

□ 원 저 □

내독소에 의한 백서 폐장의 Superoxide Dismutase 유전자 발현에 관한 연구⁺

서울대학교 의과대학 내과학교실

유철규 · 서지영 · 김영환 · 한성구 · 심영수 · 김건열* · 한용철**

=Abstract =

Superoxide Dismutase Gene Expression in the Endotoxin-Treated Rat Lung

Chul-Gyu Yoo, M.D., Gee Young Suh, M.D., Young Whan Kim, M.D., Sung Koo Han, M.D.,
Young Soo Shim, M.D., Keun Youl Kim, M.D.* and Yong Chol Han, M.D.**

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

Background: It is well known that oxygen free radicals (OFR) play a vital role in the various type of acute lung injury. Among various antioxidant defense mechanisms, the superoxide dismutases (SOD) are thought to be the first line of antioxidant defense by catalyzing the dismutation of two superoxide radicals to yield hydrogen peroxide and oxygen. Eukaryotic cells contain two types of intracellular SOD : cytosolic, dimeric copper/zinc- containing enzyme (CuZnSOD) and mitochondrial, tetrameric manganese-containing enzyme (MnSOD). The purpose of this study is to evaluate the time-dependent gene expression of MnSOD and CuZnSOD in the endotoxin-treated rats, and to compare with the manifestations of LPS-induced acute lung injury in rats.

Methods: Total RNA from rat lung was isolated using single step phenol extraction 0, 1, 2, 4, 6, 12, 18, 24 hours after E. coli endotoxin injection (n=3, respectively). RNA was separated by formaldehyde-containing 1.2% agarose gels electrophoresis, transblotted, baked, prehybridized, and hybridized with ³²P-labeled cDNA probes for rat MnSOD and CuZnSOD, which were kindly donated by Dr. Ho (Duke University, Durham, NC, USA). The probes were labeled by nick translation. Blots were washed and autoradiography were quantitated using laser densitometry. Equivalent amounts of total RNA/gel were assessed by monitoring 28S and 18S rRNA.

Results: Endotoxin caused a rise in steady-state MnSOD mRNA levels by 4h with peak mRNA accumulation by 6h. Continued MnSOD mRNA expression was observed at 12h. CuZnSOD mRNA expression was observed from 1h to 24h with peak levels by 18h.

+ 본 연구는 1993년도 서울대학교병원 지정연구비의 보조로 이루어 졌음.

* 현 주소는 단국대학교 의과대학 내과학교실

** 현 주소는 삼성의료원 내과

Conclusion: These results suggest that SOD plays an important defensive role in the endotoxin-induced acute lung injury in rats.

Key Words: Endotoxin, Rat, Lung, SOD (superoxide dismutase)

서 론

급성 폐손상의 발병기전에는 여러 염증매개성 물질이 복합적으로 관여하는 것으로 이해되고 있는데, 산소기 (oxygen free radical)가 일부 중요한 역할을 하는 것으로 추측되고 있다¹⁻⁹⁾. 산소기에 대한 생체내의 방어기전에는 여러 종류의 항산화 효소가 관여하는데, superoxide dismutase(이하 SOD로 약함)는 superoxide radical이 과산화수소와 산소로 dismutation되는 과정을 촉진시킴으로써 산소기에 의한 조직손상의 방어기전에서 일차적인 역할을 한다. 많은 연구에 의해 내독소를 포함한 여러 원인에 의한 급성 폐손상의 방어기전에 SOD가 관여하는 것으로 알려져 있다. 패혈증에 의한 백서의 사망률은 TNF 전처치로 유의하게 감소하고, 이때 간세포에서의 MnSOD mRNA 발현의 증가가 관찰되는데, 이는 내독소에 의한 급성 폐손상에서 MnSOD가 생체내의 방어기전으로 작용함을 시사하는 소견이다¹⁰⁾. 그러나 내독소 투여에 따른 폐장에서의 SOD 발현 양상에 관한 자료는 별로 없는 실정이다.

