

인간 기도 상피세포에서 증가된 뮤신 생성에 대한 쿠마린과 인도메타신의 억제작용

이재우 · 김길동* · 전병규** · 이충재***#

엘지 생명과학, *충남대학교 의과대학 흉부외과학교실,

대구보건대학 방사선과, *충남대학교 의과대학 약리학교실

(Received July 22, 2010; Revised October 1, 2010; Accepted October 7, 2010)

Suppression of Induced Mucin Production from Human Airway Epithelial Cells by Coumarin and Indomethacin

Jae Woo Lee, Kil-Dong Kim*, Byeong Kyou Jeon** and Choong Jae Lee***#

LG Life Science, Seoul 150-721, Korea

*Department of Thoracic Surgery, College of Medicine, Chungnam National University, Daejeon 301-131, Korea

**Department of Radiologic Technology, Daegu Health College, Daegu 700-722, Korea

***Department of Pharmacology, College of Medicine, Chungnam National University, Daejeon 301-131, Korea

Abstract — We examined whether indomethacin, noscapine, coumarin, uridine and betaine affect airway mucin production induced by EGF or TNF- α from NCI-H292 cells. Cells were pretreated with each agent for 30 min and then stimulated with EGF or TNF- α for 24 h. Of the five compounds, coumarin suppressed airway mucin production induced by EGF or TNF- α . However, indomethacin suppressed airway mucin production induced by EGF. This result suggests that coumarin and indomethacin can regulate the production of mucin induced by EGF, by directly acting on airway epithelial cells.

Keywords □ airway mucin, coumarin, indomethacin

인체 기도에 존재하는 점액(mucus)은 섬모세포와의 협동작용을 통해, 호흡기로 유입되는 유해한 물질의 제거에 있어서 중요한 역할을 한다. 기도 점액의 생체방어 작용은 점액의 생화학적 주 구성요소인 뮤신의 물리화학적 성질, 즉 점탄성(viscoelasticity)에 기인한다. 그러나, 뮤신의 양과 질의 이상은 기도 생리의 이상 뿐 아니라 인체의 방어작용에 영향을 주어 병리 현상을 유발할 수 있다. 즉, 천식, 만성 기관지염, 폐기종, 기관지 확장증, 낭포성 섬유증 등의 기도 질환에서 관찰되는 점액(객담)의 과다분비는 이러한 질환의 예후를 악화시키는 주된 요인으로 알려져 있다.¹⁻⁴⁾ 점액을 기도로부터 제거하는 데는 두 가지 방법이 있을 수 있다. 첫째, 물리적 방법에 의한 점액의 제거, 즉 점액의 점도를 낮춘 뒤 흡인해내는 방법이고, 둘째는, 점액 생성 자체를 억제할 수 있는 약물의 투여이다. 물리적 방법은 기도 내부의 자극을 유

발하고, 반사기전에 의해 점액 분비를 오히려 자극하게 된다. 마취 하에서 그런 방법이 시도된다고 해도, 점액의 제거는 feedback mechanism을 통해 점액의 생성과 분비를 더욱더 자극하게 된다. 따라서, 점액에 점성을 부여하는 주 구성요소인 뮤신의 생성 자체를 조절하거나 혹은 분비를 조절하기 위한 약물학적 접근은 기도 질환의 치료에 있어 중요한 방향이 될 수 있다.⁵⁾ 한편, 인체에 발병하는 다양한 염증성 질환의 조절을 위하여 사용되는 비스테로이드성 항염증 약물 중 하나인 인도메타신은, 흡연에 의해 유발되는 기도점액 과다분비와 기도 배상세포의 과다증식을 억제하는 것으로 알려져 있으며,⁶⁾ 호흡기 질환에서의 과다한 기침을 조절하기 위해 사용되는 진해제(antitussives) 중 하나인 노스카핀은 기도 배상세포에서의 기초적 뮤신유리(분비)를 증가시킬 수 있는 것으로 보고되었다.⁷⁾ 또한, 전통 동양의학에서 강활, 독활, 당귀, 대조 등의 약용식물은 경험적으로 호흡기 염증성 질환의 조절을 위해 사용되어 왔으며,⁸⁾ 기존의 연구문헌에 의하면, 강활, 독활 등의 약용식물에 함유된 다양한 쿠마린 유도체의 모체인 쿠마린(coumarin), 당귀에 다량 함유되어 있는 유리딘(uridine), 대

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-380-1740 (팩스) 02-380-1342
(E-mail) ywsohn@kfda.go.kr

