

Effects of Benzene, Phenol and Hydroquinone on Proliferation, Differentiation and Migration of Human Eosinophilic EoL-1 Cells

So Hee Moon¹, Eun Ju Yang¹, Bo Bae Song¹, Bo-Mi Kim¹, Ji-Sook Lee² and In Sik Kim^{1,†}

¹Department of Biomedical Laboratory Science, School of Medicine, Eulji University and
Eulji University Medical Sciences Research Center, Daejeon 301-746, Korea

²Department of Clinical Laboratory Science, Wonkwang Health Science University, Iksan 570-750, Korea

Benzene is known as a ubiquitous air pollutant and has a carcinogenic influence on the human body. Benzene is also metabolized to other volatile organic compounds (VOCs) in the body such as phenol and hydroquinone (HQ). The metabolites are accumulated and further oxidized by myeloperoxidase in bone marrow. They act as toxic agents and cause a variety of diseases, including cancer, atopic dermatitis and asthma. In this study, we examined the effects of benzene and its metabolites on proliferation, differentiation and chemotaxis of EoL-1 cells, the human eosinophilic leukemia cell line. These chemicals had no effect on the proliferation of EoL-1 cells. Benzene decreased the differentiation of EoL-1 cells induced by butyric acid. HQ was induced the cell death during butyric acid-induced EoL-1 cell differentiation. In a chemotaxis experiment, benzene, phenol and HQ enhanced the cell migration induced by Lkn-1 but not by MCP-1, eotaxin, MIP-1 α and RANTES. These findings provide the effect of VOCs on the regulation of eosinophil-involved immune response.

Key Words: Benzene, Phenol, Hydroquinone, Eosinophils, Immune response

서 론

현대생활의 다양한 분야에서 많이 이용되고 있는 물질인 벤젠 (benzene)은 혈독소 및 발암 물질로 잘 알려진 것으로 체내에서 페놀 (phenol)과 하이드로퀴논 (hydroquinone) 등으로 대사된다. 이러한 물질들을 총칭하여 휘발성 유기화합물 (volatile organic compounds, VOCs) 이라고 하며, 장기간에 걸쳐 휘발성 유기화합물에 인체가 지속적으로 노출되면 다양한 염증성 질환이나 암 등의 발생이 증가하게 된다. 벤젠의 경우 빈혈, 골수이형성증, 급성 골수성 백혈병 등의 여러 가지 질병의 발병 이전에 관여하거나 면역세포에서 염증성 매개 물질의 분비를 촉진하여 체내 면역체계를 저해하는 것으로 보고되었다 (Golding and Watson, 1999; Synder, 2002). 페놀과 하이드로퀴논은 벤젠이 체내에서 산화되어 발생한 벤젠

의 대사산물로서 벤젠과 구조적으로는 거의 비슷하나 각각의 면역반응에서 특이적으로 작용한다. 페놀과 하이드로퀴논은 우선 골수에 축적되어 골수세포형 과산화효소 (myeloperoxidase)에 의해 활성화 되고, 이후 세포 내 DNA 손상 및 면역 세포의 세포고사를 유도하며 활성 산소종 (reactive oxygen species, ROS)을 형성하여 염증반응을 일으킨다 (Li et al., 1997; Schlosser and Kalf, 1989; Schrenk et al., 1996). 최근에도 면역반응에 관여하는 세포에서 벤젠 및 벤젠 대사산물의 효과를 연구하고 있지만 암 유발 기전이나 염증 질환과의 명확한 관계를 파악하기에는 부족한 실정이다.

호산구는 알러지성 염증반응 및 외부 항원에 대한 방어체계를 조절하는 주요 세포로서 호산구의 증식, 분화 및 세포의 이동은 여러 면역반응을 조절하는 중요한 작용기전이 된다. 케모카인은 다양한 자극에 의해 면역세포에서 분비되는 물질로, 이 물질들에 의해 세포 및 케모카인에 특이적으로 면역반응을 조절하게 된다. 특히, leukotactin-1 (Lkn-1)은 호산구 세포 표면에 발현되어 있는 CC 케모카인 수용체 1 (CCR1)과 CC 케모카인 수용체 3 (CCR3)에 결합하여 호산구의 이동에 관여하는 CC 케모카인 중 하나이고, 미성숙 세포의 분화 및 성숙에 관

*접수일: 2010년 8월 23일 / 수정일: 2010년 9월 14일
채택일: 2010년 9월 17일

†Corresponding author: In Sik Kim, Department of Biomedical Laboratory Science School of Medicine, Eulji University 143-5, Yeoungdu-dong, Jung-gu Daejeon 301-746, Korea.
Tel: +82-42-259-1753, Fax: +82-42-259-1759
e-mail: orientree@eulji.ac.kr

