

□ 연구 보고 □

호중구를 매개하는 백서의 급성 폐손상의 병리기전에 있어 기도내로 투여한 히스타민의 역할에 관하여

울산대학교 의과대학 아산재단 서울중앙병원 내과학교실, 진단병리학교실^{***},
아산생명과학연구소 및 The Webb-Waring Institute for Biomedical Research,
University of Colorado Health Sciences Center, Denver, Colorado, U.S.A.*

고윤석, **Brooks M. Hybertson^{*}**, **Eric K. Jepson^{*}**,
김미정^{**}, 이인철^{***}, 임채만, 이상도, 김동순,
김원동, **John E. Repine^{*}**

= Abstract =

The study for the roles of intratracheally administered histamine in the
neutrophil-mediated acute lung injury in rats:

Younsuck Koh, MD, **Brooks M. Hybertson^{*}**, PhD, **Eric K. Jepson^{*}**,
BS, **Mi Jung Kim^{**}**, BS, **In-Chul^{***} Lee^{***}**, MD, **Chae Man Lim, MD**,
Sang Do Lee, MD, **Woo Sung Kim, MD**, **Dong-Soon Kim, MD**,
Won Dong Kim, MD, and **John E. Repine^{*}**, MD

*Department of Internal Medicine, Diagnostic Pathology^{***}, ASAN Institute for Life Science^{**},
Asan Medical Center, University of Ulsan School of Medicine, Seoul, Korea 138-040 and
The Webb-Waring Institute for Biomedical Research, University of Colorado Health Sciences
Center, Denver, Colorado 80262, U.S.A.**

Background : Neutrophils are considered to play critical roles in the development of acute respiratory distress syndrome. Histamine, which is distributed abundantly in lung tissue, increases the rolling of neutrophils via increase of P-selectin expression on the surface of endothelial cells and is known to have some interrelationships with IL-1, IL-8 and TNF- α . We studied to investigate the effect of the histamine on the acute lung injury of the rats induced by intratracheal insufflation of TNF- α which has less potency to cause lung injury compared to IL-1

in rats.

Methods : We intratracheally instilled saline or TNF(R&D, 500ng), IL-1(R&D, 50ng) or histamine of various dose(1.1, 11 and 55 μ g/kg) with and without TNF separately in Sprague-Dawley rats weighing 270-370 grams. We also intratracheally treated IL-1(50ng) along with histamine(55 μ g/kg). In cases, there were synergistic effects induced by histamine on the parameters of TNF-induced acute lung injury, antihistamines(Sigma, mepyramine as a H₁ receptor blockade and ranitidine as a H₂ receptor blockade, 10 mg/kg in each) were co-administered intravenously to the rats treated TNF along with histamine(1.1 μ g/kg) intratracheally. Then after 5 h we measured lung lavage neutrophil numbers, lavage cytokine-induced neutrophil chemoattractants(CINC), lung myeloperoxidase activity(MPO) and lung leak. We also intratracheally insufflated TNF with/without histamine(11 μ g/kg), then after 24 h measured lung leak in rats. Statistical analyses were done by Kruskal-Wallis nonparametric ANOVA test with Dunn's multiple comparison test or by Mann-Whitney U test.

Results : We found that rats given TNF, histamine alone(11 and 55 μ g/kg), and TNF with histamine(1.1, 11, and 55 μ g/kg) intratracheally had increased ($P<0.05$) lung MPO activity compared with saline-treated control rats. TNF with histamine 11 μ g/kg had increased MPO activity ($P=0.0251$) compared with TNF-treated rats. TNF and TNF with histamine(1.1, 11, and 55 μ g/kg) intratracheally had all increased ($P<0.05$) lung leak, lavage neutrophil numbers and lavage CINC activities compared with saline. TNF with histamine 1.1 μ g/kg had increased ($P=0.0367$) lavage neutrophil numbers compared with TNF treated rats. But there were no additive effect of histamine with TNF compared with TNF alone in acute lung leak on 5 h and 24 h in rats. Treatment of rats with the H₁ and H₂ antagonists resulted in inhibitions of lavage neutrophil accumulations and lavage CINC activity elevations elicited by co-treated histamine in TNF-induced acute lung injury intratracheally in rats. We also found that rats given IL-1 along with histamine intratracheally did not have increase in lung leak compared with IL-1 treated rats.

Conclusion : Histamine administered intratracheally did not have synergistic effects on TNF-induced acute lung leak in spite of additive effects on increase in MPO activity and lavage neutrophil numbers in rats. These observations suggest that instilling histamine intratracheally would not play synergistic roles in neutrophil-mediated acute lung injury in rats.

Key Word : Acute lung injury, Histamine, Neutrophil, TNF- α , Intratracheal administration

이 논문은 1995년도 대한 결핵 및 호흡기학회 학술연구비의 지원을 받았음.

서 론

급성호흡곤란증후군(acute respiratory distress syndrome, 이하 ARDS)은 기왕의 폐질환이 없던 환자에서 심한 내과적 혹은 외과적 손상에 노출된 뒤 폐모세혈관 및 폐포상피의 투과성 증가에 기인한 폐부종으로 인하여 흉부촬영상 양측성 미만성 폐침윤을 보이고 일반적 산소요법에 반응을 잘 보이지 않는 저산소증을 동반하는 급성 호흡부전 상태를 말한다. ARDS는 1967년 보고된 이래 집중치료의 여러 가지 발전에도 불구하고 그 사망율이 50% 이상을 상회하며 치료방법에 있어서도 호흡보조요법과 호흡부전을 초래한 원인질환의 치료외에는 병리기전에 근거한 특이치료가 확립되지 못하고 있다. 그러므로 ARDS에 대한 연구동향은 ARDS 발생의 초기 시점에 있어 급성 폐손상을 유도하는 생화학적, 세포적 기전의 규명에 모여져 있다. 이는 ARDS의 치료방법 발전을 위한 첫 번째 과제가 이 질환의 병리기전의 규명에 있기 때문이다. ARDS의 병리기전이 아직까지 완전히 규명되지는 않았으나 ARDS환자의 폐조직이나 기관지 폐포액내에는 호중구의 증가가 저명하고 이들환자의 폐포액에서 호중구의 주화물질(chemotactic substance)인 interleukin (IL)-8의 증가가 관찰되며⁽¹⁾ 급성 폐손상의 여러 가지 동물실험모형에서 호중구는 급성폐손상을 유도하는 중심적인 역할을 하므로⁽²⁾ ARDS 발생기전에 호중구가 중요한 역할을 하는 것으로 추정되고 있다.

