폐 섬유모세포에서 황사의 미세먼지(Particulate Matter 10)가 활성산소종과 TGF- β , NF- κ B, PDGF- α , Fibronectin의 생성에 미치는 영향

¹가천의과대학교 의학전문대학원 의학과, ²가천의과대학교 길병원 호흡기내과

김아현¹, 전수연², 윤진영², 김유진², 경선영², 이상표², 박정웅², 정성환²

The Effect of Particulate Matter 10 from Asian Dust on the Production of Reactive Oxygen Species, TGF- β , NF- κ B, PDGF- α and Fibronectin in MRC-5 Fibroblast Cells

Ah Hyun Kim, M.D.¹, Suyeon Chon, M.D.², Jin Young Yoon², Yu Jin Kim, M.D.², Sun Young Kyung, M.D.², Sang Pyo Lee, M.D.², Jeong Woong Park, M.D.², Sung Hwan Jeong, M.D., Ph.D.²

¹Gachon University of Medicine and Science, ²Division of Pulmonology, Department of Internal Medicine, Gachon University Gil Hospital, Incheon, Korea

Background: Dust clouds blown by the wind from the arid deserts of Mongolia and Northeast China are known as Asian dust storms. Ambient particulate matter with a diameter $<10 \mu\text{m}$ (PM₁₀) is associated with the exacerbation of respiratory diseases and increased mortality of heart and lung disease patients. The fibrotic effects of PM₁₀ of Asian dust to pulmonary fibroblast cells are unknown. This study examined the production of reactive oxygen species (ROS), TGF- β , NF- κ B, PDGF- α and Fibronectin in fibroblasts exposed to Asian dust particles.

Methods: Air samples were collected using a high volume air sampler (Sibata model HV500F) with an air flow of 500 L/min for at least 6 hours. The MRC-5 cells were exposed to 0, 50 and 100 $\mu\text{g/mL}$ of PM₁₀ for 24 hours. ROS was detected by measuring the level of oxidized DCF using FACS. TGF- β , NF- κ B, PDGF- α and fibronectin were detected by western blotting.

Results: There was no increase in the ROS, TGF- β and PDGF- α levels in the MRC-5 cells exposed to PM₁₀. The NF- κ B level was higher in the MRC-5 cells exposed to 50 and 100 $\mu\text{g/mL}$ of PM₁₀ for 24 hours. The fibronectin level in the MRC-5 cells after 24 hours incubation with 50 $\mu\text{g/mL}$ PM₁₀ was significantly higher than the control group (PM₁₀ 50 $\mu\text{g/mL}$ 113.27 $\pm$ 8.65 of control, $p=0.005$).

Conclusion: PM₁₀ from Asian dust increases the activation of NF- κ B and fibronectin expression in MRC-5 fibroblast cells.

Key Words: Particulate Matter; Dust; Reactive Oxygen Species; Pulmonary Fibrosis; Fibroblasts

서론

대기 오염은 호흡기계를 비롯하여 인체의 여러 장기에

유해하다. 1930년 벨기에의 Muese Valley, 1948년 Donora, 1952년 런던에서는 대기 오염으로 인해 사망률이 급증한 사건들이 있었는데, 이 사건들은 대기 오염의 인체 유해성에 관한 연구가 시작된 계기가 되었다¹. 그 후 급격한 산업화로 인해 대기 오염이 더욱 심해졌으며 인체에 대한 악영향은 심각한 상태에 있다.

대기 오염물질 중에서도 미세먼지(particulate matter)는 다양한 크기, 구성, 발생원에 따라 다양한 독성 물질을 함유하고 있어 여러 가지 건강 문제를 일으킨다. 10 μm

Address for correspondence: Sung Hwan Jeong, M.D.
Division of Pulmonology, Department of Internal Medicine,
Gachon University Gil Medical Center, 1198, Kuwol-dong,
Namdong-gu, Incheon 405-760, Korea
Phone: 82-32-460-3201, Fax: 82-32-469-4320
E-mail: jsw@gilhospital.com

Received: Sep. 14, 2009

Accepted: Nov. 4, 2009

보다 큰 미세먼지는 대개 구강과 기도에서 걸러지지만 10 μm 이하의 미세먼지(particulate matter 10, PM_{10})는 흡입 시 하부기관지 및 폐의 가스교환부분까지 침착하여 호흡기계에 손상을 일으킬 수 있다고 보고되고 있다².

