

# 마우스 비강 폴립 모델의 개발 및 활용

경상대학교 의학전문대학원 이비인후과학교실,<sup>1</sup> 건강과학연구원,<sup>2</sup>  
서울대학교 의과대학 보라매병원 이비인후과학교실<sup>3</sup>

김상욱<sup>1,2</sup> · 전시영<sup>1,2</sup> · 김대우<sup>3</sup>

## Development and Utilization of a Mouse Model of Nasal Polyps

Sang-Wook Kim, MD, PhD<sup>1,2</sup>, Sea-Yuong Jeon, MD, PhD<sup>1,2</sup> and Dae Woo Kim, MD, PhD<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departments of <sup>1</sup>Otorhinolaryngology and <sup>2</sup>Institute of Health Sciences, College of Medicine, Gyeongsang National University, Jinju; and <sup>3</sup>Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Boramae Medical Center, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

### ABSTRACT

Systemic corticosteroids currently represent the most effective treatment for chronic rhinosinusitis with nasal polyps (CRSwNP), but their long-term use is constrained due to their detrimental side effects. Until recently, development of novel drugs for CRSwNP has been difficult partly due to the absence of a standard animal model of CRSwNP. Exotoxins of *Staphylococcus aureus* such as staphylococcal enterotoxin B (SEB), are well-known superantigens which can induce a strong immune response; there have been many studies on the association of staphylococcal enterotoxins and development of CRSwNP over the past two decades. Based on previous studies, we invented a mouse model of CRSwNP using SEB. Herein, we explain the protocol development for the mouse model, as well as identify histological and immunological similarities between this mouse model and humans. Furthermore, we describe a study that analyzed the risk factors for CRSwNP such as smoking, and also elaborate on a series of studies that searched for new potential drugs for CRSwNP, including resveratrol, anti-periostin antibody, topical hypoxia-inducible factors, and topical cyclosporine. Based on preceding studies, we have concluded that this mouse model might be a useful tool to investigate the pathophysiology and development of novel drugs for CRSwNP.

**KEY WORDS** : Models, animal · Mouse · Nasal polyps · Sinusitis therapeutics.

## 서 론

비강 폴립을 동반하는 만성 비부비동염은 전 인구의 1~4%에서 발생하는 비교적 흔한 질환이며, 내시경 수술의 발전 등에도 불구하고 지속적인 재발 등으로 치료에 어려움을 겪곤 한다.<sup>1)</sup> 다양한 약물치료가 시도되어 왔으나 현재까지

가장 효과적인 약물은 전신적 스테로이드 투여이며, 국소 스테로이드 제제의 장기간 병행 용법시 추가적인 효과가 있는 것으로 보고되고 있다.<sup>2,3)</sup> 하지만, 전신적 스테로이드 투여는 당뇨, 골다공증, 위궤양 및 우울증 등 다양한 합병증을 유발할 수 있어 사용에 제한이 있으며 또한 환자에 따라 스테로이드 제제에 반응하지 않는 경우도 있다. 이 밖에 환자에 따라 마크로라이드 계열 항생제가 효과적인 경우도 있으나 이러한 기존 치료제들 모두에 반응하지 않는 환자들도 있고, 설령 효과가 있는 경우에도 약을 끊고 나면 지속적으로 비강 폴립이 재발하는 양상을 보이는 경향을 보인다.<sup>4)</sup> 이를 극복하기 위해 폴립을 동반하는 비부비동염의 병태생리에 대한 많은 연구들이 이루어져 왔고, 그러한 연구 결과를 바탕으로 IL-5 차단항체 등의 새로운 치료제도 임상 적용되었지

