

## 생쥐에서 가정분진 입자로 인한 항원관련 호산구성 기도 염증과 기도 과민성의 증대

### Enhancement of Allergen-related Eosinophilic Airway Inflammation and Airway Hyperresponsiveness by House Dust Particles in Mice

임 흥 빈\* · 김 승 형<sup>1)</sup>

충북대학교 농업생명환경대학 특용식물학과,

<sup>1)</sup>대전대학교 한의과대학 동서생명과학연구원

(2007년 11월 9일 접수, 2008년 5월 27일 채택)

Lim Heung-Bin\* and Kim Seung-Hyung<sup>1)</sup>

*Department of Industrial Crop Science & Technology,*

*Chungbuk National University Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea*

<sup>1)</sup>*Institute of Traditional Medicine & Bioscience, Daejeon University,*

*Daejeon 300-716, Korea*

(Received 9 November 2007, accepted 27 May 2008)

#### Abstract

The number of patient with allergic asthma and atopy have increased in the cities of Korea steadily. In order to elucidate the primary factor, we investigated whether the house dust particles collected from an apartment of the middle classes has promoting effects of allergen-related airway inflammation and airway hyperresponsiveness. Mice were treated with 0.1 mL of 1 mg/mL of house dust particles suspension by intratracheal instillation once weekly for 10 weeks combined with ovalalbumin (OVA) sensitization. Intratracheal instillation of house dust particles and OVA sensitization caused an increase in the level of serum L-lactate dehydrogenase (LDH), immunoglobulin-E (IgE) and histamine, and an elevation in respiratory resistance. It also enhanced infiltration of eosinophils in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF) of mice, IgE and eotaxin expression in blood, and T helper type 2 cell derived cytokine levels such as of interleukin (IL)-4, IL-13 and IL-5 in the BALF. However, it did not influence T helper type 1 cytokine such as interferon-gamma in the BALF. These results indicate that house dust particles elevate allergen-related airway inflammation and airway hyperresponsiveness in mice and may play an important role in the aggravation of asthma and atopy in Korea.

**Key words** : House dust particles, Airway inflammation, Eosinophile, Cytokine, Airway hyperresponsiveness

\*Corresponding author.

Tel : +82-(0)43-261-2521, E-mail : heungbin@chungbuk.ac.kr

## 1. 서 론

통계청의 발표에 의하면 2000년부터 한국인의 암 사망률 중에서 폐암 사망률이 1위가 되었고, 천식, 만성기관지염과 폐렴과 같은 만성 하기도질환에 의한 사망률도 해마다 증가하고 있다고 한다. 또한 대기오염 중 특히 미세먼지(PM)로 인해 서울·인천·경기 등 수도권에서만 연간 1만 1000여명이 조기 사망하고, 이에 따른 경제적 손실은 연간 최대 10조원에 이를 것이라는 연구결과도 보고되고 있어 한국인이 살고 있는 대기환경이 어느 정도 중증(重症)이라는 것을 대변하고 있다(Park *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2003).

일반 아파트에 살고있는 가정의 미세먼지에도 외부공기로부터 유입된 오염물질 그리고 집안의 가구, 벽지, 타일, 장판, 카펫, 단열재, 방향제, 석면 등 단열재와 시공 과정에서 사용되는 접착제, 페인트 등에는 발암물질인 벤젠, 톨루엔, 자일렌, 에틸벤젠 등의 휘발성 유기화합물 등이 다량 응축되어 있어 불쾌감, 두통, 인후두부 염증, 알러지성 비염과 천식 등을 유발한다고 보고되고 있다(Miller *et al.*, 2007). 천식은 만성기관지질환, 폐질환, 과도한 운동, 공해와 스트레스 등 여러 가지 원인에 의해서 생기지만 알러지로 인한 환자가 전체의 3분의 2에 달할 정도로 많으며, 그 중에서도 침대·카펫 등에 살고 있는 집먼지진드기, 애완동물의 털, 꽃가루로 인한 알러지 환자가 큰 비중을 차지한다고 알려지고 있다(Sharma *et al.*, 2007). 신체가 거부반응을 일으키는 음식, 진통소염제, 금속 및 화학 물질, 목재 분진, 곡물 및 커피 가루도 알러지를 일으킬 수 있다(Nielsen *et al.*, 2007). 한편 담배연기와 자동차배기가스 입자가 인체에 미치는 영향에 대해서는 많은 연구가 이루어져 왔다(Lim and Lee, 2002; Sagai *et al.*, 2000; Lim *et al.*, 1998). 그러나 우리나라에서 실내 오염원에 대하여 성분분석을 한 연구결과는 많으나(Park *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2005; Jo *et al.*, 2003) 가정분진 입자와 같은 미세먼지가 호흡기 질환에 미치는 영향에 관한 연구 결과는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 청주의 한 아파트에서 가정분진 입자를 포집하고, 그 가정분진 입자를 10주 동안 알러지를 일으키는 항원과 함께 생쥐 기도내에 병행

투여하여 가정분진 입자가 기관지 천식과 관련하여 기도 염증과 기도과민성에 미치는 영향을 조사하였다.

