

Czynność mięśni gładkich oskrzeli w astmie

Airway smooth muscle function in asthma *

A.J. KNOX, L. PANG, S. JOHNSON, A. HAMAD

Department of Respiratory Medicine, Clinical Sciences Building, City Hospital, Nottingham, UK

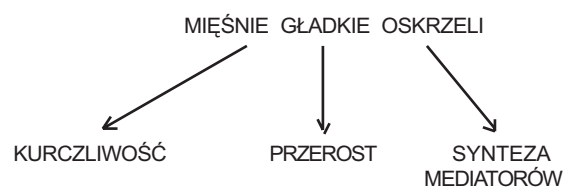
Alergia Astma Immunologia, 2000, 5(3), 175-182

Wprowadzenie

Tradycyjnie mięśniówka gładka oskrzeli w astmie jest uważana za bierny czynnik reakcji zapalnej, który w odpowiedzi na mediatory pro-zapalne i neurotransmitery reaguje skurczem, a w odpowiedzi na endo- i egzogenne czynniki zwiotczające – rozkurczem [1]. Początkowo, badania nad czynnością mięśni gładkich dróg oddechowych koncentrowały się na ich kurczliwości celem wyjaśnienia nadreaktywności oskrzeli, jednej z cech charakterystycznych astmy oskrzelowej, polegającej na nadmiernej odpowiedzi oskrzeli na liczne czynniki o różnym mechanizmie działania [1,2]. Celem szeregu badań było wyjaśnienie, czy przyczyną nadreaktywności oskrzeli nie są zmiany właściwości samych mięśni gładkich. Uzyskane wyniki nie pozwoliły na jednoznaczne potwierdzenie zaburzeń kurczliwości mięśni gładkich dróg oddechowych, jednakże badania przeprowadzone na zwierzęcym modelu astmy oskrzelowej oraz badania tkanki mięśniowej oskrzeli, pobranej od pacjentów z astmą, sugerowały upośledzenie ich rozkurczu. W przebiegu astmy w oskrzelach dochodzi do szeregu zmian morfologicznych, które mogą leżeć u podłoża powstania ich nadreaktywności [3,4]. Zmiany grubości warstwy mięśni gładkich oskrzeli mogą być w tym aspekcie szczególnie istotne. Badania przeprowadzone ostatnio ukierunkowano na ocenę syntezy mediatorów w mięśniach gładkich oskrzeli, które są bogatym źródłem wielu cytokin, chemokin i mediatorów zapalenia, modulującego przebieg astmy oskrzelowej [5]. W pracy przedstawiona jest aktualna wiedza dotycząca znaczenia w astmie właściwości kurczliwych i proliferacji oraz syntezy mediatorów przez mięśnie gładkie oskrzeli (ryc. 1).

Skurcz oskrzeli

Charakterystyczną cechą astmy jest nieswoista nadreaktywność oskrzeli w odpowiedzi na szereg bodźców pośrednich i bezpośrednich [1, 2]. Wiele grup badawczych dążyło do wyjaśnienia kwestii czy zmiany w samych mię-



Ryc. 1 Funkcje mięśni gładkich oskrzeli w astmie

śniach gładkich dróg oddechowych nie są przyczyną zaburzeń ich kurczliwości. Mimo dużej liczby przeprowadzonych badań, tylko w kilku oceniano pacjentów z udokumentowaną astmą oskrzelową, a liczba badanych była zwykle niewielka. Starano się również wykazać zależność między nadreaktywnością na czynniki prozapalne takie, jak: histamina [6,7], metacholina [8,9], LTD₄ [10] czy adenozyina [11] u pacjentów *in vivo* a kurczliwością wywołaną przez te czynniki w izolowanych fragmentach oskrzeli *in vitro* (*organ bath*). Badania te przeprowadzano na fragmentach oskrzeli pobranych podczas chirurgicznego usuwania płata płucnego lub całego płuca z powodu odoskrzelowego raka płuca. Wyniki tych badań były dość zgodne i nie wykazały zależności między ich kurczliwością *in vivo* i napięciem generowanym *in vitro*. Należy jednak zachować ostrożność przy ekstrapolowaniu tych danych na czynność mięśni gładkich oskrzeli u chorych z astmą. Reaktywność oskrzeli w odpowiedzi na prowokację czynnikami kurczącymi oskrzela *in vivo* u pacjentów po resekcji płuca z powodu raka może zależeć od wielu czynników. Zmiany kurczliwości mięśni gładkich oskrzeli mogą zaburzać lub maskować takie czynniki powodowane przez proces nowotworowy, jak: zaburzona geometria dróg oddechowych, obecność cech przewlekłej obturacyjnej choroby płuca (POChP) i zmieniona depozycja aerozoli. Jest również prawdopodobne, że część mediatorów zapalenia i cytokin, odpowiedzialnych za wystąpienie nadreaktywności *in vivo*, może ulegać zniszczeniu, zanim tkanki zostaną poddane badaniom *in vitro*.

* Opublikowano w *Clinical and Experimental Allergy*, 2000; 30: 606-614 i przedrukowano za pozwoleniem i dzięki uprzejmości Blackwell Science Ltd.

* Reprinted from *Clinical and Experimental Allergy*, 2000; 30: 606-614 with kind permission of Blackwell Science Ltd.

Z tego powodu brak korelacji pomiędzy wynikami uzyskanymi w warunkach *in vivo* i *in vitro* jest mniej zaskakujący.

W kilku badaniach oceniano mięśniówkę gładką dróg oddechowych, pochodzącą wyłącznie od pacjentów z astmą oskrzelową [12-14]. Jednakże tylko w pojedynczych doniesieniach, u pacjentów z astmą oskrzelową obserwowano wzrost kurczliwości mięśni gładkich dróg oddechowych lub ich wrażliwości na spazmogeny w warunkach *in vitro*. Do powstania nadreaktywności mięśniówki gładkiej oskrzeli dochodzi najprawdopodobniej w wyniku działania cytokin, uwalnianych w przebiegu reakcji zapalnej, takich, jak: czynnik martwicy nowotworów α (TNF- α) i interleukiny 1 β (IL-1 β). Badania przeprowadzone na hodowlach tkankowych mięśni gładkich dróg oddechowych wskazują, że cytokiny mogą zwiększać odpowiedź zależną od poziomu wapnia wewnątrzkomórkowego, gdy komórki są aktywowane przez takie spazmogeny, jak: karbachol, bradykinina czy trombina [15-17]. Ostatnio wykazano, że wzmoczenie transdukcji sygnału po leczeniu TNF- α może być spowodowane wzrostem ekspresji $G_{q\alpha}$, a w rezultacie wzrostem syntezy fosfatazy inozytolu [18]. Zgodnie z powyższym, dooskrzelowe podawanie pacjentom z astmą TNF- α może indukować powstawanie nadreaktywności oskrzeli *in vivo*. [19].

