

## 호흡기계의 항산화 방어기전

이영구, 손형욱, 임홍빈, 이동욱

한국인삼연초연구소 화학부

# PULMONARY ANTIOXIDANT DEFENSE MECHANISM

Y.G. Lee, H.O. Sohn, H.B. Lim and D.W. Lee

Division of Chemical Research, Korea Ginseng and Tobacco Research Institute, Taejon 305-345, Korea

### ABSTRACT

Pulmonary system is a target organ and primary defense mechanism against environmental oxidants and pollutants. Enzymatic and nonenzymatic antioxidant defense mechanisms undoubtedly protect the lung from oxidants even endogenous oxidative stress. In addition, new ways of augmenting pulmonary antioxidant defenses are developed, which can be used to support the intrinsic antioxidants. Therefore, improved understanding of antioxidant defense mechanisms will increase our knowledge of the cause and will suggest rational approaches for treating and preventing oxidant-induced lung injury. In this review, we discuss the formation and scavenging of free radicals, and the strategies for antioxidant defense of pulmonary system.

### 1. 머리말

폐는 다른 장기들과는 달리 다양한 이물질들과 직접 접촉하고 있으며 그들과 상호작용을 해야 하는 특이한 기관이다. 사람 폐포의 총면적은 약 120m<sup>2</sup>로

추산되며 이것은 정구장 크기만한 면적으로서 탄산가스를 배출하고 산소를 받아들이는데 적합한 구조로 되어있다. 폐모세혈관에서 이와같은 가스 교환으로 생체는 항상 적당한 양의 탄산가스와 산소를 유지하며 몸 구석구석까지 산소가 공급된다.

반면에 흡입되는 공기나 순환혈액중에 유독한 물질이 존재할때 폐는 쉽게 손상을 받을 수 있다. 지난 수십년 동안 많은 연구자들은 사람의 여러가지 호흡기질환 발생이 세포의 산화적 손상과 연관되어 있다는 것을 주장 해왔다. 산화성 물질이 사람의 여러가지 폐질환의 발생에 일차적인 요소라는 것이 명확하게 밝혀지지는 않았지만, 반응성이 큰 활성 산소나 free radical들이 세포를 손상시키고 나아가서 죽게하는 원인이 되기 때문에 가능한 빨리 제거되어야 한다는 것은 분명히 확인되었다. 정상적으로 폐는 산소가 풍부한 환경에 노출되어 있어서 이로 인해 생성되는 산화물질들은 세포내의 여러가지 항산화제들 및 항산화효소들과 균형을 유지하고 있다. 이와같은 다양한 항산화제들은 그들의 항산화 활성에 있어 중복되는 특이성을 갖는데 이

것은 폐내의 산화제와 환원제의 균형이 정상적인 기능을 유지하는데 매우 중요하다는 것을 암시해 준다.

Oxidative stress는 생체내에서 산화와 환원의 균형이 깨어지는 상태로 정의 되는데, oxidative stress가 증가되거나 항산화제들의 결손으로 인한 불균형은 생체의 여러가지 병태생리학적 변화의 원인이 될 수 있으며 결국 고유의 기능을 잃게 한다. 소위 퇴행성질환으로 일컬어지고 있는 여러가지 성인병의 발병과 노화과정에도 여러가지 free radical 들이 관련되어 있음이 가시화되고 있다(표 1). 생체내에서 free radical 들이 생성될 수 있는 source의 다양성이나 그들의 반응성을 고려할 때 폐 세포는 이들의 공격에 대한 일차적인 표적이 될수 있다. 그러나 다행스럽게도 폐는 정교한 항산화

Table 1. Diseases and pathology that may to some extent involve radical-mediated reactions

Diseases	Strength of the evidence for some radical involvement
Emphysema(폐기종)	+++
Cancer(암)	+++
Arthritis(관절염)	++
Atherosclerosis(동맥경화)	+
Cirrhosis(경변증)	+
Stroke(졸도)	+
Retroental fibroplasia(후수정체 섬유증식증)	+++
Cataract(백내장)	++
ARDS*(성인 호흡궁박 증후군)	++
Aging(노화)	+

\* ARDS : Adult Respiratory Distress Syndrome

방어계를 갖고 있어 내외로부터 가해지는 산화적 손상에 대하여 효과적으로 대처하고있다.

이 review에서는 체내에서의 free radical생성과 산화적 손상 그리고 이에 대처하는 중요한 항산화제들의 역할 및 손상된 조직의 수복기전을 기술하고 나아가서 폐의 산화적 손상에 대한 효과적인 항산화 방어 전략을 소개하고자 한다.

## 2. Free radical의 생성과 산화적 손상

### 1) 정상적인 생체대사를 통한 free radical들 생성

1975년 Priestly는 순수한 산소가 어떤 질환의

치료목적으로 이용될수 있지만 위험성도 내포한다고 하였다. 실제로 대부분의 포유동물들을 100% 산소에 노출시켰을때 수일내로 죽는것이 관찰되었다.<sup>1)</sup> 산소로 호흡하는 모든 생체는 정상적인 호흡을 통해서 반응성이 큰 활성산소들이 생성될수 있기 때문에 이들의 생성을 억제하거나 이들로부터 보호하는 것은 세포의 생존을 위한 첫번째 방어 수단이 될수 있다. 돼지나 흰쥐의 경우 정상적인 조건하에서 95%이상의 산소는 mitochondria의 호흡연쇄반응을 통해 4개의 전자를 받아 안전한 물로 환원되지만 나머지 약 5% 정도는 부분적으로 환원된 산소들 즉 free radical중간체를 생성할 수 있다<sup>2,4)</sup>. 그러나 고분압의 산소조건하에서는 cytochrome c

Table 2. Oxy-radicals and related species that have been implicated in cellular processes

Name	Symbol
Singlet oxygen	$^1O_2$
Ozone	$O_3$
Nitrogen dioxide	$NO_2$
Hydrogen peroxide	$H_2O_2$
Hydroxyl	$HO \cdot$
Superoxide	$O_2^-$
Hydroperoxyl	$HOO \cdot$
Alkoxy	$RO \cdot$
Peroxy	$ROO \cdot$
Acyloxy	$RCOO \cdot$
Acylperoxy	$RCOOO \cdot$
Aryloxy	$ArO \cdot$
Arylperoxy	$ArOO \cdot$
Hypochlorous acid	$HOCl$
Semiquinone radical	$HQ \cdot$
Semiquinone radical anion	$Q \cdot^-$

가 환원되어 mitochondria 전자수송계로부터 활성산소의 생성이 증가된다. 여기서 부분적으로 환원된 산소중 superoxide( $O_2^-$ ), hydrogen peroxide( $H_2O_2$ ) 및 hydroxyl radical( $OH\cdot$ )들을 활성산소, oxygen free radical 또는 reactive oxygen species라고 말한다. 엄밀히 말하면 hydrogen peroxide는 모든 전자가 쌍으로 되어있기 때문에 free radical이 아니다. 그러나 이것이 Fe(III) 존재하에 쉽게 hydroxyl radical을 생성할 수 있고 불포화 지방산과 반응하여 지질과산화 반응을 일으킬 수 있어 free radical과 유사한 기능을 갖기 때문에 산소중심 free radical group으로 취급된다.

이들 이외에도 생체는 정상적인 대사과정을 통하여 여러가지 산소중심 free radical들이나 이와 관련된 radical을 생성할 수 있는데, 세포내에서의 위치와 상황에 따라서 각기 중요한 역할을 하기도 한다(Table 2). 세포내에서 활성산소를 생성하는 또 다른 source로는 peroxidase, cyclooxygenase, lipoxigenase 등과 같이 막에 결합된 효소들과 xanthine oxidase와 같이 세포질에 존재하는 효소들도 있다<sup>5-9</sup> 이들은 어떤 특별한 조건에서 세포의 산화적 손상을 유발하는 중요한 활성산소의 생성 source가 될 수 있다. 정상상태에서 생체내 산화수준(oxidant level)은 free radical을 생성하는 효소들의 기질이나, 철, 그리고 항산화제의 농도에 따라 결정된다. 철이나 구리와 같은 전이금속들은 산화적 조직손상에 매우 중요한 역할을 한다. 왜냐하면 이들은 세포독성을 갖는 aldehyde나 hydroperoxide를 생성하는 지질과산화 반응에 이용되거나<sup>10</sup>, Haber-Weiss 반응에 참여하여 superoxide나 hydrogen peroxide로부터 hydroxyl radical을 생성하며<sup>11-14</sup>, epinephrine이나 GSH같은 생체내 성분들의 비효소적 산화를 촉진

시켜 superoxide나 hydrogen peroxide를 생성하고 이들은 나아가서 hydroxyl radical생성에 이용될 수 있기 때문이다<sup>10</sup>.

## 2) 이물질들에 의한 free radical생성 및 폐의 산화적 손상

호흡을 통해 흡입된 이물질들은 물에 대한 용해도와 입자의 크기에 따라 각기 다른 위치에 머무르게 되며 생체의 여러가지 방어기전에 의해 제거된다(Fig 1). 용해도와 입자가 큰 물질들은 대부분 후두나 기도에서 흡착되고, 작은 물질들은 기관지나 폐포에까지 도달하게 된다. 이들중 어떤 이물질들(Xenobiotics)은 세포내의 효소들에 의해 활성화된 후 redox cycling에 의해 산화되며 이과정에서 활성산소들을 생성한다. 폐손상을 유발하는 대표적인 물질로는 paraquat, bleomycin 그리고 nitrofuratoin 등을 들 수 있는데 이 물질들은 기질로서 친화력이 각기 다르기 때문에 폐포가 손상을 받는 부위도 다양하게 나타난다. 제조제인 paraquat는 흡입 후 1-2일내에 폐포를 파괴시키며 폐포염과 부종같은 폐손상을 유발하고 염증세포를 증가시킨다<sup>15</sup>. 폐가 paraquat에 특히 쉽게 손상을 받게 되는 이유는 혈장에서보다 훨씬 높은 농도로 toxin을 농축할 수 있는 특이한 기능을 갖고 있기 때문이다<sup>16-18</sup>. Paraquat는 세포막을 잘 통과하고 mitochondria의 전자수송계로부터 전자를 받아 bipyridyl radical을 생성하게 되는데 이것이 산소가 없는 곳에서는 안정하지만<sup>19</sup> 산소존재시 분자상의 산소와 매우 잘 반응하여 새로운 양이온을 생성하며 이때 superoxide도 함께 생성된다<sup>20,21</sup>. 이 bipyridyl radical은 산소와 이용할 수 있는 전자만 있으면 계속적으로 이 cycle반응이 진행되기 때문에 산소와 접촉하고 있는 폐는 손상이 증가될 수 밖에 없다<sup>22</sup>. 이와같이 끊임없이 supero-

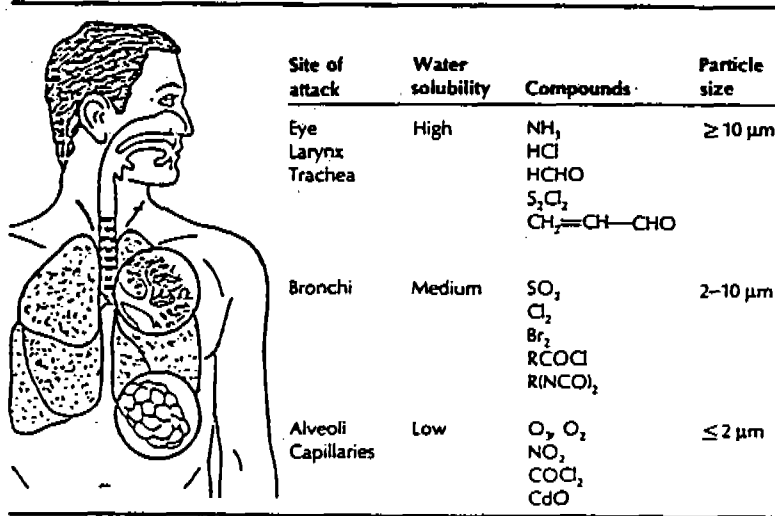


Fig. 1. Sites of attack in the respiratory tract in association with water solubility and particle size

xide를 생성하는 것과 동시에 환원당량(reducing equivalent)도 소모하기 때문에 세포내에서 심각한 NADPH의 고갈상태를 야기시킨다.

