

고양이 허파에서 산소재유입 손상을 결정하는 저산소증의 정도

남현정 · 김유경 · 나홍식 · 홍승길

고려대학교 의과대학 생리학교실

Determinant Role of the Severity of Hypoxia in the Induction of Reoxygenation Injury in Cat Lung. Hyun Jung Nam, Yoo Kyung Kim, Heung Sik Na, and Seung Kil Hong Department of Physiology, Korea University College of Medicine, Seoul 136-705, Korea

Although reoxygenation is the best way to salvage hypoxic tissues, reduced oxygen species (ROS) generated during reoxygenation are known to cause further tissue injuries and the induction of heat shock proteins (HSPs). The present study was undertaken to determine any causal relationship between the severity of hypoxia and the opposite outcomes, either beneficial or detrimental, of the subsequent reoxygenation by measuring the HSP72. To this aim, one group (6 male cats, 2.5~3.5 kg) was subjected to a 5-min episode of hypoventilation (H, ventilation rate: 5/min) for the induction of slight hypoxia and the other group (6 male cats, 2.4~3.7 kg) was subjected to a 5-min episode of apnea (A) for severe hypoxia. Each 3 animals from both groups received a 10-min episode of ventilation with 95% O₂ (O), whereas the remainder did not. After these procedures, all animals were allowed to be ventilated within physiological range for 1, 4, or 8 hours (1H, 1HO, 4H, 4HO, 8H, 8HO, 1A, 1AO, 4A, 4AO, 8A and 8AO groups). Control animals did not receive any manipulation. The arterial blood pCO₂ was significantly higher just after apnea than hypoventilation, while pO₂ and pH were significantly lower just after apnea than hypoventilation. Western blot analysis revealed that the magnitude of HSP72 synthesis is larger in 1H, 4H and 8H groups than in 1HO, 4HO and 8HO groups, respectively. In contrast, 1AO, 4AO and 8AO groups more induced HSP72 than 1A, 4A and 8A groups, respectively. These results suggest that the reoxygenation is beneficial after slight hypoxia but detrimental after severe hypoxia.

Key Words: Hypoxia, Reoxygenation, Heat shock protein72

서 론

산소가 저산소증에 빠져있는 조직을 정상화시킬 수 있다는 것은 당연한 일이다. 그러나, 1980년대 McCord와 Granger 등은 저산소증 이후에 주어지는 산소가 조직을 정상화시키기보다는 손상을 더 심하게 할 수 있다는 재관류손상(reperfusion 혹은 reoxygenation injury)을 발표하여 관심의 대상이 되었다. 산소결핍에 의한 ATP의 감소는 미토콘드리아를 비롯한 세포 구성물질에 손상을 줌과 동시에 저산소증후에 유입되는 산소를 superoxide, hydrogen peroxide, hydroxyl radical 등의 reduced oxygen species(ROS)로 바꾸며, 이 ROS는 DNA구조를 파괴하고 단백질합성을 감소시켜서 손상정도를 더욱 증가시킨다

(Welch and Feramisco, 1984; Blake et al, 1990; Sanz et al, 1992, Halliwell et al, 1993). ROS는 스트레스 단백질의 일종인 heat shock proteins(HSPs)을 유발시키는 작용도 가지고 있다. 허혈, 고열자극, 증금속 등 여러 가지 스트레스에 의해서 유발되는 HSPs는 스트레스의 정도가 심하면 심할수록 생성되는 양이 많지만 너무 심하여 세포가 괴사상태에 이르면 HSPs의 양이 줄어든다(Matze et al, 1995; Morimoto, 1991; Kloner, 1985; Miura et al, 1990; Bernier et al, 1986). 이렇듯 저산소증후의 산소가 조직에 해로운가 이로운가에 대한 이론적 배경은 복잡한 양상을 띤다. 이에 대해 Halliwell 등은 허혈이나 저산소증이 심하면 superoxide dismutase 나 catalase 등과 같은 free radical scavenger의 기능이 저하되어 산소가 ROS로 변함으로서 유해한 반면, 경미하면 scavenger의 도움하에 유입되는 산소가 세포를 정상으로 만든다고 주장하였으나 이에 대한 정확한 기전은 아직 밝혀지지 않은 상태이다.

책임저자 : 나홍식, ☎ 136-705 서울시 성북구 안암동 5가 126-1
고려대학교 의과대학 생리학교실

이에 본 실험에서는 경미한 저산소증과 심한 저산소증을 유발시킨 두 군에 산소를 주고 이때 생성되는 허파조직 HSP72의 양으로 손상의 정도를 비교해 보았다.

