

만성폐쇄성폐질환의 병태생리 : 아포프토시스를 중심으로

단국대학교 의과대학 내과학교실

이 계 영

Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease : A Role for Apoptosis

Kye Young Lee, M.D. & Ph.D.

Department of Internal Medicine, Dankook University School of Medicine, Chonan, Korea

서 론

지난 10년간 기관지천식의 병태생리에 대한 연구 성과는 괄목할만한 발전을 이룩한 반면 만성폐쇄성폐질환(Chronic Obstructive Pulmonary Diseases; 이하 COPD)에 대해서는 놀라울 정도로 낙후되어 있는 실정이었다. 미국의 자료를 본다면 현재 약 1400만명의 COPD 환자가 있고 백인 남자 흡연자의 약 14%에서 그리고 백인 남자 비흡연자의 약 3%에서 기류 폐쇄가 관찰된다고 보고되고 있다¹. 또한 세계보건기구(World Health Organization)에 의하면 COPD의 유병율과 사망률은 향후 계속 증가하여 현재 제12위를 점하는 COPD의 유병율이 2020년에는 제5위로, 제6위를 점하고 있는 사망률은 3위로 올라설 것으로 예측하고 있다². 이러한 배경에서 COPD에 대한 사회

적 관심이 점차 증가하는 추세이며 따라서 최근 담보 상태에 머물러 있던 COPD에 대한 병태생리의 새로운 연구결과들이 속속 발표되고 있는 실정이며, WHO와 미국의 NHLBI (National Heart, Lung, and Blood Institute) 간의 협력 프로젝트(The Global Initiative for COPD)가 발족되어 진행중이다.

그동안 COPD의 병태생리는 α -1-antitrypsin을 중심으로 하는 Protease/Antiprotease 불균형이 대종을 이루어 왔다. 그러나 α -1-antitrypsin 결핍은 전체 COPD 환자의 1% 미만에서만 관찰될 뿐 90% 이상의 환자는 흡연과 관련이 있음이 밝혀져 있다. 최근 COPD는 천식과 마찬가지로 만성 지속성 염증성 기도질환으로 이해하려는 의견이 지배적이다. 이에 따라 COPD에서 관찰되는 기도 염증의 특성이 무엇인지, 왜 기도염증이 지속되는지, 그리고 왜 흡연자 중

Address for correspondence :

Kye Young Lee, M.D. & Ph.D.

Department of Internal Medicine, Dankook University School of Medicine

San 16-5 Anseo-dong, Chonan, 330-715, Korea

Phone : 041-550-3916 Fax : 041-556-3256 E-mail : kyleemd@anseo.dankook.ac.kr

일부만 기류폐쇄가 발생하는지 등에 대한 이유를 규명하기 위하여 현재 많은 연구가 진행 중이다. 또한 이러한 만성 기도염증의 결과로 폐포파괴가 초래되어 기류폐쇄가 발생하기 위해서는 염증 반응에 의한 폐손상을 치유하려는 복원 기전에 장애가 있어야 하고, 폐포 소실에 있어서 세포외기질단백질의 소실 이외에 폐포를 구성하는 세포들의 소실 기전에 대한 설명이 있어야만 한다.

지난 십 년간 이룩된 아포토시스에 대한 비약적인 연구 결과는 거의 모든 질병의 병태생리를 이해하는데 있어서 새로운 지평선을 열어 놓았다. 암, 자가면역질환, 바이러스 감염 등은 아포토시스가 억제되어 발생하는 질환들이고, AIDS, 신경퇴행성질환, 골수이형성 증후군, 허혈성 손상, 독소-유도성 간질환 등은 아포토시스가 비정상적으로 항진되어 발생하는 질환으로 새롭게 이해되고 있으며 이에 따라 각각 아포토시스를 유도 및 억제하는 치료법을 개발하려는 노력이 진행 중이다^{3,4}. 같은 맥락에서 COPD에서 기도 염증반응이 지속되는 이유는 염증세포들의 아포토시스가 억제되는 기전을 획득하였기 때문이고 폐포세포 소실 기전으로는 아포토시스가 항진되어 있기 때문이라는 추론이 가능하며 실제로 이에 대해 최근 많은 연구들이 보고되기 시작하였다. 이러한 배경에서

COPD 병태생리에 대한 기존의 이론들을 정리하고 최근 제시된 새로운 이론들을 소개함으로써 임상적으로 대단히 중요한 질환임에도 불구하고 무관심하고 잊혀진 질환인 COPD에 대한 새로운 관심을 고양시켜 보고자 한다.

환경인자와 유전인자 간의 상호작용

COPD 환자의 90% 이상이 흡연자에서 발생한다. 따라서 흡연은 가장 중요한 환경인자이며 이 외에 직업적 노출, 대기오염, 소아기 바이러스 감염, 아데노바이러스 잠재 감염(E1A 단백질) 등이 일부 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 그러나 대부분의 흡연자는 COPD가 발생하지 않는다. 미국의 자료를 보면 백인인 경우 약 15%, 아시아인인 경우 약 5%의 흡연자에서만 COPD가 발생한다. 흡연을 하면 정도의 차이는 있지만 대부분이 기도 염증이 발생한다. 하지만 흡연자의 일부에서만 COPD가 발생한다는 사실에서 이는 기도염증의 결과로 기류폐쇄가 초래되는 사실에는 유전인자가 중요한 역할을 함을 시사한다고 할 수 있겠다. 약년에 발생하는(early onset) COPD 환자에서 가족적 집적성이 관찰된다는 사실에서도 유전인자의 중요성을 확인할 수 있다⁵. α -1-antitrypsin 결핍

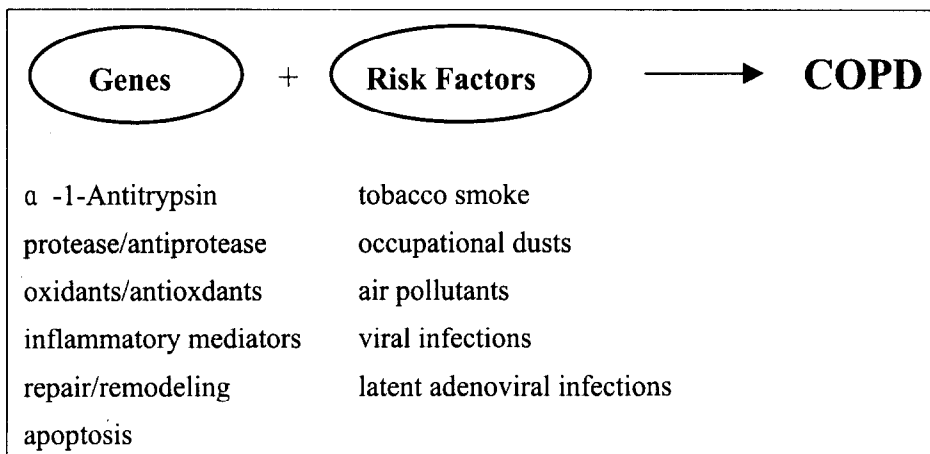


Fig. 1. The interaction between genes and risk factors in COPD pathogenesis.

