

□ 원 저 □

간질성 폐질환환자들의 기관지 폐포세척액내 폐포 대식세포와 임파구의 접착분자 발현 및 Soluble ICAM-1 농도에 관한 연구

울산대학교 의과대학 서울중앙병원 내과학교실, 인제대학교 의과대학 서울백병원 내과학교실*

김동순 · 최강현 · 염호기* · 박명재
임채만 · 고윤석 · 김우성 · 김원동

= Abstract =

The Expression of Adhesion Molecules on Alveolar Macrophages and Lymphocytes and Soluble ICAM-1 Level in Serum and Bronchoalveolar Lavage(BAL) Fluid of Patients with Diffuse Interstitial Lung Diseases(DILD)

Dong-Soon Kim, M.D., Myung Jae Park, M.D., Kang Hyun Choi, M.D., Ho Kee Yeom, M.D., *
Yoon Suck Koh, M.D., Woo Sung Kim, M.D. and Won Dong Kim, M.D.

Department of Internal Medicine, Asan Medical Center, Ulsan University, Seoul, Korea

*Department of Internal Medicine, InJe University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: The expression of the adhesion molecules on the cell surface is important in the movement of cells and the modulation of immune response. DILD starts as an alveolitis and progresses to pulmonary fibrosis. So adhesion molecules in these patients is expected to be increased. There are several reports about adhesion molecules in DILD in terms of the percentage of positive cells in immuno-stain, in which the interpretation is subjective and the data were variable.

Methods: So we measured the relative median fluorescence intensity(RMFI) which is the ratio of the FI emitted by bound primary monoclonal antibody to FI emitted by isotypic control antibody of the cells in BALF of 28 patients with DILD(IPF:10, collagen disease:7, sarcoidosis:9, hypersensitivity pneumonitis:2) and 9 healthy control.

Results: RMFI of the ICAM-1 on AM(3.30 ± 1.16) and lymphocyte($5.39 \pm .70$) of DILD were increased significantly than normal control(0.93 ± 0.18 , 1.06 ± 0.21 , respectively, $p=0.001$, $P=0.003$). RMFI of the CD18 on lymphocyte was also higher(24.9 ± 14.9) than normal(4.59 ± 3.77 , $p=0.0023$). And there was a correlation between RMFI of ICAM on AM and the % of AM($r=-0.66$, $p=0.0001$) and lymphocyte($r=0.447$, $p=0.0116$) in BALF. Also RMFI of ICAM on lymphocyte had a significant ($r=0.593$, $p=0.075$) correlation with the % of IL-2R(+) lymphocyte in BALF. The

soluble ICAM(sICAM) in serum was also significantly elevated in DILD(499.7 ± 222.2 ng/ml) compred to normal(199.0 ± 38.9) ($p=0.00097$) and sICAM in BAL fluid was also significantly higher than normal control group(41.8 ± 23.0 ng/ml vs 20.1 ± 13.6 ng/ml).

There was a Significant correlation between sICAM level in serum and the expression of ICAM-1 on AM($r=0.554$, $p=0.0259$).

Conclusion: These data suggest that in DILD the expression of adhesion molecules is increased in the AM and BAL lymphocytes with elevated serum sICAM, and these parameter may be useful in determining disease activity.

Key Words: Adhesion molecule, Bronchoalveolar lavage, Interstitial lung disease

서 론

간질성 폐질환은 여러가지 다양한 원인에 의해, 또는 아직 밝혀지지 않은 원인에 의해 폐포염 및 폐간질내 염증으로 시작해 중국에는 폐섬유증으로 진행되는 질환군들로 자세한 발병기전은 아직도 명확히 규명되지는 않았으나, 폐포 대식세포(alveolar macrophage:AM으로약칭)가 중추적인 역할을 하며, 또한 임파구도 중요한 역할을 하리라고 추측되고 있다^{1~8)}. 이러한 염증 세포들이 병소내에 증가하는 기전으로는 병소내에서 이들 세포가 증식하거나 혈류내의 염증 세포들이 조직 내로 이동하여야 하는데, 최근에 이러한 백혈구들의 혈류내에서 조직내로 이동은 염증세포와 혈관내피세포의 표면에 있는 접착분자들의 상호 작용을 통하여 일어난다는 것이 알려졌다^{9~13)}. 여러가지 접착분자들중 β_2 integrin은 백혈구의 표면에 통상적으로 존재하나, IL-1이나 TNF- α 같은 자극이 있으면 그 발현이 더 증가하는 것으로 알려져 있다. 이러한 백혈구의 β_2 integrin과 상호 결합하는 ligand인 ICAM-1(intercellular adhesion molecule-1) 역시 같은 자극에 의해 혈관내피 세포표면에 증가하므로 백혈구가 내피세포에 접착을 일으킨 후에 조직내로 이동하게 된다. ICAM-1은 정상적으로는 백혈구에서 거의 발현되지 않지만 자극이 있을 때는 빠른 속도로 생성되는 것으로 알려져 있다^{10,29,30)}. 또한 일단 백혈구와 내피세포가 접착을 한후에는 이러한 접착분자들의 일부가 세포밖으로 떨어져 나가 체액내로 배출되기 때문에 혈청내의 가용성 접착

분자들의 농도를 측정하면, 그 환자에서 접착분자들의 활성화의 정도를 추측할 수 있게 된다¹⁴⁾. 이러한 접착분자들은 세포의 이동뿐 아니라 세포내 자극 전달체계(signal transduction)에도 관여하여 세포의 활성화와 밀접한 관계를 가지는 것으로 알려져 있다¹⁵⁾. 그러므로 저자들은 간질성 폐질환환자에서 기관지 폐포세척액(BAL)내 AM과 임파구에서의 β -integrin(CD18)과 ICAM-1의 발현도를 정상 대조군과 비교 관찰하고, 또한 혈청 및 BAL액내 가용성 ICAM-1(sICAM-1) 농도를 측정하여 이들을 간질성 폐질환의 활성도를 반영할 수 있는 지표로 사용할 수 있는가를 알아 보았다.

대상 및 방법

1. 대 상

대상은 조직학적으로 확인 된 미만성 간질성 폐섬유

Table 1. Clinical Characteristics of the Subjects

	DILD	Control
Number	28	9
Age	30.8 ± 9.1	47.7 ± 7.0
Gender(M:F)	12:16	8:1
Smoker:Exsmoker:Nonsmoker	1:5:20	4:0:5
Underlying disease		
IPF	11	
Collagen disease	6	
Sarcoidosis	9	
Hypersensitivity pneumonitis	2	

증(IPF) 환자 11명, 교원성 폐질환과 연관된 폐섬유증 환자(CVD-PF) 6명, 폐유육종증 9명, 과민성 폐장염 환자 2명과 대조군으로 건강한 정상인 9명에서 검사를 시행하였고, 이들의 임상적 특성은 Table 1과 같다.

환자들의 폐기능 검사소견은 FVC가 추정정상치의 $72.3 \pm 15.9\%$, FEV1는 $79.2 \pm 20.1\%$, D_{LCO} 는 $71.7 \pm 23.4\%$, TLC는 $80.8 \pm 9.5\%$ 였다.

2. 방 법

1) 기관지폐포세척검사

Atropine과 Demerol로 전치치한 후에, lidocaine으로 국소마취를 하고 Olympus 2TR 형 기관지경으로 대개 우중엽이나, 설상엽에서 생리식염수 50ml씩으로 6번 세척을 실시하였고, 첫번 세척액은 폐포보다는 기관지 세척액이 주이기 때문에 제외하였다. 세척액은 2장의 꺼-즈로 점액등을 걸러내고 용적을 측정후에 2,000rpm에서 10분간 원심시킨 후에 상층액은 따로 -70°C 에 보관하고, 세포층은 Hank's 용액으로 2번 세척하여 hemocytometer로 총 세포수를 측정하고, trypan blue로 viability를 검사하였다. 일부 세포는 cyto-spin을 시킨 후에 Diff. Quik염색을 하여 총 300개의 세포를 세어서 각 세포의 백분율을 계산하였다. BAL을 시행하면서 동시에 혈액을 채취하여 혈청을 분리하여 -70°C 에 보관하였다가 sICAM-1 및 albumin농도를 측정하였다.

