

황색포도알균의 감염에 따른 세포 내에서의 균의 증식과 Matrix Metalloproteinase (MMP)의 역할

계명대학교 의과대학 ¹내과학교실, ²병리학교실
민보람¹, 이영미¹, 박재석¹, 최원일¹, 권건영²

Roles of Matrix Metalloproteinases on Intracellular *Staphylococcus aureus* Growth in Bronchial Epithelial Cell

Bo Ram Min, M.D.¹, Young Mi Lee, M.S.¹, Jae Seok Park, M.D.¹, Won-Il Choi, M.D.¹, Kun Young Kwon, M.D.²

Departments of ¹Internal Medicine and ²Pathology, Keimyung University School of Medicine, Daegu, Korea

Background: *Staphylococcus aureus* frequently colonizes and infects hospitalized patients. Respiratory infections with *Staphylococcus aureus* are common in patients with compromised airway defenses. However the mechanisms of *S. aureus* invasion from colonization to the epithelium are unclear. Cell invasion by *S. aureus* would require destruction of the extracellular matrix, which is believed to be the result of increased matrix metalloproteinases (MMP) activity.

Methods: In this study, respiratory epithelial cells were infected with *S. aureus*. After removing the extracellular bacteria by washing, the internalized bacteria in the cells were assessed by counting the colonized forming units (CFUs). The cell adhesion proteins, dysadherin and E-cadherin, were evaluated by Western blotting. The MMPs in the bacterial invasion were evaluated by pretreating the cells with GM6001, a MMP inhibitor.

Results: The internalization of *S. aureus* was found to be both time and dose dependent, and the increase in MMP 2 and 9 activity was also dependent on the incubation time and the initial amount of bacterial inoculation. The invasion of *S. aureus* was attenuated by GM6001 after 12 hours incubation with a multiply of infection (MOI)=50. The expression of dysadherin, a membrane protein, was increased in a time and dose dependent manner, while the expression of E-cadherin was decreased.

Conclusion: MMPs may mediate the invasion of *S. aureus* into epithelial cells. (*Tuberc Respir Dis* 2008;64:22-27)

Key Words: *Staphylococcus aureus*, Epithelial cell, Matrix metalloproteinases

서론

황색포도알균(*Staphylococcus aureus*)은 인체에서 다양한 경로로 감염을 일으켜, 다양한 질병을 유발하는 매우 주요한 세균에 속한다. 상피세포는 외부로부터 세포를 방어하지만¹, 기도의 정상적인 방어기전에 문제가 발생한 경우 황색포도알균에 의한 호흡기 감염이 흔히 발생할 수 있다. 입원 환자에서는 중증환자의 75%가 병원 내 환경으

로부터 세균이 유입되어 집락을 형성하는데, 이러한 집락은 불과 48시간 이내에 이루어지기도 한다². 또한 상피세포에 집락을 형성할 경우 세포 내로 침입 할 수 있으며, 임상적으로는 이러한 집락과 침입을 감별하기가 어려운 경우가 있다.

황색포도알균은 세포 외 병원체로 알려져 있으며, 포식작용(phagocytosis)에 의해 세포 내로 침입하며 세포 내에서도 생존율이 높다고 밝혀져 있다³. 황색포도알균의 상피세포 침입 및 증식은 균과 상피세포와의 교차대화를 통해 이루어진다고 알려져 있으나⁴, 구체적인 기전에 대해서는 잘 연구되지 않았다.

MMPs (matrix metalloproteinases)는 세포 외 기질(extracellular matrix, ECM)의 구성 성분을 분해하는 효소로 알려져 있다⁵. 이러한 세균침입과 연관된 MMPs의 발현 증가가 어떠한 의미가 있는지에 대한 연구는 미미하다.

Address for Correspondence: Won-Il Choi, M.D.
Department of Internal Medicine, Keimyung University School of Medicine, 194, Dongsan-dong, Jung-gu, Daegu 700-712, Korea
Phone: 82-53-250-7405, Fax: 82-53-250-7434
E-mail: wichoi@dsmc.or.kr
Received: Dec. 13, 2007
Accepted: Jan. 17, 2008

또한 세포와 세포 사이의 이음부(cell-cell junction)에는 세포를 서로 부착시키는 중요 단백질인 dysadherin과 E-cadherin이 있다⁶. 세포의 표현형을 조절하는 dysadherin은 E-cadherin과 매개된 세포의 부착을 하향조절(down-regulation)한다고 알려져 있지만⁶, 세균에 대한 세포의 반응과 관련된 연구는 적다. 세균의 숙주세포로의 침입 시 세포 사이의 이음부의 변화가 수반될 것으로 예상되므로, 본 연구에서는 숙주세포로의 세균 침입과 관련하여 이러한 단백질 발현의 변화를 관찰하고자 한다.

