기관지 천식 환자에서의 말초 혈액 중성구에 의한 Superoxide 생성과 Myeloperoxidase 활성도에 관한 관찰

가톨릭대학 의학부 내과학교실

김 영 균 · 김 관 형 · 한 기 돈
문 화 식 · 송 정 섭 · 박 성 학

— Abstract —

Superoxide Production and Myeloperoxidase Activity by Peripheral Neutrophils in the Bronchial Asthmatics

Young Kyoan Kim, M.D., Kwan Hyoung Kim, M.D., Ki Don Han, M.D.

Hwa Sik Moon, M.D., Jung Sup Song, M.D. and Sung Hak Park, M.D.

Department of Internal Medicine, Catholic University Medical College, Seoul, Korea

Although neutrophils provide a means of defense against bacterial and fungal infection, they can also be destructive to host tissue. In addition, peripheral neutrophils have been implicated in the pathogenesis of various respiratory disorders, including the adult respiratory distress syndrome, emphysema and bronchial asthma.

Neutrophils appear to mediate the later phase of inflammatory response in allergic asthma and may accumulate as a result of the release of neutrophil chemoattractants by mast cells.

For the evaluation of the role of neutrophils in bronchial asthma, these data analyzed the superoxide production and myeloperoxidase activity of peripheral neutrophils in bronchial asthmatics.

Superoxide production by neutrophils after stimulation with 10^{-6} M TPA(tetradecanoyl phorbol acetate) was significantly increased after than before oxygen administration in the bronchial asthmatics($p < 0.05$).

Myeloperoxidase activity of neutrophils after stimulation with 10^{-6} M fMLP (N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine) appear to increase after than before oxygen administration, but statistically not significant in the bronchial asthmatics.

서 론

기관지 천식의 병태생리에 호산구 및 비만세포(mast cell)와 그로부터 유리되는 화학 매개 물질들이 중요한 역할을 한다는 것은 잘 알려져 있다¹⁾. 그러나 중성구(neutrophil)의 역할에 대해서는 아직 불확실하다. 원래 중성구는 세균, 진균, mycoplasma, 바이러스등의 감염시에 탐식작용으로 숙주를 보호하는 방어기전으로

주로 작용하나, 반대로 중성구의 여러 대사 산물에 의해 숙주의 조직 손상을 일으키기도 한다^{2~4)}. 그 주된 대사 산물로는 myeloperoxidase, superoxide, hydroxyl radical등으로 알려져 있다^{3,4)}. 최근 기관지 천식의 후기 반응에도 중성구가 관여하는 것으로 보고되어 있으며, 이러한 중성구의 작용이 비특이성 기관지 과민 반응(nonspecific bronchial hyperreactivity)과도 관련이 있다고 한다^{2,3)}. 저자들은 기관지 천식에서의 중성구의 역할 및 일시적인 산소 자극에 의한 산화 대사 산물의 변화를 이해하고자, 말초 혈액 중성구를 산소 투여 전후로 채취하여, 중성구 활성 물질 자극에 의한 super-

본 논문은 가톨릭 중앙 의료원 학술 연구비 보조로 이루어 졌음.

oxide 생성능과 myeloperoxidase 활성도를 비교 관찰해 보았다.

대상 및 방법

1. 대상 환자

28명의 안정된 상태의 기관지 천식 환자들로서 비흡연자이고, 부신 피질 호르몬제의 사용 경험이 없었던 사람들을 대상으로 하였다(남자: 17명, 여자: 11명, 평균 연령: 38세, 연령 분포: 19세~62세).

2. 정상 대조군

5명의 건강한 남자 의과 대학생들(평균 연령: 24세, 연령 분포: 23세~25세)로서 비흡연자를 대상으로 하였다.

