천식 및 알레르기 제 29 권 제 3 호
Vol. 29, No. 3, Sep., 2009

□종 설□

유전자도입쥐를 이용한 기도 및 섬유화 폐질환 모델연구

[1]서울대학교병원 알레르기내과, [2]Yale대학교 의과대학 호흡기내과

강 혜 련[1] · 이 춘 근[2]

서 론

1953년 Watson과 Crick이 처음으로 세포내 DNA의 이중나선 구조를 규명해 낸 이후 인간유전자에 대한 인류의 탐구는 지속되어왔다.[1)] 그로부터 약 반세기 후인 1999년 인류는 인간의 DNA에 담긴 30억쌍의 염기서열들을 밝히기 위하여 국제적인 공조 하에 인간게놈프로젝트(human genome project)를 시작하였다. 2003년 4월에 이 과제가 종료되었을 때 많은 사람들은 이제 머지않아 모든 질병을 정복하게 되리라는 희망에 부풀었다. 왜냐하면 유전자지도의 완성으로 말미암아 어떤 인자가 인간개체의 발달과 성장, 노화를 담당하는지, 또한 질병이 발생하여 진행하는지에 대한 해답을 곧 얻을 수 있다고 생각했기 때문이다. 그러나, 인간게놈프로젝트가 끝난 지 6년이 지난 지금 질병정복의 꿈은 아직도 요원하기만 하다.

인간의 유전자를 암호화하고 있는 30억 개의 염기서열 중 약 5%가량만이 실제 유전자를 이루고 있기 때문에 수많은 염기서열 중 어느 부분이 우리 몸을 구성하고 생명활동에 필요한 유전자를 암호화하고 있는지를 확인하는 작업이 필요하다. 그리고 그 다음 단계로는 단백질을 합성하는 10만 개에 달하는 유전자들의 기능을 밝혀야 하는데, 현재까지 기능이 제대로 알려진 단백질은 9,000여 개에 불과하다. 이러한 개별 유전자들의 역할을 알기 위한 방법으로 한 가지 단백질의 발현을 인위적으로 조작하여 해당 단백질의 기능을 알아내려는 시도들이 계속되어왔다.

최근 20여 년 동안 유전자도입쥐(transgenic mice)를 이용하여 생체내에서 특정 유전자와 질병의 병인기전 간의 관계를 밝히려는 연구들이 괄목할 만한 성과를 이루었다. 이러한 추세는 이를 대체할 신기술이 대두되지 않는 한 기초의학 분야에서 앞으로 상당기간 동안 강력한 연구기법으로 자리매김할 것으로 보인다. 그러므로, 앞으로 의학연구분야에 관심을 가지는 의과학자들에게 있어 이 모델에 대한 이해는 필수적이라 할 수 있을 것이다.

책임저자 : 강혜련, 서울시 종로구 대학로 101번지
서울대학교병원 알레르기내과, 우: 110-744
Tel: 02) 2072-0820, Fax: 02) 742-2912
E-mail: helenmed@hanmail.net

유전자도입 기술의 역사

유전자도입(transgenesis) 기술의 개념은 이미 1980대 초반에 생체실험(*in vivo*) 연구모델에 도입이 되었는데, 당시 바이러스의 DNA를 세균의 plasmid를 이용하여 수정된 쥐의 핵에 주입하는데 성공하였다.[2)] 유전자변형을 이용하여 실질적으로 생체실험 연구에 이용한 것은 1990년대에 자연발생 유전자 변형쥐를 이용한 연구들로 볼 수 있다.[3)] 그러나 이런 자연발생 유전자 변형쥐들은 그 발생빈도가 매우 낮아 이를 이용한 연구는 극히 제한적일 수밖에 없었다. 따라서 직접 관심 유전자를 조작하여 형질변환을 유발하는 연구가 계속 되어왔는데, 쥐(*Mus musculus*)는 인간과 유전자 유사성이 높고 조작과 교배가 용이하여 형질변환연구에 많이 이용되고 있다.[4)]

