

X COPD 환자 치료를 위한 혈액 호산구의 역할

이재승

울산대학교 의과대학 서울아산병원 호흡기내과, 천식COPD 센터

A large amount of biomarkers has been evaluated in COPD patients. However, there are still no well validated biomarkers or surrogate endpoints that can be used to establish efficacy of novel drugs for COPD. Eosinophilic inflammation is thought to be a characteristic feature of asthma rather than COPD. However, studies have shown that a subset of COPD patients with eosinophilic airway inflammation exists. Higher sputum and blood eosinophil counts are associated with increased corticosteroid responsiveness in COPD patients. Recent studies suggest that blood eosinophils show promise to not only serve as a biomarker for predicting reduction in exacerbations with inhaled corticosteroid therapy but also as a biomarker for predicting risk of pneumonia with such therapy. A cutoff of 2% or more blood eosinophil seems to hold the most promise as a biomarker for prediction of several outcomes including exacerbation reduction, safe withdrawal of steroids, response to systemic steroids. Blood eosinophil measurements may be useful for selecting patients for different therapeutic approaches. However, there are still a number of issues that need to be resolved regarding eosinophils as biomarkers in COPD.

Key Words: COPD, Eosinophil, Biomarker, Steroid

Corresponding author: Jae Seung Lee, M.D.

Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine, 88, Olympic-ro 43-gil, Songpa-gu, Seoul 05505, Korea

Tel: +82-2-3010-3994, Fax: +82-2-3010-6968, E-mail: jsdoc1186@daum.net

1. 서론

바이오마커란 ‘정상적인 생물학적 과정, 질병 진행 상황, 그리고 치료방법에 대한 약물의 반응성을 객관적으로 측정하고 평가할 수 있는 지표’로 정의된다¹. 폐활량 검사에서의 forced expiratory volume in 1 second (FEV₁)은 COPD 환자의 중증도를 평가하고 예후를 예측할 수 있는 중요한 생리적 바이오마커이지만, 약제 치료 반응을 평가하고 예측하는 데에는 한계가 있다. COPD 환자에서의 맞춤 치료를 위해서는 약제 반응을 예측할 수 있는 비침습적 바이오마커 개발이 필수적이다. 지금까지 COPD 바이오마커 개발 및 검증을 위한 많은 연구들이 수행되었으나 아직까지 임상 현장에서 환자 맞춤 치료에 사용될 수 있는 바이오마커는 전무한 실정이다. 최근 혈액 호산구 숫자에 따른 흡입스테로이드 치료 효과와 COPD 환자의 예후에 대한 여러 연구가 발표되어 이를 정리해 보고자 한다.

2. 호산구 생리

호산구의 생리적 역할로는 감염에 대한 면역반응, 조직 개형(tissue remodeling), 종양감시(tumor surveillance)나 다른 면역세포의 유지에 관여하는 것으로 알려져 있으나 아직 밝혀지지 않은 부분이 많다². 호산구는 골수에서 gran-

ulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)와 interleukin (IL)-3, IL-5의 영향으로 골수 조혈모세포에서 분화된다³. 말초혈액에서 전체 백혈구의 1~5%를 차지하며 정상 말초혈액 호산구 수는 500/ μ L 이하로 알려져 있다. 인종에 따른 정상 호중구 수의 차이가 호산구 비율에 영향을 주기 때문에 인종에 따라 말초혈액의 정상 호산구 비율은 차이가 있을 수 있다⁴. 또한 말초 혈액 호산구 수는 정상인에서도 하루 중 시간이나 요일에 따라 변이가 있다^{5,7}. 호산구는 혈액보다는 조직에서 수백배 이상 많이 존재하며, 주로 소화기, 비장, 림프절, 흉선, 유선과 자궁에 많이 분포한다⁸. 호산구의 조직 침윤은 eotaxin에 의해 매개되는데, 호산구의 기도 동원(recruitment)은 Th-2 세포에서 분비되는 IL-4와 IL-13과 같은 사이토카인에 의해 매개된다². 조직 내 호산구의 비정상적인 증가는 조직 및 장기의 손상을 유발하게 되며, 이는 호산구 과립에서 분비되는 여러 가지 물질에 기인한다. 호산구는 4가지 특징적인 단백질인 주염기단백질(major basic protein, MBP), 호산구 과산화효소(eosinophil peroxidase, EPO), 호산구 양이온단백질(eosinophil cationic protein, ECP)과 eosinophil derived neurotoxin (EDN)이 과립에 저장되었다가 분비된다. ECP는 세포막에 부착하여 투과성을 변화시키고 활성산소를 증가시키며, MBP는 폐포 상피세포를 손상시켜 염증 반응을 유발할 수 있다. 면역글로불린과 보체 및 사이토카인에 의하여 활성화 된 호산구는 여러 종류의 사이토카인(IL-2, 3, 4, 5, 10, 12, 13, 16, 25, TGF- α/β 등)과 케모카인(RANTES, eotaxin, MCP-3, MIP-1 α 등) 및 지질 유래 매체(PAF, cysteinyl leukotrienes)를 분비하여 다양한 생리학 변화를 야기한다³.