## 2. 연구 방법

### 2.1 가정분진 입자의 포집

가정분진 입자는 충청북도 청주시 상당구 용암동 건영아파트에서 중산층이라고 판단되는 한 가정 아파트를 대상으로 포집하였다. 아파트는 방 4개, 거실, 주방으로 이루어져 있고, 크기는 119 m<sup>2</sup>이며, 입주는 1998년으로 지은 지 9년 되었다. 가정 구성원은 40대의 부부, 고등학교, 중학교, 초등학교 학생 등 5명이며, 중학생과 초등학생은 아토피 환자이다. 가정분진 입자의 포집은 2006년도 2월 6일부터 20일까지 이주일 동안, 매일 오전 10시에 진공청소기(삼성 VC-N-900, Korea)로 집안을 청소하면서 청소기로 걸러진 미세먼지 입자를 수집하고, 냉동고(-20°C)에 저장하면서 실험에 사용하였다. Colt *et al.* (2008)은 가정에서 발생한 질병관계의 원인을 구명하기 위하여 가정분진 입자를 포집할 때 가정용 진공청소기로의 포집이 가장 효과적이라고 보고하고 있다. 또한 가정분진 입자는 공 모양의 평균 직경이 0.4 μm인 디젤 배기가스입자의 크기(Sagai *et al.*, 1993)와 비교했을 때 더 미세하였다.

### 2.2 실험동물 사육조건과 기도내 가정분진 입자 투여

본 연구에서 사용된 실험동물은 Daehan Biolink Co. (Eumsung, Korea)에서 구입한 Balb/c계 생쥐로 수컷만을 이용하였다. 생쥐를 정상군, OVA 처리군 및 가정분진 처리군 세 그룹으로 나누고 한 그룹당 16마리씩 사육하여 기도과민성 측정 등에 8마리씩 사용하였고, 혈액과 기도폐 세정액 채취 및 분석에 8마리씩 사용하였다. 동물사육실의 조건은 conventional system으로 온도는 20±2°C, 습도는 40~60%, 환기는 1시간당 12~15회로 하였으며, 1일 중 12시간은 200~300 Lux로 조명하고, 12시간은 모든 빛을 차단하였다. 실험동물의 사료는 (주)삼양사(Seoul, Korea) 제품의 고품사료(조단백질 22.1% 이상, 조지방 8.0% 이하, 조섬유 5.0% 이하, 조회분 8.0% 이하, 칼슘 0.6

% 이상, 인 0.4% 이상 배합사료)를 사용하였다. 그리고 cage는 polycarbonate재질로 만든 것을 사용하였으며 깔집은 (주) JRS (MK-2000 Corncob, Germany) 제품을 사용하였다. 실험동물의 사육과 모든 과정은 국제 동물이용관리 위원회 지침에 준하여 실시하였다.

가정분진 입자의 기도내 투여는 Lim 등의 방법 (1998)에 준하여 실시하였다. 즉 가정분진 입자를 0.05% Tween 80을 함유한 50 mM 인산완충 생리식염수 용액 (PBS pH 7.4)으로 1 mg/mL의 농도가 되도록 suspension을 만든 다음, -4°C로 유지하면서 초음파 세포분쇄기 (Tomy UD-201, Tokyo, Japan)로 50% 최대 출력하에 5분 동안 sonication하였다. 가정분진 투여군 생쥐를 10% chloral hydrate로 마취한 다음, 기도내 투여용 cannula를 이용하여 그 가정분진입자 suspension 1 mg/mL 용액 100 µL를 10주 동안 일주일에 1회 기도내로 투여하였고, 정상군과 OVA 처리군은 0.05% Tween 80을 함유한 50 mM PBS 용액 (pH 7.4)만을 기도내로 투여하였다.

### 2.3 OVA 감작화 및 흡입

실험동물에 Ovalbumin (OVA: Sigma St. Louis, MO) 감작화 및 흡입은 Hammad *et al.* (2004)의 방법에 따라 실시하였다. 즉 OVA/alum 용액은 먼저 50 mM PBS용액 (pH 7.4)으로 OVA 농도가 500 µg/mL이 되도록 만들고, 10% (w/v) aluminum potassium sulfate (Sigma, USA) 용액과 동량 혼합한 후 실온에서 60분 동안 방치한 다음, 10 N NaOH를 사용하여 pH 6.5로 조정한 후 1,000 rpm에서 5분 동안 원심분리하여 조제하였다. OVA 처리군과 가정분진 처리군에 각각 OVA/alum용액 0.2 mL (inhallation 14일과 7일전)를 그리고 1% OVA용액 0.1 mL (inhallation 11일과 2일전)를 각각 2회씩 복강 내로 투여하였다. 또한 250 × 300 × 250 mm의 polycarbonate재질 (DJ-435, Daejong Inc, Korea) chamber안에서 10주 동안 일주일에 한번, 일일에 30분 Buxco Aersol Dilivery System (NE-CT10, Buxco Co. USA)를 이용하여 6주간은 1% OVA 용액, 그리고 마지막 4주간은 2.5% OVA 용액을 aerosol화하여 분무하였다.

