

생쥐에서 황사로 인한 항원관련 천식성 기도 염증과 기도 과민성에 미치는 영향

임 흥 빈*, 김 승 형¹

충북대학교 농업생명환경대학 특용식물학과,
¹대전대학교 한의과대학 동서생명과학연구원

Effects of Allergen-related Asthmatic Airway Inflammation and Airway Hyperresponsiveness by Asian Sand Dust in Mice

Heung Bin Lim* and Seung Hyung Kim¹

Department of Industrial Crop Science & Technology, Chungbuk National University

¹*Institute of Traditional Medicine & Bioscience, Daejeon University*

ABSTRACT

This study was carried out to investigate whether asian yellow sand dust (AS) has promoting effects of allergen-related airway inflammation and airway hyperresponsiveness, because the number of patient with allergic asthma and atopy, and with chronic bronchial inflammation and pneumonia have increased steadily in the cities of Korea. The appearance of AS collected was all round and flat, and the diameter was mostly below about 5 μ m. When mice were treated with AS suspension by intratracheal instillation combined with ovalalbumin (OVA) sensitization chronically, the level of serum L-lactate dehydrogenase (LDH), IgE and histamine, and respiratory resistance was increased. Intratracheal instillation of AS and OVA also enhanced infiltration of eosinophils in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF), IgE and eotaxin expression, and T helper type 2 cell derived cytokines of interleukin (IL)-4, IL-13 and IL-5 as major contributors to allergy and asthma. These results indicate that AS elevates allergen-related airway inflammation and airway hyperresponsiveness in mice and may play an important role in the aggravation of respiratory diseases in Korea.

Key words : Asian yellow sand dust, Airway inflammation, Eosinophil, Cytokine, Airway hyperresponsiveness

서 론

접수일: 2010년 4월 19일, 채택일: 2010년 6월 24일

※ To whom correspondence should be addressed.

Tel: +82-43-261-2521, Fax: +82-43-271-0413

E-mail: heungbin@chungbuk.ac.kr

국민건강보험공단 발표에 의하면 우리나라에서 최근 6년간 주요 환경성질환 진료환자를 분석한 결과 알려지 비염 환자가 2002년 302만명에서 2008

년 495만명으로 급증하는 등 2008년에는 전년(455만명) 대비 8.7% 늘었으며, 특히 인구 1만명당 환자 수는 1034명으로 2002년 631명에서 연평균 6.4%씩 증가하였다고 한다. 또한 알레지 비염을 비롯해 천식·아토피 피부염 환자를 합하면 2002년 557만명이던 환경성질환 환자 수는 2008년 759만명으로 200만명 이상 늘었고, 만성기관지염과 폐렴과 같은 만성 하기도질환에 의한 사망률도 해마다 증가하고 있다고 한다(Kim *et al.*, 2006; Lee *et al.*, 2007). 대기오염원과 호흡기질환과의 관련성에 관한 연구도 많이 보고되고 있다(Oh *et al.*, 2005; Chun *et al.*, 2008).

한편, 봄의 불청객 ‘황사’에 대한 기록은 삼국사기나 조선시대의 사료에서도 언급되고 있다고 알려지고 있다. 1990년대까지는 황사의 발원지는 중국 황하 상류와 중류지역이었으나 최근에는 지구 온난화로 인해 동중국 내몽골 고원까지 확대되어 발생 빈도가 증가하고 있으며, 또한 중국의 급속한 공업화로 인하여 바람을 타고 중국 내륙 공업 지역을 거친 황사먼지에는 납, 카드뮴 등 중금속과 발암물질 성분이 다수 함유되어 있다고 한다(Park *et al.*, 2008).

황사에 대한 연구는 주로 한국, 일본, 중국, 대만에서 이루어지고 있으나 발표된 논문의 수는 그리 많지 않다고 판단되며, 연구의 대부분은 황사의 이동경로 및 공기중의 농도 평가(Kim *et al.*, 2002; Kim *et al.*, 2004; Xie *et al.*, 2008), 황사의 화학조성 및 특성(Kim *et al.*, 2004; Shin *et al.*, 2005; Park *et al.*, 2008), 실험동물을 이용한 각종 질환과의 관련성 확인(Hiyoshi *et al.*, 2005; Ichinose *et al.*, 2008) 그리고 임상학적인 결과(Lee *et al.*, 2007; Chiu *et al.*, 2008; Yoo *et al.*, 2008) 등으로 크게 구별할 수 있다. 일반적으로 자동차배기가스입자, 지하철분진 그리고 황사와 같은 미세먼지는 호흡기 깊숙이 침입하여, 폐포에 염증을 일으키고 호흡기능을 악화시킬 수 있으며, 기도 점막을 자극하여 호흡이 곤란해지고, 목이 아플 수 있으며, 감기나 급성 기관지염 등의 빈도가 늘어날 수 있고, 만성기관지염을 악화시킬 수 있다고 한다(Takano *et al.*, 1999). 또한 만성 폐쇄성 폐질환자나 천식 환자의 경우 기관지가 과민반응에 의해 좁아지며 발작적으로 기침이 나고 호흡곤란이 더욱 심해지고, 이들 호흡기질환 외에도 눈과 코의 점막이 자극을 받아 결막염이나 비염

