

미세먼지 노출이 안구조직과 경부림프절에서 NLRP3 인플라마솜 발현에 미치는 효과

Effect of Particulate Matter on the NLRP3 Inflammasomes in Ocular Tissues and Cervical Lymph Nodes

강수연 · 강보람 · 김효명 · 송종석

Su-Yeon Kang, MD, PhD, Boram Kang, MS, Hyo Myung Kim, MD, PhD, Jong-Suk Song, MD, PhD

고려대학교 의과대학 안과학교실

Department of Ophthalmology, Korea University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: To evaluate changes of the NLRP3 inflammasome complex and proinflammatory cytokine interleukin (IL)-1 β in ocular tissues and cervical lymph nodes when the ocular surface was exposed to particulate matter.

Methods: Five-week-old Sprague Dawley male rats, each weighing 250–300 g, were used in this study. The rats were randomly divided into two groups involving the TiO₂-exposed group (n = 12) and control group (n = 12). Rats in the TiO₂-exposed group were exposed to airborne TiO₂ microparticles in the exposure chamber twice daily for 2 hours for 5 days. The mean particulate matter (PM) 10 concentration in the exposure chamber was 331 \pm 83 μ g/m³. The score of corneal fluorescein staining for evaluating ocular surface damage and the size of cervical lymph nodes for evaluating the immune response in the lymphatic drainage pathway were measured. The expression of the nucleotide-binding domain leucine-rich repeats, pyrin domain-containing 3 (NLRP3) inflammasome complex (NLRP3, apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase activation and recruitment domain (CARD) domain [ASC], and caspase-1) and IL-1 β was quantitatively evaluated.

Results: In the TiO₂-exposed group, the mean corneal stain score was significantly increased compared to that of the control group (p = 0.002), and the size of the cervical lymph nodes in the TiO₂-exposed group was greater than that of the control group (p = 0.004). The expression of NLRP3 and ASC was significantly increased in the corneo-conjunctival tissue and cervical lymph nodes after TiO₂ exposure (both, p = 0.037). Inactive precursor forms of caspase-1 and IL-1 β were decreased, but active forms of caspase-1 and IL-1 β were increased after TiO₂ exposure (both, p = 0.037).

Conclusions: When the ocular surface was exposed to ambient particulate matter, the signal pathway of the NLRP3 inflammasome complex was activated, resulting in increased expression of the proinflammatory cytokine, IL-1 β . The results suggested that the NLRP3 inflammasome complex was involved in the pathogenesis of ocular surface inflammation caused by exposure to particulate matter.

J Korean Ophthalmol Soc 2018;59(2):130-136

Keywords: Dry eye, IL-1 β , NLRP3 inflammasome, Particulate matter

■ Received: 2017. 8. 31.

■ Revised: 2017. 9. 29.

■ Accepted: 2018. 1. 22.

■ Address reprint requests to **Jong-Suk Song, MD, PhD**
Department of Ophthalmology, Korea University Guro Hospital,
#148 Gurodong-ro, Guro-gu, Seoul 08308, Korea
Tel: 82-2-2626-1277, Fax: 82-2-857-8580
E-mail: crisim@korea.ac.kr

* This study was presented as a narration at the 115th Annual Meeting of the Korea Ophthalmological Society 2016.

* This study was supported in part by Alumni of Department of Ophthalmology, Korea University College of Medicine.

* Conflicts of Interest: The authors have no conflicts to disclose.

우리나라 대기오염과 관련하여 최근 가장 문제가 되는 것은 미세먼지이다. 미세먼지는 일반적으로 미세먼지 입자의 크기에 따라 분류하는데 10 μ m 이하의 미세먼지를 PM10으로 그보다 적은 2.5 μ m 이하의 미세먼지는 PM2.5로 정의하고 있다. 이러한 미세먼지에 노출되는 경우 호흡기질환은 물론 심혈관계질환을 유발하며 사망률도 증가시키는 것으로 보고되고 있다.¹⁻³ 미세먼지는 호흡기를 통해 인체로 들어오는 것만 주로 생각하지만 안구표면도 미세먼

© 2018 The Korean Ophthalmological Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

지에 노출되는 점막조직으로 반복해서 노출되는 경우 안구 표면의 손상과 함께 염증반응을 유발하게 된다.^{4,6}

Nucleotide-binding domain leucine-rich repeats, pyrin domain-containing 3 (NLRP3)는 유형인식수용체(pattern recognition receptor)와 연관된 신호전달체계에서 중요한 역할을 하는 물질로 선천면역반응에 관여한다.⁷ 감염이나 손상에 의해 NLRP3가 활성화되면 apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase activation and recruitment domain (CARD) domain (ASC)과 결합하게 되고, 그 다음 불활성 상태의 caspase-1 전구체와 결합하여 NLRP3 인플라마좀을 형성하게 된다. 그 후 caspase-1 전구체는 활성화되어 불활성 상태의 IL-1 β 전구체를 분해하여 활성화시키며 세포에서 분비된 IL-1 β 는 급성염증반응을 일으키게 된다.^{8,9}

건설안 동물모델에서 NLRP3 인플라마좀 발현이 증가하고 활성화된 IL-1 β 가 증가하는 것으로 보고되었고 건설안 환자의 눈물에서도 IL-1 β 의 농도가 증가하는 것으로 알려져 있다.^{10,11} 따라서 본 연구에서는 안구표면에 미세먼지에 노출되었을 때 NLRP3 인플라마좀 복합체가 염증반응에 관여하는지 알아보고자 안구조직과 함께 경부 림프절에서 NLRP3 인플라마좀 복합체와 염증 사이토카인인 IL-1 β 의 발현이 어떻게 변화하는지 알아보고자 하였다.

