

천식에서 세포배양 분획을 이용한 단백질의 규명을 통한 기도상피세포 자가항원의 단백질 분석

전남대학교 의과대학 알레르기내과

고 영 일

알레르기 천식은 외부의 흔한 항원에 대한 Th2-매개성 반응에 의해 감작되고 이후 반복적인 노출에 의해 기도에 알레르기 만성염증이 발생하는 질환으로 성인 천식의 30~70% 정도를 차지하고 있다. 나머지 천식환자들에서는 항원에 대한 감작 증거, 즉 피부단자시험 양성 또는 혈청 특이 IgE 검출 등을 관찰할 수 없는 경우들이 많다. 이러한 경우를 흔히 비알레르기 천식 또는 내인성 천식으로 명명한다. 40세 이상 성인에서 처음으로 발생한 중증 천식의 약 50% 정도에서 비알레르기 천식을 보인다.

비알레르기 천식의 병인기전에 대해서는 잘 알려져 있지 않다. 피부시험에 포함되어 있지 않은 다른 외부 항원에 의한 알레르기 천식으로 간주하기도 하고, 항원에 대한 감작이 국소적으로 기도점막에만 국한되어 발생하는 것으로 주장하기도 한다. 바이러스에 대한 면역반응, 세균의 초항원(superantigen)에 대한 면역반응, 또는 *Chlamydia*, *Mycoplasma* 세균에 의한 만성염증에 의해 발생하는 것으로도 보고되고 있다. 이외에 자가면역 기전에 의해 비알레르기 천식이 발생할 가능성을 제안하고 있다.¹⁾

1980년 비알레르기 천식환자의 혈청 내에 자가면역 항체들의 존재가 보고된²⁾ 이후 천식에서 자가면역 기전의 역할을 고려하게 되었다. 비알레르기 천식환자의 혈청 내에 혈소판과 혈관 내피세포의 55-kD 자가항원 단백질에 대한 IgG 자가항체의 존재가 보고되었고,³⁾ 비알레르기 천식환자에서 기도 상피세포의 49 kD cytokeratin 18 항원 또는 52-kD α -enolase 항원에 대한 IgG 자가항체의 존재가 보고되었다.^{4,5)}

자가항원에 대한 자가항체는 IgG 이외에도 IgE 항체에 의해서 작용할 가능성이 있다.⁶⁾ 아토피 피부염 환자들의 혈청에서 세포 내 단백질인 Hom s 1-5 또는 DFS70 등에 대한 IgE 자가항체의 존재가 보고되어 있다.^{7,8)} 천식환자에서도 IgE 자가항체의 존재를 생각해 볼 수 있을 것이다.

자가면역 기전은 비알레르기뿐만 아니라 알레르기 천식에서도 일부에서는 병인으로 작용할 가능성도 있다. 알레르기 천식 환자의 혈청에서 베타수용체에 대한 자가항체가 발견되었으며, 항체에 의해 베타수용체의 반응이 감소되었을 가

능성을 제안하였다.⁹⁾ 또한 기도 상피세포의 cytokeratin 18 또는 α -enolase 항원에 대한 IgG 자가항체가 알레르기 천식환자의 혈청에서도 검출되었다.^{4,5)}

천식에서 자가면역 병인기전을 연구함에 있어 자가항체와 결합하는 주요 자가항원 단백질을 찾아내는 일은 중요하다. 천식의 발병에 직접적으로 관여하는 주요 자가항원을 발견하여 천식의 자가면역 관련 병인기전을 밝히고, 향후 효과적인 면역조절제 개발을 모색해 볼 수 있기 때문이다. 기도 상피세포는 바이러스나 외부 자극에 대한 손상을 쉽게 받을 수 있고 노출된 단백질에 의해 자가면역 반응이 유발될 수 있기 때문에, 기도 상피세포 내의 단백질을 우선 후보 물질로 분석하는 것이 효과적일 것이다.

기존의 기도 상피세포 단백질 관련 연구에서는 배양된 전체 기도 상피세포로부터 단백질을 추출하여 자가항원을 분석하였다.^{4,5)} 이러한 방법은 실제적으로는 상피세포를 배양한 후 배양액을 제거하고 죽거나 노화된 세포들을 인산화 완충식염수로 세척한 후 주로 세포배양 접시의 바닥에 부착되어 있는 세포들을 물리적으로 분리하여 얻은 용해액(lysates)을 이용하여 단백질을 분석한 것이다. 그러나 이번에 발표된 이 등¹⁰⁾에 의한 연구에서는 “cultured cell fractionation method”라는 새로운 방법을 사용하여 기존에 알려지지 않은 새로운 자가항원을 발견하고자 하였다. 기도 상피세포를 배양하고 배양접시의 플라스틱 표면에 대한 부착강도가 약한 노화 세포 분획과 강하게 부착되어 자라는 젊은 세포 분획을 따로 분리하여 단백질을 분석하였고, 노화 세포 분획에서 95 kD α -actinin 4라는 새로운 자가항원 단백질을 발견하였다. 이러한 자가항원이 젊은 세포 분획에서는 관찰되지 않은 점으로 볼 때 기존에 사용해 왔던 방법으로는 발견하지 못했을 가능성이 높다. 따라서 이 등¹⁰⁾이 사용한 단백질 분석방법은 향후 천식에서 자가면역 기전으로 작용하는 새로운 주요 자가항원 단백질을 밝혀내는데 중요한 역할을 할 것으로 기대된다.

