

□ 원 저 □

다형핵구에 의한 폐포세포 손상에 Histamine이 미치는 영향

가톨릭대학 의학부 내과학교실

김영균 · 권순석 · 김관형 · 한기돈
문 화 식 · 송 정 섭 · 박 성 학

= Abstract =

The Effect of Histamine on Polymorphonuclear Leukocyte-induced Pneumocyte Injury *in Vitro*

Young Kyoon Kim M.D., Soon Seog Kwon, M.D., Kwan Hyung Kim, M.D., Ki Don Han, M.D.
Hwa Sik Moon, M.D., Jeong Sup Song, M.D. and Sung Hak Park, M.D.

Department of Internal Medicine, Catholic University Medical College, Seoul, Korea

Background: Although polymorphonuclear leukocytes (PMN) are important in protecting the airways and alveolar surfaces, there is evidence that they can also injure the lung while exercising their defensive role. However it has been unclear whether PMN-induced pneumocyte injury is mediated by their direct cytotoxic effect on target cells or by PMN-derived cytotoxic mediators. On the other hand histamine was known not only to act as an important chemical mediator participated in the pathogenesis of some atotic and allergic disorders, but also to have an inhibitory effect on normal PMN functions.

Method: To study the mechanism by which PMN induce pneumocyte injury, we cocultured PMN from four healthy nonsmokers or their PMN-derived supernatants (PMN-SPN) with monolayers of ⁵¹Cr-labeled human A549 pneumocytes and compared PMN-and PMN-SPN-mediated pneumocyte injuries measured by ⁵¹Cr release assay. We also compared the effects of histamine on each pneumocyte injury.

Results:

- 1) PMN-SPN showed more injurious effect on A549 pneumocytes than that of PMN itself regardless histamine pretreatment of PMN.
- 2) Pneumocyte injury by PMN with histamine pretreatment was increased or decreased compared with that by PMN without histamine pretreatment, according to histamine concentrations, and PMN stimulating agents and their concentrations.
- 3) Pneumocyte injury by PMN-SPN with histamine pretreatment tended to be decreased compared with that by PMN-SPN without histamine pretreatment.

Conclusion: Our results suggest that PMN-SPN may play more important role in mediating pneumocyte injury than PMN itself and that histamine may partially play a protective role on PMN-induced pneumocyte injury. Alternatively we conclude that the effects of histamine on PMN-induced pneumocyte injury may be affected by microenvironment *in vivo*.

Key Words: PMN-induced pneumocyte injury, Histamine

*본 논문은 가톨릭 중앙의료원 학술 연구비의 보조로 이루어 졌음.

서 론

다형핵구가 여러 호흡기질환의 병인에 관여한다는 것은 잘 알려져 있다¹⁻⁴⁾. 그러나 다형핵구에 의한 폐조직세포 손상, 폐조직세포들에 대한 다형핵구의 직접적인 세포 독성작용에 의한 것인지, 혹은 다형핵구로부터 유리되는 어떤 세포독성 매개물질에 의한 것인지, 또한 폐조직세포에 미치는 다형핵구의 세포독성작용에 대해, 폐조직세포들이 어떤 방어기전을 수행하는지 아닌지에 대해서는 아직 불확실하다. 한편 histamine은 알레르기성 질환 및 일부 호흡기질환의 병인에 중요한 매개물질로 작용하기도 하지만, 다형핵구의 산화대사, 화학주성, 화학운동성, 부착성, 탈과립등을 조절함으로써, 다형핵구에 의한 염증반응을 감소시키는 역할도 담당하는 것으로 알려져 있다⁵⁻⁷⁾. 따라서 저자들은 다형핵구에 의한 폐조직세포의 손상기전을 보다 명확히 이해하고, 이에 대한 히스타민의 영향을 연구하기 위해 본 연구를 시작하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

4명의 건강한 비흡연자들을 대상으로 하였다.

2. 방 법

1) 작동세포인 다형핵구 준비

4명의 건강한 비흡연자들로부터 heparin으로 처리한 말초정맥혈 20ml를 각각 채취하여, Dextran에 의한 적혈구 침강 및 Ficoll-Hypaque 밀도차 분리를 응용한 B6yum⁸⁾의 방법으로 다형핵구를 분리한 후, RPMI 1640 medium으로 세포수가 1×10^6 /ml되도록 다형핵구 현탁액을 만들었다. 최종 현탁액내의 세포들의 생존능(viability)은 trypan blue exclusion 검사상 95% 이상이었다.

