

마우스 천식모델에서 알레르겐 유발 후 기도 염증세포 및 골수 호산구 전구세포의 변화

경북대학교 의과대학 내과학교실
서영익 · 이종명 · 김능수

Changes in airway eosinophils and bone marrow eosinophil progenitors following allergen-challenge in mouse model of asthma

Young-Ik Seo, Jong-Myung Lee and Nung-Soo Kim

Department of Internal Medicine, Kyungpook University Medical School, Daegu, Korea

Background: Eosinophilic airway inflammation is a characteristic feature of bronchial asthma. Recent studies showed that increased production and release of eosinophils from bone marrow(BM) might be the essential step in the development of eosinophilic airway inflammation. To testify the hypothesis that increase in BM eosinophil production may be an important determinant of the severity of airway eosinophilia, their relationship was studied in a mouse model of allergic airway inflammation.

Methods: BALB/c mice were sensitized with intraperitoneal ovalbumin adsorbed to aluminum potassium sulfate, followed by challenges with intranasal ovalbumin on two consecutive days. Saline was used for sensitization and challenge in control mice. Bronchoalveolar lavage(BAL) was performed at 24 h after last nasal challenge, immediately followed by BM cell harvest from the femurs. The severity of airway inflammation was assessed as BAL eosinophilia, and the capacity of BM eosinophil production was assessed as BM eosinophil colony forming units(Eo-CFUs) using a semisolid culture assay.

Results: There was a significant increase in the percentage of BAL eosinophils and lymphocytes with a resultant decrease in the percentage of alveolar macrophages in the ovalbumin-treated mice, compared with the saline-treated mice($p < 0.05$, respectively). Change in the percentage of neutrophils was not statistically significant. Compared with the saline-treated mice, the number of BM Eo-CFUs was significantly increased in the ovalbumin-treated mice($p < 0.05$). But the number of BM Eo-CFUs was not correlated significantly with the number of eosinophils in BAL fluid in the ovalbumin-treated mice.

Conclusion: Respiratory exposure to allergen induced not only airway eosinophilia but also BM eosinophilopoiesis in this mice model of asthma. However there was no direct relationship between BM eosinophilopoiesis and airway eosinophilia, suggesting that the capacity of eosino-

통신저자 : 경북의대 내과 이종명
대구광역시 중구 삼덕동 2가 50번지(☎ 700-412)
e-mail : jomlee@knu.ac.kr
접수 : 2002년 3월 19일, 통과 : 2002년 6월 3일

phil production in BM may not an important determinant of severity of airway eosinophilia. (*J Asthma Allergy Clin Immunol* 22: 685-94, 2002)

Key words : asthma, airway inflammation, eosinophil, progenitor, bone marrow

서 론

기관지 천식은 비특이적 기도과민증과 간헐적이고 가역적인 기도폐색을 특징으로 하는 질환으로 정의되어 왔다¹⁾. 그러나 기관지내시경의 발달로 기도의 생검이나 기관지폐포세척술(bronchoalveolar lavage, BAL)을 이용하여 병소에 대한 직접적인 관찰 혹은 검사가 가능해짐에 따라, 기도의 알레르기성 염증이 이 질환에서 가장 핵심적인 소견으로 천식의 개념이 바뀌게 되었다^{2,3)}. 알레르기성 염증 반응에서 가장 뚜렷한 병리학적 특징의 하나는 호산구의 기도내 침윤이며⁴⁻⁶⁾ 근래에는 이의 기전에 대한 많은 연구들이 진행되고 있다.

기관지천식 환자에서 알레르겐을 흡입시키면 후기반응에 일치하여 호산구를 주축으로 한 염증세포의 증가가 관찰되며, 호산구에 선택적인 접착분자 및 주성인자의 역할 등이 이의 중요한 기전으로 제시되고 있다^{7,8)}. 그러나 동물실험에 의하면 접착분자나 주성인자의 역할만으로는 기도의 염증이 유도되지 않으며 혈액 내에서의 호산구 증가가 이의 발현에 필수적인 전제조건으로 보고되고 있다^{9,10)}. 이는 골수에서의 호산구 생성 혹은 유리 증가가 기도염증의 발생 및 악화에 중요한 역할을 함을 시사한다.

O'Byrne 등^{11,12)}은 천식모델의 개를 이용한 연구에서 알레르겐의 흡입은 골수에 영향을 미쳐 조혈모세포에서 특정 염증세포로의 분화가 증가됨을 관찰하였으며, 염증반응이 일어나는 기도와 염증세포의 생성기관인 골수는 상호 의존적인 신호에 의해 연결되어 있음을 주장하였다. 그러나 개를 이용한 천식모델은 기도 염증 반응에 관여하는 주된 세포가 호중구이므로 사

람에서의 천식과 근본적인 차이가 있고, 사이토카인을 비롯한 여러 염증매개체들의 분석에 어려움이 있다. 이에 비해 마우스는 알레르겐 흡입시 호산구성 기도염증이 유도되며 이와 동반된 기도과민증의 증가가 발견되는 등, 실제 사람에서의 천식과 유사한 것으로 알려져 있다¹³⁻¹⁵⁾. 뿐만 아니라 마우스는 다루기가 쉽고 많은 단클론항체들이 개발되어 있어 천식의 병태생리를 연구하는데 있어 다른 동물보다 훨씬 유리한 장점이 있다.

