

천식 연구에서 사용되는 단일세포 RNA 시퀀싱 분석

황유경,^{1,2,3} 윤정은,¹ 최준표,¹ 김세훈,^{1,2,4} 장윤석^{1,2,3,4}¹분당서울대학교병원 알레르기내과, ²서울대학교 의과대학 내과학교실, ³서울대학교 의과대학 임상외과학과, ⁴서울대학교 의학연구원 알레르기 및 임상면역연구소

Single cell RNA sequencing used in asthma research

Yu-Kyoung Hwang,^{1,2,3} Jeong-Eun Yun,¹ Jun-Pyo Choi,¹ Sae-Hoon Kim,^{1,2,4} Yoon-Seok Chang^{1,2,3,4}¹Division of Allergy and Clinical Immunology, Department of Internal Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, Seongnam; ²Department of Internal Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul; ³Department of Clinical Medical Science, Seoul National University College of Medicine, Seoul;⁴Institute of Allergy and Clinical Immunology, Medical Research Center, Seoul National University, Seoul, Korea

Asthma is an allergic disease characterized by chronic inflammation of the airways, leading to bronchoconstriction and excessive mucus production with symptoms of dyspnea, wheezing, and cough. It involves various underlying mechanisms such as eosinophilic, neutrophilic, mixed, and pauci-cellular, exercise-induced, occupational, and obesity-related asthma. Asthma is a mostly reversible condition involving several cells and cytokines, leading to chronic airway inflammatory responses, and showing the diversity in asthma phenotypes and complexity. Recent advancements using single-cell RNA sequencing allow distinguishing and analyzing RNA sequences at each cellular level within complex and heterogeneous cell groups. This method has also been applied to study asthma mechanisms, enabling us to predict intercellular interactions triggering asthma and identifying cellular changes characterized by specific molecular-cellular phenotypes. In our study, according to the PRISMA (preferred reporting items from systematic review and meta-analysis) guidelines, we systematically reviewed trends in asthma-related immune and structural cell research using single cell RNA sequencing, highlighting potential therapeutic interventions, and pinpointing opportunities for novel biomarker discovery. (*Allergy Asthma Respir Dis* 2023;11:167-179)

Keywords: Single cell RNA sequencing, Single cell RNA, Asthma

서론

천식은 기관지 수축과 과도한 점액 분비에 의한 기관지 내경 협착이 동반되는 기도의 만성 질환으로, 기침, 호흡곤란, 천명 등 다양한 호흡기 증상과 관련된 대표적인 알레르기질환이다.¹ 천식은 전 세계적으로 3억 5천 명 이상 이환되어 있는 것으로 알려져 있고, 고령 및 기후변화에 따라 천식의 유병률은 증가하고 있는 추세이다.¹⁻³ 천식의 급성 악화로 인한 높은 사망률 외에도 삶의 질과 신체적 기능을 감소시키고 경제적 부담을 가중시킨다.⁴ 천식은 발병 이전에 다양한 세포가 관여하며 호산구성 천식, 호중구성 천식, 운동 연관성 천식, 직업성 천식, 비만 관련성 천식 등 각각 다른 면역학적 특성을 바탕으로 다양한 표현형을 나타내는 이질적인 질병이다.^{4,5}

치료의 발달로 천식 조절에 흡입스테로이드와 베타2-아드레날린 수용체 작용제의 조합이 효과적인 것을 알게 되었지만, 규칙적으로 치료하지 않으면 일상생활에 영향을 주게 되며 일부 환자에서는 질병의 이질성 혹은 개인 간의 차이로 인하여 치료 효과가 좋지 않다. 또한 10%–15% 환자에서는 스테로이드에 대한 내성이 생기기도 하며, 이로 인해 입원율이 증가하기도 한다.^{6,7} 전신성 스테로이드의 사용은 시상하부-뇌하수체-부신축 기능 장애를 일으킬 수 있으며, 생물학적 제제의 치료는 경제적 비용을 부담시키고 type 2 도움 T 세포(type 2 helper T cell, Th2) 염증반응이 아닌 천식 아형에서는 효과가 명확하지 않다.⁸ 따라서 천식의 발병 기전과 치료는 더 많은 연구가 필요하다.

기존의 전사체(transcriptome) 염기서열 분석방법은 혈액이나 조

Correspondence to: Yoon-Seok Chang  <https://orcid.org/0000-0003-3157-0447>

Division of Allergy and Clinical Immunology, Department of Internal Medicine, Seoul National University Bundang Hospital, Seoul National University College of Medicine, 82 Gumi-ro 173Beon-gil, Bundang-gu, Seongnam 13620, Korea

Tel: +82-31-787-7023, Fax: +82-31-787-4052, Email: addchang@snu.ac.kr

• This research was funded by Seoul National University Research Grant, 800-20220483.

Received: August 16, 2023 Revised: August 31, 2023 Accepted: September 1, 2023

© 2023 The Korean Academy of Pediatric Allergy and Respiratory Disease
The Korean Academy of Asthma, Allergy and Clinical Immunology
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/>).

직 샘플의 많은 수의 세포 집단이 필요하며, 광범위한 세포 군집에서 천식 메커니즘에 대한 전반적인 통찰력을 제공하지만, 평균적인 발현 수준만을 제공하여 개별 세포의 세부 특성은 파악할 수 없으므로 질병에 대한 기전을 분석하기에는 한계가 있다. 이와는 대조적으로 단일 세포 RNA 시퀀싱(single cell RNA sequencing, scRNA-seq) 기술은 개별 세포 수준에서 RNA 서열을 분석하므로 세포의 고유한 역할과 특정 환경 내에서의 세포 기능에 대하여 이해할 수 있다.⁹ 최근에는 천식 연구에서도 scRNA-seq 분석을 이용하여, 과거의 전사체 데이터 분석방법에서 확인된 세포 군집에서 나아가, 질병의 발병에 관여하는 여러 세포들을 규명하고 있다.¹⁰ 이 논문에서는 천식 발병에 관여하는 다양한 세포 집단의 역할과 상호작용을 세포 유형에 따라 정리하였고, 천식의 주요 분자적인 메커니즘과 효과 세포에 대한 포괄적이고 체계적인 연구를 위한 새로운 연구 아이디어와 해결책을 제시한다.

천식의 병인 기전

천식은 만성 염증질환으로서 발병 기전은 아직까지 부분적으로만 밝혀져 있다. 최근 질병의 유전체 관련 연구는 다양한 면역 반응과 상피 장벽 기능 장애가 천식의 발병에 기여한다는 것을 밝혀냈다.^{11,12} 천식의 병리학적 과정에는 다양한 세포와 세포 구성 요소가 관여하는데, 대부분의 알레르기성 천식 발병에는 Th2가 핵심적인 역할을 한다. 알레르겐에 노출될 경우, 상피세포는 특정 항원을 인식하고 이를 바탕으로 수지상세포(dendritic cell, DCs)를 활성화시키는 염증 인자를 방출한다.¹³ 이 활성화된 세포들은 기도 내에서 interleukin (IL)-4, IL-5, IL-9, IL-13과 같은 사이토카인을 분비하게 되며, 이는 호산구성 염증반응을 촉진하고, immunoglobulin E (IgE) 생성을 유도한다.¹⁴ IgE는 비만세포에서 히스타민이나 시스테닐 류코트리엔 등을 방출하게 하여 기관지 수축이나 부종, 점액 분비를 촉진시킨다.^{15,16} 면역 관용의 파괴는 알레르겐에 의해 유발되는 기도질환과 관련되며, 조절 B 세포(regulatory B cell, Breg)는 알레르기성 천식의 발병 억제에 중요한 역할을 한다.¹⁷ Type 2 선천성 림프구(type 2 innate lymphoid cell, ILC2s)는 천식에서 IL-4, IL-5, IL-13의 생성과 T 세포 조절에서 중추적인 역할을 담당한다.¹⁸ 또한 호중구 수치 상승과 T 도움 17 세포(T helper type 17, Th17) 면역 반응은 중증 천식의 병리학적인 진행에 관여한다.^{19,20} 이러한 염증 반응은 상피세포에 영향을 주어 기도 과민성, 가역적인 공기 흐름 제한, 그리고 기도의 개형(remodeling)을 유발한다.²¹

기도 상피세포는 흡입 시 외부 환경과 폐 사이에 위치하는 연결 통로로서 외부의 균으로부터 신체를 보호하는 첫 번째 장벽이다. 따라서 천식 환자에서 기도의 염증반응 발생과 경과에 있어 중요한 역할을 한다.²² 상피세포벽이 손상되면, 상피세포는 다양한 성장 인자를 분비해 섬유아세포와 근섬유아세포를 활성화시키며, 이로 인

해 콜라겐이 과도하게 축적되어 평활근이 증가하게 된다.²³ 또한 상피세포는 선천 면역에 필수적인 다양한 사이토카인을 생성하고, Th2 세포와 ILC2의 활성화에 관여하는 IL-25와 IL-33 그리고 TSLP (thymic stromal lymphopoietin)와 같은 선천성 사이토카인들을 분비한다. 그 결과, Th2 면역반응에서 중요한 역할을 하는 IL-13을 유도하여 기도 폐색을 유발하는 핵심 요소로 작용한다.^{24,25}

이와 같이 여러 가지 세포와 사이토카인 등이 천식의 발병에 관여하고, 이로 인해 천식 표현형의 다양성과 발병 기전에서의 복잡성이 나타날 것으로 생각하고 있다.

