

천식에서 기도평활근의 증식과 합성 반응에 대한 최신지견

성균관대학교 의과대학 강북삼성병원 소아과

심 정 연

Proliferative and Synthetic Responses of Airway Smooth Muscle in Asthma

Jung Yeon Shim, M.D.

*Department of Pediatrics, Kangbuk Samsung Hospital,
Sungkyunkwan University School of Medicine, Seoul, Korea*

New evidence is emerging that airway smooth muscle(ASM) may act as an immunomodulatory cell by providing pro-inflammatory cytokines and chemokines, polypeptide growth factors, extracellular matrix proteins, cell adhesion receptors and co-stimulatory molecules. ASM can promote the formation of the interstitial extracellular matrix, and potentially contribute to the alterations within the extracellular matrix in asthma. In addition, extracellular matrix components can alter the proliferative, survival, and cytoskeletal synthetic function of ASM cells through integrin-directed signaling. Increased ASM mass is one of the most important features of the airway wall remodeling process in asthma. Three different mechanisms may contribute to the increased ASM mass: cell proliferation, increased migration and decreased rate of apoptosis. The major signaling pathways of cell proliferation activated by ASM mitogens are those dependent on extracellular signal-regulated kinase and phosphoinositide 3'-kinase. The key signaling mechanisms of cell migration have been identified as the p38 mitogen-activated protein kinase and the p21-activated kinase 1 pathways. ASM cells contain β 2-adrenergic receptors and glucocorticoid receptors. They may represent a key target for β 2-adrenergic receptor agonist/corticosteroid interactions which have antiproliferative activity against a broad spectrum of mitogens. (*Korean J Pediatr* 2005;48:580-587)

Key Words : Airway smooth muscle, Asthma, Extracellular matrix, Proliferation, Remodeling

서 론

천식은 소아에서 가장 흔한 만성 염증성 기도질환으로, 비가역적일 수 있는 기도폐쇄와 기도 염증, 기도과민성을 특징으로 한다. 기도개형(airway remodeling)은 반복적 염증 반응으로 인한 기도의 구조적인 변화로 기도상피세포하 섬유화(subepithelial fibrosis), 점액세포 증식(goblet cell hyperplasia), 근육섬유모세포(myofibroblast), 평활근 비후와 증식, 신생혈관 생성의 소견을 보이며, 비가역적인 기도폐쇄와 기도과민성을 야기한다. 이중 기도평활근의 비후와 증식은 기도개형에서 가장 중요한 소견 중의 하나로, 최근 이에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

천식에서 기도평활근이 차지하는 중요성은 이미 150년 전부

터 알려져 왔으나, 단지 병적 환경에서 분비되는 각종 신경전달 물질, 항염증성 매개체, 외부 물질에 반응하여 수축함으로써 환기 장애를 일으키는, 마지막 단계에서의 효과세포(effector cell)로 알려져 있었다. 하지만 10-15년 전, 기도평활근의 *in vitro* 실험이 시작되면서부터 그 때까지 알려져 왔던 구조세포(structural cell)로서의 수축과 이완 작용 이외에 다양한 기능이 있음이 밝혀지고 있다. 즉, 각종 싸이토카인과 케모카인을 합성, 분비하여 염증 세포를 동원하고 활성화함으로써, 천식에 특징인 염증 반응을 유발하는 작용이 있고, 기도평활근을 둘러싸는 세포외기질(extracellular matrix)을 형성, 유지, 변화시키는 기능이 있다(Fig. 1). 반면, integrin과의 결합에 의한 신호전달로 세포외기질이 평활근의 증식, 생존, 합성 기능에도 영향을 미친다. 또한 베타2 수용체와 글루코코르티코이드 수용체를 모두 갖고 있어, 이러한 약제들의 주된 표적 세포가 되며 두 약제가 상호 작용으로 상승효과를 내며 기도평활근의 증식, 이주 반응을 억제함이 보고되었다. 이러한 역할들이 밝혀지면서 기도평활근은 과거 천식에서 기도 내경을 조절하는 작용 외에 훨씬 더 다양한 작용을

접수 : 2005년 5월 16일, 승인 : 2005년 5월 18일
책임저자 : 심정연, 성균관의대 강북삼성병원 소아과
Correspondence : Jung Yeon Shim, M.D.
Tel : 02)2001-2207 Fax : 02)2001-2199
E-mail : jy7.shim@samsung.com

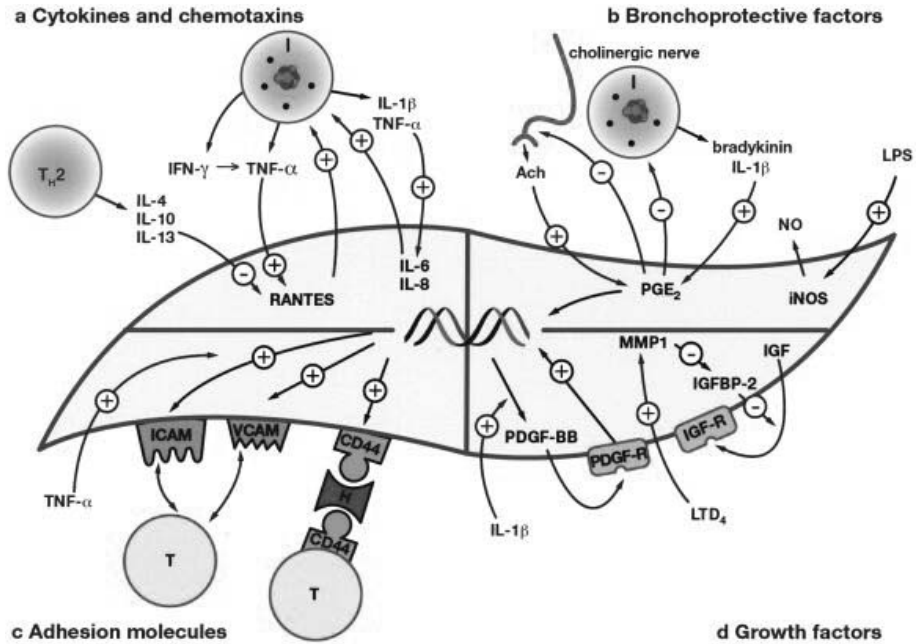


Fig. 1. Human ASM produces cytokines, chemokines, inflammatory mediators, matrix-modifying enzymes, growth factors, and angiogenic factors. VCAM: vascular cell adhesion molecule(Adapted from Ref. 11).