논문접수일: 2014년 11월 27일 / 수정완료일: 2015년 4월 8일

심사완료일: 2015년 4월 28일

교신저자: 김대우, 156-707 서울 동작구 보라매로 5길 20

서울대학교 의과대학 보라매병원 이비인후과학교실

Tel: +82-2-870-2446, Fax: +82-2-831-2826

E-mail: kicubi@daum.net

교신저자: 전시영, 660-702 경남 진주시 진주대로 501

경상대학교 의학전문대학원 이비인후과학교실, 건강과학연구원

Tel: +82-55-750-8174, Fax: +82-55-759-0613

E-mail: syjeon@nongae.gsnu.ac.kr

만 효능이나 안전성 측면에서 기존 약물치료를 대체하지는 못하고 있는 실정이다.<sup>5)</sup> 새로운 후보 약물의 발굴을 위해서 질환 동물 모델의 중요성은 아무리 강조해도 지나치지 않지만 최근까지 사람의 비강 폴립과 같은 병변을 갖는 표준화된 동물 모델이 없어서 연구에 어려움이 있었다. 저자들은 포도상구균(*Staphylococcus aureus*) 외독소의 하나인 포도상구균 장독소 B(staphylococcal enterotoxin B, SEB)를 이용한 마우스 비강 폴립 모델을 개발하고<sup>6)</sup> 그 모델을 이용한 응용 연구를 시행해 오고 있어 지면을 통해 소개하고자 한다.

## 비강 폴립 발생에서 초항원의 역할

일반적인 항원이 항원제시세포(Antigen presenting cell)와 T세포 수용체 사이의 홈(groove)에 결합하여 T세포의 항원 특이 반응을 유도하는 것과 달리, 초항원의 경우 T세포 수용체중 V $\beta$ 도메인의 바깥쪽과 항원제시세포 수용체 사이에 결합이 되어 비특이적인 T세포 활성화를 유발하여 매우 강력한 염증반응을 일으키는 것으로 알려져 있다. 기존 연구들에 의해 비강 상재균 중 하나인 포도상구균이 분비하는 외독소가 초항원으로 작용하고 이에 따른 T세포의 만성적인 염증반응이 비강 폴립의 발생과 연관이 있다는 결과들이 꾸준히 제시되어 왔다.<sup>7-10)</sup> 초항원으로 작용할 수 있는 포도상구균 외독소는 SEB 이외에도 SEA, SEC, SEG, SHE, SEI, toxic shock syndrome toxin-1(TSST-1)을 비롯한 19가지에 이르며, 연구자에 따라 차이가 있지만 만성 비부비동염 환자의 15~78%에서 포도상구균 외독소가 검출된 것으로 보고한 바 있다.<sup>11)12)</sup> 검출율의 이러한 차이는 검체를 얻은 방법이나 위치 및 외독소 검사 방법 등에 기인한 것으로 생각되며, 한 연구 결과에서 비강조직 표면이 아닌 점막 상피세포 내에서 포도상구균의 존재를 보고한 바가 있어 단순히 비강내 균동정 등의 방법으로 포도상구균 및 외독소의 존재를 확인하는 것은 한계가 있다는 것을 보여주었다.<sup>11)</sup> 저자들도 천식을 동반하지 않은 만성 비부비동염 환자를 대상으로 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)을 이용하여 포도상구균 외독소를 검출하였는데, SEB, SEG, SEI 등의 외독소가 높은 비율로 검출되었으며 특히 SEI의 경우 폴립 조직의 100%에서 검출되는 것을 확인하였고 현재 문헌 보고를 준비중이다.

