

디젤분진 및 미세분진이 천식마우스의 폐조직에서 ICAM-1과 VCAM-1의 발현에 미치는 효과

리천주 · 이수진 · 장양호 · 이정학 · 박세종 · 박준홍 · 장병준 · 이종환 · 최능훈*

건국대학교 수의과대학

Received December 21, 2006 / Accepted January 22, 2007

The Effects of Diesel Exhaust Particulates and Particulate Matters on the ICAM-1 and VCAM-1 Expression in the Lung of Asthma-induced Mouse. Tianzhu Li, Soojin Lee, Yangho Jang, Jeonghak Lee, Sejong Park, Junhong Park, Byungjoon Chang, Jonghwan Lee and Nonghoon Choe*. *College of Veterinary Medicine, Konkuk University, Seoul, Korea* – This research investigated whether exposure of diesel exhaust particulate (DEP) and particulate matter (PM) effect on intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) expression in asthma-induced Balb/c and IL-10 knock out (KO) mouse. Mouse was sensitized with intraperitoneal injection with ovalbumin, followed by challenges with intranasal ovalbumin. After induction of asthma mouse placed in the inhalation chamber and exposed to DEP and PM (10 mg/m³). The evidences of pulmonary inflammation were assessed by immunohistochemical stain and western blot against ICAM-1 and VCAM-1 in the lung tissue. In the immunohistochemical stain, positive reactions for ICAM-1 and VCAM-1 were much stronger in asthma-induced groups and asthma-induced group with DEP or PM than control groups. Although mild positive reactions were appeared in asthma-induced IL-10 KO mice groups, positive reactions were very strong in the asthma-induced group with DEP or PM. In Western blot, expression of VCAM-1 was increased in asthma-induced group with DEP or PM than asthma-induced groups. In the IL-10 KO mouse, ICAM-1 and VCAM-1 expression were increased in asthma-induced group with DEP or PM than asthma-induced groups. DEP and PM exposure have additive effects on the aggravation of inflammatory signs in the asthma-induced murine model. These results suggest that inhalation of DEP and PM in asthmatic patients may aggravate clinical symptoms.

Key words – Asthma-induced mouse, IL-10 knock out mouse, ICAM-1, VCAM-1, diesel exhaust particulate and particulate matter

서 론

최근 세계적으로 대도시들은 심각한 대기오염에 시달리고 있다[16]. 대기오염물질의 한 종류인 미세분진(particulate matter, PM)과 대도시 미세분진의 주요 성분인 디젤자동차분진(diesel exhaust particles, DEP)은 장기간 대기 중에 체류하기 때문에 사람에게 있어서 지속적인 노출로 인한 피해가 우려된다. 특히, 염증성 호흡기질환 및 천식이 있는 사람들의 경우 PM 및 DEP의 흡입은 지속적인 기침을 유발하고, 전체적인 호흡기의 기능을 저하시켜 질환을 더욱 악화시킬 수 있는 것으로 알려져 있다[18]. 대도시의 공기 중에 부유하는 DEP는 디젤 연료가 불완전하게 연소되어 발생하는 공기오염물질로 교통량 및 기타 산업시설의 증가로 인하여 발생하는 양이 해마다 증가하고 있는 추세이고, 이에 따라 DEP가 사람의 건강에 미치는 영향에 대한 우려가 점차 높아지고 있다[5,13].

천식은 기도가 광범위하게 수축되어 좁아지고 기도의 수

축이 수분내지 며칠 동안 지속되는 기관지 폐쇄 및 기관지염 증을 일으키는 질환이다[11]. 천식의 병리학적인 소견은 주로 호산구와 림프구들이 기도에 침착되는 만성염증을 특징으로 하고[3,5], 이러한 염증반응에는 intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) 및 vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) 등 유착분자들이 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[22].

유착분자(adhesion molecules)는 세포와 세포간 혹은 세포와 기질간의 부착을 매개하는 여러 종류의 리간드와 수용체를 통칭하는 것으로, 이들을 통한 세포의 부착은 면역세포의 활성화, 백혈구의 재순환과 이동, 종양의 성장과 전이 등 여러 가지 생리적 또는 병적 과정에서 중요한 역할을 한다[15,20,21]. 그 중에서 immunoglobulin superfamily에 속하는 ICAM-1, VCAM-1 등은 세포들 간의 상호작용을 조절하는 매우 중요한 세포표면 당단백질로 알려져 있다[2,10,20]. 특히 ICAM-1과 VCAM-1은 천식에서 혈액으로부터 기도로의 염증세포의 이동에 있어서 아주 중요한 역할을 한다[8].

