

기도의 점액 과분비 질환에서 MUC5AC의 발현의 신호 전달 경로에 관한 연구

고려대학교 의과대학 의학과 호흡기내과교실

심 재 정

=Abstract=

Signal Transduction of MUC5AC Expression in Airway Mucus Hypersecretory Disease

Jae Jeong Shim, M.D.

Division of Pulmonology, College of Medicine, Korea University

Background : Mucin synthesis in airways has been reported to be regulated by the epidermal growth factor receptor (EGFR) system. Epidermal growth factor receptor transactivation was identified as a critical element in G-protein-coupled receptors (GPCRs)-induced mitogenic signaling. EGF receptor transactivation by G-protein-coupled receptors requires metalloproteinase cleavage of proHB-EGF. This study was hypothesized that lipopolysaccharide (LPS)-induced mucin production associates with epidermal growth factor receptor transactivation, and MUC5AC production associates with epidermal growth factor receptor transactivation by G-protein-coupled receptors that regulates by metalloproteinase.

Method : MUC5AC mucin production was examined in NCI-H292 cells and MUC5AC protein synthesis was assessed using ELISA. For the evaluation of mechanism of LPS-induced MUC5AC production, $TNF\alpha$ was measured using ELISA with or without pretreatment of heterotrimeric G-protein inhibitor, mastoparan. MUC5AC protein was measure with pretreatment of polyclonal $TNF\alpha$ antibody or mastoparan on LPS-induced MUC5AC production. For the evaluation of relation of G-protein and MUC5AC production, G-protein stimulant, mastopara-7, or matrix metalloproteinase, ADAM10, was added to NCI-H292 cells. MUC5AC protein was measure with pretreatment of polyclonal EGF antibody on mastoparan-7-induced MUC5AC production.

Results : LPS alone did not increase significantly MUC5AC production. LPS with $TGF\alpha$ induced

Address for correspondence :

Jae Jeong Shim, M.D

Division of Pulmonology, Department of Internal Medicine, College of Medicine, Korea University

97, Guro-Dong Gil, Guro-Ku, Seoul 152-703, Korea

Phone : 02-818-6639 Fax : 02-865-9670 E-mail : jaejshim@kumc.or.kr

dose-dependently MUC5AC production in NCI-H292 cells. LPS increased dose-dependently TNF α secretion, which was inhibited by mastoparan. LPS with TGF α -induced MUC5AC production was inhibited by neutralizing polyclonal TNF α antibody, mastoparan or AG 1472. Mastoparan-7 or ADAM10 increased dose-dependently MUC5AC production, which was inhibited by polyclonal neutralizing EGF antibody.

Conclusion : In LPS-induced MUC5AC synthesis, LPS causes TNF α secretion, which induces EGFR expression. EGFR tyrosine kinase phosphorylation result in MUC5AC production. EGF-R transactivation by G-protein-coupled receptors requires matrix metalloproteinase cleavage of proHB-EGF. (*Tuberculosis and Respiratory Diseases* 2003, 55:21-30)

Key words : Airway, Mucin production, Epidermal growth factor, Cell signal, G-protein.

서 론

배상세포의 이형성으로 인한 기관지 점액의 과다 분비는 세기관지 내경의 축소 및 점액성 plug로 인한 기도 폐쇄를 일으켜, 각종 호흡기 질환의 악화나 사망을 초래하는 중요한 병태이다¹⁻³. 호흡기계의 혼란한 점액 과다 분비 질환으로는 천식, 만성 폐쇄성 폐질환, 기관지 확장증, 낭성 폐섬유증 및 미만성 범세기관지염 등이 있다. 점액 분비와 관련된 점액소 유전자로는 MUC1~4, MUC5AC, MUC5B, MUC7~12 등이 있는 것으로 보고 되었고^{4,5}, 기도의 점액 과다 분비 질환에서는 MUC5AC가 주요한 것으로 알려져 있다^{6,7}.

점액소 유전자 발현의 증가와 배상세포 이형성에 대한 기전은 잘 밝혀져 있지 않으나, 최근의 연구에 의하면 기도 점액 과다 분비 질환에서 증가되어 있는 성장인자(growth factor)인 상피세포 성장인자(epidermal growth factor; EGF) 및 수용체(EGF receptor; EGFR)가 배상세포의 이형성에 중요한 역할을 하는 것으로 보고 되었다⁸. 구체적으로 천식, 만성 폐쇄성 폐질환, 기관지 확장증, 낭성 폐섬유증 및 미만성 범세기관지염 등의 질환에서 증가하는 종양 괴사 인자 알파(Tumor necrosis factor- α ; TNF- α)에 의하여 EGFR의 발현이 증

가되고, 활성화되어 배상세포의 증식이 일어나고, 이 과정에서 mitogen-activated protein kinase (MAPK)와 extracellular regulated kinase(MEK) 1 and 2가 세포내 신호 전달에 관여하는 것으로 보고되고 있다^{9,10}.

