

□ 원 저 □

Rhinovirus 유발성 기도염증반응에서 Interleukin-8과 전사인자 NF(nuclear factor)- κ B의 역할에 대한 연구

한양대학교 의과대학 내과학교실, 미생물학교실*

윤호주, 김미옥, 손장원, 김정목*, 신동호, 박성수

=Abstract=

The Role of Interleukin 8 and NF(nuclear factor)- κ B in Rhinovirus-Induced Airway Inflammation

Ho Joo Yoon, M.D., Mi Ok Kim, M.D., Jang Won Sohn, M.D.,
Jung Mogg Kim, M.D.*, Dong Ho Shin, M.D., Sung Soo Park, M.D.

Department of Internal Medicine and Microbiology,
Hanyang University College of Medicine, Seoul, Korea*

Background : Rhinovirus(RV) infections frequently trigger dyspnea and paroxysmal cough in adult patients with asthma and are the most prevalent cause of the common cold. However, the mechanisms of a RV-induced airway inflammation is unclear. Since the RV does not directly destroy the airway epithelium, it is presumed that the immune response to the RV contributes to the pathogenesis of the respiratory symptoms. In order to test this hypothesis, this study characterized the time-sequenced alterations in interleukin(IL)-8 elaboration from the human bronchial epithelial cells and evaluated the role of NF(nuclear factor)- κ B in the RV-induced IL-8 production by pretreating the inhibitors of NF- κ B activation.

Methods : The ability of RV-infected human bronchial epithelial cells and BEAS-2B cells to produce the IL-8 was compared with the controls. This study infected BEAS-2B cells with the RV14 obtained from the American Type Culture Collection. The supernatants were harvested from the RV infected BEAS-2B cells and the controls at 2hr, 4hr, 6hr, 12hr, 24hr, 48hr from the inoculation time. This study measured the IL-8 concentration using the ELISA kits. In order to elucidate the role of NF- κ B in the

이 논문은 2000년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음.(KRF-2000-041-F00191)

Address for correspondence:

Ho Joo Yoon, M.D.

Department of Internal Medicine, Hanyang University College of Medicine

17 Haengdang-dong, Sungdong-ku, Seoul, 133-792, KOREA

Phone: 02-2290-8349 Fax: 02-2298-9183 E-mail: hjyoon@hanyang.ac.kr

RV-induced IL-8 production, the effect of the NF- κ B inhibitors was evaluated on RV-induced IL-8 production.

Results: The BEAS-2B cells produced small amounts of IL-8 that accumulated slowly with time in the culture. The RV was a potent stimulator of the IL-8 proteins production by BEAS-2B human bronchial epithelial cells. Antioxidants, *N*-acetyl-*L*-cysteine(NAC),\ and pyrrolidine dithiocarbamate(PDTC), blocked the IL-8 elaboration by the RV-infected BEAS-2B cells, which was dose-dependent, but *N*-Tosyl-*L*-phenylalanine chloromethyl ketone(TPCK) did not.

Conclusion: Some antioxidants inhibited the RV-induced IL-8 production by blocking the NF- κ B, which may have a therapeutic potential in asthma. (*Tuberculosis and Respiratory Diseases* 2003, 54:104-113)

Key words : IL-8, Rhinovirus, Antioxidants, NF- κ B.

서 론

기관지천식은 가역적인 기도폐쇄, 기도의 과민성의 증가 및 기도의 만성 염증반응을 특징으로 하는 질환이다. 기도의 염증반응에는 호산구를 비롯한 염증성 세포와 여러 염증성 화학매개물질이 관여하고, 이 중 특정 염증세포의 활성화와 기도로의 모집에 관여하는 사이토카인이 중요한 역할을 담당하고 있다. 천식의 발생과 악화에 호흡기바이러스 감염이 중요하다는 것은 수십년전부터 잘 알려져 왔고, 주로 역학적 측면에서 연구가 진행되어 오다가 최근에 이르러 천식발작에 관여하는 바이러스와 그 수용체의 구조 및 기능 분석들이 진행되고 있다¹.

Rhinovirus(RV)에 의한 호흡기 감염은 성인에서 매년 2-4회, 소아에서 매년 4-10회를 경험하는 매우 흔한 감염질환으로 기관지천식과 만성기관지염의 급성악화에 관여하는 주요 원인의 하나이다. 천식으로 인한 사망은 주로 천식의 급성 악화에 의해 야기되므로 호흡기 바이러스 감염은 천식에서 매우 중요한 의의를 지니고 있다². 따라서 RV 감염에 의한 기도염증반응과 천식의 악화기전을 연구하는 것은 임상의학에서 중요한 의미를 가진다.