본 연구는 천식이 유발된 Balb/c 마우스와 동일한 품종과 조건의 IL-10 knock out 마우스에 DEP와 PM을 흡입시킨 후

*Corresponding author

Tel : +82-2-450-3709, Fax : +82-2-450-3037

E-mail : nojamaji@hanmail.net

폐조직에서의 ICAM-1과 VCAM-1의 발현을 살펴 DEP와 PM이 어떠한 영향을 미치는지 확인하고자 하였다. 또한 천식의 유발에 중요한 역할을 담당할 것으로 알려진 IL-10의 기능을 규명하고자 동일한 품종의 IL-10 KO 마우스를 이용하여 천식을 유발한 후 DEP와 PM에 노출시키는 동일한 실험을 수행하여 IL-10 유전자의 존재 유무에 따른 유착분자들의 효과를 비교하였다.

재료 및 방법

DEP와 PM의 수집과 전처리

DEP는 국립환경연구원 자동차공해연구소에서 확보하였고, PM 시료는 서울시내 지하철역에 설치된 공기정화기의 membrane filter에 흡착된 것을 채취하여 사용하였다. 본 실험에 사용된 총미세분진(total suspended particle; TSP)은 서울시내 전철역 약 30곳에서 모은 혼합 미세분진이다. 확보된 DEP 및 PM은 *in vivo* 흡입실험에 사용하기 전 membrane filter에 통과시켜 섬유성분을 제거하였고, 생물학적 요소(예: 바이러스, 세균, 곰팡이 등) 및 수분을 제거하기 위하여 가열 건조기속에서 가열처리(200°C에서 3시간)하였다.

천식유발

천식은 Balb/c 암컷마우스와 동일한 품종과 조건의 IL-10 KO 마우스를 대상으로 유발시켰다. 본 연구를 위한 Balb/c 마우스는 (주)오리엔트바이오에서 구입하였으며, IL-10 KO 마우스는 한국생명공학연구원에서 제공받았다. 실험을 위한 대조군과 각 처치군에는 12마리를 배정하였고, 실험동물에서 천식을 유발시키기 위하여 실험 1일에 20 µg ovalbumin (Sigma, USA)과 2 mg aluminum hydroxide (Sigma)를 adjuvant로 하여 100 µl PBS에 녹여 복강내로 투여하였다. 최초 감각 14일 후 동일한 방법으로 2차 감각을 실시하였다. 실험 28일, 29일, 30일에 1% ovalbumin (Sigma)을 ultrasonic nebulizer (Sunrise Medical, USA)를 사용하여 aerosol 상태로 만든 후 하루에 60분씩 chamber안에서 자연스런 호흡을 통하여 감각시켰다. 실험 30일째의 최후 감각 후 24시간이 경과한 다음 실험동물을 안락사 시켰고, 실험에 필요한 폐 조직 시료들을 채취하였다.

DEP와 PM의 노출

천식이 유발된 실험동물에 하루 4시간씩 5일간 DEP와 PM을 10 µg/m³의 농도로 inhalation chamber안에서 흡입 노출시켰다.

면역조직화학염색

Ketamin과 Xylazine (Rumpun[®])을 1:5로 혼합하여 마우스의 복강 내로 주사하여 마취하였다. 마취된 마우스에서 폐와

기관지를 절제해낸 후 10% 포르말린 3 ml를 주입하여 고정한 후 파라핀 블록을 만들고 5 µm의 절편을 제작하였다. 56°C incubator에 30분 처리하여 파라핀을 녹인 후 xylene으로 제거하였다. 조직절편을 탈파라핀한 후 100%, 90%, 80%, 70% 알콜을 단계별로 거쳐 탈수하고 함수과정을 치킨 후 조직의 내인성 peroxidase 활성을 제거하기 위해 0.3% H₂O₂로 15분간 처리하였다. Phosphate buffered saline (PBS)으로 수세한 후 항체의 비특이성 결합을 억제하기 위해 3% bovine serum albumin을 함유한 PBS를 이용하여 1시간 동안 반응시켰다. 이후 anti-mouse ICAM-1과 VCAM-1 (abCAM, UK)을 각각 20 µg/ml의 농도로 희석하여 4°C에 하룻밤 처리하였다. DAKO LSBA 2 kit로 이차항체와 streptavidin-conjugated peroxidase (DAKO, Carpinteria, CA)를 처리시켰다. 발색은 3, 3'-diaminobenzidine (DAB, Sigma, USA)를 사용하였고 Harris's hematoxylin (Sigma, USA)으로 대조염색을 실시하였다.