이에 저자는 BALB/c 마우스를 이용하여 인위적인 천식모델을 만든 다음, 이 모델을 통하여 알레르겐 유발이 골수에 미치는 영향을 연구하였다. 이를 위해 ovalbumin으로 마우스를 감작시키고 기도유발을 시행한 후 BAL을 실시하여 염증세포의 특성을 분석하고, 동시에 골수세포를 채취하여 알레르겐 유발이 골수에서의 호산구 분화에 어떤 영향을 미치는지를 조사하였다. 또한 골수에서의 호산구 분화 정도와 호산구성 기도염증의 중증도 사이의 관련성을 알아보기 위해 골수세포의 배양에서 측정된 호산구 전구세포의 수와 BAL에서 측정된 호산구 수 사이의 상관관계를 조사하였다.

재료 및 방법

1) 연구개요

생후 8-10주된 BALB/c 암컷 마우스를 대상으로 Zhang 등¹⁶⁾의 방법에 따라 ovalbumin을 알레르겐으로 이용하여 천식모델을 만들었다. 먼저 실험 1일째 ovalbumin과 항원보강제 (adjuvant)를 복강 내에 주입하여 복강 감작을 실시하였다. 실험 11일째 다시 이

를 복강 내에 주입하여 재감작을 시키고 동시에 ovalbumin만 비강 내로 투여하여 기도 감작을 시행하였다. 실험 19일째 및 20일째 ovalbumin을 비강 내로 투여하여 알레르겐 기도유발을 실시하였다. 실험 21일째(마지막 알레르겐 투여 24시간 후) 쥐를 마취시킨 상태에서 BAL을 시행하고, 곧바로 쥐를 희생시킨 후 골수세포를 채취하였다.

2) 마우스의 감작 및 알레르겐 유발(Fig. 1)

마우스 복강 감작에 사용된 용액의 제조법은 다음과 같다. 먼저 10% aluminum potassium sulfate(sigma, st. louis, MO, USA) 500 mg을 증류수 5 mL에 녹여 용액 A(항원보강제)를 만들고 0.05% ovalbumin(sigma, st. louis, MO, USA) 2 mg을 생리식염수 5 mL에 녹여 용액 B(알레르겐)를 만들었다. 용액 A와 B를 동량 섞은 다음, 2.5 N NaOH을 이용하여 pH를 6.5로 조절한 후 실온에 40분 가량 방치하였다. 이를 원심분리하여 상청액은 버리고 침전물을 생리식염수에 재부유 시킨 후 다시 원심분리하였다. 이 과정을 2-3회 반복하여 여분의 항원보강제를 제거한 후 침전된 알레르겐-항원보강제 복합체를 5 mL의 생리식염수에 섞어 1 mL 주사기를 이용하여 쥐의 복강에 주입하였다(3.2 mg /kg). 비강 감작 및 비강 유발을 위해서는 4 mg의 ovalbumin을 1 mL의 생리식염수에 녹인 후 피펫을 이용하여 가볍게 마취된 쥐의 콧구멍을 통해 투여하였다(4 mg/kg).

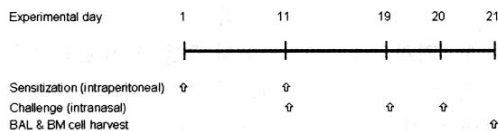


Fig. 1. Experimental protocol.

2) 기관지폐포세척

70% 알코올로 흉부를 적신 다음, 가위를 이용하여 목과 흉부를 절개하고 기관을 노출시켰다. 노출된 기관의 근위부를 약간 절개한 후 카테터(blunted 18-gauge needle)를 기도 내에 삽입하고 실로 고정한다. 다음, 1 mL 주사기를 이용하여 250 µl의 인산완충 생리식염수(phosphated buffered saline, PBS)로 2차례에 걸쳐 BAL을 시행하였다. 회수된 BAL액의 일부를 취하여 혈구계산기(hemocytometer)로 총세포수를 계측하였다. 남은 BAL액을 PBS를 이용하여 세포수를 5×10^5 cells/mL로 조정된 후, cytocentrifuge(Cytospin 2, shandon, runcorn, UK)하여 슬라이드를 만들었다. Cytospin 슬라이드는 Diff-Quik 염색을 한 후, 광학현미경 하에서 400개의 세포를 계측하여 폐포대식세포, 림프구, 호중구, 호산구를 감별 계산하였다.

