

기도점액 과다분비성 질환의 병태생리적 특성 및 연구모델

이충재 · 고광호*
서울대학교 약학대학

Pathophysiologic Characteristics of Airway Mucus-hypersecretory Diseases and Experimental Models

Choong Jae LEE and Kwang Ho KO*
College of Pharmacy, Seoul National University

(Received November 3, 1997; accepted November 22, 1997)

기도 점막상피세포층의 생리

호흡기는 인체가 외부 환경과 접촉하도록 노출된 기관(organ)층의 하나이다. 호흡기는 공기의 통로를 이루는 기도(air way)와 기체교환 장소인 폐로 이루어져 있다. 기도는 비강(nasal cavity), 인두(pharynx), 후두(larynx), 기관(trachea), 기관지(bronchus)로 이루어져 있고, 폐는 소기관지(bronchiole), 폐포(alveolus)로 이루어져 있다. 인체는 호흡기의 작용을 통하여 1일 약 20 kl의 공기를 흡입한다. 호흡기는 산소의 흡입과 이산화탄소의 배출과 같은 생명유지의 근간이 되는 기능을 수행함과 동시에 흡기를 통해 인체에 유입되는 유해한 물질에 대해 생물학적 방어기능을 수행하고 있다(Netter, 1979a). 호흡기를 통해 인체에 유입되는 인자는, 크게 생물학적 인자와 무생물적 인자로 대별할 수 있는데, 생물학적 인자로는 감염을 유발하는 세균, 바이러스, 마이코플라즈마, 진균류, 리켓치아 등의 미생물과, 호흡기도와 호흡실질에 면역반응을 일으키는 식물 및 동물유래 입자 등이 있으며, 무생물적 인자로는 이산화황, 암모니아와 같은 유해자극성 기체 및 증기들, 호흡기 실질에 섬유화와 악성종양을 일으키는 석면이나, 베릴륨과 같은 입자성 물질 등이 있다. 호흡기로 유입되는 입자들은 관성충돌, 중력에 의한 침강, 브라운 운동, 확산, 정전기력 등에 의해 기도에 침착되며, 인체는 기체역학적 여과작용, 기도반사작용 등을 통하여 유해입자들의 침투 및 체류를 억제하고, 점액성 섬모의 운반작용, 폐포에 의한 제거 기전, 기침이나 재채기같은 기도반사 등을 통하여 유해입자를 호흡기로부터 제거하고자 한다(Newhouse et al., 1983; Netter, 1979c). 호흡기의 구성요소중 기관(trachea)은 16내지 20개의 C 자형의 초자연골(hyaline cartilage)을 탄력성의 막이 연결하고

있는 길이 약 15 cm, 직경 2.5 cm 가량의 관이다. 제 6경추의 하단 높이에서 시작되고, 식도의 전면을 하행하여 제 5 또는 제 6 흉추 높이에서 좌우 기관지로 분지한다. 이러한 기관과 기관지의 벽은 4개의 층, 즉 점막층(mucosa), 점막하층(submucosal layer), 섬유근 연골층(fibromuscular cartilagenous layer), 외막(adventitia)으로 이루어져 있다. 기관의 점막층은 위중층 섬모원주상피층(pseudostratified ciliated columnar epithelium)과 고유판(lamina propria)으로 구성되어 있다. 상피세포층에서는 섬모세포(ciliated cell), 배상세포(goblet cell), 솔자세포(brush cell), 기저과립세포(basal granular cell) 등이 발견된다. 섬모세포는 세포당 약 200개의 섬모를 가지고 있으며, 섬모는 길이가 5 μ m, 직경이 0.3 μ m이다(Netter, 1979a). 외부에서 유입되는 유해입자를 제거하여 유해자극에 대해 인체를 방어하는 기전중 점액성 섬모의 운반작용은 나머지 두 기전과 아울러 호흡기의 중요한 방어기전중의 하나이다. 호흡기 점액(mucus)은 점막하 점액선(submucosal gland)과 상피 배상세포로부터의 분비물로 구성되어 있는데, 점막하 점액선으로부터 분비되는 분비물은 뮤신(mucin), 액체 성분, 폐포의 표면과 주위로부터 유래된 용질들을 함유하고 있다. 점액성 섬모의 운반작용(mucociliary transport)은 섬모세포가 수행하는 분당 1,500회 정도의 섬모 운동과, 배상세포와 점막하 점액선으로부터 유리된 점액의 협동작용으로 이루어진다. 점액은 두개의 층으로 구성되어 있는데, 하층은 섬모가 움직이는 두께 5 μ m 정도의 sol 상태이고, 상층은 2 μ m 정도로 좀더 점도가 높은 gel 상태이며, 섬모말단에 의해 구강쪽으로 움직인다. gel성 점액층은, 뮤신, 뮤신과 결합된 단백질, 혈청유래 단백질 등을 함유하며, 수분이 침투하기 어려우므로 섬모주위의 액체성분이 건조해지지 않도록 하는 역할을 수행한다(Newhouse et al., 1983; Netter, 1979b). 이러한

* To whom correspondence should be addressed.

mucociliary transport 기능으로 인해, 건강한 성인에서는 1 일 약 100 ml 정도의 점액성 분비물이 분당 1 cm 정도의 속도로 후두쪽으로 내어 보내지고 있다. 인체는 통상 이 분비물을 무의식적으로 삼키고 있으며, 분비물의 흐름을 타고, 흡입된 유해물질 등이 유출, 제거된다.

