

Animal Models of Otitis Media

Chang Gun Cho

Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Dongguk University Ilsan Hospital, Goyang, Korea

중이염의 동물 모델

조 창 권

동국대학교 일산병원 이비인후과

Received February 25, 2015

Accepted March 25, 2015

Address for correspondence

Chang Gun Cho, MD, PhD

Department of Otorhinolaryngology-

Head and Neck Surgery,

Dongguk University Ilsan Hospital,

27 Dongguk-ro, Ilsandong-gu,

Goyang 410-773, Korea

Tel +82-31-961-7434

Fax +82-31-961-7429

E-mail cho69@dumc.or.kr

Otitis media (OM) is one of the most common inflammatory illnesses in the pediatric population. OM is a multifactorial disease that develops as a result of complex interactions between bacterial infection, environmental risk factors, and host genetic factors. The high prevalence and recurrence of OM, coupled with the risk of developing hearing loss have meant that research to understand the mechanisms of OM and identify new therapeutic measures is urgent. Various experimental animals such as chinchilla, guinea pig, gerbil, rat and mouse have been used to investigate the pathogenesis and treatment of OM. Also, a lot of methods have been introduced to induce OM in animals including obstruction of E tube and direct injection of otopathogens into the middle ear. Recently there has been an increase in the use of the mouse for OM research due to the ability to easily manipulate their genetic components. The use of animal models has enabled researchers to identify a number of molecular mechanisms involved in the development of OM. Despite the real progresses obtained from animal models of OM, however, there are still several limitations to using them for OM research. In this review article, various animal models that have been introduced to investigate the pathogenesis of OM will be discussed briefly.

Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg 2015;58(6):371-7

Key Words Animal model · Middle ear · Otitis media.

서론

중이염은 소아기에 가장 흔히 발생하는 질환 중의 하나이며, 3세 이하의 연령에서 3명 중 2명의 비율로 1회 이상 앓게 되고, 이 가운데 20% 이상에서 반복성 혹은 만성 삼출성 중이염으로 진행한다고 알려져 있다.¹⁾ 반복성 혹은 만성 삼출성 중이염은 소아기에 오래 지속되는 전음성 난청을 초래하여 언어, 학습 능력의 장애를 초래할 수 있으며, 또한 내이 기능에 장애를 야기하여 감각신경성 난청을 유발시킬 수 있다.²⁾ 국내 보고에 의하면 15세 미만의 대상군에서 급성 중이염은 0.08%, 삼출성 중이염은 1.22%의 유병률이 보고된 바 있다.³⁾

중이염은 다양한 원인이 복합적으로 작용하여 발생한다. 이관 기능의 장애, 면역기능의 성숙도, 세균 감염 및 유전적 요인 등이 중이염의 발생과 치유 과정에 연관되어 있다. 또한, 흡

연에의 노출, 모유 수유, 집단 보육시설에 다니는지의 여부와 같은 환경적인 요인도 중이염의 발생에 영향을 줄 수 있는 중요한 요인들로 알려져 있다.⁴⁾

중이염의 병인은 매우 다양하며 아직 완전히 규명되지 않았지만 가장 큰 병리학적 특징은 중이 점막의 변형(transformation)과 과형성(hyperplasia)이다. 15~20 μ m 두께의 단순 상피로 이루어진 정상적인 상태에서의 중이 점막은 다양한 자극에 의하여 중이염에 이환되면 점막의 두께가 1000 μ m 이상까지 증가되며, 섬모와 분비기능을 가지는 위 중층 원주상피(pseudostratified columnar epithelium)로 변환된다.⁵⁾ 중이 점막의 과형성과 다양한 염증세포의 점막 내 유입은 가역적인 특징을 보여 중이염과 연관된 자극이 소실된 후 중이 점막은 탈분화 과정(de-differentiation)을 거쳐 정상적인 모습으로 회복된다.⁶⁾ 하지만 중이 점막의 과형성, 과증식 반응에 의한

중이 삼출액, 무기화(atelectasis), 유착, 고실 경화증이나 중이 진주종과 같은 병리 상태가 반복적으로 발생하여 만성화되면 중이강 내에 비가역적인 구조의 변화를 초래하며 영구적인 난청이 발생하게 된다.

중이염에 대해 많은 연구가 이루어짐에도 불구하고 아직 중이염의 병인, 특히 중이 점막의 변형과 과형성, 그리고 회복 등 중이염의 발생과 진행과정, 치유과정을 조절하는 분자생물학적 인자들에 대한 내용은 명확하게 밝혀져 있지 않다. 중이염 환자를 대상으로 하는 임상 연구에는 많은 제약이 있기 때문에 과거로부터 다양한 동물들을 이용한 중이염 연구가 시행되어 왔다. 비록 동물을 이용한 연구에도 여러 제약들이 있으며 그 결과를 바로 인체에 적용하기는 어렵지만, 현실적으로 중이염에 대한 연구의 많은 부분을 동물 모델을 이용한 연구에 의존하고 있는 것이 사실이다. 최근에는 중이염을 유발하는 세균 및 바이러스, 중이 점막의 과형성과 변형을 유발하는 인자들과 진행 과정에 대한 분자생물학적 연구뿐 아니라, 원인균에 대한 백신 개발과 유전학적인 원인 규명을 위하여 다양한 동물 모델을 이용한 광범위한 연구가 진행되고 있다. 특히 mouse를 이용하여 유전학적 요인을 규명하려는 노력은 많은 성과를 거두고 있으며 향후 중이염의 병인 규명과 새로운 치료법의 개발에 큰 기여를 할 것으로 예상된다. 이에 본 논문에서는 중이염 연구와 연관되어 현재 사용되고 있는 다양한 동물 모델들과 연구 방법에 대해 알아보고 각각의 장단점들에 대해 간략하게 논해보고자 한다.