실험 방법

실험동물 준비

실험동물로는 성숙한 숫고양이를 사용하였으며 α -chloralose 60 mg/kg를 복강내 정맥주사하여 마취시켰다.

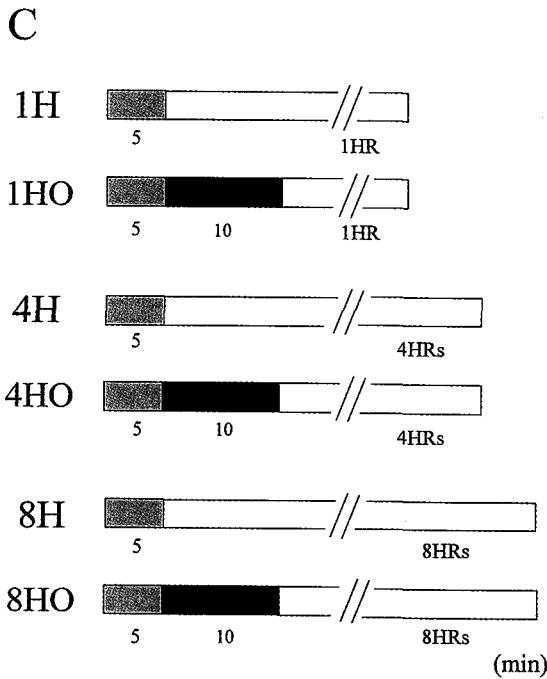
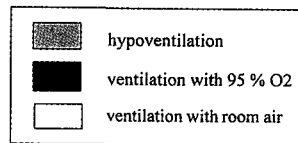


Fig. 1. Schematic diagram illustrating the experimental design for hypoventilation groups. All animals were subjected to a 5-min episode of hypoventilation by artificial ventilator(ventilation rate: 5/min) for the induction slight hypoxia. Following the hypoventilation, animals in 1HO, 4HO and 8HO groups received a 10-min episode of ventilation with 95% oxygen, whereas animals in 1H, 4H and 8H groups did not. After these procedures, all animals were allowed to be ventilated within physiological range for 1(1H and 1HO groups), 4(4H and 4HO groups) or 8(8H and 8HO groups) hours, respectively. Control group(C) did not receive any treatment.

좌측 상지 전완정맥에 폴리에틸렌관을 삽입하여 근육이완제등 약제를 정맥내 주입하는 경로로 이용하였다. 동맥혈의 pCO₂, pO₂, pH를 측정하기 위해 좌측 경동맥에 polyethylene관을 넣어 채혈하는 경로로 이용하였다. 기도유지를 위하여 기관절개술을 시행하여 개흉시 사용하는 인공호흡기와 연결하였다. 개흉시 pancuronium bromide(0.5~1.0 mg/hr)를 정맥내로 주입하고 이 때 발생하는 호흡근관은 인공호흡기(animal ventilator, model 683, Harvard, U.S.A.)를 이용하여 방지하였다.

호흡저하 / 무호흡

호흡저하군: 경미한 저산소증을 유도하기 위해 인공호흡기를 통하여 정상호흡수인 분당 20회를 5회로 줄여 5분 동안 호흡시켰다. 이후 실내공기로 각각 1, 4, 8시간 동안 정상호흡시킨 세가지 실험군(1H, 4H, 8H)과, 10분간 95% 산소로 정상호흡수에 따라 호흡시킨뒤 실내공기로

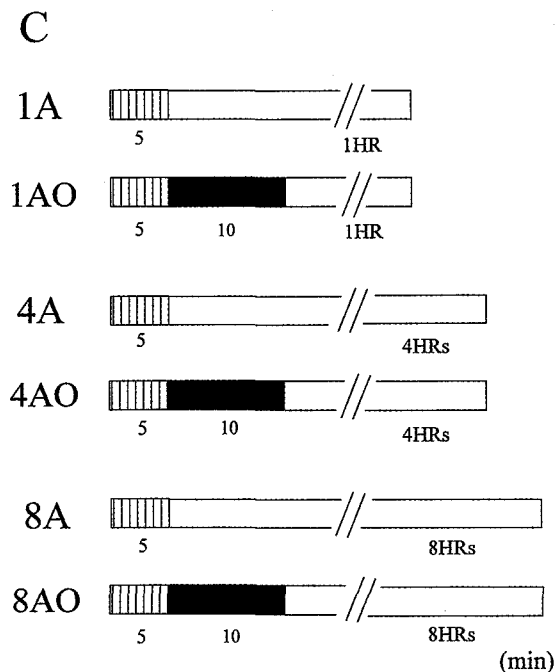
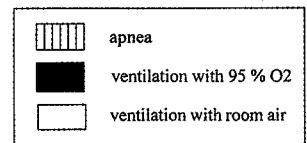


Fig. 2. Schematic diagram illustrating the experimental design for apnea groups. Details are the same as for Fig. 1, except apnea(A) instead of hypoventilation(H) for the induction of severe hypoxia.

