

□ 원 저 □

표면부착에 의한 사람 폐포대식세포의 유전자 발현에 관한 연구

서울대학교 의과대학 내과학교실 및 결핵연구소

정만표*, 유철규, 한성구, 심영수, 이종현*, 한웅철*, 김영환

= Abstract =

Adherence-induced gene expression in human alveolar macrophages

Man Pyo Chung, M.D., Chul Gyu Yoo, M.D., Sung Koo Han, M.D.,
Young-Soo Shlm, M.D., Chong H. Rhee, M.D.,
Yong Chol Han, M.D., Young Whan Kim, M.D.

Department of Internal Medicine and Tuberculosis Research Institute,
Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : Neutrophils or monocytes separated in vitro by the adherence to plastic surface are known to be activated by surface adherence itself and subsequent experimental data might be altered by surface adherence. Adhesion molecules and gene transcription of the inflammatory mediators are known to be associated in this process. To evaluate whether adhesion molecule and transcriptional activation of the inflammatory substances are also involved in the activation of human alveolar macrophage by the adherence procedure, we designed this experiment.

Method : Bronchoalveolar lavage was performed in the person whose lung of either side was confirmed to be normal by chest CT and alveolar macrophage was harvested. To measure the expression of Interleukin-8(IL-8) mRNA, manganese superoxide dismutase(SOD) mRNA and CD11/CD18 mRNA in human alveolar macrophage of both adherence state and suspension state, Northern blot analysis was done at 0, 2, 4, 8 and 24hrs after the adherence to plastic surface and during suspension state. Then, phorbol myristate acetate(PMA) and N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine(fMLP) were added respectively in the same experimental condition.

Result :

1) Human alveolar macrophages in the adherent state induced IL-8 mRNA and SOD mRNA expression which was maximal at 8 hours after the adherence to plastic surface. But we could not observe the upregulation of CD18 mRNA by surface adherence.

2) PMA induced these mRNA expression both in the adherent cell and the nonadherent cells,

but the induction of mRNA expression by fMLP occurred only in the adherent cells.

Conclusion : These results suggest that adherence of human alveolar macrophage is an important cell-activating event that may play a critical role in the modulation of lung inflammatory response.

Key words : Alveolar macrophage, Adherence, Interleukin-8

서 론

폐포대식세포는 외부자극에 의해 활성화되면 여러 종류의 염증매개성 물질을 분비하여 폐포내 방어기전에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다¹⁾.

이런 폐포대식세포를 연구하기 위해 많은 수의 폐포대식세포를 얻는 방법으로는 기관지폐포세척(bronchoalveolar lavage, 이하 BAL이라 약함)액을 플라스틱표면에 부착시켜 분리하는 방법이 주로 이용되어 왔는데, 외국문헌^{2,3)} 뿐만 아니라 저자들의 연구⁴⁾에 의해서도 폐포대식세포는 표면 부착 자체에 의해 활성화되는 것으로 밝혀져 기저상태의 폐포대식세포를 얻는 방법으로는 적당하지 않다고 생각된다.

세포와 세포 또는 세포와 세포외성분 사이의 부착은 근본적으로 부착분자(adhesion molecule)에 의해 이루어지는데, 여러 부착분자중 CD11/CD18 계통(CD11/CD18 family) 또는 β_2 integrin 계통(β_2 integrin family) 부착분자가 부착상태의 호중구에 서 화학주성물질에 의한 유리산소기 분비에 밀접하게 관련되어 있다는 사실이 보고되고⁵⁾ 폐포대식세포에서도 CD11/CD18 계통이 주요 부착분자로 존재함이 알려지면서⁶⁾ 부착에 의한 폐포대식세포의 활성화에도 부착분자가 어떤 역할을 할 것으로 추정되고 있다.

또한 1987년 Fuhlbrigge 등⁷⁾이 동물의 복막대식세포에서 분비되는 Interleukin(이하 IL이라 약함)

-1에 대하여 실험하던 중에 플라스틱 표면부착 자체가 IL-1 전령리보핵산(messenger RNA, 이하 mRNA라 약함) 발현을 촉진하는 것을 관찰한 이래, 부착이 단핵세포에서 분비되는 일부 염증매개 물질의 유전자 전사 신호로 작용한다는 보고^{8,9)}가 있어 염증반응과 관련된 물질의 유전자 전사가 부착에 의한 세포활성화와 연관되어 있음이 강력히 시사되고 있다.

