천식 및 알레르기 제 29 권 제 4 호
Vol. 29, No. 4, Dec., 2009

□원 저□

중증 천식 및 만성폐쇄성폐질환 환자에서 IgG 자가항체가 인지하는 기도상피세포 자가항원 단백질 분석

아주대학교 의과대학 [1]알레르기-류마티스내과학교실, [2]호흡기내과학교실

이혜아[1] · 박주헌[2] · 권 별[1] · 최길순[1] · 예영민[1] · 박해심[1] · 남동호[1]

Analysis of Airway Epithelial Cell Autoantigens Recognized by IgG Autoantibodies from Patients with Severe Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease

Hye-Ah Lee[1], Joo Hun Park[2], Byul Kwon[1], Gil-Soon Choi[1], Young-Min Ye[1], Hae-Sim Park[1] and Dong-Ho Nahm[1]

Departments of [1]Allergy and Rheumatology, [2]Pulmonary and Critical Care Medicine, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

Background: The presence of circulating autoantibodies to airway epithelial cells has been reported in patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease (COPD).
Objective: To evaluate the possibility of a common autoantigen associated with both asthma and COPD, we analyzed airway epithelial cell autoantigens recognized by circulating IgG autoantibodies from patients with severe asthma and COPD.
Method: IgG autoantibodies to human airway epithelial cells (A549) were examined in serum samples from patients with severe asthma and COPD by immunoblot analysis.
Result: A 54-kDa airway epithelial autoantigen was commonly recognized by circulating IgG antibodies from patients with severe asthma and COPD. The 54-kDa autoantigen was identified as cytokeratin 8 protein by mass spectrometry. IgG autoantibodies to recombinant human cytokeratin 8 protein were detected in serum samples from 5 (31.3%) of the 16 patients with severe asthma, 4 (26.6%) of 15 patients with COPD, 1 (7.7%) of 13 patients with mild-to-moderate asthma, and 1 (7.7%) of 13 healthy controls (P=0.056).
Conclusion: In this study, we identified cytokeratin 8 as an airway epithelial autoantigen associated with both severe asthma and COPD. Further studies are needed to determine the role of this autoantigen in the pathogenesis of severe asthma and COPD. **(Korean J Asthma Allergy Clin Immunol 2009;29:249-255)**

Key words: Asthma, Chronic obstructive pulmonary disease, Autoantibody, Autoantigen

서 론

현재 기관지천식은 아직 명확하게 규명되지 않은 발병요인과 병인기전으로 인해 기도의 만성 염증 반응이 발생하여, 기도가 과민하게 되고 쉽게 수축하게 되어 임상적으로 기침과 호흡곤란 증상을 호소하게 되는 만성 질환이며, 만성폐쇄성폐질환(Chronic Obstructive Pulmonary Disease, COPD)은 기도의 비가역적인 폐쇄로 인하여 호흡곤란 증상이 발생되는 만성 질환으로 정의되고 있다.[1,2)]

상기와 같이 천식과 COPD의 각각의 질환에 대한 진단기준들이 국제적인 전문가 모임들의 합의를 통해서 제시되고 있음에도 불구하고, 실제 진료 시 천식과 COPD에 모두 합당한 임상양상을 나타내는 환자들을 만나는 경우가 적지 않아, 두 질환을 실제로 명확하게 구분하여 진단하기는 어렵다.[3)] 또한 기존에 발표된 연구들에서도 천식의 생리학적 특징으로 생각한 기도과민성이 COPD에서도 흔히 관찰되며, 기도폐쇄, 기침, 객담, 천명음과 같은 호흡기 증상은 천식과 COPD에서 동일하게 관찰된다.[3,4)] 장기간 지속된 중증 천식 환자 중 일부에서 폐기능 검사상 비가역적 기도폐쇄 소견과 흉부 전산단층촬영상 폐기종의 병발 소견 등을 보여 임상적으로 COPD와 구별이 어려운 상태로 진행되는 경우가 있다.[3)] 실제로 20년 동안 추적 관찰한 역학 연구의 결과, 초기 조사에서 현재 흡연자는 비흡연자에 비해서 향후에 COPD가 발

이 논문은 2007년 정부(교육인적자원부)의 재원으로 한국 학술진흥재단의 지원을 받아 수행됨(KRF-2007-521-E00059).
이 논문은 또한 보건복지부 보건의료기술진흥사업의 지원으로 수행됨(A040153).
책임저자 : 남동호, 경기도 수원시 영통구 원천동 산 5번지
아주대학교 의과대학 알레르기-류마티스내과, 우: 442-721
Tel: 031) 219-5152, Fax: 031) 219-5154
E-mail: dhnahm@ajou.ac.kr
투고일: 2009년 9월 1일, 심사일: 2009년 11월 4일
게재확정일: 2009년 11월 20일