단일세포 RNA 시퀀싱 기술의 천식 발병 기전 연구에서의 적용

전통적인 전사체 서열 분석 방법은 혈액이나 조직 샘플의 많은 수의 세포 집단이 필요하며, 모든 샘플들의 평균적인 발현을 대변하므로 각각의 세포에 대한 특성을 알기는 어렵다. 그러나 scRNA-seq 분석은 단일 세포 수준에서의 RNA 서열을 구분하고 분석하는 기술로서, 단일 세포를 단위로 조직이나 체액 샘플의 세포 집단을 분리하고, 전체 전사체의 증폭과 고처리량 분석을 시행할 수 있다.⁹ ScRNA-seq 과정은 단일 세포의 준비, 단일 세포의 라이브러리 구축 및 시퀀싱, 그리고 생물정보학적 데이터 분석의 세 가지 주요 단계로 구성된다. 단일 세포의 분리에는 샘플의 상태와 필요한 세포 수, 분석 목적에 따라 다양한 기술을 사용할 수 있으며, 획득한 단일 세포를 용해한 후, 핵산(nucleic acid)을 이용하여 이를 증폭시켜 시퀀싱한다.²⁶ 이러한 scRNA-seq 분석을 이용하여 현재는 복잡한 세포와 이질적인 세포 군 중에서 단일(혹은 개별) 세포 수준의 유전자 발현을 연구할 수 있게 되어 희귀한 세포를 식별하고, 세포의 다양성을 이해할 수 있게 되었다.²⁷ 또한 질병의 특정한 미세 환경과 치료 수준에서 세포의 기능을 이해할 수 있게 되면서 생물 의학 분야 전반에 걸쳐 새로운 유형의 식별에서부터 질병에 특화된 병리학적 과정을 탐구할 수 있게 되었고, 바이오마커의 발견과 잠재적 치료 대상을 발견할 수도 있게 되었다.^{21,27} 천식의 기전을 연구하는 데에도 이러한 분석은 널리 이용되고 있으며, 천식을 유발하는 세포 간의 상호작용과 특정 분자세포학적인 표현형으로 특징되는 세포의 변화를 예측할 수도 있게 되었다.²² 결과적으로 천식의 발병 기전에 관여하는 밝혀지지 않은 세포를 찾거나 새로운 바이오마커를 찾는 등 질병의 이질적인 특징을 고려하여 다양한 메커니즘과 개인화된 치료에 대한 관점으로 접근할 수 있게 되었다.

체계적 문헌 검토 방법

이 연구에서는 PRISMA (preferred reporting items from systematic review and meta-analysis) 항목 지침에 따라 체계적인 문

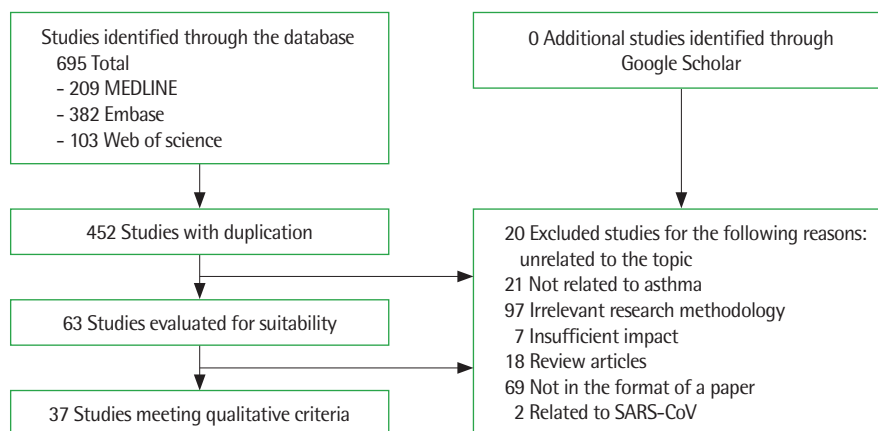


Fig. 1. This study was performed according to the PRISMA (preferred reporting items from systematic reviews and meta-analyses) guideline. SARS-CoV, severe acute respiratory syndrome coronavirus.

헌 검토를 수행했다.²⁸ MEDLINE, Embase 및 Web of science core collection의 3개 데이터베이스에 대한 검색이 수행되었고 google Scholar 검색 및 인용 참조 검색도 수행되었다. 날짜와 언어 제한은 없었다. 검색어의 키워드에는, 분류 1: “asthma” AND 분류 2: “single cell analysis”, “single cell”, “scRNA”, “single cell RNA”, “single cell RNA seq”, “single cell transcriptome”, “single cell RNA sequencing”, “single cell RNA-seq”, “single cell transcriptomics”가 포함되었다.

문헌 검색을 통해 695개의 논문이 확인되었고 37개의 연구가 적합하다고 판단되었다(Fig. 1). 연구 결과의 특성은 Table 1로 정리하였다. 발표된 모든 연구는 2017년부터 2023년까지 포함되었다.

단일세포 RNA 시퀀싱 기반의 천식 관련 면역/ 구조 세포 연구

1. 면역세포

1) T 세포 관련

최근에는 천식을 비롯한 다양한 폐 질환을 가진 환자들의 면역 세포를 대상으로 단일 세포의 세포형태학적 분석과 RNA 염기서열 분석을 통해 해당 세포의 단백질체와 전사체의 특성들이 연구되었다.²⁹ 특히, T 세포와 그 아형들은 천식의 발병 과정에서 기도의 염증반응을 일으키는 주요한 요소로 간주된다.

CD4+ T 세포는 세포-매개 면역반응에서 핵심적인 역할을 하며, 활성화되면 도움 T 세포(T helper cell, Th)의 다양한 하위 그룹으로 분화한다. Th 세포에는 Th1, Th2와 같은 아형들이 있고, 이들 간의 불균형이 호산구성 천식에 영향을 미친다. 또한, 조절 T 세포(regulatory T cell, Treg)와 Th17의 불균형은 호중구성 천식의 발생과 관련이 있다.^{30,31} Tibbitt C 연구진은 집먼지진드기(house dust mite, HDM) 알레르기성 천식 마우스 모델에서 림프절, 폐 조직, 그리고

기도의 Th 세포를 획득하여 scRNA-seq 분석하였다. 연구진은 기도에서 Foxp3+Treg, Th1, Th2, Th17 세포의 하위 집단이 많이 있음을 발견하였다. 그러나 폐 조직과 림프절에서는 이러한 Th 관련 하위 세포 집단이 상대적으로 적게 발견되었다. 기도 내에서는 *Cd200r1*, *Il6*, *Plac8*, *Igfbp7*를 포함한 Th2 세포와 관련된 유전자들이 활발하게 발현되고 있다는 것을 확인했다. 또한 추가적인 분석을 통하여 Th 세포의 다양성을 확인하고, Th2 하위 세포 집단에서 지질 대사와 관련된 경로를 촉진하는 것을 확인함으로써, 당분 대사와 지질 대사가 Th2 매개 면역반응을 촉진하는데 중요한 역할을 하는 것을 밝혀냈다.³²

기억 Th2 세포 군집은 IL-4, IL-5, IL-13를 포함한 사이토카인을 높은 수준으로 분비하는 것으로 알려져 있다.^{33,34} IL-9 역시 Th2 세포로부터 분비될 수 있으며, 만성적인 알레르겐 항원의 자극 후 CD4+ T 세포에 의해서도 발현된다.³⁵ Ulrich B 연구진은 scRNA-seq 분석을 통해 만성적으로 특정 알레르기 항원에 만성 노출된 경우 IL-9을 분비하는 특정한 CD4+ T 세포의 부분 집단(CD4+ST2+ T 세포)을 확인하였다. 또한, 이 T 세포의 IL-9 분비가 IL-33에 의해 증폭되는 것을 발견하였다. 이 연구를 통해, 만성적인 알레르기성 기도 염증반응의 기억 모델을 이용하여 다중 사이토카인을 생산하는 CD4+ T 세포 집단에서의 IL-9의 분비가 핵심적인 역할을 하는 것을 확인하였다.³⁵

Healey D 연구진은 *Alternaria alternate* 추출물에 감염된 마우스 모델의 폐 조직 세포를 이용하여 scRNA-seq 분석을 하였고 산화적 대사 과정과 당 대사과정에 특이적인 유전자 발현이 증가되어 있음을 확인하였다. 이러한 결과는 다른 HDM, lipopolysaccharide (LPS) 천식 관련 모델에서도 비슷하게 관찰되었다. glucose transporter 1 (Glut1)과 glutaminase (GLS) 억제제는 마우스 모델에서 천식 염증과 T 세포의 사이토카인 생성을 억제하였다. 또한 이 억제제들은 텍사메타손의 면역 억제 효과를 강화하는 것으로 나타

