

기도 상피세포의 점액분비 조절

연세대학교 의과대학 이비인후과학교실

윤 주 현

서 론

기도에서 생기는 점액의 양은 점액의 생성율과 점액의 재흡수, 증발 및 섬모수송에 의해 일어나는 점액제거율의 균형에 의해 유지되며 이러한 균형이 깨어질 때 임상적인 문제가 생긴다. 점액은 기도에서 공기의 흐름을 방해하여 코막힘이나 호흡곤란을 유발하고 외부에서 유입되는 유해물질의 흡착을 촉진하며 기침을 유발시키는 해로운 작용이 있으나, 외부에서 유입되는 유해물질에 대한 물리적 방어, 세균들이 상피세포에 붙는 것을 막는 작용 및 세균에서 분비되는 세포독성물질을 비활성화시키는 등의 유익한 작용을 동시에 가지고 있다¹⁻³⁾.

호흡기 상피세포에서 흔히 일어나는 상피세포의 병적 변화는 첫째, 점액섬모상피세포가 편평화생(squamous metaplasia)으로 분화하는 것이며 둘째, 염증 매체들의 분비 등으로 인한 점액 분비세포들의 과형성(mucous hyperplasia)으로 인한 과분비의 두 가지라고 할 수 있다. 따라서 편평화생이 일어난 상피세포를 어떻게 하면 정상적인 점액섬모상피로 회복시킬 수 있는지와 상피세포에서 점액의 과분비를 억제할 수 있는 방법에 대한 해결책에 대한 많은 관심이 있어 왔다. 실질적으로 그동안 사용되었던 점액을 감소시키기 위한 치료방침을 살펴보면

첫째, 점액의 분비 자체를 줄이는 것이고, 둘째, 상피세포의 점액수송능을 증대시키는 것, 셋째, 점액의 유동학적 특성을 변화시켜 기침에 의해 보다 효과적으로 제거할 수 있는 방법의 3가지가 있으나 첫번째 방법이 가장 효과적이며 현재 치료 또한 이것에 무게를 두고 있다. 그러나 최근 분자생물학적 방법의 개발과 점액유전자들의 발견으로 다른 각도에서 점액의 분비를 직접 줄이기 위한 여러가지 연구가 다양하게 진행되고 있다. 하지만 아직 호흡기 상피세포에서 분비되는 분비물의 조절 기전과 분비표현형(secretory phenotype)에 대한 이해가 매우 부족한 상태라 할 수 있다.

호흡기에서 과분비(hypersecretion)는 각종 비염, 부비동염, 삼출성 중이염, 만성 기관지염, 낭성 섬유종 등의 호흡기 질환에서 볼 수 있는 공통적인 현상이다. 기도 상피세포라 하면 기도점막을 덮고 있는 표면 상피세포와 표면상피세포의 함몰로 형성되는 선조직의 두 가지가 포함되며 표면상피세포와 선조직의 상피세포는 서로 연결되어 있다. 상피세포에서 분비되는 것으로는 점액성 분비물과 비점액성 분비물의 두 가지로 크게 분류될 수 있으며, 점액성 분비물에는 점액(mucin)이 있으며 비점액성 분비물에는 리소자임, 락토페린, 분비성 면역글로블린 A, 과산화효소, 항단백분해효소

(secretory leukocyte protease inhibitors), 알부민 등이 있다^{4,5)}. 현재 호흡기 상피세포에서 분비세포의 분류는 점액성과 장액성으로 나누어져 있는데 이는 조직화학적 및 생화학적 연구에 근거를 둔 분류이며, 일반적으로 점액성 세포는 점액을 분비하며 장액성 세포는 리소자임, 락토페린, 알부민, 및 secretory leukocyte protease inhibitor(SLPI)⁶⁾등을 분비한다고 알려져 있다. 그러나, 서로 다른 분비물들의 분비 조절기전은 아직 불확실하며 매우 피상적인 지식만이 알려져 있다. 최근 보고는 사이토카인, 성장인자들 및 세포외기질이 역할을 할 수 있음을 암시하고 있다⁷⁻⁹⁾. 현재 임상적인 응용을 위해 진행되고 있는 기도 분비물에 대한 연구 중 몇가지를 소개하면, 리소자임은 체내에 존재하는 자연적인 항균성 물질로 최근 AIDS 환자나 면역결핍환자의 대부분에서 사망의 원인이 그램음성균에서 나오는 lipopolysaccharide(LPS)에 의한 쇼크로 인한 것인데 리소자임이 LPS와 반응하여 사망률을 줄일 수 있는 것으로^{10,11)} 이에 대한 연구가 많이 진행되고 있다. 또한 조직의 염증반응시 나타나는 단백분해효소로 인한 정상조직의 손상을 막을 수 있는 항단백분해효소(SLPI)는 일부 상품화가 시도되고 있으며 이 역시 많은 연구가 진행되고 있다. 한편, 최근들어 점액유전자 cDNA가 계속 발견되면서 점액연구에 새로운 장을 열게 되었으며 이에 대한 관심이 높아지고 있어 점액분비에 대한 지견에 초점을 맞추고자 한다.