여한다 (Broxmeyer, 2001; Lee and Kim, 2010). 염증 부위로 호산구가 이동을 하면 주기저단백질 (major basic protein, MBP), 호산구성 과산화효소 (eosinophil peroxidase, EPO) 와 같은 특이 과립단백질이나 활성산소종을 분비하여 외부 항원에 대한 방어를 하지만, 지나치게 되면 오히려 염증반응을 더 악화시키는 결과를 초래하게 된다 (Elsner and Kapp, 1999; Rothenberg and Hogan, 2006). 또한 세포의 분화과정도 정상적인 면역을 형성하는데 중요한 기전으로써, 만약 골수 내에서 성숙 세포로의 분화가 제대로 일어나지 않으면 미성숙 세포로 존재하면서 암과 같은 질병을 유도하고 더 나아가 다양한 기관으로 전이를 일으키게 되는 주요 원인이 된다 (Synder, 2002).

본 연구는 사람의 호산구성 백혈병 세포주인 EoL-1 세포를 이용하여 미성숙 세포에 대한 벤젠과 벤젠의 대사산물인 페놀, 하이드로퀴논의 면역학적 효과를 알아보았다.

재료 및 방법

세포 배양

사람 호산구성 백혈병 세포주인 EoL-1 세포 (Riken cell bank, Tsukuba, Japan)는 10% 소태아혈청 (fetal bovine serum, FBS), 100 U/ml의 페니실린, 100 µg/ml의 스트렙토마이신 (Life technologies, Inc., Gaithersburg, MD)이 포함된 RPMI 1640 배지 (Life technologies, Inc.)에서 배양하였다. 세포는 37°C, 5% CO₂ 조건으로 배양하였다.

벤젠과 벤젠 대사산물의 세포 독성 및 EoL-1 세포의 증식 확인

EoL-1 세포에서 벤젠, 페놀, 하이드로퀴논이 세포 독성 및 증식에 관여하는지 확인하기 위해 MTT 측정법 (Roche, Penzberg, Germany)을 이용하였다. 세포는 5×10⁴ cells/100 µl의 농도로 배양액에 부유하여 96 well plate에 분주한 다음 다양한 농도의 벤젠, 페놀, 하이드로퀴논 (0.1~50 µM)을 24시간 동안 처리하였다. 이후 MTT (3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide) 용액을 10 µl 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 4시간을 배양한 다음 100 µl의 MTT 용해액을 추가로 첨가하였다. 37°C, 5% CO₂ 배양기에서 하루 동안 방치한 다음 550 nm에서 흡광도를 측정하였다.

EoL-1 세포의 분화 유도

EoL-1 세포에 0.5 mM의 부탄산 (butyric acid) (Sigma,

St. Loise, MO)을 12일 동안 지속적으로 처리하여 분화를 유도하였고, 벤젠, 페놀, 하이드로퀴논 (sigma) 처리 군은 50 µM의 농도로 부탄산과 동시에 12일 동안 처리하였다. 분화 12일 제, 각 실험 군의 살아있는 총 세포 수를 측정하여 세포 증식률을 확인하였고, 세포의 형태학적 관찰을 위해 세포원심법을 이용하여 슬라이드에 부착시킨 다음 Wright 염색 (Muto pure chemicals Co., Ltd., Tokyo, Japan)을 실시하였다. 염색한 슬라이드는 캐나다 발삼 (Junsei Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japan)으로 봉입한 다음 현미경으로 하나의 세포 내에 존재하는 공포의 수를 측정하였다. 한 실험 군당 최소 100개의 세포에서 각각의 공포 수를 측정하여 확인하였다.

EoL-1 세포의 유주운동

세포의 유주운동은 48-well 마이크로챔버 (Neuroprobe, Gaithersburg, MD)를 사용하였다. 아래쪽의 부위의 well에는 Lkn-1/CCL15 (100 ng/ml), MCP-1/CCL2 (10 ng/ml), eotaxin/CCL11 (100 ng/ml), MIP-1α/CCL3 (100 ng/ml), RANTES/CCL5 (100 ng/ml) (R&D Systems, Minneapolis, MN)을 28 µl로 채워준 후 8 µm 크기의 구멍이 있는 polyvinylpyrrolidone 필터 (Neuroprobe)를 그 위에 놓았다. 필터 막은 피브로넥틴 (fibronectin) (sigma)을 100 µg/ml로 포함한 RPMI 1640 배지에 넣고 4°C에서 하루 동안 미리 코팅을 시켜놓았다. 위 쪽 부위의 well에는 1% 소혈청 알부민 (bovine serum albumin, BSA)과 30 mM HEPES를 포함하는 RPMI 1640 배지에 5×10⁶ cells/ml의 농도로 부유시켜 놓은 EoL-1 세포를 50 µl씩 채웠다. 그 뒤 37°C에서 2시간 방치한 후 필터 막을 따로 제거하여 위쪽 표면에 부착되어 있는 세포들을 필터 와이퍼로 제거하였다. 건조시킨 필터 막을 메탄올 고정된 후 Diff-Quick (Baxter, McGaw Park, IL)으로 염색을 하였다. 각 well에 해당하는 필터 막 부위에서 무작위로 다른 두 군데의 부위를 선택하여 Axiovert 25 (Carl Zeiss, Jena, Germany)와 Visus 이미지 분석계 (Foresthill Products, Foresthill, CA)를 이용해 세포의 수를 측정하였다.

