

담배 흡연이 생쥐의 흉선 및 비장의 면역 기능에 미치는 영향

홍성실¹, 박윤아¹, 이진우¹, 김미자¹, 남궁승¹, 구현정², 손은화^{1,3*}

¹강원대학교 보건과학대학, ²한국농수산대학 특용작물학과, ³강원대학교 바이오헬스융합학과

Effects of Cigarette Smoking on Immune Function of Thymus and Spleen in Mice

Sung-Sil Hong¹, Yun-A Park¹, Jin-Woo Lee¹, Mi-Ja Kim¹,
Seung Namkoong¹, Hyun-Jung Koo², Eun-Hwa Sohn^{1,3*}

¹College of Health Sciences, Kangwon National University

²Department of Medicinal and Industrial Crops, Korea National College of Agriculture and Fisheries

³Department of Bio-Health Convergence, Kangwon National University

요약 본 연구에서는 담배필터를 통해 호흡기로 노출되는 주류연 흡연 장치를 구현하여 직접 흡연에 의한 주류연의 노출이 면역시스템에 미치는 영향을 생쥐모델을 이용하여 규명하고자 하였다. 실험동물(n = 15)은 대조군(sham군)과 담배 2개비/일 노출군 및 4개비/일 노출군으로 각각 나누고, 7일 동안 주류연을 노출시킨 후 체중변화와 면역기관 지수를 측정하였다. 주류연 노출이 면역세포의 기능에 미치는 영향을 확인하기 위해, lipopolysaccharide(LPS) 또는 concanavalinA(ConA) 자극에 대한 비장세포와 흉선세포의 증식력과 nitric oxide(NO) 분비량을 측정하였다. 실험결과, 4개비/일 고용량 노출군의 흉선, 비장, 간 무게가 대조군에 비해 각각 0.3, 0.2 및 0.2배 유의적으로 감소하였고($P<0.05$), 흉선세포 생존율과 B세포 및 T세포 증식력이 감소하였다. 또한, LPS에 의한 비장세포의 NO 분비능도 감소하였다. 본 연구는 주류연 노출이 흉선과 비장에 직접적인 손상을 주며, 자극원에 대한 면역세포의 증식력과 NO 분비 등 방어능력을 유의적으로 약화시킨다는 것을 보여주었다. 이는 흡연과 관련된 면역질환 발생이 주류연의 노출에 대한 직접적인 면역기관의 손상과 자극에 대한 방어 기능의 약화가 관련되어 있음을 제시한다.

Abstract This study investigated the effect of exposure to mainstream smoke (MS) through cigarette filters on the immune system in mice. Fifteen mice were divided into 3 groups; control (sham), 2 cigarettes smoked/day (CS), 4 CS. Changes in body weight and organ index were measured after exposure to MS for 7 days. The effects of exposure to MS on nitric oxide (NO) production and cell proliferation induced by lipopolysaccharide (LPS) or concanavalin A (ConA) in murine lymphocytes were also determined. Exposure to 4 CS reduced the organ indices of the thymus, spleen, and liver by 0.3-, 0.2-, and 0.2-fold ($P<0.05$), respectively. Exposure to MS also inhibited the lymphocyte proliferation by LPS or ConA and the NO production by LPS. This study confirmed that the immune organs were directly damaged as well as weakened in their cell function by exposure to MS. It provides direct evidence that the occurrence of various immune diseases caused by smoking is closely related to the impairment of immune functions by exposure to MS.

Keywords : Cigarette Smoke, Thymocyte, Splenocyte, Cell Viability, Mainstream Smoke

*Corresponding Author : Eun-Hwa Sohn(Kangwon National Univ.)

email: ehson@kangwon.ac.kr

Received May 10, 2021

Accepted September 3, 2021

Revised June 9, 2021

Published September 30, 2021

1. 서론

담배 흡연(cigarette smoking)은 인체에 유해한 영향을 미치고, 공기를 오염시키는 주요 원인으로 세계적으로 성인 인구의 약 1/3이 담배를 피우는 것으로 보고되어 심각성이 경고된 바 있다[1]. 흡연은 폐암을 비롯하여 18개의 서로 다른 부위에서 암을 유발한다고 알려져 있으며, 암 발생외에도 만성 폐쇄성 폐질환, 관상동맥심장병, 뇌졸중 및 위장관질환을 비롯한 다양한 만성 질환을 유발한다[2].