상피세포의 배양 및 분화유도

최근 기도 상피세포의 생리학적 및 병적인 상태에서, 상피세포의 생화학적 기능 및 조절에 대해 많은 연구가 진행되어 왔다. 여러 실험실에서 상피세포의 배양법에 많은 발전이 있어 그동안 플라스틱 배양용기에 상피세포를 부

착시켜 배양하는 방법(submerged)¹²⁾, 상피세포들을 부유시켜 배양하는 부유법(suspension)¹³⁾, 상피세포를 콜라겐 겔에서 배양하여 상피세포와 콜라겐 겔을 동시에 부유시키는 방법(floating)^{14,15)} 등과 1980년대에 각질세포 배양에 사용되기 시작하여 요즘은 기도 상피세포의 배양에 응용되어 사용하는 Air-liquid culture(ALI)¹⁶⁾ 등이 있다. ALI는 기도상피세포를 투과성 막위에서 배양함으로써 위로는 공기에 노출시키고 세포로의 영양분은 세포의 기저면을 통하여 공급받게끔 하는 것으로 인체와 유사한 조건을 만들어 줌으로써 특히 분비세포의 분화와 섬모상피세포로의 분화에 효과적인 방법으로 알려져 있다. 그러나, 상피세포의 배양에는 상기한 배양시키는 방법만이 중요한 것은 아니고 배양액에 어떤 성분을 포함시키느냐가 기도 상피세포의 분화의 방향을 결정하는 요소이기 때문에 중요하다고 할 수 있다. 따라서 문헌고찰을 하다보면 여러 연구실에서 사용하는 배양액 성분이 서로 다른 것을 쉽게 알 수 있다. 하지만 크게, 혈청을 사용하지 않는 (serum-free) 방법과 혈청을 사용하는 방법의 두가지로 구분될 수 있다. 배양액내에 혈청을 사용하는 가장 큰 이유는 혈청을 사용할 때 기도 상피세포가 잘 자라기 때문인데 배양된 상피세포에서 어떤 물질의 반응을 보고자 할 때는 결과 해석에 어려운 점에 도달하게 된다. 즉 보고자 하는 어떤 물질의 효과가 전혀 없을 경우 그 물질이 이미 배양액에 사용된 혈청내에 이미 포화상태로 있을 가능성을 배제할 수 없기 때문에 결과를 해석할 수 없는 문제점이 있어 여러 실험실에서는 가능한 defined medium 즉 배양액에 들어 있는 모든 성분을 알 수 있는 배양액을 사용하려는 시도가 진행되고 있으나 아직 완전한 defined medium으로 배양하기에는 어려운 점이 있다. 현재 상피세포의 배양에는 혈청 대신 섬유아세포의 배양이 억제되는

장점이 있는 bovine pituitary extract(BPE)를 많이 사용하고 있다. BPE는 혈청을 사용하는 것보다 여러 가지 장점이 있으며 논문에서는 serum-free 배양액으로 표기를 하고 있으나 이것 또한 undefined medium의 일종이라 할 수 있다. 필자도 실험실에서 미국 Pel-Freez사에서 bovine pituitary를 구입하여 만들어 사용하고 있다.

지금까지 기니 피크^{17,18)}, 햄스터^{19,20)}, 쥐^{21,22)} 및 사람^{23,24)}의 기도 상피세포 배양이 다양하게 진행되어, 생체 기도 상피세포와 형태학적 및 기능적으로 유사한 특징을 가지고 있는 상피세포의 분화 및 배양이 이루어져 왔다. 그러나 상피세포를 플라스틱 용기에서 잠수시킨 채 배양하게 되면 대부분 다양한 정도의 점액섬모상피로의 분화능력에 손상이 오게되는데, 햄스터 기관 상피세포는 submerged 상태에서 배양해도 점액을 분비하는 세포 뿐만 아니라 섬모상피세포도 관찰된다고 보고되어 있어²⁵⁾ 종에 따라 많은 차이가 있는 것을 알 수 있다.

각종 실험에서 사람의 기도상피세포로 실험을 하게 되면 가장 바람직하나, 일차배양세포를 가지고는 한 사람에서 다양한 실험군을 만들 수 있을 만한 충분한 세포수를 얻기가 어렵고, 여러 사람의 일차 상피세포를 사용할 경우는 donor to donor variation이 커서 결과 해석을 하기 어려운 점, 오염될 가능성에 대한 문제점 등으로 인하여 실험 디자인에 아주 어려운 점이 많았다. 1996년 National Institute of Environmental Health Sciences(NIEHS)에 있는 Dr. Nettesheim의 연구소에서 사람 기도 상피세포를 점액분비세포와 섬모상피세포로 분화하는 능력의 소실없이 계대배양하여 각 passage에서 그 특성을 밝힘으로써, 실험에 필요한 충분한 양의 세포를 확보하는데 성공하였으며²⁶⁾ 실험모델로서 편평화생과 점액과분비상태를 만들었다. 한편, 이 배양 체계를 이용하여

배양된 상피세포를 NIH 등의 여러 연구소에서 이용하고 있다. 그외에 연구하기가 비교적 쉬운 SPOC1(rat tracheal epithelial cell line)²⁷⁾ 등의 여러 가지 epithelial cell line을 이용하기도 한다.