3) 골수세포의 채취

먼저 쥐를 희생시키고 70% 알코올로 쥐의 다리를 소독한 후, 가위를 이용하여 다리에서 대퇴골을 분리하였다. 근육 등의 연부조직을 대퇴골로부터 제거한 다음, McCoy's 3+ 용액이 채워진 주사기를 이용하여 대퇴골의 골수를 세척하여 골수세포를 튜브에 모았다. 이 세포 부유액을 18G, 20G, 22G 주사침을 차례로 이용하여 몇 차례씩 부드럽게 flushing 시켜 멎쳐진 세포들을 분리시킨 후 4°C에서 20분간 방치하여 불필요한 부스러기들을 가라앉게 한 다음, 세포부유액 층만 조심스럽게 분리하였다. 이를 65% percoll(pharmacia fine chemicals, piscataway, NJ, USA) 위에 중층 후 원심분리를 실시하고 (1,500 rpm, 30분, 4°C) 단핵구 층만 취한 다음, McCoy's 3+ 용액으로 한 차례 세척하고 다시 원심분리 하였다(1,500 rpm, 30분, 4°C). 상청액은 버리고 세포 성분만 McCoy's 3+ 용액에 재부유 시킨 후 세포배양용 플라스크(Sigma, St. Louis, MO, USA)에

서 하룻 밤 배양하였다. McCoy's 3+ 용액은 다음과 같이 제조하였다. 먼저 1 L의 증류수에 McCoy's 5A powder(sigma, st. louis, MO, USA) 한 봉지를 넣고 충분히 녹인 후 NaHCO_3 2.2gm을 첨가하여 McCoy's 5A 용액을 만들었다. 그 다음 용적표시가 된 용기에 10% fetal calf serum 75 mL(GIBCO BRL, gaithersburg, MD, USA), penicillin-streptomycin solution 5 mL(Sigma, 최종농도: penicillin 50 U/mL, streptomycin 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 2-mercaptoethanol 5 mL(sigma, 최종농도: $5 \times 10^{-5}\text{M}$)를 넣은 후 McCoy's 5A 용액으로 총 양이 500 mL가 되도록 조정하였다.

4) 호산구 전구세포의 측정

호산구 전구세포(eosinophil colony-forming unit: Eo-CFU)의 측정은 Inman 등¹⁷⁾의 방법을 이용하였다. 먼저 플라스크에서 골수세포를 하룻 밤 배양한 다음, 플라스크에 붙지 않은 세포부유액(non-adherent BM cell suspension)을 조심스럽게 새 튜브에 옮긴 후 원심분리를 시행하였다. 이 세포부유액을 Iscove's plain 용액으로 한 차례 세척 후 0.9% methyl cellulose, 30% fetal calf serum 및 5 ng/mL 농도의 murine IL-5(R&D system, minneapolis, MN, USA)가 함유된 Iscove's 2+ 배양배지와 함께 24 well plate(Becton Dickinson, Lincoln Park, NJ, USA)에 분주하였다 (7.5×10^4 cells/ well). 이를 7일간 배양 후 (37°C with 5% CO_2) inverted microscopy를 이용하여 형성된 Eo-CFU(세포수가 40개 이상인 호산구 집락)의 수를 계측하였다(Fig. 2). Iscove's plain 및 Iscove's plain 2+ 용액의 제조는 다음과 같이 하였다. 먼저 1 L의 증류수에 Iscove's 분말(sigma, st. louis, MO, USA) 한 봉지를 넣고 충분히 녹인 후 NaHCO_3 3.024 gm을 첨가하여 Iscove's plain 용액을 만들었다. 이 용액에 penicillin-streptomycin solu-

tion(최종농도: penicillin 50 U/mL, streptomycin 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 및 2-mercaptoethanol(최종농도: $5 \times 10^{-5}\text{M}$)를 추가하여 Iscove's 2+ 용액을 제조하였다.

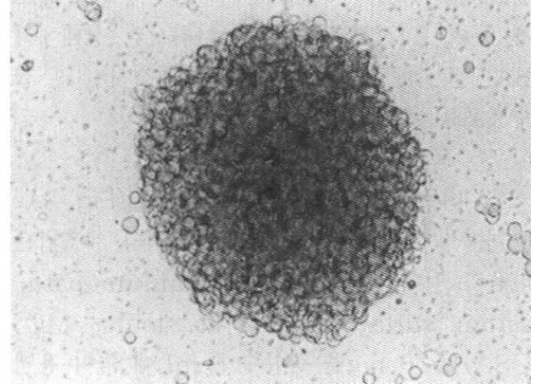


Fig. 2. Photograph of an eosinophil colony-forming unit (Eo-CFU) colony. Bone marrow cells were harvested from the femurs, 24 h after the last nasal challenge. Non-adherent bone marrow cells were cultured in semisolid media for 7 days in the presence of optimal concentration of IL-5. (Inverted microscopy, original magnification x 400)