3. 중성구 분리 방법

Postma등²⁾이 한 방법대로 말초 정맥혈 50 ml를 채취하여 heparin 처리한 후, 생리 식염수와 1:1로 희석하고, 비중 1.077 g/ml의 Ficoll-Hypaque 용액에 조심스럽게 혼합하고, 18°C에서 2,600 rpm으로 20분간 원심 분리하여, 일단 혈장, 단핵구 및 Ficoll-Hypaque 용액을 분리해냈다. 적혈구층은 분리된 혈장과 다시 현탁액을 만들어 50 ml가 되게 한 후, 4.5% 포도당액과 0.9% 식염수와 혼합된 4.5% dextran (Dextran T-500) 6.68 ml를 첨가하여, 37°C에서 45분간 방치하여 적혈구를 침전시켰다. 중성구를 함유한 dextran plasma층을 따로 분리한 후, 다시 2,000 rpm으로 10분간 원심분리하여, 상층액은 버리고, 침전된 세포층을 phosphate buffered saline용액 (PBS+0.1% glucose)에 2회 세척하고, 다시 2,000 rpm으로 10분간 원심 분리하였다. 마지막 침전된 세포층을 4 ml의 PBS로 다시 현탁액을 만들어, 그 중 1 ml를 6 ml의 Percoll용액(비중: 1.095 g/ml)에 섞어 18°C에서 2,600 rpm으로 20분간 원심분리하여 중성구층을 채취한 후 PBS로 희석하고, 다시 4°C에서 2,000 rpm으로 10분간 원심분리 하였다. 상층액은 다시 버리고 침전된 세포층을 PBS로 4°C에서 2회 세척하여 마지막으로 4 ml의 Hank's balanced salt 용액(HBSS+0.1% glucose)으로 다시 현탁액을 만들었다. 이 현탁액을 도말하여 wright염색한 후, 각 세포수를 hemocytometer로 측정하였다. 임파구나 단핵구의 오

염도는 5% 이내였으며, trypan blue exclusion으로 검사한 세포들의 viability는 98% 이상이었고, 중성구 획득율은 최초 정맥혈의 40~50%였다.

4. Superoxide 생성에 대한 측정

1) 각 대상자에게 산소 투여 전과, nasal prong으로 30분간 6 l/min의 산소를 투여한 후에, 따로 말초 정맥혈을 채취하여 Absolom등⁵⁾이 한 방법대로 중성구에 의한 superoxide생성능을 측정하여 비교하였다.

2) 분리된 중성구 현탁액($1\sim5\times10^6$ cells/ml)을 3개의 시험관에 각각 1.4 ml씩 넣고, 그중 한 시험관에는 10 μ l의 superoxide dismutase (SOD; 3 mg/ml in water)를 첨가한 후, incubation없이 blank로 사용하고, 나머지 두 시험관은 37°C에서 2분간 incubation한 후에, 세개의 시험관 모두에 0.1 ml의 horse heart cytochrome C 용액(30 mg/ml in buffer)를 첨가하였다. 다음에 incubation한 두 시험관 중, 하나에는 10^{-6} M의 TPA(tetradecanoyl-phorbol-acetate)를, 다른 하나에는 10^{-6} M의 fMLP (N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine)을 첨가하여 37°C에서 10분간 incubation시킨 후, 5분간 얼음에 냉각시켜 반응을 중단시키고, 4°C에서 1,500 g으로 20분간 원심분리하여, 상층액만을 따로 채취하여 double beam spectrophotometer (Hewlett Packard Co.)로 550 nm에서 흡수도(absorbance)를 측정하여 blank값을 뺀 측정치를 incubation 동안에 발생한 superoxide에 의한 cytochrome C의 환원량으로 보고 이를 superoxide생성능으로 간주하였다.

5. Myeloperoxidase 활성도 측정

1) Superoxide 측정시와 마찬가지로, 각 대상자에게 산소 투여 전후의 말초 혈액 중성구의 myeloperoxidase활성도를 Suzuki등⁶⁾이 한 방법대로 측정하여 비교하였다.

2) 분리된 중성구 현탁액을 세개의 시험관에 각각 1.4 ml씩 넣고, 한 시험관은 그대로 blank로 사용하고, 또 한 시험관에는 10^{-6} M의 TPA를, 나머지 한 시험관에는 10^{-6} M의 fMLP를 각각 첨가한 후, 37°C에서 10분간 incubation시킨 후, 4°C에서 1,500 g으로 20분간 원심분리하고, 상층액만을 따로 채취하여, 1.6 nM TMB(tetramethyl benzidine), 8% N,N-dimethylfor-

Table 1. Superoxide Production and Myeloperoxidase Activity of Peripheral Neutrophils by Stimulation with TPA or fMLP, before or after Oxygen Administration on the Normal Control Group

	Superoxide production		Myeloperoxidase activity	
	TPA	fMLP	TPA	fMLP
before O ₂	0.455 ± 0.124	0.095 ± 0.141	0.037 ± 0.137	
After O ₂	0.420 ± 0.013	0.099 ± 0.648	0.067 ± 0.593	
Mean ± SD				