점액(Mucin)

점액은 분자량이 매우 크고 다분산성(poly-disperse)이며, 당질화가 심하게 되어 있는 것으로, 당질이 건조무게중 80%를 차지하며 분비성(secretory)과 막에 붙어 있는(membrane bound) 두가지가 있다²⁸⁾. 분비성 점액(secretory mucin)은 호흡기, 소화기, 및 생식기에서 점도가 높은 점액을 분비하는데 관여하며 core peptide와 연결된 당질로 구성되어 아주 큰 oligomers를 형성한다. 이것이 세포로부터 분비되어 점액성 겔(mucous gel)을 형성하여 점액섬모 수송과 건조로부터의 보호 및 세균의 침입을 막는 등의 중요한 역할을 하게 된다^{29,30)} (Fig. 1). 막에 붙어 있는 점액(membrane bound mucin)은 소수성 영역을 갖고 있어 oligomer를 형성하지 않으며 염증성 세포로부터 상피세포의 손상을 막고, 분비도 되며, 상피세포의 분화에도 어떤 역할을 하는 것으로 알려져 있다³¹⁻³³⁾. 점액의 core peptide는 많은 O-linked glycan chains 때문에 전통적인 방법으로는 아미노산의 배열을 알기가 어려운 점이 있었다.

지금까지 사용되었던 점액에 대한 연구방법으로는 첫째, 당단백질의 산성(sialylated or sulphated)과 중성을 구분할 수 있는 AB-PAS 조직화학 염색(Fig. 2), 둘째, 렉틴염색을 이용하여 점액에 있는 당질의 종류를 알아내는 것(Fig. 3), 셋째는 점액생성에 사용되는 아미노산 등을 방사선 동위원소로 표식(³H)glucosamine, [¹⁴C]threonine, 혹은 [³⁵S]sulfate)하여 그 생성량과 분비량을 간접적으로 알아내는

체의 특이성을 검증하기가 어려운 점을 고려할 때 점액의 core peptide에 특이성을 가진 항체를 만드는 것이 무엇보다도 중요하겠고 또한 각각의 점액유전자에 특이적인 항체를 만들어야만이 각 점액의 여러 가지 질환에서의 역할과 특성을 밝힐 수 있는 길이 열리기 때문에 현재 많은 시도가 되고 있다.

Fig. 1. Scanning electron microscopy of human nasal inferior turbinate. Mucin coming out of glandular duct is noted

법 등을 이용하여 왔으나, 이것은 점액뿐만 아니라 hyaluronic acid, heparin sulfate, keratin sulfate 및 chondroitin sulfate와 같은 proteoglycan도 함께 측정되는 문제점이 있다. 좀더 특이적으로 점액을 측정하기 위해 size-exclusion chromatography³⁴⁾나 proteoglycan-degrading enzyme³⁵⁾으로 처리한 후 방사선 동위원소로 표식하는 방법을 사용하기도 하였다. 최근에는 점액에 대한 단클론성 항체를 개발하여, 항체(17Q2³⁶⁾, H6C5 등)와 사람에서 추출한 순수점액을 이용한 immunoblot 방법으로 점액의 양을 정량적으로 측정하여 어떤 조건에서 분비된 점액의 양을 보다 정확하게 연구할 수 있게 되었다. 필자는 사람 정상기도 상피세포 10⁶ 개당 분비되는 점액의 양을 dot blot을 이용하여 μg 단위로 정량하였다. 하지만 현재 각 연구소에서 만들어 사용하고 있는 점액 항

Fig. 2. AB-PAS stain of human nasal inferior turbinate. Goblet cells were stained

점액유전자(Mucin genes)

각 점액의 구조와 기능은 생화학적 및 면역학적 방법을 통해 밝히기가 어려워 지금까지는 일반적으로 점액유전자의 분석으로 연구가 진행되고 있다. 분자생화학적 기법의 발달로 최근 점액유전자의 cDNA 구조가 밝혀지고 있으며 많은 점액유전자가 in situ hybridization에 의해 기도 점막에서 발견되었지만 아직 어떤 점액유전자가 주요 유전자인지가 확실하지 않다. MUC mRNA들이 점액분비 이전에 먼저 발현이 된다는 사실은 의미있는 일로써 이러한 시간 차이는 점액유전자의 활성화에 연이은 apomucin의 형성 및 당질화(glycosylation)되어 분비에 걸리는 시간 소요때문일 것으로 생각된다. 현재는 MUC1에서 MUC8까지 (이중

Fig. 3. Lectin(WGA) stain of submucosal glands. Only mucous cells were stained with WGA. The finding that there were mucous cells in serous acini suggested that serous cells might transdifferentiate into mucous cells under various environments

MUC5는 MUC5AC와 MUC5B의 두가지가 있음) 9개의 점액유전자가 보고되어 있고³⁷⁻⁴⁶⁾ MUC1은 세포막에 붙어 있는 것이며 나머지는 분비성 점액유전자이다. 그중 MUC1, MUC2, MUC3, MUC4, MUC5AC, MUC5B, MUC7, MUC8의 8개가 Northern blotting과 in situ hybridization에 의해 사람의 기도에서 발견되는 것으로 알려져 있으나 아직 각 점액유전자의 역할에 대해서는 모르는 실정이다. 현재까지 점액유전자중 전체 유전자 배열이 밝혀져 있는 것은 MUC2뿐이며 아마도 올 겨울이나 내년 봄에는 MUC5AC의 전체 유전자배열이 밝혀질 것으로 기대된다.