Bleomycin은 폐의 섬유화를 일으키고 기관지내에 투여하면 급성 폐손상을 일으키는 물질이다<sup>23)</sup>. Bleomycin은 특히 DNA에 대해 높은 친화력을 갖고 있기 때문에 철의 존재하에서 DNA-bleomycin-Fe의 복합체를 형성한다<sup>10)</sup>. 이 복합체는 redox cycling에 의해 산소와 반응하여 superoxide나 hydrogen peroxide를 형성하며, 유전자와 인접한 곳에서 hydroxyl radical을 형성할 수 있어서 DNA염기서열을 특이하게 손상시킬 수 있다<sup>24)</sup>.

Nitrofuratoin도 급성폐부종과 폐의 섬유화를 유발할 수 있다<sup>25)</sup>. Paraquat나 bleomycin과 같이 nitrofuratoin도 혐기성 조건에서 redox cycling을 하여 free radical을 생성하며 이는 산소와 반응하여 parent compound와 superoxide를 생성한다.

석면입자에 오랫동안 노출되면 폐는 직업병의

하나인 석면침착증에 걸리게 되고, 쥐가 푸른석면(crocidolite)를 흡입하면 폐의 항산화 활성이 증가된다. 또한 폐의 대식세포를 석면 fiber에 노출시키면 지질과산화 반응이 유발되고 여기에 항산화제나 iron-chelator를 첨가하면 이 반응이 억제되는 것이 확인되었다<sup>26)</sup>. 급성규폐증(silicosis)도 산화적 손상을 일으킬 수 있는데 그 이유는 결정형 silica로부터 Si-O radical이 생성되기 때문이며 이것 역시 폐의 대식세포에서 superoxide나 hydroxyl radical을 생성하는 것이 확인되었다<sup>27)</sup>.

오존은 두개의 비공유전자쌍을 가지고 있어 생리적인 조건하에서 hydroxyl radical로 분해될 수 있는데 이것은 오존이 생체성분들과 반응할때도 free radical이 생성될 수 있다는 것을 암시해 준다. 오존이 시험관내 반응에서는 지질과산화를 유도하는 것이 확인되었지만 생체내에서는 아직 확인된 바 없다<sup>28,29)</sup>. 이와 비슷한 것으로서 nitric oxide도 *in vitro*에서 지질과산화를 유발하는 것이 확인되

Table 3. Estimate of the half-lives of oxy-radicals and related species

Radicals	Substrates	Concentration	Half life (at 37°C)
HO·	LH	1 M	10 <sup>-9</sup> sec
RO·	LH	100 mM	10 <sup>-6</sup> sec
ROO·	LH	1 mM	7 sec
L·	O <sub>2</sub>	20 μM	10 <sup>-8</sup> sec
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	—	—	—
O <sub>2</sub>	—	—	—
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	Solvent	10 <sup>-6</sup> sec
Q·	—	—	Days

었다<sup>30</sup>.

담배연기는 많은 산화성 물질들을 함유하고 있기 때문에 기도세포의 손상을 초래할 가능성이 있다<sup>31</sup>. 담배연기중에는 puff당 10<sup>16</sup>개의 free radical이 존

재하며 이들중 어떤것들은 폐에 도달할만큼 충분한 life time을 갖고 있다(Table 3)<sup>31,32</sup>. 더 나아가서 흡연자들은 하기도(lower respiratory tract) 및 폐포에 백혈구가 증가되고 이들이 포식작용을 하는

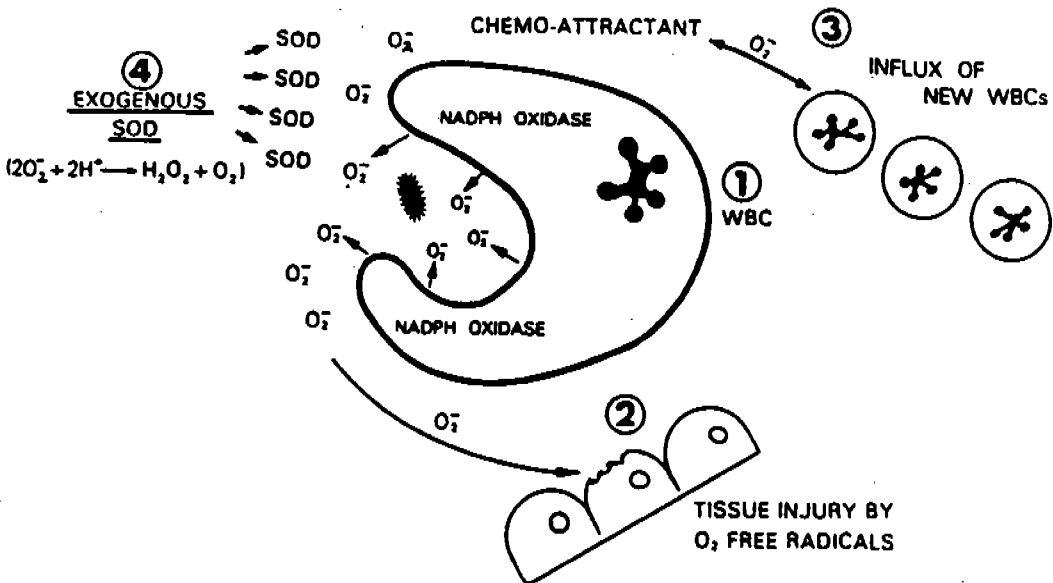


Fig. 2. Respiratory burst

동안 많은양의 superoxide를 유리하기 때문에 폐 세포내의 항산화물질들이 감소되어 oxidative stress가 증가되는데(Fig 2), 이때 항산화제들이 감소되는 것은 주로 그들의 화학적인 conjugation에 의한 것이 많다<sup>33)</sup>. 이와같은 직접적인 영향외에도 특히 활성산소는 단백질 분해효소 억제제를 불활성화시킬 수 있으며 이로 인해 단백질 분해효소에 대한 방어력이 줄어들기 때문에 폐기종의 원인이 될 수 있다<sup>34)</sup>.

### 3. 생체세포의 항산화방어기전

앞서 언급한 바와 같이 폐세포는 체내외의 여러 산화성 물질에 의한 산화적인 손상을 방어하거나 최소화하기 위하여 여러가지 항산화계를 가지고 있다. 이 항산화 방어기전들은 기능에 따라 몇 가지로 대별할 수 있는데 첫째, free radical 생성을 억제하는 것 둘째, 산화제를 덜 유독한 화합물로 전환시키는 것 셋째, 활성산소등을 세포내의 주요 활성부위로부터 격리시키는 것, 그리고 네째로 생체분자의 산화적 손상을 수복하는 것등으로 나눌 수 있다. 각각의 항산화계는 이러한 여러가지 기전중 한가지 또는 그 이상을 독립적 또는 협동적으로 수행한다.

#### (1) Free radical 생성억제 작용

세포독성이 큰 hydroxyl radical은 주로 superoxide나 hydrogen peroxide가 전이금속과의 반응에 의해서 생성되기 때문에 이와같은 금속이온의 활용을 제한하는 것은 hydroxyl radical생성을 억제하고 세포를 방어할 수 있는 가장 중요한 방법이 될 수 있다. 그런데 전이금속들의 이용성을 조절하는 면에서는 세포내보다 세포외의 공간이 더욱

중요하다. 그 이유는 포식세포로부터 생성되어 Haber-Weiss반응의 기질이 되는 hydrogen peroxide와 superoxide가 주로 세포외에 존재하는 반면에 이와같은 활성화산소들을 제거하는 항산화 효소들은 상대적으로 결핍되어 있기때문이다. 이와같은 관찰은 혈장에 존재하는 항산화제들의 중요한 역할이 free radical반응에 참여하는 전이금속을 제거해주는 것일지도 모른다는 것을 암시해 준다. 순환혈액에는 유리상태의 철이 Haber-Weiss반응에 참여하는 것을 막아주는 몇가지 중요한 당단백질(glycoprotein)이 있다<sup>11,12)</sup>.

이들중 transferrin은 한분자가 2원자의 철과 결합할 수 있고 정상상태에서는 약 30%만 포화되어 있어 철에 의해 유발될 수 있는 지질과산화반응을 효과적으로 억제한다. 또한 이 당단백질은 허혈조직이나 활성화된 포식세포와 인접한 곳에 존재할 수 있고 산화적인 파괴에 대한 저항성도 있다<sup>35)</sup>. Lactoferrin도 철에 대한 높은 친화력을 갖고 있으며 부분적으로만 결합되어 있다.

Ceruloplasmin도 transferrin과 함께 금속촉매에 의한 free radical생성반응을 억제하는 기능을 가진 중요한 단백질이다<sup>36,37)</sup>. Ceruloplasmin은 철과 결합하는 것외에도 비효소적 반응을 통해 superoxide의 생성을 억제하고, superoxide나 hydroxyl radical을 제거하며 단백질 분해효소 억제제의 산화적 손상을 막아주기도 한다<sup>38-40)</sup>.

Ferritin은 24개의 subunit로 구성되어 있고 4500개의 metal binding site를 가지고 있어 많은 양의 금속과 결합할 수 있으며 대부분의 유리상태의 철은 이것과 결합되어 free radical 생성반응이 억제된다<sup>41,42)</sup>. 세포는 또한 세포내에 iron pool을 가지고 있는데 이것의 크기와 작용에 대해서는 아직 잘 알려져 있지 않다.

다만 지금까지의 연구결과에 의하면 pool내의 철이온이 phosphate ester나 유기산 혹은 막지질과 결합되어 있다고 알려져 있으며, 이 형태로 free radical반응에 이용될 수 있다고 한다<sup>12,37)</sup>. 따라서 이 iron pool을 free radical반응이 일어날 수 있는 부위로부터 격리시키거나 superoxide나 hydrogen peroxide를 iron pool에 들어가지 못하게 차단하는 것도 항산화 방어기전이 될 수 있는데 세포내 catalase나 superoxide dismutase(SOD)는 이와 같이 기능을 수행하는 항산화효소들이다.

2) Free radical 제거작용

세포가 산화적 stress를 받는 동안 이용할 수 있는 항산화계는 주로 free radical을 제거하는 것들이다. 이 항산화계들의 세포내 농도는 매우 다양하며 크게 항산화 효소계, 수용성 및 지용성 항산화제 그리고 비효소단백질로 나눌 수 있다.

(1) 항산화 효소계

세포내의 일차적인 항산화방어 기전은 catalase, SOD 그리고 glutathione peroxidase(GSH-Px)를 포함한 GSH redox cycle에 관여하는 효소들에 의해 이루어지며, 이들은 주로 superoxide와 hydrogen peroxide를 제거하므로써 세포내 이들의 농도가 연쇄반응을 일으키는데 필요한 만큼 증가되지 않도록 한다. 이 효소들은 세포내에서 각기 특이한 곳에 위치하고 있을뿐만 아니라 그들의 활성부위에도 각기 다른 금속들을 함유하고 있다<sup>43)</sup>.

Catalase는 hydrogen peroxide를 물과 산소로 분해시키는 효소로서 분자량이 240,000정도이고 4개의 subunits로 된 heme단백질이다. Iron-heme활성부위는 단백질분자 내면에 안정하게 위치하고 있어 단지 hydrogen peroxide나 methyl peroxide 같이 작은 분자들만 접근이 가능하고 지질과산화

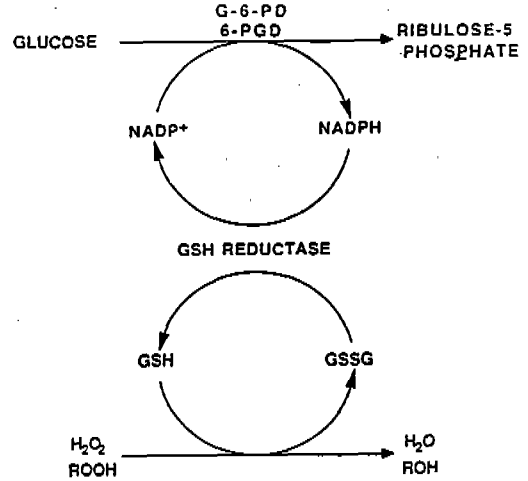


Fig. 3. Schematic delineation of the glutathione redox cycle

반응 생성물인 lipid hydroperoxide등과 같은 다소 큰 분자들은 대사하지 못한다<sup>44)</sup>. 사람의 경우 catalase는 매우 널리 분포되어 있으며 특히 간세포와 적혈구에 많고 뇌, 폐, 그리고 췌장에는 적다<sup>45)</sup>.