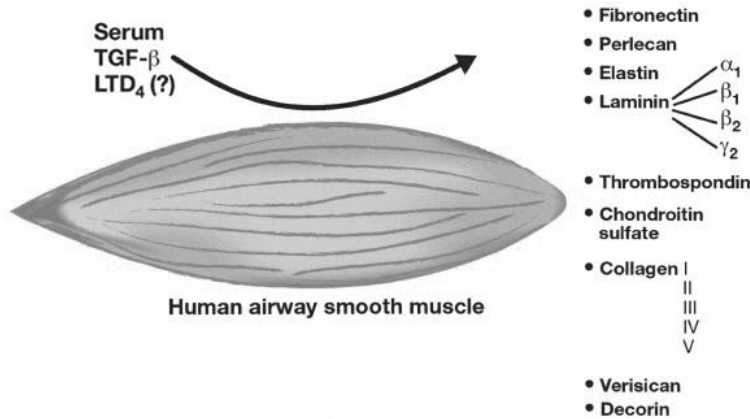


Fig. 2. Synthetic capabilities of human ASM of relevance to the ECM. (Adapted from Ref. 7).

하는 통합된 기능을 가진 세포로 비취진다.

1. 천식에서 기도평활근과 세포외기질

세포외기질은 기저막(basement membrane) 결합조직(connective tissue)과 간질성 결합조직으로 되어 있고, 간질성 결합 조직이 기도평활근을 둘러싸고 있으면서, 기도평활근과 양방향으로 신호전달을 한다. 즉, 기도평활근은 세포외기질의 구성 성분을 만들고 조절하는 기능이 있고, 세포외기질도 평활근의 기능, 즉 합성, 증식, 이주 능력을 조절한다(Fig. 2). 기도평활근을 천식 환자의 혈청에서 배양했을 때 세포외기질 합성이 증가하고, 정상인의 혈청에서 배양하면 이런 반응이 보이지 않는 것은 혈

청에 있는 성분이 기도평활근 기능을 조절함을 나타낸다. 이러한 기도평활근의 세포외기질 합성은 글루코코르티코이드에 의해 억제되지 않는다. 혈청의 어떤 성분이 평활근 세포의 세포외기질 합성을 증가시켰는지는 명확하지 않지만, TGF-β, leukotriene D4(LTD4) 등이 기도평활근에서 세포외기질의 합성을 증가시켰을 가능성이 많다. 천식에서 혈관투과성이 증가되는 것을 감안하면, 이들 성분은 혈장에서 유래하여 조직으로 이동했을 가능성이 있다.

기도평활근은 세포외기질을 합성하는 것 외에 분해하는 기능도 갖고 있다. 즉, progelatinase A(MMP-2의 전구물질)을 분비하고, TNF-α의 자극에 의해 gelatinase B(MMP-9)을 합성

한다. 기도평활근이 MMP-2를 자가조절(autocrine)로 생성하는 것은 기도평활근 증식 반응의 조절 단계로 확인되었다. 천식에서 TNF- α 가 국소적으로 증가하는 것은 기도평활근 사이에 있는 비만세포에서 분비되었을 가능성이 있고, TNF- α 는 기도평활근에서 MMP-9 합성, 분비를 유도하며, MMP-9은 콜라겐 IV, V, X, laminin 등의 세포외기질을 분해하며, 세포외기질 속의 proteoglycan에 붙어 있는 성장인자 들을 유리시켜, 기도평활근의 증식 반응을 유발한다. TGF- β 는 기도평활근과 세포외기질이 붙어 있도록 하는데 기여하며 이들의 결합은 integrin 의존적이다.

2. 기도평활근 기능에 미치는 세포외기질의 영향

기도평활근과 이를 둘러싸는 세포외기질은 integrin으로 결합되어 서로 신호를 주고 받는다. 지금까지 밝혀진 integrin 중에서 근육섬유모세포에서 항상 표현되는 것은 $\alpha 5 \beta 1$ 이고, 세포외기질의 구성 요소에 따라 기도평활근의 생존, 고사, 증식 반응도 조절된다. 지금까지 알려진 바로는, 세포외기질의 성분 중 천식 환자의 기도에는 fibronectin과 콜라겐 I이 많고, laminin은 정상인의 기도에 많다. 또한 fibronectin과 콜라겐 I은 기도평활근의 증식 반응을 증가시키고, laminin은 증식 반응을 억제하는 것으로 보인다. 콜라겐 IV, fibronectin에서 배양된 세포는 정상적인 성장과 확산, 세포골격구조를 보이는 한편, 콜라겐 I, V, laminin에서 배양된 세포는 확산 능력이 떨어지고, 콜라겐 V에서 배양된 세포는 비정상적 세포골격구조를 가진다고 보고되었다. 이와 같이 세포외기질은 기도평활근의 기능과 생존에 중요한 영향을 미치고, 따라서 천식에서도 세포외기질의 변화가 기도개형에 적지 않은 영향을 미칠 것으로 생각된다.

3. 기도평활근에서 생성되는 케모카인과 싸이토카인들

천식에서의 염증 반응은 염증세포들이 합성, 분비하는 싸이토카인과 케모카인(분자량이 작은 싸이토카인)에 의해 유발되며, 이들은 염증 반응을 유지하는 데에도 중요한 역할을 한다. 기도평활근을 비롯한 구조세포들, 즉 기도상피세포, 근육섬유모세포, 섬유모세포는 염증세포를 동원하는 싸이토카인과 케모카인을 분비함으로써, 염증세포를 기도로 불러들인다. IL-5, RANTES, eotaxin은 호산구를 동원하며, RANTES는 단핵구와 기억 T 세포에도 화학주성인자로 작용한다. IL-8은 호중구를, monocyte chemoattractant proteins(MCPs)는 단세포를 동원한다. Thymus- and activation-regulated chemokine(TARC)은 T helper 1(TH1)에서는 없고, TH2 세포에서만 표현되는 CCR4 수용체 특이 ligand이다. Stem cell factor는 비만세포를 동원하는데, 특히 비만세포는 최근 기도평활근의 층 사이사이에서 발견되어 비만세포와 기도평활근의 상호작용에 관심이 모아지고 있다. 기도평활근 층에 있는 비만세포에서 분비되는 매개체가 기도평활근의 수축 및 증식 작용에 영향을 미친다고 알려졌다. 이외에도 GM-CSF와 IL-6도 기도평활근에서 분비된다. 이들 싸이토카인들은 염증세포를 기도로 동원하고, 염증세포는 또 다른 싸이토