MUC1은 transmembrane 영역을 갖고 있어 분비성이라기 보다는 세포막의 일부로서 만들어지며 다른 것과 비교해서 크기가 작고 한 개의 단백질당(protein monomer) 단지 3개의 cysteine residues를 갖고 있어 다른 분비성 점액들 처럼 심한 당질화가 일어나지 않는 것으로 알려져 있다. MUC1은 세포의 극성을 유지

하며 세포의 형태를 안정시키고³²⁾, 단계별 세포의 인식에 관여하며^{31, 32)} 또한 MUC1의 발현이 MUC5의 발현과 함께 증가하고⁴⁷⁾ 편평화생 때는 발현이 되지않음으로써 상피세포의 점액성 분화와 밀접한 관계가 있다고 할 수 있다. 현재 사람에서 코점막과 기관지 상피세포의 일차 배양에서 발현이 되고 있다³⁷⁾.

MUC2는 4,500개이상의 아미노산으로 구성되어 있는 점액이며 소장과 대장에서 처음 발견되었고 현재 호흡기에도 존재하는 것으로 알려져 있다³⁸⁾. MUC2 점액유전자는 현재 유전자 배열이 완전히 밝혀져 있는 유일한 분비성 점액유전자이지만 An 등은⁴⁸⁾ 아미노산 배열을 유전자로부터 역으로 계산해 보면 MUC2는 사람 기도점막에서 주요 점액유전자가 아닐 것이라고 보고하였다. 호흡기 질환의 연구에 가장 흔히 사용되는 동물인 쥐에서 MUC2는 기관의 표면상피세포에서는 발견되지 않고 점막하 선조직에서만 발현이 되었다. 또한 설치류의 배양된 기도 상피세포에서도 MUC2는 잘 발현이 되지 않는다고 하였다⁴⁹⁾.

MUC3³⁹⁾와 MUC4⁴⁰⁾는 현재 tandem repeat 만 주로 밝혀져 있고 전체에 대한 것은 아직 연구가 미흡하며 MUC3는 사람 소장 cDNA library에서 분리한 반면 MUC4 및 MUC5는 tracheobronchial library에서 추출되었다.

MUC5⁴¹⁻⁴³⁾는 peptide sequence가 기도 점액에서 발견되는 또다른 유일한 점액이어서 많은 연구가 MUC2 및 MUC5의 두가지 점액유전자에 집중되고 있는 상황이나 역시 아직 MUC5-특이적 항체가 없기 때문에 MUC5 점액이 사람기도에서 주요 점액인지를 확인할 수는 없으나 Thornton 등⁵⁰⁾은 MUC5AC가 정상 사람에서는 주요 점액인 반면 만성 기관지염 환자에서는 주요하지 않은 점액이라고 보고하였다. MUC6⁴⁴⁾는 위에서, MUC7⁴⁵⁾은 악하선에서, MUC8⁴⁶⁾은 호흡기 점막에서 각각 clone되어

현재 연구가 진행중이다.

점액유전자 mRNA의 측정방법

대부분의 사람에서 발견되는 분비성 점액유전자는 polydisperse하여 Northern blotting과 같은 전통적인 방법으로는 smear가 나타나 정확한 측정이 어려운 실정이지만 다양한 점액의 정량은 점액의 과분비와 관계있는 질환의 병리기전의 이해에 필수적이라 하겠다. 이러한 필요성으로 인하여 점액을 정량적으로 측정할 때 생기는 문제점을 보완하여 dot-blot assay가 개발되었으며⁵¹⁾ 현재 internal control을 사용하는 competitive RT-PCR이나 Ribonuclease protection assay(RPA) 방법을 사용하여 증가나 감소 등의 변화를 측정하고 있다. Dot-blot assay에 비해 competitive RT-PCR이 가지는 장점은 방사성 동위원소 표지가 필요치 않으며 시간을 절약할 수 있고 더 민감한 방법이며 PCR products의 크기를 알 수 있기 때문에 signal의 비특이성에 의한 background의 가능성을 줄일 수 있다는 장점이 있다. 그러나 RT-PCR 결과에 회의적인 시각을 갖고 있는 사람들은 internal control로 사용되는 MIMIC DNA 대신에 MIMIC RNA를 사용해야 한다고 하며 서로 다른 조건에서의 RNA는 서로 다른 정도의 reverse transcription efficiency를 가질 수 있고 또한 같은 조건에서 추출된 RNA라고 할지라도 다른 reverse transcription efficiency를 나타낼 수 있다는 점 때문에 기존의 전통적인 방법과 반드시 함께 시행하여 결과를 확인하여야 한다는 의견도 있다. 하지만 정량적 RT-PCR를 주장하는 사람들은 cDNA 합성율은 다른 RNA사이에서도 다를 수 있고, 심지어는 같은 유전자의 primer를 디자인할 때도 디자인한 부위에 따라서도 다를

수 있기 때문에 더 좋은 방법이 없는 상태에서 이러한 주장은 설득력이 없다고 얘기하고 있다. 점액 mRNA의 측정을 위한 정량적 RT-PCR방법은 Guzman 등⁵²⁾ 이 1996년에 발표하였고 RPA 방법은 Basbaum의 연구소에서 많이 사용하고 있다.