2) 접착분자 발현률

BAL액내 세포들을 1×10^7 개/ml 농도로 phosphate buffered saline에 희석한 후에 50ul(500,000개 세포)에 phycoerythrin이 부착된 ICAM-1(Becton-Dickins.)에 대한 단일 항체를 가하여 4°C 에서 40분간 반응시킨 후에 PBS로 세척하여 1% paraformaldehyde로 4°C 에서 고정시킨 후에 다음 날 flow cytometry(BD Facsan)로 측정하였다. CD18의 경우에는 생쥐에서 만든 CD18에 대한 단일 항체(Immunotech.)와 반응시킨 후에 다시 생쥐의 면역글로불린에 대한 토끼에서 만든 이차 항체(Dakoplat.)에 FITC를 부착시킨 것을 반응시켜서 paraformaldehyde로 고정하였다. 각 실험에서 비특이적인 결합에 의한 오차를 줄이기 위해 접착분자에 대한 단일항체와 같은 아형(immunoglobulin sub-

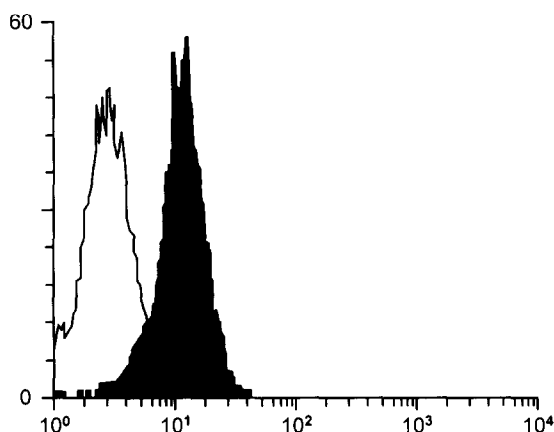


Fig. 1. Representative flow cytometry profile of expression of ICAM-1 on alveolar macrophage. There was a shift in the fluorescence intensity of the entire population of the patient (black) to the right even though some overlap with the isotypic control(white). It is incorrect to calculate the proportion of the cells whose fluorescence lie right side to the control group, as positive(Chest 105:1324 '94). Such a procedure is valid only when the histogram shows 2 or more peaks, one lying entirely under the isotypic control curve.

class)이나 비특정 항원에 대한 생쥐의 항체로 반응시켜서 isotypic control을 잡았으나, isotypic control의 FI치나, isotypic antibody를 넣지 않고 그대로 측정한(blank) FI치는 차이가 없었다. 전체 세포들의 dot plot에서 AM과 임파구를 각각 선정하여(gating), 각각 10,000개의 세포의 형광도(fluorescence intensity)의 histogram을 그려서 isotypic control과 비교해 보면 Fig. 1에서 보는 바와 같이 대부분의 환자들의 세포에서 fluorescence intensity curve가 뚜렷이 우측으로 이동하기는 하나, 일부가 control curve와 겹치는 것을 볼 수가 있었다. 통상적으로는 실험군에서 한개의 curve는 isotypic control curve와 완전히 겹치면서 우측에 다른 curve가 나타날 때, 이 우측 curve를 양성군으로 간주하여 양성 세포의 %를 계산하게 되는데(Fig. 1), BAL액내 특히 AM의 경우에는 한개의 curve가 나타나면서 그 일부가 control curve와 겹치므로, 통상적인 방법으로 control curve의 우측에 있는 세포들을 양성군으로

간주하는 것은 부정확하다¹⁶⁾. 그러므로, Wasserman 등은 이러한 경우에 환자 curve의 maximum fluorescence intensity(MFI)치를 control curve의 MFI로 나눈 MFI의 비(relative linear median fluorescence intensity : RRFI)를 취하였는데 저자들도 이 방법을 이용하여 비교하였다¹⁶⁾.

3) sICAM-1 및 Albumin 측정

sICAM은 s ICAM-1 분자의 2개의 서로 다른 epitope에 대한 항체를 이용한 ELISA방법으로 R&D 회사의 kit를 사용하여 측정하였다. 간단한 원리는 먼저 sICAM-1에 대한 1차 항체를 96 well plate에 부착시키고, 측정하려는 혈청이나 BAL액을 반응 시킨 후에 반응하지 않은 액들을 세척하고, horseradish peroxidase(HRP)를 부착시킨 sICAM-1의 다른 epitope에 대한 2차 항체에 반응시키면, sICAM분자가 이 두 항체를 연결시켜 well의 표면에 남게 된다. 여기에 이 HRP 효소의 기질(substrate)를 가하면, HRP양에 비례해서 발색반응이 나타나므로 이것의 optical density를 spectrophotometry로 측정하여 sICAM량을 측정하였다. BAL액은 폐포표면을 식염수로 세척해 얻은 액이므로 BAL액내의 성분의 농도는 이것이 얼마나 희석되었는지를 아는 것이 중요하다. BAL액의 희석정도를 표시하는 방법으로는 albumin이나 methylene blue, urea에 대한 비율이 가장 많이 사용되고 있으나, 아직도 어느 방법이 적당한지, 또는 이러한 방법을 사용하는 것이 원액 그대로의 농도를 사용하는 것보다 정확한지에 대해서는 논란이 많다^{17,18)}. 그러므로 본 연구에서는 BAL액 자체에서의 농도를 서로 비교해보고, 또한 BAL액의

albumin농도에 대한 sICAM-1농도도 비교하였는데 BAL액내 albumin 농도는 radioimmunoassay방법으로 Eiken Chemical Co., LTD., Tokyo, Japan사의 Albumin Radioimmunoassay Kit를 사용하였다.

4) 통계학적 처리

두군간의 RMFI 비교는 Mann-Whitney U test로 검정하였고 그외의 비교는 Student T-test를 이용하였다.

3. 결 과

1) 기관지폐포세척액 소견

전체 환자군을 대상으로 보면, BAL액내 폐포대식세포는 $63.3 \pm 21.1\%$ 로 대조군($92.1 \pm 5.5\%$)보다 유의하게 낮았다($p=0.0008$). 임파구는 환자군에서 $26.2 \pm 21.7\%$ 로 대조군의 $7.3 \pm 5.4\%$ 보다 증가되어 있었고($p=0.0227$), 호중구는 $7.7 \pm 1.1\%$ 로 대조군($0.4 \pm 0.3\%$)보다 높았으나 통계적 의의는 없었다($p=0.0771$). 그러나 개개의 질병군에서 보면, IPF 환자들에서는 호중구와($13.8 \pm 17.4\%$, $p=0.0064$), 호산구가($2.8 \pm 3.5\%$, $p=0.0134$) 대조군보다 유의한 증가를 보였고, 임파구는 $8.69 \pm 5.01\%$ 로 대조군과 차이가 없었으나, 유육종증에서는 호중구는 $0.56 \pm 0.64\%$ 로 대조군과 비슷하였으나, 임파구는 $46.0 \pm 16.5\%$ 로 현저하게 증가되었다($p=0.0001$). 교원성질환군에서는 임파구가 $31.2 \pm 25.6\%$ 로 증가되었을 뿐 아니라($p=0.0135$), 호중구는 $4.6 \pm 5.4\%$ ($p=0.0312$), 호산구도 $3.2 \pm 3.0\%$ 로($p=0.012$) 대조군보다 높았다. 또한 임파구의 활성화 지표인 IL-2 수용체(IL-2R) 양성인 임파구의 분획을 보면 유육종증에서는 $6.8 \pm 4.1\%$ 로 대조군보다($2.5 \pm 1.8\%$) 유의하게

Table 2. The Expression of the Adhesion Molecules on the Alveolar Macrophages and the Lymphocytes in the BAL Fluid

Group	ICAM-1		β_2 -Integrin (CD18)	
	AM	Lymphocyte	AM	Lymphocyte
Control	0.93 ± 0.18	1.06 ± 0.21	1.95 ± 0.69	4.59 ± 3.77
DILD	$3.30 \pm 1.16^*$	$5.39 \pm 2.70^*$	2.69 ± 1.68	$24.9 \pm 4.9^*$
IPF	$3.19 \pm 1.10^*$	$8.11 \pm 2.89^*$	2.06 ± 0.46	$29.2 \pm 0.4^*$
Sarcoid	$3.18 \pm 1.10^*$	$4.16 \pm 1.60^*$	3.00 ± 2.17	$22.1 \pm 5.2^*$
CVD	$3.38 \pm 1.34^*$	$4.50 \pm 1.58^*$	3.17 ± 2.06	$22.0 \pm 20.0^*$