조에 함유되어 있는 betaine 등의 천연물들이 일차배양된 기도 배양세포에서의 뮤신유리(분비)에 미치는 영향을 검증한 결과 베타인과 유리딘이 기초적 뮤신유리(분비)를 증가시킬 수 있는 것으로 보고되었다.^{9,10} 그러나, 이러한 약물들이 인간 기도 상피세포에서의 뮤신의 생성(production)에 대해서 어떠한 영향을 미치는지 여부는 지금까지 검증된 바가 없었다. 따라서, 본 연구에서는 nospapine, indomethacin 등 호흡기 뮤신의 생성에 대한 작용은 아직 알려져 있지 않으나, 이미 임상에서 호흡기 질환을 포함한 타 질환의 치료를 위해 사용되고 있으며 동시에 호흡기 뮤신의 생체 내 거동에 영향을 줄 가능성이 있는 화합물들과, 전통 동양 의학에서 경험적으로 호흡기 염증성 질환의 조절을 위해 사용되어 온 강황, 독활, 당귀, 대조 등에서 유래하는 coumarin, uridine, betaine 등의 화합물을 대상으로, 인간 기도 상피세포에서 상피세포 성장인자에 의해 증가된 뮤신의 생성에 대해 이 화합물들이 어떠한 영향을 미치는지를 검증함으로써 효과적인 기도점액과다생성(분비) 조절 신약의 개발을 위한 기초과학적 정보를 제공하고자 하였다.

실험방법

세포주 및 시약

NCI-H292 세포는 American Type Culture Collection사(Manassas, VA, U.S.A.)에서 구입하였다. Protease inhibitor cocktail은 Roche사(Indianapolis, IN, U.S.A.)에서, mouse anti-MUC5AC clone 45M1 및 HRP-Goat Anti-Mouse IgG Conjugate은 NeoMarkers사(Fremont, CA, U.S.A.)에서, trypsin-EDTA, epidermal growth factor(EGF), tumor necrosis factor-alpha(TNF-alpha), Tween 20, bovine serum albumin(BSA), HEPES, dimethyl sulfoxide(DMSO), 3,3',5,5'-tetramethyl-benzidine peroxide solution(TMB), NP-40, EDTA, EGTA, HEPES, indomethacin, nospapine, coumarin, uridine, betaine, Trizma base 등은 Sigma사(St. Louis, Mo., U.S.A.)에서, penicillin-G, streptomycin, fetal bovine serum(FBS), RPMI 1640은 GIBCO-BRL사(Grand Island, New York, U.S.A.)에서, 기타 제반 시약들은 일급시약 등급 이상의 것들을 구입하여 사용하였다.

인간 기도상피 세포(NCI-H292) 배양 및 각 약물의 처리

세포는 습도가 충분히 유지되며 95% 공기, 5% CO₂를 함유하는 37°C 배양기 내에서 HEPES(25 mM), penicillin G(100 U/ml), streptomycin(100 µg/ml), FBS(10%, V/V) 등이 첨가된 RPMI 1640 배양액에서 배양하였는데, 1주에 2회 빈도로 subculture하였고 배양액은 2일마다 1회씩 교체해 주었다. 기도 뮤신인 MUC5AC의 생성에 대한 각 약물의 작용을 검증하기 위하여, 24

well culture plate를 기준으로 2.0×10⁴ cells/well의 밀도로 세포를 도포하고 배양하였다. 세포가 각 well의 70~80% 정도를 차지할 정도로 자라면 FBS의 농도를 0.2%로 감소시킨 배양액을 주고 24시간 동안 배양하고 이후 serum을 첨가하지 않은 배양액(serum-free medium)으로 세포를 세척하고, 각 약물 1~100 µM을 함유하는 배양액 200 µl를 well마다 가하였다. 30분이 경과한 후 상피세포 성장인자(epidermal growth factor, EGF) 25 ng/ml를 세포에 투여한 후 37°C에서 추가로 24시간 동안 배양하였다. EGF-induced mucin production에 대한 영향 검증 후 추가로 종양괴사인자(tumor necrosis factor-alpha, TNF-alpha)에 의한 뮤신 생성 증가에 대한 일부 약물의 영향을 검증하기 위한 실험에서는 상기와 같은 조건에서 EGF 25 ng/ml 대신 TNF-alpha 0.2 nM을 세포에 투여한 후 37°C에서 추가로 24시간 동안 배양하였다.¹¹⁻¹³⁾

