□ 학회지원 연구보고 □

Steroid가 흰쥐의 bleomycin에 의한 폐섬유증에 미치는 영향

—기관지 폐포세척액 세포관찰소견, 폐병리조직학적 소견 및

폐내 섬유소 함량 측정 결과—

인제의대 서울백병원 내과학교실

김 동 순

서울대학교 의과대학 병리학과학교실

함 의 근

내과학교실

심 영 수

= Abstract =

The Effect of Steroid on the Bleomycin-Induced Pulmonary Fibrosis in Rat

—Analysis of Cell Patterns in the Bronchoalveolar Lavage Fluid, Histopathologic Findings and Total Collagen Content of the Lung—

Dong Soon Kim, M.D

Department of Internal Medicine, Inje Medical College, Paik Hospital, Seoul

Euy Geun Ham, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine, Seoul National University

Yong Soo Shim, M.D.

Department of Internal Medicine

To study the effect of steroid on bleomycin-induced pulmonary fibrosis, serial bronchoalveolar lavages (BAL) were done with histopathologic examination and the measurement of total hydroxyproline content of the lung after the intratracheal instillation of bleomycin in the rats. The animals were divided into 3 groups: control group received intratracheal injection of normal saline only, bleomycin group received intratracheal injection of 1.0mg of bleomycin and prednisolone group received daily injection of solumedrol (18mg/kg) in addition to intratracheal injection of bleomycin. We found:

1) In bleomycin group, total cell counts in BAL fluid was significantly increased from one day to 7days after the bleomycin administration. The percentage of neutrophils was also elevated to 23.7%

on one day after bleomycin and it remained to be higher than control group until 2 weeks after the bleomycin. The percentage of lymphocytes began to increase from 3 days after the bleomycin and it was persistently high until 2 weeks after the bleomycin. In prednisolone group, total cell counts and the percentage of neutrophils were the same as bleomycin group. But in the prednisolone group, the percentage of lymphocytes was significantly lower than the bleomycin group from one week to 2 weeks after the bleomycin injection.

2) In bleomycin group, from one day after bleomycin administration, patchy areas of interstitial edema with infiltration of neutrophils and monocytes were found and these inflammatory change was more progressive with time. At one week after bleomycin administration, reticulin condensation and collagen deposition was observed for the first time. Later on, inflammatory change began to subside but fibrotic change was more evident. In prednisolone group, essentially similar changes were found but the degree and extent of fibrosis seemed to be much less than bleomycin group.

3) In bleomycin group the total hydroxyproline content of the lung was significantly increased than the control group from one week after the bleomycin injection. In prednisolone group, the collagen content of the lung was lower than bleomycin group at all times and at 6 weeks after bleomycin injection, the difference between prednisolone group and bleomycin group was statistically significant. These results suggest that steroid can reduce the degree of pulmonary fibrosis induced by bleomycin and the antiinflammatory action of steroid may not be the main mechanism of steroid effect. But steroid may act through the reduction in lymphocyte reaction in the lung.

서 론

Bleomycin은 편평상피암등의 악성종양의 치료에 많이 사용되고 있는 항암제이나 간질성 폐섬유증의 발생으로 인해 그 사용이 제한되고있다^{1,2)}. Bleomycin에 의한 간질성폐섬유증은 병리조직학적 및^{3~5)} 폐기능 변화뿐만 아니라^{6~8)}, 기관지폐포세척 (BAL로 약칭) 액소견등^{4~12)} 여러가지가 인체에서 발생하는 특발성 간질성폐섬유증(I. P.F.로 약칭)과 비슷하므로, 이 질병의 model로 많이 연구되고 있다. IPF는 처음 폐포염으로부터 시작해서 폐섬유증으로 진행해 결국 폐부전으로 사망하게되는 병으로서 현재까지는 원인은 확실히 밝혀지지 않았으나 면역기전이 관여하리라고 추측되어, 일단 진단이 되면 steroid나 cytoxan같은 면역억제제가 시도되고 있다^{13~19)}. 그러나 이들 약제가 정말 효과가 있는지는 불분명하며, 이 경우 장기치료가 필요하므로 이들 약제의 부작용도 문제가 된다. 그러나 실제 환자들에서 치료효과판정은 자각적증상이나 X-선소견, 폐기능검사의 변화등에 의존하게 되는데 이들은 모두 병의 중증도를 정확히 반영하지 못한다고 알려져 있으며^{15,18,20)}, 그렇다고 치료효과판정을 위해 개흉 폐 생검을 반복하기는 힘들다. 이같이 steroid치료의 효과판정이 임상적으로 용이하지 못하고, 또 불확실하므로 저자들은 흰쥐의 bleomycin에

의한 폐섬유증 model을 이용하여, steroid가 폐섬유증 발생에 영향을 줄 수 있는지를 병리조직학적으로도 비교하고, 이보다 더 정량적인 방법으로 폐내 섬유소함량을 측정하여 비교하였다. 또한 steroid가 효과가 있다면, 그 기전이 steroid의 소염작용으로 인한 초기 폐포염의 감소에 의한 것인지, 아니면 steroid에 의한 섬유소 대사변화가 주기전인지를 병리조직학적변화와 함께, 정량적인 BAL내 세포변동을 비교함으로써 규명하여 보고자 본 실험을 실시 하였다.

방 법

1. 대 상

서울대학교 동물사육장에서 계대배양한 순종 Sprague-Dawley 흰쥐를 사용하였으며 섬유소측정을 시행한 1주군부터 6주군까지는 체중이 70 ± 5 gm의 쥐를 사용하였고, 4시간, 1일 및 3일군은 너무 작은 쥐에서는 BAL을 시행하기 힘들기 때문에 120 gm정도의 쥐를 사용 하였다.

2. 방 법

실험동물들은 실험시작 3일전부터 털등을 소독한 후, "수공양행"에서 제조한 무균동물사육장치(laminar flow apparatus) 내에서 다른 동물과 격리하여 비교적

무균적으로 사육하였다. 개개의 쥐장 및 톱밥, 음료수 등은 전부 증기소독하였으며, 사료도 방사선 조사로 멸균시킨후 투여하였으며, 기관투여후에는 2주일간 penicillin과 kanamycin을 투여 하였다.