본 론

동물 모델의 분류

인간 질환에 대해 많은 동물 모델들이 개발되어 사용되고 있다. 수많은 동물 모델들은 질환을 유도하는 방식에 의해 다음과 같이 분류할 수 있다.

- 1) 자연발생적 동물 모델(spontaneous animal model)
- 2) 인위적 유도 동물 모델(induced animal model)
 - (1) 유전적 유도 모델(genetically induced model)
 - (2) 실험적 유도 모델(experimentally induced model)

동물 모델은 크게 자연발생적 동물 모델과 인위적 유도 동물 모델로 분류할 수 있다. 자연발생적 동물 모델은 우연히 자연적으로 돌연변이가 발생한 동물을 반복적으로 교배시킨 후 유전적으로 고정시켜 모델화 한 것이다.^{7,8)} 현재 고혈압, 당뇨, 간질 등 특정 질환이나 뚜렷하게 구분되는 표현형을 나타내는 모델들이 사용되고 있다. 모델의 개발에 시간이 많이 소요되며 유전적으로 고정시키는 과정이 어렵기 때문에 다양한 종류의 모델을 개발하기가 쉽지 않다.⁹⁾

인위적 유도 동물 모델은 외부의 조작을 통하여 동물에게 인간 질환을 유발시키는 모델로서, 다시 유전적 유도 모델(genetically induced model)과 실험적 유도 모델(experimentally induced model)로 구분할 수 있다. 유전적 유도 모델은, 특정한 기능을 하는 유전자의 일부 혹은 전체를 결손시키거나 동물의 배아줄기세포 단계에서 돌연변이를 일으켜 유전자를 변형시키는 방법 등을 사용하여 질환을 유발시킨다.¹⁰⁾ 실험 동물의 핵에 특정 유전자를 주입하여 그 유전자가 과발현(over-expression)되도록 하는 형질전환(transgenic) 동물 모델이나,¹¹⁾ 선택적으로 특정 유전자를 조작하는 knock-out 혹은 knock-in mouse 모델이 그 예이다.^{12,13)} 실험적 유도 모델은 실험 동물에 유전자 조작 이외의 방법, 즉 화학물질을 이용하여 돌연변이를 유도하거나(chemical mutagenesis) 수술적인 방법을 사용하여 원하는 질환을 유발하게 하는 방법이다. 유전자의 돌연변이를 유발하는 많은 화학물질들이 알려져 있지만, 유전자의 단일 염기에 여러 가지 돌연변이를 유발하는 N-ethyl-N-nitrosourea(ENU)를 이용한 방법이 현재 가장 널리 사용되고 있다.¹⁴⁾

형질전환 동물 모델이나 knock-out mouse 모델은, 질병과 관련성이 있을 것으로 생각되는 유전자를 인위적으로 변형시켜 동물 모델을 역방향(reverse)으로 개발하는 것으로 유전자 유래(gene-driven) 접근방식으로 분류되기도 한다. 반대로, ENU와 같은 돌연변이 유발물질을 처리하여 표현형의 변이를 관찰하고 이들로부터 다양한 유전적 결함을 가진 동물 모델을 정방향(forward)으로 개발하는 방법은 표현형 유래(phenotype-driven) 접근방식의 예가 된다.

중이염 연구에 이용되는 동물

중이염 연구에 동물들이 이용된 것은 수십 년 전부터이다. 1960년대 guinea pig를 이용하여 중이염에 대한 연구가 처음으로 시작된 이후 상대적으로 큰 중이 구조를 가지고 있는 chinchilla가 연구 동물로 많이 이용되어 왔다.¹⁵⁾ 요즘도 chinchilla를 대상으로 한 많은 연구 결과들이 보고되고 있으나, 최근에는 mouse를 이용한 중이염 연구의 빈도가 부쩍 증가하고 있다. 또한 rat, guinea pig, gerbil 등 다른 설치류들과 sheep, cat, rabbit 등 다양한 동물들이 각각의 목적에 따라 중이염의 연구에 이용되고 있다.

