

흰 쥐 신장의 허혈 재관류 손상에서 α -Melanocyte Stimulating Hormone의 효과

이화여자대학교 의과대학 ¹외과학교실, ²병리학교실, ³해부학교실, ⁴임상병리학교실,
⁵연세대학교 의과대학 외과학교실, ⁶이화여자대학교 의과대학연구소 신장병연구센터

염차경¹ · 진준우¹ · 정구용⁶ · 성순희^{2,6} · 한기환^{3,6} · 강은숙^{4,6} · 김유선⁵

The Effect of α -Melanocyte Stimulating Hormone on Renal Ischemia Reperfusion Injury

Cha Kyong Yom, M.D.¹, Jun Woo Jin, M.D.¹, Ku Yong Chung, M.D.⁶, Sun Hee Sung, M.D.^{2,6}, Ki Whan Han, M.D.^{3,6}, Eun Suk Kang, M.D.^{4,6} and Yu Seun Kim, M.D.⁵

Departments of ¹Surgery, ²Pathology, ³Anatomy and ⁴Clinical Pathology, Ewha Womans University College of Medicine, ⁵Department of Surgery, Yonsei University College of Medicine, ⁶Kidney Research Center, Ewha Womans University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: In ischemia-reperfusion induced renal injuries, cytokines, chemoattractant chemokines, adhesion molecules and nitric oxide play an important role. α -Melanocyte stimulating hormone (α -MSH) is a potent anti-inflammatory cytokine so the therapeutic effect of α -MSH on an ischemia-reperfusion induced acute renal failure is to be evaluated. **Methods:** 40 male Sprague-Dawley rats were prepared for the experiment, they were classified into three classes (Sham, ischemic control and α -MSH injection). Both renal pedicles were clamped for 45 minutes. α -MSH (50 μ g) was injected intravenously three times, immediately before ischemia and reperfusion and 18 hour after reperfusion. Serum creatinine and histologic changes were analyzed between groups (Sham (n=6), ischemic control group (n=15), and α -MSH group (n=19)). **Results:** Serum creatinine level decreased significantly at 24 hours after reperfusion in α -MSH treated animals (SCr24 0.78 \pm 0.23 mg/dL, 4.21 \pm 1.14 mg/dL, 3.01 \pm 1.19 mg/dL, repectively (P=0.008)), especially serum creatinine level at 48 hours after reperfusion much

more decreased in α -MSH group (SCr48 0.67 \pm 0.16 mg/dL, 4.21 \pm 2.03 mg/dL, 1.15 \pm 1.11 mg/dL, repectively (P=0.004)). Tubular neccrosis and neutrophil infiltration decreased signigicantly in α -MSH treated group (P=0.001). Mortality was noted 33.3% only at ischemic control group. **Conclusion:** we demonstrate the fact that α -MSH has protective role on ischemic renal injury and improves survival rates. (J Korean Soc Transplant 2006;20:49-54)

Key Words: Ischemia-reperfusion injury, Acute renal failure, α -MSH

중심 단어: 허혈-재관류 손상, 급성신부전, α -MSH

서 론

허혈/재관류에 의한 신 손상은 급성 신부전의 가장 흔한 원인 중 하나로 여러 보존적 치료의 발달에도 불구하고 이로 인한 급성 신부전의 치사율은 여전히 높게 남아있다. 허혈/재관류 손상은 가역적인 과정으로 허혈/재관류 손상에서 벗어남에 신기능이 완전히 회복되고 잔여 신 손상은 없는 것으로 알려져 왔으나, 최근 연구에서는 다양한 정도의 신기능의 변화 및 조직학적 신장 구조의 변화가 초래된다고 보고되고 있다.(1-6) 신 이식 동안 일어나는 허혈/재관류 손상은 이식 신의 기능지연을 야기시키고, 나아가 급만성 거부반응의 발생을 증가시키는 요인으로 작용하며, 초기의 허혈/재관류 손상이 이식신의 예후에 좋지 않은 영향을 미칠 수 있음이 보고되었다.(1-3,7,8) 따라서 허혈 후 심한 재관류 손상이 일어나기 전에 보다 효과적으로 조직 손상을 예방하고, 신 손상이 진행된 후에도 손상의 치유 속도를 증진시킬 수 있는 방법을 찾는 것이 필요하다.

신 손상의 기전은 재관류 동안 활성화되는 염증성 세포독성 과정에 의한 손상으로 결국 산소 결핍성 세포 괴사를 야기한다. 이러한 염증성 물질들에는 사이토카인(IL-1, TNF- α , IL-8), 유착 인자(ICAM-1) 등이 포함되며, 이들은 신장 외수질에 중성구의 침착을 야기시켜 허혈성 손상을

책임저자 : 정구용, 서울시 양천구 목동 911-1
이화여자대학교 의과대학 외과학교실, 158-710
Tel: 02-2650-5273, Fax: 02-2644-7984
E-mail: kuyong@ewha.ac.kr

본 연구는 2005년도 10월 제35차 대한이식학회 학술대회에서 구연되었음.