IL-1 및 TNF는 proinflammatory cytokine 들로서 ARDS의 중요한 원인인 패혈증의 병인에 중요한 매개물질로 고려되고 있다. ARDS 환자들의 기관지폐포액내에 IL-1이나 TNF 및 IL-8의 증가가 보고되어 있고⁽³⁻⁵⁾ 기관지폐포액내 호중구의 백분율과 IL-8의 농도가 비례한다고 보고되어 있으나⁽⁶⁾ ARDS의 발생기전에 있어 IL-1, IL-8 및 TNF와 호중구의 상호연관관계에 대해서는 완전히 규명

되어 있지 않다. 백서에 기도내로 IL-1을 소량투여하면 호중구를 매개하는 급성 폐손상이 유도되고 이는 백서의 IL-8으로 취급되는 Cytokine-Induced Neutrophil Chemoattractant(CINC)의 분비를 통해 이루어지나 CINC 단독으로 투여할 경우 급성 폐손상이 유도되지 않아 또 다른 매개물질을 필요로 한다는 것을 추정케한다⁽⁷⁾. TNF 단독으로 백서의 기도내에 투여시도 급성 폐손상이 관찰되나 IL-1의 투여시보다 폐손상의 정도가 경미하여 (Koh Y, Hybertson BM, Jepson EK, Repine JE: Tumor necrosis factor induced acute lung leak in rats : Less than with IL-1. 출판의뢰 중) 히스타민 등과 같은 다른 염증매개물질과 병합하여 쥐의 기도내로 국소적으로 투여시 급성 폐손상의 정도가 증폭될 가능성이 있을 것으로 사료된다. 히스타민은 폐혈관주위의 비만세포내에 풍부하게 분포하나 아직까지 급성 폐손상의 병리기전에 있어 히스타민의 역할에 대해서는 규명되어 있지 않았다. 본연구에서 히스타민이 급성폐손상의 병리기전에 관련될 것으로 추정한 근거는 다음과 같다. 첫째, IL-1과 같은 cytokine 사이에 상호작용이 알려져 있어⁽⁸⁻¹⁰⁾ 히스타민이 cytokine으로 유도되는 호중구 매개성 급성 폐손상에 관련되어 있을 가능성이 사료된다. 둘째, 히스타민은 혈관 내피표면상에 호중구의 조직으로의 이동에 관여하는 P-selectin의 표현을 증가시키는 것으로 알려져 있다^(11, 12). 셋째, 생쥐의 등에 air-pouch를 만들어 IL-8을 주입하면 호중구의 침윤이 관찰되는데, IL-8과 히스타민을 병용투여시 IL-8의 chemokine effect가 증폭되는 것이 보고되어 있다⁽¹³⁾. 넷째, 패혈증으로 유도한 porcine의 급성 폐손상모델에 항 히스타민제와 prostaglandin 차단제를 병용 투여하면 porcine의 생존시간을 증가시킨다는 보고가 있다⁽¹⁴⁾. 이에 저자들은 건강한 백서의 기도내로 히스타민을 투여시 폐조직내로 호중구의 침윤이 증폭되고 폐손상의 정도가 증가될 것으로 가

정하였다. 본 연구는 이러한 가정하에 폐장내 국소적으로 히스타민 단독 및 TNF와 병합 투여후 백서의 폐조직내 호중구의 침윤 정도와 폐손상의 정도를 관찰함으로써 호중구를 매개한 백서의 급성 폐손상모델의 병리기전에 히스타민의 증폭작용이 있는지를 검토하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 사용 동물과 치료방법 및 측정지표들

몸무게 270-370gm인 Sprague-Dawley 쥐를 사용하여 정상군은 생리식염수 0.5mL을, 치료군은 체중 1Kg당 1.1 μ g, 11 μ g 및 55 μ g의 히스타민을 단독 혹은 TNF 500ng과 함께 병용하여 기도내로 투여하거나 히스타민 55 μ g과 IL-1 50 ng을 병용투여한 뒤 5시간 뒤에 폐조직내 myeloperoxidase (MPO) 활성도와 폐포액내 호중구 수 및 쥐의 IL-8으로 고려되는 CINC의 활성도 그리고 폐혈관내 알부민의 폐조직내로의 누출을 측정하였다. 히스타민(11 μ g/kg)과 TNF 병용치료 24시간 후의 폐혈관내 알부민의 누출도 측정하였다. 또한 TNF와 히스타민을 병용 투여한 뒤 TNF 단독 투여에 비해 상승효과가 관찰되면 관찰된 상승효과가 히스타민에 의한 것인지를 판단하기 위해 TNF와 히스타민 병용치료 군에 항히스타민제를 경정맥내로 주입한 뒤 동일한 방법으로 각 지표들을 측정하여, 관찰된 상승효과가 차단되는지를 보았다. 사용한 항히스타민제는 H₁ 수용체 차단제로서 mepyramine (pyrilamine, Sigma Chemical, St. Louis, MO)을, H₂ 수용체 차단제로 ranitidine(Sigma Chemical, St.Louis, MO)를 각각 10mg/kg의 용량으로 기도내 TNF와 히스타민 병용치료시에 동시 정주하였다. 폐 모세혈관으로부터 폐 조직내로의 혈중내 알부민의 누출을 측정하기 위해서 iodine-125가 부착된 bovine serum albumin(bsa) 1.0 μ Ci를 사용

하였다.

2. 실험방법 :

가. 쥐의 마취

Enflurane을 기도로 흡입시켜 마취시킨 뒤 기도내 약물을 투여하고 곧 깨워서 다음 실험때까지 쥐가 활동하도록 하였다. 기도내 약물 투여후 4시간 30분 뒤 Ketamine(90 mg/kg)과 Xylazine(7mg/kg)을 복강내 투여하여 마취를 유도한후 필요한 처지를 시행하였다.

나. 폐 모세혈관의 단백질 leak 정도비교

폐혈관으로부터 폐조직내로의 단백질누출의 정도를 측정하기위해 기도내로 생리식염수나 약물을 투여후 4시간 30분이 경과한 후 상기한 마취를 시행하고 I-125가 부착된 bovine serum albumin(BSA)1.0 μ Ci를 쥐의 정맥내에 주입하고 16-gauge stub adaptor tube를 주기관지에 삽입시킨다. I-125 BSA 주입후 20분이 경과한 뒤 쥐를 인공호흡기에 연결하고 개복 및 개흉술을 시행한 뒤 우심실을 통하여 헤파린 200단위를 주입한다. 주입후 30분이 경과되면 phosphate-buffered saline (PBS)으로서 폐를 관류시킨다. 이어서 양측 폐와 심장을 함께 떼어낸 뒤 우측 폐로 I-125의 크기를 측정하고 좌측폐로 myeloperoxidase(MPO)의 활성도를 측정하였다. 폐 단백질누출 지표는 우측폐내 I-125의 분당 측정량 대비 1mL의 혈중내 I-125의 분당 측정량의 비율로 정의하였다.