2012년부터 2014년까지 최근 3년간 발표된 논문 가운데 ‘중이염’과 ‘동물 모델’을 검색어로 하여 PubMed에서 검색한 결과 총 67건의 급성 혹은 삼출성 중이염과 관련된 동물 실험 논문을 확인할 수 있었다. 이 가운데 chinchilla를 사용한 실험 논문이 22건, mouse 29건, rat 9건, guinea pig 8건, 그리고 기타 3건(rabbit 2건, sheep 1건)의 분포를 보였으며, 4건의 논문

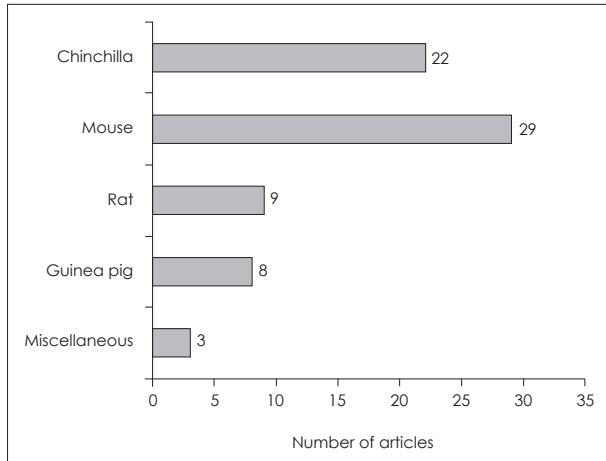


Fig. 1. Number of articles listed in PubMed database between 2012 and 2014 searched in terms of 'otitis media' and 'animal model'.

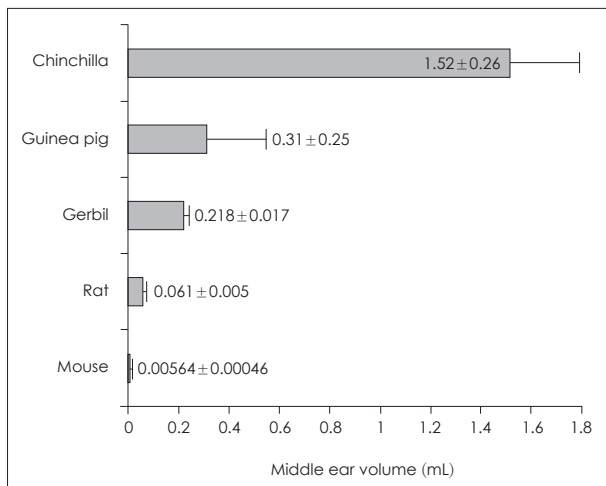


Fig. 2. Volumes (average±standard deviation) of middle ear cavity of animals that have been commonly used in otitis media research.

에서는 두 종류의 실험 동물이 함께 사용되었다(Fig. 1). 현재 mouse와 chinchilla가 중이염 연구에 주로 이용되는 동물임을 알 수 있다.

Chinchilla의 가장 큰 장점은 다른 설치목 동물들에 비해 큰 bulla를 가지고 있다는 점이다(Fig. 2). Vrettakos 등¹⁶⁾은 chinchilla bulla의 체적을 1.52 ± 0.26 mL로 보고하였고, 이는 mouse bulla 체적인 0.00564 ± 0.00046 mL나 rat의 0.061 ± 0.005 mL와 비교하면 큰 차이를 보인다.^{17,18)} 기타 중이염 연구에 많이 이용되는 동물인 guinea pig의 경우 bulla의 체적은 0.31 ± 0.25 mL, gerbil은 0.218 ± 0.017 mL로 알려져 있다.¹⁹⁻²¹⁾ 따라서, chinchilla의 경우에는 bulla를 통한 중이 내부로의 접근이 상대적으로 용이하고 많은 양의 중이 점막의 채취가 가능하다는 매우 유리한 장점을 갖는다. 또한, 인간 중이염의 대부분의 원인균들이 chinchilla의 중이 점막에도 감

염, 증식되므로 세균 감염에 의한 중이 점막의 반응을 알아보는 데 적합한 동물모델로 최근까지 많이 이용되고 있다.²²⁾ 하지만 외이도가 길며 S자형으로 굴곡이 심해 고막의 관찰이나 고막을 통한 중이 내부로의 접근이 용이하지 않다는 단점이 있다. 또한 rat이나 mouse에 비하여 중이염 진행 과정과 반응을 관찰할 목적으로 사용할 수 있는 시약이나 물질의 사용이 제한적이며, 동종 번식이 어려워 중이염에 대한 유전자 유도 동물의 개발이 쉽지 않다는 단점도 있다.^{23,24)} 최근 보고들을 살펴보면 chinchilla가 가진 장점들을 이용하여 biofilm 형성과 연관된 중이염의 병태생리 연구나, 중이염의 원인 세균들과 바이러스들에 대한 백신의 개발 목적의 동물로써 chinchilla가 주로 이용되고 있다.

Rat의 경우, chinchilla나 다른 큰 동물들에 비해 경제적이고 취급과 사육이 용이하다는 장점이 있어 중이염 연구에 많이 이용되고 있다. 또한 과거로부터 많은 연구에 이용되어 온 결과 rat의 면역학적, 약동학적 특성들이 잘 알려져 있으며, 항체나 단백질 같은 물질들을 쉽게 중이 점막에 적용할 수 있다는 장점이 있다.²⁵⁾ 최근의 보고들을 살펴보면 중이염의 병인과 연관된 cytokines 등 세포 내 물질들의 역할과 경로를 밝히는 연구에 rat을 이용한 중이염 모델이 주로 이용되고 있다. *Streptococcus pneumoniae*나 *Haemophilus influenzae*와 같은 중이염의 원인 세균들에 대한 rat 중이염 모델이 이미 만들어져 널리 연구되고 있으며, 새로운 항생제나 백신의 개발에도 rat을 이용한 동물 모델이 다양하게 이용되고 있다.

