

## Role of *Staphylococcus Aureus* Exotoxins in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyp

Yeong-Kyu Park<sup>1</sup>, Sung Tae Seo<sup>1</sup>, Eung Hyup Kim<sup>1</sup>, Dong-Hyun Kim<sup>1</sup>, Jin Woong Choi<sup>1</sup>, Yong Min Kim<sup>1,2</sup> and Ki-Sang Rha<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, <sup>2</sup>Research Institute for Medical Sciences, Chungnam National University, School of Medicine, Daejeon, Korea

### 비용을 동반한 만성 비부비동염에서 황색포도상구균 외독소의 역할

박영규<sup>1</sup> · 서성태<sup>1</sup> · 김웅협<sup>1</sup> · 김동현<sup>1</sup> · 최진웅<sup>1</sup> · 김용민<sup>1,2</sup> · 나기상<sup>1,2</sup>

충남대학교 의학전문대학원 이비인후과학교실,<sup>1</sup> 의학연구소<sup>2</sup>

Received November 25, 2009

Revised February 24, 2010

Accepted March 2, 2010

#### Address for correspondence

Ki-Sang Rha, MD  
Department of Otorhinolaryngology-  
Head and Neck Surgery,  
Chungnam National University,  
School of Medicine,  
33 Munhwa-ro, Jung-gu,  
Daejeon 301-721, Korea  
Tel +82-42-280-7698  
Fax +82-42-253-4059  
E-mail ksrha@cnu.ac.kr

**Background and Objectives** Staphylococcal exotoxins (SEs) have been implicated in the pathogenesis of chronic rhinosinusitis with nasal polyp (CRSwNP). In the current study, we determined the prevalence of specific immunoglobulin E (IgE) antibodies to SEs in serum and polyp tissues of patients with CRSwNP and tried to find out whether there is an association between the presence of SEs-IgE antibody and eosinophilic inflammation.

**Subjects and Method** Blood, nasal polyp and mucosa samples were obtained from 43 patients undergoing endoscopic sinus surgery for CRSwNP and 11 controls undergoing septoplasty without CRS. Specimens were analyzed for the presence of specific IgE antibody to four SEs [staphylococcal enterotoxin A (SEA), staphylococcal enterotoxin B (SEB), staphylococcal enterotoxin C (SEC), toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1)] using ImmunoCAP assay. Eosinophil cationic protein (ECP) in serum and nasal polyp tissue were also analyzed using ImmunoCAP. Eosinophil counts were estimated in polyp tissue.

**Results** SEs-specific IgE antibodies were detected in 13 (30.2%) patients of the CRSwNP group. In contrast, only one (9.1%) control patient had IgE to SEs. Serum ECP level was increased significantly in the CRSwNP group compared with controls. However, there were no significant differences in Lund-MacKay score, the ECP level in the serum and polyp tissue, and eosinophil count in the polyp tissue between the SEs-IgE antibody positive [SEs-IgE Ab (+)] group and the SEs-IgE antibody negative [SEs-IgE Ab (-)] group.

**Conclusion** SEs may play a certain role in the pathogenesis of CRSwNP. However, there is no close correlation between the presence of SEs-IgE antibody and eosinophilic inflammation.

Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg 2010;53:221-7

**Key Words** Staphylococcal exotoxin · Nasal polyp · Chronic rhinosinusitis.

## 서 론

임상적으로 비용(nasal polyp, NP)은 비폐색과 후비루, 후각감퇴, 두통 등을 유발하여 삶의 질을 저하시키는 비강과 부비동 내의 부종성 종물을 말한다. 비용을 동반한 만성 비부비동염(chronic rhinosinusitis with nasal polyp, CRSwNP)의 발생 원인 및 병태생리는 아직 잘 알려져 있지 않

으나 감염 또는 비감염성 염증 반응, 알레르기, 그리고 해부학적 이상이 주요 인자로 생각되고 있으며, 감염 요인 중에서는 곰팡이나 세균이 중요한 역할을 한다는 여러 보고가 있다.<sup>1,2)</sup>

세균감염이 비부비동염의 만성화를 야기하는 기전은 몇 가지로 나누어 생각해 볼 수 있다. 그 중 biofilm은 세균이 스스로 생산한 다당류기질(polysaccharide matrix) 내에서

미세집락(microcolony)을 형성하며 살아가는 하나의 삶의 형태로 항생제에 대한 내성을 획득하고 지속적으로 세균을 배출하여 만성적인 염증을 야기하는 것으로 알려져 있다.<sup>3)</sup> 또한 만성 비부비동염에서 점막의 염증뿐만 아니라 골염(osteitis)과 골의 재형성을 볼 수 있는데 이러한 골염이 항생제 치료에도 잘 반응하지 않고 수술 후 잦은 재발을 보이는 하나의 원인으로 생각되고 있다. 이외에도 최근에는 세균에서 생산되는 외독소(exotoxin)가 만성 비부비동염의 병태생리에서 중요한 역할을 할 것으로 생각되고 있다.