3. COPD 병인에서 호산구의 역할

호산구에 의한 기도 염증은 주로 천식의 병인에서 중요한 역할을 하는 것으로 간주되고, COPD는 주로 호중구, 대식세포, CD8+T 림프구에 의한 염증반응으로 인한 세기관지염과 폐기종에 의해 발생하는 것으로 알려져 왔다⁹. 그러나 COPD에서도 호산구성 기도 염증이 병인에 중요하게 관여할 수 있음이 여러 연구에서 보고되었다¹⁰⁻¹⁵. 한 연구에 따르면 만성기관지염이 동반된 COPD 환자에서 기관지 조직검사에서 호산구의 증가가 관찰되지만 기관지폐포세척액에서의 eosinophil cationic protein (ECP)는 천식에 비해 낮은 것을 보여주어 천식에 비해 COPD에서는 호산구의 활성화가 낮은 가능성을 보여주었다¹¹. 그러나 중등도에서 중증 COPD 환자에서 시행된 다른 연구에서는 천식 환자보다 높은 ECP 증가를 보여 중증 COPD에서도 호산구의 활성화가 증가할 가능성을 보여주었다¹²⁻¹⁶. 최근 발표된 유전자 발현 연구에서 COPD 환자와 천식 환자의 기도상피세포의 유전자 발현의 변이에 상당한 공통성이 있으며, COPD 환자의 일부에서도 Th2 염증에 관련된 유전자의 변이가 관찰되어 천식의 병력이 없는 COPD 환자에서도 Th2 염증반응이 중요한 역할을 할 가능성을 보여주었다¹⁶.

COPD에서 호산구성 기도 염증의 발생원인은 확실하지 않으며, 그 동안 주로 비가역적 기도폐쇄에 천식의 요인이 동반된 것으로 여겨져 왔다⁹. 그러나 대부분의 연구에서 천식의 가능성이 있는 환자를 제외했음에도 COPD 일부 환자에서 호산구성 기도 염증이나 호산구 증가가 관찰되어 단순히 천식이 동반된 것만으로는 설명하기 힘든 점이 있다. 흡연이나 다른 기전에 의한 기도 점막에 증가된 호중구에 의한 호산구의 유입을 일으킬 수 있을 것으로 보이지만 일부 환자에서 보이는 매우 높은 객담 호산구 증가를 설명하기는 힘들다. 다른 가설로는 호산구성 기관지염에 의한 폐기능 저하로 COPD가 발생할 가능성이 제시되고 있다¹⁰.

4. 호산구성 기도염증의 측정

호산구성 기도염증은 기관지내시경 조직검사를 통해 평가될 수 있으나, 침습적인 검사로 실제 임상에서 사용되기에는 어려운 실정이다. 객담 세포검사를 통한 호산구 수와 백혈구에서 호산구의 비율 측정은 조직검사상의 호산구성 염증 정도와 좋은 연관성을 보이는 것으로 알려져 호산구성 기관지염, 천식의 진단 및 치료에 유용한 바이오마커로 알려져 있다¹⁷⁻¹⁹. 일반적으로 객담 백혈구 수에서 3% 이상의 호산구가 관찰될 경우에 호산구성 기도 염증이 있는 것으로 간주한다²⁰. 유도객담 검사는 비교적 비침습적으로 기도의 호산구성 염증을 모니터링 할 수 있으나 숙련된 전문가와 검사 장비가 필요하고, 고장성 생리식염수 흡입으로 인한 기도 수축의 위험과 적절한 객담을 얻지 못하는

경우가 많아 실제 임상에서 제한적으로 사용되고 있다²¹. 유도객담 호산구 측정의 어려움으로 최근에는 측정이 간편하고 대부분의 병원에서 사용할 수 있는 혈액 호산구 수를 측정하여 호산구성 기도염증의 대체표지자(surrogate marker)로 활용하고 있다. 혈액 호산구 수와 객담 호산구 수는 중등도 정도의 상관성을 보이고, 2% 이상의 객담 호산구 증가를 예측하는데 85% 정도의 정확성을 보이는 것으로 보고되었다²².