1) 실험군

동물은 3군으로 분류하여 대조군에는 무균 생리식염수 0.2ml만을 기관내 투여하였고, bleomycin군에는 bleomycin(일본 Nippon Kayaku회사) 1.0mg을 생리식염수 0.2ml에 혼합하여 기관내에 투여하였으며, prednisolone군에는 같은 방법으로 bleomycin을 동량기관내 투입 후 2주일간 solumedrol (Upjohn Co. U.S.A.)을 18mg/kg를 매일 근육주사 하였다.

2) 실험방법

기관내 주사는 동물을 pentotal로 (25 mg/100 gm) 가별게 마취한 후 경부 절개로 기관을 노출시키고, 직접 눈으로 보면서 bleomycin이나 생리식염수를 기관내에 투여하였고, 모든 조작은 무균적으로 시행하였다. 기관내 주사후 4시간, 1일, 3일, 7일, 2주, 4주 및 6주에 다시 동물을 다량의 pentothal로 마취한 후 전에 보고한 바와 같은 방법으로 BAL을 실시하여 총세포수 및 세포감별 산출을 시행하였다²¹⁾. BAL이 끝난 후, 우측폐는 기관지를 통해 10% 중성 formalin을 주입하여 팽창시킨후에 formalin액에 넣어 고정하였다. 폐문부를 포함한 중심부위 및 주변부위에서 폐 한엽당 2~3개의 절편을 만들었고 한 절편은 폐엽전체를 포함시켰다. Paraffin 포매법으로 5μ 두께로 박절한 후에 Hematoxylin-eosin염색, 망상섬유염색 및 Masson-trichrome염색을 하여 관찰하였다. 각군에서 조직학적 변화의 정도를 비교하기 위하여 조직학적 소견의 반정량적 검사를 시도 하였다. 우선 병변의 범위가 전체 폐의 1/3이하인 경우를 (+), 1/3에서 2/3사이면 (#), 2/3이상인 경우는(##)로 하였고, 병변의 정도는 경증(+), 중증도(#) 및 고도(##)로 표기 하였다.

3) 섬유소원 측정

BAL이 끝난 직후에 좌측폐를 절제하여 기관 및 기관

지를 전부 제거한 후, 즉시 -70℃에 냉동 보존하였다. 섬유소원 측정시에는 조직을 동결건조시킨 후에 무게를 측정하고 Woessner방법으로 hydroxyproline함량을 측정하였다²²⁾. 방법을 간단히 기술하면, 먼저 건조된 폐조직을 6N. HCl로 180℃에서 13시간 가수분해를 한 다음에 NaOH로 중화하고 chloramine T로 hydroxy-proline을 산화시킨다. 다음에 p-dimethyl aminobenzaldehyde를 첨가해 발색반응을 시킨 후에 557 mμ에서 분광광도측정을 하였다.

4) 통계처리

각군간의 통계학적 유의성은 Student t-검정법으로 검정 하였다.

결 과

1. 기관지폐포세척액 소견

각 실험군에 사용된 동물의 수효는 Table 1과 같다.

BAL액내 총 세포수는 대조군이 약 2×10^6 개 정도인데 비해 bleomycin투여군에서는 4시간 이후부터 세포수가 증가하는 추세를 보였고, bleomycin투여 후 1일, 3일 및 1주일 후에는 3.8×10^6 , 4.85×10^6 개로 통계학적으로도 유의한 차이를 보였다. 이러한 세포수의 증가는 2주일후부터는 감소하기 시작하였다.

Prednisolone군에서도 비슷하게 3일 및 1주일에 4.4×10^6 , 3.1×10^6 개로 역시 대조군보다 유의있게 증가하였으며, bleomycin군과 prednisolone군 사이에는 전혀 차이가 없었다(Table 2, Fig. 1).

BAL액내의 세포변동중에 가장 뚜렷한 변화를 보인 것은 호중구의 백분율로서 대조군에서는 호중구가 전체 세포의 1% 미만인데 비해 bleomycin투여후 1일에는 23.7%로 심한 증가를 보였으며, 1주일후부터는 정도가 감소하기 시작하였으나 2주일후까지도 의미있게 증가된 상태를 유지하였다. 이러한 호중구의 증가는 prednisolone군에서도 같은 추세로 관찰되었고, 양군간에 유의있는 차

Table 1. Number of Animals Used for the Bronchoalveolar Lavage Experiment

	4 Hours	1 Day	3 Days	7 Days	2 Weeks	4 Weeks	6 Weeks
Control	5	5	5	6	7	5	5
Bleomycin	6	8	5	7	6	7	6
Prednisolone	8	8	7	7	7	6	7

Table 2. Number of Total Cells in the Bronchoalveolar Lavage Fluid

(X10⁶ cells)

Time Group	4 Hours	1 Day	3 Days	7 Days	2 Weeks	4 Weeks	6 Weeks
Control	2.11 ± 0.80	2.19 ± 0.77	1.73 ± 0.36	1.39 ± 0.79	2.14 ± 1.13	1.94 ± 1.45	2.43 ± 1.20
Bleomycin	3.84 ± 1.66	3.80 ± 1.24*	4.85 ± 1.43*	3.57 ± 1.51*	3.10 ± 0.81	3.57 ± 1.20	2.52 ± 0.93
Prednisolone	2.95 ± 0.86	2.67 ± 1.69	4.42 ± 1.08*	3.10 ± 1.26	2.26 ± 0.91	2.35 ± 1.34	2.66 ± 0.84

* Indicates P < 0.05 compared to the control group

Fig. 1. Change of the number of total cells in the bronchoalveolar lavage fluid. Values are mean $\pm$ S.E.M. Asterisk (*) represents $p < 0.05$ compared to the control group. The total number of cells in the bronchoalveolar lavage fluid is significantly increased from one day to 7 days after the bleomycin injection both in the bleomycin group and prednisolone group.

이는 없었다(Table 3, Fig. 2).

호중구 같이 정도가 심하지는 않았으나 BAL액내 임파구의 백분율도 bleomycin투여후에 뚜렷한 증가를 보였다. 임파구의 변화는 호중구보다는 늦게 시작되어 3일 후부터 약 4%정도로 대조군의 1%에 비해 유의하게 증가되었으며, 이러한 증가는 bleomycin투여 후 2주일까지 지속되었다. Prednisolone군에서는 임파구가 3일 후에 일시적으로 3%로 증가되었으나 곧 1주일 후부터는 대조군과 같은 정도로 회복되었으며, 1주일 및 2주일에 BAL액에 임파구의 백분율은 prednisolone군에서, prednisolone없이 bleomycin만 주입한 bleomycin군에 비해 유의하게 감소된 것이 관찰되었다(Table 4, Fig.