인공적 요인에 의한 대기오염 이외에 자연적 요인으로 우리나라에 매년 봄철에 생기는 황사가 있다. 황사는 먼지연무(dust haze)의 일종으로 중국, 몽골과 같은 동북아시아 건조지대에서 생긴 다량의 흙먼지가 장거리 수송되어 대기를 떠다니며 서서히 하강하는 현상이다. 우리나라에 영향을 미치는 황사 입자의 크기는 대개 지름이 10 μm 이하인 PM_{10} 이다. 국내에서 시행된 연구에서는 황사 기간 중에 PM_{10} 이 증가하고 최대호기 유속이 감소하여 기관지 천식 환자의 호흡기 증상 악화를 유발할 수 있음이 밝혀진 바 있다³. 그러나 PM_{10} 이 어떤 기전으로 호흡기계에 악영향을 미치는지에 대해서는 아직 정확히 밝혀지지 않았다. 그동안 연구가 많이 되어 있는 가설은 PM_{10} 이 세포에 산화적 스트레스를 유발하여 NF- κB 를 활성화하여 염증을 유발하는 사이토카인(cytokine)들이 증가하면서 염증이 일어난다는 가설이다⁴. 미세먼지가 폐상피세포와 대식세포에 작용하여 산화적 스트레스를 유발하고 활성산소종(reactive oxygen species, ROS)을 증가시킨다는 것은 여러 연구에서 밝혀진 바 있으며⁵, PM_{10} 이 폐상피세포에 작용하여 interleukin-1, interleukin-8, GM-CSF 등과 같은 염증성 사이토카인을 증가시킨다는 것도 기존의 연구에서 증명되었다⁶.

최근에는 특발성 폐 섬유화증(idiopathic pulmonary fibrosis)의 병인에 대해 세포사멸 역설(apoptosis paradox)의 개념이 적용되고 있는데 그 기전에 대해 제기되는 가설은 ROS와 TGF- β 가 섬유화의 조절에 관여한다는 것이다. TGF- β 는 세포외기질(extracellular matrix)의 조합과 리모델링에 관여하는데 과다 발현 시에는 결체조직을 비정상적으로 축적시켜 폐의 섬유화를 유도한다고 알려져 있다⁷. 세포사멸 역설의 개념은 폐 상피세포가 외부 자극으로 인해 손상되면 세포사멸이 발생하고 폐의 구조를 유지하기 위해 섬유모세포와 근섬유아세포(myofibroblast)가 폐상피세포가 세포사멸된 부위에 몰려들어 축적되기 때문에 fibroblastic foci를 형성한다는 것이다⁸.

지금까지 PM_{10} 이 폐의 상피세포에 작용하면 여러 가지 염증성 사이토카인의 생성을 증가시킨다는 것이 여러 연구에서 증명되었지만 폐섬유모세포에는 어떤 작용을 하는지에 대한 연구는 미미하여, 본 연구에서는 황사에 포함된 PM_{10} 이 폐섬유모세포에 작용하여 ROS의 생성에 어떤

영향을 미치는지 알아보고 TGF- β , NF- κB , PDGF- α , fibronectin의 생성을 변화시키는지 관찰하였다.

대상 및 방법

1. PM_{10} 의 준비 및 성상

대기 시료의 포집은 2006년 봄철 황사 기간에 인천지역(인천시 남동구 구월동 가천의대 길병원 응급센터 옥상)에서 실시하였다. 공기 포집기(HV500F; Sibata, Tokyo, Japan)를 이용하여 분당 500 L로 하루 6시간씩 대기 분진을 필터(Pore size 0.25 μm ; Millipore, Bedford, MA, USA)를 통해 포집하였다. 포집한 필터(filter)를 조각 내어 phosphate buffered saline (PBS) 10 mL를 넣은 튜브(tube)에 넣어 틸름이 소용돌이 혼합기(vortex mixer)를 사용하여 30분간 혼합하였다. 필터를 건져내고 나머지를 10 μm pore의 filter (MitexTM membrane filters; Millipore)로 여과하였다. 약 1분간 초음파로 파쇄(sonication)하고 121°C에서 15분간 멸균한 후 사용 전까지 -20°C에 보관하였다.

