

알레르기 마우스에서 황사가 비알레르기 반응에 미치는 영향

가천의과학대학교 의학전문대학원 길병원 이비인후과학교실,¹ 생명과학부,² 건국대학교 수의과대학³김선태¹ · 이은정¹ · 정주현¹ · 강일규¹ · 차홍익¹ · 김대영² · 도선희³

The Effect of Asian Sand Dust in Allergic Inflammation of Allergic Mouse

Seon Tae Kim, MD¹, Eun Jeong Lee, MD¹, Joo Hyun Jung, MD¹, IL Gyu Gang, MD¹,
Heung Eog Cha, MD¹, Dae Young Kim, PhD² and Sun Hee Do, PhD³¹Department of Otolaryngology; ²Biological Science, Gil Medical Center, Graduate School of Medicine and Science, Gachon University, Incheon; and ³Division of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : Asian sand dust (ASD) is known to aggravate the respiratory symptoms in patients with bronchial asthma. However, the effect of ASD in allergic rhinitis is not known. The objective of this study was to investigate whether ASD can activate the allergic inflammation in allergic mouse model. **Materials and Method** : Forty female BALB/c mice were divided into 4 groups. Group 1 was nebulized with saline and group 2 with ASD. Group 3 was nebulized with ovalbumin (OVA) only and Group 4 with OVA plus ASD after intraperitoneal injection with OVA. The allergic symptom scores were checked. The mouse OVA specific IgE/IgG₁, IL-4, IL-5 and IFN- γ were measured by ELISA. The nasal mucosa was examined for the expression of IL-4 and IL-5 by immunohistochemical stain. **Results** : The average symptom score was increased in Group 4 compared to Group 3 ($p < 0.05$). The IgE was significantly increased in Group 4 compared to Group 3 ($p < 0.01$). The IL-4 level of nasal lavagefluid (NALF) was significantly increased in Group 4 compared to Group 3 ($p < 0.05$). The IL-5 level showed no significant difference between the Group 3 and Group 4 both in the serum and NALF. The level of IFN- γ was not changed in NALF. Immunohistochemical staining showed that the positive cells for IL-4 were expressed in epithelial layer and submucous gland and the positive cells were more increased in Group 4 than in Group 3. **Conclusion** : In allergic mouse model, ASD has shown to activate the allergic inflammatory reaction by the stimuli of Th2 cytokineproduction. (Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg 2009;52:498-505)

KEY WORDS : Asian sand dust · Allergic rhinitis · Cytokines.

서 론

황사(Asian sand dust, ASD)는 동북아시아 지역에 발생하는 자연현상으로 중국과 몽골의 사막지대에서 발생하여 편서풍의 기류를 따라 한반도에 수송되어 사회 경제적으로 광범위한 피해를 주는 것으로 알려져 있다.¹⁾ 황사철에 알레르기 비염의 증상이 악화되는 경우가 많아 임상적으로 황사가 알레르기 비염을 악화 시킬 것으로 막연히 추정하고 있으나 아직까지 이에 대한 구체적인 연구가 이루어진 바 없다. 황사가 호발하는 봄철에는 알레르기를 유발하는 꽃가루 등이 많은 계절이어서 알레르기 비염 환자에

서 황사가 알레르기 비염을 활성화시키는 인자로 작용하는지, 꽃가루 등 다른 알레르기 원인 항원이 활성화시키는 인자로 작용하는지를 감별하기는 어렵다.

황사의 성분은 여러 공해 물질들을 포함하고 있는데 이중 각종 질환을 일으키는 입자는 크기가 10 마이크로 이하인 미세입자(particulate matter less than 10 μ m in diameter, PM10)이다. 황사 성분 중에 총 먼지 분자에서 PM10의 농도가 심할 때는 평균 53~71% 정도를 나타내며 이와 같은 PM10의 증가는 하부기도까지 침범하여 각종 호흡기 질환을 유발하게 된다.²⁻⁴⁾ 황사기간 중 천식 환자에서 폐기능이 악화되고 야간에 천식 증상이 증가하였다는 보고가 있으며⁵⁻⁷⁾ 황사 유행시기에 호흡기 질환으로 인한 일별 사망률과 입원율이 증가하였다고 보고되었다.⁸⁻¹⁰⁾ 또한 황사가 있는 대기 중에 노출된 쥐의 기관지 폐포에서 염증세포가 증가하여 황사가 폐의 염증과 손상을 일으킬 수 있음을

논문접수일 : 2008년 12월 15일 / 심사완료일 : 2009년 4월 23일
교신저자 : 김선태, 405-760 인천광역시 남동구 구월동 1198
가천의과학대학교 의학전문대학원 길병원 이비인후과학교실
전화 : (032) 460-3764 · 전송 : (032) 467-9044
E-mail : kst2383@gilhospital.com

보여주었다.¹¹⁾ 본 연구는 황사에 의한 알레르기 비염에 대한 영향을 보고자 난알부민(ovalbumin, OVA)을 이용하여 알레르기 비염 모델을 만든 후¹²⁻¹⁴⁾ 여기에 황사를 자극시켜 알레르기 반응의 변화를 보고자 하였으며 또한 황사 자극 후 알레르기 비염에 관여하는 염증성 사이토카인 등의 변화를 관찰하였다.

재료 및 방법

대 상

황사분진의 포집

황사분진은 황사가 유행하는 시기 중 황사주의보가 발생한 날에 포집기(High volume air sampler HV-500F, Sibata, Japan)를 이용하여 채취하였다. 포집기 안에 있는 여과지를 PBS 10 mL 튜브에 조각 내어 넣은 후 교반을 실시하였다. 이후 여과지를 건져낸 후 10 μ m pore의 필터로 여과하였다. 여과된 분진가루를 1.5 mL 튜브로 나누어 담아 무게를 측정 후 고압 가열을 121 $^{\circ}$ C, 15분간 실시한 후 -20 $^{\circ}$ C에 보관하였다.