3). 즉 BAL소견상 prednisolone에 의한 유일한 효과는 1주일 및 2주일에 bleomycin에 의한 임파구의 증가가 prednisolone 투여로 억제된 것이다.

2. 병리조직학적 소견

Bleomycin투여후에 폐의 모든 폐엽에 걸쳐 병리조직학적으로 변화가 관찰되었으나, 그 소견은 미만성이기보다는 초점성으로 관찰되었다. Bleomycin투여후 4시간 군에서는 간질내 호중구의 경한 침윤이 극히 드물게 관찰되었을 뿐이며 그밖에 뚜렷한 병리조직학적변화는 없었다. 그러나 투여후 24시간군에서는 폐포벽의 심한 손상과 호중구 및 대식세포의 폐포벽침윤과 폐포내출혈이

Table 3. Percentage of Neutrophils in the Bronchoalveolar Lavage Fluid

(%)

	4 Hours	1 Day	3 Days	7 Days	2 Weeks	4 Weeks	6 Weeks
Control	0.7 ± 0.7	0.7 ± 0.4	0.3 ± 0.3	0.5 ± 0.4	0.5 ± 0.6	0.3 ± 0.2	1.1 ± 1.3
Bleomycin	2.2 ± 1.7	23.7 ± 10.6*	13.1 ± 3.4*	6.5 ± 2.8*	2.5 ± 1.7*	1.7 ± 1.6	1.5 ± 0.8
Prednisolone	1.6 ± 1.1	20.6 ± 17.2*	21.2 ± 12.0*	4.5 ± 4.8*	1.9 ± 1.2*	1.2 ± 1.7	0.8 ± 0.8

* Indicates $P < 0.05$ compared the control group

Fig. 2. Percentage of the neutrophils in the bronchoalveolar lavage fluid. Values are mean ± S.E.M. Asterisk (*) represents $p < 0.05$ when compared to the control group. Neutrophils are increased in the bronchoalveolar lavage fluid from one day to 2 weeks after the intratracheal injection of the bleomycin in both bleomycin group and prednisolone group.

Table 4. Percentage of Lymphocytes in the Bronchoalveolar Lavage Fluid

(%)

	4 Hours	1 Day	3 Days	7 Days	2 Weeks	4 Weeks	6 Weeks
Control	1.5 ± 0.6	1.4 ± 0.8	1.1 ± 0.7	1.0 ± 0.4	1.5 ± 0.9	1.3 ± 1.1	1.5 ± 0.7
Bleomycin	1.6 ± 0.7	2.0 ± 1.0	4.2 ± 1.0*	4.5 ± 2.6*	4.4 ± 2.0*	2.9 ± 1.3	1.0 ± 0.3
Prednisolone	1.2 ± 1.9	1.1 ± 1.0	3.0 ± 2.3*	1.8 ± 1.4**	0.6 ± 0.6**	2.1 ± 2.3	1.1 ± 1.0

* Indicates $P < 0.05$ compared to the control group

** Indicates $P < 0.05$ compared to the bleomycin group

관찰되었다. Bleomycin투여후 3일에는 간질 및 폐포내 염증성병변이 가장 심하였으며, 침윤세포들은 대식세포를 중심으로한 단핵구 및 호중구가 주종을 이루었으나, 호산구 및 소형림파구의 침윤도 함께 동반되었다(Fig. 4). 이러한 염증성 병변은 폐실질에만 국한된 것이 아니라 흉막에도 파급되어, 염증세포와 함께 심한 중피세포

의 증식이 관찰 되었다.

Bleomycin 투여후 1주일에는 염증변화는 그 소견이 비슷하였으나, 투여 3일군보다는 림파구의 침윤이 훨씬 강하게 나타났으며, 섬유아세포의 증식 및 초기 섬유소 침착이 관찰되었다(Fig. 5). 또한 이들 병변내에서 비로소 망상섬유염색에 뚜렷이 호염되는 망상의 섬유증가를

Fig. 3. Percentage of lymphocytes in the bronchoalveolar lavage fluid. Values are mean $\pm$ S.E.M. (*) indicates $p < 0.05$ when compared to the control group, and (**) indicates statistically significant different between bleomycin group and prednisolone group.

Fig. 4. Rat lung at 3 days the intratracheal instillation of bleomycin, showing diffuse interstitial and intra-alveolar edema and infiltration of many neutrophils, macrophages, occasional eosinophils and lymphocytes (H&E, X100).

볼 수 있었으며 (Fig. 5. B.), Masson-trichrome 염색으로 섬유소의 침착을 확인 하였다.

Bleomycin 투여 후 2주일부터는 염증변화는 현저히 감소되었으나, 섬유화는 더욱 진행되는 소견을 보였다. 염증부위에서도 임파구 및 대식세포 등의 단핵구가 대부분이며, 호중구나 호산구는 드물었다. 그러나 폐섬유화 현

Fig. 5. Rat lung at 7 days after bleomycin administration: (A) Inflammatory change are still severe with some proliferating fibroblasts and collagen deposition. (B) Reticulin stain demonstrates condensation of reticulin fibers (A : H&E, X100, B : reticulin stain, X430).

상은 한층 더 진행되어 염증부위에 망상섬유 및 섬유소의 동시 침착이 관찰될 뿐 아니라, 염증병변은 거의 사라지고 간질내 섬유소침착으로 인한 비후만이 관찰되는 부위도 있었으며, 흉막에서도 망상섬유농축 및 섬유소침착이 관찰 되었다(Fig. 6, 7).

Prednisolone 투여군에서도 초기염증 변화는 본질적으로 prednisolone을 투여하지 않은 bleomycin군과 같

Fig. 6. Rat lung at 2 weeks after bleomycin administration, showing inflammatory changes to be much subsided but fibrous thickening of interstitium becomes more evident with prominent pleural fibrosis (H&E, X100).

Fig. 7. Rat lung at 6 weeks after bleomycin administration, showing patchy areas of fibrosis with proliferating fibroblasts and dense deposition of collagen (A : Masson-trichrom stain, X100, B : H&E, X430).