GSH redox cycle은 세포내의 hydrogen peroxide를 환원시키는 중추적인 역할을 하며 catalase의 작용을 보완한다(Fig. 3). 특히 막지질의 과산화반응에서 생성되는 많은 유독성 hydroperoxide들을 제거함에 있어서는 catalase보다 훨씬 더 효과적이다<sup>46)</sup>. 이 순환반응의 key enzyme인 GSH-Px는 4개의 Se가 활성부위의 selenocysteine잔기로 결합되어 있는 분자량 85,000의 단백질이다. GSH-Px는 보조기질로 GSH를 꼭 필요로 하며 이것을 GSSG로 산화시키지만 hydroxyl radical이나 superoxide에 의해 불활성화된다<sup>47,48)</sup>. Oxidative stress를 받지 않은 정상세포는 GSH/GSSG의 비와 환원형 GSH의 농도가 높기때문에 여러가지 peroxide를 용이하게 환원시킬 수 있다. 생성된 GSSG는 단백질의 sulfhydryl group과 결합하여 sulfhydryl-



Table 4. Natural products and drugs which have antioxidant action.

항산화제	항산화작용기전	약리효과
1. 식물기원 항산화제		
- Flavonoid류	$^1O_2$ , $O_2^-$ 제거	항염증
- Phenolic acids	지질과산화억제	항염증
- Phenols		항염증
- Terpenoids		
- Alkaloids		
- Tanines		간장장해의 억제
2. 생체내 항산화 효소의 수식 또는 항산화제유도체		
- Liposomal SOD	$O_2^-$ 제거	
- DEG-SOD	$O_2^-$ 제거	항당뇨
- SAM-SOD	$O_2^-$ 제거	항염증
- 5고리형 $\alpha$ -tocopherol	$O_2^- \cdot OH$ 제거	
- CV-2619(Idebenone)	지질과산화억제	
- Ascorbylpalmitate	지질과산화억제	
- B <sub>2</sub> -butylate	GSH보조	
3. 합성 항산화제		
- Cu(disps) <sub>2</sub>	$O_2^-$ 제거	항염, 항궤양, 항당뇨
- Permalon	$O_2^-$ 제거	항류마치스
- Cupralene	$O_2^-$ 제거	항류마치스
- Ebselen	Hydroperoxide분해 Lipoxigenase 억제	
- Deferoxamine	지질과산화억제	
- U-74500A	지질과산화억제	
- U-74006F	지질과산화억제	
- Dapsone	$\cdot OH$ 제거	
- Auranofin	$O_2^-$ 제거	항류마치스
- R-830	지질과산화억제	항염증작용
- Vipocetine	지질과산화억제	뇌대사촉진
- ONO-3144	지질과산화억제	항염증 항허혈
- Avs	$\cdot OH$ 제거	항홍부종제
- Centrophenoxine	$O_2^- \cdot OH$	
- Flunarizine	지질과산화억제	
- Sorbinil	$\cdot OH$ 제거	항당뇨병
- Bendazac	$\cdot OH$ 제거	항염증 항백내장
- Sulfazalazine	$O_2^-$ 생성억제	항궤양성대장염

GSSG와 같은 혼합형의 disulfide를 형성할수도 있는데 이것은 단백질의 기능을 변화시키는 원인이 되기도 한다<sup>49</sup>). 세포는 세포내 GSH/GSSG의 비를 증가시키기 위한 두가지 system을 가지고 있다. 첫째는 GSH와는 반대로 GSSG는 세포막을 통과할 수 있어서 세포내의 농도가 낮아지는 것으로써 이것은 간과 심장세포에서 확인되었다<sup>50</sup>). 다른 한가지는 GSH reductase에 의해서 GSSG가 다시 GSH로 환원되는 것이다. GSH reductase는 분자량이 105,000 dalton으로 GSSG를 효과적으로 환원시키지만 혼합형 disulfide의 환원은 촉매하지 못한다<sup>51</sup>). 따라서 GSH redox cycle은 세포내 thiol이 depletion 되는 것을 억제하는데 중추적인 역할을 한다. GSH를 생성하기 위해서는 NADPH로부터의 환원당량을 필요로 하는데 이것은 hexose monophosphate(HMP) shunt에 있는 glucose-6-phosphate dehydrogenase(G6PDH)에 의해서 공급된다. GSH redox cycle의 활성도는 적혈구와 간의 세포질분획에서 가장 높지만 다른 조직이나 mitochondria에서도 약간의 활성을 갖고 있다.<sup>52</sup> 이미 언급한 바와같이 catalase와 GSH redox cycle은 세포내에 있는 hydrogen peroxide를 제거하고 환원시키기 위해 중복되는 활성을 갖는다. 몇가지 실험결과에 의하면 적어도 포유동물에 있어서는 GSH redox cycle이 catalase보다 더 중요한 항산화효소계임을 나타내고 있다<sup>53</sup>). 내피세포의 배양 system에 hydrogen peroxide와 함께 불활성화된 catalase를 첨가하면 hydrogen peroxide를 대사하는 활성이 유지되지만 GSH redox cycle의 활성을 억제시키면 이 세포들은 이것을 대사하는 활성을 잃게 된다<sup>54</sup>). 또한 catalase는 주로 세포내의 peroxisome에 편재되어 있는 반면 GSH redox cycle 효소들은 세포질분획

전체에 분포되어 있어 산화성 물질들과 접촉할 기회가 많다. GSH-Px는 또한 catalase보다 훨씬 낮은 Km값을 갖는데 이것은 낮은 농도로 존재하는 hydrogen peroxide의 분해를 위해서는 GSH redox cycle 효소들이 훨씬 더 유리하다는 것을 암시해 준다<sup>55,56</sup>). 또한 GSH system이 hydrogen peroxide 이외의 hydroperoxide들도 대사시킬 수 있다는 점도 장점이 될수 있다. 그러나 모든 동물의 세포 및 종(species)에 관계없이 일률적으로 적용되는지는 아직 분명하지 않다.

HMP shunt에서 G6PDH는 GSH redox cycle에 NADPH를 공급하는 중요한 항산화효소이며 이 효소가 결핍된 세포는 산화적 손상에 민감하다는 것이 확인되었다<sup>57</sup>). 그러나 생성된 NADPH는 superoxide등과 직접반응은 하지 않기 때문에 이 효소의 항산화 활성은 이 cycle에만 국한된다.

McCord와 Fridovich<sup>58</sup>)에 의해 확인된 SOD는 superoxide를 hydrogen peroxide와 물로 전환시키는 반응을 촉매하는 매우 중요한 항산화효소이다. 생리적인 조건에서 superoxide는 자발적인 dismutation반응도 일어나지만 이 반응보다 SOD의 속도상수가 10<sup>4</sup>배나 크기 때문에 대부분의 생체내 superoxide는 SOD에 의해 전환된다고 볼수 있다<sup>59</sup>). 세포내 항산화기전으로서 SOD의 기여도는 조건에 따라서 다소 차이가 있는데 이는 이 효소에 의한 생성물이 hydrogen peroxide이기 때문이다. 따라서 어떤 상황에서 유리상태의 철이 존재하고 catalase의 활성이 낮으면 이 hydrogen peroxide로부터 Haber-Weiss반응이 진행되기 때문에 결국 SOD가 hydroxyl radical생성을 증가시키는 원인이 되고 나아가서 조직의 산화적 손상을 초래할 수도 있다. 그러므로 SOD, catalase 그리고 GSH-Px는 활성

산소들에 의한 산화적 stress로부터 세포를 보호함에 있어 상호보완적인 관계에 있다고 볼 수 있다. 또한 효소자체의 산화적인 손상에 있어서도 서로를 보호한다. 즉 hydrogen peroxide는 SOD를 불활성화하고 superoxide는 catalase와 GSH-Px의 기능을 억제한다<sup>48, 50</sup>). 그러므로 SOD는 catalase와 GSH-Px의 불활성화를 막을수 있고 반면에 catalase와 GSH-Px는 SOD를 보호할 수 있다.

SOD는 다양한 보결단(prosthetic group)을 가진 metalloenzyme이다. 가장 흔한 형태는 Cu, Zn-SOD로 분자량이 32,000정도이며, 두종의 금속중에서 구리는 촉매활성을 위해 필수적이고 Zn은 효소단백질의 구조를 안정하게 해주는 역할을 한다<sup>61</sup>). 이 효소는 주로 세포질에 많고 핵에는 존재하지 않으며 간, 뇌, 고환등에 많다<sup>45</sup>).

Mn-SOD는 주로 mitochondria에 존재하며 CN<sup>-</sup>에 resistant하고 주로 전자수송계에서 생성되는 superoxide를 제거하는 역할을 한다<sup>62</sup>). 또한 사람의 plasma에 미량으로 존재하는 Cu-SOD는 소수성 당단백질로 다른 조직에서는 발견되지 않는다<sup>63</sup>).

대부분의 세포들은 selenium이 없는 GSH peroxidase도 함께 갖고 있는데 이것은 GSH transferase와 같이 selenium이 결핍된 상태에서 부분적으로 항산화활성을 보충해준다<sup>64, 65</sup>). 그렇지만 Se이 있는 GSH-peroxidase와는 달리 hydrogen peroxide를 대사하지는 않으나 분자량이 적은 organic hydrogen peroxide에 대해서는 특이성을 가지고 있다. GSH의존성인 다른 세포질 단백질도 지질과산화 반응을 억제하는 작용이 있는 것으로 보고되었지만 아직까지 분명하게 정의되지 않고 있다<sup>66</sup>).

## (2) 지용성 항산화제

Vitamin E나  $\alpha$ -tocopherol은 대표적인 지용성

항산화제로서 생체막을 산화적인 손상으로부터 보호한다<sup>67-69</sup>). 이들은 소수성이고 지질에 대한 용해도가 크기 때문에 막내로 투과될수 있으며 superoxide, hydroxyl radical 그리고 peroxy radical들을 덜 유독한 형태로 전환시키는데 중요한 역할을 한다<sup>70, 71</sup>). 지질과산화반응에 의해 생성된 lipid free radical들은 쉽게 환원되지 않고 또 다른 지질의 산화에 참여할수 있는데 Vitamin E는 특별히 이 과산화연쇄반응을 효과적으로 blocking한다. 그 이유는 환원에 의해 형성된 Vitamin E radical은 상대적으로 안정하고 다른 지질기질들과 더이상 반응하지 않기때문이다. Vitamin E는 이러한 항산화작용외에도 막지질의 물리성을 변화시킬 수 있고 serotonin의 수송, 막구조의 안정화 및 막투과성유지등을 조절할 수 있다<sup>72-74</sup>). 또한 lipoxygenase의 활성을 억제하고 백혈구의 chemotaxis나 random migration을 억제하기도 한다.

Carotenoid의 일종인  $\beta$ -carotene은 Vitamin A의 전구물질이며 어떤 조직의 세포막에는 고농도로 축적되어 있다. 이것은 superoxide를 제거하고 peroxy radical과 반응할 수 있는 또 하나의 지용성 항산화제이다<sup>75</sup>). 그러나 고산소의 조건하에서는 prooxidant의 성질도 갖고 있다<sup>76</sup>).

## (3) 수용성 항산화제

Vitamin C는 대표적인 수용성 항산화제로서 대부분의 조직세포 내, 외에 널리 분포되어 있어서 산화환원반응에 참여할 수 있고 semidehydroascorbate free radical을 생성하면서 동시에 superoxide나 hydroxyl radical등을 직접 제거하기도 하며 GSH에 의해 dehydroascorbate로 환원되기도 한다<sup>77</sup>). Vitamin C는 또한 백혈구의 myeloperoxidase-halide계로부터 생성된 활성산소들에 의한 단백질분해효소

억제제의 불활성화를 막아주며<sup>78)</sup>, 막에 결합된 산화형 Vitamin E를 재생시켜 항산화제로서의 기능을 다시 수행할 수 있도록 해준다<sup>79)</sup>. 그렇지만 이것은 prooxidant의 성질도 갖고 있기때문에 보통 major antioxidant로는 생각하지 않는다<sup>80)</sup>. 어떤조직에서 Vitamin C가 prooxidant인지 antioxidant인지는 free radical을 생성할 수 있는 철의 저장정도에 따라 결정된다<sup>81)</sup>.

GSH는 비효소적 촉매반응으로 superoxide, hydroxyl radical, 또는 다른 organic free radical이나 이들의 중간물질들과도 작용할수 있는 매우 중요한 수용성 항산화제이다<sup>32,82)</sup>.

