

□ 원 저 □

리포다당질 (lipopolysaccharide)에 의한 기관지 점액 생성 기전에서 호중구와 상피세포 성장인자 수용체 (epidermal growth factor receptor)의 역할

원광대학교 의과대학 군포병원 내과, 고려대학교 의과대학 내과학교실¹

박상면, 박수연¹, 허규영¹, 이승현¹, 김재형¹,
이상엽¹, 신 철¹, 심재정¹, 인광호¹, 강경호¹, 유세화¹

=Abstract=

The Role of Neutrophils and Epidermal Growth Factor Receptors in Lipopolysaccharide-Induced Mucus Hypersecretion

Sang Myeon Bak, M.D., Soo Yeon Park, M.D.¹, Gyu Young Hur, MD.¹,
Seung Heon Lee, M.D.¹, Je Hyeong Kim M.D.¹, Sang Yeub Lee, M.D.¹,
Chol Shin, M.D.¹, Jae Jeong Shim, M.D.¹, Kwang Ho In, M.D.¹,
Kyung Ho Kang, M.D.¹, Se Hwa Yoo, M.D.¹

*Kunpo Hospital of Wonkwang University,
Department of Internal Medicine, College of Medicine, Korea University*

Background : Goblet cell hyperplasia is a critical pathological feature in hypersecretory diseases of the airways. A bacterial infection of the lung is also known to induce inflammatory responses, which can lead to the overproduction of mucus. Recently, mucin synthesis in the airways has been reported to be regulated by neutrophilic inflammation-induced epidermal growth factor receptor (EGFR) expression and activation. In addition, it was reported that migration of the activated neutrophils is dependent on the matrix metalloproteinases (MMPs), especially MMP-9. In this study, bacterial lipopolysaccharide (LPS)-induced goblet cell hyperplasia and mucus hypersecretion by EGFR cascade, resulting from the MMPs-dependent neutrophilic inflammation were investigated in the rat airways.

Methods : Pathogen-free Sprague-Dawley rats were studied in vivo. Various concentrations of LPS were instilled into the trachea in 300 μ l PBS (LPS group). Sterile PBS (300 μ l) was instilled into the

Address for correspondence:

Se Hwa Yoo, M.D.

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Korea University

126-1, 5Ga, Anam-dong, Sungbuk-gu, Seoul, 136-705, Korea

Phone : 02-920-5314 Fax : 02-924-0545 E-mail : yoosh47@unitel.co.kr

trachea of the control animals (control group). The airways were examined on different days after instilling LPS. For an examination of the relationship between the LPS-induced goblet cell hyperplasia and MMPs, the animals were pretreated 3 days prior to the LPS instillation and daily thereafter with the matrix metalloproteinase inhibitor (MMPI; 20 mg/Kg/day of CMT-3; Collagenex Pharmaceuticals, USA). The neutrophilic infiltration was quantified as a number in five high power fields (HPF). The alcian blue/periodic acid-Schiff (AB/PAS) stain were performed for the mucus glycoconjugates and the immunohistochemical stains were performed for MUC5AC, EGFR and MMP-9. Their expressions were quantified by an image analysis program and were expressed by the percentage of the total bronchial epithelial area.

Results : The instillation of LPS induced AB/PAS and MUC5AC staining in the airway epithelium in a time- and dose-dependent manner. Treatment with the MMPI prevented the LPS-induced goblet cell hyperplasia significantly. The instillation of LPS into the trachea induced also EGFR expression in the airway epithelium. The control airway epithelium contained few leukocytes, but the intratracheal instillation of LPS resulted in a neutrophilic recruitment. A pretreatment with MMPI prevented neutrophilic recruitment, EGFR expression, and goblet cell hyperplasia in the LPS-instilled airway epithelium.

Conclusion : Matrix metalloproteinase is involved in LPS-induced mucus hypersecretion, resulting from a neutrophilic inflammation and EGFR cascade. These results suggest a potential therapeutic role of MMPI in the treatment of mucus hypersecretion that were associated with a bacterial infection of the airways. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2003, 54:80-90)

Key words : Goblet cell hyperplasia, Mucus hypersecretion, Epidermal growth factor receptor, Neutrophilic inflammation, Lipopolysaccharide

서 론

배상세포의 과형성으로 인한 점액의 과다분비(mucus hypersecretion)는 기관지 천식이나 만성 기관지염¹, 낭성 섬유증(cystic fibrosis) 및 기관지 확장증² 등의 만성 염증성 기도질환이 있는 환자들의 이환율 및 사망률을 증가시키는 주된 요인이다. 또한 세균성 감염도 염증 반응을 유발함으로써, 임상적으로 점액 과다 분비를 일으키지만^{3,5}, 구체적인 기전에 대한 연구는 매우 적은 실정이다.