1970년대 생명공학의 발달과 함께 분자생물학적 기법을 도입한 mouse 동물 모델의 개발이 시작되었고, 2000년대 이후에는 중이염에 대한 mouse 모델이 급속히 발달하여 현재 가장 많이 이용되는 동물 모델이 되었다. 이는 mouse가 다양한 장점들과 함께 유전학적 요인을 밝히는 연구에 적합한 특성을 가지고 있기 때문이다. 중이염의 발생, 특히 반복성 중이염이나 만성 삼출성 중이염의 발생과 진행은 세균 감염, 환경적 요인과 함께 유전적인 요인이 중요한 역할을 한다.²⁶⁾ 따라서 mouse를 이용한 유전적 모델은 중이염의 다양하고도 복잡한 병인을 밝히는 데 중요한 도구가 된다. Mouse를 이용한 동물 모델은 중이염뿐만 아니라 인간의 다양한 질환의 유전적인 요인을 규명하는 데 광범위하게 사용되고 있다. Mouse를 이용한 동물 모델의 장점들을 살펴보면, 우선 mouse는 경제적이며 조작과 사육이 용이하고, 인간과 발달학적, 생리학적으로 유사하다.²⁷⁾ 또한 mouse 유전자의 염색체 서열은 인간의 그것과 99%의 상동성을 보이며, 동종 번식이 가능하고 유전적 조작이 쉽다는 장점이 있다.²⁸⁾ 그러므로 앞에서 언급된 유전자 유래의 접근방식이나 표현형 유래의 접근방식을 사용하여 특정한 mouse 모델을 개발하고 연구 결과를 인간에게

대입함으로써 특정 질환의 유전적인 원인 규명과 효과적인 치료법의 개발을 도모할 수 있다. Mouse를 이용하여 유전적 조작을 통해 확정된 많은 중이염 모델들이 현재 개발되어 사용되고 있다.

중이염을 유도하는 방법

실험 동물에 중이염을 유발하기 위하여 다양한 방법들을 도입한 동물 모델들이 개발되어 왔다. 얻고자 하는 실험 목적에 맞는 방법을 선택하여 사용할 수 있는데 각각의 방법에는 장점과 단점이 있어 여러 가지 요소들을 고려한 신중한 선택이 요구된다.

이관을 폐쇄시키는 방법은 가장 오래 전부터 사용된 방법이다. 경부 혹은 구강을 통하여 이관을 결찰하거나 화학적으로 소작하여 이관을 폐쇄함으로써 중이강 내에 음압을 유도하여 중이염을 발생시킬 수 있다.^{29,30} 삼출성 중이염을 유발할 수 있는 간단한 방법이나, 수술적 접근이 필요하며 비가역적인 이관 폐쇄를 초래하고 일관적인 결과를 얻기 힘들다는 단점이 있다. 또한, 세균 감염에 의한 인간 중이염의 양상과 근본적인 차이가 존재하므로 원인 세균이나 바이러스의 주입이 추가적으로 필요할 수 있다는 단점도 있다.

Sabirov 등³¹⁾은 비강을 통하여 세균이나 바이러스를 주입하고 이관을 통한 침투로 중이염을 유도하는 방법을 보고하였다. 비강과 비인두, 이관을 통한 감염으로 중이염을 발생시킨다는 점에서 생리적으로 유용한 방법이지만 주입하는 균에 비례하여 일관된 결과를 얻기 힘들다는 단점이 있다. Stol 등³²⁾은 mouse의 비강에 *Streptococcus pneumoniae*균을 주입한 후 비인두에 40 kPa 압력을 가하는 방법을 이용하여 더 일관적이며 재현성이 높은 결과를 얻을 수 있다고 보고하였다.

중이염을 발생시키는 원인균이나 화학물질을 직접 중이 내로 주입하는 방법으로는 고막을 통한 접근법과³³⁾ 경부 절개 후 bulla를 노출하여 주입하는 방법,³⁴⁾ 두 가지가 있다. 고막을 통하여 중이 내로 주입하는 방법은 비교적 쉽게 시행할 수 있으나 고막 천공을 초래하여 이차적인 감염이 유발되거나 주입된 물질이 외이도로 누출되는 문제점이 있다. Bulla를 통해 중이염 모델을 만드는 수술 과정을 간단히 살펴보면, 우선 실험 동물에 마취 유도를 한 후 앙와위(supine position)로 위치시킨다. 양측 bulla 위치의 경부를 신전(extension)시킨 후 경부 중앙에 세로방향의 피부 절개를 가한다. 양측 감상선을 해부하여 들어올린 후 기관 주위 근육 내에 위치하고 있는 bulla를 차례로 찾아 노출시킨다. 이후 세침을 이용하여 bulla에 천공을 만들고 이를 통하여 세균이나 화학물질 용액을 bulla의 체적에 맞는 양만큼 주입함으로써 중이염을 유도한다(Fig. 3). 경부 절개 후 ventral bulla에 직접적으로 접