본 연구는 기관지 상피세포(BEAS-2B)로 황색포도알균이 침입하는 기전을 알아보기 위해 상피세포 내 균 감염의 시간에 따라 황색포도알균의 집락수의 변화와 숙주세포의 dysadherin, E-cadherin의 변화 및 MMPs의 발현을 살펴보고 MMPs의 역할을 알아보하고자 한다.

대상 및 방법

1. 박테리아 균주와 성장조건

Tryptic Soybean Broth (TSB)배지에 황색포도알균 한 개의 집락을 선별하여 녹인 후 37°C incubator에서 16~18시간 동안 배양하였다. 배지내의 균 수를 확인하기 위해 배양된 균은 0.9% NaCl에 10배씩 희석하였고, 3% TSB에 1.5% 한천이 첨가된 배지에 평판 배양한 후 집락 형성 단위(CFU/ml)를 측정하였다. 균의 수는 10⁹ CFU/ml로 세포 수에 대한 균의 수인 감염다중도(multiplicity of infection, MOI)는 1 : 5, 10, 20, 50, 100으로 하였다.

2. 세포배양

기관지 상피세포인 BEAS-2B (American Type Culture Collection, CRL-9609; Rockville, MD, USA)는 RPMI 1640 (10% fetal bovine serum, 1% antibiotics 함유)배지에 배양하였다. 세포는 5×10⁵ cells/well로 세포 수를 산정한 후 6 well 세포 배양 판에 심고 5% CO₂, 37°C 배양기에서 2일 동안 배양하였다.

3. 내입 측정(Internalization assay)

황색포도알균을 BEAS-2B세포 내로 침입시키기 위해 BEAS-2B 세포를 항생제 및 혈청이 없는 침입배지(invasion medium)에서 배양하였다. 세포 내로 침입시키는 황색포도알균은 MOI (5, 10, 20, 50, 100)으로 각각 2시간 동안 5% CO₂와 37°C 조건의 배양기에서 침입배지에 접종하였다. 이 후 한 시간 동안 침입배지에 10 mg/ml 농도의

Gentamicin을 추가한 배양액으로 2번 세척하여 BEAS-2B 세포 밖에 남은 균을 제거하였다. 세포 내로 침입한 균의 증식을 확인하기 위해 침입배지로 4시간과 12시간 동안 배양하였다.

침입배지를 제거한 다음 PBS (phosphate-buffered saline)로 세척하였고 0.25% trypsin-EDTA로 37°C에서 5분간 반응시킨 후 원심 분리하여 세포를 모았다. 세포를 용해하기 위해 1% Triton X-100으로 37°C에서 15분간 반응시켰다. 용해된 세포에서 침입한 균의 수를 확인하기 위해 0.9% NaCl에 10배씩 희석하여 3% TSB에 1.5% 한천이 첨가된 배지에 각각 3판으로 평판 배양한 후 CFU/ml를 측정하였다.

4. MMP 활성의 저해

광범위 저해제인 GM6001⁷ (Calbiochem, San Diego, USA) 40 μM을 BEAS-2B세포에 40시간 전 처리를 한 후, 균을 접종하고 세포를 배양하여 CFU/ml를 측정하였다.

5. Western blot analysis

동량의 단백질(50 μg)을 10% sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)로 분리한 다음, Trans-blot unit를 사용하여 분리된 단백질을 nitrocellulose membrane (NC)에 전이(transfer)하였다. 이 NC를 5% non-fat dry milk (0.1% Tween-20을 함유한 Tris buffered saline: TBS-T)로 실온에서 1시간 blocking 하고, dysadherin (abcam, Cambridge, UK), E-cadherin (Takara, Shiga, Japan) 1차 항체를 1:1000으로 희석하여 실온에서 1시간 반응시킨 후, NC를 TBS-T로 10분간 3회 세척하였다. 이 후, 2차 항체(anti-goat, mouse IgG HRP-linked antibody, Santacruz)를 1:1,000으로 희석하여 실온에서 1시간 반응시켰다. 세척 후 ECL detection kit (Amersham)를 이용하여 반응성이 있는 특정 단백질 띠를 찾았다.