기도점액 과다분비성 질환의 병태생리

점액의 보호기능은 주로 점액성 당단백질(mucous glycoprotein)인 뮤신의 물리화학적 성질 때문인데, 뮤신은 분자량 수백만 dalton의 당단백질로 그 탄수화물의 구조에 있어 상당한 다양성을 보인다. 뮤신은 정상 생리상태에서는 적절한 점도(viscosity)가 유지되어 섬모세포의 운반작용에 의해 배출이 용이하게 되어 있어, 기도 및 폐내 이물질 제거, 폐의 유희작용 등의 중요한 기능을 담당하고 있다. 한편, 섬모는 감염, 대기오염, 자극성 기체, 흡연 등의 자극에 의해 단축되기도 하고 섬모운동 자체가 활발하지 못하게 되거나, 정지하기도 한다. 또, 배상세포는 위에 언급한 자극들이나, 만성 기관지염, 천식 등의 질환으로 세포수가 증가하고, 분비 점액을 증가시키며, 증가된 점액은 객담의 형태로 배출된다(Rogers, 1994; Rose, 1992). 객담은 타액, 혈청 단백질 삼출물, 박리된 상피세포들과 기도점액의 혼합물로 구성되어 있는 병리적 물질이며, 기도 병리상태의 한 지표가 될 수 있다. 이와 같이, 정상 생리상태 혹은 호흡기 임상에서 경질환 발생시에는 기도점액의 생체방어적 역할이 요긴하지만, 기도 뮤신의 양 혹은 질의 이상, 예를 들어, 천식이나 만성폐쇄성 폐질환(chronic obstructive pulmonary disease)과 같은 질환발생시 수반되는 극심한 점액 점도 증가 및 점액의 물리화학적 특성 변화에 기인한 점액전(mucus plug)의 형성은, 기도 분비물의 배출을 오히려 방해하며, 침착된 분비물에 의한 기관지 폐쇄, 감염 발생시 배농장애 등을 유발한다. 따라서, 기도점액의 과다분비 혹은 점도의 변화로 큰 고통을 겪게되는 만성 기관지염, 기관지 천식, 낭포성 섬유증과 같은 기도질환 환자에 있어서는, 기도점액 분비의 조절이, 질환으로 인한 고통의 경감과, 질환의 치료에 있어 대단히 중요하다. 과량의 점액을 기도에서 제거 혹은 조절하는데는 이론적으로, 두가지 방법이 있을 수 있다. 첫째는, 점액의 점도를 낮추는 약물을 투여한뒤 점액을 흡인(aspiration)해내는 물리적 방법에 의한 점액의 제거이고, 둘째는, 점액의 과다한 생성 및 유리(분비) 자체를 억제하는 약물을 투여하는 방법일 것이다. 지금까지, 기도질환의 임상에서 점액분비 및 조절 이상의 치료에는, 점액성 분비물의 점도를 낮추어 분비물의 배출을 용이하게 하는 방법, 분비물의 배출을 더욱 자극하여 분비물을 용이하게 다량 배출시키려는 방법 등이 시도되어 왔다(Mutschler et al., 1995; Newhouse et al., 1983). 점액성 분비물의 점도를 낮추기 위해서는 점액용해제(mucolytics)를 사용해 왔다. 먼저, bromhexine은 lysosome의 형성을 증가시키고 가수분해

효소를 활성화시킴으로, 산성 mucopolysaccharide를 분해시키며, 동시에 장액성 선세포(serous glandular cell)도 자극하는 것으로 알려져 있다. 결과적으로, 점액분비의 증가와 아울러 점액 점도의 감소가 일어난다. ambroxole이라는 약물은 bromhexine의 체내 대사산물중 하나로 bromhexine 고유의 작용과 아울러 surfactant의 형성을 자극, 점액의 표면장력을 감소시키는 것으로 알려져 있다. 결과적으로, 상피세포층에 대한 점액의 부착력을 약화시켜 mucociliary transport에 의한 점액의 제거를 용이하게 하는 작용이 있다. 다음은 thiol 계열의 약물로, acetylcysteine과 S-carboxymethylcysteine이 있다. 이 약물들은 점액의 disulfide bond를 파괴, cross-linking을 끊음으로써 점도를 낮춘다. Acetylcysteine은 기도내 분무 등의 방법에 의해 점액에 직접 작용을 일으키고, S-carboxymethylcysteine은 폐쇄 thiol기를 가지고 있어 직접 점액에 작용하지는 못하고, 흡수된 후 점액의 점도를 낮추는 효능이 있는 것으로 추정하고 있다. 그러나, 이같은 약물의 사용으로 점액의 점도 감소가 지나칠 경우에는 오히려 점액이 원위 기관지로 흘러 들어가, 기관지 경축(bronchospasm)등으로 기관지 폐쇄가 더욱 악화된다(Mutschler et al., 1995). 따라서 현재 호흡기 질환의 임상에서 원칙적으로 권장되는 방법은, 충분한 수분의 섭취를 통해 환자 본인이 기침을 하여 객담이 잘 배출될 정도로 점도를 조절하는 방법인데 아직 약물로는 불가능하다고 보고 있다. 분비물의 배출을 더욱 자극하는 방법은 거담제(expectorants)의 투여인데, 기도에 대한 직접적 자극 혹은 vagal gastric reflex를 경유하여 점액선의 분비를 증가시켜, 분비물의 배출을 자극하는 방법이다. 사용되는 약물로는 NH₄Cl, KI, NH₄I, guaiacol, 휘발성 정유(volatile oils) 및 saponin을 함유하는 생약류 등이 있다. 그러나, 이런 류의 약물들은 그 약효가 의심스러운 경우가 많고, 작용기전 자체가 모호하며, 요오드를 함유하는 제제들은 장기 사용시 중독을 일으키며 휘발성 정유들은 유아에게 사용시 후두경련이나 중추성 흥분 등의 부작용이 발생한다. 또한, 이 약물들의 효과가 약물을 복용기 위해 마시는 충분한 수분 때문이라고 보는 견해도 있다(Mutschler et al., 1995). 두번째 방법인 점액 생성 및 유리 자체를 억제하는 약물을 투여하는 방법은 현재까지 그러한 약물이 개발되지 못하였으므로 적용하지 못하고 있다. 기도점액의 물리적 흡인법은 기도벽의 자극을 유발하고, 반사기전에 의해 점액 분비를 오히려 자극하게 된다. 마취하에서 그런 방법이 시도된다고 해도 점액의 제거는 feedback mechanism을 통해 점액의 생성과 분비를 더욱더 자극한다. 그러므로 물리적 방법은 점액 과다분비로 고생하는 환자의 치료에 큰 도움이 되지 못했다. 따라서, 아직 구체화되지 않았지만, 앞에서 언급한 두번째 접근방법인, 점액의 과다한 생성 및 유리 자체를 억제하는 약물을 투여하는 방법, 즉 기도 점액유리(분비)를 억제

하기 위한 약물학적 접근방법은, 향후 호흡기 질환자의 기도점액 과다분비를 조절함에 있어 중요한 방향이 될수 있을 것이다.