결 과

EoL-1 세포의 증식에 대한 벤젠과 벤젠 대사산물의 효과

EoL-1 세포에 벤젠과 체내 벤젠 대사산물인 페놀 및 하이드로퀴논을 농도 별로 24시간 동안 처리하여 MTT 측정법을 통해 세포 생존율을 확인하였다. 그 결과 벤젠

과 폐놀을 0.1~50 μM 농도로 처리하였을 때 EoL-1 세포의 증식에 영향을 주지 않았다 (Fig. 1). 하이드로퀴논은

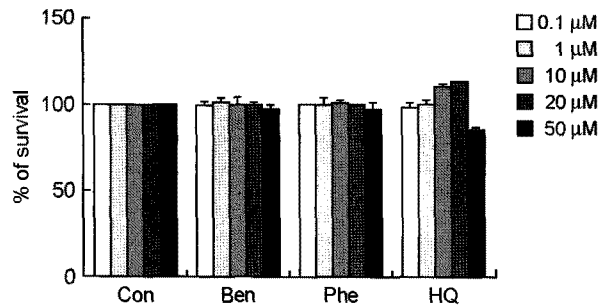


Fig. 1. The cytotoxic effects of benzene, phenol and hydroquinone on EoL-1 cells. EoL-1 cells were incubated with benzene (Ben), phenol (Phe) and hydroquinone (HQ) at concentrations of 0.1~50 μM for 24 h. The survival rates were then measured by a MTT assay. The data are expressed as the relative ratio to the absorbance of the untreated EoL-1 cells (Con), which was set at 100%. The data are expressed as the means \pm S.E.M. of three independent experiments.

역시 각 농도 별로 EoL-1 세포의 증식에 큰 영향을 주지는 않았으나 50 μM 의 농도에서 부분적인 감소 효과를 보였다 (Fig. 1).

EoL-1 세포의 분화에 벤젠과 벤젠의 대사산물이 미치는 효과

EoL-1 세포는 호산구성 백혈병 환자에게서 분리한 세포주로서 미성숙한 세포이다. 본 연구에서 벤젠과 벤젠의 대사산물이 EoL-1 세포가 성숙한 세포로 분화하는 과정에서 어떠한 작용을 하는지 파악하고자 하였다. EoL-1 세포는 12일 동안 부탄산을 처리하면 분화가 유도되고, 분화 정도를 확인하기 위해 세포 내에서 증가한 공포수를 측정한다 (Lee and Kim, 2010; Wong et al., 1999). 그러므로 부탄산에 의해 유도되는 EoL-1 세포의 분화에 벤젠과 그 대사산물의 작용 효과를 확인하고자 분화를 유도하는 동시에 각각의 물질들을 처리하였다. 실험 결