Western blot

각 처치군의 마우스에서 폐 조직을 적출한 후 PRO-PREP for Cell/ Tissue protein extraction solution을 조직에 첨가하고 homogenizer를 이용하여 조직을 분쇄하였다. 분쇄된 조직을 4°C 12,000 rpm에서 30분간 원심분리하여 단백질을 분리하였고, Bradford methods를 이용하여 정량하였다. 분리된 단백질은 15% SDS-PAGE gel을 사용하여 전기영동을 실시하였고, nitrocellulose transfer membrane으로 옮긴 후 5% skim milk로 비 특이반응을 억제하기 위하여 blocking을 실시하였다. Anti-mouse ICAM-1과 VCAM-1을 각각 1:1000으로 희석하여 nitrocellulose transfer membrane에 하룻밤 처리한 후 washing buffer로 세 번 세척하였다. 세척 후, horseradish peroxidase와 2차 항체가 결합된 용액으로 처리하였고, ECL detection system을 이용하여 단백질의 band를 확인하였다. 확인된 단백질 band는 laser densitometer (Model PD 1211; Molecular Dynamics, Sunnyvale, CA, USA)를 이용하여 density를 측정하였다.

통계처리

통계 프로그램인 SPSS를 사용하여 실험설계에 대한 분산 분석은 ANOVA로, 각 처치군들간의 비교는 independent sample t-test를 실시하여 유의성을 검정하였다. 각 자료는 3번 이상의 반복된 실험을 통하여 얻어진 결과를 평균 ± 표준오차로 표시하였고, P<0.05인 경우 통계적 유의성이 있는 것으로 판정하였다.

결 과

폐조직의 면역조직화학염색

1. ICAM-1의 면역조직화학염색

ICAM-1에 대한 면역조직화학염색을 실시한 결과, Balb/c

대조군 마우스의 경우 양성반응이 거의 관찰되지 않은 반면, ovalbumin을 이용한 천식유발실험군에서는 기도 주위와 기관지 기저막부위의 염증세포가 군집해 있는 곳에서 강하게 발현되었음을 관찰할 수 있었다. 천식유발 + DEP 노출실험군 및 천식유발 + PM 노출실험군에서는 세기관지의 기저막 부위와 세기관지 주위 조직에서 천식유발실험군보다 아주 강한 양성반응을 관찰할 수 있었다(Fig 1). IL-10 KO 대조군 마우스의 경우 ICAM-1의 발현이 전혀 관찰되지 않았으나, IL-10 KO 천식유발실험군은 기도 주위 및 혈관 주위 조직에서 미약하게 발현됨을 관찰할 수 있었다. IL-10 KO 천식유발 + DEP 노출실험군 및 IL-10 KO 천식유발 + PM 노출실험군에서는 기도 주위 및 혈관 주위의 염증세포들에서 IL-10 KO 천식유발실험군보다 더 강한 양성반응을 관찰할 수 있었다(Fig 3).

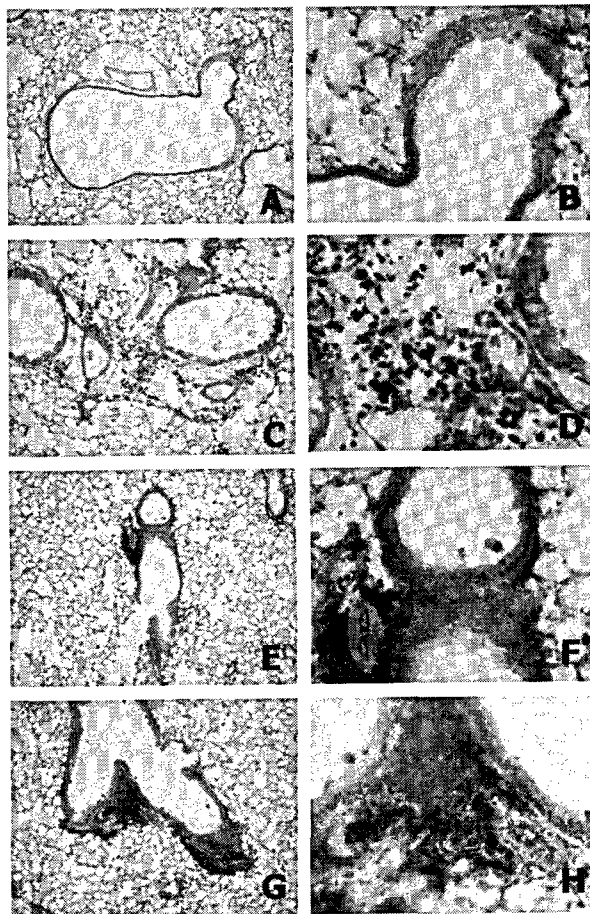


Fig. 1. Microscopic figures of ICAM-1 expression by immunohistochemical stain in lung tissue from the asthma-induced Balb/c mice and asthma-induced Balb/c mice after exposure with DEP or PM. A,B: Control mice, C,D: Asthma-induced mice, E,F: Asthma-induced mice after exposure with DEP, G,H: Asthma-induced mice after exposure with PM. A,C,E,G: $\times 100$, B,D,F,H: $\times 400$.