유전자도입쥐의 종류

우리가 흔히 유전자도입쥐, 혹은 유전자변형쥐라고 하는 것은 외부로부터 도입된 DNA를 가지는 쥐를 말한다. 이렇게 유전자를 조작하는 기술은 크게 세 가지로 나누어진다.[5)] 첫째, 관심 유전자를 수정란의 생식핵에 삽입하는 방법(pronuclear injection: additive transgenesis)이다. 이 경우 삽입된 외부유전자는 무작위로 수정란 핵의 DNA에 들어가게 되므로 어느 부위에 넣을지 연구자가 결정할 수 없다. 일반적으로 안착하는 염색체의 부위보다는 삽입된 외부 DNA를 조절하는 숙주세포의 조절부위가 유전자 발현에 더 중요하다.[6)] 따라서 특정조직에서 작용하는 프로모터(promoter)를 함께 DNA construct에 넣어 삽입된 DNA를 특정장기에서만 발현되게 하기도 하고, housekeeping 유전자의 프로모터와 함께 넣어 광범위하게 발현시키기도 한다.[3)] 외부 DNA를 삽입한 수정란을 대리모쥐의 자궁에 착상시켜 키운 뒤 새끼가 태어나면 외부 DNA가 성공적으로 숙주세포의 DNA에 안착하였는지를 보

기 위해 PCR이나 southern blotting을 시행한다.[7] 둘째, 태아 줄기세포의 관심 유전자 부위를 상동유전자로 바꿔치기 한 후 이를 배아세포에 주입하는 방법(homologous recombination: targeted transgenesis using embryonic stem cell technology)이 있다.[8] 이 방법은 연구자가 원하는 부위에 특정 유전자를 삽입(knock-in)하여 삽입된 유전자의 기능을 보기도 하지만, 관심 유전자 영역을 기능이 없는 유전자서열로 치환 시켜(knock-out) 유전자 결손을 유도한 후 표현형을 관찰하여 그 유전자의 역할을 밝히기도 한다.[8] 셋째, 특정 RNA의 기능을 특이적으로 저해하는 방법으로 RNA 간섭(RNA interference, RNAi)이 있다.[9] 이 방법으로는 특정 유전자의 기능을 억제하는 효과가 불완전할 수 있어 그 정도에 따라 knock-down (유전자 기능의 불완전 소실) 혹은 knock-out (유전자 기능의 완전 소실) 상태를 만들 수 있다. 이 방법은 세포내에서 단일가닥으로 존재하는 RNA가 이중가닥을 형성하면 끊어지는 성질을 이용한 것으로, 억제하고자 하는 유전자의 RNA에 상보적인 RNA를 넣어주어 이중가닥을 형성하게 함으로써 특정 유전자의 단백질 발현을 억제하는 것이다.

유전자발현의 조절

특정 조직이나 특정세포에서 작용하는 프로모터를 사용하면 우리가 보고자 하는 장기, 조직, 세포에서의 특정 유전자의 과발현을 연구할 수 있다. Clara cell 10-kDa secretory protein (CC10)이나 surfactant protein C (SP-C) 프로모터는 폐조직에서만 작동하므로 폐질환 연구에 적합하다.[10,11] CC10 프로모터는 기도내 Clara cell과 일부 제 2형 폐포 상피세포를 작용대상으로 한다. 이에 반하여 SP-C promoter의 경우 주로 폐포 상피세포를 주대상으로 한다. 현재 쓰이고 있는 프로모터는 유전자발현 시점의 조절가능여부에 따라 상시발현형(constitutional system)과 조건부 발현형(conditional system)으로 나눌 수 있다. 상시발현형의 제한점은 발현시점의 조절이 불가능하다는 것인데, 주로 태아기부터 이미 과발현이 시작되므로 태아에 치명적인 영향을 끼쳐 정상적인 발달과 성장을 저해할 가능성이 있다. 상시발현형을 사용하여 생존 가능한 새끼들이 태어나 주목할 만한 표현형을 나타내더라도 이 표현형이 발달과정의 장애로 생긴 것인지 특정 단백질의 만성적인 과생산으로 인한 결과인지 또는 발달과정에서 비정상적 상태에 대한 보상기제에 의한 소견인지 구분하기 어렵다.

반면, 조건부 발현형은 프로모터의 작용 시점을 조절할 수 있으므로 상시발현형이 가지는 단점을 극복할 수 있다. 조건부 발현형은 유도형 과발현형(inducible overexpression model)이라고도 한다. 조건부 발현형이 적절하게 작동하려면 세가지 요소가 필요하다. 첫째, 조절부위(regulatory unit), 둘째, 표적유전자(target gene)와 연계된 반응부위, 셋째, 발현 유도물질이다. 이상적인 조건부 발현형이 되기 위해서는 몇 가지 요건이 필요하다. 우선, 유도물질은 투여가 용이하고, 과발현유전자 유도농도에서 체내에 부작용이 없어야 한다. 또한, 조절부위는 외부에서 투여하는 유도물질(e,g, tetracycline)로 작동 시작과 종료가 용이해야 한다. 유도물질을 투여하면 삽입된 유전자의 효과적인 과발현이 일어나야 하며, 반대로 유도물질이 투여되지 않은 상태에서 삽입된 유전자가 발현되는 '누출(leakage) 현상'이 발생하지 않아야 한다.

