

급성 폐손상에서 호중구 활성화의 분자학적 기전

인제대학교 의과대학 내과학교실

염 호 기

=Abstract=

Molecular Mechanisms of Neutrophil Activation in Acute Lung Injury

Ho-Kee Yum, M.D.

Department of Internal Medicine, School of Medicine, Inje University, Seoul, Korea

Abbreviations : Akt/PKB protein kinase B, ALI acute lung injury, ARDS acute respiratory distress syndrome, CREB C-AMP response element binding protein, ERK extracellular signal-related kinase, fMLP fMet-Leu-Phe, G-CSF granulocyte colony-stimulating factor, IL interleukin, ILK integrin-linked kinase, JNK Jun N-terminal kinase, LPS lipopolysaccharide, MAP mitogen-activated protein, MEK MAP/ERK kinase, MIP-2 macrophage inflammatory protein-2, MMP matrix metalloproteinase, MPO myeloperoxidase, NADPH nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NE neutrophil elastase, NF- κ B nuclear factor-kappa B, NOS nitric oxide synthase, p38 MAPK p38 mitogen activated protein kinase, PAF platelet activating factor, PAKs p21-activated kinases, PMN polymorphonuclear leukocytes, PI3-K phosphatidylinositol 3-kinase, PyK proline-rich tyrosine kinase, ROS reactive oxygen species, TNF- α tumor necrosis factor- α . (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2002, 53:595-611)

Key words : Acute lung injury, Neutrophil, Signal transduction.

서 론

급성 폐손상 (acute lung injury) 은 다양한 국소적 또는 전신적인 원인에 의하여 폐실질에 직, 간접적인 손상이 유발되는 질환이다. 혈관 내피세포나 상

피세포등의 폐 실질 세포가 직접적인 손상을 받게 되지만, 이는 백혈구의 폐내 침윤과 활성화에 의한 이차적인 염증 반응으로 설명된다.

또한 폐내의 대식세포와 혈관 내피세포, 상피세포 등의 다양한 세포들이 염증 전단계 (proinflam-

Address for correspondence:

Ho-Kee Yum, M.D.

Department of Internal Medicine, Seoul Paik Hospital, Inje Univeristy

85, 2-Ka Jeo-Dong, Jung-Ku, Seoul, 100-032, Korea

Phone : 822-2270-0004 Fax : 822-2285-2286 e-mail : pulho@korea.com

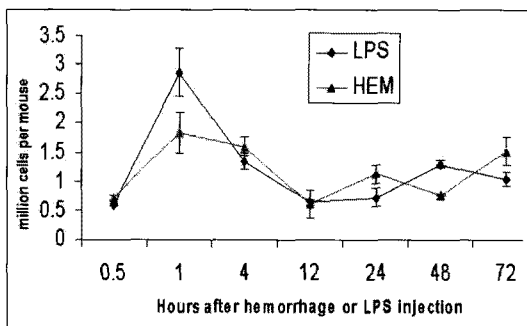


Fig. 1. Neutrophil accumulation in the lung after hemorrhage (HEM) and lipopolysaccharide (LPS) induced acute lung injury mouse model. (unpublished data, Yum, et al, ATS & ALA 2001, The 97th international conference, abstract).

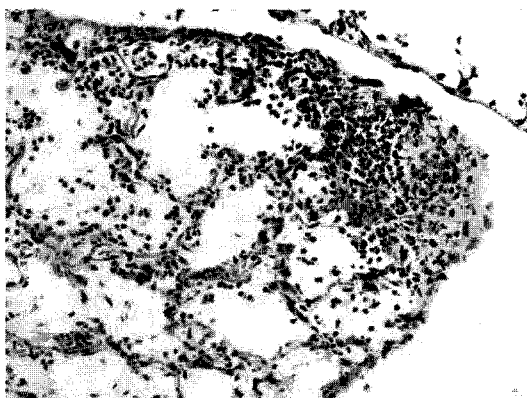


Fig. 2. Accumulation of neutrophils in the microvasculature of the lung is the hallmark of LPS induced acute lung injury model in mouse. (H&E stain $\times 100$)

matory)의 사이토카인 (cytokines)을 표현하지만 이들 세포만으로 급성 폐손상을 설명하기에 증거가 부족하다¹. 왜냐하면 급성 폐손상의 대표적인 조직학적 변화로 폐의 미세혈관 구조내에 활성화된 호중구 백혈구의 축적이 관찰되기 때문이다 (Fig. 1,2)²³.

백혈구의 일차적인 역할은 감염을 억제하는 것이다. 그러나 백혈구는 염증 전 단계 물질을 분비

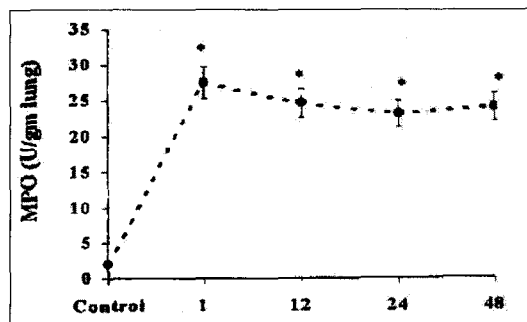


Fig. 3. Myeloperoxidase (MPO) activity in lungs of mice one to 48 hours after LPS was injected. (* $p < 0.01$ versus control, Parsey et al. JI 160:1007-1013, 1998)

하여 염증을 유발하거나 또는 항염증의 과정을 동시에 나타내는 이중적인 기능을 한다. 활성화된 세포 독성 호중구 백혈구가 폐 내로 유입되면 백혈구 내의 반응성 산화물 (reactive oxygen species), 단백분해 효소, 양이온 단백질 (cationic proteins), 성장인자, eicosanoids와 사이토카인등 급성 염증성 생성물에 의하여 이차적으로 손상을 받는다 (Fig. 3). 결국 폐 내에 호중구가 축적되면 간질성 부종과 강력한 염증 반응이 일어나 급성 폐손상이 발생된다⁴.

이 고찰의 목적은 급성폐손상에서 백혈구의 생리적 및 병리학적인 역할에 관계된 이동, 유착, 파립유리, 염증매개물의 분비, 대식작용, 세포자멸사 (apoptosis) 등의 기전을 알아보는 것이다. 특히 세포의 효과 물질, 조절 물질, 세포막 수용체, 세포내 신호전달 체계등에 대하여 논의 될 것이다.

급성 폐손상에서 호중구 백혈구의 중요성

급성 폐손상은 대량의 백혈구 수가 활성화되어 폐 내에 축적되는 특징을 가진 과도한 염증반응의 결과이다. 실제 저분류 속이나 장허혈 및 재판류 또는 내독소 투여로 호중구는 급속히 폐 실질로 들어간다. 내독소 자극이나 다른 자극에 의하여 활성

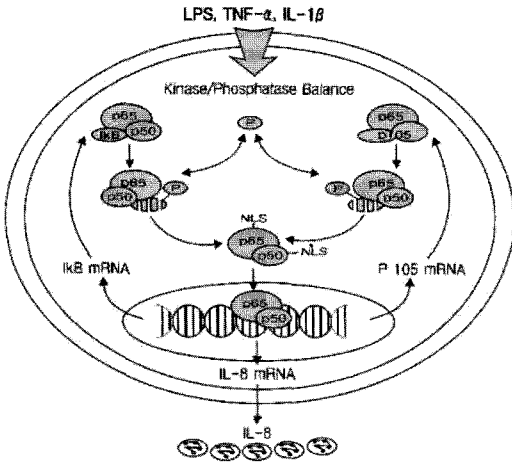


Fig. 4. Activation of nuclear factor κ B (NF- κ B). Adopted from Fishman AP, Elias JA, Fishman JA, Grippi MA, Kaiser LR, Senior RM, editors. *Fishman's Pulmonary Diseases and disorders 3rd ed. vol 2*, New York, McGraw-Hill, Inc.; 1998. p. 2544.

