

□ 원 저 □

고산소에 노출된 신생 백서와 성숙 백서에 있어서 Peroxioredoxin I과 II의 발현

연세대학교 의과대학 내과학교실

이창률, 김형중, 안철민, 김성규

=Abstract=

Expression of Peroxioredoxin I and II in Neonatal and Adult Rat Lung Exposed to Hyperoxia

Chang Youl Lee, M.D., Hyung Jung Kim, M.D.,
Chul Min Ahn, M.D., Sung Kyu Kim, M.D.

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : In mammals, the activity of antioxidant enzymes is increased in adult lung to adapt to hyperoxia. The increase of these activities is augmented in neonates and is known as an important mechanism of tolerance to high oxygen levels. Peroxioredoxin(Prx) is an abundant and ubiquitous intracellular antioxidant enzyme. Prx I and II are major cytosolic subtypes. The aim of this study was to examine the Prx I and II mRNA and protein expression levels in adult rat lungs and to compare them with those of neonatal rat lungs exposed to hyperoxia.

Methods : Adult Sprague-Dawley rats and neonates that were delivered from timed-pregnant Sprague-Dawley rat were randomly exposed to normoxia or hyperoxia. After exposure to high oxygen level for a set time, the bronchoalveolar lavage fluid and lung tissue were obtained. The Prx I and II protein expression levels were measured by western blot analysis using polyclonal rabbit anti-Prx I or anti-Prx II antibodies and the relative expression of the Prx I and Prx II per Actin protein were obtained as an internal standard. The Prx I and II mRNA expression levels were measured by northern blot analysis using Prx I and Prx II-specific cDNA prepared from pCRPrx I and pCRPrx II, and the relative Prx I and Prx II expression levels per Actin mRNA were obtained as an internal standard.

Results : Hyperoxia induced some peak increase in the Prx I mRNA levels after 24 hour in adult rats.

Address for correspondence :

Haying Jung Kim, M.D.

Department of Internal medicine, Yonsei University College of Medicine

Yongdong Severance Hospital, Dogok-dong, Kangnam-ku, Seoul, Korea

Phone : 02-3497-3316 Fax : 02-3463-3882 E-mail : khj57@yumc.yonsei.ac.kr

Interestingly, hyperoxia induced a marked increase of Prx I mRNA at 24 hour in neonatal rats. However, hyperoxia did not induce an alteration in the expression of Prx II mRNA in both the adult and neonatal rat lungs. Hyperoxia did not induce an alteration in the expression of the Prx I and Prx II protein in both the adult and neonatal rat lungs. Hyperoxia did not induce an alteration in the amount of Prx I and Prx II protein all the times in the bronchoalveolar fluid of adult rats.

Conclusion : Prx I and II is differently regulated by hyperoxia in adult and neonatal rat lung at the transcriptional level. The prominent upregulation of Prx I mRNA in neonates compared to those in adults by hyperoxia may be another mechanism of resistance to high oxygen levels in neonate. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2002, 53:36-45)

Key words : Antioxidant enzyme, Peroxiredoxin, Hyperoxia, Neonate.

서 론

급성호흡곤란증후군(acute respiratory distress syndrome : ARDS)등의 호흡기계 질환의 치료 목적으로 투여되는 고농도 산소는 기질인 산소의 증가와 함께 활성화된 세포내 xanthine oxidase(XO), ferredoxin, flavodoxin 및 NADP oxidase 등의 효소에 의해 superoxide anion(O_2^-)의 생성을 증가하여 폐장에 산화 스트레스를 가중시켜 폐손상을 악화시키는 것으로 알려져 있다¹⁻⁴. 이런 산화 스트레스에 대한 방어 기전으로 생체는 비특이적 항산화 물질을 포함하여 항산화 단백을 가지고 있다¹.

포유 동물에서 임신 말기의 태아 및 신생아에서 산소 노출되면서 항산화 단백질의 활성도가 증가하는 것으로 알려져 있다⁵. 성장한 포유동물에 고산소 투여는 폐장의 manganese superoxide dismutase(MnSOD), copper-zinc superoxide dismutase(CuZnSOD) 및 glutathione peroxidase(GPx)등의 항산화 단백질의 활성도 증가를 유도하며^{2, 6, 7} 아치사량(sublethal dose)의 산소 투여 후 고산소에 노출시키는 경우 고산소에 저항성을 보이는 기전을 항산화 단백질의 발현 증가로 설명하고 있다⁶. 또한 신생 백서에서 성숙 백서 보다 뚜렷한 고산소에 저항성을 보이는 것도 항산화 단백질의 발현 증가로 설명하고 있다^{3, 6}. Peroxiredoxin(Prx)은 활성자리

에 잘 보존된 cysteine잔기를 가진 세포내 항산화 단백질로 거의 모든 생명체에 잘 보존되어있으며^{8,9} 세포질에 존재하는 2 Cys Prx I 및 Prx II는 thioredoxin system(NADPH, thioredoxin reductase, thioredoxin)으로부터 전자를 받아 과산화물을 환원하는 thioredoxin-dependent peroxidase (TPx)의 활성을 가지고 있다^{8, 9}.