3. 통계처리

모든 변수 측정값의 대표치는 평균 $\pm$ 표준오차로 표시하였다. 각 변수간의 통계적 검정은 SAS 컴퓨터 프로그램을 이용하여 mann-whitney U test로 분석하였으며 상관관계는 spearmans rank correlation test로 분석하였다. p 값이 0.05 이하인 경우를 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

1. 기관지폐포세척액에서 측정된 세포의 수

각각 알레르겐 및 생리식염수로 마지막 비강유발을 시행한 24시간 후에 천식유발군(n=8)과 대조군(n=8)의 기관지폐포세척액 내에서 측정된 총 세포수 및 대식세포, 중성구, 림프구 및 호산구의 수는 Table 1과 같다. 총 세포수는 천식유발군과 대조군에서 각각 $24.78 \pm$

Table 1. Cellular contents (numbers) in the bronchoalveolar lavage fluid at 24 hours after final intranasal challenge with saline or ovalbumin

	Ovalbumin sensitized/ challenged mouse (n=8)	Saline sensitized/ challenged mouse (n=8)	p value
Total cells	24.78±5.66	3.72±0.37	0.001
Macrophages	13.13±1.64	3.48±0.31	0.001
Neutrophils	1.60±0.63	0.17±0.04	0.001
Lymphocytes	0.73±0.19	0.07±0.02	0.001
Eosinophils	9.27±3.18	0.0098±0.014	0.001

Data are expressed as mean ± SD ($\times 10^4/\text{mL}$).

$5.66 \times 10^4/\text{mL}$ 개와 $3.72 \pm 0.37 \times 10^4/\text{mL}$ 개로서 천식유발군에서 유의하게 증가하였으며 ($p < 0.05$), 각 세포의 수 비교에서는 대식세포, 중성구, 림프구 및 호산구 모두 천식유발군에서 유의하게 증가하였다(각각 $p < 0.05$).

2. 기관지폐포액세척에서 측정된 세포의 백분율 (Table 2, Fig. 3)

각 세포의 백분율을 비교에서 대식세포는 천식유발군에서 유의하게 감소하였으며($p < 0.05$), 림프구 및 호산구는 천식유발군에서 유의하게 증가하였다(각각 $p < 0.05$). 중성구 백분율은 천식유발군과 대조군 사이에 유의한 차이가 없었다($p > 0.05$).

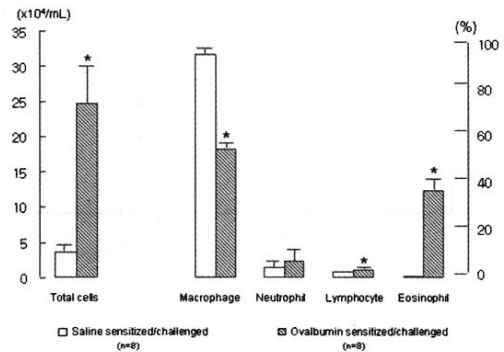


Fig. 3. Total cells(number) and differential counts(%) in the bronchoalveolar lavage fluid, 24 hours after final intranasal challenge with saline or ovalbumin (* $p < 0.05$, compared with control mice).

Table 2. Cellular contents (percentages) in the bronchoalveolar lavage fluid at 24 hours after final intranasal challenge with saline or ovalbumin

	Ovalbumin sensitized/ challenged mouse (n=8)	Saline sensitized/ challenged mouse (n=8)	p value
Macrophages	53.63±3.81	93.38±1.03	0.001
Neutrophils	6.88±3.16	4.38±0.72	0.339
Lymphocytes	3.0±0.75	2.0±0.5	0.042
Eosinophils	36.13±5.91	0.25±0.38	0.001

Data are expressed as mean ± SD (%).

3. 골수세포의 배양에서 측정된 호산구 전구세포의 수

각각 알레르겐 및 생리식염수로 마지막 비강 유발을 시행한 24시간 후에 채취한 골수세포를 배양한 다음, 세포집락 분석법(colony assay)으로 측정된 Eo-CFU의 수는 천식유발군에서 $33.25 \pm 7.69/75,000$ non-adherent BM cells로서 이는 대조군의 $22.63 \pm 5.28/75,000$ non-adherent BM cells보다 유의하게 증가하였다($p < 0.05$; Fig. 4).