실험동물 및 실험군

실험동물로는 6주령, 20~25 g의 건강한 BALB/c 마우스 암컷 40마리를 사용하였다. 실험 1주일 전부터 실험기간 동안 실험동물을 온도 20~23 $^{\circ}$ C, 습도 45~70%의 동물실험실에서 사육하였으며 모든 실험은 NIH guideline에 따랐다. 실험군은 다음과 같이 4그룹으로 나누어 실험하였다. Group 1(G1, N=10)은 정상 대조군으로 식염수만 분무하였고, Group 2(G2, N=10)는 황사 대조군으로 ASD만 분무하였다. Group 3과 Group 4는 OVA를 이용한 알레르기 전신 감각군으로 Group 3(G3, N=10)은 OVA만 계속 분무하였고, Group 4(G4, N=10)는 OVA과 함께

ASD를 같이 분무하였다.

방 법

실험동물에 대한 자극 및 표본 제작

대조군에 대한 자극

G1은 분무기(Omron, Japan)를 이용하여 5마리는 식염수만 1 mL씩 7일간 분무하였고(1주군), 5마리는 14일간(2주군) 분무하였다. G2는 10 mg의 황사를 식염수 1 mL에 섞어서 10 mg/mL 농도의 ASD를 만든 후 총 1 mL를 1회에 15분 동안 7일간 및 14일간 분무하였다.

난알부민을 이용한 알레르기 동물모델 제작

난알부민의 제작은 난알부민(OVA, Sigma, St. Louis, MO) 25 μ g과 수산화 알루미늄겔{Al(OH)₃gel} (Alum, Pierce Chemical Co., Rockford, IL) 1 mg을 생리 식염수 3 mL에 혼합하여 이를 300 μ L씩 마우스 복강내로 주사하였다. 복강내 주사는 1, 7, 14일에 각각 시행하여 전신감작을 시행하였다. 국소감작은 전신 감각을 시행한 마우스를 대상으로 21일째부터 4일간 시행하였는데, 식염수 1 mL에 난알부민 20 mg을 녹여 2% OVA를 만든 후 40 \times 40 \times 30 cm 크기의 아크릴 상자를 만들고 그 옆면에 구멍을 내어 분무기(Jet nebulizer, Omron, Japan)와 연결한 후 30분간 분무하여 국소감작을 시켜 알레르기 모델을 완성하였다(Fig. 1).

알레르기 모델군에 대한 자극

위에서 만들어진 알레르기 마우스를 이용하여 Group 3는 계속해서 2% OVA 5 mL를 2일에 한 번씩 30분간 흡입시켜 알레르기 상태를 유지하도록 하였고 10마리 중 5마리는 1주까지, 나머지 5마리는 2주까지 자극하였다. Group

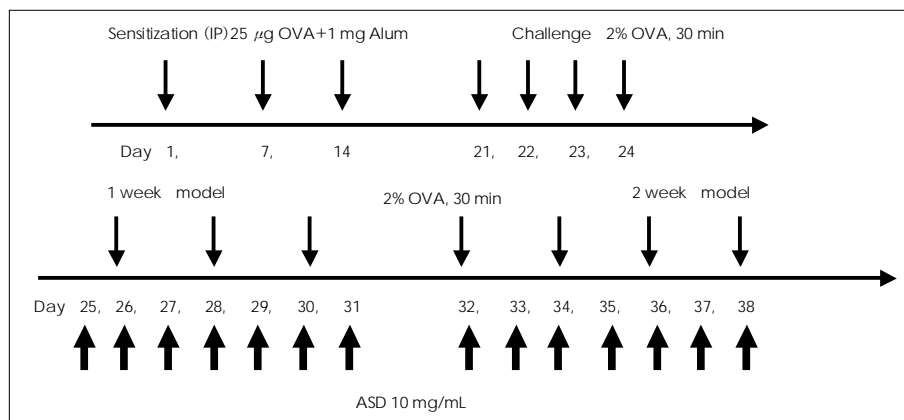


Fig. 1. Allergic mouse model. The mixture of 25 μ g OVA and 1 mg Al(OH)₃ gel was injected into the peritoneum for systemic immunization and the mouse was nebulized with 2% OVA for 4 days for local immunization. And then group 3 mouse was nebulized with only the 2% OVA for 1 and 2 weeks and the group 4 mouse was nebulized with a mixture of 2% OVA and ASD. OVA : ovalbumin, ASD : Asian sand dust.

4는 2% OVA를 Group 3와 같이 계속 투여하면서 10 mg의 황사를 식염수 1 mL에 섞어서 10 mg/mL 농도의 ASD를 만들어 1회에 15분 동안 7일간 및 14일간 Group 2와 동일하게 분무하였다.

혈액채취

마지막 자극 24시간 후 마우스를 phenobarbital(65 mg/kg)을 이용하여 복강내로 주사하여 마취시킨 후 해파린 처리된 모세관투브를 이용하여 안와를 천자하여 안동맥에서 혈액 300~400 μ L를 채취하였다. 채취한 혈액을 4°C에서 2~4시간 동안 보관한 후 원심분리(1,200 rpm, 15분)를 시행하여 혈청을 분리하여 사용하였다.

비세척액의 채취

혈액을 채취한 후 비세척액(nasal lavage fluid, NALF)을 채취하기 위하여 흉곽을 절개하여 기관지를 노출시킨 후 기관지 절개술을 시도하여 26게이지 카테터를 후비공에 위치한 후 머리를 아래쪽으로 신전시켜 전비공이 낮게 위치하도록 하였다. 식염수 1 mL를 천천히 점적하여 비강을 세척하고 전비공으로 흘러나오는 비세척액을 받았다. 이 세척액을 원심분리(4°C, 2,000 rpm)한 다음 상층액 0.5 mL를 채취하여 측정 전까지 -70°C에 보관하였다.

비강 조직의 채취 및 표본 제작

마우스의 머리를 절단한 후 안구, 피부와 근육을 제거한 두부를 10% Para formaldehyde에 24시간 고정하였다. 단두한 두부를 Surgipath(Decalfied II, Surgical Medical Industries Inc., Richmond, IL)에 5일간 담가서 탈석회시킨 후, 상절치 바로 뒤에서부터 경구개의 절치 유두(incisive papilla)의 약 2 mm 전방부위까지 절단한 후 파라핀 포매하였다.

