

미국 NIH에서의 연수를 마치고

가톨릭대학 의과대학 산업의학센터
임 영

나의 경우 연수기관 결정이 몹시 어려웠는데 그 이유로는 첫째, 소속교실은 예방의학으로 기초분야 이나 실제 일하는 곳은 임상분야이었고 둘째, 진폐증에 관한 일에 흥미가 있었음에도 불구하고 그에 대한 활발한 연구가 진행중인 연구소가 미국 내에 많지 않다는 것이었다. 또 한가지 가장 중요한 것 중 하나가 실제 연구설비나 인원이 풍부하고 정보 교환이 활발히 이루어지는 곳을 선택하는 것이 중요하다는 말을 많이 들어왔기때문인데 다소 생경한 느낌이었지만 그런 면에서 미국 국립보건원을 연수 장소로 정하고 그곳에서 최근 나온 논문들을 보면서 실제 일할 laboratory를 찾던 중 laboratory of molecular immunoregulation(분자생물학적 면역조절연구소)이라는 곳에서 나온 연구논문이 인체내 cytokine의 network, 그 중에서도 fibrogenic cytokine에 관한 것이 많은 연구소를 찾을수 있었다. 다행히 그 쪽 chief인 Joost J. Oppenheim 또한 나의 전공분야에 관하여 관심이 많아 생각보다 순조롭게 일이 진행되어 한달내에 초청장을 받을수 있었다.

미국국립보건원은 미국의 수도인 와싱턴 DC 근처 메릴랜드주의 Bethesda에 주 건물들(현재빌딩 번호가 41번까지 있고 지금도 소아병원 및 의료공학연구용 건물신축 중)이 있고 암연구소중 일부가 협소한 장소문제 때문에 그곳에서 약 40마일 떨어진 Frederick 공군본부기지로 이전하였다고 하는데 내가 갈 곳은 Frederick으로 Bethesda의 아파트에서 매일 왕복 120km 이상을 출퇴근해야 되었다. 불행중 다행인 점은 출퇴근방향이 교통량 폭주방향과

반대이므로 큰 문제는 되지 않았지만 밤에 늦게 귀가할 때나 미국동부의 유명한 폭우, 폭설(93년도) 시에는 목숨을 걸고 운전대를 잡아야 했다.

미국도착 다음 날, 고속도로에서 경찰의 에스코트를 받으며 Frederick National Cancer Institute(미국 국립 암 연구소)를 겨우 찾아 내가 일할곳을 둘러보고 section chief인 Kelvin과 앞으로 내가 맡을 과제에 대하여 그 자리에서 2시간이 넘게 토론을 하였는데 그 과정에서 난 그때까지의 어떤 학술잡지에서도 들어보지 못한 chemokine 또는 intercrine(화학주성 cytokine)이라는 용어를 접하게 되었다. 또한 이 물질들의 수용체의 유전자 발현조절을 통하여 생체내 염증성 또는 면역학적 반응을 조절하는 실험적 연구결과를 볼수 있었는데 특히 염증 반응시 주로 분비되는 interleukin-1, tumor necrosis factor에 의하여 이차적으로 분비가 유도되는 interleukin-8은 대식세포, 단구세포, 그리고 임파구(T-cell)에서 분비되며 강력한 호중구 화학주성을 가지고 있으면서 분진이나 염증, 세균성 또는 탐식과정에 의하여 분비가 자극되며 c-x-c(c:cysteine)의 구조를 가지고 있었다. 이 IL-8은 seven transmembrane domain을 포함하는 G단백연결 수용체를 통하여 기능을 나타내는데 수용체의 많은 부분을 차지하는 Ser-Thr 아미노산 구조를 다른 아미노산으로 치환시킴으로써 IL-8의 호중구 화학주성을 변화시킬수 있는지 즉, 면역학적, 염증성 질환에 있어 cytokine의 분자생물학적 기능에 대한

과제가 남아있었다. 첫째, chemokine이 면역세포(특히 T림파구)에서 화학주성을 조절하는지 둘째, 혈액내 백혈구에서 IL-8 수용체(b)의 결합능 및 화학주성을 나타내는 다른 물질 즉, anaphylatoxin C5a, bacterial formylated tripeptide fMet-Leu-Phe(fMLP)과 함께 공통적으로 seven transmembrane spanning domain을 포함한 G-단백 연결구조를 가진 수용체와의 결합성, 그리고 셋째는 수용체결합이후의 신호변환계(signal transduction)와 이 수용체의 유전자발현을 조절하는 기전을 연구하는 것으로 이는 매우 커다란 과제이고 향후 5년 이상을 계획하는 것이었다.