을 불러올 수 있으며, 피부질환도 늘어날 가능성이 있다고 한다(Chiu *et al.*, 2008). 그러나 철저한 과학적 입증없이 가능성을 추측하는 것은 문제가 있다고 생각된다. 일본에서 실험동물에 황사를 투여하여 각종 호흡기 질환과의 관련성을 확인한 논문(Hiyoshi *et al.*, 2005; Ichinose *et al.*, 2008)이 발표되고 있지만 이들 논문도 모두 황사발원지에서 모래를 채취하여 실험한 것으로 대기중에서 직접 황사분진을 포집하여 사용하지 않았다는 점에서 문제가 있다고 생각된다. 또한 우리나라의 경우 황사와 같은 미세먼지가 호흡기 질환에 미치는 영향에 관한 동물실험을 통한 연구결과는 거의 없는 실정이다.

따라서 본 연구는 황사가 발생한 날 건물옥상에서 황사 분진을 포집하여 물리적 성상을 평가하고, 그 황사 분진을 10주 동안 장기간 항원과 함께 생쥐 기도내에 병행 투여하여 황사 분진이 기관지 천식과 관련하여 항원관련 호산구 침윤과 기도과민성에 미치는 영향을 조사하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 황사 분진의 포집 및 성상 조사

황사 분진은 2006년 4월 8일 한반도 전역에 최악의 황사가 있던 날 충청북도 청주시 흥덕구 개신동 충북대학교 농업생명환경대학 건물(92동)옥상에 비닐을 깔아 하루 종일 가라앉은 황사 분진을 모아서 수집하였다. 이 방법이 황사를 포집하는데 가장 자연친화적인 방법이라고 판단하였다. 황사분진을 전자현미경(DSM 960A, Germany)으로 성상을 조사한 다음, 냉동고(-20°C)에 저장하면서 실험에 사용하였다.

2. 실험동물 사육조건과 기도내 황사분진 입자 투여

본 연구에서 사용된 실험동물은 Daehan Biolink Co. (Eumsung, Korea)에서 18 g, 6주령의 Balb/c계 수컷생쥐를 구입하고, 2주간 실험실 적응기간을 거쳐 22 g, 8주령만을 이용하였다. 생쥐를 정상군, Ovalbumin(OVA: Sigma, USA) 단독처리군 및 OVA+황사 분진 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 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 40~60%, 환기는 1시간당 12~15회로 하였으며, 1일중 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 생쥐사육 cage는 polycarbonate 재질로 만든 것을 사용하였으며 깔집은 (주)JRS (MK-2000 Corncob, Germany) 제품을 사용하였다. 실험동물의 사육에 대한 모든 과정은 국제 동물이용관리 위원회 지침에 준하여 실시하였다.

황사 분진의 기도내 투여방법과 투여기간은 Lim 등의 방법(1998)과 Takano 등의 방법(1999)에 준하여 실시하였다. 즉 황사분진을 0.05% Tween 80을 함유한 50 mM 인산완충 생리식염수 용액(PBS, pH 7.4)으로 1 mg/mL의 농도가 되도록 혼탁액을 만든 다음, -4°C 로 유지하면서 초음파 세포분쇄기(Tomy UD-201, Tokyo, Japan)로 50% 최대 출력하에 5분 동안 처리하였다. 황사분진 투여는 생쥐를 10% chloral hydrate로 마취한 다음, 기도내 투여용 cannula를 이용하여 황사분진 1 mg/mL 혼탁액 100 μL 를 10주 동안 일주일에 1회 기도내로 투여하였고, 정상군과 OVA 단독처리군은 0.05% Tween 80을 함유한 50 mM PBS 용액(pH 7.4)만을 기도내로 투여하였다.

3. OVA 감작화 및 흡입

실험동물에 OVA 감작화 및 흡입은 Hammad 등(2004)의 방법에 따라 실시하였다. 즉 OVA/alum 용액은 먼저 50 mM PBS 용액(pH 7.4)으로 OVA 농도가 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 이 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 단독처리군과 OVA+황사분진 처리군에 각각 OVA/alum 용액 0.2 mL을 (inhalation 14일과 7일전) 그리고 1% OVA 용액 0.1 mL (inhalation 11일과 2일전)를 각각 2회씩 복강 내로 투여하였다. 또한 250 × 300 × 250 mm의 polycarbonate 재질 (DJ-435, Dae-

jong, Korea) chamber 안에서 10주 동안 일주일에 한번, 일일에 30분 Buxco Aerosol Delivery System (NE-CT10, Buxco Co. USA)를 이용하여 6주간은 1% OVA 용액, 그리고 마지막 4주간은 2.5% OVA 용액을 연무질화하여 분무하였다.

