

## 젊은 흰쥐와 늙은 흰쥐에서 인터루킨-1 $\alpha$ 로 유도된 급성폐손상에 관한 형태학적 연구

영남대학교 생물학과, 대구효성가톨릭대학교 의과대학 생리학교실\*

조현국 · 이영만\* · 박원학†

국문초록: 인터루킨-1 (IL-1)을 흰쥐의 기관지로 투여하여 급성 폐손상을 유도하고 폐세척액 내의 단백질 함량 측정과 조직학적, 미세구조적 관찰 및 폐조직 내 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 분포를 관찰하기 위한 세포화학적 실험을 수행하였다. 또한 노화가 급성 폐손상을 가중시키는 한 요소인지를 검토하였다. IL-1으로 유도된 급성 폐손상은 호중구의 침윤으로 인해 산화적 손상이 가해졌으며, 이로 인해 폐포강 내로 단백질 삼출과 백혈구의 유주가 발생하였다. 하지만 노화에 따른 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 분포 양상은 IL-1 투여군 4개월, 20개월간의 차이를 인정할 수 없었다. 따라서 본 연구결과를 통하여 급성호흡곤란 증후군 환자의 폐세척액에서 증가하는 IL-1을 흰쥐의 기관지 내로 투여하여 유도된 급성 폐손상은 호중구의 침윤으로 인한 산화적 손상이 매우 큰 원인으로 작용함을 형태적으로 확인할 수 있었으며, 노화 자체가 급성 폐손상을 가중시키지는 않는 것으로 사료되었다.

### 서 론

인터루킨-1 $\alpha$  (IL-1)를 기도로 직접 투여하면 폐포강내로 단백질 삼출을 증가시켜 급성폐손상 (adult respiratory distress syndrome; ARDS)을 유발하는 것으로 잘 알려져 있다<sup>1~4</sup>. IL-1은 ARDS 환자의 폐세척액에서 증가되는데<sup>5~7</sup>, IL-1을 흰쥐의 기도로 투여하면 oxidized glutathione (GSSG) 수준이 증가되고<sup>8</sup>, 호중구로부터 유래한 유리 산소기 (oxygen free radical)의 양이 증가된다<sup>9,10</sup>. 다양한 모델실험을 통해 급성폐손상을 유발하는 인자를 연구한 보고들은 많은데 특히 유리 산소기의 증가에 기인한다는 보고들이 많다. Gonzalez 등<sup>11,12</sup>은 lipopolysaccharide (LPS)의 투여로 급성 폐손상이 유도되고 superoxide dismutase (SOD)와 catalase의 투여로 폐손상은 감소한다고 하였다. 또한 Tinsley 등<sup>13</sup>도 rabbit의 shock lung model을 이용한 급성폐손상에 있어서도 유리 산소기가

증가한다고 하였고, 이는 SOD의 투여로 예방할 수 있다고 하였다. Minamiya 등<sup>14</sup>은 endotoxin으로 유도된 급성폐손상에서 hydrogen peroxide를 양적으로 측정하였는데 과립 백혈구로부터 혈관 내피세포에 산화적 손상이 가해졌으며 catalase를 사용하여 과립 백혈구의 hydrogen peroxide 수준을 완전히 저하시켰다고 하였다. Konrad 등<sup>15</sup>도 급성폐손상 환자에 항산화제인 N-acetylcysteine을 투여함으로써 폐세척액과 혈장내 glutathione의 농도가 감소함을 보고하였다. 또한 Capellier 등<sup>16</sup>은 high oxygen concentration 처리를 통해서, Schapira 등<sup>17</sup>은 silica와 titanium dioxide의 기관지 투여로 유도된 급성폐손상에서 모두 유리 산소기가 증가된다고 하였다.

노화와 연관된 폐조직내의 항산화 능력은 9개월, 28개월 흰쥐에서 큰 차이를 보이지 않으나 SOD의 활성은 28개월군에서 감소한다고 하였다. 그러나 이러한 결과는 폐의 노화가 폐조직 자체의 항산화 능력의 감소를 가속화시키지는 않지만 일생을 통해 유리 산소기에 의한 폐조직의 손상은 계속적으로 진행된다고 하였다<sup>18</sup>. Thi-beault 등<sup>19</sup>도 neonatal hyperoxia는 폐의 기능적, 구조적 변화를 초래하지만 노화와 연관성은 없다고 하였다.

\* 본 연구는 1997년도 영남대학교 자유공모과제에 의해 수행되었음.

† 논문접수 1997년 10월 28일, 수정재접수 1998년 1월 19일

† 별책요청저자

본 연구는 IL-1을 흰쥐의 기관지 내로 투여하여 급성 폐손상을 유도하고 폐세척을 실시한 다음 폐세척액 내의 단백질 함량을 측정하고, 이러한 급성 폐손상이 호중구의 침윤에 의한 산화적 손상때문일 것으로 판단되어 세포화학적으로 검증하고자 하였으며, 또한 노화의 진행에 따른 산화적 손상이 급성 폐손상을 가중시키는 한 요소로 작용하는지를 검토해 보고자 하였다.

## 실험재료 및 방법

### 동물 및 IL-1 투여

동물은 각각 4개월, 20개월 된 Sprague-Dawley 계 수컷 흰쥐를 사용하였으며 (영남대학교 사육실), 대조군과 IL-1 (interleukin-1 $\alpha$ ) 투여군으로 구분하였다. IL-1을 투여하기 위하여 Forane<sup>®</sup> (isoflurane)을 이용하여 마취시킨 뒤 stub adapter tube가 있는 16개이지 바늘을 사용하여 0.5ml의 생리식염수에 50ng의 IL-1을 혼합한 후 기도로 직접 분무하였다. 대조군은 멸균한 생리식염수 동량을 같은 방법으로 주입하였다.