알레르기 증상 변화의 관찰

알레르기가 유발되었는지 확인하기 위하여 각 군에서 마지막 비강내 흡입을 시행하고 일정한 시간이 지난 후 15분간 각각의 마우스에서 채취기 횟수와 코를 긁는 동작의 횟수 등의 임상 증상을 측정하여 이들 총 횟수의 합을 증상점수로 기록하였다. 2명의 관찰자가 측정한 점수의 평균을 증상점수로 기록하였다.

난알부민 특이 혈청 IgE 및 IgG₁ 항체의 농도 측정

난알부민 특이 IgE 항체 및 IgG₁ 항체의 농도를 ELISA 방법을 사용하여 측정하였다. 마우스의 혈청을 이용하여 mouse anti-OVA IgE ELISA kit(Alpha Diagnostic Intl. Inc.

San Antonio, Tx)와 mouse anti-OVA IgG₁ ELISA kit(Alpha Diagnostic Intl. Inc. San Antonio, Tx)를 이용하여 시행하였다. 보관되어 있는 혈청을 이미 anti-OVA IgE나 anti-OVA IgG₁으로 코팅되어 있는 96well 소판에 넣어 반응시킨 후 세척을 하고 antibody-enzyme conjugate와 반응시켰다. 다시 세척한 후 streptavidin HRP와 반응시킨 후 세척을 하고 이후 HRP substrate 용액을 넣고 빛을 차단한 상태에서 반응시킨 후 분광광도계(Hitachi U-2000, Japan)를 이용하여 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

NALF와 혈청에서 사이토카인의 측정

ELISA를 이용하여 혈청 및 NALF에서 IL-4와 IL-5의 농도를 측정하기 위해 mouse IL-4 ELISA kit(Biosource Intl, Inc. CA)와 mouse IL-5 ELISA kit(Biosource Intl, Inc. CA)를 사용하였고, NALF에서 IFN- γ 의 농도를 측정하기 위해 mouse INF- γ ELISA kit(PBL Bio-medical Laboratories, NJ)를 사용하여 시행하였다. 먼저 mouse IL-4, IL-5와 IFN- γ 의 specific antibody가 코팅된 96well 소판에 비세척액 또는 희석한 혈청을 넣고 2시간 동안 실온에서 반응시킨 후 세척하였다. 이후 biotin conjugate를 넣고 다시 실온에서 1시간 동안 반응시키고 세척시킨 후 streptavidin-HRP working 용액을 넣고 반응시켰다. 이후 다시 세척한 후 stabilized chromogen을 넣고 반응시킨 후 450 nm에서 흡광도를 측정하였다.

비점막에서 면역조직화학적 염색

비강조직에서 IL-4, IL-5의 분포를 면역조직화학적 염색으로 확인하였다. IL-4 항체는 mouse monoclonal Ab, Anti-human IL-4(BioVendor laboratory Medicine, Inc. Czech Republic)를 IL-5 항체는 Purified anti-mouse/human IL-5 Ab(BioLegend, San Diego, CA)를 사용하였으며 이들을 각각 1 : 200으로 희석하여 4°C에서 반응시켰다. 이후 biotinylated anti-rabbit antibody와 streptavidin HRP(DAKO, LSAB kit)를 각각 약 1시간과 30분 동안 반응시켰다. 이어 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride(DAB) 용액에 의한 발색반응을 실시하였다. 광학현미경을 이용하여 100배의 배율로 면역조직화학적 염색에서 양성반응을 보인 부분을 측정하였다. 비점막 상피세포에서 염색의 정도에 따라 + : 상피세포의 10%에서 존재(normal), ++ : 20~30%(mild), +++ : 40~50%(moderate), ++++ : 50% 이상(severe)으로 분류하였다.

연구자료분석

통계학적 분석은 SPSS 10 for Windows(Ver. 10.0, SPSS Inc., Chicago)를 이용하여 분산 분석(independent t-test)을 시행하였고 p 값이 0.05 이하인 경우 통계학적으로 유의하다고 하였다.

결 과

알레르기 증상 점수

증상 점수의 평균은 1주군과 2주군 모두에서 G1과 G2에 비해 G3와 G4에서 각각 의미 있는 차이를 보였다($p < 0.05$). 또한 1주군에서는 G4는 33.5 ± 4.5 회로 G3의 16.1 ± 3.2 회에 비해 유의하게 증가하였으나($p < 0.05$) 2주군에서는 G4는 30.5 ± 5.8 회로 G3의 27.0 ± 4.5 회에 비해 약간 증가하였으나 두 군 간에 통계학적으로 유의한 차이는 없었다. 각 그룹중 G3에서만 2주군이 1주군에 비해 증상 점수가 증가하였다(Fig. 2).

난알부민 특이 IgE 및 IgG₁ 항체 농도

IgE의 농도는 1주군에서 G4에서 22.9 ± 3.8 ng/mL로 G3에서 17.7 ± 6.8 ng/mL에 비해 증가되었으나 유의하지는 않았고($p > 0.05$), 2주군에서는 G4에서 27.1 ± 1.7 ng/mL로 G3에서 16.5 ± 0.3 ng/mL보다 의미 있는 차이를 보였다($p < 0.01$) (Fig. 3). IgG₁의 농도는 1주군에서 대조군인 G1에서 0.54 ± 0.02 μ g/mL에 비해 G3는 15.17 ± 0.20 μ g/mL, G4는 15.16 ± 0.86 μ g/mL로 유의하게 높았으나($p < 0.01$), G3와 G4 사이에는 통계학적으로 유의한 차이가