기관지상피세포는 호흡기 바이러스 감염의 일차

표적이며 바이러스의 성장에 의해 기도상피세포의 손상의 정도가 결정된다^{3,4}. 일반적으로 RV는 기관지상피세포를 직접 손상시키지 않고 상피세포로부터 염증반응을 조장하는 사이토카인을 분비하여 기도 염증반응을 일으키는 것으로 알려져 있다^{5,6}.

Interleukin(IL)-8은 상피세포를 비롯한 여러 세포에서 분비되는 chemokine으로 주로 호중구 화학주성 및 활성화 기능을 지니고 있다⁷. IL-8은 급성호중구 침윤에 중요한 역할을 함으로 IL-8의 조절 이상이 천식, 특발성 폐섬유화증 및 급성호흡곤란 증후군 등의 발병기전에 관여한다. 호중구 침윤은 RV 감염의 초기에 흔히 관찰되는 병리소견으로 RV 감염에 의한 IL-8의 조절기전을 연구하는 것이 필요하다. RV 감염에 의한 기도의 염증반응은 사이토카인, 효소, 수용체 및 유착분자 등과 같은 염증성단백질의 유전자발현이 특징이다. 이러한 염증성 유전자의 발현은 유전자 전사의 증가에 의해 나타나고, 유전자 전사는 유전자의 촉진자 부위에 결합하는 단백질인 전사인자에 의해 조절되므로 특히 전사인자 nuclear factor- κ B(NF- κ B)가 기도염증반응의 발생에 관여할 것으로 추정된다⁸⁻¹⁰.

현재까지 바이러스 감염에 의한 급성 천식악화에 효과적이면서 안전한 약제는 개발되어 있지 않고 다만 고용량의 흡입 스테로이드가 부분적으로

효과가 있다고 보고되어 있다. 따라서 RV 감염에 의한 천식악화의 기전을 구하는 것은 새로운 치료법 개발에 있어서 매우 중요하다. RV 감염에 의한 기도 염증반응에 관여하는 사이토카인을 연구하고, 이러한 사이토카인의 발현에 관여하는 전사인자인 NF- κ B의 역할을 밝히는 것은 새로운 치료법을 개발하는데 중요한 초석이 된다¹¹.

이에 RV감염에 의한 기도염증반응의 발병기전에 관여하는 세포학적 기전을 밝히기 위해 기관지상피세포에서 RV감염에 의한 IL-8의 생성유무를 조사하고, IL-8의 발현에 관여하는 전사인자 NF- κ B의 역할에 대해 규명하고자 하였다.

대상 및 방법

기관지천식의 급성 악화에 관여하는 중요한 호합기 바이러스인 RV 감염에 의한 기도염증반응의 기전을 밝히기 위해 기관지상피세포 BEAS-2B 세포주에 RV를 감염시켜 IL-8의 생산유무를 조사하였다. 기관지상피세포를 이용하여 대조군(RV 자극을 주지 않은 군)과 RV를 감염시킨 군 사이에 시간 경과별로 IL-8의 생산 정도를 ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay)법으로 농도를 비교하고, 이를 바탕으로 RT-PCR법을 이용해 mRNA transcript에서의 차이가 있는지를 반정량적으로 분석하였다. IL-8 유전자의 발현을 조절하는 전사인자로 알려져 있는 NF- κ B의 역할을 밝히는 연구를 위해 프로테아제 억제제인 *N*-Tosyl-*L*-phenylalanine chloromethyl ketone(TPCK), 항산화제인 *N*-acetyl-*L*-cysteine(NAC), pyrrolidine dithiocarbamate(PDTC)를 RV 감염시 처리하여 RV에 의한 IL-8의 생성이 억제되는 지를 연구하였다.

1. 바이러스 스톡 제조(Viral stock preparation)

RV14를 American Type Culture Collection(Man-

assas, VA, USA)으로부터 구입하여 감염이 잘 되는 세포주인 Hep2 세포주에 감염시켰다. 감염이 진행하면 세포배양 상층액을 획득하여 결빙과 해동(freezing and thawing)을 반복하여 세포를 파괴시키고, 원심분리하여 상층액을 얻어 -70℃에서 냉동보관하였다. 바이러스 흡착은 37℃에서 시행하고 RV 감염 세포배양기는 33℃로 설정하였다. 제조된 RV14의 역가 측정은 methyl cellulose 법으로 시행하였다.

