



Ginsenoside Rb1 Attenuates TGF-β1-Induced MUC4/5AC Expression and Epithelial-Mesenchymal Transition in Human Airway Epithelial Cells

Tae Yeong Choi¹, Joon-Hee Kim¹, Sooyeon Jo¹, Sangjae Lee¹, Hyung-Gyun Na¹, Yoon Seok Choi¹ , Si-Youn Song¹ , Yong-Dae Kim^{1,2} , and Chang Hoon Bae¹

¹Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, College of Medicine, Yeungnam University, Daegu; and

²Regional Center for Respiratory Diseases, Yeungnam University Medical Center, Daegu, Korea

사람 호흡기 상피세포에서 Ginsenoside RB1이 TGF-β1로 유도된 MUC4/5AC 점액 유전자의 발현과 상피-중간엽 전이에 미치는 효과

최태영¹ · 김준희¹ · 조수연¹ · 이상재¹ · 나형균¹ · 최윤석¹ · 송시연¹ · 김용대^{1,2} · 배창훈¹

영남대학교 의과대학 이비인후-두경부외과학교실,¹ 영남대학교병원 권역 호흡기 전문질환센터²

Received March 9, 2020
Revised June 9, 2020
Accepted July 1, 2020
Address for correspondence
Chang Hoon Bae, MD, PhD
Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery,
College of Medicine,
Yeungnam University,
170 Hyeonchung-ro, Nam-gu,
Daegu 45415, Korea
Tel +82-53-620-3784
Fax +82-53-628-7884
E-mail baich@med.yu.ac.kr

Background and Objectives Ginsenoside Rb1 is the main metabolite of Panax ginseng. It is known to have many beneficial properties including anti-inflammatory, antitumoral and antioxidant effects. However, the therapeutic effects of ginsenoside Rb1 on inflammatory airway diseases have not been elucidated. Therefore, we investigated the effects of ginsenoside Rb1 on the TGF-β1-induced mucin gene expression and epithelial-mesenchymal transition (EMT) in human airway epithelial cells.

Materials and Method We evaluated the effects of ginsenoside Rb1 on the changes of MUC4, MUC5AC, occludin, claudin 4, claudin 18, neural (N)-cadherin, and epithelial (E)-cadherin expression by TGF-β1 in NCI-H292 cells using reverse, real-time polymerase chain reaction, enzyme-linked immunosorbent assay, and western blot.

Results TGF-β1 significantly increased MUC4/5AC expression. Rb1 inhibited TGF-β1-induced MUC4/5AC expression. In addition, TGF-β1 significantly attenuated occludin, claudin 18, and E-cadherin expressions but induced claudin 4 and N-cadherin expressions. On the other hand, Rb1 reversed changes in the TGF-β1-mediated expressions of cell junction molecules.

Conclusion These results suggest that ginsenoside Rb1 attenuates TGF-β1-induced MUC4/5AC expressions and EMT in the human airway epithelial cells. These findings are important data demonstrating the potential of ginsenoside Rb1 as a therapeutic agent for inflammatory airway diseases. Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg 2021;64(4):232-9

Key Words Airway epithelial cells · Epithelial-mesenchymal transition · Ginsenoside Rb1 · MUC4 · MUC5AC.

서론

점액의 과분비는 염증성 호흡기 질환 악화의 중요한 병인

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

중 하나로 이를 해결하기 위해 많은 연구들이 활발히 이루어지고 있다. 그러나 아직까지 점액 과분비에 대한 명확한 기전에 대한 이해와 효과적인 치료제의 개발이 부족한 실정이다. 점액의 성상은 점액 유전자에 발현 양상과 깊이 관여되어 있으며, 염증성 호흡기 질환에서 다양한 양상의 점액 유전자의 과발현이 관찰되는 것으로 알려져 있다.^{1,2)} 점액 유전자는 현

재까지 20여 개가 발견되었고, 이 중 막결합형 점소인 MUC4와 분비형 점소인 MUC5AC는 다양한 염증성 호흡기 질환에 깊게 연관되어 있는 대표적인 점액 유전자로 알려져 있다.^{3,4)}

호흡기 상피 세포 간의 결합은 기도를 보호하는 데 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있으며, 이러한 세포 간의 결합에는 밀착연접(tight junction), 접착연접(adherens junction), 데스모솜(desmosome), 헤미데스모솜(hemidesmosome), 간극연접(gap junction) 등이 관여하는 것으로 알려져 있고, 다양한 염증성 매개물질과 독성물질 등에 의해 세포연접(cell junction)이 약화되거나 손상되면 상피-중간엽 전이(epithelial-mesenchymal transition, EMT)가 발생하게 된다.^{5,6)} 이는 최근 천식이나 만성폐쇄성 폐질환과 같은 염증성 호흡기 질환 악화의 중요한 병인 중 하나로 밝혀지고 있다.⁷⁻⁹⁾