외독소는 항원제시세포(antigen presenting cell)의 주 조직적합복합체(major histocompatibility complex, MHC) class II molecule과 T세포 수용체(T cell receptor, TCR)의 가변베타연쇄(variable  $\beta$  chain, V $\beta$  chain)에 결합하여 정상 항원반응보다 수천 배 강력하게 T 세포를 활성화시키고 강력한 염증반응을 일으킬 수 있기 때문에 일명 초항원(superantigen)으로 불리기도 한다. 또한 알레르기 항원으로도 작용하여 외독소에 대한 특이 IgE(immunoglobulin E) 항체를 생산하고 IgE 매개 알레르기 반응을 일으켜 호산구성 염증반응을 증가시킨다고 알려져 있다.

황색포도상구균(*Staphylococcus aureus*, *S. aureus*)은 CRSwNP 환자에서 가장 흔히 검출되는 세균으로,<sup>4)</sup> 지금까지 19개의 서로 다른 외독소(staphylococcal exotoxins: SEs)를 분비하는 것으로 알려져 있는데, 이들 중 staphylococcal enterotoxin A(SEA), staphylococcal enterotoxin B(SEB), staphylococcal enterotoxin C(SEC), toxic shock syndrome toxin 1(TSST-1) 등이 대표적인 외독소들이다.<sup>5)</sup>

그동안 비용을 동반한 만성 비부비동염의 발병기전에서 포도상구균 외독소가 어떠한 역할을 하는지 알아보기 위하여 비용 조직이나 혈청에서 외독소에 대한 특이 IgE 항체(SEs-IgE Ab)를 검출한 연구는 많이 있었으나 검출률은 연구자마다 혹은 검체에 따라 다양하게 보고되고 있다. Gevaert 등<sup>6)</sup>은 24명의 CRSwNP 환자 중 12명(50%)의 비용에서 SEs-IgE Ab가 검출되었다고 하였으며, Tripathi 등<sup>7)</sup>은 CRSwNP 환자 23명 중 18명(78%)의 혈청에서, Conley 등<sup>8)</sup>은 CRSwNP 환자 10명 중 5명(50%)의 혈청에서 SEs-IgE Ab가 검출되었다고 하였다. 그러나 서양에서의 연구결과와는 달리 동양에서는 SEs-IgE Ab의 검출률이 비교적 낮게 보고되었는데, Zhang 등<sup>9)</sup>은 CRSwNP 환자 27명 중 10명(37%)의 비용에서 SEs-IgE Ab가 검출되었다고 하였고, Yoon 등<sup>10)</sup>은 CRSwNP 환자 30명 중 혈청에서는 9명(30%)에서, 비용에서는 2명(7%)에서 SEs-IgE Ab가 검출되었다고 보고하였다.

또한 외독소에 대한 특이 IgE 항체의 검출과 CRSwNP에서 주로 관찰되는 호산구성 염증반응(eosinophilic inflammation) 사이의 상관관계에 대해서도 보고자 마다 다른 결과를 보고하고 있다. Gevaert 등<sup>6)</sup>은 SEs-IgE Ab 음성[SEs-IgE Ab(-)]인 환자군에 비해 SEs-IgE Ab 양성[SEs-IgE Ab(+)]인 환자군에서 비용조직 내 호산구 수가 유의하게 증가하였다고 하였고, Van Zele 등<sup>11)</sup>은 SEs-IgE Ab(-)군에 비해 SEs-IgE Ab(+)군에서 비용조직 내 eosinophil cationic protein(ECP)의 농도가 유의하게 증가하였다고 보고한 반면, Zhang 등<sup>9)</sup>은 SEs-IgE Ab(-)군과 SEs-IgE Ab(+)군 사이에 비용 조직 내 ECP, eotaxin, interleukin 5(IL-5) 농도의 차이가 없다고 하였고, Conley 등<sup>8)</sup>이나 Seiberling 등<sup>12)</sup>은 비용조직 내 호산구 수의 유의한 차이가 없다고 하였다.

이에 저자들은 우리나라에서는 비용을 동반한 만성 비부비동염 환자의 혈청과 비용조직에서 SEs-IgE Ab가 얼마나 검출되는지 알아보려고 하였으며, SEs-IgE Ab(+)군과 SEs-IgE Ab(-)군으로 나눈 다음 비부비동염의 심한 정도에 차이가 있는지 알아보기 위하여 Lund-MacKay score를 비교하였고, 호산구성 염증반응과의 연관성을 알아보기 위하여 혈청과 조직 상청액 내의 ECP 농도와 비용조직 내 호산구 수를 측정하여 비교하였다.