6. Gelatin zymography

젤라틴 용해성의 활성(MMP-2 & MMP-9)을 확인하기 위해 황색포도알균을 침입시킨 BEAS-2B세포의 배양액(conditioned media)을 원심 분리하여 세포 파편을 제거한 다음, 0.2% Gelatin (stock 2 mg/ml)이 함유된 7.5% SDS-PAGE로 전기 영동하였다. 이 후, gel은 2.5% Triton X-100으로 20분간 3회 수세하여 develop buffer (1M Tris-HCl pH 7.6, 1M CaCl₂)로 37°C에서 24시간 반응하였다. 0.5% Coomassie Blue로 30분간 염색한 후 10% acetic

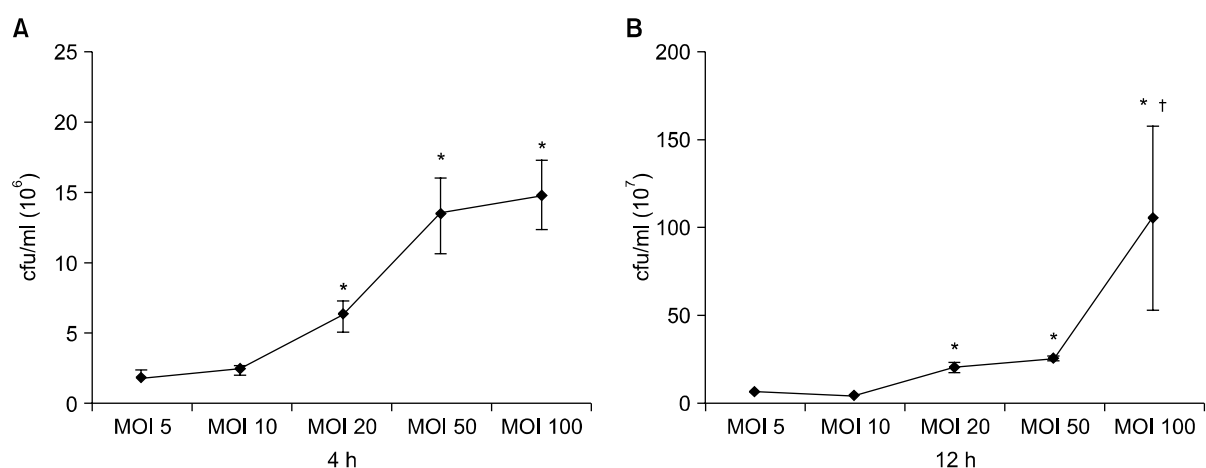


Figure 1. Intracellular bacterial survival/replication of *S. aureus*. (A) 4 h, (B) 12 h. * $p < 0.01$ versus MOI 5 and MOI 10; † $p < 0.05$ versus MOI 20 and MOI 50.

acid로 gel을 탈색하여 깨끗한 띠를 확인하였다.

7. 통계학적 분석

균의 집락 수를 측정하여 얻어진 결과들은 ANOVA로 분석하였으며, 측정된 각각의 자료는 평균과 표준오차로 표시하였다. 유의성은 t-test로 검증하였으며, $p < 0.05$ 에서 유의하다고 판단하였다.

결 과

1. 기관지 상피세포에서 황색포도알균의 침입 및 증식

기관지 상피세포에서 황색포도알균의 침입 및 증식에 따른 변화를 확인하기 위해 2×10^9 CFU/ml인 균을 MOI 5, 10, 20, 50, 100으로 산정하여 4시간, 12시간씩 각각 배양한 후 균의 집락수를 확인하였다. 그 결과 4시간 배양한 세포의 MOI 5에서는 2×10^6 , MOI 20에서는 6×10^6 , MOI 100 일 때는 1.5×10^7 CFU/ml로 MOI가 증가할수록 세포 내 균의 수가 증가하였다. 또한 MOI 5와 10에서 균 수의 변화는 유의한 차이를 보이지 않다가 MOI 20과 50에서는 2배로 증가하였다. 12시간 배양한 세포의 MOI 5와 10에서 균 수의 유의한 변화는 없었지만, MOI 20과 50에서는 유의하게 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 12시간 배양한 세포에서 MOI 50과 100을 비교해 볼 때 침입시키는 균 수가 증가 할수록 세포 내 균 수도 증가한다는 것을 알 수 있었다(Figure 1B). 또한 4시간과 12시간의 MOI 100에서 세포 내의 균 수는 각각 1.5×10^7 과 1×10^9 CFU/ml로, 4시간에 비해 12시간 배양한 세포에서 균 수