흡연은 흡연자가 자발적 흡연(voluntary smoking)으로 직접 담배연기를 필터를 통해 마시는 직접흡연과 비흡연자가 흡연자의 담배연기를 흡입하게 되는 간접흡연(second-hand smoking, passive smoking)으로 나눌 수 있다[3]. 간접흡연으로 노출될 수 있는 담배연기로서 주류연 또는 주류담배연기(mainstream smoke)와 부류연 또는 비주류담배연기(sidestream smoke)가 있는데, 주류연은 흡연자가 직접흡입한 담배연기가 일단 흡연자의 폐 속에서 여과된 뒤 호기(exhalation)로 내뿜어지는 연기를 말하며, 부류연은 흡연자가 들고 있는 담배 끝에서 그 자체가 연소되면서 공기 중에 확산되는 연기를 말한다[4]. 부류연은 흡연으로 발생하는 연기의 약 80%를 차지하며 담배 필터의 여과를 거치지 않고 노출되기 때문에 주류연보다 훨씬 유독하다고 알려져 있다[5]. 인체 발암성 물질 중 벤젠(benzene), 2-나프틸아민(2-naphthylamine)과 벤조피렌(benzo(a)pyrene)이 주류연보다 부류연에서 각각 13~30배, 30배 그리고 2.5~3.5배 높은 농도로 노출될 수 있다[6]. 또한 부류연의 입자는 주류연 보다 더 작아서 폐의 말단부까지 침투할 수 있다[7]. 동물실험 연구에서도 부류연의 응축물과 주류연의 응축물을 생쥐 피부에 도포하였을 때 부류연의 응축물이 피부암을 2~6배 더 많이 발생시켰다고 보고하였다[8]. 따라서 흡연 시 발생하는 부류연과 주류연에 대한 구분된 연구가 필요하다.

흡연으로 인해 발생하는 유해성 기체 성분은 일산화탄소, 탄산가스, 이산화질소, 암모니아, 메탄, 아세틸렌 등이며 미립자 성분으로는 타르, 니코틴, 톨루엔, 페놀, 아닐린, 카드뮴 등이 있다. 특히 일산화탄소, 니코틴 및 타르는 흡연 시 인체에 직접적으로 영향을 미치는 유해 물질로 알려져 있는데, 니코틴 성분의 경우 호흡기 점막을 거쳐 폐로 유입되는 동시에 구강의 타액에 용해되어 식도를 거쳐 위장으로 유입되는 경로로 대사되어 기관지 장애나 호흡기도의 감염을 촉발시키는 원인이 되어 폐질환

및 위장관 질환에 영향을 미친다고 보고된바 있다[9,10].

최근에는 흡연과 관련된 염증반응과 면역조절에 대한 연구가 활발하다. 흡연은 직·간접적으로 선천성 면역(innate immunity)과 후천성 면역(adaptive immunity)에 모두 영향을 미침으로써 병원성 침입에 대한 면역반응을 악화시키거나 방어기전을 약화시키기도 하는데, 이와 같은 흡연의 복잡한 조절이 호흡기 질환, 심혈관 질환, 암 발생 및 기타 전신 만성 질환의 발병에 잠재적 기전이라고 설명되고 있다[11]. 또한 흡연이 전염증성(pre-inflammatory) 및 염증성(inflammatory) 사이토카인을 포함하여 다양한 면역 또는 염증 매개체의 생성과 관련되어 있다는 보고가 있고[12,13], 만성 폐쇄성 폐질환(COPD, chronic obstructive pulmonary disease)에 있어서도 담배연기의 노출은 폐의 상피점막 세포(epithelial mucosa)의 산화적 스트레스와 염증반응 및 폐포 세포에서의 apoptosis 등을 유도하여 기관지 상피조직에 squamous metaplasia 현상을 유발한다는 병리학적 기전이 제시된 바 있다[14,15]. 그러나 흡연에 관한 면역조절에 관한 연구는 폐조직에 국한되어 있거나, *in vitro*에서 수행되는 제한적 조건에서의 염증반응 관련연구로, 실제 흡연 활동에 의한 주류연과 비주류연 노출이 면역시스템에 미치는 직접적인 영향에 대한 실험 결과가 매우 부족하다.

이에, 본 연구에서는 흡연자의 주류연에서만 노출될 수 있는 동물실험 환경을 만들어 흡연이 면역장기의 손상과 기능에 미치는 영향을 확인하고자 하였다. 흡연자에게 노출되는 주류연이 호흡기를 통해 소화기계로 전신에 영향을 미치면서 나타나는 흉선과 비장의 장기손상을 측정하고, 흉선세포와 비장세포를 *ex vivo*로 배양하여 면역세포의 기능을 측정함으로써 주류연이 면역세포에 직접적으로 미치는 영향에 대하여 알아보하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험동물

실험동물은 평균 체중 23.5 g 내외의 10주령 C57BL/6 수컷 생쥐를 형광등 명암 12 hr cycle, 조도 150~160 Lux로 실험동물용 케이지에 5마리씩 넣어 사육하였다. 실험동물용 고형사료와 음수는 자유 섭취시켰다. 실험동물은 대조군(sham군; n = 5)과 실험군으로 나누고, 실험군은 7일간 일일 담배 2개비 노출군(n = 5)과

4개비 노출군(n = 5)으로 나누어 실험하였다. 실험동물은 강원대학교 동물사육시스템에서 ILAR (Institute for Laboratory Animal Research) 가이드라인에 근거하여 사육되어 실험에 사용되었다.