화된 호중구 혈증은 폐 혈관 투과성을 증가시키고 폐 손상의 또 다른 지표들을 표현한다. 특히 출혈과 폐혈증은 급성 폐손상의 중요한 위험인자로 알려져 있다⁵⁻⁷. 출혈과 내독소 (LPS) 에 의하여 유발된 급성 폐 손상에서 neutrophil elastase 와 matrix metalloproteinases 등이 증가 되어 폐내의 백혈구가 활성화됨을 알 수 있다⁸⁻¹⁰. 저자들은 출혈과 내독소혈증으로 유도된 급성 폐손상 동물의 폐에서 백혈구 수가 증가하고 myeloperoxidase의 증가를 관찰 하였다. 또한 급성 폐손상을 간접적으로 시사하는 wet/dry 중량비도 현저히 증가됨을 관찰하였다 (Fig 1, 2, 3).

출혈이나 내독소혈증후 호중구 백혈구는 IL-1 β , IL-8 과 TNF- α 등의 염증 전 사이토카인들을 표현한다¹¹. 호중구 감소증을 유발한 급성 폐손상의 동물 모델에서 내독소의 자극이나 보체의 활성화에 의한 혈관 투과성 변화와 interferon- γ , IL-10, IL-4, IL-13등의 폐 손상의 지표가 약화되어 나타난다^{12,13}.

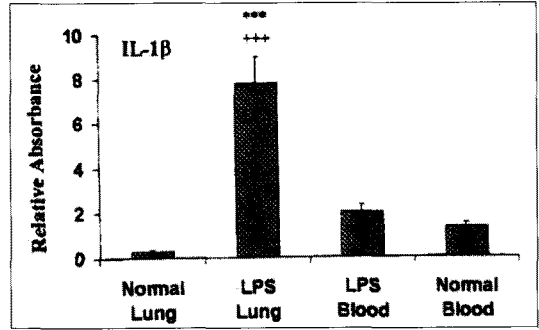


Fig. 5. mRNA levels for IL-1 β in lung and peripheral blood neutrophil after endotoxemia. (*J Immunol* 163:954-962, 1999)

Abraham 등은 cyclophosphamide나 항백혈구 항체로 유도된 호중구 백혈구 감소증의 동물 모델에서 출혈과 내독소로 유발된 급성 폐손상의 정도가 정상 백혈구를 가진 동물에서 보다 현저히 감소됨을 보고하였다. 호중구 백혈구가 감소된 동물의 급성 폐손상에서 NF- κ B 의존성 IL-1 β 와 MIP-2, TNF- α 등의 염증전단계 사이토카인의 증가가 약화되어 호중구 백혈구가 급성 폐손상의 초기 반응에 중요한 역할을 할 것임을 시사하였다¹⁴. 호중구 백혈구의 활성화와 염증 매개물질의 중요한 전사 조절 인자인 NF- κ B의 결합 부위는 IL-1 β , TNF- α 와 MIP-2의 promotor에서 표현된다. NF- κ B의 활성화는 이러한 사이토카인 뿐만 아니라 다른 면역 조절 매개체의 표현에 중요한 역할을 한다 (Fig. 4). NF- κ B 활성화는 말초 혈액 보다는 폐내의 백혈구에서 일어나기 때문에 말초 혈액내가 아니라 폐내의 호중구에서 염증 전단계 사이토카인들이 표현이 증가되고 활성화됨을 의미한다¹⁵⁻¹⁷(Fig. 5).

호중구 백혈구의 세포 독성

내독소혈증과 출혈로 유발된 염증 반응의 정도에 따라 염증 전 단계 사이토카인들에 의하여 활성화된 호중구는 급속히 폐내로 이동하게 된다 (Fig. 1). 조

Table 1. Major components of neutrophil granules

Azurophilic granules	cathepsin G, D elastase, proteinase 3 azurocidin (CAP-37) bacterial permeability increasing protein (BPI) defensins, myeloperoxidase
Specific granules	metalloproteinases (collagenase, gelatinase) lactoferrin, cathelicidin
Tertiary granules	gelatinase
NADPH-derived oxidants	hydrogen peroxide (H ₂ O ₂) superoxide anion (O ₂ ⁻) hydroxyl radicals (-OH ^o)
Others	acid phosphatase, phospholipase A β-glucosaminidase, β-glucuronidase arylsulfatase, 54-nucleotidase

직학적으로 호중구 백혈구는 폐내의 혈관내, 폐 간질, 폐포에서 현저한 증가를 보인다 (Fig. 2). 초기의 폐내 호중구 백혈구 증가는 폐손상에 대한 인체 방어 기전의 역할 (체내에 침범된 세균을 제거하는 기능)을 수행하지만, 이후 폐손상은 호중구 백혈구가 적절하게 조절되지 않고 과도하게 활성화되어 발생한다¹⁸. 활성화된 호중구 백혈구는 반응성 산화물, NADPH 의존형 산화효소, 과산화 음이온 (superoxide anions), 각종효소 (elastase, collagenase, matrix metalloproteinase, gelatinase A와 B등), 항세균성 단백, 수산화기 (hydroxyl radicals), H₂O₂, myeloperoxidase, NO synthase 등을 분비하여 세균을 제거한다 (Table 1)¹⁹⁻²².

세균 제거의 임무를 다한 백혈구는 세포자멸사의 과정을 거쳐 대식세포에 의하여 안전하게 제거된다. 그러나 급성 폐손상에서 활성화된 백혈구의 세포자멸사가 지연되어, 과도하게 생산된 다양한 염증 매개물질외에도 사이토카인, 보체(complement), 혈소판 활성화 인자(PAF, platelet activating factor)와 arachidonic acid 유도물질, 산화자유기 (oxygen free radicals), 내독소, 혈액응고물질등에

의하여 조직의 손상을 일으킨다²³⁻²⁶.

또한 백혈구는 혈관내피세포 유착을 증가시키는 selectin family, β-2 integrin subfamily, E, P, 와 L-selectin, β-2 integrin subfamily (CD11b/CD18 receptor) 등의 물질을 표현하고 분비함으로써 폐포내 침착과 염증을 동시에 일으키게 된다²⁷. 단계적으로 양이온 단백(cationic peptides), eicosanoids, 성장인자, 사이토카인, chemokines등이 염증반응을 촉진하게 되어 급성 폐손상은 악화되고, 이러한 반응은 악순환 과정을 거친다 (Fig. 6).

백혈구에 의한 급성 폐 손상의 기전

급성 폐손상의 병리 조직 소견은 급성 염증성 반응으로 요약할 수 있다. 호중구 백혈구가 혈관내, 간질 및 폐포내에 침착되고, 혈관내피 세포와 폐포상피세포의 손상과, 간질 및 폐포 부종을 특징으로 한다. 직간접적인 외부 자극에 대하여 초기에는 폐내의 백혈구와 폐포 대식세포가 활성화되며 말초혈액의 순환 백혈구도 활성화되기 시작한다. 예를 들어 외상이나 산의 흡인후 30분만에 폐포 대식세

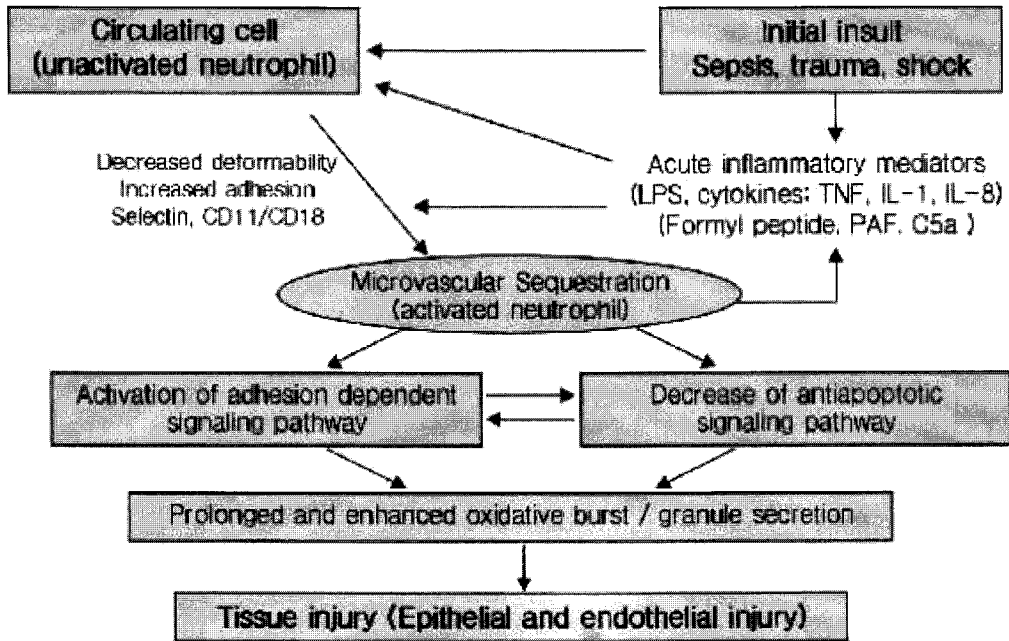


Fig. 6. Diagram of mechanisms in leukocyte-mediated acute lung injury.