## 비강 폴립 동물 모델의 개발

### 기존의 동물 모델

비강 혹은 부비동의 폴립 모델에 대한 첫 보고는 1993년

Norlander 등에 의해 이루어졌으며 해당 저자들은 New Zealand White rabbit에 *Streptococcus pneumoniae*, *Bacteroides fragilis* 및 *Staphylococcus aureus*의 세 균주를 이용하여 일측성 상악동염을 유발하였고, 조직학적 분석을 통해 세 균주 모두에 의해 상악동 내 폴립이 형성됨을 확인하였다.<sup>13)</sup> 이는 특정 세균의 존재가 아닌 어떤 원인에서 시작이 되었든 지속적인 염증반응이 폴립 형성에 있어 중요하다는 점을 시사하였으며, 해당 연구진은 후속 연구에서 세균 감염 뿐만 아니라 상악동 내에 agarose와 같은 물질이나 N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine과 같은 화학주성인자의 주입을 통해서도 폴립의 형성을 유도할 수 있음을 보여주었다.<sup>14)</sup> 하지만, 이는 일측성 호중구성(neutrophilic) 폴립 모델로서 실제 임상적으로 문제가 되는 양측성 호산구성 폴립과는 거리가 있다. 2010년에는 Sejima 등이 호산구성 폴립 토끼 모델에 대해 발표하였는데, 난알부민(ovalbumin, OVA) 투여를 통해 호산구성 염증을 유발한 뒤 valine-glycine-serine-glutamine이나 poly-L-arginine과 같은 염증반응을 증진시키는 물질을 상악동 내에 주입하는 방법을 사용하였다.<sup>15)</sup> 실험 결과 단순히 OVA 만을 투여했던 군에서는 폴립이 형성되지 않았지만 OVA에 의한 염증이 유발된 뒤에 상기 물질을 투여한 군에서는 상악동 내의 심한 호산구의 침윤과 함께 폴립양 병변이 형성되는 것을 확인하였다.

### 저자들의 동물 모델

경상대학교 전시영 교수가 2005년부터 랫드(Sprague-Dawley rat)에 포도상구균 자체 혹은 포도상구균의  $\alpha$ -toxin을 접종함으로써 비부비동염 모델을 제작, 발표하였다.<sup>16)17)</sup> 또한, 2008년에는 초항원인 SEB에 의한 비부비동염 모델 또한 발표하였지만, 당시의 모델은 조직학적 소견에서 주로 호중구에 의한 급성 염증 반응을 보였으며 호산구는 거의 관찰되지 않는 양상을 보였다. 또한, 2주가 지나면 대조군과 조직학적 소견이 차이가 거의 없을 정도로 점막 염증이 정상화되는 급성 염증 모델이었다.<sup>18)</sup> 이러한 한계를 극복하고 호산구 염증을 동반하는 만성 비부비동염 모델을 만들기 위한 세가지 변화가 이루어졌는데, 동물 종의 변화, OVA의 사용 및 장기간에 걸친 비강내 자극이 그것이다. 첫째로, 과거에 BALB/c나 C3H/HeJ 마우스 종이 다른 종에 비해 초항원에 의한 염증반응이 보다 쉽게 일어난다는 보고가 있었기 때문에 랫드를 대신하여 BALB/c 마우스를 사용키로 하였다.<sup>19)</sup> 둘째로, 천식을 동반한 비강폴립 환자의 조직에서 SEA, SEB 특이 IgE 항체가 상승되어 있다는 보고를 바탕으로 IgE 항체 반응을 유의하게 증가시킬 수 있도록 OVA 자극을 추가하기로 하였다.<sup>7)</sup> 마지막으로, 3개월 이상의 장기적

인 비강내 자극을 통해 만성 염증을 유도하기로 하였으며 이러한 변화를 통한 새로운 마우스 모델 제작 프로토콜은 당시 경상대학교에 근무중이던 김대우 교수에 의해 확립되었다.<sup>6)</sup> 프로토콜을 간략히 설명하면, BALB/c 마우스에서 2회의 OVA 복강내 투여로 전신감작을 유도한 뒤 실험 12일째부터 1주일간 매일 3% OVA로 비강내 자극을 시행하여 비강내 호산구 염증을 유발한다. 이후 12주에 걸쳐 매주 3회 OVA를 비강내 투여하며, 12주 기간 중 후반 8주 동안에는 매주 1회 SEB 비강내 투여를 추가로 시행한다. 12주에 걸친 OVA 자극 기간 중 4주 간격으로 마우스 비강의 조직학적 변화를 확인한 결과, 첫 4주 동안에는 경미한 호산구성 점막 염증 및 삼출액 소견이 관찰되고, 8주 간의 OVA 자극 후에는 점막 염증이 심해지면서 표면이 불규칙해지고, 삼출액의 양과 염증세포의 수가 증가하는 소견이 보였다. 12주의 OVA 자극이 완료된 후에는 사람의 비강 폴립 소견과 유사한 병변이 확인되었으며, 이는 후각 상피와 호흡 상피의 경계 부위에서 두드러지게 나타났다. 이러한 폴립양 병변은 호산구 침윤과 부종을 동반하였으며 상피 파열(epithelial rupture) 및 상피 재생(epithelial regrowth) 소견과 신생 분비샘 생성(new gland formation) 등의 소견도 관찰되어 단순 점막부종과는 다른 양상을 보였으며, 사람의 비강 폴립 소견과 매우 유사한 모습을 보였다.<sup>6)</sup>