Table 1. The summary on scRNA-seq studies

Study	Cell classification	Species	Tissue	Cell type	Identified molecules/pathways	Study characteristics	Transcriptomic platform	ScRNA-seq data source ID
Sage et al. ²⁷ (2022)	Immune cells	Horse	BALF	Monocyte, T cells, B cells, dendritic cells, monocyte, mast cells	-	Study of equine asthma phenotypes	10x genomics, Illumina NovaSeq 6000	-
Aranda et al. ³⁰ (2023)	Immune cells	Human	Peripheral blood	B cells	FCER2/CD23, IL4R, IL13RA1, IGHE, IL-4/IL-13 pathway	IGHE is involved in IgE production	Illumina NovaSeq	-
Tibbitt et al. ³² (2019)	Immune cells	C57BL/6J mice	Lung, trachea, airway epithelial, mediastinal lymph node	Th cells subtype	Cd200r1, Il6, Plac8, Igfbp7	Involvement of lipid metabolism in Th2 cell-mediated immune responses	SMART-Seq2	GSE131935
Ulrich et al. ³⁵ (2022)	Immune cells	C57BL/6 mice	Lung	CD4 T cells subtype, ILC2	Il1r1, Il9r, Retnla, Scgb1a1, Mgp	IL-9 from memory T cells in tissue mediates memory responses to allergens in the airways	10x genomics, NovaSeq 6000	GSE190795
Healey et al. ³⁶ (2021)	Immune cells	Human, C57BL/6 mice	BALF	T cells	IL-17, Glut1, glutaminase (GLS)	Glut1, GLS inhibition reduces cytokine production and enhances steroid effects	10x genomics	GSE163572
Izumi et al. ⁴¹ (2021)	Immune cells	C57BL/6J mice	Lung, BALF	Dendritic cells, T cells	Ly-6C, Ccr7, Il1b	Th17, Th2 differentiation is promoted by dendritic cells (cDC2) in the lungs	10x genomics	GSE155527
Wallrapp et al. ⁶⁷ (2017)	Immune cells	C57BL/6J mice	Lung	ILC2	Nmur1, NMU-NMUR1 signaling	NMUR1 signaling increases inflammation-related ILC2 responses	10x genomics, SMART-Seq2, Illumina NextSeq 500	GSE102299
Trivedi et al. ⁵⁹ (2022)	Immune cells	BALB/c mice	Lung	ILC2	Estradiol, Nfkb1, ILC2, NF-kB signaling	Estrogen acts as an ILC inhibitor	Illumina NovaSeq 6000	Agilent 2200 TapeStation
Verma et al. ⁶⁸ (2021)	Immune cells	C57BL/6 mice	Lung	ILC2	Nr4a2, Zab1, Bach2, JunD, Fhl2, FosB, Stat6, Sieb2, MPP7	ILC2 is characteristic of the memory-related asthma phenotype	ICell8, Illumina HiSeq 4000	GSE172258
Seumois et al. ³⁷ (2020)	Immune cells	Human	Peripheral blood	Th cells subtype	IL-19, TNFSF10	Increased in Th ₁ reg cell-associated responses	10x genomics, Illumina HiSeq 2500	GSE146170
Wang et al. ³⁸ (2022)	Immune cells	C57BL/6 mice	Peripheral blood, airway epithelial cell, BALF	B cells	IL-10, FoxO1, Prdm1, Blimp-1, PI3K-AKT pathway	FoxO1 is a regulator of B10 cell differentiation	10x genomics, NovaSeq 6000	GSE174739, GSE132042, PRJEB31843
Li et al. ⁴⁴ (2022)	immune cells	C57BL/6J mice	Lung	Monocyte	Il4ra, Runx1, Cebpb, Jak2, Ctmb1, TLR pathway, cAMP signaling	G-CSF ^{hi} /FcγRIIb ⁺ neutrophil subtype is involved in neutrophilic asthma	10x genomics, NovaSeq 6000	-
Rademacker et al. ⁴⁶ (2019)	Immune cells	BALB/c mice	Lung	CXCR4 lung monocyte	-	Effects on inflammation in type 2 allergic asthma	10x genomics, Illumina NextSeq 500	ArrayExpress database at EMBL-EBI (E-MTAB-6902)
Wang et al. ⁵¹ (2021)	Immune cells	BALB/c mice	Lung	CD8 memory T cells, ILC2, basophils	IL-13	Important cytokines in acute exacerbations of asthma	10x genomics, Illumina HiSeq 4000	-

(continued)

Table 1. The summary on scRNA-seq studies (Continued)

Study	Cell classification	Species	Tissue	Cell type	Identified molecules/pathways	Study characteristics	Transcriptomic platform	ScRNA-seq data source ID
Chen et al. ⁵² (2021)	Immune cells	Human	Peripheral blood	CD4, CD8 T cells, NK cells, B cells, dendritic cells	JAK1	Increased CD4 T-cell, JAK1 expression in severe asthma	Drop-Seq, Illumina, Hi-Seq 2000	GSE172495
Li et al. ⁵³ (2021)	Immune cells	Human	BALF	Monocyte, CD8 T cells, macrophage	Eukaryotic initiation factor 2, ephrin receptor, CXCR type 4 signaling	Severe asthma-related genes expressed in different cell populations	BD Rhapsody single-cell analysis system	-
Liu et al. ⁵⁷ (2022)	Immune cells	BALB/c mice	Lung, BALF	CD11b dendritic cells	Creb5	Related to asthma exacerbations caused by allergen antigens and viruses	10x genomics, Illumina HiSeq 4000	-
Maghbell et al. ⁵⁸ (2021)	Immune cells	Human	Lung	Macrophage, NK cells, monocyte	CREM, CD83, BTG3, NAMPT, RASGEF1, AREG, HBEGF, EREG, VEGF, CXCL2, REL, cAMP signaling	Longer exposure to beta-agonist decreases cAMP signaling-related gene expression	10x genomics	GSE136587
Wang et al. ⁶¹ (2023)	Immune cells	Human	BALF	T cells	CST1, CST2, CST4, POSTN, NRTK2, fatty acid metabolism pathway	Prognosis for recurrent wheezing	-	GSE118761
Ma et al. ⁶³ (2023)	Immune cells	BALB/c mice	Lung	CD81, T cells	PD00, Pparg, Gpcpd1, Lpcat3, Phpl1, Pla2g1b, Adss, Lcat, Gmpr, Ampd2, Adss1, Adss, purine, glycerolipid metabolism pathway	PD00 affects purine and glycerolipid metabolism in an asthma model	10x genomics, STAR	-
Goriunova et al. ⁶³ (2023)	Immune cells	Human	Lung	Epithelial cells	Orai1, STIM1 (stromal interaction molecule 1)	Activation of lung inflammation in asthma	-	-
Helou et al. ⁴⁵ (2023)	Structural cells	C57BL/6 mice	Lung	T cells	PD-1	Increased in neutrophil-associated inflammation	Biolegend, 10x genomics, Illumina HiSeq X Ten	GSE210349
Wang et al. ⁶⁵ (2022)	Structural cells	Monkey	Lung	Epithelial cells, lung endothelial cells, fibroblasts, smooth muscle cells	-	Airway remodeling and inflammatory cells in a monkey model of asthma	10x genomics, Illumina NovaSeq 6000	GSE213085
Jiang et al. ⁶⁹ (2022)	Structural cells	C57BL/6	Lung	Epithelial cells	VEGFα, KDR, MEK/ERK kinase, Sox9	VEGFα/KDR pathway protects the airway epithelium against mucous metaplasia	10x genomics	GSE171571
Jackson et al. ⁷² (2020)	Structural cells	Human	Bronchus, trachea, nasal airway epithelial	Airway epithelial cells, mucous secretory cells	IL-13	Induces mucous secretion expression on airway epithelial cells	ICELL8, Illumina HiSeq 2500	GSE145013s
Koh et al. ⁷³ (2023)	Structural cells	Human	Airway epithelial cell	Epithelial cells	IL-13, SPDEF, MUC5AC, INF-α, IL-17	Identifying genes that are activated by IL-13	10x genomics, Illumina NovaSeq 6000	GSE185199
Schröder et al. ⁷⁹ (2022)	Structural cells	C57BL/6 mice	Lung, BALF	Airway epithelial cells, T cells, dendritic cells	IL-37, IL-1β, IL-33	IL-37 counteracts the effects of IL-1β and IL-33	10x genomics, Illumina NextSeq	GSE122762
Burgess et al. ⁷⁷ (2020)	Structural cells	Human	Trachea	Epithelial cells	Periostin, IL-13, POSTN, MMP9, MUC5B, MUC5AC	Type 2 associated asthma and mucous secretion	10x genomics	-

(continued)

Table 1. The summary on scRNA-seq studies (Continued)

Study	Cell classification	Species	Tissue	Cell type	Identified molecules/pathways	Study characteristics	Transcriptomic platform	ScRNA-seq data source ID
Everman et al. ⁸⁰ (2019)	Structural cells	Human	Lung, trachea, nasal epithelial cell	Airway epithelial cells, alveolar cells, lung immune cells, endothelial cells	-	CDHR3 is expressed in airway epithelial cells	ICELL8, Illumina HiSeq 2500	-
Montoro et al. ⁸¹ (2018)	Structural cells	C57BL/6J mice	Airway epithelial cell	Airway epithelial cells, Foxp1 lung ionocyte	Foxp1 ionocyte, cfr	Involved in the secretion of mucus in the airways	10x genomics, SmartSeq2	GSE103354
Burleson et al. ⁸⁴ (2019)	structural cells	Tet1 mice	Lung epithelial cell	Alveolar cells	Tdt1, Muc5ac, Il13, Il33, Il17a, Egfr, Tff2, IFN signaling, anyl hydrocarbon receptor (Ahr) signaling	Tdt1 is regulated by IFN, Ahr signaling pathways to suppress airway inflammatory responses	10x genomics, Illumina HiSeq 2000	GSE124922
Stark et al. ⁴⁹ (2022)	Immune/structural cells	C57BL/6 mice	BALF	Th cell subtype	IL-13, IL-5, IL-10, IL-17, IFN-gamma, Ifng, Il13, Foxp3	Reacting to a dog allergen extract	10x genomics	-
Headland et al. ⁵⁶ (2022)	Immune/structural cells	Human, C57BL/6 mice	Lung	Airway epithelial cells, goblet cells	Oncostatin M, Muc5ac, Muc5b, C1ca1, Il1a, Il1b, Il6, mucus secretion pathways	Involved in exacerbations of severe asthma caused by bacterial infections	10x genomics, Illumina HiSeq 4000	-
Vieira Braga et al. ¹⁶⁴ (2019)	Immune/structural cells	Human	Lung	Inflammatory and structural cells	Mucin cells, goblet cells, fibroblasts, Th2 IL-4/IL-13 signaling	Structural cell interactions decrease as interaction of Th2 cells increases	10x genomics, SmartSeq2	GSE130148

scRNA-seq, single cell RNA sequencing; BALF, bronchoalveolar lavage fluid; FCER2, Fc epsilon receptor 2; IL4R, interleukin-4 receptor; IL13RA1, interleukin-13 receptor subunit alpha 1; IGHE, immunoglobulin heavy constant epsilon; NIMUR1, neuromedin U receptor 1; NF-kB, nuclear factor kappa B; MPP7, MAGUK P55 scaffold Protein 7; TNFSF10, TNF superfamily member 10; PI3K-AKT, phosphoinositide-3-kinase-Akt; TLR, toll-like receptor; cAMP, cyclic adenosine monophosphate; NK, natural killer; JAK1, janus kinase 1; CXCR, C-X-C motif chemokine receptor; CREM, cAMP responsive element; BTG3, B-cell translocation gene 3; NAMPT, nicotinamide phosphoribosyltransferase; RASGEF1, Ras guanine nucleotide exchange factor 1; AREG, amphiregulin; HBEGF, heparin-binding epidermal growth factor; EREG, epiregulin; VEGF, vascular endothelial growth factor; CXCL2, C-X-C motif ligand 2; REL, c-Rel; CST1, cystatin SN; CST2, cystatin SA; CST4, cystatin S; POSTN, periostin; NRTK2, neurotrophic receptor tyrosine kinase 2; PD-1, programmed cell death-1; VEGFA, vascular endothelial growth factor A; KDR, kinase insert domain receptor; MEK/ERK, mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase; SPDEF, sterile alpha motif pointed domain containing Ets transcription factor; MUC5AC, mucin 5AC; INF, interferon; MMP9, matrix metalloproteinase 9; MUC5B, mucin 5B; CDHR3, cadherin related family member 3.