다. 폐조직내 호중구 침윤정도 비교

폐조직내 호중구의 침윤 정도는 폐장내 MPO의 활성도를 측정하여 비교하였다. 즉 상기 기술한 시술로서 얻은 좌측 폐는 추출 후 즉시 -70°C에 MPO측정시는 검체들을 녹인후 조직분쇄기(tissue homogenizer)로 4mL의 phosphate buffer와 함께 분쇄시킨후 Sorvall RC-5B refrigerated centrifuge로서 4

℃에서 30,000 x g로 30분간 원심분리한다. Pellet를 얻으면 이를 다시 4mL의 phosphate buffer와 0.5% hexadecyl-trimethylammonium bromide로서 잘 섞은후 다시 90초 동안 sonification시킨다. 잘게 부서진 검체는 조직 내 존재하는 MPO inhibitor를 불활성화 시키기 위해 60℃에서 2시간 동안 보온시킨 뒤 O-dianisidine을 이용한 분광광도법(spectrometry)으로서 MPO의 활성도를 측정하였다⁽¹⁵⁾.

라. 폐포 세척액내 호중구 수 비교

폐포 세척액은 최초약물 투여후 4시간 50분뒤에 마취를 유도한 후 기도내 16-gauge stub adaptor를 삽입하고 약물투여후 5시간에 기도내로 생리식염수 6mL을 넣은 후 되뿍아 모은 총폐포액을 검체로 사용하였다. 모은 폐포액은 원심분리 시킨후 leukocyte pellet를 만든후 이를 다시 1 mL의 상층액으로써 다시 섞은 후 hemocytometer로서 총 백혈구 숫자를 세고 cytopsin preparation으로 슬라이드를 만들어 Wright염색하여 호중구의 백분율을 계산하였다.

마. 폐포 세척액내 CINC의 측정:

폐포 세척액의 상층액내 CINC활성도의 측정은 sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 방법으로 측정하였다⁽¹⁶⁾. 간단히 설명하면 96-well plates (Immulon 2, Dynatech, Chantilly, VA)에 염소 항-CINC 항체(7 μg/mL, 100 μL/well, in 0.1 M NaHCO₃)를 붙인 뒤 실온으로 2시간 보온하였다. 다음에 기술된 각각의 처치후에는 plates를 실온에서 2시간 혹은 밤새둔 경우는 4℃에서 보온하였다. 각각의 well들을 염소 항-CINC항체로서 부착시킨 뒤 PBS-milk (5% nonfat dry milk in PBS)로서 차단시킨 후 항원을 넣는다. 항원을 넣은 후 2번째 항체로서 anti-CINC antibody [rabbit IL-8(rat) antiserum; dilutes 1:20,000 in PBS milk;

NIL-14233-V, Peptide International]를 넣은 후 H₂O₂ (8 μL, 30%)와 o-phenylenediamine (83 μg, 200 μL, in 0.1M Na₂HPO₄, 0.1 M citric acid, pH 5)를 첨가하고 이어서 항-토끼 IgG-horseradish peroxidase(605220, Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN; diluted 1:1,000 with PBS-milk)를 넣는다. 암실에 실온으로 5분에서 10분정도 보온후 4.5 M H₂SO₄ 50 μL를 투여하여 반응을 중지시킨 뒤 각 plate 들은 plate reader (model EL 340, Bio-Tek Instruments, Winooski, VT)로서 450nm에서 흡광도를 측정한다. 각 plate들마다 농도를 알고 있는 CINC 표준물질(범위:0.1에서 3.2 μg/mL)을 삼중으로 포함시켰다. 표준 CINC농도들로 구한 흡광도와 표준 농도사이에 표준함수식을 구한 뒤에 각 well 내의 흡광도를 대입하여 CINC 치를 구하였다.

3. 통계처리

정상대조군, TNF 치료군 및 히스타민 치료군 혹은 히스타민과 TNF 병용치료군 및 항히스타민 치료군사이의 치료 성적의 비교는 Kruskal-Wallis non-parametric ANOVA test를 시행 후 Dunn's multiple comparision test 로서 각 군사이의 차이를 비교하였고 정상대조군, IL-1 치료군 및 IL-1과 히스타민의 병용치료군 사이의 비교도 동일한 통계방법을 사용하였다. 두군사이의 비교는 Mann-Whitney U test 로서 검증하였다. 각 수치는 중간값과 범위로 표기하였다.

결 과

1)기도내 국소적으로 투여한 히스타민이 폐 MPO 활성도, 폐포내 호중구수 및 폐혈관 누출에 미친 영향 : TNF치료군은 정상군에 비하여 폐장내 MPO 활성도, 기관폐포액내 호중구 수 및 폐혈관의 누출이 더 높게 나타

났으며(각 $P < 0.001$), 히스타민 투여군은 11 및 $55 \mu\text{g/kg}$ 투여군에서 정상군에 비해 MPO 활성화도만이 높게 나타났다($P < 0.05$) (표 1,2).

2) 기도내 국소적으로 TNF 500 ng과 병합 투여한 히스타민이 폐 MPO 활성화도, 폐포내 호중구 수 및 폐혈관 누출에 미친 영향 :

Table 1. Effect of instilling histamine with various dose intratracheally on lung myeloperoxidase (MPO) activities.

	Saline	TNF	HIST(1.1 $\mu\text{g/kg}$)	HIST(11 $\mu\text{g/kg}$)	HIST(55 $\mu\text{g/kg}$)
Numbers	14	14	9	8	10
Median (Range, U/gm)	4.03 (1.6-7.38)	8.68 (2.79-18.47)	7.0 (2.7-12.0)	7.47 (1.2-10.39)	6.98 (2.71-22.1)
P-value		$P < 0.001^*$		$P = 0.0064^{**}$	$P < 0.05^*$

P-value* compared to saline treated group (Kruskal-Wallis Nonparametric ANOVA test with Dunn's multiple comparisons test)

P-value** compared to saline treated group (Mann-Whitney U test)

TNF : TNF 500 ng i. t.

Hist : Histamine i. t.

Table 2. Effect of instilling histamine with various dose intratracheally on lung lavage neutrophil numbers.

	Saline	TNF	HIST(1.1 $\mu\text{g/kg}$)	HIST(11 $\mu\text{g/kg}$)	HIST(55 $\mu\text{g/kg}$)
Number	10	12	4	4	3
Median (Range $\times 10^6/\text{mL}$)	0.004 (0-0.394)	0.07 (0.01-1.75)	0.079 (0.055-0.19)	0.059 (0.024-0.183)	0.09 (0-0.14)
P-value		$P < 0.005^*$			

* $P < 0.05^*$ compared to saline treated group (Mann-Whitney U test)

TNF : TNF 500 ng i. t.