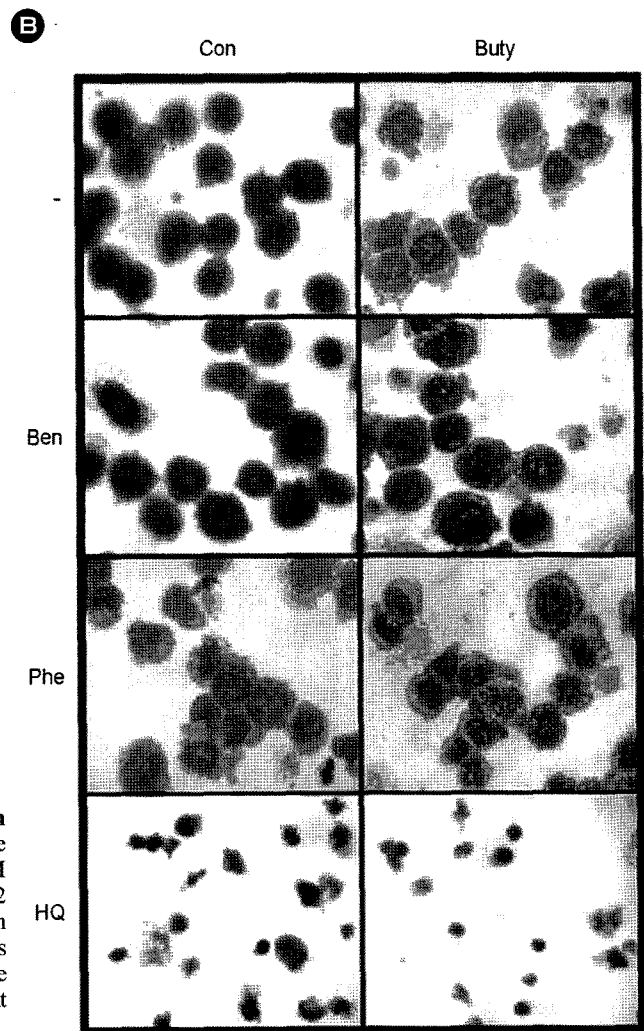
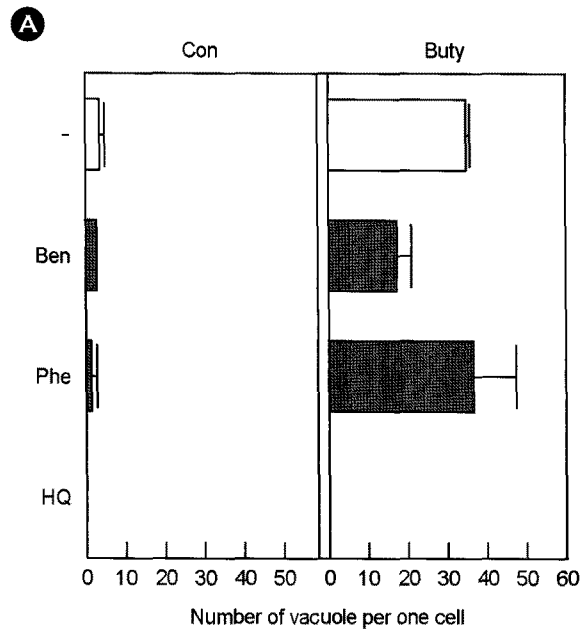


Fig. 2. The effects of benzene, phenol and hydroquinone on butyric acid-induced EoL-1 cell differentiation. EoL-1 cells were treated without and with 0.5 mM butyric acid (Buty) and 50 μM of benzene (Ben), phenol (Phe) and hydroquinone (HQ) for 12 days. The cells were cytopinned and were stained with Wright stain for observation of morphological change. The number of vacuoles per cell was determined by counting at least 100 cells (A). The data are expressed as the means \pm S.E.M. of two independent experiments. Photograph of differentiated cells ($\times 400$) (B).

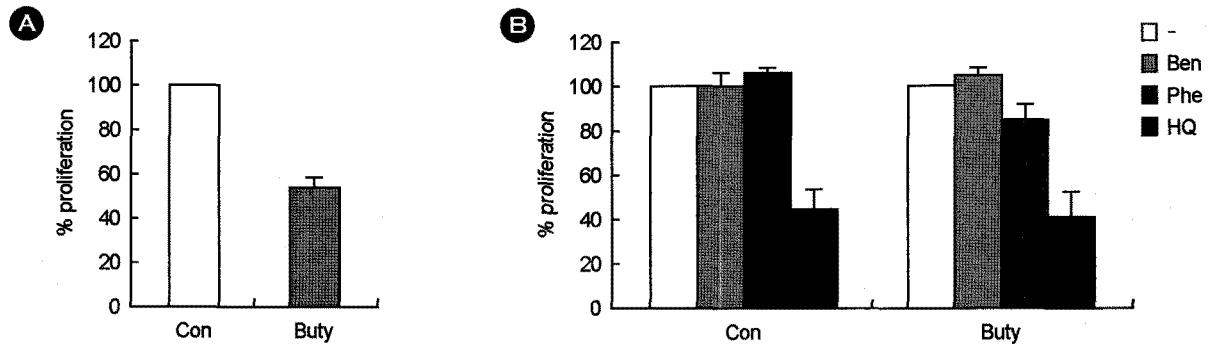


Fig. 3. The effects of benzene, phenol and hydroquinone on the proliferation of EoL-1 cells during cell differentiation. EoL-1 cells were treated with 0.5 mM of butyric acid (A) or were treated without and with 0.5 mM of butyric acid (Buty) and 50 μM of benzene (Ben), phenol (Phe) and hydroquinone (HQ) for 12 days (B). After 12 days, the proliferation of EoL-1 cells was determined based on the trypan blue exclusion test. The data are expressed as the means ± S.E.M. of two independent experiments and are presented in relation to the control (Con) or butyric acid (Buty), which was set at 100%.

과, 부탄산에 의해 증가한 세포 내 공포 수가 벤젠과 하이드로퀴논에 의해 억제된 반면 페놀에 의해서는 변화를 보이지 않았다. 그러나 하이드로퀴논에 의해 측정된 세포 내 공포 수는 세포의 분화 억제 때문이 아니라 분화가 유도되기 전 세포의 죽음에 의해 세포 내 공포가 형성되지 않았다는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 2).