### 2.4 혈액과 기도폐세정액 채취

실험 종료 후 생쥐는 10% chloral hydrate를 복강

내에 투여한 후 혈액을 심장채혈법으로 포집하고, 원심분리 3,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하여 혈청을 얻었으며, -70°C에 보관하면서 실험에 사용하였다. 혈청성분과 호소들의 활성도는 바이오텍스텍 (주) (Cheongju, Korea)에 의뢰하여 측정하였다. 기도폐세정액 (BALF)은 37°C에서 주사기로 10% FBS DMEM 배양액을 기도내 반복하여 주의 깊게 넣고 빨라드려서 얻었으며, 이 과정을 3회 반복하였다. 이 폐세정액의 세포를 Cytospin centrifuge (Cellspin, Hanil, Korea)를 이용하여 슬라이드 글라스 위에 도말하고 Diff-Quik로 염색하여 호산구의 세포수를 조사하였다. 폐 세정액의 상층액은 -70°C에 보관하면서 실험에 사용하였다.

### 2.5 기도과민성 측정

기도과민성의 측정은 whole body plethysmographs인 Biosystem XA (Buxco research system, Wilmington, NC, USA) 장비를 사용하여 Finotto *et al.* (2001)의 방법에 따라 실시하였다. 즉 Pehn값은 Pause-PIF/PEF와 같으며, 여기서  $Pause = (Te - TR) / Tr$ 로서 PIF는 peak inspiratory flow, PEF는 peak expiratory flow, Te는 expiratory time, Tr은 relaxation time으로 Biosystem XA software (Buxco Research System, Wilmington, USA)를 이용하여 분석하였다. 10주간 가정분진 입자의 기도내 투여와 마지막 2.5% OVA inhallation 24시간 후에, 농도별 methacholine (Sigma)수용액을 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 mg/mL의 농도로 aerosol하고, 각각의 농도에 대한 기도의 반응성은 10분 동안 연속적으로 모니터링하면서 체크하였다.

### 2.6 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

폐세정액에서 Interleukin (IL)-4, IL-5, IL-13, IL-10의 함량과 interferon (IFN)-gamma ELISA kit는 Biosource사 (Invitrogen, USA)것을 사용하였고, 혈액으로 유리한 히스타민 함량은 Beckman Coulter사 (Fullerton, USA) 제품과 혈액에서 immunoglobulin-E (IgE)의 함량은 Shibayagi사 (Shibukawa, Japan) 제품의 monoclonal antibody-based mouse interleukin ELISA kit를 이용하여 측정하였다. 즉 각 well에 천식유발 생쥐의 혈청과 폐세정액 100 µL씩을 각각 분주하고, 1시간 동안 실온에서 방치한 후 2회 washing 완충 용액으

Table 1. Change of serum components.

Serum components	Normal	OVA	OVA+ House-Dust
ALT <sup>a</sup>	9.1±0.8	10.4±1.0	13.8±4.8
AST <sup>a</sup>	75.1±4.5	82.4±7.7	83.4±9.0
LDH <sup>a</sup>	341.5±41.3	395.0±52.0	570.0±71.7*
Creatinine <sup>b</sup>	0.40±0.05	0.30±0.04	0.30±0.05
T-cholesterol <sup>b</sup>	87.6±6.6	81.7±4.1	72.8±7.2
Glucose <sup>b</sup>	140.4±2.4	161.2±10.9	150.9±12.7
T-Bilirubin <sup>b</sup>	0.018±0.005	0.020±0.010	0.025±0.003
T-glyceride <sup>b</sup>	43.9±11.7	44.6±12.6	56.3±12.0

a: units/L, b: mg/dL

ALT: alanine aminotransferase

AST: aspartate aminotransferase

LDH: L-lactate dehydrogenase

Mice were treated with 0.1 mL of 1 mg/mL of house dust particles suspension by intratracheal instillation once weekly for 10 weeks combined with ovalbumin (OVA) sensitization

Values recorded are the mean±SD with 8 male Balb/c mice per each group

\*Significantly different from OVA group (p&lt;0.01)

로 세척한 다음 antibody biotin-conjugated를 넣고 30분간 방치하였다. 다시 2회 수세 후 완충 용액으로 세척한 다음 antibody Avidin- HRP conjugated 100 µL를 처리하고, 1시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. TMB 기질을 100 µL씩 분주하고 암소에서 30분간 방치한 후 100 µL의 stop 용액을 처리한 후 ELISA reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하고 그 함량을 계산하였다.

## 2.7 통계처리

모든 데이터는 평균±표준편차로 나타내었으며, 데이터 분석은 StatView version (4.0 Abacus Concepts, Inc. Berkeley, CA)을 이용하였고, Fisher's protected least significant difference test 혹은 Scheffe's F test에 의해 두 처리군 사이에 p값이 0.05보다 작은 값을 나타내었을 때 통계적으로 유의성이 있다고 판정하였다.