국내에 유입되는 황사의 입자 크기는 대개 10 μm 이하이며 본 실험에 사용된 미세먼지 입자의 크기도 평균 6.2 μm 이었다.

실험동안 세포에 가해 줄 PM_{10} 의 농도는 각각 0, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ 로 정하였다.

2. 세포 배양

사람 태아 폐 섬유모세포인 MRC-5 cell (KCLB, Seoul, Korea)을 10% 우태아 혈청이 포함된 5.6 mM 포도당 함유 Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (GIBCO BRL, Gaithersburg, MD, USA) 배지에서 계대 배양하였다. Haematocytometer를 이용하여 세포 수를 세어 6-well plate의 각 well에 세포 수가 1.5×10^5 개가 되도록 접종하고 37°C, 5% CO_2 배양기에서 24시간 배양하였다. 세포가 90~100% 배양되면 0.5% 우태아 혈청을 포함한 DMEM 배지로 교체하여 24시간 배양함으로써 세포 성장을 정지시키고(starvation) 성장주기를 동일화하였다. 그 후 PM_{10} 을 가해주지 않은 세포를 대조군으로 하고, 대조군을 제외한 각 well에 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 PM_{10} 을 가해준 후 24시간 동안 배양하였다.

3. 세포 내 ROS의 측정 및 confocal microscopy

PM_{10} 을 가해주고 24시간 배양한 후 세포에 침투가 가능

한 형광 탐촉자인 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCF-DA) (Molecular Probes Inc., Eugene, OR, USA)를 5 mM씩 가해준 후 20분간 배양하였다. 그 후 PBS로 배지에 남아 있는 CM-H2DCF-DA를 제거한 후 세포 내의 산화를 통해 생성된 2',7'-dichlorodihydrofluorescein (DCFH)의 형광을 fluorescence-activated cell sorting (FACS) (BD Biosciences, San Jose, CA, USA)를 이용하여 측정하였다. 측정된 세포 수는 각 표본당 20,000개로 하였다.

그리고 각 표본의 형광 생성 정도를 confocal microscope (IX81; Olympus, Tokyo, Japan)를 이용하여 사진으로 찍었다.

4. NF- κ B, TGF- β , PDGF- α , Fibronectin에 대한 western blot

PM₁₀을 가해주고 24시간 배양한 후 NF- κ B를 관찰할 표본은 각 well에서 배지를 1 mL씩 튜브에 옮겨 담아 원심 분리하여 상층액을 얻었다. TGF- β , PDGF- α , fibronectin을 관찰할 표본은 세포에 lysis buffer (Pro-PREP protein extraction solution) (Intron Biotechnology Inc., Seoul, Korea)를 각 well당 100 mL를 가하여 세포를 수확한 후 -20°C에서 30분간 incubation한 후, 원심 분리하여 상층액을 얻었다.

NF- κ B에 대한 실험은 MRC-5 세포를 분쇄한 후 ultracentrifuge를 시행하여 nuclear protein과 cytosol로 나눈 후 nuclear protein에서 측정하였으며, 항체로는 p65 antibody (Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA)를 사용하였다.

TGF- β , PDGF- α , fibronectin을 측정할 lysate는 Bradford assay를 통해 단백질이 30 μ g이 되도록 계산하여 준비하였다. 준비된 표본을 8% acrylamide gel에 각각 loading하여 전기 영동하였다. 전기 영동이 끝나면 PVDF membrane (Roche, Indianapolis, IN, USA)에 1시간 동안 100 V로 전이하였다. 전이된 membrane을 PBST (Tween 20 1%)에 녹인 5% non fat milk에 담궈 1시간 동안 blocking하였다. PBST (Tween20 0.1%)를 이용하여 NF- κ B, TGF- β , PDGF- α , fibronectin 각각에 대한 일차 항체 (Santa Cruz Biotechnology)을 1 : 700 ~ 1 : 1,000으로 희석하였다. 희석된 일차 항체 용액에 membrane을 담가 4°C shaker에서 overnight하였다. 그 후 PBST (Tween20 0.1%)로 세척하고 각각에 대한 이차 항체 (Santa Cruz Biotechnology)를 PBST (Tween20 0.1%)에 1 : 10,000 ~ 1 : 20,000으로 희석하여 membrane을 담가 1시간 동안