점액은 eicosanoids와 지방 대사물, 염증 물질, 환경적 자극 물질, 세균성 물질, 산소 및 질소 화합물 등의 다양한 자극 물질에 의해서 분비되며, 다양한 원인 자극에도 불구하고 세포내 신호전달은 비슷할 것으로 추정되고 있다. 점액 과다 분비 질환의 효과적인 치료 및 예방을 위해서는 세포간의 신호 전달 뿐 만 아니라, 세포내의 신호 전달에 대한 연구가 필수적이다¹¹. 그러나, 점액의 생성과 분비에 있어서 세포내의 신호 전달에 대한 연구는 국내의적으로 미약한 실정이다.

최근의 연구에 의하면 EGFR의 transactivation은 G-protein에 의하여 매개되는 데, 이 과정에서 EGFR의 ligands중의 하나인 heparin binding EGF(HB-EGF)가, metalloproteinase로 인하여 세포막에 존재하는 pro-heparin binding EGF(pro-HB-EGF)로부터 유리되고, 유리된 HB-EGF가 EGFR을 활성화 시키는 것으로 보고되었다^{12,13}. 따라서, 이와 같은 G-protein이 활성화가 HB-EGF의 유리를 통하여 배상세포의 이형성을 유발함으로써,

기관지 점액의 과다 분비의 세포내 기전에 있어서 주요한 역할을 할 것으로 사료된다.

점액 과분비 질환인 호흡기 질환에서 악화와 사망의 요인인 세균 감염이 중요하나, 세균에 의한 점액 과분비 기전에 대한 연구는 미미한 실정이다^{14,15}. 호흡기 감염에서 중요한 세균인 그람 음성 세균의 Lipopolysaccharide(LPS)는 혈장내에 존재하는 LPS-binding protein(LBP)와 결합하여 세포막에 존재하는 CD14에 유착하여 G protein과 연관되어 세포내 신호를 전달하는 것으로 알려져 있다¹⁶.

따라서, 본 연구는 그람 음성세균의 LPS에 의한 기도 점액 과생성의 기전을 밝히고, LPS에 의한 기도 점액 과분비에서 EGFR의 신호 전달에 대한 연구와 G-protein과 세포막의 신호 전달과정에 대한 연구를 하였다.

연구 방법

1. 세포 배양

점액상피세포양 폐암의 NCI-H292세포를 10% FBS, 100U/ml의 페니실린과 100 μ g/ml의 스트렙토마이신 및 25mM HEPES가 포함된 RPMI 1640의 배양액으로 37°C에서 5%이산화탄소 water-jacket의 세포 배양기로 배양하였다. NCI-H292 세포가 약 95% 이상의 confluency를 나타낼 때 실험을 진행하였고, ADAM 10의 실험에서는 NCI-H292세포를 10% FBS가 포함되지 않고, 100U/ml의 페니실린과 100 μ g/ml의 스트렙토마이신 및 25mM HEPES가 포함된 RPMI 1640의 배양액으로 실험하였다.

2. LPS에 의한 점액 생성에서 EGFR의 연관성

LPS(Sigma, St. Louis, MO, USA)를 0.5, 1 또는 2 μ g/ml의 농도로 24시간 배양하여 NCI-H292세포로

부터 MUC5AC의 생성여부를 확인하였다. LPS에 의한 MUC5AC의 생성에서 신호 전달을 확인하기 위하여 각종 신호 전달 억제제를 사용하였다. EGFR tyrosine kinase의 선택 억제제인 AG 1478 (10 μ M; Calbiochem, San Diego, CA, USA), 중화 polyclonal TNF- α 항체(anti-human TNF- α neutralizing antibody; R & D systems, Minneapolis, MN, USA), heterotrimeric G-protein 억제제인 mastoparan(Quality Control Biochemicals, Hopkinton, MA, USA)을 각각 사용하였다.