Purine대사에 의해 생성되는 뇨산(uric acid)은 강력한 항산화활성을 갖고 있으며 urate는 hydroxyl radical, oxoheme oxidants 또는 peroxy radical들을 직접 제거해 준다<sup>83,84)</sup>. 또한 Vitamin C가 산화되는 것을 막아주며 전이금속과 결합할수 있어 free radical생성반응을 억제한다<sup>37,85)</sup>. 이 반응에서 요산은 비가역적으로 분해되는 희생적인 항산화제(sacrificial antioxidant)로 작용한다.

또 하나의 수용성항산화제로는 포도당을 들 수 있는데 이것도 mannitol이나 thiol화합물에 필적할 만큼의 hydroxyl radical제거효과를 가지고 있다<sup>86)</sup>.  $\beta$ -Amino 산인 taurine은 대부분의 조직세포 내외에 분포하고 있으며 특히 산소 radical이 많이 생성되는 세포에 고농도로 축적되어 있는 항산화물질이다<sup>87)</sup>. 이것은 주로 이물질(xenobiotics)의 conjugation에 관계하지만 HOCl과 같은 화합물과 직접반응하여 반응성이 큰 산소대사물로부터 보호하기도 한다<sup>88)</sup>.

#### (4) 항산화 단백질

몇가지 고분자 단백질들은 고농도로 생체내에 존재하면서 free radical반응의 target으로 제공되어

희생적인 항산화제 역할을 하는 것들이 있다. 당단백질인 기도점액은 대표적인 예로서 담배연기나 먼지와 함께 흡입된 반응성산화제를 효과적으로 제거할수 있고 이로 인해 점막 아래에 있는 내피세포를 보호한다<sup>89)</sup>.

Albumin은 또 하나의 희생적인 항산화제로 그 표면에 구리와 철 같은 금속이 강하게 결합할수 있다. 이 결합된 철은 여전히 Haber-Weiss반응에 참여할수는 있지만 여기에서 생성된 hydroxyl기는 즉시 albumin과 반응하여 제거될수 있다<sup>90,91)</sup>. 이러한 반응이 진행되는 동안 albumin자체는 손상을 받지만 생물학적으로 볼때 큰 의미는 없다. 왜냐하면 활용될수 있는 albumin의 양은 엄청나게 많은 반면 생성된 hydroxyl radical들은 더 중요한 기능을 하는 다른 생체분자들과 반응하기 전에 이미 제거되기 때문이다.

#### 3) 산화적 손상에 대한 수복기전

산소대사물에 의한 세포손상으로부터 쉽게 회복하는 능력을 가진 동물은 산화적 stress가 증가되었을때 생존율이 증가될수 있고 이러한 능력은 species에 따라서 각기 다르게 나타나고 있다<sup>92)</sup>. 산화적 손상에 대한 수복기전은 아직 완전히 이해되지 않고 있지만 손상된 분자를 제거하고 손상된 조직을 새로운 것으로 대체하는 것으로 보인다.

세포의 대표적인 손상은 핵산과 막에 대한 것을 들수 있다. 핵산은 radical공격을 받아 nucleotide로부터 염기가 유리되거나 DNA single strand가 파손된다<sup>93)</sup>. 이때 손상이 크지 않을 경우는 핵에 존재하는 ADP-ribosyltransferase에 의해 수복되지만<sup>94,95)</sup> 그 손상이 심각할 정도로 클때에는 이 효소가 수복기전에 작용하는 동안 세포내의 NAD<sup>+</sup> 수준을 크게 떨어트리기 때문에 오히려 세포독성의

원인이 되기도 한다<sup>96)</sup>.

산화적 손상을 받은 세포막의 수복을 위해서는 phospholipase A와 seleno-enzyme인 phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase가 산화된 phospholipid를 분해하므로써 이루어진다. 이 효소들은 지질과산화반응이 더이상 진행되지 않도록 손상된 영역을 제거할수 있다<sup>97,98)</sup>. 손상된 조직구조를 새로운 것으로 대체시키는 세포증식은 그 다음으로 수행되는 수복기전이다. 특히 폐세포의 증식은 고농도의 산소에 노출시킨 흰쥐를 대상으로 깊이있게 연구되었는데 고산소는 대개 초기에 세포를 손상시키고 세포의 복제를 억제하는 것이 확인되었다<sup>99,100)</sup>.

최근에 양이온성 유기화합물인 polyamine이 세포의 증식과 RNA나 DNA의 합성에 결정적인 역할을 한다는 것이 알려졌고<sup>101)</sup> polyamine의 합성을 억제하면 세포의 복제와 증식이 억제되며 고분압의 산소는 polyamine대사를 억제한다는 것도 확인되었다<sup>102,103)</sup>.

#### 4. 폐의 항산화 방어기전

지금까지 논의한 생체세포의 항산화방어기전들이 호흡기계의 산화 환원상태를 유지하는데도 대부분이 이용되고 있을지 모르지만 이들중 어떤 것은 폐에서의 존재와 역할에 대하여 분명하게 정의되지 않은 것도 있다. 그리고 폐의 항산화방어기전을 이해하는데는 다소 복잡한 문제들이 있다. 왜냐하면 세포의 증식, 포식세포의 빠른 유입, 출혈, 부종등이 산화적 손상과 함께 나타나고 이로 인해 이해하기 어려운 생화학적 변화들이 수반되기 때문이다. 이제부터는 예상되는 산화적 stress에 대해

폐의 항산화계가 어떻게 상호작용하고 대처하는가를 논하려고 한다.

##### 1) 폐세포내의 항산화 효소들

폐세포도 일반적인 다른세포와 마찬가지로 다양한 항산화효소들을 함유하고 있으며 정상적인 대사를 통해 생성되는 활성산소들이나 다른 산화물질들을 제거한다. 폐세포내의 항산화효소들이 산화적 손상으로부터 폐를 보호하는데 기여한다는 것은 고산소 분압에 노출시킨 실험동물을 모델로 수행한 연구에서 밝혀졌다. 즉 85% 산소에서 5-6일간 노출시킨 흰쥐를 그후 100% 산소에 노출시켰을때 살아 남았으며, 이것은 SOD활성도가 유도된 것과 관계가 있다는 것이 관찰되었다<sup>104,105)</sup>. 그후 여러 조건에서 실험을 수행한 결과 SOD뿐만 아니라 catalase, G6PDH 및 GSH-Px도 유도되는 것이 확인되었다<sup>106-112)</sup>. 그러나 신생 흰쥐에서도 이와 비슷한 결과를 얻었지만 guinea pig나 hamster에서는 이들이 유도되지 않았다<sup>110,114)</sup>. 동물의 종간에 이와같이 고산소에 대한 response가 다른 것은 정상상태에서의 여러동물에서도 확인되었다<sup>115)</sup>. 즉 SOD의 활성도는 쥐, hamster, 원숭이, 그리고 사람 모두에서 비슷했지만 GSH-Px는 쥐에서 높았고, catalase는 원숭이가 쥐보다 10배 정도 높았으며 non selenium GSH-Px는 단지 쥐에만 존재하였다. 이 결과들은 고산소분압에 대한 이 항산화효소들의 역할이 사람에게는 적용될 수 없을지도 모른다는 것을 암시해 준다. 그러나 chromosome 21에 있는 SOD gene이 결핍된 환자의 혈액에서는 SOD의 활성도는 낮았지만 catalase는 정상이었으며 이 환자가 산소 mask의 부주의로 4-5시간 100% 산소를 흡입한 결과 산소독성으로 심한 폐의 부종과 호흡부전이 유발되는 것이 보고된 바 있다<sup>116)</sup>. 이것은

SOD가 사람에게도 중요하다는 것을 시사한다.

쥐 폐의 항산화효소들은 흡연에 의해서도 증가되었다(Fig. 4). 그러나 이 경우에도 catalase와 SOD는 흡연기간의 증가에 따라 점차 증가되지만 GSH-Px는 크게 변화되지 않았고 폐에 존재하는 3종의 SOD중에서 등전점이 4.7인 Mn-SOD가 특이하게 유도되었다<sup>117)</sup>.

Endotoxin도 고분압산소에 대해 팔목할 만한 보호효과가 있으며 항산화효소들의 활성도를 증가시킨다고 하였다<sup>118,119)</sup>. 그러나 이것은 모든 실험동물에 다 적용되지는 않았으며 그 기전도 아직까지 명확하게 밝혀지지 않고 있다<sup>120)</sup>. 또 다른 연구자들에 의하면 endotoxin이 쥐의 폐에서 SOD를 유도하지 않고도 산소독성으로부터 보호할 수 있으며 이것은 혈청에 있는 어떤 factor에 의해 이루어졌을 것으로 보고 있으며 이러한 효과를 갖는 인자로는 cytokine, tissue necrosis factor/catechin(NF/C) 또는 interleukin-1(IL-1)등일지도 모른다고 하였다<sup>121)</sup>. 또다른 연구자들은 GSH redox cycle이 세포외에서 생성되는 여러가지 산화제를 제거하는데도 중요한 역할을 한다는 것을 보고한바 있다<sup>122,123)</sup>.

## 2) 기도에 존재하는 항산화제

앞서 논의한 바와같이 세포와 세포사이의 공간은 free radical을 제거하는 효소들이 결여되어 있기 때문에 폐내피세포(endothelial cells)의 표면에 대한 산화적 손상을 조절하기 위해서는 다른 항산화 방어기전에 의존해야 한다. 기관지와 폐는 대기오염물질과 같은 산화제에 항상 노출되어있고 특히 폐의 상피세포는 표면이 넓기 때문에 산화제로부터 공격을 받기가 쉽다. 기도내에는 상피세포에서 합성된 고분자의 당단백질을 함유하고 있으며 이물질이 침입하면 점액의 분비가 촉진된다. 이 단백

질들은 담배연기등에 포함되어 있는 hydroxyl radical등을 아주 효과적으로 제거할뿐만 아니라 담을 묽게하여 쉽게 배설되게 함으로써 기도를 보호한다<sup>104,105)</sup>. 폐포는 상피세포액으로부터 또다른 항산화 활성을 보충할 수 있는데 이 체액은 혈장의 100배나 되는 고농도의 GSH를 함유하고 있으며 고산소분압에 노출되면 체액의 양이 증가되고 이와함께 폐조직내의 GSH농도도 증가하게 된다. 더욱이 이중의 90% 이상은 환원형GSH이기 때문에 대식세포에서 생성되는 활성산소나 연기중에 존재하는 acrolein 등의 aldehyde들도 효과적으로 제거할수 있다. 이외에도 낮은 농도이긴 하지만 ceruloplasmin, transferrin, ascorbate, Vitamin E, ferritin등도 기도에 존재한다<sup>125,126)</sup>.

## 3) 순환혈액으로부터의 항산화 활성보충

Free radical에 의해 유발된 것으로 추정되는 환자의 폐를 조직학적으로 관찰해보면 적혈구나 혈소판이 그 부위에 물려있는 것을 볼수 있다<sup>126)</sup>. 이 세포들은 산화적 손상에 의해 병태를 촉진시킬수 있는 소지가 있다. 예를 들면 적혈구가 파괴되면 많은 양의 철이 유리되기 때문에 free radical반응을 일으킬수 있고, 혈소판은 thromboxan A<sub>2</sub>나 serotonin등을 유리시켜 막의 투과성을 증가시킬수 있다<sup>129)</sup>. 그렇지만 적혈구와 혈소판은 그들이 갖고 있는 세포내 항산화물질들을 폐의 모세혈관까지 공급하므로써 폐의 산화적 손상을 보호할수도 있으며 나아가서 폐전체의 항산화력을 증가시킬수도 있다. 따라서 순환혈액은 폐의 항산화력을 보충할수 있는 또 하나의 source가 될수 있다(Fig. 5).

적혈구는 SOD나 catalase 뿐만 아니라 GSH redox cycle의 모든 성분들을 함유하는 풍부한 양의 항산화물질들을 갖고 있다<sup>130)</sup>. 더나아가서 적혈구

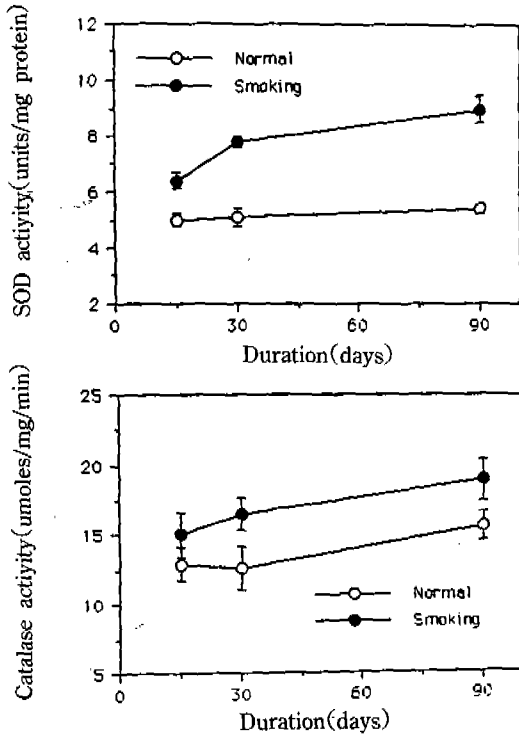


Fig. 4. The change of SOD and catalase activities in the lung cytosol from rat inhaled cigarette smoke.