2. VCAM-1의 면역조직화학염색

VCAM-1에 대한 면역조직화학염색 결과 Balb/c 대조군 마우스의 경우 양성반응을 거의 관찰할 수 없었으나, 천식유발실험군에서는 기도 및 혈관 주위 조직의 염증세포가 군집해 있는 곳에서 강하게 발현됨을 관찰할 수 있었다. 천식유발 + DEP 노출실험군 및 천식유발 + PM 노출실험군에서는 세기관지의 기저막 부위와 혈관 주위 조직에서 천식유발실험군보다 더 강한 양성반응을 보였다(Fig 2). IL-10 KO 대조군 마우스의 경우 VCAM-1의 발현이 거의 보이지 않았고, IL-10 KO 천식유발실험군은 기도 주위 조직의 염증세포들에서 미약하게 발현되었다. IL-10 KO 천식유발 + DEP 노출실험군 및 IL-10 KO 천식유발 + PM 노출실험군은 기도 및 혈관 주위의 염증세포들에서 아주 강한 양성반응을 관찰할 수 있었다(Fig 4).

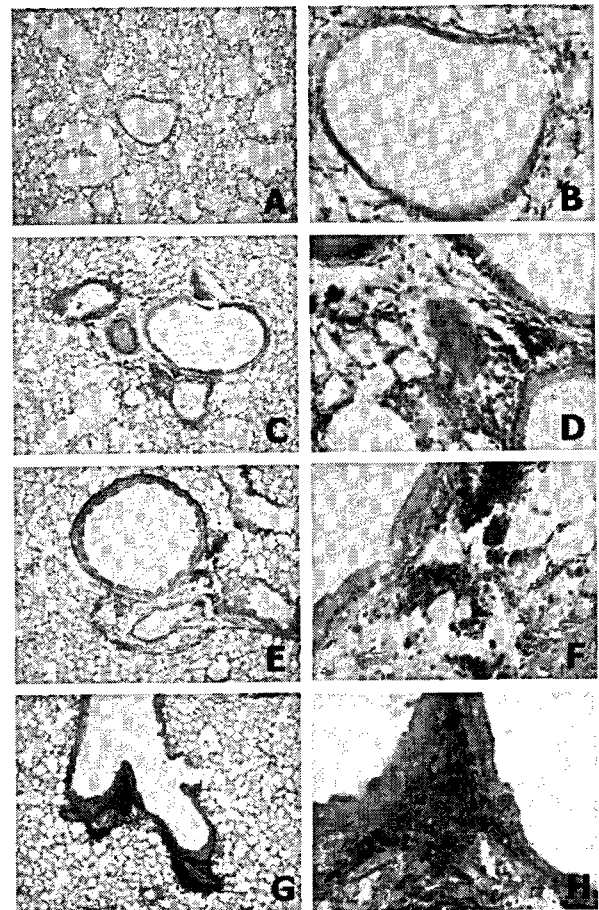


Fig. 2. Microscopic figures of VCAM-1 expression by immunohistochemical stain in lung tissue from the asthma-induced Balb/c mice and asthma-induced Balb/c mice after exposure with DEP or PM. A,B: Control mice, C,D: Asthma-induced mice, E,F: Asthma-induced mice after exposure with DEP, G,H: Asthma-induced mice after exposure with PM. A,C,E,G: $\times 100$, B,D,F,H: $\times 400$.