2) 표적세포인 폐포세포 준비

American Type Tissue Culture Collection으로부터 구입한 human A549 폐포세포를 배양하여, 96 well microtiter plate에 well당 세포수가 4×10^4 이 되도록 분주한 후, 5% CO₂/Air incubator에서 37°C로 24시간 배양하였다. 그 다음 well당 2 μ Ci의 sodium [⁵¹Cr]

chromate를 첨가한 후, 다시 5% CO₂/Air incubator에서 37°C로 16시간 배양시키고, RPMI 1640 medium으로 3회 세척하였다. 이상과 같은 방법으로 하여 ⁵¹Cr이 부착된 A549 폐포세포를 표적세포로 이용하였다.

3) 다형핵구 자극 및 histamine 전처리

다형핵구는 Hank's balanced salt solution (HBSS), 20 μ g/ml superoxide dismutase (SOD), 0.1 μ g/ml 및 1.0 μ g/ml phorbol myristate acetate (PMA), 10^{-7} M 및 10^{-5} M formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (FMLP)로 각각 자극하였으며, 각각의 경우에 대한 histamine의 영향을 관찰하기 위해서는, 다형핵구를 자극하기 5분전에 10^{-5} M 및 10^{-3} M histamine으로 각각 다형핵구를 전처리한 후, histamine 전처리하지 않은 경우(histamine 대신 HBSS로 전처리)와 비교하였다.

4) 폐포세포 손상에 대한 측정방법

우선 다형핵구 자체에 의한 폐포세포 손상 정도를 관찰하기 위해서, ⁵¹Cr이 부착된 A549 폐포세포가 들어있는 96 well microtiter plate에 작동세포와 표적세포의 비가 1:1이 되도록 다형핵구 현탁액(4×10^4 /well)을 분주하고, HBSS 혹은 각 농도의 histamine으로 전처리한 후, 상기한 각 자극제들을 첨가하였으며, 각각의 경우 최종 용적은 well당 200 μ l가 되도록 조절하였다. 그 다음 각 plate 들을 5% CO₂/Air incubator에서 37°C로 2시간 배양한 후, 400 \times g로 5분간 원심분리하고, 그 상층액 50 μ l씩을 취하여 시험관에 옮긴 후, gamma counter를 이용하여 상층액내에 유리되어 있는 ⁵¹Cr에 의한 gamma emission (cpm Test)을 측정하였다. 또한 다형핵구 상층액에 의한 폐포세포 손상 정도를 관찰하기 위해서는, 표적세포가 없는 1 ml Falcon tube에 같은 양의 다형핵구 현탁액들을 각각 분주하여, 상기와 같은 방법으로 미리 전처리 및 자극을 하고, 같은 조건으로 1시간 배양한 후, 6500 rpm으로 5분간 원심분리하여 얻어진 다형핵구 상층액들을 다형핵구 현탁액 대신 분주하여, 같은 조건에서 배양, 원심분리 및 측정 과정을 반복하였다(cpm Test). 각 실험에서 표적세포로부터 자연적으로 유리되는 ⁵¹Cr에 의한 gamma emission (cpm Control)을 측정하기 위해서는 다형핵구 현탁액이나 다형핵구 상층액 대신 RPMI 1640 medium을 사용하였으며, 표적세포로부터 최대로 유리되는 ⁵¹Cr에 의한 gamma emission (cpm Maximum)을 측정하기

위해서는 다형핵구 현탁액이나 다형핵구 상층액 대신 1% Triton-X-100을 사용하였다. 마지막으로 각 실험에서 다음과 같은 공식에 의하여 percent ^{51}Cr release를 산출하여, 이를 폐포세포 손상 정도(percent lysis)로 간주하였다. % lysis = [(cpm Test-cpm Control)/

[(cpm Maximum-cpm Control)] × 100

5) 분석 및 통계

우선 각 전처리 조건에서 다형핵구 자체에 의한 폐포세포 손상 정도와 다형핵구 상층액에 의한 폐포세포 손상 정도가 서로 차이를 보이는지 관찰하였으며, 또한 다