## 대상 및 방법

### 대 상

2009년 1월부터 2009년 7월까지 본원 이비인후과에서 비내시경 검사 및 부비동 전산화단층촬영(CT)을 시행하여 비용을 동반한 만성 비부비동염으로 진단받고 부비동 내시경수술을 받은 환자 중 항생제나 국소 스테로이드 제제 등 약물치료의 과거력이 없는 43명의 환자를 대상으로 하였으며, 같은 기간 동안에 비중격만곡증으로 수술받은 환자 중에서 비부비동염이 없는 11명의 환자를 대조군으로 하였다. 본 연구는 본원의 임상시험윤리위원회(IRB)의 심의를 통과한 연구이다.

### 방 법

#### 수술 전 평가

CRSwNP 환자군과 대조군 모두 알레르기 비염, 천식, 아스피린 과민증을 동반하고 있는지 조사하였다. 병력에서 수양성 비루, 비폐색, 재채기, 비소양감 등의 증상이 3개월 이상 지속되고 알레르기 피부반응검사서 3+ 이상, MAST

(multiple radioallergosorbent test)에서 class 3 이상인 경우 알레르기 비염으로 진단하였다. 문진에서 천식과 아스피린과민증이 의심되는 경우에는 호흡기내과 의사에게 진료를 의뢰하여 메타콜린 기관지 유발검사(metacholine bronchial provocation test)와 아스피린 경구 유발검사를 시행하여 진단하였다.

수술 전 부비동 CT를 이용하여 부비동염의 심한 정도를 평가하였다. 관찰자 간의 차이를 없애기 위해 저자 중 1인이 3 mm 두께로 조영증강 없이 촬영한 측면과 관상면 CT를 이용하여 Lund-MacKay 병기판정법으로 평가하였다.<sup>13)</sup> 좌우 각각 다섯 부위의 부비동(상악동, 전사골동, 후사골동, 접형동, 전두동)에 대해서는 혼탁이 없는 경우는 0점, 부분적인 혼탁이 있는 경우는 1점, 전반적인 혼탁이 있는 경우는 2점으로 평가하였으며 부비동개구연합 부위에서는 혼탁 여부에 따라 0점과 2점만으로 점수를 매긴 다음 이를 합하였다.

#### 혈액과 비용 또는 비점막 조직의 채취 후 처리

수술 전 채취한 혈액은 실온에서 20분간 응고되도록 한 다음 4℃에서 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청을 얻은 후 검사 때까지 -80℃에 냉동 보관하였다. 부비동 내 시경수술과 비중격교정술 중에 채취한 비용과 비점막은 무게를 잰 다음 조직 100 mg당 1 mL의 생리식염수를 첨가하고 homogenizer(Wheaton, Milville, NJ, USA)로 잘게 부순 후 3,000 rpm으로 10분간 원심 분리하여 상청액을 얻은 후 검사 때까지 -80℃에 냉동 보관하였다. 채취한 비용조직 중 일부는 조직내 호산구 수를 측정하기 위하여 포르말린에 고정한 후 파라핀 블록을 만들어 슬라이드를 제작하였다.

43명의 만성 비부비동염 환자는 부비동 내시경 수술 중 nostril 주변을 베타딘을 이용하여 소독한 후 면봉을 이용하여 비강 내 중비도 비점막에서 도말 배양 검사를 시행하였다. 균 배양 배지로는 MacConkey Agar를 사용하여 검체를 접종시킨 후 35℃ 배양기에서 1주일간 배양하였다.

#### 혈청과 조직에서 SEs-IgE Ab의 측정

조직 상청액과 혈청에서 4종류의 SEs(SEA, SEB, SEC, TSST-1)에 대한 특이 IgE 항체를 검출하기 위하여 Uni-CAP system(Pharmacia, Sweden)을 이용하였다. 측정하고자 하는 표준 물질의 항 IgE가 공유 결합된 immunoCAP을 microplate에 설치하고 환자의 혈청이나 조직 상청액과 표준 물질을 각각 50  $\mu$ L씩 첨가한 후 30분간 상온에서 반응시킨 뒤 세척하였다.  $\beta$ -galactosidase가 표지된 mouse anti-human IgE 항체를 50  $\mu$ L씩 첨가한 후 150분간 상

온에서 반응시켰고, 다시 세척한 뒤 형광물질을 첨가하여 10분 동안 반응시킨 후 형광도를 측정하였다. 결과는 Human serum IgE의 75/502 WHO Standard에 대하여 보정된 표준화된 정량을 kU/L로 표시하였고 전체를 6등급으로 세분한 기준을 사용하였으며 0.35 kU/L 이상을 양성으로 처리하였다.

