

PMA에 의한 중성구의 당섭취 기전 연구

삼성서울병원 핵의학과

백진영·고봉호·유만길·진광호

Mechanism of Glucose Uptake on PMA Stimulated Neutrophils

Jin-Young Paik, Bong-Ho Ko, Man-Kil Yoo, and Kwang-Ho Jin

Department of Nuclear Medicine, Samsung Medical Center, Seoul 135-710, Korea

While respiratory burst enhances neutrophil glucose utilization, many neutrophil functions are critically influenced by extracellular matrix interaction and phosphoinositide-3-OH kinase (PI3K) signaling. We thus evaluated the role of RGD integrin occupancy and PI3K inhibition on respiratory burst and [18F]FDG uptake of stimulated neutrophils. Human neutrophils were stimulated by 100 ng/mL phorbol-myristate-acetate (PMA), and respiratory burst was measured by cumulative luminescence with lucigenin. [18F]FDG uptake and total hexokinase activity was measured 20 min after PMA stimulation in the presence or absence of soluble RGD peptides (200 g/mL) and/or the PI3K inhibitor wortmannin (200 nM). PMA induced a 71.70.9 fold increase in neutrophil oxygen intermediate generation. [18F]FDG uptake was increased to $194.6 \pm 3.7\%$ and hexokinase activity to $145.0 \pm 2.0\%$ of basal levels (both $p < 0.0005$). RGD peptides attenuated respiratory burst activation to $35.6 \pm 0.2\%$ ($p < 0.005$), but did not inhibit stimulated [18F]FDG uptake or hexokinase activity. In contrast, without affecting respiratory burst activation, wortmannin inhibited PMA stimulated [18F]FDG uptake to $66.9 \pm 1.6\%$ and hexokinase activity to $81.0 \pm 4.2\%$ (both $P < 0.0005$), demonstrating its dependence on PI3K activity. Neither RGD nor wortmannin reversed the other's inhibitory effect on stimulated [18F]FDG uptake and hexokinase activity or respiratory burst, which suggests the involvement of distinct signaling pathways. Neutrophil [18F]FDG uptake is enhanced by PMA through a mechanism that requires PI3K activity but is independent of integrin receptor occupancy or respiratory burst activation.

Keywords : Neutrophil, [18F]FDG, Respiratory burst, RGD

I. 서 론

중성구는 미생물, 암, 국소빈혈/재관류 이상, 외상, 기관 이식을 포함하는 다양한 유해한 물질에 대항하는 아

주 중요한 구성요소이다. 이 중성구는 감염 요소들에 의해 호흡기전에 의해 발생하는 활성산소 생성에 대응하며 세포내 산소 소비량은 50~100배 증가되는 원인이 된다. 이는 hexose monophosphate shunt를 통해 해당 작용의 증가가 되며 당 방사화합물의 섭취를 유도한다(Tan 등, 1998; Jones 등, 2002; Paik 등, 2004). 중성구는 암과 감염 부위에서의 [18F]fluorodeoxyglucose ([18 F]FDG) 섭취를 증가 시키는 주 구성요소이다(Jones 등, 1994; Yamada 등 1995; Kaim 등, 2002; Chen 등, 2004). 중성구의 활성과

교신저자 : 백진영, (우) 135-710 서울특별시 강남구 일원동 50번지 삼성서울병원, 핵의학과
Tel : 02-3410-2649, 017-355-2840
E-mail : jynm.paik@samsung.com

당섭취는 positron emission tomography (PET) 연구에 있어 정확한 부위의 확인에 도움을 줄 수도 있다. 중성구의 활성화는 세포의 부착과 이동, 호흡, 특이적인 기능들로 대변되는 extracellular matrix(ECM)과의 상호작용과 부착에 중요하다(Gresham 등, 1989; Williams와 Solokin, 1999). Fibronectin과 lamin과 같은 ECM protein과 중성구 사이의 상호작용은 arginine-glycine-aspartic acid(RGD) motif와 세포표면의 integrin 부착을 통해 일어나며(Ruoslahti와 Pierschbacher, 1987; Brooks 등, 1994), 이런 integrin의 저해는 Interaction 중성구의 기능을 방해할 수 있다(Senior 등, 1992; Yam와 Novak, 1999). Integrin에 의해 초기화되는 세포내 신호체계는 아직 밝혀지지 않았다. 최근 연구에서 이미 확인된 phospho inositide-3-OH kinase(PI3K)는 세포의 신호체계에서 중요할 뿐 아니라, 화학제에 의한 치료, 이동 화학제에 유도되는 호흡 기전의 발생을 유도되었다는 보고가 있다(Koyasu, 2003).