2.2 직접흡연에 의한 주류연의 노출

실험동물에 직접흡연에 의한 주류연을 노출시키기 위한 담배 흡연장치는 Mohtashamipur 등과 Kolkesen Şahin 등이 사용한 장치를 변형한 사이펀(siphon) 작용을 하는 펌프인젝션을 이용하여 구현하였다[8,16]. 펌프인젝션으로 기압차를 이용한 액체류를 옮기는데 사용하는 자바라 펌프(bellows pump)를 이용하여 일정량의 주류연을 노출시키는 흡입장치와 위로 공기가 통하게 만든 투명한 플라스틱 통(9 x 9 x 14.8 cm)을 연결시켰다. 구체적으로 흡입기 자바라 펌프의 반대쪽 입기 부분에 담배 1개비를 통 내부와 수직으로 연결하였는데, 담배 필터부분이 플라스틱 통 내부로 향하고 담뱃불 붙이는 곳은 위로 향하게 하였다. 필터 되지 않은 담배 연기는 통 내부로 들어가지 못하도록 틈새를 잘 봉하고 외부 공기 순환이 잘되는 곳에서 실험을 수행하였다. 직접흡연에 의한 주류연 노출은 7일간 매일 2회 9시와 16시 정해진 시각에 실험동물을 1마리씩 플라스틱 통에 두고 흡입기에 연결된 담배에 불을 붙이고 자바라 펌프를 수동으로 천천히 펌핑하면서 이루어졌다. 담배 1개비 당 10분 간 흡입 및 20분간 휴식하게 하였다.

2.3 시약 및 시료

실험에 사용한 담배는 필터가 있는 니코틴 함량(nicotine 0.65 mg)이 표시된 디스(THIS)TM(KT&G, 한국담배인삼공사, 대전)를 구입하였다. 별도로 표시하지 않는 모든 시약은 시그마알드리치(Sigma-Aldrich, St.Louis, MO, USA)에서 구입하였다.

2.4 체중과 장기무게 측정(%)

실험동물의 체중변화 관찰을 위해 일주일간 매일 일정한 시각에 담배연기 노출 전에 체중을 측정하였다. 실험 종료 후에는 장기무게를 산출하기 위하여 생쥐를 ethyl ether로 죽인 후 장기들을 적출하였다. 장기는 체중대비 INDEX로 다음과 같이 산출하였다.

$$\text{장기무게 \% (g/g)} = \text{장기무게} / \text{생쥐 체중} \times 100.$$

2.5 흉선세포 및 비장세포 분리와 배양

7일간 주류연을 노출시킨 생쥐에서 흉선과 비장을 분리하여 각각을 5 ml 주사기 플런저(plunger)를 사용하여 잘게 부수었다. 흉선세포는 1000 rpm, 5분간 원심 분리하여 상층액을 제거하고, RPMI 1640 배지 3 ml를 넣어 세포세척과정을 거친 후, 1000 rpm, 5분간 원심 분리하여 상층액을 제거하였다. 최종적으로 RPMI 완전 배지에 흉선세포를 현탁 시킨 후 96-well plate에 5×10^5 cells/well로 배양하였다. 비장세포는 1000 rpm, 5분간 원심 분리하여 상층액을 제거한 다음 0.83% ammonium chloride 용액 10 ml로 적혈구를 용혈한 후 1000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 버리고, 비장세포를 RPMI 1640배지 3ml를 넣어 세척하였다. 최종적으로 RPMI 완전배지에 비장세포를 현탁시킨 후 5×10^5 cells/well로 배양하였다.

2.6 흉선세포 세포생존율 측정

준비된 흉선세포를 5×10^5 cells/well로 분주하고 전체 배양액 부피를 200 μ l로 하여, 세포 배양기에서 48시간 배양 후 20 μ l phenazine methosulphate와 25 μ l XTT를 가하고, 3시간 더 배양 후 XTT formazan의 생성량을 측정하여 세포 증식력을 확인하였다.

2.7 비장세포의 세포증식력 측정

준비된 비장세포를 5×10^5 cells/well로 분주하고 B 세포와 T세포의 유사분열물질(mitogen) LPS 1 μ g/ml와 ConA 2.5 μ g/ml를 각각 첨가하여 세포증식력을 측정하였다. 전체 배양 부피는 200 μ l로 하여, 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 48시간 배양 후 20 μ l phenazine methosulphate와 25 μ l XTT를 가하고, 3시간 더 배양 후 XTT formazan 생성량을 측정하여 유사분열물질에 반응하는 세포 증식력을 확인하였다.

2.8 비장세포로부터 산화질소(nitric oxide) 생성량 측정

비장세포가 분비하는 산화질소(NO, nitric oxide)는 Griess법으로 측정하였다. 비장세포를 5×10^6 cells/well로 분주한 후, 각 well에 LPS 10 μ g/ml를 첨가하여 세포를 배양하였다. 24시간 후 배양액 50 μ l와 Griess 시약 50 μ l를 혼합하여 96-well plate에 넣고 570 nm에서 흡광도를 측정하여 표준물질로 작성한 NaNO₂의 검량선에 의해 NO₂의 농도를 환산하였다.