대상과 방법

5주된 Sprague-Dawley 수컷 쥐(무게, 250-300 g) 24마리를 대상으로 하였다. 쥐는 무작위로 티타늄디옥사이드 마이크로입자에 노출시킨 실험군(n=12)과 정상 대조군(n=12)으로 나누어 진행하였다. 모든 실험 과정은 the Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) 동물실험 규정을 준수하였다. 전신마취는 염산 싸이라진(Rompun 2%, Bayer, Leverkusen, Germany)과 졸레틸(Virbac Laboratories, Carros, France)을 근육 주사하여 각막염색이나 안락사 전 시행하였다.

티타늄디옥사이드 마이크로입자 노출

미세먼지를 대기에서 노출할 수 있도록 특수 제작된 챔버를 이용하여 티타늄디옥사이드 마이크로입자를 안구표면에 노출시켰다. 티타늄디옥사이드 마이크로입자(평균 직경, 1.0-2.0 μ m)는 독일의 Johnson Matthey 회사에서 구입하였고 노출 농도를 조절하여 MetOne831 Aerosol Mass Monitor (Met One, Grants Pass, OR, USA)로 측정한 PM10의 농도가 평균 $331 \pm 83 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 가 되는 환경에서 쥐를 5일간 하루 2시간씩 2회 노출시켰다. PM10 농도가 $331 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 인 환경에 하루에 4시간 노출시키는 것은 하루 평균 PM10 농도

가 대략 $55 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 로 이 수치는 World Health Organization (WHO)에서 하루 평균 권고기준인 $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 와 유사한 수치이며, 실제로 우리나라에서 안내하는 미세먼지의 나쁨 상태는 미세먼지 PM10 기준으로 $80 \mu\text{g}/\text{m}^3$ 이상일 때로 실제 우리가 일상생활에서 노출될 수 있는 정도의 미세먼지 농도이다.

각막형광염색

마지막 티타늄디옥사이드 노출 24시간 후 전신마취를 시킨 상태에서 각막형광염색 점수를 양쪽 각막에서 National Eye Institute (NEI) 평가 기준에 따라 점수를 매기고 양쪽 눈의 평균값을 이용하여 통계분석을 시행하였다. 시행 방법은 상품화된 형광염색 종이(Haag-Streit, Bern, Switzerland)에 5 μ L의 생리식염수를 묻힌 후 쥐의 위눈꺼풀을 찢히고 형광염색액을 안구결막에 묻힌 뒤 쥐의 눈을 5회 손으로 꾀막거리게 한 후 휴대용 세극등현미경을 이용하여 각막염색점수를 평가하였다.

경부림프절 적출 및 크기 측정

실험군 6마리와 대조군 6마리를 마취한 후 이산화탄소 챔버에서 안락사시킨 후 경부림프절을 통해 경부 림프절을 노출시켰다. 좌우 경부 림프절 중 가장 큰 림프절을 절제하여 사진을 찍은 후 ImageJ 프로그램(1.4u; <http://rsb.info.nih.gov/ij/>; provided in the public domain by the National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA)을 이용하여 림프절 면적을 측정 후 대조군에 비해 실험군에서 림프절의 크기가 얼마나 증가했는지 평가하였다.

NLRP3 인플라마좀 복합체의 발현

각결막 안구조직에서 NLRP3 인플라마좀 복합체의 발현을 정량적으로 평가하기 위해 쥐의 양쪽안구의 전안부를 절제한 후 단백질을 분해효소 억제제가 들어있는 T-per tissue protein extraction reagent (Thermo Scientific, Rockford, IL, USA)에 넣어 균질화시킨 후 추출액을 이용하여(n=3 for each group) NLRP3, ASC, pre-caspase-1/caspase-1, preIL-1 β /IL-1 β 에 대한 western blot 분석을 시행하였다. 또한 경부림프절에서의 변화를 평가하기 위해 절제한 경부림프절을 균질화시킨 후 NLRP3 인플라마좀 복합체 각각에 대한 western blot 분석을 시행하였다. 일차항체는 상품화되어 있는 제품을 구입하였으며 각각의 희석배수와 구입처는 다음과 같다: NLRP3 (1:1,000, NBP2-12446, Novus Biologicals, Littleton, CO, USA), ASC (1:1,000, sc-22514-R, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA), Caspase-1 (1:1,000, sc-514, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA), IL-1 β (1:1,000, sc-7884, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA), β -actin