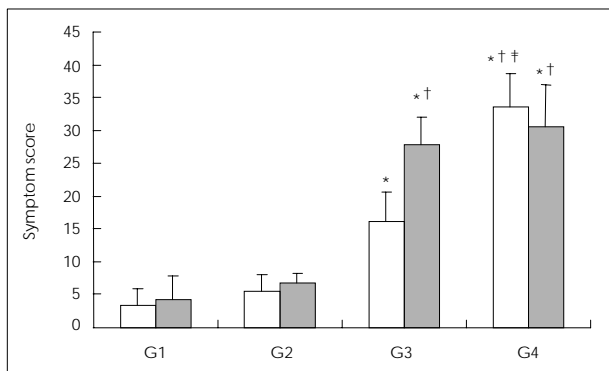


Fig. 2. Allergic symptom score. The allergic symptoms were significantly increased in G3 and G4 compared to G1 and G2 in 1 week and 2 week model. This score was also increased in G4 compared to G3 in 1 week. However in 2 week, there was no significant difference between G3 and G4 (G1 : control, G2 : ASD, G3 : OVA, G4 : OVA+ASD). * $p < 0.05$ versus the G1, † $p < 0.05$ versus the G2, ‡ $p < 0.05$ versus the G3. White box : 1 week ASD, Gray box : 2 week ASD. OVA : ovalbumin, ASD : Asian sand dust.

없었다.

각 그룹에서 1주군과 2주군 사이에 IgE 및 IgG₁ 모두에서 유의한 차이는 없었다(Fig. 4).

혈청 및 NALF에서의 IL-4, IL-5 및 IFN- γ 에 대한 분석

혈청에서 측정된 IL-4의 농도는 대조군인 G1과 G2에 비해 알레르기군인 G3와 G4에서 유의한 차이를 보이지 않았다($p > 0.05$). 그러나 NALF에서 측정된 IL-4의 농도는 1주군에서 G4는 48.2 ± 22.8 ρ g/mL로 G3의 32.0 ± 10.1 ρ g/mL에 비해 유의하게 증가되었다($p < 0.05$). 2주군에서도 G4에서 55.0 ± 3.8 ρ g/mL로 G3의 46.2 ± 12.5 ρ g/mL에 비해 증가되었으나 유의한 차이는 없었다($p > 0.05$) (Fig. 5). 혈청에서 IL-5의 농도는 G4의 330.07 ± 108.59 ρ g/

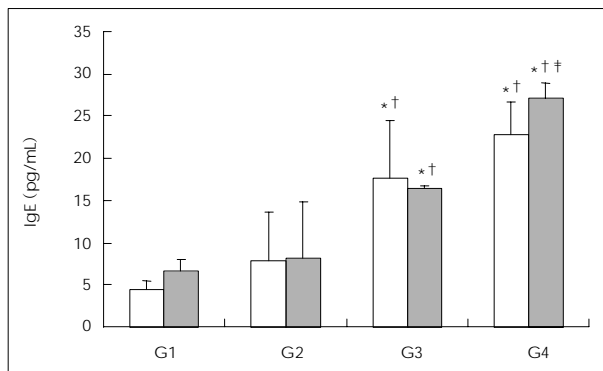


Fig. 3. Serum OVA specific IgE level. The concentration of OVA specific IgE level was significantly increased in G3 and G4 compared to G1 and G2 in both 1 week and 2 week. The concentration of OVA-specific IgE was also significantly increased in G4 compared to G3 in 2 week (G1 : Control, G2 : ASD, G3 : OVA, G4 : OVA+ASD). * $p < 0.05$ versus the G1, † $p < 0.05$ versus the G2, ‡ $p < 0.01$ versus the G3. White box : 1 week ASD, Gray box : 2 week ASD. OVA : ovalbumin, ASD : Asian sand dust.

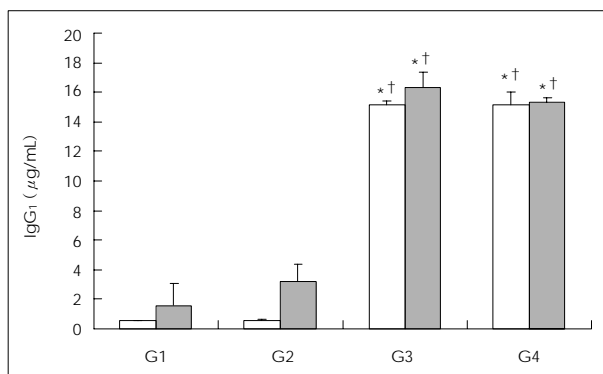


Fig. 4. Serum OVA specific IgG₁ level. The concentration of OVA specific IgG₁ level was significantly increased in G3 and G4 compared to G1 and G2 in both 1 week and 2 weeks. There was no significant difference between the G3 and G4 (G1 : control, G2 : ASD, G3 : OVA, G4 : OVA+ASD). * $p < 0.05$ versus the G1, † $p < 0.05$ versus the G2. White box : 1 week ASD, Gray box : 2 week ASD. OVA : ovalbumin, ASD : Asian sand dust.

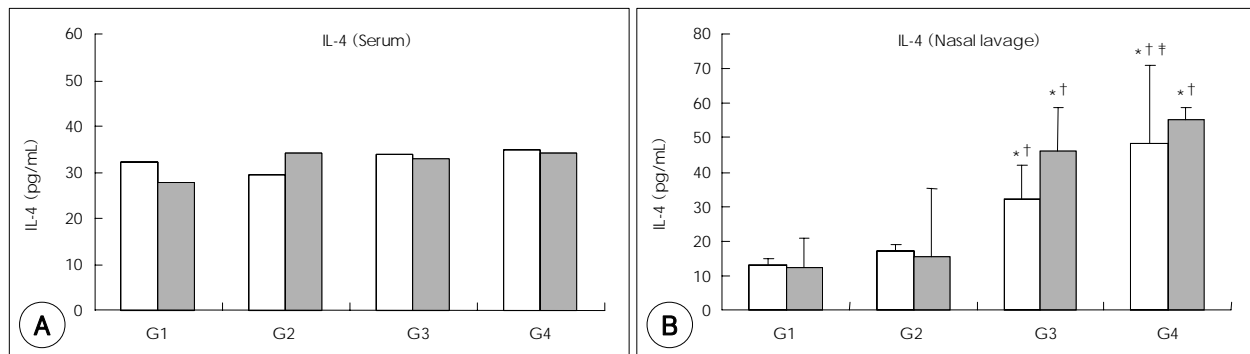


Fig. 5. The concentration of IL-4 in serum (A) and nasal lavage fluid (B). There was no significant difference in the serum IL-4 concentration between the groups. However the IL-4 level in the nasal lavage was significantly increased in G3 and G4 compared to G1 and G2 in 1 week and 2 weeks. Also the IL-4 level of G4 was significantly increased compared to G3 in 1 week (G1 : control, G2 : ASD, G3 : OVA, G4 : OVA+ASD). * $p<0.05$ versus the G1, † $p<0.05$ versus the G2, ‡ $p<0.05$ versus the G3. White box : 1 week ASD, Gray box : 2 week ASD. OVA : ovalbumin, ASD : Asian sand dust.