한편, 사람의 비강 폴립에 있어 서양인의 경우 Th2에 편향된 염증반응을 보이는 반면, 동양인의 경우 Th2 염증뿐만 아니라 Th1 및 Th17 염증 반응도 같이 증가하는 양상을 보인다는 것이 잘 알려져 있다.<sup>20)</sup> 흥미로운 점은 저자들의 마우스 비강 폴립 모델에서 채취한 비부비동 점막을 분석해 보면, Th2 면역 반응과 관계된 IL-4, IL-5, IL-13 등의 사이토카인 뿐만 아니라 Th1 면역 반응과 관계된 interferon(IFN)- $\gamma$ 와 Th17 반응과 연관된 IL-17 등 다양한 염증성 사이토카인이 증가되는 양상을 보여 동양인의 폴립과 면역학적 특성이 닮은 점을 확인할 수 있다.<sup>21)</sup> 이러한 점을 고려해볼 때 저자들의 마우스 모델이 특히 동양인의 비강 폴립을 연구하는 데 있어 도움이 되는 모델이 될 수 있을 것이라 조심스럽게 예측해 볼 수 있다.

## 마우스 비강 폴립 모델의 활용: 새로운 치료제 개발 및 위험 인자 관련 연구

### Resveratrol

Resveratrol은 강력한 cyclooxygenase(COX) inhibitor로 잘 알려진 천연물질이며, 항염증 및 항산화 효과를 가져 항암 효과와 심혈관계 질환 예방효과가 있으며, 하등 동물에서는

수명 연장의 효과도 있는 것으로 보고된 물질이다. 포도껍질에도 함유가 되어 있어, 포도주가 심혈관계 질환 예방효과를 보인다는 연구결과와 함께 1990년대 후반에 주목을 받은 바 있다.<sup>22)</sup> 또한, 기존 동물 실험에서 2,000 mg/kg 이상의 매우 고농도에서만 신독성 등의 부작용을 보이는 등 안전성이 확인되어 인체 투여도 가능하다.<sup>23)</sup> 저자들은 이러한 resveratrol의 특성이 폴립 및 호산구성 염증에 대한 효과적 이면서 안전한 치료제가 될 수 있을 것으로 가정하고 실험을 진행하였다. 비강 폴립에 대한 치료효과가 잘 알려진 글루코코르티코이드 중 triamcinolone acetonide(TAC)를 비교 약물로 선정하고, resveratrol 투여군을 저용량(0.5 mg/kg)과 고용량(5 mg/kg)의 두 군으로 나눠서 실험을 진행하였다.<sup>24)</sup> 실험 결과, 폴립의 수가 전체적으로 많지 않아 통계적인 유의성을 확보할 수는 없었지만 TAC 및 고용량 resveratrol 투여군에서 폴립의 수가 감소하는 양상을 보였으며, 이와 유사하게 호산구의 침윤도 TAC 및 고용량 resveratrol 투여군에서 뚜렷이 감소하였다. 또한, 정량적 실시간 중합효소연쇄반응(Quantitative real-time PCR, qPCR)을 통해 마우스 비점막에서 IL-4와 IL-5의 생산이 유의하게 감소한 결과를 확인하여 조직학적 소견을 뒷받침하였다. 한편, 폴립 치료 효과를 보이는 글루코코르티코이드가 아라키돈산의 대사과정 중 COX뿐만 아니라 lipo-oxygenase(LOX)도 억제한다는 점에 착안하여, resveratrol이 LOX 억제를 통해 폴립 치료효과를 보이는지를 확인하였다. 면역조직화학염색(immunohistochemistry, IHC), Western blot 분석에서 고용량의 resveratrol이 COX 뿐만 아니라 LOX 억제 효과를 보이며 이와 연관된 효소인 prostaglandin D synthase 및 leukotriene C<sub>4</sub> synthase의 생성 또한 억제하는 현상을 qPCR로 확인하였다. 저자들은 이러한 결과를 바탕으로 resveratrol이 안전하면서도 효과적인 비강 폴립 치료제가 될 가능성을 제시하였다.<sup>24)</sup>