1, 4, 8시간 동안 호흡시킨 세가지 실험군(1HO, 4HO, 8HO) 등 여섯군을 실험군으로 하였다. 대조군은 아무런 처치도 하지 않았다(Fig. 1).

무호흡군: 심한 저산소증을 유도하기 위해 인공호흡기를 5분 동안 중단시켰다. 이후 호흡저하군과 같은 방법으로 실내공기로 각각 1, 4, 8시간 동안 정상호흡시킨 세가지 실험군(1A, 4A, 8A)과, 10분간 95% 산소로 정상호흡수에 따라 호흡시킨 뒤 실내공기로 1, 4, 8시간 동안 호흡시킨 세가지 실험군(1AO, 4AO, 8AO) 등 여섯군을 실험군으로 하였다. 대조군은 아무런 처치도 하지 않았다(Fig 2).

pCO₂, pO₂, pH 측정: 호흡저하나 무호흡으로 인한 저산소증의 정도와 95% 산소공급에 의한 변화를 알아보기 위해 다음과 같은 시기에 동맥내 pCO₂, pO₂, pH를 측정하였다. 1) 저산소증 유도전, 2) 5분간 호흡저하나 무호흡 유도후, 3) 10분간 95% 산소로 정상호흡수에 따라 호흡시킨 후, 4) 실내공기로 1, 4, 8시간 동안 정상호흡시킨 후 허파조직을 추출하기 전.

조직추출과 전기영동

고양이의 허파를 적출하여 생리식염수로 관류시켰다. Dounce homogenizer를 사용하여 200~300 mg/1 ml 추출용 buffer용액 (5% SDS, 2% 2-mercaptoethanol)으로 균질화하고 100°C에서 5분간 끓였다. 12,000 rpm에서 60분간 원심분리한 후 상등액만을 취하여 BCA방법 (bicinchoninic acid, PIERCE protocol)에 따라 단백질 농도를 측정하고 최종적으로 Laemmli sample buffer용액 (0.0625M Tris, 2% SDS, 10% glycerol, 5% 2-mercaptoethanol, 0.001% bromophenol blue, 10mM EDTA, pH 6.8)으로 1:1희석하였다. 동량의 단백질을 12% polyacrylamide gel로 35 mA에서 전기영동하였다 (Laemmli, 1970).

Western blotting

전기영동을 끝낸 후, 단백질을 10°C, 150 mA에서 12시간 동안 nitrocellulose(NC) membrane으로 옮겼다. NC membrane을 5% 탈지분유가 포함된 phosphate buffered saline(PBS)-Tween20용액으로 실온에서 2시간 동안 반응시켜 비특이적 결합부위를 차단한 후 PBS-Tween 20으로 씻었다. 1:500으로 희석시킨 monoclonal anti-72KDa heat-shock protein (Amersham)으로 4°C에서 12시간 동안 1차 반응시키고 PBS-Tween 20으로 씻었다. 1:500으로 희석시킨 peroxidase conjugated goat anti-mouse immunoglobulinG(IgG, KPL)과 실온에서 2시간 동안 반응시킨 후 앞의 방법과 동일하게 씻었다. Membrane을 ECL detection용액(Amersham)과 1분 동안 반응시키고 X-ray film(Agfa)에 노출시켜 현상하였다.

통계처리

Student t-test를 통해 호흡저하군과 무호흡군의 동맥혈 내 이산화탄소분압, 산소분압, pH값의 유의성을 판정하였다. p<0.01일 경우 유의하다고 판정하였다.