Hist : Histamine i. t.

Table 3. Effect of instilling histamine with various dose intratracheally on lung leak.

	Saline	TNF	HIST(1.1 $\mu\text{g/kg}$)	HIST(11 $\mu\text{g/kg}$)	HIST(55 $\mu\text{g/kg}$)
Number	18	18	9	8	10
Median (Range $\times 10^6/\text{mL}$)	0.048 (0.031-0.066)	0.064 (0.046-0.078)	0.056 (0.04-0.062)	0.059 (0.032-0.065)	0.046 (0.031-0.121)
P-value		$P < 0.001^*$			

* $P < 0.001$ compared to saline treated group (Kruskal-Wallis Nonparametric ANOVA test with Dunn's multiple comparison)

TNF : TNF 500 ng i. t.

Hist : Histamine i. t.

폐장내 MPO 활성도는 기도내로 TNF와 병용투여한 히스타민 1.1, 11 및 55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 군 모두에서 정상군에 비해 증가되어 나타났으나 (각 $P < 0.001$) TNF 단독치료군에 비해서는 히스타민 11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 군에서만 MPO의 활성도가 증가되었다 ($P=0.0251$) (표 4). 기관지 폐포액내 호중구의 수는 히스타민 1.1, 11 및 55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 군에서 정상군 ($P < 0.01$) 에 비해 증가되어 나타났으며 1.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 군은 TNF 치료군에 비해서도 높게 나타났다 ($P=0.0367$) (표 5). 급성폐혈관 누출은 히스타민 1.1, 11 및 55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 군 모두에서 정상군에 비해 증가되었으나 ($p < 0.001$), TNF 치료군과는 차이가 없었다(표 6).

3) 기도내로 TNF와 히스타민을 병용치료한 군의 폐포 세척액내 CINC 활성도 :

TNF와 1.1, 11 및 55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이 병용투여된 군 모두에서 정상군에 비해 폐포 세척액내 CINC 활성도가 유의하게 증가되었다($P < 0.05$). 각군 모두를 nonparametric ANOVA test를 시행시는 TNF에 히스타민 1.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 과 55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 을 병용한 군들만이 대조군에 비해 증가되었다(표 7).

4) TNF 와 히스타민 (1.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 병용치료군에 정주한 항히스타민의 폐포 세척액내 호중구 수와 CINC치에 미친 효과 :

기도내로 투여한 TNF와 히스타민(1.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

Table 4. Effect of instilling histamine of various dose along with tumor necrosis factor- α intratracheally on MPO activities.

	Saline	TNF	T+H(1.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	T+H(11 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	T+H(55 $\mu\text{g}/\text{kg}$)
Number	14	14	22	19	17
Median (Range U/gm)	4.03 (1.6-7.38)	8.68 (2.79-18.47)	8.02 (5.04-20.07)	11.13 (4.89-31.14)	14 (4.9-26.00)
P-value		$P < 0.01^*$	$P < 0.01^*$	$P < 0.001^*, P < 0.05^{**}$	$P < 0.001^*$

P-value* compared to saline treated group (Kruskal-Wallis Nonparametric ANOVA test with Dunn's multiple comparison)

P-value** compared to TNF treated group (Mann-Whitney U test)

TNF : TNF 500ng i. t.

T+H : TNF (500ng) along with Histamine i. t.

Table 5. Effect of instilling histamine of various dose along with TNF intratracheally on lung lavage neutrophil numbers.

	Saline	TNF	T+H(1.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	T+H(11 $\mu\text{g}/\text{kg}$)	T+H(55 $\mu\text{g}/\text{kg}$)
Number	10	12	15	7	8
Median (Range $\times 10^6/\text{mL}$)	0.004 (0-0.394)	0.07 (0.01-1.75)	0.219 (0.031-3.83)	0.12 (0.046-0.324)	0.185 (0.079-2.91)
P-value		$P < 0.005^{***}$	$P < 0.001^*, P < 0.05^{**}$	$P < 0.05^{***}$	$P < 0.01^*$

P-value* compared to saline treated group (Kruskal-Wallis Nonparametric ANOVA test with Dunn's multiple comparison)

P-value** compared to TNF treated group (Mann-Whitney U test)

P-value*** compared to saline treated group (Mann-Whitney U test)

TNF : TNF 500ng i. t.

T+H : TNF (500ng) along with Histamine i. t.

Table 6. Effect of instilling histamine of various dose along with TNF intratracheally on lung lavage.

	Saline	TNF	T+H(1.1 μ g/kg)	T+H(11 μ g/kg)	T+H(55 μ g/kg)
Number	18	18	38	15	13
Median (Range)	0.048 (0.031-0.066)	0.064 (0.046-0.078)	0.064 (0.047-0.232)	0.07 (0.049-0.105)	0.062 (0.026-0.191)
P-value		P<0.01*	P<0.001*,P<0.05**	P<0.001*	P<0.001*

P-value* compared to saline treated group (Kruskal-Wallis Nonparametric ANOVA test with Dunn's multiple comparison)

P-value** compared to TNF treated group (Mann-Whitney U test)

TNF : TNF 500ng i. t.

T+H : TNF (500ng) along with Histamine i. t.

Table 7. Effect of instilling histamine of various dose along with TNF intratracheally on lung lavage cytokine-induced neutrophil chemoattractants (CINC) levels.

	Saline	TNF	T+H(1.1 μ g/kg)	T+H(11 μ g/kg)	T+H(55 μ g/kg)
Number	10	12	15	5	3
Median (Range, U/ml)	0.066 (0.032-0.143)	0.197 (0.002-0.491)	0.286 (0.039-0.679)	0.247 (0.148-0.304)	0.365 (0.179-0.824)
P-value		P<0.05**	P<0.01*	P<0.001**	P<0.05*

P-value* compared to saline treated group (Kruskal-Wallis Nonparametric ANOVA test with Dunn's multiple comparison)

P-value** compared to saline treated group (Mann-Whitney U test)

TNF : TNF 500ng i. t.

T+H : TNF (500ng) along with Histamine i. t.

Table 8. Effect of antihistamines co-treated intravenously with instilling histamine (1.1 μ g/kg) and TNF (500 ng) intratracheally on lung lavage neutrophil numbers

	Saline	TNF	T+H	T+H+R	T+H+M
Number	10	12	16	5	7
Median (Range $\times 10^6$ /mL)	0.004 (0-1.394)	0.070 (0.01-1.75)	0.289 (0.031-6.33)	0.062 (0.007-0.208)	0.093 (0.068-0.44)
P-value		P<0.005**	P<0.001*		

P-value* compared to saline treated group (Kruskal-Wallis Nonparametric ANOVA test with Dunn's multiple comparison)

P-value** compared to saline treated group (Mann-Whitney U test)

TNF : TNF 500ng i. t.