## 3. 결과 및 토론

### 3.1 혈액성분과 효소

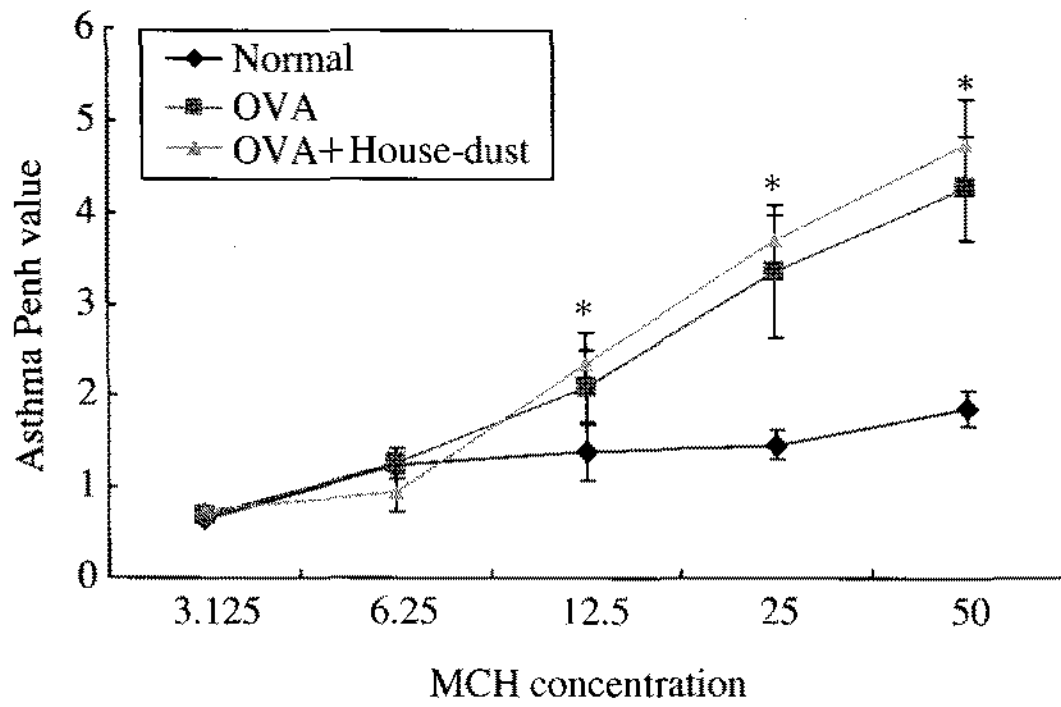
표 1은 생쥐에 10주 동안 OVA 감작화와 함께 기도내에 가정분진 입자를 투여했을 때 혈액성분의 변화를 나타낸 것이다. 전위반응을 촉매하는 효소인

aspartate aminotransferase (AST)와 alanine aminotransferase (ALT)는 생체내 많은 장기에 존재하는 세포내 효소로서 특히 간세포에는 고농도로 존재하기 때문에 간기능 장애의 예민한 검사방법으로 사용되고 있다(Titcomb, 2003).

또한 L-lactate dehydrogenase (LDH)는 여러 장기에 분포하고 있기 때문에 장애에 대한 특이성은 낮지만 간, 심장, 근육 등의 장애 외에도 용혈성 빈혈 등의 혈액질환뿐만 아니라 생체내에서의 염증, 종양 및 궤양 등의 질병에서도 상승한다고 알려지고 있다(Von Eyben, 2001). AST와 ALT 활성도의 경우 단독 OVA 처리군과 OVA+가정분진 처리군이 정상군에 비해 약간 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 L-lactate dehydrogenase (LDH) 활성도는 단독 OVA 처리군은 정상군과 비교했을 때 통계적 유의성 없이 증가하는 경향을 보였으나 OVA+가정분진 처리군은 정상군의 약 1.7배 증가하였다. 그 외 혈액에서 creatine, T-cholesterol, glucose, T-bilirubin과 T-glyceride의 함량은 단독 OVA처리 및 OVA+가정분진 처리에 의해서 정상군과 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다.

### 3.2 기도과민성

기도과민성 측정은 대부분 methacholine, acetylcholine 등의 기도수축제를 흡입시켜서 어느 정도의 양을 흡입시키면 기도가 수축하기 시작하는 지를 검사하거나 이들을 농도별로 흡입시켰을 때 수축하는 정도를 Pehn값으로 측정하여 평가하고 있다(Vig et al., 2006). 본 실험에서는 asthma Pehn값으로 처리군을 비교하여 기도 자극에 대한 과민성을 측정하였다. 10주 동안 실험절차에 따라 처리한 정상군, OVA 처리군 및 OVA+ 가정분진 처리군에 methacholine을 농도별로 분무하고, Pehn값을 비교한 결과는 그림 1과 같다. 정상군에서 methacholine 분무 농도를 3.125, 6.25, 12.5, 25.0과 50.0 mg/mL 증가시켰을 때 Pehn값은 각각 0.65, 1.23, 1.39, 1.46과 1.86으로 methacholine 분무농도에 따라 Pehn값은 약간 증가하였다. 그러나 OVA 처리군에서 Pehn값은 각각 0.68, 1.26, 2.34, 3.35, 4.26이었고, OVA+ 가정분진 처리군에서 Pehn값은 각각 0.74, 0.94, 2.09, 3.69, 4.75로 정상군에 비해 methacholine 농도에 따라 크게 증가하였다. 즉, OVA 처리군의 Pehn값은 methacholine 분무농도