카인과 케모카인을 분비함으로써 염증 반응은 증폭된다. 기도평활근은 특히 eotaxin의 주요 공급원으로 IL-1 β , TNF- α , IL-4, IL-5 자극에 의해 분비가 증가된다. TH2 싸이토카인인 IL-4, IL-13과, 항염증성 싸이토카인인 IL-1 β , TNF- α , G protein-coupled receptor(GPCR)에 작용하는 bradykinin, thrombin, platelet activating factor, adenosine 등은 기도평활근에서의 케모카인 생성을 증가시킨다.

4. 신호전달체계

1) 전사 인자

IL-4, IL-13은 주로 signal transducer and activator of transcription(STAT) 경로를 통해 eotaxin 유전자를 작동시킨다. 반면, TNF- α 는 nuclear factor κ B(NF- κ B)를 통해 eotaxin과 IL-6 생성을 유발한다. IL-1 β 는 NF- κ B, CCAAT/enhancer-binding protein(C/EBP)과 cyclic adenosine monophosphate(cAMP)-responsive element(CRE)를 이용하여 신호전달을 한다. Bradykinin은 NF- κ B, activator protein 1(AP-1), nuclear factor for IL-6를 이용하여 IL-8 생성을 유도하고, CRE를 통해 COX-2 표현을 유도한다.

2) Kinase cascades

Mitogen-activated protein kinase(MAPK)는 세포의 신호를 핵 안으로 전달한다. 반응하는 기질에 따라 3가지 그룹으로 분류되는데, extracellular signal-related kinase(ERK), c-Jun NH2-terminal kinase(JNK), p38 MAPK이다. MAPK이 활성화되면 전사인자를 포함한 세포내 기질을 인산화하여 케모카인이나 싸이토카인 유전자 같은 염증 유전자를 작동시킨다. IL-1 β 에 의해 생성된 eotaxin, RANTES, GM-CSF는 ERK를 억제함으로써 생성이 억제된다. IL-4, IL-13에 의해 생성된 eotaxin도 ERK를 억제함으로써 생성이 억제된다. Platelet activating factor에 의해 생성된 RANTES는 p38 MAPK과 ERK 억제에 의해 억제된다. 최근 JNK는 IL-1 β 와 TNF- α 에 대한 RANTES, GM-CSF, IL-8 생성에 관계하는 경로로 밝혀졌다.

3) 억제 경로

글루코코르티코이드와 베타2 항진제는 싸이토카인과 케모카인 생성에 관계되는 세포내 신호전달경로를 차단, 억제한다. 기도에서 내인적으로 생성되는 일산화탄소도 IL-1b에 의한 GM-CSF 생성을 억제하고, 항산화제인 N-acetyl cysteine도 p38 MAPK 경로를 차단하여 MCP-1, eotaxin 생성을 억제하는 것으로 나타났다.

5. 기도평활근의 자가분비(autocrine) 조절 기능

기도평활근은 염증에 관계되는 각종 싸이토카인을 생성, 분비하여 염증세포의 동원과 활성화를 유발할 뿐만 아니라, 자가분비된 싸이토카인이 기도평활근의 기능을 조절하기도 한다. 기도평활근은 싸이토카인 수용체를 갖고 있는데, IL-1, 2, 4, 13 같은 TH 1 & 2 싸이토카인 수용체와 TNF- α 수용체 (TNFR1, TNFR2), TGF- β 수용체(TGF- β 1, TGF- β 2, TGF- β 3),

IFN- β , prostanoid 수용체 등이 있어 자가분비 된 싸이토카인에 의해 기도평활근의 기능이 조절을 받는다.

기도평활근에서 생성된 prostanoid는 자가분비 방식으로 기도평활근의 합성 기능을 조절한다. 자가분비된 prostanoid는 bradykinin 자극에 의한 IL-6 유전자 표현을 유도하는 것으로 보이며, 이렇게 자가조절 방법으로 분비된 prostanoid는 기도평활근의 여러 염증 반응에 관계되는 싸이토카인 유전자를 조절한다. TNF- α , IL-1 β 싸이토카인 혼합물은 PGE2 의존적 세포내경로를 통하여, 기도평활근의 COX-2 표현과 prostanoid 생성을 증가시키고, 베타2 수용체에 대한 기도평활근 반응을 떨어뜨리며, 기도평활근 증식을 억제하는 것으로 알려졌다.

6. 천식에서 기도평활근의 성장과 이주에 관한 기전과 매개체들

천식에서 기도평활근의 두께가 증가되어 있음은 이미 75년 전에 보고되었으나, 기도평활근의 증가가 천식에서 기도 내경이 줄어드는데 가장 중요하고 특징적인 병리적 소견이고 구조적 변화임이 밝혀진 것은 한참 후이다. 기도평활근의 증가 기전은 세포의 증식 및 비후를 야기하는 모든 과정이 포함되는 것으로 보인다.

1) 증식과 관련된 기전

천식에서 기도평활근의 두께가 증가하는 것은 세포분열이 많아지며 세포수가 증가하는 것과 세포고사(apoptosis)의 감소, 또는 mesenchymal cell의 이주 및 기도평활근 세포로의 분화에 기인할 수 있다. 이중 세포수의 증가에 따른 증식 반응이 가장 관심을 얻고 있는데, 이는 환자의 기도평활근 세포 배양을 통해 확인하기가 쉽기 때문이다. 증식률을 높이는 데 관여하는 인자로는 성장인자(growth factors), GPCR 자극제, 싸이토카인, reactive oxygen species(ROS), 효소, 세포외기질 구성요소들, 긴장도의 증가 등이 있다. 하지만 이중 어떤 인자가 천식에서 기도평활근의 증식에 기여하는 주된 요소인지에 대해서는 아직 알려져 있지 않다.