그러나 표면부착자체가 폐포대식세포에서의 유전자 발현에 미치는 영향에 관한 보고는 많지 않은 실정인데, 저자들은 폐포대식세포에서 표면부착 자체가 염증반응에 관여하는 물질및 부착분자에 미치는 영향을 유전자 수준에서 관찰하고, 표면부착이 PMA, fMLP 자극에 의한 유전자 발현에 미치는 영향을 평가하여 표면부착이 어떤 기전으로 세포활성화에 관여하는 지를 보다 구체적으로 알아보기 위해 본 연구를 시행하게 되었다.

대상 및 방법

1. 연구대상

최근 6주 이내에 상기도감염력이 없고 과거력상 폐결핵을 앓은 병력이 없으며 복용중인 약물이나 기타 전신질환이 없는, 나이 60세이하인 사람으로서 고립성폐결절(solitary pulmonary nodule)이나 종격동종양, 식도암과 같이 국소적인 폐질환 또는 폐외질환만을 가지며 폐의 고해상도 컴

퓨터단층촬영(high resolution computed tomography, 이하 HRCT라 약함) 결과 적어도 한 쪽 폐에는 이상이 없는 것으로 판명되었고 기관지내시경 및 BAL을 시행할 수 있는 사람만을 대상으로 기관지내시경을 시행하였다.

2. 연구방법

1) 사람 폐포대식세포의 분리

10시간 이상 금식시킨 대상인을 atropine 0.5mg 과 meperidine 50mg으로 전처치하고 lidocaine으로 인후마취한 후, 흉부 HRCT상 이상이 없는 것으로 확인된 우중엽 또는 좌상엽에서 BAL을 시행하였다. 해당 폐분절에 37℃ 생리식염수를 1회 50ml 씩 5-6회 정도 주입한 후, 총 150-200ml의 폐포세척액을 회수하였으며, 이 세척액을 2겹의 무균 거즈로 거른 뒤 4℃에서 1500rpm으로 10분간 원심 분리하여 세포를 침전시키고 100U/ml penicillin G와 100ug/ml streptomycin을 함유한 RPMI-1640 배양액(GIBCO사)으로 2번 원심세척(4℃, 1200rpm, 10분)후 hemocytometer로 폐포대식세포의 숫자를 세어 RPMI-1640 배양액으로 1×10^6 /ml이 되도록 세포수를 조절하여 세포부유액을 만들었다. 이 중 trypan blue 염색상 세포활성(cell viability)이 90% 이하인 폐포대식세포는 실험에 사용하지 않았다. 동일 환자의 폐포대식세포로 부유상태 및 부착상태를 동시에 형성하여 서로 비교하였다.

2) 부착세포와 부유세포 형성

플라스틱표면(plastic surface, 이하 PS라 약함)에 부착된 폐포대식세포는 60mm Petri dish 바닥면을 이용하여 37℃ 5% CO₂ 배양기에서 부착되도록 5×10^6 개의 폐포대식세포를 놓아둔 후 부착되지 않은 세포를 포함한 상층액을 제거하여 만들었고, 부유상태의 세포는 1×10^6 /ml의 세포부유액

5ml (5×10^6 개)을 15ml 원추형 시험관에 넣고 37℃ shaking incubator에서 분당 150회 정도로 계속 흔들려 주어 부착이 되지 않도록 유지하였다¹⁰⁾.

3) 부착후 화학물질에 의한 자극

PS 부착에 따른 영향을 알아보기 위해 부착세포군과 부유세포군에 모두 추가적인 화학자극물질인 PMA, fMLP를 각각 100ng/ml, 100nM의 농도로 첨가하여 첨가하지 않은 군과 비교하였다.