**Fig. 1. A** increase in respiratory resistance with MCH concentration.

MCH: methacholine (mg/mL)

Values recorded are the mean ± SD with 8 male Balb/c mice per each group

\*p<0.01 represents significant difference between OVA group and normal group, and between OVA+ House-dust group and normal group

12.5 mg/mL부터 정상군보다 높았으며(p<0.01), OVA+가정분진 처리군도 정상군에 비해서는 높았으나(p<0.01), OVA 처리군에 비해서는 같은 농도에서 약간 높은 값을 유지하였으나 두 처리군간에 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다. 따라서 10 주동안 생쥐에 OVA로 처리하고 난 후 methacholin 분무농도를 증가시키면 생쥐의 기도과민성은 크게 증가하며, 또한 장기간 가정분진 입자를 OVA 감작화와 함께 병행 처리했을 때는 OVA 단독 처리군보다 기도 자극에 대한 천식성 기도과민성은 더 악화시킬 가능성이 있다는 것을 나타내는 결과라고 판단된다.

### 3.3 폐세정액의 세포수

일반적으로 기도의 염증은 물리적, 화학적, 생물학적인 외적요인에 의해서 생기는 생체의 반응으로서 일반적인 특징은 염증세포의 침윤과 부종과 함께 기관지선의 비대, 그리고 배세포의 증가 등의 병리생태학적 변화가 생긴다고 한다(Takizawa, 2003). 그러나 일반 급성염증에서는 염증부위에 혈액에서 백혈구 중 호중구가 침윤하고, 만성염증에서는 주로 림프구가 침윤하는데 반해 기관지 천식성 만성염증에서는 호산구가 침윤하여 기도상피의 손상을 유발하는 특징이 있다(Takizawa, 2003). 표 2는 생쥐에 10주 동

**Table 2. Change of Lung weights, the number of total cells and eosinophils in bronchoalveolar lavage fluid.**

	Normal	OVA	OVA+ House-Dust
Lung weights <sup>a</sup>	0.22 ± 0.02	0.33 ± 0.07 <sup>#</sup>	0.40 ± 0.05 <sup>#</sup>
Total cells <sup>b</sup>	1.70 ± 0.40	11.8 ± 0.25 <sup>#</sup>	15.24 ± 2.58 <sup>#*</sup>
Eosinophils <sup>c</sup>	1.50 ± 0.50	37.0 ± 10.00 <sup>#</sup>	54.5 ± 9.50 <sup>#*</sup>

a: g

b: (× 10<sup>5</sup> cells)

c: × 400

Values recorded are the mean ± SD with 8 male Balb/c mice per each group

<sup>#</sup>Significantly different from normal group (p<0.01)

\*Significantly different from OVA group (p<0.01)

안 OVA 감작화와 함께 기도내에 가정분진 입자를 투여했을 때 폐의 무게변화와 폐세정액에서 총 세포수와 호산구수 등을 측정한 결과이다. 폐의 무게의 경우 OVA+가정분진 처리군이 상대적으로 가장 무거웠으며, 다음은 OVA 단독 처리군과 정상군 순이었다. 폐세정액에서 OVA 단독 처리군 총세포수는 정상군에 비해 약 6.9배 증가하였으며, OVA+가정분진 처리군은 약 9.0배 증가하였다. 폐세정액에서 호산구의 수도 OVA 단독처리군은 정상군에 비해 약 24.7배 증가하였고, OVA+가정분진 처리군은 약 36.3배나 증가하였다. 따라서 생쥐에게 장기간 가정분진 입자를 OVA 감작화와 함께 기도내로 투여했을 때 혈액에서 침윤하는 세포수가 크게 증가하며 그 중에서도, 특히 호산구수가 급증하는 것으로 보아 가정분진 입자는 항원으로 인한 기관지 천식성 만성염증의 기여인자가 될 수 있다고 판단된다.

### 3.4 혈액에서 IgE와 히스타민 함량

일반적으로 알러지반응은 I형에서 IV형까지 분류되고 있지만 이 중에서 기관지 천식과 관련된 것은 I형 알러지반응으로 이 반응은 주체를 담당하는 것은 주로 IgE 항체와 mast 세포이다(Theohatides and Kalogeromitos, 2006). 이 반응은 알러지를 일으키는 항원이 침입하면, macrophage가 인식, helper T 세포에서 관련 cytokine이 유리, 그리고 B세포에서 IgE항체가 만들어져 mast세포에 부착시킨다. 그 다음 mast세포는 히스타민, ECF-A, protdaglandin, tromboxane, leucotriene C4, leucotriene D4, leucotriene E4 및 PAF를 생성하여 유리하는 특징을 갖고 있는데, 특히 히스타민의 유리는 혈액에서 기관지조직에 호산구를



Table 3. Change of Histamine and IgE levels in serum.