포에서 강력한 호중구 백혈구 화학유발제인 IL-8의 분비와 생성이 증가된다^{21,22}.

이러한 반응은 폐에 미치는 직접적인 자극 외에도 패혈증, 대량 수혈, 대량 출혈을 동반한 외상 뿐만 아니라 lipopolysaccharide 나 다른 세균의 생산 물질, TNF- α , IL-1, IL-6와 같은 cytokines 및 platelet activating factor (PAF)나 eicosanoids 등과 같은 지방 매개물에 의하여도 발생된다^{23,24}. Baughman 등은 증가된 IL-8이 급성 폐손상이 지속되는 동안 폐포내에 높은 농도로 유지되어 폐손상을 악화 시켜 좋지 않은 예후 인자임을 보고하였다²². 이와 유사한 양상으로 TNF- α , IL-1 β , IL-6 등이 분비되어 호중구 백혈구를 활성화 시키고 폐내로 이동을 유발한다. 급성 폐손상에서 이러한 현상은 저산소 혈증과 같은 임상적인 증상이 나타나기 전에 일어난다.

폐내로 호중구 백혈구의 이동이 시작되면 폐내

모세혈관에서 백혈구의 유착과 간질 내로 침착이 증가된다. 침착된 호중구는 lysosomal 효소와 CD11-CD18등의 표면 표현이 활성화 되어 있음이 알려져 있다^{24,25}.

호중구 백혈구의 이동

폐내로 호중구의 이동은 생화학적인 유도과 유착 (adhesion) 인자의 활성 변화에 기인한다. 전신 혈류 체계의 백혈구 유착은 후모세혈관 세정맥 (postcapillary venule) 에서 일어나게 되지만 폐에서는 폐모세혈관에서 일어난다²⁸. 폐모세혈관의 내경이 백혈구의 직경보다 작기 때문에 백혈구가 모세혈관을 통과 하려면 모양의 변형이 일어나야 한다 (Fig. 7). 백혈구가 염증성 매개물에 의하여 자극을 받으면 견고해지고 변형이 어려워져 좁은 모세혈관을 지나갈 수 없게 된다²⁹. 변형된 백혈

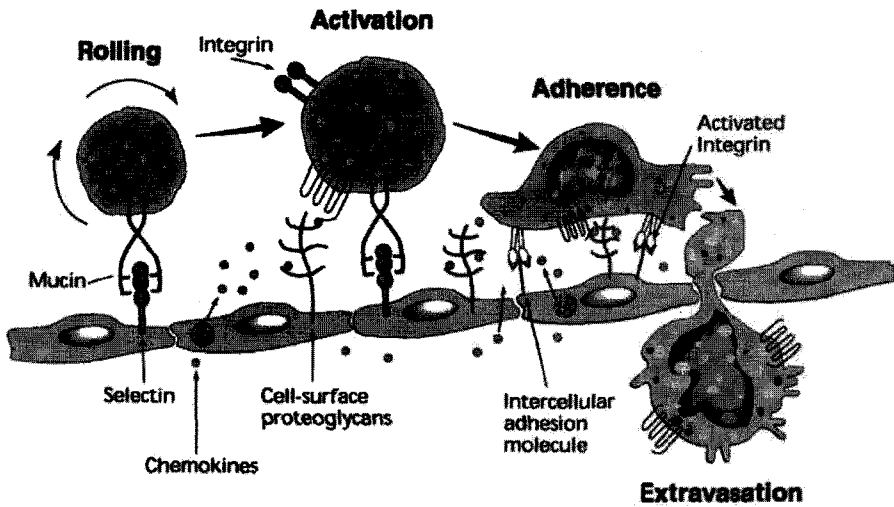


Fig. 7. Mechanism of neutrophil migration (Ann Rev Physiol 57:827-872, 1995).

구는 폐내로 빠른 속도로 이동하게 된다. 어떤 염증성 매개 신호가 이러한 변화를 초래하는지 잘 알려지지 않았지만 TNF- α , IL-1 β , IL-8등이 관여한다고 알려져 있다^{30,31}.

호중구 백혈구의 유착

대부분의 세포막 분자들은 세포나 세포의 기질과 상호 작용을 한다. 유착 작용은 호중구 표면의 수용체와 혈관 내피 세포의 인지에 의한 것이다. 이러한 유착 인자는 integrin 과 immunoglobulin superfamily 등이 있으며 IL-8 또는 PAF 등의 용해성 또는 세포막 결합형 화학 유도체에 의하여 일어난다²⁶. 호중구 백혈구가 활성화 됨에 따라 세포 표면의 수용체 표현과 integrin 과의 유착은 더욱 강해진다. 일차적인 호중구에 대한 혈관내피세포의 ligand는 면역글로블린 가족 인자인 intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)이며 섬유소원 (fibrinogen)과 파괴된 단백질 등도 ligand로 작용할 수 있다³².

또한 폐 모세혈관으로부터 폐내로의 호중구 백혈구의 이동은 CD11/CD18 이 관여한다고 알려져 있

으나 그렇지 않은 경우도 있다. CD11/CD18에 대한 항체를 이용한 실험에서 호중구 유착에 의한 산화물 생산이 억제 되는 것으로 CD11/CD18이 호중구의 이동과 활성화에 중요한 역할을 함을 알 수 있다³³.

유착에 의한 백혈구 활성화

백혈구에 의한 폐손상을 이해 하는데 있어 중요한 개념은 백혈구가 혈류내에 존재할 때는 조직에 손상을 일으키지 않기 (비활성화) 때문에 폐내로 유착된 것 만으로 폐 손상의 발생을 충분히 설명하지 못한다. 하지만 혈관내피세포나 상피세포 또는 간질내의 세포의 기질 단백질 (extracellular matrix proteins)에 유착되었을 때 세포독성 혼합물질이 유리되며 이러한 세포 유착이 염증성 조직 손상과 밀접한 관계가 있다³³. 이러한 관점에서 볼 때 백혈구 표면에 유착 기능과 유착 수용체가 세포의 활성화에 기여한다는 것을 알 수 있다. 또한 출혈과 내독소에 의한 급성 폐손상의 동물모델에서 폐내 호중구의 NF- κ B 와 CREB은 활성화 되지만 말초혈액의 호중구에서는 활

성화 되지 않는다^{34,35}. 또한 출혈과 내독소 혈증후 폐 내의 호중구에서 ERK1/ERK2, MEK1/MEK2와 p38 등은 활성화 되지만 말초혈액의 호중구에서는 활성화 되지 않는다. 이는 백혈구가 폐내로 이동하여 활성화됨을 알 수 있다^{36,37}.