인간 기도상피 세포에서의 MUC5AC 뮤신 생성 측정

각 약물의 처리 기간이 종료된 후, 세포 용해용 완충액(20 mM Tris, 0.5% NP-40, 250 mM NaCl, 3 mM EDTA, 3 mM EGTA, protease inhibitor cocktail)을 가하여 세포 내에 존재하는 MUC5AC 뮤신을 추출한 후 효소연계 면역흡착법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)을 이용하여 뮤신의 생성량을 다음과 같이 측정하였다. 수거된 cell lysate를 PBS로 1/10배 희석하고 희석된 각 sample을 ELISA 전용의 96-well plate에 각각 100 µl씩 분포시킨 후 42°C에서 완전히 건조시켰다. 그 후 PBS-Tween 20(0.05%, PBS-T) 용액 200 µl/well을 이용, 각 well 당 3회씩 세척하였다. 세척 후 PBS-T에 용해된 2% BSA 용액 200 µl를 각 well당 가하고 다시 1시간 동안 incubation하였다. 1시간 후 PBS-T 200 µl로 3회 세척하고 MUC5AC에 대한 monoclonal antibody인 mouse anti-MUC5AC clone 45M1을 2% BSA에 1:200의 비율로 희석한 후에, 각 well당 100 µl씩 첨가하고 1시간 동안 incubation하였다. 1시간 후 PBS-T로 3회 세척하고 2차 항체인 Horse radish peroxidase(HRP)-Goat Anti-Mouse IgG Conjugate를 2% BSA에 1:3,000의 비율로 희석한 후, 각 well당 100 µl씩 첨가하고 1시간 동안 incubation하였다. PBS-T로 다시 3회 세척 후 3,3',5,5'-tetramethyl-benzidine peroxide(TMB) 용액 100 µl를 각 well에 첨가하고 5분 후 1 N H₂SO₄ 50 µl를 첨가하여 반응을 정지시켰다. 450 nm에서 각 well의 흡광도를 측정함으로써 대조군과 약물 처리군의 MUC5AC를 정량하였다.¹¹⁻¹³⁾

통계처리

모든 측정 결과는 Mean±S.E.M.으로 환산된 후, 약물 처리군의 측정치는 대조군 측정치의 백분율로 나타냈다. 통계처리는 one-way ANOVA 및 unpaired Student's t-test로 하였으며,

$p < 0.05$ 인 경우에 통계적으로 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

실험결과

Indomethacin이 EGF로 자극된 MUC5AC 기도뮤신 생성 증가 현상에 미치는 영향

Fig. 1에서 볼 수 있는 것처럼, indomethacin은 최고 농도에서 25 ng/ml의 EGF처리로 증가된 MUC5AC 기도뮤신의 생성을 억제하였다. 각 처리 농도별 뮤신의 양은 대조군, EGF 25 ng/ml 단독 처리군, indomethacin 10^{-6} M + EGF, indomethacin 10^{-5} M + EGF, indomethacin 10^{-4} M + EGF 처리군에서 각각 $100 \pm 7\%$, $178 \pm 5\%$, $195 \pm 25\%$, $177 \pm 12\%$, $142 \pm 6\%$ 이었다 (Fig. 1).

Noscapine이 EGF로 자극된 MUC5AC 기도뮤신 생성 증가 현상에 미치는 영향

Fig. 2에서 볼 수 있는 것처럼, noscapine은 전 처리농도 범위에서 25 ng/ml의 EGF처리로 증가된 MUC5AC 기도뮤신의 생성에 유의성 있는 영향을 주지 못하였다. 각 처리 농도별 뮤신의 양은 대조군, EGF 25 ng/ml 단독 처리군, noscapine 10^{-6} M + EGF, noscapine 10^{-5} M + EGF, noscapine 10^{-4} M + EGF 처리군에서 각각 $100 \pm 8\%$, $207 \pm 6\%$, $203 \pm 10\%$, $210 \pm 7\%$, $198 \pm 5\%$ 이었다(Fig. 2).

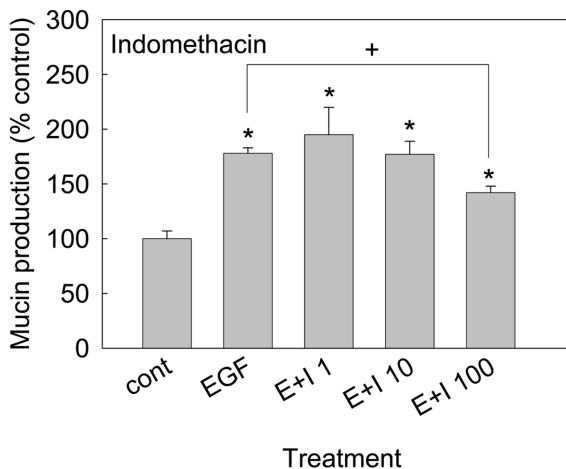


Fig. 1 – Effect of indomethacin on EGF-induced MUC5AC mucin production from NCI-H292 cells. NCI-H292 cells were pretreated with varying concentrations of indomethacin for 30 min and then stimulated with EGF (25 ng/ml) for 24 h. Cell lysates were collected for measurement of MUC5AC mucin production by ELISA. Each bar represents a mean \pm S.E.M. of 3–4 culture wells in comparison with that of control set at 100%. * significantly different from control ($p < 0.05$). + significantly different from EGF alone ($p < 0.05$). (cont: control, I: indomethacin, concentration unit is M.).

