소아과 : 제 45 권 제 5 호 2002년

□ 의학강좌 □

기관지 천식의 Mouse Model

경희대학교 의과대학 소아과학교실

나 영 호

Mouse Model of Bronchial Asthma

Yeong-Ho Rha, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea

서 론

기관지 천식은 다양한 기도 폐색과 기도 과반응성 그리고 기도 염증을 그 특징으로 하는 기도의 만성 염증 질환이다. 기관지 천식의 발생빈도는 여러 약물의 사용에도 불구하고 최근에 들어 증가하고 있으나 천식의 근본적인 발병기전은 아직도 명확치 않은 상태이다.

다양한 실험동물을 이용하여 사람에서 발생하는 질병의 병태생리와 병인을 규명하고 이를 토대로 새로운 약물을 개발하고자 하는 연구는 오래 전부터 시도되어져 왔다. 이는 사람에게 직접 시행하기 어려운 방법을 사용할 수 있고 또한 생체 조직을 비교적 쉽게 얻을 수 있는 장점이 있기 때문이다. 기관지 천식의 경우에도 자연발생 천식 model과 실험적으로 유도한 천식 model 등 다양한 동물 model들이 개발되어 사용되고 있으며 그 중에서 실험적으로 기도과반응성(airway hyperresponsiveness : AHR)을 유도한 model이 가장 흔하게 이용되고 있다. 여러 천식 동물 model 중에서 mouse model이 천식의 면역학적, 병태생리학적 연구에 가장 많이 사용되는 이유로는 면역학적 시약을 쉽게 구할 수 있다는 점과 200여종의 inbred strain이 사용 가능하다는 점, 그리고 knock-out 혹은 transgenic 기술을 통한 유전자 조작이 가능하다는 것 등이다(Table 1).

기관지 천식의 mouse model이 사람의 질환을 완벽하게 재현하지는 못하지만 이미 알려진 알레르기성 폐염증과 AHR의 면역생물학(immunobiology) 정보는 사람에게도 적용이 가능하다. 따라서 본 글에서는 지금까지 mouse model을 사용하여 시행된 실험 결과를 이해하기 위한 기초 정보를 제공하고자 한다.

기관지 천식 mouse model의 특징

천식의 mouse model은 천식의 두가지 주요 특징인 기도의 호산구 염증과 AHR을 발현시킬 목적으로 제작된다. 천식 mouse model의 제작을 위해서 동물에게 항원을 주사하여 전신적으로 감작(sensitization)시키

Table 1. Advantages of the Model of Asthma

Proximity to human disease(including production of specific IgE antibody, the mast cell, T-lymphocytic and eosinophilic tissue infiltrate, Th2 cytokine pattern, and airway hyperresponsivenss to nonspecific bronchoconstrictor)
Ability to study the histopathology of any murine tissue, particularly the bronchoalveolar lavage, airways, lungs, regional lymphnodes, marrow, serum and blood cells
Ability to study the physiology of murine airway
Availability of antibodies and reagents specific to the mouse
Availability of genetically altered mice(both transgenic and gene knockout)
Ability to evaluate potential therapeutic agents of asthma

며, 동일 항원의 기도를 통한 유발(challenge)을 시행하여 기관지와 폐에 염증반응을 집중시킨다.

천식에서 기도염증의 주요 세포인 호산구는 기도 유발 4시간 후부터 골수 내에서 그 수가 증가되어 4-8시간에 최고에 이른 후 폐로 이동하며 폐조직 내의 호산구 침윤은 기도 유발 후 8시간 내에 시작되며 48시간에 절정에 이르게 된다[1]. 이들 호산구는 기관지폐포세척술(Bronchoalveolar lavage : BAL)로 기도 유발 24시간 내에 확인되며 그 수는 2-3일경에 최고에 이른다[2]. 폐조직내 호산구는 기관지주위, 혈관주위에 주로 분포한다. 중성구는 BAL상에서는 기도 유발 후 8-24시간에 현저하게 그 수가 증가되나 AHR 발생에 있어서의 역할은 아직 명확치 않은 상태이다[1]. 이와 같은 폐 염증은 6주경에 완전히 소실된다[2].