났다. 이 연구는 결과적으로 T 세포가 기도 염증반응과 관련된 대사 과정에 관여하고, 스테로이드 치료의 효과를 높이기 위한 대사 과정과 관련된 치료로서 이용할 수 있음을 제시하였다.³⁶

CD4 Th 세포와 Treg 세포는 일반적인 알레르기 원인 물질에 반응하여 천식 환자에서 기도 염증을 유발하고 완화하는데 중요한 역할을 한다.³⁷ Seumois 연구진은 scRNA-seq 분석을 통하여 약 50,000개의 HDM 알레르기 반응성 Th 세포와 Treg 세포의 단일 세포 전사체를 분석하였고 새로운 T 세포 부분 집단을 확인하였다. IL-9을 표현하는 HDM 반응성 Th 세포의 수는 HDM 알레르기가 있는 천식 환자에서 HDM 알레르기가 있는 천식 병력이 없는 환자에 비해 더 많았다. 인터페론(interferon, IFN) 반응을 나타내는 ThIFNR과 TregIFNR의 발현은 HDM 알레르기가 있는 천식 환자에서 더 많이 발견되었고 이 부분 집단의 세포들에서는 TNFSF10의 발현이 풍부했다. 이 TNFSF10은 종양괴사인자를 유도하는 리간드(ligand)로서 Th 세포의 활성을 억제시키는데, 이는 결과적으로 이러한 T 세포의 부분 집단에서 알레르기 반응을 억제시킬 수 있음을 시사하였다. 이를 통하여 거의 모든 알레르기 원인 물질에 대하여 Th2 반응을 일으키는 사람은 일부만 되는 이유를 설명할 수 있다.³⁷

2) B 세포 관련

B 세포는 자가 면역으로부터의 보호와 알레르기 반응에 관여하며, Breg의 하위 그룹 중 하나인 B10은 IL-10을 분비하여 천식의 발달을 억제한다.³⁸ Wang 연구진은 scRNA-seq 분석을 이용하여 마우스의 비장과 폐, 그리고 인간의 폐 조직의 B 세포에서 *Foxo1*과 *Il10*의 역 관련성을 발견하였다. FoxO1은 B10 세포의 전사 인자인 Blimp-1을 코딩하는 *Prdm1*의 발현을 억제함으로써, FoxO1이 B10 세포의 억제 조절자로서의 역할을 하게 된다.³⁹

IgE 항체는 천식 등의 만성적인 알레르기성 염증반응에 관여하며 IgE 항체 반응은 CD4 T 세포와 T 세포에서 생성된 IL-4, IL-13에 의존한다.³⁰ Aranda 연구진은 기억 B 세포와 IgE 생성의 관련성을 확인하기 위해 천식 등의 알레르기성 요인이 있는 환자 군에서 말초혈액 B림프구를 채취하였고, scRNA-seq 분석을 시행하였다. 연구진은 IL-4/IL-13 조절 유전자의 발현에 의한 IgG 기억 B 세포의 CD23+IL4R+IgG+ 기억 B 세포 집단이 증가하는 것을 확인하고, 이것이 IgE와 연관성이 있음을 발견하여 결과적으로 이 기억 B 세포 집단이 IgE 생성과 관련이 있음을 밝혔다.³⁰

3) 수지상세포

항원 제시 세포로서 DCs는 천식에서 기도의 알레르기 항원에 의한 면역 반응에 중요한 역할을 한다.⁴⁰ Izumi 연구진은 scRNA-seq 기술을 이용하여 폐의 다섯 가지 군집에서 CD11b+DC (cDC2)을 확인하였다. 알레르기 감작 이후에는 Ly-6C+cDC2 하위 집단이

빠르게 폐에 축적되며, Th17 분화를 강하게 촉진하였다. 부분적으로 성숙한 Ly-6C+Y-6A/E-CD301b-cDC2는 *Il1b*를 표현하며 Th17 분화를 촉진하였고, CD200+의 성숙한 cDC2는 Th2를 강하게 유도하였지만 Th17은 유도하지 않았다. 결과적으로 폐 cDC2는 성숙 단계에서 Th17과 Th2의 분화를 독립적으로 촉진하는 것을 확인하였다.⁴¹

4) 호중구성 천식 관련

호중구의 천식에서의 역할에 대해서는 여전히 논란이 있으나, 호중구성 천식은 질병의 중증도를 높이며 스테로이드 치료에 잘 반응하지 않는 것으로 알려져 있다.⁴² 호중구는 선천 면역반응의 기억과 관련이 있으며, 이 선천 면역 기억은 감작 후 두 번째 자극에 대해 전사 인자(transcription factors)를 통해 후생유전적으로 재구성되며, 천식에서의 염증과 면역반응을 조절하는 중요한 역할을 한다.⁴³ 최근 Li 연구진은 ovalbumin (OVA)에 의해 유도된 천식 마우스 모델을 이용하여 폐 조직 세포를 추출하고 scRNA-seq 분석을 통해 선천 면역 기억과 관련된 특정한 호중구 집단인 G-CSFRhiFcγRIIb+ 하위그룹을 확인하였다.⁴⁴ 또한 Helou 연구진은 HDM 천식 마우스 모델을 이용하여 대조군과 PD-1 결핍 마우스의 호중구성 기도와 민반응에서의 역할을 비교하였다. 결과적으로 PD-1 결핍은 호중구성 기도 과민반응의 증가와 관련이 있는 것으로 확인되었고, PD-1 작용제(agonist)가 마우스 모델에서 호중구성 기도 과민반응과 폐 염증을 감소시킬 수 있는 효과적인 치료제로서의 역할을 제시하였다.⁴⁵

호중구는 Th2 알레르기 면역반응에 관여하며 병원균을 제거하는 과정에 있어서 초기 반응을 담당하기도 한다. 또한 type 17 반응에서는 주요 효과 세포로 작용한다.⁴⁶ 천식에 있어서는 type 17 매개의 호중구 염증반응이 중증 천식의 주된 원인으로 여겨진다.⁴⁷ Radermecker 연구진은 여러 환경 인자로 유발되는 알레르기성 천식의 마우스 모델을 이용하여 Th2 기도 염증반응의 초기 단계에서 neutrophil extracellular traps (NET)를 방출하는 CXCR4hi 폐 호중구의 존재를 밝혀냈다. 이들은 낮은 혹은 높은 농도의 LPS로 유도된 염증 환경을 HDM 알레르겐에 노출되기 전의 폐 호중구에 적용하여 scRNA-seq 분석을 하였다. 그중 낮은 농도의 LPS가 유도한 호중구 및 NET는 폐 내 CD11b+Ly-6C+ DCs에서 알레르겐 항원의 흡수를 강화시키며, Th2 알레르기 기도 염증반응을 촉진시켰다. 또한 인플루엔자 바이러스나 오존의 노출에 의해 CXCR4hi 호중구에서 유도된 NET는 알레르기성 천식에서 중요한 매개체로서 작용한다는 사실도 확인하였다. 따라서 천식 발병의 초기 단계에서 다양한 환경 인자가 폐 호중구 활성화를 통해 질병의 진행을 가속화시킬 수 있다는 점을 밝혀냈다.⁴⁸

Stark 연구진은 강아지 관련 흡입 알레르겐에 의한 반복적인 자극이 기도의 Th2 세포와 호산구뿐만 아니라, 호중구 관련성의

Th17 세포의 반응을 유도한다는 것을 확인하였다. 그들은 scRNA-seq 분석을 이용하여 기도에서 Th17 세포에 특이적인 유전자를 발견하였고, Th17, Th2, Treg 세포 사이에 공유되는 공통적인 분화 단계를 발견하였다. 이 모델을 통해 강아지 항원에 감작되기 전 항원에 대한 설하 면역 치료가 기도 과민반응을 억제하고 type 2-염증 반응을 억제함으로써 강아지 알레르겐 항원에 대한 면역 관용을 일으킬 수 있음을 발견하였다.⁴⁹

5) 천식의 급성 악화 관련

천식의 급성 악화는 염증반응의 증대로 인한 기도에서의 점막 과분비와 기도 과민반응(airway hypersensitivity)에 의해 일어난다. 원인에는 알레르겐 항원, 호흡기계 감염, 담배 연기, 대기 오염 인자 등 다양한 원인들이 존재하지만, 선천 적응 면역 등 복잡한 신체 면역반응들이 관여하기 때문에 다양한 이질성을 가지는 것으로 알려져 있다.⁵⁰ Wang 연구진은 HDM/LPS에 의한 천식 악화 마우스 모델에서 폐 조직 세포를 추출하여 scRNA-seq 분석을 하였고 천식의 급성 악화와 관련된 여러 신호 전달 경로에서 다양한 세포들의 관련성을 밝혀냈다. 그중 CD11b+ 대식세포, DCs, ILC2는 스테로이드 저항성 기도 과민반응과 기도 염증 반응에 관여하며, CD8+ 기억 T 세포에 의해 생성되는 IL-13, ILC2, 호염기구는 텍사메타손-저항성 천식에서 주요한 사이토카인 및 세포로 확인되었다. 또한 천식 악화 중 질병의 진행과 관련된 'EIF2 신호 경로', '산화적 인산화' 및 'Rho군의 GTPase에 의한 신호 전달 경로' 등을 밝혀냈다.⁵¹