### Periostin

Periostin은 최근 천식을 비롯한 알레르기 질환의 병태생리와 관련하여 많은 연구가 이루어지고 있는 단백질로 마우스의 골외막(periosteum)에서 처음 발견되었으며 골형성 전구세포의 이동 및 생착에 관여하는 것으로 알려져 있다.<sup>25)</sup> 이 밖에도 periostin은 심장의 발생, 상처 치유에 관여하며 일부 호산구성 질환 및 종양의 발생과 연관이 있는 것으로 알려져 있는데, 아스피린 과민성을 보이는 비강 폴립 환자의 비부비동 점막에서 단백 마이크로어레이를 시행했을 때 대조군 환자에 비해 여러 유전자 중 periostin 발현이 뚜렷하게 증가하는 것이 보고된 바 있다.<sup>26)</sup> 저자들은 이러한 보고



를 바탕으로 periostin 차단을 통해 폴립 치료 효과를 보일 수 있을 것이라는 가정하에 periostin 결손(knock-out) 마우스를 이용하여 이를 밝히고자 하였다. B6; 129-Postn<sup>tm1Jmol/J</sup> 마우스를 실험군으로 하고, C57BL/6J 마우스를 대조군으로 실험을 진행하였으며, BALB/c 마우스에 비해 호산구성 염증이 덜 생기는 특성을 감안하여 기존 프로토콜보다 2배 농도인 6% OVA로 비강내 자극을 시행하였다. 실험 결과, C57BL/6J 마우스에서 OVA와 SEB를 같이 투여한 경우 OVA만을 투여한 군에 비해 점막의 두께 및 periostin의 발현 정도가 증가하여 기존 보고와 일치하는 모습을 보였다. 하지만, 처음 가설과는 반대로 periostin 결손 마우스에서 폴립의 수가 증가하는 경향을 보였으며, 호산구 및 비만세포의 침윤 또한 증가하는 경향을 보여 periostin이 염증반응을 증가시키는 것이 아니라 과도한 염증반응에 대한 방어기전으로 증가한다는 사실을 확인하였다.<sup>27)</sup>

#### Topical Hypoxia inhibiting factor(HIF)-1 $\alpha$ inhibitors

HIF-1 $\alpha$ 는 생명체가 저산소증에 대처하는 데 있어 필수적인 단백질인데, HIF-1 $\alpha$ 의 과발현이 종양의 발생과 연관되어 있다는 사실이 잘 알려져 있다. 한편, 상피세포의 중간엽 세포로의 전환(epithelial-to-mesenchymal transition, EMT)은 종양의 조직 침윤에 있어 중요한 역할을 한다고 알려져 있으며, 저산소 환경에서 HIF-1 $\alpha$ 에 의해 EMT 현상이 유도된다는 보고가 있었다.<sup>28)</sup> 이에 착안하여 서울대학교 약리학교실 신현우 교수가 이러한 EMT 현상이 비강 폴립에서도 보인다는 사실을 밝혔다.<sup>29)</sup> 이러한 결과에 근거하여 HIF-1 $\alpha$  차단제를 사용하면 EMT 현상을 억제할 수 있고, 이는 비강 폴립에 대한 치료효과로 나타날 것이라는 가설을 세울 수 있고, 저자들은 이를 실험을 통해 증명하였다. 즉, HIF-1 $\alpha$  차단제인 2-methoxyestradiol(ME)와 17-allylaminogeldanamycin(AAG)를 마우스의 비강 내로 투여하였으며, 이를 통해 폴립 수의 감소 효과를 확인할 수 있었다.<sup>29)</sup>