3. 점액 생성에서 EGFR과 G-protein의 연관성

점액 생성에서 G-protein과의 연관성을 확인하기 위하여 다양한 농도의 G-protein 자극제인 Mastoparan-7 (Calbiochem; San Diego, CA, USA)으로 자극하여 MUC5AC의 생성을 확인하였다. 또한 G-protein이 metalloproteinase를 활성화하여 HB-EGF를 유리하여 EGFR을 transactivation함을 확인하기 위하여 다양한 농도의 matrix metalloproteinase인 ADAM10 (R & D systems, Minneapolis, MN, USA)을 전처리한 후 중화 polyclonal EGF 항체(anti-human TGF- α rabbit polyclonal antibody(Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA)를 사용하였다.

4. NCI-H292 세포에서 MUC5AC의 당단백과 TNF- α 에 대한 면역분석

NCI-H292 세포를 24시간 배양한 후 배양액과 lysis buffer(1% Triton X-100, 1% deoxycholic acid, 50 mM NaF, 1mM sodium orthovanadate, proenzyme inhibitor in PBS)를 이용한 세포내의 MUC5AC에 대한 당단백을 ELISA법으로 측정하였다¹⁷. TNF- α 는 회사(Genzyme; Cambridge, MA, USA)에서 제시한 ELISA법으로 측정하였다.

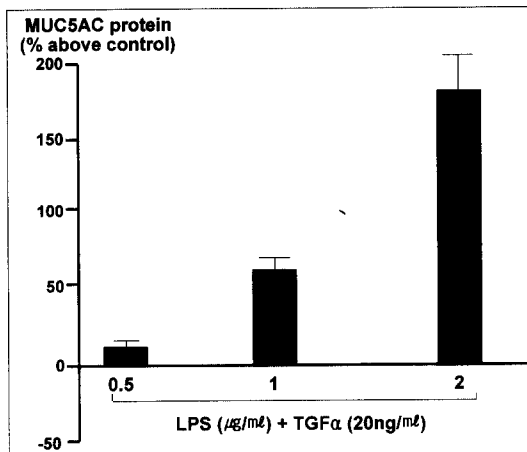


Fig. 1. Lipopolysaccharide with TGF- α (20ng/ml) induced MUC5AC production dose-dependently in NCI-H292 cells.

5. 통계 분석

모든 결과는 mean \pm SE로 표시하였다. 각 군간의 비교는 nonparametric Mann-Whitney *U* test로 비교하여, *P* 값이 0.05 이하이면 유의한 것으로 판단하였다.

결 과

1. NCI-H292 세포에서 LPS에 의한 MUC5AC의 생성

LPS의 자극에 의한 MUC5AC의 생성은 LPS 농도에 유의하게 증가 되지 않았으나, EGFR의 ligand인 TGF- α 를 동시 투여한 경우는 LPS의 농도에 비례하여 유의하게 증가하였다(Fig. 1). LPS의 자극은 TNF- α 의 생성을 유의하게 증가시켰으며, G-protein 억제제인 mastoparan을 전처치한 경우는 TNF- α 가 유의하게 감소 되었다(Fig. 2). 이는 LPS에 의한 TNF- α 의 생성은 G-protein에 의하여 매개됨을 알 수 있었다. 또한 LPS 자극 전에

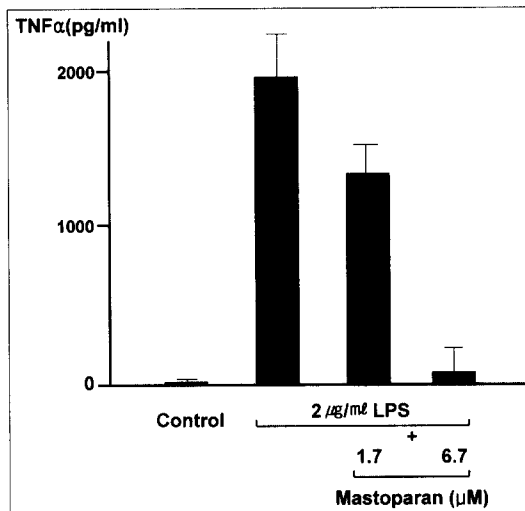


Fig. 2. Dose-dependent inhibition of LPS-induced TNF- α secretion by heterotrimeric G-protein inhibitor, mastoparan

TNF- α antibody로 중화한 경우와 mastoparan을 전처치한 경우는 농도에 비례하여 MUC5AC의 생성이 유의하게 감소하였으며, EGFR tyrosine kinase inhibitor를 사용한 경우는 MUC5AC의 생성이 유의하게 억제되었다(Fig. 3). 이로써 LPS에 의한 MUC5AC의 분비는 LPS가 TNF- α 를 생성 시키고, TNF- α 가 EGFR의 발현을 유도하여 MUC5AC가 분비되는 것으로 사료된다.