Coumarin이 EGF로 자극된 MUC5AC 기도뮤신 생성 증가 현상에 미치는 영향

Fig. 3에서 볼 수 있는 것처럼, coumarin은 최고 농도에서

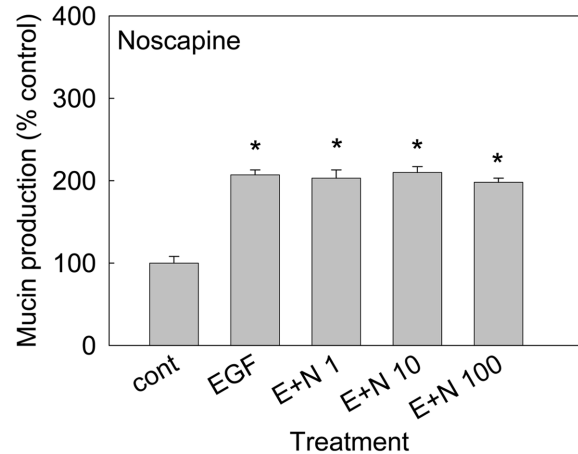


Fig. 2 – Effect of noscapine on EGF-induced MUC5AC mucin production from NCI-H292 cells. NCI-H292 cells were pretreated with varying concentrations of noscapine for 30 min and then stimulated with EGF (25 ng/ml) for 24 h. Cell lysates were collected for measurement of MUC5AC mucin production by ELISA. Each bar represents a mean \pm S.E.M. of 3–4 culture wells in comparison with that of control set at 100%. * significantly different from control ($p < 0.05$). + significantly different from EGF alone ($p < 0.05$). (cont: control, N: noscapine, concentration unit is M.).

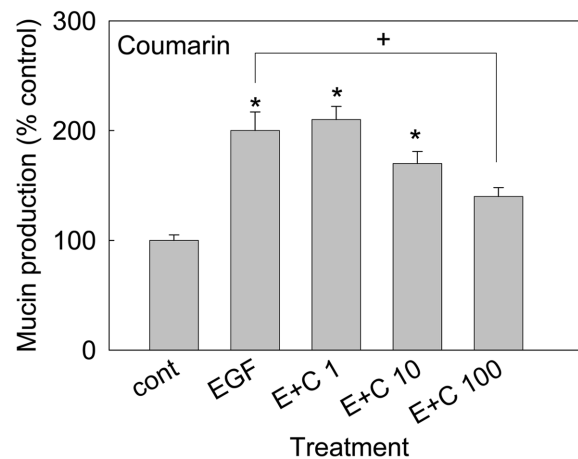


Fig. 3 – Effect of coumarin on EGF-induced MUC5AC mucin production from NCI-H292 cells. NCI-H292 cells were pretreated with varying concentrations of coumarin for 30 min and then stimulated with EGF (25 ng/ml) for 24 h. Cell lysates were collected for measurement of MUC5AC mucin production by ELISA. Each bar represents a mean \pm S.E.M. of 3–4 culture wells in comparison with that of control set at 100%. * significantly different from control ($p < 0.05$). + significantly different from EGF alone ($p < 0.05$). (cont: control, C: coumarin, concentration unit is M.).

25 ng/ml의 EGF 처리로 증가된 MUC5AC 기도뮤신의 생성을 억제하였다. 각 처리 농도별 뮤신의 양은 대조군, EGF 25 ng/ml 단독 처리군, coumarin 10⁻⁶M + EGF, coumarin 10⁻⁵M + EGF, coumarin 10⁻⁴M + EGF 처리군에서 각각 100±5%, 200±17%, 210±12%, 170±11%, 140±8%이었다(Fig. 3).

