

호흡기에서 점액과발현의 조절 기전

송경섭

고신대학교 의과대학 생리학교실

Regulatory Mechanism of Mucous Hyperproduction in the Airway

Kyoung Seob Song

Department of physiology, Kosin University College of Medicine

Abstract

Mucin hypersecretion is commonly observed in many inflammatory diseases of the respiratory tract. Mucins are important components that exert the number of functions in cell-cell interaction, intracellular signaling, and airway protection. The homeostasis of mucin production is an essential feature in conducting airways for the maintenance of mucociliary function. In this review, the author summarizes work over the past 15 years on intracellular signal transduction of mucin gene expression and regulation in the airway, as well as how mucin gene expression is altered in lung diseases. This review also do the current view on the mediators, the signaling pathways, and the transcription factors that are related to the regulation of airway mucin gene expression.

Key words : Respiratory track, mucin, inflammation, mucous hypersecretion, mucous hyperproduction

서론

인간 호흡기는 그 조직 자체의 특이적 기능으로 인해 외부의 자극에 많은 노출되어져있다. 대기오염, 박테리아, 바이러스 등 많은 자극에 반응을 하여야 하며, 기도 (airway)를 보호해야 한다. 그렇기 때문에 항상 항상성 (homeostasis)에 의해 조절 되어져야 한다. 그러나 점액 분비가 억제되면 선천성 면역 (innate immunity)에 문제가 되고, 점액과발현 및 과분비가 되면 기도 루멘 (airway lumen)에 축적되기 때문에 또 다른 질병을 유도한다. 점액과분비 (mucous hypersecretion)과 점액과발현 (mucous hyperproduction)은 많은 호흡기질환에서 흔하게 관찰 되어진다.^{1, 2)} 과거에는 기도협착의 일차적 원

인으로써 연구가 되어졌지만 약 10년 전부터 만성 폐질 환인 천식(asthma), 만성기도폐쇄성질환 (chronic obstructive pulmonary diseases; COPD), 낭성섬유증 (cystic fibrosis) 등이 점액과분비 및 기도에 축적에 의한 질병으로써 알려져 많은 생리학적 연구가 진행되어 왔다.

점액 (mucous)은 물, 당 (glucose)등 다양한 분자로써 구성 되어져 있지만, 뮤신(mucin)이라 호칭되는 과하게 당화 (heavy glycosylation)된 단백질이 위의 질병의 원인으로 생각되어진다. 현재까지 21개의 뮤신 유전자가 알려져 있고, 이들은 막특이적 발현 뮤신과 분비되는 뮤신으로 구분 되어진다. 그러나 2000년에 인간 게놈 프로젝트가 완성됨에도 불구하고, 뮤신 유전자의 전체 염기 서열 및 프로모터의 염기 서열이 아직 전부 밝혀진 것이 아닌 관계로 인해 연구에 많은 제한을 내포하고 있다. 본 총설에서는 인간 호흡기에서는 뮤신 중 MUC5AC과 MUC8이 가장 많이 발현되고 분비되어지

교신저자 : 송 경 섭
주소 : 602-702 부산광역시 서구 압남동 34번지
고신대학교 의과대학 생리학교실
TEL: 051) 990-6236 FAX: 051) 990-3081
E-mail: kssong@kosin.ac.kr

고, 호흡기 질환에서 빈번히 관찰되어지고 있기 때문에 이 뮤신의 세포 내 신호전달 및 조절에 집중하겠다.