T+H : TNF (500ng) along with Histamine i. t.

T+H+R : TNF (500ng) along with Histamine i. t. along with Ranitidine 10 mg/kg i. v.

T+H+M : TNF (500ng) along with Histamine i. t. along with Mepyramine 10 mg/kg i. v.

Table 9. Effect of antihistamines co-treated intraveously with instilling histamine (1.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) and TNF (500 ng) intratracheally on lung lavage CINC levels.

	Saline	TNF	T+H	T+H+R	T+H+M
Number	10	12	15	5	7
Median (Range, U/mL)	0.066 (0.032-0.143)	0.197 (0.002-0.491)	0.286 (0.039-0.679)	0.189 (0.107-0.377)	0.162 (0.105-0.302)
P-value		P<0.05**	P<0.01*		

P-value* compared to saline treated group (Kruskal-Wallis Nonparametric ANOVA test with Dunn's multiple comparison)

P-value** compared to saline treated group (Mann-Whitney U test)

TNF : TNF 500ng i. t.

T+H : TNF (500ng) along with Histamine i. t.

T+H+R : TNF (500ng) along with Histamine i. t. along with Ranitidine 10 mg/kg i. v.

T+H+M : TNF (500ng) along with Histamine i. t. along with Mepyramine 10 mg/kg i. v.

kg)의 병용치료군에서 관찰된 폐포 세척액내 호중구 수와 CINC치가 TNF 단독치료군에 비해 증폭된 효과가 히스타민에 기인한 것인지를 검토하기 위하여 TNF 및 히스타민(1.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 병용치료군에 항히스타민제를 투여하였다. H_1 수용체차단제인 mepyramine과 H_2 수용체차단제인 ranitidine 투여군 모두 폐포세척액내 증폭되었던 호중구 수와 CINC치를 감소시켰다(P-값 >0.05) (표 8, 9)

5) 기도내 국소적으로 IL-1 (50 ng)과 병합 투여한 히스타민 (55 $\mu\text{g}/\text{kg}$)이 폐 MPO 활성도, 급성 폐혈관 누출에 미친 영향:

IL-1과 병용 투여한 히스타민은 정상군에 비해 MPO 활성도 및 급성 폐혈관 누출이 증가되었으나 (P< 0.05), IL-1 치료군과는 차이가 없었다 (표 10,11).

6) TNF와 히스타민 (11 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 병용치료 24시간 후에 측정된 폐혈관내 알부민의 폐장내 누출 :

TNF와 히스타민(11 $\mu\text{g}/\text{kg}$) 병용치료군에서 TNF 단독치료군에 비해 MPO활성도가 유의하게 증가되었으나 급성폐혈관 누출의 증가가 없는 것이 본 연구의 모형이 5시간 급성모형이므로 히스타민에 의해 폐장내로

Table 10. Effect of instilling histamine with with instilling interleukin (IL)-1 intratracheally on lung MPO activities

	Saline	IL-1	IL-1+H(55 $\mu\text{g}/\text{kg}$)
Number	12	36	4
Median (Range, U/gm)	2.67 (1.61-4.73)	17.96 (0.09-57.86)	11.15 (8.4-47.35)
P-value		P<0.001*	P=0.0011*

P-value* compared to saline treated group (Kruskal-Wallis Nonparametric ANOVA test with Dunn's multiple comparison)

IL-1: IL-1 50 ng i. t.

IL-1+H: IL-1 (50 ng) along with Histamine (55 $\mu\text{g}/\text{kg}$) i. v.

Table 12. Effect of instilling (11 ug/kg) with TNF intratracheally on lung leak after 24 h.

	TNF	TNF+H
Number	4	4
Median (Range)	0.091 (0.078-0.141)	0.098 (0.072-0.130)
P-value		P> 0.05*

P-value* compared to TNF treated group (Mann-Whitney U test) TNF : TNF 500 ng i. t. TNF+H : TNF (500 ng) along with Histamine (11 μ g/kg) i. t.

침윤된 호중구가 충분히 활성화되지 못했을 가능성을 배제하기 위하여 약물투여 24시간 뒤 급성 폐누출의 정도를 측정하였다. 24시간 모형에서도 히스타민 병용군과 TNF과 단독치료군 사이에 폐혈관내 알부민의 폐장내 누출은 차이가 없었다(표 12)

고 찰

본 연구의 결과에서 히스타민 11 및 55 μ g/kg을 백서의 기도내로 주입시 폐조직내로 호중구의 침윤은 증가되나 폐혈관의 누출이나 폐포 세척액내 호중구의 증가는 관찰되지 않았다. 이는 기도로 투여된 히스타민이 폐혈관속에 존재하던 호중구를 폐조직내로의 이동은 증가시켰으나 폐혈관 내피세포의 손상에 의해 유발되는 알부민의 조직내로의 누출이나 폐포 상피세포의 손상에 의한 폐포액내 호중구의 증가는 유도되지 않은 것으로 사료된다.

이에 대한 가능한 병리기전학적 설명은 생체의 실험에서 히스타민은 호중구의 화학운동성(chemokinesis)을 증가시키나 화학주성(chemotaxis) 능력은 감소시키며⁽¹⁷⁾, f-met-leu-phe에 의해 유도되는 호중구의 산화성 대사나 리소자임(lysozyme)이나 β -glucuronidase 같은 호중구 내용물의 분비를 억제시키는 것이 보고되어 있어⁽¹⁸⁾ 히스타민에 의해

호중구는 활성화되지 않고 단순히 폐조직내로의 이동만 증가되었을 가능성을 우선 생각할 수 있다. 또다른 기전으로는 생체의 실험에서 히스타민은 내피세포로부터 IL-8의 생성을 증가시키며 그 효과가 히스타민 투여후 4시간에 최고에 이른다는 보고⁽¹⁹⁾를 고려할 때 기도로 투여한 히스타민이 폐혈관 내피세포의 표면에 P-selection의 표현을 증가시키고^(11,12) 또한 IL-8의 생성을 증가시킴으로써 호중구의 폐조직으로의 이동이 증가되었으나 폐손상을 유도할 정도로 충분히 활성화되지는 못했을 가능성도 사료된다.

