

비용에서 점액분비와
점액유전자의 발현

연세대학교 대학원

의 학 과

홍 지 현

비용에서 점액분비와
점액유전자의 발현

지도 김 희 남 교수

이 논문을 박사 학위논문으로 제출함

2000년 6월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

홍 지 현

홍지현의 박사 학위논문을 인준함

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

연세대학교 대학원

2000년 6월 일

감사의 글

10년만에 학위를 마치게되니 후련함, 고마움, 부끄러움 등 만감이 교차합니다. 그러나 그 중 주된 감정은 역시 큰 기쁨입니다.

석사 논문에 이어 박사논문도 지도해 주시며, 따뜻한 배려와 격려로 이끌어주신 김희남 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 특유의 정감어린 조언으로 푸근하게 지도해 주신 이정권 교수님과, 치열한 연구정신을 온몸으로 보여주시는 윤주헌 교수님께 감사와 존경을 전합니다. 심사위원으로 애써주신 성제경 박사님, 김경섭 교수님께도 감사드립니다. 공개발표준비를 비롯한 세세한 부분까지 도와주신 김현웅 강사께 고마움을 전합니다. 학위과정을 끝맺음하면서 가슴 후련함을 느끼지만, 한편으로는 매우 부끄럽습니다. 이 부끄러운 심경까지도 소중하게 간직하고, 마치 10년 개근 상장을 받는 마음으로 학위를 받고 싶습니다.

20여년 전 예과에 입학할 당시부터 박사님으로 불러주시며, 부족한 아들을 한결같이 믿어주신 부모님과, 물심양면으로 돌보아주신 처부모님께 깊이 감사드리며, 언제나 힘이 되어주는 아내와, 건강하고 총명하게 자라주어 고마울 따름인 두 아들 정의, 창의와, 끊임없이 관심과 격려로 후원해 주신 가족 모두와 기쁨을 함께하고 싶습니다.

저 자 씀

차 례

국문요약	1
I. 서 론	2
II. 재료 및 방법	3
1. 비용과 정상 하비갑개에서 상피세포의 분리	3
2. Air-liquid interface 배양	3
3. 총 점액과 MUC5AC 점액의 정량	3
4. Total RNA, nuclear RNA 및 cytoplasmic RNA의 분리	4
5. MUC5AC mRNA와 MUC8 mRNA를 위한 RT-PCR	4
6. <i>In situ</i> hybridization과 면역조직화학적 염색의 이중염색	5
III. 결 과	5
1. 비용 상피세포에서 세포내 점액과 MUC8 mRNA와 MUC5AC mRNA의 변화	5
2. 배양된 인체 정상 코점막 상피세포에서 염증성 매개체에 의한 MUC5AC와 MUC8 mRNA 및 분비된 점액량의 비교	8
3. 염증성 매개체중 IL-4의 MUC5AC mRNA와 MUC5AC 점액에 대한 영향	8
4. 비용에서 <i>In situ</i> hybridization을 이용한 MUC8 mRNA의 국소화	9
5. 염증성 매개체에 의한 MUC8 mRNA의 핵에서 세포질로의 전좌	9
6. 배세포에서 MUC5AC와 MUC8 mRNA의 발현	11
VI. 고 찰	12
V. 결 론	14
참고문헌	14
영문요약	17

그림 차례

- Fig. 1.** Intracellular level of mucin and the expression of *MUC5AC* and *MUC8* mRNAs in the epithelial cells obtained from normal turbinate and nasal polyps 6
- Fig. 2.** The changes of *MUC5AC* and *MUC8* mRNA after treatment of a mixture of 5 inflammatory mediators including TNF- α , IL-1 β LPS, IL-4, and PAF 7
- Fig. 3.** Effects of IL-4, treatment on *MUC5AC* mucin gene and mucin secretion in cultured normal human nasal epithelial cells 8
- Fig. 4.** Periodic acid Schiff (PAS) staining and *in situ* hybridization with antisense probe of *MUC8* mRNA in the epithelium and submucosal glands of human nasal polyp and normal nasal mucosa 10
- Fig. 5.** Effects of the mixture of inflammatory mediators on expression and translocation of *MUC8* mRNA in the nucleic and cytoplasmic mRNA 11
- Fig. 6.** Double localization of MUC8 and MUC5AC in the surface epithelium and submucosal glands by immunohistochemistry and *in situ* hybridization 12

국문요약

비용에서 점액분비와 점액유전자의 발현

만성부비동염은 세계적으로 가장 흔한 질환 중의 하나이다. 비용은 궁극적으로 비강 및 부비동의 만성염증에 의해 발생하며 전 인구의 약 4%에서 나타나는 것으로 알려져 있다. 비용에서 나타나는 점액과분비 현상(mucus hypersecretion)은 일차적으로는 비용 상피세포가 직접 점액과분비를 유발시키거나, 혹은 이차적으로 비용 자체가 부비동의 배설구를 막음으로써 생기는 부비동염에 의해 유발되기도 한다. 그러나 비용에서의 과분비된 점액이 어떤 점액유전자에서 유래되는지는 아직까지 밝혀져 있지 않다.

본 연구에서 연구자는 비용에서 *MUC8* mRNA의 과발현을 보고 염증매개체에 의한 *MUC8* mRNA 발현의 조절 및 국소화를 보고자 하였다. 연구결과 상피세포내 점액의 양은 정상하비갑개보다 비용에서 두세배 많이 검출되었고 *MUC5AC* mRNA 양은 6개 중 4개의 비용검체에서 정상하비갑개에 비하여 감소하였으나 *MUC8* mRNA 양은 6개 중 5개에서 정상하비갑개에 비하여 증가하였다. 배양된 인체 정상 코점막 상피세포에서 염증성 매개체의 복합 투여에 의한 분비된 점액양과 *MUC5AC* 및 *MUC8* mRNA 양의 변화를 보면 점액양은 처치 24시간 후에 의미있게 증가하였고, *MUC5AC* mRNA 양은 24시간 후에 대조군에 비하여 약 50% 감소하였으나 *MUC8* mRNA 양은 처치 8시간 후부터 의미있게 증가하여 48시간 후 최고에 도달하였다. *MUC5AC* mRNA 양의 감소가 염증성 매개체들 중 어떠한 매개체에 의한 것인지 알아보기 위해 각각의 *MUC5AC* mRNA에 대한 효과를 검사한 결과 IL-4만 투여한 군과 기존의 5가지 염증성 매개체들의 복합투여군에서는 *MUC5AC* mRNA와 *MUC5AC* 점액이 모두 줄어들어 IL-4가 그 원인 매개체임을 알 수 있었다. *MUC8* mRNA는 비용상피의 배세포의 핵에서 강하게, 세포질에서 약하게 발현되었고 *MUC5AC*와 배세포의 세포질에서 동시에 발현되었다. 또한 배세포의 핵에 주로 존재하고 있던 *MUC8* mRNA가 염증성 매개체 처리 후 세포질에서 보다 뚜렷하게 발현이 증가하는 것을 관찰하였다.

이러한 결과들로 미루어 *MUC8*은 배세포에서 발현되는 중요한 점액의 하나이며, 만성염증에서 흔히 관찰되는 점액과분비에 관여하는 중요한 병적 점액유전자중 하나일 것으로 생각한다.

핵심되는 말: 비용, 점액과분비, *MUC8*, *MUC5AC*

비용에서 점액분비와 점액유전자의 발현

<지도 김 희 남 교수>

연세대학교 대학원 의학과

홍 지 현

I. 서 론

부비동염은 미국에서 전 인구의 14%가 경험하는 가장 흔한 질환중의 하나로 코점막 상피세포의 형태학적 및 기능적 변화가 일어난다.¹ 비용은 궁극적으로 비강 및 부비동의 만성염증에 의해 나타나며 전 인구의 약 4%에서 발생하는 것으로 알려져 있다.² 비용은 일차적으로는 비용 상피세포가 직접 점액과분비에 참여하기도 하며 혹은 이차적으로 비용 자체가 부비동의 배설구를 막음으로써 부비동염에 의해 점액과분비가 유발되기도 한다. 이러한 점액과분비는 진균감염의 원인이 될 수 있으며 염증성 반응을 촉진시킨다.