2. MUC5AC의 생성에서 G-protein과 EGFR의 연관성

MUC5AC의 생성에서 G-protein과 EGFR의 연관성을 확인 하기 위하여 EGFR이 항상 발현되어 있고 MUC5AC를 분비할 수 있는 NCI-H292 세포에 G-protein 자극제인 mastoparan-7로 자극한 후 MUC5AC의 생성을 측정하였다. 다양한 농도의 mastoparan-7는 MUC5AC의 생성이 mastoparan-7의 농도에 따라 유의하게 증가되었다(Fig. 4). 이로써 MUC5AC의 생성에서 G-protein과 연관성이

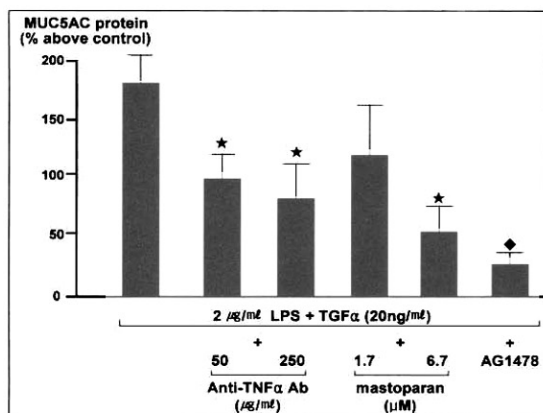


Fig. 3. Inhibition of LPS with TGF- α -induced MUC5AC production by neutralizing polyclonal TNF- α antibody, heterotrimeric G-protein inhibitor(mastoparan), and selective EGFR tyrosine kinase inhibitor(AG 1472). ★; $p < 0.05$ compared with group of LPS with TGF- α -induced MUC5AC production, ◆; $p < 0.05$ compared with group of inhibition of LPS with TGF- α -induced MUC5AC by neutralizing polyclonal TNF- α antibody.

있음을 알 수 있었다.

MUC5AC의 생성에서 G-protein과 EGFR의 구체적인 연관성은 Prenzel 등의 보고에 의하면, 세포막에 있는 proHB-EGF는 metalloproteinase에 의하여 HB-EGF가 EGFR을 transactivation을 시킬 수 있음을 보고하여 'G-protein이 활성화하여 metalloproteinase가 유리되고 metalloproteinase는 세포막에 있는 HB-EGF를 유리하여 EGFR이 활성화하여 MUC5AC가 생성된다.'는 가설 하에 실험을 하였다. 이를 증명하기 위하여 우선 metalloproteinase인 ADAM 10으로 NCI-H292세포에 자극하여 MUC5AC의 생성을 측정한 결과 ADAM 10의 농도에 비례하여 MUC5AC의 생성을 증가시켰다(Fig. 5). G-protein 자극제인 mastoparan-7을 NCI-H292세포에 자극하였을 때 MUC5AC의 생성이 유의하게 증가되었으며, EGF의 중화항체를 사

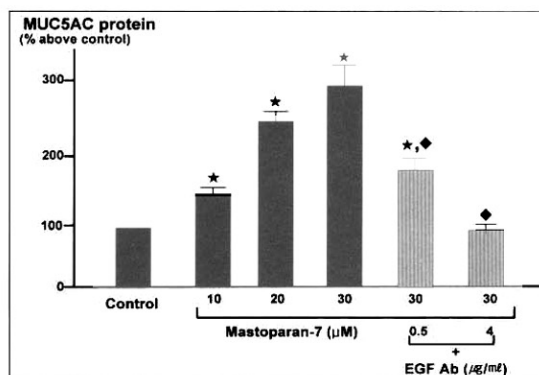


Fig. 4. Dose-dependent effect of mastoparan-7-induced MUC5AC production and dose-dependent inhibition of mastoparan-7-induced MUC5AC production by polyclonal neutralizing EGF antibody. ★; $p < 0.05$ compared with control group, ◆; $p < 0.05$ compared with group of mastoparan-7(30 μ M)-induced MUC5AC production.

용한 경우는 MUC5AC의 생성이 감소되었다(Fig. 5). 이로써 G-protein의 자극제인 mastoparan-7은 EGFR을 transactivation시켜서 MUC5AC의 생성이 증가됨을 알 수 있었다.

고 안

본 연구에서 LPS에 의한 MUC5AC의 분비는 LPS가 TNF- α 를 생성시키고, TNF- α 가 EGFR의 발현을 유도하였으며, EGFR의 ligand를 투여하는 경우에 EGFR이 활성화되어 MUC5AC가 분비되었다. 또한 LPS에 의한 TNF- α 의 생성은 G-protein을 통하여 생성되었다. MUC5AC의 생성에 있어서 G-protein의 활성화는 matrix metalloproteinase에 의하여 EGFR의 ligand인 HB-EGF가 유리되어 EGFR의 transactivation으로 MUC5AC가 생성되는 것으로 사료된다.