in vitro 기도점액 과다분비 질환 연구모델: 일차배양 햄스터 기관표면 상피세포

기관표면 상피세포 1차 배양법의 개발과 그 유용성

기도 뮤신은 Periodic Acid-Schiff(PAS)에 반응하는 분비성 과립으로부터 유래하는데, 이 분비성 과립은 기도 상피층의 배상세포(goblet cell)와 점막하 점액선(submucosal gland)의 점액세포(mucous cell)에서 공히 발견되며, 기도 뮤신은 이러한 두 부류의 상이한 세포로부터 유래되는 물질의 혼합물일 가능성이 크다. 호흡기 질환자의 객담에서 분리해낸 뮤신은 순수하지 못하며, 객담에 존재하는 단백분해효소 등의 존재로 인해 분비후의 구조변화 과정을 거치게 된다. 이런 오염이나 구조변화의 문제를 해결하기 위해 organ explant culture나, cell culture와 같은 in vitro system을 사용해왔다. 특히, organ explant culture는 실험조작의 용이성과 in vivo 기도와 유사성으로 인하여 많이 사용해왔다(Adler et al., 1987; Clark et al., 1979; Chakrin et al., 1972; Coles et al., 1984; Gallagher et al., 1975; Klinger et al., 1984; Marom et al., 1981; Mian et al., 1982; Shelhamer et al., 1980; Shelhamer et al., 1984; Sherman et al., 1981; Woodward et al., 1982). 그러나 organ culture는 system자체의 불안정성(Niles et al., 1986), 평활근과 같은 주위조직의 혼입, 염증성 세포들의 혼입 등이 큰 단점으로 작용(Kim et al., 1987a)하므로, 뮤신유리에 관련된 생화학적 기전 연구에는 부적합하다. 또, tracheal organ explant culture는 배상세포뿐만 아니라 점막하 점액선이 혼재, 두 뮤신 근원(source)이 공존하므로, 각 뮤신 근원의 개별적 조절기전을 연구하는데 지장을 초래한다. 따라서, 그러한 문제점들을 해결하기 위해, 기관표면 상피(TSE)세포 1차 배양법이 개발(Wu et al., 1982; Lehner et al., 1982)되게 되었는데, 동물종에 따라 배양조건에 차이가 있다(Van Scott et al., 1986). 세포배양에 이용되는 몇몇 동물종에서 토끼와 햄스터의 기관(trachea)은 점막하 점액선이 거의 존재하지 않으므로, 배상세포로부터의 뮤신유리 조절을 연구하는데 사용해 왔다. 그 중에서도, 햄스터 TSE system이 가장 많이 연구되어 있고, TSE 유래 뮤신의 생물학적 연구에 가장 적절한 것으로 알려져 있다. 햄스터의 TSE cell culture는 다음과 같은 특성을 지니고 있다. 첫째, HTSE는 plastic dish표면보다는 collagen gel 위에서 더 잘 자란다(Kim, 1985). 둘째, culture는 섬모세포뿐 아니라, PAS-positive granule을 가진 세포를 함유한다(Lee et al., 1984). 셋째, 뮤신의 생산에는 collagen gel matrix (Kim, 1985; Rearick et al., 1987)와 retinoids의 공급(Wu et al., 1985)이 필수적이다. 또한, 햄스터 TSE cell이 배양 상태에서 성장하는 동안의 형태학적 및 생화학

적 변화와 특성은 다음과 같다. 첫째, 배양조에 세포를 분포한 후, 기질(matrix)에 부착된 대부분의 세포는, 입방 내지 원주 형태로 되고, 분비성 과립, 혹은 섬모를 함유한다. 둘째, 활발히 성장하는 동안 세포들은 편평화되며, 분화된 외형을 상실하게 된다(Wasano et al., 1988). 셋째, 이 증식하는 세포들은 세포표면 lectin marker의 존재로 보아 대부분 분비성 세포이다(Wasano et al., 1988). 넷째, 세포가 다 자라면 세포는 재분화하여, 대부분의 세포가 분비성 과립을 재획득하고, 뮤신 생산을 시작한다(Wasano et al., 1988). 그러므로, 성숙한 햄스터 TSE cell culture는 secretory cell metaplasia와 유사하다. 다섯째, 성숙한 후 며칠만 지나면 햄스터 TSE cell은 collagen 기질을 분해시킨다. 분해를 막으려면 배양세포를 32-33°C의 낮은 온도에서 계속 배양해야 한다(Niles et al., 1988). 여섯째, 분비된 뮤신은 분비성 과립 내부 및 세포 표면 양쪽에 다 존재한다(Kim et al., 1987b; Wasano et al., 1988). 일곱째, 배양된 기도 상피에서 얻은 분비성 세포는, 상기도의 배상세포와 유사하다는 것 등이다.

HTSE 배양세포에서 생성되는 뮤신의 특성 및 구조

glycoconjugates란 일반적으로 공유결합된 탄수화물을 가진 거대분자를 의미하며, glycoprotein, glycolipid, proteoglycan 등이 있다. 배양된 TSE 세포에서는 위의 물질들이 다 생성되는데, 분비되는 전체 glycoconjugates의 20-30%만이 뮤신으로 알려져 있다(Kim et al., 1989a). 분비되는 proteoglycan으로는 hyaluronic acid, chondroitin sulfate proteoglycan, heparan sulfate proteoglycan 등(Kim et al., 1989a)이 있다. proteoglycan은 그 core protein에 oligosaccharide와, 다양한 정도로 sulfated되어 있고, 반복되는 이당류 단위로 구성된 glycosaminoglycan을 함유하는 반면, 뮤신은 이를 함유하고 있지 않다. 따라서, 각 proteoglycan은 음이온 교환수지를 써서 분리할 수 있고, glycosaminoglycan을 분해하는 효소를 이용, 뮤신과 구분할 수 있다(Kim et al., 1985). TSE 세포배양에서 생성되는 고분자량의 당단백질은 다음의 두 조건중 적어도 하나를 만족시켜야 뮤신으로 정의될수 있다. 첫째, oligosaccharide 구조를 가진 고분자량의 O-linked glycoprotein이다. 둘째, 단백질중 전체 아미노산 함량의 최소 40% 정도는 serine, threonine, proline등으로 구성되어 있어야 한다는 것이다. 배양된 햄스터 TSE세포로부터 분비되는 뮤신은 in vivo 기도 뮤신(airway mucin)과 다음과 같은 특성을 공유한다. 첫째, Sepharose CL-4B(Pharmacia) 또는 A5m(Bio-Rad)과 같은 겔 여과 크로마토그래피 수지로부터 exclude되는 수백만 dalton의 고분자량 당단백질이다. 둘째, oligosaccharide의 N-acetylgalactosamine과 protein의 serine, threonine 사이에 glycosidic linkage가 형성된, O-glycoprotein이다. 셋째, 구성 당질이 N-acetylgalactosamine, N-acetylglucosamine, galactose, fucose, sialic acid 등이며, mannose는 존재하

지 않는다. 넷째, poly(N-acetyllactosamine) moiety가 존재한다. 다섯째, sulfate, sialic acid 등의 존재 때문에 크기와 하전 상태가 다양하다. 여섯째, proteoglycan 분해효소에 의해 분해되지 않는다. 일곱째, CsCl 밀도경사 원심분리법에 의하면, 부력밀도가 약 1.5 g/ml이라는 것 등(Adler et al., 1990c; Kim et al., 1985; Rearick et al., 1984)이다. 그러나, 이와 같은 특성들은 주로 뮤신의 탄수화물 구조에 근거한 것으로, 뮤신의 단백질 구조에 대해서는 아직까지 잘 알려지지 않았으며, 이같은 문제가 해결된 후에야 뮤신의 특성을 더 정확히 파악할 수 있게 될 것이다.