Uridine이 EGF로 자극된 MUC5AC 기도뮤신 생성 증가현상에 미치는 영향

Fig. 4에서 볼 수 있는 것처럼, uridine은 전 처리농도 범위에서 25 ng/ml의 EGF처리로 증가된 MUC5AC 기도뮤신의 생성에 유의성 있는 영향을 주지 못하였다. 각 처리 농도별 뮤신의 양은 대조군, EGF 25 ng/ml 단독 처리군, uridine 10⁻⁶M + EGF, uridine 10⁻⁵M + EGF, uridine 10⁻⁴M + EGF 처리군에서 각각 100±11%, 186±12%, 193±10%, 179±13%, 198±12%이었다 (Fig. 4).

Betaine이 EGF로 자극된 MUC5AC 기도뮤신 생성 증가현상에 미치는 영향

Fig. 5에서 볼 수 있는 것처럼, betaine은 전 처리농도 범위에서 25 ng/ml의 EGF 처리로 증가된 MUC5AC 기도뮤신의 생성에 유의성 있는 영향을 주지 못하였다. 각 처리 농도별 뮤신의 양은 대조군, EGF 25 ng/ml 단독 처리군, betaine 10⁻⁶M + EGF, betaine 10⁻⁵M + EGF, betaine 10⁻⁴M + EGF 처리군에서

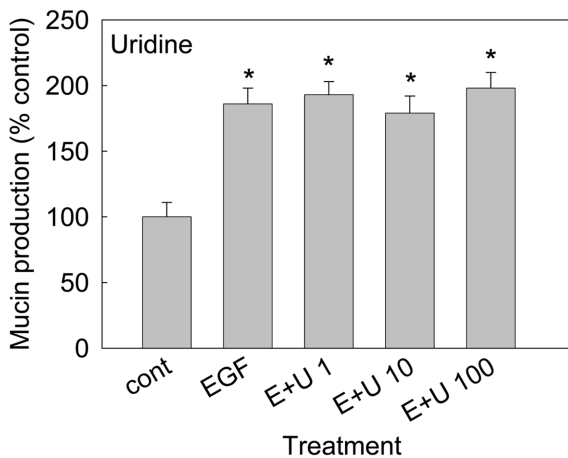


Fig. 4 – Effect of uridine on EGF-induced MUC5AC mucin production from NCI-H292 cells. NCI-H292 cells were pretreated with varying concentrations of uridine for 30 min and then stimulated with EGF (25 ng/ml) for 24 h. Cell lysates were collected for measurement of MUC5AC mucin production by ELISA. Each bar represents a mean±S.E.M. of 3~4 culture wells in comparison with that of control set at 100%. * significantly different from control (p<0.05). + significantly different from EGF alone (p<0.05). (cont: control, U: uridine, concentration unit is M.).

각각 100±7%, 150±9%, 188±10%, 174±12%, 181±8%이었다(Fig. 5).

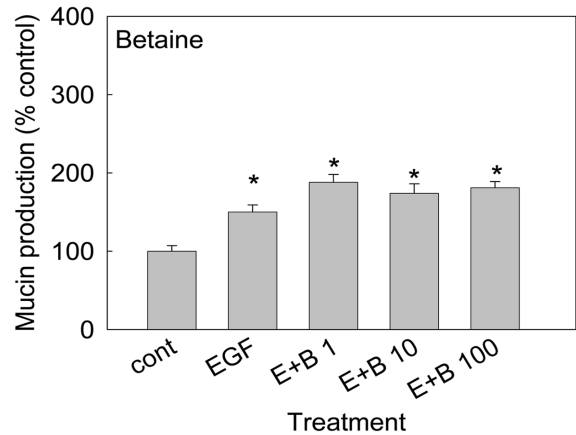


Fig. 5 – Effect of betaine on EGF-induced MUC5AC mucin production from NCI-H292 cells. NCI-H292 cells were pretreated with varying concentrations of betaine for 30 min and then stimulated with EGF (25 ng/ml) for 24 h. Cell lysates were collected for measurement of MUC5AC mucin production by ELISA. Each bar represents a mean±S.E.M. of 3~4 culture wells in comparison with that of control set at 100%. * significantly different from control (p<0.05). + significantly different from EGF alone (p<0.05). (cont: control, B: betaine, concentration unit is M.).