#### ECP의 측정

냉동 보관한 혈청과 조직 상청액을 분석하기 직전 상온에서 녹인 다음 Pharmacia CAP system ECP FEIA(Pharmacia, Sweden)를 사용하여 ECP농도를 측정하였다. ImmunoCAP에 공유 결합된 anti-ECP가 혈액이나 조직 상청액의 ECP와 반응하게 되는데 이를 세척한 후 효소가 부착된 anti-ECP를 첨가하여 착제를 형성시키고 일정시간 배양한 다음 유리 또는 결합된 효소 활성체를 세척 분리하여 얻어진 복합체를 전개 시약 처리하고 반응을 종결시킨 후 실온에서 fluoro count 96(Pharmacia, Sweden)으로 형광도를 측정하여 ECP의 농도를 측정하였다. 검출 한계는 <0.5  $\mu$ L/L로 하였다.

#### 비용조직 내 호산구의 측정

6  $\mu$ m의 두께로 절편을 만든 후 Hematoxylin & Eosin 염색을 하고 400배의 고배율로 관찰하였다. 세포가 비교적 균일하게 분포한 부위를 임의로 골라 3개의 시야에서 호산구 수를 측정한 다음 평균을 구하였다.

#### 분석 및 통계처리

SPSS version 12.0(SPSS inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하여 분석하였다. Lund-MacKay score, 호산구 수, 조직 상청액과 혈청 내 ECP 농도의 분석은 Mann-Whitney U-test를 이용하였으며, *p*값이 0.05미만인 경우를 통계적으로 유의한 것으로 해석하였다.

## 결 과

#### 부비동염 환자군과 대조군의 비교

43명의 CRSwNP 환자 중 남자가 29명, 여자가 14명이었고 연령 분포는 13세에서 78세로 평균연령은 40.5세였다. 11명의 대조군은 남자가 8명, 여자가 3명이었고 연령 분포는 18세부터 62세로 평균연령은 35.5세였다. 두 군 간에 성별과 나이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다. 알레르기 비염은 CRSwNP 환자군에서는 13명(30.2%), 대조군에서는 4명(36.4%)에서 동반하고 있었다. CRSwNP 환

자군 중 4명(9.3%)에서 천식을 동반하고 있었으나, 대조군에서는 천식을 동반한 환자가 없었으며, 두 군 모두 아스피린 과민증을 보인 환자는 없었다. 혈청 내 ECP 농도는 대조군에 비해 CRSwNP 환자군에서 유의하게 높았다( $p=0.019$ ) (Table 1).

#### 도말 배양 검사와 SEs-specific IgE 항체의 검출

도말 배양 검사에서 *S. aureus*가 검출된 경우는 SEs-IgE Ab(+)군은 13명 중에 1명이었으며, SEs-IgE Ab(-)군은 30명 중에 3명으로 두 군 사이에 유의한 차이를 보이지 않았다.

혈청에서 4종류(SEA, SEB, SEC, TSST-1)의 외독소에 대한 특이 IgE 항체 중 한 개 이상 양성으로 나온 경우는 CRSwNP 환자 43명 중에서 13명(30.2%)이었다. 조직 상청액에서 검출된 경우는 4예(9.3%)였으며 이들은 모두 혈청에서도 항체가 검출되었다. 이 중 SEA에 대한 특이 IgE 항체가 4예, SEB에 대한 특이 IgE 항체가 5예, SEC에 대한 특이 IgE 항체가 4예, TSST-1에 대한 특이 IgE 항체

가 13예로 TSST-1에 대한 특이 IgE 항체가 가장 많이 검출되었다. 대조군에서는 조직 상청액에서 검출된 예는 없었고, 혈청에서만 1명(9.1%)에서 TSST-1에 대한 특이 IgE 항체가 검출되었는데 이 환자는 MAST 검사에서 자작나무-오리나무(BirchAlder Mix)에 대한 특이 IgE가 class 4로 알레르기 비염이 있는 환자였다. 그리고 CRSwNP 환자 중에서 모든 SEs(SEA, SEB, SEC, TSST-1)에 대한 특이항체가 혈청 혹은 비용조직에서 검출된 4명은 모두 알레르기 비염을 동반하고 있는 환자였다(Table 2).

저자들은 알레르기 비염이 포도상구균 외독소와 만성 비부비동염의 관계에 어떤 영향을 미쳤는지 알아보기 위하여 알레르기 비염의 유무에 따른 층화분석을 시행하였다. 그러나 알레르기 비염이 있는 군과 없는 군 사이에 통계적으로 유의한 차이는 없었다.

#### SEs-IgE Ab(+)군과 SEs-IgE Ab(-)군의 임상적인 특성 비교

43명의 CRSwNP 환자군을 13명의 SEs-IgE Ab(+)군과 30명의 SEs-IgE Ab(-)군으로 나누어 분석하였다.