shaking하였다. PBST (Tween20 0.1%)로 세척한 후 WEST-SOL (Intron Inc., Seoul, Korea)을 사용하여 X-ray film에 감광시켰다. 감광된 film을 scan하여 density를 구하여 대조군과 비교하였다.

5. 분석 방법

결과는 평균±표준편차로 표시하였다. 분석은 SPSS version 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하였고 p < 0.05인 경우에 통계학적으로 유의하다고 판단하였다. 대조군과 PM₁₀ 처리군과의 차이는 비모수적 방법인 Kruskal-Wallis test를 통해 검정한 후 Mann-Whitney test로 사후 검정하여 p값을 표시하였다.

결 과

1. 황사의 성상

황사의 주성분은 규소 계통의 모래와 황토로서 토양기원의 원소인 알루미늄(Al), 칼슘(Ca), 철(Fe), 마그네슘(Mg) 등이 포함되어 있었으며, 특히 2006년 봄철 인천의 대기 성분 중 황사 시기에는 토양 기원의 AlSi, SiO₂와 같은 입자들이 증가하여 있었다⁹. 그 중 가장 많은 성분은 SiO₂로서 전체 중 48%를 차지하였고, 이 밖에 여러 가지 중금속 물질들이 포함되어 있었으며, 분석은 한국 요업기술원(KICET)에 의뢰하였다(Table 1).

2. PM₁₀이 MRC-5 cell에서 ROS의 생성에 미치는 영향

MRC-5 cells에 황사기간에 채집한 PM₁₀을 처리하고 24시간 후에 세포 내 ROS를 FACS로 측정된 결과를 보면 각 농도에서 대조군보다 의미 있게 증가하지 않았다(PM₁₀

Table 1. Analysis of Asian sand dust

Contents	Concentration (wt %)
SiO ₂	48.1
Al ₂ O ₃	11.7
Na ₂ O	2.19
Fe ₂ O ₃	5.28
CaO	5.18
MgO	2.37
K ₂ O	3.80
TiO ₂	0.57
MnO	0.09
Heating loss	20.50

Korea Institute of Ceramic Engineering and Technology (KICET).

0 $\mu\text{g/mL}$ 113.01 ± 83.4 , PM_{10} 50 $\mu\text{g/mL}$ 92.48 ± 70.46 , $p=0.674$, PM_{10} 100 $\mu\text{g/mL}$ 106.80 ± 88.73 , $p=0.916$) (Figure 1).

세포 내의 산화를 통해 생성된 2',7'-dichlorodihydrofluorescein (DCFH)를 confocal microscope로 관찰한 결과

Figure 1. Measured Reactive oxygen species (ROS) by FACS in MRC-5 cells after 24 hours incubation with PM_{10} . MRC-5 cells were exposed to 50 and 100 $\mu\text{g/mL}$ of ambient particulate matter with a diameter of less than 10 μm for 24 hours. Results shown in the box graph are measured ROS values by FACS. The measured ROS in MRC-5 cells after 24 hours incubation with PM_{10} were not increased (PM_{10} 0 $\mu\text{g/mL}$ 113.01 ± 83.4 , PM_{10} 50 $\mu\text{g/mL}$ 92.48 ± 70.46 , $p=0.674$, PM_{10} 100 $\mu\text{g/mL}$ 106.80 ± 88.73 , $p=0.916$).

에서도 PM_{10} 을 처리하고 24시간 후에 ROS의 발현에 큰 차이를 보이지 않았다(Figure 2).