점소(mucin)는 점액의 점탄성에 영향을 미치는 가장 중요한 요소로서 분자량이 크고 core peptide주위에 당질화가 많은 구조를 갖고 있다. 비용이 동반된 만성부비동염에서 점액유전자의 조절을 이해하는 것은 만성부비동염의 병태생리의 이해와 치료에 새로운 장을 열 수 있다는 점에서 중요하지만 아직 만성 염증 상태에서의 점액유전자에 대한 연구는 미흡하다. 코점막에서 점액분비는, 비용 조직검사에서 granunocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF), interleukin-3 (IL-3), 및 tumor necrosis factor- α (TNF- α)를 발현하는 염증성 세포가 증가되어 있다는 것^{3~5}과 interleukin-1 β (IL-1 β)와 TNF- α 의 동시 투여가 점액분비의 상승 작용을 유발한다는 보고에 근거할 때, 어떤 한가지 인자에 의한 효과 보다는 다양한 염증성 매개체의 복합적인 영향을 받고 있을 것으로 생각된다.⁶

지금까지 점액유전자는 9개가 밝혀져 있으며 그중 MUC5AC와 MUC5B는 하기도에서 중요한 분비점액이며, MUC1, MUC3, 및 MUC4는 세포막과 연결된 점액으로 알려져 있다.^{7~10} 이 중 MUC2 및 MUC5AC mRNA는 모든 배세포에서¹¹, MUC5B 및 MUC7은 점막하 선세포에서 주로 발현되는 것으로 알려져 있다.¹² 그러나 폐의 상피세포에서 *in situ* hybridization을 이용하여 MUC8 mRNA를 발현하는 세포종류를 규명하는 실험이 시도되었지만 아직 성공하지 못하였다.¹³ 또한 MUC2 mRNA는 TNF- α 와 endotoxin에 의해서,^{14,15} MUC5AC mRNA는

interleukin-4 (IL-4), platelet-activating factor (PAF), 및 interleukin-9 (IL-9) 등에 의해 조절된다고 보고되었지만,^{16~18} MUC8 mRNA의 조절에 대한 연구결과는 보고된 바 없다. 사람 비용을 이용한 예비 연구에서 다른 점액유전자는 큰 변화가 없었으나 MUC8 mRNA가 비용에서 현저히 증가되어 있는 현상을 발견하였다. 이러한 관찰은 MUC8이 점액과분비 혹은 비용의 형성에 관여하는 주요 점액유전자일 가능성을 제시하였다. 따라서 본 연구에서는 비용에서의 MUC8 mRNA의 과발현(hyperexpression), 염증성 매개체에 의한 MUC8 mRNA 발현조절을 밝히고, MUC8 mRNA의 발현세포를 조사하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 비용과 정상 하비갑개에서 상피세포의 분리

정상 상피세포는 10명의 정상 성인 자원자의 하비갑개에서 scraping하여 채취하였고 각각 3개의 pooled sample을 모아 1개는 total RNA, 2개는 cell lysate를 얻는데 사용하였다. 자원은 알레르기성 비염, 비용 혹은 천식의 과거력이 없는 비흡연자들로 선정하였다. 비용 상피세포는 6명의 비용 환자에서 채취하였는데 이들은 천식, 아스피린 과민증, 섬유성 낭종의 과거력이 없었고 최근 3개월 동안 아무런 약물치료를 받은 적이 없었으며, 알레르기 피부반응 검사상 모두 음성인 사람을 선정하였다. 비용에서 상피세포의 분리는, 비용을 1% pronase용액에 18~20시간 동안 4°C에서 처치한 후 상층액에서 채취하였으며, 0.25% trypsin/EDTA용액에서 처치하여 단일 세포로 만들었다. 세포의 수는 혈구측정기를 통해 수를 세었다. 얻어진 세포의 일부는 total RNA를, 일부는 cell lysate를 만드는데 사용하였다.

2. Air-liquid interface (ALI) 배양

10^5 개의 인체 정상 코점막 상피세포(passage-2)를¹⁹ basal epithelial growth medium (BEGM) 과 DMEM을 1 : 1로 혼합한 용액에 호르몬과 각종 성장인자가 첨가된 무혈장 배양액에 부유하여 평판하였다.²⁰ 배양용기는 반투과성막(24.5 mm, 0.45 μ m pore size; Transwell-clear, Costar Corp., Cambridge, MA, USA)이 있는 것을 사용하였다. 세포들은 첫 9일간은 배양액에 잠긴 상태로 두었으며 ALI를 만드는 9일까지는 격일로 배양액을 갈아주었으며 그 후 배양액은 배양용기의 아래쪽 부분만 매일 갈아주었으며 위쪽은 배양액을 제거하여 공기에 노출시켰다. 배양은 37°C, 5% CO₂에서 진행하였다. 배양 11일째 세포들에 5개의 염증성 매개체들(IL-1 β 10 ng/ml, TNF- α 10 ng/ml, lipopolysaccharide (LPS) 5 μ g/ml, PAF 10⁻⁸ M, IL-4 100 ng/ml)을 동시에 투여하여 8, 24, 48시간 후에 각각 total RNA와 분비점액을 얻었다.

3. 총 점액과 MUC5AC 점액의 정량

세포내 점액양은 분리된 cell lysates를 이용하여 측정하였다. 배양된 사람 정상 코점막

상피세포에서 점액측정을 위한 방법은 배양세포들이 24시간 동안 분비한 양을 수집하여 immunoblot assay를 이용하는 Gray 등이 기술한 방법을 사용하여 정량하였다.²⁰ 순수 인체 점액(a gift from Dr. Davis CW, University of North Carolina, NC, USA)을 표준으로 사용하였으며 총 점액에 대한 일차항체로는 단클론성 항체인 H6C5 (1 : 1,000), MUC5AC 점액에 대한 일차항체(Neomarker, USA)를 사용하였다. 배양된 세포에서 채취된 분비물들과 표준(standard)은 일정한 비율로 희석하여 나이트로셀룰로즈막에 적용하여 일차항체와 반응시킨 후 horse-radish peroxidase conjugated goat anti-mouse IgG에 반응시켜 chemiluminescence (ECL kit, Amersham, Buckinghamshire, UK)로 발색시켰다. Linear regression analysis를 이용하여 표준곡선을 얻은 후 각 검사물의 발색정도와 비교하여 정량하였다. 배양된 상피세포에서의 각 실험 결과는 같은 실험을 3번 이상 시행하여 평균값과 표준편차로 나타내었으며 통계학적 처리는 student *t*-test로 하였다.

4. Total RNA, nuclear RNA 및 cytoplasmic RNA의 분리

Total RNA는 배양된 인체 정상 코점막 상피세포에 Tri-reagent (Molecular Research Center, Cincinnati, OH, USA)를 이용하여 분리하였다. RNA의 질은 1 μ g RNA를 ethidium bromide와 함께 6.6% 포름알데하이드를 함유하는 1.5% agarose gel에서 전기영동하여 확인하였다. 핵과 세포질 RNA의 분리를 위해 배양된 사람 정상 코점막 상피세포에 Buffer RLN (50 mM Tris · CL (pH8.0)/140 mM NaCl₂/1.5 mM MgCl₂/0.5%NP-40) 175 μ l를 넣고 1.5 ml tube로 옮긴 후 얼음에 5분간 처치하였다. 4°C에서 원심분리기로 300 × g에서 2분간 원심분리시키면 상층 액에는 세포질이 모이게 되며 아래쪽 침전물에 핵이 모여 있게 된다. 이를 각각 Tri-reagent와 RNeasy Mini Kit(Qiagen, Valencia, CA, USA)을 이용하여 각각 total RNA를 분리하였다.