Table 5. Histopathologic Findings of the Lung in the Early Stage

Group	Extent	Interstitium							Alveolar space				Pleura		
		Thick- ness	PMN	E	L	M	Reti.	Fibrin.	PMN	E	L	M	Hyper- plasia	Fibro- sis	
1 Day															
C	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
B	+	±	++	+	—	+	—	—	+	+	—	+	—	+	
P	+	±	++	+	—	+	—	—	+	+	—	+	—	—	
3 Days															
C	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	
B	++	++	+	+	++	—	—	—	+	±	±	++	+	—	
P	+ / ++	+ / ++		+	++	—	—	—	+	±	±	++	±	—	
1 Week															
C	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
B	++	++	+ / ++	+	+ / ++	++	+ / ++	± / +	±	±	+	++	±	±	
P	+ / ++	+	+	±	±	+ / ++	+	±	±	—	±	+	±	±	

C : Control group, B : Bleomycin group, P : Prednisolone group PMN : Neutrophil, E : Eosinophil, L : Lymphocyte, Reti. : Reticulin, Extent : + : 1/3 of the lung, ++ : 2/3 of the lung, +++ : more than 2/3 of the lung, Grade : + : mild, ++ : moderate, +++ : severe

은 병변이 관찰되었고 bleomycin투여군보다는 병변의 정도가 다소 경하고 침범된 범위도 비교적 작은 것으로 보였으나, 동물의 개체차가 심하고, 부위별 병변의 소견의 정도차가 있어 한마디로 단정하여 비교하기는 매우 힘들었다. 그러나 후기 섬유화현상은 prednisolone투여군에서도 발생은 하나 훨씬 감소된 양상이었다. 각 실험군의 시기별, 병리조직학적 변화의 범위 및 정도를 반정량 방법으로 비교하여 보면 Table 5, 6과 같다.

3. 폐내 섬유소함량 측정

비색법으로 측정한 좌측 폐내의 hydroxyproline 총량

은 Table 7에서 보는 바와 같고, 이것을 같은 시기의 대조군의 hydroxyproline함량에 대한 백분율로 표시한 것이 Fig. 8이다.

Bleomycin 군에서는 bleomycin투여후 1주일에서부터 대조군에 비해 통계학적으로 유의하게 hydroxyproline함량이 증가된 것을 관찰하였으며, 1주일에는 대조군의 127%였으나 2주일에는 135%, 4주에는 144%, 6주에는 180%로 증가된 것으로 미루어 시간이 경과할수록 섬유화 현상이 심화되는 것을 추측할 수 있었다. 동물의 체중은 대조군에 비해 실험군에서 더 적었으므로 이러한 섬유소 함량의 차이는 체중의 차이로 인한 것이 아

Table 6. Histopathologic Findings of the Lung in the Later Stage

Group	Extent	Interstitium							Alveolar space				Pleura	
		Thick-ness	PMN	E	L	M	Reti.	Fibrin.	PMN	E	L	M	Hyper-plasia	Fibro-sis
1 Day														
C	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—
B	++	++	±	±	++	++	++	+	±	—	+	++	±	±
P	+	+	±	±	±	++	+ / ++	+	±	—	±	+	±	±
4 Weeks														
C	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B	++	+ / ++	±	±	+	+	++	+ / ++	—	—	+	+	±	±
P	+	+	±	—	±	+	+	+	—	—	±	±	±	±
6 Weeks														
C	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B	++	+ / ++	—	—	+	+	++ / +++	+ / ++	—	—	+	+	±	+
P	+	+	—	—	±	+	+	+	—	—	±	+	±	±

C : Control group, B : Bleomycin group, P : Prednisolone group, PMN : Neutrophil, E : Eosinophil, L : Lymphocyte, Extent : +: 1/3 of the lung, ++ : 2/3 of the lung, +++ : more than 2/3 of the lung, Grade : + : mild, ++ : moderate, +++ : severe

Table 7. Total Hydroxyproline Content of the Lung

Time Group	(μgm)			
	1 Week	2 Weeks	4 Weeks	6 Weeks
Control	402 ± 41	621 ± 33	1,053 ± 109	1,065 ± 204
Bleomycin	509 ± 69*	843 ± 173*	143 ± 418*	1,922 ± 407*
Prednisolone	444 ± 42	727 ± 224	1,127 ± 277	1,365 ± 297**

Values are mean ± S. D. Asterisk (*) represents $P < 0.05$ compared to the control group and (**) represents $P < 0.05$ compared to the bleomycin group. Total hydroxyproline content of the lung in the bleomycin group was significantly increased than the control group from one week after the bleomycin injection but that of the prednisolone group was not statistically different from the control group at all times. At 6 weeks, total lung collagen content of the prednisolone group was significantly lower than the bleomycin group.

Fig. 8. Effect on total lung hydroxyproline content. Each data points are expressed as percentage ($\pm$ S.E.M) of the control group and asterisk (*) indicates significant difference from the control group. (Δ) indicate significant difference from the bleomycin group. Numbers in parenthesis represent the numbers of the animals.

넘을 알 수 있다. 이에 반해 prednisolone군에서는 전 기간에 걸쳐 hydroxyproline함량이 대조군보다는 높고 bleomycin군보다는 낮았는데, 1주일, 2주일 및 4주일은 통계학적으로 유의한 차이는 아니었으나 6주일후에는 prednisolone군의 폐내 섬유소함량이 bleomycin군에 비해 의미있게 감소된 것을 관찰 하였다.

고 안

폐섬유증의 기전은 아직 확실히 밝혀져 있지 않으나, 최근 BAL술의 개발로 그 일부 기전이 알려지기 시작하였다. 현재 추측되고 있는 바로는, 분진등의 알고 있는 원인에 의해, 또는 IPF에서는 명확치는 않으나 면역복합체로 측정되는 물질에 의해 폐포대식세포가(AM으로 약칭) 자극되면 AM에서 호중구 주유물질등의 화학유인 물질이 분비되고²³⁾ 이에 의해 이차적으로 염증세포들이 폐내로 유입되어 초기에는 폐포염의 발생하나 결국 염증은 가라앉으면서 섬유소침착으로 진행되는 것으로 이해