호산구성기도 염증의 다른 바이오마커로는 호기 산화질소(fractional exhaled NO, FeNO) 측정 천식 환자를 대상으로 많이 연구되었다. 호기 산화질소는 측정이 쉽고 빠르며 비침습적인 장점이 있다. 천식에서 호기 산화질소는 스테로이드 치료 반응성을 예측하고 천식 조절 정도를 평가하는데 유용한 것으로 알려져 있다²³. COPD 환자에서 FeNO가 증가된 경우 흡입 스테로이드 치료에 반응이 좋다는 연구 결과가 있었으나²⁴, 다른 연구에서는 FeNO가 객담 또는 혈액 호산구 수와 연관성을 보이지 않아 COPD에서 바이오마커로서의 의의에 대해서는 확실치 않은 상태이다²⁵.

Periostin은 IL-13을 포함하는 다양한 자극에 의해 기관지 상피세포에서 분비되는 단백질로 Th2 면역반응과 높은 연관성을 가지는 것으로 알려져 있다²⁶. Periostin은 천식 환자에서 anti-IL-13 치료제인 Lebrikizumab의 효과를 예측할 수 있는 유용한 바이오마커로 알려졌다²⁷. 국내 COPD 환자 대상 KOLD 코호트 연구에서 혈액 호산구 수와 함께 혈장 periostin이 흡입 스테로이드 치료 반응을 예측할 수 있는 바이오마커로서의 가능성을 보여 주었으나 이에 대해서는 추가적인 전향적 연구로 검증이 필요하다²⁸.

5. 혈액 호산구에 의한 COPD 표현형 분류

안정 상태의 COPD 환자의 약 10~40%에서 객담에서 호산구 증가가 관찰되는 것으로 보고되고 있다¹⁰⁻¹³. 또한 COPD 악화 시에 호산구성 기도 염증은 더욱 증가할 수 있다^{14,15}. COPD의 표현형 분류에서 혈액 호산구는 2%를 기준으로 객담 호산구의 3% 이상 증가를 잘 예측하는 것으로 여겨지고 있다²⁹. 최근 유럽에서 시행된 ECLIPSE (Evaluation of COPD Longitudinally to Identify Predictive Surrogate End points) 코호트 연구에서 1,483명의 COPD 환자 중에 3년 동안 혈액 호산구가 2% 이상으로 지속되는 경우가 37%, 2% 이상과 미만으로 변화를 보이는 경우가 49%, 2% 미만으로 지속되는 경우가 13.6%로 보고되었다³⁰. 3년 동안 지속적으로 혈액 호산구가 2% 이상인 COPD 환자는 그렇지 않은 환자에 비해 고령의 남성이 많았고, 현 흡연자는 적었으며 비교적 폐기능이 좋고 증상이 적었다. 또한 추적기간 동안 혈액 호산구가 2% 미만이 지속되는 COPD 환자에서 폐기종의 진행이 빨랐다³⁰. 또한 혈액 호산구가 2% 이상일 경우 급성악화의 위험이 증가하고 사망률이 높을 수 있음을 보고하고 있다³¹⁻³⁴. 최근 COPD 악화에 대해서도 4가지 표현형(세균성, 바이러스성, 호산구성과 pauci-inflammatory)으로 분류가 제시되고 있는데, COPD 악화 환자의 28%에서 객담 호산구의 증가가 관찰되었다²⁹.

