한국전자현미경학회지 제 31 권 제 3 호 2001
Korean J. Electron Microscopy 31(3), 275~285(2001)

Interleukin-1의 기관지 투여 후 나타나는 폐세척액 내 대식세포의 수적변화에 따른 Xanthine Oxidase의 활성변화

조현국*, 윤종국[1], 최정목[2], 박원학[2], 이영만[3]
경운대학교 안경광학과, [1]계명대학교 공중보건학과, [2]영남대학교 생물학과,
[3]대구가톨릭대학교 의과대학 생리학교실

Increase of Alveolar Macrophages Contributes to the Enhanced Xanthine Oxidase Activity in the Bronchoalveolar Lavage Fluid of Rats Given IL-1 Intratracheally

Hyun Gug Cho*, Chong-Guk Yoon[1], Jeung Mok Choi[2],
Won-Hark Park[2] and Young Man Lee[3]
Dept. of Visual Optics, Kyungwoon University, Gumi, Kyungbuk 730-852, Korea
[1]Dept. of Public Health, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea
[2]Dept. of Biology, Yeungnam University, Kyungsan, Kyungbuk 712-749, Korea
[3]Dept. of Physiology, School of Medicine, Daegu Catholic University, Daegu 705-034, Korea
(Received August 15, 2001)

ABSTRACT

The pulmonary alveolar macrophage is thought to play an important role in the mediation of acute inflammatory lung injury by secretory products including degraded enzymes, cytokines, and reactive oxygen metabolites. This study was conceived to understand the role of alveolar macrophage in oxidative stress induced acute lung injury. To examine the alveolar macrophages and xanthine oxidase (XO) activity in bronchoalveolar lavage fluid (BALF), time-dependent changes of numbers of alveolar macrophages, monocytes and neutrophils in alveolar cavity were counted in association with ultrastructural and cytochemical observations of lung tissue and alveolar cells.

The number of monocytes was increased ($p<0.001$) at 1h after IL-1 treatment compared with that of sham. At 2h after instillation of IL-1, the number of alveolar macrophages was the highest, XO activity in BALF was elevated at 2h after IL-1 instillation and the activity was markedly elevated ($p<0.05$) at 3h after IL-1 treatment.

On the basis of these experimental results, it is suggested that, during early phase of acute lung injury induced by IL-1, alveolar macrophage-derived XO contributes to lung injury earlier than the neutrophilic respiratory burst.

Key words : Acute lung injury, Alveolar macrophage, Xanthine oxidase

* Correspondence should be addressed to Dr. Hyun Gug Cho, Dept. of Visual Optics, Kyungwoon University, 55 Induk-Ri, Gumi, Kyungbuk, 730 852 Korea. Ph.: (054)479-1333, E-mail: hgcho@kyungwoon.ac.kr
Copyright © 2001 Korean Society of Electron Microscopy

서 론

폐포강 대식세포(alveolar macrophge)는 사이토카인, 유해산소 대사물을 포함하여 그들이 분비하는 물질들로 인해 급성 염증성 폐손상에 있어서 직접 혹은 간접적으로 폐손상의 초기 반응에서 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다(Johnson & Ward, 1981; Nathan, 1982; Fanton & Ward, 1984, 1985). 이런 폐포강 대식세포의 기원은 소수 세포 자신의 증식에 의해서도 이루어지지만 대부분 말초 혈관계의 단핵구로부터 유래되어 염증반응 시 혈관으로부터 유주현상에 의해 이루어지게 된다(Shellito et al., 1987; Denholm et al., 1989). 최근 급성 폐손상과 관련된 폐포강 대식세포에 대한 연구들은 폐포강 대식세포가 TNF-α, MIP-2, IL-10 (Kalyanaraman et al., 1998), NOS (Bouthillier et al., 1998; Kristof et al., 1998), MCP-1 (Zhao et al., 1998), COX-2, 그리고 secretory PLA_2 (Arbibe et al., 1997; Hidi et al., 1997; Ohara et al., 1998)를 생성, 분비함으로써 폐손상에 중요한 역할을 담당하는 것으로 보고되고 있다. 그러나 급성 폐손상에 있어서 xanthine oxidase (XO)와 관련된 폐포강 대식세포의 역할에 대해서는 별로 알려진 것이 없다. 하지만 XO에 의해 형성된 hydroxyl radical은 chemokine의 생성을 자극하는 중요한 oxidant species이며 (Lee et al., 1999), LPS, IL-1, 그리고 저산소증에 의한 급성 폐손상 과정에서 XO의 활성이 증가되어 XO가 급성 폐손상 발병과정에 중요한 역할을 담당할 수 있다고 하였다(Hassoun, 1998). 뿐만 아니라 Schwartz et al. (1995)은 출혈성 쇼크에서 XO에 의해 생성된 유해산소가 폐조직 내 사이토카인의 발현을 증가시킨다고 하였고, Faggioni et al. (1994)은 LPS로 유도된 폐부종에 있어서도 XO에 의해 형성된 유해산소가 중요한 매개체라고 하였다. 이러한 연구결과에서 보듯이 XO와 관련된 급성 폐손상은 주로 폐조직 내, 혹은 폐 순환계 내의 변화와 연관된 것일 뿐(Dupont et al., 1992; Lin, 1995; Lin & Sun, 1995), 폐포강 대식세포에 의한 폐손상에 관한 기전은 잘 알려져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 IL-1을 기관지 내로 투여한 후, 시간 경과에 따른 폐세척액(bronchoalveolar lavage fluid; BALF) 내 폐포강 대식세포의 변화와 XO의 활성변화의 관계를 비교 분석하였으며, 이러한 변화가 급성 폐손상에 어떠한 영향을 미칠 것인가를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 급성 폐손상의 유도와 실험군의 설정

실험동물은 Sprague-Dawley 종 흰쥐로 체중 250~300 g의 수컷을 사용하였으며, 급성 폐손상을 유도하기 위하여 실험동물을 isoflurane으로 흡입마취 시킨 뒤, interleukin-1α (IL-1, endotoxin level < 1 EU/mg, R&D) 50 ng을 0.5 ml 생리식염수에 녹여 기도로 직접 분무하였다. 실험군은 대조군, IL-1 투여 1시간 후, 2시간 후, 3시간 후, 4시간 후, 그리고 5시간 후 처치군으로 나누어 실시하였다.