생할 위험이 2.9배 높았다고 분석되었던 데에 비해서, 초기 조사 시에 현증 천식이 있었던 사람은 없었던 사람에 비해서 추적 관찰 시에 COPD가 발생할 위험이 12.5배 높은 것으로 조사되어, 천식이 COPD의 강한 위험인자로 분석된 바 있다.[5] 또한 단면적 연구에서도 COPD 환자의 10~30%에서 천식을 동반한다고 알려져 있다.[6-8] 또한 천식과 COPD간에 공통적인 병인기전이 관여할 가능성이 제시된 바 있다.[9]

1961년 네덜란드 연구자들에 의한 역학적 분석에 근거하여 기관지 천식과 COPD는 동일한 하나의 질환(a single disease)이 유전적 소인과 환경인자간의 상호작용으로 인하여 다르게 표현된 것이라는 'Dutch hypothesis'가 제시된 이후,[10] 이를 뒷받침하는 많은 역학적, 면역병리학적 근거들이 제시되었으나, 아직까지 상기 가설을 명확하게 입증할 수 있는 공통 병인기전을 규명하는 것은 중요한 과제로 남아 있다.[11]

과거 저자들은 비알레르기성 천식과 중증 천식환자들에서 기도상피세포 단백질에 대한 자가면역반응이 병인기전에 관여한다는 가설을 세우고, 천식환자들이 혈액 안에 존재하는 IgG 자가항체와 반응하는 기도상피세포 표적 자가항원 단백질을 분석하여 cytokeratin 18과 α-enolase가 각각 비알레르기성 천식 또는 중증 천식과 연관된 자가항원 단백질임을 규명하여 보고한 바 있으며,[12-14] 또한 실험실적으로 기도상피세포 자가항원 단백질들에 대한 IgG 자가항체가 기도상피세포 독성을 유발함을 확인하여, 비알레르기성 천식에서 자가면역반응이 병인기전으로 작용할 가능성이 있음을 보고한 바 있다.[15]

과거의 연구에서 천식과 COPD환자들의 혈액에서 사람의 기도조직 항원에 대한 자가항체가 검출된다고 보고된 바 있으며,[12] 이에 따라 두 질환의 병인기전에 대해 자가면역기전이 관여할 가능성이 꾸준히 제시되어 왔다.

최근 들어 COPD의 병인기전에 자가면역기전이 관여할 가능성들을 지지하는 동물실험과 환자들의 혈액과 폐 조직 검체를 이용한 연구들이 보고되고 있다.[16,17] 그러나 현재까지 COPD 환자의 혈액에서 발견되는 기도상피세포에 대한 IgG 자가항체가 반응하는 표적 자가항원단백질들은 규명되지 못한 상태이며, 이에 따라서 기관지천식과 COPD에서 동일한 기도상피세포 단백질 항원에 대한 자가면역반응이 병인기전에 공통적으로 관여할 가능성에 대한 연구는 아직 이루어지지 못한 상태이다.

이에 저자들은 본 연구에서 중증 천식과 COPD의 병인기전에 있어서 기도상피세포에 대한 자가면역기전이 공통적으로 관여할 수 있다는 가설을 세우고, 중증 천식과 COPD 환자들의 혈액에 존재하는 IgG 자가항체와 공통적으로 반응하는 기도상피세포 자가항원 단백질의 존재여부를 확인하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 연구대상

아주대학교병원의 알레르기클리닉과 호흡기내과 외래 또는 응급실로 내원한 환자들 중 전형적인 기관지천식에 합당한 임상증상과 함께 객관적으로 폐기능 검사상 기도폐쇄의 가역성이 증명되어 기관지천식으로 진단 받은 성인 기관지천식 환자들과 미국 흉곽학회 지침상 COPD의 진단기준에 합당한 COPD 환자들을 연구대상으로 하였다(Table 1). 중증 천식은 연구자들의 기존의 보고에서와 같이 환자의 병력 및 투약기록상 최근 1년간 흡입성 스테로이드와 장기간 지속형 기관지확장제를 사용하여 천식치료를 지속적으로 받았음에도 불구하고 천식증상의 급성악화로 응급실로 방문하거나 입원하여 전신스테로이드 치료 경험이 있는 경우로 정의하였고, 최근 1년간 지속적 또는 간헐적으로 천식 치료를 받아왔으며, 지속적인 약물치료가 필요하지 않거나 심한 천식 악화에 따른 입원 및 응급실 방문 병력이 없는 경우를 경증 및 중등증 천식으로 정의하였다.[14] 또한 천식 환자는 50종의 흔한 알레르겐(Bencard Co. Brentford, UK)을 이용한 피부단자시험을 시행하였고, 검사 결과 하나 이상의 흡입성 알레르겐에 대하여 평균 팽진의 크기가 3 mm 이상인 경우를 아토피성 천식으로 정의하였다.[14]