히스타민이 호중구의 폐조직내 유입을 증가시킬 수 있으므로 호중구를 활성화시킬 수 있는 물질과 병용투여시 폐내 유입이 증가된 호중구의 활성화가 증폭됨으로써 폐손상이 유도되는 현상을 관찰할 수 있을 것으로 추정할 수 있다. 본 연구에서는 TNF로 유도되는 백서의 급성폐손상 모형을 이용하였는데 그 이유는 첫째, TNF가 호중구를 매개하는 급성 폐손상을 유도하나^(20,21) 백서의 기도내로 TNF 500ng을 투여시 기도내로 투여한 IL-1 50 ng에 의해 유도되는 폐손상에 비해 그 정도가 경미하여 (Koh Y, Hybertson BM, Jepson EK, Repine JE: Tumor necrosis factor induced acute lung leak in rats: Less than with interelukin-1. under submission) 동일 종류의 백서에 TNF와 다른 물질을 병용시 TNF로 유도될 수 있는 폐손상이 증폭될 수 있는 잠재성이 있고, 둘째 TNF와 히스타민을 병용투여시 TNF로 유도되는 keratinocyte의 intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)의 표현이 증폭되므로⁽²²⁾ 이러한 효과가 폐혈관 내피세포에도 일어날 경우 호중구의 폐침윤이 더욱 많이 일어날 가능성이 있으며, 셋째, 혈관 내피세포에 히스타민을 단독투여할 때보다 TNF와 히스타민을 병용투여시 IL-8 생성을 증폭시키는 것으로 알려져 있기 때문이었다⁽¹⁹⁾. 본연구에서 여러농도의 히스타민과

TNF를 병용치료할 경우 폐조직내 MPO의 활성도가 증가되고 폐포 세척액내 호중구의 증가가 관찰되며 또한 백서의 IL-8으로 사료되는⁽²³⁾ CINC 활성도가 증가되는 경향을 보이나 혈중내 알부민의 폐내 누출은 증가되지 않았다. 폐포 세척액내 호중구의 수가 증가된 기전으로는 히스타민에 의해 TNF로 유도되는 폐조직 및 폐포강내로의 호중구의 이동작용이 증폭되었거나 혹은 폐혈관 내피세포 등에서 생산이 증폭된 IL-8의 작용에 의하여^(19,23,24) 호중구의 폐조직 및 폐포강내로 이동이 증가되었을 가능성을 시사한다. 다른 가능성으로는 폐포 세척액내 CINC 활성도가 함께 증가되는 경향이 관찰되므로 기도로 TNF와 함께 투여된 히스타민이 폐포 대식세포 등에서 IL-8 혹은 CINC 생성을 증가시킴으로서^(25,26) 폐조직에서 폐포강내로 호중구의 이동을 증가시켰을 가능성도 배제할 수 없다. 히스타민을 병용투여시 혈관내 알부민의 누출이 더 이상 증가되지 않은 것은 TNF로 유도된 폐혈관 내피세포의 손상이 증폭되지 않은 것을 의미한다. 이에대한 기전으로서 우선 본 연구의 모형이 5시간 관찰모형이므로 히스타민과 TNF의 호중구에 대한 상호작용이 충분히 이루어지지 못했을 가능성을 배제하기 위해 TNF 단독치료군에 비해 폐조직내로 호중구의 유입을 유의하게 증폭시킨 히스타민 11 μ g/kg 병용치료군을 24 시간 뒤에 폐혈관 누출의 크기를 측정하였다. 그결과 히스타민 병용치료군과 TNF 단독치료군 사이에 폐혈관 누출의 차이가 없는 것으로 나타나 히스타민과 TNF의 호중구에 대한 상호작용이 충분히 이루어지지 못하여 폐혈관의 누출이 증폭되지 않았을 가능성은 적을 것으로 사료된다. 다른 가능성은 호중구의 이동과 활성화가 동시에 일어나지 않았거나 히스타민이 호중구의 탈과립을 저해하는 효과⁽¹⁸⁾가 있으므로 히스타민에 의해 증폭된 IL-8 혹은 CINC 등의 호중구에 미친 영향이 상쇄되었을 가능성도 있다. 이러한 결과들은 TNF로

유도되는 백서의 5시간 급성 폐손상모형에서 히스타민이 급성 폐손상의 중요한 지표인 폐혈관 누출의 증가를 보이지 않음으로서 히스타민에 의한 폐손상의 증폭작용은 없는 것을 시사하는 것으로 사료된다. 이는 TNF에 비해 훨씬 강력한 폐손상을 유도하는 IL-1에 히스타민을 병용투여한 경우에서도 히스타민에 의한 폐조직내 MPO 활성도 및 폐혈관의 알부민 누출이 증폭되지 않았던 본연구의 결과에서도 이러한 추정을 뒷받침하는 것으로 사료된다.

본연구에서 관찰된 히스타민에 의해 증폭된 폐포 세척액내 호중구수는 H₁ 및 H₂ 수용체들의 차단제에 의해 감소됨으로서 이러한 증폭작용이 히스타민에 의한 것임을 보여주었다. 히스타민에 의한 조직내 호중구의 침윤은 IL-8과 병용시는 H₁ 수용체 차단제에 의해서만 차단되어 H₁ 수용체의 활성화에 의한 것으로 보고되었고⁽¹³⁾, 히스타민에 의해 유도되는 호중구 활동성 (chemokinesis)의 증가도 H₂ 수용체의 활성화에 의한 것⁽¹⁷⁾으로 알려져 있다. 반면 내피세포에서 히스타민이 IL-8의 생성을 증가시키는 효과는 H₁ 및 H₂ 수용체 차단제 모두에 의해 차단되는 것으로 알려져 있으며⁽¹⁹⁾ 본연구에서도 H₁ 및 H₂ 수용체차단제 모두에서 히스타민에 의해 유도된 폐포세척액내 CINC생성의 증가가 감소되는 것이 관찰되었다.

호중구가 급성 폐손상을 유도하기 위해서는 우선 호중구의 폐 조직내 침윤이 일어나야 하며 또한 호중구가 활성화되어야 한다. 즉 IL-8 등과 같은 주화물질에 의하여 혈류내 호중구가 혈류의 흐름으로부터 분리되어 폐혈관 내피세포에로 굴림(rolling)이 일어나고 이어서 단단하게 부착된 뒤 혈관 내피세포를 통과하여 폐조직내로 침윤되어야 하며 이러한 과정 중 활성화되어야 한다. 혈류내 호중구가 혈관내피 세포와 상호작용이 일어나는 과정에는 integrin이나 ICAM 및

selectin 등과 같은 유착분자(adhesion molecule)들이 관여한다⁽²⁷⁾. Selectin 중 P-selectin은 호중구의 폐조직내로의 이동과정 중 첫번째인 rolling에 관여하며 혈소판이나 혈관내피 세포내에 기왕에 생성된 물질로서 존재하다가 히스타민 등에 의해 수분내에 세포 표피내에 재분포하는 것으로 알려져 있다(28,19). 급성 폐손상이 호중구에 의해 유도되기까지의 일련의 과정에서 본연구의 결과로 추정할 수 있는 것은 히스타민 등의 물질에 의해 폐조직내로 호중구가 모여들어 호중구의 활성도가 과자극되지 않는 한 급성 폐손상의 현상은 일어나지 않는다는 점이다. 이는 대부분의 급성 폐염환자들은 폐조직내 호중구가 모여들어도 세균을 탐식하여 질병으로부터 신체를 보호할뿐 급성 폐손상으로 유도하지는 않는 점에서도 관찰된다.