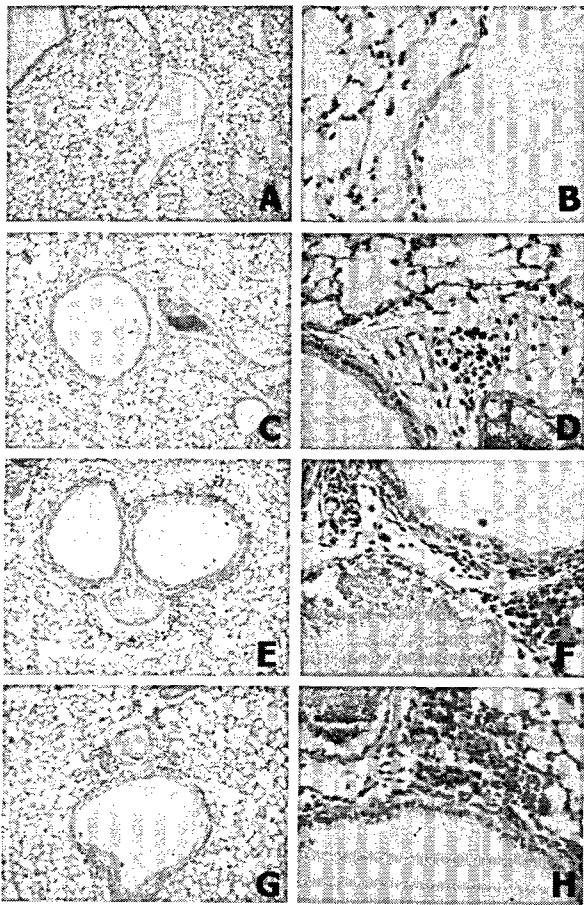


Fig. 3. Microscopic figures of ICAM-1 expression by immunohistochemical stain in lung tissue from the asthma-induced IL-10 KO mice and asthma-induced IL-10 KO mice after exposure with DEP or PM. A,B: IL-10 KO mice, C,D: Asthma-induced IL-10 KO mice, E,F: Asthma-induced IL-10 KO mice after exposure with DEP, G,H: Asthma-induced IL-10 KO mice after exposure with PM. A,C,E,G: $\times 100$, B,D,F,H: $\times 400$.

Western blot

면역염색을 통한 adhesion molecules의 발현정도를 단백질의 양적인 수준에서 검증하기 위하여 western blot을 실시하여 laser densitometer로 density를 측정 한 결과 Balb/c 천식유발 마우스에서 ICAM-1의 경우 천식유발 + PM 노출 실험군은 천식유발 실험군에 비해 발현이 유의하게 증가된 것을 관찰할 수 있었다. VCAM-1의 발현은 대조군에 비해 모든 실험군에서 발현이 유의하게 증가됨을 관찰할 수 있었으나, 특히 천식유발실험군에 비해 천식유발 + DEP 및 PM 노출 실험군은 발현이 유의하게 증가하였다(Table 1, Fig 5). IL-10 KO 천식유발 마우스의 경우 ICAM-1과 VCAM-1 모두에서 IL-10 KO 천식유발 실험군에 비해 IL-10 KO 천식유발 + DEP 및 PM 노출 실험군에서의 발현이 아주 강하게 증가됨을 관찰할 수 있었다(Table 2, Fig 6). 이러한 결과는 면역염

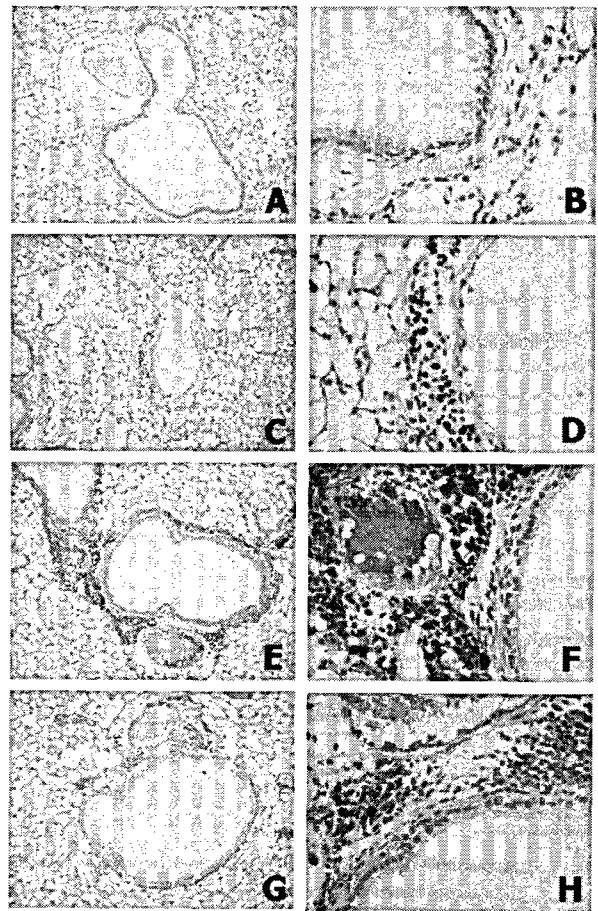


Fig. 4. Microscopic figures of VCAM-1 expression by immunohistochemical stain in lung tissue from the asthma-induced IL-10 KO mice and asthma-induced IL-10 KO mice after exposure with DEP or PM. A,B: IL-10 KO mice, C,D: Asthma-induced IL-10 KO mice, E,F: Asthma-induced IL-10 KO mice after exposure with DEP, G,H: Asthma-induced IL-10 KO mice after exposure with PM. A,C,E,G: $\times 100$, B,D,F,H: $\times 400$.