결 과

호흡저하군과 무호흡군에서 pCO₂, pO₂, pH변화를 측정하기 위하여 실험전 정상호흡 (PRE)과 5분간 호흡저하 혹은 무호흡 유도직후(HYPOX), 10분간 95% 산소유입후(OXYG), 그리고 각각 1시간, 4시간, 8시간 정상호흡(NORMO)시키는 네단계 과정에서 각각 동맥혈을 채취하였다. 1, 4, 8시간동안 정상호흡시킨 다음의 pCO₂, pO₂, pH값은 서로 유의한 차이가 없었으므로 합쳐서 NORMO군으로 통계처리 하였다. 호흡저하와 무호흡 두 군에서

Table 1. Changes in arterial blood pCO₂, pO₂ and pH: PRE; prior to hypoventilation or apnea, HYPOX; just after 5-min hypoventilation or apnea, OXYG; just after 10-min ventilation with 95% O₂ following hypoventilation or apnea, NORMO; just before the extraction of the pulmonary tissues following normal respiration for 1, 4, or 8 hours. H(O); H and HO groups, A(O); A and AO groups. Details are the same as Fig. 1 and 2. *, significantly different between two groups (p<0.01) by Student t test

	PRE		HYPOX		OXYG		NORMO	
	H(O)	A(O)	H(O)	A(O)	HO	AO	H(O)	A(O)
pCO ₂	28.22±3.71	32.6±1.11	46.95±4.0	70.86±3.16*	33.78±2.27	39.2±2.56	29.2±6.52	33.1±4.61
pO ₂	104.66±10.52	127.8±6.0	36.95±6.93	13.68±2.63*	438.48±23.82	477.15±28.9	75.9±15.5	87.7±12.3
pH	7.45±0.04	7.38±0.01	7.31±0.05	7.14±0.02*	7.38±0.02	7.3±0.03	7.45±0.03	7.39±0.04

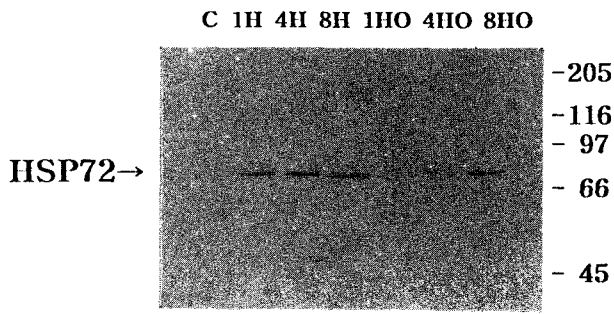


Fig. 3. Western blot analysis of HSP72 expression in cat lung. 1H, 4H or 8H: tissues from experimental animals that were allowed to ventilate within physiological range for 1, 4 or 8 hours following 5-min hypoventilation (ventilation rate: 5/min), respectively. 1HO, 4HO or 8HO; tissues from experimental animals that were allowed to be ventilated within physiological range for 1, 4, or 8 hours following 10-min ventilation with 95% O₂ after 5-min hypoventilation, respectively. C: tissue from control animal. Arrow indicates HSP72 band.

pCO₂ 분석 결과, PRE에서는 각각 28.22 ± 3.71 , 32.6 ± 1.11 이며, HYPOX에서는 46.95 ± 4.0 , 70.86 ± 3.16 , OXYG에서는 33.78 ± 2.27 , 39.2 ± 2.56 , NORMO에서는 29.2 ± 6.52 , 33.1 ± 4.61 mmHg 이었다. 통계처리 결과 HYPOX상태 즉 저산소증을 유도한 직후 호흡저하군에 비해 무호흡군에서 유의하게 높았다($P < 0.01$, Table 1).

호흡저하군과 무호흡군의 pO₂ 분석결과, PRE에서는 104.66 ± 10.52 , 127.8 ± 6.0 , HYPOX에서는 36.95 ± 6.93 , 13.68 ± 2.63 , OXYG에서는 438.48 ± 23.82 , 477.15 ± 28.9 이며, NORMO에서는 75.9 ± 15.5 , 87.7 ± 12.3 mmHg이었다. 통계처리 결과 HYPOX에서 호흡저하군에 비해 무호흡군에서 유의하게 낮은 것으로 나타났다($P < 0.01$, Table 1).

pH 분석에서는 PRE에서 7.45 ± 0.04 , 7.38 ± 0.01 , HYPOX에서 7.31 ± 0.05 , 7.14 ± 0.02 이며, OXYG에서 7.38 ± 0.02 , 7.3 ± 0.03 , NORMO에서 7.45 ± 0.03 , 7.39 ± 0.04 로 나타났다. 통계처리 결과 HYPOX에서 호흡저하군에 비해 무호흡군에서 유의하게 낮았다($P < 0.01$, Table 1). 즉 5분 동안 무호흡을 시킨 실험군이 호흡저하 실험군에 비해 pCO₂가 높은 반면 pO₂와 pH는 낮다는 것을 알 수 있다.