### 폐세척액 내의 단백질 함량측정

IL-1 투여 5시간 후 폐세척을 실시하고 폐세척액 내의 단백질 함량을 bicinchoninic acid 방법 (Sigma, St. Louis, MO, USA)에 따라 비색정량하였다. 각 군간의 유의성은 Minitab 통계 프로그램을 이용하여 t-검정을 실시하였다.

### 조직학적 관찰

IL-1 투여 5시간 후 오른쪽 폐조직을 적출하여 10% 포르말린에 고정하고 조직내 공기를 제거하였다. 고정이 끝난 조직을 흐르는 물에 수세한 후 순차적 알코올 농도에 따라 탈수하여 파라핀에 포매하였다. 조직을 4 $\mu$ m 두께로 절편한 다음 hematoxylin-eosin 염색하고 광학현미경으로 관찰하였다.

### 미세구조적 관찰

IL-1 투여 5시간 후 Ketalar<sup>®</sup> (ketamine hydrochloride)를 이용하여 복강으로 마취한 후 폐세척을 실시한 다음, 오른쪽 폐로부터 조직을 적출하여 2.5% glutaraldehyde로 고정하고 조직내 공기를 제거하였다. 전고정이 끝난 조직은 0.1M 인산염 완충액 (pH 7.4)으로 수세한 후 1% osmium tetrox-

ide로 1시간 동안 후고정하였다. Alcohol-propylene oxide 계열로 순차적 농도에 따라 탈수하고 epoxy resin에 포매하였다. 포매된 조직은 열증합을 거쳐 60~70nm로 초박절편하고 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색한 후 H-600형 (Hitachi, Japan) 투과전자현미경으로 관찰하였다.

### 세포화학적 관찰

IL-1 투여 5시간 후 Ketalar<sup>®</sup> (ketamine hydrochloride)를 이용하여 복강으로 마취한 후 폐세척을 실시한 다음 오른쪽 폐로부터 조직을 적출하여 2.0mM cerium chloride, 10mM 3-amino-1,2,4-triazole, 0.1M tris-maleate buffer (pH 7.5), 7% sucrose, 0.0002% triton X-100으로 조제된 기질에 폐조직내 공기를 제거하고 37 $^{\circ}$ C에서 1시간 반응시켰다. 반응이 끝난 조직을 0.1M tris-maleate buffer (pH 7.5)와 0.1M sodium cacodylate buffer (pH 7.4)로 차례로 수세한 후 2.5% glutaraldehyde로 고정하여 통상의 미세구조 관찰법으로 포매, 중합, 절편하고 염색없이 관찰하였다.

## 결 과

### 폐세척액 내의 단백질 함량

노화에 따른 폐세척액 내의 단백질 함량변화는 Table 1과 같다. 4개월과 20개월 된 흰쥐는 각각 IL-1의 투여로 인해 폐세척액 내 단백질의 함량이 유의하게 증가하였으며 ( $p < 0.05$ ), 20개월 IL-1 투여군이 4개월 IL-1 투여군에 비해 또한 유의하게 증가하였다 ( $p < 0.05$ ). 뿐만 아니라 정상 노화군에서도 20개월 흰쥐의 폐세척액 내 단백질 함량이 4개월 흰쥐에서보다 유의하게 증가하였다 ( $p < 0.05$ ).

### 형태학적 변화

IL-1으로 유도된 급성 폐손상에 노화가 미치는 영향을 조직학적, 미세구조적, 세포화학적으로 관찰하였다. 대조군 4개월의 폐조직은 혈관 및 상피층이 잘 보존된 형태를 보였으며, 폐포강으로 삼출된 물질은 관찰되지 않았다 (Fig. 1). 대조군 20개월의 폐조직은 상피세포의 형태가 입방형으로 관찰되는 것이 많았으며, 국소적으로 호흡상피의 부종이 관찰되었다 (Fig. 2). IL-1 투여 5시간 후 4개월의 폐조직은 상피세포의 형태가 입방형으로 관찰된 부분이 많았으며, 폐포강의

**Table 1.** Protein concentration in lung lavage of control and IL-1 treated rats of 4 months and 20 months

Group	Control		IL-1	
	4 months	20 months	4 months	20 months
BAL protein concentration (mg/2 lungs)	1.20±0.53 (n=5)	2.45±0.14* (n=4)	2.40±0.40 (n=5)	3.21±0.56 <sup>#@</sup> (n=6)

Each value is represented mean±S.E., \*; p<0.05, control 4 months vs. control 20 months, #; p<0.05, IL-1 treated 4 months vs. IL-1 treated 20 months, @; p<0.05, control 20 months vs. IL-1 treated 20 months

**Table 2.** Comparison of hydrogen peroxide localization between 4 and 20 months in IL-1 treated rats

Age	Type I pneumocyte	Type II pneumocyte	Interstitial	Endothelial cell	Alveolar macrophage
4 months	++	+	+	+	++
20 months	++	+	+++	+	+++

Quantities of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> localization are expressed relatively one another

크기는 감소하고 폐포강 내로 많은 백혈구 세포들이 유주되었는데 (Fig. 3) 주로 호중구로 동정되었고 (Fig. 5), 호흡상피의 부종과 간질의 증식이 관찰되었다 (Fig. 4). 미세구조적으로 대조군 4개월의 큰폐포상피는 층상의 분비과립을 함유하며 분비기능을 위한 조면 소포체, 골지체, 그리고 사립체들이 잘 발달된 모습을 보였으며, 뿐만 아니라 호흡상피와 혈관내피세포, 그리고 기저막도 정상적인 모습으로 관찰되었다 (Fig. 6). 이러한 대조군 4개월과 20개월의 폐조직에 분포하는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 분포를 관찰한 결과 반응 과립은 거의 관찰되지 않았다 (Fig. 7). 하지만 IL-1 투여 5시간 후의 호흡상피는 혈관내 호중구의 침윤이 관찰되었으며, 혈관내피세포와 간질, 그리고 호흡상피의 부종이 관찰되었고 기저막은 매우 얇아진 형태로 전자밀도가 강하게 관찰되었다 (Fig. 8). 호중구가 침윤된 혈관 주위에는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 반응과립들이 관찰되었으며 그 분포는 혈관내피세포와 간질에서 주로 나타났다 (Fig. 9). 이러한 반응과립들은 호흡상피에서도 관찰되었는데 전반적으로 혈관내피세포나 간질에서보다 강하게 반응되어 관찰되었다 (Fig. 12). IL-1 투여군 20개월에서는 4개월과는 달리 간질에서 매우 강한 반응양상을 보였는데 대부분 증식한 섬유에 반응하고 있음이 관찰되었다 (Fig. 13). IL-1 투여군의 폐세척액 내에서 관찰된 대식세포는 변성구조물들을 다량 탐식한 형태로 관찰되었는데 이는 대조군에서는 거의 관찰되지 않았다 (Fig. 10). 이와 같은 대식세포는 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>와 반응한 물질들을 탐식하고