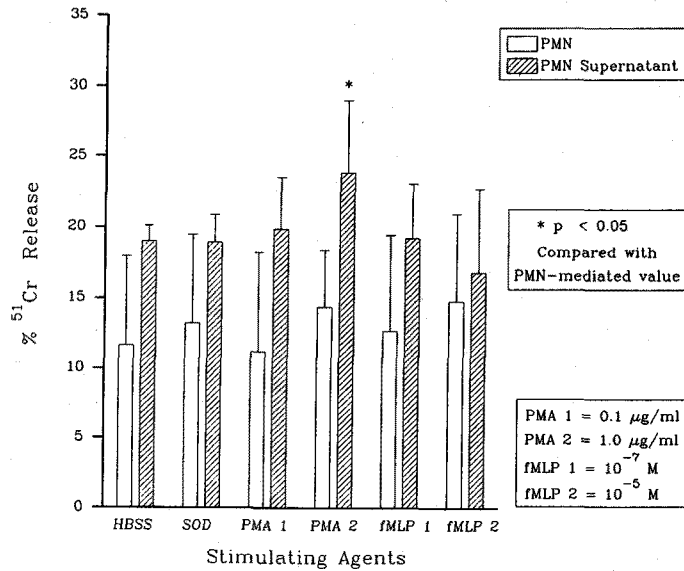


Fig. 1. Comparison of PMN-and PMN supernatant-mediated pneumocyte injury when PMN is not pretreated with histamine.

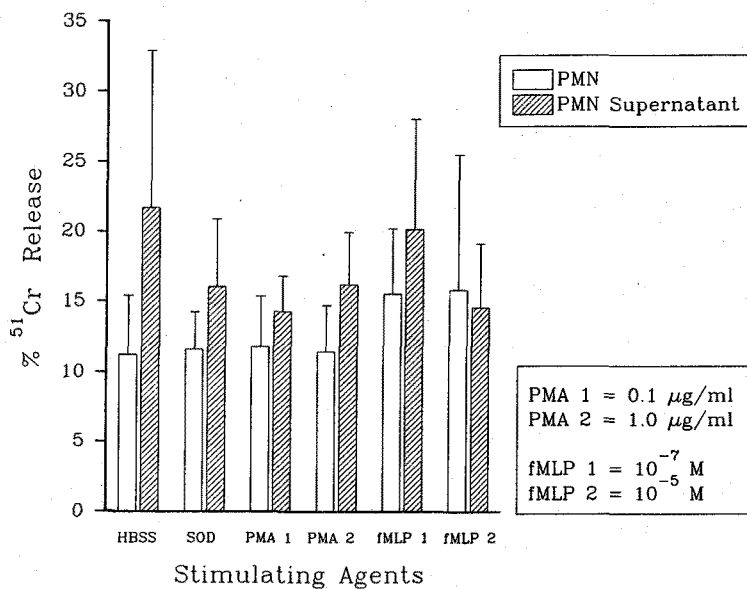


Fig. 2. Comparison of PMN-and PMN supernatant-mediated pneumocyte injury when PMN is pretreated with 10^{-5} M histamine.

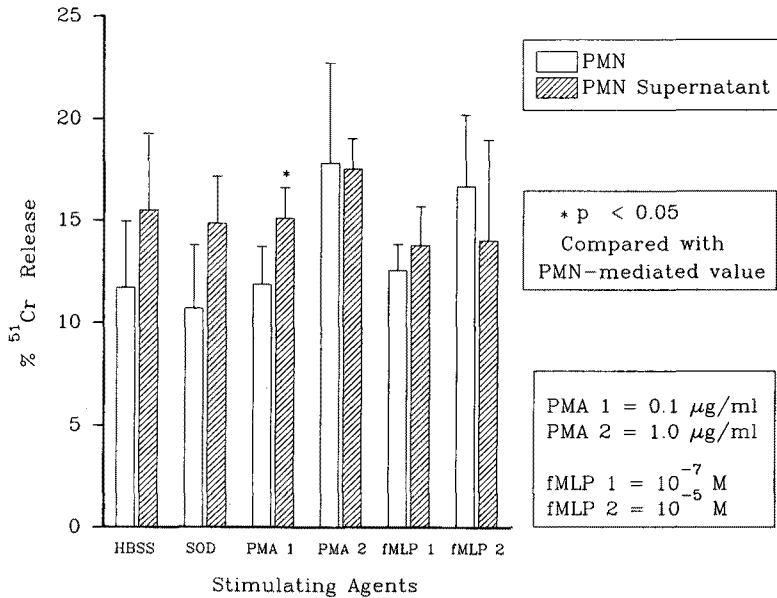


Fig. 3. Comparison of PMN- and PMN supernatant-mediated pneumocyte injury when PMN is pretreated with 10^{-3} M histamine.