2) 비후와 관련된 기전

천식에서 기도평활근의 비후가 있는 지에 대해서는 아직도 상반된 의견들이 있지만 근 긴장도의 증가와 TGF- β , IL-1 β , cardiotrophin 등이 기도평활근의 비후와 관련된 인자들로 보고되었다.

7. 기도평활근의 성장에 관련된 매개체들

지난 10여년간 밝혀진 기도평활근의 증식에 관련되는 미토겐(mitogen)으로는 폴리펩티드 성장인자인 epidermal growth factor(EGF), insulin-like growth factor(IGF), platelet-derived growth factor(PDGF) isoforms, fibroblast growth factor 2(FGF-2); 혈장- 또는 염증세포-유도 매개체인 lysosomal hydrolases(β -hexosaminidases and β -glucuronidases), α -thrombin, tryptase, sphingosine 1-phosphate; 수축작용제인 endothelin-1, substance P, phenylephrine, sero-

tonin, thromboxane A₂, leukotriene D₄ 등이 있다. IL-1 β , IL-6, TNF- α 등의 항염증성 싸이토카인도 천식 환자의 기관지 폐포 세척액 내에 증가되어 있으나 이들이 기도평활근의 증식에 미치는 영향은 미미하고 변동적이다. 하지만 이에 DNA 합성을 억제하는 PGE2 같은 자가분비 물질의 영향을 받았을 가능성도 있어 재조명이 필요하다. PGE2는 천식 환자의 기도평활근에서 정상인에 비해 자가분비가 감소되어 있음이 보고되어 정상인에 비해 증식이 잘 일어나는 것으로 보인다. 이외에도 기계적 스트레스나 ROS 등이 기도평활근 증식에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.

1) 기도평활근 성장을 유도하는 신호전달경로

기도평활근은 적어도 2종류의 주된 미토겐에 반응하여 증식한다. 즉 내인적 receptor tyrosine kinase(RTK) 활성도를 갖는 수용체에 작용하는 폴리펩티드 성장인자(PDGF, EGF, FGF-2, IGF)와 GPCR에 작용하는 수축작용제(α -thrombin, serotonin, thromboxanes, endothelin-1, leukotriene D₄)가 그것이다. 이외 새로이 제시된 미토겐으로 항염증성 싸이토카인인 IL-1 β , TNF- α 등이 있다. 이들 싸이토카인은 RTK가 아닌 Src family member나 MAPK, Janus kinase(JAK)/STAT 등과 결합하는 표면 당단백 복합체를 통해 신호전달을 한다.

p21^{ras}, 21-kd guanosine triphosphatase(GTPase)는 이런 다양한 수용체들로 매개된 반응을 하나로 모아 신호전달을 하는 역할을 한다. 즉, p21^{ras}가 활성화되면 phosphoinositide 3'-kinase(PI3K)와 74-kd cytoplasmic serine/threonine kinase, Raf-1과 결합한다. Raf-1이 형질막에 동원되면 p21^{ras}와 ERK 경로를 활성화 시킨다. PI3K는 p21^{ras}와의 상호작용에 의해 직접 활성화된다. PI3K와 ERK 활성화는 RTK-, GPCR-, 싸이토카인-자극에 의한 기도평활근의 증식에 주된 신호전달경로로 작용한다(Fig. 4).

(1) Ras-dependent ERK pathways

p21^{ras}가 활성화되어 Raf-1과 상호작용을 하면 MAPK/ERK kinase 1(MEK1)을 활성화시키고 이는 다시 ERK를 활성화한다. 이것은 핵내의 cyclin D1 활성화를 유도하여 G1 phase에서 S phase로 세포주기가 바뀌면서 DNA 합성이 일어난다. Cyclin D1이 cyclin-dependent kinase(cdk)-4 또는 -6에 결합하여 cyclin E를 활성화시키고, 활성화된 cyclin E/cdk2 복합체는 retinoblastoma restriction protein(Rb)을 과인산화 함으로써, E2F를 Rb에서 탈억제(derepression) 한다. E2F는 DNA polymerase를 활성화시키고, 특정 S-phase 의존 유전자 전사를 활성화함으로써, 세포분열이 시작된다.

(2) PI3K : Ras-dependent ERK-independent pathways

ERK 경로와는 독립적으로 기도평활근의 증식에 관여하는 신호전달경로이다. PI3K는 3-phosphorylated phosphoinositides(PIP3)를 만들고 이는 phosphoinositide-dependent kinase 1(PDK1)을 동원하여 protein kinase B(PKB)를 활성화시키고, 차례로 p70^{S6K}를 활성화하여 cyclin D1 표현을 증가시킨다. 이

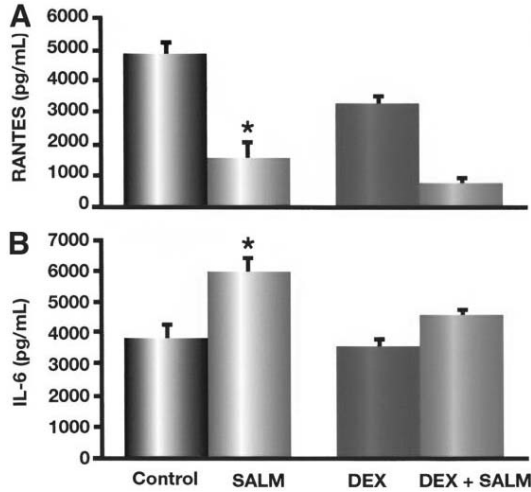


Fig. 3. Salmeterol(SALM, 1 μ mol/L) significantly(* $P < 0.05$) inhibited TNF- α -induced RANTES release (A) and significantly(* $P < 0.05$) increased IL-6 generation (B) by human ASM cells. Dexamethasone(0.1 nmol/L) also inhibited RANTES but had little effect on TNF- α -induced IL-6 release. The combination of SALM and dexamethasone(DEX) further enhanced RANTES inhibition over SALM or DEX alone, but it increased IL-6 release compared with DEX alone(Adapted from Ref. 15).

외에도 PI3K는 Rho family GTPase인 Rac1, cdc42을 활성화함으로써, cyclin D1 활성화를 유발한다.