호흡저하 및 무호흡 후 산소재유입에 의한 HSP72의 생성양상을 알아보기 위하여 anti-72 KDa HSP를 이용하여 Western blotting을 시행하였다. Fig. 3은 호흡저하군의 HSP72 결과이다. 95% 산소 유입을 받은 실험군(1HO, 4HO, 8HO)보다 실내공기로 회복한 실험군(1H, 4H, 8H)에서 HSP72생성이 전반적으로 많은 양상을 보이며, 특

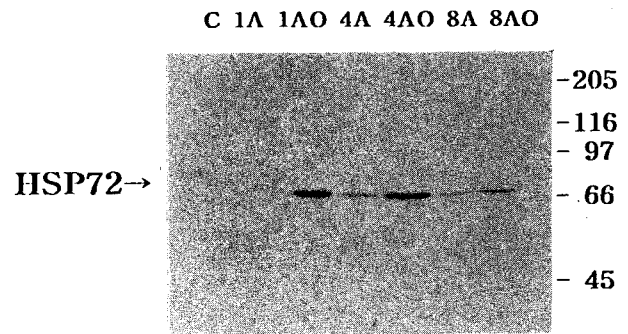


Fig. 4. Western blot analysis of HSP72 expression in the cat lung. 1A, 4A or 8A: tissues from experimental animals that were allowed to ventilate within physiological range for 1, 4 or 8 hours following 5-min apnea, respectively. 1AO, 4AO or 8AO; tissues from experimental animals that were allowed to be ventilated within physiological range for 1, 4, or 8 hours following 10-min ventilation with 95% O₂ after 5-min apnea, respectively. C: tissue from control animal. Arrow indicates HSP72 band.

히 1시간과 4시간에서 뚜렷이 차이가 나는 반면 8시간이 지나면 차이가 감소하는 것으로 나타났다. 이 결과는 경미한 저산소증 이후 산소가 많이 주어지면 저산소증이 교정되어 HSP72의 생성이 줄어든 것이라 생각된다. 마취이외에는 아무런 처리를 하지 않는 대조군(C)은 HSP72가 생성되지 않았다.

Fig. 4는 무호흡군의 HSP72 결과이다. 무호흡 직후 95% 산소유입을 받은 실험군(1AO, 4AO, 8AO)이 실내공기로만 호흡시킨 실험군(1A, 4A, 8A)보다 HSP72생성이 현저히 높은 것으로 나타났다. 특히 1시간과 4시간에서 큰 차이가 나는 반면 8시간이 지나면 차이가 줄어드는 양상을 보인다. 이는 심한 저산소증으로 이미 세포의 손상이 심하기 때문에 이후 산소가 많이 주어지면 저산소증이 교정되는 효과보다는 산소가 reduced oxygen species(ROS)로 변환 효과가 더 크게 작용하여 HSP72생성이 많아진 것이라 생각된다.

따라서 이상의 결과로부터 호흡저하로 유발된 경미한 저산소증 이후의 산소는 저산소증 정도를 감소시켜 HSP72생성을 감소시킨 반면 무호흡으로 유발된 심한 저산소증 이후의 산소는 더욱 유해한 스트레스로 작용하여 HSP72생성을 증가시킨다는 것을 알 수 있다.

고 찰

저산소증에 처한 조직을 정상화시킬 수 있는 가장 좋

은 방법은 산소를 공급하는 것이다. 그러나 산소의 재유입이 저산소증에 의해 유발된 조직손상을 더 심하게 할 수 있다는 연구결과가 보고된 이후 산소유해론에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.

조직이 저산소증에 처하면 무호흡 해당과정이 일어나 산증이 생기고 ATP가 감소하여 AMP로 분해되면서 hypoxanthine으로 축적된다. 이후 재유입되는 산소는 조직의 손상정도를 더욱 악화시키는 산소재유입손상을 초래하는데, 이는 xanthine oxidase에 의해 산소는 oxygen radical로, hypoxanthine은 xanthine으로 환원되어 free radical을 형성하기 때문인 것으로 알려져 있다(Michellie et al, 1995; Rowland et al, 1995). Hypoxanthine-xanthine계 이외에 mitochondria와 중성구도 superoxide와 hydrogen peroxide를 생성하고 이들은 금속 이온과 반응하여 hydrogen radical을 생성한다(Franceschi et al, 1992; Halliwell et al, 1993). 이와 같이 허혈이나 저산소증 후에 주입되는 산소가 유해한 작용을 할 경우, 세포는 stress protein의 일종인 HSP72를 생성한다. 생성되는 HSP72의 양은 허혈이나 저산소증의 정도에 비례하여 증가하지만 너무 심하여 세포가 괴사하면 생성되는 양이 줄어들게 된다.