최근에 분자생물학의 눈부신 발전으로 인해 의학분야에서도 분자생물학적 기법이 질병의 진단과 발병기전을 규명하는데 널리 이용되고 있고, 1980년대 후반에 백서의 항산화효소중 SOD, glutathione peroxidase, glucose-6-dehydrogenase를 coding하는 유전자가 cloning되었다¹¹⁻¹⁴⁾. 아직 급성 폐손상에서 SOD 유전자 발현에 관한 연구는 미흡한 실정으로서 내독소에 의한 급성 폐손상에서 MnSOD와 CuZn SOD 중 어느 것이 주로 방어기전에 관여하는 지가 확실히 규명되지 못한 상태이다.

저자들은 내독소에 의한 백서의 급성 폐손상의 양상에 관해 발표한 바 있다²⁾. 또한 저자들은 백서의 급성 폐손상 모델에서 항산화제를 이용하여 산소기가 폐손상에 관여함을 시사하는 결과를 관찰하였다²⁾. 따라서 저자들은 내독소에 의한 백서의 급성 폐손상에서 체내의 항산화효소가 방어기전에 관여하리라는 가설하에 SOD

의 역할을 규명하는 연구의 첫단계로서, 내독소에 의한 백서의 급성 폐손상 모델에서 시간 경과에 따른 백서 폐장의 MnSOD와 CuZnSOD의 유전자 발현을 관찰하여, 이를 과거 저자들이 관찰한 급성 폐손상의 양상과 비교하고자 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 실험동물의 처리

250g 내외의 Sprague-Dawley 백서에 E. coli 055B5 내독소를 kg당 2.5mg을 투여하고, 1, 2, 4, 6, 12, 18, 24 시간이 각각 경과한 후 백서를 희생시켰다. 백서의 흉부를 열어 체내에서 모든 혈액을 제거하고 폐동맥에 10ml의 생리식염수를 관류시켜 폐장의 혈액을 씻어버렸다. 폐장을 적출해 즉시 liquid nitrogen에 담겨 얼렸다. 내독소를 투여하지 않은 백서의 폐장을 같은 방법으로 적출해 정상 대조군으로 사용하였고 각 군당 3마리씩을 사용하였다.

2. Northern Blot Analysis

액체질소에 얼려둔 폐장을 녹인 후 denaturing solution을 가하고 Teflon homogenizer로 폐조직을 homogenize시켰다. Chomczynski와 Sacchi의 acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction법을¹⁵⁾, 이용해 폐장의 총 RNA를 추출한 후 formaldehyde를 함유하는 1.2% agarose gel에서 전기영동을 시행하였다. 전기영동시 동량 RNA의 loading여부는 28S와 18S rRNA band의 정도로 평가하였다. 전기영동한 gel의 RNA를 밤새 nylon membrane으로 transfer시키고, RNA가 transfer된 membrane을 80°C 진공오븐에서 2시간 동안 구워 RNA를 membrane에 고정시켰다. Prehybridization후 65°C에서 ³²P로 labeling시킨 백서의 MnSOD와 CuZnSOD cDNA를 probe로 사용하여 hybridization을 시행하고, nylon membrane을 intensifying screen이 들어 있는 X-ray film cassette에 넣고, -70

℃에서 1~2일간 autoradiography를 시행하고 laser densitometry로 정량하였다.

3. MnSOD와 CuZnSOD의 cDNA Probes의 labeling

크기가 각각 1.4kb, 0.6kb인 백서의 MnSOD와 CuZnSOD에 대한 cDNA는 미국 Duke대학 (Durham NC, USA)의 Dr. Ho에게서 기증받았다. 백서 MnSOD와 CuZnSOD의 cDNA를 포함하고 있는 vector pSP65와 pUC13을 각각 E. coli에 transformation하여 amplify한 후 EcoRI로 처리하여 cDNA만을 분리하였다. 이렇게 분리된 cDNA에 nick translation으로 32 P를 labeling하여 probe로 사용하였다.