Peroxiredoxin은 내독소 및 다양한 산화 스트레스에 의해 다양한 세포에서 발현이 증가하며^{10,11} 생물학적으로 세포내 신호전달물질로 알려진 과산화수소(H_2O_2)을 미세하게 조절하여 신호전달계에 작용하며⁹ Prx I은 세포 증식 및 분화에 관여하는 것으로 알려져 있으며¹² Prx II는 Molt-4 백혈병 세포주 과발현시 serum deprivation, ceramide 및 etoposide에 의한 apoptosis를 억제하며¹³ 위암세포주(SNU638)에서 Prx II 유전자의 과발현은 cis-platin의 내성에 관여하는 것으로 알려져 있다¹⁴.

새로 태어난 원숭이에서 고산소 투여에 의해 폐장에서 thioredoxin 및 thioredoxin reductase 유전자는 발현이 증가하는 것으로 보고 되었으며¹⁵ 이 결과는 신생아에서 폐장이 산소 환경에 노출되면서 다른 항산화 단백질과 유사하게 thioredoxin system(Trx 및 TR)이 활성화 되는 것을 의미한다. 아울러 Das¹⁶ 및 Kim¹⁷ 등은 Prx I이 성장 과정 및 신생기에 고산소 투여에 의해 발현이 증가

되는 것을 보고하였다. 세포내 Trx, TR은 극히 미량 존재하나 Prx은 세포의 용해 단백질 1 mg중 1-10 g으로 상대적으로 많은 양이 존재하고 Trx 및 TR에 비해 Prx의 항산화 활성도(H_2O_2 제거 작용)를 고려할 때⁹ 고산소 투여에 의한 폐손상의 방어 기전으로 Prx의 발현 변화가 효율적이고 성숙 폐장보다 신생 폐장에서 발현 증가가 기대되어 이를 비교하여 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 연구 재료

성숙 백서(Rat. Sprague-Dawley) 및 출산이 임박한 임신한 백서를 구입하여 성숙 백서 및 출산 직후 신생 백서에 고산소를 투여하였다. 고산소 투여는 99.9% 고순도 산소와 CO_2 가스를 이용하여 $1.2\text{ cm}^2 \times 1.0\text{ cm}$ 의 acryl chamber 내에 산소 농도를 90% 이상으로 유지하고 온도와 습도는 실내와 같이 유지하였다. Chamber내의 산소 농도는 Beckman gas analyzer를 이용하여 지속적으로 측정하고 고산소를 투여하여 6, 12, 24, 48, 72 시간에 생존한 성숙 및 신생 백서 각각 5 마리와 대조군으로 고산소를 투여 하지 않은 성숙 및 신생 백서 각각 5 마리를 취하였다. 실험 동물을 ether마취하여 복부 동맥을 잘라 희생시킨 후 가슴을 절개하여 좌측 폐장을 취하여 양분하여 -80°C 냉동고에 저장하였으며 성숙 폐장에서 우측 폐장을 3 ml의 생리 식염수로 4번 기관지폐포 세척하여 2장의 거즈로 거른 후 일부를 3000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상층액을 취하여 -80°C 냉동고에 저장하였다.

2. 연구 방법

가. Westernblot 분석

절제한 폐장을 차가운 phosphate-buffered saline

(PBS)으로 세척 후 잘게 썰어 2 mM phenylmethylsulfonyl fluoride(PMSF), 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ aprotinin 및 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ leupeptin을 함유한 20 mM HEPES-NaOH(pH 7.0)으로 조직을 균질화하여 10,000 rpm으로 30 분간 원심분리 하여 상층액을 취하였으며 폐포세척액은 Centriprep-30(Amicon)으로 10,000 rpm으로 1 시간 원심 분리하여 BCA reagent으로 단백질 농도를 측정하였다. 상기와 같이 준비된 일정량의 단백을 12% SDS-polyacrylamide gel에 전기영동 후 nitrocellulose membrane에 이동하여 2% BSA를 함유한 TTBS 용액으로 15 분간 차단한 후 anti-Prx I 및 anti-Prx II 항체를 밤새 처리하여 3차례 이상 TTBS 용액으로 세척한 후 immunoreactive band는 alkaline phosphatase conjugated goat anti-rabbit IgG를 이용하여 발색하였으며 goat anti-actin antibody로 Actin 단백을 관찰하여 Fluor-STM Multi-Imager를 이용하여 Prx/Actin 단백질의 상대 밀도(relative density)를 측정하였다.