(PiZZ 표현형)에 의해 약년에 COPD가 발생하며 흡연에 의해 촉진된다는 사실은 좋은 예이다. 그러나 α -1-antitrypsin 결핍에 의한 COPD는 전체 환자의 1%를 넘지 않으며 다른 변이 표현형인 경우는 COPD를 유발하지 않는다는 점에서 다른 유전적 소인이 관여할 것으로 추측된다. 따라서 COPD는 유전적 소인이 있는 사람에게서 유전인자와 환경인자와의 상호작용에 의해 발병한다고 할 수 있다(Fig. 1). 이러한 배경에서 COPD 발병에 관여하는 감수성 유전자를 찾기 위한 많은 연구가 진행되었으나 아직 유한 유전자 다형성(polymorphism)은 발견되지 않고 있다.

COPD는 단일 유전자질환이 아니고 고혈압과 당뇨병과 같은 다유전자질환이다. 따라서 지금까지의 단일 유전자에 대한 다형성 연구는 방법론적 제한점이 크다 하겠다. 최근 인간 유전체 계획(Human Genom Project)이 완료되면서 30억 쌍에 달하는 방대한 인간 유전체의 염기 서열이 밝혀지고 자료가 공개됨으로써 “하나의 표준인간”에 대한 유전체 정보를 알아내게 되었는데 이와 동시에 평균 1000 base당 1개씩 개개인의 염기서열의 차이가 있다는 것이 밝혀졌다. 이를 SNP(single nucleotide polymorphism)이라 하며 종족과 개개인의 개체 특이성을 부여하는 동시에 질병 발현의 원인을 제공하고 민족 간의 질병 역학의 차이를 나타나게 한다⁶. 또한 수백 혹은 수천의 대량의 유전자를 동시에 신속하게 분석할 수 있는 DNA microarray 등의 high-throughput technology와 생물정보학(Bioinformatics)의 발달로 인하여 유전체 연구의 혁명이 도래하였다. 이들 신기술을 이용한 연구를 통하여 COPD 감수성 유전자를 발굴하고 규명하는 노력이 수년 내에 결실을 맺을 것으로 예측된다.

만성폐쇄성폐질환 병인론의 현황

1. Protease/Antiprotease 불균형

폐기종 병태생리를 설명하는데 있어서 결체조직 성분, 특히 elastin을 파괴하는 단백분해 효소(proteases)

의 역할은 가장 중심에서 왔었다. 이 중에서 neutrophil elastase, proteinase 3, cathepsin 3 등은 모두 동물모델에서 폐기종을 유발하는 것으로 밝혀져 있다⁷. Neutrophil elastase는 α -1-antitrypsin에 의해 억제되므로 α -1-antitrypsin 결핍에 의한 폐기종을 설명하는 좋은 예가 되어 왔으나 흡연-유발성 폐기종에서의 역할은 확실하지 않다. 최근에는 macrophage elastase(matrix metalloproteinase-12 : MMP-12)의 knock-out mouse study에서 흡연-유발성 폐기종을 차단한다는 보고가 나와 macrophage elastase가 보다 중요한 역할을 한다는 설이 제시되어 있다⁸. 이에 대해서는 아직 보완해야 할 부분이 많지만 이는 MMPs가 폐기종 병태생리에 있어서 중요한 역할을 한다는 사실을 보여주는 좋은 선례가 되었다. MMP-12 외에 MMP-1(collagenase)와 MMP-9(gelatinase B)이 COPD 환자의 BAL fluid에서 증가되어 있고 폐기종 환자의 폐조직에서 MMP-9과 MMP-2의 효소 활성도가 증가되어 있다는 보고가 있다. MMPs들은 폐포대식세포들을 병소로 유인하는 화학주성인자를 유리시키는 것으로도 밝혀져 있다.

이들 proteases들은 정상적으로 antiproteases에 의해 균형을 이루고 있는데(Fig. 2), 폐실질에서는 α -1-antitrypsin이 기도에서는 secretory leukoprotease inhibitor(SLPI)가 가장 중요한 antiproteases이다. MMPs와 균형을 이루는 antiproteases가 TIMP(tissue inhibitor of matrix metalloproteinases) family인데 현재 TIMP-1, 2, 3, 4 등 네 가지가 알려져 있다.

2. Oxidative stress

담배 연기에는 한 모금 당 10^{16} - 10^{17} 의 oxidant 분자를 함유하고 있는 것으로 밝혀져 있다⁹. 따라서 흡연자와 COPD 환자에서 발생하는 oxidant/antioxidant 불균형에 대한 많은 연구 결과들이 보고되고 있으며 COPD 병태생리에 있어서 oxidative stress가 결정적인 역할을 한다는 증거들이 속속 밝혀지고 있는 실정이다. 흡연자와 COPD 환자에서 BAL fluid, 호

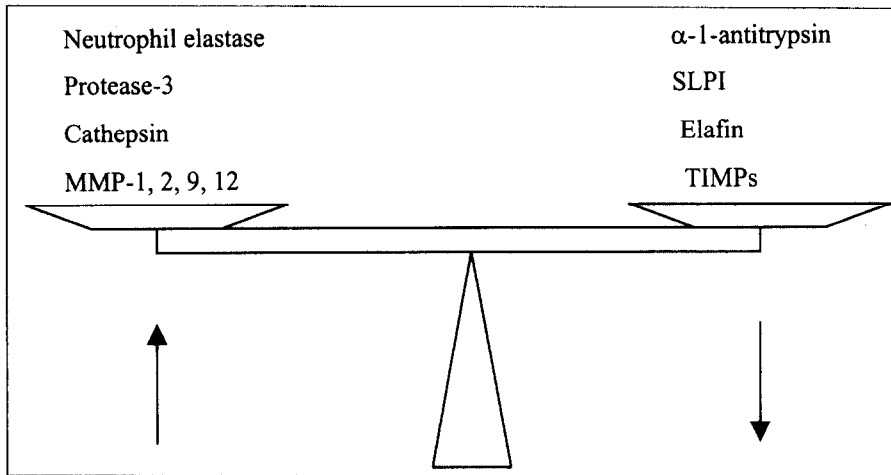


Fig. 2. Protease-Antiprotease imbalance in chronic obstructive pulmonary diseases.