2. 기관지상피세포에 RV 감염 및 세포배양 상층액 획득

BEAS-2B 기관지상피세포를 Dulbecco's modified Eagle's medium으로 100-mm petri dish에서 배양하였다. 기관지상피세포가 충분히 자라면 세포배양기(medium)를 제거하고 MOI(multiplicity of infection)=1로 RV를 감염시켰다. 90분간 37℃에서 RV를 흡착시킨 후 바이러스액을 제거하고 세포를 phosphate-buffered saline(PBS)으로 세척하였다. 세포를 33℃에서 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간 동안 배양하고 계획된 시간에 세포배양 상층액을 획득하고 분석때 까지 -70℃에 보관하였다. 세포단층은 PBS로 세척후 mRNA 분석을 위해 총 세포 RNA를 획득하였다.

3. IL-8 정량

R & D Systems로 부터 IL-8 ELISA 키트를 구입하여 제작자의 프로토콜에 따라 세포배양 상층액으로 부터 IL-8의 농도를 측정하였다.

4. RNA 분리 및 분석

총 세포 RNA를 Chomczynski & Sacchi법으로 세포배양으로 부터 각각의 목표 시간에 추출하였다¹².

RT-PCR법으로 IL-8과 beta-actin에 대한 mRNA transcript를 반정량적으로 분석하였다. 중합효소연쇄반응을 위한 시발체(primer), 반응산물의 크기 및 반응조건은 다음과 같다.

IL-8

5' primer : 5'-ATGACTTCCAAGCTGGCCG-TGGCT-3'

3' primer : 5'-TCTCAGCCCTCTTCAAAAA-CTTCTC-3'

size of PCR product(bp) : 289

β -actin

5' primer: 5'-TGACGGGGTCACCCACACT-GTGCCCATCTA-3'

3' primer: 5'-CTAGAAGCATTGCGGTGGA-CGATGGAGGG-3'

size of PCR product(bp): 661

PCR condition: 35 cycles

1 min denaturation at 95°C

2.5 min annealing

extension at 60°C (IL-8), 72°C (β -actin)

5. NF- κ B 억제제의 투여

현재까지 널리 알려진 NF- κ B억제제 중 프로테아제 억제제인 TPCK와 항산화제인 NAC과 PDTC를 세포배양시 첨가하여 RV에 의한 IL-8의 생산에 미치는 영향을 IL-8의 농도를 측정하여 조사하였다.

6. 통계분석

모든 측정치는 평균과 표준오차로 표시하였고 각 실험군과 대조군의 측정치를 비교 분석하기 위해서 통계기법으로 Student's t-test를 시행하였으며

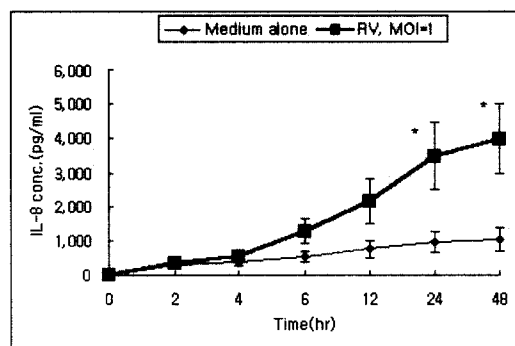


Fig. 1. Kinetics of IL-8 elaboration by the rhinovirus(RV) 14-infected BEAS-2B cells. Monolayers of the BEAS-2B cells were incubated in the presence and absence of RV(MOI=1), and the IL-8 levels in the resultant supernatants were quantitated by ELISA at set time intervals thereafter. The results are a mean \pm SEM. * $p < 0.05$

그 통계학적 유의수준은 5% 미만으로 하였다.

결 과

1. 기관지상피세포에서 RV 감염에 의한 IL-8의 생산과 분비양상

RV 감염이 없는 대조군의 상피세포에서는 IL-8의 분비가 미미하였고, 배양시간의 경과에 따라 약간의 증가는 있었으나 분비양상에는 변화가 없었다. 그러나 RV로 감염시킨 기관지상피세포군에서는 배양 4시간부터 증가하기 시작하여 배양 6시간, 12시간, 24시간, 48시간에는 각각 1,279pg/ml, 2,156pg/ml, 3,489pg/ml, 3,987pg/ml로 대조군에 비해 유의하게 증가하였다($p < 0.05$)(Fig. 1).

RV 감염에 의한 IL-8 mRNA transcript의 변화를 보면 대조군에 비해 유의한 차이가 관찰되어 IL-8의 농도변화와 상응한 결과를 보였다(Fig. 2, 3).