나. Northernblot 분석

폐장 조직으로부터 TRI Reagent을 이용하여 총 RNA를 추출한 후 260 nm에서 흡광도를 측정하고 정량하여 50 μg 의 RNA를 1% agarose-0.66 M formaldehyde gel에 전기영동한 후 nylon membrane에 이동시켜 pCRPrx I 및 pCRPrx II로부터 확보한 Prx I, Prx II-specific cDNA로 밤새 hybridization하고 cDNA를 random labeling kit를 이용하여 [^{32}P] dCTP로 labeling하여 측정하고 Actin-specific cDNA로 Actin mRNA를 측정하여 Fluor-STM Multi-Imager으로 Prx/Actin mRNA의 상대 밀도를 측정하였다.

다. 통계처리

각 수치는 MeanSD으로 표시하고 통계 분석은 개인용 컴퓨터 프로그램인 SPSS/PC(+)를 이용하였다. 대조군과 노출군의 비교는 student s t-test를 이용하였다.

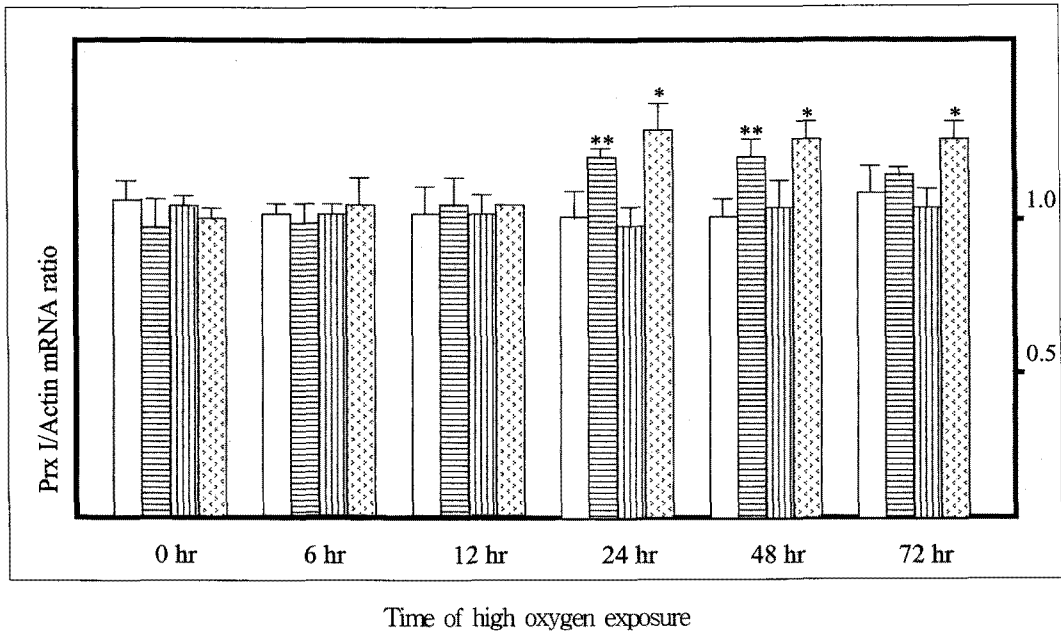


Fig. 1. Prx I/Actin mRNA in adult and neonatal rat lung exposed to normoxia and hyperoxia. Prx I mRNA and Actin mRNA in 5 separate adult and neonatal rat lung exposed to normoxia and hyperoxia were measured by Northernblot analysis, and the data are given as Prx I/Actin mRNA ratio(**<0.05, *<0.01).

□ Adult, normoxia ▨ Adult, hyperoxia ▩ Neonate, normoxia ▤ Neonate, hyperoxia

결 과

1. 고산소 투여에 따른 폐장에서 Prx I 및 Prx II mRNA의 발현 변화

성숙 백서의 폐장에서 고산소 투여 24시간에 Prx I mRNA의 발현이 증가하는 양상을 보였으며(Fig. 1) 신생 백서의 폐장에서 고산소 투여 24시간에 Prx I mRNA의 발현이 의미있게($P < 0.01$) 증가하였다(Fig. 1). 그러나 성숙 및 신생 백서의 폐장에서 고산소 투여에 따른 Prx II mRNA의 발현은 변화를 보이지 않았다(Fig. 2).