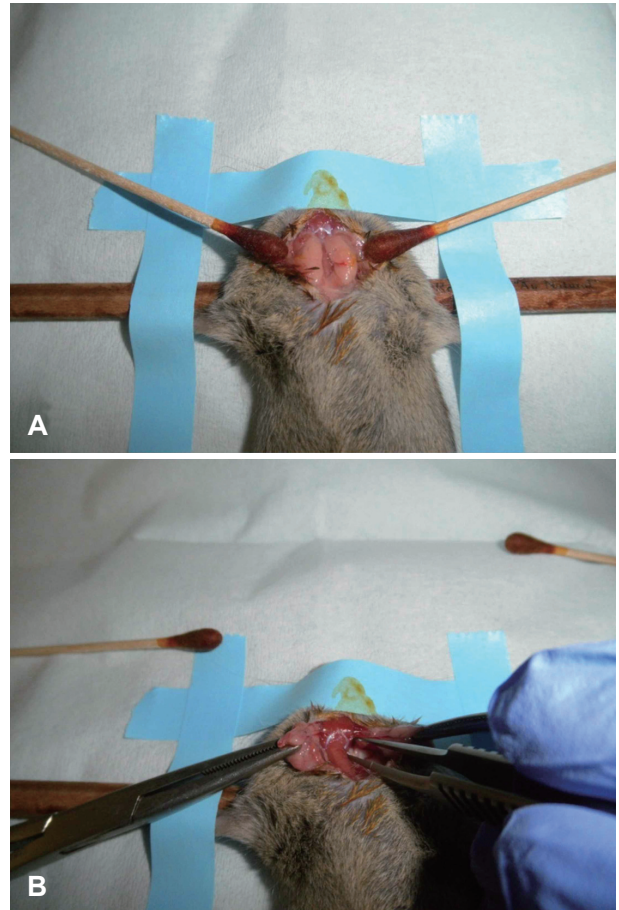


Fig. 3. Direct transbullar inoculation of organisms or material into the mouse middle ear. Midline skin incision (A). Exposure of bulla after dissection of thyroid gland (B).

근하는 이 방법은, 비록 수술에 대한 숙련도가 필요하며 수술 시 발생하는 출혈 등의 부작용이 있을 수 있는 침습적인 방법이지만, 고막을 통한 접근법이 가지는 문제점 없이 일관적인 결과를 얻을 수 있어 널리 사용되고 있다.

앞에서 언급된 방법들은 수술이나 원인균의 주입 등 외부적인 조작을 통하여 실험 동물에 중이염을 발생시키는 실험적 유도 동물모델(experimentally induced animal model)에 적용되는 방법들이다. 유전자를 변형시킨 mouse를 이용하여 발생된 중이염을 연구하는 최근의 모델들은 앞에서 언급된 유전적 유도 모델(genetically induced model)에 해당한다.

중이염의 발생과 진행은 유전적인 요인에 의한 감수성의 차이에 의해 개개인마다 다양하게 나타난다. 유전적인 요인을 밝히기 위하여 현재 중이염의 복잡하고 다양한 양상과 연관되었을 것으로 추정되는 많은 유전자들이 mouse를 이용한 유전자 주도의 접근방식 모델에 적용되어 연구되고 있다. 특히 급성 중이염의 병인과 연관된, 세포감염 시 초기 반응을 담당하는 선천 면역계(innate immune system)와 특정 수용체

의 기능, NF- κ B 경로와 같은 다양한 세포 내 신호전달경로와 면역 반응을 조절하는 매개물질들의 역할을 알아보기 위한 연구가 중점적으로 진행되고 있다. 표현형 주도의 접근방식 모델의 예로는 FBXO11 유전자의 돌연변이에 의해 자발적인 만성 삼출성 중이염이 발생하는 Jeff mouse를 들 수 있다.³⁵⁾ Jeff 유전자의 이형접합체(Jf/+ heterozygotes) 결과로 발생하는 Jeff mouse에서는 경도의 두개안면 기형(craniofacial abnormalities)과 좁고 굴곡된 이관, 저체중, 만성 삼출성 중이염에 의한 전음성 난청 등이 나타난다. 삼출성 중이염은 특정한 원인 자극이나 면역기능에 장애가 없는 상태에서 자발적으로 발생하는데, 두개 안면부의 기형과 이로 인한 이관 기능장애의 결과로 만성 삼출성 중이염이 나타나는 것으로 생각되고 있다. 또한 NF- κ B 경로와 연관되어 있는 전사 인자(transcription factor)인 Evi1 유전자가 변이된 결과로 자발적인 만성 삼출성 중이염이 발생하는 Junbo mouse도 유사한 예라고 할 수 있다.³⁶⁾ 그 외에도 급성 중이염과 삼출성 중이염의 병인과 연관된 다양한 유전자들을 변이시킨 많은 모델들이 개발되어 중이염의 연구에 이용되고 있다.³⁷⁾ 비록 현재는 중이염에 대한 유전학적 연구가 시작 단계이지만 아직 규명되지 않은 중이염의 병인과 신약 개발, 백신 연구를 통한 중이염의 치료법의 개발에 많은 도움이 될 것으로 보인다.