본 연구에 포함된 COPD 환자들은 미국 흉곽학회 지침에 따라서 기침, 객담, 호흡곤란과 같은 임상적 증상과 폐활량 측정법에 의해 기관지확장제 흡입 후 1초간 노력성 호기량(forced expiratory volume in 1 second, FEV1)이 추정정상치의 80% 미만이고, 노력성 최대호기량(forced vital capacity, FVC)에

Table 1. Characteristics of study subjects

Group	Number of patients	Sex (female/male)	Age (year)*	FEV1 (% predicted)*
Healthy control	13	8/5	45.8±10.2†	109.15±14.9†
Mild-to-moderate asthma	13	4/9	28.9±8.6†	81.0±19.9§
COPD	15	3/12	70.5±4.1†	49.5±20.7†
Severe asthma	16	5/11	47.6±16.6†	69.0±17.8§

*Data are expressed as mean±standard deviation; †Significant difference compared with other three groups (P<0.05); ‡Significant difference compared with allergic asthma and COPD (P<0.05); §Significant difference compared with healthy controls and COPD (P<0.05). FEV1 = forced expiratory volume in 1 second; COPD = chronic obstructive pulmonary disease.

대한 FEV1의 비(FEV1/FVC)가 70% 미만으로 비가역적인 기류제한이 확인된 중등증 및 중증 COPD환자들이었다.[18]

본 연구에서는 중증 천식 및 COPD와 관련된 기도상피세포에 대한 새로운 자가항원 단백질의 규명을 위해서 13명의 정상 대조군, 13명의 경증 및 중등증 천식(아토피성 천식 12명, 비아토피성 천식 1명)과 15명의 COPD, 16명의 중증 천식 환자(아토피성 천식 8명, 비아토피성 천식 8명)들로부터 혈액 검체를 채취한 후에 혈청을 분리하여 −20°C에 냉동 보관하여 실험에 사용하였다. 본 연구는 연구윤리위원회의 승인을 받았으며, 연구에 참여한 대상자들로부터 연구목적의 혈액 채취를 설명한 후에 서면으로 동의를 얻었다.

2. 세포배양 및 단백질 추출

인간 기도상피세포주인 A549 세포를 ATCC (American Type Culture Collection, VA, USA)로부터 분양받아 권장방법에 따라 배양하였다. 배양된 세포로부터 기존에 보고한 방법과 같이 단백질을 추출한 후 −20°C에 보관하였다.[14]

3. 면역블롯(immunoblot) 분석과 표적 자가항원 단백질 검색

건강 대조군 3명, 경증 및 중등증 천식 환자군 3명과 COPD 환자군 5명, 중증 천식환자군 6명을 대상으로 혈청에 존재하는 IgG 자가항체들과 기도상피세포 자가항원 단백질들의 항원-항체 반응 양상을 면역블롯을 통해 비교 분석하여 표적 자가항원 단백질을 검색하고 질환군과 대조군간에 차이를 보이는 표적 단백질을 선별하였다. 면역블롯은 기존에 연구자들이 보고한 방법과 같이 기도상피세포에 존재하는 단백질들을 불연속적 황산도데실나트륨/폴리아크릴아마이드 젤 전기영동법(SDS-PAGE)을 이용하여 분석하였다.[14]

4. 표적 단백질을 질량분석기로 규명

표적 단백질의 규명을 위해서 기존의 본 연구팀이 보고한 바와 같이 전기영동된 젤을 단백질 염색을 시행한 이후에 면역분석 결과를 비교하여 정확한 위치를 확인한 표적 단백질을 젤 상에서 일회용 면도칼로 정확하게 잘라낸 이후에 Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS) 분석을 한국기초과학지원연구원(KBSI, 대덕 연구단지)에 의뢰하였다.[19]

5. 유전자재조합 사람 Cytokeratin 8 단백질에 대한 IgG 자가항체 반응 확인

유전자 재조합 사람 cytokeratin 8 단백질은 상업적으로 구입 가능한 cDNA 클론(RZPD, Heidelberg, Germany)을 이용하여 기존에 보고된 논문의 실험방법에 따라 glutathione S-transferase (GST) fusion 단백질의 형태로 생산 및 정제하였다.[15] 정제된 재조합 단백질(약 70 kDa)을 이용하여 건강대조군, 경증 및 중등증 천식 환자군, COPD 환자군 그리고 중증 천식 환자군 모두의 혈청에서 표적 자가항원에 대한 IgG 항체 반응을 면역블롯 분석으로 재검증하였다. 양성 대조 항체는 상업적으로 구입 가능한 cytokeratin 8 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO)에 대한 마우스 단클론 항체를 사용하였다.