있는 형태로 폐포강 내에서 관찰되었다 (Fig. 11).

#### H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 반응과립의 분포양상

IL-1 투여군 4개월과 20개월 된 흰쥐에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 반응과립의 분포양상을 상대적으로 평가한 결과는 Table 2와 같다. 폐조직을 5 부위로 나누어 측정 한 결과 surfactant를 합성, 분비하는 큰폐포상피와 혈관내피세포는 연령을 달리하는 두 군간에 차이가 없었으나, 호흡상피와 폐포강내 대식세포의 경우 20개월에서 반응과립의 양이 증가하였고, 간질은 20개월군에서 그 양이 현저히 증가하였다.

#### 고 찰

IL-1 투여로 유도된 급성 폐손상에서 노화가 그 손상을 가중시키는 한 인자로 작용하는지를 알아보기 위하여 IL-1을 흰쥐의 기관지로 투여하고, 5시간 후 폐세척을 실시하여 단백질 함량을 측정하였으며 폐조직을 조직학적, 미세구조적, 그리고 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 분포를 관찰하기 위한 세포화학적 실험을 수행하였다. 급성 폐손상은 급성 염증을 동반한 protein leak이 초래되는데<sup>9,20,21</sup> IL-1 투여 5시간 후 4개월군, 20개월군 모두에서 폐세척액 내 단백질 함량이 대조군에 비해 유의하게 증가하였다. 또한 폐조직과 폐세척액 내에 호중구의 침윤이 관찰되었으며, 호중구의 침윤에 따른 혈관내피세포, 간질의 부종이 관찰되었고 호흡상피의 부종도 관찰되었다. 이러한 결과는 호중구

에 의한 산화작용에 의한 것<sup>9,10,20</sup>)으로 세포막의 투과성 장벽이 직접적인 손상을 받은 것임을 설명해 주고 있다. Minamiya 등<sup>14</sup>)은 최근 endotoxin으로 유도된 급성 폐손상에서 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 양을 측정하였는데 과립 백혈구로부터 혈관내피세포에 산화적 손상이 가해졌으며 catalase를 투여하여 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 수준을 완전히 저하시켰다고 하였으나 명확한 형태적 근거를 제시하였다고는 보기 어렵다. 본 실험에서 나타난 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 반응 과립은 hydrogen peroxide와 반응한 cerium perhydroxide로<sup>22</sup>) 혈관내피세포와 호중구가 접합하고 있는 부분에서 관찰되었으며, 뿐만 아니라 혈관내피세포, 간질, 호흡상피와 큰폐포상피, 그리고 폐세척액 내 대식세포의 탐식물에서도 관찰되었다. 이러한 결과는 호중구에 의한 산화적 손상이 가해졌음을 직접적으로 시사하는 것이며, 분포 양상에 있어서 폐포강 대식세포에서 높게 나타난 것은 이전 연구 (본지 2권 2호, 159-166)에서 나타난 결과와 같이<sup>21</sup>) 이미 조직내에서 산화된 산물들이 폐포강으로 다량 유출됨으로써 대식세포의 탐식작용이 증가하였거나, 혹은 혈관내피세포로부터 폐포강에 이르기까지 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>의 확산이 진행된 것으로 여겨진다. 또한 간질에서 반응과립은 섬유에 침착되어 있는 것으로 관찰되었는데 이러한 섬유증의 증가는 정상 노화에 따른 교원섬유의 증가<sup>23</sup>) 때문이다. 대조군 20개월에서 대조군 4개월과는 달리 입방형의 호흡상피가 증가하였는데 이는 노화가 진행됨에 따라 큰폐포상피의 증식이 일어났기 때문<sup>24,25</sup>)이며, 국소적인 폐포부종은 IL-1 투여군 4개월에서 나타난 소견과 견주어 볼 때 노화가 진행됨에 따라 유리 산소기에 의한 손상이 누적되어 나타났음을 시사하고 있는 것이다. 폐세척액에서 나타난 대조군 20개월의 단백질 함량은 IL-1 투여 4개월군과 유사하였지만, IL-1 투여군 20개월에서 증가한 함량변화가 4개월의 대조군과 IL-1 투여군에서 나타난 함량변화와 같은 유의성을 보여 노화 자체가 급성 폐손상을 가중시키지는 않았고, 정상적으로 노화가 진행되는 동안 서서히 유리 산소기에 의한 손상이 가해진 것<sup>18</sup>)으로 판단되며 두 노화군간에 호흡상피와 큰폐포상피, 그리고 혈관내피세포의 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 분포가 거의 동일하게 나타난 것이 이를 뒷받침하고 있다.

본 연구결과는 급성호흡곤란 증후군 환자의 폐세척액에서 증가하는 IL-1을 흰쥐의 기관지 투

여로 유도되는 급성 폐손상은 호중구의 침윤으로 인한 산화적 손상<sup>1,9,20,26,27</sup>)이 매우 큰 요소로 작용하고 있음을 시사하고 있으며, 노화가 진행됨에 따라 서서히 유리 산소기에 의해 폐조직의 산화적 손상이 초래되지만 급성 폐손상을 가중시키는 요소로는 작용하지 않음을 보여주고 있다<sup>18,19</sup>).