Phorbol-myristate-acetate(PMA)에 의한 호흡 활성화의 일으킴과 동시에 중성구의 활성을 일으키며, 이는 또한 PI3 kinase 활성화는 별개인 것으로 알려져 있다. 그러나 이 PI3 kinase 효소의 역할은 다양한 세포에서 당 대사를 관장하는 전달체이나, PMA 영향에 의한 당 섭취에서의 integrin 신호체계는 아직 확실히 밝혀지지 않았다. 본 연구에서 우리는 soluble RGD peptides와 PI3 kinase의 특이적 저해제인 wortmannin을 이용하여 integrin의 수용능력의 역할과 PMA에 의한 호흡활성의 자극에 PI3 kinase 기전의 관련성과 중성구의 당 섭취를 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 중성구 분리

건강한 자원자에서 헤파린 10 IU/mL로 처리한 주사기를 이용하여 50 mL 정도의 정맥혈을 채혈 하였다. Ficoll/Hytopaque 1119와 1077(Sigma)을 혼합하여 정맥혈을 혼합액 위에 올려 원심 분리를 하였다. 아래층에 분리된 세포를 조심스럽게 새 튜브에 옮겨 phosphate buffer saline(PBS)로 두 번 세척한 뒤 얻은 세포를 150 mm 배양 용기에 옮겨 10% FBS(Sigma)와 1% 항생제-항균제

(GIBCO BRL)를 함유한 RPMI-1640(GIBCO BRL) 배지로 배양하였다. 분리된 중성구의 순도는 FACS(fluorescence assisted cell sorting)에서 세포 크기를 기준으로, 그리고 H&E 염색 후 현미경 하에서 확인 하여 95% 분리를 확인하였다.

2. 호흡기전에 의한 중성구 활성화

중성구의 호흡기전에 의한 활성화는 생성된 superoxide의 측정으로 확인하였다. 주로 1×10^6 갯수의 중성구를 500 μ L 배지가 있는 배양 튜브에 넣어 100 ng/mL PMA로 자극을 주어 20분 동안 자극을 주어 생성하였다. 활성화된 중성구를 즉시, 250 μ M lucigenin(Sigma)를 더하여 산소에 의한 발생하는 중간 생성물을 chemiluminescent를 이용하여 20분 동안 측정하였다. Luminometer는 10초 동안 light unit를 계수하여 측정하였다.

3. 당섭취 측정

중성구는 100 ng/mL PMA 20분 동안 자극 후 자극하지 않은 정상대조군과 비교하여 측정하였다. 중성구는 370 kBq(10 μ Ci) [18 F]FDG를 배지에 넣어 주어 30분 동안 37°C에서 5% CO₂ 배양기에서 섭취 실험을 하였다. 당 섭취가 된 중성구는 주의하여 1 mL PBS를 이용하여 세척하여 감마 카운터(Wallac)를 이용하여 섭취율을 측정하였다. 각 샘플의 당 섭취율은 Bradford method를 이용하여 protein 양을 측정하여 세포수 보정을 하였으며 정상대조군과 비교하여 % 섭취율로 표기 하였다.