그러나 최근 보고된 바에 의하면, 호중구성 염증으로부터 생성된 종양괴사인자(tumor necrosis

factor- α , TNF- α 로 인하여 상피성 성장인자 수용체(epidermal growth factor receptor, EGFR)의 발현이 증가되며, 발현된 EGFR은 EGFR 리간드(ligands)와 활성산소종(reactive oxygen species)에 의해서 활성화되어 EGFR 티로신 키나아제(tyrosine kinase)의 인산화를 초래하여, 결과적으로 기도의 주된 점액소인 MUC5AC의 합성이 증가되고 배상세포의 과형성이 발생하는 것으로 보고되고 있다^{6,8}.

호중구성 염증에는 matrix metalloproteinases (MMPs)의 역할이 필수적인데, MMPs의 역할은 호중구가 혈관 내피세포에 부착하고 기저막까지

도달한 호중구가 기저막을 통과하여 이동하게 함으로써⁹ 염증 반응을 유발하는 것이며, 천식, 폐암 등의 각종 폐질환에서 특히 MMP-9이 주요한 역할을 하는 것으로 보고되고 있다¹⁰.

본 연구에서는 백서의 기관지에 세균성 LPS 및 MMPs 억제제 (matrix metalloproteinase inhibitor, MMPI)를 동시에 투여한 후에 발생하는 호중구성 염증 및 배상 세포 과형성의 정도를 고찰하고, 이 과정에 있어서 EGFR의 발현을 관찰함으로써 LPS로 인한 배상세포의 과형성과 점액 과다분비의 기전에 있어서 호중구와 EGFR의 역할을 연구하고자 하였다.

연구 방법

1. 실험 동물 및 LPS의 투여

pathogen-free인 280~320 gm의 수컷 Sprague-Dawley 백서를 이용하여 실험하였고, 용량과의 상관 관계를 알기 위해 LPS의 투여는 마취 후 자발 호흡 상태에서, 200 μ g 및 300 μ g의 LPS(Sigma, St.Louis, MO, USA)를 각각 200 μ l와 300 μ l phosphate buffer solution(PBS)에 용해하여 illuminator와 20-gauge angiocath catheter(Becton Dickinson, Sandy, UT, USA)를 통하여 기도 내로 투여하였다. 또한 시간에 따른 호중구성 염증의 정도와 배상세포 과형성의 정도를 관찰하고자 LPS 투여 후 3, 5, 7 일에 조직소견을 비교하였다. 대조군은 PBS 300 μ l 만을 기도 내에 투여한 후 같은 시기에서 비교하였다. 각 실험군은 대조군 6 마리, 각 LPS 군은 7 마리, 그리고 LPS 및 MMPI 투여군(LPS+MMPI군) 7 마리씩 나누어서 실험하였다.

2. MMPI의 투여

MMPI는 CMT-3(chemically modified tetracy-

cline-3, 6-demethyl 6-deoxy 4-dedimethylamino tetracycline, Collagenex Pharmaceuticals, USA)를 체중 1Kg 당 20 mg씩 구강을 통하여 LPS 투여 3일 전부터 시작하여 매일 섭식 시켰다.

3. 형태학적 고찰 및 배상세포 과형성의 고찰

마취상태에서 폐를 적출 후에 paraformaldehyde 용액에 고정 후 파라핀에 포매하였고 각 군의 폐 조직 파라핀 블록을 5(m의 두께로 절단하여 절편을 제작한 후, 파라핀을 제거하고, Diff-Quik Stain Set (International Reagent Corporation, Japan)로 염색하여 기본적인 형태학적 관찰을 시행하였다. 배상세포의 과형성의 정도는 mucus glycoconjugates에 대한 Alcian blue/periodic acid-Schiff (AB/PAS) 염색을 시행하여 관찰하였다.

4. 호중구성 염증의 측정

호중구성 염증의 정도는 호중구에 대한 3,3'-diaminobenzidine 염색으로 관찰하였다⁷. 조직 절편을 3,3'-diaminobenzidine으로 염색한 후에 톨루이딘블루(toluidine blue)로 대조염색을 하여, 기도 상피에서 페록시다아제(oxidase) 양성으로 염색된 호중구를 다섯 개의 고배율($\times 400$) 시야에서 관찰하여 비교하였다.