기, 혈액 및 소변 등의 시료에서 oxidative stress에 관련된 표지자들이 증가되어 있다고 보고되어 있다. Oxidative stress는 antiproteases 들을 불활성화시키고, 기강내의 상피세포 손상을 유도하고 미세폐혈관으로 호중구를 끌어들이며 proinflammatory cytokine 및 mediator 들을 전사유도시킨다. Oxidative stress는 NF- κ B와 AP-1 등의 전사인자를 활성화시켜 TNF- α , IL-1 β , IL-8 및 기타 염증 매개물질들을 전사 발현 유도하여 염증 반응 및 단백질 손상을 향진시킨다¹⁰. 흡연에 의해 발생하는 oxidative stress 외에 antioxidant의 식이 부족도 기류폐쇄 유발과 관련이 있으므로 antioxidant의 식이 섭취를 증가시키는 것을 치료법으로 이용하려는 시도도 있다.

3. 기도 염증반응

기관지천식의 병태생리에 있어서 만성 기도염증 반응은 가장 기본적인 소견이며 glucocorticoid의 사용은 치료의 핵심을 이루고 있다. 그 성상은 분명히 다르지만 COPD도 만성 기도염증 소견이 병리 소견의 근간을 이루고 있음이 밝혀져 있다¹¹. 천식에서는 호산구, 비만세포, Th2 CD4+ 세포가 주요 염증 세포인 반면 COPD에서는 폐포대식세포, 호중구, CD8+ T 세

포가 주요 염증세포로 알려져 있다. COPD 환자의 폐조직에서 CD8+ T 세포가 증가되어 있다는 최근의 여러 보고가 있지만 그 역할에 대해서는 아직 확실하지 않다¹².

COPD의 염증매개물질들에 대해서는 아직 천식만큼 명확하지는 않다. 흡연에 의해 활성화된 폐포대식세포에서 유리되어 호중구를 끌어드리는 화학주성인자인 leukotrien B4가 TNF- α 와 IL-8과 마찬가지로 COPD 환자의 객담에서 증가되어 있다는 것이 밝혀져 있다¹³. 이들에 의해 활성화된 폐포대식세포와 호중구에 의해 여러 proteinases가 유리되고 그 결과 elastin 등의 결합조직 성분들을 파괴하여 폐기종을 유발시킨다.

4. 폐손상에 대한 복원 장애

기도는 환경에 노출되어 있기 때문에 기도 구조를 유지하기 위하여 기도 손상에 대한 상당한 복원력을 가지고 있다. 기도손상을 받으면 fibrin과 fibronectin 등의 provisional matrix 단백질들이 혈액으로부터 유도되어 남아 있는 기저세포와 주위의 상피세포들이 이동하여 TGF- β 등에 의한 paracrine 효과에 의해 복원 과정이 진행되는데 상피세포로의 재분화와 분열

증식에 의해 정상 상피 구조를 회복하게 된다¹⁴. 이러한 관점에서 COPD는 흡연-유발성 기도 염증유발에 뒤이은 복원 과정에 장애가 발생하여 폐포 파괴가 발생한다고 설명할 수 있겠다. 흥미롭게도 흡연은 복원 과정에 관여하는 β -amino propionitrile에 의한 elastin 합성을 억제하고 섬유아세포의 동원, 증식, 기질 단백질의 생성과 세포의 기질 개형 등을 억제함으로써 복원 과정을 억제하는 것으로 밝혀져 있다. 따라서 TGF- β , Insulin-like Growth Factor I (IGF-I), Prostaglandin E 등의 복원 과정에 관여하는 물질들의 역할이 연구될 필요가 있으며, 최근 알려진 All-Trans-Retinoic Acid (ATRA)에 의한 폐포복원 (alveolar repair)이 갖는 임상적인 의의는 매우 크다고 하겠다¹⁵.

아포토시스 측면에서의 새로운 병인론

위에서 기술된 현재의 COPD 병인론들을 아포토시스 측면에서 재조명 해본다면 다음 두가지 관점이 생긴다. 첫째는, 흡연에 의해 발생하는 기도 염증반응이 COPD 환자에서는 왜 지속되는가라는 의문이고, 둘째는 폐포소실에 있어서 폐포기질단백질의 소실 이외에 세포성분의 소실 기전이 무엇인가라는 의문이다. 첫번째 의문에 대한 해답으로써 COPD 환자에서는 흡연에 의해 염증세포들의 아포프토시스가 억제된다는 설명이 가능하고, 두번째 의문에 대한 해답으로써 폐포세포들이 아포프토시스에 의해 사라진다는 설명이 가능하다. 이에 대해 각각 고찰해 보기로 하겠다.

1. 염증 반응에서의 호중구 아포프토시스 (Neutrophil apoptosis in inflammatory reactions)

염증 반응은 중요한 방어기전이지만 지나치면 조직 파괴와 섬유화라는 반흔을 조성하여 해를 미치게 된다. 따라서 적절한 시점에서 염증 반응은 해소(resolution)되어야 하며 이를 조절하기 위해 염증세포가 사라져야만 하고 그 기전이 아포프토시스라는 것은 잘

알려져 있다. T-세포가 T-cell Receptor (TCR) 발현에 의해 활성화됨과 동시에 Fas가 동시에 발현되어 염증 반응이 종료되는 시점에서 T-세포 아포프토시스를 유도하여 염증 반응을 조절한다는 사실은 좋은 예이며 T-세포에서의 Fas/FasL 체계의 이상으로 아포프토시스가 억제되어 자가면역질환이 발생한다는 사실은 주지의 사실이다.