기도 점액 과다 분비 질환에서 증가되어 있는 성장인자(growth factor)인 상피세포 성장인자(EGF)

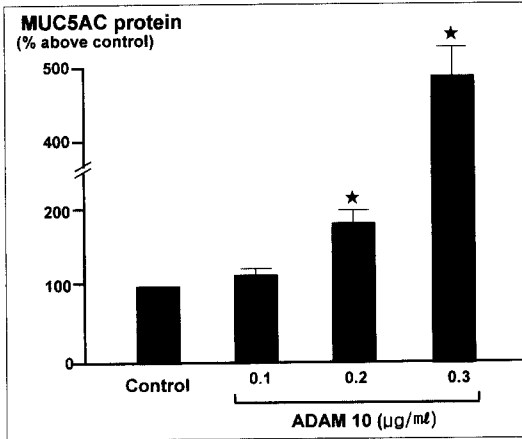


Fig. 5. Dose-dependent effect of ADAM 10-induced MUC5AC production.

및 수용체(EGFR)가 배상세포의 이형성에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었다⁸. 구체적으로 천식, 만성 폐쇄성 폐질환, 기관지 확장증, 낭성 폐섬유

화증 및 미만성 범세기관지염 등의 질환에서도 증가 하된 종양 괴사 인자 알파(TNF- α)에 의하여 EGFR의 발현이 증가되고, 활성화되어 배상세포의 증식이 일어나고, 이 과정에서 mitogen-activated protein kinase(MAPK)와 extracellular regulated kinase(MEK) 1 and 2가 세포내 신호 전달에 관여하는 것으로 보고되고 있다^{9,10,18}. 동물 실험에서 IL-13, 담배연기, LPS 등의 자극에서도 TNF- α 가 유래되고, EGFR이 발현이 증가되고 활성화하여 MUC5AC가 발현됨을 발표하였다^{9,19,21}. 담도 세포 배양에서 LPS는 TNF- α 를 유도시키고 TNF- α 는 MUC2와 MUC5AC의 생성과 연관이 있음을 밝혔다²¹. 특히 LPS에 의한 MUC5AC의 과분비 동물실험에서 matrix metalloproteinase inhibitor를 전처리한 경우는 MUC5AC의 생성이 억제됨을 보고하²⁰, LPS에 의한 MUC5AC의 과분비에서 matrix metalloproteinase가 중요한 역할을 함을 알수 있다(Fig. 6).

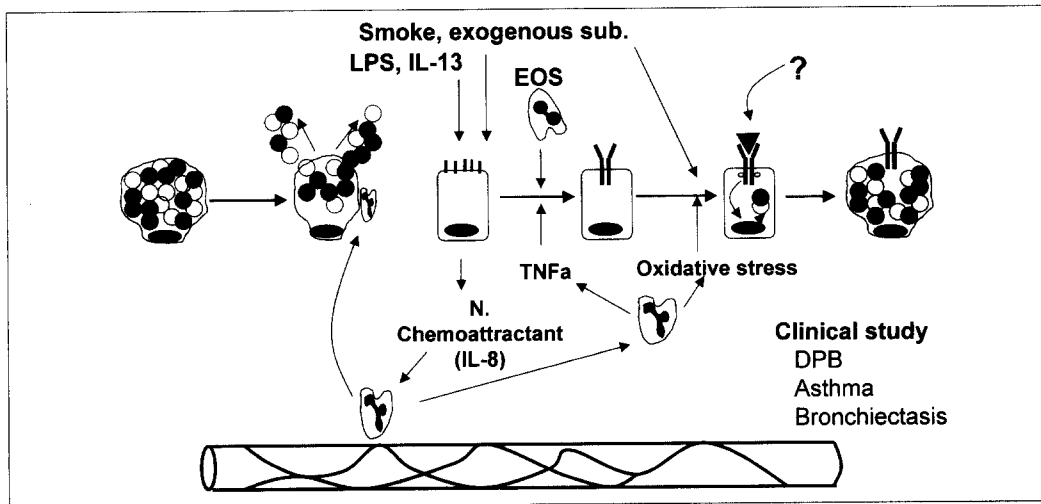


Fig. 6. Hypothetical mechanism for mucus hypersecretion in airway epithelium in experimental or clinical study. Stimulants(LPS, smoke, IL-13, etc) induces the production of a chemoattractant (IL-8) in the airway epithelium, which results in neutrophils recruitment into airways. Neutrophil proteases(elastase, matrix metalloproteinase) move to the surface of activated neutrophils and become available for migration of neutrophils to epithelium. Recruited neutrophils release TNF- α , which induces EGFR expression in nongranulated secretory cells. Expressed EGFR can be activated with ligand or oxidative stress, resulting in goblet cell hyperplasia and mucus hypersecretion.