2. 급성 폐부종의 확인

급성 폐손상에 따른 폐포 내 단백질 유출을 확인하기 위하여 폐세척액 내 단백질 함량을 측정하였다. 단백질 함량은 폐세척액을 원심분리하여 세포성분을 제거한 다음 상층액을 이용하여 Brown et al. (1989)의 방법에 따라 시행하였다.

3. 폐세척액 내 XO의 활성도 측정

폐세척액 내 XO의 활성도 측정은 xanthine을 기질로 하여 30°C에서 20분간 반응시켜 생성된 uric acid를 292 nm에서 흡광도를 측정하는 Stripe & Della Corte (1969)의 방법에 따랐다. 효소의 활성도 단위는 효소액 중에 함유된 단백질 1 mg이 1분동안 반응하여 기질인 xanthine으로부터 생성된 uric acid의 양을 nmole로 표시하였다.

4. 미세구조적 관찰

폐조직과 폐포강 대식세포의 미세구조 관찰을 위해 폐조직은 폐조직 적출 즉시 조직 내 공기를 제거하였고, 폐세척액은 원심분리하여 폐포강 대식세포를 수집한 다음, 모두 2.5% glutaraldehyde로 전고정시키

고 수세하여, 1% osmium tetroxide로 후고정시켜 알코올의 농도를 순차적으로 증가시키며 탈수시켰다. 탈수가 끝난 조직들을 epoxy resin에 포매하여 열중합시킨 다음, 60~70 nm 두께로 절편하여 uranyl acetate와 lead citrate로 염색한 후 투과전자현미경(H-600, Hitachi)으로 관찰하였다.

5. 세포화학적 관찰

폐조직 내 H_2O_2 분포를 관찰하기 위해 폐조직 적출 즉시 조직 내 공기를 제거하였고, 폐세척액은 원심분리하여 폐포강 대식세포를 수집한 다음 2.0 mM cerium chloride, 10 mM 3-amino-1,2,4-triazole, 0.1 M tris-maleate buffer (pH 7.5), 7% sucrose, 0.002% triton X-100으로 조제된 기질에 담그고 37°C에서 30분간 반응시켰다. 반응이 끝난 조직을 수세한 다음 1% osmium tetroxide로 고정시킨 후, 탈수, 포매, 초박절편하여 uranyl acetate 단염색하고 투과전자현미경으로 관찰하였다.

6. 폐세척액 내 대식세포, 단핵구, 호중구의 산정

폐세척액에서 수집한 세포들의 미세구조 관찰 표본을 각 블록당 1 μm 간격으로 초박절편하여 5개씩 150 mesh grid에 부착시키고 uranyl actate와 lead citrate로 염색하였다. 그리고 1개의 grid 내에 10개의 lattice를 무작위 선택하여 총 50개의 lattice에서 동정되는 대식세포, 단핵구 그리고 호중구를 계수하고 통계처리하였다.

7. 통계처리

실험에서 얻어진 모든 성적은 SPSS WIN 통계 프로그램을 이용하여 95% 신뢰구간으로 하는 ANOVA test를 실시하였다.

결 과

IL-1을 기도로 분무한 후 폐부종을 확인하기 위한 폐세척액 내 단백질 함량을 측정한 결과(Fig. 1), 1시간 후 단백질 함량은 대조군과 비교하여 18% 증가되

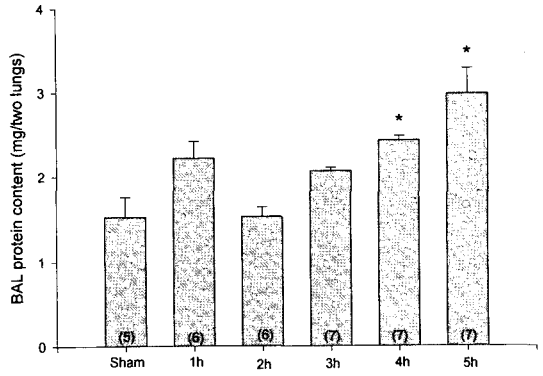

Fig. 1. Time-dependent changes of protein contents in BALF after treatment of IL-1 intratracheally. Each bar represents mean±S.E. The numbers of determinations are in the parentheses. *$p<0.05$; Significant difference compared to sham.

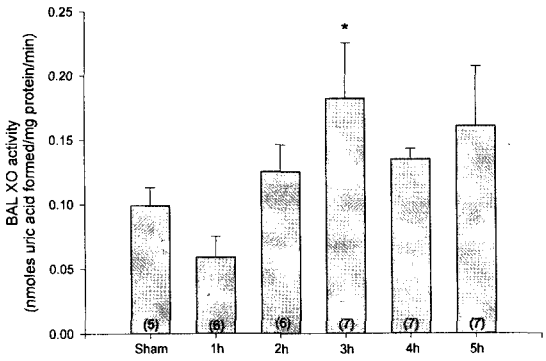

Fig. 2. Time-dependent changes of XO activity in BALF after treatment of IL-1 intratracheally. Each bar represents mean±S.E. The numbers of determinations are in the parentheses. *$p<0.05$; Significant difference compared to sham.