상피세포의 점액성 분화 및 편평화생

사람 기도 상피세포가 어떤 과정을 통해 분비세포로 분화가 되는지에 대한 연구가 미흡하여 분화를 유도하는 인자나 분화의 과정에 대한 이해가 매우 부족한 실정이다. 그러나 epidermal growth factor(EGF)와 retinoic acid(RA)에 대한 연구는 비교적 진행되어 있어 EGF가 기관 점막의 분비세포의 분화를 촉진시키는 것으로 보고하였으나⁵²⁾ 필자의 연구에서는 EGF는 점액분비에 별 영향을 주지 못하였다(unpublished data). 한편 RA는 대부분의 상피세포 배양에서 필수적인 성분으로 사용되고 있는데 필자의 연구결과에 의하면 RA가 10^{-9} M 이상 유지되어야 상피세포가 점액섬모상피로 분화되었으며 10^{-9} M 미만일 때는 EGF 농도와 무관하게 상피세포가 편평상피세포로 분화가 되었다. 따라서 RA는 점액섬모상피세포로의 분화에 필수적인 요소로 생각되고 있다. Koo 등⁵³⁾은 RA를 배양액에서 결핍시켜 상피세포의 편평화생을 유도한 후 편평화생의 초기와 후기에 RA를 투여함으로써 점액섬모상피로 회복이 가능한 지를 관찰하여 편평화생의 분화정도에 관계없이 모두 점액섬모상피세포로 회복이 가능하였다고 하였다. 따라서 기도에서 나타나는 편평화생은 염증 매체 및 만성 자극 등에 의해 이차적으로 점막에서 국소적으로 RA의 결핍현상으로 인하여 생기는 현상일 가능성이 있음을 암시하고 있다.

점액분비를 증가시키는 물질들과 기전

기도 상피세포에서 점액의 분비는 주로 자극성 가스나 염증 매체들에 의해 영향을 받는다. 즉 상피세포가 오존, endotoxin, SO₂, 바이러스 혹은 염증 매체들에 노출되었을 때 점액분비가 증가한다는 보고되어 있어^{54, 55, 56} 이들이 어떤 기전에 의해 점액분비를 증가시키는 지에 대한 많은 관심이 있는 실정이다. 염증 매체중에서는 PAF와 PGF₂α와 같은 eicosanoids가 점액분비의 주요 자극제로 주목을 받고 있다. 최근 점액분비를 유발하는 기전에 대한 연구가 진행되어 adenosine triphosphate(ATP)는 G 단백질에 의해 phospholipase C(PLC)에 연결되어 있는 세포막에 존재하는 P₂ purinoceptors와 결합함으로써 점액분비를 증가시킨다고 하였고⁵⁷⁻⁵⁹ Larivee 등⁶⁰은 platelet activating factor (PAF)가 점액분비를 증가시키고 이것은 protein kinase C(PKC) 억제제들에 의해 완전하게 점액분비를 막을 수 있다고 보고하였다. 또한 Kai 등⁶¹은 4β-phorbol 12α-myristate 13-acetate(PMA)가 햄스터 기관상피세포에서 점액분비를 증가시킨다고 하였고 이러한 PMA로 인한 점액분비는 PKC억제제에 의해 완전히 막을 수 있다고 보고하였다. 한편 Ko 등⁶²은 PMA로 전처리하여 PKC를 탈감작시킬때 ATP로 인한 점액분비를 완전히 막을 수는 없었다고 보고하여 ATP로 인한 점액분비는 아직 확인되지는 않았지만 PKC 이외에 점액분비와 관련된 또다른 신호전달 체계가 존재함을 암시하였다. Wright 등⁶³은 reactive nitrogen species(RNS)도 점액분비를 증가시키며 이것의 신호전달체계는 PLC를 경유하나 PKC는 무관할 것으로 보고하였다. Li 등⁶⁴은 LPS에 의한 점액분비는 tyrosine kinase inhibitors인 genistein 혹은 tyrphostin AG126을 전처리하면 완전하게 점액분비를 막을 수 있다고

보고하여 cystic fibrosis 환자에서 주요 사망원인인 septic shock을 LPS antagonists 나 tyrosine kinase inhibitors를 사용하여 morbidity 와 mortality를 막을 수 있을 것으로 추정하였다.