4) Northern blot analysis

가) 실험 조건

표면부착에 의해 폐포대식세포내 유전자 발현이 증가 또는 priming되는지 밝히기 위해, 우선 폐포대식세포를 60mm Petri dish 바닥면에 부착시켜 0, 2, 4, 8, 24시간 경과후 IL-8 mRNA, SOD mRNA 및 CD18 mRNA가 시간에 따라 발현되는 양상을 Northern blot analysis로 평가하여 최대 발현시간을 정하였고 마찬가지로 무자극 부유세포군, PMA/fMLP자극 부유세포군, 무자극 부착세포군 및 PMA/fMLP 자극 부착세포군에서의 IL-8 mRNA, SOD mRNA 및 CD18 mRNA 발현 양상을 시간경과에 따라 분석하여 부착과 유전자 발현과의 관련성을 검증하였다.

나) Northern blot analysis

Chomczynski와 Sacchi의 acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform 추출법¹¹⁾을 이용하여 총 RNA를 정량화한 뒤, 동량의 RNA를 formaldehyde를 함유하는 1.2% agarose gel에 전기영동시켜 분리하였다. 전기영동후 28s와 18s rRNA band의 정도로 동량의 RNA loading 여부를 관찰하였다. 전기영동한 gel의 RNA를 밤새 nylon membrane으로 transfer시키고, RNA가 transfer된 membrane에 대해 UV crosslinking을 시행하여 RNA를 membrane에 고정시켰다.

Prehybridization 후 65℃에서 ^{32}P 로 labelling한 사람의 IL-8 complementary DNA(이하 cDNA라 약함), SOD cDNA, CD18 cDNA를 각각 표지자로 사용하여 hybridization을 시행하였다. 750 base pair의 IL-8 cDNA는 미국 NIH의 Dr. Crystal에게서, 1.4 kilobase의 manganase SOD cDNA는 미국 Duke 대학(Durham, NC, USA)의 Dr. Ye-shih Ho로부터 기증받았고, CD18 cDNA는 Washington대학(Seattle, WA, USA)의 Dr. Hickstein으로부터 공여받아 large scale preparation of plasmid DNA 과정을 거쳐 증폭 분리하였다. cDNA의 labelling은 Random Primed DNA Labelling Kit(Boehringer Mannheim사)를 이용한 random priming 방법으로 시행하였다.

Hybridization을 시행한 후 nylon membrane을 intensifying screen이 들어있는 X-ray film cassette에 넣고 -70℃에서 적정시간 동안 autoradiography를 시행하였다.

결 과

1. BAL 대상 환자의 특성

대상 환자는 HRCT상 병소 반대편 폐가 정상인 폐암 환자가 가장 많았고, 그 외에 폐나 늑막의 양성종양 환자, 중격동종양 환자, 식도암 환자, 흉부 x-선 사진 및 기타 검사상 폐는 정상인 소량의 객혈 환자였으며 각종 검사에서 전신질환 및 기타 감염성질환이 있었던 환자는 없었다. BAL 시행 전후에 기관지내시경으로 인한 합병증은 없었다.

2. BAL fluid의 성상

BAL fluid내 폐포대식세포의 세포수는 평균 $2.8 \pm 1.5 \times 10^7$ 이었고 세포활성도는 $93.7 \pm 2.4\%$ 이었다.

3. 표면부착후 시간에 따른 IL-8, SOD, CD18 mRNA 발현 양상

PS에 부착시킨 폐포대식세포의 IL-8 mRNA와 SOD mRNA는 부착후 시간 경과에 따라 발현이 증가하여 8시간에 최대로 나타났으나, CD18 mRNA의 발현은 기저치가 최대이고 이후에는 점점 감소하는 경향을 보이면서 부착에 따른 증가를 관찰할 수 없었다 ($n=3$) (Fig. 1). 부착후 24시간에서는 폐포대식세포의 활성이 현격히 감소하면서 현미경상 세포사망을 일으켜 mRNA 발현 양상을 파악할 수 없었다.

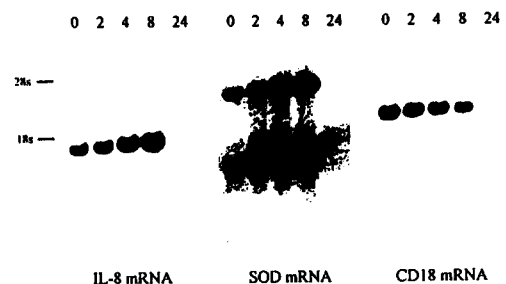


Fig. 1. Patterns of IL-8, SOD and CD18 mRNA expression of human AM according to the time (0,2,4,8,24 hours) after adherence to polystyrene surface.