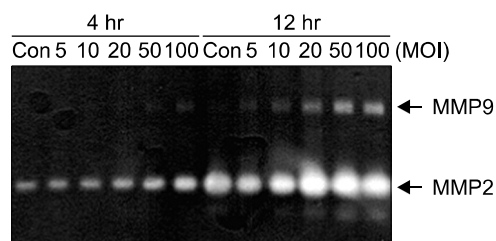


Figure 2. Differential expression patterns of MMPs in BEAS-2B cells infected with *S. aureus*. Conditioned media were subjected to 7.5% SDS-PAGE with 0.2% gelatin and gelatinolytic activities of MMP-9 and MMP-2 were determined by zymography as described in materials and methods.

가 약 100배 증가하였다. 세포 내 균의 침입과 증식은 MOI와 배양시간에 따라 의존적으로 증가하였다(Figure 1).

2. 기관지 상피세포 내 균의 침입에 따른 MMPs의 발현

기관지 상피세포를 배양하여 황색포도알균을 침입시킨 후 4시간, 12시간 동안 무혈청(serum free) 배양액으로부터 분비형인 MMP-2와 MMP-9의 발현유무를 확인하였다. MMP-2는 4시간 배양한 상피세포에서 MOI가 증가함에 따른 발현변화는 뚜렷하지 않았지만 대조군과 비교해 볼 때 MOI 50과 100에서 증가하였다(Figure 2). 12시간 배양한 세포에서는 MMP-2와 MMP-9 모두 발현이 증가하였다. 4시간 배양한 세포와 비교해 볼 때 12시간 배양한 세포에서 MMP-2가 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 MMP-9은 4시간 배양한 세포에서는 볼 수 없었으나 12시간 배양

한 세포에서는 MOI가 20, 50, 100으로 증가 할수록 MMP의 발현이 증가하는 것을 볼 수 있었다(Figure 2).

3. Dysadherin과 E-cadherin의 발현

세포-세포간의 부착을 매개하는 세포부착 단백질을 확인하기 위해 기관지 상피세포 내로 균을 침입시킨 후, 배양 시간 별 MOI를 증가시킨 세포의 단백질을 분리하여 Western blot analysis으로 dysadherin과 E-cadherin의 발현을 확인하였다. 그 결과 50 KDa의 dysadherin 발현이 4시간, 12시간에서 MOI가 증가할수록 발현이 증가하였다. 이외는 대조적으로 dysadherin에 의해 하향조절 된다고 알려져 있는 E-cadherin은 12시간 배양한 세포의 MOI 100에서는 MOI가 다른 군에 비해 오히려 발현이 감소하였다(Figure 3).

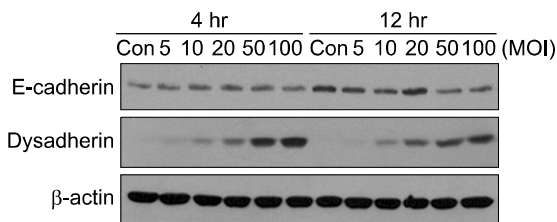


Figure 3. Differential expression patterns of E-cadherin and Dysadherin. Whole cell lysates was prepared and used for E-cadherin, Dysadherin, and actin Western blot analysis.

4. MMP 저해제(GM6001)에 의한 CFU/ml의 변화 양상

기관지 상피세포 내 균의 침입과 증식에 따른 MMPs의 발현이 증가하여, MMPs의 기능을 확인하고자 MMP의 광범위 저해제인 GM6001을 처리하여 CFU/ml의 변화를 측정하였다.