AM: Alveolar macrophage, *P < 0.05

($p=0.0209$) 증가되었고, 교원성질환에서도 $6.7 \pm 1.9\%$ 로 증가되었다($p=0.0041$)

2) 기관지폐포세척액내 폐포 대식세포 및 임파구의 접착분자 발현도

Relative median FI(RMFI)로 표시한 폐포 대식세포의 ICAM발현은 환자군이 3.30 ± 1.16 으로 대조군의 0.93 ± 0.18 에 비해 유의하게 증가되었고($p=0.0001$)

(Fig. 2), 폐포세척액내 임파구에서의 ICAM발현도도 5.39 ± 2.70 으로 대조군의 1.06 ± 0.21 보다 뚜렷이 증가되어 있었다($p=0.003$)(Fig. 3). β_2 integrin(CD 18)의 발현도는 폐포대식세포에서는 대조군과 차이가 없었으나, 임파구에서는 환자군에서 RMFI가 24.9 ± 14.9 로 대조군(4.59 ± 3.77)보다 의미있게 증가되어 있었다($p=0.0023$). 개개의 질병군으로 나누어 분석하여도 결과는

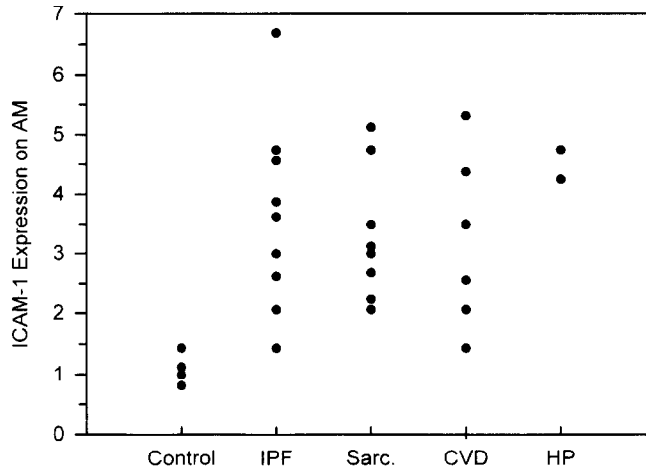


Fig. 2. Expression of ICAM-1 on alveolar macrophage of normal control group and patients with interstitial lung diseases. (IPF: idiopathic pulmonary fibrosis, Sarcoid: sarcoidosis, CVD: collagen vascular disease, HP: hypersensitivity pneumonitis)

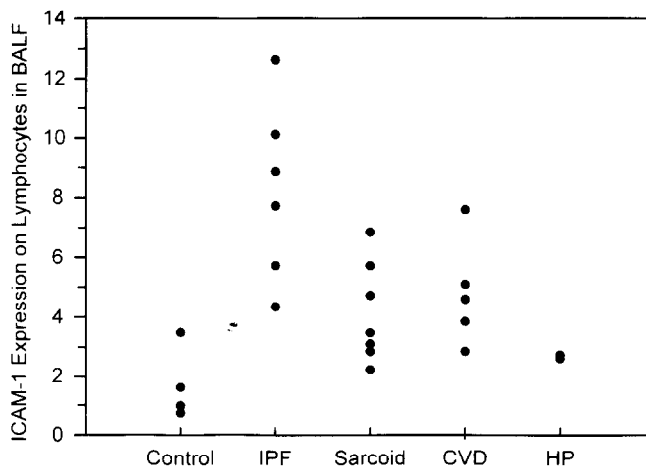


Fig. 3. Expression of ICAM-1 on Lymphocytes in BALF of normal control group and patients with interstitial lung diseases.

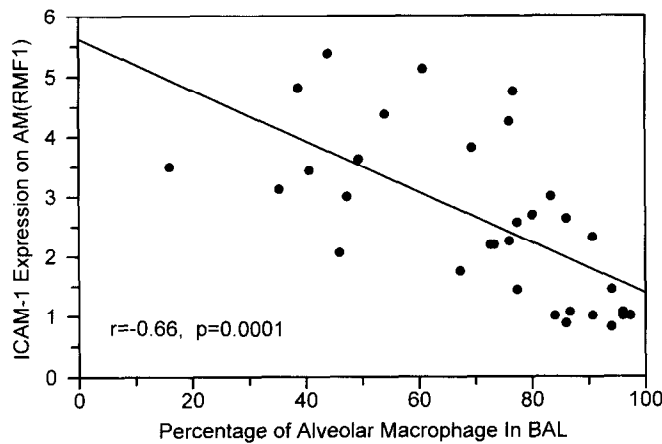


Fig. 4. Correlation between the expression of ICAM-1 on alveolar macrophage(AM) and percentage of AM in BAL fluid.

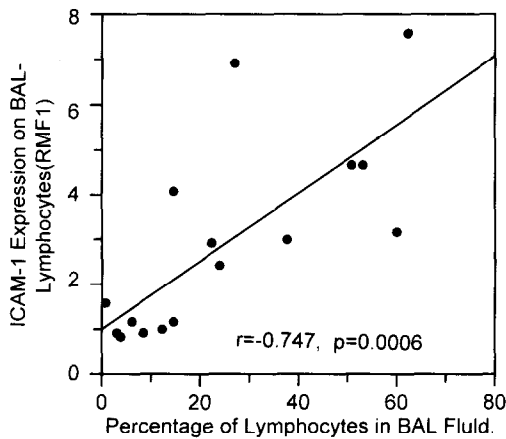


Fig. 5. Correlation between the expression of ICAM-1 on BAL lymphocytes and the percentage of lymphocytes in BAL fluid of the patients with sarcoidosis, collagen diseases and hyersensitivity pneumonitis.

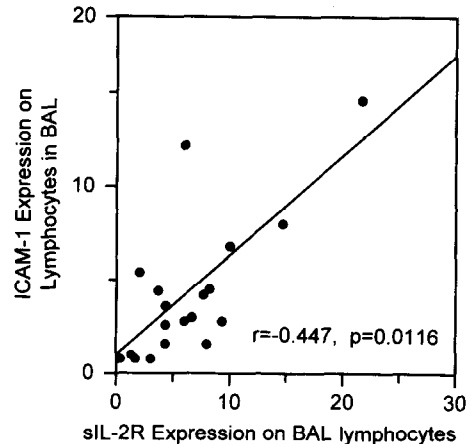


Fig. 6. Correlation between the soluble IL-2 receptor and the ICAM-1 expression on lymphocyte in BAL fluid.

차이가 없었다.

BAL액내 폐포대식세포 및 임파구의 ICAM발현도와 BAL액내 세포구성과의 상관관계를 살펴보면, AM의 ICAM 발현도는 AM 백분율($r=-0.66$, $p=0.0001$)과 역상관관계를 보였고(Fig. 4), 임파구 백분율과는($r=0.447$, $p=0.0116$) 순 상관관계를 나타내었다. 임파구의 ICAM 발현도도 BAL액 1ml당 총세포수($r=0.512$, $p=0.0211$) 및 임파구 백분율과는($r=0.747$, $p=0.0006$)(Fig. 5) 순상관관계를 나타내었다. 임파구의 ICAM발현도도

BAL액내 AM백분율과($r=-0.6$, $p=0.0061$) 역상관관계가 있었으며, 특히 임파구가 증가하는 유육종증 및 교원성질환, 과만성폐렴환자들에서는 BAL액내 임파구의 백분율 뿐 아니라, BAL액 1ml당 임파구 수효와도 임파구의 ICAM-1발현도가 높은 상관관계를 보여주었다($r=0.832$, $p=0.0002$), 또한 폐포대식세포 및 임파구의 ICAM발현도는 임파구의 활성화 지표인 IL-2 수용체 발현도와 $r=0.447$ 으로 유의한 상관관계가 있었으며 ($p=0.0116$)(Fig. 6), 유육종증에서는 혈청 angiotensin converting enzyme(ACE) 치와 임파구의

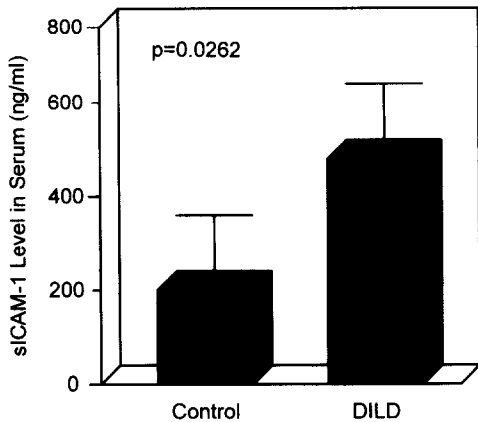


Fig. 7. The serum soluble ICAM-1(sICAM-1) levels in control group and the patients with DILD.