6. 혈액 호산구에 의한 COPD 치료 억제 반응

흡입 또는 경구 스테로이드는 천식과 COPD 환자의 항염증 치료의 근간을 이루고 있다. 천식에서 스테로이드는 호산구성 기도 염증을 감소시키고 악화를 예방하는데, COPD에서도 객담 호산구가 증가된 경우 흡입스테로이드에 치료 반응이 좋은 것으로 알려져 있다^{35,36}. 또한 천식과 유사하게 COPD 환자에서 객담 호산구를 정상화시킴으로써 악화를 예방할 수 있음을 보여 주었다¹⁵. 최근 혈액 호산구 비율에 따른 흡입스테로이드/지속성베타항진제의 효과에 대한 대규모 임상연구의 후향적 분석 결과가 보고되고 있다. Pavord 등³⁷은 fluticasone propionate/salmeterol 복합제와 지속성 항콜린제, 지속성 베타항진제 또는 위약과의 비교 임상연구인 INSPIRE, TRISTAN, SCO 30002 임상 시험 결과를 혈액 호산구 비율에 따라 분석하였다. 혈액 호산구가 2% 이상인 환자군에서 fluticasone propionate/salmeterol 복합제가 tiotropium이나 위약에 비해 유의하게 악화를 감소시켰다. 이에 반해 혈액 호산구가 2% 미만인 경우 투여 약제간 악화 빈도 감소에는 차이가 없었다³⁷. Beclomethasone dipropionate와 formoterol fumarate와 formoterol을 비교한 FORWARD 연구의 post-hoc 분석에서는 대상환자의 혈액 호산구수를 4분위로 나누어 분석할 때, 혈중 호산구가 279개 이상인 환자군에서 Beclomethasone dipropionate와 formoterol fumarate 복합제가 formoterol 단독

에 비해 유의하게 악화 빈도를 감소시키고, 폐기능과 삶의 질을 개선시켰다³⁵. 또한 ISOLD 연구의 pos-hoc 분석에서도 혈액 호산구가 2% 이상인 COPD 환자군에서 fluticasone propionate가 위약에 비해 유의하게 폐기능 감소가 적었으나, 혈액 호산구가 2% 미만인 COPD 환자군에서는 폐기능 감소에 차이가 없었다³⁶. 최근 시행된 COPD 환자에서의 흡입 스테로이드 중단에 대한 WISDOM 연구에서 혈액 호산구 수가 4% 이상이거나 300개 이상인 환자군에서는 흡입 스테로이드 중단 시 악화 빈도가 유의하게 증가함을 보여 주어 대상 환자군의 특성과 연구 결과 변수에 따라 혈액 호산구의 cut-off 값이 다를 수 있음을 보여주었다³⁹. COPD 급성악화 치료에서도 혈액 호산구 수가 2% 이상인 환자에만 선택적으로 전신 스테로이드 투여하는 것이 모든 환자에게 전신 스테로이드 투여하는 것과 비교하여 치료 성공률에는 차이가 없어 경증 또는 중등증 COPD 악화 환자에게 불필요한 스테로이드 투여로 인한 부작용을 줄일 수 있음을 보고하였다⁴⁰.

7. 결론

COPD 환자 치료를 위한 다양한 약제와 치료법이 사용되고 있으나 많은 COPD 환자들에서 효과가 제한적이다. 이는 다양한 COPD 환자의 표현형을 반영하지 못하고 모든 환자에게 획일적인 치료법을 적용한 것에도 일부 기인한다. 최근 임상 표현형에 따른 치료 접근법이 제시되고 있으며, 혈액 호산구가 흡입스테로이드 치료 반응 예측 바이오마커로 활용될 수 있을 가능성을 보여 주고 있다. 그러나 혈액 호산구가 기도내 호산구성 염증반응을 잘 대변하지 못하고, 인종 뿐만 아니라 개인별 변이가 있어 일률적인 기준값으로 표현형을 나눌 수가 없는 제한점이 있다. 또한 혈액 호산구에 따른 치료제의 효과에 대한 전향적 임상 연구가 없어 아직까지 COPD 진료 지침에 반영되어 있지 않다. 향후 혈액 호산구에 따른 흡입 스테로이드나 새로운 약제의 효과에 대한 전향적인 연구를 통해 유용성을 규명해야 할 것으로 보인다.