4. 혈액과 기도폐세정액 채취

실험 종료 후 생쥐는 10% chloral hydrate를 복강내에 투여한 후 혈액을 심장채혈법으로 포집하고, 원심분리 3,000 rpm에서 10분 동안 원심분리하여 혈청을 얻었으며, -70°C 에 보관하면서 실험에 사용하였다. 혈청성분의 함량과 혈청효소들의 활성도는 바이오텍스텍(주) (Cheongju, Korea)에 의뢰하여 측정하였다. 기도폐세정액(BALF)은 37°C 에서 주사기로 10% FBS DMEM 배양액을 기도내 반복하여 주의 깊게 넣고 빨아들여서 얻었으며, 이 과정을 3회 반복하였다. 이 폐세정액의 세포를 Cytospin 원심분리기(Cellspin, Hani, Korea)를 이용하여 슬라이드 글라스 위에 도말하고 Diff-Quik로 염색하여 호산구의 세포수를 조사하였다. 폐 세정액의 상층액을 -70°C 에 보관하면서 cytokine, eotaxin, IgE 함량 측정에 사용하였다.

5. 기도과민성 측정

기도과민성의 측정은 whole body plethysmographs인 Biosystem XA (Buxco, USA) 장비를 사용하여 Finotto 등(2001)의 방법에 따라 실시하였다. 즉 Pehn값은 Pause-PIF/PEF와 같으며, 여기서 Pause = $(\text{Te} - \text{TR})/\text{Tr}$ 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 황사분진의 기도내 투여와 마지막 2.5% OVA 흡입 24시간 후에, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 mg/mL methacholine (Sigma, USA) 수용액을 만들고 nebulizer로 연무질화하여 분무하고, 각각의 농도에 대한 기도의 반응성은 10분 동안 연속적으로 조사하였다.

6. Enzyme-linked immunosorbent assay

Interleukin (IL)-4, IL-5, IL-13, IL-10과 interferon-gamma (IFN- γ)의 함량은 Biosource사 (Invitrogen,

USA)제품의 kit 시약을, 히스타민 함량은 Beckman Coulter사(Fullerton, USA)제품의 kit 시약을, 그리고 immunoglobulin-E (IgE)의 함량은 Shibayagi사(Shibukawa, Japan) 제품의 kit 시약을 사용하여 측정하였다. 즉 kit 시약 사용설명서에 따라 각각의 well에 천식유발 생쥐의 혈청 및 폐세정액 100 µL씩을 각각 분주하고, 1시간 동안 실온에서 방치한 후 2회 washing 완충 용액으로 세척한 다음, antibody biotin-conjugated를 넣고 30분간 방치하였다. 다시 2회 수세 후 완충 용액으로 세척한 다음 antibody Avidin-HRP conjugated 100 µL 처리하고, 1시간 실온에서 방치한 후 다시 세척하였다. 다음 발색시약인 tetramethyl benzidine (TMB) 100 µL 분주하고 암소에서 30분간 방치한 후 1 M 황산수용액 100 µL stop 용액을 처리한 후 ELISA reader를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하고 그 함량을 계산하였다.

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.

결과 및 고찰

1. 황사분진의 성상

Fig. 1은 전자현미경으로 3,000배 확대하여 황사분진의 성상을 촬영한 사진이다. 황사분진의 크기는 대부분 5 µm (PM5) 이하이었으며, 모형은 각진 모습이 아닌 둥글둥글한 타원형이 대부분이었다.

2. 혈액성분과 효소

Table 1은 생쥐에 10주 동안 OVA 감작화와 함께 기도내에 황사분진 입자를 투여했을 때 혈액성분의 함량과 효소의 활성도의 변화를 나타낸 것이

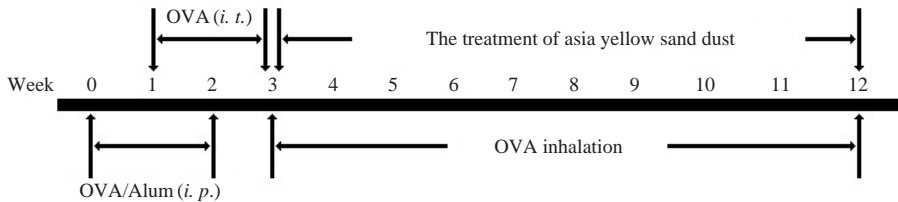


Fig. 1. Experimental scheme of animal treatment.