#### Smoking

흡연은 폐기종, 만성폐쇄성폐질환 및 천식 등의 기도 염증성 질환의 위험인자임은 잘 알려져 있다.<sup>30)</sup> 과거에 흡연이 부비동 내시경 수술 후 비강 폴립의 재발에 관여한다는 보고가 있었는데,<sup>31)</sup> 단국대학교 모지훈 교수를 비롯한 연구진이 마우스 모델을 이용하여 흡연이 비강 폴립에 미치는 영향을 규명하는 연구를 진행하였다. 실험 결과 담배연기에 노출된 폴립 모델 마우스가 그렇지 않은 폴립 모델 마우스에 비해 폴립의 개수 및 호산구 침윤이 증가할 뿐만 아니라 배상세포(Goblet cell)의 증식이 유도되고 비장세포(spleno-

cyte)에서 IL-4, IL-6, IL-17A 등 다양한 사이토카인이 유의하게 증가된 소견을 확인할 수 있었다. 또한, 해당 연구진은 비강 상피 세포 내의 vascular endothelial growth factor (VEGF)와 HIF-1 $\alpha$ 의 발현도 흡연에의 노출에 따라 증가함을 확인함으로써, 흡연이 비강 폴립과 관련된 염증을 악화시키며 이 과정에 VEGF와 HIF-1 $\alpha$ 가 관여할 것이라는 점을 밝혔다.<sup>21)</sup>

#### Topical cyclosporine

Cyclosporine은 calcineurin의 phosphatase 활성을 차단함으로써 강력한 T세포 억제 효과를 보이는 약물이다.<sup>32)</sup> Cyclosporine은 간이식 수혜자의 면역 억제제로 처음 사용이 되었으나 현재는 전신적 투여에 따른 부작용을 피하면서 알레르기결막염, 아토피피부염 환자 중 기존의 치료법에 반응하지 않는 환자에서 대안적인 국소 치료제로 사용이 되고 있으며, 특히 스테로이드에 효과를 보이지 않거나 녹내장 등의 부작용으로 쓸 수 없는 중등도-중증 알레르기결막염 환자에서는 선택약제이다.<sup>33)</sup> 국소 치료제로서의 cyclosporine의 안전성은 여러 차례 보고된 바가 있어 저자들은 국소 cyclosporine 투여가 비강 폴립의 치료에 있어서도 안전한 대안 치료법이 될 수 있을 것이라 가정하고 실험을 진행하였다. TAC의 국소 혹은 전신 투여 마우스를 양성 대조군으로 하였으며, cyclosporine의 국소 투여를 통해 호산구 침윤이 감소하고, 비부비동 점막 내의 tumor necrosis factor (TNF), interleukin(IL)-2, IL-4, IL-5, IL-13, IL-17A 등의 사이토카인 분비가 유의하게 감소함을 확인하였다.<sup>34)</sup>

## 결 론

SEB 투여에 의한 비강 폴립 마우스 모델은 반복적으로 재현 가능한 안정적인 모델이며, 조직학적 및 면역학적으로 사람의 폴립 조직과 유사한 특성을 보인다. 따라서 상기 모델은 비강 폴립에 대한 새로운 치료제 개발 혹은 병태생리 연구를 위해 유용하게 쓰일 수 있는 좋은 모델로 생각되며, 저자들은 본문에서 밝힌 일련의 실험을 통해 그 유용성을 확인하였다.