5. MUC5AC mRNA와 MUC8 mRNA를 위한 RT-PCR

Guzman 등²¹이 보고한 RT-PCR을 사용하였다. Oligonucleotide primers는 인체 MUC5AC cDNA 염기서열(Genbank #U06711)을 토대로, 5'primer, TCCGGCCTCATCTTCTCC와 3' primer, ACTTGGGCACTGGTGCTG를 사용하여 680 bp를 증폭하였으며, MUC8 cDNA 염기서열(Genbank #U14383)을 토대로 5'primer, ACAGGGTTTCTCCTCATTG와 3'primer, CGTTTATTCCAGCACTGTTC를 사용하여 239 bp를 증폭하여 MUC5AC와 MUC8의 mRNA를 RT-PCR로 정량하였다. RT-PCR의 대조유전자로서는 β 2 microglobulin (335 bp, Clontech Lab.)을 이용하였다. 상기 기술한 각 유전자의 mRNA를 비교하기 위해 comparative kinetic analysis를 시행하였다.²¹ PCR 산물은 50 ng/ml ethidium bromide를 함유하는 2% Seakem agarose gel (FMC, Rockland, ME, USA)에서 전기영동으로 분리하여 사진을 찍었다. PCR의 linear range는 PCR cycle수당 증폭강도를 정량하여 정하였다. 최종산물이 genomic

DNA의 오염이 없었다는 것을 증명하기 위해 RT-PCR 반응에서 reverse transcriptase를 생략하여 음성 대조군으로 삼았으며 RT-PCR의 특이성은 PCR 산물의 염기서열을 확인하여 관찰하였다.

6. *In situ* hybridization과 면역조직화학적 염색의 이중염색

비용 조직을 외과적으로 절제하여 4% 파라포름알데하이드에 24시간 동안 4°C에서 고정 한 다음, 12% 및 18% sucrose 용액에 담근 후 10 μ m 두께로 냉동절편하여 poly-L-lysine으로 코팅 처리된 슬라이드에 올렸다. 4% 파라포름알데하이드로 30분간 후고정을 하고 증류수로 수세한 다음 periodic acid에 5분간, Schiff reagent에 15분간 담근 후, 흐르는 물에 담귀 10분간 발색을 하였다. Harris hematoxylin으로 대조염색 하여 수세한 후 건조시켜 봉입하였다. Sp6 및 T7 RNA polymerase로 *in vitro* transcription을 하여 각각 antisense 및 sense probe를 제작하였다. MUC8 (riboprobe): forward-ACAGGGTTTCTCCTCATTG, reverse-CGTTT-ATTCCGCACTGTTC. 4% 파라포름알데하이드로 30분간 후고정한 다음 diethyl pyrocarbonate (DEPC) buffer 및 SSC로 수세한 후 hybridization mixture (DEPC/SSC/Formamide/ssDNA)로 pre-hybridization시켰다. 다음, digoxigenin (DIG)-labelled cRNA로 56°C에서 하루동안 처치하여 anti-DIG 항체로 2시간 동안 반응시키고 nitroblue tetrazolium chloride (NBT)와 5-bromo-4-chloro-3-indolylphosphate (BCIP)로 반응시킨 후 광학현미경으로 관찰하였다. 이중염색을 위해 조직절편을 30분간 4% 파라포름알데하이드로 후고정하고, 56°C에서 2시간 동안 pre-hybridization한 다음 MUC8 probe로 56°C에서 하루동안 처치하였다. 다음날, 수세후 비특이적 반응을 방지하기 위하여 정상혈청으로 30분간 처치한 후 MUC5AC 항체로 실온에서 반응시켰다. 형광 발색제(FLUOS-conjugated F (ab') fragment of anti-digoxigenin-fluorescein, RPE-conjugated F (ab') fragment of rabbit anti-mouse IgG)로 발색시킨 후 TCS NT Imaging system을 이용하여 DM RBE Leica 현미경으로 관찰하였다.

III. 결 과

1. 비용 상피세포에서 세포내 점액과 *MUC8* mRNA와 *MUC5AC* mRNA의 변화

만성부비동염이 동반되고 많은 염증성 매개체들의 영향을 받는 비용의 상피세포에 세포내 점액이 증가되어 있는지를 보고자 하였다. 총 점액 항체(pan-mucin antibody)인 H6C5로 10⁶개 상피세포내의 점액을 정량한 결과 비용 상피세포에는 3015.0 \pm 1009.8 μ g으로 정상 하비갑개 상피세포에서의 1001.4 \pm 263.8 μ g보다 약 3배 많았다(Fig. 1A). 다음 단계로 이러한 점액의 증가가 어떠한 점액유전자에 의한 것인지를 알기 위해, 밝혀져 있는 모든 점액 유전자의 mRNA를 정량하였으나 *MUC8* mRNA만이 일정하게 뚜렷한 증가가 관찰되었다. 이에 점액유전자 중 *MUC8*에 초점을 두었으며 상피세포의 배세포에 특징적으로 발현된다

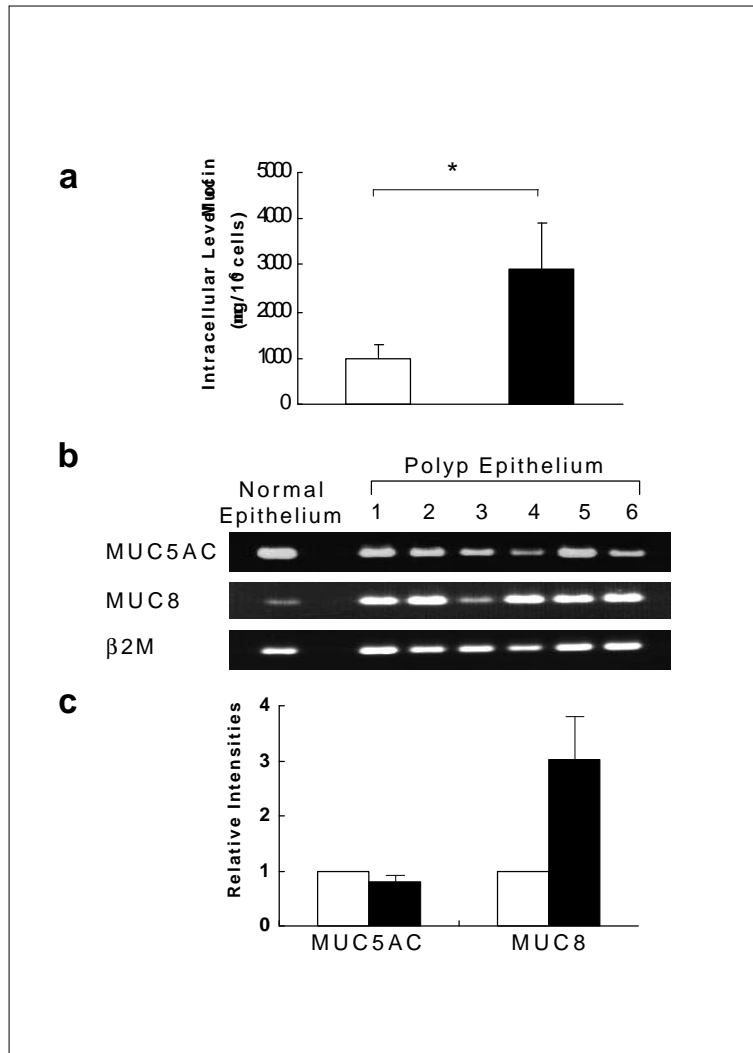


Fig. 1. Intracellular level of mucin(A) and the expression of *MUC5AC* and *MUC8* mRNAs (B, C) in the epithelial cells obtained from normal turbinate and nasal polyps. The intracellular levels of mucin were $1001.4 \pm 263.8 \text{ ug}/10^6 \text{ cells}$ for the normal inferior turbinate and $3015.0 \pm 1009.8 \text{ ug}/10^6 \text{ cells}$ for the nasal polyps (Fig. 1A). Expression of *MUC5AC* mRNA decreased in 4 of 6 cases (case 2, 3, 4, and 6). However, expression of *MUC8* mRNA increased in 5 of 6 cases (case 1, 2, 4, 5, and 6) (Fig. 1B). Relative intensities of *MUC5AC* and *MUC8* compared to the control gene decreased 20% and showed 3-fold increase respectively (Fig. 1C). Blank bar: normal epithelium, Filled bar: polyp epithelium