Table 1. Serum component contents and serum enzyme activity

Serum components	Normal	OVA	OVA+AS dust
ALT ^a	9.1 ± 0.8	10.4 ± 1.0	13.2 ± 2.7
AST ^a	75.1 ± 4.5	82.4 ± 7.7	86.2 ± 7.3
LDH ^a	341.5 ± 41.3	395.0 ± 52.0	472.3 ± 66.9*
Creatinine ^b	0.40 ± 0.05	0.30 ± 0.04	0.30 ± 0.04
T-cholesterol ^b	87.6 ± 6.6	81.7 ± 4.1	74.7 ± 15.3
Glucose ^b	140.4 ± 8.4	161.2 ± 10.9	149.0 ± 9.4
T-Bilirubin ^b	0.018 ± 0.005	0.020 ± 0.010	0.023 ± 0.005
T-glyceride ^b	43.9 ± 11.7	44.6 ± 12.6	40.2 ± 6.7

^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 asian sand dust suspension by intratracheal instillation once weekly for 10 weeks combined with ovalalbumin (OVA) sensitization.

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

*Significantly different from Normal group (p < 0.01)

다. OVA+AS투여군 혈액에서 ctreatinine, T-cholesterol, glucose, T-bilirubin, T-glyceride의 혈액성분 함량은 모두 정상군과 OVA 단독투여군 혈액과 비교했을 때 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나 혈액효소중에서 간 손상의 지표로 이용되고 있는 ALT와 AST의 활성도는 OVA+황사처리군은 정상군과 OVA 단독투여군과 비교했을 때 유의한 차이를 보이지 않았으나 특이하게 LDH의 활성도는 정상군에 비해 높게 유지되고 있었다($p < 0.01$). 일반적으로 젖산 탈수 효소인 LDH (lactate dehydrogenase)는 몸 안의 당이 분해되어 에너지로 변환 때 작용하는 효소의 하나로 동물의 전체 조직 세포 중에 존재하는 편재성 효소로서 함유되어 있어 세포가 파괴되면 혈중으로 유리되어 혈중농도가 증가하는 것으로서 염증이나 종양발생 등 여러 질환의 경과 관찰 또는 예후 판정지표의 하나로 이용되고 있다.

3. 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 실험에서도 기도과민성을 Pehn값으로 측정하여 비교하였다. 10주 동안 실험 절차에 따라 처리한 정상군, OVA 단독처리군 및 OVA+황사분진 처리군에 methacholine을 농도별로 분무하고, Pehn값을 비교한 결과는 Fig. 2와 같다. 기도수축제를 연무질화하여 농도를 증가시키면서 생쥐 기도내에 투여했을 때 정상군의 Pehn값은 크게 증가되지 않았지만 OVA 처리군과 OVA+황사분진 처리군의 Pehn값은 농도에 따라 크게 증가되었으며 ($p < 0.01$), methacholine 처리농도가 25과 50 mg/mL에서는 OVA+황사분진 처리군의 Pehn값이 OVA 단독처리군보다 높게 유지되는 경향을 나타내었으나 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다.

4. 폐세정액의 세포수

Table 2는 생쥐에 10주 동안 OVA 감작화와 함께 기도내에 황사분진 입자를 투여했을 때 폐의 무

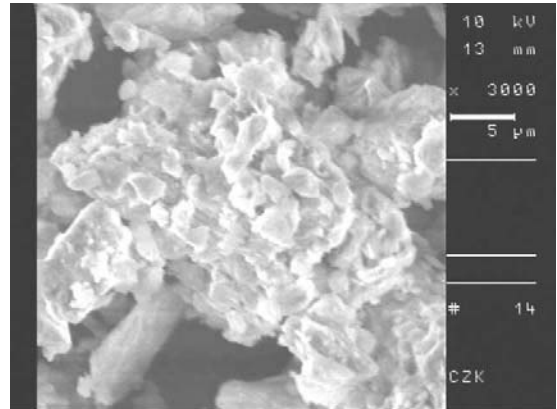


Fig. 2. A sacred image of Asian sand dust ($\times 3,000$).