조건부 발현 모델의 아형

가장 널리 사용되고 있는 유도형 과발현 모델은 tetracycline을 유도물질로 이용한 것이다.[12,13] 크게 tetracycline-controlled transactivator (tTA) system (Tet-Off system)과 reverse tetracycline-controlled transactivator (rtTA) system (Tet-On system)의 두 가지 유형이 있다. tTA는 doxycycline이 없을 때 상시발현되기를 원하는 유전자를 조절하는 프로모터와 조합된 tetO에 결합하여 하부 표적유전자의 전사(transcription)를 개시한다. Doxycycline을 투여하면 tTA는 구조의 변화를 일으켜 tetO로부터 분리되어 유전자 과발현이 중단된다. 하지만, 이 모델은 태아 및 발달, 성장 단계에서 장기간 doxycycline을 투여해야 하며, doxycycline을 중단한 후 약물이 완전히 소멸되어 turn-on 상태가 되기까지 시간이 걸린다는 것이다. 이런 문제점들을 보완하고자 개발된 것이 rtTA system이다(Fig. 1). rtTA는 doxy-

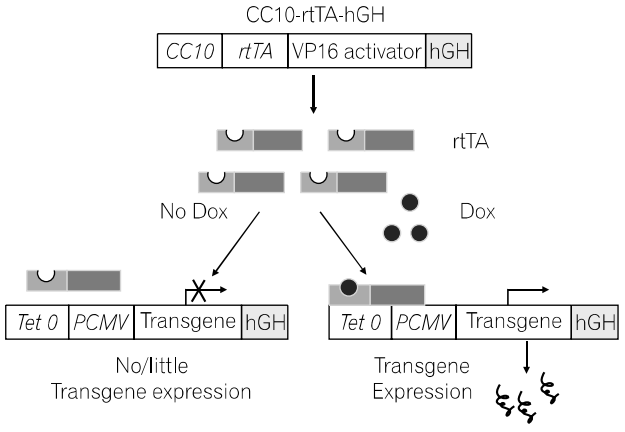


Fig. 1. Constructs commonly used for doxycyline-inducible transgenic system. CC10 promotor drives rtTA expression (upper construct). Only in the presence of doxycycline, rtTA actively binds to tet O promotor region and initiate transcription of target transgene (CC10 = clara cell 10-kDa protein; rtTA = reverse tetracycline transcriptional activator; VP16 activator = herpesvirus VP-16 transactivator; tetO = tetracycline operator; hGH = human growth hormone; dox = doxycycline).

cycline이 없는 경우에는 tetO에 결합하지 않거나 아주 약하게 결합하여 표적유전자가 발현되지 않게 하거나 발현되더라도 아주 약한 발현을 유발한다. 이 시스템에 doxycyline이 투여되면 rtTA가 tetO에 강하게 결합하여 표적유전자의 전사가 시작된다. 이 모델이 도입되어 매우 효과적으로 유전자의 발현을 조절할 수 있게 되었지만, doxycycline을 투여하지 않은 상태에서 약한 rtTA의 결합으로 인한 누출 현상이 발생하는 문제가 있었다. 이런 문제점을 해결하기 위하여 개발된 것이 tetracycline-controlled transcriptional silencer system (tTS)이다.[14] tTS는 tTA처럼 doxycycline이 없는 기저상태에서 tetO와 결합하는데, tTS의 결합은 표적유전자의 발현을 억제시킨다. 이 시스템을 rtTA system과 접목시킴으로써 비로소 우리가 원하는 유전자를 보다 이상적으로 기저상태에서는 억제시키고 원하는 시점에 doxycycline을 이용하여 발현시킬 수 있게 되었다.

유전자도입쥐를 이용한 실험 모델의 실제

1. 유전자도입쥐를 이용한 Th2 염증반응과 기도개형 모델

천식과 Th2 반응의 관련성에 대하여서는 이미 여러 가지 방법으로 연구되어 왔다. Th2 cytokine의 역할을 이해하고자 다양한 생체(*in vivo*) 모델이 개발되었는데, 유전자도입쥐 모델을 이용하여 Th2 cytokine 유전자들을 폐에서 과발현시킴으로써 알레르기 폐질환에서의 각각의 역할을 규명하고자 하는 노력이 계속되어 왔다. 대표적인 Th2 cytokine들인 interleukin (IL)-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13을 폐에서 과발현 시킨 경우, Th2 cytokine이 천식의 주요 병인기전과 관련 있다는 기존의 정설과 부합되는 소견을 보였다.