	Normal	OVA	OVA+ House-dust
Histamine <sup>a</sup>	2.9±1.1	28.4±3.1 <sup>#</sup>	43.7±2.6 <sup>**</sup>
IgE(×10) <sup>b</sup>	170.4±2.2	333.9±6.8 <sup>#</sup>	367.0±6.7 <sup>#</sup>

a: μM

b: (μg/mL)

Values recorded are the mean±SD with 8 male Balb/c mice per each group

<sup>#</sup>Significantly different from normal group (p<0.01)<sup>\*</sup>Significantly different from OVA group (p<0.01)

침윤시켜 활성화하는 작용을 하여 알러지성 기관지 천식 발증에 중요한 역할을 한다고 알려지고 있다(Pawankar *et al.*, 2007). 생쥐에 10주 동안 OVA 감작화와 함께 기도내에 가정분진 입자를 투여하면서 혈장에서 알러지 반응의 주체인 히스타민 함량과 IgE의 함량을 측정하고 비교한 결과는 표 3과 같다. 혈장에서 정상군 생쥐의 히스타민의 함량은 2.9 μM 이었으나 OVA 단독 처리군의 히스타민 함량은 28.4 μM로 약 9.8배 증가하였으며, OVA+ 가정분진 처리군은 43.7 μM로 약 15.1배나 증가하였다. 또한 혈장에서 IgE 함량도 정상군에서 170.4 pg/mL이었으나 OVA 단독 처리군에서는 333.9 pg/mL로 약 2.0배 증가하였으며, OVA+ 가정분진 처리군은 367.0 pg/mL로 약 2.2배 증가하였다. 따라서 생쥐에게 장기간 가정분진 입자를 OVA 감작화와 함께 기도내에 투여했을 때 혈액중에서 IgE의 함량과 히스타민의 함량은 크게 증가하며, 이는 가정분진 입자가 알러지성 기관지 천식 발증에 기여할 수 있다는 것을 보여주는 결과라고 생각된다.

### 3.5 폐세정액에서 Cytokine 함량

표 4는 10주 동안 OVA 감작화와 함께 기도내에 가정분진 입자를 투여했을 때 폐세정액에서 cytokine들의 함량을 측정한 결과이다. IL-4는 Helper T2세포에서 유리되어 B 세포의 IgE항체생성을 촉진하는 작용을 갖고 있다고 알려지고 있다(Nakajima and Takatsu, 2007). 폐세정액에서 IL-4함량은 정상군의 경우 12.5 pg/mL이었으나 OVA 단독 처리군에서는 118.8 pg/mL로 정상군에 비해 약 9.5배 증가하였으며, OVA+ 가정분진 처리군에서는 209.4 pg/mL로 정상군에 비해 약 16.8배 증가하였다. 그러나 interferon gamma (IFN-γ)는 Helper T1세포에서 분비되며, influ-

Table 4. Change of cytokine levels in bronchoalveolar lavage fluid.

Cytokine	Normal	OVA	OVA+ House-dust
IL-4 <sup>a</sup>	12.5±1.0	118.8±18.6 <sup>#</sup>	209.4±22.7 <sup>**</sup>
IFN-gamma <sup>a</sup>	44.8±3.1	39.9±6.2	47.4±4.9
IL-5 <sup>a</sup>	2.2±1.1	254.5±26.8 <sup>#</sup>	312.5±20.3 <sup>**</sup>
IL-13 <sup>a</sup>	10.3±2.3	221.3±18.6 <sup>#</sup>	451.3±112.3 <sup>**</sup>

a: pg/mL

Values recorded are the mean±SD with 8 male Balb/c mice per each group

<sup>#</sup>Significantly different from normal group (p<0.01)<sup>\*</sup>Significantly different from OVA group (p<0.01)

enza virus나 이중 핵산과 접했을 때 합성되는 단백질로서 표적세포를 항바이러스 상태로 유도하는 작용과 증식억제 및 항암작용을 갖고 있고, 특히 면역계 세포에 대한 immunomodulatory 작용이 현저하다고 알려지고 있다(Kumar *et al.*, 2006). 생쥐에 OVA로 감작했을 때나 OVA 감작과 함께 가정분진 입자를 투여하여도 폐세정액에서 IFN-γ의 함량은 정상군에 비해 유의한 변화를 보이지 않았다. 또한 IL-5는 macrophage에 의해 항원이라고 제시를 받는 Helper T2세포에서 유리되는 당단백질로서 eosinophil differentiation factor (EDF), B-cell growth factor II (BCGF II)이며, B-cell의 분화와 항체 생산을 자극하고, IgA 생산을 증가시키는 작용을 갖고 있고, 또한 호산구를 활성화하는 작용을 갖고 있어 기관지 천식의 특징인 기관지평활근수축, 점액분비증가, 혈관투과성항진작용에 중요한 역할을 담당하고 있다(Nakajima and Takatsu, 2007).

폐 세정액에서 IL-5의 함량은 IL-4함량과 같이 정상군에 비해 OVA 단독 처리군과 OVA+가정분진 처리군에서 각각 약 115.7배와 124.0배로 크게 증가되었다. 또한 Helper T2세포에서 유리된다고 알려진 IL-13의 함량도 OVA로 10주 동안 감작했을 때 정상군에 비해 폐세정액에서 약 21.5배 증가하였고, OVA 감작화와 함께 가정분진 입자를 투여하였을 때는 약 43.8배 증가되었다. 따라서 생쥐에게 장기간 가정분진 입자를 OVA 감작화와 함께 기도내에 투여했을 때 Helper T-2 세포형 cytokine은 크게 증가시키지만 Helper T-1 세포형 cytokine은 영향을 미치지 않는 것으로 판단된다.