## 참 고 문 헌

- Hybertson BM, Leff JA, Beehler CJ, Barry PC and Repine JE (1995): Effect of vitamin E deficiency and supercritical fluid aerosolized vitamin E supplementation of interleukin-1 induced oxidative lung injury in rats. *Free Radic Biol Med*, **18**: 537-542.
- Reynolds HY (1987): Bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis*, **135**: 250-263.
- Baritussio AG, Magoon MW, Goerke J and Clements JA (1981): Precursor-product relationship between rabbit type II cell lamellar bodies and alveolar surface active material. Surfactant turnover time. *Biochim Biophys Acta*, **666**: 382-93.
- Oyarzun MJ and Clements JA (1978): Control of lung surfactant by ventilation, adrenergic mediators and prostaglandins in the rabbit. *Am Rev Respir Dis*, **17**: 879-91.
- Repine JE (1994): Interleukin-1 mediated acute lung injury and tolerance to oxidant injury. *Environ Health Perspec*, 102 suppl **10**: 75-78.
- Naimark A (1973): Cellular dynamics and lipid metabolism in the lung. *Federation Proc*, **32**: 1967-1971.
- Nichols BA (1976): Normal rabbit alveolar macrophages. I. The phagocytosis of tubular myelin. *J Exp Med*, **144**: 906-919.
- Canham EM, Shoemaker SA, Tate RM, Harada RN, McMurtry IF and Repine JE (1983): Mepacrine but not methylprednisolone decreases acute edematous lung injury after injection of phorbol myristate acetate in rabbits. *Am Rev Respir Dis*, **127**: 594-598.
- Guidot DM, Stevens EE, Repine MJ, Lucca-Brocco AE and Repine JE (1994): Intratracheal but not intravascular interleukin-1 causes edematous

- injury in isolated neutrophil-perfused rat lungs through an oxygen radical-mediated mechanism. *J Lab Clin Med*, **123**(4): 605-609.
10. McCord JM, Gao B, Leff J and Flores SC (1994): Neutrophil-generated free radicals: possible mechanisms of injury in adult respiratory distress syndrome. *Environ Health Perspect*, **102** suppl **10**: 57-60.
  11. Gonzalez PK, Zhuang J, Doctrow SR, Malfroy B, Benson PF, Menconi MJ and Fink MP (1996): Role of oxidant stress in the adult respiratory distress syndrome evaluation of a novel antioxidant strategy in a porcine model of endotoxin-induced acute lung injury. *Shock*, **6** suppl **1**: S23-26.
  12. Gonzalez PK, Zhuang J, Doctrow SR, Malfroy B, Benson PF, Menconi MJ and Fink MP (1995): EUK-8, a synthetic superoxide dismutase and catalase mimetic, ameliorates acute lung injury in endotoxemic swine. *J Pharmacol Exp Ther*, **276**(2): 798-806.
  13. Tinsley CH, Tinsley LR, Nishida SD, Premaratne S and McNamara JJ (1996): Measurement of oxygen free radicals in a rabbit shock model. Effect of superoxide dismutase and retinol. *Arch Surg*, **131**(7): 738-742.
  14. Minamiya Y, Abo S, Kitamura M, Izumi K, Kimura Y, Tozawa K and Saito S (1995): Endotoxin-induced hydrogen peroxide production in intact pulmonary circulation of rat. *Am J Respir Crit Care Med*, **152**(1): 348-354.
  15. Konrad F, Schoenberg MH, Wiedmann H, Kilian J and Geogheff M (1995): The application of N-acetylcysteine as an antioxidant and mucolytic in mechanical ventilation in intensive care patients. A prospective, randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Anaesthesist*, **44**(9): 651-658.
  16. Capellier G, Maupoil V, Boillot A, Kantelip JP, Rochette L, Regnard J and Barale F (1996): L-NAME aggravates pulmonary oxygen toxicity in rats. *Eur Respir J*, **9**(12): 2531-2536.
  17. Schapira RM, Chio AJ, Effros RM, Morrisey J, Almagro UA, Dawson CA and Hacker AD (1995): Hydroxyl radical production and lung injury in the rat following silica or titanium dioxide instillation in vivo. *Am J Respir Cell Mol Biol*, **12**(2): 220-226.
  18. Puez R, Liez M and Barja de Quiroga G (1991): Aging and lung antioxidant enzymes, glutathione, and lipid peroxidation in the rat. *Free Radic Biol Med*, **10**(1): 35-39.
  19. Thibeault DW, Mabry S and Rezaiekhiligh M (1990): Neonatal pulmonary oxygen toxicity in the rat and lung changes with aging. *Pediatr Pulmonol*, **9**(2): 96-108.
  20. Hybertson BM, Bursten SL, Leff JA, Lee YM, Jepson EK, Dewite CR, Zagorski J, Cho HG and Repine JE (1997): Lisofylline prevents leak, but not neutrophil accumulation, in lungs of rats given IL-1 intratracheally. *J Appl Physiol*, **82**(1): 226-232.
  21. Cho HG, Lee YM and Park WH (1996): Ultrastructure of macrophages in BAL of rat given interleukin-1 $\alpha$  intratracheally. *Korean J Biomed Lab Sci*, **2**(2): 159-166.
  22. Guy J, McGorray S, Qi X, Fitzsimmons J, Beck B and Rao N (1994): Disruption of the blood-brain barrier in experimental optic neuritis: Immunocytochemical co-localization of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and extravasated serum albumin. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, **35**: 1114-1123.
  23. Briscoe AM, Loring WE and McClement (1959): Changes in human lung collagen and lipids with age. *Proc Soc Exp Biol Med*, **102**: 71.
  24. Evans MJ, Cabral-Anderson LJ and Freeman G (1977): Effects of NO<sub>2</sub> on the lungs of aging rats. II. Cell proliferation. *Exp Mol Pathol*, **27**: 366.
  25. Cabral-Anderson LJ, Evans MJ and Freeman G (1977): Effects of NO<sub>2</sub> on the lungs of aging rats. *Exp Mol Pathol*, **27**: 353.
  26. Koh Y, Hybertson BM, Jepson EK, Cho OJ and Repine JE (1995): Cytokine induced neutrophil chemoattractant is necessary for interleukin-1 induced lung leak in rats. *J Appl Physiol*, **79**: 472-478.
  27. Leff JA, Wilke CP, Furman MJ, Bodman ME and Repine JE (1995): Interleukin-1 pretreatment prevents interleukin-1 induced lung leak in rats. *Am J Physiol*, **268**: L12-L16.