2.9 통계분석

모든 데이터는 5회 반복한 값을 평균 $\pm$ 표준오차 (mean $\pm$ SEM)로 나타내었고, 각 평균치 차이에 대한 유의성은 SPSS(SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 프로그램을 이용하여 one-way analysis of variance (ANOVA)로 Tukey HSD 다중분석법을 사용하여 사후검증하거나 t-test를 사용하였으며 P 값은 0.05 미만일 때 통계적으로 유의성이 있다고 간주하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1 직접흡연 주류연이 체중 변화에 미치는 영향

흡연은 시상하부(hypothalamus)에서 식욕촉진 작용이 있는 신경펩타이드 Y(neuropeptide Y) 분비를 감소시켜 식욕을 억제하고, 니코틴 수용체를 활성화하여 지방(fat)의 에너지 소비를 증가시키는 체중감소 효과가 있다고 보고된 바 있다[17].

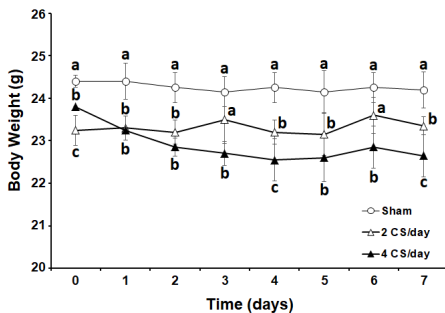


Fig. 1. Changes of body weight following 7 days of exposure to cigarette smoke. The body weight curves of the three groups of mice (sham-, 2 cigarettes-, and 4 cigarettes smoked per day). Data are shown as means $\pm$ SEM (n = 5). CS/day: Cigarettes smoked per day. Different letters are significantly different at $P < 0.05$ among groups.

본 실험에서는 C57BL/6 생쥐를 매일 담배 2개비와 4개비 용량의 담배 연기 주류연에 7일간 노출시킨 후 일별 체중감소량을 측정하였다. 그 결과, 2개비/일 그룹에서는 유의성 있는 체중감소 현상이 나타나지 않았으나, 4개비/일 고용량 노출군에서는 흡연 2일째부터 유의성 있는 체중감소 현상이 관찰되었다[Fig. 1]. 이와 같은 매우 짧은 실험 기간에 나타난 체중 감소는 이전 연구에서 보고된 바와 같이 흡연에 의한 급속한 식욕 감소에 의한 결과로 예측되었다.

3.2 직접흡연 주류연이 장기 무게에 미치는 영향

면역계의 주요 장기인 흉선과 비장에는 다양한 면역세포가 분포되어 있는데 흉선에는 미분화 T세포가 분포되어 성숙된 T세포로의 분화가 활발히 이루어지고 있고, 비장에는 성숙한 B세포와 T세포 및 대식세포(macrophage)가 분포되어 있어 다양한 면역반응에 즉각 반응한다[18]. 이에 본 연구에서는 직접흡연에 의한 담배연기 노출이 주요 면역장기인 흉선과 비

장 그리고 흡연과 관련된 폐, 간, 고환 및 부고환의 장기 무게 변화에 미치는 영향을 측정하였다. 실험결과 7일간의 정기적인 담배연기 노출은 4개비/일 고용량 노출군에서 흉선, 비장, 간의 무게가 대조군에 비해 각각 0.3, 0.2, 및 0.2배로 유의성 있게 감소시켰고($p < 0.05$), 담배연기 노출에 민감한 기관이라고 예측되었던 폐와 고환 및 부고환의 무게 변화에는 유의성 있는 변화를 보이지 않았다[Table 1]. 면역 장기의 무게 감소는 비특이적인 면역세포와 특이적 면역세포의 손상과 기능 변화를 의미하는 중요한 지표이다. 본 연구에서는 7일간의 짧은 담배연기 노출이 폐, 고환 및 부고환의 무게 변화에 영향을 미치지 않았다. 그러나 주요 면역기관인 흉선과 비장 그리고 간의 무게를 감소시켰는데, 이는 주류연의 노출이 면역기관에 직접적인 손상을 일으킨다는 것을 의미한다.

Table 1. The organ index in sham- and cigarette smoke-exposed mice

Group	Thymus index(%)	Spleen index(%)	Liver index(%)	Lung index(%)	Testis+Epididymis index(%)
Sham	0.285 $\pm$ 0.014 ^a	0.286 $\pm$ 0.014 ^a	5.345 $\pm$ 0.267 ^a	0.800 $\pm$ 0.045	3.098 $\pm$ 0.159
2 CS/day	0.198 $\pm$ 0.01 ^b	0.248 $\pm$ 0.012 ^b	4.64 $\pm$ 0.232 ^b	0.809 $\pm$ 0.04	3.039 $\pm$ 0.152
4 CS/day	0.206 $\pm$ 0.01 ^b	0.235 $\pm$ 0.012 ^b	4.478 $\pm$ 0.224 ^b	0.822 $\pm$ 0.042	2.92 $\pm$ 0.146

CS/day: Cigarettes smoked per day. Different letters are significantly different at $P < 0.05$ among groups.

