

집먼지진드기(*Dermatophagoides farinae*)로 감작한 백서천식모델 개발

연세대학교 의과대학 내과학교실

이재현·이상원·신성재·박중원·홍천수

Animal Model of Asthma Using House Dust Mite (*Dermatophagoides farinae*) Sensitized Sprague-Dawley Rats

Jae-Hyun Lee, Sang-Won Lee, Sung Jae Shin, Jung Won Park and Chein-Soo Hong

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background: Animal models of human diseases have been used for research of pathophysiology of the diseases, development of new drugs or new therapeutic modalities in the medical field. In fact, there have been many experiments using animals to investigate the pathophysiology of asthma and allergy. Specific allergen sensitized animal models of asthma have been established mainly by using ovalumin. There are, however, only a few animal studies using house dust mites (HDM) which are the most common inhalant allergen in human atopic asthma.

Objective: This study aimed to establish an animal model of asthma using Sprague-Dawley (SD) rats with HDM sensitization.

Method: First, 100µg of HDM (*Dermatophagoides farinae*) crude extract was injected intraperitoneally on day 1 and day 3 with 1% aluminum hydroxide solution for allergen sensitization. In order to measure airway responsiveness, a single chamber plethysmography was used which was a non-invasive procedure. Two weeks after HDM sensitization, the inhaled allergen challenge test with an extract of HDM (*Dermatophagoides farinae*; 0.1% w/v in normal saline) was performed. Thereafter, the methacholine challenge test was performed three times before, one day and seven days after allergen challenge for the evaluation

of airway hyperresponsiveness. The rats were sacrificed for the histological examination of eosinophilic infiltrations in their airways and lung tissues.

Result: All of HDM sensitized 9 SD rats showed specific airway bronchoconstriction by an inhaled allergen challenge. The time to achieve 200% Penh increment was 13.4±12.8 minutes. In the methacholine challenge test, they showed that airway hyperresponsiveness was increased two-fold more on one day after the inhaled allergen challenge than before the challenge. It was, however, recovered one week after the inhaled allergen challenge. On a histological examination of lung tissues, eosinophilic infiltrations were noted in small airways including respiratory bronchioles, alveoli with mucus impactions and interstitial tissues among alveoli. There were no eosinophilic infiltrations at large airways.

Conclusion: An asthma animal model induced by HDM extract could be developed with SD rats which were sensitized with crude extracts of *Dermatophagoides farinae* by the intraperitoneal injection. This animal model of asthma is good to use for the studies of allergen related airway hyperresponsiveness. Furthermore it will be a helpful tool to explain the pathophysiology and investigate a new therapeutic modality of human asthma. (Korean J Asthma, Allergy Clin Immunol 2004;24:318-323)

Key words: Animal model, House dust mites

서 론

인간의 질병을 치료함에 있어 그 원인과 병태생리를 밝히

본 연구는 2003학년도 연세대학교 대학원 의학과 연구장학금 및 우수 장학금으로 이루어졌음.

책임저자 : 홍천수, 서울시 서대문구 신촌동 134

연세대학교 의과대학 내과학교실, 우: 120-752

Tel: 02) 361-5421, Fax: 02) 393-6884

E-mail: cshong@yumc.yonsei.ac.kr

접수: 2004년 7월 2일, 통과: 2004년 8월 4일

고 새로운 약제나 치료법을 개발하기 위하여 오래전부터 동물을 사용해 왔다. 이는 인간에게는 확립되지 않았거나 시행하기 어려운 방법도 동물을 사용하면 연구가 가능하기 때문이다.¹⁾ 기관지천식 및 알레르기분야에서도 동물을 이용한 많은 연구들이 시행되고 있으며, 최근 국내에서도 동물을 이용한 천식연구가 보편화되고 있다.²⁻⁸⁾

기관지천식은 여러 가지 유발인자에 대하여 기관지의 과민반응을 특징으로 하는 알레르기질환으로, 약물투여나 시간이 지남에 따라 소실되는 기도의 수축과, 병리학적으로 림프구, 호산구, 비만세포의 침윤을 동반하고 기도상피의

박탈과 비후를 보이는 만성 염증성 질환이다. 천식의 원인과 발병, 악화에 대한 병태생리의 연구를 인간을 대상으로 시행하는 데에는 한계가 있기 때문에 동물천식모델을 이용한 연구가 반드시 필요하다. 동물천식모델은 자연적으로 발생한 모델, 증상은 없으나 기도과민성이 존재하는 모델과 실험적으로 천식을 유발시킨 모델의 세 가지로 분류할 수 있다. 그러나 자연히 발생하는 모델은 발견하기 어렵기 때문에 실험적으로 유발시킨 천식모델을 연구에 사용하고 있다.