Table 2. Lung weight, the number of total cells and eosinophils in BAL fluid

	Normal	OVA	OVA+AS dust
Lung weights ^a	0.22±0.02	0.33±0.07 [#]	0.38±0.04 [#]
Total Cells ^b	1.70±0.40	11.8±0.25 [#]	14.7±2.9 ^{#*}
Eosinophils ^c	1.50±0.50	37.0±10.00 [#]	64.0±15.0 ^{#*}

^a: g; ^b: ($\times 10^5$ cells); ^c: $\times 400$

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

[#]Significantly different from normal group ($p < 0.01$)

^{*}Significantly different from OVA group ($p < 0.01$)

게변화와 폐세정액에서 총 세포수와 호산구수 등을 측정된 결과이다. OVA+황사분진 처리군 폐의 무게는 정상군의 폐의 무게에 비해 약 1.7배 이상 크게 증가하였으나 ($p < 0.01$) OVA 단독 투여군 폐의 무게에 비해서 증가하는 경향이었고, 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. 폐세정액에서 총 염증세포수는 OVA+황사분진 투여군이 정상군에 비해 8.6배 증가하였으며 ($p < 0.01$) OVA 단독 투여군에 비해서도 약 1.25배 증가하였다 ($p < 0.01$). 또한 총 염증세포 중에서 기관지 천식 발병과 가장 밀접하게 관련이 있다고 알려진 호산구의 수에서도 폐세정액에서 OVA+황사분진 투여군은 정상군에 비해 42.7배 증가하였고 ($p < 0.01$), OVA 단독 투여군에 비해 1.7배 증가하였다 ($p < 0.01$). 따라서 폐세정액에서 OVA 알러지원은 총 염증세포수를 증가시키며, 특히 호산구수를 증가시키는데 이 알러지원에 황사분진을 병용투여하면 알러지원 단독 투여에 비

해 총 염증세포수를 더 증가시키고 염증세포중에서도 특히 호산구수를 더 크게 증가시킨다는 것을 확인할 수 있었다. 이는 황사분진이 기도내의 천식증상을 더 악화시킬 수 있는 인자로 작용할 수 있다는 것을 나타내는 결과라고 생각된다.

5. 혈액에서 히스타민과 IgE 함량

생쥐에 10주 동안 OVA 감작화와 함께 기도내에 황사분진을 투여하여 혈액에서 알러지 반응의 주체인 히스타민 함량과 IgE의 함량을 측정하고 비교한 결과는 Table 3과 같다. 혈액에서 히스타민의 함량은 OVA+황사분진 투여군이 OVA 투여군이 정상군에 비해 약 18.2배 높았으며 (p<0.01), OVA 단독 투여군에 비해서도 약 1.9배 높았다 (p<0.01). 그리고 혈액에서 OVA+황사분진 투여군의 IgE 함량은 정상군의 IgE 함량에 비해 약 2.1배 높았으나 (p<0.01), OVA 단독 투여군의 IgE 함량에 비해 높은 경향만을 나타내었고, 통계적으로 유의한 차이는 나타나지 않았다. 한편, 일반적으로 알러지 반응은 I형에서 IV형까지 분류되고 있지만 이 중에서 기관지 천식과 관련된 것은 I형 알러지 반응으로 이 반응의 주체는 IgE 항체와 mast cell이라고 알려지고 있다 (Theohatides and Kalogeromitros, 2006). 즉 이 반응에서 알러지를 일으키는 항원이 침입하면, macrophage가 인식, helper T 세포에서 관련 cytokine유리, 그리고 B세포에서 IgE 항체가 만들어져 mast세포에 부착시킨다. 그 다음 mast세포는 히스타민, BCF-A, prostaglandin, tromboxane, leukotriene C4, leukotriene D4, leukotriene E4 및 platelet activating factor (PAF: 혈소판 활성화 인자)를 생성하여 유리하는 특징을 갖고 있기 때문에 기관지천식과 밀접한 관련이 있다. 히스타민은 아미노산 히스티딘에 이산화탄소가 이탈된 화합물로서 특히 혈액에서 히스타민의 유리는 피부에 가려움증을 유발할 뿐만 아니라 기관지 조직에 호산구를 침윤시켜 활성화하는 작용을 하여 알러지 기관지천식 발증에 중요한 역할을 한다고 알려지고 있다 (Pawankar *et al.*, 2007). 따라서 생쥐에 장기간 황사분진을 알러지 지원과 함께 기도내에 투여했을 때 혈액중에서 히스타민 함량을 크게 증가시키며, 이는 황사분진이 알러지성 기관지천식을 악화시킬 수 있다는 것을 보여주는 결과라고 판단된다.

Table 3. Histamine and IgE levels in the serum

	Normal	OVA	OVA+AS dust
Histamine ^a	2.9±1.1	28.4±3.1 [#]	52.8±2.8 ^{#*}
IgE (×10) ^b	170.4±2.2	333.9±6.8 [#]	360.2±16.9 ^{#*}

^a: μM; ^b: (μg/mL)

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

[#]Significantly different from normal group (p<0.01)

*Significantly different from OVA group (p<0.01)