## LEGEND FOR FIGURES

**Figure 1.** Photograph of lung tissue in rats of 4 month stained with hematoxylin-eosin ( $\times 400$ ). Pulmonary blood system and epithelia are intact.

**Figure 2.** Photograph of lung tissue in rats given IL-1 intratracheally of 4 month stained with hematoxylin-eosin ( $\times 400$ ). Edema of alveolar epithelia(\*) is shown locally, and cuboidal epithelial cells were proliferated (arrowhead).

**Figure 3.** Photograph of lung tissue in rats given IL-1 intratracheally of 20 month stained with hematoxylin-eosin ( $\times 200$ ). Alveolar edema and migration of leukocytes (arrowheads) into the alveolar lumen are clearly observed.

**Figure 4.** Photograph of lung tissue in rats given IL-1 intratracheally of 20 month stained with hematoxylin-eosin ( $\times 400$ ). Edema of alveolar epithelia and interstitium(\*) are shown locally, and cuboidal epithelial cells were proliferated (arrowhead).

**Figure 5.** Photograph of lung tissue in rats given IL-1 intratracheally of 20 month stained with hematoxylin-eosin ( $\times 1,000$ ). Most of leukocytes migrating into the alveolar lumen are identified with neutrophils.

**Figure 6.** Electron micrograph of lung tissue in rats of 4 month stained with uranyl acetate and lead citrate ( $\times 5,000$ ). Type I, II epithelial cell, endothelial cell, and basal laminae are intact. LB; lamellar body, G; golgi complex, En; endothelial cell, M; mitochondria, arrowhead; basal laminae.

**Figure 7.** Cytochemical electron micrograph of lung tissue in rats of 4 month for  $H_2O_2$  localization ( $\times 6,000$ ). Tissue structure is intact, and cerium perhydroxide reaction is rarely found.

**Figure 8.** Electron micrograph of lung tissue in rats given IL-1 intratracheally of 4 month stained with uranyl acetate and lead citrate ( $\times 5,000$ ). Neutrophils are visible in vascular lumen, there are thinning of basal lamina (arrowheads), and edema of endothelial cells(\*) and type I epithelial cell (arrow). Np; neutrophil.

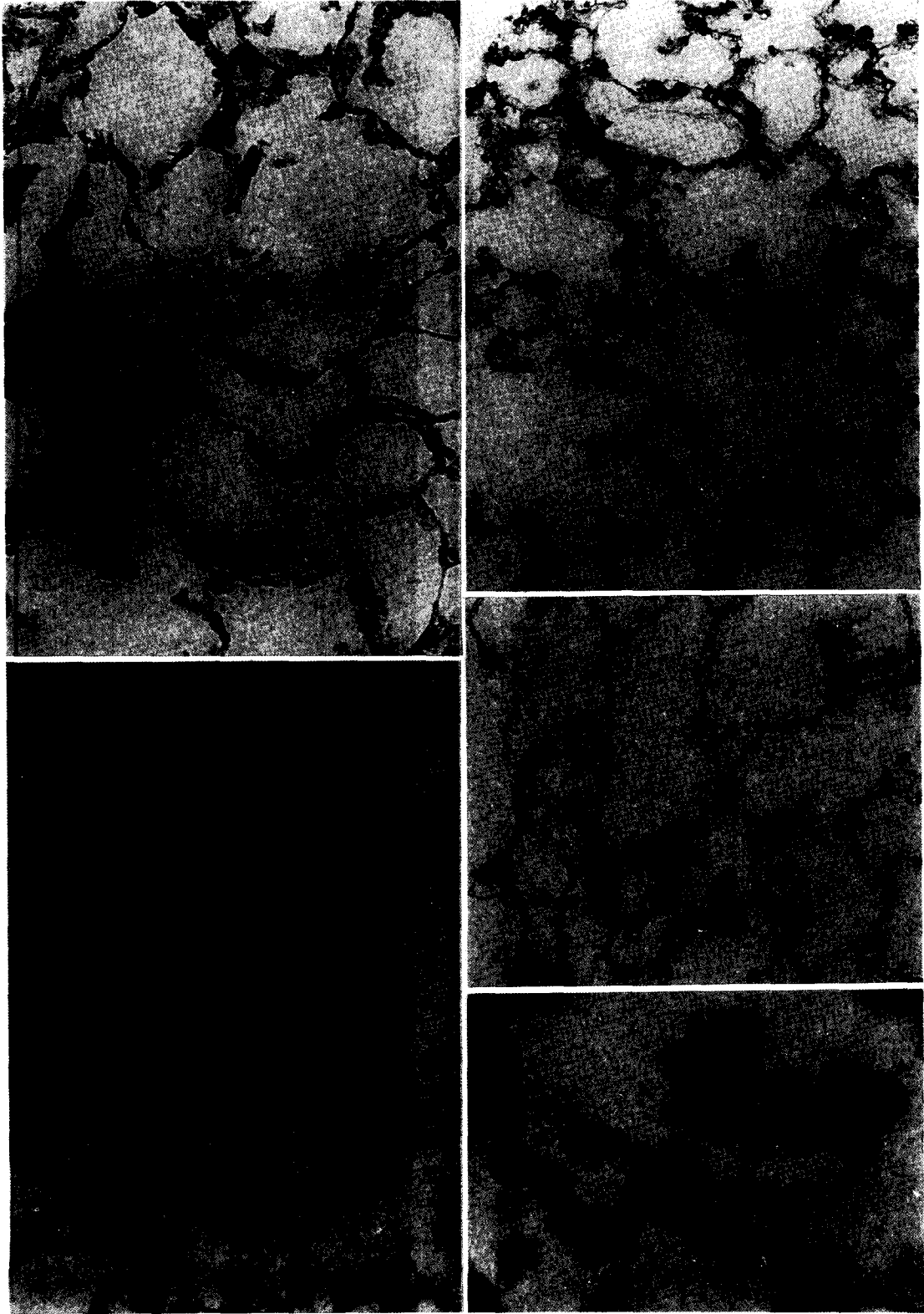
**Figure 9.** Cytochemical electron micrograph of lung tissue in rats of 4 month for  $H_2O_2$  localization ( $\times 5,000$ ). Cerium perhydroxide reaction is found in alveolar epithelial cells and interstitium as well as endothelial cell which contacts with vascular neutrophil.