IL-4를 과발현 시키면 임파구와 호산구성 염증반응이 유발되었으나, 기도과민성이나 기도개형의 소견은 동반되지 않았다.[15] 이런 소견은 IL-4가 Th2 염증반응의 초기에 작용한다는 것을 시사한다. IL-5가 과발현된 경우 기관지주위 호산구 염증, 배상세포의 증식, 상피하 교원질의 침착, 메타콜린 과민성 등 보다 저명한 Th2 반응 소견을 보였다.[16] IL-9 과발현 모델 또한 호산구와 임파구의 침윤, 기도 상피세포 비후, 비반세포 증식, 기관지 과민성을 나타낸다.[17] 흥미로운 점은 IL-9는 다른 Th2 cytokine 특히 IL-13을 유도함으로써 이런 소견을 유발한다는 것이다.[18] IL-10을 과발현 시킨 경우에도 임파구 침윤과 상피하 교원질 침윤 소견을 보였으며, IL-10은 IL-13을 유도하여 배상세포의 증식과 점액분비 증가소견을 일으킨다.[19] 현재까지 알려진 Th2 cytokine 과발현 모델 중에서 천식의 표현형에 가장 근접한 것은 IL-13 과발현 모델이다.[20] IL-13을 과발현 시키면 호산구, 대식세포, 임파구가 기도에 침윤되며 기도 섬유화, 점액선 증식, 기도과민성 같은 천식의 특징적인 표현형이 유발된다. 이처럼, IL-13을 과발현시켰을 때 다른 Th2 cytokine에 의해 부분적으로 나타나는 표현형들이 종합적으로 나타나는 것으로 보아, IL-13은 이들 cytokine의 작용기전에 있어 하부 단계에서 공통적으로 영향을 받을 것이라고 유추할 수 있다.

한편, 혈관성장인자인 vascular endothelial growth factor (VEGF)를 폐에서 과발현 시킨 경우 기도염증, 점액선 증식, 기도평활근 과생성, 혈관신생 같은 천식의 특징적인 병리소견을 유도할 수 있었다.[21] 특히 VEGF 모델은 활성 수지상세포(dendritic cell) 수의 증가 및 흡입 항원에 대한 면역관용(tolerance)에 결함을 보이는 등 기도의 구조적 변화뿐만 아니라 면역학적 이상 소견도 나타내었다.

유전자과발현 모델이 특정 유전자의 기능을 알아보는데 유용하다면, 특정 유전자의 결손을 가진 쥐는 유전자 표적치료의 모델로 이용이 된다. 다시 말하자면 질병의 발생과정에서 핵심적인 역할을 하는 단백질을 생산하는 유전자를 차단함으로써 실제 질병모델에서 유전자치료가 가능한지를 확인해보는 것이다. 그러나, 이러한 실험의 결과가 인간의 질병모델에서 항상 재현되는 아니다. 일례로 IL-5 결손쥐(IL-5 knockout mice)를 이용한 천식모델에서 IL-5의 결손은 급성 알레르기염증, 만성 기도개형, 기도과민성 등 천식의 특징적인 소견들이 유의하게 감소하였으나,[22,23] 실제 천식 환자에서 IL-5 길항제를 사용한 결과 혈중 및 객담 호산구의 감소와 함께 다양한 세포외기질단백(extracellular matrix protein)의 기저막하 침착과 transforming growth factor (TGF) β1의 발현이 줄어드는 효과를 보였음에도 불구하고, 천식의 대표적인 임상양상이라고 할 수 있는 기도과민성과 호산구가 중요한 역할을 차지할 것으로 예상하였던 알레르겐 자극에 의한 후기 염증반응에 별다른 차이를 보이지 않았다.[24-26]

한편 최근에 많은 연구가 이루어진 IL-17의 경우 조력 T17 세포에서 분비되며 천식환자의 객담, 기관지세척액, 혈액에서 증가된 소견을 보이고[27,28] 기관지 점막하 IL-17의 발현정도는 천식환자의 폐기능 손상과 관련이 있다. 이런 임상연구 결과들은 곧 유전자 변형쥐를 이용한 실험으로 이어졌는데, IL-17을 기관지상피에서 과발현시키면 다양한 케모카인의 생산과 백혈구의 유입을 가져오며,[29] IL-17 유전자결손쥐를 이용한 실험에서 IL-17이 없을 경우 알레르겐에 대한 백혈구 유입과 기관지과민성이 떨어지는 것으로 나타났다.[30,31] 그러나 이처럼 IL-17은 Th2 염증반응의 중요한 물질로 알려졌으나, IL-17 수용체결손쥐를 이용한 실험에서는 IL-17이 천식염증반응의 개시에 중요하지만, IL-17의 작용을 없애면 알레르기염증반응이 더 증가하고, 특히 외부에서 IL-17을 투여한 경우에는 폐 호산구침윤과 기관지과민성이 의미 있게 감소하