EoL-1 세포의 분화과정 중에 벤젠과 벤젠 대사산물이 세포의 증식에 미치는 효과

EoL-1 세포에 부탄산을 12일 동안 처리하여 분화를 유도하였으며, EoL-1 세포의 분화 유도 12일째에 세포 수가 현저히 감소함을 보였다 (Fig. 3A). 또한 각 물질에 의한 분화 조절이 제대로 일어나고 있는지 파악하고자 세포 내 공포 수 및 전체 세포 수도 확인하였다. 벤젠은 부탄산에 의해 유도된 EoL-1 세포의 분화과정에서 억제 효과를 보였지만 페놀과 마찬가지로 세포 수에는 큰 변화를 보이지 않았다 (Fig. 3B). 그러나, 하이드로퀴논 처리 군은 EoL-1 세포의 분화 유도에 상관없이 세포 수가 현저히 감소하였다 (Fig. 3B). Fig. 1에서 보여주는 것처럼 각 물질은 EoL-1 세포의 증식에 거의 관여하지 않았지만, 하이드로퀴논의 경우 세포에 장기간 노출하였을 때나, 분화를 유도하는 과정에서 세포 수가 감소하였다.

케모카인에 의해 유도되는 EoL-1 세포의 유주운동에서 벤젠과 벤젠 대사산물의 효과

케모카인에 의한 세포의 유주운동은 체내 면역반응에서 중요한 기전으로 작용한다. 본 연구에서도 EoL-1 세포의 유주운동이 벤젠과 벤젠 대사산물의 자극에 의해 변화하는지 확인하고자 각 물질을 처리한 다음 다양한

케모카인에 의한 세포 이동의 증감을 관찰하였다. 각각의 케모카인에 의해 이동이 증가한 대조군과 비교하였을 때, Lkn-1에 의해 유도되는 EoL-1 세포의 유주운동을 벤젠, 페놀, 하이드로퀴논이 더 증가시키는 것을 확인하였다 (Fig. 4A). 하지만, 벤젠, 페놀, 하이드로퀴논은 MCP-1, eotaxin, MIP-1α, RANTES에 대한 세포의 유주운동에는 전혀 영향이 없었다 (Fig. 4B-E).

고 찰

벤젠 및 벤젠 대사산물인 페놀, 하이드로퀴논은 인간의 생활환경에서 곳곳에 산재되어 있으면서 가장 많이 발생하는 휘발성 유기화합물로, 인체에 여러 가지 영향을 주고 있다. 휘발성 유기화합물은 암, 염증 질환 등 다양한 질환의 발병 기전의 주요 원인으로 작용하고 있다 (Bernstein et al., 2008; Synder, 2002).

본 연구에서는 벤젠과 벤젠의 대사산물에 의해 발생할 수 있는 질환 중 호산구의 작용에 관계되어 있는 질환에 대해 알아보려고 하였다. 호산구와 관련된 것으로는 만성 호산구성 백혈병, 천식 및 아토피성 피부염과 같은 알러지성 질환 등이 있다 (Gotlib et al., 2004; Teran, 2000). 우선 벤젠과 벤젠의 대사산물에 의한 암 유발 기전의 가능성을 파악하고자 사람의 호산구성 백혈병 세포인 EoL-1 세포를 이용하여 실험을 진행하였다. EoL-1 세포는 골수 모 세포로서 미성숙한 세포이지만, 다양한 자극에 의해 형태학적으로나 기능적으로 성숙한 호산구와 유사하게 분화, 성숙함으로써 백혈병 세포의 분화나 악성 호산구성 세포의 특징을 분석하는데 유용한 세포이다 (Mayumi, 1992). 본 연구에서도 EoL-1 세포의 증식과 분화에 벤젠