3.3 흉선세포의 세포생존율에 미치는 효과

흉선에서 발견되는 미분화 T세포의 분화와 성숙과정은 면역시스템이 자기와 비자기를 구별하는데 매우 중요하기 때문에 흉선의 손상은 Th 및 Treg 세포의 정상적인 발달과정에 이상이 생기는 자가면역질환 등 다양한 면역질환과 관련 있다[19]. 담배연기노출에 의한 흉선의 무게 변화에 따라 세포 기능에 변화가 있는지 알아보기 위하여 흉선에서 세포를 분리하고 48시간 배양하여 흉선세포의 생존력을 측정하였다. 실험결과 직접흡연 주류연에 의한 노출이 2개비/일 및 4개비/일로 이루어진 실험군에서 각각 $83.64 \pm 4.18\%$ 와 $77.27 \pm 3.86\%$ 로 세포 생존율을 유의성 있게 감소시켰다[Fig. 2]. 이러한 결과는 흡연 노출이 용량 의존적으로 흉선세포 세포 생존율에 영향을 미치고 있음을 의미한다.

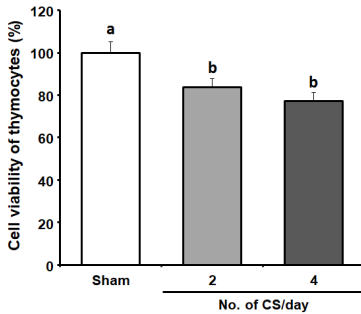


Fig. 2. Cell viability of thymic cells from cigarette smoking exposed mice. C57BL/6 mice were sham- and cigarette smoke-exposed for 7 days. Data are means±SEM (n = 5) and are expressed as percentages of the sham control. CS/day: Cigarettes smoked per day. Different letters are significantly different at $P < 0.05$ among groups.

3.4 비장세포 내 림프구의 유사분열촉진물질 (mitogen)에 의한 세포증식력 변화

림프구(lymphocyte)는 외부자극에 의하여 활성화되는 단계에서 proliferation이 일어난다. 이러한 활성화 정도는 유사분열촉진물질 자극 반응(mitogen-stimulated response)으로 쉽게 확인할 수 있는데, 이는 mitogen이 특이적으로 감각된 lymphocyte subpopulation에 결합하여 세포주기(cell cycle)를 자극함으로써 유사분열(mitosis)을 일으켜서 증식된 lymphocyte population 측정으로 확인하는 방법이다[20]. 본 실험은 주류연 노출이 림프구의 세포증식효과에 미치는 영향을 알아보기 위하여 7일간 주류연에 노출된 생쥐의 비장(spleen)으로부터

비장세포(splenocyte)를 분리하고 B세포의 mitogen LPS와 T세포의 mitogen ConA (concanavalinA)를 사용하여 세포 증식능을 측정하였다.

우선, 담배연기에 노출되지 않은 sham군의 비장세포를 이용하여 ConA와 LPS에 대한 세포증식능을 측정하였다. 실험에 사용된 sham군의 비장세포는 ConA 처리에 의해 $256.7 \pm 12.8\%$ (2.6배)로 세포증식이 나타났고, LPS 처리에 의해 $263.4 \pm 13.2\%$ (2.6배)로 세포증식이 나타남을 확인함으로써 ConA와 LPS가 본 실험 환경에서 mitogen으로써 적절히 반응하였음을 확인하였다. 그러나, 7일간 주류연에 노출된 생쥐의 비장세포(splenocyte)는 유사분열촉진제 ConA와 LPS에 대하여 2개비 노출군은 각각 $104.3 \pm 5.2\%$ (1.1배), $111.7 \pm 5.6\%$ (1.1배)로 림프구 증식력이 sham군에 비해 42.31% 감소되었고, 4개비 노출군에서도 ConA와 LPS 처리군에 대하여 각각 $131.4 \pm 6.6\%$ (1.1배)와 $131.9 \pm 6.6\%$ (1.1배)로 림프구 증식능력이 2개비 노출군 결과와 동일하게 42.31%로 감소하였다[Fig. 3]. 이러한 결과는 직접흡연에 의한 주류연 노출이 비장세포내 B세포의 및 T세포의 외부 자극원에 대한 세포증식을 유발하는 면역 기능을 약화시킨다는 것을 의미한다.