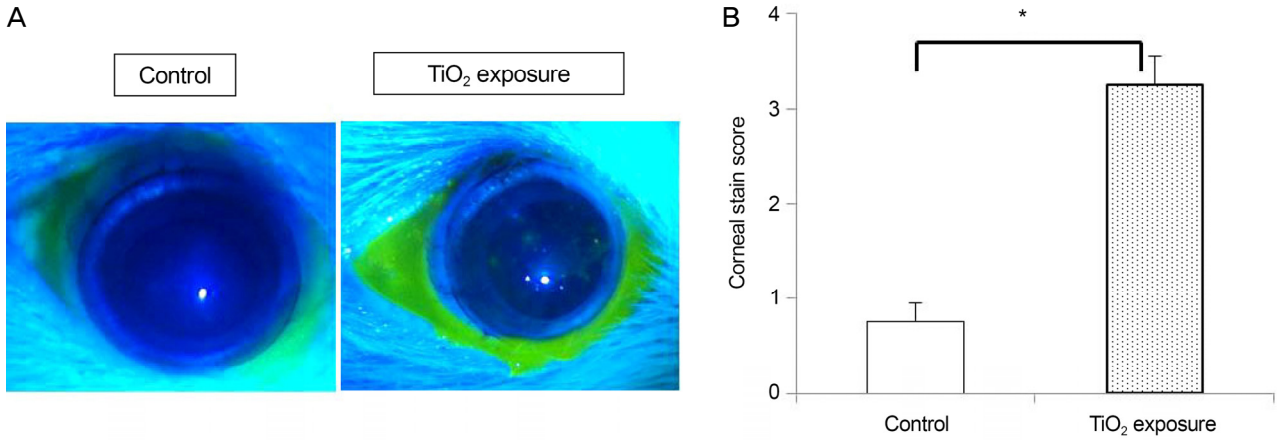


Figure 1. The mean corneal staining scores of the control and TiO₂-exposed groups were compared. (A) Representative photographs of rat eyes after fluorescein staining in both groups. (B) A comparison of the mean corneal staining scores between the two groups. An asterisk (*) indicates a p -value < 0.05 by the Mann-Whitney U test ($p = 0.002$). Standard deviations are indicated by error bars.

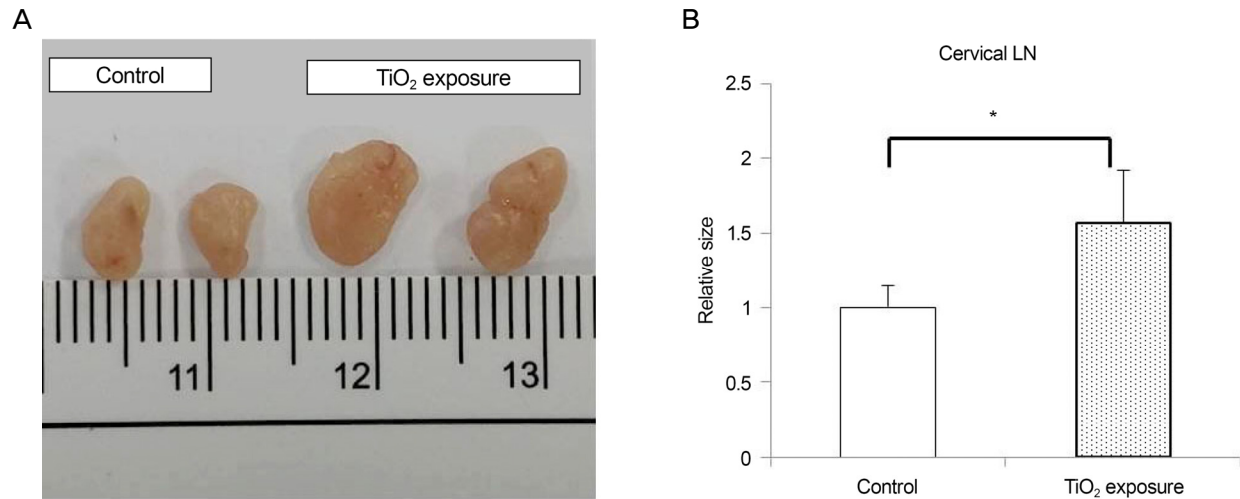


Figure 2. The mean relative size of cervical lymph nodes in the control and TiO₂-exposed groups were compared. (A) Representative photographs of cervical lymph nodes in both groups. (B) A comparison of cervical lymph node size between the two groups. An asterisk (*) indicates a p -value < 0.05 by the Mann-Whitney U test ($n = 6$, each group). Standard deviations are indicated by error bars. LN = lymph node.

(1:20,000, #5125, Cell Signal Technology, Boston, MA, USA). 2차 항체는 horseradish peroxidase (HRP) linked anti-rabbit immunoglobulin G (IgG) (#7074, Cell Signal Technology, Boston, MA, USA)를 이용하였다.

통계분석은 SPSS version 12.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA)의 Mann-Whitney U -test를 이용하였고, western blot에서는 β -actin에 대한 비율로 표시하였다. 통계결과는 p 값이 0.05 미만인 경우 유의하다고 정의하였다.

결 과

각막형광염색

티타늄디옥사이드 마이크로입자에 하루에 2시간씩 2회

씩 5일간 노출한 후 실험군($n=6$)의 형광염색 점수는 중앙값 3.25 [2.625–3.5]로 대조군($n=6$)의 중앙값 0.75 [0.125–1.0]보다 유의하게 높게 평가되었다($p=0.002$) (Fig. 1).