고 알려진 MUC5AC와 함께 비교 검사하였다. MUC5AC mRNA 발현은 비용 6개 중 4개(비용번호: 2, 3, 4, 6)에서 약간 감소되어 있었으나 MUC8 mRNA는 6개의 비용 중 5개(비용번호: 1, 2, 4, 5, 6)에서 인체 하비갑개 점막 상피세포에 비하여 뚜렷한 증가를 볼 수

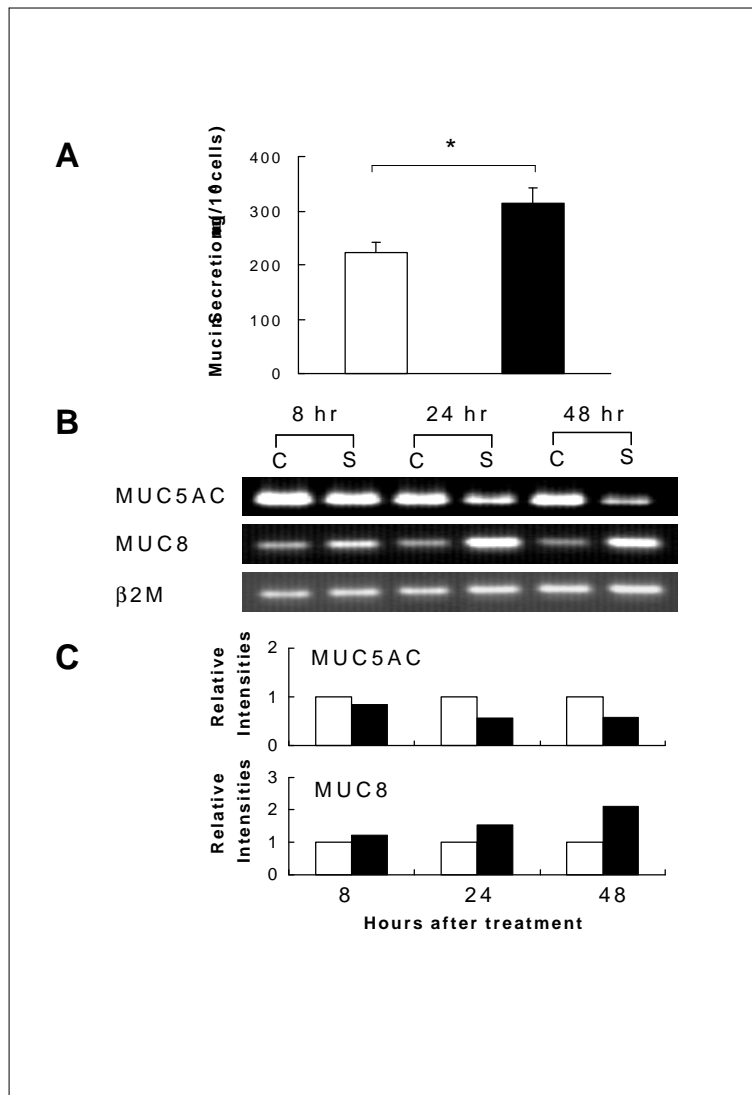


Fig. 2. The changes of *MUC5AC* and *MUC8* mRNA levels after treatment of a mixture of 5 inflammatory mediators including *TNF- α* , *IL-1 β* , *LPS*, *IL-4*, and *PAF*. The data shown in Fig. 2A is representative of results obtained in 3 separate experiments. The mucin secretion 24 hours after the treatment showed 40.6% increase (Fig. 2A, shotgun: 313.7 ± 29.3 ug/ 10^6 cells; control: 223.1 ± 18.6 ug/ 10^6 cells). Expression of *MUC5AC* mRNA gradually decreased after 24 hours of treatment. However, expression of *MUC8* mRNA significantly increased after 8 hours of treatment and gradually increased over time (Fig. 2B). Relative intensities of *MUC5AC* and *MUC8* compared to the control gene at 48 hours after treatment with a mixture of 5 inflammatory mediators showed 50% decrease over time and 2.1-fold increase respectively (Fig. 2C). Interestingly, these results showed a similar pattern as was seen in the results of RT-PCR from isolated epithelial cells from the polyps. Blank bar: normal epithelium, Filled bar: polyp epithelium

있었다. 대조유전자로 사용한 $\beta 2$ microglobulin은 큰 차이가 없었다(Fig. 1B). 이를 정량해보면 *MUC5AC* mRNA는 약 20% 감소하였으며 *MUC8* mRNA는 약 3배 증가하였다(Fig. 1C).

2. 배양된 인체 정상 코점막 상피세포에서 염증성 매개체에 의한 *MUC5AC*와 *MUC8* mRNA 및 분비된 점액양의 비교

다양한 염증성 매개체들이 *MUC5AC*와 *MUC8* mRNA의 발현을 조절하는 지를 조사하였다. 이전의 연구에서 문헌상 점액유전자 혹은 점액분비를 증가시키는 것으로 알려진 5가지의 염증성 매개체^{14~17,24}를 이용하여 각각 정상 코점막 상피세포에서 점액분비에 대한 효과를 검증하였으나 어떠한 단일 염증성 매개체도 점액분비를 증가시키지 못하였다.⁶ 따라서 생체에서의 만성 염증상태와 유사한 조건을 만들기 위해 5가지의 염증성 매개체를 복합투여하였다. 즉 IL-1 β , TNF- α , LPS, PAF 그리고 IL-4를 동시에 투여한 결과, 각각 투여 시 효과가 없던 것이 복합투여시 처치 24시간 후에 10⁶세포당 313.7 \pm 29.3 μ g으로 대조군 223.1 \pm 18.6 μ g에 비해 유의 있게 40.6% 증가하였다(Fig. 2A). 한편, *MUC5AC* mRNA는 점차 감소하여 24시간 후에는 대조군에 비해 50%로 줄어들었으나 *MUC8* mRNA는 8시간 후에 증가하기 시작하여 48시간 후에는 2배 증가하였다(Fig. 2B, C).

3. 염증성 매개체 중 IL-4의 *MUC5AC* mRNA와 *MUC5AC* 점액에 대한 영향

상기 생체와 시험관 실험에서 동시에 *MUC5AC* mRNA가 감소된다는 결과는 염증성 매개체들이 *MUC5AC* mRNA를 증가시킨다는 기존의 보고와는 상반된 결과이다.^{25~27} 따라서 연구자가 사용한 염증성 매개체중 어떠한 매개체가 *MUC5AC* 발현 감소에 기여하는 지를 알기 위해 각각의 *MUC5AC* mRNA에 대한 효과를 검사한 결과 IL-4외에 다른 매개체들은 아

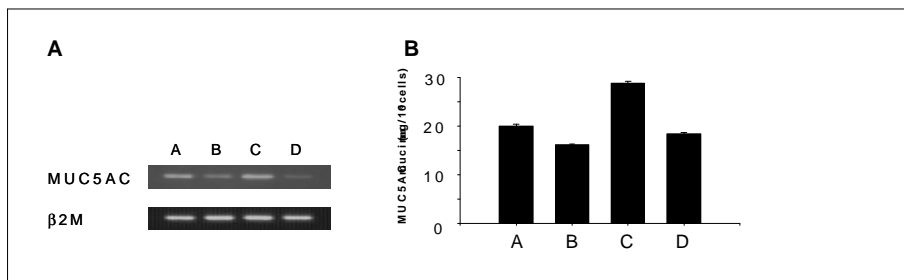


Fig. 3. Effects of IL-4 treatment on *MUC5AC* mucin gene expression and mucin secretion in cultured normal human nasal epithelial cells. Treatment with both IL-4 alone (B) and shotgun treatment (D) decreased the expression of *MUC5AC* mRNA (Fig. 3A) and the secretion of *MUC5AC* mucin (*MUC5AC* mucin) (Fig. 3B). A: control group, B: group treated with IL-4 alone, C and D: group treated with inflammatory mediator mixture without and with IL-4.