내 자신의 실험적 경험으로 진폐증의 기본 병태생리가 독성을 지닌 분자에 의한 대식세포의 폐포염이며 여기에 관여되는 것으로 알려진 호중구와 림파구가 중요한 염증매개물질 및 효소를 다량 분비 한다는 것을 이미 알고 있었고 실험적인 분진투여로 진폐증을 유발시킨 흰쥐에서 기관지폐포세척액내 IL-1, TNF는 대조군에 비하여 2배이상 분비가 증가된 것은 이미 발표한 바 있다. 그러나 그 이후에 호중구가 급격히 폐장내로 유입되는 양상에 대한 기전을 설명하기가 어려웠는데 이곳의 실험결과로 유추하여보면 진폐증에서도 IL-8 분비가 증가될 가능성이 있으며 만약 그렇다면 유전자조작(cDNA를 사용하여)을 통한 IL-8과 수용체의 결합조절과 그 이후의 신호변환계 연구로 진폐증의 발생 및 진행경과를 연구할수 있는 중요한 지표가 될수 있을 것으로 생각되었다.

한편 cysteine이 연결된 구조적 특징을 가지고 있는 c-c chemokine은 b수용체에 결합하는 특징이 있으며 단구세포에 있어 화학주성을 나타내는데 그 종류로는 MCP-1(macrophage chemotactic protein), MIP-1a(macrophage inflammatory protein), MIP-1b, RANTES 등이 현재까지 cloning 되어 있으며 이 물질들은 cytomegalovirus(CMV) 유전자내 US28 open reading frame부위와 결합력이 높다는 실험결과로 보아 앞으로 CMV로 인한 발병기전 연구에 중요한 부분을 차지할 것으로 사료되었다.

그 날부터 즉시 각종 조혈세포들의 세포를 구하

여 배양을 시작하면서 한편으로는 종합효소연쇄법을 이용한 IL-8수용체의 합성과 특정부위의 변이유발(mutagen)-즉, Ser-Thr부위의 선택적 변이유발-을 만들어 각 염기의 순서를 sequencing으로 확인하는 작업이 약 1년간 계속되었으며 그 결과 기대했던 변이 수용체 유전자를 만들어 lipopectin 방법으로 293 간질세포에 유전자이입을 하여 대조군(정상 293세포)과 IL-8의 결합능을 방사성동위원소로 그 차이를 비교하였는데 여기에는 세포의 상태, 유전자이입을 일으킨 세포의 배양충유착성소실 등의 문제로 인하여 수없이 반복되는 과정을 통하여 아주 뚜렷한 차이를 얻을수 있었다. 그러나 그와 병행한 세포내 calcium influx실험은 결국 마지막까지 좋은 성적을 얻을수 없었다.

이것과는 별개로 UCSD(University of California, San Diego)대학과 공동연구를 시작하였는데 내독소를 기관내 주입시킨 흰쥐에서 폐조직을 사용하여 RT-PCR(reverse transcription polymerase chain reaction)로 chemokine의 유전자발현을 시간별로 측정된 논문을 발표하였으며 비슷한 방법으로 방사선을 조사하여 폐염증및 섬유화학반응을 유발시킨 쥐에서 cytokine의 변화를 측정하였다. 각종 조직 및 조혈모세포에서의 PLC(phospholipase-C) subtype을 특이항체와 결합시켜 각 조직별로 세포의 PLC효소 아형을 학회에서 일부 발표하였으며 93년 NIOSH주최로 열린 진폐증에 관한 학회에서는 분진에 따른 chemokine수용체 발현의 변화를 발표하였다.

대부분의 과제가 5년 이상의 장기계획에 의한 것이며 실제 임상에 활용하기에는 어려운 기초연구에 그치는 것이 아쉬웠으나 나름대로 2년이라는 시간을 연구실에 매달려 실험에 몰두하여 여러가지 분자생물학적 기법을 배울수 있었던 개인적으로 아주 소중한 기간이었다. 귀국후 그간의 모든 것을 정리해보며 경험했던 기초연구의 임상적 활용 즉, chemokine의 신호변환계에 대한 여러 실험적인 연구와 chemokine의 항체를 이용한 진폐증의 치료분야에 대한 연구를 구상해보며 좀 더 국가적인 차원의 장기적인 투자를 기대해본다. (구체적인 연구개요에 대하여는 다음 호에 소개하겠습니다) ♣