5. MUC5AC, EGFR 및 MMP-9에 대한 면역조직화학 염색(immunohistochemical stain)

조직 절편을 EGFR에 대한 anti-EGFR mAb (dilution, 1:200; Calbiochem, La Jolla, Calif, USA)와 MUC5AC에 대한 anti-MUC5AC mAb(dilution, 1:500; clone 45 M1; Neomarkers, Fremont, Calif, USA) 그리고 MMP-9에 대한 anti-MMP-9 mAb (dilution 1:500; Oncogene science Inc, Cambridge,

Mass)와 함께 실온에서 1시간 동안 반응시킨 후, 1시간 동안 biotinylated horse anti-mouse anti-body (dilution, 1:250; Vector laboratories, Burlingame, Calif, USA)와 반응시켰다. 결합된 항체는 avidin-biotin-peroxidase complex method(Elite ABC kit, Vector laboratories)를 이용하여 관찰하였으며, 대조 염색으로는 hematoxylin stain을 시행하였다.

6. AB-PAS, MUC5AC, EGFR 및 MMP-9 염색 부위의 정량화

모든 조직을 일정하게 비교하기 위하여 대영기관지에서, 반자동 영상 시스템인 National Institutes of Health IMAGE 프로그램을 사용하였다. 동일한 부위의 기관지 상피에서 10개의 중배율($\times 200$) 시야를 관찰하여, AB-PAS, MUC5AC, EGFR 와 MMP-9 등으로 염색된 면적과 총 상피의 면적을 측정하여, 총 상피 면적 중 AB-PAS로 염색된 부위와 MUC5AC, EGFR 및 MMP-9에 대한 단클론성 항체로 염색된 부위의 백분율로 표시하였다.

7. 통계적 분석

각 군 간의 비교는 비모수적 Mann-Whitney U 검정과 Kruskal Wallis 검정을 사용하여 분석하였고 p 값이 0.05 이하인 경우 통계적인 유의성이 있는 것으로 판단하였다.

결 과

1. 배상세포 과형성

200 μ g의 LPS를 기도 내로 투여하고 관찰한 기관지 상피의 AB/PAS의 염색 정도는 3일째 42.31 \pm 3.36%, 5일째 45.46 \pm 2.24%, 그리고 7일째 63.13 \pm

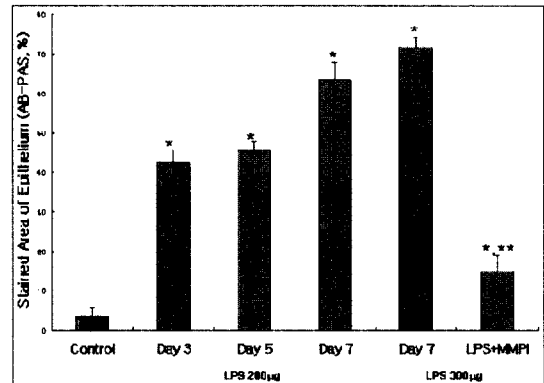


Fig. 1. AB/PAS stained area of the bronchial epithelium. After the intratracheal instillation of lipopolysaccharide, the AB/PAS stained area increased time and dose dependently. Matrix metalloproteinase significantly reduced the stained area of the AB/PAS stain.

*p<0.05; compared with control group,

**p<0.05; compared with LPS 300 μ g Day 7

4.6%로, 투여 7일째에 가장 높은 배상세포의 과형성이 관찰되었고, 300 μ g을 투여하고 7일째에 조직 소견을 관찰한 결과 71.6 \pm 2.56%로 나타났다(Fig. 1). 실험 7일째 관찰한 기관지 상피의 AB/PAS의 염색 정도는, 대조군에서는 3.57 \pm 2.36%, LPS군에서는 71.6 \pm 2.56%, LPS+ MMPI군에서는 14.73 \pm 4.33%로, 세군 간에 유의한 차이를 보였고(p=0.001 by Kruskal-Wallis test), 각 군간의 비교에 있어서는 LPS군에서 다른 두군에 비하여 유의하게 높았고(p=0.001; compared with control group, p=0.02; compared with LPS+MMPI group), 대조군과 LPS+MMPI군과의 비교에 있어서는 LPS+MMPI 군이 대조군에 비하여 유의하게 높았다(p=0.038; Fig. 1, 5).

2. MUC5AC의 발현 정도

기도 상피의 MUC5AC의 발현 정도는 대조군에서는 5.46 \pm 4.68%, LPS군에서는 75.32 \pm 4.53%, LPS+

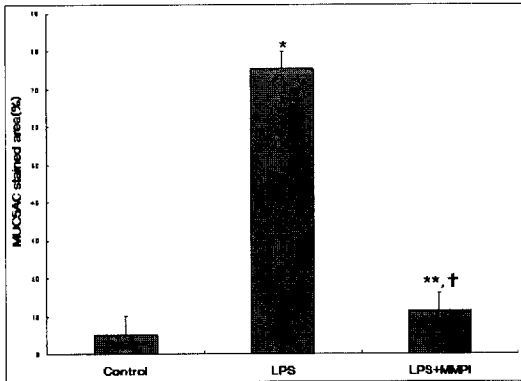


Fig. 2. Expression of MUC5AC in the bronchial epithelium. MUC5AC expression was significantly increased in the lipopolysaccharide (LPS) group. Matrix metalloproteinase (MMPI) markedly decreased MUC5AC expression.
* $p < 0.05$; compared with control and LPS+MMPI groups, ** $p < 0.05$; compared with LPS group. † $p > 0.05$; compared with control group.