Otopathogens

급성 중이염은 세균 감염이 중요한 원인으로 다양한 세균과 바이러스에 의한 복합 감염에 의해 발생한다. 급성 중이염의 주요 3대 원인균은 *Streptococcus pneumoniae*(Sp), *Haemophilus influenzae*(Hi), *Moraxella catarrhalis*(Mc)로 알려져 있다.³⁸⁾ 특정 균을 사용하여 감염성 질환에 대한 동물 모델을 확립하기 위해서는 해당 균을 대상 동물에 주입한 결과 다음과 같은 조건이 일관적으로 충족되어야 한다. 우선, 균을 주입했을 때 나타나는 동물 표적장기 내 병리 소견은 인체에서의 소견과 일치해야 한다. 둘째로, 동물에서 보이는 특징적인 병리 소견은 이학적 검사나 방사선학적 혹은 조직병리학적 방법에 의해 객관적으로 입증되어야 한다. 셋째로, 주입된 균은 실험 동물의 표적장기 내에서 재생, 증식되어야 한다.³⁹⁾ 여러 실험 동물들을 대상으로 급성 중이염의 3가지 주요 원인균을 포함한 다양한 균들이 도입되고 중이염과의 연관관계가 입증되어 사용되고 있다. 하지만 실험 동물의 계통에 따라 동일한 균에 대한 반응이 상반되게 나타나는 경우가 있으며, 또한 세균의 계열과 농도, 양에 따라서도 같은 동물에서 서로 다른 반응이 나타날 수 있다. Mouse를 대상으로 시행한 연구에서 Mc를 주입한 경우 중이 점막에는 특징적인 급성 염증반응이 발생되지만 균의 재생과 증식이 이루어지지

않으며 빠르게 중이강 내에서 소실되므로 동물 모델의 확립이 어렵다.⁴⁰⁾ 하지만 Mc를 rat이나 다른 동물에 주입한 경우에는 중이강 내에서 중이염의 특징적인 반응이 모두 나타나며 균의 재생과 증식 또한 가능하다. 이러한 차이가 나타나는 이유는 아직 확실히 밝혀져 있지 않으며 향후 지속적인 연구에 의해 중이염의 병인과 세균 감염의 연관성이 명확히 규명되어야 하겠다.

동물 모델을 이용한 연구의 한계

중이염의 병인을 규명하고 치료법을 개발하는 데 동물 모델을 이용한 연구의 중요성이 더욱 증가하고 있지만 동물 모델을 이용한 연구 결과를 그대로 인체에 적용하는 데는 아직 현실적인 한계가 있다.

인간과 해부학적 구조 및 기능이 유사한 동물들이 중이염 모델에 이용되고 있으나 두 종 간의 구조와 기능은 완전히 일치하지는 않다. 특히 면역계의 구조와 기능의 차이는 중이염과 같은 감염, 염증성 질환에 있어 반응의 차이를 나타낼 수 있으므로 반응 결과는 신중하게 해석되어야 한다.

Mouse의 경우 유전자의 99%가 인간의 유전자와 상동성이 있다고 알려져 중이염의 유전적 요인에 대한 연구에 유용하게 사용되고 있다. 하지만 특정 유전자의 발현이, 다양하고 복잡한 신체 내 기능에도 동일한 변화를 유발하는지는 아직 확실하지 않다. 실제로 동일한 부위의 유전자를 변형시켰을 때 나타나는 표현형의 변화는 실험 동물과 인간에서 차이를 보이며, 같은 실험 동물에서도 계통에 따라 다른 반응이 나타나기도 한다. 하나의 예로 인간에서 Turner 증후군과 재발성 급성 중이염의 발생과는 유의한 연관성이 관찰되지만, Turner 증후군의 mouse 모델에서는 중이염이 경미하게 나타나거나 발생하지 않는다. 이렇게 동일한 유전자 구조에서도 대상에 따라 상이한 반응이 나타나는 이유는 아직 확실히 밝혀지지 않고 있다. 이에 대해 Nurtdinov 등⁴¹⁾은 인간과 mouse에서 유전자의 선택적 접합(alternative splicing)의 차이가 하나의 원인일 것으로 제시한 바 있다.

다음으로, 중이염을 유발하는 원인균을 주입하여 얻은 급성 중이염 동물 모델에서 발생한 반응의 해석에도 고려해야 할 사항들이 있다. 급성 중이염의 주요 원인균인 Sp, Hi, 그리고 Mc 세 가지 균은 다양한 실험 동물에서 모든 조건을 통제 한 실험 상태에서는 인간 중이염과 유사한 양상의 반응을 보인다. 하지만 인간과 실험 동물 간에 중이염을 야기하는 원인균은 서로 다르다고 알려져 있으며, 앞에서 언급된 원인균이 실제 자연상태에서도 실험 동물에 대해 인간에게서와 동일한 중이염 반응을 유발하는지 여부는 아직 확실하지 않다.³⁷⁾

마지막으로 유전적 변형을 유도하여 중이염의 병인을 연구

하는 mouse 모델의 한계점을 지적할 수 있다. 현재 이용되는 mouse 모델은 모두 중이염과 연관된 단일 유전자를 변형시켜 중이염의 반응을 관찰하고 있으며 중이염의 병인과 연관된 다양한 유전자를 동시에 변형시킨 mouse 모델은 아직 개발되어 있지 않다. 중이염은 환경적 요인, 세균 요인과 다양한 유전적인 요인들에 의해 복합적인 원인으로 발생하며, 단일 유전자의 변화가 중이염의 발생과 진행 과정을 모두 설명해주는 것은 아니다. 따라서 단일 유전자를 변이시켜 나타나는 현재의 동물 모델 연구의 결과는 실제로 발생한 중이염의 양상과 다를 수 있어 이의 해석과 인체로의 도입에는 신중한 접근이 필요하다. 향후 앞에서 언급된 제한점들과 아직 밝혀지지 않은 점들을 극복한 새로운 동물 모델을 개발하기 위하여 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결론