유착은 호중구 백혈구내에 과립과 산화성 방출(oxidative burst)을 활성화 시키고, 용해성 매개체의 효과를 증폭시킨다^{38,39}. Downey 등은 호중구 백혈구가 기질에 접촉함에 의하여 시간에 따라 산화물이 50배, 1000배 증가됨을 보고하였다³³. 호중구가 접촉하는 동안 integrins 으로부터 신호가 활성화 되는데 이러한 효과는 CD11b/CD18의 항체에 의하여 차단되고⁴⁰ β 2-integrin이 없는 경우 나타나지 않는다⁴¹. 또한 L-selectin과 같은 접촉 분자로부터의 신호는 백혈구의 산화성 방출을 촉진하여 신호전달과 활성화의 초기 작용에 관여한다^{42,43}.

접촉 수용체로부터 분자 신호전달의 과정을 증명하는 방법으로 접촉 수용체 단일클론 항체를 이용하여 세포내 신호전달이 일어나는 것을 관찰 할 수 있다. β 2-integrins 과 L-selectin으로부터 신호가 세포내 다양한 신호전달을 활성화 시킨다. 예를 들면 세포내 저장된 칼슘이온의 분비와 함께 세포막 polyphosphoinositides을 분해하고, 세포질내 tyrosine kinases, tyrosine phosphorylation를 활성화하며, MAP kinase군의 ERK 와 JNK 등을 활성화 시킨다⁴⁴⁻⁴⁷. 또한 β 2-integrins 과 L-selectin은 세포의 모양을 변화시키고, 접촉력을 증가시키며, 산화성 방출을 증가시켜, TNF- α 와 같은 염증전단계의 사이토카인 유전자 표현을 증가시키는 등의 중요한 생리적 반응을 활성화 한다^{48,49}.

호중구 세포내 신호전달 경로의 활성화

급성 폐손상에서 호중구 백혈구의 비정상적인 반응을 이해하기 위하여 백혈구 활성화에 관여하는 신호전달 경로를 알아 보는 것이 필수적이다. 왜냐하

면 일반적으로 알려져 있듯이 ligand는 세포표면에 표현된 수용체와 반응을 하여 세포내 신호전달을 유발한다. integrins 이나 selectins 등은 효소 작용이 없기 때문에 당연히 접촉 수용체의 세포질 내측 부분에 작용하는 단백질에 관심이 옮겨진다.

L-selectin의 세포내 domain은 18개의 아미노산으로 매우 짧은데, 어떤 신호전달 물질과도 직접 연결이 잘 알려지진 않았지만 cytoskeletal protein인 α -actinin 과 연결이 알려져 있어 다양한 경로를 통하여 신호전달 할 것으로 추정된다^{50,51}. 또 다른 연구에서 β -integrin의 세포내 domain은 α -actinin 과 talin에 의하여 직접 연결됨을 보고하였다^{52,53}.

또한 β -integrin은 integrin-associated protein (CD47)⁵⁴, focal adhesion kinase^{55,56}, cytohesin-1⁵⁷, integrin-linked kinase (ILK)⁵⁸ 등과 세포내 신호전달을 하는 것으로 알려져 있다. 그리고 integrin은 Fc 수용체와 transmembrane-4 superfamily proteins 와 같은 세포내 신호 전달에 관여하는 다른 세포막 단백질과도 관계가 있다^{59,60}.

초기에는 세포막에서 phospholipases에 의하여 세포막 phospholipid를 분해 하여 세포내 칼슘 변화를 동반한 inositol phosphates를 생성하며, 또한 diacylglycerols 은 protein kinase C (tyrosine kinase)를 활성화 시킨다⁶⁰. 예를 들면 수용체 단계에서 serpentine으로 알려진 transmembrane spanning domain family 즉 formyl peptide 수용체, 보체 수용체와 chemokine 수용체등은 tyrosine kinases를 활성화 시키거나, 때로는 성장인자 수용체와 같이 수용체 자체가 tyrosine kinases이기도 하다⁶¹.

최근 연구에서 ILK 와 serine/threonine kinase의 신호전달 관계가 흥미롭다. 현재까지 ILK의 기질은 분명히 확정되지는 않았지만 protein kinase B (PKB/AKT) 와 glycogen synthase kinase 3 (GSK-3)등으로 알려져 있어 이들 신호전달 분자들은 ILK에 의하여 인산화 되고 활성화 될 수 있

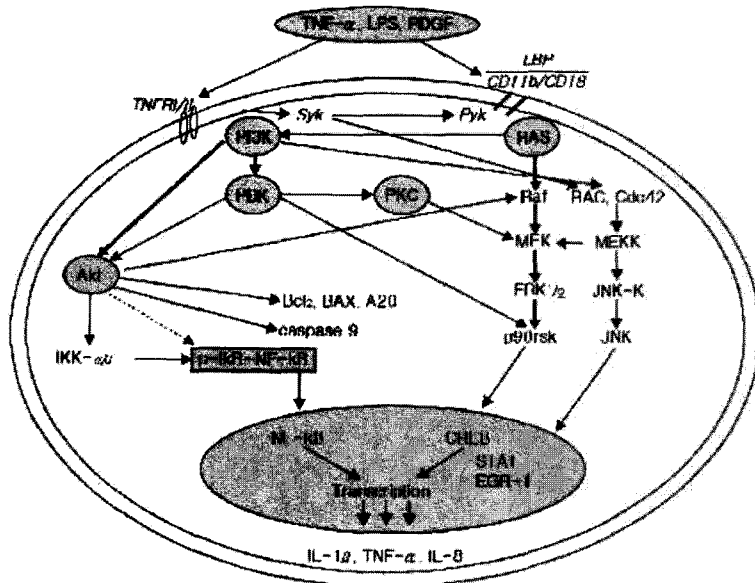


Fig. 8. Schematic diagram of intracellular signal transduction of neutrophil activation in acute lung injury.

다. 상피세포에서 ILK의 과발현은 세포의 형태를 변화시키고 세포의 기질 침착이 증가된다⁵⁸. ILK는 integrin 신호를 외부에서 내부 또는 내부에서 외부로 양방향 신호 전달에 관여 한다. ILK는 호중구 백혈구의 유착 의존형 신호 전달과정에서 중요한 역할을 할 것이다.

수용체 이하 단계도 매우 복잡하여, 신호 전달 분자를 그룹별로 보는 것이 이해에 도움이 된다 (Fig. 8). Serpentine family receptors인 N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine [fMLP], C5a, PAF 등과 leukotriene 수용체는 heterotrimeric GTP (guanosine triphosphate) 결합 단백질과 연결이 되어 특별한 신호 전달에 관여한다⁶¹. Tyrosine kinases의 Src family에는 *hck*, *fgf* 와 Src 등이 포함 되고 호중구 백혈구 활성화의 가장 초기에 대식세포 수용체에 의하여 살균 작용을 한다⁶². Src-kinase는 중간 단계 분자인 Grb2와 GTP 결합 단백질인 p21RAS를 활성화하여 MAP kinase 경로를 활성화 시킨다⁶³. 그 외에도 호중구 백혈구

세포내에 활성화되는 세포내 전달물질은 MEKK, p38 MAPK, C-Jun NH₂-terminal kinase, PI-3 kinase/Akt 경로등이 보고 되고 있다.

이러한 세포내 신호 전달물질 활성화의 의미는 궁극적으로 염증단계 사이토카인의 전사인자인 NF-κB나 CREB을 활성화 시키는 데 있다. 급성 호흡부전 증후군 환자의 폐에서 폐내 호중구의 NF-κB를 활성화하여 TNF-α, IL-1β, IL-8 등의 염증 단계 사이토카인들을 생성하게 된다. 동물실험에서 NF-κB의 억제제는 급성폐손상의 발생을 예방하는 것으로 알려져 있다⁶⁴.

RAS-Raf-MAP-ERK-kinase 경로

중간 단계의 분자인 Shc 와 Grb-2등은 단백질과 단백질 간의 상호 작용에 의하여 신호를 전달하는 역할을 한다. 좀더 아래 단계에 있는 작은 GTPases 인 RAS 분자는 RAF-MEK-MAP-ERK 로 신호 전달하는 MAP kinase 신호 전달 체계를 이룬다⁶² (Fig. 8).