무런 영향이 없는 것을 알 수 있었다. MUC5AC에 대한 IL-4의 효과를 알기 위해 아무런 처치도 하지 않는 대조군(A), IL-4만 투여한 군(B), 염증성 매개체들에서 IL-4만 뺀 군(C), 기존의 5가지 염증성 매개체들의 복합 투여군(D)을 각각 자극한 후 24시간 후에 MUC5AC mRNA와 MUC5AC 점액을 측정하였다. IL-4만 투여한 군과 기존의 5가지 염증성 매개체들의 복합투여군에서는 MUC5AC mRNA와 MUC5AC 점액이 모두 줄어들었으며 염증성 매개체들에서 IL-4만 뺀 군에서는 MUC5AC mRNA의 변화가 없었다(Fig. 3). 한편, IL-4는 MUC8 mRNA에 대해서는 아무 효과가 없었다.

4. 비염에서 *in situ hybridization*을 이용한 MUC8 mRNA의 국소화

상기의 결과에서 MUC8의 임상적 중요성의 가능성을 제시하였지만 MUC8 mRNA가 어느 세포에 발현하는지 아직 보고된 바 없으므로 이를 알아보기 위해 riboprobe를 이용한 *in situ hybridization*을 시행하였다. 비염 상피세포에서는 기저세포 및 배세포의 핵에 강하게, 배세포의 세포질에 약하게 반응하였으며 점막하 선조직에서도 주로 핵에 약하게 발현이 되었다(Fig. 4A, B, C, D). 그러나 염증이 없었던 정상 코점막인 후사골동 점막에서는 MUC8 mRNA가 상피세포와 점막하 선조직에서 거의 발현이 되지 않았다(Fig. 4E, F, G, H).

5. 염증성 매개체에 의한 MUC8 mRNA의 핵에서 세포질로의 전좌

연구자는 MUC8 mRNA가 *in situ hybridization* 결과에서 왜 핵에서 세포질보다 강하게 나타났는지에 대한 의문점을 가지게 되었다. 혹시 비활동성 형태로 존재하는 핵에 있는 MUC8 mRNA가 염증성 매개체들에 의해 세포질로 전좌되어, 세포질에서 빠르게 번역되어 분비되기 때문에 세포질에서는 약하게 나타났을 가능성을 생각하였다. 인체 코점막 상피세포를 배양하여 5가지의 염증성 매개체 복합으로 처리하였을 때 핵과 세포질에 있는 MUC8 mRNA의 변화를 RT-PCR과 *in situ hybridization*으로 조사하였다. 염증성 매개체 복합으로 처리한 24시간 후에 세포에서 MUC8 mRNA의 증가가 있었다. 다시 핵과 세포질을 분리하여 얻은 total RNA에서는 핵에서는 큰 변화가 없었으나 세포질에서는 MUC8 mRNA의 증가가 관찰되었다(Fig. 5A). 이러한 결과는 세포에서의 MUC8 mRNA 증가가 주로 세포질에서의 MUC8 mRNA의 증가에 기인하였다는 것을 말하며, 염증성 매개체 복합 자극에 의해 핵에서 세포질로 MUC8 mRNA의 전좌에 의한다는 것을 암시하였다. 이러한 관찰은 *in situ hybridization* 결과에서와 같이 염증성 매개체 복합으로 처리한 후 세포질에 MUC8 mRNA가 뚜렷이 증가함으로써 재확인할 수 있었다(Fig. 5B).

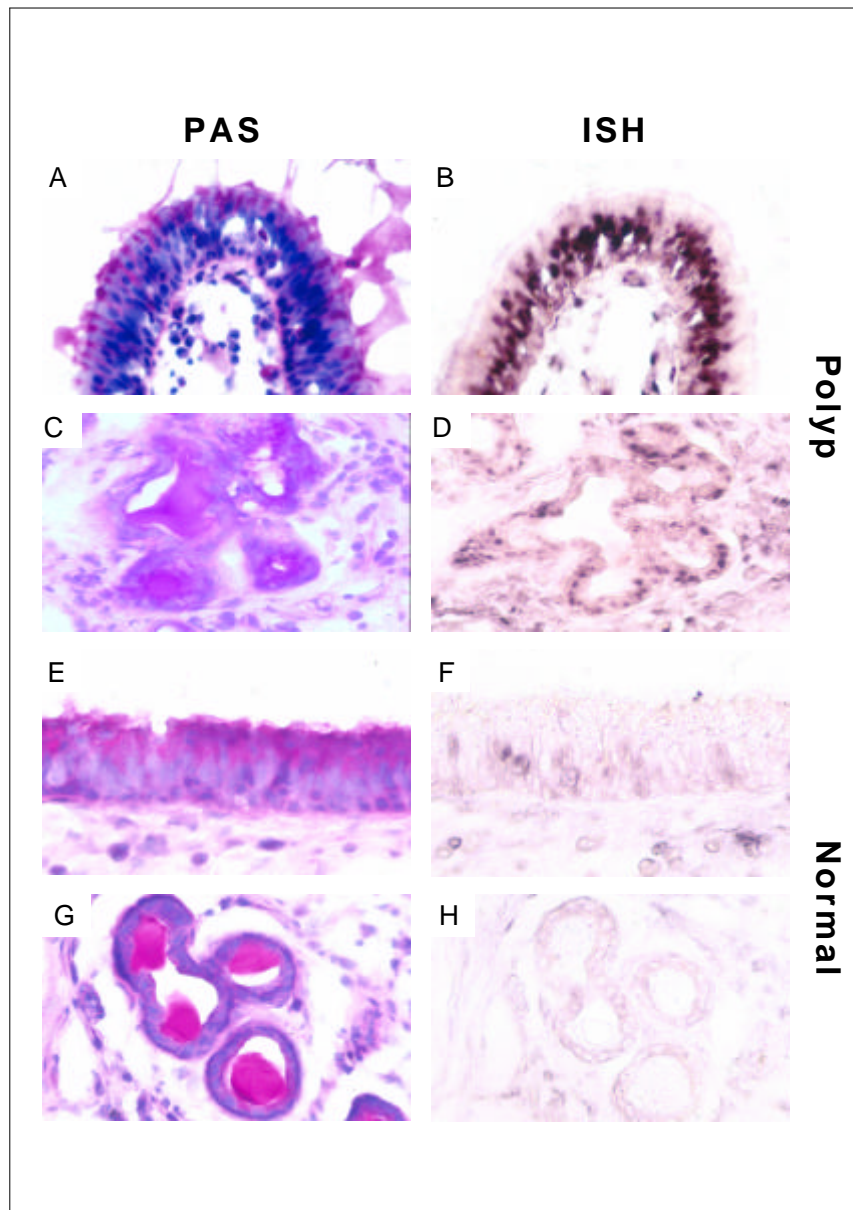


Fig. 4. Periodic acid Schiff (PAS) staining and *in situ* hybridization with antisense probe of *MUC8* mRNA in the epithelium and submucosal glands of human nasal polyp (Fig. 4A, B, C, D) and normal nasal mucosa (Fig. 4E, F, G, H). All left figures shows PAS stainings on adjacent sections. Brown-colored positive area for *MUC8* mRNA was very distinct in the nuclei of the surface epithelium, weakly expressed in the cytoplasm of the some surface epithelium (Fig. 4B) and weakly expressed in the nuclei of submucosal gland (Fig. 4D).