형핵구 자체에 의한 폐포세포 손상 정도 혹은 다형핵구 상층액에 의한 폐포세포 손상 정도가 다형핵구를 HBSS만으로 전처리한 경우와 histamin으로 전처리한 경우에 어떤 차이를 보이는지 관찰하였다. 각 경우에 대한 폐포세포 손상 정도의 비교는 Student's *t*-test로 검정하여 $p < 0.05$ 이하를 유의수준으로 하였다.

결 과

1) 세포자극제의 종류와 농도 및 전처리한 히스타민의 농도에 따라 다소 차이는 있었지만, 전반적으로 다형핵구 자체에 의한 폐포세포 손상 정도보다는 다형핵구 상층액에 의한 폐포세포 손상 정도가 더 심한 경향을 보였다(Fig. 1, 2 및 3). 이러한 현상은 다형핵구를 HBSS만으로 전처리한 후 $1.0 \mu\text{g/ml}$ 의 PMA로 자극한 경우(14.37 ± 4.00 대 $23.82 \pm 5.20\%$ lysis)와, 10^{-3} M의 histamine으로 전처리한 후 $0.1 \mu\text{g/ml}$ 의 PMA로 자극한 경우(11.87 ± 1.84 대 $15.12 \pm 1.51\%$ lysis)에는 통계적으로 유의하였다($p < 0.05$, Fig. 1 및 3).

2) Histamine으로 전처리한 다형핵구 자체에 의한 폐포세포 손상 정도는 HBSS만으로 전처리한 다형핵구 자체에 의한 폐포세포 손상 정도에 비해, 전처리한

histamine의 농도와 다형핵구 자극제의 종류 및 농도에 따라 억제 혹은 증강되는 일정한 양상을 나타냈다(Fig. 4).

3) Histamine으로 전처리한 다형핵구의 상층액에 의한 폐포세포 손상 정도는 HBSS만으로 전처리한 다형핵구의 상층액에 의한 폐포세포 손상 정도에 비해, 10^{-5} M의 histamine으로 전처리한 후 HBSS만을 준 경우 및 10^{-7} M의 FMLP로 자극한 경우를 제외하고는, 전반적으로 억제되는 경향이 있었다. 이러한 현상은 10^{-3} M의 histamine으로 전처리한 후 SOD를 준 경우(18.91 ± 1.95 대 $14.86 \pm 2.33\%$ lysis), 10^{-5} M의 histamine으로 전처리한 후 $0.1 \mu\text{g/ml}$ 의 PMA로 자극한 경우(19.89 ± 3.60 대 $14.27 \pm 2.57\%$ lysis) 및 10^{-3} M의 histamine으로 전처리한 후 10^{-7} M의 FMLP로 자극한 경우(19.22 ± 3.80 대 $13.79 \pm 1.90\%$ lysis)에는 통계적으로 유의하였다($p < 0.05$, Fig. 5).

고 안

다형핵구는 기도 및 폐포세포를 방어하는데도 중요한 역할을 하지만, 방어기전을 수행하는 과정에서 오히려 폐조직 손상을 초래하기도 한다¹⁻⁴⁾. 다형핵구가 폐조직

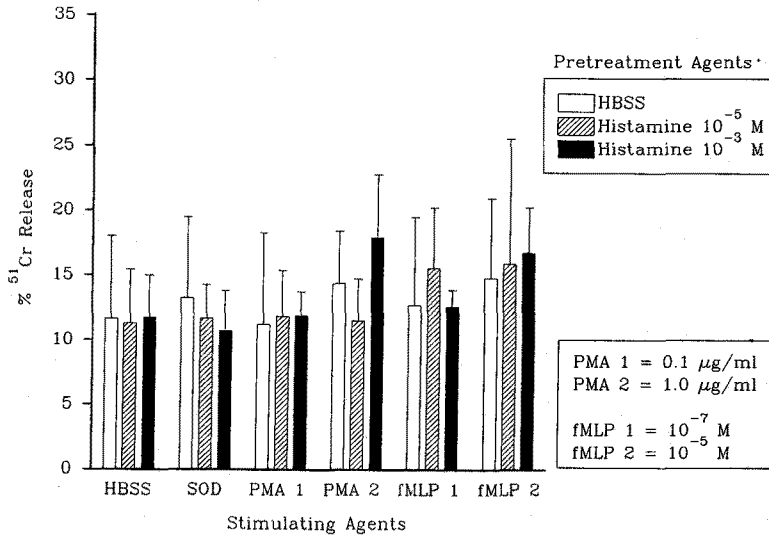


Fig. 4. The effect of histamine on PMN-mediated pneumocyte injury.