악화시킨다.(9-14,17) 또다른 세포독성의 원인은 산소 자유기(oxygen free radical)나 산화 질소(nitric oxide, NO)로, 산화 질소 합성을 억제함으로써 과산화 질소에 의한 세포손상을 방지할 수 있다고 보고되고 있다. 따라서 신장의 허혈성 손상은 염증성 반응이나 산화 질소 경로를 차단함으로써 그 손상 정도를 감소시킬 수 있다.(17)

α -Melanocyte Stimulating Hormone (α -MSH)은 Proopiomelanocortin (POMC) 유도체로서 체내에 염증반응시 생성이 증가되는 내인성 항염증 사이토카인으로서 IFN- γ , TNF- α , IL-8 등의 사이토카인 분비에 대한 억제작용을 가지며 복막염, 관절염 등의 급만성 염증 동물모델에서 염증반응을 억제하고 생존율을 증가시키는 것으로 보고되었다.(3,12-14) 또한 α -MSH는 유도 산화질소 합성효소(inducible NO synthase, iNOS)의 활성을 억제하고, 패혈증 모델에서 산화 질소 생성을 억제하는 것으로 밝혀졌다. 따라서 α -MSH는 염증성 과정과 산화 질소 경로의 두 과정을 모두 억제하는 효과를 가지며 이는 한 과정만을 차단하는 다른 물질보다 보다 효과적으로 신 손상을 감소시킬 수 있을 것이라 기대된다.(14-18) 그리고 이러한 α -MSH의 신손상 경감 효과가 단순히 신 손상을 예방하는 역할에 의한 것인지, 아니면 이미 신 손상이 진행된 이후에도 손상된 조직의 손상 완화와 회복에도 효과가 있는지에 대한 가능성도 제시해 볼 수 있다.

본 연구에서는 흰 쥐의 허혈/재관류 손상에 의한 급성 신부전에서 α -MSH가 신 손상에 미치는 영향을 재관류 후 혈청 크레아티닌의 변화와 신장 조직학적 변화를 비교하여 알아보하고자 하였다.

방 법

1) 실험동물과 허혈/재관류

실험동물은 200~250 g의 수컷 Sprague-Dawley 흰 쥐를 사용하였으며, 모든 대상동물은 온도와 습도가 일정하게 유지되는 무균 사육실에서 자유롭게 물과 표준사료(4% mouse-rat diet; Harlan Sprague Dawley Inc)를 섭취하도록 하였다. 대상동물은 ketamine과 rumpun (Xylazine hydrochloride)을 10 : 3 비율로 혼합한 마취제 500~900 μ g을 복강내 주사하여 마취하였다. 복부는 면도후 베타딘(betadine) 소독하여 흉골 하방부터 방광 상방까지 정중절개를 시행하였으며 미세혈관 겸자(Muller atraumatic vascular clamp)를 이용하여 양측 신혈관경(renal pedicle)을 45분간 겸자하였다. 겸자 직후 및 재관류 직후에 2분간 신장 표면의 색 변화로 허혈 및 재관류를 확인하였으며 겸자 중에는 피부를 봉합하여 수분손실을 최소화하였고 체온 유지를 위해 보온 수술대 및 열 패드를 사용하였다. 실험군(n=19)은 허혈직전, 재관류직전과 재관류 18시간 후에 각각 α -MSH (Sigma-Aldrich Chemical Co., USA) 50 μ g씩 총 150 μ g을 꼬리 정맥을

통하여 주입하였으며, 허혈 대조군(n=15)은 재관류 후 아무것도 주입하지 않았고, Sham군(n=6)은 복부 절개 후 양측 신혈관경만 노출시키고 허혈은 가하지 않았다. 재관류 후 24시간에 꼬리 정맥을 통하여 혈액을 채취하고, 48시간에 허혈시와 마찬가지로 방법으로 복강 내 마취 후 이전 절개선을 개방하여 복부 대동맥에 24-gauge의 바늘을 삽입하고 혈청 크레아티닌 측정을 위한 혈액 채취 후 하대정맥을 절단하여 출구를 확보하였다. 대동맥을 통하여 냉장시킨 인산 완충용액(phosphate buffered saline, PBS)을 20분간 관류시켜 혈액을 제거하고 우혈관경을 겸자한 후 우신을 적출하였으며 다시 대동맥을 통하여 10% 포르말린을 관류시킨 후 좌신을 적출하였다.