과거에 천식연구를 위해 사용했던 동물실험방법은 식도 내에 고무풍선을 넣거나 흉강 내에 도관을 삽입하여 흉강 내압을 측정하고, 공기의 유속을 측정하여 폐탄성, 폐저항 등을 구하는 침습적인 방법이었다.⁹⁾ 그러나 최근 많이 사용되고 있는 체적변동기록법(body plethysmography)을 이용한 기도저항 측정방법은 기관지로 직접 흡입된 기도자극제에 대한 기도저항의 측정이 가능하며, 실험동물의 희생 없이 반복적으로 측정할 수 있는 장점이 있다.¹⁰⁻¹³⁾

최근 시행되고 있는 국내의 연구동향을 보면 toluene diisocyanate (TDI) 등의 직업성 천식의 원인 화학물질을 이용하여 동물천식모델을 제작하고, 기도저항의 증가와 염증소견을 확인하며, 새로운 치료법을 모색하기 위한 연구가 진행되고 있다.^{7,8)} 그러나 특이항원에 의해 유도된 동물천식 모델은 난황(ovalbumin)을 이용한 방법이 대부분을 차지하고 있다. 특히 인간에서 외인성 천식의 가장 많은 원인으로 밝혀진 집먼지진드기(house dust mite, HDM)를 감작시켜 유도한 천식 모델은 별로 알려지지 않은 상태여서 더 많은 연구와 실험이 필요한 실정이다.

그리고 알레르기비염, 아토피피부염, 기관지천식 등 알레르기질환의 유병률이 근자에 급격히 증가하는 추세이며 천식에 의한 사망률도 세계적으로 증가하는 추세이다. 집먼지진드기로 인한 천식의 치료를 위해 최근에는 회피요법, 약물요법 등의 고식적인 방법 외에 새로운 약제를 이용한 면역조절이나 탈감작을 통한 면역치료의 개념들이 도입되어 임상에 응용되고 있다. 그러나 이러한 새로운 치료방법들을 환자에게 처음부터 적용하기에는 한계가 있기 때문에 효과와 안전성을 검증하기 위해서는 인간의 천식과 비슷한 병태생리를 보이는 동물모델을 이용한 실험이 반드시 필요하다.

이에 본 연구자는 Sprague-Dawley 백서에게 집먼지진드기를 감작시키고 2주 뒤에 항원기도유발시험을 시행하여 기도과민성이 유도되는 동물천식모델을 만들고자 하였다.

대상 및 방법

1. 실험동물 및 집먼지진드기 감작

Sprague-Dawley (SD) 백서 암컷 12마리(150~200 g)를 실험군 9마리와 대조군 3마리로 나누었다. 실험군에는 집먼지진드기(*Dermatophagoides farinae*) 조항원 100 μ g를 1% 수산화알루미늄(aluminum hydroxide) 용액에 용해시킨 후 그 용액 1 mL를 백서의 복강 내로 주사하여 감작시켰다. 대조군에는 1% 수산화알루미늄 용액 1 mL만을 복강 내로 주사하였다. 감작은 실험 제 1일과 제 3일, 총 2회를 시행하였다(Fig. 1).

2. 체적변동기록법을 이용한 기도저항의 측정

기도저항은 일실체적변동기록기(Single chamber body plethysmography; OCP-2000, All Medicus, Korea)를 사용하여 비침습적인 편의류(bias flow)로 환기하는 체적기록법과 비침습적인 폐기능 분석법을 이용하여 평가하였다. 실험동물의 기도폐쇄가 있을 때 최대호기량에 이르는 시간이 짧아지고 호기시 호흡과형의 굴곡성이 적어지는 특징적인 변화가 나타나는데, 이 변화는 기도폐쇄의 정도를 나타내는 enhanced pause (Penh)라는 지표로 표시될 수 있다. Penh는 한 주기의 호흡을 최대호기유량(peak expiratory flow, PEF)과 최대흡기유량(peak inspiratory flow, PIF)의 비와 전반기 호기량(former expiratory volume)에 비례하는 무차원의 수로 표시되며, 기도저항과 상관관계가 좋은 것으로 알려져 있다(Fig. 2).