(3) ROS

Rac1은 H₂O₂ 같은 ROS를 분비하는 nicotinamide adenine dinucleotide phosphate(NADPH) oxidase 복합체의 구성 성분이며, Rac1이 활성화되면 ROS 합성분비가 증가하며 NF- κ B, JAK2를 통해 cyclin D1이 활성화된다. 항산화제와 NADPH oxidase 억제제는 미토겐-유도 cyclin D1 표현과 DNA 합성을 저하시켜 세포분열을 억제함이 관찰되었다.

8. 기도평활근 증식과 세포 이주(migration)

기도평활근의 이주는 3-4년 전부터 관심이 모아지고 있는 기도평활근 기능의 새로운 개념이다. 동맥경화증에서 혈관평활근의 중막(media)에서 신생혈관내막(neointima)으로의 이주가 혈관평활근 증식의 기전으로 널리 알려져 있지만, 천식의 기도개형에서 볼 수 있는 기도평활근의 증식이 이주에 의한 것이라는 증거는 없었다. In vitro 실험에서 기도평활근의 이주가 관찰되었고, 천식에 관여하는 가설로는 혈관평활근세포가 혈관 내강쪽으로 이주하여 천식에서 볼 수 있는 점막하 근육섬유모세포(myofibroblast)를 이룬다는 것이다. 근육섬유모세포는 평활근과 섬유모세포 사이의 초미세구조를 갖는 것으로 생각된다. 이와 다른 가설로는, 싸이토카인이나 성장인자에 노출되었을 때, 근육섬유모세포가 평활근다발로 이주해가서 평활근으로 작용하며 증식을 하여 평활근 부피를 증가시킨다는 것이다. 이중 어떠한 가설이 옳은지는 앞으로 더 지켜봐야 알겠지만, 중요한 것은 기도평활근의 이주가 증식에 관여할 가능성이 있다는 점이고 이것은 새로운

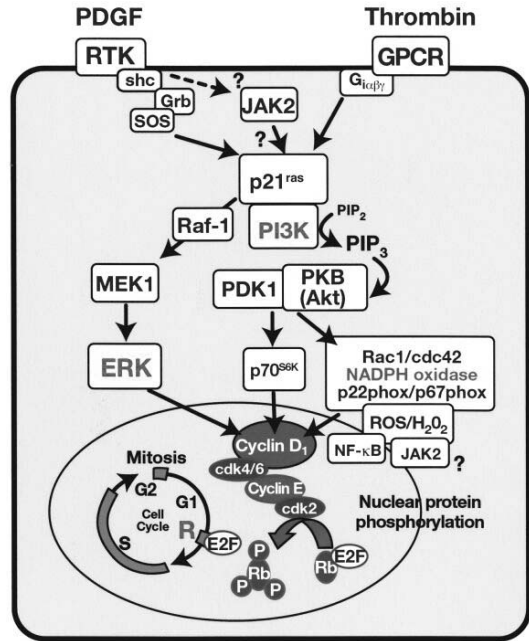


Fig. 4. Key signal transduction mechanisms that operate in ASM to regulate cell cycle entry and DNA synthesis. Mitogens acting predominantly through RTK(eg, PDGF) or GPCR (eg, thrombin) activate small GTPase p21^{ras} proteins, which interact with various downstream effectors. These include Raf-1 and PI3K. Raf-1 activates MEK1, which then phosphorylates ERK. PI3K, via 3-phosphorylated phosphoinositides such as 3,4,5-trisphosphate(PIP3), recruits phosphoinositide-dependent kinase 1(PDK1), which in turn leads to maximal protein kinase B(Akt) activation and downstream activation of p70^{S6K} and members of the Rho family GTPases, Rac1 and Cdc42. These form part of the NADPH oxidase complex that generates ROSs such as H₂O₂, which may lead to cyclin D1 activation via nuclear factor-B(NF-B) or JAK2. Thus, the ERK and PI3K pathways are considered to be 2 major, independent signaling pathways regulating ASM cell proliferation. PIP2, Phosphoinositide 3,4-bisphosphate. SOS: son of sevenless (Adapted from Ref. 13).

치료의 도입에 응용될 수 있다는 것이다.

1) 기도평활근 이주를 주도하는 매개체들

지금까지 알려진 평활근 이주를 촉진하는 매개체로는 PDGF-A chain, PDGF-B chain isomers, FGF-2, TFG- β , TGF- α /EGF 같은 폴리펩티드 성장인자들과 plasminogen activator, tissue plasminogen activator, urokinase, IL-1 β 같은 혈장-유도, 염증세포-유도 매개체들이다. Leukotriene E4 같은 수축작용제도 PDGF 자극에 따른 평활근 이주를 촉진시킨다. 대개의 미토겐들이 이주 촉진인자로의 역할을 하나 α -thrombin은 이주에 관여하지 않는 것으로 보인다.

2) 기도평활근 이주에 관여하는 신호전달경로

아직 제한적으로 밝혀져 있으나 RTK, 싸이토카인 수용체, urokinase plasminogen activator receptor(uPAR)을 통해 이주를 조절하는 신호전달이 시작되는 것으로 나타났다. 주된 경로로는 p38 MAPK 경로가 활성화되는 것이고, 이는 p21-activated

kinase 1(PAK1)을 통해 활성화된다. p38 MAPK 활성화는 heat shock protein 27(HSP27)을 활성화하여 세포운동에 필요한 F-actin polymerization을 촉진시킨다(Fig. 5). 또한 PAK1은 액틴 세포골격 동력학(cytoskeletal dynamics)의 주요 조절자이며 운동 시 세포 극성(polarity)의 조절자로 알려진 Rho GTPase(RhoA, Rac, Cdc42)와 결합함이 밝혀져 세포 이주의 신호전달경로에서 중요한 역할을 함을 알 수 있다. 이들 신호전달경로는 대개 억제제를 투여하여 세포이주가 억제되는지를 확인하면서 밝혀진 것이기 때문에, 앞으로 신호전달경로의 물질에 대한 표현 증가와 활성화가 세포 이주를 촉진하는지에 대한 검증이 필요하다.