Table 4. Protein levels of cytokines in BAL fluid

Cytokine	Normal	OVA	OVA+AS dust
IL-4 ^a	12.5±1.0	118.8±18.6 [#]	158.6±16.9 ^{#*}
IFN-gamma ^a	44.8±3.1	39.9±6.2	41.2±4.6
IL-5 ^a	2.2±1.1	254.5±26.8 [#]	274.6±14.1 [#]
IL-13 ^a	10.3±2.3	221.3±18.6 [#]	319.3±67.0 ^{#*}

^a: pg/mL

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

[#]Significantly different from normal group (p<0.01)

*Significantly different from OVA group (p<0.01)

6. 폐세정액에서 Cytokine 함량

Table 4는 10주 동안 OVA 감작화와 함께 기도내에 황사분진을 투여했을 때 폐세정액에서 cytokine들의 함량을 측정한 결과이다. OVA+황사분진 투여군 폐세정액에서 IL-4 함량은 정상군에 비해 12.7배 높았으며 (p<0.01), OVA 단독 투여군에 비해서도 약 1.3배 더 높았다 (p<0.01). 일반적으로 IL-4는 Helper T2세포에서 유리되어 B세포의 IgE 항체생성을 촉진시키는 작용을 갖고 있어 기관지천식 발증과 밀접한 관련이 있다고 알려지고 있다 (Nakajima and Takatsu, 2007). 한편 폐세정액에서 IFR-γ의 함량은 IL-4 함량과 달리 OVA 투여군과 OVA+황사분진 투여군 모두 정상군과 거의 유사하여 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았다. 일반적으로 IFR-γ는 Helper T1세포에서 분비되며, influenza virus나 이종 핵산과 접했을 때 합성되는 단백질로서 표적세포를 항바이러스 상태로 유도하는 작용과 증식억제 및 항암작용을 갖고 있고, 특히 면역계 세포에 대한 면역조절작용이 현저하다고 알려지고 있다 (Kumar *et al.*, 2006). 또한 폐세정액에서 IL-5의 함량은 OVA+황사분진 투여군이 정

상군에 비해 124.8배 높았으나 ($p < 0.01$) OVA 단독 투여군에 비해서는 높은 경향만을 나타내었고, 통계적인 유의성은 나타나지 않았다. 일반적으로 IL-5는 macrophage에 의해 항원이라고 제시를 받는 Helper T세포에서 유리되는 당단백질로서 eosinophil differentiation factor (EDF: 호산구 분화 인자), B-cell growth factor II (BCGF II)이며, B-cell의 분화와 항체 생성을 자극하고, IgA 생성을 증가시키는 작용을 갖고 있고, 또한 호산구를 활성화하는 작용을 갖고 있어 기관지 천식의 특징인 기관지평활근 수축, 점액분비증가, 혈관투과성 항진작용에 중요한 역할을 한다고 알려지고 있다(Nakajima and Takatsu, 2007). 그리고 Helper T세포에서 유리된다고 알려진 IL-13의 함량은 폐세정액에서 OVA+황사분진 투여군이 정상군에 비해서는 31배 높았으며 ($p < 0.01$), OVA 단독 투여군에 비해 1.4배 더 높았다 ($p < 0.01$). 따라서 생쥐에게 장기간 황사분진 입자를 알러지원 OVA와 함께 기도내 투여했을 때 IFR- γ 와 같은 Helper T세포형 cytokine의 함량은 크게 영향을 받지 않았지만 IL-4, IL-5 및 IL-13과 같은 Helper T세포형 cytokine의 함량은 크게 증가하게 하여 기관지천식의 증상을 더 악화시키는 것으로 판단된다.

7. 폐세정액에서 IgE 및 eotaxin의 함량

생쥐에 10주 동안 OVA 감작화와 함께 기도내에 황사분진 입자를 투여하고 선택적으로 호산구 유주화화인자로서 작용하는 eotaxin의 함량을 폐세정액에서 측정 한 결과는 Table 5와 같다. 일반적으로 알려진 반응의 주체인 IgE의 함량과 T-helper 2 type의 IL-4, IL-5와 IL-13 등은 eotaxin expression을 유도하는 작용을 한다고 알려지고 있다(Pease, 2006). OVA+황사분진 투여군은 폐세정액에서 IgE 함량이 정상군에 비해 14배 ($p < 0.01$) 그리고 OVA 단독 투여군에 비해 1.7배로 높았으며 ($p < 0.01$), OVA+황사분진 투여군이 혈액에서 IgE 함량이 정상군에 2.1배 그리고 OVA 단독투여군에 1.1배 높아진 것이 비해 그 증가폭은 폐세정액이 더 크게 나타났다. 또한 폐세정액에서 OVA+황사 투여군의 eotaxin 함량은 정상군에 비해 약 5.2배 높았고 ($p < 0.01$), OVA 단독 투여군에 비해 1.3배 더 높았다 ($p < 0.01$). 즉 황사분진을 장기간 OVA 알러지원과 함