중심 단어 : 동물모델 · 마우스 · 비강 폴립 · 부비동염 치료제.

## REFERENCES

- 1) Banerji A, Piccirillo JF, Thawley SE, Levitt RG, Schechtman KB, Kramper MA, et al. Chronic rhinosinusitis patients with polyps or polypoid mucosa have a greater burden of illness. American Journal

- of Rhinology 2007;21(1):19-26.
- 2) Kalish L, Snidvongs K, Sivasubramaniam R, Cope D, Harvey RJ. Topical steroids for nasal polyps. *Cochrane Database Syst Rev* 2012; 12:CD006549.
- 3) Benítez P, Alobid I, De Haro J, Berenguer J, Bernal-Sprekelsen M, Pujols L, et al. A short course of oral prednisone followed by intra-nasal budesonide is an effective treatment of severe nasal polyps. *Laryngoscope* 2006;116(5):770-5.
- 4) Bachert C, Watelet JB, Gevaert P, Van Cauwenberge P. Pharmacological management of nasal polyposis. *Drugs* 2005;65(11):1537-52.
- 5) Gevaert P, Van Bruaene N, Cattaert T, Van Steen K, Van Zele T, Acke F, et al. Mepolizumab, a humanized anti-IL-5 mAb, as a treatment option for severe nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol* 2011;128(5):989-95 e1-8.
- 6) Kim DW, Khalmuratova R, Hur DG, Jeon SY, Kim SW, Shin HW, et al. Staphylococcus aureus enterotoxin B contributes to induction of nasal polypoid lesions in an allergic rhinosinusitis murine model. *Am J Rhinol Allergy* 2011;25(6):e255-61.
- 7) Bachert C, Gevaert P, Holtappels G, Johansson SG, van Cauwenberge P. Total and specific IgE in nasal polyps is related to local eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107(4):607-14.
- 8) Bachert C, van Zele T, Gevaert P, De Schrijver L, Van Cauwenberge P. Superantigens and nasal polyps. *Curr Allergy Asthma Rep* 2003; 3(6):523-31.
- 9) Van Zele T, Gevaert P, Watelet JB, Claeys G, Holtappels G, Claeys C, et al. Staphylococcus aureus colonization and IgE antibody formation to enterotoxins is increased in nasal polyposis. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114(4):981-3.
- 10) Van Zele T, Gevaert P, Holtappels G, van Cauwenberge P, Bachert C. Local immunoglobulin production in nasal polyposis is modulated by superantigens. *Clin Exp Allergy* 2007;37(12):1840-7.
- 11) Lin A, Busaba NY. Staphylococcus aureus and endoscopic sinus surgery. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2006;14(1):19-22.
- 12) Jarraud S, Peyrat MA, Lim A, Tristan A, Bes M, Mougél C, et al. egc, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in Staphylococcus aureus. *J Immunol* 2001; 166(1):669-77.
- 13) Norlander T, Fukami M, Westrin KM, Stierna P, Carlsoo B. Formation of mucosal polyps in the nasal and maxillary sinus cavities by infection. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1993;109(3 Pt 1):522-9.
- 14) Norlander T, Westrin KM, Fukami M, Stierna P, Carlsoo B. Experimentally induced polyps in the sinus mucosa: a structural analysis of the initial stages. *Laryngoscope* 1996;106(2 Pt 1):196-203.
- 15) Sejima T, Kajiura D, Kikuchi H, Imayoshi S, Yamauchi T, Ichimura K. Experimentally induced eosinophilic polyps in rabbit sinuses. *Am J Rhinol Allergy* 2010;24(5):341-7.
- 16) Kim HS, Jeon SY, Ahn SK, Kim JP, Park JJ, Jeong JH, et al. A Rat Model of Acute Bacterial Rhinosinusitis Induced by Staphylococcus Aureus. *Korean J Otolaryngol-Head Neck Surg* 2005;48(6): 735-40.