결 론

다양한 기도 질환에서 분비되는 점액의 특성을 분석하고 점액유전자의 조절을 위해 연구가 진행중이다. 현재 분비성 점액유전자중 MUC2의 promotor가 클론되어 있고 올 겨울쯤이면 아마도 MUC5AC의 promotor도 클론될 예정이다. 또한 점액분비에 관여하는 결정적인 signal transduction 경로 즉 PKC, arachidonic acid cascade, NOS, MAPkinase 등과 이것을 억제할 수 있는 억제제의 효과를 연구하고 있으며, 점액유전자의 promotor로 transcriptional activation assay를 시행하여 점액유전자의 transcription을 억제할 수 있는 방법이 시도되고 있어 향후 지금까지 사용되고 있는 어떤 약보다도 점액분비 억제에 특이성을 가진 새로운 약이 개발될 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

- 1) Wanner A: The role of mucociliary dysfunction in bronchial asthma. Am J Med 67:477-85, 1979
- 2) Kim CS, Eldridge MA: Aerosol deposition in the airway model with excessive mucus secretions. J Appl Physiol 59: 1766-72, 1985
- 3) Kim CS, Eldridge MA, Wanner A: Air-

- way responsiveness to inhaled and intravenous carbachol in sheep; effect of airway mucus. *J Appl Physiol* 65:2744-51, 1988
- 4) Basbaum CB, Jany B, Finkbeiner WE: The serous cell. *Annu Rev Physiol* 52: 97-113, 1990
 - 5) Basbaum C, Finkbeiner W: Mucus producing cells of the airway. In *Lung Cell Biology*. D. Massaro, editor, Marcel Dekker, New York. 7-79, 1989
 - 6) Sallenave J-M, Shulmann J, Crossley J, Jordana M, Gauldie J: regulation of secretory leukocyte proteinase inhibitor (SLPI) and elastase-specific inhibitor (ESI/Elafin) in human airway epithelial cells by cytokines and neutrophilic enzymes. *Am J Respir Cell Mol Biol* 11: 733-41, 1994
 - 7) Guzman K, Randell SH, Nettesheim P: Epidermal growth factor regulates expression of mucous phenotype of rat tracheal epithelial cells. *Biochem Biophys Res Comm* 217:412-8, 1995
 - 8) 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* 12:196-204, 1995
 - 9) Yoon JH, Gray T, Guzman K, Koo JS, Nettesheim P: Regulation of the secretory phenotype of human airway epithelium by retinoic acid, triiodothyronine, and extracellular matrix. *Am J Respir Cell Mol Biol* 16:724-31, 1997
 - 10) Jolles P, Jolles J: What's new in lysozyme research? *Mol cell Biol* 63:165-89, 1984
 - 11) Takada K, Ohno N, Yadomae T: Binding of lysozyme to lipopolysaccharide suppress tumor necrosis factor production in vivo. *Infection and Immunity* 62:1171-5, 1994
 - 12) Ostrowski LE, Nettesheim P: Inhibition of ciliated cell differentiation by fluid submersion. *Exp Lung Res* 21:957-70, 1995
 - 13) Bridges MA, Walker DC, Harris RA, Wilson BR, Davison AGF: Cultures human nasal epithelial multicellular spheroids: polar cyst-like model tissues. *BiochemCell Biol* 69:102-8, 1991
 - 14) Emerman JT, Pitelka DR: Maintenance and induction of morphological differentiation in dissociated mammary epithelium on floating collagen membrane. *In Vitro* 13:316-28, 1977
 - 15) Yoon JH, Lee JG, Choi JW, Park IY: Differentiation of human nasal epithelial cells by floating method: a transmission electron microscopic study. *Korean J Otolaryngol* 38:1201-5, 1995
 - 16) Adler KB, Schwarz JE, Whitcutt MJ: A new chamber system for maintaining differentiated guinea pig respiratory epithelial cells between air and liquid phases. *Biotechniques* 5:145-54, 1987
 - 17) Whitcutt MJ, Adler KB, Wu R: A biphasic chamber system for maintaining polarity of differentiation of cultured respiratory tract epithelial cells. *In Vitro Cell Dev Biol* 24:420-8, 1988