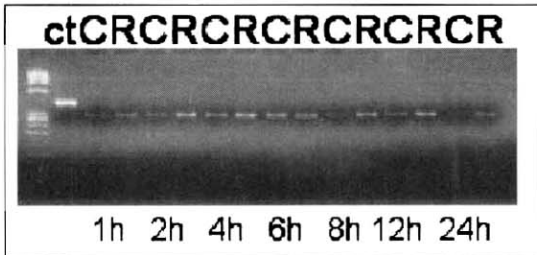


Fig. 2. Induction of mRNA for IL-8 in the BEAS-2B cells with the RV14 challenge. Abbre. Ct: positive control, C: control group, R: rhinovirus group

2. N-acetyl cysteine(NAC)이 RV로 감염시킨 기관지상피세포에서 IL-8의 생산에 미치는 영향

항산화제인 NAC를 전처리하고 RV로 기관지상피세포에 감염시킨 후 배양시간 12시간에 IL-8의 분비정도를 조사하였다. NAC의 자극농도를 0.2mM, 2mM, 20mM, 40mM, 50mM로 하여 배양 12시간에 측정한 IL-8의 농도에서 대조군은 각각 2,587pg/ml, 2,788pg/ml, 2,689pg/ml, 2,500pg/ml, 2,876pg/ml로 NAC농도 변화에 따른 IL-8의 생산에 유의한 변화가 없었다. 그러나 RV로 감염시킨 실험군에서는 NAC의 농도에 따라 IL-8의 농도가 각각 2,156pg/ml, 1,789pg/ml, 1,254pg/ml, 1,163pg/ml, 921pg/ml로 2mM이상의 자극에서는 유의한 감소가 있었다(Fig. 4).

3. Pyrrolidine dithiocarbamate(PDTC)가 RV로 감염시킨 기관지상피세포에서 IL-8의 생산에 미치는 영향

PDTC를 전처리하고 RV로 기관지상피세포에 감염시킨 후 배양시간 12시간에 IL-8의 분비정도를 조사하였다. PDTC의 자극농도를 3uM, 30uM, 300uM, 400uM, 500uM로 하여 배양 12시간에 측정한 IL-8의 농도에서 대조군은 각각 2,580pg/ml,

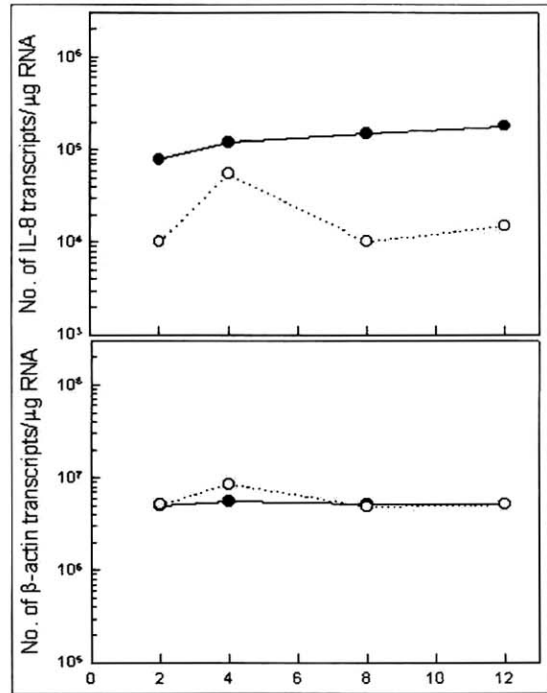


Fig. 3. Semiquantitative analysis mRNA transcript for IL-8 and beta actin in the BEAS-2B cells with the RV14 challenge. closed circle:rhinovirus, open circle:control

2,779pg/ml, 2,766pg/ml, 2,500pg/ml, 2,885pg/ml로 TPCK농도 변화에 따른 IL-8의 생산에 유의한 변화가 없었다. 그러나 RV로 감염시킨 실험군에서는 PDTC의 농도에 따라 IL-8의 농도가 각각 2,489pg/ml, 1,859pg/ml, 1,389pg/ml, 1,115pg/ml, 1,100pg/ml로 300uM이상의 자극에서는 유의한 감소가 있었다(Fig. 5).

4. N-Tosyl-L-phenylalanine chloromethyl ketone(TPCK)가 RV로 감염시킨 기관지상피세포에서 IL-8의 생산에 미치는 영향

TPCK를 전처리하고 RV로 기관지상피세포에 감염시킨 후 배양시간 12시간에 IL-8의 분비정도를

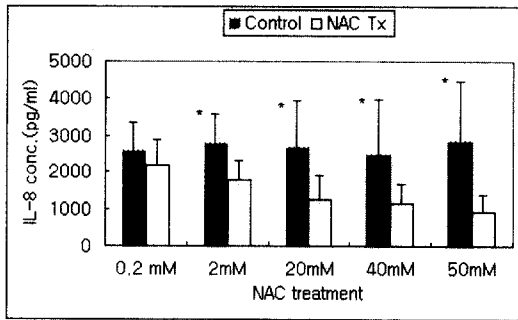


Fig. 4. Effect of *N*-acetyl cysteine on IL-8 production in BEAS-2B cells with RV 14 challenge. The results are a mean \pm SEM. * $p < 0.05$