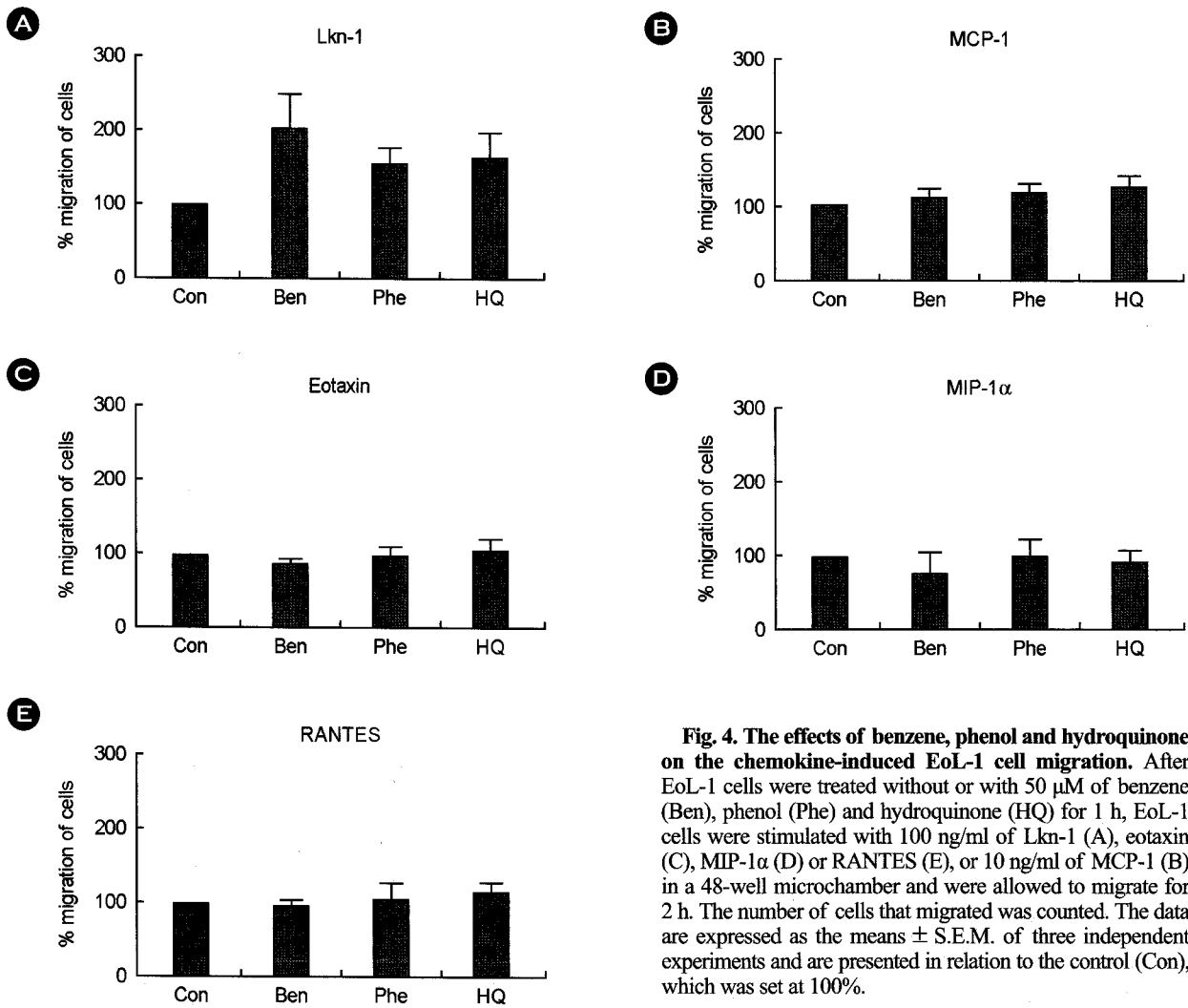


Fig. 4. The effects of benzene, phenol and hydroquinone on the chemokine-induced EoL-1 cell migration. After EoL-1 cells were treated without or with 50 μ M of benzene (Ben), phenol (Phe) and hydroquinone (HQ) for 1 h, EoL-1 cells were stimulated with 100 ng/ml of Lkn-1 (A), eotaxin (C), MIP-1 α (D) or RANTES (E), or 10 ng/ml of MCP-1 (B) in a 48-well microchamber and were allowed to migrate for 2 h. The number of cells that migrated was counted. The data are expressed as the means \pm S.E.M. of three independent experiments and are presented in relation to the control (Con), which was set at 100%.

과 벤젠의 대사산물이 영향을 주는지 확인하고자 하였다. 벤젠, 페놀, 하이드로퀴논은 EoL-1 세포의 증식에는 거의 영향을 주지 않았다 (Fig. 1). 세포의 분화과정에서 벤젠, 페놀, 하이드로퀴논이 영향을 주는지 확인하기 위해 부탄산을 12일 동안 처리하여 EoL-1 세포를 성숙 호산구성 세포로 분화시켰다. 부탄산을 0.5 mM의 농도로 12일 동안 처리하면 EoL-1 세포는 성숙 호산구의 지표인 인테그린 β 7 (integrin β 7), CC 케모카인 수용체 1의 발현이 증가하고, 세포 내 호산구성 특이 과립단백질인 주기저단백질 및 호산구성 과산화효소의 증가가 관찰된다 (Lee et al., 2009; Saito, 1985). 또한 형태학적인 변화로 세포 내 공포가 발생하고 그 수가 현저히 증가하게 된다 (Lee and Kim, 2010). 또한 부탄산에 의해 EoL-1 세포의 분화가 유도되면 세포 수의 감소가 보이지만 (Fig. 3A), 이는 부탄산에 의해 세포 증식이 중단되고 분화가 진행되는 것으로 성숙 호산구로 분화가 정상적으로 일어나