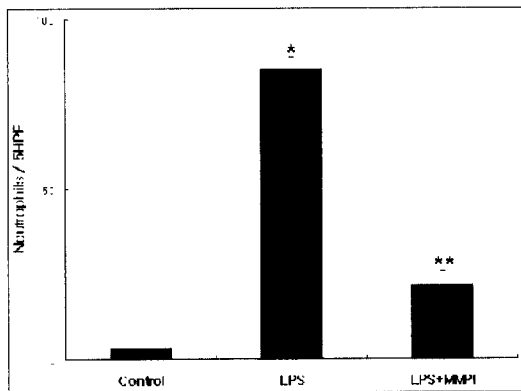


Fig. 3. Neutrophilic infiltration. The lipopolysaccharide (LPS) group showed significantly higher neutrophilic infiltration than the control and LPS with matrix metalloproteinase inhibitor (MMPI) group. Comparison between the control and LPS+MMPI group, neutrophilic infiltration was significantly higher in the LPS+MMPI group.
* $p = 0.001$; compared with control and LPS+MMPI group, ** $p = 0.02$; compared with control group.

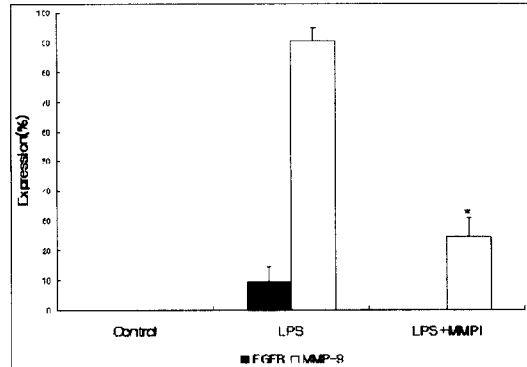


Fig. 4. Expression of the epidermal growth factor receptor (EGFR) and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). EGFR was expressed only in the lipopolysaccharide (LPS) group. MMP-9 expression was observed in the LPS and the LPS with matrix metalloproteinase inhibitor (MMPI) group, which was significantly lower in the LPS+MMPI group.
* $p = 0.03$; compared with LPS group

MMPI군에서는 $11.46 \pm 4.68\%$ 로, 세군 간에 유의한 차이를 보였고($p = 0.001$ by Kruskal-Wallis test), 각 군간의 비교에 있어서는 LPS군에서 다른 두 군에 비하여 유의하게 높았고($p = 0.02$; compared with control and LPS+MMPI group), 대조군과 LPS+MMPI군과의 비교에 있어서는 유의한 차이가 없었다($p = 0.067$; Fig. 2, 5).

3. 호중구의 침윤

대조군에서는 3.25 ± 2.89 개, LPS군에서는 85.32 ± 3.58 개, LPS+MMPI군에서는 21.62 ± 4.13 개로, 세군 간에 유의한 차이를 보였고($p = 0.001$ by Kruskal-Wallis test), 각 군간의 비교에 있어서는 LPS군에서 다른 두 군에 비하여 유의하게 높았고($p = 0.001$; compared with control and LPS+MMPI group), 대조군과 LPS+MMPI군과의 비교에 있어서는 LPS+MMPI군에서 유의하게 높았다($p = 0.02$; Fig. 3).

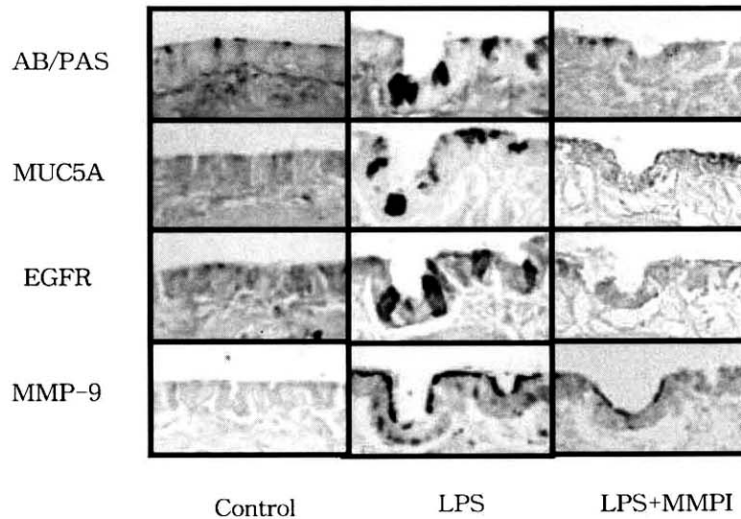


Fig. 5. Microscopic findings of the AB/PAS and immunostainings: The lipopolysaccharide (LPS) group showed increased stainings of AB/PAS*, MUC5AC**, EGFR[†] and MMP-9^{††}, which were markedly inhibited by a pretreatment with the matrix metalloproteinase inhibitor (MMPI) ($\times 400$).