천식의 mouse model에서 관찰되는 AHR은 1회의 항원 유발 후에는 24시간 후에 증가되고 48시간이후에는 정상으로 회복된다[1]. 그러나 기도 유발이 3일간 연속으로 시행된 경우에는 조기 AHR은 5분내에 시작되어 15분내에 정점에 도달하여 60분내에 정상화되는 반면에 후기 반응은 기도 유발 3.5시간 후에 발생하여 6시간에 최대가 되고 8.5시간에 정상으로 된다[3].

사람과 mouse의 천식의 차이점

Mouse와 사람의 천식에서 중요한 차이점은 사람의 천식에서 기도 염증이 더 오래 지속된다는 것이다[3]. Mouse model의 경우에는 *Schistosoma mansoni* eggs로 감작시키고 egg 항원으로 유발한 폐에서조차 염증은 단지 2주 동안만 지속된다[4]. Mouse model에서 사용하는 감작 및 유발 protocol로는 급성 천식의 병변만을 관찰할 수밖에 없어 만성 염증을 초래할 목적으로 반복적으로 항원을 유발하면 의도한대로 만성 기도 염증이 나타날 수도 있지만[5], 한편으로는 면역관용(immune tolerance)이 초래될 수도 있다[6]. Kanehiro 등[7]은 이미 감작되고 유발 된 mouse를 제72일째에 재유발(secondary challenge)하여 1차 유발(primary challenge)과는 다른 염증세포의 변화 등을 보고하였으나 이 특정 model과 사람의 천식과의 관계는 앞으로 더 연구가 필요하다. 따라서 아직까지도 만족할만한 만성 기도 염증의 murine model은 없다고 할 수 있다. 그러나 앞서 언급한대로 천식의 mouse model에서 호산구의 혈관주위 및 기관지주위 분포는 사람의 천식에서와 유사하다[8].

감작 및 유발(sensitization and challenge)

천식 mouse model의 제작을 위해서는 감작과 기도유발에 동일한 항원을 사용하여야 한다. BALB/c mouse의 경우에서 사용되는 protocol중 대표적인 것은 제 1일과 14일에 복강내로 항원을 주사하여 감작시키고, 제 28일부터 30일까지 매일 기도 유발을 시행하는 것이다[7]. 실제로 천식의 mouse model을 이용한 각각의 연구는 서로 다른 protocol을 이용한 경우가 많다. 전신 감작에 흔히 사용되는 난황(ovalbumin : OVA)의 용량은 1 ㎍에서 8,000 ㎍까지 다양하나, 대다수의 연구자들은 10-50 ㎍ 사이의 용량을 사용한다[10]. 감작에 사용된 항원의 용량에 따른 천식 model의 결과를 비교한 연구에서는 10 ㎍으로도 성공적으로 천식 model을 제작되었던 반면에 1,000 ㎍으로는 그렇지 못하여[11] 적절한 항원 용량이 천식 model의 제작에 필수적인 것으로 생각된다.

특이 IgE 농도는 감작과 유발을 시행한 경우에 감작만을 시행한 경우보다 높으며 기도 유발을 강화하면 더 강한 AHR과 호산구 염증이 나타난다[12].

항원의 종류 및 항원 투여 경로

천식 mouse model의 제작에 사용된 항원은 IgE와 cytokine 생성에 영향을 미친다. *Der P1*은 1 ㎍ 만으로도 천식 model을 만들 수 있을 정도로 매우 강력한 항원이나[13], BALB/c는 *Der P1* 보다는 OVA에 대해서 더 강한 IgE 반응을 나타낸다[14].