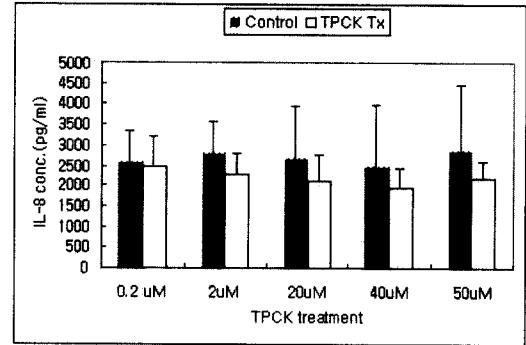


Fig. 6. Effect of TPCK on IL-8 production in the BEAS-2B cells with the RV 14 challenge. The results are a mean \pm SEM.

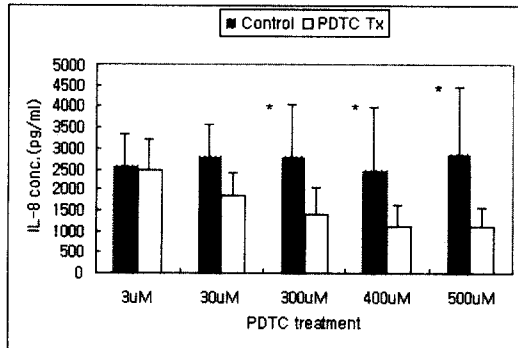


Fig. 5. Effect of PDTC on IL-8 production in the BEAS-2B cells with the RV 14 challenge. The results are a mean (SEM). * $p < 0.05$

조사하였다. TPCK의 자극농도를 0.2uM, 2uM, 20uM, 40uM, 50uM 로 하여 배양 12시간에 측정 한 IL-8의 농도를 보면 대조군과 RV를 감염시킨 실험군에서 농도의 유의한 차이가 없었다(Fig. 6).

5. *N*-acetyl cysteine(NAC)이 RV로 감염시킨 기관지상피세포에서 배양시간의 경과에 따른 IL-8의 생산에 미치는 영향

RV로 기관지상피세포에 감염시킨 군과 항산화제인 NAC 20mM을 전처리하고 RV로 기관지상피세

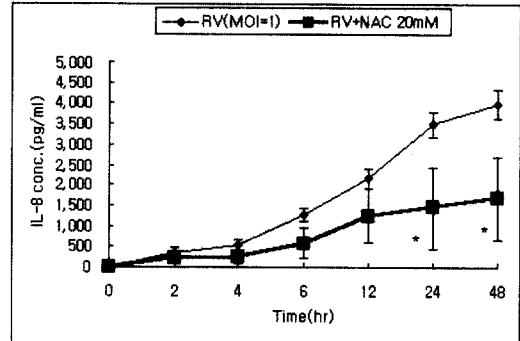


Fig. 7. Kinetics of IL-8 elaboration by the RV14-infected BEAS-2B cells with and without the NAC treatment. The results are a mean \pm SEM. * $p < 0.05$

포에 감염시킨 군에서 배양 2시간, 4시간, 6시간, 12시간, 24시간, 48시간에 IL-8의 분비정도를 조사하여 비교하였다. 배양시간의 경과에 따라 NAC가 IL-8의 생산을 억제하고 배양 6시간부터 유의하게 IL-8의 생산이 억제되었다(Fig. 7).

고 찰

바이러스 상기도 감염은 임상에서 흔히 접하는 질환으로 기관지천식의 발생 및 급성악화에 관여한

다는 것은 수십년전부터 잘 알려져 왔다. 유아기에 RSV에 감염되면 5-6세에 천식으로 이행할 수 있다는 견해에 대해서는 논란이 많으나 아토피와 사이토카인의 양상에 따라 천식 발생이 결정된다는 것이 인정받고 있다. 이는 바이러스 감염이 기도에 염증반응을 일으켜 원인물질에 대한 알레르기반응을 용이하게 하여 천식으로 이행을 촉진한다는 것이다¹³⁻¹⁶.