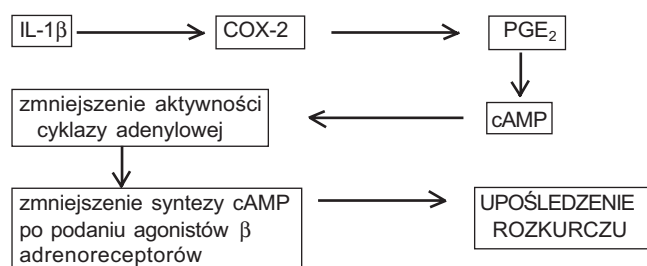
Rozkurcz oskrzeli

Jakkolwiek zaburzenia kurczliwości mięśni gładkich dróg oddechowych w przebiegu astmy oskrzelowej są słabo udokumentowane, to jednak nie budzi wątpliwości istnienie zaburzeń mechanizmów relaksacyjnych związanych z aktywacją receptora adrenergicznego β_2 (AR β_2). W warunkach *in vitro*, w hodowlach mięśni gładkich dróg oddechowych pobranych od chorych zmarłych z powodu zaostrzenia astmy oskrzelowej [13,20], od chorych z astmą o stabilnym przebiegu, poddanych zabiegowi usunięcia płata płucnego [12] oraz na modelu zwierzęcym astmy [21,22] wykazano upośledzenie rozkurczu po podaniu agonistów receptorów β_2 -adrenergicznych. Osłabienie zależnego od β_2 receptorów adrenergicznych rozkurczu mięśniówki gładkiej oskrzeli w astmie nie jest związane ze zmniejszeniem gęstości receptorów czy ich powinowactwa [23,24], co sugeruje, że istnieje zaburzenie sprzężenia między β_2 adrenoreceptorami mięśni gładkich oskrzeli a cyklazą adenylową.

Badania oceniające mechanizmy działania mięśni gładkich dróg oddechowych, prowadzone na modelu zwierzęcym astmy, wskazują na udział uwalnianych w przebiegu reakcji zapalnej cytokin, szczególnie IL-1 β . Po uczuleniu mięśni surowicą pobraną od osobników atopowych obserwowano w mięśniach oskrzeli królików zmniejszenie wrażliwości rozkurczowej na izoprenalinę i prostaglandynę E_2 [25]. Odpowiedź na forskolinę, bezpośrednio zależna od cyklazy adenylowej, była niezmienną, sugerując lokalizację defektu powodującego zaburzenia relak-

sacji w miejscach bliskich cyklazie adenylowej. Osłabienie rozkurczu mięśni w odpowiedzi na działanie agonistów receptora adrenergicznego β_2 i PGE $_2$ było hamowane agonistami receptora muskarynowego M $_2$, takimi jak: methokramina, gallamina i toksyna krztuścowa, wskazując na udział czynnika G_i , hamującego białka G – związanego z cyklazą adenylową. Badanie techniką Western blot potwierdziło wzrost ekspresji podjednostek $G_{i\alpha 2}$ i $G_{i\alpha 3}$ [26]. Wpływ surowicy pochodzącej od osobników atopowych był częściowo uzależniony od IL-1 β , ponieważ osłabienie rozkurczu w odpowiedzi na surowicę mogło być hamowane przez antagonistę IL-1 lub przeciwciała neutralizujące IL-1 β . Zgodnie z tym, zwiększenie uwalniania IL-1 β było obserwowane po podaniu surowicy pochodzącej od chorych na astmę atopową [27]. Powyższe obserwacje zostały powtórzone na nieuszkodzonych tkankach zwierzęcych. Badania przeprowadzone na mięśniach gładkich oskrzeli świnek morskich i szczurów wykazały upośledzenie ich odpowiedzi rozkurczowej na agonistę receptora β_2 po leczeniu IL-1 β [30]. Podobny efekt na medioną za pomocą β_2 adrenoreceptora syntezę cAMP w mięśniach gładkich oskrzeli miało podanie TNF- α u królików, jakkolwiek nie obserwowano efektu na podjednostkę G_i [31]. Ostatnie badania nad wpływem TNF- α na mięśnie gładkie oskrzeli człowieka w hodowlach tkankowych wykazały wzrost ekspresji podjednostki G_i [18], sugerując istnienie różnic międzygatunkowych.

Wyniki przedstawionych powyżej badań sugerują, że zarówno u pacjentów z astmą oskrzelową, jak i w zwierzęcym modelu astmy, odpowiedź zależna od aktywacji receptorów adrenergicznych β_2 jest upośledzona, a efekt ten jest częściowo wywołany przez IL-1 β . Ostatnio rozszerzyliśmy zakres badań o ocenę mechanizmów zachodzących w hodowlach tkankowych mięśni gładkich dróg oddechowych człowieka [32, 33]. Ponieważ rozkurcz wywoływany poprzez aktywację receptorów adrenergicznych β_2 przebiega głównie na drodze uwalniania cyklicznego AMP, ocenialiśmy wpływ IL-1 β na wytwarzanie cAMP w odpowiedzi na izoprenalinę (ISO). Wykazaliśmy, że IL-1 β , lecz nie TNF- α czy interferon INF- γ , upośledza wytwarzanie cAMP w odpowiedzi na izoprenalinę. Zaskoczyło nas wyraźne podobieństwo tych wyników z prowadzonymi równoległe badaniami nad ekspresją cyklooksygenazy w komórkach mięśni gładkich oskrzeli człowieka. Cyklooksygenaza jest kluczowym enzymem biorącym udział w syntezie prostaglandyn i występuje w dwóch formach: jako konstytutywna (COX-1) i indukowalna (COX-2). Wcześniej wykazaliśmy, że IL-1 β , a nie TNF- α czy INF- γ , indukuje COX-2 w komórkach mięśni gładkich dróg oddechowych człowieka [34]. Ponieważ indukcja COX-2 była związana ze znaczącym wzrostem PGE $_2$ i PGI $_2$, a obydwie te czynniki są połączone z cyklazą adenylową i tym samym z poziomem cAMP wewnątrz komórek, uważamy, że wzrost poziomu PGE $_2$ i PGI $_2$ może powodować heterologiczne zmniejszenie aktywności cyklazy adenylowej („*desensitization*”),