되고 있다^{15,18,19)}. 또한 AM에서는 호중구주유물질뿐 아니라 fibronectin이나 폐포대식세포기인성 성장물질등을 분비하여 섬유아세포증식을 촉진시키고 섬유아세포에서 섬유소생성을 증가시켜 직접 폐섬유화를 증진시킨다는 것도 알려졌다^{14,24)}. Bleomycin에 의한 실험에서도 bleomycin을 기도내 주입한 후 일정시간 간격으로 BAL을 시행한 결과 본 실험에서와 동일하게 BAL액내의 세포수가 현저히 증가되고, 초기에는 호중구 및 호산구가 증가하나, 후기에는 임파구가 증가하는 것을 관찰하였다^{8~12)}. 또 Kaelin과 Wesselius등은 AM을 배양하여 그 상층액에서 호중구주유물질을 측정한 결과, bleomycin을 주입한 쥐의 AM에서는 대조군의 AM보다 호중구주유물질을 더 많이 분비하는 것을 증명하여^{10,12)}, bleomycin에 의한 폐섬유증도 IPF와 비슷한 기전으로 폐섬유증이 발생한다고 주장하였다. BAL액내에 호중구가 증가하는 경우는 IPF뿐 아니라 교원성질환과 관련된 폐섬유증이나 석면에 의한 폐섬유증에서도 증명되어^{15,21,25~29)} 처음에는 호중구가 폐섬유증발생의 중심기

전으로 추측되기도 하였으나 아직도 호중구의 역할에 대해서는 논란이 많다. IPF환자에서도 Crystal등은 BAL액내 호중구의 백분율이 그 환자의 예후 및 steroid치료의 적응여부를 결정한다고 하였으나^{15,18,30)}, 반대로 Haslam, Turner-Warwick등은 BAL액내 호중구보다는 임파구가 오히려 더 좋은 지표가 된다고 주장하였다^{31~33)}. 또한 Clark와 Thrall등은 bleomycin을 이용한 동물실험에서도 항호중구혈청으로 체내 호중구를 감소시킨 경우에 오히려 폐섬유증이 더 증가하는 것을 관찰하였고^{34,35)} Simpson등은 호중구가 감소한 경우에 상처의 섬유소 침착이 증가하였다고 보고하였다³⁶⁾. 또 Simon등은 호중구가 폐섬유화의 원인이기보다는 호중구내의 단백분해효소로 섬유소를 분해하고 또 섬유아세포증식을 억제하는 작용도 있어³⁷⁾ 섬유증정도를 조절하는 역할을 한다고까지 주장하고 있다. 그러나 대개 호중구가 증가하는 시기가 섬유소침착이 심하지 않은 초기이며, 특히 본실험을 위시한 bleomycin에 의한 폐섬유증등의 동물실험에서 호중구는 섬유화가 일어나기 전인 1일~1주일에 최고치를 이루었다가 섬유화가 발생된 이후에는 오히려 감소하므로 호중구가 섬유소분해에 관여한다기보다는 폐조직손상의 한 현상이거나 또는 섬유화발생에 관여한다는 것이 타당할 것으로 사료된다.

임파구의 역할에 대해서는 호중구보다도 더 연구가 되어 있지 못하다. 과민성폐렴이나 유육종증(sarcoidosis)에서는 임파구 특히 조력 T-임파구(helper T-cell)가 BAL액내에서 현저히 증가하여 이것이 육아종형성의 주세포인것이 확인되었으나^{13,15,18,38~40)}, 간질성폐섬유증환자에서는 대부분에서 임파구는 정상이고 호중구가 증가되며, 임파구가 증가되는 때는 드문 것으로 보고되었다^{31~33)}. 그러나 bleomycin에 의한 폐섬유증에서는 본 실험에서도 임파구가 대조군에 비해 3일부터 증가하기 시작하여 2주일후까지 지속되었으며 Kaelin이나 Thrall등의 보고도 일치되었다.

Bleomycin투여후 폐섬유증이 발생하였다는 사실은 조직학적으로 섬유소침착을 확인한 것 뿐 아니라 생화학적으로 폐내 섬유소합량을 측정한 결과로도 증명이 되었다^{5,9,11,34,35,41,42)}. 또한 생체내실험 및^{41~44)} 폐섬유아세포를 체외에서 배양한 실험에서^{45,46)} 폐섬유소합성속도가 증가된 것이 관찰되었고, Laurent와 Phan등은 섬유소분해속도는 감소한 것을 증명하여^{41,43)}, 이러한 폐내 섬유소합량의 증가는 섬유소합성이 증가하면서 섬유소분해는

저하된 결과인것이 알려졌다. 섬유소 합성속도는 bleomycin을 기도내에 투여한 경우에, 보고자마다 차이가 있으나 수일후부터 증가하기 시작하여 2주에 가장 심하고 대개 1~2개월후에는 정상속도로 감소한다고 한다. 폐내 섬유소합량은 Kelly등은 1주일후에는 대조군과 같다고 하였으나⁴²⁾, Phan, Thrall, Zuckerman등은 1주~11일부터 증가한다고 보고하였고 본 실험에서도 1주후부터는 대조군에 비해 의미있게 증가되었으며, 또한 6주까지 시간경과에 따라 섬유소합량이 더욱 증가하는 것을 관찰 하였다.

IPF의 치료로는 steroid가 가장 많이 사용되고 있지만 steroid의 효과여부는 아직 확실치 않다. 그러나 일부 환자들에서는 steroid치료로 증상의 호전이나 폐기능검사 또는 X-선소견의 호전을 관찰할 수 있으며, Hesterberg등은 steroid투여로 ozone 가스에 의한 폐섬유증이 감소했다고 보고하였다⁴⁷⁾. 또한 Phan등도 흰쥐에 bleomycin과 prednisolone을 같이 투여하여 prednisolone을 투여하지 않은 쥐들에 비해 섬유소합량이 감소한 것을 관찰하여⁴¹⁾, steroid가 폐섬유증의 예방 및 치료에 효과가 있는 것을 암시하였고, Kruse와 McCoy등은 steroid가 섬유아세포의 증식을 억제할 뿐 아니라 섬유아세포에서 섬유소합성을 저하시키는 것을 보고하였다^{48,49)}. 또한 Poncet와 Saarini등은 섬유아세포 배양시에 steroid를 첨가하였을 때에 섬유소 합성이 감소하는 것을 관찰하여^{51,52)} steroid가 섬유소대사에 직접 영향을 미치는 것을 확인 하였다.