항원을 전식 감작 없이 기도 유발만을 시행한 경우에는 기도 염증이 없이 AHR만이 나타나며 이러한 점막 유도 경로를 통한 AHR 확립은 어떤 mouse strain 즉 BALB/c, AKR, FVB 그리고 SWR에서만 유효하다[9, 12, 15].

기도과반응성(airway hyperresponsiveness) 측정

기관지 천식의 주요 기능 이상은 비특이적인 AHR이라고 할 수 있다. 이것은 기도의 과민성과 과반응성 모두의 증가를 반영한다[16]. 기도과민성(airway hyper-

sensitivity)은 기관지수축제의 용량-반응 곡선의 좌방이동 즉, 기관지수축제의 저용량에 반응하는 성질을 반영하며, 기도과반응성(airway hyperreactivity)은 용량반응 곡선의 가파른 기울기 및 최대 기도폐색의 증가, 즉 일정용량의 기관지수축제에 대한 증가된 반응을 나타내는 능력이다. 불행하게도 이러한 천식의 기능적인 특징은 현재까지 제작된 천식의 murine model에서 완전히 재현되지는 못하고 있다. 살아있는 동물의 기도 과반응성은 기관 평활근의 수축력, 흉벽의 compliance, 기관지 점액의 plugging, 기도의 섬유화등과 같은 인자에 의해 좌우된다[17].

기관지 천식 mouse model에서 AHR의 측정은 매우 중요하다. 현재 mouse model에서 사용되고 있는 폐기능 측정 방법은 모두 세 가지이다. 첫번째는 절개된 기관 평활근의 수축력을 전기 혹은 methacholine으로 자극하여 생체외에서(*ex vivo*) 검사하는 방법이나, 이는 기도 점막의 부종, 점액 과분비 등의 천식의 병태생리의 인자들이 기도 폐색에 미치는 영향을 반영치 못하는 것이 단점이다. 두번째는 생체에서(*in vivo*) 체적변동기록(body plethysmograph) box내의 마취한 mouse에 transtracheal cannla를 장치하여 이를 통하여 기도 압력을 체적변동기록법을 이용하여 측정하는 방법이다. 이 방법은 파괴적이고 정맥삽관과 같은 복잡한 과정을 통해야 하며 기도 압력을 측정하는 동안 항원유발을 시행할 수 없다는 것이 단점이다. 세번째 방법은 생체에서 마취 없이 mouse의 행동을 제약하지 않은 상태에서 체적변동기록 box내의 mouse에서 수학적 매개변수로서 기도 폐색을 반응하는 enhanced pause(Penh)를 측정하는 것이다. 이 방법은 비파괴성으로 실험동물을 생존시켜 계속적인 측정이 가능하여 조기 및 후기 기관지 반응과 기도과반응성의 측정이 가능한 것이 장점이다[18]. 천식의 murine model에서 보이는 전체적인 기도 반응성의 증가는 건강한 사람과 천식환자에서 나타나는 기도반응성의 차이보다는 그 변화가 작다. 사람과 mouse model 사이의 이러한 차이는 아마도 형태학적인 변화의 차이에서 초래되는 것으로 추정된다. 대부분의 천식 mouse model은 항원 노출에 의하여 단지 급성 염증 변화만이 유도될 뿐이며 기도과반응성에 큰 영향을 줄 수 있는 동반된 구조적 변화는 반영치 못하고 있다. 염증의 분포도 역시 사람의 천식과는 다른 양상을 보인다. 즉, 동물 model에서는 염증 변화가 기도내 혹은 주위에 집중 되어있을 뿐만 아니라 흔히 폐 실질 특히 혈관주위의 변화도 포함한다.

Inbred animal(근교배동물) strain에 따른 천식 model의 차이

Inbred animal의 서로 다른 strain은 모든 조건을 같게 하여 천식 model을 제작한 경우에 생리학적으로나 면역학적으로 서로 다른 결과를 나타낸다.