- 18) Adler KB, Cheng PW, Kim KC: Characterization of guinea pig tracheal epithelial cells maintained in biphasic organotypic culture: cellular composition and biochemical analysis of released glycoconjugates. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2: 145–54, 1990
- 19) Moller PC, Partridge LR, Cox RA, Pellegrini V, Ritchie DG: The development of ciliated and mucus cells from basal cells in hamster tracheal epithelial cultures. *Tissue & Cell* 21:195–8, 1989
- 20) Niles R, Kim KC, Hyman B, Christensen T, Wasano K, Brody J: Characterization of extended primary and secondary cultures of hamster tracheal epithelial cells. *In Vitro Cell Dev Biol* 24: 457–63, 1988
- 21) Kaartinen L, Nettekheim P, Adler KB, Randell SH: Rat tracheal epithelial cell differentiation in vitro. *In Vitro Cell Dev Biol* 29A:481–92, 1993
- 22) Davenport EA, Nettekheim P: Regulation of mucociliary differentiation of rat tracheal epithelial cells by type 1 collagen gel substratum. *Am J Respir Cell Mol Biol* 14:19–26, 1996
- 23) Wu R, Martin WR, Robinson CB, St. George JA, Plopper CG, Kurland G, Last JA, Cross CE, McDonald RJ, Boucher R: Expression of mucin synthesis and secretion in human tracheobronchial epithelial cells grown in culture. *Am J Respir Cell Mol Biol* 3:467–78, 1990
- 24) Hanamura Y, Deguchi K, Ohyma M: Ciliogenesis and mucus synthesis in cultured human respiratory epithelial cells. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 103:889–95, 1994
- 25) Lee TC, Wu R, Brody AR, Barrett JC, Nettekheim P: Growth and differentiation of hamster tracheal epithelial cells in culture. *Exp Lung Res* 6:27–45, 1984
- 26) Gray T, Guzman K, Davis CW, Abdullah LH, Nettekheim P: Mucociliary differentiation of serially passaged normal human tracheobronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 14:104–12, 1996
- 27) Randell SH, Liu JY, Ferriola PC, Kaartinen L, Doherty MM, Davis CW, Nettekheim P: Mucin production by SPOC1 cells—an immortalized rat tracheal epithelial cell line. *Am J Respir Cell Mol Biol* 14:146–54, 1996
- 28) Rose MC: Mucins: structure, function, and role in pulmonary diseases. *Am J Physiol* 263:L413–L29, 1992
- 29) Gum JR: Mucin genes and the proteins they encode: structure, diversity, and regulation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 7:557–64, 1992
- 30) Kim YS, Gum JR, Byrd JC, Toribara NW: The structure of human intestinal apomucins. *Am Rev Respir Dis* 144:S10–S4, 1991
- 31) Aplin JD, Sief MW, Graham RA, Hey NA, Behzad F, Campbell S: The endometrial cell surface and implantation. Expression of the polymorphic mucin muc-1 and adhesion molecules during the endometrial cycles. *Ann NY Acad Sci* 734:103–21, 1994
- 32) Gendler SJ, Spicer AP, Lalani EN, Du-

- hig T, Peat N, Burchell J, Pemberton L, Boshell M, Taylor-papadimitriou J: Structure and biology of a carcinoma-associated mucin. *Am Rev Respir Dis* 144:S42-S7, 1991
- 33) Parry G, Li J, Stubbs J, Bissel MJ, Schmidhauser C, Spicer AP, Gendler SJ: Studies of MUC-1 mucin expression and polarity in the mouse mammary gland demonstrate developmental regulation of MUC-1 glycosylation and establish the hormonal basis for mRNA expression. *J Cell Science* 101:191-9, 1992
- 34) Cheng PW, Sherman JM, Boat TF, Bruce M: Quantitation of radio-labeled mucous glycoproteins secreted by tracheal explants. *Anal Biochem* 117:301-6, 1981
- 35) Adler KB, Schwartz JE, Anderson WH, Welton AF: Platelet activating factor stimulates secretion of mucin by explants of rodent airways in organ culture. *Exp Lung Res* 13:25-43, 1987
- 36) St. George JA, Cranz DL, Zicker SC, Etchison JR, Dungworth DL, Plopper CG: An immunohistochemical characterization of rhesus monkey respiratory secretions using monoclonal antibodies. *Am Rev Respir Dis* 132:556-63, 1985
- 37) Hollingsworth MA, Batra SK, Qi W-N, Yankaskas JR: MUC1 mucin mRNA expression in cultured human nasal and bronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 6:516-20, 1992
- 38) Gerard C, Eddy RL, Shows TB: The core ploypeptide of cystic fibrosis tracheal mucin contains a tandem repeat structure. Evidence for a common mucin in airway and gastrointestinal tissue. *J Clin Invest* 86:1921-7, 1990
- 39) Gum JR, Hicks JW, Swallow DM, Lagace RL, Byrd JC, Lamport DTA, Siddiki B, Kim YS: Molecular cloning of cDNAs derived from a novel human intestinal mucin gene. *Biochem Biophys Res Comm* 171:407-15, 1990
- 40) Porchet N, Cong NV, Dufosse J, Audie JP, Guyonnet-Duperat V, Gross MS, Denis C, Degand P, Bernheim A, Aubert JP: Molecular cloning and chromosomal localization of a novel human tracheo-bronchial mucin cDNA containing tandemly repeated sequences of 48 base pairs. *Biochem Biophys Res Comm* 175:414-22, 1991
- 41) Meerzaman D, Charles P, Daskal E, Polymeropoulos MH, Martin BM, Rose RC: Cloning and analysis of cDNA encoding a major airway glycoprotein, human tracheobronchial mucin(MUC5). *J Biol Chem* 269:12932-9, 1994
- 42) Guyonnet-Duperat V, Audie JP, Debailleul V, Laine A, Buisine MP, Galiegue-Zouitina S, Pigny P, Degand P, Aubert JP, Porchet N: Characterization of the human gene MUC5AC: a consensus cysteine-rich domain for 11p15 mucin genes. *Biochem J* 305:211-9, 1995
- 43) Aubert JP, Porchet N, Crepin M, Duteque-Coquillaud M, Vergnes M, Mazzuca M, Cebuire B, Petitprez D, Degand P: Evidence for different human tracheobronchial mucin peptides deduced