폐섬유증에서의 steroid의 작용기전으로는 폐섬유증이 폐포내 염증에서부터 시작되므로 steroid의 소염작용에 의한 폐포염의 감소로 폐섬유화가 억제될 가능성과 steroid가 직접 섬유소대사에 작용할 가능성, 또는 두가지의 복합작용등을 생각할 수 있다. 본 연구의 결과를 보면, 조직학적검사에서는 steroid투여군에서 bleomycin군에 비해 초기 염증성병변의 범위나 정도가 감소된 듯한 양상이었으나 뚜렷한 차이는 아니었고 통계학적처리도 하기 힘들었다. 그러나 정확한 통계학적검정이 가능하면서 동시에 폐내 염증세포의 변동을 비교적 잘 반영하는 BAL방법을 사용하여^{30,38)} 비교한 결과로는 초기 폐포염증시기에 steroid를 투여한 군이나 투여하지 않은 군 사이에 총세포수나 호중구의 백분율에는 차이가 없었던 것으로 미루어, steroid 소염작용에 의한 폐포염증의 감소로 인해 후기에 섬유소합량이 감소한 것으로 생각하기

는 곤란하다. 그러나 BAL액내의 임파구수는 steroid군에서는 bleomycin군에 비해 의미있게 감소하였는데, 최근에 임파구가 섬유소대사에 관여한다는 증거들이 많이 보고되었다. Wahl과 Johnson등은 임파구, 특히 T-임파구가 항원들에 의해 자극을 받으면 섬유아세포에서 섬유소합성을 촉진시키는 물질을 분비한다고 보고하였고^{53,54)}, Nielson등은 간질성 신장염이 발생한 동물의 임파구에서는 섬유아세포의 증식을 촉진시키는 물질을 분비하는 것을 관찰하여⁵⁵⁾ 임파구가 섬유증발생에 관여한다는 것이 알려졌다. 또한 Thrall등은 항임파구 면역글로불린을 주사하여 임파구를 감소시킨 동물에서는 bleomycin투여후에 폐내 섬유소함량이 정상수효의 임파구를 가진 동물에서보다 저하된것을 발견하여⁵⁶⁾ 섬유소 침착에 임파구가 중요한 역할을 하는것을 확인 하였다. 그러므로 bleomycin에 의해 폐내임파구수가 증가되고 임파구에서 폐섬유증을 항진시키는 물질이 분비되는데, steroid를 투여한 경우에는 임파구의 수효가 감소하면서 이 촉진물질도 감소하여 이차적으로 섬유증이 저하될 가능성이 있다. 그러나 Szapel등에 의하면 T-임파구가 없는 nude mouse에서도 bleomycin을 투여하면 폐섬유증이 발생하므로⁵⁷⁾ 임파구수효의 감소만으로 폐섬유증의 감소를 전부 설명할 수 있을지는 의문이며, 섬유소대사에 미치는 steroid의 직접적인 작용이 더 중요할 가능성이 많다. 또한 근래에, Jimenez, Phan과 Clark등은 말초혈액내의 단핵구나 폐포대식세포에서 섬유아세포기능을 항진시키는 물질이외에도 반대로 섬유화를 억제시키는 물질을 분비하여 이들로써 폐섬유화, 또는 폐재생과정을 적절히 조정한다고 주장하고 있으므로⁵⁸⁻⁶⁰⁾, 앞으로 steroid가 폐포대식세포의 기능에 미치는 영향에 관한 연구가 더 필요할 것으로 사료 된다.

결 론

Steroid가 bleomycin에 의한 폐섬유증의 발생에 미치는 영향과 그 기전을 연구하기 위하여, 흰쥐에 bleomycin 1.0 mg를 기도내 주입한 bleomycin군과 bleomycin을 기도내 주입한 후 prednisolone 18 mg/kg를 매일 2주일 간 주사한 prednisolone군 및 생리식염수만을 기도내 주입한 대조군에서 일정기간 간격으로 기관지폐포세척(BAL)액 소견 및 폐의 병리조직학적조건과 폐내 섬유소함량을 측정하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) BAL액내 총 세포수는 bleomycin군에서 bleomycin을 기도내 주입한 후 24시간부터 7일까지 대조군에 비해 유의하게 증가되었다. 호중구도 24시간 후에 23.7%로 증가하였고, 그 후 점차 감소하기 시작하였으나, 2주일후까지 2.5%로 증가된 상태를 유지하였다. BAL액내 임파구는 bleomycin투여후 3일부터 4.2%로 증가하여 역시 2주일후까지 지속되었다. Prednisolone투여군에서는 총 세포수와 호중구는 bleomycin군과 유의한 차이는 없었으나, 임파구는 bleomycin투여 후 3일에만 일시적으로 3.0%로 상승되었고 1주후부터는 정상으로 감소되었다. Bleomycin투여후 1주일 및 2주일에 prednisolone군에서 BAL액내 임파구의 백분율이 bleomycin군에 비해 유의하게 감소 되었다.

2) bleomycin투여후 병리조직학적 변화는 모든 폐엽에서 초점성으로 관찰되었으며, bleomycin투여후 1일에는 폐포벽의 부종과 호중구 및 단핵구의 침윤이 관찰되었다. 3일후에는 염증변화가 더욱 심해졌으며 1주일 후에는 염증외에 처음으로 망상섬유증가와 섬유소 침착이 관찰되었다. 2주일 후부터는 염증변화는 감소하면서 섬유소 침착은 더욱 심해지고 흉막의 섬유화도 관찰되었다. Prednisolone군에서도 정도가 다소 약한 듯 하나 본질적으로 같은 염증변화가 관찰되었고 후기섬유화정도는 bleomycin군에 비해 훨씬 경하였다.

3) 폐내 hydroxyproline량으로 측정한 섬유소함량은 bleomycin군에서는 bleomycin투여 후 1주일부터 대조군에 비해 유의하게 증가되었으며(대조군의 127%), 그 정도가 점차 심해져 6주일에는 대조군의 180%로 증가되었다. Prednisolone군에서는 섬유소함량이 전기간에 걸쳐 대조군과 유의한 차이가 없었고, 6주일 후에는 섬유소함량이 prednisolone군에서 bleomycin군에 비해 통계학적으로 유의하게 감소 되었다.

이상의 결과로 steroid는 bleomycin에 의한 폐섬유증 정도를 감소시켰으며, 초기 염증변화에는 큰 차이가 없었던 것으로 미루어 steroid의 소염 작용보다는 섬유소대사에 대한 steroid의 직접작용이 더 중요할 것으로 추측되나, BAL액내의 임파구가 감소되었으므로 임파구를 통한 간접적인 영향도 작용할 것으로 사료 된다.