Table 2. Superoxide Production and Myeloperoxidase Activity of Peripheral Neutrophils by Stimulation with TPA or fMLP, before or after Oxygen Administration on the Bronchial Asthma Group

	Superoxide production		Myeloperoxidase activity	
	TPA	fMLP	TPA	fMLP
Before O ₂	0.1131 ± 0.1271	0.096 ± 0.645	0.144 ± 0.129	0.131 ± 0.218
After O ₂	0.4838 ± 0.0715	0.132 ± 0.212	0.098 ± 0.029	0.204 ± 0.174
Mean ± SD				

mamide 및 40% PBS를 혼합하여 500 μ l가 되게 하였다. 이 혼합액을 37°C에서 3분간 incubation한 후, 얼음에 5분간 냉각시키고, 200 mm의 sodium acetate buffer (pH: 3.0) 1.7 ml를 첨가하여 반응을 중단시키고 같은 spectrophotometer로 655 nm에서 흡수도를 측정하였다.

이상 본 실험에서 사용된 모든 시약은 Sigma사 제품으로 하였다.

6. 통 계

모든 실험 결과는 student-t-test로 통계 처리했으며 p값 0.05이하를 의미있는 상관 관계로 보았다.

결 과

1. Superoxide 생성능

정상 대조군의 중성구의 Superoxide 생성능은, 산소 투여전에 채취한 중성구를 TPA로 자극했을 때가 0.455±0.124, fMLP로 자극했을 때가 0.095±0.141이었고, 미리 산소를 투여한 후에 채취한 중성구를 TPA로 자극했을 때는 0.420±0.013, fMLP로 자극했을 때는 0.099±0.684로서, 산소 투여 전후의 통계적으로 의미있는 변화는 없었다(평균치±SD, Table 1).

천식 환자군의 중성구에 의한 Superoxide 생성능은, 산소 투여 전에 채취한 중성구를 TPA로 자극했을 때가

0.1131±0.1271로서 정상 대조군보다 오히려 낮았으나 통계적 의미는 없었고, fMLP로 자극했을 때는 0.096±0.645로서, 역시 정상 대조군과의 의미있는 차이는 보이지 않았다(평균치±SD, Table 2).

미리 산소를 투여한 후에 채취한 중성구를 TPA로 자극했을 때, Superoxide 생성능은 0.4838±0.0715로서, 정상 대조군과의 비교시엔 의미있는 변화가 없었으나, 산소 투여전과의 비교에서는 통계적으로 의미있는 증가를 보였고 (p<0.05), fMLP로 자극했을 경우엔 0.132±0.212로서, 정상 대조군과의 비교나 산소 투여 전과의 비교에서 의미있는 변화가 없었다(평균치±SD, Table 2).

2. Myeloperoxidase 활성도

정상 대조군의 중성구에 의한 myeloperoxidase 활성도는, TPA 자극으로만 측정하였는데, 산소 투여전에 채취한 중성구를 자극했을 때가 0.037±0.137, 미리 산소를 투여한 후에 채취한 중성구를 자극했을 때는 0.067±0.593으로서, 산소 투여 전후로 의미있는 변화가 없었다(평균치±SD, Table 1).

천식 환자군에서는, 산소 투여 전에 채취한 중성구를 TPA로 자극했을 때가 0.144±0.129로서 정상 대조군에 비해 증가 해보였으나 통계적 의미는 없었고, fMLP로 자극했을 때는 0.131±0.218이었다(평균치±SD, Table 2).

미리 산소를 투여한 후에 채취한 중성구를 TPA로 자극했을 때는 0.098 ± 0.029 로서, 역시 정상 대조군과의 비교 및 산소 투여전과의 비교에서 의미있는 차이를 볼 수 없었으며, fMLP로 자극했을 경우에는 0.204 ± 0.174 로서 산소 투여전보다 다소 증가해 보였으나, 역시 통계적 의미는 없었다(평균치 $\pm$ SD, Table 2).

정상 대조군이나 천식 환자군에서, TPA 및 fMLP 각각의 자극에 의한 중성구의 Superoxide 생성능이나 myeloperoxidase 활성도에 대해서는 상관 관계를 관찰하지 않았다.