6. 통계분석

각 군 간의 연령, 기저 폐기능 수치의 평균치는 독립 T-test를 이용하여 비교 분석하였으며, 기관지 천식과 COPD 환자군 및 대조군에서 혈청 내 IgG 자가항체 양성율의 비교는 chi-square test를 이용하여 분석하였다.[13] *P*값이 0.05 미만인 경우를 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

결 과

1. IgG 자가항체가 반응하는 표적 자가항원 단백질의 선별

IgG 자가항체 면역블롯 분석 실험을 수행한 결과 COPD 환자군 5명 중 2명(40%), 중증 천식 환자군 6명 중 2명(33.3%)에서 혈청 IgG 항체와 강한 반응을 보이는 약 54 kDa의 표적

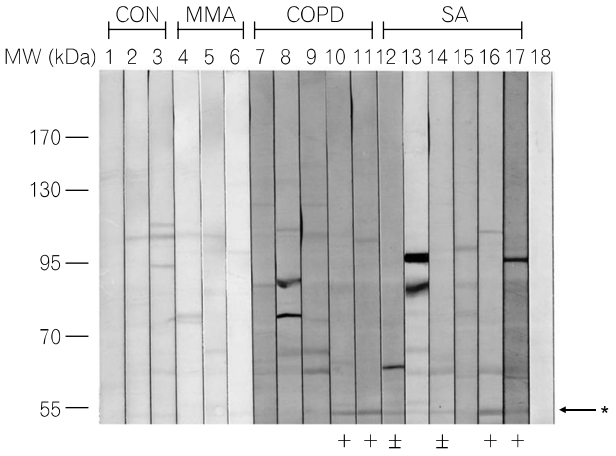

Fig. 1. Immunoblot analysis of circulating IgG autoantibodies to airway epithelial cell (A549) proteins in serum samples from study subjects. Results from serum samples of healthy control (CON = lane 1～3), patients with mild-to-moderate asthma (MMA = lane 4～6), chronic obstructive pulmonary disease (COPD = lane 7～11), severe asthma (SA = lane 12～17), and dilution buffer only as a negative control (lane 18). *Arrow indicates the 54-kDa target protein band which was subjected to mass spectrometry analysis. The plus signs (+) indicate patients with IgG autoantibody. The plus-minus signs (±) indicate patients with equivocal detection of IgG autoantibody.

자가항원 단백질을 선별하였다(Fig. 1).

2. 표적 자가항원 단백질을 질량분석기로 규명

상기한 면역블롯 분석을 통해 발견된 약 54 kDa의 표적 자가항원단백질을 규명하기 위해서 표적 단백질에 대해 강한 IgG 자가항체 반응을 보이는 1명의 중증 천식환자의 혈청을 이용하여 표적 자가항원의 위치를 확인하였다(Fig. 2). 기존에 보고된 방법에 따라 동일하게 수행하여 상기 방법으로 정확한 위치를 확인한 표적 단백질을 단백질 염색된 SDS-PAGE 젤 상에서 정확하게 잘라낸 후에 Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC/MS/MS)를 이용한 질량분석을 한국기초과학지원연구원에 의뢰하였다. Trypsin으로 분절된 검체 내 peptide들의 질량과 서열을 분석하여 Mascot 프로그램으로 National Center for Biotechnology Information (Bethesda, MD)의 자료와 비교한 결과, 표적 단백질이 포함된 검체 안에 존재하는 36개의 peptide가 사람 cytokeratin 8 단백질의 아미노산 서열과 질량이 일치하였으며, 이는 상기 단백질의 전체 아미노산 서열의 약 57.8%를 차지하여, 54 kDa의 표적 항원단백질이 사람 cytokeratin 8 단백질임을 확인하였다.