3. 항원기도유발시험과 기도반응의 측정

집먼지진드기 감작 2주 후에 항원기도유발시험을 시행하였다(Fig. 1). 백서를 체적변동기록기에 넣은 후 10분 정도 호흡을 안정시키고, 생리식염수를 초음파연무기(Ultrasonic nebulizer; NE-U12, Omron, Japan)를 이용하여 1분간 흡입한 후 5분, 10분, 15분에 Penh를 측정하여 가장 높은 Penh를 기저치로 사용하였다. 그 다음 집먼지진드기 조항원(*Dermatophagoides farinae*; 0.1% w/v in normal saline)을 2분간 흡입시키고, 1시간 동안 5분 간격으로 Penh를 측정하였다. 대조군도 동일한 방법으로 항원을 흡입한 후 Penh를 측정하였다. Penh가 연속 2회 이상 기저치의 200% 이상으로 증가되어 있을 때를 의미있는 기관지수축이 일어나고 기도저항이 증가한 것으로 판정하였다.

4. Methacholine을 이용한 기도과민성의 측정

집먼지진드기에 감작된 실험군 백서에게 항원기도유발시험 1일 전, 항원기도유발시험 1일 후 및 1주일 후에 methacholine을 이용한 기도유발시험을 시행하여 기도과민

성의 변화를 측정하였다(Fig. 1). 먼저 생리식염수를 1분간 흡입시키고 기저 Penh를 측정한 다음, methacholine을 0.0625 mg/mL의 농도부터 지속적으로 2배씩 증가시켜 가면서 8 mg/mL의 농도까지 각 농도에 대하여 1분간 흡입한 다음 4분 뒤 Penh를 측정하였다. 기저 Penh를 기준으로 200% 이상 기도저항이 증가될 때의 methacholine농도를 PC_{200Penh} 이라 정의하였다. 측정된 PC_{200Penh}이 작을수록 기도과민성이 높은 것으로 판정하였다. 대조군도 같은 방법으로 실험하여 PC_{200Penh}를 측정하였다.

5. 폐조직내 호산구 수 측정

실험군 중 3마리는 항원기도유발시험 1일 후에, 다른 3마리는 항원기도유발시험 1주일 후에, 마지막 3마리는 2주일 후에 에테르로 마취하고 사망시켜 기관을 포함한 폐조직을 얻고 헤마톡실린-에오신 염색(hematoxylin & eosin stain, H&E stain)을 시행하여 광학현미경으로 검경하였다(Fig. 1). 배율 400배에서 조직내의 호산구 수를 각 시야당 수기로 측정하

고 호산구가 가장 많이 관찰된 두 시야의 호산구 수의 합을 백서의 폐조직내 호산구 수로 결정하였다. 대조군의 경우 항원기도유발시험 2주 후에 사망시켜 같은 방법으로 폐조직내 호산구 수를 측정하였다.

6. 통계적 분석

본 연구의 결과는 SPSS Windows V10.0을 사용하여 분석하였다. 항원기도유발시험에 의한 기도저항의 비교는 개체수가 작아 비모수적 검정인 Wilcoxon-signed rank test를 시행하여 비교하였으며, methacholine에 의한 기도과민성의 증감 여부는 Kruskal-Wallis test를 시행하여 각 methacholine의 농도에서 Penh의 차이를 비교하였고, 폐조직내 호산구 수의 변화는 Kruskal-Wallis test와 ANOVA를 이용하여 비교하였다.