결 과

1. MnSOD 유전자의 발현 양상

그림 1에서 보이는 위의 사진은 autoradiography 사진이고 중간의 것은 이를 laser densitometer로 정량한 그

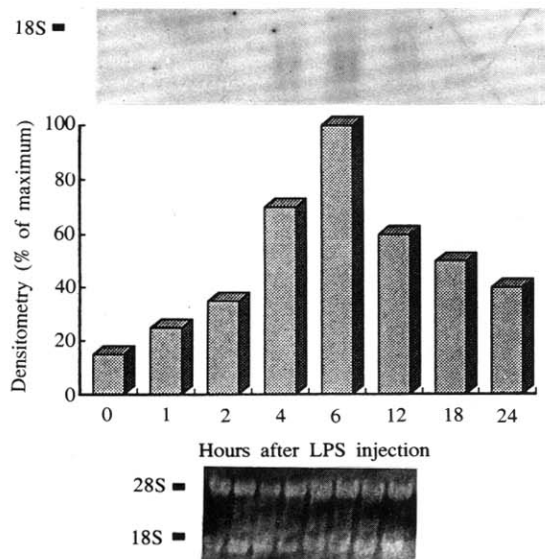


Fig. 1. Time course of MnSOD mRNA expression in endotoxin-treated rat lungs. Northern blot analysis of MnSOD mRNA expression (top), laser densitometry of respective Northern blots (middle), and 28S and 18S ribosomal RNA (bottom).

래프이다. 내독소를 투여하고 4시간후부터 MnSOD mRNA가 발현되기 시작하여 6시간에 최고치를 보였고, 약 12시간까지 지속되었으며, 24시간이 경과한 후에는 대조군의 수준으로 감소됨을 관찰할 수 있다. 아래의 그림은 각 lane의 28S, 18S ribosomal RNA의 ethidium bromide가 함유된 gel 사진으로서 전기영동시 동량의 RNA가 loading되었음을 보여주고 있다(Fig. 1).

2. CuZnSOD 유전자의 발현 양상

그림 2의 위, 중간, 아래의 그림은 그림 1에서 보는 바와 같다. 내독소를 투여하고 1시간후부터 CuZn SOD mRNA가 발현되었고, 이는 24시간까지 지속되었는데, 18시간에 최고치에 도달하였다(Fig. 2).

고 찰

Superoxide, hydrogen peroxide, hydroxyl radical, singlet oxygen 등의 산소기는 대식세포내에서 균을 파괴하는 유익한 작용을 하는 반면에, 체내의 방어기전을

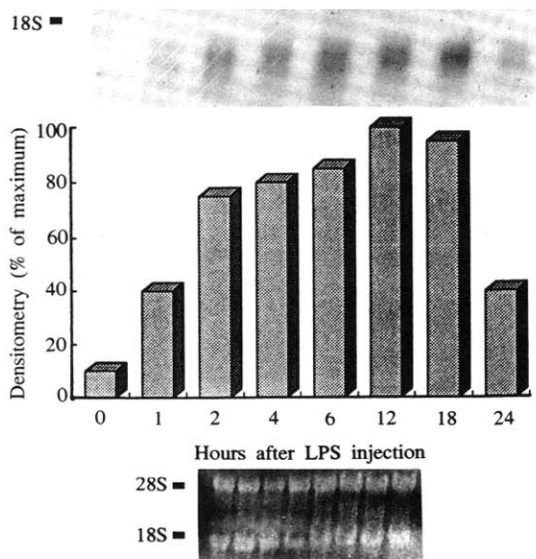


Fig. 2. Time course of CuZnSOD mRNA expression in endotoxin-treated rat lungs. Northern blot analysis of CuZnSOD mRNA expression (top), laser densitometry of respective Northern blots (middle), and 28S and 18S ribosomal RNA (bottom).

능가하는 다량의 산소기는 조직손상을 일으킨다¹⁶⁾. 폐는 고농도의 산소에 접하고 있는 환경적 요인때문에 항상 산소기에 의한 조직손상의 가능성에 노출되어 있는 장기이다. 호기성 유기체(aerobic organism)는 산소기로부터 자신을 보호하는 기전을 보유하고 있다. 가장 널리 알려져 있는 것으로는 SOD, catalase, glutathione peroxidase와 glutathione reductase를 들 수 있다. 이들 중 SOD가 제일 처음 단계의 방어기전을 담당하고 있다. 즉, superoxide radical이 SOD에 의해 hydrogen peroxide와 산소로 변환되고 이때 형성된 hydrogen peroxide는 catalase와 glutathione peroxidase에 의해 이차적으로 중화된다¹⁶⁻²²⁾. 포유류에는 세가지 종류의 SOD가 존재한다. 즉, dimer의 형태로 세포질에 존재하는 구리, 아연을 함유한 SOD(이하 CuZnSOD로 약함)와 tetramer의 형태로 세포내의 미토콘드리아에 존재하는 망간 함유 SOD(이하 MnSOD로 약함), 그리고 세포외에 존재하고 tetramer의 형태로 구리와 아연을 함유한 SOD(이하 ECSOD로 약함)의 세종류가 있다^{19,20,23-26)}. 이들은 분자량과 아미노산 구성이 서로 상이하지만 같은 반응을 촉매하는 기능을 보유하고 있다.