Chen 연구진은 중증 천식 환자와 건강한 대조군의 말초혈액 단핵 세포를 이용하여 scRNA-seq 분석을 하였다. DropSeq 방법을 사용하여 세포에서 단일 세포를 분리하였고, 두 군에서 CD4+ T 세포가 주요 세포 유형임을 확인하였다. 또한 중증 천식 환자군에서 염증성 사이토카인의 신호 경로에 중요한 역할을 하는 JAK1 발현이 증가한 것을 확인하였다. 뿐만 아니라 Poly I:C 자극 후에 중증 천식 환자의 IFN 경로가 대조군에 비하여 강하게 유도되어 천식 환자군에서 IFN 자극에 대한 반응 경로가 손상되지 않았음을 확인하였다.⁵² Li 연구진은 천식의 급성 악화 환자들에서 기관지폐포 세척액(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)을 획득하여 scRNA-seq 분석을 시행하였고, CD8 T 세포(C1-a)의 증가와 단핵구, 그리고 단핵구에서 유래한 대식세포의 여러 하위 집단들을 확인하였다. 또한 감염과 관련된 CD8+ T 세포, 단핵구의 하위집단에서 악화와 관련된 핵심이 되는 신호 전달 경로가 활성화됨을 확인하였다.⁵³

보다 심각한 천식에서는 세균의 생물학적 이상 상태와 세균의 기회감염으로 인해 천식을 더욱 악화시킬 수 있으며, 질병의 중증도는 기도의 미생물 교란과도 강하게 연관되는 것으로 알려져 있다.^{54,55} Headland 연구진은 LPS에 반응하는 Oncostatin M (OSM) 분비하는 폐 조직세포를 이용하여 scRNA-seq 분석을 진행하였다. 이를

통하여 LPS는 인간의 단핵구 유래 대식세포(monocyte-derived macrophages)에서 OSM을 유도하는 것을 확인하였으며, 세균성 감염 시 초기반응에서 감염을 인지하고 국소 염증반응을 일으키는 것과 관련 있음을 밝혀냈다.⁵⁶

천식은 알레르겐 항원뿐만 아니라 바이러스의 노출에 의해서도 악화될 수 있다. Liu 연구진은 HDM 마우스 모델을 이용하여 HDM, 바퀴벌레 추출물, respiratory syncytial virus 등의 자극을 더한 후 폐 조직 세포를 분석하였고, 천식 악화 시에 CD11b-DCs와 Creb5 유전자가 관여한다는 것을 확인하였다.⁵⁷ 또한 Moghbeli 연구진은 중증 천식 환자들의 BAL 샘플을 이용하여 cAMP-신호 경로(BAL-cAMP)에 관여하는 여러가지 억제 인자를 밝혀냈다. 그들은 BAL-cAMP 유전자 네트워크의 발현이 중증 천식에서 베타-작용제의 지속적인 노출 시에 억제된다는 것을 확인하였다. 이러한 신호 전달의 억제는 폐의 대식 세포와 그 외 많은 세포군들에서도 동일하게 확인되어 중증 천식에서 여러 면역 세포들의 기능을 추측할 수 있었다.⁵⁸

6) 특정 인구 집단 관련

여성 천식 환자에서 생리 주기와 천식 증상 간의 연관성을 볼 때, 약 30%~40%의 여성 천식 환자가 생리주기 동안 증상이 악화되는 데, 이는 천식의 악화에 난소호르몬의 영향이 있을 수 있다는 것을 암시한다.⁵⁹ Trivedi 연구진은 에스트로겐이 ILC2s에 미치는 영향을 조사하였고, 마우스 모델의 scRNA-seq 분석을 통하여 ILC2의 120여 종의 유전자 분포가 수컷/암컷이 다르게 발현된다는 것을 확인하였다. 특히, *Nfkb1* 유전자가 조절 과정에서 높은 수준으로 발현된다는 것을 확인하였다. 결과적으로 여성의 주요 성 호르몬인 에스트로겐이 ILC2s의 활동을 억제하는 영향을 밝혀냄으로써 새로운 치료 역할로서의 가능성을 제시하였다.⁵⁹

소아에서는 미취학 아동의 재발성 천명음이 세계적으로 중요한 이슈이며, 이들 중 50%는 한 번 이상 천명음이 발생한다. 이와 관련하여 Wang 연구진은 재발성 천식이 있는 미취학 아동과 학령기 천식 환자의 비강과 기도 세포를 채취하여 scRNA-seq 분석을 하였다. 두 집단을 비교해보았을 때 질병의 발달과 관련하여 지방산 대사 관련 경로가 관여한다는 것이 확인되었다. 주요 유전자로는 *CST1*, *CST2*, *CST4*, *POSTN*, *NRTK2*가 있으며 이 5가지의 유전자는 잠재적으로 재발성 천명음을 가지는 미취학 아동에서 학령기의 천식 발달을 예측할 수 있는 인자로 예상할 수 있었다.⁶⁰

7) 대사 작용 관련

최근 기술의 발달로 많은 유전체 관련 연구(genome-wide association studies)들이 이루어졌고, 이를 통해 160개 이상의 천식 연관 유전자가 47개의 신호 경로에서 확인되었다.⁶¹ 많은 연구들이 특히 Th2 경로에 의한 염증 반응에 초점을 맞추었다. 그중 CD81 (TAPA-1)

은 B림프구, T림프구 등의 다양한 세포의 분화에 관여하는 세포 표면 단백질로, 이 단백질이 결핍된 마우스는 Th2 반응이 손상되어 있는 것으로 밝혀져 CD81 단백질이 기도과민성을 일으키는 역할을 하는 것으로 알려져 있다.⁶² Ma 연구진은 PD00라는 항-CD81 펩티드를 생산하여 항염증 효과를 입증했다. 그들은 OVA-유도 천식 마우스 모델을 이용하여 PD00 처리 전후의 유전자를 비교하였고 글리세로인지질과 퓨린 대사 경로의 발현된 유전자들에 차이가 있음을 확인하였다. 이로써, PD00가 면역세포의 대사과정에 영향을 미친다는 것을 입증했고 염증 조절자로서 역할을 확인하였다.⁶³

2. 구조세포

면역세포와 구조세포의 상호작용은 폐의 항상성을 유지하는데 중요한 역할을 한다. Vieira 연구진은 건강한 대조군과 천식 환자군에서 하기도의 세포 분포를 비교하기 위해서 scRNA-seq 분석을 이용하였다. 연구진은 부위에 특이적인 기도 상피세포의 집단과 새로운 기억 T 세포 하위 집단을 발견하였다. 또한 천식 환자군의 하기도에서 점액 세포의 과형성뿐만 아니라 술잔세포의 과형성과 새로운 점액 섬모 세포 집단을 밝혀냈고, Th2 관련 사이토카인이 변형된 상피세포의 상태를 유지하는 역할을 하는 것을 확인하였다. 결과적으로 건강한 대조군과 비교하였을 때 천식 환자군에서 Th2 세포의 상호작용이 유의하게 증가하였지만, 대조적으로 구조 세포의 상호작용은 감소되어 있는 것을 발견하였다. 이를 통하여 상피세포에서 면역세포와 구조세포의 상호작용 패턴의 변화가 천식과 관련된 기도 염증 작용에 중요한 역할을 할 수 있음을 확인하였다.⁶⁴

최근에는 기술의 발달로 scRNA-seq 분석을 이용하여 단백질 표지자가 잘 알려져 있지 않은 종인 말에서도 BALF 세포를 이용하여 말 천식의 주요 세포 유형, 그리고 T 세포와 대식세포의 하위 집단을 식별할 수 있게 되었고,²⁷ 사람과 유전적, 해부학적, 생리학적 특성이 유사한 원숭이 질병 모델을 이용하여 원숭이 천식 모델에서도 기도 염증과 기도 리모델링을 관여하는 세포들을 분석할 수 있게 되었다.⁶⁵

ILC2s는 알레르기성 천식에서 점막의 항상성을 유지하고 염증 반응을 발생시키는 주요 세포이다. 상피세포가 손상되면, IL-25와 IL-33과 같은 사이토카인들이 분비되며, 이 사이토카인들은 ILC2s를 활성화시킨다.⁶⁶ Wallrapp 연구진은 scRNA-seq 분석을 이용하여 IL-25, IL-33에 의해 자극된 마우스 모델에서 *Nmur1* 신경펩티드 수용체의 발현을 확인하였다. 그들은 IL-25자극을 통해 *neuro-medin U* (NUM)-NMUR1 신호경로가 ILC2를 활성화시키는 것을 발견하였다. 이를 통해 NMUR1 신호가 염증성 ILC 반응을 촉진시키며 이러한 신경-면역 교차 작용이 점막 표면에서 알레르기 염증의 중요한 원인임을 확인하였다.⁶⁷ Verma 연구진은 마우스 모델에서 반복적인 알레르겐 항원 노출 후에 관여하는 유전자 변화를 scRNA-seq 분석을 통해 조사하였다. 그 결과, 기억 ILC2s의 유

전자 억제 과정에 관여하는 *Nr4a2*, *Zeb1*, *Bach2*, *UunD*와 유전자 준비 과정에 관여하는 *Fhl2*, *FosB*, *Stat6*, *Srebf2*, *MMP7* 유전자들이 확인되었다. 그들은 이러한 두 가지 프로그램의 상호 보완적인 조절과 균형으로 천식에서 기억 면역 반응을 조절할 수 있음을 밝혔다.⁶⁸