MUC5AC 발현 및 조절

MUC5AC는 MUC2와 MUC5B의 사이인 11p15.5에 위치하고 있으며, cDNA의 크기는 17.5 kb (kilo base)이다. MUC5AC는 주로 폐, 위, 자궁경관점막 (endocervix), 눈 결막 (conjunctiva)에서 주로 분비하는 것으로 알려져 있다. 호흡기에서는 염증 질환에서 술잔세포 (goblet cells)로 부터 분비되는 뮤신 중에 MUC5AC가 지배적이다. 많은 연구 논문에서 염증을 유발하는 사이토카인 (TNF- α , IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-9, IL-13, IL-17)과 박테리아 부산물 (LPS, LTA, peptidoglycan, flagellin) 및 성장인자 (growth factors; EGF, TGF- α)에 의해 기도 상피세포에서 *in vitro* 및 *in vivo* MUC5AC의 발현이 증가된다고 보고 되었다. MUC2의 발현과 같이 MUC5AC의 발현 신호전달도 MAP kinase에 의해 조절되어 진다. IL-1 β 나 TNF- β 와 같은 염증 유발인자에 의해 ERK1/2와 p38의 동시 활성화되고, 핵에서 MSK1 (mitogen- and stress-activated kinase 1)을 활성화 시켜 전사인자인 CREB (cAMP responding element-binding protein)을 활성화 시켜 MUC5AC의 프로모터에서 CRE 자리에 결합함으로써 MUC5AC의 발현을 증가시킨다. ³⁾ 또한 Phorbol 12-myristate 13 acetate (PMA)는 ERK1/2를 활성화시켜 신호전달을 활성화시키는데 CREB보다는 Sp1 transcription factor를 선호한다. ⁴⁾ MAP kinase 뿐만 아니라 다양한 다른 신호 전달체계를 활성화시키는데, 대표적인 *nontypeable H. influenzae*에서 과생된 LPS는 Toll-like receptor (TLR) 2를 활성화시켜 NF- κ B pathway를 활성화시켜 다양한 생리적 현상을 유도한다. ⁵⁾ 특히 TNF- α 는 MAP kinase를 활성화 시켜 MUC5AC 발현을 증가시키는데 어느 그룹에서는 NF- κ B pathway를 거쳐 MUC5AC 발현을 증가시킨다는 보고가 있지만, NCI-H292 세포에서는 TNF- α 에 의해 NF- κ B pathway가 활성화 되지 않는다 (Our unpublished data). 또 다른 신호전달은 H₂O₂ 처리 후 가 NADPH oxidases (NOX)에 의해 생성된 Reactive Oxygen Species (ROS)가 MUC5AC 발현을 증가된다는 보고가 있다. ⁶⁾ 그러나 NOX는 각 조직마다 세포마다 그 다양성이 있기 때문에 이 신호

전달체는 좀 더 연구가 필요하다. 또한 PMA 처리 후 dual oxygenase (DUOX) 1에 생성된 ROS가 TNF- α -converting enzyme (TACE)를 활성화시켜 MUC5AC를 증가시킨다는 보고가 있다. ⁷⁾

다음으로, MUC5AC 발현을 조절하는 전사인자 (transcription factor)에는 많은 신호전달이 집중되는 곳이다. 수용체부터 시작해서 증폭된 신호가 핵에서는 집중되어 생리적 현상을 조절한다. MUC5AC 프로모터에는 다른 유전자와 마찬가지로 조절 전사인자가 혼재되어 있지만 염중에 집중적인 전사인자는 크게 두 개이다. 하나는 위에서 언급되어진 NF- κ B이며, 다른 것은 CREB이다. CRE (TGACTTGA)은 MUC5AC promoter-878 위치에 존재하고 있으며, CREB 단백질이 결합하여 생리적 현상을 유도한다. IL-1 β 나 TNF- α 는 MAP kinase에 의해 활성화된 MSK1에 의해 CREB 이 조절되어진다. ³⁾ 이때에는 ERK1/2과 p38이 동시에 활성화되어야 MSK1이 활성화된다. 이러한 사실은 복잡한 세포 내 신호전달의 한 일부분이며, 이러한 이유로 신호전달을 규명하는데 어려움이 있다. 또한 최근에는 중요한 염증인자 중 하나인 adenosine-triphosphate (ATP)에 의해서도 CREB이 활성화되는데 또 다른 전사인자인 c-Ets1 (E26 transformation specific)과 결합하여 공동상승효과를 보인다. ⁹⁾ 이러한 결과는 MUC5AC 발현을 위해 CREB을 중심으로 단백질 복합체 (scaffold)가 형성되어 지거나, CREB과 같이 major 전사인자로 작용, 혹은 c-Ets1의 단독으로 작용함을 의미하지만, 면역침전요법으로 확인해 보면 단백질 복합체로서 작용할 확률이 높다. 따라서 어떠한 자극이 오면 염증에서는 주로 NF- κ B, CREB, c-Ets1등의 단백질 복합체의 매우 복잡한 기전을 가질 것으로 예상 되어진다.