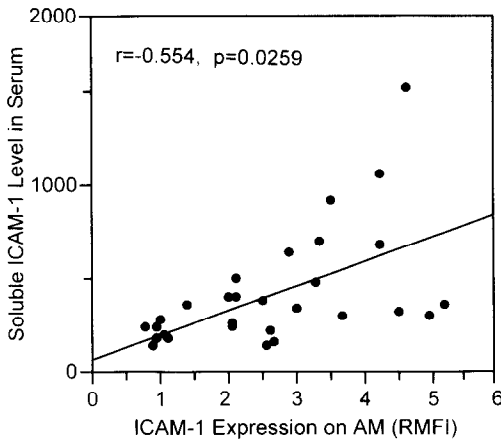


Fig. 8. Correlation between the expression of ICAM-1 on alveolar macrophage and the soluble ICAM-1 level in the serum.

ICAM발현도가 $r=0.905$, $p=0.0132$ 로 좋은 상관관계를 보여 주어, 이러한 접착분자의 발현도가 이들 세포, 더 나아가서는 이들 질환의 활성도의 지표로 사용될 수 있는 가능성을 암시하였다.

2) 기관지폐포세척액 및 혈청내 sICAM농도

(1) 혈청내 sICAM농도

혈청내 s-ICAM-1치는 환자군에서 499.7 ± 222.2 ng/ml로 대조군(199 ± 38.9 ng/ml) 보다 유의하게 ($p=0.0262$) 높았으며(Fig. 7), 이 혈청내 s-ICAM-1치는 AM의 표면 ICAM-1 발현도와 $r=0.554$, $p=0.0259$ 로 유의한 상관관계를 보였다(Fig. 8).

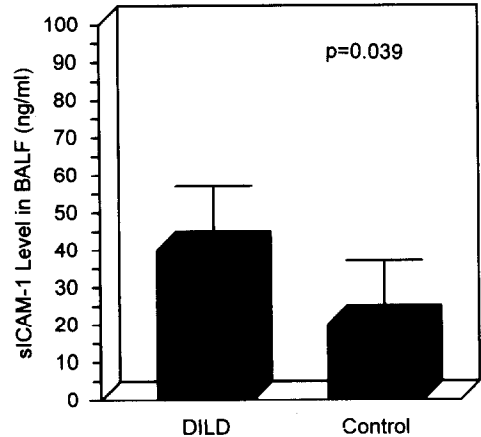


Fig. 9. The level of soluble ICAM-1(sICAM-1) in BAL fluid of patients with DILD and control group.

또한 혈청내 s-ICAM-1치는 BAL액내 총세포수와 ($r=0.505$, $p=0.0459$) 유의한 상관관계를 나타내었고, AM 백분율 및 ($r=-0.67$, $p=0.0045$), 호중구의 백분율 ($r=0.543$, $p=0.0298$)과도 유의한 상관관계를 보여주어, 혈청내 sICAM치가 폐장내의 염증반응과 연관이 있음을 짐작할 수 있었다. 개개의 질병에서의 혈청 sICAM 농도를 보면, 모든 간질성 폐질환에서 증가하는 것을 관찰할 수 있었으나, 특히 과민성폐장염에서 높은 경향을 보였다.

(2) BAL액내 sICAM농도

BAL액내 s-ICAM-1농도는 환자군에서 41.8 ± 23.0 ng/ml로 대조군(20.1 ± 13.6 ng/ml)보다 유의하게 높았다($p=0.039$) (Fig. 9). BAL액내 albumin치로 교정한 경우에는 BAL액내 albumin치가 환자군에서 높아져 대조군과 환자군사이에 유의한 차이는 없었다. 혈청 sICAM-1농도와 BAL액내 s-ICAM-1농도는 $r=0.576$, $p=0.012$ 로 유의한 상관관계를 보였다. BAL액내 sICAM은 혈액으로부터 삼투되어 온 것과, 폐장내에서 생성된 것의 두가지 경로를 생각할 수 있는데, 혈액에서 삼투된 것은 혈액내 albumin농도와 비례한다고 가정하면 (sICAM의 분자량은 약 95KDa이고 albumin은 60KDa) 폐장내에서 생성된 sICAM의 양을 계산할 수 있다.

$$\begin{aligned} & * \text{Contribution of serum sICAM to BALF sICAM} = \\ & \frac{\text{Serum-sICAM}}{\text{Serum-albumin}} \times \text{BAL albumin} \end{aligned}$$

$$* \text{Locally produced sICAM} = \text{BALF sICAM} - \text{sICAM from serum.}$$

위의 방법으로 폐장내에서 직접 생성된 sICAM의 농도를 계산해 보면, 정상인에서는 30.0 ± 16.3 ng/ml인데 비해 환자군에서는 59.2 ± 29.3 ng/ml ($p=0.0249$)로 환자군에서 유의하게 증가되어있어 폐내 접착반응이 진행하고 있음을 시사하고 있었다.

고 찰

생체의 거의 대부분의 세포들은 단독으로 존재하는 것이 아니라 인접한 다른 세포들과, 또는 기저막이나 collagen같은 세포외의 기저물질 (extracellular matrix)과 긴밀하게 접촉하고 있으며, 처음에는 이러한 세포-세포간이나 세포-기저물질간의 접촉을 매개하는 물질로서 integrin이나 ICAM 등의 접착분자(adhesion molecule)들이 알려지게되었다. 그러나 최근 이들 접착분자들에 대한 관심과 연구가 급격히 증가함에 따라, 그 역할도 단순한 접착작용으로 조직이나 장기의 구조를 유지하는 것만이 아니라, 배아(embryo)에서 개체로 발생하는 전과정에서 조직이나 장기의 정상적인 분화(differentiation)를 유도, 조절하는데 중요한 역할을 하며, 개체가 외부의 미생물이나 위해로부터 자신을 방어, 또는 손상부위의 치유과정에서도 이들 접착분자들이 선도적인 역할을 하고, 암의 발생이나, 전이과정에서도 관여하는 것이 밝혀졌다^{19~23}). 현재까지 알려진 접착분자들을 coding하는유전자들에 따라 분류를 하면 크게 immunoglobulin superfamily와, integrin, selectin, cadherin 및 기타의 5가지로 나눌 수 있다. Immunoglobulin군은 100개 정도의 아미노산으로 구성된 면역글로불린과 비슷한 구조(domain)가 반복되는 분자로서 ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, NCAM, PECAM-1, Ag independent T cell adhesion에 관여하는 CD2 (LFA-2)와 그 ligand인 LFA-3, CD3, CD4, CD8, class

I과 class II MHC-receptors, PDGF 수용체와 carcino-embryonic antigen 등이 이에 속한다. ICAM-1과 VCAM-1은 혈관내피세포와 상피세포에 존재하며 백혈구에서는 cytokine 등의 자극을 받았을 때 발현이 증가하는 것이 알려졌다¹⁰).