4. Total hexokinase 활성 측정

모든 중성구의 hexokinase 활성은 위의 방법을 사용하여 20분 동안 PMA로 자극한 후, 섭취가 된 중성구와 정상 대조군에서 측정되었다(Paik 등, 2004). 주로 세포는 50 mM triethanolamine와 5 mM MgCl₂(pH 7.6)가 포함된 용액으로 균질화 했으며 상층액은 미토콘드리아와 붙은 hexokinase는 4°C에서 5분 동안 1000 \times g로 원심분리 하였다. 0.5 mM glucose, 5 mM adenosine triphosphate, 0.25 mM reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

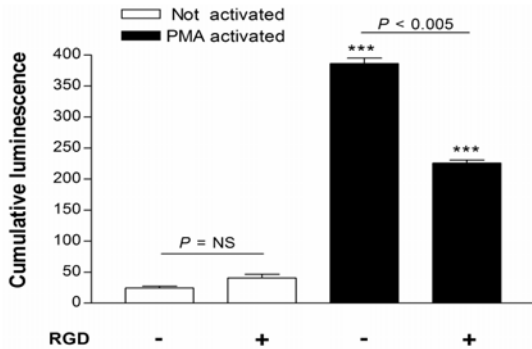


Fig. 1. Effect of RGD treatment on neutrophil respiratory burst. Oxygen intermediate generation was determined as cumulative luminescence levels in basal and PMA stimulated neutrophils in the presence or absence of 200 g/mL RGD. Results are mean SD of triplicate samples obtained from a single experiment representative of 3 separate experiments. ***: $p < 0.0005$ compared to controls.

(NADPH)가 포함된 buffer와 15분 동안 20°C에서 미리 반응된 6 unit glucose-6-phosphate dehydrogenase를 섞어 준다. 반응이 된 검체를 위의 용액에 넣어 주어 흡광도를 측정한다. Hexokinase 활성은 20°C에서 분당 1 M의 당의 인산화를 효소 활성 1 unit로 정의하여 표준 곡선을 그려 측정하였다. 효소 활성은 mU/mg protein으로 표현되었다.

5. RGD와 wortmannin의 효과에 대한 평가

중성구의 integrin receptor 기능의 효과는 Haubner 등 (1999)에 의해 발표된 방법에 의해 합성된 200 ng/mL of cyclic RGD(Iy)가 첨가되었다. 중성구의 integrin receptor 기능은 PMA 자극전 2시간 전에 배양 배지에 200 ng/mL RGD peptide를 넣어 주어 측정되었다. 당 섭취의 중용한 기전인 PI3K pathway는 200 nM wortmannin(Sigma)를 PMA 자극 전 2시간동안 처리 해 주어 측정하였다. 실험에 사용된 중성구에 의해 발생된 superoxide 측정과 [18F]FDG 섭취는 위의 방법에 의해 측정되었다.

III. 결 과

1. RGD는 PMA에 의해 유도된 호흡활성을 저해한다.

PMA에 의해 자극된 정상 대조군에 비해 산소 중간 생

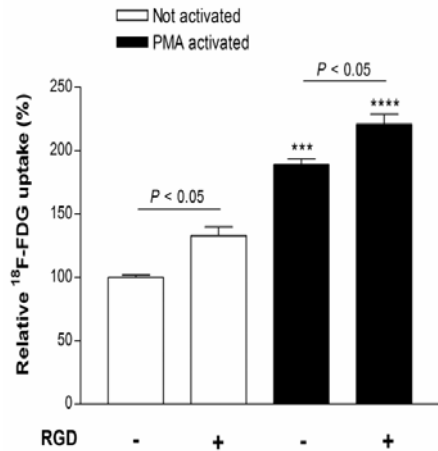


Fig. 2. Effect of RGD treatment on [18F]FDG uptake in human neutrophils. [18F]FDG uptake was measured on basal and PMA stimulated neutrophils in the presence or absence of 200 g/mL RGD. Results are expressed as % uptake relative to the mean of control cells. Data are mean SD of triplicate samples obtained from a single experiment representative of 3 separate experiments. ***: $p < 0.0005$; ****: $p < 0.0001$ compared to controls.

성물이 뚜렷한 증가를 보였다($p < 0.0005$, Fig. 1). RGD를 처리한 중성구의 경우 처리하지 않은 중성구에 비해 산소 중간 생성물이 $58.4 \pm 1.3\%$ 로 감소되었다($p < 0.005$; Fig. 1). RGD 처리한 중성구의 경우 정상대조군에 비해 생성된 산소 중간 생성물은 감소되지 않았다($P = NS$).