호중구는 혈관을 벗어나 염증 병소에 가장 먼저 동원되는 염증세포로서 COPD 병태생리에 있어서도 중심적인 역할을 하는 세포이다. 호중구는 화학주성 경사를 조성하여 염증을 증폭시키고 조직을 손상시키지만 생리학적 수명은 매우 짧아서 순환 호중구의 경우 반감기는 6시간에 지나지 않는다고 알려져 있다¹⁶. 최근까지만 해도 혈관을 벗어난 호중구를 비롯한 과립구 (granulocytes)는 염증병소에서 분해 및 파괴되어 괴사의 길을 걷는다고 믿어져 왔다. 이런 식이라면 모든 염증 반응은 조직 손상을 유도하여 해가 되는 방향으로만 역할을 할 것이다. 그러나 염증 반응의 기본적인 합목적성은 조직을 보호하여 항상성을 유지하는데 있는 것이므로 호중구가 수명을 다하고 사라지는 또 다른 길이 있으리라 쉽게 예측되며 이 길이 아포프토시스라는 것이다. 염증반응 유도에 중요한 역할을 하는 TNF- α , lipopolysaccharide (LPS), GM-CSF 등은 호중구의 아포프토시스를 억제하여 그 생존을 증가시키는 것으로 알려져 있다¹⁷. 또한 아포프토시스의 길을 걷게 되면 호중구는 그 독성기능이 현저히 저하되는 것으로 알려져 있고 그 기전으로는 확실치 않지만 fMLP 수용체, IgG receptor FcR III, CD16 등의 소실에 의한 것이라고 보고되고 있다^{18,19}. 그리고 CD16, L-selectin, p55 및 p75 TNF 수용체, CD43 등 호중구 활성화와 관련된 세포표면 수용체들의 뚜렷한 감소도 유도된다¹⁹. 따라서 아포프토시스에 의해 결정되는 호중구의 수명은 염증 반응의 결과를 조직을 보호하는 방향으로 유도할 것인가 아니면 손상시키는 쪽으로 결정될 것인가를 결정하는 중요한 인자가 된다.

호중구의 아포프토시스가 어떠한 기전으로 유도되는지에 대해서는 아직 밝혀지지 않은 부분이 많다.

*In Vitro*에서 agonistic anti-Fas antibody가 호중구의 아포프토시스를 유도하고 *in vivo*에서 Fas ligand가 아포프토시스를 유발한다는 보고가 있다. 대부분의 화학주성인자는 세포내 calcium을 증가시킴으로써 아포프토시스를 억제하며²⁰, cAMP를 증가시키는 약제들은 protein kinase A (PKA)를 통하여 호중구 아포프토시스를 억제한다고 알려져 있다²¹. Bcl-2는 호중구 아포프토시스를 억제하는 세포내 단백질이며, 저산소증이 발생하면 호중구의 아포프토시스는 억제된다²². 그러나 아직 호중구의 아포프토시스를 결정하는 주요 기전에 대해서는 아직 밝혀져 있지 않은 부분이 많은 실정이다.

이와 관련되어 임상적으로 중요한 의미를 갖는 것은 부신피질호르몬제(glucocorticoids)가 호중구의 아포프토시스를 억제한다는 사실로서 화농성 염증에서 부신피질호르몬제에 급기인 이유를 여기에서 찾을 수 있겠다. 반면 부신피질호르몬제에는 림프구와 호산구에서는 아포프토시스를 유도하는 작용을 갖는데²³, 천식과 같이 호산구나 림프구가 주된 염증세포로 작용하는 질환에서 매우 효과적인 작용을 한다는 사실은 이를 뒷바침하는 좋은 예라 할 수 있겠다. 그러나 왜 이러한 상반된 효과가 발생하는지에 대해서는 아직 확실한 기전이 밝혀지지 않고 있다.

2. 호중구 아포프토시스와 대식세포의 청소 기전

(Neutrophil apoptosis and clearance mechanisms by macrophages)

아포프토시스는 대식세포가 식작용에 의한 청소를 수행함으로써 완성된다. 그럼으로써 세포내용물의 유출을 방지하여 아포프토시스의 합목적성인 조직손상을 유도하지 않고 조용히 사라지게 되는 것이다. 따라서 호중구의 아포프토시스 유도와 더불어 아포프토시스에 빠진 호중구를 대식세포가 적절히 청소하는가는 염증 반응을 해소하는데 매우 중요한 의미를 갖는다.

아포프토시스에 빠진 호중구를 대식세포가 인식하는 기전은 아직 확실히 밝혀져 있지 않지만 *vitro*-

nectin 수용체 $\alpha v\beta 3$ 와 thrombospondin 수용체 CD36, phosphatidylserine residue 등이 관여한다고 보고되고 있다²⁴. 그리고 양이온 분자(cationic molecules)와 낮은 pH에 의해 억제된다는 보고가 있는데¹⁶, 천식과 염증 질환에서 세포외로 분출된 많은 염증성 효소들이 양이온을 띠고 농양과 같은 만성 염증 병소에서 pH가 감소하여 대식세포에 의한 청소를 억제한다는 설명은 임상적으로도 설득력이 있다. 대식세포가 아포프토시스에 빠진 호중구를 탐식하게 되면 대식세포 자체가 갖고 있는 TNF, IL-1 β , IL-8, GM-CSF 등의 염증 유도 자극에 대한 반응력이 소실될 뿐만 아니라 TGF- β 와 prostaglandin E2 (PGE2) 등의 억제성 물질을 유도하는 것으로 보고되고 있다²⁵.