3. 재조합 사람 Cytokeratin 8 단백질에 대한 IgG 자가항체 검출

COPD 환자군 15명 중 4명(26.6%), 중증 천식환자군 16명 중 5명(31.3%)에서 유전자 재조합 사람 cytokeratin 8 단백질(GST fusion 단백질, 약 70 kDa)에 대해 IgG 자가항체 반응을 보이는 것을 확인하였다(Fig. 3). 유전자 재조합 사람 cytokeratin 8 단백질에 대한 IgG 자가항체 검출율은 네 군간에 통계적으로 유의한 차이는 없었다(P=0.056) (Table 2). 한편, 동일한 대상으로 cytokeratin 8 단백질에 대한 IgG 자가항체 검출 여부를 면역블롯으로 비교 분석하였을때 사람기도상피세포에 존재하는 cytokeratin 8 단백질에 대한 IgG 자가항체 검출 결과와 유전자 재조합 cytokeratin 8 단백질에 대한 IgG 자가항체 검출 결과가 일부 일치하지 않는 결과가 관찰되었으나, 이는 배양된 기도상피세포에 존재하는 사람 cytokeratin 8 단백질과 대장균에서 생산한 유전자 재조합 cytokeratin 8 단백질 사이에 단백질 농도와 항원성의 차이에 따른 것으로 판단된다(Fig. 1, 3).

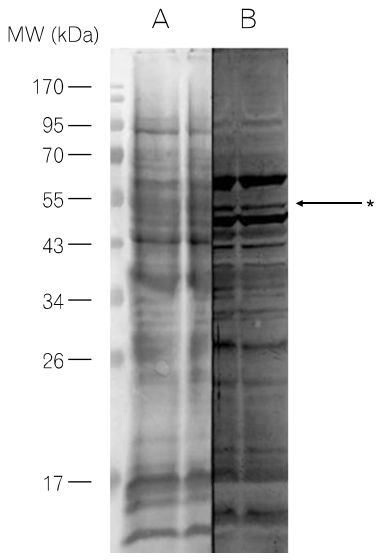

Fig. 2. Localization of a target autoantigen recognized by IgG autoantibodies from a patient with severe asthma. Results of protein staining (lane A) and immunoblot analysis (lane B) of airway epithelial cell proteins transferred onto polyvinylidine difluoride membrane. *Arrow indicates a 54-kDa target autoantigen protein.

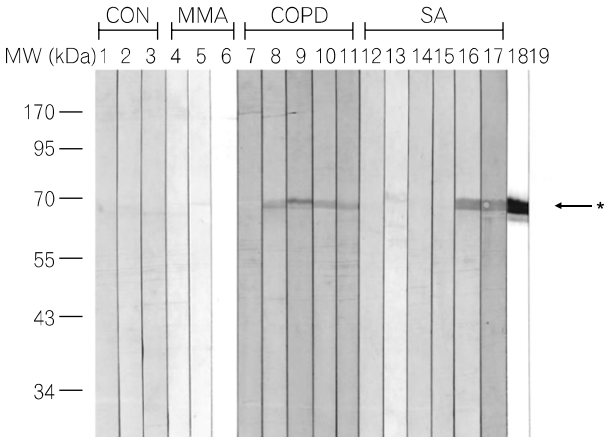

Fig. 3. Immunoblot analysis of IgG autoantibodies to recombinant human cytokeratin 8 protein (70-kDa glutathione S-transferase fusion protein) using serum samples from healthy control (CON = lane 1～3), patients with mild-to-moderate asthma (MMA = lane 4～6), chronic obstructive pulmonary disease (COPD = lane 7～11), severe asthma (SA = lane 12～17), monoclonal antibody to cytokeratin 8 (lane 18), and dilution buffer only as a negative control (lane 19). *Arrow indicates a cytokeratin 8 protein localized by the monoclonal antibody.

Table 2. Detection rate of IgG autoantibodies to recombinant human cytokeratin 8 protein in study subjects

Group	Number of patients	Detection rate (%)	*P* value*
Healthy controls	13	1 (7.7)	
Mild-to-moderate asthma	13	1 (7.7)	1.000
COPD	15	4 (26.6)	0.191
Severe asthma	16	5 (31.3)	0.119

**P* value calculated from the comparison with healthy controls by chi-square test. COPD = chronic obstructive pulmonary disease.

고 찰

본 연구에서 연구자 등은 중증 천식과 COPD 환자들의 혈청 내에 존재하는 IgG 자가항체가 공통적으로 인지하는 약 54 kDa의 기도상피세포 표적 자가항원 단백질이 cytokeratin 8 단백질임을 규명하였다.