결 과

1. 항원기도유발시험과 기도반응의 측정

항원기도유발시험상, 항원흡입 후 1시간 동안의 Penh 측정에서 대조군은 기도저항의 변화를 보이지 않았으나 실험군 백서 9마리에서는 모두 Penh가 기저치의 200% 이상으로 상승되고 그 상태가 유지되는 기도저항의 증가가 나타나 천식의 특징인 기도수축의 조기반응이 나타난 것으로 판정하였다. Penh가 기저치의 200%에 도달하는데 걸린 시간은 항원흡입 후 4분부터 35분까지 다양하게 나타났으며 그 평

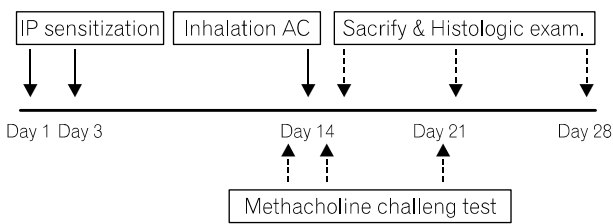


Fig. 1. Schema of experimental overview. House dust mite extract was injected intraperitoneally (IP) for allergen sensitizations at Day1 and 3. Inhaled allergen challenge (AC) test was done at Day14. Three times of serial methacholine challenge test were performed at Day13, 15 and 21. Finally Sprague-Dawley rats were sacrificed for histologic examination at Day 16, 22, 28.

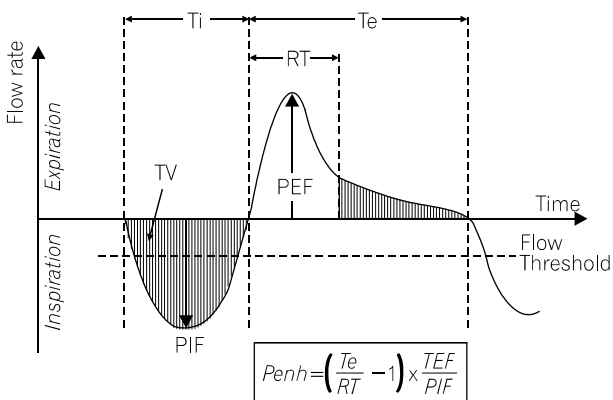


Fig. 2. Enhanced pause (Penh) and other parameters on animal body plethysmography; Te: expiration time, PIF: peak inspiratory flow, PEF: peak expiratory flow, RT: relaxation time.

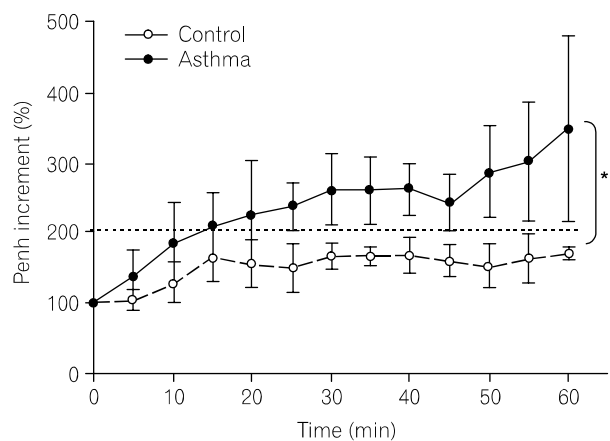


Fig. 3. Inhaled allergen challenge test at two weeks after house dust mite (HDM) sensitization. In HDM sensitized group (asthma) Penh was increased over 200% of baseline at 13 minutes after inhalation of *D. farinae* crude extract. Increased Penh was sustained and became more higher according to the time. There is the statistical difference between HDM sensitized group and control group (*P<0.05).

균은 13.4±12.8분이었다(Fig. 3).

2. Methacholine을 이용한 기도과민성의 측정

SD백서에 집먼지진드기를 감작하고 2주 후, 항원기도유발시험 1일 전에 실시한 methacholine 유발시험에서 대조군에서는 PC_{200Penh}가 측정되지 않았으나 실험군의 경우 9마리 모두에서 PC_{200Penh}가 측정되었으며 그 값은 5.33±2.07 mg/mL였다. 항원기도유발시험 1일 후에 시행한 methacholine 유발시험에서는 PC_{200Penh}가 2.56±0.82 mg/mL로 측정되었다. 항원기도유발시험 1주 후에 시행한 methacholine 유발시험에서는 PC_{200Penh}가 6.33±2.66 mg/mL로 측정되었다(Fig. 4). 본 연구에 사용한 methacholine의 농도가 2배씩 증가하므로 각 PC_{200Penh} 값에 log₂를 취하여 기하평균(geometric mean)을 비교한 결과 항원기도유발시험 전후에 기도저항이 약 2배 증가하였으며 1주 후에는 항원기도유발시험 이전 수준으로 회복되는 것을 관찰할 수 있었다(Table 1).