최근 연구에 의하면 RAS 분자는 Rho sub-family의 GTPase인 Rac에 작용하여 p21-activated kinases (PAKs)와 MAP kinase family 및 Jun N-terminal kinase (JNK), p38 MAP kinases 등을 포함하는 protein kinases 등을 조절하는 것으로 알려졌다⁶³. MAP kinase 효소군의 효과는 완전히 알려져 있지 않지만 Elk-1, c-Fos, c-Jun 등과 같은 전사인자에 인산화작용을 일으켜 유전자 전사에 작용하는 것으로 알려져 있다.

다양한 연구에서 ERK가 호중구 백혈구의 기능에 중요한 역할을 할 것이라고 주장되고 있다. nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) oxidase 환원형의 활성화, 화학주성, 세포자멸사 뿐만 아니라, phospholipase A2의 활성화와 유착에도 작용한다⁶⁵. 이와 비슷한 연구로 p38 MAP kinase와 이의 억제제인 SB203580를 사용한 연구 (*in vitro*)에서도 이러한 MAP kinase 경로가 호중구 백혈구의 NADPH oxidase, 화학주성, 유착 및 세포자멸사에 중요한 역할을 한다고 알려졌다⁶⁵⁻⁶⁷.

백혈구 활성화 과정을 차단하기 위하여 신호전달 과정의 특정 효소를 목표로 하는 새로운 용해성 약리학적 억제제가 개발되고 있다. 그중 PD 화합물 (PD98059)은 ERK 활성화에 관여하는 MEK에 대하여 강력하고 선택적인 억제 효과가 있다. 호중구 백혈구에서 PD 화합물로 전처리 한 다음에는 ERK 자극 효과가 상쇄되는 것을 관찰할 수 있다. 즉 PD98059를 전처리 후 호중구 백혈구의 산화성 방출, 대식작용, 화학주성 (chemotaxis), 세포자멸사 등이 억제되었고, fMLP에 의하여 유도된 산화성 방출이 억제되었다. 또한 대식작용에 대하여도 효과는 작지만 의미있는 감소가 관찰되었다³³.

p38 MAP kinase 과정

p38 MAPK의 세포내 신호전달 과정은 다른 여러 세포의 염증 반응을 조절하는데 중요한 역할을 한다.

LPS로 유발된 급성 폐손상의 동물모델에서 p38 MAPK의 활성화 억제제인 M39을 투여한 후 백혈구와 대식세포에서 TNF- α 와 MIP-2 분비가 억제되었다³⁷. MIP-2에 대한 백혈구의 이동도 억제된다. 이는 p38 MAPK의 억제가 백혈구의 모집을 억제함을 시사한다. 그러나 출혈과 내독소 혈증후 폐내의 호중구에서 ERK1/ERK2와 MEK1/MEK2는 활성화되나 p38은 활성화되지 않았다⁶⁸. 이처럼 p38 MAPK가 백혈구의 폐내로의 이동과 염증에 중요한 역할을 한다고 알려졌지만, 자극에 따른 반응이 달라 추후 연구가 더 필요한 실정이다.

PI3-K/ Akt 과정

Integrin 유도와 활성화는 lipid kinase인 PI3-K와 관련있다. PI3-K는 다양한 신호전달과 관련이 있는데 tyrosine kinase의 수용체 또는 G 단백질과 관련이 있고 PI3-K의 활성화는 호중구의 화학주성, 탈과립, 유착 및 NADPH 산화효소 활성화도 관련이 있다. PI3-K는 protein kinase C를 활성화시켜 G단백 Rho를 활성화시켜 호중구 유착을 유도하고 L-plastin이나 cytohesin-1을 활성화시켜 β 2-integrin의 세포내 부분에 영향을 준다. PI3-K knock-out 생쥐를 이용한 실험에서 화학유도물질에 의한 호중구의 이동과 폐내 방출이 감소되는 것이 알려졌다⁶⁹.

최근 fMLP에 의하여 자극된 PI3-K knock-out 생쥐를 이용한 실험에서 ERK 효소의 활성이 억제됨을 관찰하여 PI3-K가 ERK 경로에 관여함을 알 수 있다⁷⁰. 또한 serine/threonine kinase인 Akt/protein kinase B와 바로 윗단계인 PI3-K는 NF- κ B의 활성 조절뿐만 아니라 사이토카인을 포함한 염증전단계의 매개체 발현에 중요한 역할을 담당한다⁷¹. NF- κ B는 염증과정을 조정하는데 있어 중추적 역할을 하기 때문에 폐 호중구에서 PI3-K/Akt와 NF- κ B의 활성화 정도는 내독소나 사이토카인과 같은 자극에 노출된 뒤 나타나는 폐

에서의 급성 염증성 반응의 정도를 결정하는데 중요한 역할을 할 것이다.

저자의 실험에서도 내독소로 유도된 급성 폐손상의 동물모델에서 PI-3K/Akt 과정이 활성화되고 PI-3K의 약리학적 억제제인 LY294003이나 Wortmannin에 의하여 NF- κ B 와 NF- κ B 의존형 염증전단계 사이토카인의 발현과 생성이 억제됨을 관찰하였다. 또한 PI-3K knock-out 생쥐를 이용한 생체 실험에서도 동일한 결과를 보여 PI-3K/Akt 경로가 급성폐손상의 동물모델에서 호중구 백혈구의 활성화에 중요함을 시사하였다⁷². Knall 등은 IL-8에 의하여 활성화된 PI-3K 가 호중구 백혈구의 이동에 관여한다고 보고하여 세포내 신호가 세포외 신호와 연관되어 상호작용이 일어남을 시사하였다⁷³. 또한 PI-3K/Akt 경로는 또한 NF- κ B, IKK, BAD 또는 Bcl family를 통하여 호중구 백혈구의 세포자멸사를 연장시킨다고 알려져 있다^{64,74}.

Fas-FasL-BAD-BAX-Bcl 과정

출혈과 내독소 혈중후에 폐내 호중구에서 Fas 또는 Fas ligand (FasL) 표현의 변화는 없었다. Fas ligand 나 Fas 결핍 동물의 급성 폐손상 모델에서 백혈구의 extravasation과 세포자멸사는 정상이다. 이는 FasL/Fas에 의한 세포자멸사는 백혈구를 조절하는데 필수적이지 않다는 것을 의미한다⁷⁵. 그러나 Brown 등은 세포 표면에 Fas ligand를 표현하거나 용해성 FasL를 표현하는 대식세포가 호중구 백혈구의 세포자멸사를 촉진한다고 보고하였다. 즉, FasL의 분비는 호중구 백혈구의 사멸 수용체인 Fas에 반응한다⁷⁶. Kuffner 등은 내독소에 의하여 유발된 급성 폐손상의 동물 모델에서 Bad-Bax family의 세포자멸사에 관련된 신호전달 물질이 활성화 되고 이는 NF- κ B 의존형이며 NF- κ B 억제제를 투여하였을 경우 세포자멸사가 억제되는 것을 관찰하였다^{64,74}.

Nitric Oxide 과정

최근 연구에서 호중구 백혈구의 세포자멸사에 관여하는 신호 체계의 많은부분이 밝혀졌다. LPS를 처리하였을 때 호중구 백혈구는 많은 양의 NO를 생산하고, NO 생산에 관여하는 효소인 NOS (nitric oxide synthase) 경로를 차단하였을 때 나, NO knock-out 생쥐를 이용한 실험에서 LPS에 의한 세포사멸의 감소를 억제하여 정상 쥐보다 폐손상이 적게 일어 나는 것으로 NO 경로가 호중구 백혈구의 사멸과정에 영향을 주어 폐손상에 중요한 역할을 할 것으로 보고 되었다⁷⁷.