Cytokeratin 단백질은 상피세포의 세포골격 중 중간섬유(intermediate filament)를 형성하는 구조 단백질로서, 약 20종류의 cytokeratin 단백질이 존재하며 분자량과 등정점에 따라 두 개의 타입으로 분류 된다.[20,21] Cytokeratin 8 단백질은 염기성인 type II cytokeratin에 속하며 천식의 주요 표적 조직인 기관지와 폐의 상피세포에 존재하는 type I의 cytokeratin 18 단백질과 이합체(heterodimer)를 형성한다고 보고되었다.[21,22] 다양한 만성 염증성 질환 환자들의 혈액에서 검출되는 cytokeratin 단백질에 대한 IgG 자가항체 반응의 병태생리학적인 역할이 명확히 확립되어 있지 않지만,[23] 폐섬유화증 환자들의 혈청에서 cytokeratin 8 단백질에 대한 IgG 자가항체가 존재하며,[24] 이소시아네이트에 의한 직업성 천식과[25] 아스피린 과민성 천식[26] 환자들의 혈액 검체에서 정상 대조군의 혈액 검체에 비해서 cytokeratin 8과 18 단백질에 IgG 자가항체가 유의하게 더 높은 역가로 존재함이 보고된 바 있다. 상기와 같은 연구결과들은 본 연구에서 관찰된 중증 천식과 COPD 환자들의 혈액에서 검출된 cytokeratin 8 단백질에 대한 IgG 자가항체의 존재가 질병 특이적인 현상이 아닐 가능성이 높음을 시사한다. 따라서 기도상피세포 단백질에 대한 IgG 자가항체 반응이 단순히 만성 염증성 기도질환에서 기도의 염증으로 인해서 면역체계에 노출된 상피세포 단백질에 대한 2차적인 면역반응으로 발생된 부수적인 현상으로 해석될 수도 있다고 판단된다. 그러나 연구자들은 최근 비알레르기성 천식 환자들의 혈액에 존재하는 기도상피세포 단백질(cytokeratin 18 및 α-enolase)에 대한 IgG 자가항체가 실험실 조건에서 항체 매개형 기전으로 배양된 기도상피세포에 손상을 줄 수 있다는 실험결과를 발표한 바 있다.[15] 따라서 본 연구에서 관찰된 중증 천식과 COPD 환자의 혈액에서 검출되는 cytokeratin 8 단백질에 대한 IgG 자가항체 반응의 기능적 중요성 여부를 명확하게 확인하기 위해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

본 연구에서는 건강 대조군과 경증 및 중등증 천식, 중증 천식, 그리고 COPD 간에 cytokeratin 8에 대한 IgG 자가항체 검출률이 통계적으로 유의한 차이를 관찰할 수 없었다(P=0.056). 기존에 보고된 cytokeratin 8 단백질에 대한 IgG 자가항체 연구들은 면역효소법(ELISA)을 이용하여 자가항체를 정량적으로 검출한 연구들이었다.[23-26] 따라서 본 연구에 포함된 네 군의 환자 수를 더 증가시켜서 cytokeratin 8에 대한 IgG 자가항체를 면역효소법으로 정량적으로 측정할 경우 각 군간의 IgG 자가항체 역가의 정량적 차이를 관찰할 수 있을 가능성을 배제할 수 없으며, 이에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

과거 다수의 연구들에서 기관지천식의 병인기전에서 자가면역반응이 병인기전에 관여할 수 있다는 가설이 제시되어 왔으며, cytokeratin 18,[13] α-enolase,[14] β2 adrenergic receptor,[27] vasoactive intestinal peptide 등이[28] 천식과 연관된 자가항원 단백질로 규명되어 보고된 바 있다. 한편, COPD의 병인기전에 대해서는 흡연과 유해가스 노출이 발병에 관여하는 가장 중요한 위험인자라는 사실 이외에는 알려진 바가 매우 적으며, 특히 흡연자 중에 약 15% 정도에서만 COPD가 발생하고, 비흡연자에서도 COPD가 발병되며 흡연을 중단하여도 COPD가 계속 악화되는 이유를 설명할만한 병인기전이 아직 밝혀져 있지 않았었다.[29] 또한 COPD 환자가 정상인과 비교할 때 유의하게 높은 자가항체 반응과 환자의 기도염증이 기도상피세포 주위에 활성화된 CD8+ T 림프구(세포독성 T 림프구)와 B 림프구, 대식세포 그리고 호중구의 침윤, 종양괴사인자(tumor necrosis factor, TNF)-α 및 인터루킨(interleukin, IL)-8 등의 싸이토카인 분비 증가와 같은 자가면역기전에 의한 만성 염증성 질환의 특징을 보인다고 알려져 있다.[29] 특히, 비흡연자에서 발생한 COPD의 경우 갑상선염, 제1형 당뇨병, celiac 병 등의 자가면역질환이 전체 환자의 1/3에서 동반되었다고 보고된 바 있으며, 이러한 근거들을 바탕으로 COPD의 병인기전에서 자가면역기전이 관여할 것이라는 가설이 제시된 바 있다.[30] 특히 사람 혈관내피세포 단백질을 래트(rat)에게 면역시키거나 혹은 면역화된 래트의 혈청을 마우스에 투여할 경우 동물에서 폐기종이 발생됨이 증명되어 자가면역성 폐기종의 동물모델이 만들어지면서, 사람의 폐기종과 COPD에서도 자가면역병인기전이 관여할 가능성이 제시되고 있다.[16]