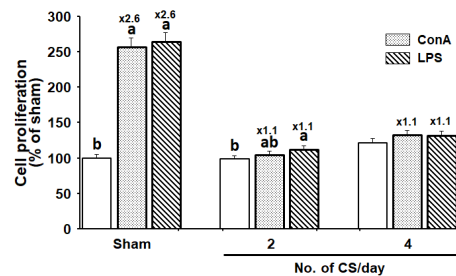


Fig. 3. Cigarette smoke exposure decreases splenocyte responses in ConA- and LPS-induced lymphocyte proliferation. Mice were sham- and cigarette smoke-exposed for 7 days, and the splenocytes were treated with ConA ($2.5 \mu\text{g/ml}$) and LPS ($1 \mu\text{g/ml}$) respectively for 48 hrs. Data are means±SEM (n = 5) and are expressed as percentages of the sham control. CS/day: Cigarettes smoked per day. X; multiples of ConA- or LPS-treated group for sham control. Different letters are significantly different at $P < 0.05$ among groups.

3.5 비장세포로부터 산화질소(NO) 분비량의 변화

림프구의 생성과 분화과정에서 T 세포는 분화과정을 거쳐 helper T lymphocyte 및 cytotoxic T

lymphocyte로 분화된다. 분화된 helper T (Th) 세포 중 Th1 세포는 활성화되면 γ -IFN 및 IL-2가 생성되며, Th2 세포는 활성화되어 IL-4, IL-6 및 IL-10 등 염증관련 사이토카인을 분비하여 T세포 뿐 아니라 B 세포 및 대식세포 (macrophage) 등 다양한 면역세포의 증식과 분화 및 활성화를 유도하여 면역 반응을 증폭시키는 것으로 알려져 있다[21]. 이에 주류연에 노출된 비장세포 내 대식세포의 기능을 간접적으로 측정하기 위하여 대식세포의 염증반응 자극제로 알려진 LPS 1 μ g/ml을 처리하여 세포배양액으로 분비되는 염증유발물질 산화질소 (NO, nitric oxide)를 측정하였다.

실험결과와 담배연기에 노출되지 않은 sham군의 비장세포내 대식세포는 LPS 자극에 대하여 약 30% NO 분비량을 증가시켰으나, 담배 2개비/일 및 4개비/일로 7일간 주류연에 노출된 군에서는 LPS 자극에 대하여 각각 21%와 16%로 NO 분비량의 증가량이 sham군에 비하여 유의성 있게 감소되었다[Fig. 4]. 이러한 결과는 직접흡연에 대한 주류연의 노출과 그 노출량이 염증 자극원에 대하여 반응하는 면역기능을 크게 약화시킨다는 것을 의미한다.

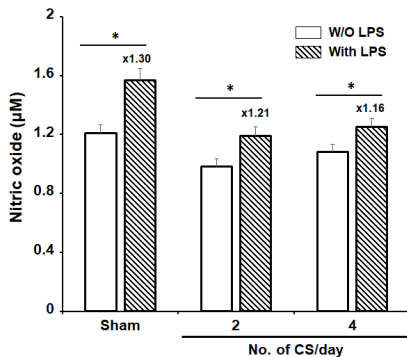


Fig. 4. Nitric oxide production in LPS-stimulated splenocytes obtained from cigarette smoking exposed mice. Splenocytes from cigarette smoke-exposed mice were treated with LPS (1 μ g/ml) for 24 hrs. Data are means $\pm$ SEM (n = 5) and are expressed as percentages of the sham control. CS/day: Cigarettes smoked per day. W/O LPS: without LPS. * means significantly different at $P < 0.05$ between W/O and With LPS.

4. 결론

주류연에 7일간 노출된 생쥐에서 폐의 무게는 변화하지 않았지만, 주요 면역장기인 흉선, 비장과 간의 무게가 유의성 있게 감소하였다. 이는 직접흡연에 의한 주류연의 노출이 면역기관에 직접적인 손상을 미친다는 것을 의미한다. 흡연이 흉선과 비장을구성하는 면역세포의 기능에 미치는 영향을 측정하기 위하여, 주류연에 노출된 생쥐의 흉선과 비장을 적출하고 흉선세포와 비장세포를 배양하여 면역세포들의 생존율과 유사분열촉진물질에 의한 림프구인 T세포 증식력과 B세포 증식력을 측정하였다. 주류연에 노출된 흉선세포는 sham군에 비하여 세포 생존율이 2개비 노출군과 4개비 노출군 모두 유의적으로 감소하였다. 분화된 B세포, T세포, 대식세포 등으로 이루어진 비장세포에서도 세포유사분열촉진 물질에 의한 세포증식력이 실험군 모두에서 크게 감소하였다. T세포의 세포증식을 일으키는 ConA 처리에서 sham군은 세포증식이 크게 일어났지만, 흡연군에서의 ConA에 의한 세포증식력은 크게 나타나지 않았다. B세포 세포유사분열 촉진제 LPS 처리군에서도 sham군에서는 LPS에 의해 세포증식이 2.6배 크게 일어났지만, 흡연군에서는 세포증식이 1.1배로 크게 나타내지 않았다. 비장세포를 구성하는 대식세포의 자극원에 대한 염증반응을 알아보기 위하여 흡연에 노출된 비장세포를 LPS로 자극하여 NO 분비량을 측정하였을 때, 림프구의 세포증식능 결과와 마찬가지로 sham군에서는 LPS에 의한 NO 분비가 증가가 크게 나타났지만, 흡연군에서는 LPS에 의한 NO 분비량이 sham군에 비교하여 적게 나타났다.