2006년 이후로 많은 연구자들이 새로운 항염증성 신약개발을 활성화되는 신호 전달체의 억제제 (antagonist)를 개발하는 것이 아니라, 세포 내 염증반응을 조절하는 단백질 (attenuator, suppressor)를 규명하는 쪽으로 전환이 되었다. 주로 수용체의 경쟁물질 발견 및 세포 내 조절 단백질인데, 최근에는 G-protein의 활성화에 필수적인 GTP를 분해하는 RGS (Regulatory of G-protein Signaling) 4가 GTPase 활성을 가지기 때문에 활성화된 Ga-GTP가 불활성 단백질인 Ga-GDP로 가

수분해되어 활성도가 사라지게 된다. 이러한 세포 내 작용이 *Pseudomonas aeruginosa*의 부산물인 LPS에 의해 분비된 ATP가 P2Y2 G-protein coupled receptor (GPCR)를 활성화시켜 G_{aq} -GTP로 신호가 전달되는데, RGS4 knock-out mice에서 더 심각하게 MUC5AC 발현이 증가되었다⁹⁾ (Fig. 1). 이는 RGS4가 위의 신호 전달을 억제함으로써 항상성을 유지하는데 중요한 생리학적 기능을 소유함을 알 수 있다. 따라서, 신호가 전달이 되면 세포에서는 항상성을 유지시키기 위해 보호작용을 하게 된다 이러한 점을 착안해 세포 내 억제 단백질이나 수용체에 경쟁적 반응을 하는 물질이 신약개발의 후보물질로 간주되어 진다.

MUC8 발현과 조절

MUC8은 12q24.3에 위치하고 있으며, MUC5AC와 같이 airway epithelium에 많이 분비되어지는 mucin중의 하나이다. 그러나 2000년에 Human Genome Project가 완성됐음에도 불구하고 아직까지 fully sequencing이 되지 못했다. 그 중요한 이유는 mucin 유전자 특이적인 GC tandem repeat가 매우 많이 존재하며, 유전자 사이 (gap)에 존재할 가능성이 높기 때문이다. 1997년 Sachdev가 밝힌 3' 부분적 염기서열만 알려져 있을 뿐이다.¹⁰⁾ cDNA뿐만 아니라 프로모터 염기서열도 알려져 있지 않기 때문에 연구가 매우 제한적이지만 본 저자는 알려진 염기서열을 가지고 신호전달을 규명하였다. 2003년