었다가 2시간 후 대조군의 수준으로 감소된 다음, 3시간 후 35%, 4시간 후 59% ($p<0.05$), 5시간 후 95% ($p<0.05$)의 점진적인 증가율을 보였다.

IL-1 투여 후 시간경과에 따른 폐세척액 내 XO의 활성변화를 측정한 결과(Fig. 2), IL-1 투여 1시간 후 XO의 활성도는 감소되었다가 증가되기 시작하여, IL-1 투여 3시간 후 대조군과 비교하여 볼 때 84% ($p<0.05$)의 현저한 증가율을 보였고, 4시간 후 감소

되었다가 5시간 후 다시 증가되는 양상으로 나타났다.

IL-1 투여 후 나타나는 폐포강 내의 세포들의 누적변화를 관찰한 결과를 보면(Fig. 3), IL-1 투여 1시간 후 폐포강 대식세포와 호중구의 수는 변화가 없었으나, 단핵구의 수가 현저히 증가되었다($p<0.001$). 그러나 IL-1 투여 2시간 후에는 IL-1 투여 1시간 후 증가되었던 단핵구는 대조군과 같은 수준으로 감소되었으나, 폐포강 대식세포의 수가 현저히 증가되었다($p<0.05$). 그리고 IL-1 투여 3시간 후부터 호중구의 수적 변화가 나타났는데, 3시간 후 대조군과 비교하여 볼 때 약 23배($p<0.01$), 4시간 후 약 120배($p<0.001$), 그리고 5시간 후에는 약 100배($p<0.001$) 증가되어 나타났다.

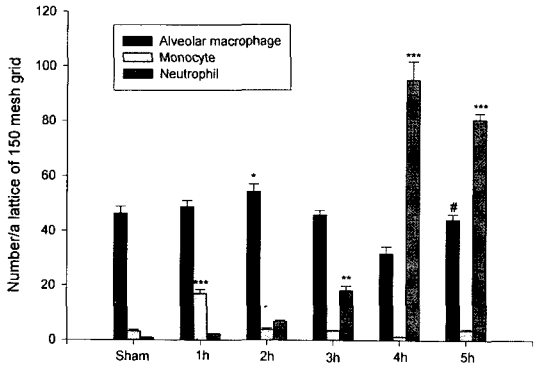

Fig. 3. Time-dependent changes of numbers of alveolar macrophages, monocytes and neutrophils in alveolar cavities after treatment of IL-1 intratracheally. Each bar represents mean±S.E. *$p<0.05$, **$p<0.01$, ***$p<0.001$; Significant difference compared to sham, #$p<0.05$; Significant difference between 4h and 5h.

전자현미경을 통한 폐조직의 미세구조 변화를 관찰한 결과, IL-1 투여 5시간 후 폐손상에 의해 제2형 폐포상피로부터 불활성화된 형태인 층상의 surfactant와 적혈구, 그리고 단백질들이 폐포강 내로 유출된 모습이 관찰되었다(Fig. 4). IL-1 투여 2시간 후에는 폐포강 내에서 단핵구로부터 폐포강 대식세포로 분화되는 모습이 관찰되었으며(Fig. 5), IL-1 투여 5시간 후에는 폐포강 대식세포가 호중구를 탐식하고 있

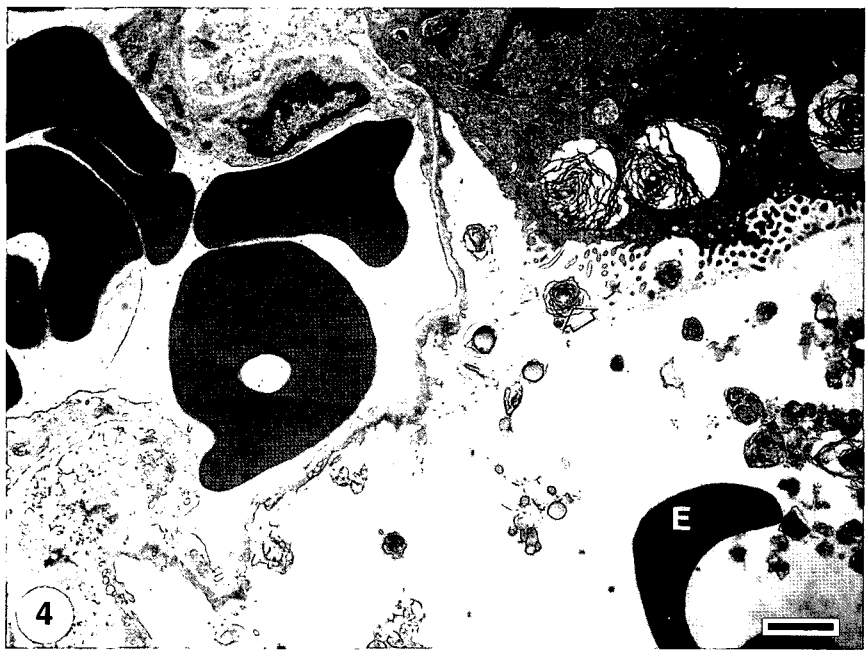

Fig. 4. Electron microscopic photograph of lung tissue 5 h after IL-1 treatment, uranyl acetate & lead citrate, scale = 2.5 μm. An inactive lamellar structure of surfactant (arrow), erythrocytes and various debris can be seen in alveolar cavity. E: erythrocyte.