뮤신(mucin)은 점막에서 분비되는 점액 물질로서, 기도의 습기를 유지하며 불순물을 흡수하고 이물질을 배출하는 역할을 한다. 만약 이 물질이 기도에 과도하게 분비된다면 기도 내강은 더욱 좁아지게 되고, 수축을 일으켜 천식의 증상을 유발할 수 있다.²² 점액을 분비하는 술잔 세포는 점액의 이형성과 기도의 폐색을 유발시키는 주요한 세포 유형이며, IL-13을 포함한 여러 사이토카인들이 이러한 변화를 유도한다. Jiang 연구진은 scRNA-seq 분석을 통하여 상피의 VEGFa, KDR, MEK/ERK 인산화효소가 결핍된 마우스 모델에서 술잔 세포로의 분화가 과도하게 일어나는 것을 확인하였고, 이 과정에서 *Sox9*는 술잔 세포의 분화에 관여하는 것을 확인하였다. 따라서 기도 점막의 이형성이 KDR와 관련된 신호전달의 감소, *Sox9* 유전자 발현의 증가, 그리고 VEGFa/KDR 신호경로와도 관련되어 있음을 밝혀냈다.⁶⁹

Th2 면역반응에서 IL-13은 구조 세포 중 상피 술잔 세포의 이형성과 뮤신 당단백질인 MUC5AC 분비에 관여하는 중요한 사이토카인이다.^{70,71} Jackson 연구진은 인간의 기도 상피세포를 이용하여 IL-13이 각 세포 유형에서 급격한 점막 분비 표현 상태의 변화를 유도하는 것뿐만 아니라 선천적인 기도 방어를 약화시키고, 점액성 운동을 억제하는 점액 분비체를 생성하는 것을 확인하였다.⁷² Koh 연구진은 기관지 상피세포 조직을 scRNA-seq 분석을 통하여 IL-13 반응성과 연관된 여러 조절 인자들을 확인하였다. 이 중 점액 생성에 관여하는 유전자인 *SPDEF*와 *MUC5AC*를 특정 조절 요소를 통해 억제하는 실험을 진행하였다. 이로써, 기관지 상피 반응에 관여하는 IL-13 관련 특이 유전자와 조절 인자들이 치료적 목적으로 활용될 수 있음을 보여주었다.⁷³ 이외에도 점액 분비와 관련된 miR-141은 기도에 풍부하게 발현되는 것으로 알려져 있는데, Siddiqui 연구진은 miR-141의 결핍이 술잔 세포와 MUC5AC를 감소시켜 결과적으로 IL-13에 의한 점액 분비를 억제하는 것을 발견하였다.⁷⁴

Periostin은 천식 염증반응에서 기도의 상피 장벽 파괴 시에 증가되며 호산구성 천식에서 IL-13에 의한 염증 반응의 지표로서 역할을 한다.^{75,76} Burgess 연구진은 천식 환자의 기관지 세포에서 scRNA-seq 분석을 통하여 periostin을 암호화하는 *POSTN* 유전자가 상피세포, 이온세포, 내피세포, 섬유세포에서 발현되며 건강한 대조군에 비해 천식 환자의 상피세포에서 높게 유지된다는 것을 밝혀냈다.⁷⁷

IL-13과 반대로 IL-37 사이토카인은 점액 분비나 술잔 세포 수의 감소를 유발하여 천식에서 알레르기성 염증반응을 억제하는 것으로 알려져 있다.⁷⁸ Schroder 연구진은 천식 마우스 모델에서 scRNA-

seq 분석을 이용하여 IL-37 신호 전달에 반응하는 IL-1R5, IL-1R8 두 가지 경로를 발견하였고, IL-37에 의해 IL-1beta, IL-33 역할이 감소됨을 확인하였다.⁷⁹

이외에도 드물지만 다양한 유전자가 천식 염증 반응에서 구조세포의 기능과 연관되어 있다. Everman 연구진은 기도 상피세포에서 human rhinovirus C 수용체 역할을 하는 cadherin-관련 family member 3 (CDHR3) 단백질을 BALF를 이용해 세포를 추출하였고, scRNA-seq 분석을 통해 CDHR3 변이가 천식의 악화와 관련이 있음을 발견하였다.⁸⁰

기도 상피세포의 드문 세포로서 폐의 이온세포(ionocytes)는 상피세포의 간극에서 체액을 조절하는 역할을 하며 이온 수송체나 낭포성 섬유증 유전자인 *CFTR*를 발현하는 등 세포의 생리학적 기능을 유지하는 것과 관련이 있다.⁸¹ Montoro 연구진은 scRNA-seq 분석을 통하여 Fox1이 결핍된 이온세포에서 Cfr 발현이 사라지며 기도의 체액과 점액 분비가 영향을 받는다는 것을 발견하였다.⁸¹

Orai1은 세포 내의 칼슘 항상성을 유지할 뿐만 아니라 염증 반응의 시작과 유지에 필요한 세포막의 칼슘 채널이다.^{82,83} Goriounova 연구진은 scRNA-seq 분석을 통하여 천식 환자의 상피세포와 간질 세포, 내강 면역세포에서 *orai1*의 활성이 증가되어 있는 것을 확인하였고, 염증반응을 억제시키는 치료제로서의 가능성을 제시하였다.⁸³

Tet1은 소아에서의 알레르기성 기도 염증반응과 연관이 있는데, Tet1 결핍 시 천식의 중증도가 증가하며 기도 과민반응이 증가하는 것으로 알려져 있다.⁸⁴ Burleson 연구진은 scRNA-seq 분석을 통하여 tet1 결핍 마우스에서 HDM 노출 시 알레르기 염증반응과 관련되는 IFN 신호 전달 경로가 증가하고, 아릴 하이드로카본 수용체(aryl hydrocarbon receptor) 신호 전달 경로는 감소하는 현상을 관찰하였다. 또한 이 두 경로에서 DNA 메틸화와 히스톤 효소에 의한 히스톤 표지자의 생성과의 관련성을 확인하여, 결과적으로 Tet1이 두 경로를 직접적으로 조절하여 알레르기성 기도 염증반응을 억제할 수 있음을 밝혀냈다.⁸⁴

결론

면역시스템은 다양한 세포들이 복잡하게 상호작용하는 네트워크로, 이들의 유전자 발현은 나이, 성별뿐만 아니라 감염이나 질병, 인체 내 정상적인 상재균의 불균형, 다양한 환경 요인 등의 여러 상황에 따라 변할 수 있다. 최근에는 생물학적 도구, 특히 scRNA-seq 분석 등의 방법을 통하여 면역 세포와 그들의 분자적 상호작용을 깊이 있게 연구할 수 있게 되었다.⁸⁵ scRNA-seq은 혼합된 세포 집단에서 편향되지 않은 세포 각각의 특성 분석을 가능하게 하였고, 각 세포의 개별 세포 단위에서 유전체, 전사체, 유전자 조절체, 단백질체 분석 등을 가능하게 하여 이전에 알려지지 않았던 새로운 세포 집

단을 식별할 수 있게 되었다.⁸⁶ 특히 천식의 발병은 여러 요인에 의해 영향을 받으며 발병 시기와 급성 악화기 혹은 만성기로 재발되는 과정에서 질병의 이질성이 특징으로 분자적 수준에서 천식 악화의 원인을 파악하는 것이 천식 연구의 중요한 부분으로 여겨진다.⁵⁰

이전 천식 연구에서는 세포 간의 차이점을 연구하는 방법에 제한이 있었으므로 폐 면역 반응의 세포와 분자의 이해가 부족하였다. 특히 Th 세포는 서로 다른 사이토카인에 의한 반응으로 제한되는 다양한 하위 집단을 가지고 있는데, 최근에는 scRNA-seq 분석을 통하여 추가적인 검증이 가능하였다.⁸⁷ 또한 기도를 단일 세포 수준에서 분석한 결과, 다양한 면역세포와 특정 상피세포의 상태가 질병에 중요한 역할을 할 수 있음이 밝혀졌으며, 세포 간 소통에 대한 변화도 설명할 수 있게 되었다.⁶⁴

그러나 분석 과정에 있어 천식 등의 폐질환의 경우, 일반적으로 기도 조직 샘플을 채취하지 않기 때문에, 연구 목적으로 얻을 수 있는 조직의 양이 제한적이다. 따라서 중량 조직의 샘플보다 상대적으로 적게 획득할 수 있어 scRNA-seq 분석 등의 연구가 상대적으로 부족하다. 이 제한점을 극복하기 위해 질병에 대한 모델링 생물체를 이용하여 질환을 연구하는 방법을 사용하지만, 인간과는 해부학적인 차이와 세포학적인 수준에서 차이가 있어 모델링 생물체의 결과를 그대로 해석하기에는 어려움이 있다.⁸⁸ 또한 기술적 제한점이 존재하는데, 낮은 세포 수를 가진 샘플에 대해 일반적으로 사용되는 고처리량 단일 세포 분석 플랫폼이 수천 개의 세포를 필요로 한다는 점이다. 이러한 제한을 극복하기 위해 단일 세포 라이브러리 준비나 droplet-기반의 scRNA-seq 분석 등의 접근법이 필요하다.^{88,89} 뿐만 아니라 scRNA-seq 기술의 높은 비용과 전문적인 지식을 필요로 하는 생물정보학적 분석이 이 기술이 널리 활용되는 것을 제한하고 있다. 보다 단순화된 데이터 분석과 통일된 정보 처리 전략의 개발이 시급한 문제로 대두되고 있다.²¹

이러한 제한점에도 불구하고 scRNA-seq 연구가 가지는 장점을 이용하여 최근에는 인간의 폐질환과 질병 연구를 위해 광범위하게 사용될 수 있는 폐 세포의 포괄적인 아틀라스가 제작되었다.⁹⁰ scRNA-seq 분야는 천식뿐만 아니라 다른 알레르기질환과 연관된 연구 분야에서 빠르게 발전하고 있다. 최근 연구들에서는 단일 세포의 전사체로부터 단일 세포의 다중 오믹스 시퀀싱 기술로 연구 분야가 확장되고 있다. 이러한 접근법의 발달로 앞으로도 알레르기질환에서의 유전자 발현 프로파일을 더 잘 이해할 수 있을 것이고, 나아가 잠재적으로 치료로서의 개입과 바이오마커에 대한 새로운 대상으로서 연구될 수 있을 것으로 기대된다.