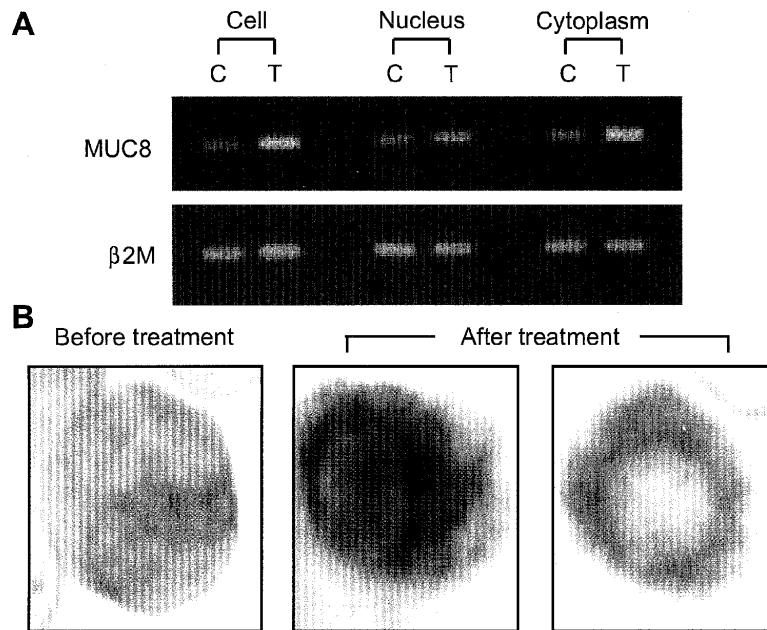


Fig. 5. Effects of the mixture of inflammatory mediators on expression and translocation of *MUC8* mRNA in the nucleic and cytoplasmic mRNA. Interestingly, the nucleic *MUC8* mRNA was not significantly increased but cytoplasmic *MUC8* mRNA strongly increased (Fig. 5A). This result suggests that the increased levels of total cellular *MUC8* mRNA is due to the increased levels of *MUC8* mRNA in the cytoplasm, which is translocated from the nucleus. This finding is further supported by the observation that signals of *MUC8* messages were strongly intensified in the cytoplasm of cells treated with inflammatory mediators as determined by in situ hybridization (Fig. 5B).

6. 배세포에서 *MUC5AC*와 *MUC8* mRNA의 발현

배세포의 세포질에 약하게 발현되는 *MUC8*이 배세포의 세포질에 주로 발현되는 대표적인 점액인 *MUC5AC*와 같은 배세포에서 동시에 발현되는 것인지 혹은 서로 다른 배세포에서 발현되는 것인지에 대한 의문점을 가지게 되었다. *MUC5AC*는 붉은 형광으로, *MUC8*은 녹색형광으로 나타나게 하여 이중염색을 한 결과, 상피세포에서는 일부의 배세포 세포질에 노란색으로 나타남으로써 *MUC5AC*와 *MUC8*이 같은 배세포에 존재한다는 것을 알 수 있었다. *MUC5AC*는 일부의 배세포에서만 발현이 되었으며 또한 *MUC5AC*는 *MUC8*과 동시에 발현되었고 *MUC5AC*만 발현하는 배세포는 거의 없었다(Fig. 6A). 점막하 선조직에서는 *MUC8*는 발현되었으나 *MUC5AC* 점액은 존재하지 않았다(Fig. 6B).

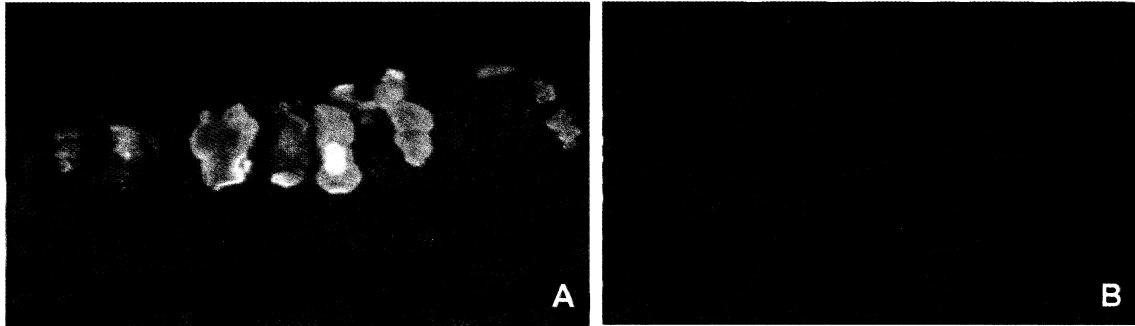


Fig. 6. Double localization of MUC8 and MUC5AC in the surface epithelium (A) and submucosal glands (B) by immunohistochemistry and *in situ* hybridization. MUC8 and MUC5AC were co-localized (yellow color) in the cytoplasm of goblet cells. But, in submucosal glands, MUC5AC was not labelled. Green color indicates positive for MUC8 in situ hybridization and red color indicates positive for MUC5AC mucin.

IV. 고 찰

점액과분비와 비용은 만성부비동염의 병인에서 야기되는 대표적인 병적 산물이다. 현재 까지 만성부비동염에 의한 과분비된 점액에서의 점소의 유전자적 특징은 밝혀져 있지 않으며 비용의 형성이나 점액과분비의 기전에 대하여 정확히 알려져 있지 않다. 다만 만성부비동염의 점막에 많이 발견되는 배세포들이 점액과분비를 주로 담당하는 것으로 알려져 있을 뿐이다. 본 연구는 비용상피세포와 점막하선에서 세포내 점액과 *MUC8* mRNA 발현의 증가를 보여주고 있으며 이는 점액과분비와 배세포 증식에 있어 중요한 역할을 하는 것을 제시하였다. 흥미로운 점은, 기관지점막 상피의 대표적인 점액으로 알려져 있는 *MUC5AC*의 발현이 배세포의 분포가 매우 많은 호흡기점막에서 없었으며 반면에 비용의 배세포 대부분에서 *MUC8* mRNA의 발현을 관찰할 수 있었다는 점이다. 총점액 항체인 H6C5를 사용하여 immuno-blotting한 결과 세포내 점액의 양이 비용에서 정상 상피보다 3배 증가했으며, 마찬가지로 역전사중합반응에서도 정상상피에 비해 *MUC8* mRNA는 3배 증가했으나 *MUC5AC*는 다소 감소하는 결과를 얻었다. 이는 *MUC8*이 만성부비동염의 비용상피에서 중요한 병적점액의 하나임을 의미한다. 그러나 이 같은 연구 결과는 천식과 만성기관지염같은 하기도질환에서 배세포 증식이 상피와 점막하선조직에서 모두 관찰되며 *MUC5AC*는 주로 상피조직에서, *MUC5B*는 점막하선조직에서 발현되고 따라서 *MUC5AC*와 *MUC5B* 모두 주된 점액임을 보고한 기존의 연구와는 다른 결과를 보여주고 있다.⁹

염증성 매개체의 복합체는 만성부비동염의 병인에 관여하는 것으로 알려져 있다. 만성부비동염 상태에서 상피세포와 섬유아세포들에 의해 여러 종류의 사이토카인(cytokine)이 상승 조절되며 이들 세포들은 TNF- α , IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, 그리고 GM-CSF 등의 사이토

카인을 생성하여 이들이 각종 염증세포들을 끌어들리게 된다. 한편 이들 염증세포들도 역시 여러 사이토카인을 상승조절(*autocrine up-regulated fashion*)시켜 분비하여 더 많은 염증세포들을 모으는 역할을 한다. 이외에도 Bachert 등²⁴은 만성부비동염과 비염에서 IL-3가 상승되어있음을 보고하였다. 비염을 동반한 만성부비동염에서 주로 보이는 염증세포는 주로 중성구이며 호산구와 림프구의 분포는 적다.^{28,29} 이들 염증세포에서 분비된 염증성 매개체들은 배세포증식과 점액과분비에 관여한다. 그러나 비염에서의 염증조절은 거의 밝혀져 있지 않으며 더 많은 연구가 필요한 실정이다.