2. 고산소 투여에 따른 폐장에서 Prx I 및 Prx II 단백질의 발현 변화

성숙 및 신생 백서의 폐장에서 고산소 투여에 의

해 시간에 따른 Prx I과 Prx II의 단백질 발현은 뚜렷한 차이를 보이지 않았다(Fig. 3 및 Fig. 4).

3. 고산소 투여에 따른 폐포세척액내에 Prx I 및 Prx II 단백질 양의 변화

성숙 백서의 폐포세척액내에서 고산소 투여에 의해 시간에 따른 Prx I과 Prx II의 단백질 양의 변화는 보이지 않았다(Fig. 5).

고 찰

기저 질환이 없는 동물의 폐장에 일정 기간의 고산소($FiO_2 > 0.85$) 투여만으로도 급성호흡곤란증후군에서 볼 수 있는 폐포-모세혈관의 유출에 의한 미만성폐포손상(diffuse alveolar damage)의 병리학적

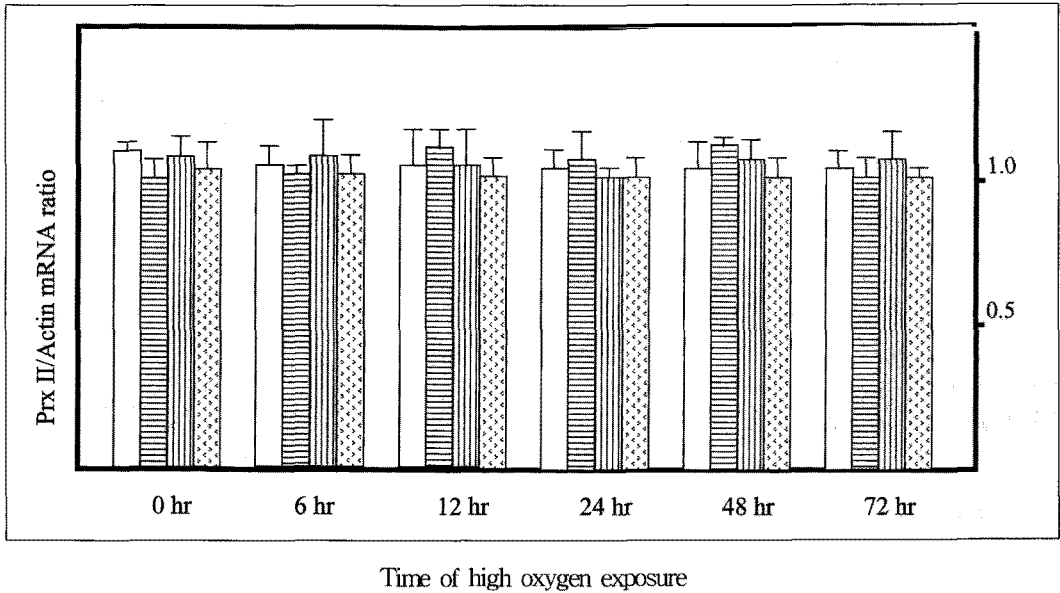


Fig. 2. Prx II/Actin mRNA in adult and neonatal rat lung exposed to normoxia and hyperoxia. Prx II mRNA and Actin mRNA in 5 separate adult and neonatal rat lung exposed to normoxia and hyperoxia were measured by Northernblot analysis, and the data are given as Prx II/Actin mRNA ratio.

□ Adult, normoxia ▨ Adult, hyperoxia ▩ Neonate, normoxia ▤ Neonate, hyperoxia

소견을 보이며 이런 폐손상의 병태생리 기전에 활성산소종이 중요한 역할을 하게된다. 고산소 투여는 기질인 산소의 증가와 함께 활성화된 xanthine oxidase(XO), ferredoxin 및 flavodoxin 등의 효소가 반응하여 superoxide anion (O_2^-) 등의 활성산소종의 생성을 증가시키게 된다^{1, 2}. 한편 생체는 이런 고산소 투여에 대하여 방어기전의 항산화 단백을 증대시킨다³⁵. 포유 동물은 임신 말기 태아 및 신생아가 산소에 노출되면서 폐장내 항산화 단백질의 활성도가 증가하는 것으로 알려져 있다⁵. 새로 태어난 원숭이의 폐장에서 고산소 투여에 의해 thioredoxin 및 thioredoxin reductase(thioredoxin system) 유전자의 발현이 증가하는 것으로 보고되어¹⁵ 본 연구에서 고산소 투여 후에 신생 및 성숙 백서의 폐장에서 세포내 많은 양이 존재하며 다양한 세포에 존재하며 thioredoxin system으로부터