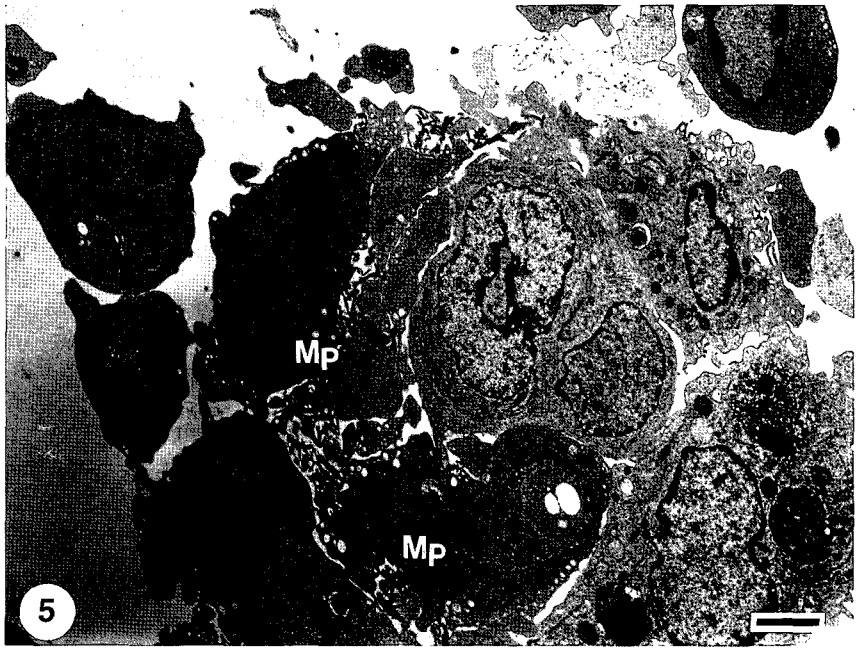

Fig. 5. Electron microscopic photograph of lung tissue 2 h after IL-1 treatment, uranyl acetate & lead citrate, scale= 3.3 μm. In alveolar cavity, monocytes were found in the stage of cell division and differentiation into macrophages. Mo: monocyte, Mp: macrophage.

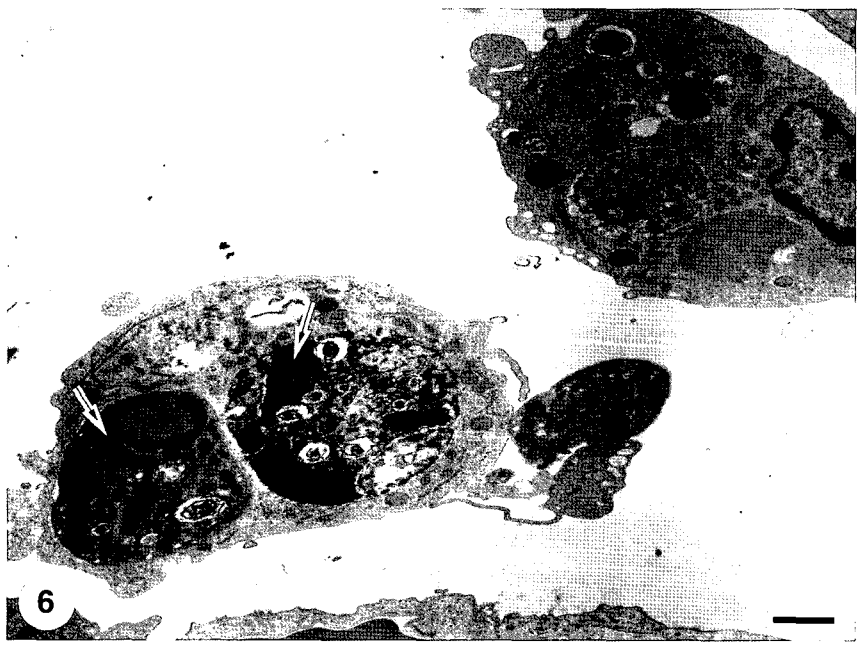

Fig. 6. Electron microscopic photograph of lung tissue 5 h after IL-1 treatment, uranyl acetate & lead citrate, scale= 2.5 μm. Alveolar macrophage engulfing apoptotic neutrophils (arrows) into the cytoplasm was shown.

Fig. 7. Electron microscopic photograph of lung tissue 5 h after IL-1 treatment, uranyl acetate & lead citrate, scale= 2 μm. Alveolar macrophage engulfed karyopyknotic neutrophils (arrow).