4. 부유상태와 부착상태의 폐포대식세포에서 PMA와 fMLP 자극후 시간 경과에 따른 mRNA 발현 양상의 비교

폐포대식세포를 PMA로 자극했을 경우에는 표면부착 여부에 관계없이 부유상태와 부착상태 모두에서 8시간에 IL-8 mRNA와 SOD mRNA가 최대로 발현되었으나, fMLP로 자극했을 경우 부착 상태에서는 PMA 자극때와 마찬가지로 8시간에 두 유전자의 발현이 최대로 나타났으나 미부착 상태에서는 fMLP 자극후 시간에 따른 유전자 발현

의 변화를 관찰할 수 없었다 (n=3) (Fig. 2, 3). CD18 mRNA에 대해서는 부착 자체에 의해 발현이 유도되지 않아 추가 자극에 따른 분석을 시행하지 않았으며 24시간째의 mRNA 발현도 세포사망으로 인해 분석하지 않았다.

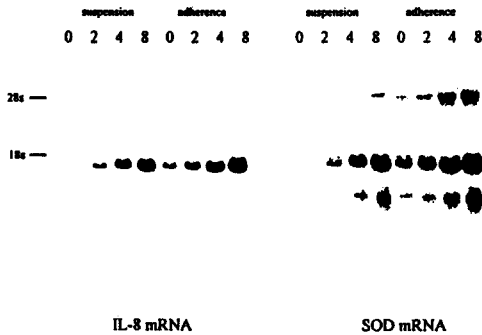


Fig. 2. IL-8 and SOD mRNA expression of human AM according to the time(0,2,4,8 hours) after PMA stimulation

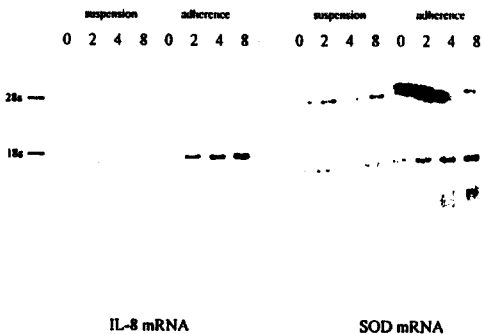


Fig. 3. IL-8 and SOD mRNA expression of human AM according to the time(0,2,4,8 hours) after fMLP stimulation

고 찰

염증세포가 세포기질(cell matrix)에 부착되는 과정은 면역반응에서 매우 중요한 과정으로서, 염증

반응이 최대한으로 발현되도록 하는 데 필수적이라 할 수 있다. 부착은 세포가 염증이 일어난 부위로 이동하는 데 필요할 뿐만 아니라 단핵세포를 비롯한 염증세포에서 부착에 의해 여러가지 염증매개물질의 유전자 전사가 활성화되도록 자극하는 신호이기 때문이다^{7,8,9}. 본 연구를 통해서도 표면부착이 단핵세포를 활성화시켜 IL-1 α , IL-1 β , TNF- α , IL-8 mRNA와 같은 염증 관련 유전자를 발현시키는 것처럼¹² 폐포대식세포에서도 IL-8 mRNA와 같은 세포동력물질(cytokine) 유전자나 염증과 관련된 SOD mRNA 발현이 부착 자체에 의해 유도된다는 것을 확인할 수 있었다. 이런 부착에 의한 mRNA 발현 증가는 일종의 "priming 현상"과 유사하여 내독소와 같은 2차적인 자극이 있을 경우 염증매개물질의 생산이 증폭되도록 해주는 것으로 추정된다¹³. 즉, 부착 자체만으로는 염증매개물질을 직접 분비시키지는 못하지만 부착에 의해 염증매개물질의 mRNA 발현이 미리 증가되어 있으면 내독소에 노출될 경우 즉시 염증매개물질을 다량으로 생산하여 폐포대식세포가 염증 또는 면역반응을 효과적으로 수행할 수 있게 될 것이다. 이는 염증이 없는 건강인의 폐포대식세포가 폐포내에 단순히 허족(pseudopod)에 의해서 세포면의 일부만 폐포상피세포와 접촉하면서 호흡운동에 의해 계속 움직이고 있다는¹⁴ 사실을 미루어 볼 때, 외부환경에 쉽게 노출되는 폐포대식세포의 기능을 잘 설명해 주고 있다.