3. PM_{10} 이 MRC-5 cell에서 TGF- β 의 생성에 미치는 영향

MRC-5 cells에 황사기간에 채집한 PM_{10} 을 처리하고 24 시간 후의 TGF- β 생성 결과를 보면 각 농도에서 대조군보다 의미 있게 증가하지 않았다 (PM_{10} 50 $\mu\text{g/mL}$ 101.43 ± 6.99 of control, $p=1.000$, PM_{10} 100 $\mu\text{g/mL}$ 97.91 ± 26.40 of control, $p=1.000$) (Figure 3).

4. PM_{10} 이 MRC-5 cell에서 NF- κB 의 생성에 미치는 영향

MRC-5 cells에 황사기간에 채집한 PM_{10} 을 0, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 처리하고 24시간 후의 NF- κB 의 생성 결과를 보면 PM_{10} 을 처리했을 때가 처리하지 않은 대조군에 비해 NF- κB 발현이 증가하는 것을 관찰할 수 있었다 (Figure 4).

5. PM_{10} 이 MRC-5 cell에서 PDGF- α 의 생성에 미치는 영향

MRC-5 cells에 황사기간에 채집한 PM_{10} 을 처리하고 24 시간 후의 PDGF- α 생성 결과를 보면 PM_{10} 의 농도가 50 $\mu\text{g/mL}$ 일 때 대조군에 비해 의미 있는 차이를 보여주지 않았으며, PM_{10} 의 농도가 100 $\mu\text{g/mL}$ 일 때는 오히려 유의하게 감소하였다(PM_{10} 50 $\mu\text{g/mL}$ 101.94 ± 8.13 of con-

Figure 2. Confocal microscopic findings in MRC-5 cells after 24 hours incubation with PM_{10} . The fluorogenic probe 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCF-DA) in the cell was oxidized and detected as green color. The oxidized DCF-DA was not increased in MRC-5 cells after 24 hours incubation with PM_{10} .

Figure 3. TGF- β in MRC-5 cells after 24 hours incubation with PM₁₀. TGF- β was detected by western blotting. The density of band was measured by densitometry. Results shown in the bar graph are the percentage from control values. TGF- β in MRC-5 cells after 24 hours incubation with PM₁₀ was not increased compared with control group (PM₁₀ 50 μ g/mL 101.43 $\pm$ 6.99 of control, $p=1.000$, PM₁₀ 100 μ g/mL 97.91 $\pm$ 26.40 of control, $p=1.000$).

Figure 4. NF- κ B in MRC-5 cells after 24 hours incubation with PM₁₀. MRC-5 cells were exposed to 50 and 100 μ g/mL of ambient particulate matter with a diameter of less than 10 μ m for 24 hours. NF- κ B was detected by western blotting.

trol, $p=0.487$, PM₁₀ 100 μ g/mL 97.50 $\pm$ 1.81 of control, $p=0.037$) (Figure 5).

6. PM₁₀이 MRC-5 cell에서 Fibronectin의 생성에 미치는 영향

MRC-5 cells에 황사기간에 채집한 PM₁₀을 처리하고 24 시간 후의 fibronectin 발현 결과를 보면 PM₁₀의 농도가 50 μ g/mL일 때 대조군에 비해 유의하게 증가하였다 (PM₁₀ 50 μ g/mL 113.27 $\pm$ 8.65 of control, $p=0.005$). 그러나, PM₁₀의 농도가 100 μ g/mL일 때는 대조군에 비해 유의한 차이를 보이지 않았다 (PM₁₀ 100 μ g/mL 107.82 $\pm$ 11.91 of control, $p=0.577$) (Figure 6).

Figure 5. PDGF- α in MRC-5 cells after 24 hours incubation with PM₁₀. PDGF- α was detected by western blotting. The density of band was measured by densitometry. Results shown in the bar graph are the percentage from control values. Results shown in the bar graph are the percentage from control values (* $p<0.05$). PDGF- α in MRC-5 cells after 24 hours incubation with 50 μ g/mL PM₁₀ was not significantly increased compared with control group (PM₁₀ 50 μ g/mL 101.94 $\pm$ 8.13 of control, $p=0.487$). PDGF- α in MRC-5 cells with 100 μ g/mL PM₁₀ was significantly decreased compared with control group (PM₁₀ 100 μ g/mL 97.50 $\pm$ 1.81 of control, $p=0.037$).