염증성 호흡기 질환의 치료제 중 가장 널리 사용되는 스테로이드는 점액의 과분비 및 상피-중간엽 전이를 억제하는 효과가 보고된 강력한 항염증 약물이다.¹⁰⁾ 그러나 다양한 부작용으로 인해 사용이 제한되고 장기간 사용이 어려워 여전히 한계점으로 남아있어 스테로이드를 대체할 치료제에 대한 필요성이 대두되고 있다. 인삼 사포닌(ginsenoside)의 활성화산물 중 하나인 Rb1은 항염증과 항당뇨, 항암, 항산화 등을 포함한 다양한 생물학적 작용을 가지고 있어 다양한 질환에서 치료효과가 보고되고 있다.¹¹⁻¹⁵⁾ 하지만 아직까지 호흡기 점액 유전자 발현과 상피-중간엽 전이에 미치는 효과에 대해서는 알려진 것이 거의 없다.¹⁵⁾ 저자들은 NCI-H292 세포에서 Rb1이 TGF- β 1에 의해 유도된 MUC4/5AC 과생성과 상피-중간엽 전이에 대한 억제효과를 스테로이드와의 비교를 통해 확인해보고자 하였으며, 이를 통해 염증성 호흡기 질환의 치료제로서의 ginsenoside Rb1의 가능성을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

세포 배양 및 처리

NCI-H292 세포(American Type Culture Collection, Manassas, VA, USA)에 100 U/mL penicillin, 100 μ g/mL streptomycin, 10% fetal bovine serum이 포함된 RPMI 1640 배지(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)를 이용하여 5%의 이산화탄소 조건 하에서 37°C의 온도로 배양하였다. 6-well plate에 1×10^6 cells/well의 밀도로 세포를 도포하여 배양하였다.

Rb1이 TGF- β 1에 의해 유도된 점액 유전자 발현과 세포연접 단백질의 발현 변화에 미치는 영향을 알아보기 위해서 NCI-H292 세포에 각기 다른 농도의 Rb1(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 전처리한 후 1시간 뒤에 5 ng/mL 농도의 TGF- β 1(R&D systems, Minnesota, MN, USA)를 투여하였다. 또

한 Rb1과 dexamethasone(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)의 점액 유전자 발현 및 세포연접 단백질 생성에 미치는 영향을 비교 관찰하기 위하여 NCI-H292 세포에 각기 다른 농도의 dexamethasone을 전처리한 후 1시간 뒤에 5 ng/mL 농도의 TGF- β 1을 투여하였다. 처리 약제에 대한 NCI-H292 세포의 세포독성 유무는 WST-1 분석(EZ-CYTOX; Daeil Lab., Seoul, Korea)과 현미경을 이용한 세포 형태 변화 유무를 확인하여 검증하였다. 본 연구에서 시행된 모든 실험은 3개의 독립된 세포배지에서 3회 이상 반복된 실험을 통해 얻은 결과로 분석하였으며, 본원 임상 시험 심사 위원회(Institutional Review Board)의 승인을 받아 시행하였다(YUMC 2017-07-015).

Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) 분석

RNA에 대한 분석은 Gene Amp RNA PCR core kit와 MyCycler PCR(Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 기계를 사용하였다. PCR에 사용된 기존연구에서 사용된 primer를 토대로 제작하여 사용하였다(Table 1). RT-PCR 검사는 세포에 0, 5, 10 μ M 농도의 Rb1 또는 0, 10 nM 농도의 dexamethasone을 전처리한 후 1시간 뒤에 5 ng/mL 농도의 TGF- β 1을 투여하고, 8시간 후에 배양된 세포를 phosphate buffered saline로 3회 세척한 후 mRNA를 추출하여 측정하였다.

Real-time PCR 분석

합성된 cDNA 0.5 μ L를 대상으로 iQ SYBR Green Supermix(Bio-Rad)를 사용하여 real-time PCR을 수행하였다. Real-time PCR은 최종량이 10 μ L가 되게, 2.5 mM의 MgCl₂와 그 최종 농도가 0.5 μ M이 되게 primer를 투여하였으며, 25 ng의 RNA 1 μ L를 이용하여 실험을 수행하였다. 정량적인 PCR은 Light-Cycler(Bio-Rad)를 사용하여 측정하였다.

Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) 면역 분석법

고분자인 MUC4와 MUC5AC 단백질 생성을 측정하기 위해서 ELISA법을 이용하였다. ELISA 검사는 세포에 0, 5, 10 μ M 농도의 Rb1 또는 0, 10 nM 농도의 dexamethasone을 전처리한 후 1시간 뒤에 5 ng/mL 농도의 TGF- β 1을 투여하고, 24시간 후에 배양된 세포에서 radioimmunoprecipitation assay buffer로 단백질을 추출하였으며, ELISA reader(EL800[®], BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA)로 450 nm에서 흡광도를 측정한 후 표준곡선을 이용하여 단백질의 양을 정량하였다.

Table 1. Primer used for polymerase chain reaction amplification

Gene	Primary sequence	Annealing temperature (°C)	Product size (bp)
MUC4	F: 5'-TTCTAAGAACCACCAGACTCAGAGC-3' R: 5'-GAGACACACCTGGAGAGAATGAGC-3'	60	467
MUC5AC	F: 5'-TCA ACG GAG ACT GCG AGT ACA C-3' R: 5'-CTT GAT GGC CTT GGA GCA-3'	60	130
Occludin	F: 5'-TCA GGG AAT ATC CAC CTA TCA CTT CAG-3' R: 5'-CAT CAG CAG CAG CCA TGT ACT CTT CAC-3'	55	189
Claudin 4	F: 5'-AGC CTT CCA GGT CCT CAA CT-3' R: 5'-AGC AGC GAG TCG TAC ACC TT-3'	55	249
Claudin 18	F: 5'-TTC CAT CCC AGT ACC AAA GC-3' R: 5'-CCG TTC TTT CCC CAG ACA TA-3'	55	226
E-cadherin	F: 5'-CGCATTGCCACATACACTCT-3' R: 5'-TTGGCTGAGGATGGTGTAAAG-3'	60	252
N-cadherin	F: 5'-AGTCAACTGCAACCGTGTCT-3' R: 5'-AGCGTTCCTGTCCACTCAT-3'	60	337
GAPDH	F: 5'-CCTCCAAGGAGTAAGACCCC-3' R: 5'-AGGGTCTACATGGCAACTG-3'	60	145

GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

Western blot 분석

밀착연접단백인 occludin, claudin 4와 claudin 18과 접착연접단백인 E-cadherin과 N-cadherin 단백질의 생성을 측정하기 위해서 western blot법을 이용하였다. Western blot 검사는 세포에 0, 5, 10 μM 농도의 Rb1 또는 0, 10 nM 농도의 dexamethasone을 전처치한 후 1시간 뒤에 5 ng/mL 농도의 TGF-β1을 투여하여 배양하였다. 항체와의 비특이적 결합을 억제 시킨 후 세포연접단백들을 일차 항체로 각각 4시간 반응시켰다. 이후 Tris-buffered saline와 Tween-20 buffer로 세척하고 이차 항체로 각각 1시간 반응한 다음 세척하여 enhanced chemiluminescence reagent kit를 이용하여 각각의 단백질의 띠(band)를 확인하였다. 확인된 띠의 세기는 Scion Image software(Scion Corporation, Frederick, MD, USA)를 이용하여 반정량적으로 분석하여 상대적인 density로 나타내었다.

통계 분석

통계 처리는 Windows용 SPSS version 21.0(IBM Corp., Armonk, NY, USA)를 사용하였다. 모든 실험은 3회 이상 시행하였으며, *p*값이 0.05 미만인 경우를 유의한 것으로 정하여 Mann-Whitney U test를 이용하였다.

결 과

Rb1 또는 Rb1과 TGF-β1 복합 처치 시 NCI-H292 세포에 미치는 영향

WST법을 이용한 세포독성검사서 20 μM 농도의 Rb1

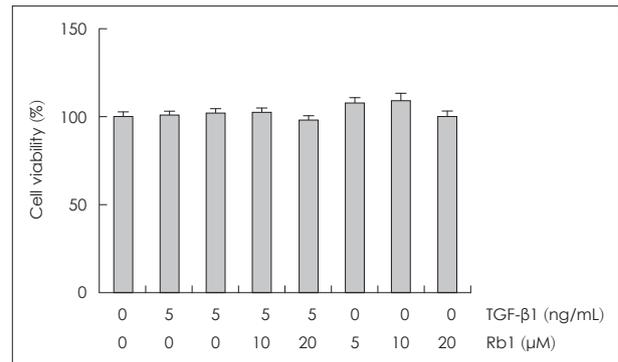


Fig. 1. Effects of Rb1 or Rb1 with TGF-β1 on cell viability in NCI-H292 cells. Rb1 (0, 5, 10, or 20 μM) or Rb1 with TGF-β1 (0 or 5 ng/mL) did not display significant cell killing activity up to 20 μM.

및 5 ng/mL 농도의 TGF-β1투여까지는 세포 독성이 관찰되지 않았다(Fig. 1).

Rb1이 TGF-β1로 유도된 MUC4/5AC 발현에 미치는 영향

NCI-H292 세포에서 TGF-β1에 의해 유도되는 MUC4와 MUC5AC의 mRNA 발현 및 점액 단백질 생성은 Rb1을 전처치한 군에서 통계학적으로 의미있게 감소하였다. 또한 mRNA 발현 및 점액 단백질 생성량 모두 고용량(10 μM)을 투여한 군에서 저용량(5 μM)을 투여한 군보다 감소하는 경향을 보였다(Fig. 2).