TNF- α , neutrophil elastase, IL-4, IL-9, 그리고 endotoxin은 점액분비와 점액유전자의 발현을 증가시키는 것으로 알려져 있으나 지금까지의 실험에서 starvation 처치 없이 그 중 어느 것도 단독으로는 의미 있는 점액분비의 증가를 보이지 않았다. 이에 기초하여 연구자는 이들 염증성 매개체의 복합투여가 비염의 MUC8 mRNA 조절에 더 중요하리라 생각되어 5가지 염증성 매개체를 배양된 인체 정상코점막 상피세포(NHNE cell)에 복합투여 후 MUC8 mRNA 양을 조사하였는데 8시간 안에 MUC8 mRNA 발현이 증가하여 48시간 후 최고치에 도달하였다. 이는 이들 염증성 매개체의 복합체가 비염에서 MUC8 발현의 증가에 영향을 주는 것을 의미한다. 그러나 MUC5AC mRNA는 대조군에 비하여 감소하였고 이 결과는 IL-4,¹⁶ neutrophil elastase,²⁷ acrolein,³⁰ 그리고 그람양성, 음성 박테리아에서 분비된 endotoxins³¹등의 염증성 매개체에 의해 MUC5AC mRNA의 양이 상승 조절된다는 기존의 보고들과는 상이한 결과를 보였다. 이러한 차이는 분명치는 않지만 두 가지 해석이 가능하다. 첫째, PAS염색 양성인 배세포 모두에서 MUC5AC의 발현이 나타나는 것이 아닐 가능성이 있으며 둘째, 염증성 매개체 복합투여에 포함된 IL-4에 의해 MUC5AC의 발현이 감소되었을 가능성이 있다. 본 연구의 Fig. 3에서 제시한 것처럼 IL-4의 투여시 MUC5AC mRNA 발현과 점액분비가 감소되어 MUC5AC mRNA의 감소는 IL-4의 영향이었음을 알 수 있었다. 이러한 결과는 배양된 인체 정상 기관지 점막 상피세포에서 IL-4의 투여가 점액분비와 MUC5AC와 MUC5B mRNA의 발현을 감소시킨다는 보고와 일치하고있다.³²

연구자는 최초로 MUC5AC와 MUC8이 배세포에서 동시 발현된다는 결과를 얻었다. 본 연구에서 MUC5AC는 기존의 연구결과들과 마찬가지로 점막하 선조직에는 발현되지 않았으며, MUC8 mRNA는 코점막 상피에서는 강하게, 점막하 선조직에서는 약하게 발현되었다. 이 결과는 폐의 점막상피에서 MUC8 mRNA가 발현되지 않고,¹³ MUC8 점액 단백질만이 인체의 기관 점막하 선조직에서 발현된다는 기존 연구결과와³³ 달랐다. 이러한 차이는 상기도와 하기도 점막의 점액유전자 발현양상이 다를 수 있다는 것을 암시한다.

흥미로운 것은 MUC8 mRNA의 대부분이 핵에서 임시적으로 비활성의 형태로 존재하다가 번역(translation)이 일어나는 세포질로 전이(translocation)된다는 점이다. 이번 in-vitro 실험 결과와 같이 MUC8 mRNA의 증가는 핵에서 세포질로의 MUC8 mRNA의 전좌 증가에 의한 것으로 in situ hybridization을 이용하여 배양된 세포에서 염증성 매개체 처치 후 세포

질에 *MUC8* mRNA의 발현이 증가된 결과가 이를 뒷받침 해주고 있다. 그러나 비염조직의 *in situ* hybridization 결과에서 오히려 코점막 상피의 핵에서 *MUC8* mRNA가 강하게 발현된 이유에 대해서는 몇 가지 해석이 가능한데 첫째, 세포질에서 *MUC8* mRNA의 안정성이 약하거나 빨리 단백질로 번역되었을 가능성이고, 둘째, 핵에서 비효율적인 RNA splicing이나 세포질로의 mRNA 이동장애가 원인이 될 수 있으리라 생각한다.

요약하면, 비염에서 정상 하비갑개 조직에 비해 세포내 점액과 *MUC8* mRNA의 양이 증가되었으나 *MUC5AC* mRNA는 감소되었다. 염증성 매개체의 복합투여는 배양된 인체 정상 코점막 상피세포에서 *MUC8* mRNA의 발현을 증가시키며 그 중 IL-4는 특이적으로 *MUC5AC* mRNA 발현을 감소시켰다. 연구자는 또한 최초로 비염 상피조직에서 *MUC8*과 *MUC5AC*가 동시 발현되는 것을 확인하였으며 더불어 *MUC8* mRNA는 배세포의 핵에 존재하다가 염증성매개체 처치 후에 세포질로 전이됨을 알 수 있었다.

이상의 결과를 종합하면 *MUC8*은 비염 상피에서 분비되는 주요 점액유전자의 하나이며 만성부비동염에서 비염의 병인에 있어 주된 역할을 할 것임을 암시한다. 그러나 *MUC8*이 만성부비동염에서 분비되는 주요 병적 점액인지는 향후 *MUC8*의 유전자 클로닝과 promoter analysis를 통한 추가연구가 필요하다. 이러한 연구를 통해 만성부비동염에서 비염과 점액과분비의 발생기전을 밝힐 수 있으며 만성부비동염을 정복하는 새로운 치료정책을 제 공하리라 생각한다.

V. 결 론

*MUC8*은 배세포에서 발현되는 중요한 점액유전자의 하나이며 염증성 매개체에 의해 조절됨으로써, 만성 염증에서 흔히 관찰되는 점액과분비(mucus hypersecretion)에 관여하는 중요한 병적 점액유전자중 하나일 것으로 생각한다.

참 고 문 헌

1. Kaliner MA, Osguthorpe DJ, Fireman P, Anon J, Georgitis J, Davis ML, et al. Sinusitis: bench to bedside. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:S829-47.
2. Settipane GA, Chaffee FH. Nasal polyps. *Am J Rhinol* 1987;1:119-26.
3. Groves RW, Allen MH, Ross EL, Barker JM, MacDonald DM. Tumor necrosis factor alpha is pro-inflammatory in normal human skin and modulates cutaneous adhesion molecule expression. *Br J Dermatol* 1995;132:345-52.
4. Hamilos DL, Leung DYM, Wood R. Evidence of distinct cytokine expression in allergic versus nonallergic chronic sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 1995;96:537-44.
5. Denburg JA, Gaudie J, Dolovich J, Ohtoshi T, Cox G, Jordana M. Structural cell-derived cytokines in allergic inflammation. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1991;94:127-32.