는 소견을 보여 IL-17의 과발현이나 결손에서 나타난 것과 상이한 결과를 보였다.[32] 이 밖에도 IL-17 (IL-17A)과 함께 Th17 세포에서 생산되는 IL-17F는 IL-17과 마찬가지로 천식 환자의 기도에서 알레르겐 자극 후 증가되어 있다고 알려져 있으나, IL-17F 결손쥐를 이용하여 실험한 결과 IL-17 결손과 상이한 표현형을 나타내어 같은 계열의 두 cytokine이 서로 상이하게 작용함을 알 수 있었다.[33]

2. 유전자도입쥐를 이용한 만성폐쇄성 폐질환 연구

만성폐쇄성 폐질환(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)은 만성적인 기도염증, 말초기관세지의 확장 및 손상을 특징으로 하는 질환이다. 동물모델에서는 PDGF-A, PDGF-B, tumor necrosis factor (TNF)-α, IL-11, TGF-β1, IL-6을 과발현 시키면 폐포의 확장소견을 보인다.[34-39] 그러나, 이들 모델의 상당수는 정상적인 폐성장이 저해되어 기관지이형성과 같은 질환의 모델에 보다 가깝다고 할 수 있다. 반면, 대표적 Th2 cytokine인 IL-13이나 Th1 cytokine인 IFN-γ를 성체 쥐에서 과발현 시킨 경우 폐기종의 폐포확장 소견과 유사한 표현형을 발견할 수 있었다.[40,41] 이들 과발현쥐에서는 공통적으로 염증반응의 증가소견과 단백분해효소-항단백분해효소(protease-antiprotease) 균형의 변화 소견이 나타났다.

IL-18의 경우에는 Th1 cytokine과 Th2 cytokine의 특성을 함께 가지는데, IL-18을 상시발현하는 유전자도입쥐의 경우 IFN-γ, IL-5, IL-13의 생산이 증가되어 CD8+T세포, 대식세포, 중성구, 호산구 등의 염증이 증가함과 동시에 심한 폐기종 소견이 주된 형태학적 변화로 나타나게 된다.[42] 그러나 동일한 IL-18을 조건부 발현형으로 4주간 발현을 증가시키면 폐기종보다는 간질의 염증이 주된 소견으로 나타나게 되어 IL-18은 COPD 뿐만 아니라 폐섬유화의 병인기전에도 중요한 역할을 할 것으로 추정된다.

폐포 대식세포에서 생산되는 대표적인 단백질분해효소인 matrix metalloproteinase-1 (MMP-1)을 과발현 시킨 경우에도 현저한 폐포의 확장소견이 관찰되었으며,[43] 또다른 단백질분해효소인 MMP-12 유전자의 결손이 있는 쥐는 흡연에 의한 폐기종 발생을 억제하는 효과를 보이는 등 폐포 대식세포의 단백분해효소들이 폐기종 발생에 관련이 있다는 연구결과들이 보고되었다.[44]

유전자도입쥐를 이용한 폐섬유화 모델

폐의 과도한 염증반응은 상피세포의 손상, 세포외기질물질의 침착, 교원질 축적 등을 유발하여 폐실질의 섬유화를 일으킨다. TGF-β는 특발성 폐포섬유증 환자의 폐포 대식세포 및 상피세포에서 발현이 증가되어 있음이 알려져 있었으나, TGF-β의 역할에 대하여서는 여러 가지 주장이 제기되어 왔었다. 보다 정확한 TGF-β1의 역할을 규명하고자 이를 기도상피에서 과발현 시킨 결과, TGF-β1이 기도 및 폐실질 섬유화를 유발하고 근섬유세포의 증식을 일으킴이 확인되었으며, 폐포 손상 및 봉와폐양상도 관찰되었다.[45] 이들 소견은 특히 폐포세포의 자멸사(apoptosis)와 긴밀한 연관성을 보였다.[45-48] 이처럼 유전자조작으로 폐섬유화가 조장되는 모델이 있는 반면 폐섬유화에 저항성을 가지게 되는 경우도 있다. TGF-α가 결손된 경우나 폐포 대식세포에서의 MMP-9를 과발현 시킨 경우에는 폐섬유화에 저항성을 가짐이 증명되어 폐섬유화에 있어 이들 물질의 역할을 규명하는데 많은 도움이 되었다.[49,50] 그 외에도 이 전에 이미 기술한 바와 같이 조건부 발현형 IL-18과발현쥐 또한 대표적인 폐섬유화 소견을 보이는데, 이는 원발성 폐섬유증 환자의 폐에서 발현이 증가된 소견과도 부합한다.[51]