전자를 전달받아 peroxidase 활성도를 보이는 Prx I 과 II의 발현을 평가한 결과 Prx I mRNA는 성숙 백서에서 24 시간에 발현이 증가하는 경향을 보였으며 신생 백서에서는 통계학적으로 의미있는 증가를 보였다(Fig. 1). 이는 Das¹⁶ 및 Kim¹⁷ 등이 관찰한 임신 말기의 태아 및 신생 시기에 Prx I mRNA의 증가와 일치하는 소견이었다. 그러나 Prx II mRNA는 성숙 및 신생 백서의 폐장에서 발현이 증가하지 않았다. 결론적으로 Prx I 및 Prx II는 고산소 투여에 의해 폐장에서 transcriptional level에서 서로 상이하게 조절되며 이런 결과는 HBL100 및 RAW 세포에서 endotoxin 및 산화 물질에 의한 반응과 일치하였다. 또한 성숙 백서에 비해 신생 백서에서 고산소에 저항성을 뚜렷한 항산화 단백질 발현 증가로 설명하고 있으며¹³ 본 결과에서도 성숙 백서에 비해 신생 백서에서 Prx I

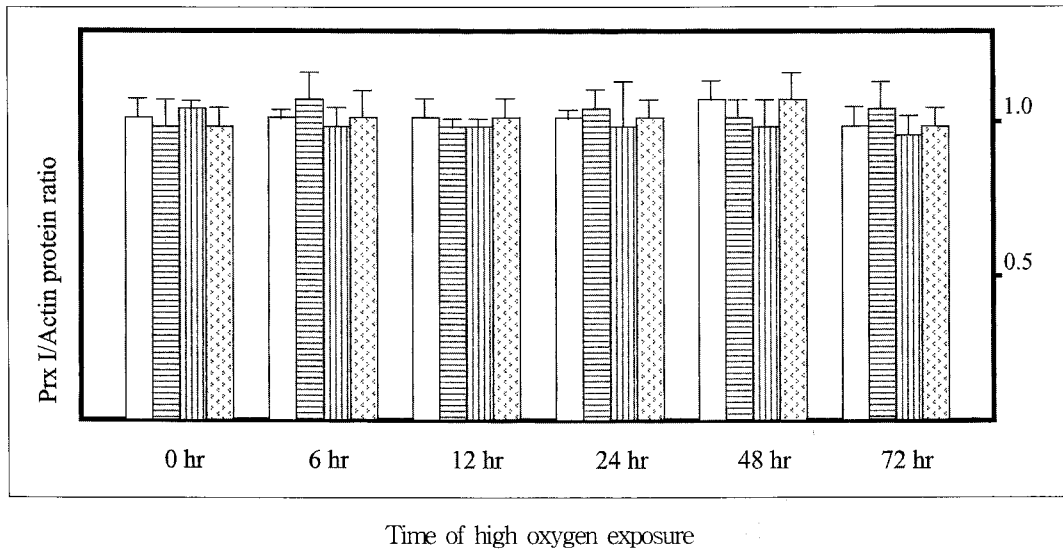


Fig. 3. Prx I/Actin protein in adult and neonatal rat lung exposed to normoxia and hyperoxia. Prx I protein and Actin protein 5 separate adult and neonatal rat lung exposed to normoxia and hyperoxia were measured by Westernblot analysis, and the data are given as Prx I/Actin protein ratio.

□ Adult, normoxia ▨ Adult, hyperoxia ▤ Neonate, normoxia ▩ Neonate, hyperoxia

mRNA 발현의 뚜렷한 증가를 볼 수 있었으며 이는 신생 백서가 성숙 백서보다 현저한 고산소 저항성을 보이는 하나의 기전으로 생각된다.

성장한 포유동물에 고산소 투여는 폐장의 MnSOD, Cu/ZnSOD 및 GPx 등의 항산화 단백질의 활성화도가 증가가 유도되는 것으로 알려져 있다².