부유상태와 부착상태의 폐포대식세포를 각각 PMA와 fMLP로 자극했을 경우 나타나는 유전자 수준의 변화를 분석한 결과에서는, PMA는 부착여부와 관계없이 IL-8 mRNA와 SOD mRNA를 8시간후에 최대로 발현시켰으나 fMLP는 부착상태의 폐포대식세포에만 IL-8과 SOD mRNA 발현을 유도하였다. 이는 저자들의 과거 보고⁴)와 마찬가지로 fMLP에 의한 자극은 세포가 부착상태에 있

어야 한다는 것을 시사하는 소견이다. 원래 fMLP는 세균에서 유래된 화학주성 펩티드(chemotactic peptide)로서 PMA와는 달리 부착분자를 강하게 유도하는 물질이고 폐포대식세포막에 fMLP 수용체가 있어 이를 통해 세포내로 신호전달이 이루어져 부착분자가 유도되는 것으로 알려져 있다¹⁵⁾. 부유상태에서는 fMLP로 자극해도 유도되지 않았던 IL-8 mRNA나 SOD mRNA가 부착상태의 폐포대식세포에서는 fMLP로 유도됐다는 것은 염증매개물질 mRNA 유도에 부착이 어떤 필수적 역할을 하고 있음을 나타내는 결과라 할 수 있다. 따라서 사람의 폐포대식세포에서 부착현상은 유전자 수준에서부터 세포활성화를 일으킨다는 것이 확인되었다.

최근 들어 폐의 대표적인 급, 만성 질환인 성인성 호흡곤란증후군과 특발성폐섬유화증의 발병기전에서 IL-8의 중요한 역할을 시사하는 많은 연구 결과가 알려지고 있는데^{16),17),18),19),20)} IL-8은 다양한 생체내 기능을 가진 세포동력물질로서 호중구와 T 임파구에 특이적인 주화작용(chemotaxis)이 대표적인 기능이므로 급성 폐질환에서 자주 관찰되는 호중구의 침윤 및 이에 따른 폐염증에서 중요한 역할을 한다²¹⁾. 이런 IL-8은 주로 단핵세포, 폐포대식세포와 같은 단핵식세포에서 분비되기 때문에 부착에 의해 IL-8 mRNA 발현이 증가된다는 사실은 폐의 염증반응에서 부착이 염증반응의 증폭 및 염증세포 유입에 중요한 역할을 하고 있으리라는 추정을 할 수 있다.

생체의 실험에서 그람음성균의 내독소가 여러 세포에서 IL-8을 분비시키고 실험동물에서도 내독소에 의해 혈중내 IL-8이 증가하는 것이 밝혀져 패혈증시 내독소에 의해 분비되는 IL-8이, 임상적으로 성인성 호흡곤란증후군의 가장 흔한 원인인 패혈증의 임상상에서 많은 역할을 하리라고 생각되므로 부착에 의해 IL-8의 분비능이 priming된다

면 더욱 심한 염증반응을 일으켜 패혈증시 성인성 호흡곤란증후군의 발병에 기여를 할 것으로 추정된다. 마찬가지로 SOD의 경우도 유리산소기 방출에 부착이 관여한다는 사실을 재확인해 준 결과라 할 수 있다.