References

1. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. Guidance for industry: E15 definitions for genomic biomarkers, pharmacogenomics, pharmacogenetics, genomic data and sample coding categories. Silver Spring: Food and Drug Administration; 2008.
2. Roufosse F, Weller PF. Practical approach to the patient with hypereosinophilia. *J Allergy Clin Immunol* 2010;126:39-44.
3. Ackerman SJ, Bochner BS. Mechanisms of eosinophilia in the pathogenesis of hypereosinophilic disorders. *Immunol Allergy Clin North Am* 2007;27:357-75.
4. Hsieh MM, Everhart JE, Byrd-Holt DD, Tisdale JF, Rodgers GP. Prevalence of neutropenia in the U.S. population: age, sex, smoking status, and ethnic differences. *Ann Intern Med* 2007;146:486-92.
5. Spector SL, Tan RA. Is a single blood eosinophil count a reliable marker for "eosinophilic asthma?". *J Asthma* 2012;49:807-10.
6. Statland BE, Winkel P, Harris SC, Burdsall MJ, Saunders AM. Evaluation of biologic sources of variation of leukocyte counts and other hematologic quantities using very precise automated analyzers. *Am J Clin Pathol* 1978;69:48-54.
7. Sennels HP, Jørgensen HL, Hansen AL, Goetze JP, Fahrenkrug J. Diurnal variation of hematology parameters in healthy young males: the Bispebjerg study of diurnal variations. *Scand J Clin Lab Invest* 2011;71:532-41.
8. Weller PF. The immunobiology of eosinophils. *N Engl J Med* 1991;324:1110-8.
9. Barnes PJ, Shapiro SD, Pauwels RA. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms. *Eur Respir J* 2003;22:672-88.
10. George L, Brightling CE. Eosinophilic airway inflammation: role in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Ther Adv Chronic Dis* 2016;7:34-51.
11. Lacoste JY, Bousquet J, Chanez P, Van Vyve T, Simony-Lafontaine J, Lequeu N, et al. Eosinophilic and neutrophilic inflammation in asthma, chronic bronchitis, and chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol* 1993;