고 찰

미세먼지는 다양한 크기, 구성, 발생원을 갖는 것으로 다양한 독성 물질을 함유하고 있어 여러 가지 건강 문제를 일으킨다. 황사는 계절적으로 중국 북서부나 몽골에서 발생하여 봄철 우리나라에 자연적으로 대기오염을 일으키는데 입자의 크기는 대개 지름이 10 μ m 이하인 PM₁₀으로 되어 있다. 황사의 주성분은 규소 계통의 모래와 황토로서 토양기원의 원소인 알루미늄(Al), 칼슘(Ca), 철(Fe), 마그네슘(Mg) 등이 포함되어 있고 최근 중국의 공업화로 인해 납(Pb), 구리(Cu), 망간(Mn) 등 금속 성분이 증가하고 있다¹⁰.

이들 중금속 성분의 증가는 인체로 흡입 시에 산화적 스트레스를 증가시켜 호흡기계를 비롯한 주요 기관에 중대한 악영향을 미칠 것으로 추정되고 있다.

Figure 6. Fibronectin and β -actin in MRC-5 cells after 24 hours incubation with PM₁₀. MRC-5 cells were exposed to 50 and 100 μ g/mL of ambient particulate matter with a diameter of less than 10 μ m for 24 hours. Fibronectin was detected by western blotting. The density of band was measured by densitometry. Results shown in the bar graph are the percentage from control values (* $p < 0.05$). Fibronectin in MRC-5 cells after 24 hours incubation with 50 μ g/mL PM₁₀ was significantly increased compared with control group (PM₁₀ 50 μ g/mL 113.27 $\pm$ 8.65 of control, $p=0.005$). Fibronectin in MRC-5 cells with 100 μ g/mL PM₁₀ was not increased compared with control group (PM₁₀ 100 μ g/mL 107.82 $\pm$ 11.91 of control, $p=0.577$).

실제로 미세먼지를 인체세포에 가하면 산화적 스트레스가 발생하면서 ROS가 증가하거나, 염증성 사이토카인들이 증가하여 세포 손상을 발생시킬 수 있다는 것이 여러 연구에서 밝혀진 바 있다^{5,6,11}.

또 신장세포에서는 인위적으로 과산화수소를 투여하여 ROS를 증가시키면 fibronectin 생성이 증가하고 plasminogen activator inhibitor-1도 증가되면서 세포외기질(extracellular matrix)의 축적을 초래하게 됨이 밝혀졌다¹². 그러나 본 연구에서는 황사의 미세먼지에 의해 폐 섬유모세포인 MRC-5 세포에서 ROS가 의미 있게 증가하지 않았다. 이는 저자들이 폐 상피세포가 황사의 PM₁₀에 의해서 자극 받았을 시에 ROS의 생성이 의미 있게 증가하는 것을

보고한 것과는 다른 결과인데, 이는 상피세포와 섬유모세포간에 미세먼지에 대한 반응이 차이가 있기 때문이라고 추측된다¹².

기존의 연구에서 보면 폐의 손상 시에 가장 먼저 민감하게 손상 받는 세포는 제1형 폐상피 세포이다. 폐포 손상이 발생하면 그 자리를 채우기 위해 제2형 폐상피 세포가 이동하여 제1형 폐포 세포의 자리를 대신한다. 폐포 벽의 표면에 있는 상피세포와는 달리 폐 섬유모세포는 간질에 있으며 일반적으로 외부자극에 의한 손상에 저항성이 있다. 폐 섬유모세포는 폐 상피세포가 손상을 받으면 증식하면서 간질에 세포외기질을 구성하는 성분들을 생산하여 폐 섬유화를 발생시키는데, 본 연구의 결과에서 두 세포 사이에 황사 미세먼지에 대한 반응의 차이를 보이는 것이 이런 기능상의 차이가 작용하여 나타난 결과로 유추해 본다¹³.