REFERENCES

1. Vos T, Lim SS, Abbafati C, Abbas KM, Abbasi M, Abbasifard M, et al. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of

- Disease Study 2019. *Lancet* 2020;396:1204-22.
2. Barcik W, Boutin RCT, Sokolowska M, Finlay BB. The role of lung and gut microbiota in the pathology of asthma. *Immunity* 2020;52:241-55.
3. Huang K, Yang T, Xu J, Yang L, Zhao J, Zhang X, et al. Prevalence, risk factors, and management of asthma in China: a national cross-sectional study. *Lancet* 2019;394:407-18.
4. Papi A, Brightling C, Pedersen SE, Reddel HK. Asthma. *Lancet* 2018;391:783-800.
5. Victor JR, Lezmi G, Leite-de-Moraes M. New Insights into Asthma Inflammation: focus on iNKT, MAIT, and gamma delta T Cells. *Clin Rev Allergy Immunol* 2020;59:371-81.
6. Caramori G, Nucera F, Mumby S, Lo Bello F, Adcock IM. Corticosteroid resistance in asthma: cellular and molecular mechanisms. *Mol Aspects Med* 2022;85:100969.
7. Pike KC, Levy ML, Moreiras J, Fleming L. Managing problematic severe asthma: beyond the guidelines. *Arch Dis Child* 2018;103:392-7.
8. Rabe KF, Nair P, Brusselle G, Maspero JF, Castro M, Sher L, et al. Efficacy and safety of dupilumab in glucocorticoid-dependent severe asthma. *N Engl J Med* 2018;378:2475-85.
9. Haque A, Engel J, Teichmann SA, Lönnberg T. A practical guide to single-cell RNA-sequencing for biomedical research and clinical applications. *Genome Med* 2017;9:75.
10. Park HW, Weiss ST. Understanding the molecular mechanisms of asthma through transcriptomics. *Allergy Asthma Immunol Res* 2020;12:399-411.
11. Moffatt ME, Gut IG, Demenais F, Strachan DP, Bouzigon E, Heath S, et al. A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma. *N Engl J Med* 2010;363:1211-21.
12. Portelli MA, Hodge E, Sayers I. Genetic risk factors for the development of allergic disease identified by genome-wide association. *Clin Exp Allergy* 2015;45:21-31.
13. Zaongo SD, Harypursat V, Chen Y. Single-cell sequencing facilitates elucidation of HIV immunopathogenesis: a review of current literature. *Front Immunol* 2022;13:828860.
14. Holgate ST. Innate and adaptive immune responses in asthma. *Nat Med* 2012;18:673-83.
15. Lambrecht BN, Hammad H. The immunology of asthma. *Nat Immunol* 2015;16:45-56.
16. Rose CE Jr, Lannigan JA, Kim P, Lee JJ, Fu SM, Sung SS. Murine lung eosinophil activation and chemokine production in allergic airway inflammation. *Cell Mol Immunol* 2010;7:361-74.
17. Braza F, Chesne J, Castagnet S, Magnan A, Brouard S. Regulatory functions of B cells in allergic diseases. *Allergy* 2014;69:1454-63.
18. Monticelli LA, Sonnenberg GF, Abt MC, Alenghat T, Ziegler CG, Doering TA, et al. Innate lymphoid cells promote lung-tissue homeostasis after infection with influenza virus. *Nat Immunol* 2011;12:1045-54.
19. Ekstedt S, Stenberg H, Tufvesson E, Diamant Z, Björner L, Kumlien Georén S, et al. The potential role of CD16highCD62Ldim neutrophils in the allergic asthma. *Allergy* 2019;74:2265-8.
20. Radermecker C, Louis R, Bureau F, Marichal T. Role of neutrophils in allergic asthma. *Curr Opin Immunol* 2018;54:28-34.
21. Tang W, Li M, Teng F, Cui J, Dong J, Wang W. Single-cell RNA-sequencing in asthma research. *Front Immunol* 2022;13:988573.
22. Heijink IH, Kuchibhotla VNS, Roffel MP, Maes T, Knight DA, Sayers I, et al. Epithelial cell dysfunction, a major driver of asthma development. *Allergy* 2020;75:1902-17.
23. Fehrenbach H, Wagner C, Wegmann M. Airway remodeling in asthma: what really matters. *Cell Tissue Res* 2017;367:551-69.
24. Park SW, Verhaeghe C, Nguyen LT, Barbeau R, Easley CJ, Nakagami Y, et al. Distinct roles of FOXA2 and FOXA3 in allergic airway disease and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;180:603-10.
25. Woodruff PG, Modrek B, Choy DF, Jia G, Abbas AR, Ellwanger A, et al. T-helper type 2-driven inflammation defines major subphenotypes of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2009;180:388-95.
26. Hwang B, Lee JH, Bang D. Single-cell RNA sequencing technologies and bioinformatics pipelines. *Exp Mol Med* 2018;50:1-14.
27. Sage SE, Nicholson P, Peters LM, Leeb T, Jagannathan V, Gerber V. Single-cell gene expression analysis of cryopreserved equine bronchoalveolar cells. *Front Immunol* 2022;13:929922.
28. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG; PRISMA Group. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med* 2009;6:e1000097.
29. Song D, Yan F, Fu H, Li L, Hao J, Zhu Z, et al. A cellular census of human peripheral immune cells identifies novel cell states in lung diseases. *Clin Transl Med* 2021;11:e579.
30. Aranda CJ, Gonzalez-Kozlova E, Saunders SP, Fernandes-Braga W, Ota M, Narayanan S, et al. IgG memory B cells expressing IL4R and FCER2 are associated with atopic diseases. *Allergy* 2023;78:752-66.
31. Zhu X, Cui J, Yi L, Qin J, Tulake W, Teng F, et al. The role of T cells and macrophages in asthma pathogenesis: a new perspective on mutual cross-talk. *Mediators Inflamm* 2020;2020:7835284.
32. Tibbitt CA, Stark JM, Martens L, Ma J, Mold JE, Deswarte K, et al. Single-cell RNA sequencing of the T helper cell response to house dust mites defines a distinct gene expression signature in airway Th2 cells. *Immunity* 2019;51:169-84.e5.
33. Nakayama T, Hirahara K, Onodera A, Endo Y, Hosokawa H, Shinoda K, et al. Th2 cells in health and disease. *Annu Rev Immunol* 2017;35:53-84.
34. Cousins DJ, Lee TH, Staynov DZ. Cytokine coexpression during human Th1/Th2 cell differentiation: direct evidence for coordinated expression of Th2 cytokines. *J Immunol* 2002;169:2498-506.
35. Ulrich BJ, Kharwadkar R, Chu M, Pajulas A, Muralidharan C, Koh B, et al. Allergic airway recall responses require IL-9 from resident memory CD4(+) T cells. *Sci Immunol* 2022;7:eabg9296.
36. Healey DCC, Cephus JY, Barone SM, Chowdhury NU, Dahunsu DO, Madden MZ, et al. Targeting in vivo metabolic vulnerabilities of Th2 and Th17 cells reduces airway inflammation. *J Immunol* 2021;206:1127-39.
37. Seumois G, Ramírez-Suástegui C, Schmiedel BJ, Liang S, Peters B, Sette A, et al. Single-cell transcriptomic analysis of allergen-specific T cells in allergy and asthma. *Sci Immunol* 2020;5:eaba6087.
38. Hawrylowicz CM. Regulatory T cells and IL-10 in allergic inflammation. *J Exp Med* 2005;202:1459-63.
39. Wang SR, Hu RD, Ma M, You X, Cui H, He Y, et al. FoxO1 suppresses IL-10 producing B cell differentiation via negatively regulating Blimp-1 expression and contributes to allergic asthma progression. *Mucosal Immunol* 2022;15:459-70.
40. Morianos I, Semitekolou M. Dendritic cells: critical regulators of allergic asthma. *Int J Mol Sci* 2020;21:7930.
41. Izumi G, Nakano H, Nakano K, Whitehead GS, Grimm SA, Fessler MB, et al. CD11b+ lung dendritic cells at different stages of maturation induce Th17 or Th2 differentiation. *Nat Commun* 2021;12:5029.
42. Nair P, Surette MG, Virchow JC. Neutrophilic asthma: misconception or misnomer? *Lancet Respir Med* 2021;9:441-3.
43. Netea MG, Domínguez-Andrés J, Barreiro LB, Chavakis T, Divangahi M, Fuchs E, et al. Defining trained immunity and its role in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2020;20:375-88.
44. Li Z, Feng Y, Liu H, Yang H, Li J, Zhou Y, et al. Single-cell transcriptomics of mouse lung reveal inflammatory memory neutrophils in allergic asthma. *Allergy* 2022;77:1911-5.
45. Helou DG, Quach C, Fung M, Painter JD, Hurrell BP, Eddie Loh YH, et