염증관련 유전자의 최대 발현시간은 부착후 8시간이었으나 24시간후의 폐포대식세포는 배양으로 세포활성이 유지되지 않았기 때문에 그 최대 발현시간을 이 실험결과로 확실히 결정할 수는 없었다. 그러나 Standiford 등¹³⁾의 보고에서도 IL-8 mRNA의 최대발현시간이 8시간이었고 발현정도가 상당히 강하며 24시간에 가까울수록 폐포대식세포가 괴사되는 점으로 보았을 때 8시간을 최대 발현시간으로 정하는 데에는 무리가 없을 것으로 생각된다. 또한 CD18 mRNA 발현은 뚜렷한 변화가 없었고 오히려 시간이 지날수록 발현이 감소하였는데, 이는 단핵세포와는 달리 폐포대식세포는 혈액에서 폐포로 부착 및 이동을 거친 최종분화세포로서 부착분자의 필요성이 감소하여²²⁾ 더 이상 CD11/CD18 부착분자를 유전자 수준에서 새로이 유도하지 않는 것으로 해석된다. 그러나 표식자로 사용된 CD18 cDNA에 문제점이 있을 수 있어 폐포대식세포의 면역반응에서 CD11/CD18 부착분자가 단핵세포만큼 역할을 하지 못하는 것인지 여부는 추후 확인되어야 할 연구과제로 생각된다.

본 연구에서 확인하지는 않았지만 표면부착이 유전자 전사를 유도하는 과정에는 NF κ B(nuclear factor κ -B)가 관련된 것으로 알려져 있다. NF κ B는 B 임파구의 κ 면역 글로불린 증강인자(Immunoglobulin κ enhancer)에 결합하여 전사를 조절하는 인자로 처음 기술되었으나²³⁾, 세포동력물질 유전자를 비롯한 다른 유전자에도 결합하고 B 임파구가 아닌 세포에서도 PMA, IL-1 β , TNF α , 내독소 등에 의해 NF κ B의 DNA 결합능을 유도할 수

있다는 것이 밝혀진²⁴⁾ 단백질로서, 비활성화 세포에서는 $I\kappa B$ (inhibitory κ -B)라는 억제인자와 결합한 상태로 세포질에 존재하지만 활성화 세포가 되면 $I\kappa B$ 가 변형되어 떨어져 나가 억제가 해제되면서 $NF\kappa B$ 가 핵으로 이동하여 특정 유전자의 증강인자 부위에 결합함으로써 전사를 촉진하는 것으로 이해되고 있다. 그런데 단핵세포를 플라스틱 표면에 부착시킬 경우 유도되는 많은 유전자 중에서 아미노산 서열과 그 기능이 $I\kappa B$ 와 유사한 단백질을 해독(translation)하는 유전자가 발견¹²⁾됨으로써 같은 식세포인 폐포대식세포의 부착에 의한 세포 활성화에도 $NF\kappa B$ 가 관련되어 있을 것으로 추정되어 향후 이에 대한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

본 실험의 대상인 사람의 폐포대식세포는 그동안 많은 연구가 진행된 호중구나 단핵세포에 비해 부착분자의 분포와 역할도 이제 겨우 밝혀지기 시작하는 단계이다. 부착현상이 염증에 관련된 유전자 발현을 유도한다는 사실은 폐염증성 질환에서 부착의 역할에 대한 보다 많은 연구가 필요하다는 것을 의미하며, 향후 이런 연구결과를 토대로 부착분자에 대한 항체 등을 이용한 치료에도 응용될 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

연구배경 : 식세포인 호중구나 단핵세포는 생체 외실험에 사용하기 위한 세포분리법인 플라스틱 표면부착만으로도 세포활성화가 일어나 이후의 실험결과에 영향을 주고 이 과정에 염증반응과 관련된 물질의 유전자 전사 및 부착분자가 연관되어 있는 것으로 알려져 있다.

폐의 주된 면역세포인 폐포대식세포도 대부분 플라스틱 표면부착에 의해 세포를 분리하므로 사

람의 폐포대식세포가 표면부착 자체에 의해 활성화되고 여기에 염증관련 유전자 및 부착분자가 관여하는지를 알아보기 위해 연구를 시행하였다.

방법 : 적어도 한 쪽 폐가 정상인 사람에서 기관지폐포세척술을 통해 얻은 폐포대식세포를 대상으로 표면부착이 미치는 영향을 알아보기 위해 부유상태와 부착상태에서 각각 시간에 따른 IL-8, SOD 및 CD11/CD18 mRNA 발현을 Northern blot analysis로 분석하였고 PMA와 fMLP로 추가 자극했을 경우 차이를 보이는지 알아 보았다.