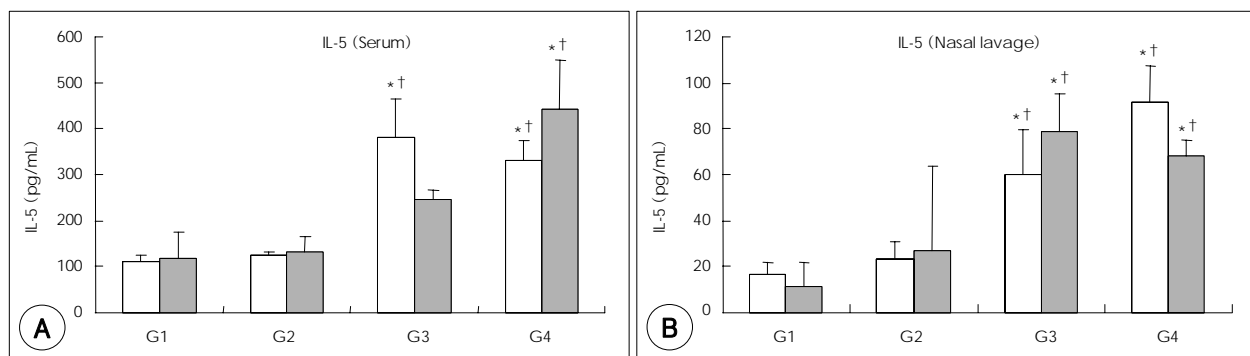


Fig. 6. The concentration of IL-5 in serum (A) and nasal lavage fluid (B). The serum IL-5 level was increased in G3 and G4 in 1 week. The IL-5 in nasal lavage was increased in G3 and G4. There was no significant difference between G3 and G4 (G1 : control, G2 : ASD, G3 : OVA, G4 : OVA+ASD). * $p<0.05$ versus the G1, † $p<0.05$ versus the G2. White box : 1 week ASD, Gray box : 2 week ASD. OVA : ovalbumin, ASD : Asian sand dust.

mL로 G3의 380.71 ± 83.34 $\mu\text{g/mL}$ 로 보다 증가하였으나 유의한 차이가 없었다. 또한 NALF에서 IL-5의 농도는 G3와 G4에서 G1과 2에 비해 유의하게 증가되었다(Fig. 6). 각 그룹에서 1주군 및 2주군의 비교에 있어 NALF의 IL-4 및 IL-5 발현 모두 G3 에서 1주군에 비해 2주군에서 증가되는 경향을 보여주었으나, 혈청에서는 IL-5만이 오히려 1주군에서 2주군 보다 증가하였다. NALF에서 측정된 IFN- γ 의 측정치는 각 군 간의 유의한 차이가 없었다(Fig. 7).

면역조직화학적 염색

IL-4 및 IL-5의 발현에 있어 각 그룹에서 1주군과 2주군 사이에 유의한 차이는 없었다. IL-4의 발현은 G1과 G2에 비해 G3 및 G4에서 빈도가 증가하였으며, G3에 비해서는 G4에서 상피세포 및 점막하층에서 모두 증가되는 양상을 보였다(Fig. 8, Table 1). IL-5의 발현은 G2에서 G1에 비해 증가하였고 또한 G4에서 발현이 가장 증가된 양상을 보였다(Fig. 9, Table 1).

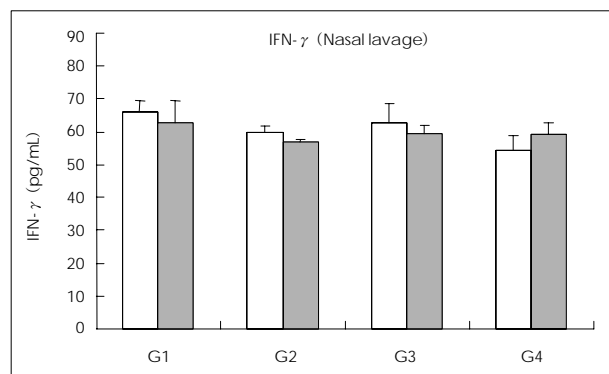


Fig. 7. The concentration of IFN- γ in nasal lavage fluid. The IFN- γ in nasal lavage was not increased in G3 and G4. There was no significant difference between G3 and G4 (G1 : control, G2 : ASD, G3 : OVA, G4 : OVA+ASD). White box : 1 week ASD, Gray box : 2 week ASD. OVA : ovalbumin, ASD : Asian sand dust.