Kim¹⁷ 등은 신생 백서에서 고산소 투여후에 Prx II 단백질의 발현은 변화하지 않으나 Prx I 단백질의 발현 및 활성화도는 증가하는 것으로 보고하였다. 본 연구에서는 고산소 투여 후에 신생 및 성숙 백서의 폐장에서 Prx I 및 Prx II 단백질의 발현은 증가하지 않았으며 아울러 기관지폐포세척액내 이들의 양의 변화도 없었다. Prx I 단백질 발현의 변화 없음에 관심을 두고 고산소에 노출된 조직의 현미경적 소견 및 ApopTaqTM *In Situ* Apoptosis Detection Kit으로 apoptosis를 관찰한 결과 폐손상 정도가 경미하였으며 이는 생존 백서를 대상으로 실험하

였기 때문으로 생각된다. 그러나 경미한 조직학적 손상에도 불구하고 유전자 차원의 변화는 관찰할 수 있었으며 Prx I mRNA의 발현 증가에 비하여 Prx I 단백질 발현이 증가하지 않은 기전으로는 다양한 설명이 있겠으나 peroxiredoxin은 산화 환경 및 물질에 의해 유도되어 이에 반응하는 단백질로 단백질체연구(proteomics)로 알려지고 있는 단백질 절단으로 분자량에 변화, 산화 스트레스에 의한 isoelectric point(pI)의 변화 및 단백질의 산화 등에 의한 단백질 변형등을 들 수 있다¹⁸. 아울러 이런 변화는 Kim¹⁷ 및 Koo¹⁸ 등이 보고한 단백질 특이 활성화도의 변화 등도 초래할 수 있다.

임상적으로 폐혈증에서 산화 스트레스가 증가하고 이에 반응하여 혈청 catalase 및 SOD 등의 항산화 단백질의 활성화도가 증가하는데^{19, 20} 이런 반응이 부적절한 경우 ARDS을 포함한 다장기부전(multiorgan failure)으로 진행하며 혈청 및 기관지폐포

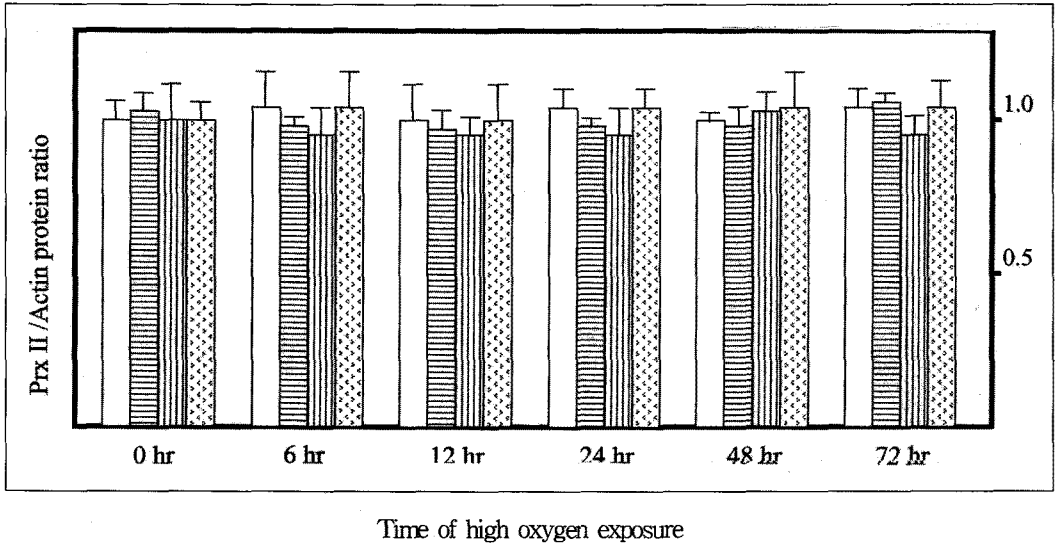


Fig. 4. Prx II/Actin protein in adult and neonatal rat lung exposed to normoxia and hyperoxia. Prx I protein and Actin protein 5 separate adult and neonatal rat lung exposed to normoxia and hyperoxia were measured by Westernblot analysis, and the data are given as Prx II/Actin protein ratio.

□ Adult, normoxia ▨ Adult, hyperoxia ▩ Neonate, normoxia ▤ Neonate, hyperoxia

세척액내의 항산화 단백질의 활성도는 환자의 예후와 관련이 있는 것으로 알려져 있다^{21, 22}. 이런 소견은 향후 peroxiredoxin의 임상적 응용 가능성을 시사하여 준다.

결론적으로 성숙 및 신생 백서에서 고산소 투여에 의해 폐장의 Prx I 및 II의 발현이 전사 과정에서 서로 상이하게 조절되며 신생 백서에서 Prx I mRNA의 발현이 의미 있게 증가하였으나 Prx I 단백질의 발현은 변화가 없었다.

요 약

배 경 :

포유동물은 고산소 노출되면 이에 적응하기 위해 성숙 폐장의 항산화 효소의 활성도가 증가하는 것으로 알려져 있다. 신생 폐장에서는 이들의 활성도가 뚜렷이 증가하고 이는 고산소 노출에 내성을

보이는 중요한 기전으로 알려져 있다.