또한 이전의 연구에서 폐섬유모세포에 과산화수소(hydrogen peroxide)를 직접 가해서 활성산소를 발생시키면 TGF- β 1이 증가한다는 연구결과가 있었으나¹⁴, 본 연구에서는 황사의 미세먼지(PM₁₀)를 MRC-5 세포에 가했을 때 ROS와 함께 TGF- β 도 증가시키지 않는 것으로 나타났는데, 본 연구에서 이들이 증가하지 않은 것은, 폐 섬유모세포는 PM₁₀에 대하여 직접 노출 시에도 저항성이 크기 때문으로 사료되고, 이로 인해 ROS의 형성에 크게 변화가 없으면서 TGF- β 나 PDGF- α 의 발현도 증가시키지 않은 것으로 추측되나, 이 과정에서 CTGF같은 다른 사이토카인이나 성장인자(growth factor) 등의 경로가 존재할 수 있을 가능성이 있기 때문에, 이의 증명을 위해서는 TGF- β 이외의 다른 성장인자들에 대한 추가적인 연구가 필요할 것이다.

본 연구의 주요한 결과는 황사 기간에 포집한 미세먼지(PM₁₀)는 50 μ g/mL의 농도에서 폐섬유모세포인 MRC-5 세포에 가해주면 24시간 incubation 후에 fibronectin의 양이 유의하게 증가했다는 것이다. 다만 100 μ g/mL의 농도에서는 의미 있는 증가가 발생하지 않았는데 이는 고농도의 미세먼지하에는 세포의 활성도(viability)가 감소되면서 나타난 소견으로 생각된다.

세포외기질의 구성성분인 fibronectin은 collagen과 같은 물질에 대한 접착력이 강하여 증가 시 세포외기질이 축적되어 기도의 재형성(remodeling)을 유발한다. 그러므로 이 결과는 황사의 미세먼지가 폐로 흡인되었을 때 폐에 세포외기질을 축적할 수 있고 나아가 섬유화를 유발할 가능성이 있음을 시사한다. 미세먼지가 폐에 손상을 일으켜