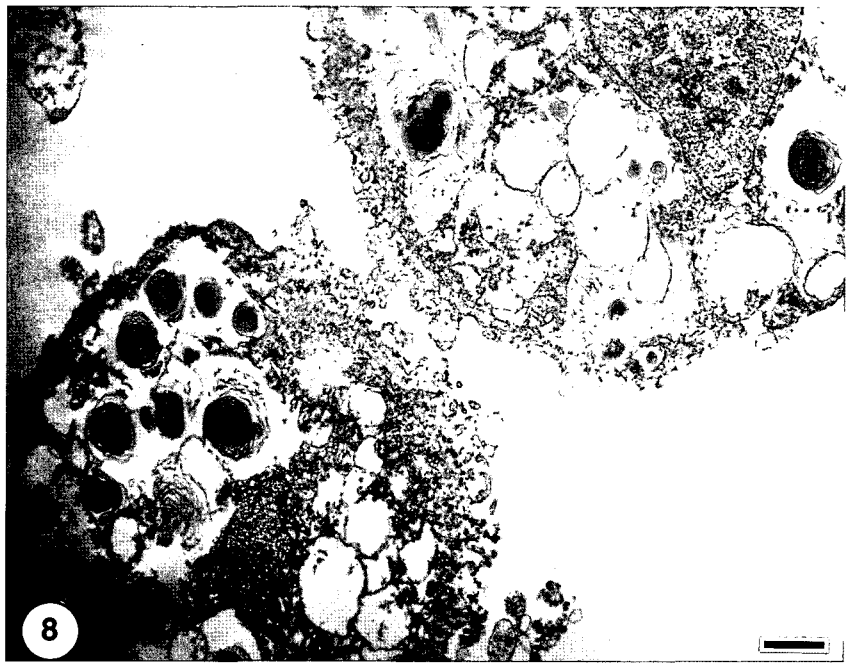

Fig. 8. Cytochemical finding of lung tissue 2 h after IL-1 treatment, uranyl acetate, scale= 1.7 μm. Cerrous perhydroxide deposits were found in cell membrane of alveolar macrophages.

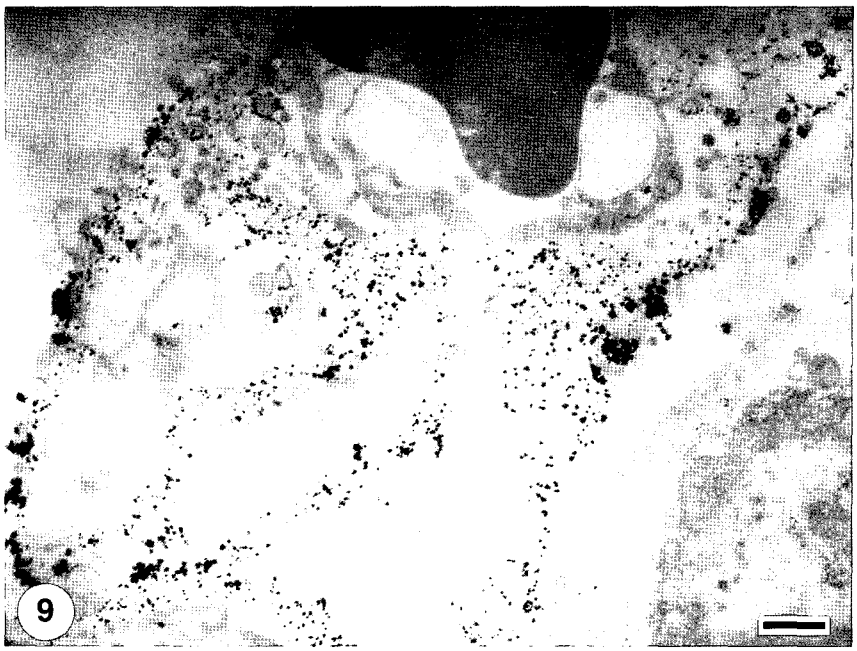

Fig. 9. Cytochemical finding of lung tissue 2 h after IL-1 treatment, uranyl acetate, scale= 1 μm. Surfactant-bound cerrous perhydroxide deposits were located on the respiratory surface.

는 형태가 관찰되었는데 (Fig. 6), 폐세척액으로부터 수집한 세포들 속에서는 보다 명확히 폐포강 대식세포에 의해 호중구가 탐식되어 핵이 응축되고 세포질이 융해되는 괴사의 모습이 많이 관찰되었다 (Fig. 7). 뿐만 아니라 cerium chloride가 H_2O_2와 반응하여 생성된 cerrous perhydroxide deposit의 분포를 관찰한 세포화학적 결과에서, IL-1 투여 2시간 후에 폐포강 대식세포의 막에서 그 반응과립이 나타났으며 (Fig. 8), 호흡상피면을 따라 존재하는 surfactant에서도 cerrous perhydroxide deposit이 관찰되었다 (Fig. 9).

고 찰

IL-1은 급성 호흡곤란 증후군 환자의 폐세척액 내에서 증가되는데, IL-1을 흰쥐의 기도로 직접 투여하면 급성 폐손상을 유발하는 것으로 알려져 있다 (Hybertson et al., 1995: Lefkowitz et al., 1996). 본 연구자들은 IL-1 투여 후 호중구 침윤에 의한 oxidative stress에 의해 급성 폐손상이 유발되며, IL-1 투여 5시간 후에 손상이 최고조에 달하는 것을 보고한 바 있다 (Cho et al., 1997; Lee et al., 1997, 2000). IL-1 투여 후 폐세척액 내 초기 변화들에 대한 보고는 없으나 IL-1의 기도 내 투여는 폐포강 대식세포에 작용하여 유해산소 생성과 밀접한 관련이 있을 것으로 생각되지만, 급성 폐손상의 발병기전에 있어서 폐포강 대식세포에 대한 역할은 많이 언급되지 않고 있다. 특히 폐포강 대식세포의 변화와 유해산소 생성에 관여하는 XO의 활성변화와의 관계에 대한 연구는 거의 없다. 이에 본 실험에서 IL-1을 기관지 내로 투여한 후 시간경과에 따라 폐세척액 내 폐포강 대식세포의 변화에 따른 XO의 활성변화를 측정하였다.