Peroxiredoxin은 세포내 항산화 효소로 세포내 많은 양이 존재하고 다양한 세포에 분포하고 있다. 그중 Prx I 및 II는 세포질에 존재하는 주된 동종 효소이다.

본 연구는 고산소를 투여하여 성숙 백서의 폐장에서 Prx I 과 PrxII mRNA 및 단백질의 발현을 평가하여 신생 백서의 폐장에서의 발현과 비교하고자 하였다.

방 법 :

성숙 백서와 임신 백서로부터 분만하여 얻은 신생 백서를 무작위로 고산소를 시간별로 투여후에 폐 조직과 기관지폐포세척액을 얻었다. Prx I 및 Prx II mRNA는 Northernblot 방법으로 구하였으며 Actin mRNA를 내부 기준으로 하여 상대 발현을 평가하였다. Prx I 및 Prx II 단백질은 Westernblot 방법으로 구하였으며 Actin 단백을 내부 기준으로

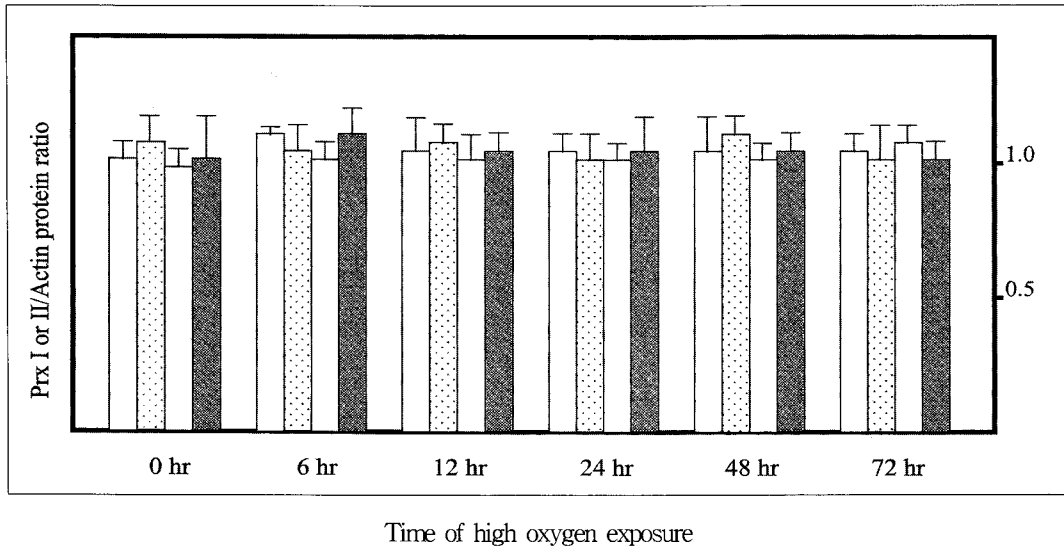


Fig. 5. Prx I or II/Actin protein in bronchoalveolar lavage fluid of adult rat exposed to normoxia and hyperoxia.

Prx I or II protein and Actin protein in 5 separate adult rat exposed to normoxia and hyperoxia were measured by Westernblot analysis, and the data are given as Prx I or II /Actin protein ratio.

□ Prx I, normoxia ▨ Prx I, hyperoxia ▩ Prx II, normoxia ▤ Prx II, hyperoxia

하여 상대 발현을 평가하였다.

결 과 :

성숙 백서에서 고산소 노출 후 24 시간에 Prx I mRNA 발현이 약간의 증가가 유도되었으며 신생 백서에서 고산소 노출 후 24 시간에 Prx I mRNA 발현이 현저한 증가가 유도되었다. 그러나 Prx II mRNA는 고산소 노출 내내 발현이 변화가 없었다. 성숙 및 신생 백서에서 고산소 노출 내내 Prx I 및 Prx II 단백질 발현이 변화가 없었으며 성숙 백서에서 고산소 노출 내내 기관지폐포세척액내 Prx I 및 Prx II 단백질 양의 변화가 없었다.

결 론 :

성숙 및 신생 백서에서 고산소 노출에 의해 Prx I 및 II의 발현이 전사 과정에서 서로 다르게 조절된다. 성숙 백서보다 신생 백서에서 고산소 노출에 의한 Prx I mRNA의 뚜렷한 발현 증가는 신생 백

서가 고산소에 내성을 보이는 하나의 기전으로 생각된다.