1. 기도과반응성의 차이

감작된 BALB/c mouse가 감작된 C57BL/6보다 높은 AHR을 나타낸다[12]. 이는 절개된 기관 평활근의 경우에도 마찬가지이다[19]. OVA로 감작된 각 mouse strain의 상대적인 AHR은 다음과 같다[4](낮은 순서). A/J, 129/Sv, CBA, C3H/He, C57BL/6, C57BL/10, BALB/c, DBA/1, DBA/2, AKR, FVB, SWR[20].

천식의 mouse model로 흔히 사용되는 C57BL/6에서 낮은 AHR을 보이는 것 다음과 같이 설명되고 있다. 우선 C57BL/6 mouse는 mast cell protease 7 gene에 point mutation을 나타내며[21] 이에 따라 mast cell tryptase에 의한 AHR의 매개에 장애가 생겨 기관지수축제에 반응이 낮다는 것[22]과 또 한편으로 C57BL/6 mouse에서 비만세포의 발달과 B 세포에서 IgE 유리에 간여하는 IL-9의 부적절한 translation이 나타나기 때문이라는 것이다[23]. 이와 같은 낮은 AHR의 발생 기전으로는 C57BL/XA mouse의 골수를 C57BL/6 mouse에 주사 후 AHR이 2배 이상으로 증가하였으나, 미리 T 세포를 제거한 후에는 AHR에 변화가 없어 이러한 AHR의 strain간 차이가 T 세포에 의해서 좌우된다는 것이 제시되었다[24]. 이러한 사실에도 불구하고 C57BL/6 mouse는 이 knock-out animal strain의 유전적 배경을 가지고 있는 경우가 많아 천식 model을 이용한 연구에 많이 사용된다[25].

2. IgE 생산의 차이

항원에 의한 감작 및 기도 유발후 나타나는 IgE 생성의 정도는 모든 mouse strain에서 일정치 않다. BALB/c와 A/J mouse는 감작만을 시행한 후에도 OVA-specific IgE를 생산할 수 있으나, C57BL/6, C3H, CBA, DBA/1 mouse 등은 IgE의 생산에 유발이 필요하며 NZB와 SJL mouse는 감작 및 유발 후에도 전혀 IgE를 생산하지 않는다[26].

Table 2. Cytokines and Murine Asthma

	Cytokine administration	Transgene	Antibody Administration	Gene Knock-out
IL-4	Not reported	Epithelial cell hypertrophy and leukocyte-rich pulmonary infiltration without AHR	Monoclonal anti-IL-4 during systemic sensitization partially reduced the AHR Without affecting airway eosinophillia(BALB/c)	IL-4 deficient C57BL/6 mice have reduced peribronchial inflammation and eosinophil infiltration in the BAL
IL-5	Not reported	Demonstrates the pathognomonic features of murine asthma without allergen sensitization	It successfully prevented murine asthma	Sensitized IL-5-deficient C57BL/6 mice do not have AHR or eosinophilia unlike sensitized IL-5-deficient BALB/c mice that developed AHR exactly as sensitized wild-type ones
IL-6	Not reported	Displays augmented CD4+ lymphocytic infiltrate but reduced AHR compared to wild-type animals due to dilation of bronchiolar diameter with only moderate wall thickening	Not reported	Not reported
IL-8	Not reported	Not reported	Not reported	Sensitized IL-8 receptor deficient BALB/cJ mice display similar pulmonary eosinophilic inflammation as wild-type, but have reduced neutrophil and increased B cell airway infiltaration, as well as increased IgE production AHR is diminished in knockout animals
IL-9	Intratracheal administration induces airway eosinophil recruitment and elevated serum IgE levels	Reduced mast cell accumulation, mucus production, eosinophil accumulation and AHR	Not reported	Not reported
IL-10	Inhibits neutrophilic and eosinophilic infiltration in a dose dependent manner when it is administred topically together with allergen	Not reported	Not reported	IL-10-deficient mice do not develop AHR. They also demonstrate reduced IL-5 production, eosinophilic inflammation and mucus production without notable changes in IL-4 and IgE
IL-13	Not reported	Increased subepithelial fibrosis, mononuclear and eosinophilic infiltration, mucus cell metaplasia, deposition of Charcot-Leyden-like crystals, eotaxin production, and AHR	Reduces mucus production and AHR(but not pulmonary eosinophila) and decreases the expression of eotaxin(not IL-4, IL-5, GM-CSF, or MCP-5)	Not reported
IL-16	Not reported	Not reported	Reduces AHR and Ag specific IgE level, but not tissue eosinophilia. An IL-16 blocking protein has a similar effect	Not reported
IL-18	Enhances IFN-γ and TNF-α a production in sensitized mice but also increased eosinophilic infiltration of the trachea and BAL No effect on AHR	Not reported	Not reported	Not reported