Rb1이 TGF-β1로 유도된 밀착연접단백의 발현변화에 미치는 영향

TGF-β1이 occludin, claudin 4과 claudin 18의 발현에 미

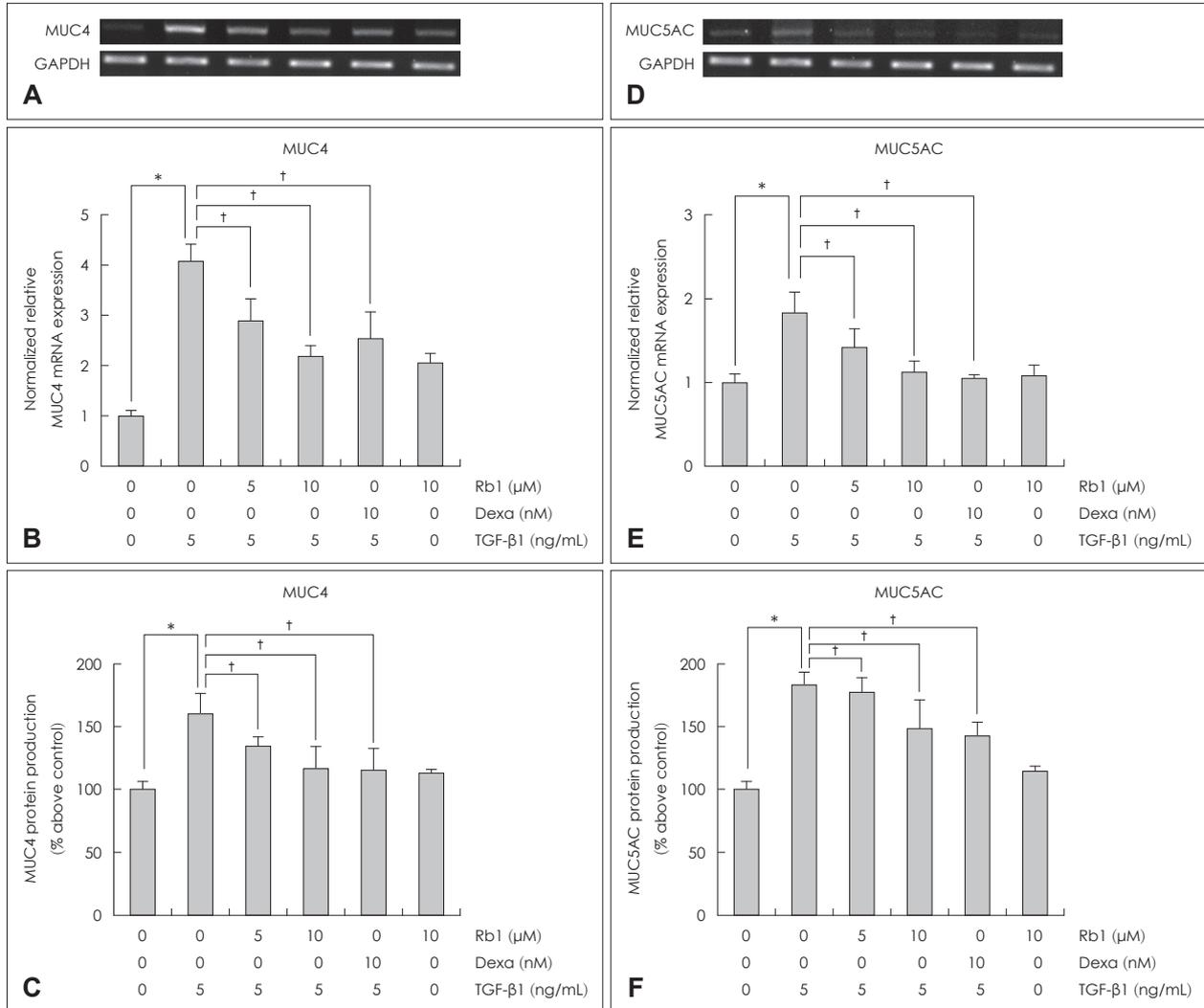


Fig. 2. The effects of Rb1 on TGF- β 1-induced MUC4/5AC expression in NCI-H292 cells. Reverse transcription-PCR (A, D), real-time PCR (B, E), ELISA (C, F). * p <0.05 compared with zero value, † p <0.05 compared with TGF- β 1 (5 ng/mL). GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, Dexa: dexamethasone, PCR: polymerase chain reaction, ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay.

치는 영향 및 Rb1이 TGF- β 1에 의해 유도된 밀착연접 단백질의 발현변화에 미치는 영향을 확인해본 결과, TGF- β 1은 occludin과 claudin 18의 mRNA 발현 및 단백질 생성을 감소시켰으나, Rb1 또는 dexamethasone을 전처리한 군에서는 TGF- β 1에 의한 occludin과 claudin 18의 발현 감소가 나타나지 않았다(Fig. 3A-C). 또한 claudin 4는 TGF- β 1에 의해 mRNA 발현과 단백질 생성이 증가하였으나, Rb1 또는 dexamethasone을 전처리한 군에서 TGF- β 1에 의한 claudin 4의 발현 증가가 의미있게 억제됨을 확인할 수 있었다(Fig. 3D-F).

Rb1이 TGF- β 1로 유도된 접착연접단백의 발현변화에 미치는 영향

TGF- β 1가 E-cadherin과 N-cadherin의 발현에 미치는 영향 및 Rb1이 TGF- β 1에 의해 유도된 접착연접 단백질의 발현변

화에 미치는 영향을 확인해본 결과, TGF- β 1은 E-cadherin의 발현을 감소시켰으며, Rb1 또는 dexamethasone을 전처리한 군에서는 TGF- β 1에 E-cadherin의 발현 감소가 나타나지 않았다(Fig. 4A-C). 또한 TGF- β 1에 의해 N-cadherin 발현이 증가하였으며, Rb1 또는 dexamethasone을 전처리한 군에서 TGF- β 1에 의한 N-cadherin의 과발현이 의미있게 억제됨을 확인할 수 있었다(Fig. 4D-F).

고찰

인삼의 약리학적 효과를 나타내는 인삼 사포닌(ginseng saponin, ginsenoside)은 활성 산물 중 가장 중요한 성분이다. 그 구조에 따라 protopanaxadiol, protopanaxatriol, oleanole acid로 나눌 수 있으며, 그 종류는 100개 이상으로 알려