최근 Feghali-Bostwick 등[17]은 COPD 환자 12명 중 12명 전원(100%)과 정상 대조군 12명 중 3명(25%)에서 1차 배양된 폐상피세포(primary pulmonary epithelial cells)에 대한 IgG 자가항체가 검출되었다고 보고하였으며, COPD 환자의 폐조직에서 면역복합체와 보체의 침착을 확인하여, 실제 COPD 환자들에서 기도상피세포에 대한 자가면역반응이 병인기전에 관여할 가능성이 있음을 시사한 바 있다. 또한 상기 연구자들은 COPD 환자들의 혈액을 이용하여 인간 백혈병 세포(K562)에 대한 IgG 자가항체 반응을 분석한 결과 약 62, 75, 115 그리고 130 kDa의 자가항원 단백질들에 대해서 IgG 자가항체가 검출됨을 보고하였으나, 현재까지 COPD와 연관된 구체적인 자가항원을 규명하여 보고한 연구는 매우 드문 형편이다.[17]

연구자들은 본 연구에서 'Dutch hypothesis'에 근거하여 자가면역기전이 중증 천식과 COPD에 공통적으로 관여하는 병인기전이라는 가설 하에서 기관지천식과 COPD 환자들의 혈액 검체를 이용하여 기도상피세포에 대한 IgG 자가항체 반응을 분석하여 공통적으로 반응하는 표적 자가항원의 하나로서 cytokeratin 8 단백질임을 규명하였다. Cytokeratin 8과 18 단백질은 이합체 구조 상태로 생체 내에 존재하기 때문에, 중증 천식과 COPD 환자에서 cytokeratin 8 단백질에 대한 IgG 자가항체 반응을 보이는 것은 흥미로운 현상이라고 생각된다. 그러나 본 연구 결과만으로는 중증 천식과 COPD에서 공통적으로 관찰되는 기도상피세포 단백질에 대한 자가항체반응이 병인기전에 직접적으로 관여하는지 혹은 기도조직의 만성 염증 반응으로 인해서 발생된 부수적인 현상(epiphenomenon)인지 여부는 입증할 수 없었다. 따라서 향후, 천식과 COPD의 병인기전에서 cytokeratin 8 단백질에 대한 자가면역반응의 기능적 역할에 대한 추가연구들(자가항체-매개 세포독성 연구, 자가면역 동물 모델 연구 등)이 필요할 것으로 판단된다.

결 론

본 연구에서 중증 천식과 COPD에서 기도상피세포 단백질인 cytokeratin 8 단백질에 대한 자가면역반응이 공통적으로 관찰됨을 확인하였다. 향후 천식과 COPD에서 자가면역기전이 공통적으로 작용할 가능성을 확인하기 위한 추가적인 연구들이 필요할 것으로 판단된다.