Ryc. 2 Mechanizm upośledzania aktywności cyklazy adenylowej przez cytokiny

upośledzając wytwarzanie cyklicznego cAMP w odpowiedzi na pobudzenie receptorów adrenergicznych β_2 (ryc. 2). Nasze badania, wykorzystujące inhibitory COX-2 i inhibitory reakcji transkrypcji i translacji COX-2, potwierdzają występowanie tego mechanizmu. Podobne wyniki zostały równolegle opublikowane przez Shora i wsp. [35], którzy dodatkowo do oceny kurczliwości komórek stosowali kryterium ich sztywności, wykazując, że zmiany cAMP są związane z zaburzeniami sztywności komórek. Sugeruje to, że zależne od aktywacji receptorów adrenergicznych β_2 upośledzenie rozkurczu mięśni gładkich oskrzeli w astmie jest, przynajmniej częściowo, związane z indukcją COX-2 mediowaną przez cytokiny (IL-2 β). Ostatnio wykazaliśmy, że w przebiegu astmy oskrzelowej bradykinina – mediator reakcji zapalnej – może powodować podobne upośledzenie, zależnej od aktywacji receptorów adrenergicznych β_2 , produkcji cAMP poprzez generowanie prostanoidów na ścieżce COX-1 i COX-2 [33,36]. Jakkolwiek w warunkach *in vitro* istnieją nieodparte dowody sugerujące, że zależny od aktywacji receptorów adrenergicznych β_2 rozkurcz mięśni gładkich oskrzeli pobranych od pacjentów z astmą oskrzelową jest upośledzony, *in vivo* nie jest jasne jak istotny jest ten mechanizm. Wydaje się mało prawdopodobne, aby odgrywał on zasadniczą rolę w umiarkowanej astmie, jednakże może mieć duże znaczenie w przewlekłej, ciężkiej astmie oskrzelowej o przebiegu lub ostrej astmie, w których to stanach często obserwowane jest osłabienie odpowiedzi dróg oddechowych na leki rozszerzające oskrzela.

Przebudowa (*remodelling*)

W wielu badaniach autopsyjnych chorych na astmę oskrzelową wykazano pogrubienie warstwy tkanki mięśniowej gładkiej oskrzeli [37-42]. Badania te sugerują, że liczba komórek mięśni gładkich jest 2-3 razy większa w porównaniu z mięśniówką dróg oddechowych osób zdrowych. Morfometryczne badania histopatologiczne wskazują na obecność dwóch różnych podtypów pacjentów z astmą oskrzelową, pierwszego, charakteryzującego się znacznym rozplemieniem komórek mięśni gładkich z nieznacznym ich przerostem, ze zmianami ograniczonymi do dużych dróg oddechowych, i drugiego, w którym pogrubienie mięśniówki jest widoczne w całym drzewie oskrzelo-

wym, z dominującą hipertrofią, a mniejszą komponentą hyperplastyczną [41]. Związek każdego z tych podtypów z przebiegiem klinicznym astmy pozostaje niejasny. Uważa się, że pogrubienie warstwy mięśni gładkich przyczynia się do zwężenia światła dróg oddechowych i powstania nadreaktywności oskrzeli, poprzez zmianę geometrii dróg oddechowych oraz skrócenie odpowiedzi pogrubiałych mięśni gładkich na działanie czynników zwężających oskrzela [3,43].

Większość badań oceniających proliferację mięśni gładkich dróg oddechowych została przeprowadzona na hodowlach komórkowych [44, 45]. Zidentyfikowano wiele czynników wzrostu w tkankach pobranych od różnych gatunków zwierząt (tabela I). W odniesieniu do komórek mięśni gładkich dróg oddechowych człowieka właściwości mitogenne wykazują: płytkopochodny czynnik wzrostu [52], czynnik wzrostu fibroblastów [52], naskórkowy czynnik wzrostu [47,48], histamina [58] i trombina [17,48]. Substancje takie, jak endotelina-1 [47,60] i LTD₄ [66], same nie będąc mitogenami wzmacniają odpowiedź komórek na inne mitogeny. Czynniki wzrostu można z grubsza podzielić na: czynniki wytwarzane przez komórki zapalne, których prawdopodobieństwo kontaktu z mięśniami gładkimi w zmienionych zapalnie drogach oddechowych w astmie jest zwiększona, czynniki krwiopochodne, które prawdopodobnie mają możliwość zwiększonego napływu do mięśni gładkich oskrzeli z powodu zwiększonej przepuszczalności naczyń, czynniki produkowane przez komórki strukturalne (mięśniowe) dróg oddechowych, modyfikujące proces na drodze para lub autokrynej. Pomimo, że w warunkach *in vitro*, w hodowlach tkankowych mięśni dróg oddechowych, zidentyfikowano wiele różnych substancji mitogennych, to nadal pozostaje niejasne, które z nich są najistotniejsze w przebiegu astmy oskrzelowej u ludzi, w warunkach *in vivo*.

Zahamowanie ścieżki transdukcji sygnału związanej z procesem proliferacji może stanowić punkt wyjścia w poszukiwaniu nowych metod leczenia. Ze względu na ogromną różnorodność dróg przenoszenia sygnału w przebiegu procesu proliferacji, dokładne ich omówienie przekracza ramy tego artykułu i zostało opisane w innej pracy [75]. W procesy te jest włączona kaskada enzymu kinazy tyrozynowej, związana z typowymi czynnikami wzrostu takimi, jak: płytkopochodny czynnik wzrostu, czynnik wzrostu fibroblastów, naskórkowy czynnik wzrostu i insulinopodobny czynnik wzrostu. Za szczególnie istotne są uważane kinazy ERKs (*extracellular signal regulated kinases*). Są one wewnątrzkomórkowymi kinazami serynowo-treoninowymi, z rodziny kinaz białkowych aktywowanych przez mitogeny (*MAPK – mitogen activated protein kinase*), które przenoszą sygnał pobudzenia namnażania do jądra komórkowego [75]. Aktywatorami ERKs w mięśniówce gładkiej dróg oddechowych była są: płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF), naskórkowy czynnik wzrostu (EGF), insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF)-1

Tabela I. Czynniki promujące podziały komórkowe w obrębie mięśniówki gładkiej dróg oddechowych