호중구의 세포자멸사(apoptosis)

정상인에서 세포자멸사는 급성 염증 조절의 역할을 마친 쇠퇴한 호중구 백혈구가 세포독성 물질을 분비하여 주위 조직에 손상을 주지 않고 제거 되는 기전이다. 이것은 감염원의 제거와 지속적인 백혈구의 모집을 감소시키는 차단 신호를 유발하게 된다. 염증 반응에 관여하는 대부분의 세포들은 본래의 기능을 수행하기 위하여 활성화 되고 이후 자가 조절 기능에 의하여 세포자멸사에 의하여 제거 된다. 말초 혈액 백혈구의 경우에도 염증매개 인자나 세포 성장인자 등에 의하여 자극을 받지 않을 경우 정상적으로 약 20%에서 자연적인 세포 자멸사가 일어나게 된다⁶⁴. 그러나 출혈과 내독소혈에 유도된 폐손상 동물모델에서 폐내 호중구의 세포자멸사가 감소된다 (Fig. 9). 조속한 세포자멸사는 염증을 제거하는 중요한 기전으로 세포자멸사가 진행된 호중구 백혈구는 대식세포에 의하여 포식되어 염증을 제거하게 된다. 그러나 폐내로 유입된 활성화된 호중구 백혈구가 능동적인 세포자멸사 과정을 거치지 않게 되면 폐 손상을 유발한다.

Sweeney 등은 LPS가 세포내 tyrosine kinase 활성화를 통하여 호중구 백혈구의 세포자멸사를

연장시킨다고 보고하였다. 또한 호중구의 세포자멸사의 조절에 관하여 ERK의 역할을 알아보기 위하여 GM-CSF로 자극후에 ERK가 활성화되고 이와 연관되어 호중구 백혈구는 생존이 연장되어 세포자멸사가 감소되었지만, PD98059를 전처리한 다음에는 호중구 백혈구의 세포자멸사의 감소가 줄어들었다. 이와같이 ERK가 호중구 백혈구의 세포자멸사 조절에 관련됨을 보고하였다⁷⁸. 그 외에도 호중구 백혈구의 세포자멸사에 직접적으로 관련된 Bax, Fas, Bcl-2 family (Bcl-xl), A1, A20 등의 발현이 증가된다⁶⁴.

GM-CSF는 PI3-K 와 ERK 과정을 통하여 호중구 백혈구의 세포자멸사를 연장하는 것으로 밝혀졌다⁷⁹. 또한 p38MAPK도 다른 경로를 통하여 호중구 백혈구의 세포자멸사에 관여 하는 것으로 알려졌다⁸⁰. TNF- α 로 자극된 호중구 백혈구에서 Jun N-terminal kinase활성화가 세포자멸사에 관여 할 것이라는 보고도 있어 다양한 경로가 세포자멸사에 관여됨을 할 수 있다⁸¹. 또한 *in vitro* 연구에서 NF- κ B를 억제하였을 경우 LPS의 자극에 의하여 감소된 호중구 백혈구의 세포자멸사가 회복되는 것을 관찰하여 다양한 세포내 신호전달의 전사인자인 NF- κ B를 통하여 세포자멸사가 지연됨을 시사하였다⁶⁴.

그러나 임상에서 이러한 호중구 백혈구의 세포자멸사 연장이 급성폐손상의 기전을 완전히 설명하지 못하는 경우가 있다. 폐렴 환자에서 G-CSF를 사용한 무작위 대조군 실험에서 혈중 백혈구가 증가된 경우에서 방사선학적인 호전이 빠르고 급성 호흡곤란 증후군의 발생 빈도가 낮았으며 또한 생존군에서 염증과 관련된 기관지 폐포 세척액내 사이토카인들과 GM-CSF의 농도가 높게 나왔다^{82,83}. 이러한 개념은 실제 호중구가 감소된 백혈병이나 심한 호중구 감소증의 경우에서도 급성 호흡곤란증후군이 발생되었다는 보고가 있어^{84,85} 단순히 백혈구만이 급성 호흡곤란 증후군의 원인으로 간주되기에 어

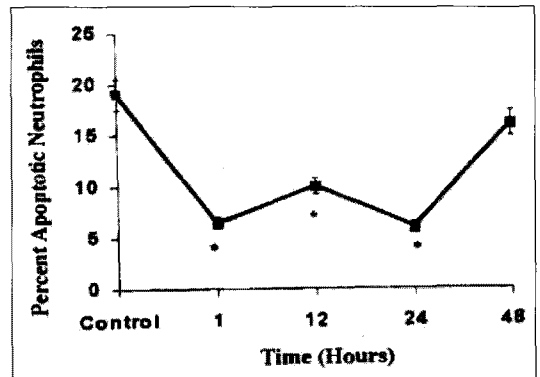


Fig. 9. Neutrophil apoptosis after hemorrhage and LPS induced acute lung injury. Mice (n=5 in each group) were either injected i.p. with PBS (Control) or with 5 mg/kg LPS. Results are presented as the mean percentage of apoptotic cells (*p<0.01 compared to control, J Immunol 2001, 167:7044-7051).

려움이 있으나 호중구 백혈구에 의존하지 않는 기전은 잘 알려지지 않았기 때문에 백혈구의 활성화와 균형이 급성 폐손상의 기전을 설명하는데 중요한 열쇠가 될 것이다.

결론

급성 폐손상은 다양한 유발인자가 있으며 임상양상 또한 복잡하고 혼합되어 나타나지만 최종적으로 치명적인 급성호흡곤란 증후군으로 이어진다. 하지만 세포의 및 세포내 신호전달 과정은 매우 복잡하여 한편으로는 호중구 백혈구의 활성화를 증폭시키고 또 다른 한편으로는 외부적 자극에 대한 특별한 반응을 유도한다. 대부분의 급성 폐손상에서 급성 염증성 반응이 초기에 일어나게 된다. 초기 염증 반응에 대한 백혈구의 역할은 감염에 저항하기 위한 자연적인 적응현상이다. 그러나 때에 따라서는 이러한 반응은 과도하게 일어나게 되고 적절히 조절 되지 않아 결국 조직의 손상을 일

오키게 된다. 초기 자극에 비하여 부적절하고 과도한 인체의 반응으로 인하여 염증 반응이 조절이 되지 않기 때문이라는 개념은 만일 염증 반응의 신호 전달 과정을 차단할 수 있다면 폐손상을 억제할 수 있는 가능성을 열어 주게 된다. 그러므로 호중구 백혈구 기능을 조절하여 균형을 유지하는 치료제를 개발하는 것이 염증반응의 효과적(좋은) 측면을 보존하여 조직의 손상을 방어하게 될 것이다.

참 고 문 헌

1. Pugin J, Ricou B, Steinberg KP, Suter PM, Martin TR. Proinflammatory activity in bronchoalveolar lavage fluid from patients with ARDS, A prominent role for interleukin-1. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1850-6.
2. Chollet-Martin S, Jourdain B, Gibert C, Elbim C, Chastre J, Gougerot-Pocidal MA. Interactions between neutrophils and cytokines in blood and alveolar spaces during ARDS. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:594-601.
3. Donnelly SC, Strieter RM, Kunkel SL, Walz A, Robertson CR, Carter DC, Grant IS, Pollok AJ, Haslett C. Interleukin-8 and development of adult respiratory distress syndrome in at-risk patient groups. *Lancet* 1993;341:643-7.
4. Parsey MV, Tuder R, Abraham E. Neutrophils are major contributors to intraparenchymal lung IL-1 β expression after hemorrhage and endotoxemia. *J Immunol* 1998;160: 1007-13.
5. Pittet JF, Mackersie RI, Martin RT, Matthay MA. Biological markers of acute lung injury: prognostic and pathogenetic significance. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;255:1187-205.
6. Bernard GR, Artigas A, Brigham KI, Carlet J, Falke K, Hudson L, Lamy M, LeGall JR, Morris AM, Spragg R. The american-European consensus conference on ARDS: definitions, mechanism, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:818-24.
7. Hudson LD, Milberg JA, Anardi D, Maunder RJ. Clinical risks for development of the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respri Crit Care Med* 1995;151:293-301.
8. Denis M, Guojian L, Widmer M, Cantin A. A mouse model of lung injury induced by microbial products : implication of tumor necrosis factor. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994;10:658-64.
9. Kelley DM, Lichtenstein A, Wang J, Taylor AN, Dubinett SM. Corticotropin-releasing factor reduces lipopolysaccharide-induced pulmonary vascular leak. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 1994;16:139-48.
10. Shenkar R, Coulson WF, Abraham E. Hemorrhage and resuscitation induce alterations in cytokine expression and the development of acute lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994;10:290-7.
11. Kurdowska A, Miller EJ, Noble JM, Baughman RP, Matthay MA, Brelsford WG, Cohen AB. Anti-IL-8 autoantibodies in alveolar fluid from patients with the adult respiratory distress syndrome. *J Immunol* 1996;157:2699-706.
12. Heflin AC, Brigham KL. Prevention by granulocyte depletion of increased vascular