유, 소아기 중이염의 높은 유병률과 임상적 중요성을 고려하면 아직 완전히 밝혀지지 않은 중이염 발생 과정의 규명과 보다 나은 치료법을 위한 연구는 매우 시급하다. 다양한 동물 모델을 사용한 중이염 연구에 의해 선천 면역계의 역할과 중이 점막 면역계의 반응 기전, 연관된 세포 내 물질들과 신호 전달경로 등 많은 부분이 밝혀지고 있으며 백신 연구를 통한 예방 치료에도 많은 발전이 이루어지고 있다. 최근 mouse 등의 동물 모델을 이용한 유전학적 연구는 아직 규명되지 않고 있는 중이염의 병인과 연관된 특징적인 점막 병리와 분자생물학적 신호 전달경로 등을 규명하는 데 중요한 역할을 할 것으로 기대된다. 과거로부터 다양한 접근방법과 많은 종류의 동물들이 중이염의 연구에 사용되고 있다. 각각의 방법들의 장점 및 단점들에 대한 충분한 이해와 연구의 목적에 맞는 적합한 동물 모델의 선택을 통한 지속적인 연구가 필요할 것으로 생각된다. 또한 인간 중이염의 발생기전과 병태생리를 보다 명확하게 규명해 줄 새로운 동물 모델의 개발을 위한 노력도 지속되어야 할 것이다.

REFERENCES

- 1) Teele DW, Klein JO, Rosner B. Epidemiology of otitis media during the first seven years of life in children in greater Boston: a prospective, cohort study. *J Infect Dis* 1989;160(1):83-94.
- 2) Friel-Patti S, Finitzo-Hieber T, Conti G, Brown KC. Language delay in infants associated with middle ear disease and mild, fluctuating hearing impairment. *Pediatr Infect Dis* 1982;1(2):104-9.
- 3) Kim CS, Jung HW, Yoo KY. Prevalence of otitis media and allied diseases in Korea--results of a nation-wide survey, 1991. *J Korean Med Sci* 1993;8(1):34-40.
- 4) Lieberthal AS, Carroll AE, Chonmaitree T, Ganiats TG, Hoberman A, Jackson MA, et al. The diagnosis and management of acute otitis media. *Pediatrics* 2013;131(3):e964-99.
- 5) Lim DJ, Birk H. Ultrastructural pathology of the middle ear mucosa in serous otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1971;80(6):838-53.
- 6) Ryan AF, Catanzaro A, Wasserman SI, Harris JP. Secondary immune response in the middle ear: immunological, morphological, and physiological observations. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1986;95(3 Pt 1):242-9.
- 7) Bedell MA, Jenkins NA, Copeland NG. Mouse models of human disease. Part I: techniques and resources for genetic analysis in mice. *Genes Dev* 1997;11(1):1-10.
- 8) Bedell MA, Largaespada DA, Jenkins NA, Copeland NG. Mouse models of human disease. Part II: recent progress and future directions. *Genes Dev* 1997;11(1):11-43.
- 9) Hunter AJ, Nolan PM, Brown SD. Towards new models of disease and physiology in the neurosciences: the role of induced and naturally occurring mutations. *Hum Mol Genet* 2000;9(6):893-900.
- 10) Kühn R, Wurst W. Overview on mouse mutagenesis. *Methods Mol Biol* 2009;530:1-12.
- 11) Costantini F, Lacy E. Introduction of a rabbit beta-globin gene into the mouse germ line. *Nature* 1981;294(5836):92-4.
- 12) Rye MS, Bhutta MF, Cheeseman MT, Burgner D, Blackwell JM, Brown SD, et al. Unraveling the genetics of otitis media: from mouse to human and back again. *Mamm Genome* 2011;22(1-2):66-82.
- 13) Trune DR. Mouse models for immunological diseases of the auditory system. In: Willott JF, editor. *Handbook of Mouse Auditory Research: from Behavior to Molecular Biology*. New York: CRC Press;2002. p.505-31.
- 14) Brown SD, Balling R. Systematic approaches to mouse mutagenesis. *Curr Opin Genet Dev* 2001;11(3):268-73.
- 15) Bakaletz LO. Chinchilla as a robust, reproducible and polymicrobial model of otitis media and its prevention. *Expert Rev Vaccines* 2009;8(8):1063-82.
- 16) Vrettakos PA, Dear SP, Saunders JC. Middle ear structure in the chinchilla: a quantitative study. *Am J Otolaryngol* 1988;9(2):58-67.
- 17) Zimmer WM, Rosin DF, Saunders JC. Middle-ear development. VI: Structural maturation of the rat conducting apparatus. *Anat Rec* 1994;239(4):475-84.
- 18) Huangfu M, Saunders JC. Auditory development in the mouse: structural maturation of the middle ear. *J Morphol* 1983;176(3):249-59.
- 19) Teas DC, Nielsen DW. Interaural attenuation versus frequency for guinea pig and chinchilla CM response. *J Acoust Soc Am* 1975;58(5):1066-72.
- 20) Wilson JP, Johnstone JR. Basilar membrane and middle-ear vibration in guinea pig measured by capacitive probe. *J Acoust Soc Am* 1975;57(3):705-23.
- 21) Lay DM. The anatomy, physiology, functional significance and evolution of specialized hearing organs of gerbilline rodents. *J Morphol* 1972;138(1):41-120.
- 22) Lim DJ, Hermansson A, Hellström SO, Hussl B, Alper CM, Iino Y, et al. Recent advances in otitis media. 3. Animal models; anatomy and pathology; pathogenesis; cell biology and genetics. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 2005;194:31-41.
- 23) Giebink GS. Otitis media: the chinchilla model. *Microb Drug Resist* 1999;5(1):57-72.
- 24) Daniel HJ 3rd, Fulghum RS, Brinn JE, Barrett KA. Comparative anatomy of eustachian tube and middle ear cavity in animal models for otitis media. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1982;91(1 Pt 1):82-9.
- 25) Melhus A, Ryan AF. A mouse model for acute otitis media. *APMIS* 2003;111(10):989-94.
- 26) Daly KA, Hoffman HJ, Kvaerner KJ, Kvestad E, Casselbrant ML, Homoe P, et al. Epidemiology, natural history, and risk factors: panel report from the Ninth International Research Conference on Otitis Media. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2010;74(3):231-40.
- 27) Brown SD, Hardisty-Hughes RE, Mburu P. Quiet as a mouse: dissecting the molecular and genetic basis of hearing. *Nat Rev Genet*