**Table 1.** Demographic data and serum eosinophil cationic protein (ECP) level of 43 chronic rhinosinusitis with nasal polyp (CRSwNP) patients and 11 controls

	CRSwNP (n=43)	Control (n=11)	p value
Age (median, years)	42	30	NS
Sex (Male/Female)	29/14	8/3	NS
Allergic rhinitis (%)	13 (30%)	4 (36%)	NS
Asthma (%)	4 (9%)	0	NS
Aspirin intolerance (%)	0	0	NS
Serum ECP (median, $\mu\text{g/L}$ )	3.41	1.45	0.019

NS: not significant (Mann-Whitney U-test)

**Table 2.** Clinical characteristics of patients with staphylococcal exotoxin-specific IgE antibody expression in serum and nasal polyp tissue

Patient No.	Serum				Polyp or nasal mucosa				Allergic rhinitis
	SEA	SEB	SEC	TSST-1	SEA	SEB	SEC	TSST-1	
CRSwNP									
1				+					No
2				+					Yes
3				+					Yes
4				+					No
5	+	+	+	+					Yes
6				+					No
7	+	+	+	+					Yes
8				+					No
9				+				+	No
10				+					No
11	+	+	+	+	+	+	+	+	Yes
12	+	+	+	+	+	+	+	+	Yes
13				+		+			No
Control									
1				+					Yes

CRSwNP: chronic rhinosinusitis with nasal polyp, SEA: staphylococcal enterotoxin A, SEB: staphylococcal enterotoxin B, SEC: staphylococcal enterotoxin C, TSST-1: toxic shock syndrome toxin 1

**Table 3.** Characteristics and preoperative Lund-MacKay score of chronic rhinosinusitis with nasal polyp (CRSwNP) patients with and without IgE antibodies to staphylococcal enterotoxins

	SEs-IgE Ab (+) (n=13)	SEs-IgE Ab (-) (n=30)	p value
Age (median, years)	40	36	NS
Sex (Male/Female)	9/4	20/10	NS
Allergic rhinitis (%)	6 (46%)	7 (23%)	NS
Asthma (%)	2 (15%)	2 (7%)	NS
Aspirin intolerance (%)	0	0	NS
Lund-Mackay score	14	17	NS

SEs-IgE Ab: specific IgE antibody for staphylococcal enterotoxins, NS: not significant (Mann-Whitney U-test)

SEs-IgE Ab(+)군은 남자가 9명, 여자가 4명이었고 평균 연령은 45.8세였으며, SEs-IgE Ab(-)군은 남자가 20명, 여자가 10명이었고 평균연령은 38.1세로 두 군 간에 성별과 나이에 있어서 통계적으로 유의한 차이가 없었다. SEs-IgE Ab(+)군 13명 중 6명(46%), SEs-IgE Ab(-)군 30명 중 7명(23%)에서 알레르기 비염을 동반하고 있어 SEs-IgE Ab(+)군에서 알레르기 환자의 비율이 많았으나 통계학적으로 유의한 차이는 아니었다. 기관지 천식은 SEs-IgE Ab(+)군에서는 2명(15%), SEs-IgE Ab(-)군에서는 2명(7%)에서 동반하고 있었다. Lund-MacKay 병기 판정법에 의한 CT점수는 SEs-IgE Ab(+)군과 SEs-IgE Ab(-)군 사이에 통계적으로 유의한 차이는 없었다( $p=0.893$ ) (Table 3).

### SEs-IgE Ab 양성과 호산구성 염증의 관계

혈청 내 ECP 농도는 SEs-IgE Ab(+)군에서 약간 높았으나 SEs-IgE Ab(+)군과 SEs-IgE Ab(-)군 사이에 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다( $p=0.218$ ).

조직 상층액 내의 ECP의 농도도 SEs-IgE Ab(+)군에서 약간 높았으나 SEs-IgE Ab(+)군과 SEs-IgE Ab(-)군 사이에 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다( $p=0.505$ ).

비용조직 내 호산구 수도 SEs-IgE Ab(+)군에서 약간 높았으나 SEs-IgE Ab(+)군과 SEs-IgE Ab(-)군 사이에 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았다( $p=0.134$ ).

다만 상층액 내의 ECP 농도와 조직 내 호산구 수는 유의한 양의 상관관계를 보였다(correlation coefficient=0.708) ( $p<0.01$ ).

## 고 찰

비염을 동반한 만성 비부비동염의 발병 기전 중 감염은 가장 중요한 원인 인자이며, *S. aureus*는 만성 비부비동염 환자에서 가장 흔하게 검출되는 균 중의 하나로 알려져 있

다.<sup>4)</sup> *S. aureus*는 통상적으로 비강 내에 상재하는 병원성 미생물로서<sup>14)</sup> 여러 종류의 외독소(SEs)를 생산하는 것으로 알려져 있다.