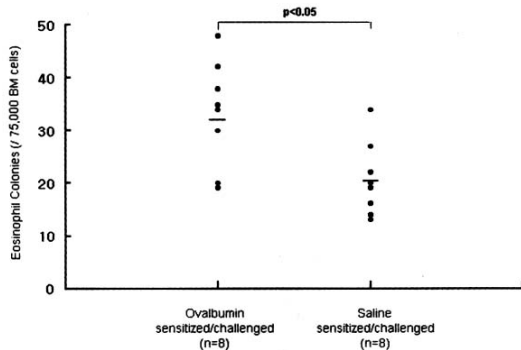


Fig. 4. Eosinophil colony-forming units growth from bone marrow aspirates. Bone marrow was aspirated 24hours after final intranasal challenge with saline or ovalbumin, and non-adherent cells were incubated for 7days in the presence of IL-5 (5 ng/mL).

4. 골수 호산구 전구세포의 수와 기관지폐포 세척액 호산구 수의 상관관계

천식유발군(n=8)의 기관지폐포세척액에서 측정된 호산구 수와 골수세포의 배양에서 측정된 호산구 전구세포 수 사이에는 유의한 상관관계가 없었다 ($r = -0.19$, $p > 0.05$; Fig. 5).

고 찰

만성적인 천식의 특징적인 병리학적 소견의 하나는 호산구의 증가이며, 이에 비해 호중구의 뚜렷한 증가는 드문 것으로 알려져 있다. 본 연구에서 BALB/c 마우스를 ovalbumin으로 감작시킨 후 비강을 통해 알레르겐 유발을 시행한 결과, 기관지폐포세척액(BALF) 내의 총

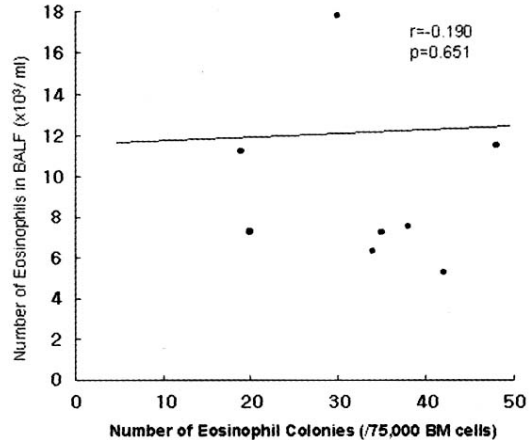


Fig. 5. Correlation between BAL eosinophils and BM eosinophil colony-forming units in the ovalbumin-sensitized and challenged mice (n=8).

세포수가 약 7배 증가하였으며 이에 따라 각각의 세포수도 유의하게 증가하였다. 그러나 백분율을 기준으로 비교하였을 때, 대조군에 비해 천식유발군에서 기도내의 호산구가 현저히 증가한 반면, 호중구는 유의한 차이를 보이지 않았다. 이는 본 연구에 이용된 동물과 감작 및 유발 방법이 호산구성 기도반응의 기전을 연구하는데 적합한 모델의 하나임을 말해준다.

저자들은 이 동물모델을 이용하여 알레르겐 흡입이 골수에서의 호산구 분화에 어떤 영향을 미치는지를 알아보기 위해 마지막 알레르겐 유발 24시간 후에 골수세포를 채취하였다. 호산구는 골수에 존재하는 조혈모세포로부터 호산구-호염기구 공통의 전구세포(Eo/B-CFU) 단계 및 호산구 전구세포(Eo-CFU) 단계를 거쳐 호산구로 분화되는데^{18,19)} 이러한 호산구 전구세포의 존재를 확인하거나 이를 정량적으로 분석하는데는 세포집락 분석법(colony assay)과 유세포분석기(flow cytometry)를 이용한 표면 표지자 분석법(surface marker assay)이 이용되고 있다^{20,21)}. 이 중 전통적으로 이용되고 있는 세포집락 분석(colony assay)은 조혈에 관여하는 사이토카인의 존재 하에 만고체 배양

배지에서 1-2 주일간 배양한 후 특정한 세포집락의 수를 측정한다. 이 때 생성되는 세포집락의 종류는 주로 사이토카인의 종류에 의해 결정되는데 IL-5의 존재 하에서는 호산구로의 분화가 유도되는 것으로 알려져 있다^{17,22)}.

저자들은 이 방법을 이용하여 IL-5의 존재 하에서 골수세포를 배양하여 Eo-CFU의 수를 조사한 결과, 대조군에 비해 천식유발군에서 Eo-CFU 수가 유의하게 증가되어 있음을 관찰하였다. 이는 알레르기 반응이 일어난 마우스의 골수에서는 조혈모세포로부터 호산구 전구세포로의 분화가 증가됨을 의미한다. 알레르겐 유발에 의한 골수 호산구 전구세포의 증가는 Th2 사이토카인이 증가되어 있는 국소환경에서 호산구의 생성 증가로 이어질 수 있으며²³⁾, 이는 골수가 천식의 병태생리에 능동적으로 관여하는 장기의 하나임을 시사한다. 또한 이 소견은 골수가 알레르기 질환에서 새로운 치료의 표적이 될 가능성을 제시하는데, 실험적으로 retinoic acid는 조혈모세포에서 호산구로의 분화를 억제하며²⁴⁾ 스테로이드도 골수에서 염증세포의 분화에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다²⁵⁾.