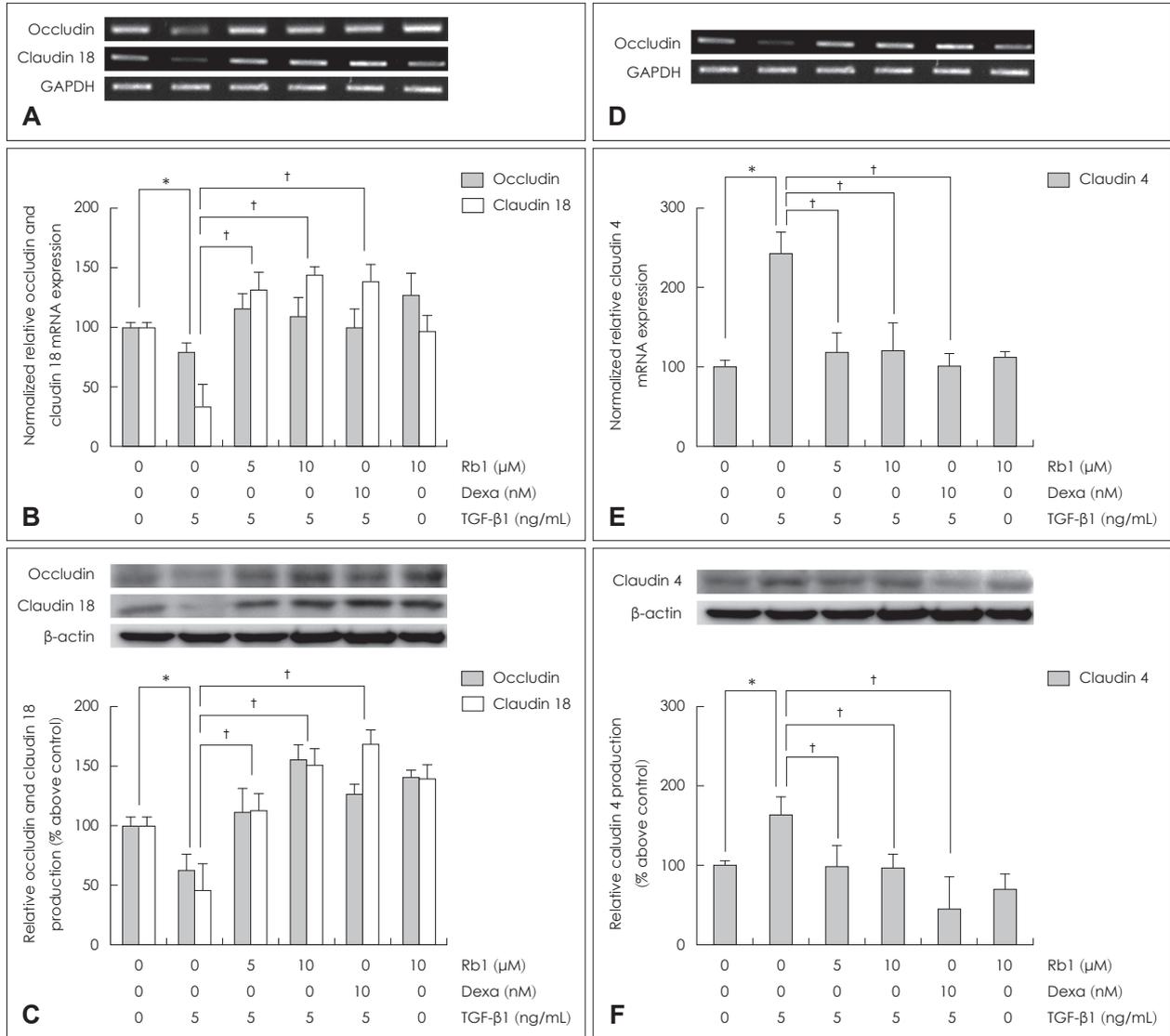


Fig. 3. The effects of Rb1 on TGF-β1-mediated expression level changes of tight junction molecules (occludin, claudin 4, and claudin 18) in NCI-H292 cells. Reverse transcription-PCR (A, D), real-time PCR (B, E), western blot (C, F). **p*<0.05 compared with zero value, †*p*<0.05 compared with TGF-β1 (5 ng/mL). GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, Dexa: dexamethasone, PCR: polymerase chain reaction.

저 있다. 그 중 protopanaxadiol은 총 19개의 종류가 존재하며, Rb1, Rb2, Rc, Rd가 대표적으로 알려져 있다.^{14,15} 최근 다양한 연구에서 염증성 호흡기 질환에 대한 인삼 사포닌의 치료효과가 보고되고 있다.¹⁶⁻¹⁸ Jung 등¹⁶의 연구에서는 알레르기성 비염환자에서 홍삼이 코막힘을 포함한 비염환자의 삶의 질 척도가 호전된다고 보고하였으며, Lee 등¹⁷의 연구에서는 A549세포와 천식환자의 폐조직에서 인삼의 사포닌 성분 중 하나인 Rg3이 interleukin(IL)-4, TNF-α, eotaxin 등을 의미있게 감소시키며, IL-1β에 의해 유도된 COX-2의 활성화를 억제한다는 것을 보고하였다. 또한 Shergis 등¹⁸의 연구에는 Rb1이 만성폐쇄성 폐질환의 염증성 반응 과정의 주된 신호전달체로 알려진 TNF, IL-6, IL-8 등의 사이토카인의 활

성화 과정을 억제하며, 산화적 스트레스를 일으키는 주된 요소인 활성산소, 산화질소 등의 발생과정을 억제하는 것으로 보고하였다. 그러나 아직까지 Rb1이 염증성 호흡기 질환의 호전에 미치는 영향과 명확한 기전에 대한 확인이 부족한 실정이다.