고 찰

최근 전세계적으로 산업화가 진행되면서 각종 대기 오염 물질에 의한 알레르기 질환의 발생 빈도가 증가하는 추세

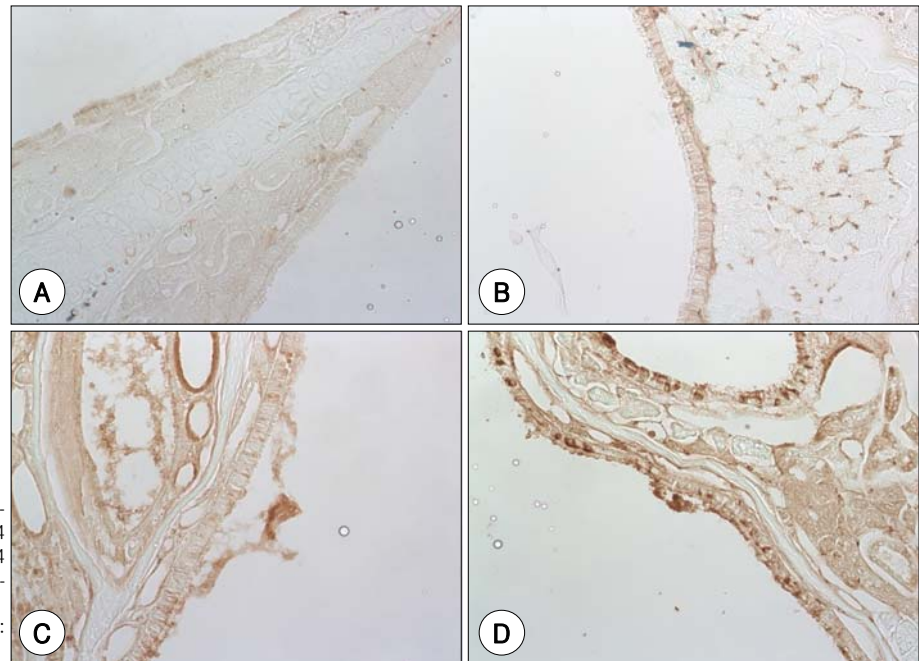


Fig. 8. Immunohistochemical staining for IL-4. The positive cells for IL-4 were significantly increased in G4 compared to G1 and G3 in epithelial layer ($\times 100$). A : control. B : ASD. C : OVA. D : OVA+ASD. OVA : ovalbumin, ASD : Asian sand dust.

Table 1. Summary of Immunohistochemical staining

	IL-4	IL-5
G1	+	+
G2	+	+
G3	++	++
G4	+++	+++

G1 : Control, G2 : Asian sand dust (ASD), G3 : OVA, G4 : OVA+ASD, + : defined as less than 10% of the airway (normal), ++ : 20–30% (mild), +++ : 40–50% (moderate), ++++ : more than 50% (severe)

에 있다. 이러한 오염물질 중 오존이나 디젤미세먼지 등은 기도 과민 반응과 알레르기 질환의 증상을 악화시키는 것으로 알려져 있다.¹⁵⁻¹⁹⁾ 기존 연구¹⁷⁾에서 기니픽에 비강내 난알부민을 주입하면서 동시에 오존에 노출시켰을 때 비내 알레르기 반응이 증가되었다고 보고하였다. 그러나 대기오염 물질 중 미세먼지가 대부분을 차지하는 황사가 알레르기 비염에 미치는 영향에 관한 연구는 아직까지 보고된 바가 없다.

지금까지 황사에 의한 연구는 주로 임상적인 내용으로 황사기간 중 천식 환자에서 PM_{10} 이 높은 날에는 최대 호기유속이 낮아지는 경향을 보였고, 최대 호기유속 변화율이 증가하였으며, 야간에 천식으로 인해 잠을 깨는 횟수가 증가하였다고 보고되었다.^{5,6)} 이와 유사하게 이산화황과 총 부유분진이 증가하면 소아 천식발생 빈도가 높다고 하였고,⁷⁾ 황사가 오면 천식으로 인한 입원의 증가율이 더욱 크게 나타났다.¹⁾ 그러나 아직까지 황사에 의한 동물실험은 국내에서 아직 보고된 바 없다.

본 연구결과에 의하면 알레르기 마우스 모델에서 황사 자극은 알레르기 증상 점수를 유의하게 증가시켜, 실제로 사람에서도 황사에 의해 알레르기 비염이 있는 환자들의 증상이 심해질 수 있음을 시사하였다. 또한, OVA specific IgE는 G4에서 유의하게 증가되어 혈청학적 검사에서도 황사가 항원에 대한 specific IgE를 더욱 증가시켰으므로 알레르기 마우스 모델에서 알레르기 반응을 더욱 활성화 시킴을 보여주었다. 그러나 IgG_1 은 G3에 비해 G4에서 유의한 차이를 보여주지 못했다. 이는 황사에 의한 알레르기 반응의 활성화가 IgE의 증가에 의해 일어남을 보여주는 것이다. 또한 각 그룹에서 1주군과 2주군의 결과를 비교했을 때 G3에서 1주군에 비해 2주군에서 알레르기 증상 및 NALF에서 IL-4 및 IL-5의 발현이 증가되었으나 G4에서는 1주군과 2주군 사이에 다른 검사상에 의미 있는 차이가 없어 황사에 의한 알레르기 염증 반응이 황사에 노출된 기간에 따라 증가되지는 않는 것으로 생각된다.

황사가 어떤 기전을 통해 알레르기 반응을 유도하는지는 아직 알려져 있지 않다. 또한 황사가 직접적으로 알레르기를 일으키는 하나의 원인 항원으로 작용할 수 있지만 이는 황사의 성분이 다양하기 때문에 이들 중 어떤 성분이 항원이 될 수 있는지에 대해서는 많은 연구가 필요하다.

황사 먼지의 크기는 $0.1\sim 20\ \mu m$ 로 $2.5\ \mu m$ 이하의 미세먼지와 $0.1\ \mu m$ 이하의 극미세먼지를 포함하고 있다.^{20,21)} 최근 대표적인 미세 입자인 titanium dioxide가 폐의 대식세포에 의해 탐식된 후 각종 질병을 일으킬 수 있는 가능성