*AB/PAS, alcian blue/periodic acid-Schiff; **MUC5AC, mucin MUC5AC; [†]EGFR, epidermal growth factor receptor; ^{††}MMP-9, matrix metalloproteinase

4. EGFR의 발현

LPS군에서는 전체 기도 상피에서 $9.54 \pm 4.95\%$ 가 관찰되었으나, 대조군 및 LPS+MMPI군에서는 전혀 발현되지 않았다(Fig. 4, 5).

5. MMP-9의 발현

MMP-9의 발현의 정도는 대조군에서는 전혀 발현되지 않았고, LPS군에서는 $90.58 \pm 4.22\%$, LPS+MMPI군에서는 $24.58 \pm 6.42\%$ 로, LPS+MMPI군에서 LPS군과 비교하여 유의하게 감소되어 있었다. ($p=0.03$; Fig. 4, 5).

고 찰

배상세포의 과형성으로 인한 점액의 과다 분비는

기도, 특히 소기도에 점액 플러그를 형성함으로써 각종 만성 기도 질환을 가진 환자들의 이환율과 사망률을 증가시키는 주요한 요인으로^{1,2,11} 기도 점액의 주요 점액소인 MUC5AC의 합성이 세포의 증식과 분화에 관여하는 EGFR의 발현 및 활성화에 의하여 매개되는 것으로 알려졌다^{8,12,13}. 그리고 성숙된 배상세포들은 활성화된 호중구와 부착분자(adhesion molecule)를 통하여 접촉한 후에 호중구로부터 분비된 엘라스타제(elastase)에 의하여 탈과립이 발생하여, 기도 내로의 점액 분비가 발생하는 것으로 밝혀졌다¹⁴. 이상과 같은 기전은 인간의 호흡기 점액상피종양 세포(pulmonary mucoepidermoid carcinoma cell)인 NCI-H292 세포를 이용한 *in vitro* 연구^{8,12}와 ovalbumin으로 감작하고 자극한 기관지 천식 모델⁸ 및 담배 연기¹³와 TH₂형 염증매개물질인 IL-13에 의한 점액 분비 모델을 이용한 *in vivo* 연구에서 증명되었으며, 최근에는 임상 질

환인 비용종⁶ 및 기관지 천식 환자¹⁵의 조직에서도 점액 과다 분비에 있어서 EGFR의 발현이 관계가 있는 것으로 증명된 바 있다.

이상과 같은 만성 염증성 기도질환 이외에도 세균에 감염되거나 세균성 LPS에 노출되게 되면 호중구성 염증^{16,17}이 발생한다.

일반적으로 조직 내의 호중구의 침윤 및 활성화는 일차적인 손상요인에 노출되면 생물역학적, 부착성의 변화로 인하여 폐 내에 격리된 호중구가 표면에 있는 β_2 integrin과 혈관 내피세포 표면에 존재하는 intercellular adhesion molecule 1 (ICAM1)의 상호작용에 의하여 혈관 내피세포에 부착함으로써 발생하게 된다¹⁸. 이후 혈관의 기저막에 도달하게 되면 아직까지는 분명치 않은 기전에 의해 기저막을 통과하는데, 이 과정에서 endopeptidase의 일종인 MMPs가 주요한 역할을 하는 것으로 추정되고 있다. 기저막을 통과한 호중구는 CD11/CD18 의존성 혹은 비의존성 기전에 의하여 폐실질 내로 이동하고¹⁸, 그 후에는 다양한 신호전달 경로들을 통하여 활성화되어, 활성산소종이나 양이온 펩티드(cationic peptide), 아이코사노이드(eicosanoids) 및 단백분해효소 등을 생성한다^{18,19}.