SOD는 산소기에 의한 조직손상의 방어에 관여하는 효소이기 때문에 SOD의 발현에 관한 연구에는 산소기에 의한 조직손상의 실험 모델이 많이 이용되고 있다. 가장 대표적이고 널리 이용되고 있는 것이 고산소증을 이용한 실험모델로서 생체내의 실험에서 고산소증에 의한 SOD의 발현 양상은 비교적 잘 알려져 있다. 즉, 고산소증시 약 3~5일 후에 transcriptional activation에 의한 MnSOD mRNA가 발현되고 약 7~14일 후에 MnSOD 활성도가 관찰되는 데, CuZnSOD에는 별 영향을 미치지 않는다²⁷⁻²⁹⁾. 따라서 고산소증에 의한 조직손상의 방어기전에서 CuZn SOD보다 MnSOD가 관여할 것으로 생각된다. 하지만 CuZnSOD 유전자를 이입하여 기저상태의 CuZn SOD 활성도가 높은 transgenic mouse는 고산소증에 노출시켰을 때, CuZnSOD 유전자가 이입되지 않은 mouse와 비교해 조직손상의 뚜렷한 완화가 관찰되어³⁰⁾, 고산소증에 대한 방어기전에 CuZnSOD가 관여함을 시사해 주는 보고도 있어 실험조건에 따라 그 결과에 차이를 보이고 있다.

SOD의 발현은 여러 cytokine에 의해 영향을 받는다. TNF와 IL-1으로 전처치하면 고산소증에 의한 폐손상이

완화되는 데, TNF와 IL-1에 의해 MnSOD 발현의 증가가 관찰되어 TNF와 IL-1 전처치에 의한 예방효과는 MnSOD 증가에 기인하는 것으로 이해되고 있다³¹⁻³⁴⁾. 내독소로 전처치시 고산소증에 의한 폐손상과 그로 인한 사망률이 감소되는 것은 잘 알려져 있는 사실이다³⁵⁾. 고산소증시 가장 큰 손상을 받는 세포는 폐혈관 내피세포이다. 내독소는 내피세포에서 MnSOD mRNA의 발현을 증가시키기 때문에³⁶⁾, 고산소증에 의한 조직손상에서 내독소 전처치의 예방효과는 MnSOD에 의한 것으로 생각되었다. 그러나 내독소로 처리한 백서의 혈청을 정상 백서에 투여하면 고산소증에 의한 폐손상의 예방이 가능한데, 이때 혈청을 투여받은 백서 폐장에서 SOD activity의 증가는 관찰되지 않아 내독소에 의한 고산소증의 예방 효과가 MnSOD가 아닌 다른 인자에 의한 가능성이 제시되었고³⁷⁾, 아직은 확실한 결론에 도달하지 못한 상태이다.

과거의 여러 연구 결과에 의하면 내독소에 의한 급성 폐손상에서 산소기가 일부 중요한 역할을 할 것으로 생각되는데^{1,2)}, 내독소에 의한 SOD 발현에 관한 연구는 대부분이 배양 세포를 이용한 생체의 실험이 대부분으로 내독소에 의한 급성 폐손상의 생체내 실험모델에서 폐장의 SOD mRNA 발현 양상과 급성 폐손상 양상과의 비교에 관한 연구는 거의 없는 실정이다. 한 연구 보고에 의하면 내독소를 백서에 투여하고 48시간이 경과한 후의 폐장에서 CuZnSOD mRNA 발현의 증가를 보고한 반면³⁸⁾, 다른 보고에 의하면 CuZnSOD mRNA의 변화는 관찰되지 않았고, 고산소증 4시간 후에 MnSOD mRNA의 증가만이 관찰되어³⁹⁾ 차이를 보이고 있다. 본 연구에서는 내독소 투여후 4시간후부터 MnSOD mRNA의 양이 증가하기 시작하여 6시간에 최고치를 보였고, 약 12시간까지 지속적으로 관찰되었다. 또한 CuZnSOD mRNA는 내독소를 투여하고 약 1시간경부터 관찰되기 시작하여 24시간까지 지속되는 양상이 관찰되었다. 본 연구에서는 내독소를 2.5mg/kg를 사용하였는데, 위의 실험에서는 모두 고산소증에 의한 사망률을 감소시키는 것으로 알려져 있는 체중 Kg당 500 μ g을 사용하여 본 연구의 결과와 직접 비교하는 데는 사용한 내독소의 용량을 고려해야 할 것이다.