- 17) Khalmuratova R, Jeon SY, Ahn SK, Kim JP, Park JJ, Lim JB, et al. A Rat Model of Acute Rhinosinusitis Induced by Alpha-Toxin of Staphylococcus Aureus. *J Rhinol* 2007;14(1):21-6.
- 18) Ahn SK, Jeon SY, Khalmuratov R, Kim DJ, Kim JP, Park JJ, et al. Rat Model of Staphylococcal Enterotoxin B-Induced Rhinosinusitis. *Clin Exp Otorhinolaryngol* 2008;1(1):24-8.
- 19) Saloga J, Gelfand EW, Knop J. Superantigens. *Exp Dermatol* 1996; 5(2):65-71.
- 20) Zhang N, Van Zele T, Perez-Novo C, Van Bruaene N, Holtappels G, DeRuyck N, et al. Different types of T-effector cells orchestrate mucosal inflammation in chronic sinus disease. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122(5):961-8.
- 21) Lee KI, Kim DW, Kim EH, Kim JH, Samivel R, Kwon JE, et al. Cigarette smoke promotes eosinophilic inflammation, airway remodeling, and nasal polyps in a murine polyp model. *Am J Rhinol Allergy* 2014;28(3):208-14.
- 22) Pezzuto JM. The phenomenon of resveratrol: redefining the virtues of promiscuity. *Ann N Y Acad Sci* 2011;1215:123-30.
- 23) Edwards JA, Beck M, Riegger C, Bausch J. Safety of resveratrol with examples for high purity, trans-resveratrol, resVida (R). *Ann N Y Acad Sci* 2011;1215:131-7.
- 24) Kim SW, Kim DW, Khalmuratova R, Kim JH, Jung MH, Chang DY, et al. Resveratrol prevents development of eosinophilic rhinosinusitis with nasal polyps in a mouse model. *Allergy* 2013;68(7): 862-9.
- 25) Horiuchi K, Amizuka N, Takeshita S, Takamatsu H, Katsuura M, Ozawa H, et al. Identification and characterization of a novel protein, periostin, with restricted expression to periosteum and periodontal ligament and increased expression by transforming growth factor beta. *J Bone Miner Res* 1999;14(7):1239-49.
- 26) Stankovic KM, Goldshtein H, Reh DD, Platt MP, Metson R. Gene expression profiling of nasal polyps associated with chronic sinusitis and aspirin-sensitive asthma. *Laryngoscope* 2008;118(5):881-9.
- 27) Kim SW, Kim JH, Jung MH, Hur DG, Lee HK, Jeon SY, et al. Periostin may play a protective role in the development of eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps in a mouse model. *Laryngoscope* 2013;123(5):1075-81.
- 28) Zhou G, Dada LA, Wu M, Kelly A, Trejo H, Zhou Q, et al. Hypoxia-induced alveolar epithelial-mesenchymal transition requires mitochondrial ROS and hypoxia-inducible factor 1. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2009;297(6):L1120-30.
- 29) Shin HW, Cho K, Kim DW, Han DH, Khalmuratova R, Kim SW, et al. Hypoxia-inducible factor 1 mediates nasal polypogenesis by inducing epithelial-to-mesenchymal transition. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 2012;185(9):944-54.
- 30) Romero Palacios PJ. [Asthma and tobacco smoke]. *Arch Bronconeumol* 2004;40(9):414-8.
- 31) Ramadan HH, Hinerman RA. Smoke exposure and outcome of endoscopic sinus surgery in children. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;127(6):546-8.
- 32) Matsuda S, Koyasu S. Mechanisms of action of cyclosporine. *Immunopharmacology* 2000;47(2-3):119-25.
- 33) Pacharn P, Vichyanond P. Immunomodulators for conjunctivitis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2013;13 (5):550-7.
- 34) Chang DY, Joo YH, Kim SJ, Kim JH, Jung MH, Kim DW, et al. Therapeutic effects of intranasal cyclosporine for eosinophilic rhinosinusitis with nasal polyps in a mouse model. *Am J Rhinol Allergy* 2015;29(1):29-32.