고 찰

비특이성 기관지 과민 반응은 기관지 천식의 중요한 특징일 뿐 아니라, 천식의 중등도와 기관지 과민 반응의 정도사이엔 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다⁷⁾. 이런 기관지 과민 반응의 정확한 기전에 대해서는 아직 확실히 알려져 있지 않으나, 염증 세포들과 그들로부터 유리되는 매개 물질 및 기관지 평활근 사이의 상호 작용에 의한 것으로 추측되고 있다¹⁾. 특히 천식 환자에게 알레르겐(allergen)으로 자극시킨 후 기관지 세척을 해보면, 다소 시간이 경과한 후에, 세척액내에 중성구가 증가하는 것을 관찰할 수 있다고 한다^{8,9)}. 또한 기관지 과민 반응을 가진 천식 환자는 정상인에 비해, 중성구에 의한 histamine 유리가 증가되며, 이는 중성구에 의한 superoxide 생성과 밀접한 관련이 있다고 한다^{10,11)}. 이처럼 기관지 과민 반응에 중요한 영향을 미치는 것으로 여겨지는 중성구는, 미생물 감염이나 어떤 화학 주성물질(chemoattractant)에 의해 활성화되어, 살균 작용을 하는 산화제(oxidant)를 생성한다. 이러한 현상을 "phagocytic cell respiratory burst"라고 하는데, 이 로 인해 산소 분자는 superoxide를 만들어 내고, superoxide는 다시 과산화 수소(H_2O_2)와 수산화(hydroxyl radical)를 생성하여 살균적인 작용을 나타내게 된다^{2~4)}. 이 중에서 superoxide는 cytochrome C에 대해서는 환원제로, epinephrine에 대해서는 산화제로도 작용을 하는 양면성을 지닌다^{3,4)}. 이러한 중성구의 산화 대사 산물들은, 천식외에도 성인형 호흡부전 증후군(adult respiratory distress syndrome), 폐기종 등의 다른 호흡기 질환이나, 통풍, 관절염, 자가 면역질환, 염증성 장증후군 등의 비감염성 염증 질환들의 병태 생리

에도 기여하는 것으로 알려져 있는데, 주로 철분염(iron salt)과 H_2O_2 의 반응으로 발생하는 수산기가 조직 손상을 일으키기 때문으로 생각되고 있다^{3,13,14)}. 또한 중성구는 세포질 내에 형태학적, 생화학적, 기능적으로 서로 상이한, 다양한 크기의 과립들을 함유하고 있다. 그 중 아주르성 과립(azurophilic granule)들은 peroxidase 양성을 나타내는 myeloperoxidase를 함유하며, 이 myeloperoxidase는 철분을 지니는 일종의 heme단백질로서, H_2O_2 및 halide등과 반응하여, hypochlorous acid와 chlorine을 생성하고, 조직 세포를 할로젠화시키고, 파괴함으로써 중성구의 탐식작용에 일익을 담당한다^{3,4,15)}. 그밖에도 중성구는 peroxidase 음성을 나타내는 특수 과립(specific granule)들도 함유하고 있는데, 이들은 풍부한 당단백질(glycoprotein)을 지니며, lactoferrin, 비타민 B₁₂ 결합 단백질등 다른 과립에는 없는 특수한 성분을 지니고 있다. 이들 특수 과립들의 막에는 보체 수용체(CR₃), fMLP와 같은 화학 주성 물질에 대한 수용체 및 H_2O_2 를 생성하는 효소 복합체들이 존재하는 것으로 알려져 있다^{16~20)}. 이러한 중성구의 과립들은 염증 반응이나 fMLP같은 화학 주성 물질에 의해 중성구가 활성화됨으로써, 쉽게 세포 밖으로 유리되어 탐식작용 뿐만 아니라 조직 손상까지 일으키게 되다^{3,6)}. 기관지 천식의 경우, 후기 반응에 주로 중성구가 관여하는 것으로 알려져 있는데, 실제 중성구로부터 유리되는 어떤 물질이 관여하는지에 대해서는 아직 밝혀지지 않았다^{21~24)}. 한편 중성구에 의한 superoxide 생성이 기관지 과민 반응과 직접적인 관련이 있다는 보고들이 있다. Weiss등²⁵⁾에 의하면, guinea pig에게 leukotriene LTD₄를 투여하면 histamine 분비가 증가되는데, 미리 SOD로 전처리한 후 LTD₄를 투여하면 histamine 분비가 억제되는 것으로 미루어보아, 이는 곧 중성구에 의한 superoxide 생성이 leukotriene 분비와 관련하여 기관지 과민 반응이 일어난다고 주장했다. Dyer등²⁶⁾은 양에게 PMA를 정맥주사하면, histamine에 대한 기관지 과민 반응이 생긴다는 것을 발견하고, superoxide 생성이 직접 기관지 과민 반응을 일으킬수 있다고 제시하였다. 그러나 이러한 중성구에 의한 superoxide 생성과 기관지 과민 반응과의 상호 관계가 인체 내에서 실제로 이루어지는 지에 대해서는 향후 좀더 연구해야 할 것으로 생각된다. 저자들의 실험 결과는, 산소를 투여하기 전에 채취한 중성구를 TPA로 자극했을 때, 중성구의 superoxide 생성능이