- 92:537-48.
12. Gibson PG, Woolley KL, Carty K, Murree-Allen K, Saltos N. Induced sputum eosinophil cationic protein (ECP) measurement in asthma and chronic obstructive airway disease (COAD). *Clin Exp Allergy* 1998;28:1081-8.
 13. Brightling CE, Ward R, Woltmann G, Bradding P, Sheller JR, Dworski R, et al. Induced sputum inflammatory mediator concentrations in eosinophilic bronchitis and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:878-82.
 14. Saetta M, Di Stefano A, Maestrelli P, Turato G, Ruggieri MP, Roggeri A, et al. Airway eosinophilia in chronic bronchitis during exacerbations. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150:1646-52.
 15. Siva R, Green RH, Brightling CE, Shelley M, Hargadon B, McKenna S, et al. Eosinophilic airway inflammation and exacerbations of COPD: a randomised controlled trial. *Eur Respir J* 2007;29:906-13.
 16. Christenson SA, Steiling K, van den Berge M, Hijazi K, Hiemstra PS, Postma DS, et al. Clinical relevance of genomic signatures of type 2 inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2015;191:758-66.
 17. Rutgers SR, Timens W, Kaufmann HF, van der Mark TW, Koëter GH, Postma DS. Comparison of induced sputum with bronchial wash, bronchoalveolar lavage and bronchial biopsies in COPD. *Eur Respir J* 2000;15:109-15.
 18. Saha S, Brightling CE. Eosinophilic airway inflammation in COPD. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2006;1:39-47.
 19. Brightling CE. Clinical applications of induced sputum. *Chest* 2006;129:1344-8.
 20. Spanevello A, Confalonieri M, Sulotto F, Romano F, Balzano G, Migliori GB, et al. Induced sputum cellularity. Reference values and distribution in normal volunteers. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1172-4.
 21. ten Brinke A, de Lange C, Zwinderman AH, Rabe KF, Sterk PJ, Bel EH. Sputum induction in severe asthma by a standardized protocol: predictors of excessive bronchoconstriction. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:749-53.
 22. Wagener AH, de Nijs SB, Lutter R, Sousa AR, Weersink EJ, Bel EH, et al. External validation of blood eosinophils, FE(NO) and serum periostin as surrogates for sputum eosinophils in asthma. *Thorax* 2015;70:115-20.
 23. Price D, Ryan D, Burden A, Von Ziegenweidt J, Gould S, Freeman D, et al. Using fractional exhaled nitric oxide (FeNO) to diagnose steroid-responsive disease and guide asthma management in routine care. *Clin Transl Allergy* 2013;3:37.
 24. Kunisaki KM, Rice KL, Janoff EN, Rector TS, Niewoehner DE. Exhaled nitric oxide, systemic inflammation, and the spirometric response to inhaled fluticasone propionate in severe chronic obstructive pulmonary disease: a prospective study. *Ther Adv Respir Dis* 2008;2:55-64.
 25. Hynes G, Brightling C, Bafadhel M. Fractional exhaled nitric oxide in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2015;46:PA3993.
 26. Jia G, Erickson RW, Choy DF, Mosesova S, Wu LC, Solberg OD, et al. Periostin is a systemic biomarker of eosinophilic airway inflammation in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:647-54.e10.
 27. Corren J, Lemanske RF, Hanania NA, Korenblat PE, Parsey MV, Arron JR, et al. Lebrikizumab treatment in adults with asthma. *N Engl J Med* 2011;365:1088-98.
 28. Park HY, Lee H, Koh WJ, Kim S, Jeong I, Koo HK, et al. Association of blood eosinophils and plasma periostin with FEV1 response after 3-month inhaled corticosteroid and long-acting beta2-agonist treatment in stable COPD patients. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2015;11:23-30.
 29. Bafadhel M, McKenna S, Terry S, Mistry V, Reid C, Haldar P, et al. Acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: identification of biologic clusters and their biomarkers. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;184:662-71.
 30. Singh D, Kolsum U, Brightling CE, Locantore N, Agusti A, Tal-Singer R, et al. Eosinophilic inflammation in COPD: prevalence and clinical characteristics. *Eur Respir J* 2014;44:1697-700.
 31. Pascoe S, Locantore N, Dransfield MT, Pavord ID. Late-breaking abstract: blood eosinophil count as a biomarker of ICS effectiveness in reducing exacerbation rates in COPD. *Eur Respir J* 2014;44 Suppl 58:2817.
 32. Pascoe S, Locantore N, Dransfield MT, Barnes NC, Pavord ID. Blood eosinophil counts, exacerbations, and response to the addition of inhaled fluticasone furoate to vilanterol in patients with chronic obstructive pulmonary disease: a secondary analysis of data from two parallel randomised controlled trials. *Lancet Respir Med* 2015;3:435-42.
 33. Siddiqui SH, Guasconi A, Vestbo J, Jones P, Agusti A, Paggiaro P, et al. Blood eosinophils: a biomarker of response to extrafine beclomethasone/formoterol in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2015;

- 192:523-5.
34. Hoppers JJ, Schouten JP, Weiss ST, Rijcken B, Postma DS. Asthma attacks with eosinophilia predict mortality from chronic obstructive pulmonary disease in a general population sample. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1869-74.
 35. Brightling CE, Monteiro W, Ward R, Parker D, Morgan MD, Wardlaw AJ, et al. Sputum eosinophilia and short-term response to prednisolone in chronic obstructive pulmonary disease: a randomised controlled trial. *Lancet* 2000;356:1480-5.
 36. Brightling CE, McKenna S, Hargadon B, Birring S, Green R, Siva R, et al. Sputum eosinophilia and the short term response to inhaled mometasone in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2005;60:193-8.
 37. Pavord ID, Lettis S, Locantore N, Pascoe S, Jones PW, Wedzicha JA, et al. Blood eosinophils and inhaled corticosteroid/long-acting β -2 agonist efficacy in COPD. *Thorax* 2016;71:118-25.
 38. Barnes NC, Sharma R, Lettis S, Calverley PM. Blood eosinophils as a marker of response to inhaled corticosteroids in COPD. *Eur Respir J* 2016;47:1374-82.
 39. Watz H, Tetzlaff K, Wouters EF, Kirsten A, Magnussen H, Rodriguez-Roisin R, et al. Blood eosinophil count and exacerbations in severe chronic obstructive pulmonary disease after withdrawal of inhaled corticosteroids: a post-hoc analysis of the WISDOM trial. *Lancet Respir Med* 2016;4:390-8.
 40. Bafadhel M, McKenna S, Terry S, Mistry V, Pancholi M, Venge P, et al. Blood eosinophils to direct corticosteroid treatment of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: a randomized placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med* 2012;186:48-55.