그러나 IgE 반응과 AHR과의 관계는 명확치 않다. 그 예로 SJL mouse는 IgE 혈청 농도가 AZL mouse 보다 낮은 데도 불구하고 더 높은 AHR을 보이며, 또한 BALB/c mouse는 B6D2F1 mouse보다 혈청 총 IgE 및 특이 IgE 농도가 낮지만 보다 높은 AHR을 나타낸다[10].

3. Cytokine 및 세포 반응의 차이

BAL액 및 국소 림프선의 cytokine치는 BALB/c mouse의 경우가 C57BL/6 mouse에서 보다 높으며[19] BAL 액내의 세포수도 BALB/c에서 더 많다.

이상의 결과들을 종합해 보면 감작 및 유발된 BALB/c mouse는 C57BL/6 mouse에 비해서 높은 AHR을 나타내며 보다 많은 혈청 총 IgE, 특이 IgE 그리고 BAL액내 cytokine을 생산하며 및 더 많은 BAL 액내 세포수를 보인다. 따라서 이 두가지 strain이 천식의 동물 연구에서 가장 흔하게 이용되는 사실을 감안할 때 이들 strain 사이의 결과를 서로 추정하는 것은 바람직하지 않다고 할 수 있다.

천식 model 제작에 유전자 조작 mouse의 이용

현재 이용 가능한 knock-out mouse를 이용한 천식 model 제작의 중대한 제한점은 이들의 대부분이 constitutional deletion 이라는 것이다. 즉, 출생시부터 특정 유전자가 제거되어 있는 constitutional knock-out mouse에서는 질병과정의 특정 시기에서의 목표 유전자에 대한 평가가 불가능하다. 그러나 conditional deletions 기술이 계속 개발되어 연구자들이 목표 유전자의 제거 시기를 결정이 가능하게 되고 있다[27]. 그 결과 발달 초기에 필수적인 유전자를 성인 시기에 다다른 후에 제거하여 그 역할을 규명하는 것이 가능하게 되고 있다. 더욱이 이러한 conditional deletion은 특히 1차 항원 감작시기 동안이나 혹은 기억세포에 2차 항원 노출동안 유전자 산물의 역할을 상세하게 연구할 수 있는 기회를 제공할 수 있다.

천식 mouse model을 이용한 천식의 발병기전 연구

기관지 천식은 다인성 질환인 것은 사실이나 최근의 연구 결과들은 그 병리 발생에 T 세포가 중요하게 간여하는 면역 질환이라는 것을 시사하고 있다. 특히 Th2 cytokines(IL-4, IL-5, IL-13, IL-9)를 생산하는 CD4+ T 세포가 이 질환에서 주된 역할을 한다는 사실은 여러 연구 결과를 통해서 제시되었다[28, 29]. 이들 Th2 cytokine은 기도 상피에서 유리된 chemokine 및 염증매체와 함께 알레르기 반응의 1차 효과세포인 비만세포와 호산구 등의 이동과 활성화를 조절하며 이들 효과세포의 활성화는 염증매체의 대량 유리를 초래하여 기도의 병리조직적 변화를 야기 시켜 천식의 증상을 발현시킨다. Cytokine의 역할에 대한 연구는 cytokine을 직접 투여하거나 항체로 중화시키는 방법을 이용할 수 있으며 또한 gene knock-out과 transgenic animal을 사용할 수 있다. Table 2에 현재까지의 천식 mouse model에서 cytokine에 대한 연구 결과를 요약 열거하였다.