Integrin은 α -chain과 β -chain의 서로 다른 단백질로 구성되어 있으며, 지금까지는 8가지 β -chain과 14가지의 α -chain이 알려졌으며, 한가지 β -chain은 여러가지 다른 종류의 α -chain과 결합할 수 있다. 이들 integrin은 β -chain의 종류에 따라 분류되는데, β_1 -chain은 임파구를 장기간 자극하였을 때 증가되기 때문에 VLA(very late antigen)이라고도 불리우며 주로 collagen이나, laminin, fibronectin, vitronectin들의 수용체로 세포-기저물질간의 접착분자로 작용하나, 호산구나 단핵구의 VLA-4($\alpha_4 \beta_1$)는 내피세포의 VCAM-1과도 결합하여 세포-세포간의 접착에도 관여한다. β_2 -chain(CD18)은 백혈구에 통상적으로(constitutional) 존재하며, $\alpha_L \beta_2$ (LFA-1: leukocyte function antigen-1, CD11a/CD18)은 내피세포 등의 ICAM-1, ICAM-2와 결합하고, $\alpha_M \beta_2$ (Mac-1, CD11b/CD18)도 ICAM-1 및 iC3b, coagulation factor X, fibrinogen 등과 결합한다. gpIIbIII은 RGD(Arg-Gly-Asp) sequence를 다수 가지고 있는 fibronectin이나, fibrinogen 등을 매체로 혈소판과 다른 혈소판을 결합시키는 작용을 하는 것으로 알려져 있다. Selectin군은 N-terminal부위에 carbohydrate와 결합하는 lectin과 EGF domain을 가지고 있는 glycoprotein으로서 백혈구 표면에 존재하는 L-Selectin(MEL-14, LECAM-1)과, 내피세포에 발현하는 E-Selectin (ELAM-1), 혈소판의 α -granule 및 내피세포의 Weibel-Palade body에 존재하는 P-Selectin(GMP-140, PADGEM, CD62) 등이 이에 속하며, 이들의 ligand는 확실히 밝혀지지는 않았으나 같은 selectin군도 될 수 있으며²⁴), 세포표면의 sialyl-Lewis X란 carbohydrate라고 알려졌다^{24,28}). Cadherin은 Ca^{++} -dependent homophilic 접착분자로, E-cadherin은 uvomorulin이라고도 불리우며, 초기 배아(8 cell blastoma)기의 세포들의 결합 및 성인 시기의 상피세포들의 접착과 세포의 polarity유지에 주 역할을 한다. 또한 신경조직과 근육에는 N-cadherin, 수정란의 착상에는 P-cadherin(placental) 이 관여한다고 알려졌다

다. 그 외에 이들 4가지에 속하지 않는 접착분자들은 hyaluronic acid와 결합하는 CD44(Hermes antigen)과 selectin의 ligand인 sialyl-Lewis X(CD15), proteoglycan 등이 있다¹²⁾. 이들 접착분자들은 세포내 부위에 tyrosine-phosphorylation 부위가 있어 세포표면에서 접착분자들의 상호 접착이 일어나면 신호-전달 체계(signal trasduction)가 작동되어, 세포내 Ca^{++} 농도가 증가되면서 세포가 활성화되고, 세포의 증식이 유도된다. 또한 다른 작용으로는 섬유모세포나 내피세포, 임파구 등의 발육과 spreading에 필요한 세포질의 alkalization 유지, 근육모세포나 keratinocyte 등의 분화, synovial fibroblast나 대식세포에서 여러가지 염증 반응의 매개체들의 유전자를 활성화시키는 작용, 임파구에서 IL-2 생성을 위한 핵 전사물질인 AP-1 유도 등, 세포의 기능 및 증식에 중요한 역할을 담당하고 있다¹⁵⁾. 생체의 중요한 방어기전인 면역반응의 여러가지 측면에서 즉 antigen presentation 및 항체 생성, 백혈구의 margination과 조직내로의 이동, 백혈구의 활성화나 탈과립화, 세포성 면역반응 등은 모두 세포-세포간의 접촉이 있어야 하며^{9,24,25)}, 이러한 접촉을 매개하는 접착분자들의 결합으로 신호전달체계를 통한 염증세포들의 활성화와 운동성, 증식 등이 유발되므로 이들 접착분자들은 면역반응의 조절인자로 작용할 수 있다²⁴⁾. 이중 염증세포들의 병소 조직내로의 이동과정을 살펴보면, 3단계로 접착분자가 작용하는 것으로 알려졌다¹⁰⁾. 첫 번째는 혈류내의 백혈구들이 내피세포위로 굴러가는 현상(rolling)으로 시작되는데 이러한 rolling은 백혈구와 내피세포들의 selectin과 상대편 세포의 sialyl-Lewis X가 일시적으로 결합하여 발생하며, 이로 인해 백혈구의 속도가 감소하고 일시적으로 세포들이 접촉하게 되므로 더욱 강력한 접착분자들의 결합을 촉진시킬 수 있다. 그러나 이 selectin에 의한 결합은 매우 약하기 때문에 다음번의 integrin-ICAM반응이 뒤따르지 않으면, 곧 해체되게 된다. 그러나 병소에 염증의 매개체인 IL-1이나, TNF- α 등의 cytokine들이 존재하면 접착 행동의 두번째 단계가 일어난다. 즉 이들 cytokine이나 selectin의 결합에 의한 자극에 의해²⁶⁾, 백혈구 표면에 inactive 상태로 존재하던 β_2 -integrin 분자들이 ICAM-1에 대한 친화력이 높은 상태로 형태 변화를 일으키

고¹³⁾, 3단계로 selectin 분자들이 세포표면에서 떨어져 나가면서 백혈구의 integrin과 내피세포의 ICAM 분자가 견고한 결합을 하게 된다. 다음에 이들 백혈구들이 세포간격을 따라 조직내로 이동을 하게 되는데²⁷⁾, 조직내로의 이동에는 β_1 -integrin(VLA)와 세포외 기저물질간의 결합이 매개할 것으로 생각되고 있다. 그러나 병적인 상태, 즉 접착분자들의 발현이 증가된 경우나, Mn^{++} , Mg^{++} 등의 integrin의 친화력을 증진시키는 2가 이온들의 농도가 높은 경우나, 활성화된 백혈구에서 IMF(integrin modulating factor) 등의 물질들이 분비되는 경우들에서는 selectin을 거치지 않고 직접 integrin에 의한 견고한 결합이 일어날 수 있다¹³⁾. 또한 조직의 손상-치유과정에서도 β_1 -integrin 등의 접착분자가 중요한 역할을 하는 것도 잘 알려져 있다. 그러므로 류마티스성 관절염이나 홍반성 낭창 등의 만성 염증하는 것이 중요한데 통상적인 조직면역학적 염색법으로는 곤란하다. 또한 경우에 따라서는 양성인 세포와 음성인 세포를 감별하기가 쉽지 않은데 이는 보고자들마다 비흡연 정상인의 접착분자 발현도에 차이가 큰 것을 보아도 짐작할 수 있다. 즉 같은 조직면역학적 염색법으로 측정된 β_2 -integrin의 α -chain 중의 CD-11a의 정상인의 폐포대식세포에서의 발현도는 Schaberg는 14.0%라고 보고하였으나⁴²⁾, Melis는 46.5%³⁹⁾, Striz는 89.3%⁴³⁾, Hoogsteden은 94.7%로⁴⁰⁾ 엄청난 차이를 보이고, CD11b는 Schaberg는 13%, Striz는 58.9%, Hoogsteden은 30.3%라고 하였고, CD11c는 Schaberg는 22%, Striz는 95%, Hoogsteden은 63.5%였다. β_2 -integrin의 β -chain인 CD18도 Schaberg는 26%였으나 Hoogsteden은 91.6%라고 하였고, ICAM-1의 경우도 Striz와 Melis는 비슷하게 42%, 42.7%였으나, Shijubo는 10.8%로 보고하고 있다. 이러한 차이는 본 연구의 flow cytometry profile(Fig. 1)상에서 좌측 백색의 control curve와 우측 흑색의 측정군의 curve의 위치로도 짐작할 수 있는데, 우측 흑색의 측정군중에서 control curve와 중복되는 부위는 음성으로 하고 control curve의 우측부위를 양성으로 할 때, 횡축상에서 그 경계를 어디로 정하느냐에 따라 양성군의 %가 크게 차이가 날 수 있다. 그러나 그림에서 보는 바와 같이 그 경계를 정확히 정하기는 매우 힘들다. 그러므로 본 연