급성 폐손상의 발병기전에 영향을 미치는 XO는 혈 중의 XO 활성증가로 유해산소가 내피세포에 손상을 주어 폐 혈관계 투과성을 증대시켜 폐부종을 유발한다고 하였는데 (Lin, 1995; Lin & Sun, 1995), liver ischemia-reperfusion (Weinbroum et al., 1995), skin burn (Burton et al., 1995), gut ischemia (Poggetti et al., 1992)시 폐손상의 원인은 XO에 있다고 하였다. 또한

대식세포는 탐식작용 동안 유해산소 생성이 증가되는데 (Johansson, 1995), 폐포강 대식세포의 유해산소 생성은 폐포강 대식세포에서 유리되는 nitric oxide에 의한다는 것이 (Tsukahara et al., 1996) 주류를 이룰 뿐 XO에 대한 언급은 없다. 하지만 Takao et al. (1996)은 복강 대식세포의 탐식작용은 대식세포 내 XO와 NADPH oxidase의 활성에 의존한다고 하여 폐포강 대식세포의 활동은 XO의 활성 증가와도 매우 밀접한 관계가 있음을 시사하였다.

본 실험의 결과에서와 같이 IL-1 투여 후 시간이 경과함에 따라 폐세척액 내 단백질 함량이 점진적으로 증가되어 5시간째 가장 높은 함량을 보였는데 (Lee et al., 1997), 이것은 IL-1으로 유도된 폐손상이 시간이 경과함에 따라 증가되었음을 보여주는 것이다. 그러나 폐세척액 내 XO의 활성은 IL-1 투여 2시간 후부터 증가되어 3시간 후 가장 높은 활성을 보여 XO 활성 증가 후 단백질 함량이 점진적으로 증가되는 것으로 나타났으며, 세포화학적 반응 결과에서 보듯이 cerrous perhydroxide deposits이 IL-1 투여 2시간 후 폐포강 대식세포 막에서, IL-1 투여 3시간 후 호흡상피면에서 관찰되어 XO 활성증가에 따른 유해산소 생성이 폐손상의 중요한 인자가 될 수 있음을 보여주고 있다. 특히 폐체척액 내 XO의 활성변동은 폐포강 대식세포의 양적 변화와 밀접한 관계를 보이고 있는데, XO의 활성이 증가되기 전 IL-1 투여 1시간 후에 폐포강 내 단핵구의 수가 증가되었고, IL-1 투여 2시간 후에 폐포강 대식세포의 수적 증가와 함께 XO의 활성이 증가되었다. 뿐만 아니라 폐조직의 미세구조 변화를 관찰한 결과, IL-1 투여 2시간 후 폐포강 내에서 단핵구의 분열양상과 대식세포로의 분화되는 모습이 관찰되어 IL-1 투여 2시간째 나타나는 폐포강 대식세포와 XO의 활성증가는 혈관으로부터 유주된 단핵구의 증가때문으로 나타났으며 (Shellito et al., 1987; Denholm et al., 1989), 단핵구의 유주현상은 hydroxyl radical이 폐세척액 내 단핵구와 염증세포의 chemokine 생성을 촉진시켰기 때문인 것으로 생각된다 (Zhao et al., 1998; Lee et al., 1999). 이러한 이유로 IL-1 투여 3시간 후부터 폐포강 내 호중구의 축적이 관찰되는데, 호중구는 급성 폐손상의 발병기전에 있어서 oxidative stress를 유발시켜 조직의 손상을 일으킨다고 하였다 (Repine, 1994). 그러나 폐세척액 내 단백질 함량의 증가양상으로 보아 호중구에 의한 산화적 손상에 앞서 폐포강 대식세포와 XO의 활성증가로 인한 유해산소매개 손상이 선행된 것으로 보인다. XO는 정상조직 내에서 xanthine dehydrogenase (XOD)의 형태로 존재하다가 산화형으로 전환되어 유해산소와 과산화 수소를 생성하는 효소로 알려져 있으나, Hasan et al. (1992)은 쥐 복강 대식세포의 정상 배양세포에서 XO와 XOD 전체활성의 60%가 XO 형태로 나타났고, xanthine을 공급함으로써 XO의 활성율은 증가된다고 하였다. 따라서 본 실험에서 나타난 폐포강 대식세포의 수적 증가는 XO의 활성증가로 인한 유해산소의 생성이 증가되었음을 말해 주고 있다. 그리고 Akaike et al. (1990)은 influenza virus에 감염된 생쥐의 혈청과 폐세척액 모두에서 XO의 함량이 크게 증가되어 폐손상이 발생된다고 하였다. 또한 Tritsch & Niswander (1980)는 대식세포는 adenosine deaminase의 활성을 통해 XO가 필요로 하는 기질의 양이 조절된다고 하여 유해산소의 생성원이 XO라고 하였으며, Oyanagui (1980)도 대식세포에 의해 생성되는 유해산소의 본질적 요소는 phosphate, pyrophosphate, ATP, ADP, 그리고 sulfate를 이용하는 XO의 활성이 산화적 손상의 원인임을 지적하였다. 그리고 본 연구에서 폐포강 대식세포들이 IL-1 투여 후 4시간과 5시간 사이에 또다시 수적으로 현저한 증가현상을 보였는데, Lefkowitz et al. (1996)이 대식세포를 myeloperoxidase에 노출시켰을 때 탐식작용이 증가된다고 한 것으로 보아 이러한 수적 증가는 폐포강 내 축적된 호중구의 활성화에 의한 것으로 보여진다. 특히 폐조직 뿐만 아니라 폐세척액에서 수집된 폐포강 대식세포들의 미세구조 관찰 결과에서 많은 호중구들이 폐포강 대식세포에 의해 탐식된 모습으로 관찰되었다. 이러한 현상은 호중구 매개 폐손상에 대해 폐포강 대식세포의 방어기전으로 (Cox et al., 1995) 생각할 수 있다.