고 있음을 나타낸다 (Ishihara et al., 2007). 그러나, 벤젠은 부탄산에 의해 유도되는 이러한 변화 중 세포 내 공포 수의 증가를 억제하였다 (Fig. 2). 이 결과는 벤젠이 미성숙 세포의 증식에는 영향을 보이지 않지만, 정상적인 분화 및 성숙과정을 방해하여 암 발생 기전과 벤젠의 작용이 밀접한 관계가 있다는 것을 의미한다. 페놀은 EoL-1 세포의 분화에 아무런 영향을 주지 못했지만, 하이드로퀴논은 분화 여부에 상관없이 12일 동안 처리하였을 때 대부분의 세포가 죽어가는 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 2B와 Fig. 3B). EoL-1 세포에 하이드로퀴논을 처리한 지 7일째부터 전체 세포 수의 약 35% 정도 감소하는 것을 시작으로 (data not shown), 이후 계속적으로 세포의 죽음이 진행되었다. 호산구는 알러지성 염증반응과 숙주의 방어 기전에 중요한 역할을 하는 세포이다 (Weller, 1991). 그러나 체내에서 이러한 면역세포의 죽음으로 인해 세포 수가 부족하게 되면 결국 면역반응의 약화되거나, 심하

면 면역반응의 결핍을 가져와 외부의 병원체로부터 정상적인 면역작용을 유도하지 못해서 방어 기전을 일으키지 못한다.

Lkn-1은 간, 장관, 폐의 백혈구에서 관찰되는 CC 케모카인 중 하나로서, CC 케모카인 수용체 1, 3에 결합하여 호중구, 호산구, 단구, 림프구 등 대부분의 백혈구의 이동을 증가시킨다 (Coulin et al., 1997; Youn et al., 1997). EoL-1 세포도 Lkn-1에 의하여 유주운동이 증가하는데 (Lee et al., 2009), 벤젠, 페놀, 하이드로퀴논에 의해서 Lkn-1에 의한 EoL-1 세포의 이동이 더 증가하였다 (Fig. 4). 벤젠과 벤젠의 대사산물인 페놀과 하이드로퀴논은 이전 연구에서도 사이토카인이나 면역글로불린의 생산을 증가시켜 호중구나 호산구 등 면역세포의 이동 및 부착을 유도한 다음 염증반응을 더욱 악화시킨다는 보고가 있었다 (Kolachana et al., 1993; Lee et al., 2002; Macedo et al., 2006). 또한 Lkn-1은 사코이도증 (sarcoidosis)과 같은 암이나 관절염, 천식 등의 질환에서 증가하고, 이 케모카인의 증가가 호산구에 작용하여 호산구의 활성화 및 이동을 조절한다고 알려져 있다 (Arakelyan et al., 2009; Haringman, 2006; Teran, 2000). 이 결과를 통해 벤젠, 페놀, 하이드로퀴논은 Lkn-1이 작용하는 질환의 발병 기전에 영향을 미쳐 더욱 더 질병의 발생 및 악화를 유도할 수 있다는 것을 알 수 있다.

본 연구에서 확인한 바와 같이, 벤젠과 벤젠 대사산물인 페놀, 하이드로퀴논은 EoL-1 세포의 증식, 분화, 이동에 각각 다르게 작용한다. 이러한 결과는 벤젠에 노출되거나 벤젠이 체내에 축적되어 다양한 대사산물을 생성하게 되면, 체내 면역반응의 여러 기전에 작용하여 정상적인 면역 조절을 방해하고, 다양한 질병의 유도에 관여할 것으로 생각된다. 앞으로 각 물질에 대해 EoL-1 세포에서의 구체적인 작용기전 및 세포의 변화를 확인하면 호산구성 백혈병 및 호산구 관련 질환의 기전 연구 및 치료에 유용할 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2009년도 을지대학교 교내연구비 (EJRG-09-002-11E31) 지원에 의하여 수행된 것임.