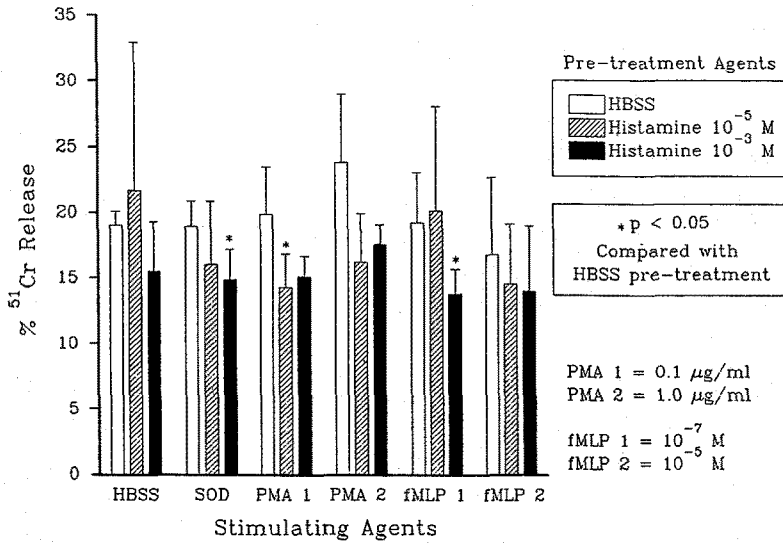


Fig. 5. The effect of histamine on PMN supernatant-mediated pneumocyte injury.

손상에 관여한다는 사실은, 실험적으로 혈액내 다형핵구를 현저히 감소시켰을때 급성 폐부종의 발생이 방지되는 동물실험으로도 증명되었다^{9,11}. 그러나 다형핵구에 의한 폐포세포 손상에 대한 현재까지의 연구는 주로 동물실험이나 폐조직 절편으로 실험한 연구가 대부분이며, 실제 폐포세포를 표적세포로 이용한 연구는 그리 많지 않다^{11,12}. 또한 다형핵구에 의한 폐조직세포 손상이 일어날때, 폐조직세포들에 대한 다형핵구의 직접적인

세포독성작용과 다형핵구로부터 유리되는 어떤 세포독성 매개물질에 의한 작용중 어떤 것이 더 중요한 기전으로 작용하는지에 대해서도 아직 불확실하다. 이에 대해 현재까지의 보고들은 다형핵구 자체나 다형핵구에서 분비되는 상층액 모두가 표적세포에 대한 세포독성작용을 야기시킬 수 있다는 사실만을 거론하였을 뿐이고, 두가지 경우를 직접 비교하지는 않았다^{11,12}. 따라서 본 연구에서 이를 비교해본 바, histamine 전처치 여부에 관계

없이 다형핵구 상층액에 의한 폐포세포 손상이 다형핵구 자체에 의한 것보다 더욱 현저해지는 소견을 보였다 (Fig. 1, 2 및 3). 그러므로 다형핵구에 의해 야기되는 폐포세포 손상은, 다형핵구의 직접적인 세포독성 작용보다는 주로 다형핵구로부터 유리되는 어떤 세포독성물질들의 작용에 의해 매개된 것으로 추측된다. 이때 관여되는 물질이 어떤 물질인지에 대해서는 정확히 알 수 없으나, 다른 연구자들의 보고에 의하면 다형핵구가 생성하는 독성 산화물질^{1~4,9~11,13~15} 및 과립 단백분해효소 등^{12,16~19}이 거론되고 있다. 본 연구에서는 과산화 음이온(superoxide anion)의 길항제인 SOD로 다형핵구를 처리하여 비교해본 결과, 폐포세포 손상 정도가 그다지 억제되지 않는 것으로 나타났다. 이러한 결과로 보아 다형핵구로부터 생성되는 독성산화물질들이 폐포세포 손상에 결정적인 역할을 한다고 볼 수는 없을 것으로 생각된다. 하지만 지금까지의 보고들을 분석해보면, 다형핵구의 세포독성작용을 매개하는 물질들은 표적세포에 따라 다르다는 것을 알 수 있다^{11~20}. 즉 다형핵구의 세포독성작용을 매개하는 주된 물질이 무엇인지는 표적세포가 어떤 매개물질에 더 감수성이 높으나에 따라 결정될 것으로 여겨진다. 본 연구에서 다형핵구 상층액만이 폐포세포에 작용하였을 때보다 다형핵구가 직접 폐포세포에 작용하였을 때의 폐포세포 손상이 더 약하게 일어난 이유에 대해서는 불분명하나, 모든 세포들은 자신에 대한 방어기전을 지니고 있을 것으로 추측되므로, 본 연구에서 사용한 A549 폐포세포도 어떤 방어물질을 분비하여, 다형핵구의 지속적인 세포독성 매개물질 분비기능을 억제하였기 때문이 아닌가 추측된다.