뮤신 정량 방법

살아있는 동물을 사용하는 실험에서, 뮤신유리의 정도는 PAS- positive 분비과립을 정량함으로써 측정해왔다. 한편 in vitro 배양 system에서는, 생화학적 방법으로 뮤신 유리를 측정한다. in vitro culture로부터 뮤신이 유리되는 기저 수준이 비교적 낮으므로 일반적으로 배양액은 ^3H - 또는 ^{14}C -glucosamine과 같은 핵종으로 표지된 amino acid, Na $^{35}\text{SO}_4$ 와 같은 대사 전구체를 써서 방사능 표지된다. 표지된 뮤신의 유리는 다음의 4가지 측정법중 하나를 이용하여 측정할 수 있다. 첫째, 에탄올 또는 trichloroacetic acid-phosphotungstic acid로 침전시키는 방법이다. 이 방법의 장점은 신속, 재현성이 있다는 점이며, 다량의 시료를 단시간내 처리할 수 있다는 점이다. 그러나, 침전현상 자체가 극도로 비특이적이어서, 뮤신뿐 아니라 유리되는 모든 glycoconjugates가 다 측정된다는 단점이 있다. 일반적으로, 전체 측정 방사능량의 20-50%를 뮤신의 양으로 환산할 수 있다. 두 번째 방법은, 겔 여과 크로마토그래피를 이용하는 방법이다. 뮤신이 분자량 1백만 dalton 이상이라는 가정에 근거한 이 방법은, 각 시료를 위해 독립된 column을 필요로 한다. 단일, 단일 column을 쓸 경우에는, 다음 시료를 적용하기 이전에 column을 완전히 세척해야 한다. 다수의 시료가, 동시에 다수의 column에 적용될 수 있다(Cheng et al., 1981). 또, 시료를 열변성시켜야 하고, 뮤신의 소수성으로 인해, detergent를 함유한 elution buffer로 column을 작동시켜야 한다(Kim, 1991). 이 방법의 단점으로는, 실험에 소요되는 시간이 길고, 작업량이 많으며, 개개 column간에 performance가 다르다는 점 등이며, 따라서, column performance를 항상 점검해야 한다. 또 small mucin은 측정되지 않는다는 것도 문제점이다(Kim et al., 1989b). 그러나, 이 방법은 적절히만 사용된다면 사용가능한 가장 정확한 방법이라고 볼 수 있다. 세 번째 방법은, lectin인 HPA에의 부착법이다. 정제된 뮤신이 HPA에 부착된다는 점에 착안한 신속하고 재현성이 있는 방법이다. 그러나, lectin이 뮤신분자의 말단 N-acetylgalactosamine에 부착되는데, 각 뮤신 분자가 함유하는 N-acetylgalactosamine의 양이 서로 다르므로 시료중 뮤신의 정량에는 문제가 있다는 단점이 있다. 네 번째 방법

으로는 항 뮤신 항체의 사용을 들 수 있다. 이 방법은 굉장히 민감하며, 다량의 시료를 재현성있게 처리할 수 있지만, 항체가 뮤신분자의 탄수화물 구조를 인지하므로, HPA방법과 동일한 문제점을 가진다. 또, 시료준비와 측정조건에 주의할 기울여야 하는데, 거대한 뮤신분자와 배양액내에 존재하는 다른 거대분자와의 회합이, 항체 상호작용에 유의성있는 입체장애를 일으킬 수 있기 때문이다. 현존하는 방법중 완전한 방법은 없으나, 적절히 사용된다면, gel filtration 방법이 가장 정확하다고 할 수 있을 것이다.

기도 배상세포로부터의 뮤신유리의 약리

배양된 HTSE 세포로부터 유리되는 뮤신은 적어도 두개의 상이한 기원을 가지는데, 하나는 배상세포 표면으로부터이고, 다른 하나는 배상세포내 분비성 과립으로부터이다(Kim et al., 1987b). 분비성 과립 내부의 뮤신은 과립의 내막에 부착되어 있을 가능성이 크며, 뮤신은 과립내에서 분극화된 양상으로 존재할 것으로 추측되는데, 주로 core protein인 소수성 부분은 막지질과 결합되고, 주로 oligosaccharide인 친수성 부분은 분비성 과립의 중심부를 향하고 있을 것으로 추정된다. 배상세포의 분비성 과립 내부에 Ca^{++} 의 농도가 높다는 보고(Villalon et al., 1988)는 oligosaccharide중의 음하전된 작용기들, 예를 들어 carboxyl이나 sulfate등이 Ca^{++} 와 complex를 이루고 있음을 시사한다. 배상세포 표면에 존재하는 뮤신은 염증 과정 동안, 호중성구(neutrophil)에 의해 생성되는 단백분해효소에 의해 떨어져 나올 수 있으며(Kim et al., 1987b), 정상 생리적 조건하에서도 내인성 단백분해효소 등에 의해 유리되어 mucociliary clearance에 의해 꾸준히 제거되는 반면, 기도 보호를 위한 다량의 점액 공급을 목적으로, 분비성 과립에서 기원하는 뮤신은 자극성 기체의 흡입, 극심한 기도감염 등과 같은 비생리적 자극이 있을 때만 유리되는 것으로 알려져 있다. 또한, 유리된 뮤신은 여러 종류의 지질과 회합되어 있는데(Kim et al., 1989a; Kim et al., 1990), 아마도 분비되기 이전에 회합되어 있을 것으로 추정하고 있다. 언급한 바와 같이, 뮤신은 분비성 과립 내부 뿐 아니라, 분비성 세포표면에도 존재하며, 상당 부분이 external glycoprotein으로서, 세포막과 결합되어 있다. 뮤신과 회합되어 있는 지질의 97%는 열처리와 detergent 사용으로 분리할 수 있으며, 이는 지질이 공유결합하고 있지 않다는 증거인데(Kim, 1991), 나머지 3% 정도는 alcoholic KOH로 처리해야 분리된다. 또, 유리된 뮤신은 저분자량의 당단백질과 비공유결합성, 소수성 상호작용으로 결합되어 있는데, 이런 저분자량의 당단백질과의 결합 이유, 과립내에 그것들이 존재하는 이유를 알기 위해서는 더 많은 연구가 필요할 것이다. 비생리적 조건하에서의 기도 배상세포로부터의 뮤신유리는 흡연(Jones et al., 1973), 자극성 기체(Spicer et al., 1974; Gallagher et al., 1986), 단백분해효소의 작용(Adler et al., 1986) 등에 의