경부림프절의 크기

경부림프절 크기는 대조군($n=6$)과 비교하여 티타늄디옥사이드에 노출된 실험군($n=6$)에서 약 1.56배 크기가 증가하였고 통계적으로도 유의한 차이를 보였다($p=0.004$) (Fig. 2).

NLRP3 인플라마좀 복합체의 발현

각결막 조직에서 시행한 western blot 검사에서 NLRP3와 ASC의 발현은 대조군($n=3$)에 비해 티타늄디옥사이드에 노출된 실험군($n=3$)에서 통계적으로 유의하게 증가하였다

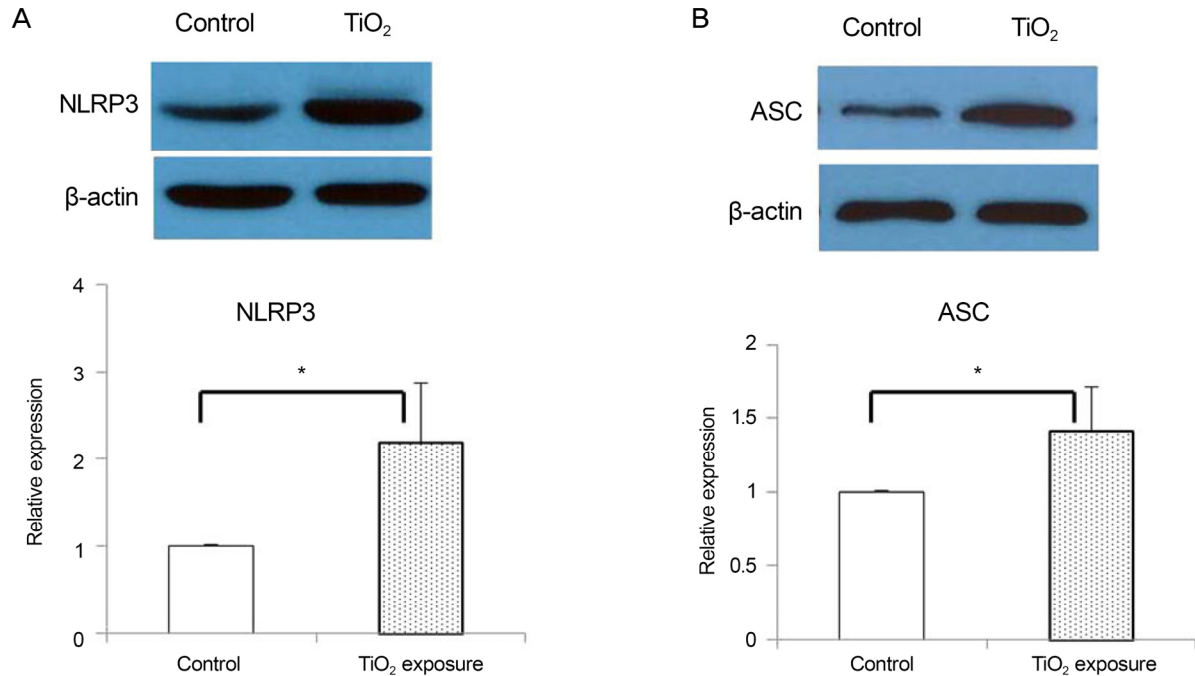


Figure 3. The expression of nucleotide-binding domain leucine-rich repeats, pyrin domain-containing 3 (NLRP3) and apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase activation and recruitment domain (CARD) domain (ASC) in the corneo-conjunctival tissues in the control and TiO_2 -exposed groups ($n = 3$, each group). (A) A representative example of a Western blot gel image and densitometry analysis for NLRP3. (B) A representative example of a Western blot gel image and densitometry analysis for ASC. β -Actin was used as an internal loading control for the Western blot. An asterisk (*) indicates a significant difference (p -value < 0.05) in the expression of NLRP3 and ASC in the TiO_2 -exposed group compared with the control group by the Mann-Whitney U test. Standard deviations are indicated by error bars.