유전자도입쥐 연구의 한계와 나아갈 방향

과발현쥐의 연구는 특정유전자의 기능을 밝히는데 있어 새로운 시각을 가지게 하였다. 그러나, 이런 모델을 통한 연구의 결과는 그 해석에 있어 연구자들의 주의를 요한다. 우선, 삽입된 유전자를 작동시키는 시기를 고려하여야 한다. 또한 유전자가 무작위로 삽입되므로 삽입되는 위치에 따라서 표현형이 다를 수 있으며, 경우에 따라서는 삽입 유전자 자체의 기능이 아닌 외부 유전자의 삽입으로 고유 유전자의 배열이 변하여 표현형 변화가 야기되었을 가능성도 고려하여야 한다. 이런 문제점들은 한 가지 유전자로 최소한 3가지 이상의 가계를 유지하여 표현형을 비교함으로써 극복할 수 있다.

개개 유전자의 기능을 밝히고 이를 질병에 대한 이해와 접목시키기 위하여 유전자도입쥐를 이용한 연구는 앞으로도 계속될 것으로 전망된다. 그러나, 이런 동물모델 연구는 구조 및 생리적으로 실제 인체에서의 작용기전이나 병리기전과는 차이가 있음을 간과해서는 안 된다. 따라서 유전자도입 동물모델을 통하여 얻은 가설들을 보다 생리적인 생체실험 모델에 적용하고, 동물모델을 통하여 얻은 가설을 인체 조직에서 검증하려는 후속노력이 반드시 필요하다.

참 고 문 헌

1) Watson JD, Crick FH. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. Nature 1953;171:737-8
2) Gordon JW, Scangos GA, Plotkin DJ, Barbosa JA, Ruddle FH. Genetic transformation of mouse embryos by microinjection of purified DNA. Proc Natl Acad Sci U S A 1980;77:7380-4