- permeability of sheep lung following endotoxemia. *J Clin Invest* 1981;68:1253-60.
13. Till GO, Johnson KT, Kunkel S, Ward PA. Intravascular activation of complement and acute lung injury: dependency of neutrophils and toxic oxygen intermediates. *J Clin Invest* 1982;69:1126-35.
 14. Abraham E, Carmody A, Shenkar R, Arcaroli J. Neutrophils as early immunologic effectors in hemorrhage- or endotoxemia-induced acute lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;279:L1137-45.
 15. Baeuerle PA, Baltimore D. NF- κ B: ten years after. *Cell* 1996;87:13-20.
 16. Baeuerle PA, Henkel T. Function and activation of NF- κ B in the immune system. *Annu Rev Immunol.* 1994;12:141-79.
 17. Sha WC. Regulation of immune responses by NF- κ B/Rel transcription factors. *J Exp Med* 1998;187:143-6.
 18. Chollet-Martin S. Polymorphonuclear neutrophil activation during the acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 2000; 26:1575-7.
 19. Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L. Neutrophils : Molecules, functions and pathophysiological aspects. *Laboratory Invest* 2000; 80:617-53.
 20. Donnelly SC, Strieter RM, Kunkel SL. Interleukin-8 and development of adult respiratory distress syndrome in at-risk patient groups. *Lancet* 1993;341:643-7.
 21. Folkesson HG, Matthay MA, Hebert CA. Acid aspiration-induced lung injury in rabbits is mediated by interleukin-8 dependent mechanisms. *J Clin Invest* 1995;96: 107-16.
 22. Baughman RP, Gunther KL, Rashkin MC. Changes in the inflammatory response of the lung during acute respiratory distress syndrome: prognostic indicators. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:76-81.
 23. Rinaldo JE, Christman JW. Mechanisms and mediators of the adult respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med* 1990;11: 621-32.
 24. Kollef MH, Schuster DP. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1995;332:27-37.
 25. Donnelly SC, MacGregor I, Zamani A. Plasma elastase levels and the development of the adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:1428-33.
 26. Chollet-Martin S, Jourdain B, Gibert C. Interactions between neutrophils and cytokines in blood and alveolar spaces during ARDS. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153:594-60.
 27. Pittet JF, Mackersie RC, Martin TR, Matthay MA. Biological markers of acute lung injury: prognostic and pathogenetic significance. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:1187-205.
 28. Lien DC, Wagner WW, Capen RL. Physiologic neutrophil sequestration in the canine pulmonary circulation: evidence for localization in capillaries. *J Appl Physiol* 1987;62:1236-43.
 29. Worthen GS, Schwab B, Elson EL, Downey GP. Mechanics of stimulated neutrophils: cell stiffening induces retention in capillaries. *Science* 1989;245:183-5.
 30. Folkesson HF, Matthay MA, Hebert C,

- Broaddus CV, et al. Acid aspiration induced lung injury in rabbits is mediated by IL-8 dependent mechanisms. *J Clin Invest* 1995; 96:107-16.
31. Windsor AC, Walsh CJ, Mullen PG, et al. Tumor necrosis factor- α blockade prevents neutrophil CD 18 receptor upregulation and attenuates acute lung injury in porcine sepsis without inhibition of neutrophil oxygen radical generation. *J Clin Invest* 1993; 91:1459-68.
32. Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM. Adhesion and signaling in vascular cell-cell interactions. *J Clin Invest* 1997;100:S3-S5.
33. Downey GP, Dong Q, Kruger J. Regulation of neutrophil activation in acute lung injury. *Chest* 1999;116(Supp 1):S46-S54.
34. Abraham E, Arcaroli J, Shenkar R. Activation of ERK1/ERK2, NF- κ B, and CREB in lung neutrophils occurs by differing mechanisms after hemorrhage or endotoxemia. *J Immunol* 2001;166:522-30.
35. Pan ZK, Chen LY, Cochrane CG, Zuraw BL. fMet-Leu-Phe stimulates proinflammatory cytokine gene expression in human peripheral blood monocytes : the role of phosphatidylinositol. *J Immunol* 2000;164:404-11.
36. Shenkar R, Arcaroli J, Kupfner J, Abraham E. Interactions between CBP, NF- κ B, and CREB in the lungs after hemorrhage or CREB in the lungs after hemorrhage and endotoxemia. *Am J Physiol Lung Cellular and Molecular Physiol* 2001;281: L418-26.
37. Nick JA, Young SK, Brown KK, Avdi NJ, Arndt PG, Suratt BT, Janes MS, Henson PM, Worthen GS. Role of p38 Mitogen-Activated Protein Kinase in a murine model of pulmonary inflammation. *J Immunol* 2000; 164:2151-9.
38. Nathan CF. Neutrophil activation on biological surfaces: massive secretion of hydrogen peroxide in response to products of macrophages and lymphocytes. *J Clin Invest* 1987; 80:1550-60.
39. Suchard SJ, Boxer LA. Exocytosis of a subpopulation of specific granules coincides with H₂O₂ production in adherent human neutrophils. *J Immunol* 1994;152:290-301.
40. Nathan C, Srimal S, Farber C. Cytokine-induced respiratory burst of human neutrophils: dependence on extracellular matrix proteins and CD11/CD18 integrins. *J Cell Biol* 1989;109:1341-9.
41. Nauseef WM, De Alarcon P, Bale JF. Aberrant activation and regulation of the oxidative burst in neutrophils with Mol glycoprotein deficiency. *J Immunol* 1986;137: 636-42.
42. Laudanna C, Constantin G, Baron P. Sulfatides trigger increase of cytosolic free calcium and enhanced expression of tumor necrosis factor- α and interleukin-8 mRNA in human neutrophils: evidence for a role of L-selectin as a signaling molecule. *J Biol Chem* 1994;269:4021-6.
43. Crockett-Torabi E, Sulenbarger B, Smith CW. Activation of human neutrophils through L-selectin and Mac-1 molecules. *J Immunol* 1995;154:2291-302.
44. Berton G, Fumagalli L, Laudanna C. β_2 -integrin-dependent protein tyrosine phosphorylation and activation of the FGR protein