바이러스가 알레르기성 기도염증반응을 항진시키는 기전은 아직도 잘 모르는 실정이다. 기도에서 사이토카인이 국소적으로 생성되어 호산구가 기도로 동원되고 염증기능을 항진시키는데 중요한 역할을 수행할 것으로 생각하고 있다. *in vitro* 연구에 의하면 RV가 하부기도의 여러 세포로부터 염증성 사이토카인의 분비를 유도할 수 있는 것으로 밝혀져 있다¹⁶. 밝혀야 할 가장 중요한 점은 어떤 사이토카인이 관련성이 있으며 세포기원은 무엇인지를 밝혀져 하고, 알레르기성기도와 비알레르기성 기도에서 관찰되는 반응이 다른 이유는 무엇인지를 찾아야 한다. 이러한 질문에 대한 가설로는 알레르기성 환자와 비알레르기성 환자의 T세포가 호흡기 바이러스 단백질에 대하여 각기 다른 사이토카인을 분비함으로써 알레르겐에 대한 T세포의 반응에 차이가 있을 것이라는 것이다. 일반적으로 바이러스는 T세포를 자극하여 인터페론 감마와 인터루킨 2(IL-2)같은 제1형 조력 T세포 사이토카인을 분비하여 세포매개성 반응을 자극하여 기도로부터 바이러스를 제거하는데 관여한다. 일부 바이러스는 제2형 조력 T세포를 자극하여 알레르기반응을 강화시키는 IL-4, IL-5 등의 사이토카인을 분비하여 알레르기성 염증반응을 항진시키는 것으로 알려져 있다. Alwan 등^{17,18}은 RSV의 부착 단백질 protein G가 제2형 조력 T세포를 자극한다고 보고하였고 T 세포를 동물에 피동적으로 전이시키고 RSV에 폭로시키면 호산구증다가 나타남을 관찰하였다.

RV 감염에 의한 기도 염증반응은 RV가 직접

기도 상피세포를 손상하는 것이 아니라 여러 염증성 단백질을 분비하여 이루어 지는 것으로 알려져 있다¹⁹. RV 감염 중에 보이는 비분비물내 호중구가 증가함을 보면 RV 감염에 의한 염증반응에 IL-8이 관여함을 추정할 수 있다. 그 동안 RV 감염에 의한 기도염증의 기전을 구명하기 위하여 염증반응에 관여하는 IL-1, IL-6 등의 사이토카인에 대한 연구가 진행되어 왔으나 아직도 많은 부분이 규명되지 못하고 있다^{19,20}.

최근 Busse 등²¹의 보고에 따르면 RV16을 알레르기비염이나 기관지천식이 있는 22명에게 감염시키고 비분비물과 유도객담을 분석한 결과 granulocyte colony-stimulating factor(G-CSF)와 IL-8이 증가함을 보고하였다. 비분비물의 G-CSF는 말초혈액내 호중구의 증대와 밀접한 관계가 있었고 비분비물의 호중구는 G-CSF와 IL-8과 밀접한 상관관계가 있었다. 따라서 기도의 IL-8과 G-CSF는 바이러스유발성 호중구염증반응과 밀접한 관계가 있음을 시사하는 것으로 본 연구와 일치한다.

IL-8은 호중구 화학주성 및 활성화 기능을 지니고 있는 사이토카인으로 상피세포를 비롯한 여러 세포에서 분비된다. IL-8은 급성 호중구 침윤에 중요하므로 여러 질환의 발병기전에 관여한다. IL-8은 강력한 호중구 화학주성인자이지만, IL-5의 존재하에서는 호산구의 화학주성인자로도 작용한다. 높은 농도의 IL-5를 보이는 아토피성 천식환자에서는 바이러스 상기도 감염이 호산구 이동을 항진할 수 있다고 추정하고 있다. 따라서 호중구 침윤이 RV 감염 초기에 흔히 관찰되는 병리소견으로 제시되고 있어 본 연구와 같은 RV감염에 의한 IL-8의 조절기전에 대한 연구는 중요하다.

RV 감염에 의한 기도의 염증반응은 사이토카인, 효소, 수용체 및 유착분자(adhesion molecule) 등과 같은 염증성단백질의 유전자발현이 특징이다. 이러한 염증성 유전자의 발현은 유전자 전사(gene transcription)의 증가에 의해 나타나고, 유전자 전

사는 유전자의 촉진자부위에 결합하는 단백질인 전사인자(transcription factor)에 의해 조절되므로 전사인자, 특히 nuclear factor- κ B(NF- κ B)가 기도 염증반응의 발생에 중요한 역할을 하고 있다. NF- κ B는 많은 염증성 및 면역성 유전자 발현을 조절하고, 종종 activator protein(AP)-1 혹은 C/EBP(CAAT/enhancer binding protein)와 같은 전사인자와 협동하여 작용하기도 한다. NF- κ B에 의해 발현이 유도되는 유전자에는 IL-1 β , tumor necrosis factor- α , granulocyte-macrophage colony stimulating factor와 같은 염증성 사이토카인, IL-8, macrophage inflammatory protein-1 α , RANTES, eotaxin과 같은 chemokine, inducible form of nitric oxide synthase(iNOS), inducible cyclooxygenase(COX-2)과 같은 염증성 효소 및 VCAM-1, ICAM-1과 같은 유착분자 등이 있다²²⁻²⁶. 따라서 이러한 전사인자의 활성화를 조절하는 물질을 이용하여 RV 감염에 의한 기도의 염증을 억제할 수 있는지에 대한 연구가 필요하다.