3) Roths JB, Foxworth WB, McArthur MJ, Montgomery CA, Kier AB. Spontaneous and engineered mutant mice as models for experimental and comparative pathology: history, comparison, and developmental technology. Lab Anim Sci 1999;49:12-34
4) Malakoff D. The rise of the mouse, biomedicine's model mammal. Science 2000;288:248-53
5) Hickman-Davis JM, Davis IC. Transgenic mice. Paediatr Respir Rev 2006;7:49-53
6) Brinster RL, Chen HY, Trumbauer M, Senear AW, Warren R, Palmiter RD. Somatic expression of herpes thymidine kinase in mice following injection of a fusion gene into eggs. Cell 1981; 27:223-31
7) Schneider MR, Wolf E. Genotyping of transgenic mice: old principles and recent developments. Anal Biochem 2005;344:1-7
8) Manis JP. Knock out, knock in, knock down--genetically manipulated mice and the Nobel Prize. N Engl J Med 2007;357: 2426-9
9) Dykxhoorn DM, Lieberman J. The silent revolution: RNA interference as basic biology, research tool, and therapeutic. Annu Rev Med 2005;56:401-23
10) Hagen G, Wolf M, Katyal SL, Singh G, Beato M, Suske G. Tissue-specific expression, hormonal regulation and 5'-flanking gene region of the rat Clara cell 10 kDa protein: comparison to rabbit uteroglobin. Nucleic Acids Res 1990;18:2939-46
11) Glasser SW, Korfhagen TR, Wert SE, Bruno MD, McWilliams KM, Vorbroker DK, et al. Genetic element from human surfactant protein SP-C gene confers bronchiolar-alveolar cell specificity in transgenic mice. Am J Physiol 1991;261:L349-56
12) Zhu Z, Zheng T, Lee CG, Homer RJ, Elias JA. Tetracycline-controlled transcriptional regulation systems: advances and application in transgenic animal modeling. Semin Cell Dev Biol 2002;13:121-8
13) Gossen M, Bujard H. Tight control of gene expression in mammalian cells by tetracycline-responsive promoters. Proc Natl Acad Sci U S A 1992;89:5547-51
14) Zhu Z, Ma B, Homer RJ, Zheng T, Elias JA. Use of the tetracycline-controlled transcriptional silencer (tTS) to eliminate transgene leak in inducible overexpression transgenic mice. J Biol Chem 2001;276:25222-9
15) Rankin JA, Picarella DE, Geba GP, Temann UA, Prasad B, DiCosmo B, et al. Phenotypic and physiologic characterization of transgenic mice expressing interleukin 4 in the lung: lymphocytic and eosinophilic inflammation without airway hyperreactivity. Proc Natl Acad Sci U S A 1996;93:7821-5
16) Lee JJ, McGarry MP, Farmer SC, Denzler KL, Larson KA, Carrigan PE, et al. Interleukin-5 expression in the lung epithelium of transgenic mice leads to pulmonary changes pathognomonic of asthma. J Exp Med 1997;185:2143-56
17) Temann UA, Ray P, Flavell RA. Pulmonary overexpression of IL-9 induces Th2 cytokine expression, leading to immune pathology. J Clin Invest 2002;109:29-39
18) Whittaker L, Niu N, Temann UA, Stoddard A, Flavell RA, Ray A, et al. Interleukin-13 mediates a fundamental pathway for airway epithelial mucus induced by CD4 T cells and interleukin-9. Am J Respir Cell Mol Biol 2002;27:593-602
19) Lee CG, Homer RJ, Cohn L, Link H, Jung S, Craft JE, et al. Transgenic overexpression of interleukin (IL)-10 in the lung causes mucus metaplasia, tissue inflammation, and airway remodeling via IL-13-dependent and -independent pathways. J Biol Chem 2002; 277:35466-74
20) Elias JA, Zheng T, Lee CG, Homer RJ, Chen Q, Ma B, et al. Transgenic modeling of interleukin-13 in the lung. Chest 2003; 123:339S-45S
21) Lee CG, Link H, Baluk P, Homer RJ, Chapoval S, Bhandari V, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces remodeling and enhances TH2-mediated sensitization and inflammation in the lung. Nat Med 2004;10:1095-103
22) Foster PS, Hogan SP, Ramsay AJ, Matthaei KI, Young IG. Interleukin 5 deficiency abolishes eosinophilia, airways hyperreactivity, and lung damage in a mouse asthma model. J Exp Med 1996;183:195-201
23) Cho JY, Miller M, Baek KJ, Han JW, Nayar J, Lee SY, et al. Inhibition of airway remodeling in IL-5-deficient mice. J Clin Invest 2004;113:551-60
24) Leckie MJ, ten Brinke A, Khan J, Diamant Z, O'Connor BJ, Walls CM, et al. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. Lancet 2000;356:2144-8
25) Kips JC, O'Connor BJ, Langley SJ, Woodcock A, Kerstjens HA, Postma DS, et al. Effect of SCH55700, a humanized anti-human interleukin-5 antibody, in severe persistent asthma: a pilot study. Am J Respir Crit Care Med 2003;167:1655-9
26) Flood-Page P, Menzies-Gow A, Phipps S, Ying S, Wangoo A, Ludwig MS, et al. Anti-IL-5 treatment reduces deposition of ECM proteins in the bronchial subepithelial basement membrane of mild atopic asthmatics. J Clin Invest 2003;112:1029-36
27) Molet S, Hamid Q, Davoine F, Nutku E, Taha R, Page N, et al. IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines. J Allergy Clin Immunol 2001;108:430-8
28) Chakir J, Shannon J, Molet S, Fukakusa M, Elias J, Laviolette M, et al. Airway remodeling-associated mediators in moderate to severe asthma: effect of steroids on TGF-beta, IL-11, IL-17, and type I and type III collagen expression. J Allergy Clin Immunol 2003;111:1293-8
29) Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. Nat Immunol 2005;6:1133-41
30) Hellings PW, Kasran A, Liu Z, Vandekerckhove P, Wuyts A, Overbergh L, et al. Interleukin-17 orchestrates the granulocyte influx into airways after allergen inhalation in a mouse model of allergic asthma. Am J Respir Cell Mol Biol 2003;28:42-50
31) Nakae S, Komiyama Y, Nambu A, Sudo K, Iwase M, Homma I, et al. Antigen-specific T cell sensitization is impaired in