구에서는 이러한 문제점을 피하고 또한 접착분자들의 정량적인 변화를 측정할 수 있는 방법으로 양성군의 % 대신 median fluorescence intensity를 측정하여 비교하였다. 폐유육종증에서 조직면역학적 염색법으로 측정 한 그 동안의 보고를 보면, AM에서 Melis는 CD11a와 ICAM-1의 증가를 관찰하였고³⁹⁾, Schaberg 등은 CD11a, CD11b, CD11c와 CD18 모두가 증가하였다고 보고하였으나⁴²⁾, Striz는 CD11b는 증가하였으나, CD11a, CD11c, CD18은 증가하지 않았다고 하였으며⁴³⁾, Hoogsteden은 CD11, CD18 모두 정상대조군과 차이가 없었다고 보고하여 일치를 보이지 못하고 있다⁴⁰⁾. 질병의 활동성과의 관계도 Schaberg 등은 이들 접착분자들의 발현도가 BAL액내 AM의 수효 및 AM에서의 산소 radical 생성도와 서로 상관관계를 보이는 것을 관찰하였고, Dalhoff 등은 ELISA법으로 측정한 AM의 성질환들이나, 재환류 장애 (reperfusion injury), 기관지천식 및 악성종양 등 여러가지 질환들에서의 접착분자들의 변화에 관한 연구들이 많이 진행되고 있다^{22~25,29~35)}. IPF 등의 간질성 폐질환은 여러가지 알려진, 또는 잘 모르는 원인에 의해 폐실질의 염증으로 시작해 섬유화로 진행되는 질병이므로, 이 질환에서 접착분자들의 발현이 증가 될 것으로 추측되고, 특히 염증이 활발히 진행되는 시기에 더 높을 것으로 예상되며, 이들 질병의 발병기전에 접착분자들이 중요한 역할을 할 것이라는 것을 짐작할 수 있다. 또한 이제까지는 뚜렷한 좋은 지표가 없었던 간질성 폐섬유증의 활성도를 추정할 수 있는 지표로 사용될 가능성이 많다. 그러나 이제까지 이에 대한 연구는 그리 많지 않으며, 그나마도 일치된 결과를 보이지 못하고 논란이 많다. 간질성 폐질환들중 폐유육종증에 대한 연구가 가장 많은데 van Dinther-Janssen 등은 조직내에서 면역염색법으로 ICAM-1이 혈관내피세포 및 폐포대식세포와 상피양세포 등에서 정상조직에서보다 증가되었으며, 정상에서는 발현되지 않는 VCAM-1은 dendritic cell에서, E-selectin은 초기 병변의 소정맥(venule)에서 발현되었다고 보고하였으³⁷⁾, Shijubo 등은 유육종증의 임파선내 육아종성 병변내에서 상피양세포 및 거대세포에서 ICAM-1이 강하게 나타난 것을 보고하여 접착분자들의 발현이 증가된 사실은 알 수 있으나³⁸⁾, 이들 조직

학적 방법은 관혈적 조직검사를 필요로 하므로 비관혈적 방법으로 채취한 세포들에서 직접 접착분자들의 발현을 관찰하려는 시도들이 있었다. 첫단계로 말초 혈액내의 단핵구에서 ICAM-1이나 β_2 integrin의 발현도를 측정한 결과 유육종증 환자나 정상인이나 차이가 없었으므로^{39,40)}, 다음으로 BAL액내 AM에서의 접착분자 발현도가 검사되었다. 그러나 이전의 보고들은 Dalhoff를 제외하고는⁴¹⁾ 모두 접착분자의 단일항체를 이용한 조직면역학적 염색법을 사용하였는데, 이 방법은 전체 세포중 몇 %에서 접착분자들이 발현했는가를 측정하는 방법이다^{39,40,42,43)}. 그러나 접착분자들은 평상시에는 전혀 발현이 되지 않다가 자극이나 병적인 상태에서 발현이 유도되기도 하지만 많은 경우에는 휴지기의 세포에도 존재하다가 자극이 있을 때에 증가하게되므로 한 세포내에서도 그 양이 얼마나 더 증가되었는가를 측정 ICAM-1 발현도와 AM에서의 TNF- α 의 생성물과 연관관계를 보고하여⁴¹⁾, 이들 접착분자의 발현도를 활동성의 기준으로 이용할 수 있는 가능성을 시사하였으나, 아직까지는 Striz 등이 임상적으로 활동성 유육종증의 환자들에서 AM의 ICAM-1 발현이 증가되었다고 보고 이외에는 임상소견 및 치료경과 전후의 비교 등으로 이를 확인한 연구는 없다. IPF의 경우에는 단지 Schaberg 등과 Hoogsteden의 단 두 연구 결과만이 보고되었는데, Schaberg 등은 CD11a, CD11b, CD11c 및 CD18 모두가 증가하였다고 하였으며⁴²⁾, Hoogsteden 등은 AM에서 CD11b만이 증가하였고, 말초혈액내 단핵구에서는 CD11a, CD11c 및 CD18 발현도가 오히려 감소하여 유육종증과 차이가 있다고 보고하였다⁴⁰⁾. 최근에 Fukuda 등은 IPF환자들의 조직내에서 면역염색법으로 초기병변인 폐포내 섬유화 부위에 keratin과 fibronectin, vinculin 뿐 아니라, fibronectin의 수용체인 $\alpha_5\beta_1$ -integrin의 발현을 관찰하여, 폐포의 염증반응 뿐 아니라 섬유화 현상에도 이들 접착분자들이 관여하리라는 것을 시사하였다⁴⁴⁾. 본 연구의 결과로는 IPF환자나, 폐유육종증, 교원성질환과 연관된 폐섬유증환자, 과민성 폐장염환자 등의 간질성 폐질환환자들에서 개개의 질환에 큰 상관없이 모두에서 AM의 ICAM-1의 발현도가 정상대조군에 비해 뚜렷이 증가되어 있었고 BAL내 임파구에서는 ICAM-1 및 CD18의 발현도가

항진된 것을 관찰하여, 이러한 접착분자들의 과발현이 간질성 폐질환의 발병과정에서 중요한 역할을 할 가능성을 보여 주었다. 또한 이들 접착분자들의 발현도는 BAL액내 총 세포수 및 AM 백분율, 임파구의 활성화 지표인 IL-2수용체발현도와 상관관계를 보여주었다. 또한 BAL액내 주로 임파구가 증가하는 유육종증이나 과민성폐렴, 교원성질환에서는 임파구의 ICAM-1 및 CD18발현도는 BAL액내 임파구의 % 및 임파구 수효와 높은 상관관계가 있었고, 유육종증의 경우에는 혈청 ACE치와도 상관관계가 있어 이들이 질병의 활성도를 반영할 가능성을 시사하였다.

ICAM-1이나, VCAM-1, E-selectin의 세포밖 domain과 같은 물질이 정상인의 혈청내에 존재하는 것이 알려짐에 따라, 이들이 접착분자의 전사과정중에 alternative splicing에 의해 생성이 되었는지 또는 세포표면에 발현된 후에 단백질분해효소에 의해 세포 밖의 domain이 분리된 것인지에 대해서는 아직 확실히 밝혀지지 않은데, 후자일 가능성이 많다는 것이 지배적이다⁴⁵⁾. 이러한 가용성 접착분자들의 역할도 아직은 확실치 않은데, 일단 세포들이 서로 접촉을 한 후에는 이 결합이 끊어져야 세포가 계속 이동을 할 수 있으므로 접촉을 중단하는 방법으로 세포밖 domain이 분리되고, 이로써 그 세포의 접착력을 둔화 - 조절하는 기능을 겸할 가능성도 있다. 또한 떨어져나온 가용성 접착분자는 수용체를 가지고 있는 상대편 세포와 결합할 수 있으므로, 떨어져 나온 모세포의 접착을 방해하는 억제제로 작용할 가능성도 있으며, 상대편 세포와 결합하는 경우에 그 세포를 자극하거나, 혈류를 따라 전신적인 효과를 나타낼 가능성도 있다^{4,46)}. 또한 이들이 접촉을 한 후에 분리되는 것이라면 혈액내, 또는 조직액내의 가용성 접착분자들의 농도는 그 부위에서 접착반응의 정도, 확대하면 염증반응의 정도를 반영하는 지표로 사용될 가능성도 있다. Shijubo 등은 간질성 폐질환환자들의 혈청내 가용성 ICAM-1 농도를 측정한 결과 IPF 환자들에서는 증가를 관찰하였으나, 유육종증이나 과민성폐렴, 세균성 폐렴에서는 정상이었다고 보고하였고⁴⁷⁾, Dalhoff등은 정상인에 비해 전혀 증가를 보이지 않았다고 보고하였으나⁴¹⁾, Dalhoff 등의 정상 대조군의 혈중 가용성 ICAM-1치는 320~490 ng/ml로 Shijubo나