Table 1. Airway hyperresponsiveness according to time after inhaled allergen challenge test

	PC _{200Penh} (mg/mL)	Geographic mean (log ₂ PC _{200Penh})	P value
Pre allergen challenge	5.33±2.07	2.33±0.52	
Post allergen challenge 1 day	2.56±0.82	1.22±0.41	0.018*
Post allergen challenge 1 week	6.33±2.66	2.50±0.84	0.023 [†]

* = compared with pre allergen challenge; [†] = compared with post allergen challenge 1 day.

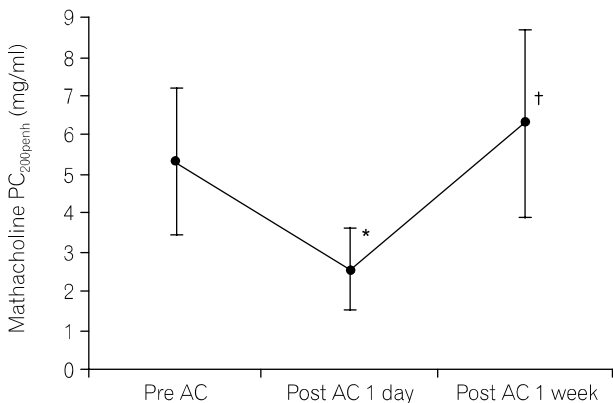


Fig. 4. Change of PC_{200Penh} according to the time after inhaled allergen challenge (AC). PC_{200Penh} decreased below half level at the first day after inhaled AC (*compared with Pre-AC, P=0.018) but after one week it was recovered at the level of pre-allergen challenge status ([†] compared with Post-AC 1 day, P=0.023).

3. 폐조직내 호산구 수 측정

대조군 백서의 폐조직에서 호산구는 거의 관찰되지 않았으나 실험군의 경우 항원기도유발시험 후 1일, 1주, 2주에 사망시킨 백서들의 폐조직에서는 전체에서 폐조직내 호산구 침윤이 관찰되었다. 관찰된 호산구 수는 항원유발시험 1일 후에는 24.7개, 1주 후에는 23.7개, 2주 후에는 29.0개였다(Fig. 5). 이들 값은 대조군에 비해서는 통계적으로 유의하

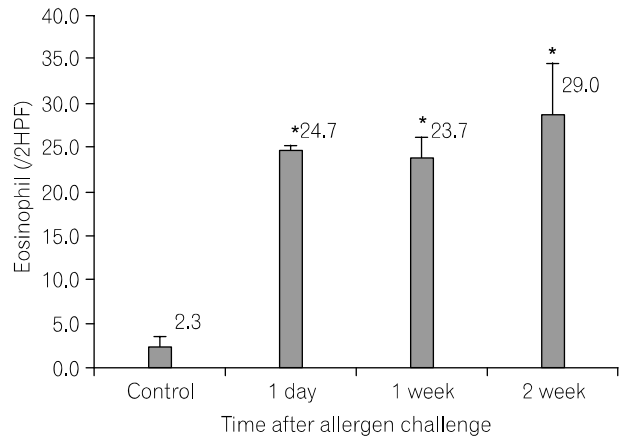


Fig. 5. Eosinophil counts in lung tissues of house dust mite sensitized Sprague-Dawley rats. Eosinophil counts in lung tissues were higher in experimental groups (1 day, 1 week, 2 weeks) than control group (*P<0.01), but there were no inter-group differences of eosinophil counts in lung tissues among experimental groups.