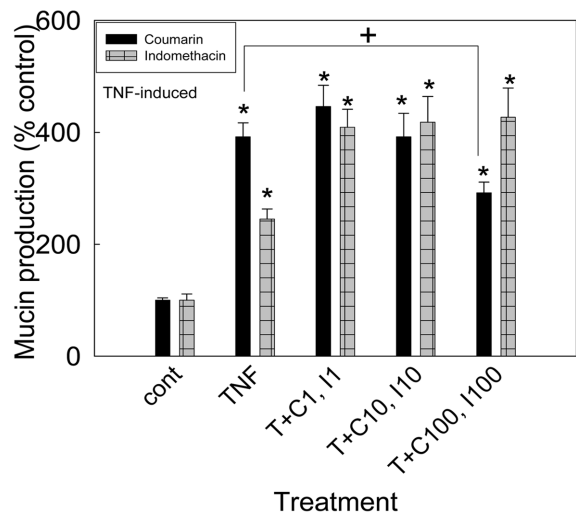


Fig. 6 – Effects of coumarin and indomethacin on TNF-α-induced MUC5AC mucin production from NCI-H292 cells. NCI-H292 cells were pretreated with varying concentrations of coumarin and indomethacin for 30 min and then stimulated with TNF-α (0.2 nM) for 24 h, respectively. Cell lysates were collected for measurement of MUC5AC mucin production by ELISA. Each bar represents a mean±S.E.M. of 3~4 culture wells in comparison with that of control set at 100%. * significantly different from control (p<0.05). + significantly different from TNF-α alone (p<0.05). (cont: control, C: coumarin, I: indomethacin, concentration unit is M.).

Coumarin과 indomethacin이 TNF-alpha로 자극된 MUC5AC 기도뮤신 생성 증가현상에 미치는 영향

EGF로 자극된 뮤신생성을 억제하는 것으로 나타난 coumarin과 indomethacin이 또다른 뮤신생성 자극인자인 TNF-alpha에 의해 증가된 기도뮤신의 생성에는 어떠한 영향을 발현하는 지 검증한 결과, Fig. 6에서 볼 수 있는 것처럼, coumarin은 최고 농도에서 0.2 nM의 TNF-alpha처리로 증가된 MUC5AC 기도뮤신의 생성도 억제하였다. 각 처리 농도별 뮤신의 양은 대조군, TNF 0.2 nM 단독 처리군, coumarin 10^{-6} M + TNF, coumarin 10^{-5} M + TNF, coumarin 10^{-4} M + TNF 처리군에서 각각 $100 \pm 4\%$, $392 \pm 25\%$, $446 \pm 38\%$, $392 \pm 42\%$, $292 \pm 19\%$ 이었다. 그러나, indomethacin은 전 처리농도 범위에서 0.2 nM의 TNF-alpha 처리로 증가된 MUC5AC 기도뮤신의 생성을 억제하지 못했고 오히려 뮤신의 생성을 증가시키는 경향을 보여주었다. 각 처리 농도별 뮤신의 양은 대조군, TNF 0.2 nM 단독 처리군, indomethacin 10^{-6} M + TNF, indomethacin 10^{-5} M + TNF, indomethacin 10^{-4} M + TNF 처리군에서 각각 $100 \pm 11\%$, $245 \pm 18\%$, $409 \pm 32\%$, $418 \pm 46\%$, $427 \pm 52\%$ 이었다(Fig. 6).

고 찰

현재, 호흡기 질환의 임상에서 과다분비된 점액의 효율적 제거를 목적으로 다수의 점액용해제 및 거담제 등이 사용되고 있으나 그 작용 및 작용기전이 불명확하며 약물 투여 및 점액의 물리적 제거에 따르는 반사적 과다분비 현상 등으로 인하여 점액 과다분비 질환의 효율적 조절은 용이하지 않으며, 임상적으로 기도점액의 과다생성 및 분비를 유의성 있게 조절할 수 있는 유효한 약물은 glucocorticoid로 알려져 있으나 동반되는 광범위한 부작용이 치료약물로서의 가치를 제한하고 있는 실정이다.⁵⁾ 인체 기도에 존재하는 뮤신은 펩티드 골격과 탄수화물 가지로 이루어진 수백만 dalton의 분자량을 가진 당단백질(glycoprotein)로서, 뮤신의 펩티드 골격을 coding 하는 유전자를 MUC로 약칭하는데 현재까지 MUC 1, 2, 3A, 3B, 4, 5AC, 5B, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 16, 17, 18, 19, 20 등의 약19종의 MUC 유전자가 발견되었으며, 이 가운데 MUC5AC와 MUC5B 유전자의 산물인 MUC5AC와 MUC5B 뮤신이 인간의 호흡기에서 발견되는 gel-forming mucin을 구성하고 있다.¹⁴⁾ 한편, 인체 기도 뮤신의 생성, 유전자 발현 조절과 연관된 연구모델로 자주 사용되는 인간의 기도 상피세포인 NCI-H292 세포에 대해, EGF는 EGF 수용체(epidermal growth factor receptor) - MEK-ERK pathway를 경유하고 TNF-alpha는 TNF 수용체(tumor necrosis factor receptor)를 매개로 NF- κ B(nuclear factor-kappa B)로 이어지는 신호전달 경로를 거쳐, 기도 뮤신인 MUC5AC 뮤신의 생성을 증가(자극)시킬 수 있는 것으로 알려져 있다.¹⁵⁻¹⁷⁾ 이러한 선행 연