막은 음이온 channel을 갖고 있어서 superoxide가 세포내로 들어가기 쉽게하며 그안에 있는 SOD에 의해 무독화될 수 있다<sup>130,131</sup>). 흡연자가 비흡연자에 비해 적혈구내에 더많은 catalase와 GSH를 함유하고 있는 것도 흥미로운 일이며, 배양세포를 산화적 stress에 노출시켰을때 흡연자의 적혈구가 비흡연자의 것보다 훨씬더 효과적으로 보호한다는 것도 보고된 바 있다<sup>132</sup>). 그러나 12개월간 흡연시킨 흰 쥐의 적혈구내 catalase나 SOD는 증가되지 않았는데(unpublished data) 이것은 적어도 만성흡연의 경우에만 이들이 유도되는 것으로 추정된다.

혈소판도 폐내피세포계의 항산화활성을 보장할수 있는 몇가지 특성을 갖고 있다. 즉 혈소판도 적혈구와 같이 catalase와 GSH cycle에 관하여는 여러 성분

들을 가지고 있지만 특히 hydrogen peroxide에 의해서 응집되기도 한다. 이것은 높은 산화적 stress 영역에 혈소판을 집결시키는 하나의 signal이 될 수 있다<sup>133</sup>). 혈소판의 항산화 potential은 *in vitro*에서도 확인되었다. 즉 혈소판을 xanthine oxidase와 함께 보온하면 HMP shunt를 자극하여 GSH cycle을 통해 hydrogen peroxide를 대사한다<sup>134</sup>). 적혈구와 혈소판 외에 포식세포들도 팔목할만한 양의 항산화제를 함유하고 있다. 일반적으로 이 세포들은 superoxide나 hydrogen peroxide만을 생성하는 것으로 취급되고 있지만 적어도 자극되지 않은 상태에서는 항산화활성을 가질 수 있다.

## 5. 항산화제 투여에 의한 조절

호흡기계의 여러가지 손상에 free radical의 생성과 산화적 손상이 관련되어 있다는 여러가지 증거들로부터 폐의 항산화활성의 증가는 이들에 대한 유용한 치료법이 될 수 있음을 알 수 있다. 약리적인 방법으로는 생체내 항산화활성을 증가시키는 것, free radical의 생성을 제한하거나, 혹은 투여한 물질이 생성된 반응성 화학종을 무독화시키는 것으로 대별할 수 있다.

### 1) 세포내 항산화 활성을 증가시키는것

정제된 SOD나 catalase를 투여한 결과 산화적 손상이 완화되었다는 결과는 많이 있다<sup>54,135,136</sup>). 그러나 대부분이 배양세포를 활성산소에 노출시킨 system에서 관찰된 것이 많고 체내에 투여했을 때는 혈장의 SOD농도가 증가되어도 고산소에 노출된 쥐의 폐에 대한 독성을 줄여주지 못하는 경우도 있었다<sup>137</sup>). 이것은 이 효소들이 큰 분자량을 갖고 있어 세포내로 운반되는데에는 여러가지 제한이

있기때문인 것으로 생각된다. 실제로 catalase는 정상세포들의 막을 통과하지 못하며, SOD경우도 매우 적은 양만 통과되는데 이것 또한 산화적 손상으로 세포막의 permeability barrier가 변화되었을 때만 가능하다<sup>138,139</sup>). 따라서 이 효소들의 이용은 세포외의 산화제를 제거하거나 막투과성이 변형된 경우 또는 백혈구 chemotactic factor로서만 가능하다<sup>140,141</sup>).

한편 효소를 liposome으로 encapsulation한 방법은 효소의 life time을 연장시켜 세포내의 활성을 높여주는 새로운 방법으로 이용되고 있다<sup>142</sup>). 실제로 liposomal 항산화효소를 실험동물에 주사한 후 고농도의 산소에 노출시켰을때 수명이 연장되는 예도 있었고<sup>143</sup>), PEG로 이 효소들을 conjugation한 것을 투여한 결과 폐의 산소독성이 감소되는 것도 보고되었다<sup>144</sup>). 세포내 항산화효소의 농도를 증가시키는 또 하나의 방법은 corticosteroid를 투여하는 방법인데, 이것은 SOD를 72%, GSH-Px를 94%까지 증가시켰다. 그러나 신생쥐에서는 이와같은 효과가 있었지만 성숙한 쥐에서는 이 효소들이 유도되지 않았으며 따라서 산화적인 stress에 대한 보호효과도 나타나지 않았다<sup>145</sup>).

이 이외에도 Ebselen은 GSH redox cycle의 기능을 향상시키고, dimethylsulfoxide는 연소생성물의 흡입으로부터 폐의 손상을 억제하는 것으로 알려져 있다<sup>146, 147</sup>). GSH는 여러가지 산화물질들과 반응할수 있기때문에 세포내 함량의 증가는 폐의 항산화방어능력을 향상시킬 수 있다. 혈장은 세포에 GSH를 공급해주는 중요한 source로서 간으로부터 공급받아 항상 일정량의 농도를 유지하고 있다<sup>148</sup>). 신장과 같은 장기는 높은 transpeptidase의 활성을 갖고 있어 순환혈액으로부터 GSH를 세포내로 유

입할수 있지만 폐세포는 GSH를 취할수 있는 막투과system이 잘 발달되어 있지 않다. 그러나 쥐나 생쥐의 경우는 외부에서 가해지는 GSH도 폐에 축적할수 있고 항산화방어를 위해 활용할수 있는 GSH pool의 농도를 증가시킬수 있다<sup>149-153</sup>). 실제로 외부에서 가해진 GSH는 흰쥐 폐의 항산화활성을 증가시켰고 이들을 고산소에 노출시켰을때 생존력이 증가되었다<sup>150,154</sup>). GSH는 free radical과 직접 반응할수 있기때문에 이와같은 효과는 세포의 항산화활성을 통해 이루어졌을 것으로 생각된다. 세포내 GSH농도를 증가시키는 또다른 방법은 GSH-methyl ester나 diethylmalate를 투여하는 방법인데 이것은 GSH의 막투과성을 증가시키는 작용을 한다<sup>155,156</sup>). Cysteine도 GSH의 전구물질로 이용되는데 이것이 혈장에서 신속히 대사되는 것의 일부분을 제외하고는 모두 GSH합성에 이용된다.

## 2) 활성산소 생성을 억제하는것

Metal-chelating agent는 활성산소들의 생성을 억제시킬수 있는 가장 효과적인 물질이다. 왜냐하면 이들은 철과 같은 전이금속들과 배위결합을 형성하므로써 전이금속들이 hydroxyl radical생성반응에 참여하는 것을 막아주기때문이다. 대표적인 iron chelator인 deferoxamine은 내피세포배양계에서 자극된 백혈구에 의한 세포손상을 효과적으로 보호하는 것이 확인되었다<sup>157</sup>).

Iron chelating therapy는 사용되는 물질들의 독성 때문에 아직 널리 이용되지 못하고 있는 실정이며 경구투여로 장에서 흡수되는 새로운 iron chelating agent의 개발이 시급하다. Allopurinol과 그 대사물인 oxipurinol도 산화적 손상에 대한 보호효과를 가지고 있다. 이들은 생체내에서 xanthine oxidase의 기질인 xanthine이나 hypoxanthine과 경쟁적인 기질로 이용



되므로써 요산의 생성을 억제한다. Allopurinol이 대사될 때는 superoxide가 생성되기도 한다. 그렇지만 그 대사생성물인 oxipurinol은 xanthine oxidase의 inhibitor로 작용하여 하나의 complex를 형성하므로써 효소가 더이상 superoxide를 형성하지 못하도록 한다<sup>158)</sup>. 이들은 또한 hydroxyl radical을 직접 환원시킬 수 있는 강력한 제거제로도 알려져 있다<sup>159)</sup>.

Tungsten도 xanthine oxidase의 inhibitor로 작용한다. 한 예로써 4주일동안 tungsten을 투여한 흰 쥐나 이것을 처리한 폐내피세포는 xanthine oxidase나 xanthine dehydrogenase의 활성이 거의 없어졌다는 보고도 있다<sup>160)</sup>. Tungsten에 의한 이 효소의 억제기전은 molybden이 xanthine oxidase에 결합되는 것을 막아주기 때문인 것으로 생각되고 있다.

### 3) 합성항산화제의 이용

Vitamin E는 강력한 항산화활성이 있을뿐만아니라 독성이 거의 없기때문에 폐의 항산화방어활성을 증가시킬수 있는 가장 이상적인 것으로 생각되고 있다. Vitamin E의 항산화활성은 폐세포나 사람의 여러 세포의 배양계에서도 확인되었다<sup>54,161)</sup>. 동물에 대한 Vitamin E의 보호효과는 아직까지 잘 정의되어 있지 않지만 이것이 결핍된 쥐는 산화적 손상이 크고 Vitamin E를 투여한 쥐는 완화된다는 것이 확인되고 있다<sup>162)</sup>. 그러나 정상쥐에 Vitamin E를 공급하였을 때 유용한 효과를 나타낸다는 증거는 거의 없다. 임상실험에서도 투여전부터  $\alpha$ -tocopherol의 level이 낮은 경우를 제외하고는 거의 대부분 좋은 효과를 보지 못했다. Vitamin E가 항산화효과를 나타내는데 가장 큰 제한요소는 이것이 지용성이기 때문에 폐포까지 운반되는데 어려움이 있다는 점

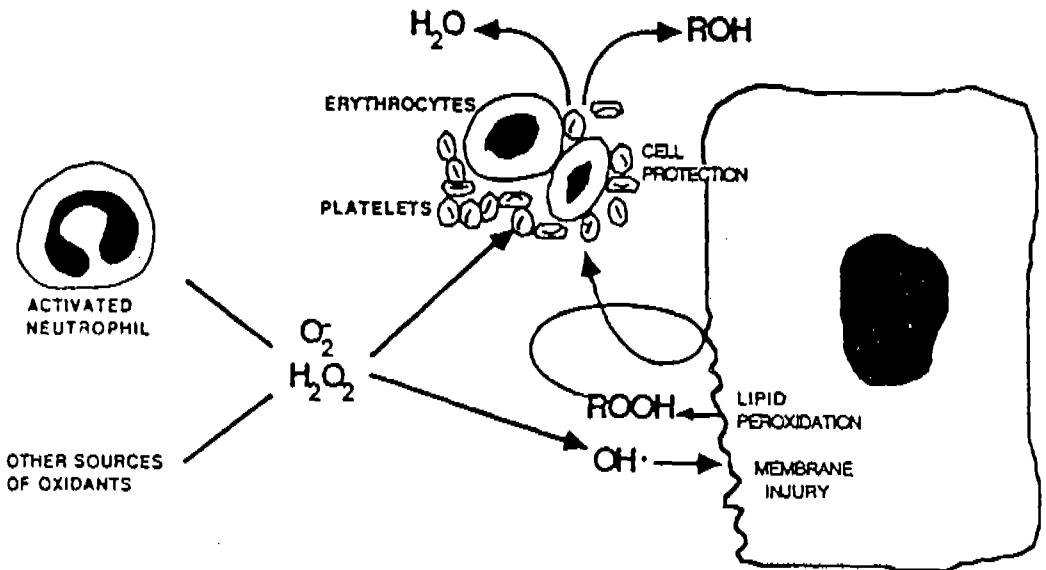


Fig. 5. A hypothetical antioxidant role for platelets and erythrocytes in the protection of endothelial cells from oxidant-induced injury.