점액유전자는 TGF-β1과 IL 등의 다양한 사이토카인과 lipopolysaccharide(LPS)와 같은 외부독성물질에 의해 과발현 유도되는 것으로 보고되고 있다.^{15,19-21} 본 연구진이 사포닌의 점액 과분비 억제효과를 확인하기 위해 시행한 이전 연구에서도 LPS에 의해 MUC5AC 점액 유전자의 과발현이 유도되었으며, 사포닌의 성분 중 하나인 protopanaxadiol이 활성화 산소의 억제를 통해 LPS에 의해 유도된 MUC5AC의 과

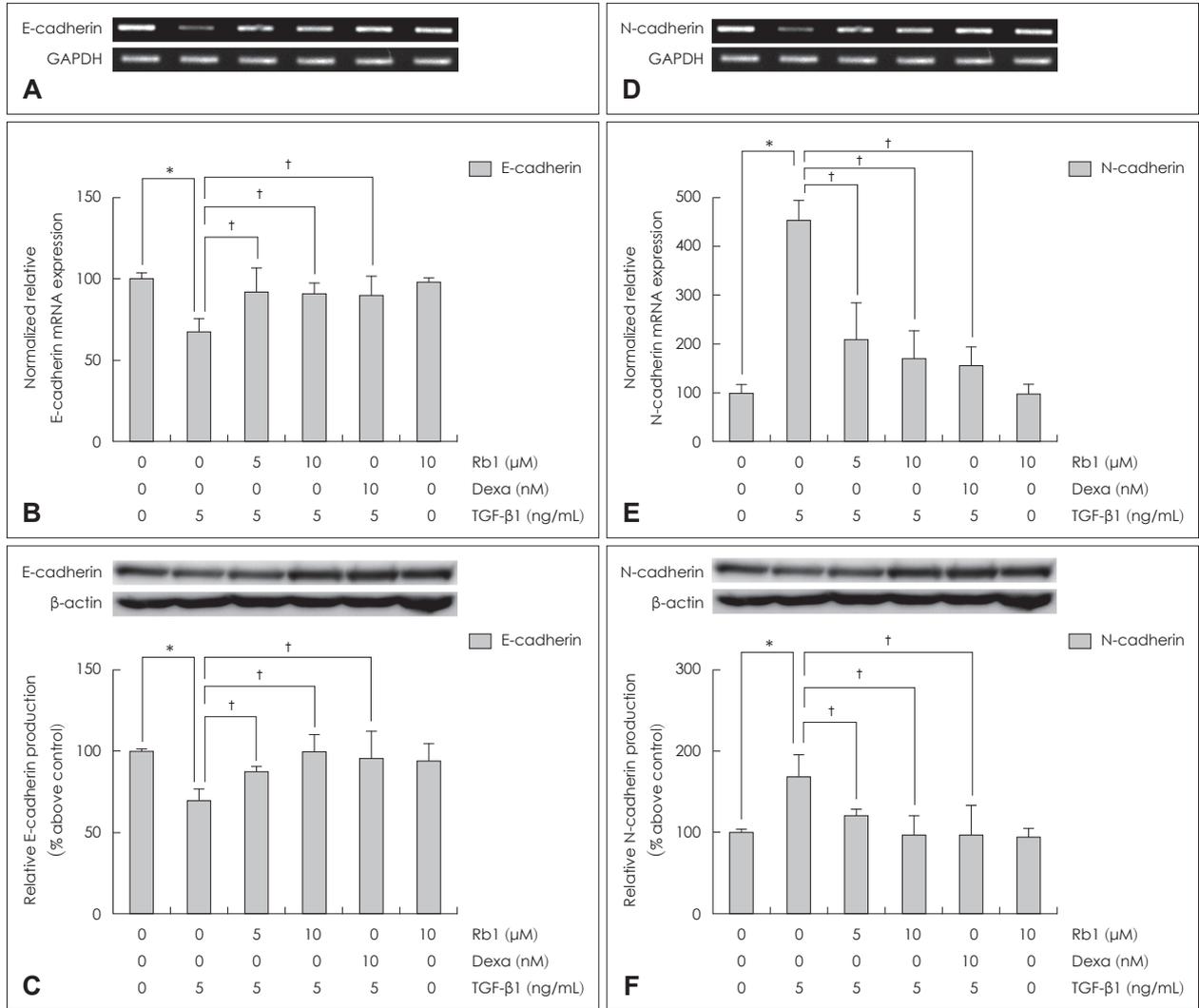


Fig. 4. The effects of Rb1 on TGF-β1- mediated expression changes of cell adhesive molecules (E-cadherin and N-cadherin) in NCI-H292 cells. Reverse transcription-PCR (A, D), real-time PCR (B, E), western blot (C, F). **p*<0.05 compared with zero value, †*p*<0.05 compared with TGF-β1 (5 ng/mL). GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, Dexa: dexamethasone.

발현을 줄인다는 것을 확인할 수 있었다.¹⁵⁾ 본 연구에서도 NCI-H292 세포에서 TGF-β1의 유도된 MUC4/5AC 점액유전자의 과발현을 Rb1이 의미있게 억제함을 확인할 수 있었으며, 이는 중요한 염증성 호흡기질환 치료제인 dexamethasone과 유사한 정도의 억제효과가 있음을 확인할 수 있었다.