최근 RV 감염에 의한 기도염증에서 사이토카인을 비롯한 단백질의 유전자 발현을 조절하는 전사인자인 NF- κ B에 대한 연구가 진행되고 있고 이를 어떻게 치료에 응용할 수 있는지에 대한 논의도 활발하다. Zhu 등⁸에 따르면 RV감염이 IL-8의 강력한 자극원이며 IL-8의 유전자발현은 전사인자 NF- κ B에 의존함을 처음으로 시사하였다. 본 연구에서는 NF- κ B 활성화 경로의 차단제인 NAC, PDTC, TPCK 등을 이용하여 향후 RV 감염에 의한 기도염증반응에 관여하는 IL-8의 차단 가능성에 대해 연구하였다. 연구 결과 NAC와 PDTC는 용량의존적으로 RV감염에 의한 IL-8의 생산 정도를 억제하였으나 TPCK는 유의한 억제를 보이지 못하였다. 이는 NF- κ B의 활성화 경로를 차단하는 단계가 복잡하고 서로 상호관계를 맺고 있기 때문에 모든 NF- κ B 차단제가 같은 결과를 보이기는 어려울 것으로 추정할 수 있다. 또한 전사인자

NF- κ B에 의해 유전자 발현이 조절되고 있다고 알려져 있는 염증성 사이토카인이 NF- κ B에 의해 전적으로 조절되고 있는 것이 아니고 다른 전사인자에 의해서도 부분적으로 조절되고 있으므로 이러한 결과를 보일 수 있음을 추정할 수 있다.

본 연구결과를 통해 임상의학에서 천식의 급성악화의 가장 중요한 원인의 하나인 RV감염이 IL-8 생산의 강력한 자극원이며 이는 전사인자 NF- κ B의 억제제에 의해 그 생산을 줄일 수 있으므로 향후 RV 감염에 의한 기도염증반응의 치료 표적으로 의의가 크다고 할 수 있다.

요 약

연구배경 :

Rhinovirus(RV)는 상기도 감염의 중요한 원인균으로, 성인에서 기관지천식의 급성악화의 주요 원인이다. RV에 의한 기도염증반응의 기전은 잘 알려져 있지 않지만 interleukin(IL)-1, IL-6, IL-8 및 RANTES 등의 사이토카인을 매개로 일어난다. 염증반응에 관여하는 사이토카인의 발현은 적어도 전사인자 NF- κ B에 의존성이므로 이러한 가설을 검증하기 위해 인체기도상피세포에서 RV에 의한 IL-8의 분비양상과 NF- κ B 활성화 단계에서 차단제로 이용되는 *N*-acetyl-L-cysteine(NAC), PDTC, 및 TPCK를 투여하여 IL-8의 차단정도를 연구하여 NF- κ B의 역할을 규명하고자 하였다.

방 법 :

인체 기관지상피세포(BEAS-2B)와 RV type 14(RV14)를 ATCC로부터 구입하여 RV14 스톱을 만들고 역가를 측정하였다. 자극이 없는 대조군(배지 단독)과 RV14를 상피세포에 감염시킨 후(MOI=1.0) 각각에서 2, 4, 6, 12, 24, 48 시간에 배양 상층액(SN)을 얻었다. 또한 대조군, RV14 자극군, NAC, PDTC, 및 TPCK 처리와 함께 RV14 자극을 준 군에서 각각 배양 12시간에 배양 상층액을

수집했다. SN에서 효소면역측정법으로 IL-8의 농도를 측정하였다.

결 과 :

1) 상피세포는 RV14 자극이 없는 상태에서 배양시간의 경과에 따라 약간의 IL-8의 생산이 있었다.

2) 상피세포에 RV14 감염 후 4시간에서부터 IL-8이 증가하여 배양 48시간까지 지속적으로 증가하였다.

3) NAC와 PDTc는 RV14에 의한 IL-8의 생산을 유의하게 감소시켰으나, TPCK는 RV에 의한 IL-8의 생산을 억제하였지만 통계학적으로 유의하지 않았다.

4) NAC와 PDTc는 RV에 의한 IL-8 생성을 용량 의존적으로 억제하였다.

결 론 :

일부 항산화제가 RV에 의한 기도염증반응을 차단할 수 있는 가능성을 제시하며 추후 NF- κ B 활성화 경로의 차단 부위에 대한 연구가 필요할 것으로 생각한다.