색의 결과와 유사한 것으로 ICAM-1 및 VCAM-1의 발현이 정량적으로 증가한 것임을 의미한다.

고 찰

천식의 발병과 대기 중의 미세입자 오염도와의 상관관계는 일부 연구들에 의해 유의성이 있음이 규명되었다. 그 연구들에 따르면 대기 중 오염도가 높은 날 호흡기계 질환자나 노약자의 심폐질환이 악화된다고 하며, 한편 대기 중에 부유하는 미세분진에 의해 사망률과 눈, 피부, 심혈관계 및 천식, 만성기관지염 및 폐렴 등의 질환의 발생률이 증가한다고 한다[17]. PM과 마찬가지로 대도시의 공기 중에 디젤분진도 미세분진의 일종이다. DEP는 크기가 작아 세기관지와 폐포에 침전될 수 있으며, 이로 인해 새로운 호흡기계 질환을 유발

Table 1. The levels of ICAM-1 and VCAM-1 expression in the asthma-induced Balb/c mice and asthma induced-Balb/c mice after exposure with DEP or PM

	Control	Asthma	Asthma+DEP	Asthma+PM
ICAM-1	2.7±0.2	2.4±0.1	2.9±0.2	3.1±0.2 ^{††}
VCAM-1	1.0±0.3	2.6±0.3 ^{**}	3.1±0.2 ^{**†}	3.4±0.1 ^{**††}

^{**}P<0.016 versus control. [†]P<0.05 versus asthma. ^{††}P<0.01 versus asthma. (each experiment's n=3, Mean±SEM).

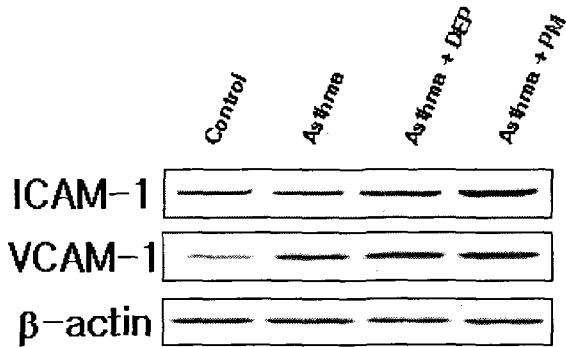


Fig. 5. Expression of ICAM-1 and VCAM-1 by Western blot in lung tissue from the asthma-induced Balb/c mice and asthma-induced Balb/c mice after exposure with DEP or PM. The level of β -actin was similar in all of the tested samples.

하거나 기존의 염증성 호흡기계 질환을 악화시키는 것으로 알려져 있다[9,14].

유착분자는 여러 염증성 질환의 발생에 중요한 역할을 담당하는 세포 표면의 당단백질로 순환중인 염증세포를 혈관 내피에 부착시키는 과정과 내피를 통과하여 병변부위로 이동하는 과정에 깊이 관여하는 것으로 알려져 있다[1,7,12,20]. ICAM-1은 정상적으로 내피세포에 낮게 발현되지만 cytokine에 의해 24-96시간에 유도될 수 있다. VCAM-1은 산호성 백혈구와 림프구에서 발현되는 VLA-4와 결합되어 선택적으로 호산구의 이동에 관여한다고 알려져 있다[19]. 따라서, Albelda 등[1]은 이러한 유착분자를 억제하면 효과적으로 염증을 조절할 수 있을 것이라고 하였다.

본 연구는 천식을 유발시킨 실험동물에 대기오염원의 주요 성분으로 밝혀진 디젤분진과 지하철역내에서 채집한 미세분진을 직접 호흡을 통해 노출시켜 디젤분진과 지하철 미세분진이 실험동물을 이용한 천식모델에 있어서 ICAM-1과 VCAM-1의 발현에 어떠한 영향을 미치는지와 IL-10의 역할에 관해 살펴보았다.

면역조직화학염색을 통해 ICAM-1과 VCAM-1의 양성반응을 살펴본 결과, Balb/c 천식유발 마우스의 경우 천식유발 실험군과 천식유발 + DEP 및 PM 노출실험군 모두에서 대조군에 비해 양성반응이 강하게 나타남을 관찰할 수 있었다. IL-10 KO 천식유발 마우스의 경우 ICAM-1과 VCAM-1에 대

Table 2. The levels of ICAM-1 and VCAM-1 expression in the asthma-induced IL-10 KO mice and asthma-induced IL-10 KO mice after exposure with DEP or PM

	IL-10 KO mice	IL-10 KO asthma	IL-10 KO asthma+DEP	IL-10 KO asthma+PM
ICAM-1	0.5±0.2	1.1±0.2	5.6±0.3 ^{**††}	5.6±0.4 ^{**††}
VCAM-1	0.9±0.2	1.3±0.2 [†]	3.3±0.2 ^{**††}	3.2±0.4 ^{**††}

[†]P<0.05 versus control. ^{**}P<0.01 versus control. ^{††}P<0.01 versus asthma. (each experiment's n=3, Mean±SEM).