참 고 문 헌

- Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 2nd ed. New York: Clarendon Press; 1990.
- Frank L, Bucher JR, Roberts RJ. Oxygen toxicity in neonatal and adult animals of various species. J Appl Physiol 1978;45: 699-704.
- Kimball RE, Reddy K, Peire TH, Schwartz LW, Mustafa MG, Cross CE. Oxygen toxicity: augmentation of antioxidant defense mechanisms in rat lung. Am J Physiol

- 1976;230:1425-31.
4. Barazzone C, Horowitz S, Donati YR, Rodriguez I, Piguet D-F. Oxygen toxicity in mouse lung: pathways to cell death. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998;18:573-81.
 5. Stevens JB, Autor AP. Induction of superoxide dismutase by oxygen in neonatal rat lung. *J Biol Chem* 1977;252:3509-14.
 6. Frank L. Protection from O₂ toxicity by preexposure to hypoxia: lung antioxidant enzyme role. *J Appl Physiol* 1985;53:475-82.
 7. Bhandari V, Maulik N, Kresch M. Hyperoxia Causes an Increase in Antioxidant Enzyme Activity in Adult and Fetal Rat Type II Pneumocytes. *Lung* 2000;178:53-60
 8. Chae HZ, Kang SW, Rhee SG. Isoforms of mammalian peroxiredoxin that reduce peroxides in presence of thioredoxin. *Methods Enzymol* 1999;300:219-26.
 9. Chae HZ, Kim HJ, Kang SW, Rhee SG. Characterization of three isoforms of mammalian peroxiredoxin that reduce peroxides in the presence of thioredoxin. *Diabetes Res Clin Pract* 1999;45:101-12.
 10. Prosperi M-T, Ferbus D, Rouillard D, Goubin G. The *pag* gene product, a physiologic inhibitor of *c-abl* tyrosine kinase, is overexpressed in cells entering S phase and by contact with agents inducing oxidative stress. *FEBS Lett* 1998;423:39-44
 11. 김형중, 채호준, 안철민, 김성규, 이원영. 폐혈증 동물 모델에서 Peroxiredoxin 및 thioredoxin의 발현 변화. *결핵 및 호흡기 질환* 1999;47:451-9.
 12. Prosperi M-T, Ferbus D, Karczinski I, Goubin G. A Human cDNA Corresponding to a Gene Overexpressing during Cell Proliferation Encodes a Product Sharing Homology with Amoebic and Bacterial Proteins. *J Biol Chem* 1993;268:11050-11056
 13. Zhang P, Liu B, Kang SW, Seo MS, Rhee SG, Obeid LM. Thioredoxin Peroxidase Is a Novel Inhibitor of Apoptosis with a Mechanism Distinct from That of Bcl-2. *J Biol Chem* 1997;272:30615-30618
 14. Chung YM, Yoo YD, Park JK, Kim YT, Kim HJ. Increased expression of peroxiredoxin II confers resistance to cisplatin. *Anticancer Res* 2001;21:1129-33.
 15. Das KC, Guo XL, White CW. Induction of thioredoxin and thioredoxin reductase gene expression in lungs of newborn primates by oxygen. *Am J Physiol* 1999;276:530-9
 16. Das KC, Pahl PM, Guo XL, White CW. Induction of peroxiredoxin gene expression by oxygen in lungs of newborn primates. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;25:226-32.
 17. Kim HS, Kang SW, Rhee SG, Clerch LB. Rat lung peroxiredoxin I and II are differentially regulated during development and by hyperoxia. *Am J Physiol* 2001;280:L1212-7
 18. Koo KH, Lee S, Jeong SY, Kim ET, Kim HJ, Kim K, Song K, Chae HZ. Regulation of Thioredoxin Peroxidase Activity by C-terminal Truncation. *Arch Biochem Biophys* 2002;397:312-8
 19. Gonzalez PK, Zhuang J, Doctrow SR, Malfroy B, Benson PF, Menconi MJ, Fink MP. Role of oxidative stress in the adult respiratory distress syndrome: evaluation of a

- novel antioxidant strategy in a porcine model of endotoxin-induced acute lung injury. *Shock* 1996;6:S23-6
20. Quinlan GJ, Lamb NJ, Tilley R, Evans TW, Gutteridge JM. Plasma hypoxanthine levels in ARDS: implications for oxidative stress, morbidity, and mortality. *Am J Respir Crit Care Med*
21. Leff JA, Parsons PE, Day CE, Moore EE, Moore FA, Oppegard MA, et al. Increased serum catalase activity in septic patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1992;146:985-9.
22. Leff JA, Parsons PE, Day CE, Taniguchi N, Jochum M, Fritz H, et al. Serum antioxidants as predictors of adult respiratory distress syndrome in patients with sepsis. *Lancet* 1993;341:777-80.
-