Czynniki	Pochodzenie	Gatunek	Cytowanie
Czynniki wzrostu/cytokiny:			
EGF	P	człowiek	47, 48
	Ep	wół	49
bFGF	ECM, M0,	wół	50
	SCM, Ep	człowiek	48, 51
PDGF	P, M0, SCM, Ep	królik	52
		człowiek	52
		wół	53
IGF-1	P, M0, SCM, Ep	wół	50
		królik	54
IL-1 β	T, M0, SCM, Ep	świnka morska	55
IL-6	T, M0, SCM, Ep	świnka morska	55
Trombina	P1	człowiek	17, 48
		szczur	56
TGF- β 1	T, M0, SCM, P, Ep	wół	49
Mediatory zapalenia:			
Histamina	M	pies	57
		człowiek	58
Endotelina-1	P1, M0, P, Ep	szczur	56
		królik	59
		człowiek	47, 60
		wół	61
		białko jaja kurzego	62
Serotonina	P, P1	wół	63
Substancja P	tkanka nerwowa,	królik	64
LTD4	Ep	królik	65
		człowiek	66
Tromboksan A2		królik	65
Enzymy:			
Tryptaza	M	pies	67
B-heksoaminidaza	M	wół	68
Hydrolaza lizosomalna	M	pies	69
Inne:			
Agoniści receptorów B adrenergicznych		królik	70
Rozciąganie mechaniczne	pies	71-73	
Kwasy lisofosfatydowe	człowiek	74	

EGF- naskórkowy czynnik wzrostu, bFGF- zasadowy czynnik wzrostu fibroblastów, PDGF- płytkopochodny czynnik wzrostu, IGF-1- insulinopodobny czynnik wzrostu 1, IL- interleukina, TGF- β 1- transformujący czynnik wzrostu - β 1, M- komórki tuczne, P- płytki krwi, M0-makrofagi /monocyty, Ep- komórki nabłonkowe, P1- osocze, SMC- komórki mięśni gładkich, ECM- macierz zewnątrzkomórkowa, T- limfocyty T

i 5-HT [76], a w mięśniówce gładkiej dróg oddechowych szczura – trombina [56] i endotelina (ET)-1 [56,57]. Badania na zmutowanych komórkach (*dominant negative mutants*) wskazują, że zahamowanie MEK-1, czynnika niezbędnego do aktywacji ERKs, hamuje syntezę DNA w mięśniówce gładkiej dróg oddechowych wołu, indukowaną przez płytkopochodny czynnik wzrostu [78]. Kinaza PI₃ – heterochimeryczna kinaza lipidowa, może być również zaangażowana w proces proliferacji poprzez aktywację kinazy B (PKB), prokinazy i p70 kinazy rybosomalnej S6. Kinaza PI₃ w mięśniach gładkich dróg oddechowych człowieka jest aktywowana przez naskórkowy czynnik wzrostu [79], a w mięśniówce w dróg oddechowych wołu przez płytkopochodny czynnik wzrostu [53] i

trombinę [80]. W przebiegu procesu proliferacji mięśni gładkich dróg oddechowych istotną rolę może także odgrywać kinaza białkowa C (PKC). Do jej aktywacji może dochodzić poprzez fosfolipazy PLC, PLA₂ i PLD, a jej aktywna postać może być przemieszczana do jądra komórkowego, gdzie może brać udział w fosforylacji czynników transkrypcyjnych oraz regulacji ekspresji genów i podziałów komórkowych [81]. Kinaza białkowa C występuje w trzech postaciach: zależnej i niezależnej od poziomu wapnia oraz w postaci atypowej [81]. Badania mięśniówki gładkiej dróg oddechowych królików wskazują, że inhibitory PKC mogą hamować proliferację [82], a najnowsze badania, przeprowadzone na ludzkich tkankach sugerują, że forma atypowa PKC- ξ może, wraz z płytko-

pochodnym czynnikiem wzrostu, indukować proliferację komórek mięśni gładkich oskrzeli [83].

Czynniki wiążące się z receptorami związanymi z mechanizmami hamującymi proliferację mogą także odgrywać rolę leczniczą. Wzrost poziomu cAMP przez czynniki wiążące się z receptorami dla cyklazy adenylowej takie, jak: agoniści receptorów adrenergicznych β_2 [47,84], wazoaktywny czynnik jelitowy [58] i prostaglandyna E_2 [85] hamuje proliferację. Efekt działania agonistów receptorów adrenergicznych β_2 może ulec wzmocnieniu przez inhibitory fosfodiesterazy, które chronią cAMP przed rozpadem; właściwości przeciwproliferacyjne mogą mieć także selektywne dla cAMP inhibitory PDE typu III [86]. Mechanizm hamowania związany z poziomem cAMP ma charakter złożony i może być związany także z zahamowaniem aktywności Raf-1 [75], kinazy PI_3 [80], PKC- ξ [83], czy ekspresją cyklicznej proteiny D [87]. W stosunku do wielu innych czynników takich, jak: kortykosteroidy [48, 84], heparyna [88], TGF- β_1 [49, 89], interleukina 4 [51] i dehydroepiandrosteron [90] wykazano działanie antyproliferacyjne, jakkolwiek większość z nich jest tylko częściowo efektywna lub prowadzi do preferencyjnego zahamowania odpowiedzi tylko na określone mitogeny. Inny, potencjalnie proliferacyjny mechanizm związany jest ze wzrostem poziomu cGMP, następującym w wyniku zastosowania donorów NO lub peptydu natriuretycznego [91].

Mięśniówka gładka dróg oddechowych sama także może być źródłem endogennych czynników hamujących proliferację. Zahamowanie proliferacji może być powodowane przez PGE_2 produkowaną endogennie poprzez fosfolipazę A_2 i konstytutywną COX-1 lub przez indukowaną COX-2 [91, 92]. Może to tłumaczyć dlaczego niektóre cytokiny takie, jak: interleukina β_1 , która indukuje COX-2, mają działanie mitogenne jedynie w obecności inhibitorów cyklooksigenazy.

Istotne znaczenie mogą mieć również interakcje zachodzące pomiędzy komórkami mięśni gładkich dróg oddechowych a macierzą zewnątrzkomórkową. Macierz zewnątrzkomórkowa składa się z fibronektyny, glikozaminoglikanów, lamininy, kolagenu typu IV, tenascyny, entaktyny, integryny i metaloproteinaz (MMPs). Ostatnio wykazaliśmy, że w organizmie ludzkim, w przebiegu procesu proliferacji komórek mięśni gładkich dróg oddechowych niezbędna jest autokrynną produkcją MMP-2 [94]. Metaloproteinazy pochodzące z mięśniówki gładkiej dróg oddechowych mogą także odgrywać istotną rolę w procesach przebudowy. Aktualnie prowadzone badania wskazują, że poziom MMPs w mięśniach gładkich dróg oddechowych wzrasta podczas prowokacji antygenowej, a na szczurzym modelu astmy oskrzelowej zahamowanie ich wytwarzania spowodowało zmniejszenie napływu komórek zapalnych do dróg oddechowych i nadreaktywności oskrzeli [95].