오히려 정상 대조군보다 낮은 것처럼 나타났는데, 통계적 의미는 없었다. 그러나 천식 환자의 중성구가 정상인의 중성구의 비해 TPA에 대한 감수성 혹은 활성도가 감소해 있는지에 대해서는 좀더 연구해보아야 할 것으로 생각된다. 또한 천식 환자군에서 산소 투여 후에 채취한 중성구가 산소 투여 전에 채취한 중성구에 비해, TPA 자극에 의한 superoxide 생성능이 의미있는 증가를 보였는데, 이 결과가 일시적인 산소 자극에 의하여 중성구의 산화 대사가 더욱 활발해짐을 의미하는 지에 대해서도 좀더 면밀히 연구해야 할 것으로 생각된다. 그러나 fMLP 자극에 대해서는, 산소 투여 전후로, 중성구의 superoxide 생성능에 의미있는 변화를 보이지 않았는데, 이 결과가 천식 환자의 중성구가 fMLP보다는 TPA에 대해 더욱 활성화됨을 의미하는 지에 대해서도 더 연구해야 할 과제로 생각된다. 천식 환자의 혈중 중성구의 myeloperoxidase 활성도는 superoxide의 경우와 달리, 오히려 fMLP로 자극했을 때, 산소 투여 후보다 증가한 것처럼 나타났으나 통계적 의미는 없었는데, 이 결과가 중성구 활성 물질에 따라 중성구의 반응이 달리 나타남을 의미하는지에 대해서도 더 연구해야 할 것으로 생각된다. 뿐만 아니라 산소 자극에 의한 중성구의 산화 대사가 생체내에서는 어떤 양상으로 나타나는 지에 대해서도 의문이 간다. 저자들의 실험에서 정상 대조군과 천식 환자군 사이에 의미있는 변화를 찾을 수 없었던 것은, 정상 대조군의 수가 너무 적었기 때문이 아닌가 생각된다. 저자들은 천식 환자들에 있어서 중성구를 포함한 여러 염증 세포들에 의한 기도 조직 손상으로 말미암아 결국 만성 폐쇄성 폐질환으로 이행하는 것이 아닌가 추측하며, 이에 대해 연구를 계속하고자 한다.

결 론

저자들은 기관지 천식 환자들의 말초 혈액 중성구에 대해, 산소 자극 전후의 TPA 및 fMLP 자극에 의한 superoxide 생성능과 myeloperoxidase 활성도를 측정 한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1) 천식 환자군과 정상 대조군 사이의 말초 혈액 중성구에 의한 superoxide 생성능이나 myeloperoxidase 활성도는 산소 투여 전후나 TPA 및 fMLP 자극과 상관 없이 통계적으로 의미있는 변화가 없었다.

2) 천식 환자군에서는 산소를 미리 투여한 후에 채취한 중성구가 산소 투여 전에 채취한 중성구보다 TPA 자극에 의한 superoxide 생성능이 의미있는 증가를 보였으며 ($p < 0.05$), fMLP 자극시엔 의미있는 변화가 없었다.

3) 천식 환자군에서 말초 혈액 중성구의 myeloperoxidase 활성도는, 산소 투여 후 fMLP로 자극했을 때, 산소 투여전의 경우보다 다소 증가하는 것 같았으나 통계적 의미는 없었다.