(58.9 U/ml, 약 118 ng/ml)⁴⁷⁾, Rothlein(100~200 ng/ml)⁴⁵⁾, Gearing(56.5 U/ml, 약 114 ng/ml)¹⁴⁾, 또 본 연구의 대조군에(199 ng/ml) 비해 상당히 높았다. 그외에 BAL액내에서 sICAM-1 농도를 측정한 연구는 Shijubo 등이 1994년에 보고한 것 뿐인데³⁸⁾, 그들은 IPF에서는 혈중 sICAM-1치는 증가하였으나, BAL액내에서는 정상범위였고, 반대로 유육종증에서는 혈중 농도는 정상이었으나, BAL 액내 sICAM-1치는 의미있게 증가되었다고 보고하여 혼동되는 결과를 보였다. 본 연구에서는 대부분의 간질성 폐질환 환자에서 혈청내 sICAM-1치가 상승을 보였고, BAL 액내에서도 혈청내 농도보다 대조군과 좀 더 증폭되는 부위가 많았으나, 통계적으로 유의한 증가를 나타내었다. 이러한 BAL액내 농도가 혈청내 농도보다 차이가 적었던 것은 BAL액내 농도측정의 본질적인 한계성 때문으로 추정된다. 본 연구에서 BAL액내 sICAM-1 농도 자체는 증가하였으나, BAL액내 albumin치도 상승하여 albumin으로 교정한 sICAM-1치는 정상군보다 증가한 추세는 보였으나 통계상의 유의한 차이는 없었다. 그래서 이것이 정말 혈중 sICAM-1이 단순히 삼투된 것인가를 확인하기 위해 혈청과 BAL액내의 sICAM-1과 albumin의 비를 비교한 결과 BAL액내에서 혈청내보다 훨씬 농도가 높은 것으로 미루어 대부분의 sICAM-1은 직접 폐내에서 생성된 것임을 확인하였다. 본 연구의 대상 환자들이 대부분 임상적으로는 활동성이 있다고 생각되는 환자들이어서 본 결과만 가지고는 정말 이들 접착분자들이 질병의 활성도와 연관이 있다고 단정지을 수는 없기 때문에, 앞으로 이들 환자들에서 치료후나, 병의 경과중에 접착분자들의 변동을 관찰하여 이들의 유용성을 판단하고자 한다.

요 약

연구배경: 간질성 폐질환은 여러가지 다양한 원인에 의해, 또는 아직 밝혀지지 않은 원인에 의해 폐포염 및 폐간질내 염증으로 시작해 종국에는 폐섬유증으로 진행되는 질환들로 염증세포들의 이동에 필요한 접착분자들이 이들 질환의 발병기전에 중요한 역할을 할 것으로 추정되며, 현재까지는 뚜렷이 적당한 지표가 없었던

질환의 활동성을 판정하는 지표로 사용할 수 있을 가능성이 많다. 그러나 이제까지는 BAL내 AM에서 면역염색법으로 측정된 결과들로 방법 자체가 음성과 양성세포를 감별하기가 쉽지 않을 뿐 아니라 발현도 증가를 정량적으로 측정하지 못하는 단점이 있고, 따라서 발표된 결과들이 차이가 많다 저자들은 간질성 폐질환 환자들에서 기관지 폐포세척액(BAL)내 AM과 임파구에서의 β_2 -integrin(CD18)과 ICAM-1의 발현도를 FACS를 이용한 relative median fluorescence intensity (RMFI)를 측정하여 정상 대조군과 비교 관찰하고, 또한 혈청 및 BAL액내 가용성 ICAM-1(sICAM-1) 농도를 측정하고, BAL액내 다른 지표들과 비교하여 이들을 간질성 폐질환의 활성도를 반영할 수 있는 지표로 사용할 가능성을 알아 보았다.

방법: 대상은 조직학적으로 확인 된 미만성 간질성 폐섬유증(IPF) 환자 11명, 교원성 폐질환과 연관된 폐섬유증환자(CVD-PF) 6명, 폐유육종증 9명, 과민성 폐장염환자 2명과 대조군으로 건강한 정상인 9명이었고 BAL은 통상적인 방법을 사용하였다. ICAM-1 및 CD18은 단일항체를 사용하여 FACScan으로 median fluorescence intensity를 측정하여 RMFI를 구하고, sICAM-1농도는 ELISA법으로 측정하였다.

결과: AM에서 ICAM-1의 발현도는 3.30 ± 1.16 으로 대조군(0.93 ± 0.18)보다 증가되었고 임파구의 ICAM-1 발현도 5.39 ± 2.70 으로 대조군(1.06 ± 0.21)보다 높았다. CD18의 발현도는 임파구에서 24.9 ± 14.9 로 대조군(4.69 ± 3.77) 보다 항진되었으며, 이들 ICAM-1의 발현도는 AM 백분율과 역상관관계를 보였고($r = -0.66$, $p = 0.0001$) 임파구의 백분율과는 정상관관계를 보였다($r = 0.447$, $p = 0.0116$). 임파구가 증가되는 유육종증, 교원성질환, 과민성폐렴에서는 임파구의 ICAM-1 발현도와 BAL액내 임파구의 %($r = 0.747$, $p = 0.0006$) 및 임파구농도($r = 0.832$, $p = 0.0002$)와 좋은 상관관계를 보였고, 임파구의 IL-2수용체발현과도 연관관계를 나타내었다($r = 0.539$, $p = 0.0075$). 또한 유육종증에서는 혈중 ACE 농도와 임파구의 ICAM-1 발현도가($r = 0.905$, $p = 0.0132$) 높은 상관관계를 보여, 이들 접착분자 발현도가 병소의 활동성과 연관이 있음을 시사 하였다. 혈청내 sICAM-1농도는 환자군에서 499.7 ± 222.2 ng/ml로 대조군의

199.0 ± 38.9 ng/ml보다 높았으며($p = 0.0097$), BAL액내 sICAM-1농도도 환자군에서 41.8 ± 23.0 ng/ml로 대조군의 20.1 ± 13.6 ng/ml보다 증가를 보였다. 또한 혈청내 sICAM-1 농도는 AM의 ICAM-1 발현도 및($r = 0.554$, $p = 0.0259$) BAL액내 sICAM-1농도와 상관관계를 보였다. 또한 혈청 및 BAL액내의 albumin과 sICAM-1의 비율을 비교한 결과 BAL액내의 sICAM-1 농도가 훨씬 높은 것으로 미루어 대부분의 sICAM-1은 병소내에서 생성된 것임을 짐작할 수 있었다.

결론: 간질성폐질환환자들의 AM및 BAL-임파구에서 접착분자들의 발현도가 증가되었고, 혈청 및 BAL액내 sICAM-1 농도가 상승되어 있어 이들 접착분자들이 발병기전에 중요한 역할을 한다고 생각되며, 앞으로 이를 활동성 판정의 지표로 사용할 가능성을 시사하였다.

참 고 문 헌

- 1) Mortenson RL, Panos RJ, King TE: Idiopathic pulmonary fibrosis. In Pulmonary and critical care medicine edited by Bone RC. Mosby-Year Book Inc. St Louis, 1992. M3
- 2) King TE Jr: Idiopathic pulmonary fibrosis. In Interstitial lung disease edited by Schwarz MI and King TE Jr. 2nd Edition, Mosby-Year Book Inc. St. Louis, 1993. p367
- 3) Hay JG, Turner-Warwick M: Interstitial pulmonary fibrosis. In textboool of respiratory medicine, edited by Murray and Nadel. Saunders Co. Philadelphia, 1988, p1445
- 4) Sheppard MN, Harrison NK: Lung injury, inflammatory mediators, and fibroblast activation in fibrosing alveolitis. Thorax 47:1064, 1992
- 5) Doherty DE, Worthen GS, Henson PM: Inflammation in interstitial lung disease. In Interstitial lung disease(2nd Ed.) edited by Schwarz MI and King TE. Mosby-Year book, Inc. 1993, p23
- 6) McDonald JA, Kuhn C: Fibroblasts and collagen deposition in interstitial lung disease. In Interstitial lung disease(2nd Ed.) edited by Schwarz