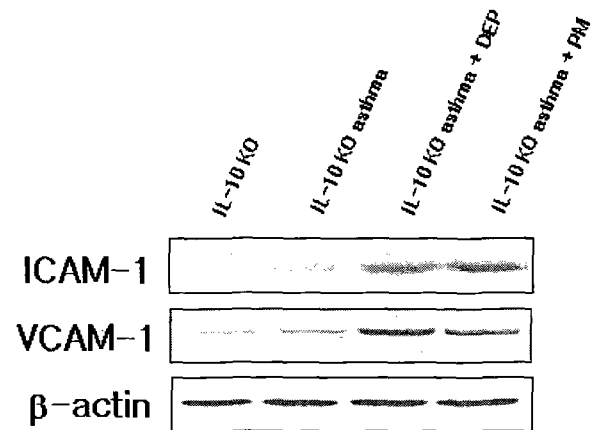


Fig. 6. Expression of ICAM-1 and VCAM-1 by Western blot in lung tissue from the asthma-induced IL-10 KO mice and asthma-induced IL-10 KO mice after exposure with DEP or PM. The level of β -actin was similar in all of the tested samples.

한 아주 미약한 양성반응을 나타낸 반면, IL-10 KO 천식유발 + DEP 및 PM 노출실험군에서는 아주 강한 양성반응을 관찰할 수 있었다. 이는 IL-10이 천식의 유발이나 악화에 상당한 억제기능이 있음을 간접적으로 증명하는 것이라 하겠다.

Western blot을 실시하여 ICAM-1과 VCAM-1의 발현정도를 단백질의 양적인 수준에서 검증한 결과, Balb/c 천식유발 마우스의 경우 ICAM-1과 VCAM-1 모두에서 천식유발 + DEP 및 PM 노출실험군이 천식유발실험군에 비해 발현이 거의 증가되지 않았음을 관찰할 수 있었다. IL-10 KO 천식유발 마우스의 경우 ICAM-1과 VCAM-1 모두에서 IL-10 KO 천식유발실험군은 IL-10 KO 실험군에 비해 발현이 각각 2.2배 및 1.4배 증가됨을 관찰할 수 있었고, IL-10 KO 천식유발 + DEP 노출 실험군은 IL-10 KO 천식유발실험군에 비해 발현이 각각 5.1배 및 2.5배 증가됨을 관찰할 수 있었고, IL-10 KO 천식유발 + PM 노출 실험군은 IL-10 KO 천식유발실험군에 비해 발현이 각각 5.1배 및 2.4배 증가하였다.

위의 결과들은 IL-10이 천식에 있어서 아주 중요한 억제역할을 하며, 천식의 소인이 있는 사람이 디젤분진이나 미세분진 등을 흡입할 경우 천식의 유발이나 악화에 관여하는 유착분자들의 발현이 증가하여, 천식과 관련된 세기관지 염증이

더 악화될 수 있음을 간접적으로 증명한 결과라고 해석된다.

본 연구의 결과 Balb/c 마우스와 IL-10 KO 마우스를 이용한 천식유발군에 DEP와 PM을 노출시킨 결과 세기관지 주위 염증이 유착분자의 발현 증가를 통하여 악화되는 것을 확인하였으며, 자동차 배기가스와 지하철 미세분진의 발생을 감소시킬 경우 사람에 있어서 천식과 관련한 세기관지 염증을 완화시킬 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

천식이 유발된 Balb/c 마우스와 동일한 조건의 IL-10 KO 마우스에 천식의 원인으로 알려진 DEP와 지하철역내에서 채집한 PM ($10 \mu\text{g}/\text{m}^3$)을 inhalation chamber에 넣고 하루 4 시간씩 흡입시킨 후 시료들을 채취하여 ICAM-1, VCAM-1의 발현을 살펴 천식증상의 악화에 DEP와 PM이 어떠한 영향을 미치는지 확인하였다.