이다. 실제로 Vitamin E를 투여하면 매우 천천히 축적되고 조직내의 수준을 다소라도 증가시키려면 수주일간 계속해서 투여해야 한다. 그러나 이러한 동안에 생체막의 손상은 이미 크게 진전되고 만다. Vitamin E도 liposome기법을 이용하여 세포내의 농도를 6시간내에 12배까지 증가시킨 예도 있다.<sup>163)</sup>

N-acetylcysteine(NAC)은 thiol을 가진 화합물로서 free radical이나 친전자시약들과 conjugation반응 및 환원반응을 통하여 비효소적으로 무독화시킬 수 있으며 거담약으로도 널리 이용하고 있다. NAC의 항산화활성은 2가지 기전에 의해 수행되는데 첫째는 hydrogen peroxide, superoxide, hydroxyl radical등과 직접 반응하여 반응성이 적은 thiol ra-

dical이나 NAC-disulfide를 생성하는 것이다<sup>33)</sup>. Hydrogen peroxide의 환원반응이 GSH-Px만큼 빠르지는 않지만 적절한 농도의 NAC는 포식세포에서 생성되는 것을 충분히 제거할수 있다<sup>164)</sup>. 두 번째로, NAC는 많은 조직이나 세포에서 deacetyl화되어 cysteine을 생성하고 이것은 GSH생합성에 이용되므로써 직접 산화제를 제거하거나 GSH redox cycle의 기질로 제공된다<sup>151,165)</sup>. NAC는 특히 폐의 산화적 손상에 효과적이며 연기의 흡입으로 인한 기도의 GSH depletion을 효과적으로 보충해 준다<sup>162)</sup>. NAC의 보호효과는 흰쥐 흡연실험에서도 확인되었다. 즉 낮은 농도의 NAC용액을 4개월간 식수와 함께 급여하면서 흡연시킨 흰쥐는 기도점

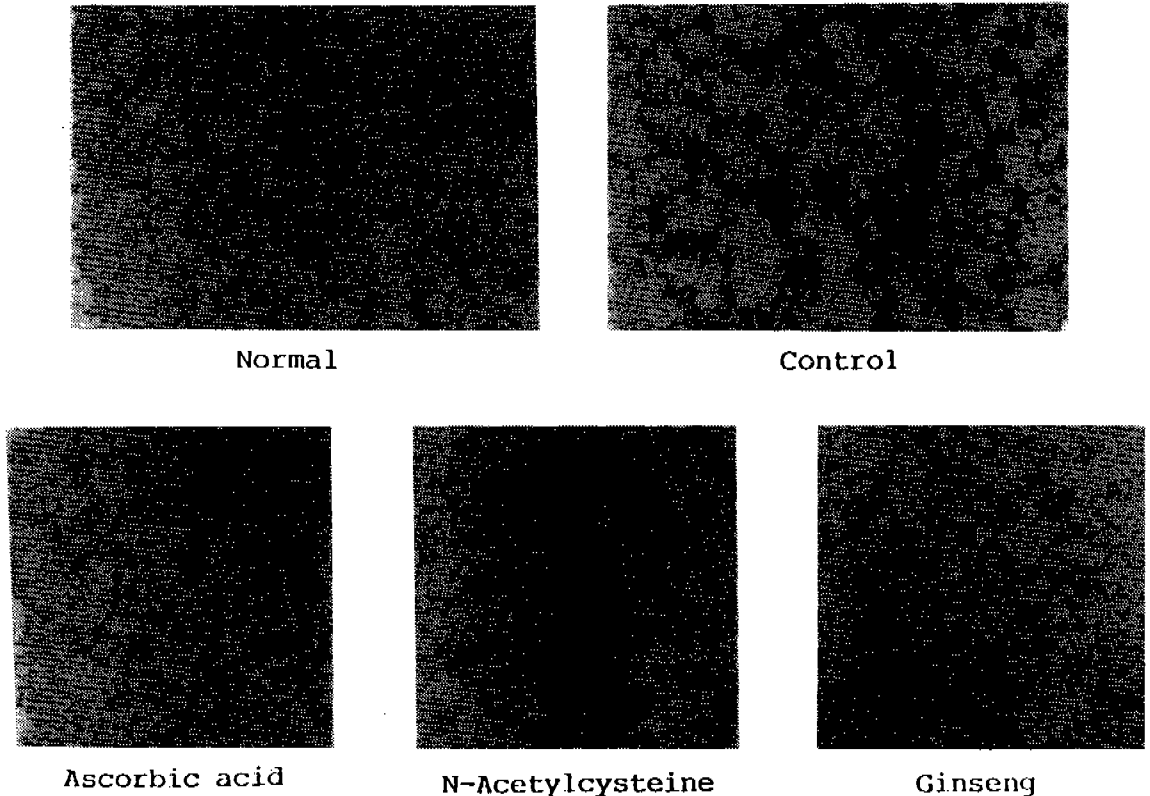


Fig. 6. Antioxidant effect of vitamic, NAC and ginseng on the lung against cigarette smoking

막과 폐포가 거의 정상 원위와 같은 조직학적 소견을 보였다(Fig. 6).

Dimethylthiourea(DMTU)는 hydroxyl radical, hydrogen peroxide 및 HOCl 등의 제거제로서 생물학적 반감기가 길고 분자량이 작기 때문에 세포막을 잘 투과할수 있어 조직세포내에 널리 분포될수 있다<sup>167,168</sup>. 특히 폐와 내피세포의 산화적 손상에 대해 효과적인 보호를 나타내었다<sup>169,170</sup>. 그러나 DMTU는 단지 한분자의 hydrogen peroxide만을 제거할수 있기 때문에 산소대사물이 계속적으로 생성되는 계(system)에서는 어려움이 있고, 이를 위해 농도를 증가시키면 세포독성을 유발하는 또다른 문제점이 있다. 이러한 세포독성이 DMTU자체에 의한 것인지 합성약품이기 때문에 오염된 이물질에 의한 것인지 아직 밝혀지지 않고 있다. 어쨌든 여러가지 면에서 장점이 있기 때문에 가장 이상적인 산소대사물 제거제로의 개발가능성이 크다고 볼 수 있다. 고려홍삼도 항산화활성이 있는 것으로 알려져 있다. 그러나 *in vivo* 실험으로 확인된 것은 거의 없으며 대부분 *in vitro* 실험에서 얻은 결과이다. 저자들은 홍삼의 물추출물도 장기적으로 투여할 경우 강력한 항산화활성을 나타내는 것을 원위실험을

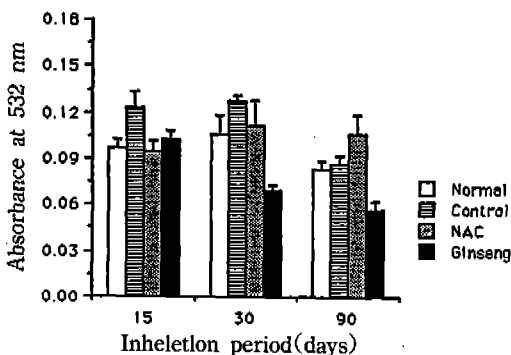


Fig. 7. Antioxidant effect of red ginseng in the rat inhaled cigarette smoke.

통해 확인하였다(Fig.6,7). 그러나 홍삼의 항산화기전에 관하여는 더 많은 연구가 요망된다. 이 외에도 flavonoid, phenol성 화합물, terpenoid, alkaloid 등 천연물기원으로부터 개발된 많은 제품들과 현재 수십가지의 합성 항산화제들(Table 4)도 여러가지 용도로 공급되고 있다<sup>171-177</sup>.

#### 4) 분자생물학적인 방법에 의한 조절

유전자의 조절이나 조작으로 항산화제의 합성을 유도하는 방법도 장래 기대할만 하다. 신생 원위나 성숙한 쥐를 고산소에 노출시키거나 cytokine 또는 endotoxin을 투여하였을 때 증가되는 항산화제들은 대부분이 유전자 조절기작에 의해서 이루어진 것으로 보인다<sup>118,120,114,178</sup>. 보다 더 흥미로운 사실은 고산소에 노출시켰을 때 Cu, Zn-SOD의 mRNA가 증가되는 것이 확인되었고<sup>179</sup> DNA재조합 기술로 사람의 Cu, Zn-SOD를 overproduction하도록 한 섬유아세포는 고산소에 의한 세포손상에 대해 상대적으로 더 저항성이 있었다<sup>180</sup>. 산화적 stress가 유전자수준에서 항산화활성을 유도하는 것과 유전자의 기능을 조절할수 있는 신기술의 개발은 항산화제resources를 인위적으로 증가시킬수 있다는 가능성을 암시해 준다. Endotoxin투여에 의한 cytokine product들이 항산화효소들을 유도할수 있다는 것 역시 흥미로운 점중의 하나이다. 즉 TNF- $\beta$ , IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ 를 처리하면 Mn-SOD의 mRNA가 증가되었으나 다른 cytokine들은 이와같은 변화를 보이지 않았다. TNF- $\alpha$ 는 여러종류의 cell line에서 Mn-SOD mRNA를 유도하였으며 IL-1은 사람의 melanoma cell에서 Mn-SOD를 유도하였다<sup>181,182</sup>.

#### (5) 식이 인자들

폐의 항산화 활성을 증가시키는 방법중에서 배농을수 없는 것은 식이인자(nutritional factors)를

들수 있는데 이들중 가장 중요한 것은 Vitamin류이다. 특히 흡연자들에서의 Vitamin섭취는 호흡기의 항산화보호를 위한 가장 이상적인 방법으로 생각된다. 그러나 Vitamin류에 대해서는 앞에서 이미 그 중요성을 논의했으므로 여기서는 그외의 인자들을 소개 하고저 한다.

Vitamin다음으로 중요한 것은 무기물과 미량원소들이다. 이들은 주로 항산화효소들의 합성에 필요한 것들이 많다. 그중 selenium은 GSH-Px의 합성에 이용되며 4개의 subunit로된 GSH-Px의 활성부위에 각각 한원자씩의 selenium을 필요로한다. 이에 관한 증거로써 Se이 결핍된 쥐는 폐의 GSH-Px활성이 감소되고 고산소에 노출시켰을때 생존력이 감소되는 것이 확인되었다<sup>183)</sup>. Zn, Mn, 그리고 Cu등도 SOD의 합성에 꼭 필요한 요소로써 필요한 만큼 공급되어야 한다<sup>184,185)</sup>.

산화적인 폐손상에 대해 지방질이 어떤 영향을 주는지는 아직 분명치 않다. 그러나 포화지방산은 과량 급여한 쥐는 정상사료를 급여한 쥐에 비해 고산소에 노출시켰을때 폐손상이 더 민감하게 일어나는 것이 확인되었다<sup>186)</sup>. 일상 섭취하는 단백질들은 폐항산화계의 여러성분들을 위해 전구물질로 작용될 수 있어 폐의 항산화활성을 증가시킬수 있는 하나의 인자가 될수 있다. 실제로 저단백식이(3% casein)를 투여한 흰쥐는 고단백식이(25% casein)를 투여한 군에 비해 고산소에서 생존력이 감소되었고 cysteine이나 methionine과 같은 sulfur를 갖은 아미노산을 첨가한 식이는 이것이 없는 아미노산을 첨가한 식이군보다 폐의 GSH농도가 높고 고산소에서 더 잘 견디었다<sup>187)</sup>. 이와같은 발견은 지방의 과다 섭취나 단백질들의 영양상태 불량등도 폐의 oxidative stress등과 같은 좋지않은 영향을

줄수 있다는 것을 암시해 준다.

## 6. 맺음말

지난 20여년 동안 사람의 여러가지 질환의 발생과 활성산소와의 관계에 대하여 많은 연구자들이 흥미를 가져왔다. 몇가지 호흡기질환에 대해서도 이들이 관련되어 있다는 것과 폐가 정상적인 기능을 유지하기 위해서는 산화제와 항산화방어활성의 균형이 중요하다는 것도 분명해지고 있다. 지금까지 세포내, 외의 생체성분들의 산화적 손상에 대한 항산화물질들의 보호작용과 생체가 정상적인 기능을 수행하기 위해 때로는 어떤 반응성 산화물이 필요하다는 것도 보아왔다. 만약 폐의 항산화활성이 free radical에 의해 발생한 질환을 완화시킬 수 있는 primary factor라면 세포가 정상적인 대사기능을 위해 요구되는 산화환원상태와의 상호관계를 분명히 이해할 필요가 있다. 지금까지 이에 대한 많은 연구에도 불구하고 여전히 남아있는 의문은 동물 모델이나 실험관내 반응에서 관찰된 결과들이 사람에게도 적용될 수 있는가? 어떤질환이 임상적인 항산화치료법으로 가장 잘 치료될 수 있는가? 어떤 항산화제가 생체내의 정상적인 산화적 조절작용에 영향을 주지않고 산화적 손상을 효과적으로 막을 수 있는가? 하는 것들이다. 이와같은 질문을 풀기 위해서는 생체내 oxidative stress의 수준을 측정할 수 있는 더 정확하고 더 sensitive한 임상실험모델이 필요하다. 왜냐하면 높은 반응성을 나타내는 산소대사물이 어디에 존재하는나 하는 것이 대단히 중요하기 때문이다. 즉 세포안에서 생성되는 것들에 대해서 세포외의 항산화제들은 거의 효과를 발휘하지 못할지도 모르며 더 나아가서 분자량이 작은

합성항산화제들이 설사 세포내로 침투해 들어간다 하더라도 제거할수 있는 활성이 그대로 유지되는 지는 여전히 의문이기 때문이다. 따라서 폐의 항산화방어에 관여하는 더 많은 연구와 도전이 필요할 것으로 생각된다.