MMPs는 zinc dependent endopeptidase로 결합 조직을 구성하는 세포외기질 단백을 분해하는 기능을 지니, 구조적으로 밀접한 약 20 가지의 단백분해효소를 지칭한다. 일반적으로 그 활성 및 작용은 다른 단백분해 효소와 마찬가지로 자연적으로 존재하는 억제 인자인 tissue inhibitor of metalloproteinases(TIMPs)와의 균형에 의하여 결정되며, TIMPs가 부족하게 되거나, MMPs가 과도하게 생성되어 균형이 깨지게 되면 특정 질병이나 이상이 발생하게 된다²⁰. 호중구성 염증을 특징으로 하는 폐질환에 있어서 MMPs는 혈관 내피세포에 부착하고 기저막까지 도달한 호중구가 기저막을 통과하여 이동하는데 있어서 주요한 작용을 하는 것으로 추정된다. 실제로 Keck 등⁹은 체장염과 연관

된 백서의 급성폐손상 모델에서 호중구의 이동과 MMP-9의 분비 증가가 밀접한 연관이 있는 것으로 보고한 바 있다. 이 같은 기능은 결과적으로 폐조직 내에 호중구의 침윤을 가능케 함으로써, 호중구성 염증을 유발하고 심화시키는 것으로 판단된다. 특히 MMPs 중에서도 gelatinase인 MMP-2 (gelatinase-A)와 MMP-9 (gelatinase-B)가 각종 기도 질환에서 발현이 증가되는 것으로 보고되고 있다¹⁰. MMP-2는 주로 섬유모세포, 내피세포²¹ 및 폐포 상피세포^{22,23} 등의 다양한 세포에서 합성, 분비되고, MMP-9은 호중구, 단핵구, 대식세포, 호산구 및 림프구 등과 같은 염증성 세포들로부터 주로 분비되거나²⁴⁻²⁶, 어떤 상황에서는 MMP-2를 합성하는 내피세포와 폐포 상피세포에서도 생성된다^{27,28}. 실제로 LPS-induced lung injury 모델에서 LPS가 MMP-9의 발현을 증가시키는 것으로 보고된 바 있으며²⁵, 기관지 폐포세척액 (bronchoalveolar lavage fluid, BALF)에서 MMP-2 및 MMP-9의 증가는 주로 호중구의 증가와 비례하는 것으로 보고되고 있다²⁹⁻³¹.

따라서 LPS로 인한 기도 조직 내 호중구성 염증의 발생과정에서도 활성화된 호중구로부터 분비된 MMPs, 특히 MMP-9이 호중구의 이동을 가능케 함으로써 조직 내에 침윤 및 호중구성 염증을 일으키는 데 있어서 주요한 역할을 하고, MMPi를 처치할 경우 이와 같은 작용이 억제되어 호중구성 염증의 정도가 감소할 것으로 추정된다.

본 실험에서 MMPi로 사용한 CMT-3는 화학적으로 변형된 nonantimicrobial tetracycline으로, MMPs 특히 MMP-2 및 9의 작용을 경쟁적으로 억제하는 효과가 있어³², 이미 실험적인 중앙 모델에서 효과가 입증되었으며, 현재 고형암 환자에서 제1상 연구가 진행중이다³³. 특히 심폐우회로술³⁴ 및 내독소³⁵로 인한 급성폐손상 모델에서 호중구성 염증 및 폐손상의 정도를 유의하게 감소시키는 것으로 보고된 바 있다. 본 연구에서도 LPS를 투여

하였을 경우 호중구성 염증의 정도와 비례하여 MMP-9의 발현이 증가하고, MMPI로 처리한 경우에 LPS를 단독으로 투여한 군과 비교하여 MMP-9의 발현이 현저하게 감소함으로써 호중구성 염증이 현저하게 억제되는 것으로 확인되었고, 이에 비례하여 호중구성 염증에 의해서 증가되는 EGFR의 발현도 전혀 관찰되지 않았으며, 배상 세포의 과형성 및 점액의 과다 분비도 유의하게 감소하였다.

결론적으로 matrix metalloproteinase가 호중구성 염증 및 EGFR에 의해 발생하는 LPS에 의한 배상 세포의 과형성 및 점액 과다분비의 기전에 있어서 밀접하게 관련되고, 따라서 점액 과다분비를 특징으로 하는 세균 감염으로 인한 기도 질환의 치료에 있어서 MMPI가 잠재적인 임상적 효과가 있을 것으로 사료된다.

요 약

배 경 :

본 연구에서는 세균성 리포다당질(lipopolysaccharide, LPS)로 인한 호중구성 염증이 EGFR 시스템을 통해서 배상 세포의 이형성 및 점액의 과다 분비를 유발할 것이라는 가설 하에, LPS와 MMPs 억제제(matrix metalloproteinase inhibitor, MMPI)를 투여한 후 EGFR 및 MMP-9의 발현을 연구하고자 하였다.