9. 알러젠으로 유도된 기도개형

1) 기도평활근 성장 모델

Brown Norway rat는 TH2 세포 성향을 갖기 때문에 알러젠 자극에 대해 특징적인 알러르기 천식 반응을 보인다. 이들을 대상으로 한 실험에서 알러젠 자극 후에 기도평활근의 부피가 증가되고 비례적으로 기도과민성이 증가하는 것이 확인되었다. 또한 DNA가 합성될 때 사용되는 bromodeoxyuridine을 이용하여 기도평활근의 증식 반응도 활발히 일어나는 것을 확인할 수 있었다. In vivo 실험에서 cysteinyl leukotriene과 endothelin이 기도평활근의 증식을 유발하는 것이 확인되었고, 이들 매개체들을 생성, 분비하는 주 세포는 기도상피세포, 비만세포, 대식세포로 생각된다.

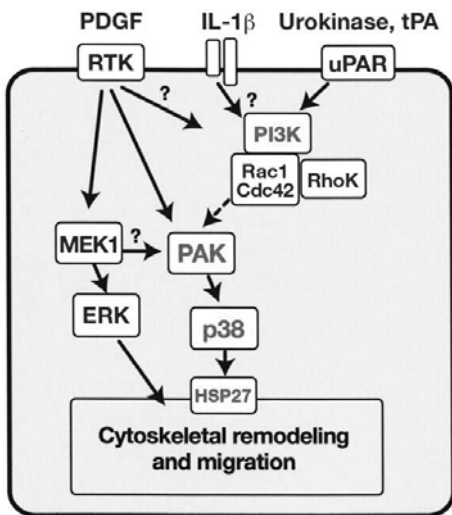


Fig. 5. Key signal transduction mechanisms that operate in ASM to regulate migration. Migration is associated with activation of glycolipid-anchored receptor proteins(eg, uPAR, urokinase receptor) and cytokine receptors. The major pathway so far identified for ASM migration signals to p38 MAPK via PAK to culminate in HSP27 phosphorylation, which favors F-actin formation and cytoskeletal remodeling. Other events recently implicated in ASM migration include PI3K activation, possibly acting via Rho kinase(RhoK) and Rac1/Cdc42, and activation of ERK-dependent pathways. tPA : tissue plasminogen activator(Adapted from Ref. 13).

2) T 세포와 기도평활근의 증식

T 세포는 천식의 병태생리에 매우 중요한 역할을 하며, 기도평활근의 증식에도 직, 간접적으로 영향을 미친다. In vitro 실험에서 T 세포는 CD44, hyaluronic acid, integrin을 통해 기도평활근에 부착되고, 활성화되면 기도평활근의 증식반응을 촉발하는 것으로 확인되었다. 하지만 실제적으로 기도평활근 층에 T 세포가 있는 것이 확인되지 않았기 때문에 직접 영향을 미치는 것보다는 간접적으로 T 세포가 분비하는 각종 사이토카인과 다른 염증세포를 동원하여 기도평활근 증식에 영향을 미치는 것으로 보인다. IL-13은 기도평활근의 cysteinyl leukotriene 수용체 표현을 증가시켜 leukotriene 자극에 대해 증식반응을 증가시킨다.

Ovalbumin으로 감작시킨 쥐의 T 세포를 감작하지 않은 IgE가 없는 naive 쥐에 주입하였을 때, naive 쥐에서 알레르기 후기 염증반응이 생기고, 재차 ovalbumin으로 유발하였을 때 기도평활근과 상피세포가 증식함이 밝혀졌다. 증식반응 이외에도 세포고사가 감소됨이 밝혀졌는데, naive 쥐의 세포고사 된 기도상피세포와 평활근의 수가 감소한 것이 TUNEL 방법으로 입증되어, CD4+ T 세포는 기도평활근의 증식과 세포고사 억제를 통해 평활근 부피를 증가시켜 기도개형을 유발하는데 중요한 역할을 하는 것으로 보인다.

10. 베타2 항진제와 글루코코르티코이드의 작용 기전

모든 베타2 항진제는 7-transmembrane GPCR family에 속하는 베타2 항진제 수용체를 통해 작용한다. Ligand가 수용체에 결합하면 G_s-protein의 α 부분이 adenylate cyclase를 유리, 활성화시켜 세포내 cAMP를 생성하고, 연이어 protein kinase A(PKA)를 활성화하여, 각종 세포내 조절 단백질들을 인산화한다. 베타2 항진제는 유전자 전사에도 관여를 하는 것으로 생각되며, 최근 베타2 항진제 수용체 활성화가 ERK, p38 MAPK 경로를 자극하는 것으로 보고되었다.

글루코코르티코이드 수용체는 세포내 글루코코르티코이드 수용체로, 비활성화 된 휴식 상태에서는 세포질 내에 위치한다. 글루코코르티코이드는 세포막을 통과해 세포질로 들어와서 글루코코르티코이드 수용체 결합 도메인을 통해 수용체와 결합하면 수용체 단백질 형태 변화가 일어나면서 활성화된 글루코코르티코이드-글루코코르티코이드 수용체 복합체가 생긴다. 이 복합체가 핵 안으로 들어가서 유전자의 촉진부에 있는 glucocorticoid response elements(GRE)에 결합하여 해당 유전자의 전사를 증가, 또는 억제시키게 되며 이 과정을 transactivation이라고 한다. 이와는 별도로 글루코코르티코이드-글루코코르티코이드 수용체 복합체가 AP-1, NF-κB 같은 세포내 전사인자와 직접 작용하여 전사인자-매개성 염증증 반응을 감소시킨다.

11. 베타2 항진제와 글루코코르티코이드의 상호작용

글루코코르티코이드는 베타2 항진제 수용체를 탈감작과 관련이 생기지 않도록 보호해주고, 수용체 결합 효과를 증가시키고,

염증에 의해 유도된 수용체 하향조절(downregulation)과 탈결합에서 보호해주는 역할을 한다. 글루코코르티코이드는 베타2 항진제 수용체 유전자 촉진부의 GRE에 결합하여 베타2 항진제 수용체 전사를 증가시킨다. 폐조직 in vitro 실험에서 dexamethasone 투여 2시간째 베타2 항진제수용체 mRNA가 증가되고, 24 시간째 단백질 생성이 증가된 것이 확인되었고, 이것은 시간과 용량 의존적으로 증가되었다. 하지만 dexamethasone이 베타2 항진제 수용체 mRNA의 반감기에는 영향이 없는 것으로 보인다.