**Table 5. Changes of IgE and eotaxin levels in bronchoalveolar lavage fluid.**

	Normal	OVA	OVA+ House-dust
IgE <sup>a</sup>	21.2±12.1	170.5±11.6 <sup>#</sup>	326.5±24.9 <sup>**</sup>
Eotaxin <sup>a</sup>	20.6±6.0	80.5±7.6 <sup>#</sup>	207.7±10.2 <sup>**</sup>

a : pg/mL

Values recorded are the mean ± SD with 8 male Balb/c mice per each group

<sup>#</sup>Significantly different from normal group (p<0.01)

<sup>\*</sup> Significantly different from OVA group (p<0.01)

### 3. 6 폐세정액에서 IgE 및 eotaxin의 함량

T-helper 2 type의 IL-4, IL-5와 IL-13은 eotaxin expression을 유도한다고 알려지고 있다 (Please, 2006). 따라서 생쥐에 10주 동안 OVA 감작화와 함께 기도내에 가정분진 입자를 투여하면서 알러지 반응의 주체인 IgE의 함량과 또 하나의 selective eosinophil chemoattractant인 eotaxin의 함량을 폐세정액에서 측정된 결과는 표 5와 같다. OVA 단독 처리군 폐세정액에서 IgE함량은 170.5 pg/mL로 정상군 21.2 pg/mL에 비해 약 7.9배 증가하였고, OVA+가정분진 처리군은 326.5 pg/mL로 약 15.2배로 더 증가하였으며 이는 혈장에서 측정된 결과와 같은 양상이었다. 또한 eotaxin의 함량도 OVA 단독 투여군과 OVA+가정분진 투여군에서 크게 증가하였다. 따라서 생쥐에게 장기간 가정분진 입자를 OVA 감작화와 함께 기도내에 투여했을 때 혈액에서 뿐만 아니라 폐세정액에서도 IgE 함량을 증가시키고, 또한 eotaxin expression을 유도할 가능성이 있다고 생각된다.

## 4. 결 론

한국에서 알레르기 천식과 아토피 환자가 증가하고 있다. 그 원인을 구명하기 위하여, 우리는 한국의 중산층이 사는 한 아파트에서 가정분진 입자를 포집하고, 생쥐에 항원과 함께 투여하여 기도 염증과 기도과민성에 미치는 영향을 조사하였다. 음성 생쥐를 10주 동안 사육하면서 ovalbumin (OVA) 항원으로 감작화하면서 1 mg/mL 농도로 만든 가정분진입자 현탁액 0.1 mL를 기도내로 일주일에 1회 투여하였다. OVA 감작화와 함께 가정분진의 기도내 투여는 생쥐의 혈액에서 lactate dehydrogenase의 활성도 및 IgE

와 히스타민의 함량을 증가시켰으며, 기도과민성이 상승하였다. 또한 폐세정액에서 알러지와 천식 요인과 밀접한 관련이 있는 총 세포수가 증가하였고, 그 중에서도 특히 호산구의 수도 크게 증가하였으며, T2 type cytokine인 IL-4, IL-5 및 IL-13의 함량과 IgE 그리고 eotaxin의 함량도 크게 증가하였다. 그러나 OVA 감작화와 함께 가정분진 입자를 기도내로 투여하여도 T1 type cytokine인 interferon-gamma의 함량은 폐세정액에서 크게 변하지 않았다. 따라서 생쥐에 OVA 감작과 함께 장기로 가정분진 입자를 투여했을 때 항원성 기도 염증과 기도과민성을 나타내는 인자의 함량을 증가시키는 것으로 보아 아파트에서 발생하는 가정분진 입자는 알러지와 아토피 환자의 증세를 더 악화시키는 요인으로 작용할 수 있다고 생각된다.

## 참 고 문 헌

- Colt, J.S., R.B. Gunier, C. Metayer, M.G. Nishioka, E.M. Bell, P. Reynolds, P.A. Buffler, and M.H. Ward (2008) Household vacuum cleaners vs. the high-volume surface sampler for collection of carpet dust samplers in epidemiologic studies of children. *Environ. Health.*, 7:7.
- Finotto, S., G.T. De Sanctis, B. H.A. Lehr, U. Herz, M. Buerke, M. Schipp, B. Bartsch, R. Atreya, E. Schmitt, P.R. Galle, H. Renz, and M.F. Neurath (2001) Treatment of allergic airway inflammation and hyperresponsiveness by antisense-induced local blockade of GATA-3 expression. *J. Exp. Med.*, 193, 1247-1260.
- Hammond, H., V.C. De Vries, R. Maldonado-Lopez, M. Moser, C. Maliszewski, H.C. Hoogsteden, and B.N. Lambrecht (2004) Differential capacity of CD8+ alpha or CD8- alpha dendritic cell subsets to prime for eosinophilic airway inflammation in the T-helper type 2-prone milieu of the lung. *Allergy* 12, 1834-1840.
- Jo, W.K., D.H. Kim, J.C. Kim, and J.S. Huh (2003) Photocatalytic oxidation of indoor air volatile organic compounds (VOCs) in ppb level. *J. Kor. Soc. Atmospheric Environ.*, 19(E4), 157-168.
- Kim, B.J., A.B. Hong, T.S. Shim, C.M. Lim, S.D. Lee, Y.S. Ko, W.S. Kim, D.S. Kim, W.D. Kim, and Y.M. Oh