### 참고문헌

1. Clark, J. M. and Lamberston, C. J., *Pharmacol. Rev.*, 23 : 37-133(1971).
2. Aleman, V. and Handler P., *J. Biol. Chem.*, 242 : 4087-4096(1967).
3. Brunori, M. and Rotillio, G., *Meth. Enzymol.* 105 : 22-35(1984)
4. Crapo, J. D. Freeman, B. A, Barry, B. E. Turrens, J. F. and Young S. L. *Physiol.* 26 : 170-176(1983).
5. Freeman, B. A. and Crapo, J. D. *Lab. Invest.* 47 : 12-26(1982).
6. Turrens, J. E. Freeman, B. A. and Crapo, J.D. *Arch. Biochem. Biophys.* 217 : 411-421 (1982).
7. Gillete, J. R. Brodie, B. B. and LaDu, B. N. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 119 : 532-548(1957).
8. Bartoli, G. W. Galeotti, T. and Azzi, A. *Biochem. Biophys. Acta.* 497 : 622-626(1977).
9. Jamieson, D. Chance, B. Cadena, E. and Boveris, A. *Annu. Rev. Physiol.* 48 : 703-719 (1986).
10. Halliwal, B. and Grootved, M. *FEBS Lett.* 213 : 8-14(1987).
11. Halliwal, B. and Gutteridge, J. M. C. *Biochem. J.* 219 : 1-14(1984).
12. Halliwal, B. Gutteridge, J. M. C. *Mol. Aspects. Med.* 8 : 89-193(1985).
13. Walling, C. *Acc. Chem. Res.* 8 : 125-131 (1975).
14. Fong, K. L. Mccay, P. B., Pour, J. L. Misra, H. P. and Keele, B. B. Jr. *Chem. Biol. Interact.* 15 : 77-89(1976).
15. Vijeyaratnam, G. S. and Corrin, B. J. *Pathol.* 103 : 123-129(1971).
16. Rose, M. S. Lack, E. A. Smith L. L. and Wyatt, I. *Biochem. Pharmacol.* 25 : 419-423 (1976).
17. Sharp, C. W. Ottolenglin, A. and Posner, H. S. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 22 : 241-251 (1972).
18. Waddel, W. J. and Marlowe, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 56 : 127-140(1980).
19. Farrington, J. A. Evert, M. Land, E. J. and Fletcher, K. *Biochem. Biophys. Acta.* 314 : 372-381(1973).
20. Krall, J. Bagley, A. C. Mullenbach, G. T. Hallewell, R. A., and Lynch, R. E. *J. Biol. Chem.* 263 : 1910-1914(1988)
21. Fisher, H. K. Clements, J. A. and Wright, R. R. *Am. Rev. Respir. Dis.* 107 : 246-252 (1973).
22. Gage, J. C. *Biochem. J.* 109 : 757-761(1968).
23. Snider, G. L. Hayes, J. A. and Korthy, A. L. *Am. Rev. Res. Dis.* 177 : 1099-1108(1978).

24. Hecht, S. M. *FASEB* 45 : 2784-91(1986)
25. Martin, W. J. *Chest*. 83 : Supp. 51S-52S (1983).
26. Goodglick, L. A. Pietras, L. A., and Kane, A. B. *Am. Rev. Resp. Dis. Abstract*. 137 : 402(1988).
27. Vallyanthan, V. Shix, Dalal, N. S. Irr, W. and Caystranova, V. *Am. Rev. Resp. Dis. Abst*. 137 : 404(1988).
28. De Lucia, A. J. Hogue, P. M. Mustafa, M. and Cross, C. E. *J. Lab. Clin. Med.* 90 : 559-566(1972).
29. Mustafa, M. G. and Cross, C. E. *Arch. Biochem. Biophys.* 162 : 585-594(1974).
30. Roehm, J. N. Hadley, J. C. and Menzel, D. B. *Arch. Environ. Health*. 23 : 142-153(1971).
31. Pryor, W. A., Dooley, M. M., and Church, D. F. *Adv. Free. Rad. Biol. Med.* 2 : 161-188 (1986).
32. Church, F. and Pryor, W. A., *Environ. Perspect.* 64 : 111-126(1985).
33. Mdeus, P. Cotgreave, I. A. and Berggren, M. *Respiration*, 50 : 31-42(1986).
34. Carp, H. Miller, F. Hoidal, J. R. and Janoff, A. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 79 : 2041-2045 (1982).
35. Enterington, D. J. Pugh, G. Silver, I. A. *Acta. Biol. Med. Germ.* 40 : 1623-1631(1981).
36. Stocks, J. Gutteridge, J. M. C. Sharp, R. J. and Dormandy, T. L. *Clin. Sci.* 47 : 223-233 (1974).
37. Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. *Arch. Biochem. Biophys.* 246 : 501-514(1986).
38. Frieden, E. *Metals ions in biological systems*. Vol. 73 Copper proteins, p. 118-142, Segel, H. Ed. New York, U. S. A. (1981).
39. Goldstein, I. M. Kaplan, H. R. Edelson, H. S. and Weissmann, G. J. *Biol. Chem.* 254 : 4040-4045(1979).
40. Dendo, D. W. *Agents Action*, 9 : 333-336 (1979).
41. Aisen, P. and Liskowsky, S. *Annu. Rev. Biochem.* 49 : 357-393(1980)
42. Gutteridge, J. M. C. Rowley, D. A. and Halliwell, B. *Biochem. J.* 99 : 263-265(1981).
43. Sie, H. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 136 : 478-480 (1987).
44. Webster, N. R. and Nunn, J. F. *Br. J. Anaesth.* 60 : 98-108(1988).
45. Hartz, J. W. Funakoshi, S. and Deutsch, H. *F. Clin. Acta.* 46 : 125-132(1973).
46. Ross, D. Norbeck, K. and Moldeus, P. *J. Biol. Chem.* 260 : 15028-15032(1985).
47. Searle, A. J. and Willson, R. L. *Int. J. Radiat. Biol.* 37 : 213-217(1980).
48. Blum, J. and Fridovich, I. *Arch. Biochem. Biophys.* 240 : 500-508(1985).
49. Sie, H. and Akerboom, T. P. M. *Method. Enzymol.* 105 : 445-451(1984).
50. Chance, B. Sies, H. and Boveris, A. *Physiol. Rev.* 59 : 527-605(1979).
51. Nishiki, K. Jamieson, D. and Oshino, N. *Biochem. J.* 160 : 343-355(1976).

52. Marklund, S. L. Westman, N. G. Lundgren, E. and Roos, E. *Cancer Res.* 42 : 1955-1961(1982).
53. Chaudiere, J. and Tappel, H. G. *Arch. Biochem. Biophys.* 226 : 448-457(1986).
54. Sufforpm N. Toepper, W. Roka, L. *Am. J. Physiol.* 251 : 671-680(1986).
55. Cohen, G. and Hochstein, P. *Biochemistry*, 3 : 895-900(1964).
56. Jacob, H. S. and Jandl, J. H. *J. Biol. Chem.* 244 : 6049-6055(1969).
57. Cohen, G. and Hochstein, P. *Science*, 134 : 1756-1757(1961).
58. Mccord, J. M. and Fridovich, I. *J. Biol. Chem.* 244 : 6049-6055(1969).
59. Fridovich, I. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 23 : 239-257(1983).
60. Kono, Y. and Fridovich, I. 257 : 5751-5754 (1982).
61. Fridovich, I. *Annu. Rev. Biochem.* 44 : 147-159(1975).
62. Smith, P. and Health, D. *Paraquat. C. R. C. Crit. Rev. Toxicol.* 4 : 411-445(1976).
63. Marklund, S. L. *J. Clin. Invest.* 74 : 1398-1403(1984).
64. Orrenius, S. and Moldeus, P. *Trends Pharm. Sci.* 5 : 432-435(1984).
65. Lawrence, R. A. and Burk, R. F. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71 : 952-958(1976).
66. Burk, R. F. Trumble, M. J. and Lawrence, R. A. *Biochem. Biophys. Acta.* 618 : 35-41 (1980).
67. Burton, G. W. and Ingold, K. U. *J. Am. Chem. Soc.* 103 : 6472-6477(1981).
68. Burton, G. W. Joyce, A. and Ingold, K. U. *Arch. Biochem. Biophys.*, 221 : 281-290(1983).
69. Porter, W. L. Levasseur, L. A. Jeffers, J. J. and Henick, A. S. 6 : 16-25(1971).
70. Tappel, A. L. *Vitam.* 20 : 493-519(1962).
71. Dieplock, A. T. *Ciba Foundation Symposium, Vol. 101(Biology of Vitamin E)*, p. 45-55, London, U. K. (1983).
72. Patel, J. M. and Block, E. R. *Am. Rev. Respir. Dis. Abst.* 137 : 78(1988).
73. Maggo, B., Biplock, A. T., and Lucy, J. A. *Biochem. J.* 161 : 111-121(1977).
74. Steiner, M. *Biochim, Biophys. Acta.* 640 : 100-105(1981).
75. Foote, C. S. and Denny, R. W. *J. Am Chem. Soc.* 90 : 6233-6235(1968).
76. Burton, G. W. and Ingold, K. U. *Science*, 224 : 569-573(1984).
77. Forman, H. J. and Fisher, A. B. *Oxygen and Living Processes and Interdisciplinary Approach* p. 235-249, Springer Verlag 1978.
78. Theron, A. and Anderson, R., *Am. Rev. Resp. Dis.*, 133 : 1049-1054(1985).
79. Slater, T. F. *Biochem. J.* 222 : 1-15(1984).
80. Halliwell, B. Wasil, M. and Crootveld, M. *FEBS Lett.*, 213 : 15-18(1987).
81. Heys, A. D. and Dormandy, T. L., *Clin. Sci.*,

- 60 : 295-301(1981).
82. Ketterer, B. *Xenobiotica*, 16 : 957-973(1986).
83. Ames, B. N. *Science* 221 : 1256-1254(1983).
84. Ames, b. N. Cathcart, R. Schwiers, E. Hochstein *Proc. Natl. Acad. Sci.* 78 : 6858-6862 (1981).
85. Davies, K. J. A. Sevanian, A. Muakkassahkelly, S. F. and Hochstein, P. *Biochem. J.* 235 : 747-754(1986).
86. Sagone, a. L. Greenwald, J. Kraut, E. H. Blanchine, J. Singh, D. J. *Lab. Clin. Med.* 101 : 97-104(1983).
87. Wright, C. E. Tallen, H. H. and Lin, Y. Y. *Ann. Rev. Biochem.* 55 : 427-453(1986).
88. Emudianughe, T. S. Caldwell, J. and Smith, R. L. *Xenobiotica*, 13 : 133-138(1983).
89. Cross, C. E. Halliwell, B. and Allen, A. *Lancet.* 1 : 1328-1330(1984).
90. Gutteridge, J. M. C. and Wilkins, S. *Biochem. Biophys. Acta.* 759 : 38-41(1983).
91. Marx, G and Chevion, M., *Biochem. J.* 236 : 397-400(1986).
92. Kozumbo, W. J. Trush, M. A. and Kender, T. W. *Chem. Biol. Interact.* 54 : 199-208 (1985).
93. Spragg, R. G. *Am. Rev. Respir. Dis. Abstr.* 137 : 84(1988).
94. Carson, D. A. Seto, S. Wasson, D. B. and Carrera, C. J. *Exp. Cell. Res.* 164 : 273-281 (1986).
95. Schraufstetter, I. U. Hinshaw, D. B. Hyslop, P. A. and Sprugg, R. G. *J. Clin. Invest.* 77 : 1312-1320(1986).
96. Berger, N. A. *Radiat. Res.* 101 : 4-15(1985).
97. Ursini, F. Maiorino, M. G. *Biochem. Biophys. Acta.* 839 : 62-70(1985).
98. Van kuijk FJGM, Sevanian, A. Handelman, G. J. and Dratz, E. A. *Trands Biochem. Sci.* 12 : 31-34(1987).
99. Thet, L. A. *Am. Physiol. Soc* 87-108(1986).
100. Hacker, A. D. Tierney, D. F. O'Brien, T. K. Witschi. H. P. *Am. Rev. Respir. Dis.* 132 : 354-357(1987).
101. Pegg, A. E. and McCann, P. P. *Am. J. Physiol.* 243 : 212-221(1982).
102. Heby, O. and Janne, J., *Polyamine in Biology and Medicine Marker Dekker Ed. P.* 243-310, Net York. (1981).
103. Guarnierim C. Lugaesi, A. Flamigni, F. Muscari, L. Caldara, C. M. *Biochim. Biophys. Acta.* 718 : 157-164(1982).
104. Crapo, J. D. and Tierney, D. F. *Am. J. Physiol.* 226 : 1401-1407(1974).
105. Kimball, R. E. Reddy, K. Pierce, T. M. Schwartz, L. W. Mustafa, M. G. and Cross, C. E. *Am. J. Physiol.* 230 : 1425-1435(1976).
106. Pick, M. Rsbani, J. Yost. F. and Fridovich, I. J. *Am. Chem. Soc.* 7329-7333(1974).
107. Tam, J. Flank, L. and Reberts, R. J. *Pediatr Res.* 12 : 115-119(1978).
108. Rosenbaum, R. M. Wittner, M. and Lenger,