Table 5. IgE and eotaxin levels in BAL fluid

	Normal	OVA	OVA+AS dust
IgE ^a	21.2 ± 12.1	170.5 ± 11.6 [#]	297.0 ± 26.7 ^{#*}
Eotaxin ^a	20.6 ± 6.0	80.5 ± 7.6 [#]	106.1 ± 6.5 ^{#*}

^a: pg/mL
 Values recorded are the mean ± SD with 8 male Balb/c mice per each group.
[#]Significantly different from normal group ($p < 0.01$)
 * Significantly different from OVA group ($p < 0.01$)

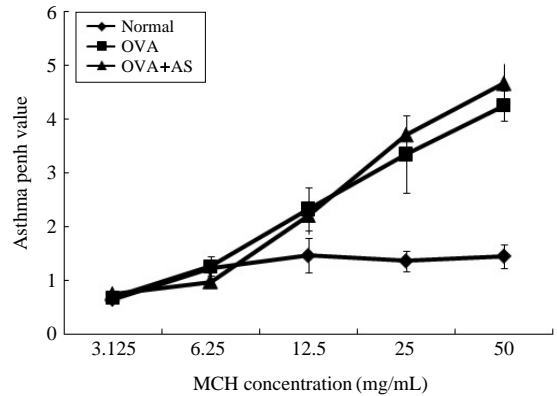


Fig. 3. The change in respiratory resistance with MCH concentration. MCH: methacholine (mg/mL). Values recorded are the mean ± SD with 8 male Balb/c mice per each group. * $p < 0.01$ represents significant difference between OVA group and normal group, and between OVA+AS group and normal group.

께 장기간 생쥐 기도내로 투여했을 때 폐세정액에서 IgE 함량과 eotaxin 함량이 증가하는 요인이 될 수 있다. 따라서 황사는 황사발원지로부터 중국 내륙을 이동하면서 중국 본토에서 발생하는 유해물질까지 흡착하여 한반도에 도달할 때에는 황사분진에 수용성 중금속 뿐만 아니라 유기성분, 곰팡이 등도 함유하고 있기 때문에 알러지원에 의한 기관지천식과 기도과민성을 악화시키는 요인으로 작용할 수 있다고 생각된다.

결론

최근 한국에서 알레지성 비염, 천식·아토피 피부염, 만성기관지염과 폐렴과 같은 만성 하기도질

환이 증가하고 있어, 그 원인을 구명하고자 황사분진을 포집하여 물리적 성상을 조사하였으며, 생쥐의 기도내에 알러지원과 함께 장기간 투여하면서 천식성 기도염증과 기도과민성에 미치는 영향을 조사하였다. 황사분진은 둥글둥글한 타원형으로 그 크기는 대부분 5 µm (PM5) 이하이었다. 장기간 알러지 원인 OVA와 함께 황사분진을 생쥐에게 투여했을 때 혈액에서 LDH의 활성도 및 IgE와 히스타민의 함량은 증가하였으며, 기도과민성도 상승하였다. 폐세정액에서 총염증세포수 및 호산구수가 크게 증가하였고, IL-4, IL-5, IL-13의 함량과 IgE 및 eotaxin 함량도 크게 증가하였다. 따라서 황사분진은 알러지성 기도염증과 기도과민성을 나타내는 인자의 함량을 증가시키는 것으로 보아 기관지 천식을 악화시키는 기여인자로 작용할 수 있다고 생각된다.

감사의 글

본 논문은 2009년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었으며, 이에 감사한다.