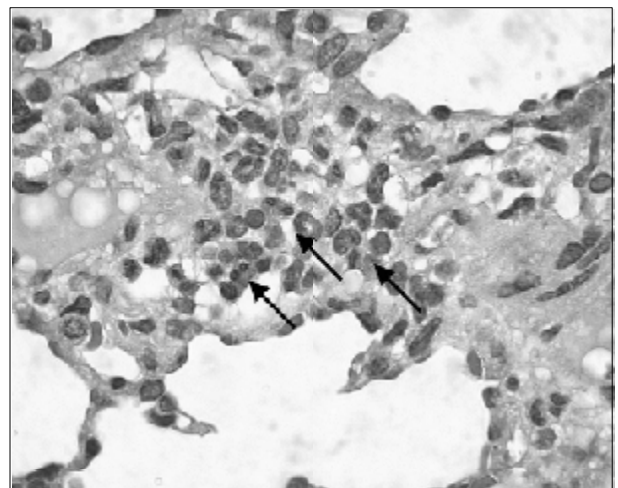


Fig. 6. Histological finding; lung tissues of house dust mite sensitized Sprague-Dawley rats. Many eosinophils are scattered in interstitial space of lung. In high power field examination, those are presented in respiratory bronchiole with mucus plaque (arrows) (1×1,000, H&E stain).

게 증가되어 있었으나($P < 0.01$) 각 시점 간의 호산구 수는 통계적으로 차이를 보이지 않았다. 이들 백서에서 호산구는 주로 기관, 기관지 등에서 관찰되어 대기도보다는 호흡세기관지(respiratory bronchiole) 이하의 소기도에 점액질과 함께 침윤되어 있었으며 일부는 기도과민성 사이 간질(interstitium)에 침윤되어 있었다(Fig. 6).

고 찰

기관지천식은 여러 가지 항원에 대해 가역적인 기관지수축과 기도의 과민반응을 일으키는 기도의 만성 염증성 질환이며,¹⁵⁾ 여러 가지 염증매개물질과 cytokine이 관여하는 것으로 알려져 있다.¹⁶⁾ 동물모델을 이용한 알레르기성 천식의 연구는 대부분 항원을 피하 또는 복강 내로 주사하여 감작 및 노출시키는 방법이 사용되고 있으며 최근에는 인간 천식의 병태생리학적 관점에서 기도를 통한 일차적인 항원감작방법도 사용되고 있다.^{11,14)} 감작에 주로 이용되는 알레르기성 항원은 난황(ovalbumin)과 *Ascaris suum* 등이 있으며, 면역보강제(adjuvant)로 aluminum hydroxide와 Bordetella pertussis toxin (BPT) 등이 주로 이용된다.^{11,14,17,18)} 그러나 인간에게서 외인성 천식의 가장 많은 원인은 집먼지진드기이나, 이를 사용한 천식 모델은 많이 알려지지 않은 상태로 최근 이에 대한 연구가 진행되고 있다.¹⁴⁾

본 연구에서 감작에 사용된 항원은 *Dermatophagoides farinae* 로 집먼지진드기 중의 하나이며, 면역보강제로는 수산화알루미늄을 이용하여 집먼지진드기 조항원을 복강 내 주사하는 방법으로 감작시켰고 같은 항원을 흡입시켜 기도과민성을 확인하였다.

천식은 기도자극에 대한 가역적인 기도수축을 특징으로 하는 질환으로 동물천식모델에서도 기도저항을 포함한 폐기능을 측정하여 천식의 발생여부를 판단할 수 있다. 실험동물의 폐기능을 측정하는 방법으로 최근에 많이 사용하는 체적변동기록법을 이용한 기도저항의 측정방법은 비교적 간단한 방법으로 직접 기관지로 흡입된 자극제에 대한 기도저항을 측정할 수 있으며, 실험동물을 희생시키지 않고 반복적으로 기도저항을 측정할 수 있어 동물천식모델 연구에 널리 사용되고 있다. 또한 이렇게 측정된 기도저항은 기존의 침습적인 방법을 사용하여 측정된 것과 좋은 상관관계가 있음이 보고된 바 있다.⁹⁾ Hamelmann 등은 실험동물로부터 측정된 Penh의 변화는 methacholine에 대한 흉막강 내 압이나 폐저항의 변화와 관련이 깊고, 이러한 Penh 변화의 원인은 기도의 수축이라고 밝혔다.¹⁰⁾ 또한 Penh로 측정된 기도과민성은 혈청 IgE, 호산구의 폐침윤 등과 연관성이 있다는 보고가 있어 기도저항과 기도과민성의 평가에 있어