GM6001 (40 μ M)은 균을 침입시키기 전 40시간 처리하여 상피세포를 배양 한 후 MOI 10, 50으로 균 수를 산정하여 상피세포 내로 침입시켰다. 먼저 GM6001을 전 처리한 후 2시간 동안 균을 침입시켰으며 항생제가 함유된 배지로 1시간 배양하여 세포 외 균을 제거한 후 각각의 세포를 4시간, 12시간 동안 배양하였다. 4시간 배양한 세포 내 균 수를 측정한 결과 MOI 10과 50에서는 GM6001을 처리한 군과 대조군을 비교 했을 때 CFU/ml의 유의한 변화는 관찰되지 않았고, 12시간 동안 MOI 10, 50으로 균을 침입시켜 배양한 세포에서는 MOI 50에서 MMP 저해제를 사용한 군이 대조군에 비해 유의하게 CFU/ml가 감소하였다(Figure 4).

고 찰

본 연구에서는 황색포도알균을 기관지 상피세포 (BEAS-2B)에 침입시킨 후 침입 정도와 시간에 따른 균의 수를 확인함으로써 세포 내로의 침입과 증식을 살펴보고자 하였다. 세포에 대한 균의 수, 즉 MOI가 증가 할수록 세포 내로 침입하는 균의 수도 증가하는 것을 확인 할 수 있었다(Figure 1). 또한 균을 침입시킨 후 4시간 배양한

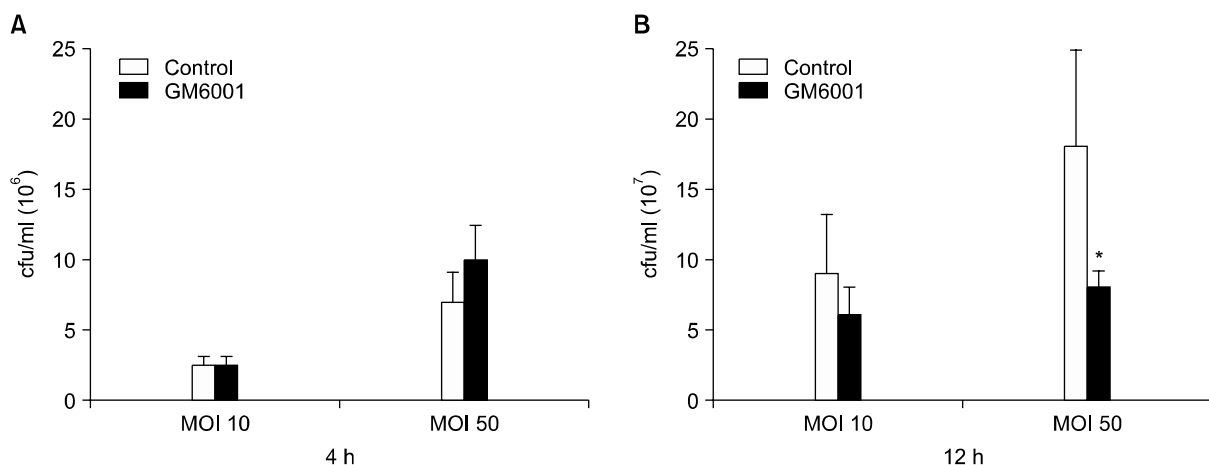


Figure 4. Intracellular bacterial survival and replication of *S. aureus* in BEAS-2B cells treated with MMP inhibitor, GM6001 (40uM). (A) 4 h, (B) 12 h. * $p < 0.05$ versus control.

세포와 12시간 배양한 세포에서의 균 수를 측정해 볼 때, 12시간 동안 배양한 세포의 균 수가 4시간 배양한 세포에 비해 유의하게 증가하는 것을 확인 할 수 있었다(Figure 1). 따라서 황색포도알균은 균 수와 시간에 비례하여 숙주 세포 내로 침입하고 증식하는 것으로 보인다.

황색포도알균이 상피세포와 인체 혈관내피세포에 침입하여 그 결과로써 세포사멸을 유도한다는 보고가 있다^{8,9}. 그러나, 본 실험에서는 균을 침입시킨 후 4, 6, 8, 12시간에서 세포의 수는 차이가 없었고, 세포사멸 또한 대조군과 차이가 없었다(결과는 생략함). 이러한 차이는, 실험조건에 따라서 발생한 것으로 추정하였다.