참 고 문 헌

- Chiu HF, Tiao MM, Ho SC, Kuo HW, Wu TN and Yang CY. Effects of asian dust storm events on hospital admissions for chronic pulmonary disease in Taipei, Taiwan, *Inhal Toxicol* 2008; 20(9): 777-781.
- Chun MY, Choi MK and Yeo HG. Variation of atmospheric concentrations of organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) at different height, *J Environ Toxicol* 2008; 23(3): 201-211.
- Finotto S, De Sanctis GT, Lehr HA, Herz U, Buerke M, Schipp M, Bartsch B, Atreya R, Schmitt E, Galle PR, Renz H and Neurath MF. Treatment of allergic airway inflammation and hyperresponsiveness by antisense-induced local blockade of GATA-3 expression, *J Exp Med* 2001; 193: 1247-1260.
- Hammond H, De Vries VC, Maldonado-Lopez R, Moser M, Maliszewski C, Hoogsteden HC and Lambrecht BN. 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, *Clin Exp Allergy* 2004; 34(12): 1834-1840.
- Hiyoshi K, Ichinose T, Sadakane K, Takano H, Nishikawa M, Mori I, Yanagisawa R, Yoshida S, Kumagai Y, Tomura S and Shibamoto T. Asian sand dust enhances ovalbumin-induced eosinophil recruitment in the alveoli and airway of mice, *Environ Res* 2005; 99(3): 361-368.
- Ichinose T, Yoshida S, Sadakane K, Takano H, Yanagisawa R, Inoue K, Nishikawa M, Mori I, Kawazato H, Yasuda A and Shibamoto T. Effects of asian sand dust, Arizona sand dust, amorphous silica and aluminum oxide on allergic inflammation in the murine lung, *Inhal Toxicol* 2008; 20(7): 685-694.
- Kim BJ, Hong AB, Shim TS, Lim CM, Lee SD, Ko YS, Kim WS, Kim DS, Kim WD and Oh YM. Cause of death in COPD patients of a referral hospital, *Tuberc Respir Dis* 2006; 60(5): 510-515.
- Kim KH, Kang CH, Lee JH, Choi KC and Youn YH. The influence of the asian dust on the springtime distribution of airborne lead, *J Kor Soc Atmos Environ* 2004; 20(6): 833-838.
- Kim KH, Kim MY, Shin JY, Cho GH and Kang CH. Insights into the factors determining the aerosol distribution characteristics of the asian dust on the basis of the concurrent analysis of PM2.5, PM10, and TSP during the spring season of 2001, *J Kor Soc Atmos Environ* 2002; 18(5): 419-426.
- Kim YK, Song SK and Gang JE. Characteristics of concentration variation and synoptic conditions by the lasting time of asian dust, *J Kor Soc Atmos Environ* 2004; 20(4): 465-481.
- Kumar RK, Webb DC, Herbert C and Foster PS. Interferone gamma as a possible target in chronic asthma, *Inflamm Allergy Drug Targets* 2006; 5(4): 253-256.
- Lee HC, Jo WC and Kim JT. Temporal and spatial pollution characteristics of ambient criteria pollutants in metropolitan and industrial cities of Daegu-Gyeonbuk area, *J Environ Toxicol* 2007; 22(4): 329-337.
- Lee JT, Son JY and Cho YS. A Comparison of mortality related to urban air particles between periods with asian dust days and without asian dust days in Seoul, Korea, 2000-2004, *Environ Res* 2007; 105(3): 409-413.
- Lim HB, Ichinose T, Miyabara Y, Takano H, Kumagai Y, Shimojyo N, Devalia JL and Sagai M. Involvement of superoxide and nitric oxide on airway inflammation and hyperresponsiveness induced by diesel exhaust particles in mice, *Free Rad Biol Med* 1998; 25(6): 635-644.
- Nakajima H and Takatsu K. Role of cytokines in allergic airway inflammation, *Int Arch Allergy Immunol* 2007; 142(4): 265-273.
- Oh SM, Sung HK, Kim ES, Kim JG, Ryu BT and Chung KH.

- Genotoxic effect of air-borne particulate matter in residential area of Seoul city, *J Environ Toxicol* 2005; 20(4): 365-374.
- Park EJ, Kim DS and Park K. Monitoring of ambient particles and heavy metals in a residential area of Seoul, Korea, *Environ Monit Assess* 2008; 137(1-3): 441-449.
- Pawankar R, Lee KH, Nonaka M and Takizawa R. Role of mast cells and basophils in chronic rhinosinusitis, *Clin Allergy Immunol* 2007; 20: 93-101.
- Pease JE. Asthma, allergy and chemokines, *Curr Drug Targets* 2006; 7(1): 3-12.
- Shin SA, Han JS, Hong YD, Ahn JY, Moon KJ, Lee SJ and Kim SD. Chemical composition and features of asian dust observed in Korea (2000-2002), *J Kor Soc Atmos Environ* 2005; 21(1): 119-129.
- Takano H, Lim HB, Miyabara Y, Ichinose T, Yoshikawa T and Sagai M. Manipulation of the L-arginine-nitric oxide pathway in airway inflammation induced by diesel exhaust particles in mice, *Toxicology* 1999; 139: 19-26.
- Theoharides TC and Kalogeromitos D. The critical role of mast cells in allergy and inflammation, *Ann NY Acad Sci* 2006; 1088: 78-99.
- Vig RS, Forsythe P and Vliagoftis H. The role of stress in asthma : insight from studies on the effect of acute and chronic stressors in models of airway inflammation, *Ann NY Acad Sci* 2006; 1088: 65-77.
- Xie C, Nishizawa T, Sugimoto N, Matsui I and Wang Z. Characteristics of aerosol optical properties in pollution and asian dust episodes over Beijing, China, *Appl Opt* 2008; 47(27): 4945-4951.
- Yoo Y, Choung JT, Yi J, Kim DK and Koh YY. Acute effects of asian dust events on respiratory symptoms and peak expiratory flow in children with mild asthma, *J Korean Med Sci* 2008; 23(1): 66-71.