구정보에 근거하여 수행된 본 연구의 결과에서 볼 수 있는 바, 기도 뮤신의 생성에 대한 영향이 검증된 5개의 약물 중에서 인도메타신과 쿠마린은 EGF로 증가(자극)된 뮤신의 생성을 억제하는 경향을 보였지만, 유리딘, 노스카핀, 베타인 등은 EGF로 증가(자극)된 뮤신의 생성에 유의한 영향을 미치지 못하였음을 알 수 있다(Fig. 1, 2, 3, 4, 5). 이렇듯 EGF로 자극된 뮤신생성을 억제하는 것으로 나타난 coumarin과 indomethacin이 또다른 뮤신생성 자극인자인 TNF-alpha에 의해 증가된 기도뮤신의 생성에는 어떠한 영향을 발현하는 지 검증한 결과, 쿠마린은 TNF로 증가(자극)된 뮤신의 생성을 억제하는 경향을 보였지만, 인도메타신은 TNF로 증가(자극)된 뮤신의 생성을 억제하지 못하고 오히려 생성을 증가시키는 경향을 보여주었다(Fig. 6). 인도메타신과 같은 비스테로이드성 소염진통제에 의해 사이클로옥시게나제(cyclooxygenase)의 활성이 억제되면 뮤신을 포함한 호흡기 분비물의 분비를 억제할 가능성이 있는데, 이는 내인성 프로스타글란딘이 기도에서의 분비 조절에 있어서 일정한 역할을 담당하고 있기 때문이다.¹⁸⁾ 그러나, 이러한 예상과는 달리 인도메타신이 일차배양 기도 상피(배상)세포에서의 뮤신 유리(분비)에 대해서는 유의한 영향을 나타내지 못하였음이 보고되었다.¹⁹⁾ 이러한 기존의 연구보고와 본 연구의 결과를 종합하여 보면, 인도메타신이 뮤신의 분비(유리)에는 유의한 영향을 주지 못하나, 뮤신의 생성에는 억제적 영향을 발현할 가능성이 있으며 생성을 자극하는 요소 중에도 TNF-alpha와 같은 염증유발성 인자에 의한 생성보다는 EGF 등 세포 성장인자에 의한 뮤신생성을 억제할 수 있음을 알 수 있다. 항염증 약물인 인도메타신이 왜 이러한 작용을 유발하는 지에 대해서는 본 연구의 결과만으로는 구체적인 결론을 도출하기가 어렵지만, 후속 연구를 통하여 그 분자적 기전을 규명해 나가야 할 것으로 생각된다. 천연물인 쿠마린 역시 일차배양된 기도 배상세포에서의 뮤신유리(분비)에 미치는 영향을 검증한 결과 기초적 뮤신유리(분비)에 유의한 영향을 주지 못하는 것으로 보고되었으나(Lee *et al.*, 2004), EGF로 자극된, 그리고 TNF-alpha로 자극된 뮤신의 생성에 대해서는 동일한 억제적 영향을 나타내었다. 쿠마린에 대해서도 다양한 조건에서의 뮤신 생성에 대한 영향 및 분자적 작용기전과 관련하여 지속적인 연구를 수행해야 할 것으로 생각된다. 종합하여 보면, 비록 제한적이지만 본 연구에서 얻어진 이러한 지견들은 호흡기 점액의 과다생성 및 분비를 보이는 천식, 만성 기관지염 등 다양한 호흡기 염증성 질환의 진행 과정에서 기도 뮤신의 과다한 생성억제에 초점을 둔, 점액 조절용 신약후보물질 개발에 대한 기초과학적 정보를 제공함에 있어서 일부나마 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 말씀

This study was financially supported partly by research

fund of Chungnam National University Hospital in 2009.