하여 일어나는 것으로 알려져 있지만, 정상 생리적 조건하에서의 배상세포 뮤신유리에 대해서는 거의 알려진 바가 없다. 배양된 기도 배상세포로부터의 뮤신의 유리는 다음의 요인들에 의해 영향을 받을 수 있다. 첫째, 배양액 pH의 변화(Kim et al., 1989c), 둘째, 양이온성 단백질분해 효소(Kim et al., 1989c; Kim et al., 1987b), 셋째, 세포에 가해지는 기계적 응력(mechanical strain)(Kim et al., 1989b), 넷째, 세포주위 삼투압(등장성)의 변화(Kim et al., 1989b), 다섯째, 핵산 유도체(Williams et al., 1987) 등이다. 이러한 요인들의 뮤신유리 작용기전은 다음과 같이 밝혀져 있다. 배양액의 pH가 변화하는 상황은, *in vivo*에서 이산화황이나 암모니아 같은 흡입된 자극성 기체가 기도 강내 액에 용해될 때 pH가 산성 또는 염기성으로 변하는 상황과 유사하다. pH 4 이하 또는 9 이상은 세포 배양 system에서 세포막 손상을 일으켜 뮤신유리를 일으킨다. 기도 염증시 호중성구(neutrophil)에 의해 생성되는 elastase나 cathepsin G와 같은 양이온성 단백질분해 효소는 세포 표면 뮤신을 탈락시킴(Kim et al., 1987b)으로써, 뮤신을 유리시키는데, 이 효소들은 유리된 뮤신을 분해하는 작용도 나타낸다. 또, 단백질분해 효소가 매개하는 뮤신 유리의 또다른 기전으로, 폐쇄성 폐 질환과 관련된 세균이 생산하는 단백질분해효소는 토끼의 tracheal organ explant(Klinger et al., 1984)와, 기니픽의 tracheal explants(Adler et al., 1986)에서 뮤신을 유리시키는데, 세포막 표면에 단백질분해성 손상을 주든가, 혹은 apocrine mechanism(Klinger et al., 1984)을 통한 뮤신유리 기전이 밝혀져 있다. 인간의 호중성구에서 유래하는 elastase도 햄스터 tracheal organ explants(Niles et al., 1986)와, 배양된 HTSE 세포(Kim et al., 1987b)에서 뮤신을 유리시키는데 세포 표면에 부착된 뮤신에 대해 단백질분해를 일으키는 기전을 거치는 것으로 추정하고 있다(Breuer et al., 1989; Kim et al., 1987b). 반면, 폐지 채장에서 얻은 elastase는 뮤신유리에 영향이 없는 것으로 보고되어 있다(Kim et al., 1987b). 세포주위 삼투압(등장성)의 변화가 뮤신유리에 영향을 주는데, 저장성(hypoosmolarity) 환경은 뮤신유리를 증가시키고, 고장성(hyperosmolarity) 환경은 뮤신유리를 감소시킨다고 보고(Kim et al., 1989c)되어 있다. collagen 기질의 수축은 세포손상을 일으키지 않고도 뮤신유리를 일으키는 것으로 보고(Kim et al., 1989b; Kim et al., 1987a)되어 있는데, 등장성의 변화와 collagen 기질의 수축, 양쪽 다 분비성 세포에 대한 기계적 응력(strain)을 유발하므로, 뮤신을 유리시키는 것 같다. collagen 기질에 대한 직접적 응력은, 뮤신유리를 기저 수준의 2배 가량 증가시킴이 보고되어 있다. *in vivo*에서 기도 상피가 평활근과 물리적으로 결합되어 있다는 것을 고려할 때, 기도 평활근의 수축은 배상세포에 기계적 응력을 일으킬 수 있으며, 이것은 *in vivo* 기도 배상세포 뮤신의 생리적 유리에 있어 중요한 조절인자일수 있을

을 시사한다. 폐에서 adenosine은 천식의 발병과정에서 관여되어 있고, 강력한 P1 수용체 길항제인 theophylline은 천식의 치료에 사용되어 왔다(Mutschler et al., 1995). Nucleotide는 세포 내부에도 고농도로 존재하지만(Gordon et al., 1986), 기도 감염시 손상된 세포로부터 유리되어 세포외에도 고농도로 존재할 수 있다. 뮤신유리는 adenosine에 의해 영향을 받지 않는으나, ATP에 의해서는 용량의존적으로 촉진된다(Kim et al., 1991). 이는, P2 퓨린 수용체의 관여를 암시(Gordon et al., 1986)하는 것이며, ATP의 비기수분해성 유도체인 ATP γ S가 ATP의 효능과 동등(Kim et al., 1991)하므로, ATP는 수용체 매개성 기전을 통하여 뮤신유리를 유발할 가능성이 크다.

기도 배상세포로부터 뮤신유리 기전규명의 시도

생리적 조건에서 기초적 뮤신유리의 조절기전에는 기계적 응력의 역할이 관여되어 있을 것으로 추측하고 있다. 기도 전체에는 자율신경이 상당히 많이 분포되어 있다. 따라서, 기도 평활근의 활성화는 자율 신경계의 지배하에 있다. 이 평활근의 수축과 이완은 기도 상피의 세포에 기계적 응력을 가할 것이고, 따라서 생리적 조건하에서의 기도 평활근의 긴장도는 표면 상피세포로부터의 뮤신 유리에 영향을 줄수 있을 것이다. 세포막에는 세포내 Ca⁺⁺ 수준의 증가없이도 exocytosis를 일으키는 G protein이 존재하는데, 이것을 G protein of exocytosis(Ge)라 한다(Burgoyne, 1987). HTSE 세포로부터의 뮤신유리가, Ca⁺⁺ ionophore인 A 23187에는 반응하지 않고, 기계적 응력에는 반응하므로 기계적 응력에 의해 유발된 뮤신유리에 Ge의 관여를 생각해 볼수 있으나, GTP 유도체를 사용한 실험에 의하면 뮤신유리에 관여하지 않는다고 한다(Kim, 1993). 또한, ATP의 역할도 상정해 볼수 있다. 정상 생리 조건하에서의 세포외 ATP의 기원이나, 농도에 대해서는 구체적 증거가 부족하지만, 기도 염증상태에서는 용해된 상피 혹은 염증성 세포들로부터 유래된 ATP가 기도 세포외(extracellular)에 국소적으로 고농도로 존재할수 있다는 것이다. ATP는 세포표면의 type II(P2) 퓨린 수용체를 활성화시킴으로써 뮤신유리를 자극(Kim et al., 1991)하는데, phospholipase C(PLC)와 연계된 Pertussis toxin-sensitive G protein(Gp)에 의한 신호전달 경로를 경유한다고 보고(Kim et al., 1993b)되어 있다. ATP에 의한 뮤신 유리는 P2 퓨린 수용체를 경유하는데 기존의 수용체 아형(subtype)인 P2x, P2y, P2z와는 다른 아형을 경유하는 것으로 추측(Kim et al., 1991)되고 있다. ATP 200 μ M에 의한 P2 수용체 자극은 phosphatidyl inositol(PI) turnover를 67%, 뮤신 유리를 110-130% 가량 증가(Kim et al., 1993b)시켰다. 이때, 백일해 독소(pertussis toxin)를 전처리하면, ATP가 유발하는 PI turnover는 46% 감소하고, 뮤신유리는 42% 감소한다(Kim et al., 1993b). 이런 결과는 다른 P2 퓨린 수용체 system에서도 일치하였다.