SEs가 인간의 질병에서 염증 반응을 일으키는 기전은 다음과 같다고 알려져 있다.<sup>15)</sup> 첫 번째는 초항원으로써의 역할로, 전형적인 항원 반응과 달리 항원제시세포에 의한 과정을 거치지 않고 주조직적합복합체 class II 입자와 T세포 수용체의 가변베타연쇄 사이에 결합함으로써 T세포를 직접적으로 활성화시킬 수 있다. 일반적인 항원반응은 전체 T세포의 0.01%만을 활성화시키는 데 비해 초항원은 전체 T세포의 30%까지 활성화시켜 정상적인 항원 반응보다 약 1,000~10,000배 이상으로 강력하게 T세포를 활성화시킬 수 있다고 알려져 있다.<sup>16,17)</sup> Wang 등<sup>18,19)</sup>은 flow cytometry analysis와 reverse transcriptase-polymerase chain reaction(RT-PCR)을 통해 T세포 수용체에서 가변베타연쇄의 발현을 연구하였는데, 비용이 없는 CRS 환자군이나 대조군에 비해 CRSwNP 환자군에서 포도상구균 외독소가 흔히 검출되고 외독소와 연관이 있다고 알려진 V $\beta$ (+) T세포의 비율이 통계적으로 유의하게 증가하는 것으로 보아 SEs가 초항원으로 작용하여 TCR의 가변베타연쇄를 활성화시키고 이로 인해 T세포에서 Th1과 Th2관련 사이토카인(cytokine)이 대량으로 분비되어 CRSwNP의 발생에 관여할 것이라고 하였다.

두 번째는 알레르기 항원(allergen)으로서의 역할로, SEs에 대한 특이 IgE를 생성하여 비만세포이나 호염기구에서 histamine, leukotriene, prostaglandin 등의 매개물질을 유리시키고 interleukin 4(IL-4), IL-5, IL-10, IL-13 등의 Th2 관련 사이토카인의 생성을 증가시켜 알레르기 반응을 활성화시킴으로써 호산구를 증가시킨다고 알려져 있다.<sup>2,6)</sup>

최근 CRSwNP 환자에서 보이는 호산구성 염증이 SEs에 대한 특이 IgE 생산과 그에 따른 알레르기 반응과 연관성이 있을 것이라는 가정하에 시행한 많은 연구가 있었으나,<sup>2,6-12)</sup> 각 연구마다 CRSwNP 환자에서의 SEs-IgE 항체 검출률에서 큰 차이가 있고 SEs-IgE 항체 양성과 호산구성 염증

의 상관관계에 대해서도 서로 다른 결과를 보여주고 있다. 국내에서는 30명의 CRSwNP 환자를 대상으로 SEA, SEB, TSST-1에 대한 항체를 측정하였고 비용조직 내 호산구 수를 측정하여 비교한 Yoon 등<sup>10)</sup>의 연구가 유일하다.

본 연구에서는 CRSwNP 환자와 정상 대조군을 대상으로 혈청과 조직에서 SEA, SEB, SEC, TSST-1에 대한 항체를 측정하여 검출률을 비교하고, SEs-IgE Ab(+)군과 SEs-IgE Ab(-)군 사이에 Lund-MacKay score, 혈청과 조직 상청액내의 ECP 농도, 조직내의 호산구 수를 비교해 보았다.

그 결과 CRSwNP 환자군 중 혈청에서 SEs-IgE Ab가 한 종류 이상 검출된 환자는 13명(30.2%)이었으며 대조군에서는 11명 중 1명(9.1%)에서만 검출되어 정상 대조군보다 CRSwNP 환자군에서 더 많이 검출됨을 알 수 있었다. 그러나 CRSwNP 환자군에서의 검출률은 서양에서의 연구 결과<sup>6-8)</sup>에 비해서는 낮았다. 이러한 결과는 국내의 Yoon 등<sup>10)</sup>의 연구나 중국의 Zhang 등<sup>9)</sup>의 연구에서 비슷한 검출률을 보인 점을 감안하면 인종이나 환경의 차이, 비부비동염의 발병기전의 차이 등에 의한 것으로 생각된다. SEs-IgE 항체 중에서는 TSST-1에 대한 항체가 가장 많이 검출되었으며, SEs-IgE 항체가 조직에서 검출된 예는 4명으로 이들 모두 혈청에서도 항체가 검출되었다.

알레르기 질환과의 연관성에 대해 연구한 Rossi 등<sup>20)</sup>은 정상 대조군에 비해 집먼지진드기 알레르기가 있는 환자의 혈청에서 SEs-IgE 항체 검출률이 훨씬 높았다고 보고하였다. 본 연구에서도 통계학적으로 유의하지는 않았지만 SEs-IgE Ab(+)군에서 알레르기 비염이 동반하고 있는 환자의 비율(46%)이 SEs-IgE Ab(-)군(23%)에 비해 높았으며, SEA, SEB, SEC, TSST-1에 대한 항체가 모두 검출된 4명의 환자는 모두 알레르기 비염을 동반하고 있었다. 이는 다른 항원에 알레르기가 있는 사람에서 외독소에 대한 IgE 항체가 더 쉽게 생산될 수 있기 때문이라 생각한다.