ARDS는 집중치료의 여러 가지 발전에도 불구하고 그 사망율이 50%이상을 상회하며 치료방법에 있어서도 호흡보조요법과 호흡부전을 초래한 원인질환의 치료외에는 병리기전에 근거한 특이치료가 확립되지 못하고 있다. 이는 ARDS의 병리기전이 완전히 규명되지 않았기 때문이다. 히스타민은 폐혈관주위의 비만세포내에 풍부하게 분포하며 ARDS의 중요한 매개물질로 간주되는 IL-1이나 8과 같은 cytokine 사이에 상호작용이 알려져 있다. 또한 혈관 내피표면에 P-selectin의 표현을 증가시키며 패혈증으로 유도한 porcine의 급성 폐손상모형에 항 히스타민제와 prostaglandin 차단제를 병용 투여하면 porcine의 생존기간을 증가시키는 것으로 알려져 있어⁽¹⁴⁾ ARDS의 병리기전에 관여할 가능성이 크다. 본연구의 결과로서 백서의 기도내로 국소적으로 히스타민을 단독으로 투여 시도 5시간 이내에 폐조직내 호중구의 침윤이 증가되고 TNF로 유도된 폐조직내 호중구의 침윤이나 기관폐포액내 호중구 수의 증가를 히스타민이 증폭시키나 폐혈관내 알부민의 폐조직내 누출의 증폭작용이 없고 IL-1으

로 유도된 폐손상에도 급성 폐손상의 증폭작용이 관찰되지 않으므로 TNF나 IL-1으로 유도되는 급성 폐손상에 히스타민 병용투여에 의한 폐손상의 증폭작용은 없을 것으로 사료되었다.

요 약

연구배경 : 히스타민은 폐혈관주위의 비만세포내에 풍부하게 분포하나 아직까지 급성 폐손상의 병리기전에 있어 히스타민의 역할에 대해서는 규명되어 있지 않았다. 히스타민은 IL-1이나 IL-8과 같은 cytokine 사이에 상호작용이 있고 혈관내피 표면에 P-selectin의 표현을 증가시키는 것으로 알려져 있다. 이에 저자들은 건강한 백서의 기도내로 히스타민을 투여시 폐조직내로 호중구의 침윤이 증가되며 히스타민과 TNF를 병용 투여서는 TNF 단독 투여서보다 폐장내 호중구의 침윤이 증폭되고 폐손상의 정도가 증가될 것으로 가정하였다.

방법 : 몸무게 270-370gm인 Sprague-Dawley 쥐를 사용하여 정상군은 생리식염수 0.5mL을, 치료군은 체중 1Kg 당 1.1 μ g, 11 μ g 및 55 μ g의 히스타민을 단독 혹은 TNF 500ng과 함께 병용하여 기도내로 투여하거나 히스타민 55 μ g과 IL-1 50ng을 병용투여 한 뒤 5시간 뒤에 폐조직내 myeloperoxidase(MPO) 활성도와 폐포액내 호중구 수 및 쥐의 IL-8으로 고려되는 cytokine-induced neutrophil chemoattractant(CINC)의 활성도 그리고 폐혈관내 알부민의 폐조직내로의 누출을 측정하였다. 또한 TNF와 히스타민을 병용투여한 뒤 TNF와 히스타민 병용치료군에 항히스타민제를 경정맥내로 주입한 뒤 동일한 방법으로 각 지표들을 측정하여, 관찰된 상승효과가 차단되는지를 보았다.

결과 : 1) TNF치료군은 정상군에 비하여

폐장내 MPO 활성도, 기관폐포액내 호중구 수 및 폐혈관의 누출이 더 높게 나타났으며 (각 $p < 0.001$), 히스타민 투여군은 11 및 55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 투여군에서 정상군에 비해 MPO 활성도만이 높게 나타났다($p < 0.05$)

2) 폐장내 MPO 활성도는 기도내로 TNF와 병용투여한 히스타민 1.1 μg 군, 11 μg 군 및 55 μg 군 모두에서 정상군에 비해 증가되어 나타났으며(각 $p < 0.001$) 히스타민 11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 병합투여군에서는 TNF 단독치료군에 비해서도 높게 나타났다($p = 0.0251$). 기관폐포액내 호중구의 수는 히스타민 1.1, 11 및 55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 군 모두에서 정상군($p < 0.05$)에 비해 증가되어 나타났으며 1.1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 군은 TNF 단독치료군에 비해서도 높았다($p = 0.0367$). 급성폐혈관 누출은 히스타민 1.1 μg 군, 11 μg 군 및 55 μg 군에서 정상군에 비해 증가되었으나($p < 0.001$), TNF 치료군과는 차이가 없었다.

3) TNF와 히스타민 1.1, 11 및 55 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이 병용투여된 군 모두에서 정상군에 비해 폐포세척액내 CINC 활성도가 유의하게 증가되었다(각각 $p < 0.01$ 및 < 0.05)

4) H₁ 수용체차단제인 mepyramine과 H₂ 수용체차단제인 ranitidine 투여군 모두 폐포세척액내 증폭되었던 호중구 수 및 CINC의 활성도를 감소시켰다(각각 $p > 0.05$)

5) IL-1과 병용 투여한 히스타민은 정상군에 비해 MPO 활성도 및 급성 폐혈관 누출이 증가되었으나($p < 0.05$), IL-1 치료군과는 차이가 없었다.

결론 : 본연구의 결과로서 백서의 기도내로 국소적으로 히스타민을 투여시 5시간 이내에 폐조직내 호중구의 침윤이 증가되고 TNF로 유도된 폐조직내 MPO 활성도 및 기관폐포액내 호중구 수의 증가가 증폭되나 폐혈관내 알부민의 폐장내 누출의 증폭작용이 없고 IL-1으로 유도된 폐손상에도 급성 폐손상의 증폭작용이 관찰되지 않으므로 TNF나 IL-1으로 유도되는 급성 폐손상에 히스타민 병용

투여에 의한 폐손상의 증폭작용은 없을 것으로 사료되었다.