방 법 :

Pathogen-free Sprague-Dawley 를, 다양한 농도의 LPS를 투여한 군과 투여하지 않은 대조군으로 나누어 기도의 조직학적인 변화를 날짜 별로 관찰하였고, MMPI(CMT-3)를 LPS 투여 3일 전부터 매일 구강을 통해 섭취시켰다. 호중구의 침윤은 다섯 개의 고배율 시야에서 관찰된 호중구의 수로 정량화하여 비교하였고, mucus glycoconjugate에 대한 AB/PAS 염색 및 MUC5AC, EGFR, MMP-9

에 대한 면역조직화학 염색 (immunohistochemical stain)을 시행하였다

결 과 :

LPS를 투여한 경우 기도 상피의 AB/PAS 및 MUC5AC의 염색 정도는 시간 및 용량 의존적으로 증가하였고, MMPI를 치료할 경우에 LPS로 인한 배상세포의 과형성이 유의하게 감소하였다. LPS를 주입할 경우 호중구의 침윤이 증가하였고 기도 상피에서 EGFR의 발현을 증가시켰다. MMPI로 치료할 경우 LPS로 인한 호중구의 침윤 및 EGFR의 발현 그리고 배상세포의 과형성이 현저하게 감소되었다.

결 론 :

Matrix metalloproteinase는 호중구성 염증 및 EGFR에 의해 발생하는 LPS에 의한 배상 세포의 과형성 및 점액 과다분비의 기전에 있어서 밀접하게 관련되고, 따라서 점액 과다분비를 특징으로 하는 세균 감염으로 인한 기도 질환의 치료에 있어서 MMPI가 잠재적인 임상적 효과가 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Stockley RA, Hill SL, Morrison HM, Starkie CM. Elastolytic activity of sputum and its relation to purulence and to lung function in patients with bronchiectasis. *Thorax* 1984;39: 408-13.
2. Fahy JV, Schuster A, Ueki I, Boushey HA, Nadel JA. Mucus hypersecretion in bronchiectasis. The role of neutrophil proteases. *Am Rev Respir Dis* 1992;146:1430-3.
3. Dohrman A, Miyata S, Gallup M, Li JD, Chapelin C, Coste A, Escudier E, Nadel J, Basbaum C. Mucin gene (MUC 2 and MUC 5AC) upregulation by Gram-positive and

- Gram-negative bacteria. *Biochim Biophys Acta* 1998;1406:251-9.
4. 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 U S A* 1997;94:967-72.
 5. Yanagihara K, Seki M, Cheng PW. Lipopolysaccharide Induces mucus cell metaplasia in mouse lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;24:66-73.
 6. Burgel PR, Escudier E, Coste A, Dao-Pick T, Ueki IF, Takeyama K, Shim JJ, Murr AH, Nadel JA. Relation of epidermal growth factor receptor expression to goblet cell hyperplasia in nasal polyps. *J Allergy Clin Immunol* 2000;106:705-12.
 7. Shim JJ, Dabbagh K, Ueki IF, Dao-Pick T, Burgel PR, Takeyama K, Tam DC, Nadel JA. IL-13 induces mucin production by stimulating epidermal growth factor receptors and by activating neutrophils. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;280:L134-40.
 8. Takeyama K, Dabbagh K, Lee HM, Agusti C, Lausier JA, Ueki IF, Grattan KM, Nadel JA. Epidermal growth factor system regulates mucin production in airways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:3081-6.
 9. Keck T, Balcom JHt, Fernandez-del Castillo C, Antoniu BA, Warshaw AL. Matrix metalloproteinase-9 promotes neutrophil migration and alveolar capillary leakage in pancreatitis-associated lung injury in the rat. *Gastroenterology* 2002;122:188-201.
 10. Tetley TD. New perspectives on basic mechanisms in lung disease. 6. Proteinase imbalance: its role in lung disease. *Thorax* 1993;48:560-5.
 11. Aikawa T, Shimura S, Sasaki H, Ebina M, Takishima T. Marked goblet cell hyperplasia with mucus accumulation in the airways of patients who died of severe acute asthma attack. *Chest* 1992;101:916-21.
 12. Takeyama K, Dabbagh K, Jeong Shim J, Dao-Pick T, Ueki IF, Nadel JA. Oxidative stress causes mucin synthesis via transactivation of epidermal growth factor receptor: role of neutrophils. *J Immunol* 2000;164:1546-52.
 13. Takeyama K, Jung B, Shim JJ, Burgel PR, Dao-Pick T, Ueki IF, Protin U, Kroschel P, Nadel JA. Activation of epidermal growth factor receptors is responsible for mucin synthesis induced by cigarette smoke. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;280:L165-72.
 14. Takeyama K, Agusti C, Ueki I, Lausier J, Cardell LO, Nadel JA. Neutrophil-dependent goblet cell degranulation: role of membrane-bound elastase and adhesion molecules. *Am J Physiol* 1998;275:L294-302.
 15. Takeyama K, Fahy JV, Nadel JA. Relationship of epidermal growth factor receptors to goblet cell production in human bronchi. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:511-6.
 16. Chignard M, Balloy V. Neutrophil recruitment and increased permeability during acute lung injury induced by lipopolysaccharide. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;279:L1083-90.