이러한 결과들로 미루어 보아 IL-1을 기도로 주입한 후 나타나는 급성 폐손상은 폐포강 대식세포의 양적 증가와 대식세포에서 유리되는 XO의 활성 증가가 초기 폐손상을 유도하는데 중요한 인자로 작용하는 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

Akaike TM, Ando M, Oda T: Dependence on O_2-generation by xanthine oxidase of pathogenesis of influenza virus infection. J Clin Invest 85 : 739-745, 1990.

Arbibe L, Vial D, Rosinski-Chupin I, Havet N, Vargaftig BB, Touqui L: Endotoxin induces expression of type II phospholipase A_2 in macrophages during acute lung injury in guinea-pig: involvement of TNF-alpha in lipopolysaccharide-induced type II phospholipase A_2 synthesis. J Immunol 159(1) : 391-400, 1997.

Bouthillier L, Vincent R, Geogan P, Adamson S, Stewart M, Guenette J, Potvin M, Kumarathasan P: Acute effects of inhaled urban particles and ozone: lung morphology, macrophage activity, and plasma endothelin-1. Am J Pathol 153(6) : 1873-1884, 1998.

Brown RE, Jarvis KL, Hyland KJ: Protein measurement using bicinconinic acid: elimination of interfering substance. Anal Biochem 102 : 1152-1160, 1989.

Burton LK, Velasco SE, Patt A, Terada LS, Repine JE: Xanthine oxidase contributes to lung leak in rats subjected to skin burn. Inflammation 19(1) : 31-38, 1995.

Cho HG, Lee YM, Park WH: Morphological study of acute lung injury induced by interleukin-1α intratracheally in young and old rats. Korean J Biomed Lab Sci 392 : 139-150, 1997. (Korean)

Cox G, Crossley J, Xing Z: Macrophage engulfment of apoptotic neutrophils contributes to the resolution of acute pulmonary inflammation *In vivo*. Am J Respir Cell Mol Biol 12 : 232-237, 1995.

Denholm EM, Wolber FM, Phan SH: Secretion of monocyte chemotactic activity by alveolar macrophages. Am J Pathol 135(3) : 571-580, 1989.

Dupont GP, Hueckstead TP, Marshall BC, Ryan US, Micheal JR, Hoidal JR: Regulation of xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase activity and gene expression in cultures rat pulmonary endothelial cells. J Clin Invest 89(1) : 197-202, 1992.

Faggioni R, Gatti S, Demitri MT, Delgado R, Echtenacher B, Gnocchi P, Heremans H, Ghezzi P: Role of xanthine oxidase and reactive oxygen intermediates in LPS- and TNF-induced pulmonary edema. J Lab Clin Med 123(3) : 394-399, 1994.

Fanton JC, Ward PA: Oxygen-derived radials and their metabolites: relationship to tissue injury. In Current Concepts. Upjohn Phamaceutical, Kalamazoo, MI. 1985.

Fanton JC, Ward PA: Mechanisms of lung parenchymal injury. In State of the Art. Pathogenesis of Granulomatous Lung Disease. G.W. Hunninghake, editor. Am Rev Respir Dis 130 : 484-491, 1984.

Hasan NM, Cundall RB, Adams GE: Xanthine oxidase/dehydrogenase activity in intact cultured cells (in situ analysis). Free Radic Res Commun 16(3) : 175-182, 1992.

Hassoun PM, Yu FS, Cote CG, Zulueta JJ, Sawhney R, Skinner KA, Skinner HB, Parks DA, Lanzillo JJ: Upregulation of xanthine oxidase by lipopolysccharide, interleukin-1, and hypoxia. Role in acute lung injury. Am J Respir Crit Care Med 158 : 299-305, 1998.

Hidi R, Vial D, Havet N, Berger A, Vargaftig BB, Touqui L: Inhibition by pulmonary surfactant Curosurf of secretory phospholipase A_2 expression in guinea-pig alveolar macrophages. Biochem Pharmacol 54(9) : 1055-1058, 1997.

Hybertson BM, Leff JA, Beehler CJ, Barry PC, Repine JE: 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, 1995.

Johansson A, Jesaitis AJ, Lundqvist H, Magnusson KE, Sjolin C, Karlsson A, Dahgren C: Different subcellular localization of cytochrome b and the dormant NADPH-oxidase in neutrophils and macrophages: effect on the production of reactive oxygen species during phagocytosis. Cell Immunol 161 : 61-71, 1995.

Johnson KC, Ward PA: Role of oxygen metabolites in immune complex injury in the lung. J Immunol 126 : 2365-2370, 1981.

Kalyanaraman M, Heidemann SM, Sarnaik AP: Macrophage inflammatory protein-2 predicts acute lung injury in endotoxemia. J Invest Med 46(6) : 275-278, 1998.

Kristof AS, Goldberg P, Laubach V, Hussain SN: Role of inducible nitric oxide synthase in endotoxin-induced acute lung injury. Am J Respir Crit Care Med 158(6) : 1883-1889, 1998.

Lee JS, Kahlson SS, Culbreth R, Cooper AD Jr.: Modulation

of monocyte chemokine production and nuclear factor kappa B activity by oxidants. J Interferon Cytokine Res 19 : 761-767, 1999.