2. RGD는 PMA에 의해 증가된 당 섭취는 저해 하지 못한다.

PMA에 의해 자극된 중성구는 정상대조군에 비하여 당 섭취가 $194.6 \pm 3.7\%$ 가 증가되었다($p < 0.0005$). 그러나 RGD를 처리한 중성구의 경우 PMA로 자극된 당 섭취를 감소시키지 않았다(Fig. 2). 정상대조군에 RGD 처리한 중성구의 경우 정상대조군에 비해 아주 미미하게 $116.9 \pm 8.7\%$ 당 섭취를 증가를 보여 주었다($p < 0.05$).

3. Wortmannin은 PMA 자극에 의한 호흡 활성을 저해하지 못한다.

우리는 또한 PMA 자극에 의한 중성구의 활성의 중요한 기전의 하나인 PI3K pathway를 조사 하였다. Wort-

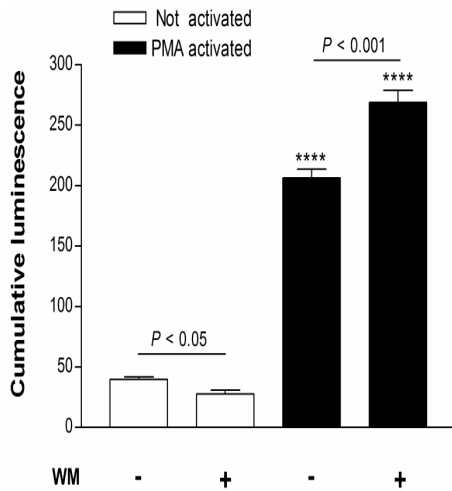


Fig. 3. Effect of wortmannin on neutrophil respiratory burst. Oxygen intermediate gene ration was determined as cumulative luminescence levels in basal and PMA stimulated neutrophils in the presence or absence of 200 nM wortmannin. Results are expressed as % uptake relative to the mean of control cells. Data are mean SD of triplicate samples obtained from a single experiment representative of 3 separate experiments. ****: p<0.0001 compared to controls.

mannin은 중성구의 호흡활성에서의 RGD의 효과와 반대의 결과를 보였다. Wortmannin은 PMA 자극에 의한 호흡 활성을 저해 하였으나 처리하지 않은 중성구의 경우 오히려 산소 중간생성물을 130.3 ± 4.7%로 약간 증가하는 것으로 보였다(p<0.001; Fig. 3).

정상대조군에 wortmannin을 처리한 중성구의 경우 처리하지 않은 정상대조군에 비해 superoxide 생성을 69.6 ± 7.8%로 약간의 감소를 보였다(p<0.05, Fig. 3). PMA 자극 효과에 의한 증가된 호흡 활성이 됨에 불구하고 wortmannin은 RGD 처리의 저해 효과를 다시 바꾸어 놓지는 못했다. 결과적으로 RGD는 PMA 자극에 중성구에 의한 산소 중간생성물 wortmannin의 처리하지 않은 것과 같은 비슷하게 감소를 시켰다(63.1 ± 1.1% vs. 61.1 ± 1.7%, P = NS; Fig. 4).

4. Wortmannin은 PMA 자극에 의한 당 섭취를 감소시킨다.

RGD에 의한 효과의 부족에 비하여 wortmannin은 뚜렷하게 PMA 자극에 의한 [18F]FDG 섭취를 감소 시켰

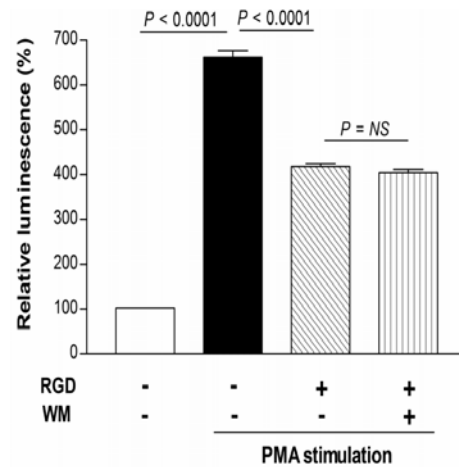


Fig. 4. Effect of simultaneous treatment with wortmannin and RGD on neutrophil respiratory burst. Neutrophils were with PMA in the presence of 200 g/mL RGD and/or 200 nM wortmannin as above. Data are mean SD of triplicate samples obtained from a single experiment representative of 2 separate experiments.