본 실험에서 호흡저하나 무호흡후에 재유입된 산소가 HSP72를 생성한 것을 볼 수 있었다. 이중 호흡저하나 무호흡후 실내공기로 호흡시킨 두 군에서 무호흡군 (1A, 4A, 8A) 이 호흡저하군 (1H, 4H, 8H) 보다 HSP72를 적게 생성한 것처럼 보인다. 그러나 이 결과는 두 그림의 노출 시간이 다르기 때문에 나타난 현상이다. 본 논문에 결과를 제시하지는 않았지만 이 두 군을 같은 시간으로 노출시킨 결과 무호흡군이 HSP72를 더 많이 생성한 것을 볼 수 있었다. 이 결과를 동맥혈의 PCO₂, PO₂ 및 pH 결과와 함께 분석해 보면 무호흡이 호흡저하보다 저산소증이 심하다는 것을 알 수 있으며, 본 실험에서 이용한 5분간의 무호흡으로는 조직이 괴사되지 않는다는 것도 알 수 있다.

저산소증에 의해 HSPs이 유도되는 기전은 자세히 밝혀져 있지 않지만 hsp유전자수준에서 전사가 조절되는 것으로 알려져 있다. 저산소증으로 인해 산소와 ATP가 부족하게 되면 세포는 세포질내에 불활성상태로 있던 heat shock transcription factor(HSF) 를 활성화시키며 활성화된 HSF는 핵으로 이동하여 heat shock 유전인자에 결합하여 HSP mRNA 합성을 유도한다(Benjamin et al, 1992; Iwaki et al, 1993; Mestril et al, 1994; Muriel & Polla, 1996). Halliwell등은 허혈이나 저산소증의 기간이 길면 세포내 free radical scavenger의 기능이 저하됨으로써 재유입되는 산소가 해롭게 작용하는 반면, 기간이 짧으면 산소의 재주입으로 유입되는 산소와 free radical scavenger에 의해 정상세포로 회복될 수 있다고 추측하였다.

실제 개를 이용한 연구에서 20분 이하의 관상동맥결찰로 인한 허혈은 재관류후에 myocardial stunning을 보이지만 치명적이지는 않으며, 이때 항산화제를 처리해 주면 stunning으로 부터 심장을 보호하는 효과를 보인다(Simpson et al, 1987). 본 연구에서 저산소증후에 재유입되는 산소의 유해성 여부가 저산소증의 정도에 따라 결정되는지 알아보기 위해, 호흡저하군과 무호흡군에 실내공기와 95%산소를 준 후 HSP72의 생성정도를 비교하였다. Western blotting결과 호흡저하군에서는 95% 산소를 유입한 군보다 유입하지 않은 군의 HSP72 생성이 많았던 반면, 무호흡군에서는 95%산소를 유입한 실험군이 95% 산소유입이 없었던 실험군에 비해 HSP72가 많은 것으로 나타났다. 이러한 결과는 경미한 저산소증에서는 유입되는 산소가 저산소증을 교정하여 HSP72생성이 줄어드는 반면, 심한 저산소증에서는 ROS를 제거할 수 있는 항산화 기능이 제대로 작동하지 않으므로 유입되는 산소량이 많을 수록 HSP72생성이 증가한 것이라 생각된다. 따라서 산소의 재주입에 의한 손상여부는 주어진 저산소증의 정도에 의존한다는 것을 알 수 있다. 이 결과는 Halliwell의 주장을 좀더 확실하게 증명한 것으로 생각된다.