모든 호중구가 아포프토시스에 의해 제거되는 것만은 아니다. 일부의 호중구는 괴사(necrosis)에 의해 심한 조직 손상을 유도하는데 아포프토시스와 괴사 사이의 균형에 의해 조직 보호 혹은 손상의 결과가 초래된다. 아포프토시스에 빠진 호중구도 때로는 제3의 길을 걷는 수가 있다. 이를 "이차성" 괴사라고 하는데 이는 대식세포의 청소 기전에 장애가 있을 때 세포 사멸의 운명이 결정된 세포가 아포프토시스에서 괴사 쪽으로 방향을 전환하여 사멸되는 것이다. 이 경우도 괴사와 마찬가지로 염증 반응을 촉진시켜 조직 손상의 결과를 초래한다. 대식세포의 청소기전에 장애가 발생하는 경우는 첫째, 단핵구가 대식세포로 충분히 성숙할 수 있는 시간적인 여유가 없거나, 둘째, 과도한 아포프토시스가 발생하여 대식세포 청소능이 포화 상태에 이른 경우, 셋째, 양이온을 띤 단백질, pH의 저하, 자가항체 등에 의해 대식세포의 아포프토시스에 빠진 호중구 인식능이 저하되어 있을 때 등이다¹⁶. 이는 바꾸어 말하면 호중구의 아포프토시스 뿐만 아니라 이를 청소하는 대식세포의 능력 역시 염증 반응의 최종 결과를 결정하는 중요한 인자라는 점이다. 이러한 대식세포의 청소능을 증가시키는 것은 염증성 질환을 치료할 수 있는 새로운 전략을 제공할 수 있는데 대식세포 내의 cAMP 수준, 부신피질호르몬제, 대식세포 표면의 CD44에 대한 매워자 등이 대식세포의 청

소능을 향진시킨다고 알려져 있으며 섬유세포가 semiprofessional한 대식세포의 기능을 한다는 점에서 이들을 이용한 새로운 전략을 세울 수 있다고 생각된다²⁶⁻²⁸.

3. 흡연이 염증세포의 아포프토시스에 미치는 영향 (Effects of cigarette smoking on apoptosis of inflammatory cells)

COPD가 호중구를 중심으로 하는 만성염증성 기도질환이라는 점에서 염증 반응과 아포프토시스에 대해 일반적인 사실들을 기술하여 보았다. 그러나 아직 임상적 의미를 근거로 한 COPD에 특이적인 염증세포의 아포프토시스에 관련된 연구 보고는 거의 없는 실정이다. 아포프토시스 측면에서 COPD의 만성 지속적 염증 반응을 이해한다면 흡연은 염증세포 특히 호중구의 아포프토시스를 억제할 것으로 기대할 수 있다. 실제로 흡연의 주요 성분인 nicotine이 호중구의 아포프토시스를 억제한다는 보고가 있다²⁹. 또한 정상인과 흡연자의 림프구를 추출하여 Fas/FasL 발현 유도를 확인한 결과 흡연자에서 mitogen에 대한 유도 발현이 흡연자에서 비정상적으로 나타난다는 보고가 있다³⁰. 그러나 천식 환자의 기도에서 분리된 림프구에서 Fas 발현이 저하되어 지속적인 염증반응을 유도한다는 것과 같이 보다 직접적인 아포프토시스 관련 증거는 아직 COPD에서 보고되고 있지는 않는 실정이며 이에 대해서는 연구할 가치가 충분히 있다고 생각된다.

대식세포에 미치는 영향에 대해서는 흡연은 일관성 있게 단핵구 혹은 대식세포의 아포프토시스를 유도한다고 보고되고 있다³¹. 모두 *in vitro* 결과라는 점에서 임상적 의미를 결론 내리기에는 서두른 감이 있지만 위에서 기술한 바와 같이 대식세포의 아포프토시스 청소능이 염증반응의 해소 혹은 악화를 결정하는 중요한 인자라는 점에서 흡연이 대식세포의 아포프토시스를 유도한다는 사실은 대식세포의 청소능을 저하시켜 호중구의 “이차성” 괴사를 증가시키는 결과를 초래하여 염증 반응을 악화시킬 수 있다는 설명이 가능하다.

그러나 흡연자에게서 기관지폐포세척을 시행하여 관찰되는 전반적인 염증세포의 증가 그 중에서도 대식세포의 절대적 숫자의 증가를 어떻게 설명해야 할지 이에 대해서는 추후 연구가 필요하다고 생각된다.

말초혈액단핵구를 이용한 실험에서 흡연추출물(cigarette smoke extract ; CSE)은 아포프토시스를 유도한다고 보고하고 있고 CSE 농도에 따라 저농도에서는 아포프토시스를 유도하고 고농도에서는 괴사를 유도한다는 보고도 있다. CSE는 스트레스 단백질인 HSP70의 발현을 유도하는데 이는 CSE-유도성 세포사멸을 차단하지 못한다고 알려져 있다³². 또한 CSE는 미토콘드리아 막 전압(mitochondrial membrane potential)의 탈분극을 유도하고 이는 항산화제에 의해 차단되는 효과를 보이므로 CSE-유도성 세포사멸에 미토콘드리아가 중요한 역할을 할 것으로 추정된다³³. CSE에 의한 세포사멸이 아포프토시스와 괴사 두가지 형태가 모두 가능한데 이를 결정하는 요소는 세포내 ATP 상태에 의해 결정된다는 보고도 있다.

4. 폐포중격세포의 아포프토시스 : 폐기종 병태생리의 새로운 이론(Apoptosis in alveolar septal cells ; a new theory in COPD pathogenesis)

폐기종 병태생리를 설명하는데 있어서 주된 관점은 세포외기질의 소실 기전이 무엇인가에 있어 왔다. 반면 폐포벽을 구성하는 세포 성분인 폐포상피세포와 혈관 내피세포의 운명이 어떻게 되느냐에 대해서는 주목을 받지 못하였다. 세포외기질이 소실됨에 따라 이차적으로 자동 소실되는 것이 아닌가 혹은 흡연의 산화제에 의한 상피세포의 손상의 결과로 소실되는 것이 아닌가 등의 막연한 설명만이 있어 왔다. 최근 폐기종에서 발생하는 이들 폐포중격세포들의 소실을 아포프토시스 기전으로 설명하는 새로운 가설이 제시되어 이를 소개하고자 한다.

