SA, Clark VL, Holland AE, et al. Treatable traits: a new paradigm for 21st century management of chronic airway diseases: Treatable Traits Down Under International Workshop report. *Eur Respir J* 2019;53:1802058.
- Global Initiative for Asthma. Global Strategy for Asthma Management and Prevention [Internet]. Global Initiative for Asthma; 2019 [cited 2019 Oct 15]. Available from: <http://www.ginasthma.org>.
- Park JW, Cho YS, Lee SY, Nahm DH, Kim YK, Kim DK, et al. Multi-center study for the utilization of quality of life questionnaire for adult Korean asthmatics (QLQAKA). *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2000;20:467-79.
- Poddighe D, Mathias CB, Brambilla I, Marseglia GL, Oettgen HC. Importance of basophils in eosinophilic asthma: the murine counterpart. *J Biol Regul Homeost Agents* 2018;32:335-9.
- Brooks CR, van Dalen CJ, Hermans IF, Gibson PG, Simpson JL, Douwes J. Sputum basophils are increased in eosinophilic asthma compared with non-eosinophilic asthma phenotypes. *Allergy* 2017;72:1583-6.
- Suzuki Y, Wakahara K, Nishio T, Ito S, Hasegawa Y. Airway basophils are increased and activated in eosinophilic asthma. *Allergy* 2017;72:1532-9.
- Ohta S, Tanaka A, Fujiwara A, Uchida Y, Manabe R, Furukawa H, et al. Peripheral blood basophils as a biomarker in patients with adult bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2016;193:A1441.
- Davis MD, Montpetit AJ. Exhaled breath condensate: an update. *Immunol Allergy Clin North Am* 2018;38:667-78.
- Davis MD, Fowler SJ, Montpetit AJ. Exhaled breath testing-A tool for the clinician and researcher. *Paediatr Respir Rev* 2019;29:37-41.
- Horváth I, Hunt J, Barnes PJ, Alving K, Antczak A, Baraldi E, et al. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J* 2005;26:523-48.
- Konstantinidi EM, Lappas AS, Tzortzi AS, Behrakis PK. Exhaled breath condensate: technical and diagnostic aspects. *ScientificWorldJournal*

- 2015;2015:435160.
18. Cayrol C, Girard JP. IL-33: an alarmin cytokine with crucial roles in innate immunity, inflammation and allergy. *Curr Opin Immunol* 2014;31: 31-7.
19. Boita M, Heffler E, Omedè P, Bellocchia M, Bussolino C, Solidoro P, et al. Basophil membrane expression of epithelial cytokine receptors in patients with severe asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 2018;175:171-6.
20. Salter BM, Oliveria JP, Nusca G, Smith SG, Tworek D, Mitchell PD, et al. IL-25 and IL-33 induce Type 2 inflammation in basophils from subjects with allergic asthma. *Respir Res* 2016;17:5.
21. Kim H. Innate immunity in asthma. *Allergy Asthma Respir Dis* 2014;2: 317-25.
22. Wang YH, Wills-Karp M. The potential role of interleukin-17 in severe asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* 2011;11:388-94.
23. Yuk CM, Park HJ, Kwon BI, Lah SJ, Chang J, Kim JY, et al. Basophil-derived IL-6 regulates TH17 cell differentiation and CD4 T cell immunity. *Sci Rep* 2017;7:41744.
24. Branchett WJ, Stölting H, Oliver RA, Walker SA, Puttur F, Gregory LG, et al. A T cell-myeloid IL-10 axis regulates pathogenic IFN- γ -dependent immunity in a mouse model of type 2-low asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2020;145:666-78.e9.