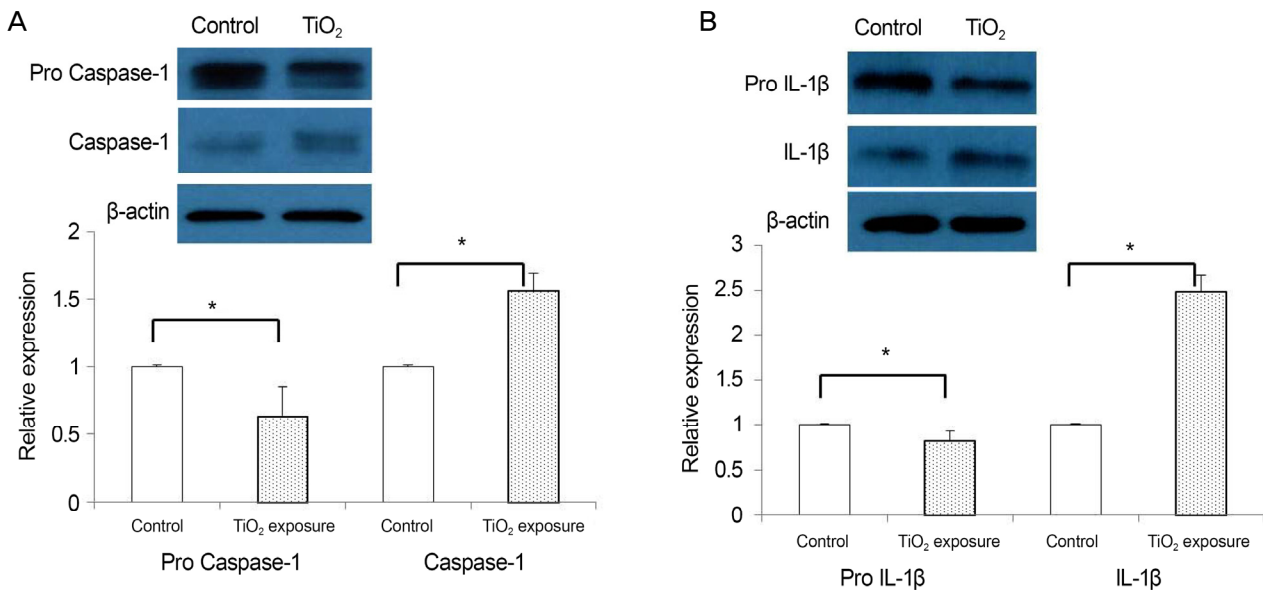


Figure 4. The expression of inactive precursor and active forms of caspase-1 and interleukin (IL)-1 β in the corneo-conjunctival tissues in the control and TiO_2 -exposed groups ($n = 3$, each group). (A) A representative example of a Western blot gel image and densitometry analysis for pro-caspase-1 and caspase-1. (B) A representative example of a Western blot gel image and densitometry analysis for pro-IL-1 β and IL-1 β . β -Actin was used as an internal loading control for the Western blot. An asterisk (*) indicates a significant difference (p -value < 0.05) in the expression of inactive precursor and active forms of caspase-1 and IL-1 β in the TiO_2 -exposed group compared with the control group by the Mann-Whitney U test. Standard deviations are indicated by error bars.

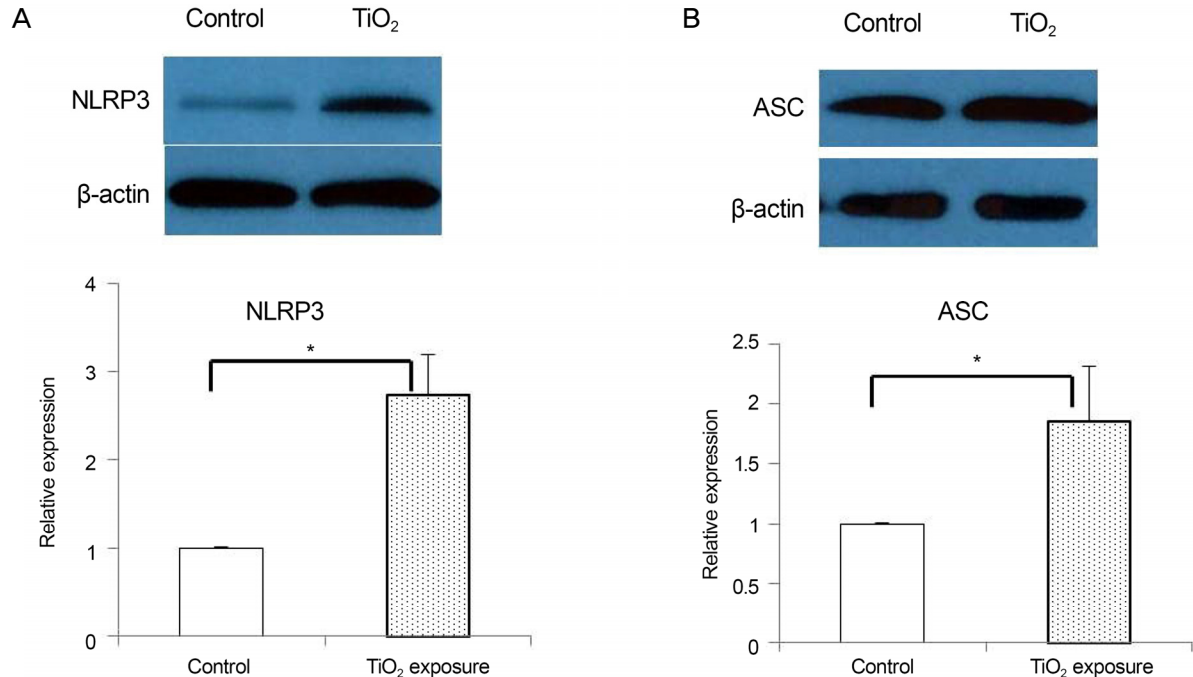


Figure 5. The expression of nucleotide-binding domain leucine-rich repeats, pyrin domain-containing 3 (NLRP3) and apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase activation and recruitment domain (CARD) domain (ASC) in the cervical lymph nodes in the control and TiO₂-exposed groups (n = 3, each group). (A) A representative example of a Western blot gel image and densitometry analysis for NLRP3. (B) A representative example of a Western blot gel image and densitometry analysis for ASC. β -Actin was used as an internal loading control for the Western blot. An asterisk (*) indicates a significant difference (p -value < 0.05) in the expression of NLRP3 and ASC in the TiO₂-exposed group compared with the control group by the Mann-Whitney U test. Standard deviations are indicated by error bars.