한편 histamine은 알레르기성 질환 및 기관지천식등이 일부 호흡기질환의 병인에 중요한 매개물질로 작용하는 것으로 알려져 있는데, 이에 대해 Casale등²¹은 알레르기성 기관지천식 환자들의 기관지세포 세척액내에는 정상인들에 비해 현저히 많은 양의 histamine이 관찰되며, histamine 양이 많을수록 비특이성 기관지과민반응도 증가한다고 보고한 바 있다. 그러나 다른 보고들에 의하면 histamine은 정상 다형핵구의 산화대사, 화학주성, 화학운동성, 부착성, 탈과립등을 조절함으로써, 다형핵구에 의한 염증 반응을 감소시키는 역할도 담당하는 것으로 알려져 있다^{5~7}). 이들을 종합해 볼때 정상인들의 다형핵구는 histamine에 의해 그 기능이 쉽게 억제될 수 있지만, 기관지천식환자들의 다형핵구는 histamine에

의해 쉽게 억제되지 않음을 추측할 수 있으며, 이를 뒷받침하는 몇몇 보고들도 있다^{22,23}). 그러나 histamine이 다형핵구의 세포독성작용에는 어떤 영향을 미치는지에 대한 연구는 아직 없었던 것으로 안다. 이에 저자들은 histamine으로 전처리한 다형핵구와 전처리하지 않은 다형핵구 자체에 의한 폐포세포 손상 정도를 서로 비교해본 결과, histamine이 다형핵구의 직접적인 세포독성작용에 미치는 영향은 histamine 농도나 다형핵구 활성화 상태에 따라 다르다는 것을 관찰하였다. 그러나 다른 흥미로운 결과는, 다형핵구를 폐포세포에 직접 작용시키지 않고 다형핵구 상층액만으로 작용시켜 보았을 때에는, histamine으로 전처리한 다형핵구 상층액이 전처리하지 않은 다형핵구 상층액에 비해, 두 경우만을 제외하고는(결과 참조) 전반적으로 폐포세포 손상을 덜 일으키는 양상을 보인 점이다. 이러한 저자들의 결과는 histamine이 정상적으로는 다형핵구의 세포독성작용을 약화시킬 수도 있으나, 실제 생체내에서는 다형핵구와 폐포세포간의 직접적인 상호작용이 일어날 것이므로, 다형핵구나 폐포세포 주위의 미세환경에 따라 서로 다른 작용을 나타낼 수도 있다는 것을 시사하는 소견으로 생각된다. Histamine이 다형핵구 기능을 억제하는 기전은 정확히 알 수 없으나, 세포내의 cAMP의 농도를 변화시킴으로써 나타나는 현상으로 생각되고 있다^{24,25}). 또한 본 연구의 전체적인 반응과정에서 폐포세포가 어떤 상호작용을 일으켰는지에 대해서는 알 수 없으나, histamine 활성도를 조절하는 어떤 물질 혹은 다형핵구의 histamine receptor에 영향을 미치는 어떤 물질들을 분비함으로써, histamine에 대한 다형핵구의 반응을 조절하였을 가능성을 생각할 수 있을 것으로 여겨진다.