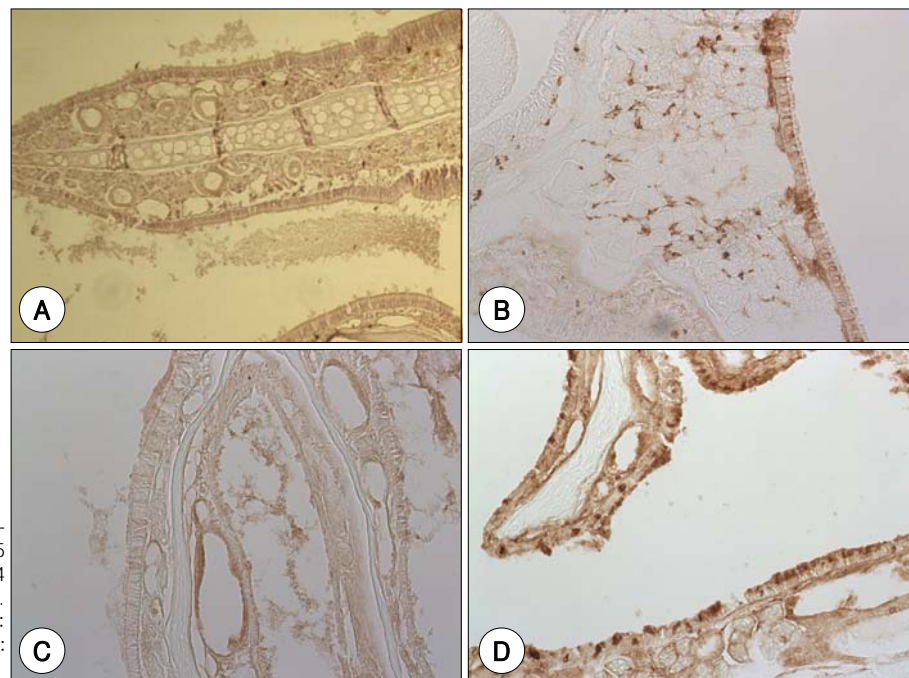


Fig. 9. Immunohistochemical staining for IL-5. The positive cells for IL-5 were increased significantly in G4 compared to G1 and G3 ($\times 100$). A : control. B : ASD. C : OVA. D : OVA+ASD. OVA : ovalbumin, ASD : Asian sand dust.

Table 2. Concentration of ionized particles included in PM₁₀ and TSP ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)

Sampling	Size	Dust	Na	Mg	Ca	NH ₄	K	F	Cl	NO ₃	SO ₄
Jan. 10–11/02	PM ₁₀	106	0.60	.017	1.34	7.8	1.05	0.17	4.3	20.8	17.8
Mar. 12–15/02	TSP	152	0.86	0.26	2.74	8.1	1.22	0.35	5.3	22.9	19.9

PM₁₀ : particulate matter less than 10 μm in diameter, TSP : total suspended particulate (J Korean Med Assoc 2004;47:453-64)

이 제기됨에 따라 황사가 질병의 악화요인 뿐만 아니라 호흡세포의 변화, 적응 및 발생원인으로도 영향을 미칠 것으로 추정되고 있다.²²⁾ 또한 황사 먼지의 이동 중에 미생물 및 toxin들이 같이 날아와 질병을 일으킬 수 있는 가능성에 대한 관심이 증가하고 있다. 그러나 세균이나 바이러스 전파에 관련한 연구에서 특별한 세균이나 바이러스는 검출되지 않았다는 보고들이 있었다.²³⁾ 황사에 포함된 이온 성분으로는 Na^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , NH_4^+ 등이며, 그 외에 황산이온(SO_4^{2-})과 질산이온(NO_3^-) 등이 포함되어 있다고 보고되고 있다.²⁾ 또한 일부 toxin들(LPS 등), 중금속 물질 등과 같은 공해 물질들이 섞여 있기 때문에 이들이 항원으로 작용하여 새로운 알레르기 항원으로 작용할 수도 있고 기존의 알레르기 환자에서 알레르기 반응을 활성화시키는 인자로 작용할 수도 있다고 생각한다(Table 2).

공해물질의 특성에 따라 기도에 염증 반응을 일으키는 기전은 다르지만, 공해물질에 노출된 동물의 기도 점막에서 호중구의 침윤 및 사이토카인의 분비가 관찰되었다.¹⁸⁾ IL-4와 IL-5는 Th2 type 사이토카인으로 알레르기 염증 반응시 대표적으로 증가되는 사이토카인으로 알려져 있다. 본 연구 결과 혈청에서는 IL-5만이 증가하였지만, NALF

에서는 G3에 비해 G4에서 IL-4와 IL-5가 모두 증가되는 경향을 보였으며, 특히 IL-4가 1주군에서 G4에서 G3에 비해 유의하게 증가되어 황사가 알레르기 비점막에서 IL-4의 생산을 더욱 증가시킴을 보여주었다. 이는 황사가 Th2 type 사이토카인의 증가에 의한 염증반응을 유도하여 알레르기 반응을 활성화시킬 수 있음을 보여주는 것이다. 그러나 Th1 type 사이토카인인 IFN- γ 는 반응 전후 유의한 변화가 없어 황사가 Th1 염증반응에는 영향을 미치지 않음을 확인할 수 있었다. Kyoko 등²⁴⁾의 연구에 의하면 황사를 마우스의 기관에 자극하였을 때 폐포와 기도 점막 하층에서 호산구의 발현이 증가되었으며, BALF에서 IL-5, MCP-1, IgG₁ 등이 증가되었다고 보고하였다. 이들의 연구는 황사에 의해 기관지에서 일어나는 기도 염증 반응을 관찰한 결과로 저자들의 실험 결과는 이러한 황사 자극에 의한 알레르기 자극 반응이 비강내에서도 유사하게 일어날 수 있음을 보여주는 결과이다. 또한 염증 반응이 폐고혈압이 있는 쥐에서 황사가 있는 날 6시간 대기 중에 노출된 후 정상군과 비교했을 때 황사의 농도가 증가할수록 혈액에서 백혈구의 숫자가 증가하였고, BALF에서는 IL-6 및 전체 염증세포수의 숫자가 증가되어 황사가 폐의 염

증과 손상을 일으킬 수 있음을 보였다.¹¹⁾ 본 연구에서 비점막을 황사로 자극 후 IL-4 및 IL-5에 대한 발현을 본 결과 G1 및 2에 비해 특히 G4에서 점막 상피세포와 점막 하층 모두에서 증가하였다. 이는 NALF에서 황사 자극 후에 보였던 IL-4와 IL-5의 증가와 같은 양상으로 이와 같은 결과는 황사에 의한 알레르기 반응의 활성화가 주로 이러한 염증성 사이토카인이 비점막에서 증가함으로써 발생하는 것임을 보여주는 것이다.