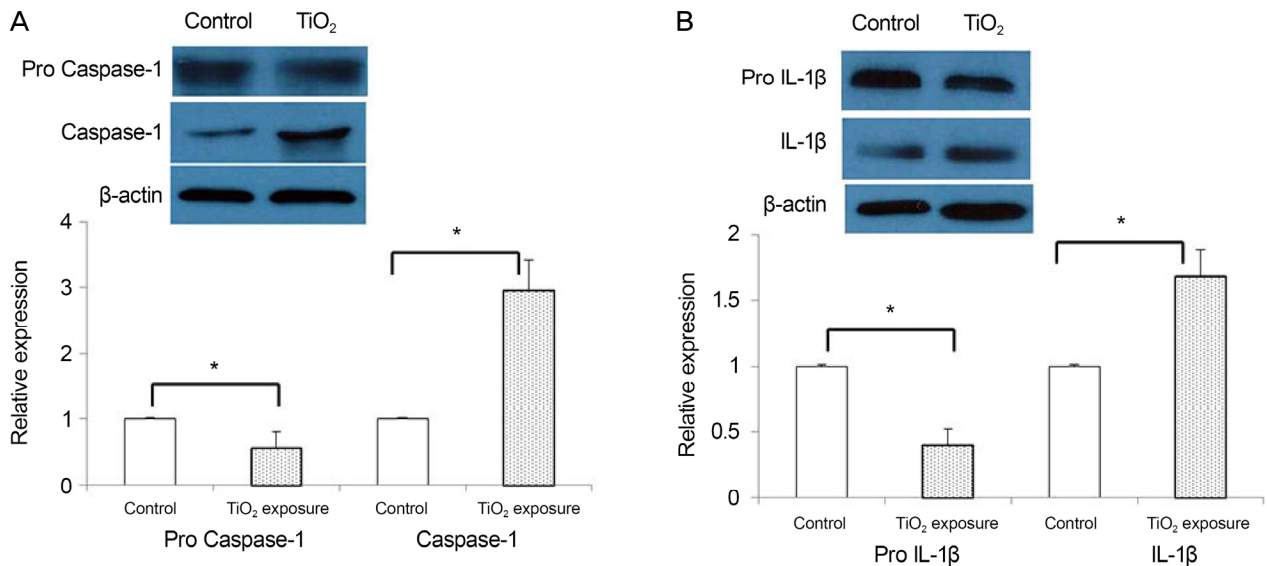


Figure 6. The expression of inactive precursor and active forms of caspase-1 and interleukin (IL)-1 β in the cervical lymph nodes in the control and TiO₂-exposed groups (n = 3, each group). (A) A representative example of a Western blot gel image and densitometry analysis for pro-caspase-1 and caspase-1. (B) A representative example of a Western blot gel image and densitometry analysis for pro-IL-1 β and IL-1 β . β -Actin was used as an internal loading control for the Western blot. An asterisk (*) indicates a significant difference (p -value < 0.05) in the expression of inactive precursor and active forms of caspase-1 and IL-1 β in the TiO₂-exposed group compared with the control group by the Mann-Whitney U test. Standard deviations are indicated by error bars.

(both, $p=0.037$) (Fig. 3). Caspase-1의 경우 대조군($n=3$)에 비해 티타늄디옥사이드에 노출된 실험군($n=3$)에서 45 kDa의 caspase-1 전구체의 발현은 감소하였으나 10 kDa인 활성화된 caspase-1의 발현은 증가하였다($p=0.037$) (Fig. 4). NLRP3 인플라마좀의 최종 산물인 IL-1 β 의 경우도 대조군($n=3$)에 비해 티타늄디옥사이드에 노출된 실험군($n=3$)에서 31 kDa의 IL-1 β 전구체의 발현은 감소하였으나 17 kDa인 활성화 IL-1 β 의 발현은 유의하게 증가하였다($p=0.037$) (Fig. 4).

경부림프절에서 시행한 western blot 검사에서도 각결막 조직에서와 동일하게 NLRP3와 ASC의 발현은 대조군($n=3$)에 비해 티타늄디옥사이드에 노출된 실험군($n=3$)에서 통계적으로 유의하게 증가하였고(both, $p=0.037$) (Fig. 5), caspase-1과 IL-1 β 도 불활성 상태인 전구체의 발현은 감소하였으나 활성화 상태인 caspase-1과 IL-1 β 의 발현은 대조군에 비해 유의하게 증가하였다(both, $p=0.037$) (Fig. 6).