본 교실에서 과거에 시행한 연구결과에 의하면 내독소에 의한 백서의 급성 폐손상 모델에서 6시간 후에 폐

포-모세혈관 투과성이 증가되었다가 24시간 후에는 정상으로 회복되는 양상이 관찰되었는데²⁾, 이 결과를 본 연구에서 내독소 투여 후 MnSOD와 CuZnSOD mRNA의 발현이 비교적 초기에서부터 관찰되는 사실과 함께 고려해 볼 때, 내독소에 의한 폐손상의 방어기전으로서 SOD 유전자가 발현되고, 이로 인해 24시간 후 폐포-모세혈관 투과성의 정상화를 가져오는 것으로 이해할 수 있다. 그러나 본 연구의 결과는 이러한 가능성만을 제시해주는 것으로서 직접적인 증거라고 하기는 곤란하기 때문에 향후 anti-sense DNA 등으로 SOD의 작용을 직접 저해시켰을때 내독소에 의한 백서의 급성 폐손상이 악화되는지 여부를 평가해야 할 것으로 생각된다. 또한 면역조직화학검사에 의하면 내독소 투여시 MnSOD protein은 주로 type II 상피세포에서 관찰된다고 알려져 있으나³⁹⁾, SOD mRNA가 주로 어느세포에서 발현되는지는 알려져 있지 않기 때문에 향후, 이에 대한 in situ hybridization 등의 연구도 같이 이루어 져야 할 것으로 생각된다.

요 약

연구배경 : 산소기가 여러 종류의 급성 폐손상에 중요한 역할을 한다는 것은 이미 잘 알려진 사실이다. 생체내에는 여러 항산화 방어기전이 존재하는데, 그중 SOD는 두 개의 superoxide radical이 과산화수소와 산소로 dismutation되는 과정을 10^4 배 촉진시키는 효소로서 산소기에 대한 일차적인 방어기전으로 작용한다. Eukaryotic 세포내에는 두 가지 종류의 SOD가 존재하는데, 하나는 세포질에 위치하고 이중체(dimeric)의 구조를 가지며 구리와 아연을 포함하는 효소(CuZnSOD)이고, 또 하나는 미토콘드리아에 있고 사중체(tetrameric)의 구조를 갖는 망간을 포함하는 효소(MnSOD)이다. 내독소에 의한 백서의 급성 폐손상 모델에서 내독소 투여 후 시간 경과에 따른 백서 폐장의 MnSOD와 CuZnSOD의 유전자 발현을 관찰하여 이를 급성 폐손상의 양상과 비교하고자 본 연구를 시행하였다.

방법 : 백서에 E. coli의 내독소를 투여한 후 0, 1, 2, 4, 6, 12, 18, 그리고 24시간 후에 백서를 희생시켜 폐장을 얻은 후 폐장의 총 RNA를 single step phenol extraction 방법으로 추출하였다(n=3, respectively). 총

RNA를 formaldehyde를 함유한 1.2% agarose gel에 전기영동하고, gel의 RNA를 nylon membrane으로 transfer시켰다. Nylon membrane을 32 P로 labeling시킨 MnSOD와 CuZnSOD를 probe로 하여 hybridization하고 autoradiography를 시행하였다.