유용한 지표로 생각된다. Singh 등¹⁴⁾의 실험에서 SD 백서는 기도의 알레르겐에 의한 즉시형 기관지수축을 평가하는데 유용한 동물이었으며 감작 방법에 따라 다소 차이가 있기는 하나 본 연구에서도 항원의 기도 내 흡입 후 약 13분부터 기도저항이 기저치의 200% 이상으로 증가하여 측정 종료시까지 증가된 상태로 지속되어, 즉시형 기관지 수축반응이 유발된 SD 백서 천식모델이 형성되었다. 조기반응의 중요한 매개체로는 H₁ 수용체에 대한 히스타민의 작용이 가장 중요한 기전으로 생각되며 본 연구의 결과 실험군 백서 모두에서 집먼지진드기 항원에 대한 즉시형 기도반응이 일어난 것으로 보아 SD 백서가 즉시형 기도반응과 비만세포의 연구에 유용하게 사용될 수 있으리라 생각된다.⁹⁾

나 등¹⁹⁾은 난황을 사용한 기관지천식 모델에서 기도를 통한 천식 유발 전후에 methacholine에 대한 기관지 과민성의 증가가 없다고 보고한 바 있으나 본 연구에서는 항원기도유발시험 전과 1일 후 및 1주일 후의 PC_{200Penh}의 측정 결과 항원기도유발시험 전에 비해 1일 후에는 2배 정도 기도과민성이 증가하는 것을 알 수 있었고 1주일 뒤에는 항원유발시험 이전 수준으로 회복됨을 관찰할 수 있었다. 나 등⁵⁾은 SD백서 난황천식모델의 경우 기도 내에 호산구 침윤의 정도와 기도의 조기반응과는 연관성이 없다고 보고한 바 있다. 본 연구에서는 항원기도유발시험 후 1일, 1주, 2주 후에 사망시킨 백서들에서 호산구의 폐조직내 침윤을 관찰할 수 있었으나 천식 유발 후 시간 경과에 따른 호산구 수는 통계적으로 차이를 보이지 않았다. 따라서 기도과민성의 가역적인 변화와 폐조직내의 호산구 침윤 정도는 관계가 없을 것으로 생각되며 폐조직 검사상 호산구 염증이 2주간 지속되었던 것으로 보아 항원 감작 후 1회 항원기도유발로도 호산구성 기도내 염증이 상당 기간 지속되는 것으로 생각된다.

본 연구를 통해서 연구자는 집먼지진드기 조항원을 복강 내로 감작시키고 2주 뒤 항원을 흡입시킨 SD 백서 기관지천식모델을 유도하였다. 본 모델은 항원기도유발시험을 통한 즉시형 기도수축반응을 보였으며 항원기도유발시험을 통하여 기도과민성이 증가됨을 관찰하였다. 또한 천식이 유발된 백서의 소기도와 폐간질에서 호산구의 침윤을 관찰할 수 있었다. 집먼지진드기로 감작한 SD 백서는 항원에 의한 기도반응과 기도과민성을 연구하는데 좋은 동물천식모델로 생각되나 지연형 기도반응과 폐조직내의 염증과 호산구 침윤 등에 대해서는 기관지폐포세척술을 통한 싸이토카인의 측정, 호산구, 림프구 측정 등 더 많은 연구가 필요할 것으로 생각한다. 그리고 사람의 천식과는 달리 항원 감작이 복강을 통해 이루어져 사람에서의 천식을 설명하는 데에는 한계가 있을 것으로 생각한다. 이 점을 극복하기 위해

서는 일차적으로 항원을 기도를 통해 감작시킨 모델에 대한 추가적인 연구도 필요할 것으로 생각한다.

결 론

집먼지진드기(*D. farinae*)를 복강 내로 감작한 Sprague-Dawley (SD) 백서에서 특이항원에 의한 즉시형 기도수축반응을 보이는 천식모델이 유도되었다. 항원기도유발에 의한 기도과민성이 2배로 증가하였으며 1주일 경과 후 항원기도유발 이전 수준으로 회복되었다. 천식이 유발된 SD 백서의 폐조직 검사에서 소기도와 간질을 중심으로 호산구 침윤이 관찰되었다.