본 연구에서는 황색포도알균이 기관지 상피세포 내로 침입 및 증식함에 따라 상피세포의 배양액에서 MMP-2와 -9의 분비가 증가함을 알 수 있었다(Figure 3). 균을 인식한 세포에서 생성된 MMPs가 세포 외 구성성분을 분해함으로써 균의 침입에 대한 유도 여부를 확인하기 위해 상피세포에 MMP의 활성 억제를 시킨 후 균의 침입 정도를 관찰하고자 했다. MMP의 활성 억제제인 GM6001을 상피세포에 전 처치하여 균을 침입시킨 후 균의 집락수를 확인해 본 결과 MOI 50으로 12시간 배양한 군에서 세포 내 균의 집락수가 유의하게 감소하였다(Figure 4). 그러나 4시간과 12시간 배양한 MOI 10인 군에서는 균의 집락수가 유의한 차이를 보이지 않았다. 따라서 균의 침입이 MMP에 의해서 일부 조절되는 것으로 추정하였다.

분비 단백질로 알려진 MMPs는 다양한 정상 발생 과정과 병리과정중의 조직세포에서 주로 발현되며, 현재까지 알려져 있는 거의 모든 ECM의 구성성분을 분해 시키는 것으로 알려져 있다¹⁰. 또한 MMPs는 상피세포(epithelial cell)와 같은 구조적, 형태적 특성을 지닌 세포에서 생성될 뿐만 아니라 대식세포와 같은 염증반응에 관여하는 세포에서도 생성된다¹¹. 호흡기 상피세포나 면역세포의 침윤에 의해 MMP-9의 생성이 증가함에 따라 염증성 폐 질환이 발생하거나 MMP-9의 비정상적인 발현 및 활성으로 인해 조직손상을 유도 한다¹²⁻¹⁴. 본 실험에서 MMP-9의 발현이 시간, 용량-의존적으로 증가하는 것은 균에 의한 숙주세포의 자극이 심해질수록 발현이 증가하게 되고, 이러한 결과로 조직의 손상을 더욱 초래할 것으로 보인다.

기관지 상피세포에서의 E-cadherin 단백질 발현은 전체적으로 12시간 배양한 세포에서 증가 하였으나, MOI 50과 100으로 12시간 배양한 세포에서는 감소하는 것을 확인할 수 있었다(Figure 3). 이와는 대조적으로 Dysadherin의 경우 MOI가 증가할수록 그리고 배양시간이 길수록 발

현은 증가하였다(Figure 3). E-cadherin은 대부분 상피세포에 존재하며 상피세포 간의 접착 복합체 형성에 중요한 역할을 한다¹⁵. Dysadherin은 세포막의 당 단백질로 세포 간의 접합을 억제 하는 기능을 가지며, 이는 E-cadherin의 발현을 억제함으로써 일어난다고 알려져 있다¹⁶. Dysadherin이 증가함으로써 E-cadherin이 억제됨에 따라 정상 상피세포에서 기능을 수행해야 할 E-cadherin의 역할이 감소할 것으로 보인다.

이상의 결과들을 요약해 보면, 황색포도알균이 상피세포로 침입할 때 상피세포내의 dysadherin과 E-cadherin 변화를 초래하며, MMPs의 활성화로 인한 세포 외 바탕질의 손상이 황색포도알균이 세포 내로 침입하는 기전과 연관되어 있을 것으로 추정된다.

요 약

연구배경: 본 연구에서는 황색포도알균이 숙주세포 내로 침입하여 증식하는 정도를 관찰하고자 한다. 이때 세포 외 바탕 단백질의 변화가 수반될 것으로 가설을 설정하고, 이러한 변화에 영향을 미칠 것으로 생각되는 matrix metalloproteinase (MMP)의 발현과 역할에 대해 연구하고자 하였다.

방 법: 황색포도알균은 $10^6 \sim 10^7$ CFU/ml을 10^5 개의 기관지상피세포인 BEAS-2B 세포에 2시간 동안 침입시킨다. 이후 세척으로 세포 밖에 있는 황색포도알균을 제거한 후, BEAS-2B 세포를 다양한 시간 동안(4, 6, 8, 12 시간) 배양한 후 황색포도알균의 집락수(CFU/ml)를 측정하였고, 단백질을 분리하여 세포 외 바탕단백질의 발현 정도와 MMP의 활성도를 측정하였다. 또한 MMP 억제제인 GM6001을 전 처치한 후 황색포도알균을 세포에 침입시킨 후 세포 내에서의 균의 집락수 및 세포 외 바탕단백질의 변화를 관찰하였다.