결과 :

1) 플라스틱 표면에 부착시킨 폐포대식세포는 염증 또는 면역에 관계되는 IL-8 mRNA 및 SOD mRNA의 발현이 부착시간 경과에 따라 증가하여 부착 8시간후에 최대로 나타났으나 CD18 mRNA 발현은 부착에 의해 증가되지 않았다.

2) 이런 mRNA의 증가는 PMA에 의해서는 부착여부와 관계없이 유도되었지만 fMLP에 의해서는 부착된 세포에서만 유도되었다.

결론 : 이상의 결과로 플라스틱 표면부착에 의해 폐포대식세포에서 염증매개성 물질의 유전자 발현이 증가되며 이는 표면부착에 의한 세포 활성화와 관계가 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) Crystal RG, West JB : The lung : scientific foundations. p527-38, New York, Raven Press, 1991.
- 2) Merrill WW, Naegel GP, Matthay RA, Reynolds HY : Alveolar macrophage-derived chemotactic factor : kinetics of in vitro production and partial characterization. J Clin Invest 65 : 268, 1980.
- 3) Williams AJ, Cole PJ : In vitro stimulation of alveolar macrophage metabolic activity by

- polystyrene in the absence of phagocytosis. *Br J Path* **62** : 1, 1981.
- 4) 정만표, 유철규, 김영환, 한성구, 심영수, 한용철 : 폐포대식세포의 부착에 의한 산소유리기 분비능 활성화 및 그 기전. *결핵 및 호흡기질환* **43(2)** : 210, 1996.
 - 5) Shappell SB, Toman C, Anderson DC, Taylor AA, Entman ML, Smith CW : Mac-1(CD11/CD18) mediates adherence-dependent hydrogen peroxide production by human and canine neutrophils. *J Immunol* **144** : 2702, 1990.
 - 6) Albert RK, Embree LJ, McFeely JE, Hickstein DD : Expression and function of $\beta 2$ integrins on alveolar macrophages from human and nonhuman primates. *Am J Respir Cell Mol Biol* **7** : 182, 1992.
 - 7) Fuhlbrigge RC, Chaplin DD, Kiely JM, Unanue ER : Regulation of interleukin 1 gene expression by adherence and lipopolysaccharide. *J Immunol* **138** : 3799, 1987.
 - 8) Haskill S, Johnson C, Eierman D, Becker S, Warren K : Adherence induces selective mRNA expression of monocyte mediators and proto-oncogenes. *J Immunol* **140** : 1690, 1988.
 - 9) Eierman DF, Johnson CE, Haskill JS. Human monocyte inflammatory mediator gene expression is selectively regulated by adherence substrates. *J Immunol* **142** : 1970, 1989.
 - 10) Nathan CF. Neutrophil activation on biological surfaces : Massive secretion of hydrogen peroxide in response to products of macrophages and lymphocytes. *J Clin Invest* **80** : 1550, 1987.
 - 11) Chomczynski P and Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* **162** : 156, 1987.
 - 12) Haskill S, Beg AA, Tompkins SM, Morris JS, Yurochko AD, Sampson-Johannes A, Mondal K, Ralph A, Baldwin AS : Characterization of an immediate-early gene induced in adherent monocytes that encodes I κ B-like activity. *Cell* **65** : 1281, 1991.
 - 13) Standiford TJ, Kunkel SL, Kasahara K, Milia MJ, Rolfe MW, Strieter RM : Interleukin-8 gene expression from human alveolar macrophages : the role of adherence. *Am J Respir Cell Mol Biol* **5** : 579, 1991.
 - 14) Anna F, Cohn Z : The alveolar macrophage. *J Appl Physiol* **60** : 353, 1986.
 - 15) Daniele RP, Diamond MS, Holain A : Demonstration of a formyl peptide receptor on lung macrophages : correlation of binding properties with chemotaxis and release of superoxide anion. *Am Rev Respir Dis* **126** : 274, 1982.
 - 16) Carre PC, Mortenson RL, King TE, Noble PW, Sable CL, Riches WL : Increased expression of the interleukin-8 gene by alveolar macrophages in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* **88** : 1802, 1991.
 - 17) Joseph L, Standiford T, Rolfe M, Kunkel S, Strieter R : Neutrophil alveolitis in idiopathic pulmonary fibrosis : the role of interleukin-8. *Am Rev Respir Dis* **145** : 1433, 1992.
 - 18) Cohen AB, Macarthur C, Idell S, Maunder R, Martin T, Dinarello CA, Griffith D, McLarty J : A peptide from alveolar macrophages that releases neutrophil enzymes into the lung in the patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* **137** : 1151, 1988.