소기도의 섬유화와 재형성을 유발하는 데는 NF- κ B의 활성화가 중요하다는 것이 여러 연구에서 밝혀졌는데¹⁵, 본 연구에서도 황사의 미세먼지를 MRC-5에 가하면 NF- κ B의 발현이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 이 결과는 황사 이외의 다른 종류 미세먼지를 폐 상피세포에 가했을 때 NF- κ B의 발현이 증가되었다는 기존의 연구와 비슷한 결과이다¹⁶. NF- κ B는 전 염증성 분자들을 조절하는 DNA에 대한 전사인자로서 미세먼지를 폐 상피세포에 가하면 NF- κ B를 매개로 하여 염증성 사이토카인인 interleukin (IL)-6, IL-8, tumor necrosis factor 등이 증가한다는 연구가 있다¹⁷. 그 증가 기전은 아직 밝혀지지 않았지만 미세먼지의 내독소, 또는 미세먼지에 포함된 철과 같은 증강속성분이 관여된다고 주장하는 연구들도 있다^{18,19}. 결론적으로 황사의 미세먼지는 폐 섬유모세포에서 NF- κ B의 발현을 통해 fibronectin의 증가를 유발할 것이라고 예측된다. 다만 폐 섬유모세포가 황사의 미세먼지(PM₁₀)에 의하여 자극을 받았을 시에 NF- κ B가 활성화되면서 어떤 신호전달과정에 의하여 cytokine이나 growth factor의 발현이 증가되어 fibronectin의 발현이 증가하는지는 향후 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Bell ML, Davis DL. Reassessment of the lethal London fog of 1952: novel indicators of acute and chronic consequences of acute exposure to air pollution. *Environ Health Perspect* 2001;109 Suppl 3:389-94.
2. Donaldson K, Stone V, Clouter A, Renwick L, MacNee W. Ultrafine particles. *Occup Environ Med* 2001;58: 211-6.
3. Park JW, Lim YH, Kyung SY, An CH, Lee SP, Jeong SH, et al. Effects of ambient particulate matter (PM₁₀) on peak expiratory flow and respiratory symptoms in subjects with bronchial asthma during yellow sand period. *Tuberc Respir Dis* 2003;55:570-8.
4. Donaldson K, Stone V. Current hypotheses on the mechanisms of toxicity of ultrafine particles. *Ann Ist Super Sanita* 2003;39:405-10.
5. Becker S, Soukup JM, Gilmour MI, Devlin RB. Stimulation of human and rat alveolar macrophages by urban air particulates: effects on oxidant radical generation and cytokine production. *Toxicol Appl Pharmacol* 1996;141:637-48.
6. Kim JH, Jeon HK, Kim MK, Kyung SY, An CH, Lee SP, et al. Particulate matter from Asian dust storms induces the expression of proinflammatory cytokine in A549 epithelial cells. *Tuberc Respir Dis* 2006;60:663-72.
7. Sheppard D. Transforming growth factor beta: a central modulator of pulmonary and airway inflammation and fibrosis. *Proc Am Thorac Soc* 2006;3:413-7.
8. Thannickal VJ, Horowitz JC. Evolving concepts of apoptosis in idiopathic pulmonary fibrosis. *Proc Am Thorac Soc* 2006;3:350-6.
9. Hwang HJ, Kang SJ, Kang SE, Park YM, Kim HK, Roh CU. Single particle characterization of aerosol samples collected during Asian dust storm events and non-Asian dust period in Incheon. *Proceedings of the 2007 Environmental Societies Joint Conference*; 2007 May 2-4; Busan, Korea. Seoul: Korean Society for Atmospheric Environment; 2007. p. 179-82.
10. Baek KW, Chung JD. Study on the yellow sandy dust phenomena in Korean peninsula and chemical compositions in fine particles at background sites of Korea. *Korean J Sanit* 2004;19:9-18.
11. Park KS, Kim YJ, Yoon JY, Kyung SY, An CH, Lee SP, et al. Particulate matter 10 from Asian dust storms induces the expression of reactive oxygen species, NF-kappaB, TGF-beta and fibronectin in WI-26 VA4 epithelial cells. *Tuberc Respir Dis* 2008;65:504-11.
12. Jiang Z, Seo JY, Ha H, Lee EA, Kim YS, Han DC, et al. Reactive oxygen species mediate TGF-beta1-induced plasminogen activator inhibitor-1 upregulation in mesangial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;309: 961-6.
13. Rennard SI, Bitterman PB, Crystal RG. Response of the lower respiratory tract to injury. Mechanisms of repair of the parenchymal cells of the alveolar wall. *Chest* 1983;84:735-9.
14. Junn E, Lee KN, Ju HR, Han SH, Im JY, Kang HS, et al. Requirement of hydrogen peroxide generation in TGF-beta 1 signal transduction in human lung fibroblast cells: involvement of hydrogen peroxide and Ca²⁺ in TGF-beta 1-induced IL-6 expression. *J Immunol* 2000; 165:2190-7.
15. Churg A, Brauer M, del Carmen Avila-Casado M, Fortoul TI, Wright JL. Chronic exposure to high levels of particulate air pollution and small airway remodeling. *Environ Health Perspect* 2003;111:714-8.
16. Shukla A, Timblin C, Berube K, Gordon T, McKinney W, Driscoll K, et al. Inhaled particulate matter causes expression of nuclear factor (NF)-kappaB-related genes and oxidant-dependent NF-kappaB activation in vitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000;23:182-7.
17. Quay JL, Reed W, Samet J, Devlin RB. Air pollution

- particles induce IL-6 gene expression in human airway epithelial cells via NF-kappaB activation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998;19:98-106.
18. Chandel NS, Trzyna WC, McClintock DS, Schumacker PT. Role of oxidants in NF-kappa B activation and TNF-alpha gene transcription induced by hypoxia and endotoxin. *J Immunol* 2000;165:1013-21.
19. Jiménez LA, Thompson J, Brown DA, Rahman I, Antonicelli F, Duffin R, et al. Activation of NF-kappaB by PM₁₀ occurs via an iron-mediated mechanism in the absence of IkappaB degradation. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000;166:101-10.
-