1) VEGF 수용체 억제에 의한 폐포중격세포의 아포프토시스(Inhibition of VEGF receptors causes

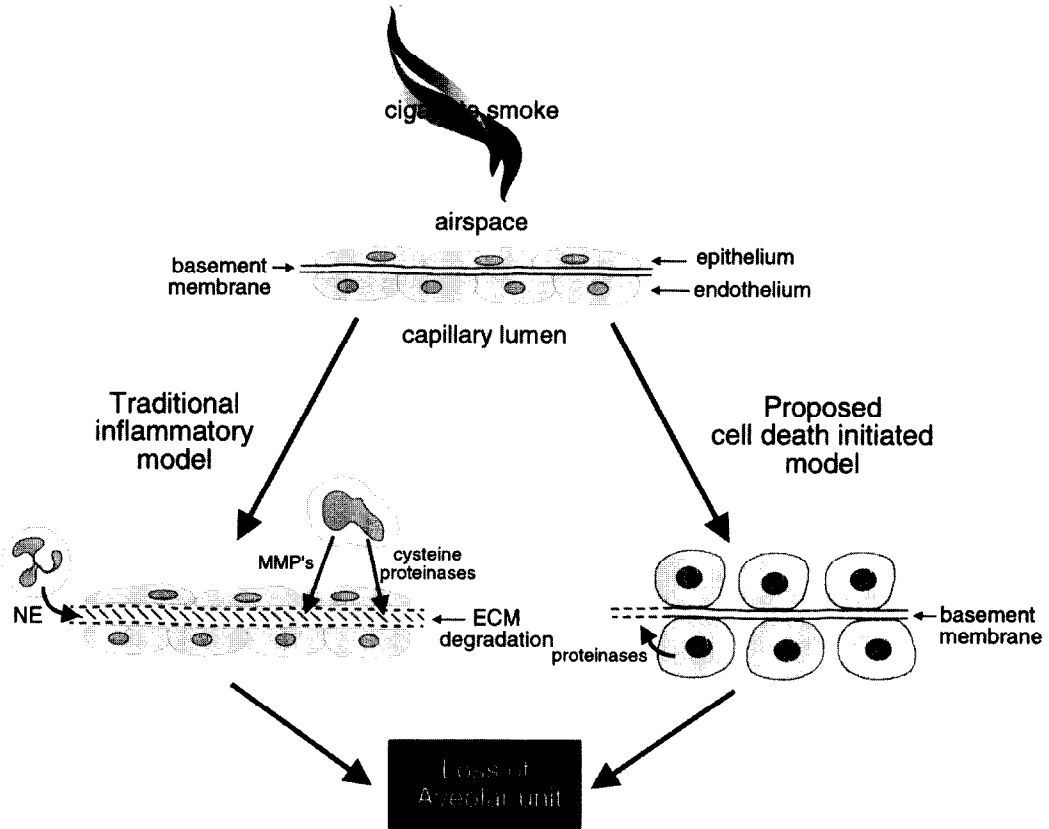


Fig. 3. Mechanisms of airspace enlargement in pulmonary emphysema. The traditional inflammatory cell hypothesis stipulates that cigarette smoke results in accumulation of inflammatory cells that release proteinases (neutrophil elastase [NE], macrophage elastase [MMP-12], and cysteine proteinases) disrupting extracellular matrix and basement membrane. Loss of cell-matrix attachment leads to apoptosis with loss of the entire alveolar unit. Proposed here is an alternative hypothesis whereby cell death is the primary stimulus with subsequent loss of matrix components resulting in loss of the alveolar unit. (*From J Clin Invest* 2000;106:1309-1310)

lung cell apoptosis and emphysema)

만성기관지염과는 달리 폐기종에서는 저산소혈증이 잘 발생하지 않고 따라서 폐고혈압과 폐성심이 잘 동반되지 않는다는 사실은 이미 오래 전부터 알려져 왔다. 그 이유로는 만성기관지염에서는 환기-관류의 불균형이 발생하지만 폐기종에서는 침범된 폐포의 모세혈관도 같이 파괴되므로 폐단락이 발생하지 않기 때

문이라고 설명되어 왔다. 즉 폐기종에서 폐혈관 소실이 발생한다는 사실은 1950년대 Liebow에 의해 폐기종에 대한 혈관 위축 모델(Vascular Atrophy Model for Emphysema) 가설로서 이미 제시되어 있었다³⁴. 이러한 구 가설은 최근 Tudor 등이 VEGFR-2 억제제로서 백서 모델에서 혈관내피세포와 상피세포의 아포프토시스를 유도하고 뒤 이어 폐기종이 발생한다는 사실을 보고하면서 새롭게 재조명

되고 있다^{35, 36}. 전통적으로 흡연에 의해 활성화된 proteases에 의해 기저막 등의 폐포 지지 구조 물질이 파괴되고 이에 의해 주변의 혈관내피세포와 폐포 상피세포가 이차적으로 세포사멸 된다고 믿어져 왔으나 여기에서는 그 순서를 뒤집어 버린 결과가 되어 세포성분이 먼저 아포프토시스에 의해 사라지고 뒤이어 세포의 기질단백질들이 소실된다는 새로운 가설을 제창한 것이다(Fig. 3). 물론 이 이론에는 아직 해결해야 할 부분이 많이 남아 있으나 그동안 담보 상태에 있는 COPD 병태생리에 관한 연구에 새로운 활력을 불어 넣은 것만은 틀림이 없다.

2) 흡연추출물-유도성 폐상피세포의 아포프토시스 (Cigarette smoke extract (CSE)-induced apoptosis in lung epithelial cells)

폐기종 발생과정에서 폐상피세포가 어떻게 사라지는가 라는 명제에 대해 사람들은 주목하지 않아 왔다. 기질단백질들이 소실되면서 이에 부착되어 있는 상피세포가 자연 탈락될 것이라는 설명과 활성화된 염증세포들이 유리하는 산소유리기와 단백질분해효소들에 의해 손상을 받아 사라지리라는 추론이 가능하지만 구체적인 세부기전에 대해서는 연구가 없는 실정이다. 이러한 폐상피세포의 소실은 형태는 세포사멸의 과정이고 구체적으로는 아포프토시스라는 형태일 것이라는 것은 쉽게 이해할 수 있을 것이다. 실제로 COPD 폐조직에서 TUNEL을 이용하여 조사한 결과 폐상피세포에서 양성 결과가 나온다는 보고도 있다³⁷. 그러나 폐상피세포의 아포프토시스를 조절하는 분자적 기전을 연구한 보고는 없는 실정이다. 더욱이 폐상피세포에서 아포프토시스가 발생한다고 하더라도 폐기종 병태생리에서 차지하는 중요성에 대해서는 아직 의문이 있다. 즉 염증 반응에 동반되어 수반되는 이차적인 결과일 뿐이지 최종결과를 유도하는 결정적인 과정이 아닐 수도 있다는 점에서 그렇다. 그럼에도 불구하고 폐상피세포의 아포프토시스를 규명하는 것은 폐기종 병태생리를 완전히 이해하는데 충분한 연구의 가치가 있다

고 생각된다.