- from nucleotide cDNA sequence. *Am J Respir Cell Mol Biol* 5:178–5, 1991
- 44) Toribara NW, Robertson AM, Ho SB, Kuo WL, Gum E, Hicks JW, Gum JR, Byrd JC, Siddiki B, Kim YS: Human gastric mucin, Identification of a unique species by expression cloning. *J Biol Chem* 268:5879–85, 1993
- 45) Bobek LA, Tsai H, Biesbrock AR, Levine MJ: Molecular cloning, sequence, and specificity of expression of the gene encoding the low molecular weight human salivary mucin(MUC7). *J Biol Chem* 268: 20563–9, 1993
- 46) Shankar V, Pichan P, Eddy RL Jr, Tonk V, Nowak N, Sait SN, Shows TB, Schultz RE, Gotway G, Elkins RC, Gilmore MS, Sachdev GP: Chromosomal localization of a human mucin gene (MUC8) and cloning of the cDNA corresponding to the carboxy terminus. *Am J Respir Cell Mol Biol* 16:232–41, 1997
- 47) Guzman K, Bader T, Nettekheim P: Regulation of MUC5 and MUC1 gene expression: correlation with airway mucous differentiation. *Am J Physiol* 270: L846–L853, 1996
- 48) An G, Luo G, Wu R: Expression of MUC2 gene is down-regulated by vitamin A at the transcriptional level in vitro in tracheobronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 10:546–51, 1994
- 49) 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* 271:L1023–L8, 1996
- 50) Thornton DJ, Carlsted I, Howard M, Devine PL, Price MR, Sheehan JK: respiratory mucins: identification of core proteins and glycoforms. *Biochem J* 316:967–75, 1996
- 51) Voynow JA, Rose MC: Quantitation of mucin mRNA in respiratory and intestinal epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 11:742–50, 1994
- 52) St. George JA, Read LC, Cranz DL, Tarantal AF, George–Nasimento C, Plopper CG: Effect of epidermal growth factor on the fetal development of the tracheobronchial secretory apparatus in rhesus monkey. *Am J Respir Cell Mol Biol* 4:95–101, 1991
- 53) Koo JS, Yoon, JH, Gray T, Norford D, Jetten AM, Nettekheim P: Regulation of the mucous phenotype and mucin gene expression in human bronchial cells by retinoic acid. *Am J Physiol*(submitted)
- 54) Harkema JR, Hotchkiss JA: In vivo effects of endotoxin on nasal epithelial mucosubstances: quantitative histochemistry. *Exp Lung Res* 17:743–61, 1991
- 55) Harkema JR, Hotchkiss JA, Henderson RF: Effect of 0.12 and 0.80 ppm ozone on rat nasal and nasopharyngeal epithelial mucosubstances: quantitative histochemistry. *Toxicol Pathol* 17:525–35, 1989
- 56) Jany B, Gallup M, Tsuda T, Basbaum-CB: Mucin gene expression in rat airways following infection and irritation.

- Biochem Biophys Res Comm 181:1-8, 1991
- 57) Kim KC, Lee BC: P2 puriniceptor regulation of mucin release by airway goblet cells in primary culture. Br J Pharmacol 103:1053-6, 1991
- 58) Davis CW, Dowell ML, Lethem M, van Scott M: Goblet cell degranulation in isolated canine tracheal epithelium: response to exogenous ATP, ADP, and adenosine. Am J Physiol 262:C1313-C23, 1992
- 59) Kim KC, Zheng QX, van Seuning I: Involvement of a signal transduction mechanism in ATP-induced mucin release from cultured airway goblet cells. Am J Respir Cell Mol Biol 8:121-5, 1993
- 60) Larivee P, Levine SJ, Martinez A, Wu T, Logun C, Shelhamer JH: Platelet activating factor induces airway mucin release via activation of protein kinase C: evidence for translocation of protein kinase C to membranes. Am J Respir Cell Mol Biol 11:199-205, 1994
- 61) Kai H, Yoshitake K, Isohama Y, Hanamura I, Takahama K, Miyata T: Involvement of protein kinase C in mucus secretion by hamster tracheal epithelial cells in culture. Am J Physiol 267:L526-L30, 1994
- 62) Ko KH, Jo M, McCracken K, Kim KC: ATP-induced mucin release from cultured airway goblet cells involves, in part, activation of protein kinase C. Am J Respir Cell Mol Biol 16:194-8, 1997
- 63) Wright DT, Li CM, Fisher BM, Akley NJ, Adler KB: Reactive nitrogen species(RNS) stimulate secretion of mucin by primary cultures of guinea pig tracheal epithelial(GPTE) cells. Am J Respir Crit Care Med 151:A337, 1995
- 64) Li JD, Dohrman AF, Gallup M, Miyata S, Gum JR, Kim YS, Nadel JA, Prince A, Basbaum CB: Transcriptional activation of mucin by Pseudomonas aeruginosa lipopolysaccharide in the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. Proc Natl Acad Sci USA 94:967-72, 1997