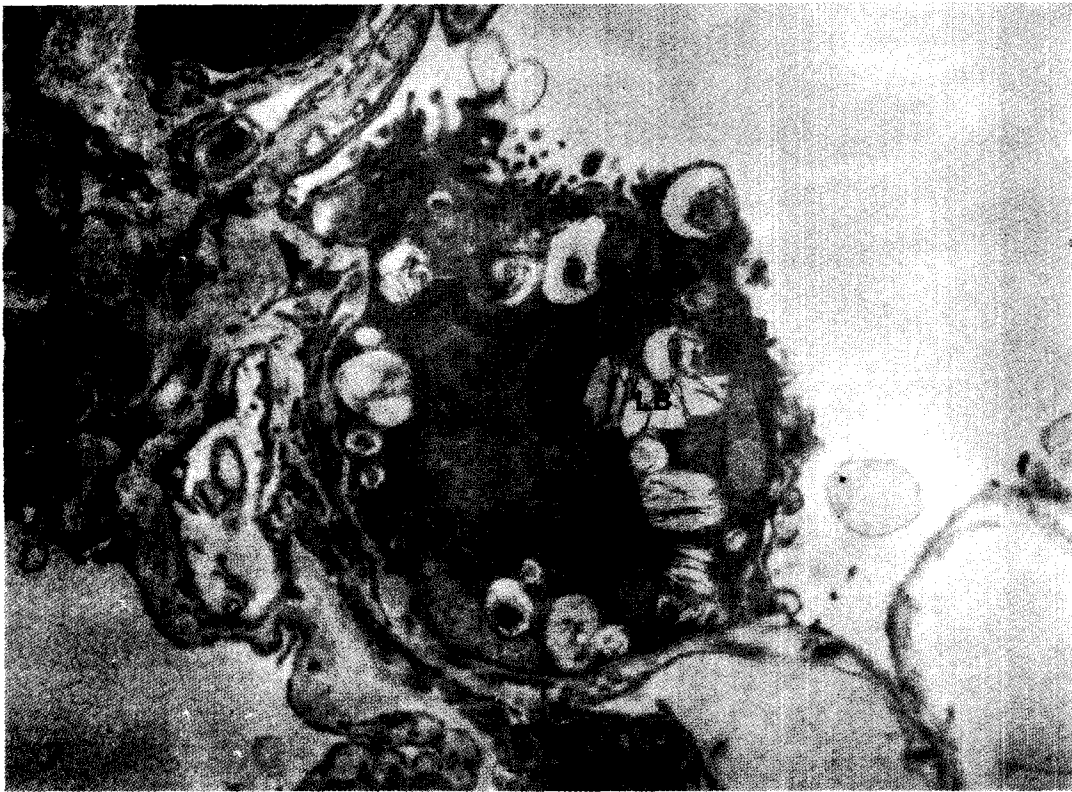
**Figure 10.** Electron micrograph of BAL macrophage in rats given IL-1 intratracheally of 4 month ( $\times 6,000$ ). Macrophage has phagocytosed a lot of degraded materials in their cytoplasm.

**Figure 11.** Cytochemical electron micrograph of alveolar macrophage in rats of 4 month for  $H_2O_2$  localization ( $\times 5,000$ ). Alveolar macrophage phagocytose some oxidized materials lively.

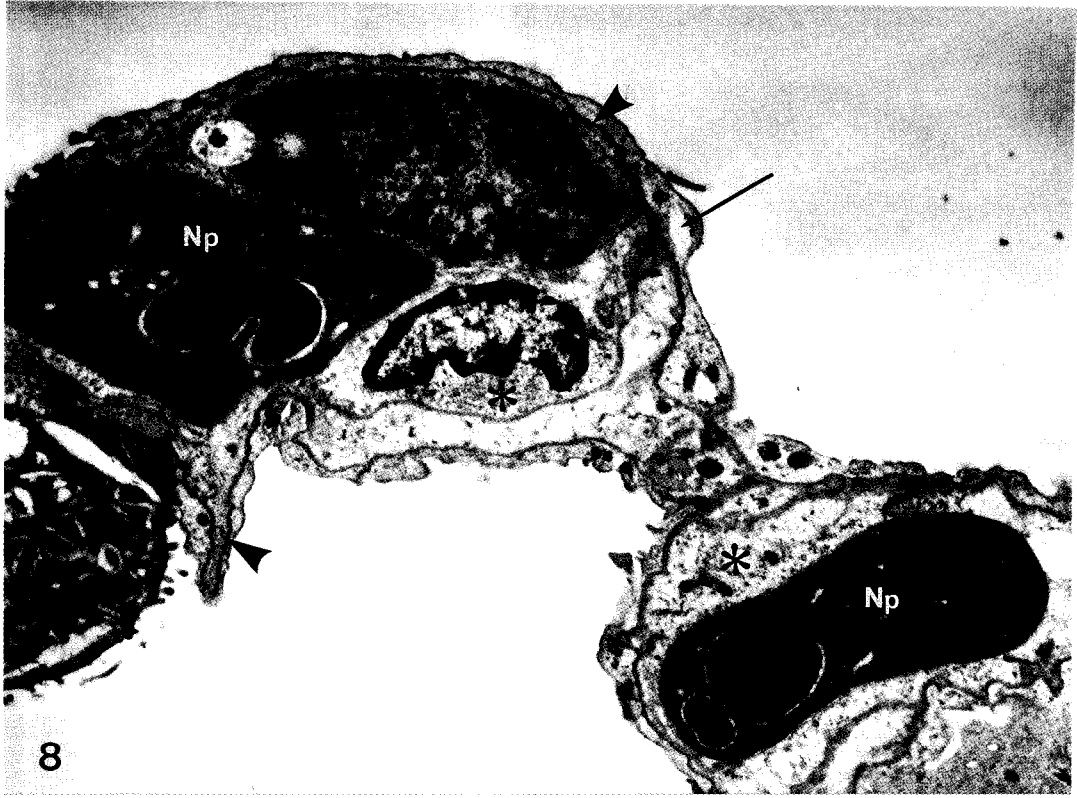
**Figure 12.** Cytochemical electron micrograph of lung tissue in rats of 20 month for  $H_2O_2$  localization ( $\times 4,000$ ). Cerium perhydroxide reaction is found in the whole lung tissue. Those reaction is stronger in interstitium (arrow) and type I epithelia (arrowhead) than in other cells.