호산구성 염증반응은 다양한 세포와 사이토카인을 비롯한 염증매개물들의 복잡한 상호작용에 의해 발생한다²⁶⁾. 지금까지 이의 기전으로는 호산구와 혈관내피세포 사이의 선택적 접착, 호산구에 선택적인 주성인자의 역할, 병소 내에서 호산구의 생존 증가 등이 주로 강조되어 왔다^{7,8,27)}. 그러나 기니피크를 이용한 연구에서 호산구의 강력한 주성인자인 eotaxin의 피하주사만으로는 국소적인 호산구의 증가가 유도되지 않지만 이와 함께 IL-5를 정맥 주사한 경우 골수, 혈액 및 eotaxin 주사부위에서 호산구의 증가가 관찰되었다⁹⁾. 또한 Wang 등¹⁰⁾은 IL-5 유전자 결핍 마우스에서 IL-5 gene transfer를 시행한 결과, 호산구성 기도염증은 기도에서의 IL-5 생성 복원만으로는 유도되지 않으며 IL-5 유전자를 근육 내로 주사하여 혈액 내에서

IL-5의 농도 증가 및 호산구 증다증이 선행될 때 발생함을 보고하였다. 이러한 연구들은 호산구에 선택적인 접착분자 및 주성인자의 역할만으로는 기도의 염증이 발생하지 않으며 골수 및 혈액에서의 호산구 증가가 기도에서의 호산구성 염증 발현에 필수적인 전제조건임을 말해준다.

이러한 소견들을 근거로 저자들은 골수에서의 호산구 생성 정도가 기도에서의 호산구성 염증 반응의 중증도를 결정하는 인자의 하나로 가정하고, 이 가능성을 검증하기 위해 호산구성 기도염증이 충분히 발현되는 시점인 마지막 알레르겐 유발 24시간 후에 BAL 및 골수채취를 시행하였다. 이 골수세포들을 이용하여 세포집락 분석으로 구한 Eo-CFU의 수와 BALF에서 측정된 호산구 수 사이의 상관성을 조사하였으나 이들 사이의 유의한 상관관계는 발견할 수 없었다. 호산구는 조혈모세포로부터 여러 단계의 전구세포를 거쳐 분화되며, 골수에서 유리된 후 혈행을 거쳐 조직으로 이동하므로 이 과정에는 상당한 시간이 소요될 것으로 추정된다. 본 연구는 한 시점에서만 기도 및 골수를 검사하여 골수의 변화와 기도반응 사이에는 시간적 차이를 고려되지 않은 제한점이 있지만, 이 소견은 알레르기 반응에서 골수에서의 호산구 생성 정도에 의해 기도에서의 호산구성 염증의 중증도가 결정되지는 않으며, 기도내 호산구의 침윤 정도에는 다른 기전들이 더 중요한 역할을 함을 시사한다.

그러나 저자들이 사용한 동물모델과 자연적인 기관지천식 사이에는 생물학적, 유전학적 차이뿐만 아니라 알레르겐 노출 양상에도 차이가 있다. 단기간 내에 대량의 알레르겐 유발을 시행하는 급성 천식모델에 비해 기관지천식 환자에서는 알레르겐의 흡입이 장기간에 걸쳐 서서히 일어난다. 비록 본 연구에서는 골수로부터의 호산구 생성 증가가 호산구성 염증의 중증도와 직접적인 상관관계를 보이지 않았지만 기관지천식 환자에서는 만성적인 알레르겐의 흡입에 의해

골수로부터 호산구의 생성이 지속적으로 증가할 수 있으며, 이는 천식의 활동도나 기관지과민성 등에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 이 사실은 기관지천식 환자의 혈액에서 Eo/B-CFU 수가 회복기에 비해 급성 악화기에 증가되어 있으며 이 전구세포의 수가 질병의 활성도 혹은 중증도와 관련이 있다는 Gibson 등²⁸⁾의 보고로 일부 뒷받침된다. 또한 Wooley 등¹¹⁾은 *Ascaris suum* 항원으로 감작된 개에게 이 항원을 흡입시킨 결과, 호중구성 기도 염증과 기도과민성의 증가를 관찰하였는데 골수세포에서 배양한 GM-CFU의 수는 항원 유발 후 기관지과민증이 증가한 군에서만 유의하게 증가함을 관찰하여 염증세포의 전구세포와 기관지과민증 사이에는 상관관계가 있다고 주장하였다. 그러나 호산구성 기도염증을 보이는 동물모델이나 천식환자에서 골수의 호산구 전구세포 수가 실제로 천식의 중증도나 기관지과민성의 정도에 직접적인 영향을 미치는지에 대해서는 추가적인 연구가 필요하다.