- 19) Rot A : Some aspects of NAP-1 pathophysiology : Lung damage caused by a blood-borne cytokine. *Adv Exp Med Biol* **305** : 127, 1991.
- 20) Steinberg RB, Goodman RB, Maunder RJ, Martin TR, Milberg JA, Whitcomb ME, Hudson LD : Interleukin-8 levels in bronchoalveolar lavage fluid correlate with ARDS secondary to sepsis. *Am Rev Respir Dis* **145** : Supp A465, 1992.
- 21) Westwick J, Li SW, Camp RD : Novel neutrophil-stimulating peptides. *Immunol Today* **10** : 146, 1989.
- 22) Miller LJ, Bainton DF, Borregaard N, Springer TA : Stimulated mobilization of monocyte Mac-1 and p150,95 adhesion proteins from an intercellular vesicular compartment to the cell surface. *J Clin Invest* **80** : 535, 1987.
- 23) Sen R, Baltimore D : Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences. *Cell* **46** : 705, 1986.
- 24) Sen R, Baltimore D. Inducibility of kappa immunoglobulin enhancer-binding protein NF-kappa B by a posttranscriptional mechanism. *Cell* **47** : 921, 1986.
-

정 정 사 항

96년 12월호에 실렸던 논문 '표면부착에 의한 사람 폐포대식세포의 유전자 발현에 관한 연구'의 내용중 빠진 부분을 다음과 같이 추가 교정합니다.

표면부착에 의한 사람 폐포대식세포의 유전자 발현에 관한 연구

서울대학교 의과대학 내과학교실 및 결핵연구소

정만표*, 유철규, 한성구, 심영수, 이종현*, 한용철*, 김영환

= Abstract =

Adherence-induced gene expression in human alveolar macrophages

Man Pyo Chung, M.D., Chul Gyu Yoo, M.D., Sung Koo Han, M.D.,
Young-Soo Shim, M.D., Chong H. Rhee, M.D.,
Yong Chol Han, M.D., Young Whan Kim, M.D.

*Department of Internal Medicine and Tuberculosis Research Institute,
Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea*

Background : Neutrophils or monocytes separated in vitro by the adherence to plastic surface are known to be activated by surface adherence itself and subsequent experimental data might be altered by surface adherence. Adhesion molecules and gene transcription of the inflammatory mediators are known to be associated in this process. To evaluate whether adhesion molecule and transcriptional activation of the inflammatory substances are also involved in the activation of human alveolar macrophage by the adherence procedure, we designed this experiment.

Method : Bronchoalveolar lavage was performed in the person whose lung of either side was confirmed to be normal by chest CT and alveolar macrophage was harvested. To measure the expression of Interleukin-8(IL-8) mRNA, manganese superoxide dismutase(SOD) mRNA and CD11/CD18 mRNA in human alveolar macrophage of both adherence state and suspension state, Northern blot analysis was done at 0, 2, 4, 8 and 24hrs after the adherence to plastic surface and during suspension state. Then, phorbol myristate acetate(PMA) and N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine(fMLP) were added respectively in the same experimental condition.

Result :

1) Human alveolar macrophages in the adherent state induced IL-8 mRNA and SOD mRNA expression which was maximal at 8 hours after the adherence to plastic surface. But we could not observe the upregulation of CD18 mRNA by surface adherence.

본 연구는 1995년도 서울대학교 발전기금 포철학술연구비의 지원에 의해 이루어진 것임.

* : 현재 삼성서울병원 호흡기내과 및 삼성생명과학연구소 임상의학연구센터 근무중임.