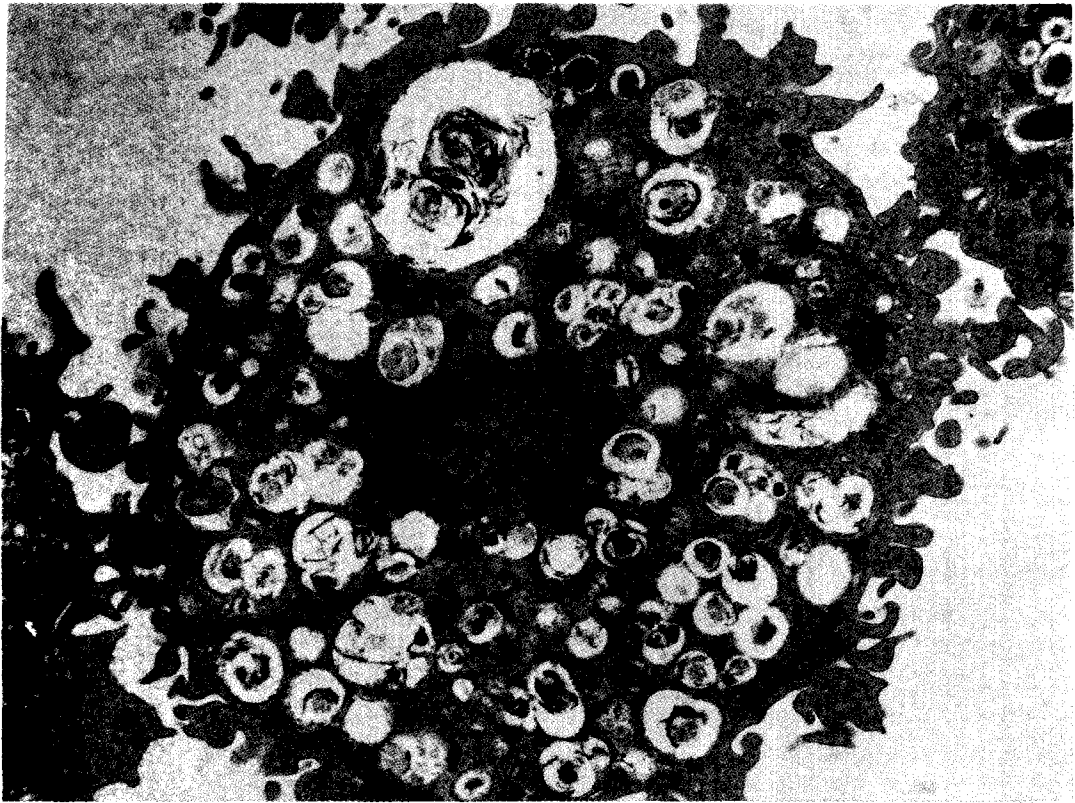
**Figure 13.** Cytochemical electron micrograph of lung tissue in rats of 20 month for  $H_2O_2$  localization ( $\times 6,000$ ). Collagen fibers are proliferated in interstitium, and the granules by cerium perhydroxide reaction is accumulated on them as well. AL; alveolar lumen, Fi; fiber.