그러므로, HTSE 세포에서 ATP에 의한 뮤신유리는 백일해 독소 감수성-G protein을 transducer로, PLC를 effector로 활용, PLC의 활성화에 의해 증가된 IP_3 가 세포내 calcium pool로부터 calcium을 유리할 수 있고, 세포질내에 농도가 증가된 calcium은, 뮤신합유 과립으로부터의 뮤신유리에 작용할 가능성이 있으나, Ca^{++} 의 자세한 역할에 대해서는 실험적 증거들이 부족한 실정이다. PLC 활성화의 결과로 생성되는 또다른 생성물인 DAG(diacylglycerol)는 IP_3 에 의해 유리된 세포질내 calcium과 함께, protein kinase C(PKC)를 활성화시킨다. HTSE 세포로부터의 뮤신 유리에 있어 PKC의 역할이 명확치 않지만, 쥐의 악하선 세포에서는 phorbol ester와 DAG에 의한 PKC의 활성화가 뮤신분비를 자극한다고 보고(Kim, 1993)되어 있다. 활성화된 PKC는 특정한 촉매작용을 통해 세포표면에 고정된 뮤신을 분리(Low et al., 1988)시킬 수 있을 지 모른다. 또한, HTSE 세포로부터 고도로 정제된 뮤신은, palmitic acid, inositol을 함유하고 있다. 이것은 세포표면 부착분자로서 glycosyl phosphatidyl inositol 구조의 존재를 시사하는 것이나, 상세한 기전 규명을 위해서는 더많은 연구가 필요하다.

in vivo 기도점액 과다분비 모델

in vivo 기도점액 과다분비 모델로는 흰쥐가 많이 이용되어 왔는데, 과다분비 유발원으로 이산화황 기체 또는 담배연기 등을 사용해 왔다. 이 두 물질을 이용, 1-3주의 노출로 인간의 기관지염과 유사한 병리학적 변화를 일으키기에 충분한데, 점막하 점액선의 크기와 배상세포수의 증가를 유발한다. 말초기도쪽으로는 배상세포의 증식과, 뮤신의 특성이 산성으로 변화하는 등의 조직학적 변화가 관찰된다. King 등이 보고한 바에 의하면 담배연기에 노출된 흰쥐에서 1-3주간의 노출로 기관내 점액량이 현저히 증가했으며 점액의 점성탄력도가 감소했다(King et al., 1980b). 흡연모델은 인간의 기도점액 과다분비성 질환과 상당히 유사하나, 특히 서구사회에서는 실험동물에 대한 윤리적 차원에서의 반대 등의 문제로 이러한 모델을 이용하기가 쉽지 않다. 또한, 흰쥐에 세균의 내독소(endotoxin)를 약 3일 정도만 투여하여도 기도점액 과다분비성 질환과 유사한 유형의 변화가 일어난다(Harkema et al., 1992). 이 모델에서는 내독소를 최종 instillation한후 3일 정도를 경과하면, 말초기도쪽에 점액을 함유하는 세포들이 나타남을 관찰할 수 있다. 기도손상이 너무 빨리 발생한다는 점이 있긴 하지만, 적용이 용이한 모델이라 할수 있을 것이다. 실험용 개에게 약 1년간의 긴 기간 동안 흡연시키면, 만성기관지염과 유사한 기도내 변화가 일어나는 것으로 보고되어 있는데, 배상세포의 증식과 화생, 점막하 점액선의 확장, 뮤신의 성질이 산성쪽으로 변화하는 등의 현상이 관찰되었다(Auerbach et

al., 1967; Park et al., 1977). 또, 개에게 기관지 수술을 통하거나, 혹은 코와 입을 통하여, 이산화황을 3-6개월간 노출시키면 상피세포의 비후, 점막하 점액선의 크기 증가 등과 같은, 흡연시의 기도 상피변화와 유사한 조직학적 변화(Angus et al., 1976)를 일으킨다. 이산화황에 노출된 개를 대상으로 점액의 유동성과 제반 기능에 대한 실험결과에 의하면, 이산화황에 노출시, 흡연시와 유사한 반응, 즉 부드럽고, 배출이 용이한 점액량의 증가 등과 같은 반응을 보인다(King et al., 1980a). 점액생성의 증가, 수분함유량이 많고, 배출이 더 용이한 점액의 과다분비는 섬모손상 혹은 소실을 유발하는 기도손상에 대한 일반적 반응인 것으로 보인다. 그러나, 계속적 흡연시 점액의 탄성도가 비정상적으로 변화되어 기침 등에 의해서도 제거되기 어렵게 된다(King et al., 1980a). 또, 개에서 급성적으로 과다분비를 일으키는 methacholine은 infusion 혹은 aerosol상태로 투여하는데 이 물질은 기관지 수축을 일으키기도 한다(King et al., 1979; King et al., 1985b). 또, Ascaris suum과 같은 항원을 이용하여 급성적으로 과다분비를 유발하기도 한다(King et al., 1985a). 이외에, 죽제비 등을 사용한 경우도 있으며(Schuster et al., 1992), 기니픽에 담배연기를 흡입시켜 기도 섬모세포의 박리뿐 아니라 점액 과다분비를 유발시킨 모델도 있다(Hulbert et al., 1981). 최근에, in situ에서 이산화황 기체를 유리하는 sodium metabisulfite(MBS) 용액을 초음파 가슴기로 분무시켜 흰쥐에게서 고전적인 이산화황 기체에 의 노출 상태와 유사한 기도손상을 일으키는 방법이 보고(Pon et al., 1994)된 바 있다. 흰쥐를 MBS aerosol에 3주간 노출시켰을 때 기도 배상세포의 수가 증가하고, 배상세포내 점액 함유정도가 증가하는 등의 특성을 지닌 이 모델은, 기존에 사용되어 왔던 여타 모델들에 비하여 실험자에게 상대적으로 안전하며, 기도점액 과다분비 유발기간이 적절하며, 유발질환의 상태도, 인간에 있어서 대기오염 물질 등에 의한 기도점액 과다분비성 손상과 유사하다는 장점을 보유하고 있다.

향후의 연구방향

위에서 고찰한 바와 같이 기도점액 과다분비성 질환의 임상적 치료효율 제고 및 특이적 치료약물 개발을 위해서는 이 질환에 대한 기초과학적 연구정보 축적이 선행되어야 한다. 따라서, 향후 in vitro 모델을 이용하여 뮤신의 분비조절에 대한 세포생리학적 및 분자 수준에서의 기전연구 등이 진행되어야 할 것이며, 뮤신 분비를 조절할 수 있는 약물의 약리작용을 연구하기 위해서는, 기존의 뮤신 정량방법이 긴 시간과 과중한 작업량을 요구하는 방법이므로 신속하면서도 간편하게 뮤신을 정량할 수 있는 방법을 개발할 필요성이 대두되고 있다. 또한, 인간에서의 기도점액 과다분비성

질환의 병태생리적 특성에 좀더 근접한 in vivo 모델을 개발하기 위하여 이산화황이나 오존 등의 대기오염물질 뿐만 아니라 생체내 염증발현에 개재된 물질 등을 과다분비 유발원으로 한 병태생리 모델이 개발되어야 할 것이다.