고 찰

티타늄디옥사이드 마이크로입자는 미세한 크리스탈 파우더로 페인트, 화장품, 직물 등에 사용되고 있으며 미세먼지에 의한 영향을 평가하기 위해 호흡기질환 연구에 사용되는 물질이다.¹² 기관지세포가 티타늄디옥사이드에 노출될 경우 무신을 분비하고 염증반응을 유발하여 다양한 호흡기질환을 유발하거나 악화시키는 것으로 알려져 있다.¹³⁻¹⁵ 이전 저자들의 연구에서 안구표면에 티타늄디옥사이드가 반복해서 노출되었을 경우 안구표면의 손상과 함께 눈물 내 lactate dehydrogenase (LDH)의 활성도가 증가하였고, 이러한 현상은 건성안 유발 쥐에서 더 유의하게 증가하였다.¹⁶⁻¹⁸ 이는 안구표면의 보호작용을 하는 눈물분비가 감소한 경우 동일한 농도의 미세먼지에 노출되어도 안구표면의 손상이 건성안 환자에서 더 심해질 수 있다는 것을 뒷받침한다.

이번 실험에서는 미세먼지에 의해 유발되는 안구표면의 염증반응에 NLRP3 인플라마좀 복합체가 관여하는지 알아보려고 하였다. 각결막 조직을 이용한 western blot 검사에서 NLRP3 신호전달체계에 관여하는 NLRP3와 ASC의 발현은 대조군에 비해 유의하게 증가하였으며, caspase-1과 IL-1 β 의 경우 불활성 상태인 전구체의 양은 감소하였으나 활성화 형태의 발현은 대조군에 비해 유의하게 증가하여 미세먼지에 노출된 경우 NLRP3 인플라마좀 복합체의 신호전달체계에 의해 주요 염증 사이토카인인 IL-1 β 의 생성이 증가하여 안구표면에 염증이 유발되는 것을 확인하였다. 이러한 NLRP3 인플라마좀 복합체의 증가는 미세먼지에 노출된 안구조직뿐 아니라 크기가 증가한 경부림프절에서

도 동일하게 관찰되었다.

건성안 유병률 연구를 보면 한국, 일본, 중국, 대만 등 아시아 국가의 건성안 유병률이 서양 국가에 비해 높아 아시아 인종이 건성안의 위험인자 중 하나로 분류되고 있다.^{19,20} 이러한 연구결과는 인종에 따른 차이일 수도 있지만 아시아 국가의 대기오염 상태가 심하고 특히 황사에 영향을 받는 동북아시아의 지정학적 위치도 영향을 끼칠 수 있다고 생각된다. 건성안 동물모델에서 NLRP3 인플라마좀 신호전달체계가 관여하여 IL-1 β 의 분비를 증가시키므로 염증반응을 유발한다는 이전 연구보고가 있다.^{10,11} 따라서 이미 건성안으로 유발된 안구표면의 염증반응에 미세먼지 노출이 동반된다면 안구표면의 염증반응은 더 심해지고 그에 따라 손상이 더 심해지리라 생각된다. 미세먼지에 대한 노출은 비단 호흡기계에서만 일어나는 것이 아니라 안구표면도 미세먼지 노출에 따른 손상이 발생하며 안구표면 손상뿐 아니라 경부림프절을 통해 전신적으로도 염증반응을 유발할 수 있으므로 마스크를 착용하듯 미세먼지가 심한 경우 보호안경을 착용하여 미세먼지 노출을 최소화하는 노력이 필요하다.

본 연구에서는 안구표면이 티타늄디옥사이드 마이크로입자에 노출되었을 때 각결막 등 안구조직은 물론 경부림프절에서 NLRP3 인플라마좀 복합체의 신호전달체계가 활성화되어 IL-1 β 발현이 증가하는 것을 처음으로 확인하였다. 이러한 현상을 통해 유추해 볼 때 미세먼지에 안구표면이 만성적으로 노출될 경우 염증반응을 유발하여 건성안을 일으키거나 악화시킬 가능성이 있으며 이러한 상호작용에 대해서는 추가적인 연구가 필요하리라 생각된다.

REFERENCES

- 1) Brook RD, Rajagopalan S, Pope CA 3rd, et al. Particulate matter air pollution and cardiovascular disease: an update to the scientific statement from the American Heart Association. *Circulation* 2010;121:2331-78.
- 2) Atkinson RW, Anderson HR, Sunyer J, et al. Acute effects of particulate air pollution on respiratory admissions: results from APHEA 2 project. *Air Pollution and Health: a European Approach*. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164(10 Pt 1):1860-6.
- 3) Samoli E, Analitis A, Touloumi G, et al. Estimating the exposure-response relationships between particulate matter and mortality within the APHEA multicity project. *Environ Health Perspect* 2005;113:88-95.
- 4) Novaes P, Saldiva PH, Matsuda M, et al. The effects of chronic exposure to traffic derived air pollution on the ocular surface. *Environ Res* 2010;110:372-4.
- 5) Malerbi FK, Martins LC, Saldiva PH, Braga AL. Ambient levels of air pollution induce clinical worsening of blepharitis. *Environ Res* 2012;112:199-203.