본 실험의 결과 천식이 유발된 일반 Balb/c 마우스에 있어서는 DEP와 PM의 노출에 의하여 ICAM-1 및 VCAM-1의 발현이 세기관지 주위 조직들에서 미약하게 증가하였다. 그러나 IL-10 KO 마우스의 경우 DEP와 PM을 노출시켰을 때 ICAM-1 및 VCAM-1의 발현이 아주 강하게 증가하였다. 따라서, 본 결과는 IL-10에 대한 항체요법이 천식증상의 완화에 쓰일 수 있는 가능성을 암시하며, 한편 자동차 배기가스와 지하철 미세분진의 발생을 예방할 경우 천식과 관련한 세기관지의 염증을 완화시킬 수 있음을 간접적으로 증명한 것이라 할 수 있다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 특정기초연구(R01-2002-00571-0) 지원으로 수행되었음.

참 고 문 헌

- Albelda, S. M., C. W. Smith and P. Ward. 1994. Adhesion molecules and inflammatory injury. *FASEB J.* **8**, 504-512.
- Alon, R., P. D. Kassner., M. Woldemar., E. B. Finger., M. E. Hemler and T. A. Springer. 1995. The integrin VLA-4 supports tethering and rolling in flow on VCAM-1. *J. Cell. Biol.* **128**, 1243-1256.
- Boulet, L. P., H. Turcotte., M. Laviolette., F. Naud., M. C. Bernier., S. Martel and J. Chakir. 2000. Airway hyperresponsiveness, inflammation, and subepithelial collagen deposition in recently diagnosed versus long-standing mild asthma. Influence of inhaled corticosteroids. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* **162**, 1308-1313.
- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248-254.
- Bunn, W. B. III., P. A. Valberg., T. J. Slavin and C. A. Lapin. 2002. What is new in diesel. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* **75**, 122-132.
- Busse, W. W and R. F. Jr. Lemanske. 2001. *Asthma. N. Engl. J. Med.* **344**, 350-362.
- Canonica, G. W., G. Ciprandi., G. P. Pesce., S. Buscaglia., F. Paolieri and M. Bagnasco. 1995. ICAM-1 on epithelial cells in allergic subjects: A hallmark of allergic inflammation. *Int. Arch. Allergy. Immunol.* **107**, 99-102.
- Christer, J., L. Dora., G. Maria., H. B. Eythor., H. Lena and V. Per. 2005. Circulating adhesion molecules in allergic and non-allergic asthma. *Respir. Med.* **99**, 45-51.
- Ichinose, T., A. Furutama and M. Sagai. 1995. Biological effects of diesel exhaust particles (DEP) II. Acute toxicity of DEP introduced into lung by intratracheal instillation. *Toxicology* **99**, 153-167.
- Jones, D. A., L. V. McIntyre., C. W. Smith and L. J. Picker. 1994. A two-step adhesion cascade for T cell/endothelial cell interactions under flow conditions. *J. Clin. Invest.* **94**, 2443-2456.
- Kim, S. C. and S. H. Byun. 2005. The effects of oldenlandiae diffusae herba extract on eosinophil, IgE and IL-4 in experimental asthma induced by ovalbumin. *Kor. J. Herbology* **20**, 35-42.
- Lein, R. R. and C. Wegner. 1992. Role of intercellular adhesion molecule-1 in the inflammatory response. *Kidney Int.* **41**, 617-619.
- Peterson, B. 1996. Saxon. Global increases in allergic respiratory disease: the possible role of diesel exhaust particles. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* **77**, 263-270.
- Pope, C. A. III., D. V. Bates and M. E. Raizenne. 1995. Health effects of particulate air pollution: time for re-assessment? *Environ. Health Perspect.* **103**, 472-480.
- Ruoslahti, E. 1991. Integrins. *J. Clin. Invest.* **87**, 1-5.
- Salma, I., M. Willy., Z. P. Eva and A. Gyula. 2001. Comprehensive characterisation of atmospheric aerosols in Budapest, Hungary: physicochemical properties of inorganic species. *Atmos. Environ.* **35**, 4367-4378.
- Schwartz, J. and D. W. Dockery. 1992. Increased mortality in Philadelphia associated with daily air pollution concentration. *Am. Rev. Respir. Dis.* **145**, 600-604.
- Schwartz, J., D. W. Dockery and L. M. Neas. 1996. Is daily mortality associated specifically with fine particles? *J. Air. Waste. Manag. Assoc.* **46**, 927-939.
- Smith, C. H., J. Barker and T. H. Lee. 1993. Adhesion molecules in allergic inflammation. *Am. Rev. Respir. Dis.* **148**, 75-78.
- Springer, T. A. 1990. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* **346**, 425-434.
- Springer, T. A. 1994. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* **76**, 301-314.
- Wong, C. K., C. B. Wang., M. L. Li., W. K. Ip., Y. P. Tian and C. W. Lam. 2006. Induction of adhesion molecules upon the interaction between eosinophils and bronchial epithelial cell: involvement of p38 MAPK and NF-kappaB. *Int. Immunopharmacol.* **6**, 1859-1871.