6. Yoon JH, Kim KS, Kim HU, Linton JA, Lee JG. Effects of TNF- α and IL-1 β on mucin, lysozyme, IL-6 and IL-8 in passage-2 normal human nasal epithelial cells. *Acta Otolaryngol (Stock)* 1999;119:905-10.
7. Yoon JH, Park IY. Mucin gene expression and mucin secretion in human airway epithelium. *Rhinology* 1998;36:146-52.
8. Rose MC. Mucins: Structure, function, and role in pulmonary diseases. *Am J Physiol* 1992; 263:L413-29.
9. Thorton DJ, Devine PL, Hanski C, Howard M, Sheehan JK. Identification of two major populations of mucins in respiratory secretions. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150:823-32.
10. Hovenberg HW, Davis JR, Herrmann A, Linden C-J, Carlstedt I. MUC5AC, but not MUC2, is a prominent mucin in respiratory secretions. *Glycoconj J* 1996;13:839-47.
11. Buisine M-P, Devisme L, Copin M-C, Durand-Reville M, Gosselin B, Aubert J-P, et al. Developmental mucin gene expression in the human respiratory tract. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;20:209-18.
12. Sharma P, Dudus L, Nielsen PA, Clausen H, Yankaskas JR, Hollingworth MA, et al. MUC5B and MUC7 are differentially expressed in mucous and serous cells of submucosal glands in human bronchial airways. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998;19:30-7.
13. Reid CJ, Gould S, Harris A. Developmental expression of mucin genes in the human respiratory tract. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;17:592-8.
14. Levine SJ, Larivee P, Logun C, Angus CW, Ognibene FP, Shelhamer JH. Tumor necrosis factor- α induces mucin hypersecretion and *MUC2* gene expression by human airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995;12:196-204.
15. Li JD, Feng W, Gallup M, Kim J-H, Gum J, Kim Y, et al. Activation of NF- κ B via a Src-dependent Ras-MAPK-pp90rsk pathway is required for *Pseudomonas eruginosa*-induced mucin overproduction in epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:5718-23.
16. Temann U-A, Prasad B, Gallup MW, Basbaum C, Ho SB, Flavell RA, et al. Novel role of murine IL-4 in vivo: Induction of *MUC5AC* gene expression and mucin hypersecretion. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997A;16:471-8.
17. Lou Y-P, Takeyama K, Grattan KM, Lausier JA, Ueki IF, Agusti C, et al. Platelet-activating factor induces goblet cell hyperplasia and mucin gene expression in airways. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:1927-34.
18. Longphre M, Li D, Gallup M, Drori E, Ordonez CL, Redman T, et al. Allergen-induced IL-9 directly stimulates mucin transcription in respiratory epithelial cells. *J Clin Invest* 1999; 104:1375-82.
19. Yoon JH, Kim KS, Kim SS, Lee JG. Secretory differentiation of serially-passaged normal human nasal epithelial cells by retinoic acid: Expression of mucin and lysozyme. *Ann Otol Rhinol Laryngol* In press 2000.
20. Yoon JH, Gray TE, Guzman K, Koo JS, Nettekheim P. Regulation of the secretory phenotype of human airway epithelium by retinoic acid, triiodothyronine, and extracellular matrix. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;16:724-31.
21. Guzman K, Gray TE, Yoon JH, Nettekheim P. Quantitation of mucin RNA by PCR reveals

- induction of both *MUC2* and *MUC5AC* mRNA levels by retinoids. *Am J Physiol* 1996; 271:L1023-8.
22. Bhatt TR, Taylor PA, Horodyski FM. Combined fluorescence *in situ* hybridization and immunocytochemistry double labelling in whole-mount *Manduca sexta* tissue. *BioTechniques* 1997;23:1000-6.
 23. Kriegsmann J, Keyszer G, Geiler T, Gay RE, Gay S. A new double labelling technique for combined *in situ* hybridization and immunohistochemical analysis. *Lab Invest* 1994;71:911-7.
 24. Bachert C, Wagenmann M, Rudack C, Hopken K, Hillebrandt M, Wang D, et al. The role of cytokines in infectious sinusitis and nasal polyposis. *Allergy* 1998;53:2-13.
 25. Dabbagh K, Takeyama K, Lee HM, Ueki IF, Lausier JA, Nadel JA. IL-4 induces mucin gene expression and goblet cell metaplasia *in vitro* and *in vivo*. *J Immunol* 1999;162:6233-7.
 26. Dohrman A, Miyata S, Gallup M, Li J-D, Chapelin C, Coste A, et al. Mucin gene (*MUC2* and *MUC5AC*) upregulation by Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Biochim Biophys Acta* 1998;1406:251-9.
 27. Voynow JA, Young LR, Wang Y, Horger T, Rose MC, Fischer BM. Neutrophil elastase increases *MUC5AC* mRNA and protein expression in respiratory epithelial cells. *Am J Physiol* 1999;276:L835-43.
 28. Stierna P, Carlsoo B. Histopathological observations in chronic maxillary sinusitis. *Acta otolaryngol (Stockh)* 1990;110:450-8.
 29. Georgitis JW, Matthews BL, Stone B. Chronic sinusitis: characterization of cellular influx and inflammatory mediators in sinus lavage fluid. *Int Arch Allergy Immunol* 1995;106:416-21.
 30. Borchers MT, Wert SE, Leikauf GD. Acrolein-induced *MUC5AC* expression in rat airway. *Am J Physiol* 1998;274:L573-81.
 31. Li D, Gallup M, Fan N, Szymkowski DE, Basbaum C. Cloning of the amino-terminal and 5'-flanking region of the human *MUC5AC* mucin gene and transcriptional upregulation by bacterial exoproducts. *J Biol Chem* 1998;273:6812-20.
 32. Jayawickreme SP, Gray TE, Nettesheim P, Eling T. Regulation of 15-lipoxygenase expression and mucus secretion by IL-4 in human bronchial epithelial cells. *Am J Physiol* 1999;276: L596-603.
 33. Shankar V, Pichan P, Eddy RL, Tonk V, Nowak N, Sait SNJ, et al. Chromosomal localization of a human mucin gene (*MUC8*) and cloning of the cDNA corresponding to the carboxy terminus. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;16:232-41.

Abstract

Mucus secretion and mucin gene expression in nasal polyps

Ji Hun Hong

*Department of Medicine
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Hee-Nam Kim)

Sinusitis, an inflammatory disease of the sinus, is one of the most commonly reported diseases in the world. Nasal polyps represent the ultimate manifestation of chronic inflammation of the sinus and their prevalence has been estimated to be about 4% in the general population. Polyps are believed to cause mucus hypersecretion, primarily or secondarily. However, mucin genes responsible for mucus hypersecretion have not been known for nasal polyps. In this study, we described the hyperexpression of *MUC8* mRNA in nasal polyps, the regulation of *MUC8* mRNA expression by inflammatory mediators and its cellular location. The intracellular levels of mucin showed that the epithelium of nasal polyps contained a 2 to 3-fold higher level of mucins than the epithelium of normal inferior turbinates. The level of *MUC5AC* mRNA slightly decreased in 4 of 6 polyp samples. However, the level of *MUC8* mRNA increased by 2 to 3-fold in 5 of 6 polyp samples compared to normal inferior turbinates. In *in vitro* experiment, mucin secretion was significantly increased by treatment with a mixture of the inflammatory mediators 24 hours after treatment. The level of *MUC5AC* mRNA gradually decreased by about 50% compared to the untreated control 24 hours after treatment. On the contrary, the level of *MUC8* mRNA significantly increased 8 hours after treatment and reached to a maximum at 48 hours after treatment. The decrease of *MUC5AC* mRNA was due to the presence of IL-4 in inflammatory mediators. *MUC8* mRNA was strongly expressed in the nucleus of goblet cells in the surface epithelium of the nasal polyp and weakly in the cytoplasm of the goblet cells. And interestingly, *MUC8 mRNA* was co-localized with *MUC5AC* mucin in the cytoplasm of goblet cells. These results indicate that *MUC8* could be one of the major mucins secreted from polyp epithelium and play an important role in the pathogenesis of polyposis in chronic sinusitis.

Key Words: Nasal polyp, mucus hypersecretion, mucin, *MUC8*, *MUC5AC*