흡연에 의해 발생하는 폐상피세포의 아포프토시스는 두 가지에 의해 유도된다고 생각할 수 있다. 하나는 염증세포의 활성화에 의해 발생하는 세포독성 물질들에 의해 세포 손상이 발생하여 그 결과로 아포프토시스가 발생한다는 가정이고, 다른 하나는 흡연 자체의 산화제들에 의해 폐상피세포가 직접적으로 아포프토시스에 빠진다는 가정이다. 담배 연기에는 10^{16} - 10^{17} oxidant molecules per puff가 존재한다고 알려져 있다. 산화제가 아포프토시스를 유도하는 중요한 자극의 하나임은 잘 밝혀져 있다. 담배 연기는 가스 분획(gas phase)과 미립 분획(particulate phase)으로 대별되는데, 가스 분획의 산화제들은 반감기가 매우 짧아 epithelial lining fluid (ELF)에서 쉽게 소멸되는데 반해 미립 분획은 ELF에서 상당한 시간동안 안정성을 유지하면서 산소유리기를 발생시키는 것으로 알려져 있다³⁸. 이러한 배경에서 저자는 담배 연기의 미립 분획을 추출하여 폐상피세포의 세포독성 여부와 아포프토시스를 유도하는지 그리고 이에 관련된 주요 신호전달체계가 무엇인지를 조사하여 보았다.

A549 및 BEAS-2B 폐상피세포주를 이용하여 CSE에 의한 세포독성을 확인한 결과 MTT assay로 CSE 첨가 48시간 후에 측정된 결과 10% 농도에서 약 50%, 20% CSE 농도에서 80% 이상의 세포독성이 관찰되었다³⁹. 아포프토시스 시에 관찰되는 DNA 분절을 확인하기 위하여 propidium iodide (PI) 염색 후 FACscan을 시행한 결과 농도에 따라 DNA 분절에 의해 나타나는 SubG1 fraction이 증가하는 결과를 보여 세포사멸의 형태가 아포프토시스임을 확인할 수 있었다. CSE에 의한 세포독성은 N-acetylcysteine에 의해 완전 차단되는 효과를 보였고 dexamethasone, captopril, L-NAME 등 다른 약제는 아무런 영향을 미치지 않았다. Bcl-2를 과발현 시킨 A549-bcl-2 세포주와 대조 세포주인 A549-neo 세포주에서 CSE에 의한 세포독성을 비교한 결과 bcl-2에 의해 억제되는 결과를 보여 CSE-유도성 폐상피세포의 아포프토시스에 미토콘드리아 경로가 중요한 역

할을 하리라고 생각된다. 한편 pan-caspase 억제제인 ZVAD-fmk는 CSE의 세포독성을 차단하지 못하는 결과를 보였는데 이 것이 caspase-independent 아포프토시스를 의미하는지 아니면 괴사의 형태가 존재하는지에 대해서는 현재 연구를 진행 중이다. Western blot을 이용하여 확인한 결과 CSE는 p53을 활성화시킨다는 사실을 확인하였고, 이어 시행한 human papilloma virus E6 (HPV-E6) 단백질 과발현에 의한 p53 knock-out 세포주를 이용한 실험에서 A549-E6 세포주에서는 CSE에 의한 세포독성이 의미있게 차단된다는 사실에서 p53 의존성 경로가 중요한 역할을 할 것이라는 결과를 얻었다.

이러한 in vitro에서의 CSE에 의한 아포프토시스 유도가 실제로 in vivo에서 발생하는지 그리고 이 결과를 바로 연계하여 폐기종 병태생리를 설명하는 이론으로 발전시킬 수 있을 지는 아직 해결해야 할 점이 많다. 이를 위해서는 흡연에 의한 폐기종 동물 모델을 이용하여 좀 더 발전시켜 연구할 가치가 있다고 사료된다.

향후 전망

약 10년 전부터 활발하게 전개되어 최근 급속한 발전을 이룩한 아포프토시스에 대한 연구는 많은 질병의 병태생리를 이해하는 새로운 가설을 도출해내고 혁신적 치료법의 새로운 길을 열어 놓았다. COPD도 예외는 아니어서 고착되어 있는 병태생리의 연구에 활력을 불어 넣고 있다. 그러나 염증세포의 경우는 아포프토시스가 억제되고 폐포중격세포들은 아포프토시스가 항진된다는 분획(compartment)에 따라 상반된 결과를 유도한다는 쟁점을 어떻게 통합하여 설명할 수 있겠는가, 아포프토시스가 발생하는 것은 자명하지만 그 병태생리학적 중요성이 얼마나 중요한 것인가, 그리고 흡연에 의한 아포프토시스가 직접적인 역할을 하는가 아니면 염증세포를 동원하여 발생하는 이차적인 결과인가 등의 여러 문제 등에 대해서 향후 부단한 연구가 이루어져야 한다고 생각된다.

참 고 문 헌

1. Centers for Disease Control and Prevention. Current estimates from the National Health Interview Survey, 1995. Vital and health statistics. Washington, D.C.: Government Printing Office, 1996. (DHHS publication no. (PHS) 96-1527.)
2. American Thoracic Society. Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med 1995;152:S77-S121.
3. Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. Science 1995;267:1456-61
4. Rudin CM, Thompson CB. Apoptosis and disease: regulation and clinical relevance of programmed cell death. Ann Rev Med 1997;48:267-81
5. Silverman EK, Chapman HA, Drazen JM, et al. Genetic epidemiology of severe, early-onset chronic obstructive pulmonary disease: risk to relatives for airflow obstruction and chronic bronchitis. Am J Respir Crit Care Med 1998;157:1770-8.
6. The International SNP Map Working Group. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. Nature 2001;409:928-33
7. Stockley RA. Neutrophils and protease/antiprotease imbalance. Am J Respir Crit Care Med 1999;160:S49-S52.
8. Hautamaki RD, Kobayashi DK, Senior RM, Shapiro SD. Requirement for macrophage elastase for cigarette smoke-induced emphysema in mice. Science 1997;277:2002-4.
9. Church T, Pryor WA. Free-radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. Environ Health Perspect 1985;64:111-26

10. Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-(kappa)B - a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 1997;336:1066-71.
11. Saetta M. Airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Dis Crit Care Med* 1999;160:S17-S20
12. Kemeny DM, Beejal V, Milica V-S, Mattheu JT, Noble A, Loh L-C, O'connor BJ. CD8+T cell subsets and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:S33-S37
13. Rennard SI. Inflammation and repair processes in chronic obstructive pulmonary diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:S12-S16
14. Hill AT, Bayley D, Stockley RA. The interrelationship of sputum inflammatory markers in patients with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:893-8.
15. Massaro G, Massaro D. Retinoic acid treatment abrogates elastase-induced pulmonary emphysema in rats. *Nat Med* 1997;3:675-7
16. Haslett C. Granulocyte apoptosis and its role in the resolution and control of lung inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:S5-S11
17. Lee A, Whyte MKB, Haslett C. Prolonged in vitro life-span and functional longevity of neutrophils induced by inflammatory mediators acting through inhibition of apoptosis. *J Leukocyte Biol* 1993;54:283-8
18. Meagher, L. C., J. S. Savill, A. Baker, and C. Haslett. Phagocytosis of apoptotic neutrophils does not induce macrophage release of thromboxane B₂. *J Leukocyte Biol* 1992;52:269-73
19. Dransfield, I., S. C. Stocks, and C. Haslett. Regulation of cell adhesion molecule expression and function associated with neutrophil apoptosis. *Blood* 1995;85:3264-73
20. Whyte, M. K. B., L. C. Meagher, S. J. Hardwick, J. S. Savill, and C. Haslett. Transient elevations of cytosolic free calcium retard subsequent apoptosis in neutrophils in vitro. *J Clin Invest* 1993;92:446-55
21. Rossi, A. G., J. M. Cousin, I. Dransfield, M. F. Lawson, E. R. Chilvers, and C. Haslett. Agents that elevate cAMP inhibit human neutrophil apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;217: 892-9
22. Delia, D., A. Aiello, D. Soligo, E. Fontanella, C. Melani, F. Pezzella, M. A. Pierolli, G. Delia, and Porta. bcl-2 proto-oncogene expression in normal and neoplastic human myeloid cells. *Blood* 1992;79:1291-8
23. Wooley, K. L., P. G. Gibson, K. Carty, A. J. Wilson, S. H. Twaddell, and M. J. Wooley. Eosinophil apoptosis and the resolution of airway inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:237-43
24. Savill, J. S., N. Hogg, and C. Haslett. Thrombospondin co-operates with CD36 and the vitronectin receptor in macrophage recognition of aged neutrophils. *J Clin Invest* 1992;90:1513-29
25. Fadok, V. A., D. L. Bratton, A. Konowal, P. W. Freed, J. Y. Westcott, and P. M. Henson. Macrophages that have ingested apoptotic cells in vitro inhibit proinflammatory cytokine production through autocrine/paracrine mechanisms involving TGF- β , PGE₂ and PAF. *J Clin Invest* 1998;90:1513-22
26. Liu, Y., J. M. Cousin, J. Hughes, J. van Damme, J. R. Seckl, C. Haslett, I. Dransfield, J. Savill, and A. G. Rossi. Glucocorticoids promote non-phlogistic phagocytosis of apoptotic leukocytes. *J*

- Immunol 1999;162:3639-46
27. Hart, S. P., G. J. Dougherty, C. Haslett, and I. Dransfield. CD44 regulates phagocytosis of apoptotic neutrophil granulocytes, but not apoptotic lymphocytes, by human macrophages. *J Immunol* 1974;159:919-25
28. Hall, S., J. Savill, P. Henson, and C. Haslett. Apoptotic neutrophils are phagocytosed by fibroblasts with participation of the fibroblast vitronectin receptor and involvement of a mannose/fucose-specific lectin. *J Immunol* 1994;153:3218-27
29. Aoshiba K, Nagai A, Yasui S, Konno K. Nicotine prolongs neutrophil survival by suppressing apoptosis. *J Lab Clin Med* 1996;127:186-94
30. Suzuki N, Wakisaka S, Takeba Y, Mihara S, Sakane T. Effects of cigarette smoking on Fas/Fas ligand expression of human lymphocytes. *Cell Immunol* 1999;192:48-53
31. Aoshiba K, Yasui S, Nagai A. Apoptosis of alveolar macrophages by cigarette smoke. 2000; 117;S320
32. Vayssier M, Banzet N, Francis D, Bellmann K, Polla BS. Tobacco smoke induces both apoptosis and necrosis in mammalian cells: differential effects of HSP70. *Am J Physiol* 1998;275:L771-L779
33. Banzet N, Francis D, Polla BS. Tobacco smoke induces mitochondrial depolarization along with cell death: effects of antioxidants. *Redox Rep* 1999;4:229-36
34. Liebow A. Pulmonary emphysema with special emphasis to vascular changes. *Am Rev Respir Dis* 1959;80:67-93
35. Kasahara Y, Tuder RM, Taraserviviene-Stewart L, Le Cras TD, Abman S, Hirth PK, Waltenberger J, Voelkel NF. Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. *J Clin Invest* 2000;106:1311-9
36. Tuder RM, Wood K, Taraserviviene L, Flores SC, Voelkel NF. Cigarette smoke extract decreases the expression of vascular endothelial growth factor by cultured cells and triggers apoptosis of pulmonary endothelial cells. *Chest* 2000;117: S241-S242
37. Segura-Valdez L, Pardo A, Gaxiola M, Uhal BD, Becerril C, Selman M. Upregulation of gelatinases A and B, collagenases 1 and 2, and increased parenchymal cell death in COPD. *Chest* 2000; 117:684-94
38. McNee W, Rahman I. Oxidants and antioxidants as therapeutic targets in chronic obstructive pulmonary diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:S58-S65
39. Choi EK, Lee KY. Cigarette smoke extract (CSE)-induced apoptosis in lung epithelial cells. (unpublished data)