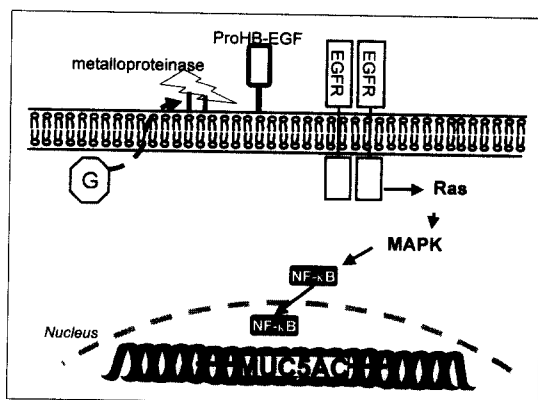


Fig. 7. In MUC5AC synthesis, EGF-R transactivation by G-protein-coupled receptors requires metalloproteinase cleavage of proHB-EGF.

Solomon¹⁶ 등은 LPS에 의한 TNF- α 의 생성은 heterotrimeric G-protein을 통하여 조절됨을 보고하였다. 본 연구에서도 LPS에 의하여 TNF- α 의 생성이 LPS의 농도에 비례하여 증가하였고, heterotrimeric G-protein의 억제제인 mastoparan을 투여한 경우는 LPS에 의한 TNF- α 의 생성이 감소하였다. LPS에 의한 TNF- α 의 생성이 증가하였음에도 불구하고, LPS에 의한 MUC5AC의 생성은 유의하게 증가되지 않았다. 그러나, LPS와 일정량 (20 ng/ml) EGFR의 ligand인 TGF- α 를 동시에 투여한 경우는 MUC5AC의 생성이 증가되었고, LPS에 의하여 증가된 MUC5AC는 중화 TNF- α 항체 또는 EGFR tyrosine kinase inhibitor에 의하여 감소되었다. 이를 종합하여 보면 LPS는 TNF- α 의 생성으로 EGFR의 발현을 유도하였지만 EGFR이 활성화되지 않았으나, 외부에서 준 TGF- α 에 의하여 EGFR이 활성화되어 MUC5AC의 생성이 증가되었다. Lamjabbar¹⁵ 등에 의하면 그람 양성균과는 달리 LPS는 EGFR계와 상관없는 다른 세포 신호 전달이 일어나는 것으로 설명하여 본 연구와 상이한 결과를 얻었다. Lamjabbar의 실험은 LPS에 의하여 TNF- α 가 유리되고, TNF- α 는

EGFR의 발현을 증가하여도 EGFR의 ligand의 부족으로 EGFR이 활성화가 일어나지 않았을 가능성이 있다. 본 연구와 실험 조건의 차이로 상이한 결과를 얻었을 것으로 추정할 수 있으나, 향후 연구가 더 필요하다.

G-protein의 활성화는 matrix metalloproteinase를 유리하는 것으로 보고되었고, 유리된 matrix metalloproteinase는 세포막에 존재하는 pro-HB-EGF를 분리하여 HB-EGF를 유리하여 EGFR을 transactivation하는 것으로 알려져 있다^{12,13}. 본 연구에서 G-protein 자극제인 mastoparan-7의 농도에 비례하여 MUC5AC의 생성이 증가하였고, mastoparan-7의 자극에 증가된 MUC5AC는 중화 EGF 항체를 전처리한 경우에 유의하게 감소되었다(Fig. 4). 또한 matrix metalloproteinase의 일종인 ADAM 10으로 자극한 경우에 농도에 비례하여 MUC5AC의 생성이 증가되었다. 이를 종합하여 보면 Prenzel¹²과 Dong¹³의 연구와 같이 G-protein의 활성화는 matrix metalloproteinase에 의하여 EGFR의 ligand를 유리시켜 EGFR의 세포내 신호전달로 이어져 MUC5AC가 생성됨을 알 수 있었다(Fig. 7).