참 고 문 헌

- 1) Choi BW. Animal models of asthma. *J Asthma Clin Immunol* 1999;19:16-8
- 2) Kim JH, Shim JJ, Lee SY, Kwon YH, Lee SR, Lee SY, et al. Early bronchoconstriction after allergen challenge of nonanesthetized guinea pigs. *Tuberculosis Respir Dis* 1998;45:99-106
- 3) Lee SS, Choi IS, Park SC, Jang AS, Kang KW, Lee MK, et al. Ozone-induced airway hyperresponsiveness of rat tracheal smooth muscle. *J Asthma Clin Immunol* 1999;19:19-30
- 4) Lee SY, Song JS. Effect of interleukin-12 on airway inflammation in mouse model of bronchial asthma. *J Asthma Clin Immunol* 1999;19:79-90
- 5) Na MJ, Lee BH, An CH, Kim JY, Park IW, Choi BW, et al. Airway inflammation and responses in the bronchial asthma model in Sprague-Dawley rats sensitized by ovalbumin. *Tuberculosis Respir Dis* 2000;48:33-44
- 6) Kang YJ, Park YB, Jee HS, Choi JC, Kim JY, Park IW, et al. The effect of surfactant therapy for acute lung injury induced by intratracheal endotoxin instillation in rats. *Tuberculosis Respir Dis* 2000;48:487-99
- 7) Lee YC, Kwak YG, Song CH. Contribution of vascular endothelial growth factor to airway hyperresponsiveness and inflammation in a murine model of toluene diisocyanate-induced asthma. *J Immunol* 2002;168:3595-600
- 8) Lee YC, Song CH, Lee HB, Oh JL, Rhee YK, Park HS, et al. A murine model of toluene diisocyanate-induced asthma can be treated with matrix metalloproteinase inhibitor. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:1021-6
- 9) Pennock BE, Cox CP, Rogers RM, Cain WA, Wells JH. A noninvasive technique for measurement of changes in specific airway resistance. *J Appl Physiol* 1979;46:399-406
- 10) Hamelmann E, Schwarze J, Takeda K, Oshiba A, Larsen GL, Irvin CG, et al. Noninvasive measurement of airway responsiveness in allergic mice using barometric plethysmography. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:766-75
- 11) Hutson PA, Church MK, Clay TP, Miller P, Holgate ST. Early and late-phase bronchoconstriction after allergen challenge of nonanesthetized guinea pigs I. The association of disorderd airway physiology to leukocyte infiltration. *Am Rev Respir Dis* 1998; 137:548-57
- 12) Johanson WG Jr, Pierce AK. A noninvasive technique for measurement of airway conductance in small animals. *J Appl Physiol* 1971;30:146-50
- 13) Agrawal KP. Specific airways conductance in guinea pigs: normal values and histamine induced fall. *Respir Physiol* 1981;43:23-30
- 14) Singh P, Daniels M, Winsett DW, Richards J, Doerfler D, Hatch G, et al. Phenotypic comparison of allergic airway responses to house dust mite in three rat strains. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003;284:L588-98
- 15) Murray JF, Nadel JA. Asthma, In Woolcock AJ(ed): Textbook of respiratory medicine. 2nd ed. p 1289, Saunders., Philadelphia, 1994
- 16) Haczku A, Chung KF, Sun J, Barnes PJ, Kay AB, Moqbel R. Airway hyperresponsiveness, elevation of serum-specific IgE and activation of T cells following allergen exposure in sensitized Brown-Norway rats. *Immunol* 1995;85:598-603
- 17) Pretolani M, Lefort J, Vargaftig BB. Active immunization induces lung hyperresponsiveness in the guinea pig: Pharmacologic modulation and trigering role of the booster injection. *Am Rev Respir Dis* 1988;138:1572-8
- 18) Stotland LM, Share NN. Active bronchial anaphylaxis in the rat. *Can J Physiol Pharmacol* 1974;52:1114-8
- 19) Na MJ, An CH, Lee BH, Kim JY, Park IW, Choi BW, et al. Effects of antigen challenge on the airway response by methacholine in the bronchial asthma model in Sprague-Dawley rats. *Korean J Asthma, Allergy Clin Immunol* 1999;19(Suppl.1):392A