REFERENCES

- 1) Chung KF: Role of inflammation in the hyper-reactivity of the airways in asthma. *Thorax* 41:657, 1986
- 2) Pastma DS, Renkema TEJ, Noordhoek JA, Faber H, Sluiter HJ, Kaffman H: Association between nonspecific bronchial hyperreactivity and superoxide anion production by polymorphonuclear leukocytes in chronic air-flow obstruction. *Am Rev Respir Dis* 137:57, 1988
- 3) Malech HL, Gallin JI: Neutrophils in human disease. *N Engl J Med* 317: 687, 1987
- 4) Klibanoff SJ: Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes. *Ann Intern Med* 93:480, 1980
- 5) Absolom DR: Phagocytosis study methods, In Sabato GD, Everse J (Ed). *Methods in enzymology*. vol. 132, phagocytosis and cell mediated cytotoxicity. Oleando, Florida: Academic Press Inc, 1986, pp 151
- 6) Suzuki K, Ota H, Sasagawa S, Sakatani T, Fujikura T: Assay method for myeloperoxidase in human polymorphonuclear leukocytes. *Anal Biochem* 132:345, 1983
- 7) Juniper ET, Frith PA, Hargreave FE: Airway responsiveness to histamine and methacholine: relationship to minimum treatment to control symptoms of asthma. *Thorax* 36:575, 1981
- 8) Metzger WJ, Richerson HB, Worden K, Monick M, Hunninghake GW: Bronchoalveolar lavage of allergic asthmatic patients following allergen bronchoprovocation. *Chest* 89:477, 1986
- 9) Metzger WJ, Zavala D, Richerson HB: Local allergen challenge and bronchoalveolar lavage of allergic asthmatic lungs. *Am Rev Respir Dis* 135:433, 1987
- 10) Neyens HJ, Degenhart HJ, Rattgreep R, Kerrebijn

- KF: The correlation between increased reactivity of the bronchi and mediator releasing cells in asthma. *Clin Allergy* 10:535, 1980
- 11) Neyens HJ, Rattgreep RE, Degenhart HJ, Duiverman EJ, Kerrebijn KF: Altered leukocyte response in relation to the basic abnormality in children with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Am Rev Respir Dis* 130:744, 1984
 - 12) Babior BM: The respiratory burst of phagocytes. *J Clin Invest* 73:599, 1984
 - 13) Fauci AS, Haynes BF, Katz P. The spectrum of vasculitis: clinical, pathologic, immunologic, and therapeutic considerations. *Ann Intern Med* 89:660, 1978
 - 14) Janoff A: Biochemical links between cigarette smoking and emphysema. *J Appl Physiol* 55:285, 1983
 - 15) Falloon J, Gallin JI: Neutrophil granules in health and disease. *J Allergy Clin Immunol* 77:653, 1986
 - 16) O'shea JJ, Brown EJ, Seligmann BE, Metcalf JA, Frank MM, Gallin JI: Evidence for distinct intracellular pools of receptors for C₃b and C₃bi in human neutrophils. *J Immunol* 134:2580, 1985
 - 17) Fletcher MP, Gallin JI: Human neutrophils contain an intracellular pool of putative receptors for the chemoattractant N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine *Blood* 62:792, 1983
 - 18) Gardner JP, Melnick DA, Malech HL: Characterization of the formyl peptide chemotactic receptor appearing at the phagocytic cell surface after exposure to phorbol myristate acetate. *J Immunol* 136: 1400, 1986
 - 19) Yoon PS, Boxer LA, Mayo LA, Yang AY, Wicha MS: Human neutrophil laminin receptors: activation-dependent receptor expression. *J Immunol* 138: 259, 1987
 - 20) Ohno Y, Seligmann BE, Gallin JI: Cytochrome b translocation to human neutrophil plasma membranes and superoxide release. *J Biol Chem* 260: 2409, 1985
 - 21) Cockcroft DW, Ruffin RE, Dolovich J, Hargreave FE: Allergen-induced increase in non-allergic bronchial reactivity. *Clin Allergy* 7:505, 1977
 - 22) Chung KF, Becker AB, Lazarm SC, Frick OL, Nadel JQ, Gold WM: Antigen-induced airway hyperresponsiveness and pulmonary inflammation in allergic dogs. *J Appl physiol* 58:1347, 1985
 - 23) Marsh WR, Irvin CG, Murphy KR, Behren BL, Larsen GL: Increase in airway reactivity to histamine and inflammatory cells in bronchoalveolar lavage after the late asthmatic response in an animal model. *Am Rev Respir Dis* 131:875, 1985
 - 24) De Monchy JGR, Kauffman HF, Venge P: Bronchoalveolar eosinophilia during allergen-induced late reactions. *Am Rev Respir Dis* 134:62, 1986
 - 25) Weiss EB, Bellino JR: Leukotriene-associated toxic oxygen metabolites induce airway hyperreactivity. *Chest* 5:709, 1986
 - 26) Dyer EL, Leffert FL, Snapper JR: Phorbol myristate acetate lung injury and airway responsiveness to aerosol histamine in awake sheep. *J Allergy* 78:44, 1986