본 연구에서 OVA에 의한 알레르기 모델 마우스에서 황사에 의한 자극은 혈액내에서 OVA specific IgE의 증가를 초래하였으며 IL-4와 IL-5가 비강점막 및 NALF에서 증가되었다.

결론적으로 알레르기 마우스 모델에서 황사가 기존의 알레르기 반응을 더욱 활성화 시키는 것을 관찰하였으며 이는 Th2 type 사이토카인에 의한 염증 반응이 관여함을 알 수 있었으며 황사에 의해 알레르기 비염이 악화될 수 있음을 설명할 수 있었다.

중심 단어 : 황사 · 알레르기비염 · 사이토카인.

상기 논문은 2007년 대한이비인후과학회 연구지원사업(No. 2007-N01)의 지원으로 이루어졌음.

REFERENCES

- 1) Kwon HJ, Cho SH. The health effects of Asian dust event. *J Korean Med Assoc* 2004;47 (5):465-70.
- 2) Kim MY. Physical and chemical characteristics of Asian dust. *J Korean Med Assoc* 2004;47 (5):453-64.
- 3) Pope CA 3rd, Bates DV, Raizenne ME. Health effects of particulate air pollution: Time for reassessment? *Environ Health Perspect* 1995; 103 (5):472-80.
- 4) Hong YC, Leem JH, Ha EH, Christiani DC. PM₁₀ exposure, gaseous pollutants, and daily mortality in Incheon, Korea. *Environ Health Perspect* 1999;107 (11):873-8.
- 5) 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 (6):570-8.
- 6) Min PK, Kim CW, Yun YJ, Chang JH, Chu JK, Lee KE, et al. Effect of yellow sand on respiratory symptoms and diurnal variation of peak expiratory flow in patients with bronchial asthma. *J Asthma Allergy Clin Immunol* 2001;21 (6):1179-86.
- 7) Song HI. Effect of air pollution on childhood asthma living in Seoul. *J Asthma Allergy Clin Immunol* 2001;21 (1):28-39.
- 8) Kwon HJ, Cho SH, Chun Y, Lagarde F, Pershagen G. Effects of Asian dust storm events on daily mortality in Seoul, Korea. *Environ Res* 2002;90 (1):1-5.
- 9) Hwang SS, Cho SH, Kwon HJ. Effects of the severe Asian dust events on daily mortality during the spring of 2002, in Seoul, Korea. *J Prev Med Public Health* 2005;38 (2):197-202.
- 10) Chen YS, Sheen PC, Chen ER, Liu YK, Wu TN, Yang CY. Effects of Asian dust storm events on daily mortality in Taipei, Taiwan. *Environ Res* 2004;95 (2):151-5.
- 11) Lei YC, Chan CC, Wang PY, Lee CT, Cheng TJ. Effects of Asian dust event particles on inflammation markers in peripheral blood and bronchoalveolar lavage in pulmonary hypertensive rats. *Environ Res* 2004;95 (1):71-6.
- 12) Jin YD, Sung YW, Park YK, Kim YM, Kim DH, Park SW, et al. Effects of repeated ozone exposure on allergic responses in mice. *Korean J Otolaryngol-Head Neck Surg* 2006;49 (3):279-85.
- 13) Min YG, Oh SJ, Kim JW, Lee SS, Lee CH, Rhee CS, et al. The effects of intranasal instillation of stem cell factor in mice with experimentally-induced allergic rhinitis. *Korean J Otolaryngol-Head Neck Surg* 2003;46 (2):110-4.
- 14) Lee HM, Hwang SJ, Lee SH. Effect of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor on the goblet cell production in ovalbumin-sensitized rats. *Korean J Otolaryngol-Head Neck Surg* 2001;44 (4):376-80.
- 15) Diaz-Sanchez D, Jyrala M, Ng D, Nel A, Saxon A. In vivo nasal challenge with diesel exhaust particles enhances expression of the CC chemokines rantes, MIP-1alpha, and MCP-3 in humans. *Clin Immunol* 2000;97 (2):140-5.
- 16) Vagaggini B, Taccola M, Cianchetti S, Carnevali S, Bartoli ML, Bacci E, et al. Ozone exposure increases eosinophilic airway response induced by previous allergen challenge. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;166 (8):1073-7.
- 17) Iijima MK, Kobayashi T, Kamada H, Shimojo N. Exposure to ozone aggravates nasal allergy-like symptoms in guinea pigs. *Toxicol Lett* 2001;123 (1):77-85.
- 18) Salvi S. Pollution and allergic airways disease. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001;1 (1):35-41.
- 19) Ichinose T, Takano H, Miyabara Y, Yanagisawa R, Sagai M. Murine strain differences in allergic airway inflammation and immunoglobulin production by a combination of antigen and diesel exhaust particles. *Toxicology* 1997;122 (3):183-92.
- 20) Choi JC, Lee M, Chun Y, Kim J, Oh S. Chemical composition and source signature of spring aerosol in Seoul. *Korea J Geophys Res* 2001;106:18067-74.
- 21) Mori I, Nishikawa M, Tanimura T, Quan H. Change in size distribution and chemical composition of Korea (Asian dust) aerosol during long-range transport. *Atmos Environ* 2003;37 (3):4253-63.
- 22) Donaldson K, Stone V, Clouter A, Renwick L, MacNee W. Ultrafine particles. *Occup Environ Med* 2001;58 (3):211-6.
- 23) Park JW, Lim YH, Kyung SY, An CH, Lee SP, Jeong SH. Detection of pathogenic viruses in the atmosphere during Asian dust events in Incheon city. *Tuberc Respir Dis* 2005;59 (3):279-85.
- 24) Kyoko H, Takamichi I, Kaori S. Asian sand dust enhances ovalbumin-induced eosinophil recruitment in the alveoli and airway of mice. *Environmental Research* 2005;99:361-8.