- M. Lab. Invest. 20 : 516-528(1969).
109. Jenkinson, S. G. Lawrence, R. A. Burk, R. F. and Gregory P. E. Toxicol. Appl. Pharmacol. 69 : 399-404(1983).
110. Stevens, J. B. and Autor, A. P. Fed. Proc. 39 : 3138-3143(1980).
111. Freeman, B. A. Mason, R. J. Williams, M. C. and Crapo, J. D. Exp. Lung. Res. 10 : 203-222(1986).
112. Crapo, J. D. Sjostrom, K. and Drew, R. T. Appl. Pharmacol. 44 : 364-369(1978).
113. Tierney, D. F. Ayers, L. Herzog, S. Yang J. Am. Rev. Respir. Dis. 108 : 1148-1151(1973).
114. Frank, L. Bucher, J. R. and Roberts, R. J. J. Appl. Physiol. 45 : 699-704(1973).
115. Bryan, C. L. and Jenkinson, S. G. J. Appl. Physiol. 63 : 579-602(1987).
116. Ackerman, A. D. Facker, J. C. Tuck-Muller, C. M., Tarpey, M. M. Freeman, B. A. and Roger, M. C. Ensl. J. Med., 318 : 1666-1669(1988).
117. Kim, Y. T. Lee, D. W. Lee, Y. G. Lim, H. B. and Shon, H. O. Ann. Report KGTRI (1991).
118. Frank, L. Yam, J. and Robert, R. J. J. Clin. Invest. 61 : 261-277(1978).
119. Kennedy, K. A. Hazinski, T. A. and Hanson, T. N. Pediatr. Res., 20 : 437A(1980).
120. Frank, L. Summerville, J. and Masaro, D.J. Clin. Invest. 65 : 1104-1110(1980).
121. Berg, J. T. and Smith, R. M. Proc. Soc. Expt. Biol. Med. 187 : 117-122(1988).
122. Tan, Y. H. Tischfield, J. and Ruddie, F. M., J. Expt. Med. 137 : 317-330(1973)
123. Block, E. R. Patel, J. M. and Sheridan N. D. J. Cell. Physiol. 122 : 240-248(1985).
124. Cross, C. E. Allen, A. and Halliwell, A. B. Lancet. 1 : 1328-1329(1984).
125. Bell, D. Y. Haseman, J. A. Spock, A. McLennan, G. and Hook, G. R. Am. Rev. Respir. Dis. 124 : 72-79(1981).
126. Pacht, E. and Davis, W. B. Clin. Rev. 34 : 581A(1981).
127. Davis, W. B. Rennard, S. I. Bitterman, P. B. and Crystal, R. G. N. Engl. J. Med. 309 : 878-883(1983).
128. Snyder, A., Skoza, L. and Kikkawa, Y. Lung. 161 : 111-121(1983).
129. Nachman, R. L. Weksler, B. B. and Ferris B. Clin. Invest. 51 : 549-556(1972).
130. Toth, K. M. Clifford, D. P. Berger, E. M. C. White, C. W. and Repine J. E. J. Clin. Invest. 74 : 292-295(1984).
131. Lurch, R. E. Fridovich I. Biol. Chem. 253 : 4697-4699(1978).
132. Toth, K. M. Berger, E. M. Beehler, C. J. and Repine J. E. Am. Rev. Resp. Dis. 134 : 281-284(1986).
133. Del Principe, D. Menichelli, A. DeMatteis, W. Di Corpo, M. L. DiGiulio, S. and Finazzi--Agro A. FEBS Lett. 185 : 142-146(1985).

134. Koufos, A. and Sagone, A L. *Blood.*, 55 : 835-840(1980).
135. Flick, M. R. Milligan, S. A. Hoeffel, J. M. and Goldstein, I. M. *J. Appl. Physiol.* 64 : 929-935(1988).
136. McLennan, G. and Autor, A. P. *Pathlogy of oxygen.* p. 85-97, Autor AP, ed. Academic Press New York, (1982).
137. Shaffer, S. G. O'Neill, D. H. and Thibeault D. W. *Pediatr.* 110 : 942-946(1987).
138. Turrens, J. F. Crapo, J. D. and Freeman, B. A. *J. Clin. Invest.* 73 : 87-95(1984).
139. Huber, W. and Saifer, M. G. B., Superoide and SOD Michalsin, A. M., McCord J. M., and Fredovich, I. Eds. P. 517-536, Academic Press, New York, (1977).
140. McCormick, J. R. Harkin, M. M., Johnson, K. J. and Ward P. A. *Adv. Free Radic. Biol. Med.*, 2 : 235-238(1986).
141. Petrone, W. F. English, D. K. Wong, K. and Malone J. M. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77 : 1159-1163(1980).
142. Freeman, B. A. Young, S. L. and Crapo, J. D. *Biol. Chem.* 258 : 12534-12542(1983).
143. Padmanabhan, R. V. Guadapaty, I. E. Liener, I. E. Schwartz, B. A. and Hoidalm J. R. *Am. Rev. Dis.* 132 : 164-167(1985).
144. White, C. W. Jackson, J. H. and Abuchowski, A. *J. Appl. Physiol.* 66 : 584-590(1989).
145. Tanswell, A. K., Tzaki, M. G. and Byrne P. *J. Expt. Lung. Res.* 11 : 49-59(1986).
146. Romos Martinez, J. I. Launay, J. M. and Dreux, C. *Anal. Biochem.* 98 : 154-159(1979).
147. Muller, A. Cadenas, E. Graf, P. and Sies, H. *Biochem. Pharmacol.* 32, 3235-3239(1984).
148. Sies, H. and Graf, P. *Biochem. J.* 226 : 545-549(1985).
149. Joshi, U. M., Dumas, M. and Mehendale, H. M., *Biochem. Pharmacol.* 35 : 3409-3412 (1986).
150. Gerschman, R. Gilbert, D. L. and Caccamise, D. *Am. J. Physiol.* 192 : 563-571(1958).
151. Berggren, M. Dawson, J. and Moldeus, P. *FEBS Lett.* 176 : 189-192(1984).
152. Dawson, J. R. Vahakangas, K. Jernstrom, B., and Moldeus, P. *Eur. J. Biochem.* 138 : 439-443(1984).
153. Hagen, T. M. Brown, L. A. and Jones, D. P. *Biochem. Pharmacol.* 35 : 4537-4542(1986).
154. Gerschman, R. Gilbert, D. L. Mye, S. W. Dwyer, P. and Fenn, W. O. *Science.* 119 : 623-626(1954).
155. Puri, R. N. and Meister, A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 80 : 5258-5260(1983).
156. Phelps D. T. Deneke, S. M. Baxter, D. F. and Fanburg, B. L. *Am. Rev. Respir. Dis.* 137 : 81(1988).
157. Cotgreave, I. A. Moldeus, P. and Orrenium, S. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 28 : 189-212(1988).
158. Spector, T. Hall. W. W. and Krenitsky T. A. *Biochem. Pharmacol.* 35 : 3109-3114(1986).
159. Spector, T. *Biochem. Pharmacol.* 37 : 349

- 352(1988).
160. Rodell, T. C. Cheronis, J. C. Ohnemus, C. L. Piermattei, D. J. and Repine J. E. J. Appl 63 : 2159-2163(1987).
  161. Almagor, M. Kahane, I., Gilon, C. and Yatziv, S. Infect. Immun. 52 : 240-244(1986).
  162. Yoshikawa, T. Furukawa, Y. Murakami, M. Watanabe, K. Kondo, M. and Thrombo. Haemost. 48 : 235-237(1986).
  163. Freeman, B. A. and Panus, P. C. Am. Rev. Resp. Dis(Abstract). 137 : 306(1988).
  164. Simon, L. M. and Suttorp N. Am. Rev. Resp. Dis(Abstract). 129 : 324(1984).
  165. Meister, A. and Andersson. M. Annu. Rev. Biochem. 52 : 711-760(1983).
  166. Moldeus, P. Berggren, M. and Grafstrom R., Eur. J. Respir. Dis. 66 (suppl) 139 : 123-129(1985).
  167. Palder, S. B. Wong, C. Hood, I. Wenger, H. Mannick, J. A. and Demling, R. H. J. Surg. Res., 38 : 162-172(1985).
  168. Fox, R. B. J. Clin. Invest. 74 : 1456-1464 (1984).
  169. Toth, K. M. Harln, J. M. Berger, E. M. Parker, N. B. and Repine J. E. Free Radic. Bio. Med. 6 : 457-466(1989).
  170. Kenndey, T. P. Ras, N. Hopkins, C. Penington, L. Tolley, E. and Hoidal J. R. J. Clin. Invest. 83 : 1326-1335(1989).
  171. Baader, W. J. Hatzelmann, A. Ullrich, V. Biochem. Pharmacol. 37 : 1089-98(1988).
  172. Larson, R. A. Phytochem. 27 : 969-78(1988).
  173. Nakadate, T. Yamamoto, S. and Aizu, E. Gann. 75 : 214-22(1987).
  174. Kikuzaki, H. Nakatani, N. Agric. Biol. Chem. 53 : 519-24(1989).
  175. Hall, E. D. J. Neurosurg. 68 : 462-65(1988).
  176. Shimada, O. and Yasuda, H. Ageats and Actions, 19 : 209-214(1986).
  177. Neal, T. M. Winterbourn, C. C. and Vissers, M. C. M. Biochem. Pharmacol. 36 : 2765-2768(1987).
  178. White, C. W. Ghezzi, P. McMahon, S. Dinarello, C. A. and Repine, J. E. J. Appl. Physiol. 66 : 1003-1007(1989).
  179. Hass, M. A. Igbal, J. Clerich, L. B. Frank, L. and Masaro, D. J. Clin. Invest. 83 : 1241-1246(1989).
  180. Whit, C. W. Shanley, P. F. Rosandich, M. E. and Repine, J. E. Clin. Res. Abst., 37 : 573 (1989).
  181. Wong, G. H. W. and Goeddel, D. L., Science, 249 : 941-944(1988).
  182. Masuda, A. Longo, D. L. Kobayashi, Y. Appella, E. Oppenheim, J. J. and Matsu shima, K. FASEB 2 : 3087-3091(1988).
  183. Cross, C. E. Hasegawa, G. Reddy, K. A. and Omaye, S. T. Res Commun. Chem. Pat. Pharm. 16 : 695-706(1977).
  184. Niki, E. Ann. N. Y. Acade. Sci. 498 : 186-199(1987).
  185. Preston, A. M. Prog. Food. Nutr. Sci. 15 : 183-217(1991).

186. Kehrer, J. P. and Aitor, A. P. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 44 : 423-430(1978).
187. Deneke, S. M. Gershoff, S. N. and Fanburg, B. L. *J. Appl. Physiol.* 54 : 147-151(1983).