참 고 문 헌

1) Global Initiative for Asthma: Global strategy for asthma management and prevention. Bethesda, Md., p1-10, National Institutes of Health (NIH publication no. 02-3659.), 2002
2) Pauwels RA, Buist AS, Calverley PM, Jenkins CR, Hurd SS. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO global initiative for chronic obstructive lung disease (GOLD) workshop summary. Am J Respir Crit Care Med 2001;163:1256-76
3) Bleecker ER. Similarities and differences in asthma and COPD: the dutch hypothesis. Chest 2004;126:93S-5S
4) Burrows B, Bloom JW, Traver GA, Cline MG. The course and prognosis of different forms of chronic airways obstruction in a sample from the general population. N Engl J Med 1987;317:1309-14
5) Silva GE, Sherrill DL, Guerra S, Barbee RA. Asthma as a risk factor for COPD in a longitudinal study. Chest 2004;126:59-65
6) Rhee YK, In BH, Lee YD, Lee YC, Lee HB. Prevalence of combined bronchial asthma with COPD in patients with moderate to severe air flow limitation. Tuberc Respir Dis 2003;54:386-94
7) Barnes PJ. Mechanisms in COPD: differences from asthma. Chest 2000;117:10S-4S
8) Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease. N Engl J Med 2000;343:269-80
9) Abraham B, Antó JM, Barreiro E, Bel EHD, Bonsignore G, Bousquet J, et al. The ENFUMOSA cross-sectional European multicentre study of the clinical phenotype of chronic severe asthma. Eur Respir J 2003;22:470-7
10) Sluiter HJ, Koëter GH, de Monchy JGR, Postma DS, de Vries K, Orie NGM. The dutch hypothesis (chronic non-specific lung disease) revisited. Eur Respir J 1991;4:479-89
11) Kraft M, Barnes PJ. Asthma and chronic obstructive pulmonary disease exhibit common origins in any country! Am J Respir Crit Care Med 2006;174:238-44
12) Wagner V, Tomšíková A, Sach J, Janková J, Nováčková D. Autoimmune mechanism in diseases of the respiratory tract. Acta Allergol 1965;20:1-9
13) Nahm DH, Lee YE, Yim EJ, Park HS, Yim H, Kang Y, et al. Identification of cytokeratin 18 as a bronchial epithelial autoantigen associated with nonallergic asthma. Am J Respir Crit Care Med 2002;165:1536-9
14) Nahm DH, Lee KH, Shin JY, Ye YM, Kang Y, Park HS. Identification of α-enolase as an autoantigen associated with severe asthma. J Allergy Clin Immunol 2006;118:376-81
15) Kwon B, Lee HA, Choi GS, Ye YM, Nahm DH, Park HS. Increased IgG antibody-induced cytotoxicity against airway epithelial cells in patients with nonallergic asthma. J Clin Immunol 2009;29:517-23
16) Taraseviciene-Stewart L, Scerbavicius R, Choe KH, Moore M, Sullivan A, Nicolls MR, et al. An animal model of autoimmune emphysema. Am J Respir Crit Care Med 2005;171:734-42
17) Feghali-Bostwick CA, Gadgil AS, Otterbein LE, Pilewski JM, Stoner MW, Csizmadia E, et al. Autoantibodies in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med 2008;177:156-63
18) Fabbri L, Pauwels RA, Hurd SS. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary updated 2003. COPD. 2004;1:105-41
19) Lee HA, Lee YJ, Kwon B, Choi GS, Park HJ, Ye YM, et al. Proteomic analysis of airway epithelial cell autoantigens associated with bronchial asthma: target protein identification using cultured cell fractionation method. J Asthma Allergy Clin Immunol 2008;28:192-8
20) Hatzfeld M, Franke WW. Pair formation and promiscuity of cytokeratins: Formation in vitro of heterotypic complexes and intermediate-sized filaments by homologous and heterologous recombinations of purified polypeptides. J Cell Biol 1985;101:1826-41

21) Chu PG, Weiss LM. Keratin expression in human tissues and neoplasms. Histopathology 2002;40:403-39
22) Magin TM, Vijayaraj P, Leube RE. Structural and regulatory functions of keratins. Exp Cell Res 2007;313:2021-32
23) Murota M, Nishioka M, Fujita J, Dobashi N, Wu F, Ohtsuki Y, et al. Anti-cytokeratin antibodies in sera of the patients with autoimmune hepatitis. Clin Exp Immunol 2001;125:291-9
24) Dobashi N, Fujita J, Ohtsuki Y, Yamadori I, Yoshinouchi T, Kamei T, et al. Detection of anti-cytokeratin 8 antibody in the serum of patients with cryptogenic fibrosing alveolitis and pulmonary fibrosis associated with collagen vascular disorders. Thorax 1998;53:969-74
25) Ye YM, Nahm DH, Kim CW, Kim HR, Hong CS, Park CS, et al. Cytokeratin autoantibodies: Useful serologic markers for toluene diisocyanate-induced asthma. Yonsei Med J 2006;47: 773-81
26) Ye YM, Nahm DH, Kim SH, Choi JH, Suh CH, Park HS. Circulating autoantibodies in patients with aspirin-intolerant asthma: An epiphenomenon related to airway inflammation. J Korean Med Sci 2006;21:412-7
27) Rottem M, Shoenfeld Y. Asthma as a paradigm for autoimmune disease. Int Arch Allergy Immunol 2003;132:210-4
28) Paul S, Said SI, Thompson AB, Volle DJ, Agrawal DK, Foda H, et al. Characterization of autoantibodies to vasoactive intestinal peptide in asthma. J Neuroimmunol 1989;23:133-42
29) Agustí A, MacNee W, Donaldson K, Cosio M. Hypothesis: does COPD have an autoimmune component? Thorax 2003;58:832-4
30) Birring SS, Brightling CE, Bradding P, Entwisle JJ, Vara DD, Grigg J, et al. Clinical, radiologic, and induced sputum features of chronic obstructive pulmonary disease in nonsmokers: A descriptive study. Am J Respir Crit Care Med 2002;166:1078-83