흡연과 면역질환과의 상관성에 관한 보고에 의하면, 흡연은 복잡한 독성작용을 나타내어 국소적 염증반응을 일으키거나, 폐 손상에 기인한 천식 등의 호흡기 질환 유발, 또는 류마티스 관절염 등 자가면역질환 발생에 대한 잠재적 요인이라고 불충분하게 설명되어 왔다[11]. 그러나 본 연구에서는 7일간의 주류연에 노출된 동물모델에서 주요 면역 장기인 흉선과 비장의 무게가 감소되었고, 외부 자극에 대한 면역세포의 방어 기능이 크게 약화됨을 보여주었다. 이는 흡연이 면역학적 임상 증상에 직접적인 영향이 있음을 의미하며, 향후 흡연에 의한 병원미생물 감염에 대한 면역력 저하, 천식, 아토피피부염, 자가면역질환 유발에 대한 면역병리학적 기전 연구에 중요한 기초 자료로 활용될 것이다.

References

- [1] Sander L, Gilman, Xun Z. Smoke: A Global History of Smoking. London: Reaktion Books. 2004
- [2] B. Secretan, K. Straif, R. Baan, Y. Grosse, E. I. Grosse *et al.*, "A review of human carcinogens—Part E: tobacco, areca nut, alcohol, coal smoke, and salted fish", *The Lancet. Oncology*, Vol.10, No.11, pp.1033–1034, Nov. 2009.
DOI: [https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(09\)70326-2](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(09)70326-2)
- [3] M. D. Eisner, "Passive smoking and adult asthma", *Immunology and Allergy Clinics of North America*, Vol.28, No.3, pp.521–537, Aug. 2008.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.iac.2008.03.006>
- [4] J. D. Taylor, "COPD and the response of the lung to tobacco smoke exposure", *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*. Vol.23, No.5, pp.376–383, Oct. 2010.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pupt.2010.04.003>
- [5] M. J. Chesebro, "Passive smoking", *American Family Physician*, Vol.37, pp.212–218, May. 1988.
- [6] J. Jinot, S. P. Bayard, Respiratory health effects of passive smoking: lung cancer and other disorders, US Environmental Protection Agency, 1992, pp.3–5.
- [7] National Toxicology Program, NTP 11th Report on Carcinogens, *Report on carcinogens : Carcinogen profiles*, 2004;11:1–A32.
- [8] E. Mohtashamipur, A. Mohtashamipur, P. G. Germann, H. Ernst, K. Norpoth *et al.*, "Comparative carcinogenicity of cigarette mainstream and sidestream smoke condensates on the mouse skin", *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, Vol.116, No.6, pp.604–608, Nov. 1990.
DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01637081>
- [9] N. L. Benowitz, P. Jacob, 3rd, I. Fong, S. Gupta, "Nicotine metabolic profile in man: comparison of cigarette smoking and transdermal nicotine", *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, Vol.268, No.1, pp.296–303, Jan. 1994.
- [10] R. Talhout, T. Schulz, E. Florek, J. van Benthem, P. Wester *et al.*, "Hazardous compounds in tobacco smoke", *International journal of environmental research and public health*, Vol.8, No.2, pp.613–628, Feb. 2011.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph8020613>
- [11] F. Qiu, C. L. Liang, H. Liu, Y. Q. Zeng, S. Hou *et al.*, "Impacts of cigarette smoking on immune responsiveness: Up and down or upside down?", *Oncotarget*, Vol.8, No.1, pp.268–284, Jan. 2017.
DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.13613>
- [12] R. B. Goncalves, R. D. Coletta, K. G. Silverio, L. Benevides, M. Z. Casati *et al.*, "Impact of smoking on inflammation: overview of molecular mechanisms", *Journal of Inflammation Research*, Vol.60, No.5, pp.409–424, May. 2011.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s00011-011-0308-7>
- [13] B. Friedrichs, U. Neumann, J. Schuller, M. J. Peck, "Cigarette-smoke-induced priming of neutrophils from smokers and non-smokers for increased oxidative burst response is mediated by TNF- α ", *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*, Vol.28, No.7, pp.1249–1258, Oct. 2014.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2014.06.007>
- [14] D. Goven, A. Boutten, V. Lecon-Malas, J. Marchal-Somme, N. Amara *et al.*, "Altered Nrf2/Keap1-Bach1 equilibrium in pulmonary emphysema", *Thorax*, Vol.63, No.10, pp.916–924, Oct. 2008.
DOI: <https://doi.org/10.1136/thx.2007.091181>
- [15] V. Kim, S. E. Kelemen, M. Abuel-Haija, J. P. Gaughan, A. Shara fkaneh *et al.*, "Small airway mucous metaplasia and inflammation in chronic obstructive pulmonary disease", *International Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, Vol.5, No.6, pp.329–338, Dec. 2008.
DOI: <https://doi.org/10.1080/15412550802522445>
- [16] Ö. Kolkesen Şahin, M. Çina Aksoy, M. C. Avunduk, "Effects of resveratrol and cigarette smoking on bone healing: histomorphometric evaluation", *Turkish Journal of Medical Sciences*, Vol.46, No.3, pp.1203–1208, Jun. 2016.
DOI: <https://doi.org/10.3906/sag-1501-109>
- [17] H. Chen, M. J. Hansen, J. E. Jones, R. Vlahos, S. Bozinovski *et al.*, "Cigarette smoke exposure reprograms the hypothalamic neuropeptide Y axis to promote weight loss", *American journal of respiratory and critical care medicine*, Vol.173, No.11, pp.1248–1254, Jun. 2006.
DOI: <https://doi.org/10.1164/rccm.200506-977OC>
- [18] S. A. Elmore, "Enhanced histopathology of the immune system: a review and update", *Toxicologic pathology* Vol.40, No.2, pp.148–56, Feb. 2012.
DOI: <https://doi.org/10.1177/0192623311427571>
- [19] J. Miller, "The function of the thymus and its impact on modern medicine", *Science(New York, N.Y.)*, Vol.369, No.6503, Jul. 2020.
DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aba2429>
- [20] R. J. Vandebruijn, J. Garssen, H. V. Loveren, "Methods in immunotoxicology", *Methods in Neurosciences*, Vol. 24, pp.151–169, 1995.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S1043-9471\(06\)80147-3](https://doi.org/10.1016/S1043-9471(06)80147-3)
- [21] J. M. den Haan, G. Kraal, "Innate immune functions of macrophage subpopulations in the spleen", *Journal of innate immunity*, Vol.4, No.5–6, pp.437–445, Fed. 2012.
DOI: <https://doi.org/10.1159/000335216>