기도 상피세포는 다양한 사이토카인과 외부독성물질들에 의해 세포 연결 구조가 손상될 때 상피-중간엽 전이가 관찰되고, 이때 다양한 세포 결합 단백질의 발현변화가 관찰된다. 상피-중간엽 전이 때는 occludin, claudin 18, E-cadherin, ZO-1, cytokeratin과 같은 세포결합 단백질의 발현억제가 관찰되며, claudin 4, N-cadherin, fibronectin, vimentin과 같은 단백질의 발현의 증가가 나타난다.⁵⁻⁷⁾ 최근 다양한 연구에서 상피-중간엽 전이가 천식과 만성폐쇄성 폐질환과 같은 염증성 호흡기 질환의 악화에 중요한 병인으로 보고되고 있

다.^{7-9,22,23)} Hackett⁷⁾은 외부물질의 노출로 인해 발생한 성장인자, 염증성 사이토카인, 모세포 단백질(matricellular protein) 등이 상피-중간엽 전이를 유발하며 이러한 과정이 천식환자의 기도 리모델링의 원인 중 하나로 보고하였으며, Hou 등⁸⁾은 최근 연구들의 리뷰를 통해 흡연으로 인해 유발되는 만성폐쇄성 폐질환과 폐암의 중요한 발병기전으로서 상피-중간엽 전이의 중요성을 보고하였다. 최근 TGF-β1에 의해 유도되는 상피-중간엽 전이를 억제 할 수 있는 물질들에 대한 다양한 연구가 이루어지고 있으며, 항염증제로서 효과가 알려진 dexamethasone이 TGF-β1에 의해 유도된 상피-중간엽 전이를 억제하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다.^{11,22-25)} 본 연구에서도 NCI-H292 세포에서 TGF-β1에 의해 유도된 상피-중간엽 전이 과정 중 억제되는 occludin, claudin 18, E-cadherin mRNA와 단백질 생성을 유의하게 증가시켰고, TGF-β1

에 의해 유도된 상피-중간엽 전이 과정 중 유도되는 claudin 4, N-cadherin mRNA와 단백질 생성을 유의하게 억제하였다. 이를 통해 TGF-β1에 의해 유도된 상피-중간엽 전이를 Rb1이 효과적으로 억제할 수 있음을 확인할 수 있었다.

본 연구에서 우리는 Rb1이 TGF-β1에 의해 유도된 MUC4/5AC 과발 및 상피-중간엽 전이 관련 세포연접 단백질들의 발현을 의미있게 조절한다는 것을 확인할 수 있었다. 이는 염증성 호흡기 질환의 새로운 치료제로서의 Rb1의 가능성과 스테로이드의 대체약제로서의 가능성을 모두 보여준 결과로 생각된다. Rb1의 항염증 효과의 관련 기전으로는 면역 염증 반응의 주요 조절 인자인 nuclear factor-κB(NF-κB)의 활성화와 mitogen-activated protein kinases(MAPKs)의 활성화에 대한 억제효과로 생각해볼 수 있으며,¹¹⁾ 이는 스테로이드의 항염증 효과의 관련기전으로도 알려져 있다.^{22,23)} 또한 다양한 MAPKs와 NF-κB의 활성화는 점액 유전자 과발현과 EMT 발생의 중요 조절 기전으로도 알려져 있어 Rb1의 MAPKs와 NF-κB의 활성화 억제를 통해 점액 유전자의 과발현과 EMT 반응의 억제를 유도하는 것으로 생각해볼 수 있다.^{26,27)} 그러나 Rb1이 점액 과분비 조절억제의 정확한 기전과 위치를 확인하기 위해서는 air-liquid interface 기법 또는 ex vivo 법을 이용한 추가 실험이 필요할 것으로 생각되며, 세포-중간엽 전이 조절 효과에 대한 상세한 기전에 대한 추가 연구도 필요할 것으로 생각된다. 또한, Rb1의 복용량과 혈중 농도에 대해 동물실험 및 임상연구를 통한 추가 연구도 필요할 것으로 생각된다.

Acknowledgments

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education (NRF-2017R1D1A3B03029607).

Author Contribution

Conceptualization: Tae Yeong Choi, Chang Hoon Bae. Data curation: Tae Yeong Choi, Joon-Hee Kim. Formal analysis: Hyung-Gyun Na, Si-Youn Song, Yong-Dae Kim. Funding acquisition: Chang Hoon Bae. Investigation: Tae Yeong Choi, Sooyeon Jo, Sangjae Lee. Methodology: Yoon Seok Choi, Yong-Dae Kim. Writing—original draft: Tae Yeong Choi, Chang Hoon Bae. Writing—review & editing: Tae Yeong Choi, Yoon Seok Choi, Chang Hoon Bae.

ORCIDs

- Chang Hoon Bae <https://orcid.org/0000-0002-0835-4060>
- Yoon Seok Choi <https://orcid.org/0000-0002-0616-7122>
- Si-Youn Song <https://orcid.org/0000-0001-6642-8841>
- Yong-Dae Kim <https://orcid.org/0000-0003-0501-966X>

REFERENCES

1) Ali MS, Pearson JP. Upper airway mucin gene expression: A review. *Laryngoscope* 2007;117(5):932-8.

2) Rose MC, Voynow JA. Respiratory tract mucin genes and mucin glycoproteins in health and disease. *Physiol Rev* 2006;86(1):245-78.

3) Chaturvedi P, Singh AP, Batra SK. Structure, evolution, and biology of the MUC4 mucin. *FASEB J* 2008;22(4):966-81.

4) Hatstrup CL, Gendler SJ. Structure and function of the cell surface (tethered) mucins. *Annu Rev Physiol* 2008;70:431-57.

5) Tsukita S, Furuse M, Itoh M. Multifunctional strands in tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001;2(4):285-93.