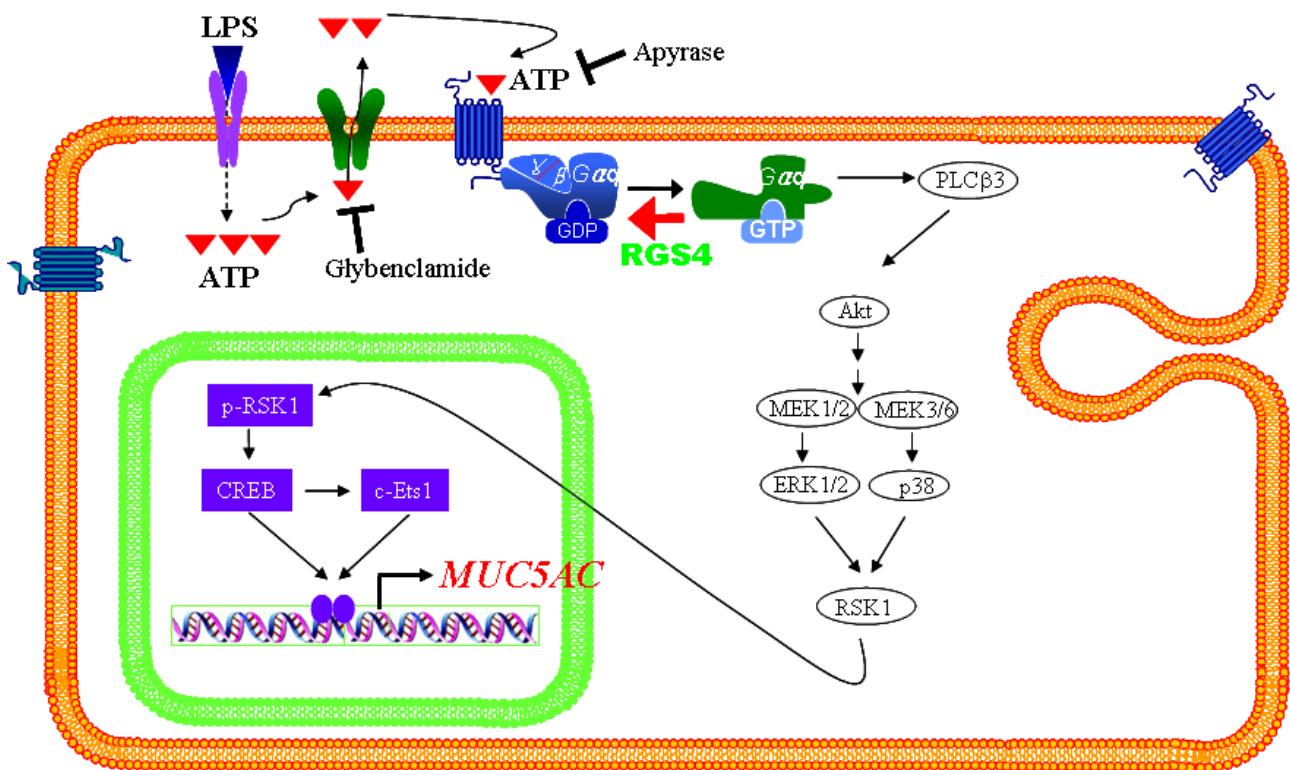


Fig. 1 Schematic mechanism of how LPS activate *MUC5AC* gene expression in airway epithelial cells. LPS from *P. aeruginosa* induces MUC5AC overproduction by both an ATP-dependent pathway and an ATP-independent pathway. In addition, Regulator of G-protein signaling (RGS) 4 plays as a suppressor for ATP-induced MUC5AC expression by interacting with G_{aq} in a GTP-dependent manner *in vivo*. Moreover, secreted ATP-induced MUC5AC mRNA was mediated by phospholipase C β 3. ATP sequentially activated the phosphorylation of Akt, ERK1/2, p38, RSK1, and CREB in a protein kinase C-independent manner. ATP-induced MUC5AC mRNA levels were regulated by CREB via direct interaction with c-Ets1 on the MUC5AC gene promoter (located -938 to -930). Effects of CREB and c-Ets1 were additive. Inhibition of either CREB or c-Ets1 inhibited ATP-induced MUC5AC gene expression. Stimulation with ATP caused the direct binding of CREB and c-Ets1 to the MUC5AC promoter, increasing the phosphorylation of c-Ets1. Chromatin immunoprecipitation assays demonstrated that in the presence of ATP, both c-Ets1 and CREB bound to the MUC5AC promoter. The effects of exogenous ATP on MUC5AC gene expression are mediated by a complex regulatory cascade controlling interactions between CREB and c-Ets1 that bind to a promoter element in the MUC5AC gene enhancing MUC5AC gene transcription. ATP-dependent activation of MUC5AC gene expression via CREB-c-Ets1 may contribute to mucous cell hypersecretion associated with common respiratory disorders.

저자는 인간 호흡기 세포에서 IL-1 β 에 의한 MUC8 신호 전달을 최초로 규명하였다. MUC5AC와 달리 IL-1 β 에 의해 ERK1/2가 활성화 되어 (p38 활성화는 무관함) 세포질 내에 있는 p90 ribosomal S6 protein kinase (RSK) 1을 활성화시켜 핵으로 이동하게 되고 CREB과 결합하여 MUC8 발현을 증가시킨다.¹¹⁾ 또한 PGE2에 의해 같은 기전으로 MUC8 발현이 증가된다는 보고도 있다.¹²⁾ 이외의 논문 결과는 MUC8의 실험적 제한때문에 많은 보고가 없었지만 최근에 본 저자는 Suppressor of Cytokine Signaling (SOCS)3가 IL-1 β 의 신호 전달을 억제함을 밝혔고 IL-1 β 의 신호 전달에 non-POU-domain containing, octamer-binding domain protein (NonO)라는 전사인자가 개입되어 있다는 것을 nano LC mass analysis 방법으로 증명하였다.¹³⁾ 이 논문의 중요성은 MUC8 promoter 염기서열이 밝혀지지 않은 상태에서 NonO 전사인자가 중요함을 알리는 것이었다. 가장 최근에는 PMA 처치 시 activator protein (AP) 2 전사인자가 MUC8 발현에 중요하다는 논문이다.¹⁴⁾ 그러나 염기서열 및 프로모터 취약성으로 인해 연구 접근도가 떨어지는 부분이다.

결 론

현재까지의 축적된 결과들에 의하면 MUC5AC, MUC8과 같이 분비되는 mucin의 발현은 각각의 자극 특이적인 기전을 가지고 있다. MAP kinase, EGFR, RA 수용체 세포 신호전달 단백질에서 전사인자 활성화를 통해 여러 mucin 발현이 조절되어진다. 다만, heavy glycosylation과 매우 크기가 큰 이유로 실험상의 제한성이 많이 존재하지만, 향후 향상된 실험기법으로 극복될 수 있을 것으로 믿어 의심치 않는다. Transcription과 translation 단계에서 조절되지 않게 세포질에서 신호 전달을 억제하는 단백질의 규명이 새로운 신약 개발에 중요한 타겟이 될 것이며, 많은 연구가 진행되어야 할 것이다.