다. Wortm annin을 처리하지 않은 중성구에 비해 66.9± 1.6%로 감소되었으며(p<0.0005, Fig. 5), PMA 자극에 의한 증가된 당 섭취의 중성구는 PI3 kinase pathway 와 의존함을 보였다.

5. RGD처리하는 PMA 자극에 의한 [18F]FDG 섭취 혹은 hexokinase 활성은 저해하지 않는다.

RGD 기능은 PMA 자극에 의한 [18F]FDG의 저해 효과에 영향을 주는지 조사하였다. wortmannin은 PMA 자극에 의한 당 섭취를 RGD의 처리한 중성구와 처리하지 않은 중성구에서 비슷하게 저해 하였으며(p=NS Fig. 6), 이 결과로 RGD 저해 효과는 섭취 기전의 저해 효과와 integrin 기전과 관계가 없다는 것을 보였다. 또한 세포내 hexokinase 활성 측정에서도 [18F]FDG 섭취의 경향과 비슷한 결과를 보여 주었다. PMA 자극에 의한 중성구의 hexokinase 활성은 자극하지 않은 정상대조군에 비해 145.0 ± 2.0% 증가를 보였다(p<0.0005).

RGD 처리한 중성구의 경우 PMA 자극에 의해 증가된 hexokinase 활성을 감소시키지 못했으며(169.2 ± 5.2% of basal cont rols, p<0.0001), 반면에 wortmannin의해 뚜렷

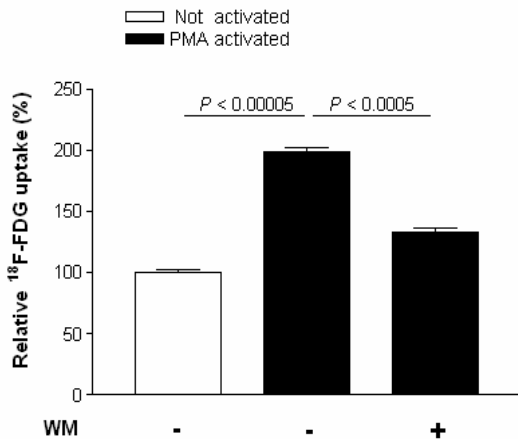


Fig. 5. Effect of wortmannin on neutrophil [18F]FDG uptake. Measurements were done on basal and PMA stimulated neutrophils in the presence or absence of 200 nM wortmannin. Results are expressed as % uptake relative to the mean of control cells. Data are mean SD of triplicate samples obtained from a single experiment representative of 3 separate experiments.

하게 PMA 자극에 의한 증가된 중성구군를 $81.0 \pm 4.2\%$ 로 저해하였다($117.7 \pm 6.1\%$ of basal controls, $p < 0.005$). 더욱이 [18F]FDG 섭취율과 비슷하게 wortmannin은 RGD 처

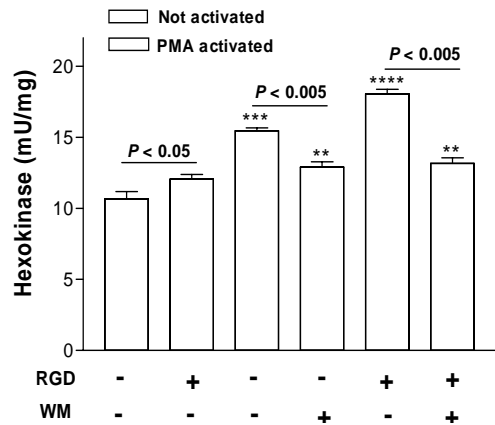


Fig. 6. Effect of simultaneous treatment with wortmannin and RGD on neutrophil [18F]FDG uptake. Neutrophils were with PMA in the presence of 200 g/mL RGD and/or 200 nM wortmannin as above. Data are mean SD of triplicate samples obtained from a single experiment representative of 2 separate experiments.