Lee YM, Hybertson BM, Cho HG, Terada LS, Cho OJ, Repine AJ, Repine JE: Platelet-activating factor contributes to acute lung leak in rats given interleukin-1 intratracheally. Am J Physiol 279 : L75-L80, 2000.

Lee YM, Hybertson BM, Terada LS, Repine AJ, Cho HG, Repine JE: Mepacrine decreases lung leak in rats given interleukin-1 intratracheally. Am J Respir Crit Care Med 155 : 1624-1628, 1997.

Lefkowitz SS, Geldorman MP, Lefkowitz DL, Moguilevsky N, Bollen A: Phagocytosis and intercellular killing of Canadian albicans by macrophages exposed to myeloperoxidase. J Infec Dis 173(5) : 1202-1207, 1996.

Lin Y: Vasoactive intestinal polypeptide prevents injury of pulmonary vascular permeability due to xanthine with xanthine oxidase. Clin Med Sci J 10(3) : 141-145, 1995.

Lin Y, Sun M: Vasoactive intestinal polypeptide prevents injury of pulmonary vascular permeability due to xanthine with xanthine oxidase. Chung Kuo I Hsueh Yuan Hsueh Pao 17(4) : 259-263, 1995.

Nathan C: Secretion of oxygen intermediates. Role in effector functions of activated macrophages. Fed Proc 41 : 2206-2211, 1982.

Ohara M, Sawa T, Kurahashi K, Wiener-Kronish JP, Doshi V, Kudoh I, Gropper MA: Induction of cyclooxygenase-2 in alveolar macrophages after acid aspiration: selective cyclooxygenase-3 blockade reduces interleukin-6 production. Anesthesiology 88(4) : 1014-1022, 1998.

Oyanagui Y: Inflammation and superoxide production by macrophages. Agents Actions Suppl 7: 174-179, 1980.

Poggetti RS, Moore FA, Moore EE, Koeike K, Banerjee A: Simultaneous liver and lung injury following gut ischemia is mediated by xanthine oxidase. J Trauma 32(6) : 723-727, 1992.

Repine JE: Interleukin-1 mediates acute lung injury and tolerance to oxidative injury. Environ Health Perspec 102 (suppl) 10 : 75-78, 1994.

Schwartz MD, Repine JE, Abraham E: Xanthine oxidase-derived oxygen radicals increase lung cytokine expression in mice subjected to hemorrhagic shock. Am J Respir Cell Mol Biol 12(4) : 434-440, 1995.

Shellito J, Esparza C, Armstrong C: Maintenance of normal alveolar macrophage cell populations. The roles of monocyte influx and proliferation *in situ*. Am Rev Respir Dis 135(1) : 78-82, 1987.

Stripe F, Della Corte E: The regulation of rat liver xanthine oxidase. J Biol Chem 244(14) : 855-863, 1969.

Takao S, Smith EH, Wang D, Chan CK, Bulkley GB, Klein AS: Role of reactive oxygen metabolites in murine peritoneal macrophage phagocytosis and phagocytic killing. Am J Physiol 271 : C1278-C1284, 1996.

Tritsch GL, Niswander PW: Positive correlation between adenosine deaminase activity and superoxide formation during phagocytosis. J Med 11 : 393-399, 1980.

Tsukahara Y, Horita Y, Anan K, Morisaki T, Tanaka M, Torisu M: Role of nitric oxide derived from alveolar macrophages in the early phase of acute pancreatitis. J Surg Res 66(1) : 43-50, 1996.

Weinbroum A, Nielsen VG, Tan S, Gelman S, Matalon S, Skinner KA, Bradley E Jr., Parks DA: Liver ischemia-reperfusion increases pulmonary permeability in rat: role of circulating xanthine oxidase. Am J Physiol 268 : G988-G996, 1995.

Zhao Q, Simpson LG, Driscoll KE, Leikauf GD: Chemokine regulation of ozone-induced neutrophil and monocyte inflammation. Am J Physiol 274 : L39-L46, 1998.

<국문초록>

폐포강 대식세포는 사이토카인, 유해산소 대사물을 포함한 그들이 분비하는 물질들로 인해 급성 폐손상에 있어서 직접, 간접적으로 폐손상의 초기반응에 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 interleukin-1α(IL-1)로 유도된 급성 폐손상에서 폐포강 대식세포의 역할을 알아보고자 하였다.

실험군은 대조군과 IL-1 투여 후 1시간, 2시간, 3시간, 4시간 그리고 5시간군으로 나누었으며, 폐포강 대식세포와 XO와의 관계를 분석하기 위해 폐세척액 내 XO의 활성도와 폐포강 대식세포, 단핵구, 그리고 호중구의 수적 변화를 측정하였다. 그리고 각 군의 미세구조 변화를 관찰하였다.

실험 결과, 폐포강 내 단핵구의 수는 IL-1 투여 후 1시간군에서 대조군과 비교하여 현저히 증가되었으며 ($p<0.001$), 폐포강 대식세포의 수는 IL-1 투여 2시간 후에 가장 높았고, 폐세척액 내 XO의 활성도는 IL-1 투

여 후 점차적으로 증가되다가 3시간 후에 현저히 증가되었다($p<0.05$). 폐포강 내 호중구의 수는 IL-1 투여 3시간 후부터 뚜렷이 증가되기 시작하였다.

이러한 결과로 보아 IL-1을 기관지 내로 투여한 후 유도된 급성 폐손상에서 폐포강 대식세포에서 유리된 XO는 호중구의 축적에 의한 손상보다 더 초기단계에서 폐손상을 유도하는 인자인 것으로 추정된다.