골수로부터 Eo-CFU의 생성을 자극시키는 인자가 무엇인지는 향후 규명되어야 할 과제이다. *Ascaris suum* 항원을 이용한 개 모델의 경우, 알레르겐 유발 후 골수에서의 GM-CFU 증가는 기도반응이 발생한 개의 혈청에 의해 매개되는 것으로 알려져 있다¹²⁾. 현재 이 혈청인자로서 가능성이 높은 것은 염증 혹은 조혈에 관여하는 사이토카인으로 추정되고 있으며, 알레르기 질환과 관련하여 IL-3, IL-4, IL-5, IL-8, G-CSF, GM-CSF, M-CSF, stem cell factor(SCF), TNF- α , TGF- β 등이 비만세포, 호산구, 림프구, 상피세포 등에서 발현 혹은 분비가 증가됨은 잘 알려져 있다²⁹⁾. 이 사이토카인의 상당수는 특정 계열의 혈구세포에 대한 자극 혹은 억제능이 있으므로 주로 알레르기 반응이 일어나는 기도에서 생성된 이 사이토카인의 하나 혹은 그 이상이 내분비 효과(endocrine effect)를 통해 골수에 작용할 것으로 추

측된다¹²⁾. 그러나 Hogan 등³⁰⁾은 최근 골수에 존재하는 fibroblastic stromal cell에서도 IL-5가 생성될 수 있음을 보고하여 국소에서 생성된 IL-5에 의해서도 호산구의 분화가 유도될 수 있음을 시사한 바 있다.

결론

천식모델의 마우스에서 알레르겐의 흡입은 기도의 호산구성 염증을 유발할 뿐만 아니라 골수에서 염증세포 분화에도 영향을 미쳐 호산구 전구세포의 유의한 증가를 유도하였다. 그러나 기도에서의 호산구성 염증반응의 정도와 골수에서의 호산구 생성 증가 사이에는 유의한 상관관계가 관찰되지 않았다. 이 소견은 알레르기 반응에서 골수도 호산구의 생성증가를 통해 천식의 병태생리에 관여할 수 있음을 말해주지만 이 기전이 호산구성 기도염증의 중증도를 결정하는 주요 인자는 아님을 시사한다.

참고 문헌

- 1) Meneely GR, Renzetti AD, Steele JD, Wyatt JP, Harris HW: Chronic bronchitis, asthma and pulmonary emphysema. A statement by the committee on diagnostic standards for nontuberculosis respiratory disease. *Am Rev Respir Dis* 85:762-8, 1962
- 2) Fahy JV, Wong H, Liu J, Boushey HA: Comparison of samples collected by sputum induction and bronchoscopy from asthmatic and healthy subjects. *Am J Respir Care Crit Med* 152:53-8, 1995
- 3) National Heart, Lung and Blood Institute, NIH: Expert panel report II: Guideline for the diagnosis and management of asthma, 1997
- 4) Smith H: Asthma, inflammation, eosinophils and bronchial hyperresponsiveness. *Clin Exp Allergy* 22:187-97, 1992
- 5) O'Byrne PM, Dolovich J, Hargreave FE: Late asthmatic responses. *Am Rev Respir Dis* 136:740-51, 1987