새로운 배양방법에 의해 밝혀진 새로운 자가항원 단백질이 천식에서 어떤 임상적 의의를 가질 지는 아직 모른다. 이 등¹⁰⁾의 연구를 보면 중증 천식환자 8예 중 단 1예에서만 α -

actinin 4에 대한 자가항체가 혈청에서 검출되었다. α -actinin 4 항원 단백질에 대한 자가항체가 실제 천식의 병인기전에 관여하는지, 천식의 기도염증에 의해 나타난 이차적인 현상인지, 또는 천식과 관계없는 다른 원인에 의해 양성으로 나온 것인지 등에 대한 연구가 더 필요하다. 향후 대규모 임상 연구를 통하여 새롭게 밝혀진 자가항체의 유무를 재확인하고 천식 표현형과의 관련성을 분석하고, 더 나아가서는 동물 실험을 통하여 자가항원의 천식에서의 역할을 규명해 볼 필요가 있을 것으로 생각된다. 또한 α -actinin 4가 배양된 젊은 기도 상피세포에서는 발현되지 않고 노화된 세포에서만 발현된 이유도 따로 존재할 지도 모른다.

천식은 발열(fever)처럼 단일 질환(single disease)이라기보다는 하나의 증상(symptom)으로 간주될 수 있다.¹¹⁾ 즉 표현형이 서로 다른 다양한 천식이 존재할 수 있고, 표현형에 따라 서로 다른 병인기전이 관여할 수 있다는 의미이다. 자가면역 반응을 병인기전으로 하는 천식의 존재를 충분히 고려할 수 있다. 향후 지속적인 연구를 통해서 천식의 병인기전에서 자가면역반응의 역할을 규명하고, 자가면역에 의해 발생하는 천식 표현형에 효과적인 새로운 천식치료제가 개발되길 기대해 본다.

참 고 문 헌

- 1) Rottem M, Shoenfeld Y. Asthma as a paradigm for autoimmune disease. *Int Arch Allergy Immunol* 2003;132:210-4
- 2) Lidor Y, Topilsky M, Spitzer SA, Yehoshua H. Autoimmune antibodies in intrinsic (non-atopic) asthma. *Ann Allergy* 1980; 44:296-8
- 3) Lassalle P, Delneste Y, Gosset P, Gras-Masse H, Wallaert B, Tonnel AB. T and B cell immune response to a 55-kDa endothelial cell-derived antigen in severe asthma. *Eur J Immunol* 1993;23:796-803
- 4) Nahm DH, Lee YE, Yim EJ, Park HS, Yim H, Kang Y, et al. Identification of cytokeratin 18 as a bronchial epithelial autoantigen associated with nonallergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:1536-9
- 5) Nahm DH, Lee KH, Shin JY, Ye YM, Kang Y, Park HS. Identification of alpha-enolase as an autoantigen associated with severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:376-81
- 6) Zeller S, Glaser AG, Vilhelmsson M, Rhyner C, Cramer R. Immunoglobulin-E-mediated reactivity to self antigens: a controversial issue. *Int Arch Allergy Immunol* 2008;145:87-93
- 7) Valenta R, Seiberler S, Natter S, Mahler V, Mossabeh R, Ring J, et al. Autoallergy: a pathogenetic factor in atopic dermatitis? *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:432-7
- 8) Ochs RL, Muro Y, Si Y, Ge H, Chan EK, Tan EM. Auto-antibodies to DFS 70 kd/transcription coactivator p75 in atopic dermatitis and other conditions. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105:1211-20
- 9) Harrison LC, Callaghan J, Venter JC, Fraser CM, Kaliner ML. Atopy, autonomic function and beta-adrenergic receptor auto-antibodies. *Ciba Found Symp* 1982;90:248-62
- 10) Lee HA, Lee YJ, Kweon B, Choi GS, Park HJ, Ye YM, et al. Proteomic analysis of airway epithelial cell autoantigens associated with bronchial asthma: target protein identification using cultured cell fractionation method. *Korean J Asthma Allergy Clin Immunol* 2008 (in press)
- 11) Harding A. Fernando martinez: seeking to solve the puzzle of asthma. *Lancet* 2006;368:725