리한 중성구과 처리하지 않은 중성구에서 비슷한 정도로 PMA 자극에 의한 hexokinase 활성을 저해하였다 (Fig. 7).

IV. 고 찰

중성구는 임상 PET에 의해 검출되는 [18F]FDG 섭취가 보이는 곳에서 뚜렷한 요소이다. 중성구의 조직의 감염 부위와 폐 이상에서의 중성구의 당 섭취는 아주 중요한 문제가 되었다(Jones 등, 1994; Yamada 등 1995; Kaim 등 2002; Chen 등, 2004). 높은 중성구의 당 섭취는 증가된 당 소비에 의해 요구되어지는 에너지 생산을 위한 산소 중간 생성물의 생성이 호흡활성과 관련이 있었다는 보고가 있다(Tan 등, 1998; Jones 등, 2002; Paik 등, 2004). 본 실험의 결과 중성구 호흡활성의 중요한 자극제인 PMA는 세포외 당의 섭취의 증가를 유도한다는 증거를 제시했다. 그러나 위와 같은 결과들은 중성구의 기능에 있어 당 섭취와 호흡 활성사이에 필수 불가결한 연관관계는 아니라는 것을 증명했다.

RGD integrin 기능은 뚜렷하게 PMA 자극된 호흡활성을 저해했으나 당 섭취와 hexokinase 활성은 저해하지 못했다. 그러나 반대로 wortmannin은 호흡 활성에는 효

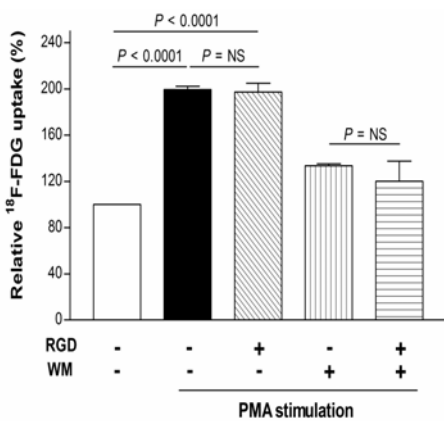


Fig. 7. Effects of RGD and wortmannin treatment on hexokinase activity in basal and PMA stimulated neutrophils. Measurements were done in the presence or absence of 200 ng/mL RGD or 100 ng/mL wortmannin. Data are mean SD of enzyme activity (mU/mg) of triplicate samples obtained from a single experiment representative of 3 separate experiments. **: $p < 0.005$; ***: $p < 0.0005$; ****: $p < 0.0001$ compared to basal controls.

과를 보이지 않았지만, 증가된 당 섭취는 확실하게 저해함을 보여 주었다.

중성구의 호흡 활성에서의 RGD의 저해 효과는 세포막의 수용체에 작용함으로써 시작된다. Integrin의 작용은 감염 전달체의 활성과 생성을 포함한 많은 중요한 세포 내 신호 기전에 전달을 하며(Ruoslahti와 Pierschbacher, 1987; Senior 등 1992; Brooks 등, 1994; Yan와 Novak, 1999) 아마도 활성에 저해 효과를 보여 줄 수 있다(Hoffstein 등 1985). 이전의 실험 보고에서 Yan와 Novak(1999)은 중성구의 호흡 활성은 RGD peptide의 부착에 의해 감소되어 질 뿐 아니라 anti-integrin antibodies 와 RGD의 처리에 의해 감소되어진다는 보고가 있었다. Integrin 활성을 통한 대사는 중성구 활성은 PI3 kinase, phospholipase C activated protein kinase C(PKC) 그리고 mitogen-activated protein kinase를 포함하는 integrin 활성 nonreceptor tyrosine kinase의 하나 혹은 그 이상의 하위 기전 전달체에 영향을 줄 수 있다(Clark와 Brugge, 1995; Yan와 Novak, 1999). RGD에 의한 PMA 자극에 의한 산소 중간생성물의 하위 조절은 wortmannin에 의해 회복되지 않았다. 이는 PI3 kinase 기전에는 RGD의 효과가 영향을 주지 않음을 알려 준다. 우리의 결과들은 그러나 당 섭취는 중성구의 활성과 연관이 적으며 integrin 활성 동안 완전하게 자극 시킬 수 있음을 보여 주었다.