참 고 문 헌

1. Message SD, Johnston SL. Viruses in asthma. *Br Med Bull* 2002;61:29-43.
2. Gern JE. Rhinovirus respiratory infections and asthma. *Am J Med* 2002 Apr 22;112 Suppl 6A:19S-27S.
3. Polito AJ, Proud D. Epithelial cells as regulators of airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102(5):714-8.
4. Holtzman MJ, Morton JD, Shornick LP, Tyner JW, O'Sullivan MP, Antao A, et al. Immunity, inflammation, and remodeling in the airway epithelial barrier: epithelial-viral-allergic paradigm. *Physiol Rev* 2002;82(1):19-46.
5. Gern JE, Vrtis R, Grindle KA, Swenson C, Busse WW. Relationship of upper and lower airway cytokines to outcome of experimental rhinovirus infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162(6):2226-31.
6. Jarjour NN, Gern JE, Kelly EA, Swenson CA, Dick CR, Busse WW. The effect of an experimental rhinovirus 16 infection on bronchial lavage neutrophils. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105(6 Pt 1):1169-77.
7. Zhu Z, Tang W, Gwaltney JM Jr, Wu Y, Elias JA. Rhinovirus stimulation of interleukin-8 in vivo and in vitro: role of NF- κ B. *Am J Physiol* 1997 Oct;273(4 Pt 1):L814-24.
8. Kim J, Sanders SP, Siekierski ES, Casolaro V, Proud D. Role of NF- κ B in cytokine production induced from human airway epithelial cells by rhinovirus infection. *J Immunol* 2000;165(6):3384-92.
9. 윤호주. Respiratory syncytial virus 감염과 기관지천식. *소아알레르기 및 호흡기학회지* 1999; 9:24-31.
10. 윤호주. 전사인자(transcription factor)와 기관지천식. *천식 및 알레르기* 1999;19:127-141.
11. Lee JI, Burckart GJ. Nuclear factor kappa B: important transcription factor and therapeutic target. *J Clin Pharmacol* 1998;38(11):981-93.
12. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987 Apr;162(1):156-9.
13. Peebles RS Jr, Hartert TV. Respiratory viruses and asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2000;6(1):10-4.

14. Papadopoulos NG, Johnston SL. The role of viruses in the induction and progression of asthma. *Curr Allergy Asthma Rep* 2001 Mar;1(2):144-52.
15. Johnston SL. Viruses and asthma. *Allergy* 1998 Oct;53(10):922-32.
16. Papadopoulos NG, Bates PJ, Bardin PG, Papi A, Leir SH, Fraenkel DJ, et al, Johnston SL. Rhinoviruses infect the lower airways. *J Infect Dis* 2000 Jun;181(6):1875-84.
17. Alwan WH, Kozłowska WJ, Openshaw PJ. Distinct types of lung disease caused by functional subsets of antiviral T cells. *J Exp Med* 1994;179: 81-9.
18. Alwan WH, Record FM, Openshaw PJ. Phenotypic and functional characterization of T cell lines specific for individual respiratory syncytial virus proteins. *J Immunol* 1993;150: 5211-8.
19. Zhu Z, Tang W, Ray A, Wu Y, Einarsson O, Landry ML, et al. Rhinovirus stimulation of interleukin-6 in vivo and in vitro. Evidence for nuclear factor kappa B-dependent transcriptional activation. *J Clin Invest* 1996;15: 97(2):421-30.
20. Yoon HJ, Zhu Z, Gwaltney JM Jr, Elias JA. Rhinovirus regulation of IL-1 receptor antagonist in vivo and in vitro: a potential mechanism of symptom resolution. *J Immunol* 1999 Jun 15;162(12):7461-9.
21. Gern JE, Vrtis R, Grindle KA, Swenson C, Busse WW. Relationship of upper and lower airway cytokines to outcome of experimental rhinovirus infection. *Am J Respir Crit Care Med* 2000 Dec;162(6):2226-31.
22. Barnes PJ, Adcock IM. Transcription factors and asthma. *Eur Respir J* 1998;12(1):221-34.
23. Blackwell TS, Christman JW. The role of nuclear factor-kappa B in cytokine gene regulation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;17(1):3-9.
24. Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-kappa B: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Engl J Med* 1997; 336:1066-71.
25. Barnes PJ, Adcock IM. NF-kappa B: a pivotal role in asthma and a new target for therapy. *Trends Pharmacol Sci* 1997;18:46-50.
26. Rahman I, MacNee W. Role of transcription factors in inflammatory lung diseases. *Thorax* 1998;53:601-12.