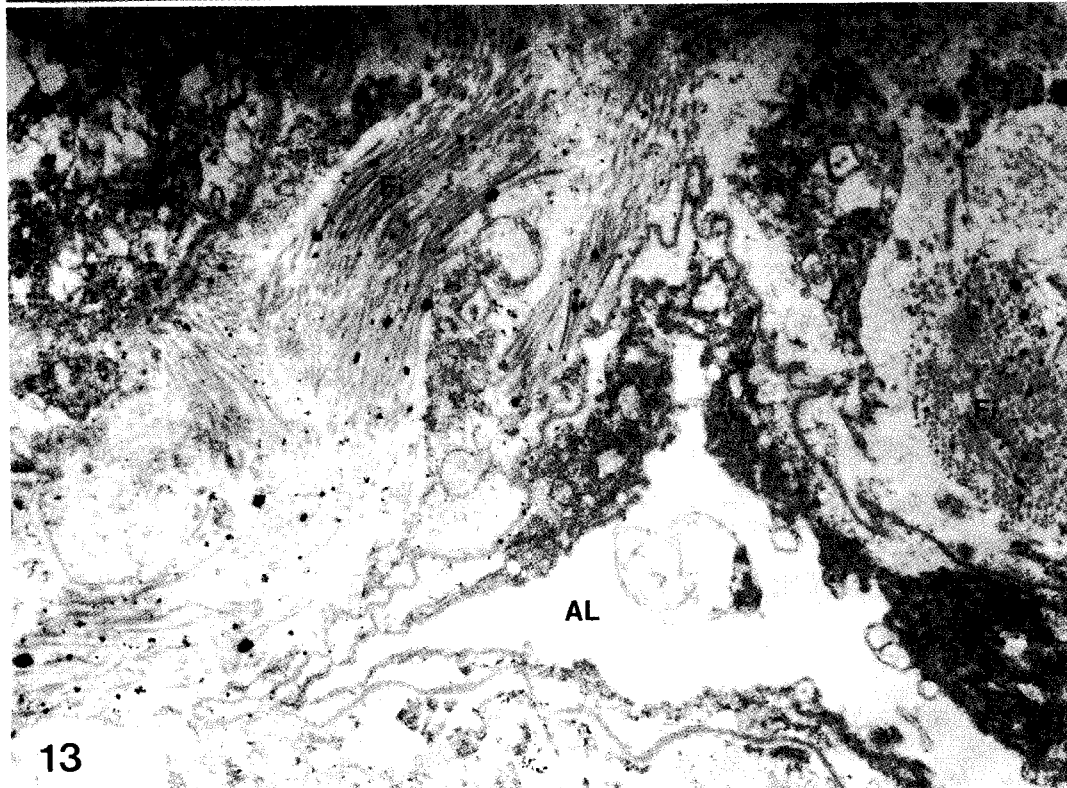
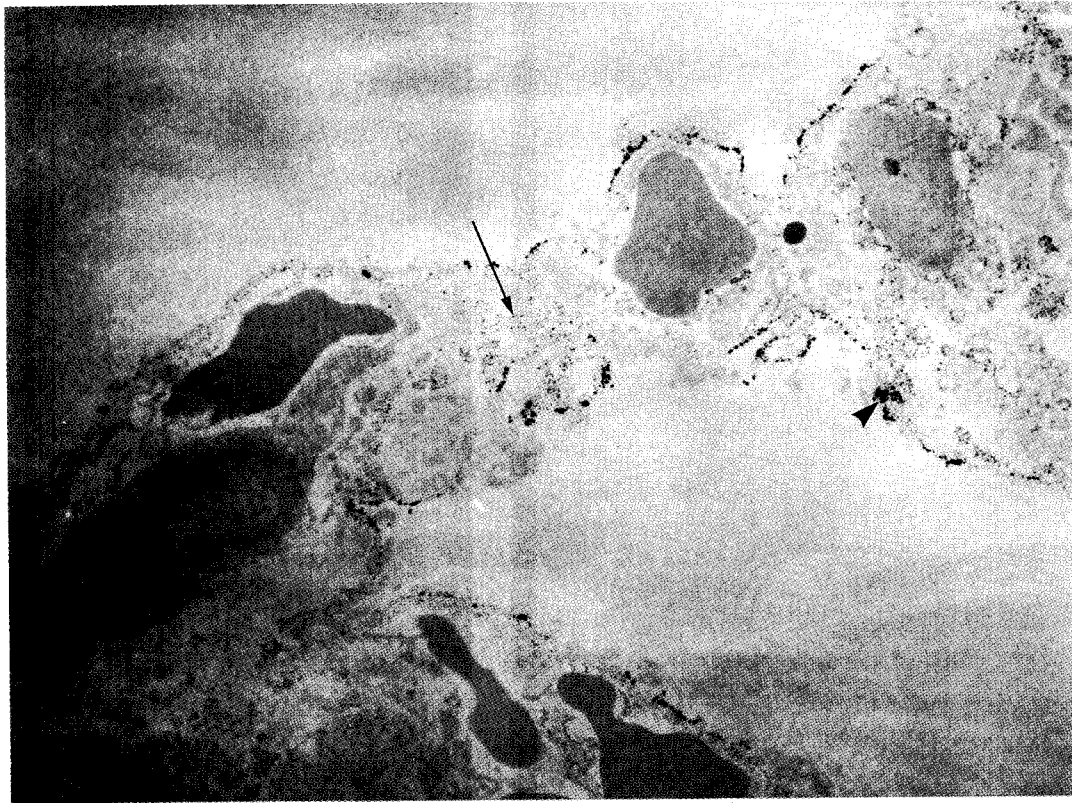








11



=Abstract=

**Morphological Study of Acute Lung Injury Induced by Interleukin-1 $\alpha$   
Intratracheally in Young and Old Rats**

**Hyun-Gug Cho, Young-Man Lee\* and Won-Hark Park<sup>†</sup>**

*Department of Biology, Yeungnam University, Kyungsan, Kyungbuk, 712-749, Korea*

*\*Department of Physiology, School of Medicine, Catholic of Taegu-Hyosung University,  
Taegu, 705-716, Korea*

In order to investigate the effect of aging and the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> localization in association with histological, ultrastructural, and cytochemical studies in lung tissue after interleukin-1 $\alpha$  (IL-1) induced lung injury, an acute lung injury was induced by instillation of IL-1 into the trachea. Both of 4- and 20-months-old male rats, protein contents in IL-1 treated bronchoalveolar lavage increased significantly compared to each control rats. Acute lung injury occurred by oxidative stress because neutrophils accumulated in vascular lumen and formed the adhesion with endothelial cells. As these cause, tissue proteins were exuded and leukocytes migrated into the alveolar lumen. Nevertheless in these lung injury H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> localization of IL-1 treated 20 months rats was not different compared to IL-1 treated 4 months rats. After all aging was not a factor to accelerate IL-1 induced lung injury. Based on these results, it is suggested that neutrophil infiltration might be an important cause in acute lung injury, and aging is not a factor to change the acute lung injury by oxidative stress.

**Key Words:** Interleukin-1, Acute lung injury, Neutrophil infiltration, Aging

[Korean J. Biomed. Lab. Sci., 3(2): 139-150, December, 1997]

---

<sup>†</sup>Corresponding author