REFERENCES

- 1) Ginsberg SJ, Comis RL: The pulmonary toxicity of

- antineoplastic agents. *Seminars in Oncol* 9:34, 1982
- 2) Weiss RB, Muggia FM: Cytotoxic drug-induced pulmonary disease: Update 1980. *Am J med* 68:259, 1980
 - 3) Adamson IYR, Bowden DH: The pathogenesis of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Am J Path* 77:185, 1974
 - 4) Snider GL, Hayes JA, Korthy AL: Chronic interstitial pulmonary fibrosis produced in hamsters by endotracheal bleomycin. *Pathology and stereology. Am Rev Respir Dis* 117:1099, 1978
 - 5) Starcher BC, Kuhn C, Overton JE: Increased elastin and collagen content in the lung of hamsters receiving an intratracheal injection of bleomycin. *Am Rev Respir Dis* 117:299, 1978
 - 6) Goldstein RH, Lucey EC, Franzblau C, Snider GL: Failure of mechanical properties to parallel changes in lung connective tissue composition in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in hamsters. *Am Rev Respir Dis* 120:67, 1979
 - 7) Berend N, Feldsien D, Cederbaums D, Cherniack RM: Structure-function correlation of early stages of lung injury induced by intratracheal bleomycin in the rabbit. *Am Rev Respir Dis* 132:582, 1985
 - 8) Fahey PJ, Utell MJ, Mayewski RJ, Wandtke JD, Hyde RW: Early diagnosis of bleomycin pulmonary toxicity using bronchoalveolar lavage in dogs. *Am Rev Respir Dis* 126:126, 1982
 - 9) Bigby TD, Allen D, Leslie CG, Henson PM, Cherniack RM: Bleomycin induced lung injury in the rabbit. Analysis and correlation of bronchoalveolar lavage, morphometrics, and fibroblast stimulating activity. *Am Rev Respir Dis* 132:590, 1985
 - 10) Kaelin RM, Center DM, Bernardo J, Grant M, Snider GL: The role of macrophage derived chemoattractant activities in the early inflammatory events of bleomycin-induced pulmonary injury. *Am Rev Respir Dis* 128:132, 1983
 - 11) Thrall RS, Barton RW, D'amato DA, Sulavik SB: Differential cellular analysis of bronchoalveolar lavage fluid obtained at various stages during the development of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in the rat. *Am Rev Respir Dis* 126:488, 1982
 - 12) Wesselius LJ, Catanzaro A, Wassenman SI: Neutrophilic chemotactic activity generation by alveolar macrophages after bleomycin injury. *Am Rev Respir Dis* 129:485, 1984
 - 13) Weinberger SE, Kelman JA, Elson NA, Young Jr RC, Reynolds HY, Fulmer JD, Crystal RG: Bronchoalveolar lavage in interstitial lung disease. *Annals of Int Med* 89:459, 1978
 - 14) Bitterman PB, Adelberg S, Crystal RG: Mechanisms of pulmonary fibrosis. Spontaneous release of the alveolar macrophage derived-growth factor in the interstitial lung disorders. *J Clin Inv* 72:1801, 1983
 - 15) Crystal RG, Gadek JE, Ferrans VJ, Fulmer JD, Line BR, Hunninghake GW: Interstitial lung disease: Current concepts of pathogenesis, staging and therapy. *Am J Med* 70:542, 1981
 - 16) Fan KD, Orsogna DE: Diffuse pulmonary interstitial fibrosis. Evidence of humoral antibody mediated pathogenesis. *Chest* 85:150, 1984
 - 17) Johnson KJ, Ward PA: Acute immunologic pulmonary alveolitis. *J Clin Inv* 54:349, 1974
 - 18) Crystal RG, Bitterman PB, Rennard SI, Hance AJ, Keogh BA: Interstitial lung disease of unknown cause. Disorders characterized by chronic inflammation of the lower respiratory tract. *New Engl J Med* 310:154, 235, 1984
 - 19) Hunninghake GW, Gadek JE, Kawanami O, Ferrans VJ, Crystal RG: Inflammatory and immune processes in the human lung in health and disease: evaluation by bronchoalveolar lavage. *Am J Path* 97:149, 1979
 - 20) Gaensler EA, Carrington CB, Coutu RE, Fitzgerald MX: Radiographic physiologic-pathologic correlations in interstitial pneumonias. Alveolar interstitium of the lung. *Prog Respir Res* 8:223, 1975
 - 21) 김동순, 폐석면증에 관한 실험적 연구-폐포세척액 세포 관찰소견과 폐병리조직학적 변화. 대한 내과학회지 27:668, 1984
 - 22) Woessner JF: The determination of hydroxyproline in tissue and protein samples containing small proportions of this imino acid. *Arch Biochem Biophys* 93:440, 1961
 - 23) Hunninghake GW, Gadek JE, Fales HM, Crystal RG: Human alveolar macrophage-derived chemotactic factor for neutrophils: stimuli and partial characterization. *J Clin Inv* 66:473, 1980
 - 24) Rennard SI, Hunninghake GW, Bitterman PB, Crystal RG: Production of fibronectin by the human alveolar macrophage: Mechanism for the recruitment of fibroblasts to sites of interstitial injury in interstitial lung disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 78:7147, 1981
 - 25) Davies GR, Brody AR, Craighead JE: Analysis of