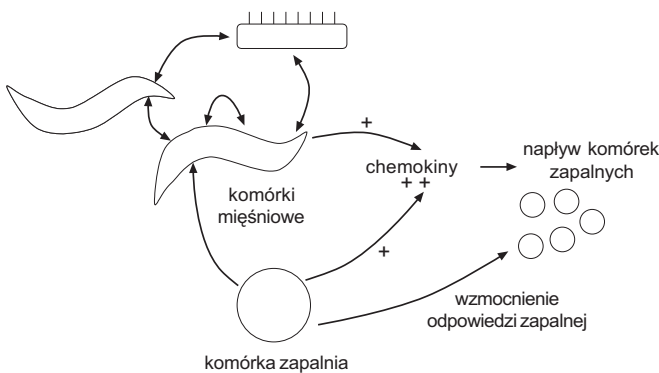
Wydzielanie

Jednym z ostatnich, najbardziej ekscytujących osiągnięć pozwalających na zrozumienie funkcji mięśni gładkich dróg oddechowych stało się wykazanie, że są one bogatym źródłem wielu biologicznie aktywnych cytokin, chemokin i mediatorów. Sugeruje to, że mięśnie gładkie nie są biernym elementem procesu zapalnego, lecz mają właściwości produkowania czynników wpływających na rozwój i progresję zapalenia w drogach oddechowych [5]. Mięśniówka dróg oddechowych może produkować szereg różnych czynników pobudzających proliferację na drodze autokrynną, między innymi takich, jak: insulinopodobny czynnik wzrostu-2 [54], tromboksan [34] i płytkopochodny czynnik wzrostu [55]. W mięśniówce gładkiej dróg oddechowych są także obecne cząsteczki zwiększające przyleganie komórek zapalenia: CD40 [96], ICAM-1 i VCAM-1 [97]. W odpowiedzi na niektóre cytokiny takie, jak: IL- 1β , TNF- α , IL-8 czy mediator, jak bradykini- na [99] mięśnie gładkie dróg oddechowych produkują liczne chemokiny, włączając IL-6 [98], IL-8 [99,100], IL-11 [98], RANTES [101] i eotaksynę [102]. Ich wytwarzanie najprawdopodobniej wzmacnia sygnał chemokinowy, wysyłany przez komórki reakcji zapalnej obecne w drogach oddechowych, zwiększając napływ granulocytów kwasochłonnych, granulocytów obojętnochłonnych i limfocytów T (ryc. 3). Produkcja GM-CSF przez komórki mięśni gładkich dróg oddechowych [103] może także zwiększać czas przeżycia eozynofiliów w obrębie zmienionych zapalnie dróg oddechowych. Mięśnie dróg oddechowych mogą ponadto wytwarzać takie prostanoidy endogenne, jak: PGE_2 i PGI_2 , które również modyfikują przebieg procesu zapalnego [34].

Wiadomo, że komórki mięśni gładkich w zależności od umiejscowienia w organizmie wykazują czynnościowe zróżnicowanie, a ostatnio pojawiły się sugestie wskazujące na istnienie analogicznych zależności w obrębie układu oddechowego. Hodowle mięśni gładkich dróg oddechowych zwierząt, prowadzone bez surowicy w środowisku hodowlanym wykazały powstawanie dwóch różnych form komórek mięśniowych: komórek wydłużonych, nadmiernie kurczliwych, bardzo silnie wybarwiających się w reakcji na białka kurczliwe mięśnia oraz znacznie krótszych, mniej kurczliwych [104-106]. Niewiadomym jest, czy komórki mięśni gładkich dróg oddechowych osób zdrowych i chorych na astmę wykazują podobną heterogenność *in vivo*, i czy ich fenotyp jest różny w drogach oddechowych osób zdrowych i chorych na astmę; jest to pole wymagające dalszych badań.

Wnioski

Mięśnie gładkie dróg oddechowych posiadają szereg właściwości i funkcji, które mogą mieć istotne znaczenie w patogenezie astmy oskrzelowej. W odpowiedzi na mediatory i cytokiny reakcji zapalnej, w przebiegu astmy



Ryc. 3 Komórki, takie jak komórki mięśni gładkich oskrzeli, powodują zwiększenie sygnału chemokin produkowanych przez komórki zapalne, a przez to zwiększają napływ komórek zapalnych i nasilenie zapalenia w drogach oddechowych.