또한 epigenetic 연구가 현재 진행하고 있지만 아직 미흡하다. MUC5AC promoter에는 GC island가 적어서 제한적이지만 세포 내에서는 또 다른 기전으로 조절될 수 있기 때문에 다른 기법으로 연구가 진행되어야

한다. 현재 염증에 대해 많은 관심을 가지게 되어 매우 고무적이지만 염증의 기전 및 점액과분비, 점액과발현은 아직까지 극히 부분적인 연구이기 때문에 더 많은 투자와 연구가 진행되어야 한다.

References

- 1) Thai P, Loukoianov A, Wachi S, Wu R: Regulation of airway mucin gene expression. *Annu Rev Physiol* 70:405-429, 2008
- 2) Rose MC, Voynow JA: Respiratory tract mucin genes and mucin glycoproteins in health and disease. *Physiol Rev* 86:245-278, 2006
- 3) Song KS, Lee WJ, Chung KC, Koo JS, Yang EJ, Choi JY, Yoon JH: Interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha induce MUC5AC overexpression through a mechanism involving ERK/p38 mitogen-activated protein kinases-MSK1-CREB activation in human airway epithelial cells. *J Biol Chem* 278:23243-23250, 2003
- 4) Hewson CA, Edbrooke MR, Johnston SL: PMA induces the MUC5AC respiratory mucin in human bronchial epithelial cells, via PKC, EGF/TGF-alpha, Ras/Raf, MEK, ERK and Sp1-dependent mechanisms. *J Mol Biol* 344:683-695, 2004
- 5) Shen H, Yoshida H, Yan F, Li W, Xu F, Huang H, Jono H, Li JD: Synergistic induction of MUC5AC mucin by nontypeable Haemophilus influenzae and Streptococcus pneumoniae. *Biochem Biophys Res Commun* 365:795-800, 2008
- 6) Kim HJ, Park YD, Moon UY, Kim JH, Jeon JH, Lee JG, Bae YS, Yoon JH: The role of Nox4 in oxidative stress-induced MUC5AC overexpression in human airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 39:598-609, 2008
- 7) Shao MX, Nadel JA: Dual oxidase 1-dependent MUC5AC mucin expression in cultured human airway epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:767-772, 2005
- 8) Song KS, Lee TJ, Kim K, Chung KC, Yoon JH: cAMP-responding element-binding protein and c-Ets1 interact in the regulation of ATP-dependent MUC5AC gene expression. *J Biol Chem* 283:26869-26878, 2008
- 9) Song KS, Kim HJ, Kim K, Lee JG, Yoon JH: Regulator of G-protein signaling 4 suppresses LPS-induced MUC5AC overproduction in the airway. *Am J Respir Cell Mol Biol* 41:40-49, 2009
- 10) Shankar V, Pichan P, Eddy RL Jr, Tonk V, Nowak N, Sait SN, Shows TB, Schultz RE, Gotway G, Elkins RC, Gilmore MS, Sachdev GP: Chromosomal localization of a human mucin gene (MUC8) and cloning of the cDNA corresponding to the carboxy terminus. *Am J Respir Cell*

Mol Biol 16:232–241, 1997

- 11) Song KS, Seong JK, Chung KC, Lee WJ, Kim CH, Cho KN, Kang CD, Koo JS, Yoon JH: Induction of MUC8 gene expression by interleukin-1 beta is mediated by a sequential ERK MAPK/RSK1/CREB cascade pathway in human airway epithelial cells. J Biol Chem 278:34890–34896, 2003
- 12) Cho KN, Choi JY, Kim CH, Baek SJ, Chung KC, Moon UY, Kim KS, Lee WJ, Koo JS, Yoon JH: Prostaglandin E2 induces MUC8 gene expression via a mechanism involving ERK MAPK/RSK1/cAMP response element binding protein activation in human airway epithelial cells. J Biol Chem 280:6676–6681, 2005
- 13) Song KS, Kim K, Chung KC, Seol JH, Yoon JH: Interaction of SOCS3 with NonO attenuates IL-1beta-dependent MUC8 gene expression. Biochem Biophys Res Commun 377:946–951, 2008
- 14) Moon UY, Kim CH, Choi JY, Kim YJ, Choi YH, Yoon HG, Kim H, Yoon JH: AP2alpha is essential for MUC8 gene expression in human airway epithelial cells. J Cell Biochem 110:1386–1398, 2010