Wortmannin은 곰팡이의 대사산물로서 특이적 PI3 kinase의 저해제로 사용되었다(Arcaro와 Wymann, 1993, Okada 등, 1994). PI3K 효소는 protein tyrosine kinase 기전에 chemotaxis, degranulation과 호흡 활성을 포함하는 많은 중성구 활성으로 전달하는 하위 수용체를 빠르게 활성 시킨다(Traymor-Kaplan 등, 1988; Stephens 등, 1991; Hynes, 1992; Ruyninckx 등, 2001). PMA는 protein kinase C의 직접적인 활성제로 잘 알려져 있으며 PI3 kinase pathway와 무관하게 호흡활성을 유도할 수 있다(Brooks 등, 1994; Vlahos 등; 1995). 우리의 결과는 PMA 자극에 의한 호흡 활성은 PI3 kinase 저해에 의해 영향을 받지 않음을 또한 확인했다. 그러나 기대와는 다르게 wortmannin은 세포막 수용체와 PI3 kinase 기전을 통한 formyl-methionyl-leucine-phenylalanine(fMLP)에 의해 유도되었다. PMA stimulated [18F]FDG 섭취를 강하게 저해 하였다. Wortmannin은 이전 보고에서 자극된 당 섭취의 영향

없이 fMLP 자극에 의한 호흡활성을 저해한다고 보고됨을 보여 주었다(Jones 등, 2002). 우리의 결과는 자극된 호흡활성과 당 섭취는 wortmannin에 의해 연관성이 없음을 확실하게 증명하였다. 또한 다른 기전에 의해 일어남을 확인할 수 있었다.

결과적으로 중성구에서 PMA 자극에 의한 PI3 kinase 활성에 의존한 당 소비의 증가, integrin 기능에 의한 영향에는 호흡 활성과 다른 개념의 기전이 관여한다. 이런 결과는 중성구에 있어 [18F]FDG 섭취는 다양한 기전에 의한 것임을 증명하는 것이며 주 기전은 PI3 kinase 기전을 이용하는 것이나 integrin에 의한 호흡 활성 기전에는 의존하지 않음을 확인하였다. 이는 감염부위와 암 생성 부위에서의 PET 영상 분석에 있어 방해되는 중성구의 특성을 파악하는데 중요한 자료로 이용될 수 있을 것이라 생각된다.

참 고 문 헌

1. Arcaro A, Wymann MP. Wortmannin is a potent phosphatidylinositol 3-kinase inhibitor: the role of phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate in neutrophil responses. *Biochem J* 296:297-301, 1993.
2. Babior BM. The respiratory burst of phagocytes. *J Clin Invest* 73:599-601, 1984.
3. Brooks PC, Clark RA, Chersesh DA. Requirement of vascular integrin v3 for angiogenesis. *Science* 264: 569-571, 1994.
4. Chen DL, Mintun MA, Schuster DP. Comparison of methods to quantitate 18F-FDG uptake with PET during experimental acute lung injury. *J Nucl Med* 45:1583-1590, 2004.
5. Clark EA, Brugge JS. Integrins and signal transduction pathways: the road taken. *Science* 268:233-239, 1995.
6. Gresham HD, Goodwin JL, Allen PM, Anderson DC, Brown EJ. A novel member of the integrin receptor family mediates Arg-Gly-Asp-stimulated neutrophil phagocytosis. *J Cell Biol* 108:1935-1943, 1989.
7. Haubner R, Wester HJ, Reuning U, Senekowitsch-