Piśmiennictwo

- Thomson NC. Neurogenic and myogenic mechanisms of non-specific bronchial hyperresponsiveness. *Eur J Respir Dis* 1983; 64: 206-211.
- Holgate ST, Beasley R, Twentyman OP. The pathogenesis and significance of bronchial hyperresponsiveness in airways disease. *Clin Sci* 1987; 73: 561-572.
- Knox AJ. Airway remodelling in asthma: role of airway smooth muscle. *Clin Sci* 1994; 86: 647-652.
- Hirst SJ, Twort CHC. The proliferative response of airway smooth muscle. *Clin Exp Allergy* 1992; 22: 907-915.
- Johnson SR, Knox AJ. Synthetic functions of airway smooth muscle in asthma. *Trends Pharmacol Sci* 1997; 18: 288-292.
- Vincenc CS, Black JL, Yan K, Armour CL, Donnelly PD, Woolcock AJ. Comparison of in vivo and in vitro responses to histamine in human airways. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128: 875-879.
- Roberts JA, Rodger IW, Thomson NC. Airway responsiveness to histamine in man: effect of atropine on in vivo and in vitro comparison. *Thorax* 1985; 40: 261-267.
- Roberts JA, Raeburn D, Rodger IW, Thomson NC. Comparison of in vivo airway responsiveness and in vitro smooth muscle sensitivity to methacholine in man. *Thorax* 1984; 39: 837-843.
- Armour CL, Black JL, Berend N, Woolcock AJ. The relationship between bronchial hyperresponsiveness to methacholine and airway smooth muscle structure and reactivity. *Respir Physiol* 1984; 58: 223-233.
- Roberts JA, Rodger IW, Thomson NC. In vivo and in vitro human airway responsiveness to leukotriene D₄ in patients without asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1987; 80: 688-694.
- Bjorck T, Gustafsson LE, Dahlen SE. Isolated bronchi from asthmatics are hyperresponsive to adenosine, which acts indirectly by liberation of leukotrienes and histamine. *Am Rev Respir Dis* 1992; 145: 1087-1091.
- De Jongste JC, Mons H, Bonta IL, Kerrebijn KF. Human asthmatic airway responses in vitro: a case report. *Eur J Respir Dis* 1987; 70: 23-29.
- Goldie RG, Spina D, Henry PJ, Lulich KM, Paterson JW. In vitro responsiveness of human asthmatic bronchus to carbachol, histamine, β -adrenoceptor agonists and theophylline. *Br J Pharmacol* 1986; 22: 669-676.
- Schellenberg RR, Foster A. In vitro responses of human asthmatic airway and pulmonary vascular smooth muscle. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1984; 75: 237-241.
- Amrani Y, Panettieri RA Jr, Frossard N, Bronner C. Activation of the TNF alpha-p55 receptor induces myocyte proliferation and modulates agonist-evoked calcium transients in cultured human tracheal smooth muscle cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 15: 55-63.
- Amrani Y, Krymskaya V, Maki C, Panettieri RA Jr. Mechanisms underlying TNF-alpha effects on agonist-mediated calcium homeostasis in human airway smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1997; 273: L1020-8.
- Panettieri RA Jr, Hall IP, Maki CS, Murray RK. Alpha thrombin increases cytosolic calcium and induces human airway smooth muscle cell proliferation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 13: 205-216.
- Hotta K, Emala CW, Hirshman CA. TNF- α upregulates G_{i α} and G_{q α} protein expression and function in human airway smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1999; 276: L405-11.
- Thomas PS, Yates DH, Barnes PJ. Tumour necrosis factor- α increases airway hyperresponsiveness and sputum neutrophilia in normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 76-80.
- Bai TR. Abnormalities in airway smooth muscle in fatal asthma: a comparison between trachea and bronchus. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: 441-443.
- Barnes PJ, Dollery CT, MacDermod J. Increased pulmonary alpha-adrenergic and reduced beta-adrenergic receptors in experimental asthma. *Nature* 1980; 285: 569-571.
- Emala C, Black C, Curry C, Levine MA, Hirshman CA. Impaired β -adrenergic receptor activation of adenylyl cyclase in airway smooth muscle in the Basenji-Grayhound dog model of airway hyperresponsiveness. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993; 8: 668-675.
- Sharma RK, Jeffery PK. Airway β -adrenoceptor number in cystic fibrosis and asthma. *Clin Sci* 1990; 78: 409-417.
- Spina D, Rigby PJ, Paterson JW, Goldie RG. Autoradiographic localisation of β -adrenoceptors in asthmatic human lung. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140: 1410-1415.
- Hakonarson H, Herrick DJ, Grunstein MM. Mechanism of impaired beta adrenoceptor responsiveness in atopic sensitized airway smooth muscle. *Am J Physiol* 1995; 13: L645-52.
- Hakonarson H, Herrick DJ, Gonzalez Serrano P, Grunstein MM. Mechanism of cytokine-induced modulation of beta-adrenoceptor responsiveness in airway smooth muscle. *J Clin Invest* 1996; 97: 2593-2600.
- Hakonarson H, Herrick DJ, Gonzalez Serrano P, Grunstein MM. Autocrine role of Hakonarson interleukin 1 β in altered responsiveness of atopic asthmatic sensitized airway smooth muscle. *J Clin Invest* 1997; 99: 117-124.

oskrzelowej, dochodzi do modyfikacji ich właściwości skurczowo-rozkurczowych. Pod wpływem czynników wzrostu, obecnych w drogach oddechowych chorych z astmą, dochodzi do morfologicznej przebudowy mięśni gładkich. Mięśnie gładkie dróg oddechowych są bogatym źródłem aktywnych biologicznie cytokin, chemokin i mediatorów, które na drodze autokrynej mogą zaburzać ich kurczliwość i odpowiedź proliferacyjną. Produkcja chemokin może powodować wzmocnienie sygnału generowanego przez komórki zapalne oraz prowadzić do rozwoju nadmiernej odpowiedzi zapalnej.