참고문헌

- Adler, K. B., Hendley, D. D. and Davis, G. S. (1986). Bacteria associated with obstructive pulmonary disease elaborate extracellular products that stimulate mucin secretion by explants of guinea pig airways. *Am. J. Pathol.* **125**, 501-514.
- Adler, K. B., Schwarz, J. E., Anderson, W. H. and Welton, A. F. (1987). Platelet-activating factor stimulates secretion of mucin by explants of rodent airways in organ culture. *Exp. Lung Res.* **13**, 25-43.
- Adler, K. B., Cheng, P. W. and Kim, K. C. (1990c). Characterization of guinea pig tracheal epithelial cells maintained in biphasic organotypic culture: cellular composition and biochemical analysis of released glycoconjugates. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **2**, 145-154.
- Angus, E., Amyot, R. and Martin, R. (1976). Morphological changes in beagle dogs following exposures to SO₂. *Clin. Res.* **2**, 689A.
- Auerbach, O., Hammond, E. D., Kirman, D., Garfinkel, L. and Stout, A. P. (1967). Histologic changes in bronchial tubes of cigarette-smoking dogs. *Cancer.* **20**, 2055-2066.
- Breuer, R., Christensen, T. G., Niles, R. M., Stone, P. J. and Snider, G. L. (1989). Human neutrophil elastase causes glycoconjugate release from the epithelial cell surface of hamster trachea in organ culture. *Am. Rev. Respir. Dis.* **139**, 779-782.
- Burgoyne, R. D. (1987). Control of exocytosis. *Nature.* **328**, 111-113.
- Chakrin, L. W., Baker, A. P., Spiser, S. S., Wardell, J. R. Jr., De Sanctis, N. and Dries, C. (1972). *Am. Rev. Respir. Dis.* **105**, 368-381.
- Cheng, P. W., Sherman, J. M., Boat, T. E. and Bruce, M. (1981). Quantitation of radiolabeled mucous glycoproteins secreted by tracheal explants. *Anal. Biochem.* **117**, 301-306.
- Clark, J. N. and Marchok, A. C. (1979). Characterization of mucin isolated from rat tracheal transplants. *Biochim. Biophys. Acta.* **588**, 357-367.
- Coles, S. J., Neil, K. H. and Reid, L. M. (1984). Potent stimulation of glycoprotein secretion in canine trachea by substance P. *J. Appl. Physiol.* **57**, 1323-1327.
- Gallagher, J. T., Hall, R. L., Phipps, R. J., Jeffrey, P. K., Kent, P. W. and Richardson, P. S. (1986). Mucus glycoproteins (mucins) of the cat trachea: characterisation and control of secretion. *Biochim. Biophys. Acta* **886**, 243-254.
- Gallagher, J. T. and Kent, P. W. (1975). Structure and metabolism of glycoproteins and glycosaminoglycans secreted by organ cultures of rabbit trachea. *Biochem. J.* **148**, 187-196.
- Gordon, J. L. (1986). Extracellular ATP: effects, source and fate. *Biochem. J.* **233**, 309-319.
- Harkema, J. R. and Hotchkiss, J. A. (1992). In vivo effects of endotoxin on intraepithelial mucosubstances in rat pulmonary airways: quantitative histochemistry. *Am. J. Pathol.* **141**, 307-31.
- Hulbert, W. C., Walker, D. C., Jackson, A. and Hogg, J. C. (1981). Airway permeability to horse radish peroxidase in guinea pigs: the repair phase after injury by cigarette smoke. *Am. Rev. Respir. Dis.* **123**, 320-326.
- Jones, R., Boldue, P. and Reid, L. (1973). Goblet cell glycoprotein and tracheal gland hypertrophy in rat airway: the effect of tobacco smoke with or without the antiinflammatory agent, phenylmethoxydiazole. *Br. J. Exp. Pathol.* **54**, 229-239.
- Kim, K. C. (1985). Possible requirement of collagen gel substratum for production of mucinlike glycoproteins by primary rabbit tracheal epithelial cells in culture. *In Vitro.* **21**, 617-621.
- Kim, K. C. (1991). Biochemistry and pharmacology of mucin-like glycoproteins produced by cultured airway epithelial cells. *Exp. Lung Res.* **17**, 533-545.
- Kim, K. C. (1993). Regulation of airway goblet cell mucin secretion. In, Airway secretion: Physiological Bases for the Control of Mucus Hypersecretion. T. Takishima and S. Shimura (eds), a series of Lung Biology in Health and Disease by Claude Lefant (executive editor), Marcel Dekker, Inc., New York, p. 433-449.
- Kim, K. C. and Brody, J. S. (1987a). Gel contraction causes mucin release in primary hamster tracheal epithelial cells growing on a collagen gel. *J. Cell. Biol.* **105**, 158a.
- Kim, K. C. and Lee, B. C. (1991). P2 purinoceptor regulation of mucin release by airway goblet cells in primary culture. *Br. J. Pharmacol.* **103**, 1053-1056.
- Kim, K. C., Nassiri, J. and Brody, J. S. (1989c). Mechanism of airway goblet cell mucin release : studies with cultured tracheal surface epithelial cells. *Am. J. Cell Mol. Biol.* **1**, 137-143.
- Kim, K. C., OpaskarHincman, H. and Bhaskar, K. R. (1989a). Secretions from primary hamster tracheal surface epithelial cells in culture: Mucin-like glycoproteins, proteoglycans, and lipids. *Exp. Lung Res.* **15**, 299-314.
- Kim, K. C., Rearick, J. I., Nettesheim, P. and Jetten, A. M. (1985). Biochemical characterization of mucous glycoproteins synthesized and secreted by hamster tracheal epithelial cells in primary culture. *J. Biol. Chem.* **260**, 4021-4027.
- Kim, K. C. and Singh, B. N. (1990). Hydrophobicity of mucin-like glycoproteins secreted by cultured tracheal epithelial cells: association with lipids. *Exp. Lung Res.* **16**, 279-292.
- Kim, K. C., Wasano, K., Niles, R. M., Schuster, J. E., Stone, P. J. and Brody, J. S. (1987b). Human neutrophil elastase releases cell surface mucins from primary cultures of hamster tracheal epithelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **84**, 9304-9308.
- Kim, K. C., Zheng, Q. X. and Van-Seuning, I. (1993b). Involvement of a signal transduction mechanism in ATP-induced mucin release from cultured airway goblet cells. *Am. J. Cell Mol. Biol.* **8**, 121-125.
- Kim, K. C. and Brody, J. S. (1989b). Use of primary cell cul-