REFERENCES

- Arakelyan A, Kriegova E, Kubistova Z, Mrazek F, Kverka M, du Bois RM, Kolek V, Petrek M. Protein levels of CC chemokine ligand (CCL)15, CCL16 and macrophage stimulating protein in patients with sarcoidosis. *Clin Exp Immunol.* 2009. 155: 457-465.
- Bernstein JA, Alexis N, Bacchus H, Bernstein IL, Fritz P, Horner E, Li N, Mason S, Nel A, Oullette J, Reijula K, Reponen T, Seltzer J, Smith A, Tarlo SM. The health effects of nonindustrial indoor air pollution. *J allergy Clin Immunol.* 2008. 121: 585-591.
- Broxmeyer HE. Regulation of hematopoiesis by chemokine family members. *Int J Hematol.* 2001. 74: 9-17.
- Coulin F, Power CA, Alouani S, Peitsch MC, Schroeder JM, Moshizuki M, Clark-Lewis I, Wells TN. Characterisation of macrophage inflammatory protein-5/human CC cytokine-2, a member of the macrophage-inflammatory-protein family of chemokines. *Eur J Biochem.* 1997. 248: 507-515.
- Elsner J, Kapp A. Regulation and modulation of eosinophil effector functions. *Allergy.* 1999. 54: 15-26.
- Golding BT, Watson WP. Possible mechanisms of carcinogenesis after exposure to benzene. *IARC Scientific Pub.* 1999. 150: 75-88.
- Gotlib J, Cools J, Malone JM, Schrier SL, Gilliland DG, Coutre SE. The FIP1L1-PDGFR alpha fusion tyrosine kinase in hypereosinophilic syndrome and chronic eosinophilic leukemia: implications for diagnosis, classification, and management. *Blood* 2004. 103: 2879-2891.
- Haringman JJ, Smeets TJ, Reinders-Blankert P, Tak PP. Chemokine and chemokine receptor expression in paired peripheral blood mononuclear cells and synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis, osteoarthritis, and reactive arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2006. 65: 294-300.
- Ishihara K, Takahashi A, Kaneko M, Sugeno H, Hirasawa N, Hong JJ, Zee OP, Ohuchi K. Differentiation of eosinophilic leukemia EoL-1 cells into eosinophils induced by histone deacetylase inhibitors. *Life Sci.* 2007. 80: 1213-1220.
- Kolachana P, Subrahmanyam VV, Meyer KB, Zhang L, Smith MT. Benzene and its phenolic metabolites produce oxidative DNA damage in HL60 cells in vitro and in the bone marrow in vivo. *Cancer Res.* 1993. 53: 1023-1026.
- Lee MH, Chung SW, Kang BY, Kim KM, Kim TS. Hydroquinone, a reactive metabolite of benzene, enhances interleukin-4 production in CD4⁺ T cells and increases immunoglobulin E levels in antigen-primed mice. *Immunology.* 2002. 106: 496-502.
- Lee JS, Kim IS. Leukotactin-1/CCL15 induces cell migration and differentiation of human eosinophilic leukemia EoL-1 cells

- through PKC δ activation. *Mol Biol Rep.* 2010. 37: 2149-2156.
- Lee JS, Yang EJ, Kim IS. The roles of MCP-1 and protein kinase C delta activation in human eosinophilic leukemia EoL-1 cells. *Cytokine* 2009. 48: 186-195.
- Li Q, Aubrey MT, Christian T, Freed BM. Differential inhibition of DNA synthesis in human T cells by the cigarette tar components hydroquinone and catechol. *Fundam Appl Toxicol.* 1997. 38: 148-165.
- Macedo, SM, Lourenço EL, Borelli P, Fock RA, Ferreira JM Jr, Farsky SH. Effect of in vivo phenol or hydroquinone exposure on events related to neutrophil delivery during an inflammation response. *Toxicology* 2006. 220: 126-135.
- Mayumi M. EoL-1, a human eosinophilic cell line. *Leuk Lymphoma.* 1992. 7: 243-250.
- Rothenberg NL, Hogan SP. The eosinophil. *Annu Rev Immunol.* 2006. 24: 147-174.
- Saito H, Bourinbaier A, Ginsburg M, Minato K, Ceresi E, Yamada K, Machover D, Bréard J, Mathé G. Establishment and characterization of a new human eosinophilic leukemia cell line. *Blood* 1985. 66: 1233-1240.
- Schlosser MJ, Kalf GF. Metabolic activation of hydroquinone by macrophage peroxidase. *Chem Biol Interact.* 1989. 72: 191-207.
- Schrenk D, Orzechowski A, Snyder R, Burchell B, Ingelman-Sundberg M, Bock KW. Phase II metabolism of benzene. *Environ Health Perspect.* 1996. 104: 1183-1188.
- Synder R. Benzene and leukemia. *Crit Rev Toxicol.* 2002. 32: 155-210.
- Teran LM. CCL chemokines and asthma. *Immunol Today.* 2000. 21: 235-242.
- Weller PF. The immunobiology of eosinophils. *N Engl J Med.* 1991. 324: 1110-1118.
- Wong EK, Ho CY, Lam CWK, Zhang JP, Hjelm NM. Differentiation of a human eosinophilic leukemic cell line, EoL-1: characterization by the expression of cytokine receptors, adhesion molecules, CD95 and eosinophilic cationic protein (ECP). *Immunol Lett.* 1999. 68: 317-323.
- Youn BS, Zhang SM, Lee EK, Park DN, Broxmeyer HE, Murphy PM, Locati M, Pease JE, Kim KK, Antol K, Kwon BS. Molecular cloning of leukotactin-1: a novel monocytes and lymphocytes, and a potent agonist at CC chemokine receptors 1 and 3. *J Immunol.* 1997. 159: 5201-5205.
-