- (2006) Cause of death in COPD patients of a referral hospital. *Tuberc. Respir. Dis.*, 60, 510-515.
- Kim, K.H., D.W. Ju, Y.J. Choi, Y.J. Hong, J.H. Sa, J.H. Park, E.C. Jeon, C.R. Choi, and Y.S. Koo (2005) On-line GC analysis of odorous VOC and S gas pollutant levels in ambient air of a residential area at Ansan city, Korea. *J. Kor. Soc. Atmospheric Environ.*, 21 (1), 107-118.
- Kim, Y.S., H.S. Park, Y.J. Lee, Y.W. Lim, and D.C. Shin (2003) Risk-based priority ranking for air pollution problems in Seoul, J. Kor. Soc. Atmospheric Environ., 19(2), 206-216.
- Kumar, R.K., D.C. Webb, C. Herbert, and P.S. Foster (2006) Interferon-gamma as a possible target in chronic asthma, *Inflamm Allergy Drug Targets.*, 5(4), 253-256.
- Lim, H.B., T. Ichinose, Y. Miyabara, H. Takano, Y. Kumagai, N. Shimojyo, J.L. Devalia, and M. Sagai (1998) Involvement of superoxide and nitric oxide on airway inflammation and hyperresponsiveness induced by diesel exhaust particles in mice, *Free Rad. Biol Med.*, 25(6), 635-644.
- Lim, H.B. and D.W. Lee (2002) Diesel exhaust particles and airway inflammation: effect of nitric oxide synthase inhibitors, *J. Kor. Soc. Atmospheric Environ.*, 18 (E2), 121-128.
- Miller, K.A., D.S. Siscivick, L. Sheppard, K. Shepherd, J.H. Sullivan, G.L. Anderson, and J.D. Kaufman (2007) Long-term exposure to air pollution and incidence of cardiovascular events in women, *N. Engl. J. Med.*, 356(5), 447-458.
- Nakajima, H. and K. Takatsu (2007) Role of cytokines in allergic airway inflammation, *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 142(2), 265-273.
- Nielsen, G.D., S.T. Larsen, O. Olsen, M. Lovik, L.K. Poulsen, C. Glue, and P. Wolkoff (2007) Do indoor chemicals promote development of airway allergy?, *Indoor Air.*, 17(3), 236-255.
- Park, S.S., J.H. Hong, J.H. Lee, Y.J. Kim, S.Y. Cho, and S.J. Kim (2008) Determination of HONO concentration and investigation on its formation mechanism using a continuous measurement system in indoor environment of an apartment. *J. Kor. Soc. Atmospheric Environ.*, 24(1), 16-29.
- Pawankar, R., K.H. Lee, M. Nonaka, and R. Takizawa (2007) Role of mast cells and basophils in chronic rhinosinusitis. *Clin Allergy Immunol.* 20, 93-101.
- Please, J.E. (2006) Asthma, allergy and chemokines. *Curr. Drug Targets.*, 7(1), 3-12.
- Sagai, M., H.B. Lim, and T. Ichinose (2000) Lung carcinogenesis by diesel exhaust particles and the carcinogenic mechanism via active oxygens, *Inhal. Toxicol.*, 12(3), 215-223.
- Sagai, M., H. Saito, T. Ichinose, M. Kodama, and Y. Mori (1993) Biological effects of diesel exhaust particles. I. In Vitro production of superoxide and in vivo toxicity in mouse. *Free Rad. Biol. Med.*, 14, 37-47.
- Sharma, H.P., N.N. Hansel, E. Matsui, G.B. Diette, P. Eggleston, and P. Breyse (2007) Indoor environmental influences on children's asthma, *Pediatr Clin North Am.*, 54(1), 103-120.
- Takizawa, H. (2003) Role of inflammatory cells in the development of airway inflammation, *Nippon Rinsho*, 61(12), 2107-2112.
- Theoharides, T.C. and D. Kalogeromitros (2006) The critical role of mast cells in allergy and inflammation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1088, 78-99.
- Titcomb, C.P. (2003) Liver function tests : what is the risk?, *J. Insur. Med.*, 35(1), 26-35.
- Vig, R.S., P. Forsythe, and H. Vliagoftis (2006) The role of stress in asthma: insight from studies on the effect of acute and chronic stressors in models of airway inflammation, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1088, 65-77.
- Von Eyben, F.E. (2001) A systematic review of lactate dehydrogenase isozyme 1 and gem cell tumors, *Clin Biochem.*, 34(6), 441-454.