28. Wills-Karp M, Uchida Y, Lee JY, Jinot J, Hirata A, Hirata F. Organ culture with proinflammatory cytokine reproduces impairment of the β -adrenoceptor-mediated relaxation in tracheas of a guinea pig antigen model. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993; 8: 153-159.
29. Koto Mak JCW, Haddad EB, Xu WB, Salmon M, Barnes PJ, Chung KF. Mechanisms of impaired beta adrenoceptor induced airway relaxation by interleukin- 1β in the rat. *J Clin Invest* 1996; 98: 1780-1787.
30. Shore SA, Laporte J, Hall IP, Hardy E, Panettieri RA Jr. Effect of IL- 1β on responses of cultured human airway smooth muscle cells to bronchodilator agonists. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 16: 702-712.
31. Emala CW, Kuhl J, Hungerford CL, Hirshman CA. TNF- α inhibits isoproterenol-stimulated adenylyl cyclase activity in cultured airway smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1997; 272: L644-50.
32. Pang L, Holland E, Knox AJ. Role of cyclooxygenase-2 induction in interleukin 1β induced attenuation of cultured human airway smooth muscle cell cyclic AMP generation in response to isoprenaline. *Br J Pharmacol* 1998; 125: 1320-1328.
33. Pang LH, Holland E, Knox AJ. Impaired cAMP production in human airway smooth muscle cells by bradykinin: role of cyclooxygenase products. *Am J Physiol* 1998; 275: L322-9.
34. Pang LH, Knox AJ. Effect of interleukin- 1β , tumour necrosis factor- α and interferon- γ on the induction of cyclooxygenase-2 in cultured human airway smooth muscle cells. *Br J Pharmacol* 1997; 121: 579-587.
35. Laporte JD, Moore PE, Panettieri RA, Moeller W, Heyder J, Shore SA. Prostanoids mediate IL- 1β -adrenergic hyporesponsiveness in human airway smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1998; 1040: L491-9.
36. Pang LH, Knox AJ. PGE₂ release by bradykinin in human airway smooth muscle cells: involvement of cyclooxygenase-2 induction. *Am J Physiol* 1997; 273: L1132-40.
37. Dunnill MS, Massarella GR, Anderson JA. A comparison of the quantitative anatomy of the bronchi in normal subjects, in status asthmaticus, in chronic bronchitis and in emphysema. *Thorax* 1969; 24: 176-179.
38. Hossain S. Quantitative measurement of bronchial muscle in men with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1973; 107: 99-109.
39. Heard BE, Hossain S. Hyperplasia of bronchial muscle in asthma. *J Pathol* 1973; 110: 319-332.
40. Ebina M, Yaegashi H, Chibo R, Takahashi T, Motomiya M, Tanemara M. Hyperactive site in the airway tree of asthmatic patients revealed by thickening of bronchial muscles. *Am Rev Respir Dis* 1990; 141: 1327-1332.
41. Ebina M, Takahashi T, Chiba T, Motomiya M. Cellular hypertrophy and hyperplasia of ASM underlying bronchial asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 720-726.
42. Saetta M, Di Stefano A, Rosina C, Thiene G, Fabbri LM. Quantitative structural analysis of peripheral airways and arteries in sudden fatal asthma. *Am Rev Respir Dis* 1991; 143: 138-143.
43. James AL., Pare PD, Hogg JC. The mechanics of airway narrowing in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1989; 139: 242-246.
44. Hall IP, Kotlikoff M. Use of cultured airway myocytes for study of airway smooth muscle. *Am J Physiol* 1995; 268: L1-11.
45. Hirst SJ. Airway smooth muscle cell culture: application to studies of airway wall remodelling and phototype plasticity in asthma. *Eur Respir J* 1996; 9: 808-820.
46. Stewart AG, Tomlinson PR, Wilson J. Airway wall remodelling in asthma: a novel target for the development of antiasthma drugs. *Trends Pharmacol Sci* 1993; 14: 275-278.
47. Tomlinson PR, Wilson JW, Stewart AG. Inhibition by salbutamol of the proliferation of human airway smooth muscle grown in culture. *Br J Pharmacol* 1994; 111: 641-647.
48. Stewart AG, Fernandes D, Tomlinson PR. The effect of glucocorticoids on proliferation of human cultured airway smooth muscle. *Br J Pharmacol* 1995; 116: 3219-3226.
49. Black PN, Young PG, Skinner PJ. Response of airway smooth muscle cells to TGF- β 1: effects on growth and synthesis of glycosaminoglycans. *Am J Physiol* 1996; 271: L910-7.
50. Kelleher MD, Schneider SD, Naureckas ET. Responsiveness of bovine tracheal smooth muscle cells to various mitogens. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: A304.
51. Hawker KM, Johnson PRA, Hughes JM, Black JL. Interleukin-4 inhibits mitogen induced proliferation of human airway smooth muscle cells in culture. *Am J Physiol* 1998; 275: L469-77.
52. Hirst SJ, Barnes PJ, Twort CHC. Quantifying proliferation of human and rabbit airway smooth muscle cells in response to serum and PDGF. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992; 7: 574-581.
53. Scott PH, Belham CM, Al-Hafidh J et al. A regulatory role for cAMP on phosphatidylinositol 3-kinase/p70 ribosomal S6 kinase mediated DNA synthesis in PDGF stimulated bovine ASMC. *Biochem J* 1996; 318: 965-971.
54. Noveral JP, Bhala A, Hintz RL, Grunstein MM, Cohen P. Insulin like growth factor axis in airway smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1994; 267: L761-5.
55. De S, Zelazny ET, Souhrada JF, Souhrada M. Interleukin 1β and interleukin 6 induce hyperplasia and hypertrophy of cultured guinea pig airway smooth muscle cells. *J Appl Physiol* 1995; 78: 1555-1563.
56. Shapiro PS, Evans JN, Davis RJ, Posada JA. The seven-transmembrane-spanning receptors for endothelin and thrombin cause proliferation of airway smooth muscle cells and activation of the extracellular regulated kinase and c-Jun NH₂-terminal kinase groups of mitogen-activated protein kinases. *J Biol Chem* 1996; 271: 5750-5754.
57. Panettieri RA, Yadvish PA, Kelly AM, Rubinstein NA, Kotlikoff MI. Histamine stimulates proliferation of airway smooth muscle and induces c-fos expression. *Am J Physiol* 1990; 259: L365-71.
58. Maruno K, Absood A, Said SI. Vasoactive intestinal peptide inhibits basal and histamine stimulated proliferation of HASMC. *Am J Physiol* 1995; 262: L1047-51.
59. Noveral JP, Rosenberg SM, Anbar RA, Pawlowski NA, Grunstein MM. Role of endothelin-1 in regulating proliferation of cultured rabbit airway smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1992; 263: L317-24.
60. Panettieri RA Jr, Goldie RG, Rigby PJ, Eszterhas AJ, Hay DW. Endothelin-1 induced potentiation of human airway smooth muscle proliferation: an ETA receptor-mediated phenomenon. *Br J Pharmacol* 1996; 118: 191-197.
61. Malarkey K, Chilvers ER, Lawson MF, Plevin R. Stimulation of endothelin-1 of mitogen-activated protein kinases and DNA synthesis in bovine tracheal smooth muscle cells. *Br J Pharmacol* 1995; 116: 2267-2273.
62. Carratll P, Scuri M, Styblo JL, Wanner A, Glassberg MK. ET-1 induces mitogenesis in ovine airway smooth muscle cells via ETA and ETB receptors. *Am J Physiol* 1997; 272: L1021-4.
63. Hershenson MB, Chao TS, Abe MK et al. Histamine antagonizes serotonin and growth factor-induced mitogen activated protein kinase activation in bovine tracheal smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1995; 270: 19908-19913.
64. Noveral JP, Grunstein MM. Tachykinin regulation of airway smooth muscle cell proliferation. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 141: A48.
65. Noveral JP, Grunstein MM. Role and mechanism of thromboxane-induced proliferation of cultured airway smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1992; 263: L555-61.
66. Panettieri RA, Tan EM, Ciocca V, Luttmann MA, Leonard TB, Hay DW. Effects of LTD₄ on human airway smooth muscle cell proliferation, matrix expression and contraction. In vitro: differential sensitivity to cysteinyl leukotriene receptor antagonists. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998; 19: 453-461.
67. Brown JK, Tyler CL, Jones CA, Ruoss SJ, Hartmann T, Caughey GH. Tryptase, the dominant secretory granular protein in human mast cells, is a potent mitogen for cultured dog tracheal smooth muscle cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 13: 227-236.