17. Mitsuhashi H, Hata J, Asano S, Kishimoto T. Appearance of cytokine-induced neutrophil chemoattractant isoforms and immunolocalization of them in lipopolysaccharide-induced acute lung inflammation in rats. *Inflamm Res* 1999;48:588-93.
18. Lee WL, Downey GP. Neutrophil activation and acute lung injury. *Curr Opin Crit Care* 2001; 7:1-7.
19. Downey GP, Dong Q, Kruger J, Dedhar S, Cherapanov V. Regulation of neutrophil activation in acute lung injury. *Chest* 1999; 116:46S-54S.
20. Denis LJ, Verweij J. Matrix metalloproteinase inhibitors: present achievements and future prospects. *Invest New Drugs* 1997;15:175-85.
21. Schnaper HW, Grant DS, Stetler-Stevenson WG, Fridman R, D'Orazi G, Murphy AN, Bird RE, Hoythya M, Fuerst TR, French DL, et al. Type IV collagenase(s) and TIMPs modulate endothelial cell morphogenesis in vitro. *J Cell Physiol* 1993;156:235-46.
22. Yao PM, Maitre B, Delacourt C, Buhler JM, Harf A, Lafuma C. Divergent regulation of 92-kDa gelatinase and TIMP-1 by HBECs in response to IL-1beta and TNF-alpha. *Am J Physiol* 1997;273:L866-74.
23. Murphy G, Docherty AJ. The matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992;7:120-5.
24. Trocme C, Gaudin P, Berthier S, Barro C, Zaoui P, Morel F. Human B lymphocytes synthesize the 92-kDa gelatinase, matrix metalloproteinase-9. *J Biol Chem* 1998;273: 20677-84.
25. D'Ortho MP, Jarreau PH, Delacourt C, Macquin-Mavier I, Levame M, Pezet S, Harf A, Lafuma C. Matrix metalloproteinase and elastase activities in LPS-induced acute lung injury in guinea pigs. *Am J Physiol* 1994; 266:L209-16.
26. Ohno I, Ohtani H, Nitta Y, Suzuki J, Hoshi H, Honma M, Isoyama S, Tanno Y, Tamura G, Yamauchi K, Nagura H, Shirato K. Eosinophils as a source of matrix metalloproteinase-9 in asthmatic airway inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 16:212-9.
27. Buisson AC, Zahm JM, Polette M, Pierrot D, Bellon G, Puchelle E, Birembaut P, Tournier JM. Gelatinase B is involved in the in vitro wound repair of human respiratory epithelium. *J Cell Physiol* 1996;166:413-26.
28. Partridge CA, Jeffrey JJ, Malik AB. A 96-kDa gelatinase induced by TNF-alpha contributes to increased microvascular endothelial permeability. *Am J Physiol* 1993;265: L438-47.
29. Masure S, Proost P, Van Damme J, Opdenakker G. Purification and identification of 91-kDa neutrophil gelatinase. Release by the activating peptide interleukin-8. *Eur J Biochem* 1991;198:391-8.
30. Ricou B, Nicod L, Lacraz S, Welgus HG, Suter PM, Dayer JM. Matrix metalloproteinases and TIMP in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:346-52.
31. Torii K, Iida K, Miyazaki Y, Saga S, Kondoh Y, Taniguchi H, Taki F, Takagi K, Matsuyama M, Suzuki R. Higher concentrations of matrix metalloproteinases in bron-

- choalveolar lavage fluid of patients with adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:43-6.
32. Seftor RE, Seftor EA, De Larco JE, Kleiner DE, Leferson J, Stetler-Stevenson WG, McNamara TF, Golub LM, Hendrix MJ. Chemically modified tetracyclines inhibit human melanoma cell invasion and metastasis. *Clin Exp Metastasis* 1998;16:217-25.
33. Chen J, Bookbinder M, Ryan ME, Golub LM, Ashley R, Ramamurthy NS. Biodistribution of radiolabeled [(3)H] CMT-3 in rats. *Curr Med Chem* 2001;8:253-6.
34. Carney DE, Lutz CJ, Picone AL, Gatto LA, Ramamurthy NS, Golub LM, Simon SR, Searles B, Paskanik A, Snyder K, Finck C, Schiller HJ, Nieman GF. Matrix metalloproteinase inhibitor prevents acute lung injury after cardiopulmonary bypass. *Circulation* 1999;100:400-6.
35. Carney DE, McCann UG, Schiller HJ, Gatto LA, Steinberg J, Picone AL, Nieman GF. Metalloproteinase inhibition prevents acute respiratory distress syndrome. *J Surg Res* 2001;99:245-52.
-