이상의 연구결과 다형핵구에 의한 폐포세포 손상은, 다형핵구의 폐포세포에 대한 직접적인 세포독성 작용보다는 활성화된 다형핵구로부터 분비되는 어떤 세포독성물질들에 의해 매개되는 것으로 생각되며, histamine은 정상적으로는 다형핵구의 세포독성작용을 억제하나, 다형핵구와 폐포세포간의 상호작용시에는 주위의 미세환경에 따라 다르게 작용할 수도 있을 것으로 추측된다. 따라서 향후에는 폐포세포 손상을 야기시키는 다형핵구의 주된 세포독성물질이 무엇인지, 이에 대한 폐포세포의 방어기전은 무엇인지에 대해서도 연구가 필요하리라 생각되며, 폐포세포로부터 histamine 활성도를 변화시키는 어떤 물질이 분비되는지에 대해서도 규명이 되어야

할 것으로 사료되는 바이다.

요 약

연구배경 : 다형핵구는 폐조직세포들을 방어하는데도 중요한 역할을 하지만, 방어기전을 수행하는 과정에서 오히려 폐조직세포들의 손상을 초래하기도 한다. 그러나 다형핵구에 의한 폐조직세포 손상이, 폐조직세포들에 대한 다형핵구의 직접적인 세포독성작용에 의한 것인지, 혹은 다형핵구로부터 유리되는 어떤 세포독성 매개 물질에 의한 것인지에 대해서는 아직 불확실하다. 한편 histamine은 알레르기성 질환 및 일부 호흡기질환의 병인에 중요한 매개물질로 작용하기도 하지만, 다형핵구의 여러 기능들을 조절하는 작용도 하는 것으로 알려져 있다. 따라서 저자들은 다형핵구에 의한 폐조직세포의 손상기전을 보다 명확히 이해하고, 이에 대한 히스타민의 영향을 연구하기 위해 본 연구를 시작하였다.

방법 : ^{51}Cr 을 부착시킨 A549 폐포세포와 4명의 건강한 비흡연자들의 말초 정맥혈로부터 분리한 다형핵구 혹은 다형핵구 상층액을 함께 배양하여 발생하는 폐포세포 손상정도를 ^{51}Cr -release assay로 측정하여 비교하는 한편, 각각의 경우에 다형핵구를 histamine으로 전처치함으로써 나타나는 변화를 관찰하였다.

결과 :

1) 세포자극제의 종류와 농도 및 전처치한 히스타민의 농도에 따라 다소 차이는 있었지만, 전반적으로 다형핵구 자체에 의한 폐포세포 손상 정도보다는, 다형핵구 상층액에 의한 폐포세포 손상 정도가 더 심한 경향을 보였다.

2) Histamine으로 전처치한 다형핵구 자체에 의한 폐포세포 손상 정도는, HBSS만으로 전처치한 다형핵구 자체에 의한 폐포세포 손상 정도에 비해, 전처치한 histamine의 농도와 다형핵구 자극제의 종류 및 농도에 따라 억제 혹은 증강되는 일정치 않은 양상을 나타냈다.

3) Histamine으로 전처치한 다형핵구의 상층액에 의한 폐포세포 손상 정도는, HBSS만으로 전처치한 다형핵구의 상층액에 의한 폐포세포 손상 정도에 비해, 전반적으로 억제되는 경향이 있었다.

결론 : 이상의 연구결과 다형핵구에 의한 폐포세포 손상은, 다형핵구의 폐포세포에 대한 직접적인 세포독성 작용보다는 활성화된 다형핵구로부터 분비되는 어떤 세

포독성 물질들에 의해 매개되는 것으로 생각되며, histamine은 정상적으로는 다형핵구의 세포독성작용을 억제하나, 다형핵구와 폐포세포간의 상호작용시에는 주위의 미세환경에 따라 다르게 작용할 수도 있을 것으로 추측된다.