- tyrosine kinase in human neutrophils. *J Cell Biol* 1994;126:1111-21.
45. Brenner B, Grassme HU, Muller C. L-selectin stimulates the neutral sphingomyelinase and induces release of ceramide. *Exp Cell Res* 1998;243:123-8.
46. Brenner B, Weinmann S, Grassme H. L-selectin activates JNK via src-like tyrosine kinases and the small G-protein Rac. *Immunology* 1997;92:214-9.
47. Brenner B, Gulbins E, Busch GL. L-selectin regulates actin polymerisation via activation of the small G-protein Rac2. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;231:802-7.
48. Tsang YT, Neelamegham S, Hu Y. Synergy between L-selectin signaling and chemotactic activation during neutrophil adhesion and transmigration. *J Immunol* 1997;159:4566-77.
49. Waddell TK, Fialkow L, Chan CK. Signaling functions of L-selectin: enhancement of tyrosine phosphorylation and activation of MAP kinase. *J Biol Chem* 1995;270:15403-11.
50. Pavalko FM, Walker DM, Graham L. The cytoplasmic domain of L-selectin interacts with cytoskeletal proteins via α -actinin: receptor positioning in microvilli does not require interaction with α -actinin. *J Cell Biol* 1995;129:1155-64.
51. Hynes RO. Integrins: variety, versatility, and interactions in cell adhesion. *Cell* 1992;69:11-25.
52. Burridge K, Fath K, Kelly G. Transmembrane junctions between the extracellular matrix and the cytoskeleton. *Annu Rev Cell Biol* 1998;4:487-525.
53. Horwitz A, Duggan K, Buck C. Interaction of plasma membrane fibronectin receptor with talin—a transmembrane linkage. *Nature* 1986;320:531-3.
54. Lindberg FP, Gresham HD, Schwarz E. Molecular cloning of integrin-associated protein: an immunoglobulin family member with multiple membrane-spanning domains implicated in α V β 3-dependent ligand binding. *J Cell Biol* 1993;123:485-96.
55. Lipfert L, Haimovich B, Schaller MD, Cobb BS, Parsons JT, Brugge JS. Integrin-dependent phosphorylation and activation of the protein tyrosine kinase pp125FAK in platelets. *J Cell Biol* 1992;119:905-12.
56. Dedhar S, Hannigan GE. Integrin cytoplasmic interactions and bidirectional transmembrane signalling. *Curr Opin Cell Biol* 1996;8:657-69.
57. Kolanus W, Nagel W, Schiller B. α L2 integrin/LFA-1 binding to ICAM-1 induced by cytohesin-1, a cytoplasmic regulatory molecule. *Cell* 1996;86:233-42.
58. Hannigan GE, Leung-Hagesteijn C, Fitz-Gibbon L. Regulation of cell adhesion and anchorage-dependent growth by a new β 1-integrin-linked protein kinase. *Nature* 1996;379:91-6.
59. Zhou M, Todd RF, Van de Winkel JGJ. Cocapping of the leukoadhesion molecules complement receptor type 3 and lymphocyte function-associated antigen-1 with Fc gamma receptor III on human neutrophils: possible role of lectin-like interactions. *J Immunol* 1993;150:3030-41.
60. Berditchevski F, Tolias KF, Wong K. A novel link between integrins, transmembrane-4 superfamily proteins (CD63 and

- CD81), and phosphatidylinositol 4-kinase. *J Biol Chem* 1997;272:2595-8.
61. Huang KP. The mechanism of protein kinase C activation. *Trends Neurol Sci* 1990;12:425-31.
62. Gutkind JS. The pathways connecting G protein-coupled receptors to the nucleus through divergent mitogen-activated protein kinase cascades. *J Biol Chem* 1998;273:1839-42.
63. Kieran MW, Zon LI. Stress- and mitogen-activated signal transduction in hematopoietic cells. *Curr Opin Hematol* 1996;3:27-34.
64. Kupfner J, Arcaroli J, Yum HK, Nadler SB, Yang KY, Abraham E. Role of NF- κ B in endotoxemia-induced alterations of lung neutrophil apoptosis. *J Immunol* 2001;167:7044-51.
65. Durstin M, Durstin S, Molski TFP. Cytoplasmic phospholipase A2 translocates to membrane fraction in human neutrophils activated by stimuli that phosphorylate mitogen-activated protein kinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:3142-6.
66. Krump E, Sanghera JS, Pelech SL. Chemotactic peptide N-formyl-met-leu-phe activation of p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) and MAPK-activated protein kinase-2 in human neutrophils. *J Biol Chem* 1997;272:937-44.
67. Nick JA, Avdi NJ, Young SK. Common and distinct intracellular signaling pathways in human neutrophils utilized by platelet activating factor and fMLP. *J Clin Invest* 1997;99:975-86.
68. Frasch SC, Nick JA, Fadok VA. p38 mitogen-activated protein kinase-dependent and -independent intracellular signal transduction pathways leading to apoptosis in human neutrophils. *J Biol Chem* 1998;273:8389-97.
69. Arcaroli J, Yum HK, Kupfner J, Park JS, Yang KY, Abraham E. Role of p38 MAP kinase in the development of acute lung injury. *Clinic Immunol* 2001;101:211-9.
70. Hirsh E, Katanaew VL, Garlanda C. Central role for G protein-coupled phosphoinositide 3-kinase γ in inflammation. *Science* 2000;28:1049-53.
71. Sasaki T, Irie-Sasaki J, Jones RG, Oliveira-dos-Santos AJ, Stanford WL, Bolon B, Wakeham A, Itie A, Bouchard D, Kozieradzki I, Joza N, Mak TW, Ohashi PS, Suzuki A, Penninger JM. Function of PI3K γ in thymocyte development, T cell activation and neutrophil migration. *Science* 2000;287:1040-6.
72. Yum HK, Arcaroli J, Kupfner J, Shenkar R, Penninger JM, Sasaki T, Yang KY, Park JS, Abraham E. Involvement of phosphoinositide 3-kinases in neutrophil activation and the development of acute lung injury. *J Immunol* 2001;167:6601-8.
73. Knall C, Worthen GS, Johnson GL. Interleukin-8 stimulated phosphoinositide-3 kinase activity regulates the migration of human neutrophils independent extracellular signal-regulated kinase and p38 MAPK. *Proc Natl Acad Sci, USA* 1997;94:3052-7.
74. Yang KY, Arcaroli J, Kupfner J, Pitts TM, Park JS, Strasshiem D, Perng RP, Abraham E. Involvement of phosphatidylinositol 3-

- kinase γ in neutrophil apoptosis. *Cell Signal* 2003;15:225-33.
75. Fecho K, Cohen PL. Fas ligand (gld)- and Fas (lpr)- dependent mice do not show alterations in the extravasation or apoptosis of inflammatory neutrophils. *J Leukocytes Biol* 1998;64:373-83.
76. Brown SB, Savill J. Phagocytosis triggers neutrophil release of Fas ligand & induces apoptosis of bystander leukocytes. *J Immunol* 1999;162:480-5.
77. Kristof AS, Goldberg P, Laubach V, Hussain SNA. Role of inducible nitric oxide synthase in endotoxin-induced acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1883-9.
78. Sweeney JF, Nguyen PK, Omann GM, Hinshaw DB. Lipopolysaccharide protects polymorpholeukocyte from apoptosis via tyrosine phosphorylation-dependent signal trasduction pathways. *J Surg Research* 1998;74:64-70.
79. Klein JB, Rane MJ, Scherzer JA. Granulocyte-macrophage colony stimulating factor delays neutrophil constitutive apoptosis through phosphoinositide 3-kinase and extracellular signal-related kinase pathways. *J Immunol* 2000;164:4286-91.
80. Aoshiba K, Yasui S, Hayashi M. Role of p38 mitogen-activated protein kinase in spontaneous apoptosis of human neutrohils. *J Immunol* 1999;162:1962-700.
81. Avdi NJ, Nick JA, Whitlock BB, Billstrom MA, Henson PM, Johnson GL, Worthen GS. Tumor necrosis factor- α activation of the C-Jun N-terminal kinase pathway in human neutrophils. *J Biol Chem* 2001;276:2189-99.
82. Nelson S, Belknap SM, Carlson RW. For the CAP Study Group: A randomized controlled trial of filgrastim as an adjunct to antibiotics for treatment of hospitalized patients with community-acquied pneumonia. *J Infect Dis* 1998;178:1075-80.
83. matute-Bello G, Liles C, Radella F II. Modulation of neutrophil apoptosis by granulo-cyte colony-stimulating factor and granulo-cyte/macrophage colony-stimulating factor during the course of acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med* 2000;28:1-7.
84. Ognibene FP, Martin SE, Parker MM. Adult respiratory distress syndrome in patients with severe neutropenia. *N Engl J Med* 1986; 315:547-51.
85. Vansteenkiste JF, Boogaerts MA. Adult respiratory distress syndrome in neutropenic leukemia patients. *Blut* 1989;58:287-90.