- 6) Hargreave FE: The investigation of airway inflammation in asthma-sputum examination. *Clin Exp Allergy* 27:S36-40, 1997
- 7) Lobb RR, Hemler ME: The pathophysiologic role of $\alpha 4$ integrins in vivo. *J Clin Invest* 94: 1722-8, 1994
- 8) Rand TH, Cruikshank WW, Center DM, Weller PF: CD4-mediated stimulation of eosinophil stimulation of human eosinophils: lymphocyte chemoattractant factor and other CD4-binding ligand elicit eosinophil migration. *J Exp Med* 173:1521-8, 1991
- 9) Collins PD, Marleau S, Griffiths-Johnson DA, Jose PJ, Williams TJ: Cooperation between interleukin-5 and the chemokine eotaxin to induce eosinophil accumulation in vivo. *J Exp Med* 182:1169-74, 1995
- 10) Wang J, Palmer K, Lotvall J, Milan S, Lei XF, Matthaei KI, Gauldie J, Inman MD, Jordana M, Xing Z: Circulating, but not local lung, IL-5 is required for the development of antigen-induced airways eosinophilia. *J Clin Invest* 102: 1132-41, 1998
- 11) Woolley MJ, Denburg JA, Ellis R, Dahlback M, O'Byrne PM: Allergen-induced changes in bone marrow progenitors and airway responsiveness in dogs and the effect of inhaled budesonide on these parameters. *Am J Respir Cell Mol Biol* 11:600-6, 1994
- 12) Inman MD, Denburg JA, Ellis R, Dahlback M, O'Byrne PM: Allergen-induced increase in bone marrow progenitors in airway hyperresponsive dogs: regulation by a serum hemopoietic factor. *Am J Respir Cell Mol Biol* 15:305-11, 1996
- 13) Ohkawara Y, Lei XF, Stampfli MR, Marshall JS, Xing Z, Jordana M: Cytokine and eosinophil responses in the lung, peripheral blood, and bone marrow compartments in a murine model of allergen-induced airways inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 16:510-20, 1997
- 14) Nakajima H, Iwamoto I, Tomoe S, Matsmura R, Tomioka H, Takatsu K, Yoshida S: CD4+ T-lymphocytes and IL-5 mediated antigen-induced eosinophil infiltration into the mouse trachea. *Am Rev Respir Dis* 146:374-7, 1992
- 15) Hamelmann E, Oshiba A, Schwarze J, Bradley K, Loader J, Larsen GL, Gelfand EW: Allergen-specific IgE and IL-5 are essential for the development of airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Cell Mol Biol* 16:674-82, 1997
- 16) Zhang Y, Lamm WJ, Albert RK, Chi EY, Henderson WRJ, Lewis DB: Influence of the route of allergen administration and genetic background on the murine allergic pulmonary response. *Am J Respir Crit care Med* 155:661-9, 1997
- 17) Inman MD, Ellis R, Wattie J, Denburg JA, O'Byrne PM: Allergen-induced increase in airway responsiveness, airway eosinophilia, and bone-marrow eosinophil progenitors in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 21:473-9, 1999
- 18) Ogawa M: Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells. *Blood* 81:2844-53, 1993
- 19) Denburg JA, Telizyn S, Messner H, Jamal BLN, Ackerman SJ, Gleich GJ, Bienenstock J: Heterogeneity of human peripheral blood eosinophil type colonies: evidence for a common basophil-eosinophil progenitor. *Blood* 66:312-8, 1985
- 20) Otsuka H, Dolovich J, Befus AD, Telizyn S, Bienenstock J, Denburg JA: Basophilic cell progenitors, nasal metachromatic cells, and peripheral blood basophils in ragweed-allergic patients. *J Allergy Clin Immunol* 78:365-71, 1986
- 21) Civin CI, Strauss LC, Brovall C, Fackler MJ, Schwartz JF, Shaper JH: Antigenic analysis of hematopoiesis. III. A hemopoietic progenitor cell surface antigen defined by a monoclonal antibody raised against KG-1a cells. *J Immunol* 133:157-65, 1984
- 22) Shalit M: Growth and differentiation of eosinophils from human peripheral blood CD34+

- cells. *Allerg Immunol* 29:7-10, 1997
- 23) Denburg JA, Dolovich J, Ohtoshi T, Cox G, Gauldie J, Jordana M: The microenvironmental differentiation hypothesis of airway inflammation. *Am J Rhinology* 4:29-32, 1990
- 24) Paul CC, Mahrer S, Tolbert M, Elbert BL, Wong I, Ackerman SJ, Baumann MA: Changing the differentiation program of hematopoietic cells: retinoic acid-induced shift of eosinophil-committed cells to neutrophils. *Blood* 86:3737-44, 1995
- 25) Inman MD, Denburg JA, Ellis R, Dahlback M, O'Byrne PM: The effect of treatment with budesonide or PGE2 in vitro on allergen-induced increases in canine bone marrow progenitors. *Am J Respir Cell Mol Biol* 17:634-41, 1997
- 26) 이종명: 알레르기성 염증반응에서 세포 및 사이토카인의 상호작용. *알레르기*, 16:129-36, 1996
- 27) Simon HU, Yousefi S, Schranz C, Schapowal A, Bachert C, Blaser K: Direct demonstration of delayed eosinophil apoptosis as a mechanism causing tissue eosinophilia. *J Immunol* 158:3902-8, 1997
- 28) Gibson PG, Dolovich J, Girgis-Gabardo A, Morris MM, Anderson M, Hargreave FE, Denburg JA: The inflammatory response in asthma exacerbation: changes in circulating eosinophils, basophils and their progenitors. *Clin Exp Allergy* 20:661-8, 1990
- 29) Denburg JA, Dolovich J, Marshall J: Eosinophil differentiation and cytokine networks in allergic inflammation. In Gleich GJ, Kay AB (editors): *Eosinophils in allergy and inflammation*. p 211-23, Marcel Dekker Co., New York, 1994
- 30) Hogan MB, Piktel D, Landreth KS: IL-5 production by bone marrow stromal cells: implications for eosinophilia associated with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 106:329-36, 2000