- ture to study regulation of airway surface epithelial mucus secretion. In Chantler, E. N., Ratcliffe, N. A. (eds), *Mucus and related topics*. Cambridge, UK, Company of Biologists Limited, 231-239.
- King, M., Boileu, R., De launois, L. and Martin, R.R. (1980a). Alteration in tracheal mucus viscoelasticity with chronic sulfur dioxide exposure. *Am. Rev. Respir. Dis.* **121**(part 2), 243.
- King, M., El-Azab, J., Phillips, D. M. and Angus, G. E. (1985a). Antigen challenge and canine tracheal mucus. *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* **77**, 337-342.
- King, M., Kelly, S. and Cosio, M. (1985b). Alteration of airway reactivity by mucus. *Respir. Physiol.* **62**, 47-59.
- King, M. and Angus, E. (1980b). Influence of tobacco smoke on tracheal mucus in rats. *Fed. Proc.* **39**(3), 366.
- King, M. and Vires, N. (1979). Effect of methacholine chloride on rheology and transport of canine tracheal mucus. *J. Appl. Physiol.* **47**, 26-31.
- Klinger, J. D., Tandler, B. T., Liedke, C. M. and Boat, T. F. (1984). Proteinases of *Pseudomonas aeruginosa* evoke mucin release by tracheal epithelium. *J. Clin. Invest.* **74**, 1669-1678.
- Lechner, J. F., Haugen, A., McClendon, I. A. and Pettis, E. W. (1982). Clonal growth on normal adult human bronchial epithelial cells in a serum-free medium. *In Vitro.* **18**, 800-812.
- Lee, T. C., Wu, R., Brody, A. R., Barrett, J. C. and Nettesheim, P. (1984). Growth and differentiation of hamster tracheal epithelial cells in culture. *Exp. Lung Res.* **6**, 27-45.
- Low, M. G. and Saltiel, A. R. (1988). Structural and functional roles of glycosyl phosphatidyl inositol in membranes. *Science.* **239**, 268-275.
- Marom, Z., Shelhamer, J. H. and Kaliner, M. (1981). Effects of arachidonic acid derivatives on the release of mucous glycoproteins from human airways. *J. Clin. Invest.* **67**, 1695-1703.
- Mian, N., Anderson, C. E., Pope, A. J. and Kent, P. W. (1982). Physicochemical properties of avian tracheal mucus. *Biochem. J.* **201**, 533-542.
- Mutschler, E. and Derendorf, H. (1995). *Drug actions*. CRC press, Inc., Boca Raton, Florida, 410-411.
- Netter, F. H. (1979a). *Respiratory system of the ciba collection of medical illustrations (Vol.7)*. 3-33.
- Netter, F. H. (1979b). *Respiratory system of the ciba collection of medical illustrations (Vol.7)*. 116-157.
- Netter, F. H. (1979c). *Respiratory system of the ciba collection of medical illustrations (Vol.7)*. 208-216.
- Newhouse, M. T. and Biennenstock, J. (1983). Respiratory tract defense mechanism, In, *textbook of pulmonary disease*, Baum, G.L. and Wolinsky, E.(eds) 3rd ed., Little Brown and Company.
- Niles, R. M., Christensen, T. G., Breuer, R., Stone, P. J. and Snider, G. L. (1986). Serine proteases stimulate mucous glycoprotein release from hamster tracheal ring organ culture. *J. Lab. Clin. Med.* **108**, 489-497.
- Niles, R. M., Kim, K. C., Hyman, B., Christensen, T., Wasano, K. and Brody, J. S. (1988). Characterization of extended primary and secondary cultures of hamster tracheal epithelial cells. *In Vitro.* **24**, 457-463.
- Park, S. S., Kikkawa, Y. and Goldring, I. P. (1977). An animal model of cigarette smoking in beagle dogs. *Am. Rev. Respir. Dis.* **115**, 971-979.
- Pon, D. J., Van Staden, C. J., Boulet, L. and Rodger, I. W. (1994). Hyperplastic effects of aerosolized sodium metasilfite on rat airway mucus-secretory epithelial cells. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* **72**, 1025-1030.
- Rearick, J. I., Deas, M. and Jetten, A. M. (1987). Synthesis of mucous glycoproteins by rabbit tracheal cells in vitro. Modulation by substratum, retinoids and cyclic AMP. *Biochem. J.* **242**, 19-25.
- Rearick, J. I., Kim, K. C., Nettesheim, P. and Jetten, A. M. (1984). Hamster mucin secreted in vitro contains poly-N-acetylactosamine oligosaccharides. *Fed. Proc.* **43**, 1696.
- Rogers, D. F. (1994). Airway goblet cells; responsive and adaptable front-line defenders. *Eur. Resp. J.*, **7**, 1690-1706.
- Rose, M. C. (1992). Mucins: structure, function, and role in pulmonary diseases. *Am. Physiol. Soc.*, **263**, L413-L429.
- Schuster, A., Ueki, I. and Nadel, J. A. (1992). Neutrophil elastase stimulates tracheal submucosal gland secretion that is inhibited by ICI 200,355. *Am. J. Physiol.* **262**, L86-L91.
- Shelhamer, J. H., Marom, Z., Logun, C. and Kaliner, M. (1984). Human respiratory mucous glycoproteins. *Exp. Lung Res.* **7**, 149-162.
- Shelhamer, J. H., Marom, Z. and Kaliner, M. (1980). Immunologic and neuropharmacologic stimulation of mucous glycoprotein release from human airways in vitro. *J. Clin. Invest.* **66**, 1400-1408.
- Sherman, J. M., Cheng, P. W., Tandler, B. and Boat, T. F. (1981). Mucous glycoproteins from cat tracheal goblet cells and mucous glands separated with EDTA. *Am. Rev. Respir. Dis.* **124**, 476-479.
- Spicer, S. S., Chakrin, L. W. and Wardell, J. R., Jr. (1974). Effect of chronic sulfur dioxide inhalation on the carbohydrate histochemistry and histology of the canine respiratory tract. *Am. Rev. Respir. Dis.* **110**, 13-24.
- Van Scott, M. R., Yankaskas, J. R. and Boucher, R. C. (1986). Culture of airway epithelial cells: research techniques. *Exp. Lung Res.* **11**, 75-94.
- Villalon, M., Basbaum, C. B., Jhonson, D. E. and Verdugo, P. (1988). X-ray microanalysis of secretory granules from respiratory goblet cells. *FASEB J.* **2**, A958.
- Wasano, K., Kim, K. C., Niles, R. M. and Brody, J. S. (1988). Membrane differentiation markers of airway epithelial secretory cells. *J. Histochem. Cytochem.* **36**, 167-178.
- Williams, M. (1987). Purine receptors and mammalian tissues: pharmacology and functional significance. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **27**, 315-345.
- Woodward, H., Horsey, B., Bhavanandan, V. P. and Davidson, E. A. (1982). Isolation, purification and properties of respiratory mucus glycoproteins. *Biochemistry.* **21**, 694-701.
- Wu, R., Nolan, E. and Turner, C. (1985). Expression of tracheal differentiated function in serum-free hormone-supplemented medium. *J. Cell Physiol.* **125**, 167-181.
- Wu, R. and Smith, D. (1982). Continuous multiplication of rabbit tracheal epithelial cells in a defined, hormone-supplemented medium. *In Vitro* **18**, 800-812.