지속성 베타2 항진제는 글루코코르티코이드 수용체가 다음 글루코코르티코이드와 결합을 할 수 있도록 촉진해주고, 수용체가 세포질에서 핵 내로 자리이동 되는 것을 증가시킨다. 글루코코르티코이드 수용체는 인산화(활성화)와 탈인산화(비활성화) 과정을 통해 조절되는데, 베타2 항진제에 의한 조절은 MAPK 의존적 활성화에 의한 것으로 생각된다.

12. 기도평활근에 미치는 베타2 항진제와 글루코코르티코이드의 효과

기도평활근에서 IL-8 분비를 억제하는 데는 salmeterol은 효과가 없는 것으로 나타났고, fluticasone과 함께 투여 시 fluticasone 단독으로 썼을 때의 억제 효과를 상승시키는 것으로 나타났다. Eotaxin 분비를 억제하는 효과는 비자극 상태에서는 salmeterol과 스테로이드 모두 없었으나, TNF- α 자극에 의한 eotaxin 분비는 두 제제 모두 억제하고 특히 함께 투여 시 억제 효과가 컸다. 지속성 베타2 항진제는 기도평활근에서 TNF- α 자극에 의한 IL-6 분비를 증폭시키지만 RANTES 분비는 용량-의존적으로 억제하는 것으로 나타났다. 글루코코르티코이드는 아주 작은 농도에서도 TNF- α 자극에 의한 RANTES 분비를 차단하는데, salmeterol과 함께 투여 시 이런 효과는 100배 낮은 농도로도 얻을 수가 있었다. 하지만, IL-6 분비 억제에 관해서는 dexamethasone과 salmeterol을 함께 투여했을 때 dexamethasone 단독 보다 상승 효과가 없는 것으로 나타났다(Fig. 3).

IL-1 β , TNF- α , IFN- γ 등의 사이토카인 혼합체를 투여했을 때 기도평활근에서 MCP-1, MCP-2가 증가되는데, dexamethasone은 이들의 증가를 약 50% 정도 감소시키는 효과를 보였다. GM-CSF 분비 억제 효과에 관해서는 베타2 항진제와 글루코코르티코이드 모두 비자극 상태에서는 억제 효과가 없으나, IL-1 β 자극에 의한 GM-CSF 분비는 두 제제 모두 억제 효과를 보이고, 특히 함께 투여 시 상승효과를 나타내는 것으로 보고되었다.

Vascular endothelial growth factor(VEGF) 분비는 비자극 기도평활근에서 베타2 항진제와 글루코코르티코이드에 의해 모두 억제되며, 특히 글루코코르티코이드는 아주 강력해서 0.1 nmol/L의 적은 농도에서도 VEGF 분비를 억제하는 것으로 밝혀졌다. IL-1 β 자극에 의한 VEGF 분비에 대해서도 글루코코르티코이드는 억제 효과를 보이지만, 베타2 항진제는 효과가 없

었다. 하지만 두 제제를 함께 썼을 때는 글루코코르티코이드만 썼을 때보다 억제 효과가 더 큰 것으로 나타났다.

13. 기도평활근의 성장, 증식, 이주에 베타2 항진제와 글루코코르티코이드의 작용

1) 베타2 항진제에 의한 세포주기 진행의 조절

베타2 항진제는 각종 미토겐 자극에 의한 기도평활근 DNA 합성 및 세포수가 증가하는 것을 감소시킨다. 베타2 항진제는 다른 cAMP 증가 제제들과 같이 cyclin D1 단백을 전사 후 (posttranscriptional) 억제하여 세포주기를 G1 phase에서 정지시킨다. 이와 별도로 cyclin D1 유전자 표현이 CRE 결합단백의 인산화와 transactivation을 통해 억제될 수 있다. cAMP와 protein kinase C(PKC)는 항미토겐 작용을 하여 세포 증식을 억제하고, 베타2 항진제와 PGE2, vasoactive intestinal peptide (VIP)는 cAMP와 PKC를 증가시킨다. Salmeterol은 thrombin에 의한 기도평활근 증식을 억제하는 것으로 나타났으나 다른 미토겐에 대해서는 효과를 보이지 않았다.

2) 글루코코르티코이드의 항증식 작용

Dexamethasone과 fluticasone은 G1 phase에서 사람의 기도평활근 세포주기를 정지시키는 것으로 밝혀졌다. 글루코코르티코이드는 thrombin에 의한 cyclin D1 mRNA와 단백질 생성을 억제하고, 차례로 Rb의 인산화를 억제하여, 세포주기가 후기 G1 phase에서 멎게 된다.

최근에는 스테로이드가 세포 증식에 매우 중요한 요소인 C/EBP- α 활성화를 통해 증식을 억제하는 것으로 보고되었다. 즉, C/EBP- α 가 활성화되면 세포주기 의존성 kinase 억제제인 p21^{WAF1/Cip1}를 활성화하여 세포주기를 붕괴시킨다. Dexamethasone은 이런 방법으로 세포 증식을 48% 정도 감소시키는 것으로 나타났다. Budesonide도 혈청 자극 후에 기도평활근에서 p21^{WAF1/Cip1}를 증가시켰는데, formoterol은 이런 효과가 없으나 budesonide와 함께 투여했을 때는 budesonide의 세포 증식 억제 효과를 증가시키는 것으로 나타났다.

14. 기도평활근의 이주에 미치는 천식 약제들의 효과

cAMP를 증가시키는 약제는 기도평활근의 자발적 이주를 억제한다. 글루코코르티코이드도 PDGF로 유도된 이주를 억제하는데, 특히 베타2 항진제와 함께 투여하였을 때 억제 효과가 컸다. 또한 urokinase로 강화되고, PDGF로 유도된 기도평활근 이주가 PGE2 같은 cAMP를 증가시키는 제제에 대해 억제되는 반응을 보였다. 이외에도 PDGF로 유도된 이주가 leukotriene에 의해 증가되고, leukotriene 수용체 길항제를 투여하면 leukotriene에 의한 이주는 억제되지만 PDGF에 의한 이주는 억제되지 않음이 관찰되었다.