6) Xu J, Lamouille S, Derynck R. TGF-beta-induced epithelial to mesenchymal transition. *Cell Res* 2009;19(2):156-72.

7) Hackett TL. Epithelial-mesenchymal transition in the pathophysiology of airway remodelling in asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2012;12(1):53-9.

8) Hou W, Hu S, Li C, Ma H, Wang Q, Meng G, et al. Cigarette smoke induced lung barrier dysfunction, EMT, and tissue remodeling: A possible link between COPD and lung cancer. *Biomed Res Int* 2019;2019:2025636.

9) Ijaz T, Pazdrak K, Kalita M, Konig R, Choudhary S, Tian B, et al. Systems biology approaches to understanding epithelial mesenchymal transition (EMT) in mucosal remodeling and signaling in asthma. *World Allergy Organ J* 2014;7(1):13.

10) Adcock IM, Ito K. Glucocorticoid pathways in chronic obstructive pulmonary disease therapy. *Proc Am Thorac Soc* 2005;2(4):313-9; discussion 340-1.

11) Kim JH, Yi YS, Kim MY, Cho JY. Role of ginsenosides, the main active components of Panax ginseng, in inflammatory responses and diseases. *J Ginseng Res* 2017;41(4):435-43.

12) Sun K, Wang CS, Guo J, Horie Y, Fang SP, Wang F, et al. Protective effects of ginsenoside Rb1, ginsenoside Rg1, and notoginsenoside R1 on lipopolysaccharide-induced microcirculatory disturbance in rat mesentery. *Life Sci* 2007;81(6):509-18.

13) Wang CZ, Du GJ, Zhang Z, Wen XD, Calway T, Zhen Z, et al. Ginsenoside compound K, not Rb1, possesses potential chemopreventive activities in human colorectal cancer. *Int J Oncol* 2012;40(6):1970-6.

14) Bai L, Gao J, Wei F, Zhao J, Wang D, Wei J. Therapeutic potential of ginsenosides as an adjuvant treatment for diabetes. *Front Pharmacol* 2018;9:423.

15) Song YS, Kim JH, Na HG, Choi YS, Song SY, Kim YD, et al. Inhibitory effects of protopanaxadiol on lipopolysaccharide-induced reactive oxygen species production and MUC5AC expression in human airway epithelial cells. *Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg* 2019;62(9):507-14.

16) Jung JW, Kang HR, Ji GE, Park MS, Song WJ, Kim MH, et al. Therapeutic effects of fermented red ginseng in allergic rhinitis: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Allergy Asthma Immunol Res* 2011;3(2):103-10.

17) Lee IS, Uh I, Kim KS, Kim KH, Park J, Kim Y, et al. Anti-inflammatory effects of ginsenoside Rg3 via NF-κB pathway in A549 cells and human asthmatic lung tissue. *J Immunol Res* 2016; 2016:7521601.

18) Shergis JL, Di YM, Zhang AL, Vlahos R, Helliwell R, Ye JM, et al. Therapeutic potential of Panax ginseng and ginsenosides in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *Complement Ther Med* 2014;22(5):944-53.

19) Jang YJ, Kwon HJ, Wang JW, Lee BJ, Chung YS. Rhinovirus-induced mucin gene expression in airway epithelial cells. *Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg* 2009;52(8):670-3.

20) Lee JG, Moon HJ, Kim, SS, Kim CW, Yoon JH. Expression and regulation of MUC8 & MUC5AC by various cytokines in normal human nasal epithelial cells. *Korean J Otolaryngol* 2001;44(6):600-5.

21) Park CH, Song YS, Bae CH, Choi YS, Song SY, Shin KC, et al. Asian sand dust up-regulates MUC4 expression in human upper airway epithelial cells. *Korean J Otorhinolaryngol-Head Neck Surg* 2017;60(5):222-31.

- 22) Yang HW, Lee SA, Shin JM, Park IH, Lee HM. Glucocorticoids ameliorate TGF- β 1-mediated epithelial-to-mesenchymal transition of airway epithelium through MAPK and Snail/Slug signaling pathways. *Sci Rep* 2017;7(1):3486.
- 23) Doerner AM, Zuraw BL. TGF-beta1 induced epithelial to mesenchymal transition (EMT) in human bronchial epithelial cells is enhanced by IL-1beta but not abrogated by corticosteroids. *Respir Res* 2009;10(1):100.
- 24) Liu J, Li YY, Andiappan AK, Yan Y, Tan KS, Ong HH, et al. Role of IL-13R α 2 in modulating IL-13-induced MUC5AC and ciliary changes in healthy and CRSwNP mucosa. *Allergy* 2018;73(8):1673-85.
- 25) Hauber HP, Goldmann T, Vollmer E, Wollenberg B, Zabel P. Effect of dexamethasone and ACC on bacteria-induced mucin expression in human airway mucosa. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007;37(5): 606-16.
- 26) Bae CH, Choi YS, Na HG, Song SY, Kim YD. Interleukin (IL) 36 gamma induces mucin 5AC, oligomeric mucus/gel-forming expression via IL-36 receptor-extracellular signal regulated kinase 1 and 2, and p38-nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells in human airway epithelial cells. *Am J Rhinol Allergy* 2018;32(2):87-93.
- 27) Li X, Yan X, Wang Y, Wang J, Zhou F, Wang H, et al. NLRP3 inflammasome inhibition attenuates silica-induced epithelial to mesenchymal transition (EMT) in human bronchial epithelial cells. *Exp Cell Res* 2018;362(2):489-97.