결 과: 황색포도알균의 집락을 측정한 결과 4시간과 12시간을 비교해 볼 때 MOI가 증가할수록, 감염시킨 시간이 길수록 숙주세포 내로 침입이 유의하게 증가하였다. BEAS-2B 세포에서 황색포도알균을 침입시킨 시간이 길수록, MOI가 증가할수록 MMP 2 및 MMP 9의 활성도와 dysadherin의 발현은 증가하였고, 이와는 대조적으로 E-cadherin의 발현은 감소하였다. MMP억제제인 GM6001을 전 처치 한 결과 황색포도알균의 세포 내 침입을 유의하게 감소시켰다.

결 론: 황색포도알균이 기관지 상피세포 내로 침입할

때 dysadherin 및 E-cadherin 같은 세포 외 바탕 단백질의 변화를 동반하며, MMP 활성도가 균의 세포 내 침입에 관여하는 것으로 보인다.

참 고 문 헌

1. Bals R, Weiner DJ, Wilson JM. The innate immune system in cystic fibrosis lung disease. *J Clin Invest* 1999; 103:303-7.
2. Garrouste-Orgeas M, Chevret S, Arlet G, Marie O, Rouveau M, Popoff N, et al. Oropharyngeal or gastric colonization and nosocomial pneumonia in adult intensive care unit patients. A prospective study based on genomic DNA analysis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1647-55.
3. Hamill RJ, Vann JM, Proctor RA. Phagocytosis of *Staphylococcus aureus* by cultured bovine aortic endothelial cells: model for postadherence events in endovascular infections. *Infect Immun* 1986;54:833-6.
4. Kahl BC, Goulian M, van Wamel W, Herrmann M, Simon SM, Kaplan G, et al. *Staphylococcus aureus* RN6390 replicates and induces apoptosis in a pulmonary epithelial cell line. *Infect Immun* 2000;68:5385-92.
5. Yoon SO, Park SJ, Yun CH, Chung AS. Roles of matrix metalloproteinases in tumor metastasis and angiogenesis. *J Biochem Mol Biol* 2003;36:128-37.
6. Nam JS, Hirohashi S, Wakefield LM. Dysadherin: a new player in cancer progression. *Cancer Lett* 2007;255:161-9.
7. Balakrishnan A, Patel B, Sieber SA, Chen D, Pachikara N, Zhong G, et al. Metalloprotease inhibitors GM6001 and TAPI-0 inhibit the obligate intracellular human pathogen *Chlamydia trachomatis* by targeting peptide deformylase of the bacterium. *J Biol Chem* 2006;281: 16691-9.
8. Bayles KW, Wesson CA, Liou LE, Fox LK, Bohach GA, Trumble WR. Intracellular *Staphylococcus aureus* escapes the endosome and induces apoptosis in epithelial cells. *Infection and Immunity*. *Infect Immun* 1998;66: 336-42.
9. Menzies BE, Kourteva I. Internalization of *Staphylococcus aureus* by endothelial cells induces apoptosis. *Infect Immun* 1998;66:5994-8.
10. Rooke J, Pan D, Xu T, Rubin GM, KUZ, a conserved metalloprotease-disintegrin protein with two roles in *Drosophila* neurogenesis. *Science* 1996;273:1227-31.
11. Bove PF, Wesley UV, Greul AK, Hristova M, Dostmann WR, van der Vliet A. Nitric oxide promotes airway epithelial wound repair through enhanced activation of MMP-9. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007;36:138-46.
12. Dik WA, van Kaam AH, Dekker T, Naber BA, Janssen DJ, Kroon AA, et al. Early increased levels of matrix metalloproteinase-9 in neonates recovering from respiratory distress syndrome. *Biol Neonate* 2006;89:6-14.
13. Kim JH, Lee SY, Bak SM, Suh IB, Lee SY, Shin C, et al. Effects of matrix metalloproteinase inhibitor on LPS-induced goblet cell metaplasia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004;287:L127-33.
14. Okamoto T, Valacchi G, Gohil K, Akaike T, van der Vliet A. S-nitrosothiols inhibit cytokine-mediated induction of matrix metalloproteinase-9 in airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002;27:463-73.
15. Takeichi M. Cadherins: a molecular family important in selective cell-cell adhesion. *Annu Rev Biochem* 1990; 59:237-52.
16. Batistatou A, Scopa CD, Ravazoula P, Nakanishi Y, Peschos D, Agnantis NJ, et al. Involvement of dysadherin and E-cadherin in the development of testicular tumours. *Br J Cancer* 2005;93:1382-7.