결 론

기도평활근은 세포외기질의 형성에 중대한 영향을 미친다. 따

라서 천식 환자의 세포외기질의 구성 성분은 양과 질적으로 정상인과 차이를 보이고, 기도평활근은 이를 조절하는 중요한 조절 세포로의 기능을 한다. 또한 integrin 결합으로 세포외기질은 기도평활근의 증식, 생존, 합성 분비 기능을 조절한다. 즉, 콜라겐 I, V, fibronectin의 침착은 기도평활근을 증식 반응성 표현형으로 변화시킨다. 아직까지 세포외기질의 변화가 기도평활근의 수축 작용에 어떤 영향을 미치는지는 확인되고 있지 않다.

기도평활근의 증식과 이주를 촉발하는 제제와 기전은 겹치는 부분이 많다. 증식 반응을 주도하는 주된 세포내 신호전달경로는 ERK, PI3K이며, 이주 반응을 주도하는 경로는 PAK1/p38MAPK/HSP27 활성화에 의존된다. 이들 신호전달경로는 주로 배양된 세포를 통해 확인되었고, 세포배양에서 보인 증식 반응이 실제 천식 기도개형에서 보이는 기도평활근 두께 증가에 얼마나 기여를 하고 있는지는 더 많은 연구가 요구된다.

CD4+ T 세포가 기도평활근과 직접 접촉을 통해 증식 반응을 유발하는지는 알 수 없으나, 세포 배양에서는 서로 간에 접촉을 할 수 있음이 확인되었다. 하지만 T 세포가 IL-13 같은 사이토카인을 분비하여 사이토카인에 의해 leukotriene 같은 성장촉진제에 대한 증식 반응이 강화되었을 가능성도 있다.

세포 배양에서 보인 증식 반응과 달리 in vivo 실험에서는 기도평활근의 세포분열에 의한 증식반응이 뚜렷치 않다. 생체 내에서 조직 회전은 그 속도가 느리기 때문에 증식 속도가 증가되었는지를 감지하지 못할 수도 있다. 또는, 상피세포하 근육섬유모세포, 또는 혈액내의 조혈모세포의 이주에 의한 기도평활근 증가 가능성도 있고, 기도평활근의 세포고사가 감소되어 기도평활근이 증가되었을 가능성도 있다. 이들 중 어떤 가능성이 기도개형에서 볼 수 있는 기도평활근 두께 증가에 가장 기여하는지를 확실하게 해야 기도개형을 예방, 치료하는 약제의 개발도 여기에 초점을 맞출 수 있을 것으로 생각된다.

PI3K가 증식과 이주에 모두 관여하는 것이 확실하기 때문에 기도개형을 예방하고 치료하는데도 좋은 목표가 될 수 있으나 문제는 세포내 신호전달경로를 차단하는 것에 따른 부작용일 수 있다. 기도개형을 효과적으로 차단하는 약제의 개발은 고용량 스테로이드에 의존해야 하는 중증 천식 환자들에서는 매우 절박한 현실이므로, 스테로이드를 대치하거나 줄일 수 있으면서 기도개형을 억제하는 약제의 개발이 꼭 필요하다.

References

1) Johnson PR, Black JL, Carlin S, Ge Q, Underwood PA. The production of extracellular matrix proteins by human passively sensitized airway smooth-muscle cells in culture :

the effect of beclomethasone. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:2145-51.

2) Burgess JK, Johnson PR, Ge Q, Au WW, Poniris MH, McParland BE. Expression of connective tissue growth factor in asthmatic airway smooth muscle cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:71-7.

3) Johnson S, Knox A. Autocrine production of matrix metalloproteinase-2 is required for human airway smooth muscle proliferation. *Am J Physiol* 1999;277:L1109-17.

4) Brightling CE, Bradding P, Symon FA, Holgate ST, Wardlaw AJ, Pavord ID. Mast-cell infiltration of airway smooth muscle in asthma. *N Engl J Med* 2002;346:1699-705.

5) Hirst SJ, Twort CH, Lee TH. Differential effects of extracellular matrix proteins on human airway smooth muscle cell proliferation and phenotype. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000;23:335-44.

6) Krymskaya VP, Penn RB, Orsini MJ, Scott PH, Plevin RJ, Walker TR. Phosphatidylinositol 3-kinase mediates mitogen-induced human airway smooth muscle cell proliferation. *Am J Physiol* 1999;277:L65-78.

7) Howarth PH, Knox AJ, Amrani Y, Tliba O, Panettieri RA, Johnson M. Synthetic responses in airway smooth muscle. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:S32-50.

8) Riffo-Vasquez Y, Spina D. Role of cytokines and chemokines in bronchial hyperresponsiveness and airway inflammation. *Pharmacol Ther* 2002;94:185-211.

9) Maruoka S, Hashimoto S, Gon Y, Takeshita I, Horie T. PAF-induced RANTES production by human airway smooth muscle cells requires both p38 MAP kinase and Erk. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:922-9.

10) Fernandes D, Guida E, Koutsoubos V, Harris T, Vadiveloo P, Wilson JW. Glucocorticoids inhibit proliferation, cyclin D1 expression, and retinoblastoma protein phosphorylation, but not activity of the extracellular-regulated kinases in human cultured airway smooth muscle. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;21:77-88.

11) Johnson SR, Knox AJ. Synthetic functions of airway smooth muscle in asthma. *Trends Pharmacol Sci* 1997;18:288-92.

12) Madison JM. Migration of airway smooth muscle cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;29:8-11.

13) Hirst SJ, Martin JG, Bonacci JV, Chan V, Fixman ED, Hamid QA, et al. Proliferative aspects of airway smooth muscle. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:S2-17.

14) Hirst SJ, Barnes PJ, Twort CH. PDGF isoform-induced proliferation and receptor expression in human cultured airway smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1996;270:L415-28.

15) Ammit AJ, Hoffman RK, Amrani Y, Lazaar AL, Hay DW, Torphy TJ. Tumor necrosis factor-alpha-induced secretion of RANTES and interleukin-6 from human airway smooth-muscle cells: modulation by cyclic adenosine monophosphate. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000;23:794-802.