- airspace and interstitial mononuclear cell population in human diffuse interstitial lung disease. *Am Rev Respir Dis* **118**:7, 1978
- 26) Braud AC, Chamberlain DW, Rebuck AS: Proportional analysis of respiratory cells obtained by bronchoalveolar lavage. *Can Med Assoc J* **126**:1401, 1982
 - 27) Schoenberger C, Hunninghake GW, Gadek J: Inflammation and asbestosis: characterization and maintenance of alveolitis following acute asbestos exposure. *Chest* **80** (suppl):70S, 1981
 - 28) Lemaire I: Characterization of the broncholarveolar cellular response in experimental asbestosis. Different reactions depending on the fibrogenic potential. *Am Rev Respir Dis* **131**:144, 1985
 - 29) Gellert AR, Langford JA, Wenter RJD, Uthayakumar S, Singha G, Rudd RM: Asbestosis: assessment by broncholarveolar lavage and measurement of pulmonary epithelial permeability. *Thorax* **40**: 508, 1985
 - 30) Keogh BA, Bernardo J, Hunninghake GW, Line BR, Price DL, Crystal RG: Effect of intermittent high dose parenteral corticosteroids on the alveolitis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* **127**:18, 1983
 - 31) Haslam PL, Turton CWG, Lukoszek A: Bronchoalveolar lavage fluid cell counts in cryptogenic fibrosing alveolitis and their relation to therapy. *Thorax* **35**:328, 1980
 - 32) Rudd RM, Haslam PL, Turner-Warwick M: Cryptogenic fibrosing alveolitis. Relationship of pulmonary physiologic and bronchoalveolar lavage to response to treatment and prognosis. *Am Rev Respir Dis* **124**:1, 1981
 - 33) Turner-Warwick M, Haslam PL: The value of serial broncholarveolar lavage in assessing the clinical progress of patients with cryptogenic fibrosing alveolitis. *Am Rev Respir Dis* **135**:26, 1987
 - 34) Clark JB, Kuhn C: Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in hamsters: Effect of neutrophilic depletion on lung collagen synthesis. *Am Rev Respir Dis* **126**: 737, 1982
 - 35) Thrall RS, Phan SH, McCormick JR, Ward PA: the development of bleomycin induced pulmonary fibrosis in neutrophil-depleted and complement-depleted rats. *Am J Path* **105**:76, 1981
 - 36) Simpson DM, Ross R: The neutrophilic leucocyte in wound repair: a study with antineutrophil serum. *J Clin Inv* **51**:2009, 1972
 - 37) Simon R, Scoggin C, Patterson D: Hydrogen peroxide mediates the toxic effect of oxygen radicals on human fibroblast. *Chest* **80**:455, 1981
 - 38) Hunninghake GW, Kawanami O, Ferrans VJ, Young Jr. RC, Roberts WC, Crystal RG: Characterization of the inflammation and immune effector cells in the lung parenchyma of patients with interstitial lung disease. *Am Rev Respir Dis* **123**:407, 1981
 - 39) Ginns LC, Goldenheim PC, Berton RC: T-lymphocyte subsets in peripheral blood and lung lavage in idiopathic pulmonary fibrosis and sarcoidosis: analysis by monoclonal antibodies and flow cytometry. *Clin Imm. Immunopath.* **25**:11, 1982
 - 40) Hunninghake GW, Crystal RG: Pulmonary sarcoidosis. A disorder mediated by excess helper T-lymphocyte activity at sites of disease activity. *New Engl J Med* **305**:429, 1981
 - 41) Phan SH, Thrall RS, Williams C: Bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* **124**: 428, 1981
 - 42) Kelley J, Newman RA, Evans JN: Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in the rat. Prevention with an inhibitor of collagen synthesis. *J Lab Clin Med* **96**:954, 1980
 - 43) Laurent GJ, McAnulty RJ: Protein metabolism during bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rabbits. (In vivo evidence for collagen accumulation because of increased synthesis and decreased degradation of the newly synthesized collagen. *Am Rev Respir Dis* **128**:82, 1983
 - 44) Zuckerman JE, Hollinger MA, Giri SN: Evaluation of antifibrotic drugs in bleomycin induced pulmonary fibrosis in hamsters. *J Pharm Exp Therap* **213**: 425, 1980
 - 45) Phan SH, Thrall RS, Ward PA: Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats: Biochemical demonstration of increased rates of collagen synthesis. *Am Rev Respir Dis* **121**:501, 1980
 - 46) Clarke JG, Overton JE, Marino BA, Uitto J, Starcher BC: Collagen biosynthesis in bleomycin-induced pulmonary fibrosis in hamsters. *J Lab Clin Med* **96**:943, 1980
 - 47) Hesteborg OW, Last JA: Ozone-induced acute pulmonary fibrosis in rats. Prevention of increased rates of collagen synthesis by methylprednisolone. *Am Rev Respir Dis* **123**:47, 1981
 - 48) Kruse NJ, Rowe DW, Fujimoto WY, Bornstein P:

- Inhibitory effects of glucocorticoids on collagen synthesis by mouse sponge granulomas and granuloma fibroblasts in culture. *Biochim Biophys Acta* **540**:101, 1978
- 49) McCoy BJ, Diegelman RF, Cohen IK: In vitro inhibition of cell growth, collagen synthesis and prolyl hydroxylase activity by triamcinolone acetonide. *Proc. Soc Exp Biol Med* **163**:216, 1980
 - 50) Ponc M, Kempenaar JA, Van der Meulen-Van Harskamp GA, Bachra BN: Effects of glucocorticosteroids on cultured human skin fibroblasts. IV Specific decrease in the synthesis of collagen but no effect on its hydroxylation. *Biochem Pharm* **28**:2777, 1979
 - 51) Saarni H, Tammi M: Time and concentration dependence of the action of cortisol on fibroblasts in vitro. *Biochim Biophys Acta* **540**:117, 1978
 - 52) Saarni H: The effect of certain anti-inflammatory steroids on collagen synthesis in vitro. *Bichim Pharmacol* **26**:1961, 1977
 - 53) Wahl SM, Wahl LM, McCarthy JB: Lymphocyte-mediated activation of fibroblast proliferation and collagen production. *J Immunol* **121**:942, 1987
 - 54) Johnson RL, Ziff M: Lymphokine stimulation of collagen accumulation. *J Clin Inv* **58**:240, 1976
 - 55) Neilson EG, Jimenez SA, Phillips SM: Cell-mediated immunity in interstitial nephritis. III, T-lymphocyte-mediated fibroblast proliferation and collagen synthesis: An immune mechanism for renal fibrogenesis. *J Immunol.* **125**:1708, 1980
 - 56) Thrall RS, McCormick JR, Phan SH, Ward PA: The effect of antilymphocytic globulin on the development of bleomycin-induced pulmonary fibrosis in the rat. *Am Rev Respir Dis* **119**:83A, 1979
 - 57) Szapiel SV, Elson NA, Fulmer JD, Hunninghake GW, Crystal RG: Bleomycin-induced interstitial pulmonary disease in the nude athymic mouse. *Am Rev Respir Dis* **120**:893, 1979
 - 58) Jimenez SA, McArthur W, Rosenbloom J: Inhibition of collagen synthesis by mononuclear cell supernates. *J Exp Med* **150**:1421, 1979
 - 59) Clark JG, Kostal KM, Marino BA: Bleomycin-induced pulmonary fibrosis in hamsters. An alveolar macrophage product increases fibroblast prostaglandin E2 and cyclic adenosine monophosphate suppresses fibroblast proliferation and collagen production. *J Clin Inv* **72**:2082 1983
 - 60) Phan Sh, Thrall RS: The role of soluble factors in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Am J Path* **106**:156, 1982