이상의 결과로 기관지 점액 과분비 질환에서 LPS는 TNF- α 를 통하여 EGFR의 발현을 증가시켜 MUC5AC의 생성에 EGFR계가 작용함을 알 수 있었고, G-protein은 matrix metalloproteinase에 의하여 EGF의 ligand를 유리하여 EGFR계가 활성화 되어 MUC5AC가 생성되었다. 향후 점액의 생성에서 세포내 신호 전달이 구체적으로 밝혀지면, 점액 과분비 호흡기 질환의 근치 치료 약제 개발이 가능할 것으로 사료된다.

요 약

서 론 :

MUC genes의 증가와 배상세포의 증식 기전에 성

장인자(growth factor)인 상피세포 성장인자 및 수용체(epidermal growth factor receptor; EGFR)가 배상세포의 증식이나 이형성에 관여한다. EGFR의 ligands 중의 한 종류인 heparin binding EGF (HB-EGF)는 세포막에 존재하는 pro-heparin binding EGF(pro-HB-EGF)로부터 유리된다. HB-EGF의 유리는 G-protein과 연관이 있다. 따라서, 본 연구는 그람 음성세균의 lipopolysaccharide(LPS)에 의한 기도 점액 과생성의 기전을 밝히고, 기도 점액 과분비에서 EGFR과 G-protein의 연관성을 밝혀 기도 점액 과분비 기전을 밝히고자 한다.

연구 방법 :

NCI-H292 세포배양에서 LPS단독 투여 또는 TGF- α 와 병합 투여한 후 MUC5AC의 당단백질을 ELISA법으로 측정하였다. LPS에 의한 MUC5AC 당단백질의 생성 기전을 밝히기 위해서 heterotrimeric G-protein억제제인 mastoparan을 투여하고 TNF- α 와 MUC5AC를 ELISA법으로 각각 측정하였다. MUC5AC의 생성에서 G-protein과 EGFR의 연관성을 확인 하기 위하여 EGFR이 항상 발현되어 있고 MUC5AC를 분비할 수 있는 NCI-H292 세포에 G-protein 자극제인 mastoparan-7로 자극한 후 MUC5AC의 생성을 측정하였다. G-protein이 활성화하여 metalloproteinase가 세포막에 있는 HB-EGF를 유리하여 EGFR이 활성화하여 MUC5AC가 생성여부를 확인하기 위하여 ADAM10으로 NCI-H292세포에 자극하여 MUC5AC의 생성을 측정하였다. MUC5AC 생성이 EGFR과 연관성을 확인하기 위하여 특이 EGFR tyrosine kinase 억제제인 AG1478과 중화 polyclonal EGF 항체를 전처리 후 MUC5AC를 측정하였다.

결 과 :

LPS의 자극에 의한 MUC5AC의 생성은 LPS 농도에 유의하게 증가 되지 않았으나, EGFR의 ligand인 TGF- α 를 동시 투여한 경우는 LPS의 농도에 비례

하여 유의하게 증가하였다. LPS의 자극은 TNF- α 의 생성을 유의하게 증가시켰으며, G-protein 억제제인 mastoparan을 전처리한 경우는 TNF- α 가 유의하게 감소 되었다. LPS 자극 전에 TNF- α antibody, AG1478 또는 mastoparan을 전처리한 경우는 MUC5AC의 생성이 유의하게 억제되었다. MUC5AC의 생성에서 G-protein과 EGFR의 연관성에 대한 실험에서 MUC5AC의 생성이 mastoparan-7의 농도에 따라 유의하게 증가되었으며, EGF의 중화항체를 사용한 경우는 MUC5AC의 생성이 감소되었다. 또한 Matrix metalloproteinase인 ADAM10의 농도에 비례하여 MUC5AC의 생성을 증가시켰다.

결 론 :

LPS에 의한 MUC5AC의 분비는 LPS가 TNF- α 를 생성시키고, TNF- α 가 EGFR의 발현을 유도하여 MUC5AC가 분비되었다. 또한 MUC5AC의 생성에 있어서 G-protein의 활성화는 matrix metalloproteinase에 의하여 EGFR의 ligand인 HB-EGF가 유리되어 EGFR의 transactivation으로 MUC5AC가 생성되는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Blyth DI, Pedrick MS, Savage TJ, Hessel EM, Fattah D. Lung inflammation and epithelial changes in a murine model of atopic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 14:425-38.
2. Aikawa T, Shimura S, Sasaki H, Ebina M, Takishima T. Marked goblet cell hyperplasia with mucus accumulation in the airways of patients who died of severe acute asthma attack. *Chest* 1992; 101:916-21.
3. Saetta M, Di Stefano A, Rosina C, Thiene G, Fabbri LM. Quantitative structural analysis