호산구성 염증반응은 CRSwNP에서 관찰되는 특징적인 소견으로 호산구 과립에서 분비되는 과립단백이 중요한 역할을 담당하고 있는 것으로 알려져 있다.<sup>21)</sup> 호산구 과립단백으로는 ECP, major basic protein(MBP), eosinophil-derived neurotoxin(EDN), eosinophil peroxidase(EPO) 등이 알려져 있는데, 이들 중 ECP는 호산구에서만 분비되는 과립단백으로서 세포막에 비이온 특이적 구멍을 형성하여 세포에 손상을 준다.<sup>22)</sup> 따라서 임상적으로 호산구에 의한 염증반응 정도를 평가하고자 할 때는 조직에 침윤된 호산구의 침윤을 직접 관찰하거나, 혈청이나 조직에서 ECP의 농도를 측정하여 간접적으로 호산구성 염증반응 정도를 평가

할 수 있다. 그 동안 만성 비부비동염에서 보이는 호산구성 염증반응의 원인으로 알레르기, 진균 감염, 아스피린과민증 등이 거론되어 왔으며 최근에는 포도상구균 외독소에 대한 면역반응에 의해 호산구성 염증반응이 야기되거나 증강될 것이라는 설이 제시되고 있다.<sup>26,11)</sup> 그러나 포도상구균 외독소와 호산구성 염증 정도와 상관관계가 없다는 보고도 있다.<sup>8,9,12)</sup> 따라서 본 연구에서는 외독소가 호산구성 염증반응과 연관성이 있는지 알아보기 위하여 혈청과 조직 내 ECP 농도, 조직 내 호산구 수를 측정하여 비교하였다.

그 결과 정상 대조군과 CRSwNP 환자군 사이에는 혈청 ECP 농도의 유의한 차이를 보였다. 반면 CRSwNP 환자군 중 SEs-IgE Ab(+)군에서 혈청과 비용조직 내 ECP 농도와 비용조직 내 호산구 수 모두 증가하는 경향을 보였지만 두 군 사이에 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다.

또한 포도상구균 외독소가 CRSwNP의 심한 정도와 어떤 관계가 있는지 알아보기 위해 현재 비부비동염 병변의 심한 정도를 판정할 때 가장 보편적으로 이용되는 방법인 Lund-MacKay score를 비교해 보았다. 그 결과 SEs-IgE Ab(+)군과 SEs-IgE Ab(-)군 사이에 Lund-MacKay score는 통계적으로 유의한 차이가 없었으며 이는 SEA, SEB, TSST-1 외독소에 대한 특이 IgE 항체의 검출률과 Lund-MacKay score는 통계적으로 유의한 연관관계가 없다고 보고한 Tripathi 등<sup>7)</sup>의 연구 결과와도 일치하였다.

포도상구균 외독소는 항원으로 작용하여 IgE 항체 생산을 통한 면역반응을 일으킬 수도 있지만 초항원으로 작용하여 특정한 가변베타연쇄를 보이는 T세포 클론의 증식과 활성화를 일으킨다. Tripathi 등<sup>23)</sup>은 12명의 CRSwNP 환자 중 외독소와 연관이 있다고 알려진 특정 V $\beta$ -TCR을 보이는 T세포 증식을 보인 7명에서 외독소에 대한 IgE 항체도 같이 검출되었다고 보고하여 같은 환자에서 초항원으로써 작용하여 일어나는 염증반응과 IgE 항체 생산을 염증반응이 동시에 일어날 수 있음을 시사하였다.

본 연구에서는 비용을 동반한 만성 비부비동염 환자에서 외독소가 초항원으로 작용하는지에 대한 검증은 하지 못하였다. 그러나 본 연구 결과를 종합하면 정상 대조군에 비해 CRSwNP 환자의 혈청과 비용조직에서 포도상구균 외독소에 대한 IgE 항체가 더 많이 검출되어 외독소가 비용을 동반한 만성 비부비동염의 발병에 있어서 어느 정도 일정한 역할을 할 것이라 추측할 수 있었다. 그러나 SEs-IgE Ab 검출과 비부비동염의 정도와는 연관성이 없었으며, 호산구성 염증과도 밀접한 상관관계를 보이지 않아 호산구성 염증반응을 일으키는 주된 인자는 아닌 것으로 추정된다.

## Acknowledgments

This study was financially supported by research fund of Chungnam National University in 2008.