결과 : 내독소를 투여하고 4시간후부터 MnSOD mRNA가 발현되기 시작하여 6시간에 최고치를 보였고, 약 12시간까지 지속되었으며, 24시간이 경과한 후에는 대조군의 수준으로 감소되었다. CuZnSOD 유전자는 내독소를 투여하고, 1시간후부터 발현되기 시작하여 24시간까지 지속되었는데, 18시간에 최고치에 도달하였다.

결론 : 이상의 결과는 SOD가 백서에서 내독소에 의해 유발된 급성 폐손상에 대한 방어기전에 관여 할 가능성을 시사하는 것으로 생각된다.

REFERENCES

- 1) 김영환, 유철규, 정기호, 최형석, 이혁표, 한성구, 심영수, 김건열, 한용철 : 내독소에 의한 돼지의 급성 폐손상에서 산소기의 역할에 관한 연구. 결핵 및 호흡기질환 38:3557, 1991
- 2) 심영수, 유철규, 김영환, 한성구, 김건열, 한용철 : 내독소에 의한 백서의 급성 폐손상에서 hydroxyl radical의 병인론적 역할에 관한 연구. 결핵 및 호흡기질환 39:120, 1992
- 3) Tate RM, VanBenthuyzen KM, Shasby DM, McMurtry IF, Repine JE : Oxygen-radical-mediated permeability edema and vasoconstriction in isolated perfused rabbit lungs. Am Rev Respir Dis 126:802, 1982
- 4) Fox RB: Prevention of granulocyte-mediated oxidant lung injury in rats by a hydroxyl radical scavenger, dimethylthiourea. J Clin Invest 74:1456, 1984
- 5) Shasby DM, VanBenthuyzen KM, Tate RM, Shasby SS, McMurtry I, Repine JE : Granulocytes mediate acute edematous lung injury in rabbits and in isolated rabbit lungs perfused with phorbol myristate acetate: Role of oxygen radicals. Am Rev Respir Dis 125:443, 1982

- 6) Bernard GR, Lucht WD, Niedermeyer ME, Snapper JR, Ogletree ML, Brigham KL : Effect of N-acetylcysteine on the pulmonary response to endotoxin in the awake sheep and upon in vitro granulocyte function. *J Clin Invest* **73**: 1772, 1984
- 7) Traber DL, Adams T Jr, Sziebert L, Stein M, Traber L : Potentiation of lung vascular response to endotoxin by superoxide dismutase. *J Appl Physiol* **58**:1005, 1985
- 8) Olson NC, Grizzle MK, Anderson DL : Effect of polyethylene glycol-superoxide dismutase and catalase on endotoxemia in pigs. *J Appl Physiol* **63**: 1526, 1987
- 9) Olson NC, Anderson DL, Grizzle MK : Dimethylthiourea attenuates endotoxin-induced acute respiratory failure in pigs. *J Appl Physiol* **63**:2426, 1987
- 10) Alexander HR, Sheppard BC, Jensen JC, Langsten HN, Buresh CM, Venzon D, Walker EC, Fraker DL, Stovroff MC, Norton JA : Treatment with recombinant human tumor necrosis factor- α protects rats against the lethality, hypotension and hypothermia of gram-negative sepsis. *J Clin Invest* **88**:34, 1991
- 11) Ho Y-S, Crapo JD : cDNA and deduced aminiacid sequence of rat copper-zinc-containing superoxide dismutase. *Nucleic Acids Res* **15**:6746, 1987
- 12) Ho Y-S, Crapo JD : Nucleotide sequences of cDNAs coding for rat manganese-containing superoxide dismutase. *Nucleic Acids Res* **15**:10070, 1987
- 13) Ho Y-S, Howard AJ, Crapo JD : Nucleotide sequence of a rat glutathione peroxidase cDNA. *Nucleic Acids Res* **16**:5207, 1988
- 14) Ho Y-S, Howard AJ, Crapo JD : Isolation and sequence of a cDNA coding for rat glucose-6-dehydrogenase. *Nucleic Acids Res* **16**:7746, 1988
- 15) Chomczynski P, Sacchi N : Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* **162**: 156, 1987
- 16) Fantone JC, Ward PA : Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol* **16**:397, 1982
- 17) Freeman BA, Crapo JD : Biology of disease. Lab Invest **47**:412, 1982
- 18) Fridovich I : Superoxide radical : An endogenous toxicant. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* **23**:239, 1983
- 19) Davies KJA : Protein damage and degradation of oxygen radicals: general aspects. *J Biol Chem* **262**:9896, 1987
- 20) Davies KJA, Delsignore ME, Lin SW : Protein damage and degradation of oxygen radicals. II. Modification of aminoacids. *J Biol Chem* **262**: 9902, 1987
- 21) Davies KJA, Delsignore ME : Protein damage and degradation of oxygen radicals. III. Modification of secondary and tertiary structure. *J Biol Chem* **262**:9908, 1987
- 22) Davies KJA, Lin SW, Pacifici RE : Protein damage and degradation of oxygen radicals. IV. Degradation of denatured protein. *J Biol Chem* **262**:9914, 1987
- 23) McCord JM, Fridovich I : Superoxide dismutase: An enzymatic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem* **244**:6049, 1969
- 24) Weisiger RA, Fridovich I : Superoxide dismutase: Organelle specificity. *J Biol Chem* **248**: 3582, 1973
- 25) Weisiger RA, Fridovich I : Mitochondrial superoxide dismutase: site of synthesis and intramitochondrial localization. *J Biol Chem* **248**:4793, 1973
- 26) Marklund SL : Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight. *Proc Natl Acad Sci USA* **79**:7634, 1982
- 27) White CW, Ghezzi P, McMahon S, Dinarello CA,