결 론

사람의 기관지 천식의 병인을 밝히기 위한 연구들을 인체를 대상으로 시행하는 데에는 제약이 있기 때문에 실험 동물을 이용한 연구가 필요하며, 이러한 동물 실험 결과를 그대로 인체에 적용할 수는 없으나 이것을 토대로 사람에서의 천식의 병인을 추정하는데 있어서 많은 도움을 받을 수 있다. 그러나 mouse의 다른 strain 사이에는 면역계 구성 요소의 기능적인 역할과 자극에 따른 기도반응성에서 중요한 차이가 있고 서로 다른 mouse model에서는 감작 및 노출 과정이 크게 다를 수 있기 때문에 각각의 다른 mouse strain이나 protocol을 사용한 연구 결과를 비교할 때 뿐만이 아니라 특히 천식 mouse model의 연구 결과를 사람의 천식에 적용할 때 이러한 사항을 반드시 고려하여야 하겠다.

참 고 문 헌

1) Tomkinson A, Cieslewicz G, Duez C, Larson A, Lee JJ, Gelfand EW. Temporal association between airway hyperresponsiveness and airway eosinophilia in ovalbumin-sensitized mice. Am J Respir Crit Care Med 2001;163:721-30.
2) Kung TT, Jones H, Adams G III, Umland P, Kreutner W. Egan R, et al. Characterization of a murine model of allergic pulmonary inflammation. Int Arch Allergy Immunol 1994;105:83-90.
3) Cieslewicz G, Tomkinson A, Adler A, Duez C,