- 6) Galor A, Kumar N, Feuer W, Lee DJ. Environmental factors affect the risk of dry eye syndrome in a United States veteran population. *Ophthalmology* 2014;121:972-3.
- 7) Eisenbarth SC, Flavell RA. Innate instruction of adaptive immunity revisited: the inflammasome. *EMBO Mol Med* 2009;1:92-8.
- 8) He Y, Hara H, Núñez G. Mechanism and regulation of NLRP3 inflammasome activation. *Trends Biochem Sci* 2016;41:1012-21.
- 9) Jo EK, Kim JK, Shin DM, Sasakawa C. Molecular mechanisms regulating NLRP3 inflammasome activation. *Cell Mol Immunol* 2016;13:148-59.
- 10) Zheng Q, Ren Y, Reinach PS, et al. Reactive oxygen species activated NLRP3 inflammasomes prime environment-induced murine dry eye. *Exp Eye Res* 2014;125:1-8.
- 11) Zheng Q, Ren Y, Reinach PS, et al. Reactive oxygen species activated NLRP3 inflammasomes initiate inflammation in hyperosmolarity stressed human corneal epithelial cells and environment-induced dry eye patients. *Exp Eye Res* 2015;134:133-40.
- 12) Warheit DB, Sayes CM, Reed KL, Swain KA. Health effects related to nanoparticle exposures: environmental, health and safety considerations for assessing hazards and risks. *Pharmacol Ther* 2008;120:35-42.
- 13) Sun Q, Tan D, Ze Y, et al. Pulmotoxicological effects caused by long-term titanium dioxide nanoparticles exposure in mice. *J Hazard Mater* 2012;235-236:47-53.
- 14) Chang X, Fu Y, Zhang Y, et al. Effects of Th1 and Th2 cells balance in pulmonary injury induced by nano titanium dioxide. *Environ Toxicol Pharmacol* 2014;37:275-83.
- 15) Hong J, Wang L, Zhao X, et al. Th2 factors may be involved in TiO₂ NP-induced hepatic inflammation. *J Agric Food Chem* 2014;62:6871-8.
- 16) Eom Y, Song JS, Lee DY, et al. Effect of titanium dioxide nanoparticle exposure on the ocular surface: an animal study. *Ocul Surf* 2016;14:224-32.
- 17) Eom Y, Song JS, Lee HK, et al. The effect of ambient titanium dioxide microparticle exposure to the ocular surface on the expression of inflammatory cytokines in the eye and cervical lymph nodes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57:6580-90.
- 18) Han JY, Kang B, Eom Y, et al. Comparing the effects of particulate matter on the ocular surfaces of normal eyes and a dry eye rat model. *Cornea* 2017;36:605-10.
- 19) The epidemiology of dry eye disease: report of the Epidemiology Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). *Ocul Surf* 2007;5:93-107.
- 20) Stapleton F, Alves M, Bunya VY, et al. TFOS DEWS II Epidemiology Report. *Ocul Surf* 2017;15:334-65.

= 국문초록 =

미세먼지 노출이 안구조직과 경부림프절에서 NLRP3 인플라마좀 발현에 미치는 효과

목적: 안구표면이 미세먼지에 노출되었을 때 안구조직과 경부 림프절에서 nucleotide-binding domain leucine-rich repeats, pyrin domain-containing 3 (NLRP3) 인플라마좀 복합체와 주요 염증 사이토카인인 interleukin (IL)-1 β 의 발현이 어떻게 변화하는지 알아 보고자 하였다.

대상과 방법: 5주된 Sprague-Dawley 수컷 쥐(무게, 250-300g)를 대상으로 하였다. 쥐는 무작위로 공기 중에서 티타늄디옥사이드 마이크로입자에 노출시킨 실험군(n=12)과 정상 대조군(n=12)으로 나누어 진행하였다. 티타늄디옥사이드 마이크로입자에 의해 지름 10마이크로미터 이하의 미세먼지 농도(particulate matter [PM] 10)가 평균 331 \pm 83 μ g/m³가 되는 환경에서 쥐를 하루 2시간씩 2회, 5일간 노출시켰다. 안구표면의 손상을 평가하기 위해 각막형광염색을 시행하였고, 염증반응이 국소 림프절에 전달되는지 평가하기 위해 경부림프절 크기를 측정하였으며 각결막 조직과 경부림프절에서 NLRP3 인플라마좀 복합체의 발현을 정량적으로 평가하였다.

결과: 티타늄디옥사이드 마이크로입자에 노출시킨 실험군에서 대조군에 비해 각막형광염색점수가 유의하게 증가하였고($p=0.002$) 경부 림프절의 크기도 증가하였다($p=0.004$). 각결막 조직과 경부림프절에서 NLRP3 신호전달체계에 관여하는 NLRP3와 apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase activation and recruitment domain (CARD) domain (ASC)의 발현은 대조군에 비해 유의하게 증가하였으며(각각, $p=0.037$), caspase-1과 IL-1 β 의 경우 불활성 상태인 전구체의 양은 감소하였으나 활성화 형태의 발현은 대조군에 비해 유의하게 증가하였다(각각, $p=0.037$).

결론: 안구표면이 미세먼지에 노출되었을 때 NLRP3 인플라마좀 복합체 신호전달체계가 활성화되어 염증 사이토카인인 IL-1 β 의 생성이 증가하였으며 이러한 기전이 미세먼지에 의한 안구표면 염증반응에 관여하는 것으로 판단된다.

<대한안과학회지 2018;59(2):130-136>