- al. Human PD-1 agonist treatment alleviates neutrophilic asthma by reprogramming T cells. *J Allergy Clin Immunol* 2023;151:526-38.e8.
46. Papayannopoulos V. Neutrophil extracellular traps in immunity and disease. *Nat Rev Immunol* 2018;18:134-47.
47. Krishnamoorthy N, Douda DN, Brüggemann TR, Ricklefs I, Duvall MG, Abdunnour RE, et al. Neutrophil cytoplasts induce T(H)17 differentiation and skew inflammation toward neutrophilia in severe asthma. *Sci Immunol* 2018;3:eaa04747.
48. Radermecker C, Sabatel C, Vanwinge C, Ruscitti C, Maréchal P, Perin F, et al. Locally instructed CXCR4(hi) neutrophils trigger environment-driven allergic asthma through the release of neutrophil extracellular traps. *Nat Immunol* 2019;20:1444-55.
49. Stark JM, Liu J, Tibbitt CA, Christian M, Ma J, Wintersand A, et al. Recombinant multimeric dog allergen prevents airway hyperresponsiveness in a model of asthma marked by vigorous T(H) 2 and T(H) 17 cell responses. *Allergy* 2022;77:2987-3001.
50. Wark PA, Gibson PG. Asthma exacerbations. 3: pathogenesis. *Thorax* 2006;61:909-15.
51. Wang L, Netto KG, Zhou L, Liu X, Wang M, Zhang G, et al. Single-cell transcriptomic analysis reveals the immune landscape of lung in steroid-resistant asthma exacerbation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2021;118:e2005590118.
52. Chen A, Diaz-Soto MP, Sanmamed MF, Adams T, Schupp JC, Gupta A, et al. Single-cell characterization of a model of poly I:C-stimulated peripheral blood mononuclear cells in severe asthma. *Respir Res* 2021;22:122.
53. Li H, Wang H, Sokulsky L, Liu S, Yang R, Liu X, et al. Single-cell transcriptomic analysis reveals key immune cell phenotypes in the lungs of patients with asthma exacerbation. *J Allergy Clin Immunol* 2021;147:941-54.
54. Ghebre MA, Pang PH, Diver S, Desai D, Bafadhel M, Halder K, et al. Biological exacerbation clusters demonstrate asthma and chronic obstructive pulmonary disease overlap with distinct mediator and microbiome profiles. *J Allergy Clin Immunol* 2018;141:2027-36.e12.
55. Spakowicz D, Lou S, Barron B, Gomez JL, Li T, Liu Q, et al. Approaches for integrating heterogeneous RNA-seq data reveal cross-talk between microbes and genes in asthmatic patients. *Genome Biol* 2020;21:150.
56. Headland SE, Dengler HS, Xu D, Teng G, Everett C, Ratsimandresy RA, et al. Oncostatin M expression induced by bacterial triggers drives airway inflammatory and mucus secretion in severe asthma. *Sci Transl Med* 2022;14:eabf8188.
57. Liu X, Netto KG, Sokulsky LA, Zhou L, Xu H, Liu C, et al. Single-cell RNA transcriptomic analysis identifies Creb5 and CD11b-DCs as regulator of asthma exacerbations. *Mucosal Immunol* 2022;15:1363-74.
58. Moghbeli K, Valenzi E, Naramore R, Sembrat JC, Chen K, Rojas MM, et al. β -Agonist exposure preferentially impacts lung macrophage cyclic AMP-related gene expression in asthma and asthma COPD overlap syndrome. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2021;321:L837-43.
59. Trivedi S, Labuz D, Deering-Rice CE, Kim CU, Christensen H, Aamodt S, et al. IL-33 induces NF- κ B activation in ILC2 that can be suppressed by in vivo and ex vivo 17 β -estradiol. *Front Allergy* 2022;3:1062412.
60. Wang Z, He Y, Li Q, Zhao Y, Zhang G, Luo Z. Network analyses of upper and lower airway transcriptomes identify shared mechanisms among children with recurrent wheezing and school-age asthma. *Front Immunol* 2023;14:1087551.
61. El-Husseini ZW, Gosens R, Dekker F, Koppelman GH. The genetics of asthma and the promise of genomics-guided drug target discovery. *Lancet Respir Med* 2020;8:1045-56.
62. Levy S, Todd SC, Maecker HT. CD81 (TAPA-1): a molecule involved in signal transduction and cell adhesion in the immune system. *Annu Rev Immunol* 1998;16:89-109.
63. Ma S, Yang K, Li Z, Li L, Feng Y, Wang X, et al. A retro-inverso modified peptide alleviated ovalbumin-induced asthma model by affecting glycerophospholipid and purine metabolism of immune cells. *Pulm Pharmacol Ther* 2023;78:102185.
64. Vieira Braga FA, Kar G, Berg M, Carpaij OA, Polanski K, Simon LM, et al. A cellular census of human lungs identifies novel cell states in health and in asthma. *Nat Med* 2019;25:1153-63.
65. Wang Y, Dong X, Pan C, Zhu C, Qi H, Wang Y, et al. Single-cell transcriptomic characterization reveals the landscape of airway remodeling and inflammation in a cynomolgus monkey model of asthma. *Front Immunol* 2022;13:1040442.
66. Huang Y, Guo L, Qiu J, Chen X, Hu-Li J, Siebenlist U, et al. IL-25-responsive, lineage-negative KLRG1(hi) cells are multipotential 'inflammatory' type 2 innate lymphoid cells. *Nat Immunol* 2015;16:161-9.
67. Wallrapp A, Riesenfeld SJ, Burkett PR, Abdunnour RE, Nyman J, Dionne D, et al. The neuropeptide NMU amplifies ILC2-driven allergic lung inflammation. *Nature* 2017;549:351-6.
68. Verma M, Michalec L, Sripada A, McKay J, Sirohi K, Verma D, et al. The molecular and epigenetic mechanisms of innate lymphoid cell (ILC) memory and its relevance for asthma. *J Exp Med* 2021;218:e20201354.
69. Jiang M, Fang Y, Li Y, Huang H, Wei Z, Gao X, et al. VEGF receptor 2 (KDR) protects airways from mucus metaplasia through a Sox9-dependent pathway. *Dev Cell* 2021;56:1646-60.e5.
70. Chen G, Korfhagen TR, Xu Y, Kitzmiller J, Wert SE, Maeda Y, et al. SP-DEF is required for mouse pulmonary goblet cell differentiation and regulates a network of genes associated with mucus production. *J Clin Invest* 2009;119:2914-24.
71. Bonser LR, Zlock L, Finkbeiner W, Erle DJ. Epithelial tethering of MU-C5AC-rich mucus impairs mucociliary transport in asthma. *J Clin Invest* 2016;126:2367-71.
72. Jackson ND, Everman JL, Chioccioli M, Feriani L, Goldfarbmuren KC, Sajuthi SP, et al. Single-cell and population transcriptomics reveal pan-epithelial remodeling in type 2-high asthma. *Cell Rep* 2020;32:107872.
73. Koh KD, Bonser LR, Eckalbar WL, Yizhar-Barnea O, Shen J, Zeng X, et al. Genomic characterization and therapeutic utilization of IL-13-responsive sequences in asthma. *Cell Genom* 2023;3:100229.
74. Siddiqui S, Johansson K, Joo A, Bonser LR, Koh KD, Le Tonqueze O, et al. Epithelial miR-141 regulates IL-13-induced airway mucus production. *JCI Insight* 2021;6:e139019.
75. Bains SN, Tourkina E, Atkinson C, Joseph K, Tholanikunnel B, Chu HW, et al. Loss of caveolin-1 from bronchial epithelial cells and monocytes in human subjects with asthma. *Allergy* 2012;67:1601-4.
76. Jia G, Erickson RW, Choy DF, Mosesova S, Wu LC, Solberg OD, et al. Periostin is a systemic biomarker of eosinophilic airway inflammation in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 2012;130:647-54.e10.
77. Burgess JK, Jonker MR, Berg M, Ten Hacken NTH, Meyer KB, van den Berge M, et al. Periostin: contributor to abnormal airway epithelial function in asthma? *Eur Respir J* 2021;57:2001286.
78. Zhu J, Dong J, Ji L, Jiang P, Leung TF, Liu D, et al. Anti-allergic inflammatory activity of interleukin-37 is mediated by novel signaling cascades in human eosinophils. *Front Immunol* 2018;9:1445.
79. Schröder A, Lunding LP, Zissler UM, Vock C, Webering S, Ehlers JC, et al. IL-37 regulates allergic inflammation by counterbalancing pro-inflammatory IL-1 and IL-33. *Allergy* 2022;77:856-69.
80. Everman JL, Sajuthi S, Saef B, Rios C, Stoner AM, Numata M, et al. Functional genomics of CDHR3 confirms its role in HRV-C infection and childhood asthma exacerbations. *J Allergy Clin Immunol* 2019;144:962-71.
81. Montoro DT, Haber AL, Biton M, Vinarsky V, Lin B, Birket SE, et al. A

- revised airway epithelial hierarchy includes CFTR-expressing ionocytes. *Nature* 2018;560:319-24.
82. Smyth JT, Hwang SY, Tomita T, DeHaven WI, Mercer JC, Putney JW. Activation and regulation of store-operated calcium entry. *J Cell Mol Med* 2010;14:2337-49.
83. Goriounova AS, Gilmore RC, Wrennall JA, Tarran R. Super resolution microscopy analysis reveals increased Orai1 activity in asthma and cystic fibrosis lungs. *J Cyst Fibros* 2023;22:161-71.
84. Burleson JD, Siniard D, Yadagiri VK, Chen X, Weirauch MT, Ruff BP, et al. TET1 contributes to allergic airway inflammation and regulates interferon and aryl hydrocarbon receptor signaling pathways in bronchial epithelial cells. *Sci Rep* 2019;9:7361.
85. Ogulur I, Pat Y, Ardicli O, Barletta E, Cevhertas L, Fernandez-Santamaria R, et al. Advances and highlights in biomarkers of allergic diseases. *Allergy* 2021;76:3659-86.
86. Lee J, Hyeon DY, Hwang D. Single-cell multiomics: technologies and data analysis methods. *Exp Mol Med* 2020;52:1428-42.
87. Tuzlak S, Dejean AS, Iannacone M, Quintana FJ, Waisman A, Ginhoux F, et al. Repositioning T(H) cell polarization from single cytokines to complex help. *Nat Immunol* 2021;22:1210-7.
88. Seumois G, Vijayanand P. Single-cell analysis to understand the diversity of immune cell types that drive disease pathogenesis. *J Allergy Clin Immunol* 2019;144:1150-3.
89. Klein AM, Macosko E. InDrops and Drop-seq technologies for single-cell sequencing. *Lab Chip* 2017;17:2540-1.
90. Adams TS, Marlier A, Kaminski N. Lung cell atlases in health and disease. *Annu Rev Physiol* 2023;85:47-69.