HSP72가 스트레스를 방어하는 현상에 대해서는 여러 가지 형태로 보고된 바 있다. Knowlton등의 연구 보고에 따르면 일시적인 허혈로 유도된 HSP72가 이후에 가해지는 장기간의 허혈과 재관류 손상으로 부터 조직을 보호할 수 있으며, HSP72를 더 많이 생성한 실험군에서 재관류에 의한 심근손상이 심하지 않은 것으로 나타났다. 또한 심장이 재관류 손상으로 부터 회복하는 과정에서 HSP72의 생성양상과 유사하게 catalase활성도가 증가하므로 HSP72가 재관류시 free radical생성을 저해하는 항산화제로 작용할 가능성을 제시하였다(Currie et al, 1988; Karmazyn et al, 1990; Currie et al, 1993). 본 연구에서 HSP72가 손상된 조직에 어떤 역할을 하는지에 대한 실험은 시행되지 않았다. 다만 손상이 심할수록 HSP72가 더 많이 생성되었고, 생성된 HSP72가 더 활발히 손상을 회복시킬 것이라고 추측할 뿐이다. 앞으로 HSP72의 생성과 허파조직손상 및 허파기능저하에 대해 HSP72의 정확한 기능을 알아낼 수 있으리라 생각된다.

결 론

본 실험에서는 저산소증의 정도와 재유입되는 산소에 의한 조직손상이 어떤 관련을 갖는지 알아보기 위해, 경미한 저산소증과 심한 저산소증을 유발시킨 두 군에 산

소를 주고 이때 생성되는 허파조직 HSP72의 양으로 손상의 정도를 비교하였다.

경미한 저산소증을 유발시키기 위해 인공호흡기를 통해 분당 5회로 5분간 호흡시켰으며 (호흡저하군), 심한 저산소증을 위해 5분간 인공호흡기를 정지시켰다 (무호흡군). 이후 각각 95% 산소로 10분간 정상호흡수로 호흡시킨 다음 실내공기로 1시간, 4시간, 혹은 8시간 동안 정상호흡시킨 군과 95% 산소호흡 없이 실내공기로 정상호흡시킨 실험군에서 각각 시간에 따라 허파를 적출하여 생체조직내 HSP72의 생성을 Western blotting방법으로 확인하였다. 저산소증의 정도를 측정하기 위해 호흡저하군과 무호흡군에서의 동맥혈내 pCO₂, pO₂, 및 pH값을 비교하였다.

실험 결과 저산소증이 유발된 직후의 상태에서 무호흡군이 호흡저하군에 비해 통계적으로 유의하게 pCO₂가 높고 pO₂, pH는 낮은 것으로 나타났다. Western blotting결과 호흡저하군에서는 95% 산소를 유입하지 않고 실내공기를 통해 호흡시킨 실험군에서 HSP72의 생성이 많았던 반면, 무호흡군에서는 10분 동안 95%산소를 유입한 실험군이 HSP72의 생성이 많은 것으로 나타났다.

이상의 결과는 경미한 저산소증을 유발시키는 호흡저하 이후의 산소는 저산소증을 교정하여 세포의 손상을 줄인 반면 심한 저산소증을 유발시킨 무호흡은 산소가 ROS로 작용함으로써 세포의 손상이 심해진다는 것을 암시한다. 즉 산소가 주어지기 이전의 저산소증의 정도가 산소재유입손상에 따른 HSP72생성에 매우 중요한 역할을 한 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 교육부의 기초의학 연구비(97~49)에 의해 수행되었음.