- Repine JE : Cytokines increase rat lung antioxidant enzymes during exposure to hyperoxia. *J Appl Physiol* **66**:1003, 1989
- 28) Frank L, Iqbal J, Hass M, Massaro D : New "rest period" protocol for inducing tolerance to high O₂ exposure in adult rats. *Am J Physiol* **257**:L226, 1989
 - 29) Ho Y-S, Dey MS, Crapo JD : Modulation of lung antioxidant enzymes expression by hyperoxia. *Am Rev Respir Dis* **141**:A821, 1990
 - 30) White CW, Avraham KB, Shanley PF, Groner Y : Transgenic mice with expression of elevated levels of copper-zinc superoxide dismutase in the lungs are resistant to pulmonary oxygen toxicity. *J Clin Invest* **87**:2162, 1991
 - 31) Wong GHW, Goeddel DV : Induction of manganoous superoxide dismutase by tumor necrosis factor : possible protective mechanism. *Science* **242**: 941, 1988
 - 32) Visner GA, Dougall WC, Wilson JM, Burr IA, Nick HS : Regulation of manganese superoxide dismutase by lipopolysaccharide, interleukin-1 and tumor necrosis factor. *J Biol Chem* **265**:2856, 1990
 - 33) Tsan MF, White JE, Treanor C, Shaeffer JB : Molecular basis for tumor necrosis factor-induced increase in pulmonary superoxide dismutase activities. *Am J Physiol* **259**:L506, 1990
 - 34) Warner BB, Burhans MS, Clark JC, Wispe JR : Tumor necrosis factor- α Mn-SOD expression: protection against oxidant injury. *Am J Physiol* **260**:L296, 1991
 - 35) Spence TH Jr, Jenkins SG, Johnson KH, Collins JF, Lawrence RA : Effects of bacterial endotoxin on protecting copper deficient rats from hyperoxia. *J Appl Physiol* **61**:982, 1986
 - 36) Visner GA, Block ER, Burr IM, Nick HS : Regulation of manganese superoxide dismutase in porcine pulmonary artery endothelial cells. *Am J Physiol* **260**:L444, 1991
 - 37) Berg JT, Smith RM : Protection against hyperoxia by serum from endotoxin treated rats: absence of superoxide dismutase induction. *Proc Soc Exp Biol Med* **187**:117, 1988
 - 38) Iqbal J, Clerch LB, Hass MA, Frank L, Massaro D : Endotoxin increases lung Cu, Zn superoxide dismutase mRNA: O₂ raises enzyme synthesis. *Am J Physiol* **257**:L61, 1989
 - 39) Lewis-Molock Y, Suzuki K, Taniguchi N, Mguyen DH, Mason RJ, White CW : Lung manganese superoxide dismutase increases during cytokine-mediated protection against pulmonary oxygen toxicity in rats. *Am J Respir Cell Mol Biol* **10**:133, 1994