- MI and King TE . Mosby-Year book, Inc. 1993, p45
- 7) Roman JR, McDonald JA. Cellular processes in lung repair. *Chest* **100**:245, 1991.
- 8) Weissler JC: Southwestern Internal medicine conference: Idiopathic pulmonary fibrosis: Cellular and molecular pathogenesis. *Am J Med Sci* **297**:91, 1989.
- 9) Springer TA: Adhesion receptors of the immune system. *Nature* **346**:425-34, 1990
- 10) Butcher EC: Leukocyte-endothelial cell recognition: three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell* **67**:1033, 1991
- 11) Albelda SM, Buck CA: Integrins and other cell adhesion molecules. *FASEB J* **4**:2868, 1990
- 12) Rouslahti E. Integrins. *J Clin Invest* **87**:1-5, 1991
- 13) Pardi R, Inveradi L, Bender JR: Regulatory mechanisms in leukocyte adhesion: flexible receptors for sophisticated travelers. *Immunol Today* **13**:224, 1992
- 14) Gearing AJH, Hemingway I, Pigott R, Hughes J, Rees AJ, Cashman SJ. Soluble forms of vascular adhesion molecules, E-selectin, ICAM-1, VCAM-1: pathological significance. *Ann NY Acad Sci* **667**:324, 1992
- 15) Hynes RO: Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* **69**:11, 1992
- 16) Wasserman K, Subklewe M, Pothoff G, Banik N, Schell-Frederick E: Expression of surface markers on alveolar macrophages from symptomatic patients with HIV infection as detected by flow cytometry. *Chest* **105**:1324, 1994
- 17) Davis GS: Bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease. *Semin Respir Crit Care Med.* **15**: 37, 1994
- 18) The BAL cooperative group steering committee. *Am Rev Respir Dis* **141**:S183, 1990
- 19) Hamacher J, Schaber T: Adhesion molecules in lung diseases. *Lung* **172**:189, 1994
- 20) Reeves ME: A metastatic tumor cell line has greatly reduced levels of a specific homotypic cell adhesion activity. *Cancer Res* **52**:1546, 1992
- 21) Arch R, Wirth K, Hofmann M, Ponta H, Matzku S, Herrlich P, Zoeller M: Participation in normal immune responses of a metastasis-inducing splice variant of CD44. *Science* **257**:682, 1992
- 22) Zhu D, Cheng CF, Pauli BU: Mediation of lung metastases of murine melanomas by a lung-specific endothelial cell adhesion molecule. *Proc Natl Acad Sci USA* **88**:9568, 1991
- 23) Kahn P: Adhesion protein studies provide new clue to metastasis. *Science* **257**:614, 1992.
- 24) Wegner CD, Gundel RH, Rothlein R, Letts LG: Expression and probable roles of cell adhesion molecules in lung inflammation. *Chest* **101**(Suppl P:34S, 1992
- 25) Albelda SM: Endothelial and epithelial cell adhesion molecules. *Am J Respir Cell Mol Biol* **4**: 195, 1991
- 26) Lo SK, Lee S, Ramos RA, Lobb R, Rosa M, Chi-Rosso G, Wright SD: Endothelial-leukocyte adhesion molecule-1 stimulates the adhesive activity of leukocyte integrin CR3(CD11b/CD18, Mac-1, aMB2) on human neutrophils. *J Exp Med* **173**:1493, 1991
- 27) Smith CW, Marlin SD, Rothlein R, Toman C, Anderson DC: Cooperative interactions of LFA-1 and MAC-1 with intercellular adhesion molecule-1 in facilitating adherence and transendothelial migration of human neutrophils in vitro. *J Clin Invest* **83**:2008, 1989
- 28) Bevilacqua MP, Nelson RM. Selectins. *J Clin Invest* **91**:379, 1993
- 29) Wegner CD, Gundel RH, Reilly P, Haynes N, Letts G, rothelein R: Intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) in the pathogenesis of asthma. *Science* **247**:456, 1990
- 30) Wegner CD, Gundel WW, LaPlate AM, Mars-

- chman K, Lubbe K, Haynes N, Rothlein R, Letts LG: Intercellular adhesion molecule-1 contributes to pulmonary oxygen toxicity in mice: Role of leukocytes revised. *Lung* **170**:267, 1992
- 31) Gober JS, Bowen BL, Ebling H, Athey B, Thompson CB, Fos DA, Stoolman LM: Monocyte-endothelial adhesion in chronic rheumatoid arthritis. In situ detection of selection and integrin-dependent interactions. *J Clin Invest* **91**: 2609, 1993.
 - 32) Georas SNMC, Liu W, Newman LD, Beall BA, Stealy BA, Bochner BS: Altered adhesion molecule expression and endothelial cell activation accompany the recruitment of human granulocytes to the lung after the segmental antigen challenge. *Am J Respir Cell Mol Biol* **7**:261, 1992
 - 33) Montefort S, Roche WR, Howarth PH, Djukanovic R, Gratziau C, Carroll M, Smith L, Britten KM, Haskard D, Lee TH, Holgate ST: Intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) and endothelial leukocyte adhesion molecule(ELAM-1) expression in the mucosa of normal and asthmatic subjects. *Eur Respir J* **5**:815, 1992
 - 35) Wein M, Bochner BS: Adhesion molecule antagonists: Future therapies for allergic diseases? *Eur Respir J* **6**:1239, 1993
 - 36) Tanabe KK, Ellis LM, Saya H: Expression of CD44R1 adhesion molecule in colon carcinoma and metastases. *Lancet* **341**:724, 1993
 - 37) van Dinther-Janssen ACHM, van Maarssenveen T.C.M.TH, Eckert H, Newman W, Meuer CJLM. Identical expression of ELAM-1, VCAM-1, and ICAM-1 in sarcoidosis and usual interstitial pneumonitis. *J Pathol* **170**:157, 1993.
 - 38) Shijubo N, Imai K, Shigehara K, Honda Y, Koba H, Tsujisaki M, Hinoda Y, Yachi A, Ohmichi M, Hiraga Y, Abe S: Soluble intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) in sera and bronchoalveolar lavage fluid of patients with idiopathic pulmonary fibrosis and pulmonary sarcoidosis. *Clin Exp Immunol* **95**:156, 1994
 - 39) Melis M, Gjomarkaj M, Pace E, Malizia G, Spatafora M: Increased expression of leukocyte function associated antigen-1(LFA-1) and intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) by alveolar macrophages of patients with pulmonary sarcoidosis. *Chest* **100**:910, 1991
 - 40) Hoogsteden HC, van Hal PTW, Hop W, Hilvering C: Expression of the CD11/CD18 cell surface adhesion glycoprotein family and MHC classII antigen on blood monocytes and alveolar macrophages in interstitial lung diseases. *Lung* **170**:221, 1992
 - 41) Dalhoff K, Bohnet S, Braun J, Kreft B, Wiessman KJ: Intercellular adhesion molecule 1(ICAM-1) in the pathogenesis of mononuclear cell alveolitis in pulmonary sarcoidosis. *Thorax* **48**: 1140, 1993
 - 42) Schaberg T, Rau M, Stephan H, Lode H: Increased number of alveolar macrophages expressing surface molecules of the CD11/CD18 family in sarcoidosis and idiopathic pulmonary fibrosis is related to the production of superoxide anions by these cells. *Am Rev Respir Dis* **147**:1507, 1993
 - 43) Striz I, Wang YM, Kakaycuoglu O, Costabel U: Expression of alveolar macrophage adhesion molecules in pulmonary sarcoidosis. *Chest* **102**:882, 1992
 - 44) Fukuda Y, Basset F, Ferrans VJ, Yamanaka N: Significance of early intra-alveolar fibrotic lesions and integrin expression in lung biopsy specimens from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Human Pathol* **26**:51, 1995
 - 45) Rothlein R, Mainolfi EA, Czajkowski M, Marlin SD: A form of circulating ICAM-1 in human serum. *J Immunol* **147**:3788, 1991
 - 46) Ehlers MR, Riordan JF: Membrane proteins with soluble counterparts: Role of proteolysis in the

release of transmembrane proteins. *Biochem* **30**:
10065, 1991

- 47) Shijubo N, Imai S, Hirasawa H, Koba H,
Tsujisaki M, Sugiyama T, Hinoda T, Yachi A,

Asakawa M, Suzuki A: Circulating intercellular
adhesion molecule-1(ICAM-1) antigen in sera of
patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Clin
Exp Immunol* **86**:58, 1992