참 고 문 헌

- Benjamin IJ, Horie S, Greenberg ML, Alpern RJ, Williams RS. Induction of stress proteins in cultured myogenic cells-molecular signals for the activation of heat shock transcription factor during ischemia. *J Clin Invest* 89: 1685-1689, 1992
- Bernier M, Hearse DJ, Manning AS. Reperfusion induced arrhythmias and oxygen-derived free radicals: studies with "anti-free radical" interventions and a free radical-generating system in the isolated perfused rat heart. *Circ Res* 58: 331-339, 1986
- Blake MJ, Gershon D, Fargnoli J, Holbrook NJ. Discordant expression of heat shock protein mRNA in tissues of heat-stressed rats. *J Biol Chem* 265: 15275-15279, 1990
- Bolli R. Oxygen derived free radicals and postischemic myocardial dysfunction ("stunned myocardium"). *J Am Coll Cardiol* 12: 239-249, 1988
- Currie RW, Karmazyn M, Kloc M, Mailer K. Heat-shock response is associated with enhanced postischemic ventricular recovery. *Circ Res* 63(3): 543-549, 1988
- Currie RW, Tanguay RD, Kingma JG. Heat shock response and limitation of tissue necrosis during occlusion/reperfusion in rabbit hearts. *Circulation* 87: 963-968, 1993
- Drummond IA, McClure SA, Poenie M, Tsien Y, Steinhardt RA. Large changes in intracellular pH and calcium observed during heat shock are not responsible for the induction of heat shock protein in *Drosophila melanogaster*. *Mol Cell Biol* 6: 1767-1775, 1986.
- Franceschi C, Crepaldi G, Cristofalo VJ, Vijg J. Aging and cellular defense mechanisms. In: Annals of the New York Academy of Sciences, 663: 71-153, 1992
- Granger DN, McCord JM, Parks DA, Hollwarth ME. Xanthine oxidase inhibitors attenuate ischemia-induced vascular permeability changes in the cat intestine. *Gastroenterology* 90(1): 80-84, 1986
- Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An overview. In: Packer L, Glazer AN(ed), *Oxygen radicals in biological systems*, Academic Press, Inc., San Diego, 1993
- Iwaki K, Chi SH, Dillmann WH, Mestrl R. Induction of HSP70 in cultured rat neonatal cardiomyocytes by hypoxia and metabolic stress. *Circulation* 87(6): 2013-2032, 1993
- Karmazyn M, Maiker K, Currie RW. Acquisition and decay of heat shock enhanced postischemic ventricular recovery. *Am J Physiol* H424-H431, 1990
- Kloner RA. Studies of experimental-coronary artery reperfusion: effects on infarct size, myocardial function, biochemistry, ultrastructure and microvascular damage. *Circulation* 58(suppl I): I-8-I-15, 1985
- Knowlton, AA, Brecher P, Apstein CS. Rapid expression of heat shock protein in the rabbit after brief cardiac ischemia. *J Clin Invest* 87: 139-147, 1991
- Laemmli VK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685, 1970
- Lindquist S. Translational efficiency of heat-induced messages in *Drosophila melanogaster* cells. *J Mol Biol* 137: 151-158, 1980
- Matz JM, Blake MJ, Tatemlan HM, Lavoie KP, Holbrook NJ.

- Characterization and regulation of cold induced heat shock protein expression in mouse brown adipose tissue. *Am J Physiol* 269(1pt2): R38-47, 1995
- McCord J. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 312: 159-163, 1985
- McCord JM. Oxygen-derived radicals: a link between reperfusion injury and inflammation. *Fed Proc* 46(7): 2402-2406, 1987
- Mestrlil R, Chi SH, Sayen MR, Dillmann WH. Isolation of a novel inducible rat HSP70 gene and its expression during ischemia/hypoxia and heat shock. *Biochem J* 298: 561-569, 1994
- Michellie MA, Barhoumi R, Kochevan DT, Granger HJ, Burghardt RC. Oxidative injury of coronary venular endothelial cells depletes intracellular glutathione and induces HSP70 mRNA. *Am J Physiol* 268(4pt2): H1651-H1658, 1995
- Miura T, Ogawa T, Iwamoto T, Tsuchia A, Iimura O. Infarct size limiting effect of preconditioning: Its duration and dose-response relationship. *Circulation* 82(suppl III): III-271, 1990
- Morimoto RI. Heat shock: the role of transient inducible responses in cell damage, transformation and differentiation. *Cancer Cells* 3: 295-301, 1991
- Muriel R, Polla BS. Dual regulation of heat shock transcription factor (HSF) activation and DNA binding activity by H₂O₂: role of thioredoxin. *Biochem J* 318: 187-193, 1996
- Rowland RT, Meng X, Terada LS, Harken AT, Brown JM. Mechanisms of immature myocardial tolerance to ischemia-phenotypic differences in antioxidants, stress proteins, and oxidase. *Surgery* 118(2): 446-452, 1995
- Sanz E, Garcia-Dorado D, Oliveras J, Perez-Villa F, Carreras MJ, Theroux P, Soler-soler J. Ischemic preconditioning limits post-reperfusion myocardial edema and preserves left ventricular function. *J Am Coll Cardiol* 19: 118A, 1992
- Schlesinger MJ. Heat shock proteins: the search for functions. *J Cell Biol* 103: 321-325, 1986
- Simpson PJ, Lucchesi BR. Free radicals and myocardial ischemia and reperfusion injury. *J Lab Clin Med* 110: 13-30, 1987
- Welch W. The mammalian heat shock (or stress) response: a cellular defense mechanism. *Adv Exp Med Biol* 225: 287-304, 1987
- Welch W, Feramisco JR. Nuclear and nucleolar localization of the 72KD heat shock protein in heat-shocked mammalian cells. *J Biol Chem* 259: 4501-4513, 1984
-