68. Lew DB, Nebigil C, Malik KU. Dual regulation of cyclic AMP of β hexosaminidase-induced mitogenesis in bovine tracheal myocytes. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992; 7: 614-619.
69. Lew DB, Ratazzi MC. Mitogenic effect of lysosomal hydrolase on bovine tracheal myocytes in culture. *J Clin Invest* 1991; 88: 1969-1975.
70. Noveral JP, Grunstein MM. Adrenergic receptor mediated regulation of cultured rabbit airway smooth muscle cell proliferation. *Am J Physiol* 1994; 267; L291-9.
71. Smith PG, Janiga KE, Bruce MC. Strain increases airway smooth muscle cell proliferation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994; 10: 85-90.
72. Smith PG, Garcia R, Kogerman L. Strain reorganizes focal adhesions and cytoskeleton in cultured airway smooth muscle cells. *Exp Cell Res* 1997; 232: 127-136.
73. Smith PG, Garcia R, Kogerman L. Mechanical strain increases protein tyrosine phosphorylation in airway smooth muscle cells. *Exp Cell Res* 1998; 239: 353-360.
74. Cerutis DR, Nogami M, Anderson JL et al. Lysophosphatidic acid and EGF stimulate mitogenesis in human airway smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1997; 273: L10-5.
75. Hershenson MB, Naureckas ET, Li J. Mitogen activated signalling in cultured airway smooth muscle cells. *Can J Physiol Pharmacol* 1997; 75: 898-910.
76. Kelleher MD, Abe MK, Chao TS et al. Role of MAP kinase activation in bovine tracheal smooth muscle mitogenesis. *Am J Physiol* 1995; 268: L894-901.
77. Whelchel A, Evans J, Posada J. Inhibition of ERK activation attenuates endothelin stimulated airway smooth muscle proliferation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 16: 589-596.
78. Karpova AY, Abe MK, Li J et al. MEK1 is required for PDGF-induced ERK activation and DNA synthesis in tracheal myocytes. *Am J Physiol* 1997; 272: L558-65.
79. Krymskaya VP, Hoffman R, Eszterkas A, Kane S, Ciocca V, Panettieri RA. EGF activates Erb-2 and stimulates phosphatidylinositol 3 kinase in human airway smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1999; 276: L246-55.
80. Walter TR, Moore SM, Lawson MF, Panetteieri RA, Chilvers ER. Platelet derived growth factor-BB and thrombin activate phosphatidylinositol 3-kinase and protein kinase B. Role in mediating airway smooth muscle proliferation. *Mol Pharmacol* 1998; 54: 1007-1015.
81. Nishizuka Y. Intracellular signalling by hydrolysis of phospholipids and activation of protein kinase C. *Science* 1992; 258: 607-613.
82. Hirst SJ, Webb BLJ, Giembycz MA, Barnes PJ, Twort CHC. Inhibition of fetal calf serum-stimulated proliferation of rabbit cultured tracheal smooth muscle cells by selective inhibitors of protein kinase C. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 12: 149-16193.
83. Carlin S, Yang KF, Donnelly R, Black JL. Protein kinase C isoforms in human airway smooth muscle cells: activation of PKC α during proliferation. *Am J Physiol* 1999; 276: L506-12.
84. Young PG, Skinner SJ, Black PN. Effects of glucocorticoids and beta-adrenoceptor agonists on the proliferation of airway smooth muscle. *Eur J Pharmacol* 1995; 273: 137-143.
85. Johnson PRA, Armour CL, Carey D, Blake JL. Heparin and PGE₂ inhibit DNA synthesis in human airway smooth muscle cells in culture. *Am J Physiol* 1995; 269: L514-9.
86. Billington CK, Joseph SK, Swan C, Scott MGH, Johnson TM, Hall IP. Modulation of human airway smooth muscle proliferation by type 3 phosphodiesterase inhibition. *Am J Physiol* 1999; 276: L412-9.
87. Musa NL, Ramakrishnam M, Li J et al. Forskolin inhibits cyclin D₁ expression in cultured airway smooth muscle cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 20: 352-358.
88. Kilfeather SA, Tagoe S, Perez AC, Okona-Mensa K, Matin R, Page CP. Inhibition of serum-induced proliferation of bovine tracheal smooth muscle cells in culture by heparin and related glycosaminoglycans. *Br J Pharmacol* 1995; 114: 1442-1446.
89. Cohen MD, Ciocca V, Panettieri RA Jr. TGF-beta 1 modulates human airway smooth muscle cell proliferation induced by mitogens. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 16: 85-90.
90. Dashtaki R, Whorton AR, Murphy TM, Chitano P, Reed W, Kennedy TP. Dehydroepiandrosterone and analogs inhibit DNA binding of AP-1 and airway smooth muscle proliferation. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 285: 876-883.
91. Hamad AM, Johnson S, Knox AJ. Antiproliferative effects of nitric oxide and atrial natriuretic peptides in cultured human airways smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1999; 277: 910-918.
92. Belvisi MG, Saunders M, Yacoub M, Mitchell JA. Expression of cyclooxygenase-2 in human airway smooth muscle is associated with profound reduction in cell growth. *Br J Pharmacol* 1998; 125: 1102-1108.
93. Vlahos R, Stewart AG. Interleukin 1 α and tumour necrosis factor α modulate airway smooth muscle synthesis by induction of cyclooxygenase-2: inhibition by dexamethasone and fluticasone propionate. *Br J Pharmacol* 1999; 126: 1315-1324.
94. Johnson S, Knox AJ. Autocrine production of matrix metalloproteinase-2 is required for human airway smooth muscle proliferation. *Am J Physiol* 1999; 277: 1109-1117.
95. Kumagai K, Ohno I, Ohkawara Y et al. Inhibition of matrix metalloproteinases prevents allergen induced airway inflammation in a murine model of asthma. *J Immunol* 1999; 162: 4212-4219.
96. Lazaar AL, Amrani Y, Hsu J et al. CD40-mediated signal transduction in human airway smooth muscle. *J Immunol* 1998; 161: 3120-3127.
97. Lazaar AL, Albelda SM, Pilewski JM, Brennan B, Pure E, Panettieri RA. T Lymphocytes adhere to airway smooth muscle cells via integrins and CD44 and induce smooth muscle DNA synthesis. *J Exp Med* 1994; 180: 807-816.
98. Elias JA, Wu Y, Zheng T, Panettieri R. Cytokine and virusstimulated airway smooth muscle cells produce IL-11 and other IL-6 type cytokines. *Am J Physiol* 1997; 273: L648-55.
99. Pang L, Knox AJ. Bradykinin stimulates IL-8 production in cultured human airway smooth muscle cells: role of cyclooxygenase products. *J Immunol* 1998; 161: 2509-2515.
100. John M, Hirst SJ, Jose PJ et al. Human airway smooth muscle cells express and release RANTES in response to Th-1 cytokines: regulation by Th-2 cytokines and corticosteroids. *J Immunol* 1997; 158: 1841-1847.
101. John M, Jose PJ, Lim S et al. Expression and release of interleukin 8 by HASM cells: inhibition by Th-2 cytokines and corticosteroids. *J Immunol* 1998; 161: 2509-2515.
102. Ghaffar O, Minshall E, Lamkhioued B et al. Eotaxin mRNA expression in mouse and human airway smooth muscle. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: A372.
103. Saunders MA, Mitchell JA, Seldon PM et al. Release of granulocyte-macrophage colony stimulating factor by human cultured airway smooth muscle cells: suppression of dexamethasone. *Br J Pharmacol* 1997; 120: 545-546.
104. Halayko AJ, Rector E, Stephens NL. Airway smooth muscle cell proliferation: characterization of subpopulations by sensitivity to heparin inhibition. *Am J Physiol* 1998; 274: L17-25.
105. Stephens NL, Li W, Wang Y, Ma X. The contractile apparatus of airway smooth muscle. *Biophysics and Biochemistry*. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: S80-94.
106. Ma X, Wang Y, Stephens NL. Serum deprivation induces a unique hypercontractile phenotype of cultured smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1998; 274: C1206-14.