홍 성 실(Sung-Sil Hong)

[정회원]



- 2003년 8월 : 가톨릭대학교 간호학과 (간호학석사)
- 2015년 2월 : 가톨릭대학교 간호학과 (간호학박사)
- 2015년 9월 ~ 현재 : 강원대학교 보건과학대학 간호학과 조교수

〈관심분야〉
간호학

김 미 자(Mi-Ja Kim)

[정회원]



- 1997년 2월 : 동덕여자대학교 식품영양학과 (이학석사)
- 2001년 2월 : 동덕여자대학교 식품영양학과 (이학박사)
- 2002년 4월 ~ 2003년 2월 : Ohio State University 박사후연구원
- 2010년 2월 ~ 2011년 1월 : 경희대학교 의학전문대학원 연구전임강사
- 2015년 8월 ~ 현재 : 강원대학교 식품영양학과 교수

〈관심분야〉
영양과학, 생리활성 기능

박 윤 아(Yun-A Park)

[정회원]



- 2019년 2월 : 강원대학교 대학원 생약자원개발학과 (생약자원개발학 석사)
- 2019년 3월 ~ 현재 : 서울여자대학교 일반대학원 박사 과정 (생명환경공학과 미생물학)

〈관심분야〉
미생물, 천연물 효능평가

남궁 승(Seung Namkoong)

[정회원]



- 1999년 2월 : 강원대학교 생물학과 (이학석사)
- 2006년 2월 : 강원대학교 의학과 (의학박사)
- 2007년 5월 ~ 2010년 2월 : University of Pittsburgh, Dept. of Surgery Research Scholar
- 2010년 3월 ~ 현재 : 강원대학교 물리치료학과 교수

〈관심분야〉
분자세포생화학, 혈관생리학

이 진 우(Jin-Woo Lee)

[정회원]



- 2018년 2월 : 강원대학교 대학원 생약자원개발학과 (생약자원개발학 석사)
- 2018년 2월 ~ 2020년 6월 : 한국과학기술연구원 인턴연구원
- 2020년 9월 ~ 현재 : 강릉원주대학교-한국과학기술연구원 학연협동과정학과 박사과정 (해양응용생명공학)

〈관심분야〉
아토피, 천연물 효능평가

구 현 정(Hyun-Jung Koo)

[정회원]



- 2004년 8월 : 성균관대학교 약학대학원 약학과 독성학전공(약학석사)
- 2012년 2월 : 성균관대학교 약학대학원 약학과 면역학전공(약학박사)
- 2012년 6월 ~ 2015년 1월 : 가천대학교 바이오노노연구센터 연구교수
- 2015년 1월 ~ 현재 : 한국농수산대학 특용작물학과 교수

〈관심분야〉
천연물, 독성학, 약리학

손 은 화(Eun-Hwa Sohn)

[종신회원]



- 1998년 2월 : 성균관대학교 약학대학원 생명약학 (약학석사)
- 2004년 2월 : 성균관대학교 약학대학원 생명약학 (약학박사)
- 2004년 10월 ~ 현재 : 강원대학교 바이오헬스융합학과 교수

〈관심분야〉

염증, 천연물 효능평가