참 고 문 헌

1. 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* **341**: 643, 1993
2. Leff JA, Baer JW, Bodman ME, Kirkman JM, Shanley PF, Patton LM, Beehler CJ, McCord JM, Repine JE: Interleukin-1-induced lung neutrophil accumulation and oxygen metabolite-mediated lung leak in rats. *Am J Physiol* **266**(Lung Cell Mol Physiol **10**: L2, 1994
3. Jacobs RF, Tabor DR, Burks AW, Campbell GD: Elevated interleukin-1 release by human alveolar macrophages during the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* **140**: 1686, 1989
4. Siler TM, Swierkosz JE, Hyers TM, Fowler AA, Webster RO: Immunoreactive interleukin-1 in bronchoalveolar lavage fluid of high-risk patients and patients with the adult respiratory distress syndrome. *Exp Lung Res* **15**: 881, 1989
5. Suter PM, Suter S, Girardin E, Roux-Lombard P, Grau GE, Dayer J: High bronchoalveolar levels of tumor necrosis factor and its inhibitors, interleukin-1, interferon, and elastase in patients with adult respiratory distress syndrome after trauma, shock, or sepsis. *Am Rev Respir Dis* **145**: 1016, 1992
6. Miller EJ, Cohen AB, Nagao S, Griffith D, Maunder J, Martin TR, Weiner-Kronish JP, Sticherling M, Christophers E, Mattay MA: Elevated levels of NAP-1/interleukin-8 are present in the airspaces of patients with the adult respiratory distress syndrome and are associated with increased mortality. *Am Rev*

- Respir Dis **146**: 427, 1992
7. Koh Y, Hybertson BM, Jepson EK, Cho OJ, Repine JE: Cytokine-induced neutrophil chemoattractant is necessary for interleukin-1-induced lung leak in rats. *J Appl Physiol* **79**: 472, 1995
 8. Okamoto H, Nakano K: Regulation of interleukin-1 synthesis by histamine produced by mouse peritoneal macrophages per se. *Immunol* **69**: 162, 1990
 9. Subramanian N, Bray MA: Interleukin 1 releases histamine from human basophils and mast cells in vitro. *J Immunol* **138**: 271, 1987
 10. Alam R, Welter JB, Forsythe PA, Lett-Brown MA, Grant JA: Comparative effect of recombinant IL-1, -2, -3, -4 and -6, INF-r, granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor, tumor necrosis factor and histamine-releasing factors on the secretion of histamine from basophils. *J Immunol* **142**: 3431, 1989
 11. Jones DA, Abbassi O, McIntire LV, McEver RP, Smith CW: P-selectin mediates neutrophil rolling on histamine-stimulated endothelial cells. *Biophys J* **65**: 1560, 1993
 12. Kubes P, Kanwar S: Histamine induces leukocyte rolling in post-capillary venules. A P-selectin-mediated event. *J Immunol* **152**: 3570, 1994
 13. Perretti M, Harris TG, Flower RJ: A role for endogenous histamine in interleukin-8-induced neutrophil infiltration into mouse air-pouch: investigation of the modulatory action of systemic and local dexamethasone. *Br J Pharmacol* **112**: 801, 1994
 14. Byrne K, Sielaff TD, Michna B, Garey PD, Blocher CR, Vasquez A, Sugerman HJ: Increased survival time after delayed histamine and prostaglandin blockade in a porcine model of severe sepsis-induced lung injury. *Crit Care Med* **18**: 303, 1990
 15. Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF: Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. *Gastroenterology* **87**: 1344, 1984
 16. Witter AJ, Carr LS, Zagorski J, Dolecki GJ, Cripps BA, De Larco JE: High-level expression of cytokine-induced neutrophil chemoattractant(CINC) by a metastatic rat cell line: purification and production of blocking antibodies. *J Cell Physiol* **156**: 421, 1993
 17. Anderson R, Glover A, Rabson AR: The in vitro effects of histamine and metiamide on neutrophil motility and their relationship to intracellular cyclic nucleotide levels. *J Immunol* **118**: 1690, 1977
 18. Seligmann BE, Fletcher MP, Gallin JI: Histamine modulation of human neutrophil oxidative metabolism, locomotion, degranulation, and membrane potential changes. *J Immunol* **130**: 1902, 1983
 19. Jeannin P, Delneste Y, Gosset P, Molet S, Lassalle P, Hamid Q, Tsiopoulos Am, Tonnel AB: Histamine induces interleukin-8 secretion by endothelial cells. *Blood* **84**: 2229, 1994
 20. Ferrari-Baliviera E, Mealy K, Smith RJ, Wilmore D: Tumor necrosis factor induces adult respiratory distress syndrome in rats. *Arch Surg* **124**: 1400, 1989
 21. Stephens KE, Ishizaka A, Wu Z, Larick JW, Raffin TA: Granulocyte depletion prevents tumor necrosis factor-mediated acute lung injury in guinea pigs. *Am Rev Respir Dis* **138**: 1300, 1988
 22. Mitra RS, Shimizu Y, Nickoloff BJ: Histamine and cis-urocanic acid augment tumor necrosis factor alpha mediated induction of keratinocyte intercellular adhesion molecule-1 expression. *J Cell Physiol* **156**: 348, 1993
 23. Watanabe K, Koizumi F, Kurashige Y, Tsurufuji S, Nakagawa H: Rat CINC, a member of the interleukin-8 family, is a neutrophil-specific chemoattractant in vivo. *Exp Mol Patho* **55**: 30, 1991
 24. Kunkel SL, Standford T, Kasahara K, Strieter

- RM: Interleukin-8 (IL-8): The major neutrophil chemotactic factor in the lung. *Exp Lung Res* **17**: 17, 1990
25. Baggiolini M, Walz A, Kunkel SL: Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils. *J Clin Invest* **84**: 1045, 1989
26. Huang S, Paulauskis JD, Kobzik L, Rat KC: cDNA cloning and mRNA expression in lung macrophages and fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* **184**: 922, 1992
27. Talbott GA, Sharar SR, Harlan JM, Winn RK: Leukocyte-endothelial interactions and organ injury: the role of adhesion molecules. *New Horizons* **2**: 545, 1994
28. Dore M, Korthuis RJ, Granger DN, Entman ML, Smith CW: P-selectin mediates spontaneous leukocyte rolling in vivo. *Blood* **82**: 1308, 1993
29. Mulligan MS, Polley MJ, Bayer RJ, Nunn MF, Paulson JC, Ward PA: Neutrophil-dependent acute lung injury: Requirement for P-selectin (GMP-140). *J Clin Invest* **90**: 1600, 1992