REFERENCES

- 1) Snider GL: The pathogenesis of emphysema. Twenty years of progress. Am Rev Respir Dis 124:321, 1981
- 2) Karlinsky JG, Snider GL: Animal models of emphysema. Am Rev Respir Dis 117:1109, 1978
- 3) Repine JE, Browman CM, Tate RM: Neutrophils and lung edema. Chest 81(Suppl):47, 1982
- 4) Tate RM, Shasby KM, VanBenthuyzen KM, McMurtry IF, Repine JE: Oxygen radical-induced pulmonary edema. Chest 81(Suppl):57, 1982
- 5) Seligmann BE, Fletcher MP, Gallin JI: Histamine modulation of human neutrophil oxidant metabolism, locomotion, degranulation, and membrane potential changes. J Immunol 130:1902, 1983
- 6) Anderson R, Glover A, Rabson AR: The *in vitro* effects of histamine and metiamide on neutrophil mobility and their relationship to intracellular cyclic nucleotide levels. J Immunol 118:1690, 1977
- 7) Clark RAF, Gallin JI, Kaplan AP: The selective eosinophil chemotactic activity of histamine. J Exp Med 142:1462, 1975
- 8) Böyum A: Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. Scand J Clin Lab Invest 21(Suppl):77, 1968
- 9) Shasby DM, VanBenthuyzen KM, Tate RM, Shasby SS, McMurtry IF, Repine JE: Granulocytes mediate acute edematous lung in rabbits and in isolated rabbit lungs perfused with phorbol myristate acetate: role of oxygen radicals. Am Rev Respir Dis 125:443, 1982
- 10) Flick MR, Perel A, Staub NC: Leukocytes are required for increased lung microvascular permeability after microembolization. Circ Res 48:344, 1981
- 11) Suttorp N, Simon LM: Lung oxidant injury enhancement of polymorphonuclear leukocyte-mediated cytotoxicity in lung cells exposed to sustained *in vitro* hyperoxia. J Clin Invest 70:342, 1982
- 12) Ayars GH, Altman LC, Rosen H, Doyle T: The injurious effect of neutrophils on pneumocytes *in vitro*. Am Rev Respir Dis 130:964, 1984

- 13) Nathan CF, Brukner LH, Silverstein SC, Cohn JA: Extracellular cytolysis by activated macrophages and granulocytes. I. Pharmacologic triggering of effector cells and the release of hydrogen peroxide. *J Exp Med* **149**:84, 1979
- 14) Sacks T, Moldow CF, Craddock PR, Browers TK, Jacobs HS: Oxygen radicals mediate endothelial cell damage by complement-stimulated granulocytes. An *in vitro* model of immune vascular damage. *J Clin Invest* **61**:1161, 1978
- 15) Weiss SJ, Young J, LoBuglio AF, Slivka A, Nimeh NF: Role of hydrogen peroxide in neutrophil-mediated destruction of cultured endothelial cells. *J Clin Invest* **68**:714, 1981
- 16) Harlan JM, Killen PD, Harker LA, Striker GE, Wriht DG: Neutrophil-mediated endothelial injury *in vitro*. Mechanisms of cell detachment. *J Clin Invest* **68**:1394, 1981
- 17) Taubman SB, Cogen RB: Cell-detaching activity mediated by an enzyme(s) obtained from human leukocyte granules. *Lab Invest* **32**:555, 1975
- 18) Taubman SB, Cogen RB: Granule enzymes from human leukocytes: their effect on Hela cells (37931). *Proc Soc Exp Biol Med* **145**:952, 1974
- 19) McDonald JA, Baum Bj, Rosenberg DM, Kelman JA, Brin SC, Crystal RG: Destruction of a major extracellular adhesive glycoprotein (fibronectin) of human fibroblasts by neutral proteases from polymorphonuclear leukocyte granules. *Lab Invest* **40**:350, 1979
- 20) Weiss SJ: The role of superoxide in the destruction of erythrocyte targets by human neutrophils. *J Biol Chem* **255**:9912, 1980
- 21) Casale TB, Wood D, Richerson HB, Trapp S, Metzger WJ, Zavala D, Hunninghake GW: Elevated bronchoalveolar lavage fluid histamine levles in allergic asthmatics are associated with methacholine bronchial hyperresponsiveness. *J Clin Invest* **79**:1197, 1987
- 22) Busse WW, Sosman J: Decreased H2 histamine response of granulocytes of asthmatic patients. *J Clin Invest* **59**:1080, 1977
- 23) Sustiel AM, Joseph B, Rocklin RE, Borish L: Asthmatic patients have neutrophils that exhibit diminished responsiveness to adenosine. *Am Rev Respir Dis* **140**:1556, 1989
- 24) McGarrity ST, Stephenson AH, Webster RO: Regulation of human neutrophil functions by adenine nucleotides. *J Immuol* **142**:1986, 1989
- 25) Marone G, Thomas LL, Lichtenstein LM: The role of agonists that activate adnylate cyclase in the control of cAMP metabolism and enzyme release by human polymorphonuclear leukocytes. *J Immunol* **125**:2277, 1980