참고문헌

- 1) Ellis, E. F. : Asthma in childhood. *J. Allergy. Clin. Immunol.* **72**(Suppl), 526 (1985).
- 2) Kim, K. C., Rearick, J. I., Nettesheim, P. and Jetten, A. M. : Biochemical characterization of mucous glycoproteins synthesized and secreted by hamster tracheal epithelial cells in primary culture. *J. Biol. Chem.* **260**, 4021 (1985).
- 3) Ko, K. H., Lee, C. J., Shin, C. Y., Jo, M.-J. and Kim, K. C. : Inhibition of mucin release from airway goblet cells by polycationic peptides. *Am. J. Physiol.* **277**(21), L811 (1999).
- 4) Kim, K. C., Opaskar-Hincman, H. and Bhaskar, K. R. : Secretions from primary hamster tracheal surface epithelial cells in culture: Mucin-like glycoproteins, proteoglycans, and lipids. *Exp. Lung Res.* **15**, 299 (1989).
- 5) Mutschler, E. and Derendorf, H. : *Drug actions*. CRC press, Inc., Boca Raton, Florida, 410 (1995).
- 6) Jeffery, P. K. : Anti-inflammatory drugs and experimental bronchitis. *Eur. J. Respir. Dis.* **146**, 245 (1986).
- 7) Heo, H. J., Lee, H. J., Yoon, C. S., Lim, S. P., Seok, J. H., Seo, U. K. and Lee, C. J. : Effects of ambroxol, S-carboxymethylcysteine, dextromethorphan and noscapine on mucin release from airway goblet cells. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* **9**(6), 323 (2005).
- 8) Jang, I. M. : *Treatise on asian herbal medicines*. Haksul-pyunsukwan in Research institute of natural products of Seoul National University, Seoul (2003).
- 9) Lee, C. J., Lee, J. H., Seok, J. H., Hur, G. M., Park, J. S., Bae, S., Lim, J. H. and Park, Y. C. : Effects of betaine, coumarin and flavonoids on mucin release from cultured hamster tracheal surface epithelial cells. *Phytother. Res.* **18**, 301 (2004).
- 10) Heo, H. J., Lee, H. J., Kim, C. S., Bae, K. H., Kim, Y. S., Kang, S. S., Seo, U. K., Kim, Y. H., Park, Y. C., Seok, J. H. and Lee, C. J. : Effects of three compounds from schizandrae fructus and uridine on airway mucin secretion. *J. Appl. Pharmacol.* **14**, 166 (2006).
- 11) Song, K. S., Lee, W. J., Chung, K. C., Koo, J. S., Yang, E. J., Choi, J. Y. and Yoon, J. H. : IL-1beta and TNF-alpha induced MUC5AC overexpression through a mechanism involving ERK/p38 mitogen-activated protein kinase-MSK1-CREB activation in human airway epithelial cells. *J. Biol. Chem.* **278**(26), 23243 (2003).
- 12) Shao, M. X., Ueki, I. F. and Nadel, J. A. : TNF-alpha converting enzyme mediated MUC5AC mucin expression in cultured human airway epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **100**(20), 11618 (2003).
- 13) Hewson, C. A., Edbrooke, M. R. and Johnston, S. L. : PMA induces the MUC5AC respiratory mucin in human bronchial epithelial cells, via PKC, EGF/TGF-alpha, Ras/Raf, MEK, ERK and Sp1-dependent mechanisms. *J. Mol. Biol.* **344**(3), 683 (2004).
- 14) Rogers, D. F. and Barnes, P. J. : Treatment of airway mucus hypersecretion. *Ann. Med.* **38**(2), 116 (2006).
- 15) Takeyama, K., Dabbagh, K., Jeong, Shim, J., Dao-Pick, T., Ueki, I. F. and Nadel, J. A. : Oxidative stress causes mucin synthesis via transactivation of epidermal growth factor receptor: role of neutrophils. *J. Immunol.* **164**(3), 1546 (2000).
- 16) Takeyama, K., Dabbagh, K., Lee, H., Agusti, C., Lausier, J. A., Ueki, I. F., Grattan, K. M. and Nadel, J. A. : Epidermal growth factor system regulates mucin production in airways. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **6**, 3081 (1999).
- 17) Li, J. D., Dohrman, A. F., Gallup, M., Miyata, S., Gum, J. R., Kim, Y. S., Nadel, J. A., Prince, A. and Basbaum, C. B. : Transcriptional activation of mucin by Pseudomonas aeruginosa lipopolysaccharide in the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**(3), 967 (1997).
- 18) Tamaoki, J., Chiyotani, A., Kobayashi, K., Sakai, N., Kanemura, T. and Takizawa, T. : Effect of indomethacin on bronchorrhea in patients with chronic bronchitis, diffuse panbronchiolitis, or bronchiectasis. *Am. Rev. Respir. Dis.* **145**(3), 548 (1992).
- 19) Kim, J.-O., Kim, H. S., Kim, S.-Y., Jeong, S.-S., Heo, H. J., Seok, J. H. and Lee, C. J. : Effects of sphingosine-1-phosphate, furosemide and indomethacin on mucin release from airway goblet cells. *Korean J. Physiol. Pharmacol.* **9**(3), 155 (2005).