## REFERENCES

- 1) Taylor MJ, Ponikau JU, Sherris DA, Kern EB. Detection of fungal organisms in eosinophilic mucin using a fluorescein-labelled chitin-specific binding protein. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;127(5):377-83.
- 2) Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Johansson SG, van Cauwenberge P. Total and specific IgE in nasal polyps is related to local eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107(4):607-14.
- 3) Cohen M, Kofonow J, Nayak JV, Palmer JN, Chiu AG, Leid JG, et al. Biofilms in chronic rhinosinusitis: a review. *Am J Rhinol Allergy* 2009;23(3):255-60.
- 4) Chan J, Hadley J. The microbiology of chronic rhinosinusitis: results of a community surveillance study. *Ear Nose Throat J* 2001;80(3):143-5.
- 5) Bachert C, Gevaert P, van Cauwenberge P. Staphylococcus aureus enterotoxins: a key in airway disease? *Allergy* 2002;57(6):480-7.
- 6) Gevaert P, Holtappels G, Johansson SG, Cuvelier C, Cauwenberge P, Bachert C. Organization of secondary lymphoid tissue and local IgE formation to Staphylococcus aureus enterotoxins in nasal polyp tissue. *Allergy* 2005;60(1):71-9.
- 7) Tripathi A, Conley DB, Grammer LC, Ditto AM, Lowery MM, Seiberling KA, et al. Immunoglobulin E to staphylococcal and streptococcal toxins in patients with chronic sinusitis/nasal polyposis. *Laryngoscope* 2004;114(10):1822-6.
- 8) Conley DB, Tripathi A, Ditto AM, Reid K, Grammer LC, Kern RC. Chronic sinusitis with nasal polyps: staphylococcal exotoxin immunoglobulin E and cellular inflammation. *Am J Rhinol* 2004;18(5):273-8.
- 9) Zhang N, Holtappels G, Claeys C, Huang G, van Cauwenberge P, Bachert C. Pattern of inflammation and impact of Staphylococcus aureus enterotoxins in nasal polyps from southern China. *Am J Rhinol* 2006;20(4):445-50.
- 10) Yoon JH, Ha JS, Gang IG, Kim ST, Seo YH. The correlation study between the specific IgE for Staphylococcus aureus exotoxin and nasal mucus culture in chronic rhinosinusitis with nasal polyposis. *Korean J Otolaryngol-Head Neck Surg* 2007;50(7):596-601.
- 11) Van Zele T, Gevaert P, Watelet JB, Claeys G, Holtappels G, Claeys C, et al. Staphylococcus aureus colonization and IgE antibody formation to enterotoxins is increased in nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114(4):981-3.
- 12) Seiberling KA, Conley DB, Tripathi A, Grammer LC, Shuh L, Haines GK 3rd, et al. Superantigens and chronic rhinosinusitis: detection of staphylococcal exotoxins in nasal polyps. *Laryngoscope* 2005;115(9):1580-5.
- 13) Lund VJ, MacKay IS. Staging in rhinosinusitis. *Rhinology* 1993;31(4):183-4.
- 14) Kluytmans J, van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of Staphylococcus aureus: epidemiology, underlying mechanism, and associated risk. *Clin Microbiol Rev* 1997;10(3):505-20.
- 15) Bernal A, Proft T, Fraser JD, Posnett DN. Superantigens in human disease. *J Clin Immunol* 1999;19(3):149-57.
- 16) Morita CT, Li H, Lamphear JG, Rich RR, Fraser JD, Mariuzza RA, et al. Superantigen recognition by gammadelta T cells: SEA recognition site for human Vgamma2 T cell receptors. *Immunity* 2001;14(3):331-44.
- 17) Petersson K, Forsberg G, Walse B. Interplay between superantigens and immunoreceptors. *Scand J Immunol* 2004;59(4):345-55.
- 18) Wang M, Shi P, Chen B, Zhang H, Jian J, Chen X, et al. The role of superantigens in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec* 2008;70(2):97-103.
- 19) Wang M, Shi P, Yue Z, Chen B, Zhang H, Zhang D, et al. Superantigens and the expression of T-cell receptor repertoire in chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Acta Otolaryngol* 2008;128(8):901-8.
- 20) Rossi RE, Monasterolo G. Prevalence of serum IgE antibodies to the Staphylococcus aureus enterotoxins (SAE, SEB, SEC, SED, TS-ST-1) in patients with persistent allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 2004;133(3):261-6.
- 21) Venge P. Eosinophil and neutrophil granulocytes. *Allergy* 1993;48(17 Suppl):39-47.
- 22) Young JD, Peterson CG, Venge P, Cohn ZA. Mechanism of membrane damage mediated by human eosinophil cationic protein. *Nature* 1986;321(6070):613-6.
- 23) Tripathi A, Kern R, Conley DB, Seiberling K, Klemens JC, Harris KE, et al. Staphylococcal exotoxins and nasal polyposis: analysis of systemic and local responses. *Am J Rhinol* 2005;19(4):327-33.