- of peripheral airways and arteries in sudden fatal asthma. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143:138-43.
4. Rose MC. Airway mucus obstruction: mucin glycoproteins, MUC gene regulation and goblet cell hyperplasia. *American Journal of Respiratory Cell & Molecular Biology* 2001; 25:533-7.
5. Rose MC. Mucins: structure, function, and role in pulmonary diseases. *Am J Physiol* 1992; 263:L413-29.
6. Li J-D, Dohrman AF, Gallup M, Miyata S, Gum JR, Kim YS, et al. Transcriptional activation of mucin by *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide in the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *PNAS* 1997; 94:967-72.
7. Dohrman A, Miyata S, Gallup M, Li J-D, Chapelin C, Coste A, et al. Mucin gene (MUC 2 and MUC 5AC) upregulation by Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta(BBA)-Molecular Basis of Disease* 1998; 1406:251-9.
8. Takeyama K, Dabbagh K, Lee H-M, Agusti C, Lausier JA, Ueki IF, et al. Epidermal growth factor system regulates mucin production in airways. *PNAS* 1999; 96:3081-6.
9. Shim JJ, Dabbagh K, Ueki IF, Dao-Pick T, Burgel P-R, Takeyama K, et al. IL-13 induces mucin production by stimulating epidermal growth factor receptors and by activating neutrophils. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280:L134-40.
10. Shim JJ, Dabbagh K, Takeyama K, Burgel PR, Dao-Pick TP, Ueki IF, et al. Suplatast tosilate inhibits goblet-cell metaplasia of airway epithelium in sensitized mice. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:739-45.
11. Homolya L, Steinberg TH, Boucher RC. Cell to Cell Communication in Response to Mechanical Stress via Bilateral Release of ATP and UTP in Polarized Epithelia. *J. Cell Biol.* 2000; 150:1349-60.
12. Prenzel N, Zwick E, Henrik. D, Leserer M, Abraham R, Wallasch C. EGF receptor transactivation by G-protein-coupled receptors requires metalloproteinase cleavage of proHB-EGF. *Nature* 1999; 402:884-8.
13. Dong J, Opresko LK, Dempsey PJ, Lauffenburger DA, Coffey RJ, Wiley HS. Metalloprotease-mediated ligand release regulates autocrine signaling through the epidermal growth factor receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96:6235-40.
14. Yanagihara K, Seki M, Cheng P-W. Lipopolysaccharide Induces Mucus Cell Metaplasia in Mouse Lung. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 2001; 24:66-73.
15. Lemjabbar H, Basbaum C. Platelet-activating factor receptor and ADAM10 mediate responses to *Staphylococcus aureus* in epithelial cells. *Nat Med* 2002; 8:41-6.
16. Solomon KR, Kurt-Jones EA, Saladino RA, Stack AM, Dunn IF, Ferretti M, et al. Heterotrimeric G Proteins Physically Associated with the Lipopolysaccharide Receptor CD14 Modulate both In Vivo and In Vitro Responses to Lipopolysaccharide. *J. Clin. Invest.* 1998; 102:2019-27.
17. Takeyama K, Dabbagh K, Jeong Shim J, Dao-Pick T, Ueki IF, Nadel JA. Oxidative Stress Causes Mucin Synthesis Via Transa-

- ctivation of Epidermal Growth Factor Receptor: Role of Neutrophils. *J Immunol* 2000; 164:1546-52.
18. 정기환, 이승현, 김병규, 공희상, 김제형, 박상면, 등. 미만성 범세기관지염에서 epidermal growth factor 수용체의 발현과 배상 세포 이형성과의 관계. *결핵 및 호흡기 질환*; 52(1): 38-45.
19. Takeyama K, Jung B, Shim JJ, Burgel PR, Dao-Pick T, Ueki IF, et al. Activation of epidermal growth factor receptors is responsible for mucin synthesis induced by cigarette smoke. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280:L165-72.
20. 박상면, 박수연, 허규영, 이승현, 김제형, 이상엽, 등. 리포다당질(lipopolysaccharide)에 의한 기관지 점액 생성 기전에서 호중구와 상피세포 성장인자 수용체(epidermal growth factor receptor)의 역할. *결핵 및 호흡기 질환* 2003; 54(1):81-90.
21. Zen Y, Harada K, Sasaki M, Tsuneyama K, Katayanagi K, Yamamoto Y, et al. Lipopolysaccharide induces overexpression of MUC2 and MUC5AC in cultured biliary epithelial cells: possible key phenomenon of hepatolithiasis. *Am J Pathol* 2002; 161:1475-84.
-