IL-17-deficient mice, causing suppression of allergic cellular and humoral responses. Immunity 2002;17:375-87
32) Schnyder-Candrian S, Togbe D, Couillin I, Mercier I, Brombacher F, Quesniaux V, et al. Interleukin-17 is a negative regulator of established allergic asthma. J Exp Med 2006;203:2715-25
33) Yang XO, Chang SH, Park H, Nurieva R, Shah B, Acero L, et al. Regulation of inflammatory responses by IL-17F. J Exp Med 2008;205:1063-75
34) Miyazaki Y, Araki K, Vesin C, Garcia I, Kapanci Y, Whitsett JA, et al. Expression of a tumor necrosis factor-alpha transgene in murine lung causes lymphocytic and fibrosing alveolitis. A mouse model of progressive pulmonary fibrosis. J Clin Invest 1995;96:250-9
35) Li J, Hoyle GW. Overexpression of PDGF-A in the lung epithelium of transgenic mice produces a lethal phenotype associated with hyperplasia of mesenchymal cells. Dev Biol 2001; 239:338-49
36) Hoyle GW, Li J, Finkelstein JB, Eisenberg T, Liu JY, Lasky JA, et al. Emphysematous lesions, inflammation, and fibrosis in the lungs of transgenic mice overexpressing platelet-derived growth factor. Am J Pathol 1999;154:1763-75
37) Ray P, Tang W, Wang P, Homer R, Kuhn C 3rd, Flavell RA, et al. Regulated overexpression of interleukin 11 in the lung. Use to dissociate development-dependent and -independent phenotypes. J Clin Invest 1997;100:2501-11
38) Zhou L, Dey CR, Wert SE, Whitsett JA. Arrested lung morphogenesis in transgenic mice bearing an SP-C-TGF-beta 1 chimeric gene. Dev Biol 1996;175:227-38
39) DiCosmo BF, Geba GP, Picarella D, Elias JA, Rankin JA, Stripp BR, et al. Airway epithelial cell expression of interleukin-6 in transgenic mice. Uncoupling of airway inflammation and bronchial hyperreactivity. J Clin Invest 1994;94:2028-35
40) Zheng T, Zhu Z, Wang Z, Homer RJ, Ma B, Riese RJ Jr., et al. Inducible targeting of IL-13 to the adult lung causes matrix metalloproteinase- and cathepsin-dependent emphysema. J Clin Invest 2000;106:1081-93
41) Wang Z, Zheng T, Zhu Z, Homer RJ, Riese RJ, Chapman HA Jr., et al. Interferon gamma induction of pulmonary emphysema in the adult murine lung. J Exp Med 2000;192:1587-600
42) Hoshino T, Kato S, Oka N, Imaoka H, Kinoshita T, Takei S, et al. Pulmonary inflammation and emphysema: role of the cytokines IL-18 and IL-13. Am J Respir Crit Care Med 2007; 176:49-62
43) Foronjy RF, Okada Y, Cole R, D'Armiento J. Progressive adult-onset emphysema in transgenic mice expressing human MMP-1 in the lung. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2003;284: L727-37
44) Hautamaki RD, Kobayashi DK, Senior RM, Shapiro SD. Requirement for macrophage elastase for cigarette smoke-induced emphysema in mice. Science 1997;277:2002-4
45) Lee CG, Cho SJ, Kang MJ, Chapoval SP, Lee PJ, Noble PW, et al. Early growth response gene 1-mediated apoptosis is essential for transforming growth factor beta1-induced pulmonary fibrosis. J Exp Med 2004;200:377-89
46) Kang HR, Lee CG, Homer RJ, Elias JA. Semaphorin 7A plays a critical role in TGF-beta1-induced pulmonary fibrosis. J Exp Med 2007;204:1083-93
47) Kang HR, Cho SJ, Lee CG, Homer RJ, Elias JA. Transforming growth factor (TGF)-beta1 stimulates pulmonary fibrosis and inflammation via a Bax-dependent, bid-activated pathway that involves matrix metalloproteinase-12. J Biol Chem 2007;282: 7723-32
48) Yamasaki M, Kang HR, Homer RJ, Chapoval SP, Cho SJ, Lee BJ, et al. P21 regulates TGF-beta1-induced pulmonary responses via a TNF-alpha-signaling pathway. Am J Respir Cell Mol Biol 2008;38:346-53
49) Madtes DK, Elston AL, Hackman RC, Dunn AR, Clark JG. Transforming growth factor-alpha deficiency reduces pulmonary fibrosis in transgenic mice. Am J Respir Cell Mol Biol 1999; 20:924-34
50) Cabrera PV, Blanco G, Alaniz L, Greczanik S, Garcia M, Alvarez E, et al. CD44 and hyaluronic acid regulate in vivo iNOS expression and metalloproteinase activity in murine air-pouch inflammation. Inflamm Res 2004;53:556-66
51) Kitasato Y, Hoshino T, Okamoto M, Kato S, Koda Y, Nagata N, et al. Enhanced expression of interleukin-18 and its receptor in idiopathic pulmonary fibrosis. Am J Respir Cell Mol Biol 2004; 31:619-25