Schwarz J, Takeda K, et al. The late, but not early, asthmatic response is dependent on IL-5 and correlates with eosinophil infiltration. J Clin Invest 1999;104:301-8.
4) Mathur M, Herrmann K, Li X, Qin Y, Weinstock J, Elliott D, et al. TRFK-5 reverses established airway eosinophilia but not established hyperresponsiveness in a murine model of chronic asthma. Am J respir Crit Care Med 1999;159:580-7.
5) Temelkovski J, Hogan S, Shepherd D, Foster P, Kumar R. An improved murine model of asthma : selective airway inflammation, epithelial lesions and increased methacholine responsiveness following chronic exposure to aerosolized allergen. Thorax 1988;53:849-56.
6) Yiamouyianns CA, Schramm CM, Puddington L, Stengel P, Baradaran-Hosseini E, Wolyniec W, et al. Shifts in lung lymphocyte profiles correlate with the sequential development of acute allergic and chronic tolerant stages in a murine asthma model. Am J Pathol 1999;154:1911-21.
7) Kanehiro A, Ikemura T, Mäkelä M, Lahn M, Joetham A, Dakhama A, et al. Inhibition of phosphodiesterase 4 attenuates airway hyperresponsiveness and airway inflammation in model of secondary allergen challenge. Am J Respir Cirt Care Med 2001;163:173-84.
8) Bousquet J, Chanez P, Lacoste J, Barneon G, Ghavanian N, Enander I, et al. Eosinophilic inflammation in asthma. N Engl J Med 1990;323:1033-9.
9) Zhang Y, Lamm W, Albert R, Chi E, Henderson, Jr. W, Lewis D. Influence of the route of allergen administration and genetic background on the murine allergic pulmonary response. Am J Respir Crit Care Med 1997;155:661-9.
10) Najajima H, Sono H, Nishimura T, Yoshida S, Iwamoto I. Role of vascular cell adhesion molecule 1/very late activation antigen 4 and intercellular adhesion molecule 1/lymphocyte function-associated antigen 1 interactions in antigen-induced eosinophil and T cell recruitment into the tissue. J Exp Med 1994;179:1145-54.
11) Sakai K, Yokoyama A, Kohno N, Hiwada K. Effect of different sensitizing doses of aptopic asthma. Clin Exp Immunol 1999;118:9-15.
12) Brwere J, Kisselgof A, Martin T. Genetic variability in pulmonary physiologic, cellular and antibody responses to antigen in mice. Am J Respir Crit Care Med 1999;160:1150-6.
13) Clarke A, Thomas W, Rolland J, Dow C, O'Brien M. Murine allergic respiratory responses to the major house dust mite allergen *Der p1*. Int Arch Allergy Immunol 1999;120:126-34.
14) Herz U, Lumpp U, Da Palma J Enssle K, Takatsu K, Schnoy N. The relevance of murine animal models to study the development of allergic bronchial asthma. Immunol Cell Biol 1996;74:209-17.
15) Renz H, Smith H, Henson J, Irvin C, Gelfand E. Aerosolized antigen exposure without adjuvant causes increased IgE production and increased airway responsiveness in the mouse. J Allergy Clin Immunol 1992;89:1127-38.
16) Woolcock A, Salome C, Yan K. The shape of the dose response curve to histamine in asthmatics and normal subjects. Am Rev Respir Dis 1984;130:71-5.
17) Kips J, Pauwels R. The use of knockouts to study determinants of airway hyperresponsiveness. Allergy 1999;54:903-8.
18) Dasic G, Juillard P, Graber P, Herren S, Angell T, Knowles, R et al. Critical role of CD23 in allergen induced bronchoconstriction in a murine model of allergic asthma. Eur J Immunol 1999;29:2957-67.
19) Hessel E, Van Oosterhout A, Hofstra C, De Bie J, Garssen J, Van Loveren H, et al. Bronchoconstriction and airway hyperresponsiveness after ovalbumin inhalation in sensitized mice. Eur J Pharmacol 1995;293:401-12.
20) Foster P, Hogan S, Ramsay A, Matthaei K, Young I. Interleukin-5 deficiency abolishes eosinophila, airways hyperreactivity, and lung damage in a mouse asthma model. J Exp med 1996;183:195-201.
21) Hunt J, Stevens R, Austen K, Zhang J, Xia Z, Ghidyal N. Natural disruption of the mouse mast cell protease 7 gene in the C57BL/6 mouse. J Biol Chem 1996;271:2851-5.
22) Drazen J, Arm J, Austen K. Sorting out the cytokines of asthma. J Exp Med 1996;183:1-5.
23) Nicolaides N, Holroyd K, Ewart S, Eleff S, Kiser M, Dragwa C, et al. Interleukin 9 : a candidate gene for asthma. Proc Natl Acad Sci USA 1997;94:13175-80.
24) De Sanctis G, Itoh A, Green F, Qin S, Kimura T, Grobholz J, et al. T-lymphocytes regulate genetically determined airway hyperresponsiveness in mice. Nature Med 1997;3:460-2.
25) Zijlstra M, Li E, Sajja F, Subranani S, Jaenisch R. Germline transmission of a disrupted β_2-microglobulin gene produced by homologous recombination in embryonic stem cells. Nature 1989;342:435-8.
26) Herz U, Braun A, Ruckert R, Renz H. Various

Immunological phenotypes are asociated with increased airway responsiveness. Clin Exp Allergy 1998;28:625-34.
27) Gossen M, Freundlieb G, Bender G, Muller G, Hillen W, Bujard H. Transcriptioal activation by tetracylines in mammalian cells. Science 1995; 268:1766-9.
28) Gerblich A, Salik H, Schuyler M. Dynamic T cell changes in peripheral blood and bronchoalveolar lavage after antigen bronchoprovocation in asthmatics. Am Rev Respir Dis 1991;143:533-7.
29) Robinson D, Hamid Q, Ying A, Tsicopoulos A, Barkans J, Bentley A, et al. Predominant Th2-like bronchoalveolar T-lymphocyte population in atopic asthma. N Engl J Med 1992;326:298-304.