- 2008;9(4):277-90.
- 28) Brown SD, Hancock JM. The mouse genome. *Genome Dyn* 2006; 2:33-45.
 - 29) Proud GO, Odoi H. Effects of Eustachian tube ligation. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1970;79(1):30-2.
 - 30) Piltcher OB, Swarts JD, Magnuson K, Alper CM, Doyle WJ, Hebda PA. A rat model of otitis media with effusion caused by eustachian tube obstruction with and without *Streptococcus pneumoniae* infection: methods and disease course. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2002;126(5):490-8.
 - 31) Sabirov A, Kodama S, Hirano T, Suzuki M, Mogi G. Intranasal immunization enhances clearance of nontypeable *Haemophilus influenzae* and reduces stimulation of tumor necrosis factor alpha production in the murine model of otitis media. *Infect Immun* 2001; 69(5):2964-71.
 - 32) Stol K, van Selm S, van den Berg S, Bootsma HJ, Blokx WA, Graamans K, et al. Development of a non-invasive murine infection model for acute otitis media. *Microbiology* 2009;155(Pt 12):4135-44.
 - 33) Ichimiya I, Ueyama S, Mogi G. Experimental otitis media in mice. Immunohistochemical observations. *Acta Otolaryngol Suppl* 1989; 457:148-53.
 - 34) Hermansson A, Emgård P, Prellner K, Hellström S. A rat model for bacterial otitis media. *Acta Otolaryngol Suppl* 1989;457:144-7.
 - 35) Hardisty RE, Erven A, Logan K, Morse S, Guionaud S, Sancho-Oliver S, et al. The deaf mouse mutant Jeff (Jf) is a single gene model of otitis media. *J Assoc Res Otolaryngol* 2003;4(2):130-8.
 - 36) Parkinson N, Hardisty-Hughes RE, Tateossian H, Tsai HT, Brooker D, Morse S, et al. Mutation at the *Evi1* locus in Junbo mice causes susceptibility to otitis media. *PLoS Genet* 2006;2(10):e149.
 - 37) Tyrer HE, Crompton M, Bhutta MF. What have we learned from murine models of otitis media? *Curr Allergy Asthma Rep* 2013;13(5): 501-11.
 - 38) Barenkamp SJ, Kurono Y, Ogra PL, Leiberman A, Bakaletz LO, Murphy TF, et al. Recent advances in otitis media. 5. Microbiology and immunology. *Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl* 2005;194:60-85.
 - 39) Doyle WJ. Animal models of otitis media: other pathogens. *Pediatr Infect Dis J* 1989;8(1 Suppl):S45-7.
 - 40) Westman E, Melhus A, Hellström S, Hermansson A. *Moraxella catarrhalis*-induced purulent otitis media in the rat middle ear. Structure, protection, and serum antibodies. *APMIS* 1999;107(8): 737-46.
 - 41) Nurdinova RN, Artamonova II, Mironov AA, Gelfand MS. Low conservation of alternative splicing patterns in the human and mouse genomes. *Hum Mol Genet* 2003;12(11):1313-20.

정답 및 해설

답 ⑤

해설 사진은 우측 jugular bulb에 발생한 diverticulum의 소견이며, 정형적인 정맥성 잡음을 호소하여 머리를 건측으로 돌리거나, 경부에서 경정맥을 압박할 경우 증상이 호전되는 소견을 보인다. 위와 같이 원인이 확인된 경우에는 혈관조영술을 통해 확인하고 원인 부위를 다양한 색전술로 효과적으로 폐쇄할 수 있으며, 혈관조영술이 어려운 경우 수술적 치료로 증상을 호전시킬 수 있다.