- Schmidtke R, Diefenbach B, Kessler H, Stocklin G, Schwaiger M. Radiolabeled alpha(v) beta3 integrin antagonists: a new class of tracers for tumor targeting. *J Nucl Med* 40:1061-1071, 1999.
8. Hoffstein ST, Gennaro DE, Manzi RM. Surface contact inhibits neutrophil superoxide generation induced by soluble stimuli. *Lab Invest* 52:515-522, 1985.
 9. Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 69:11-25, 1992.
 10. Jones HA, Cadwallader KA, White JF, Uddin M, Peters AM, Chilvers ER. Dissociation between respiratory burst activity and deoxyglucose uptake in human neutrophil granulocytes: implications for interpretation of 18F-FDG PET images. *J Nucl Med* 43:652-672, 2002.
 11. Jones HA, Clark RJ, Rhodes CG, Schofield JB, Krausz T, Haslett C. In vivo measurement of neutrophil activity in experimental lung inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 149:1635-1639, 1994.
 12. Kaim AH, Weber B, Kurrer MO, Gottschalk J, Von Schulthess GK, Buck A. Autoradiographic quantification of 18F-FDG uptake in experimental soft-tissue abscesses in rats. *J Nucl Med* 43:652-657, 2002.
 13. Koyasu S. The role of PI3K in immune cells. *Nature Immunology* 4:313-319, 2003.
 14. Okada T, Sakuma L, Fukui Y, Hazeki O, Ui M. Blockage of chemotactic peptide-induced stimulation of neutrophils by wortmannin as a result of selective inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase. *J Biol Chem* 269:3563-3567, 1994.
 15. Paik JY, Lee KH, Choe YS, Choi Y, Kim BT. Augmented 18F-FDG uptake in activated monocytes occurs during the priming process and involves tyrosine kinases and protein kinase C. *J Nucl Med* 45:124-128, 2004.
 16. Ruoslahti E, Pierschbacher MD. New perspectives in cell adhesion: RGD and integrins. *Science* 238:491-497, 1987.
 17. Ruyninckx WJ, Comeford KM, Lawrence DW, Colgan SP. Phosphoinositide 3-kinase modulation of 3-integrin represents an endogenous "braking" mechanism during neutrophil transmigration. *Blood* 97:3251-3258, 2001.
 18. Senior RM, Gresham HD, Griffin GL, Brown EJ, Chung AE. Entactin stimulates neutrophil adhesion and chemotaxis through interactions between its Arg-Gly-Asp (RGD) domain and the leukocyte response integrin. *J Clin Invest* 90:2251-2257, 1992.
 19. Stephens LR, Hughes KT, Irvine RF. Pathway of phosphatidylinositol (3,4,5)-trisphosphate synthesis in activated neutrophils. *Nature* 351:33-39, 1991.
 20. Tan AS, Ahmed N, Berridge MV. Acute regulation of glucose transport after activation of human peripheral blood neutrophils by phorbol myristate acetate, fMLP, and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Blood* 91:649-655, 1998.
 21. Traynor-Kaplan AE, Harris AL, Thompson BL, Taylor P, Sklar LA. An inositol tetrakisphosphate-containing phospholipid in activated neutrophils. *Nature* 334:353-356, 1988.
 22. Vlahos CJ, Matter WF, Brown RF, Traynor-Kaplan AE, Heyworth PG, Prossnitz ER. Investigation of neutrophil signal transduction using a specific inhibitor of phosphatidylinositol 3-kinase. *J Immunol* 154:2413-2422, 1995.
 23. Williams MA, Solonkin JS. Integrin-mediated signaling in human neutrophil functioning. *J Leukocyte Biol* 65:725-735, 1999.
 24. Yamada S, Kubota K, Kubota R, Ido T, Tamahashi N. High accumulation of fluorine-18-fluorodeoxyglucose in turpentine-induced inflammatory tissue. *J Nucl Med* 36:1301-1306, 1995.
 25. Yan SR, Novak MJ. Diverse effects of neutrophil integrin occupation on respiratory burst activation. *Cell Immunol* 195:119-126, 1999.