2) 생화학적 검사

재관류 후 24시간에 꼬리 정맥에서 채취한 혈액과, 48시간에 복부 대동맥에서 채취한 혈액은 혈청을 분리하여 혈청 크레아티닌치를 측정하였다(HITACHI 7600110, HITACHI, Japan).

3) 조직학적 검사

신장 적출시 조직의 일부를 10% 포르말린에 고정한 후 통상적인 조직제조 과정을 거쳐 파라핀 포매를 시행하고 microtome을 이용하여 5 μ m 두께로 절단하여 Hematoxylin-Eosin (H-E) 염색을 시행하고 광학 현미경으로 신장 조직의 변화를 관찰하였으며 신 손상의 정도를 반정량적으로 분석하기 위하여 외수질 부위에서 20배 시야 중 무작위로 20군데를 지정하여 세포 괴사가 일어난 세뇨관 세포의 %를 측정하여 평균값을 구하였고, 괴사가 일어난 세뇨관 주위의 침윤된 세포를 기준으로 400배 고배율 시야에서 20군데를 무작위 선택하여 염증성 침윤의 정도를 측정하였으며 이에 따른 조직학적 등급체계를 정한 뒤 각 군을 비교하였다 (Table 1).

4) 통계학적 분석 방법

각각의 혈청크레아티닌 측정값 및 조직병리학적 염색의 반정량적 분석결과는 SPSS (SPSSWIN, version 6.0) 통계 프로그램을 이용하여 independent sample t-test를 사용하여 각 군 간의 평균치를 검정하였으며 P값이 0.05이하인 경우를

Table 1. Histologic grading

Score	Tubular necrosis	Inflammatory infiltration
0	Less than 5%	0~3
1	5~30%	4~10
2	30~50%	11~20
3	More than 50%	More than 20

통계학적으로 유의한 것으로 해석하였다.

결 과

1) 혈청크레아티닌

허혈 대조군에서는 재관류 후 1일에 5마리가 사망하여 결과에서 제외되었다. 재관류 후 24시간 혈중 크레아티닌의 농도는 Sham군(n=6) 0.78±0.23 mg/dL에 비교하여 아무 것도 투여하지 않고 허혈만 가한 허혈 대조군(n=10)에서는 4.21±1.14 mg/dL, α -MSH를 투여한 실험군(n=19)에서는 3.01±0.64 mg/dL로 두 군 모두 혈중 크레아티닌 농도의 증가를 보이고 있으며 양 군 간의 통계학적 차이를 유의하게 보이고 있다(P=0.008). 재관류 후 48시간 혈청 크레아티닌 농도는 Sham군(n=6) 0.67±0.16 mg/dL에 비교하여 허혈 대조군(n=10)에서는 4.21±2.03 mg/dL로 여전히 높은 수치를 나타내고 있으며 α -MSH를 투여한 실험군(n=19)에서는

1.15±1.11 mg/dL로 24시간 혈중 크레아티닌 농도에 비해 현저하게 혈청 크레아티닌 수치가 감소하여 Sham군과 유사한 결과를 나타냈지만, 양 군 간의 차이는 통계학적으로도 유의하였다(P=0.004). 재관류 후 24시간과 48시간에 측정된 혈청 크레아티닌 농도의 차이는 Sham군에서는 0.12±0.32 mg/dL, 허혈 대조군에서는 -0.15±1.15 mg/dL, α -MSH군에서는 1.21±0.58 mg/dL로 α -MSH를 투여한 실험군에서 재관류 후 24시간 혈청 크레아티닌 농도에 비해 48시간 크레아티닌이 허혈 대조군에 비해 현저하게 감소하였으며 통계학적으로도 유의하였다(P=0.005)(Table 2, Fig. 1).

2) 병리조직학적염색

세뇨관 상피세포의 괴사 및 세뇨관 내 원주형성, 모세혈관 울혈, 염증세포의 침착 등이 관찰되었으며, 아포프토시스(apoptosis)의 정도, 간질의 섬유화 및 요세관 위축의 정도를 비교하였다. α -MSH를 투여한 실험군에서도 세뇨관괴사, 세뇨관 내 원주형성 및 모세혈관 출혈 등 허혈성 손상이 관찰되었지만 허혈 대조군에 비해 그 정도가 현저히 감소되고 국소적인 분포를 보이고 있었다. 조직학적 scoring sys-

Table 2. Serum creatinine after reperfusion

Group	Serum creatinine (mg/dL)		
	Reperfusion 24 hr (Cr24)	Reperfusion 48 hr (Cr48)	Δ (Cr24-Cr48)
Sham (n=6)	0.78±0.23	0.67±0.16	0.12±0.32
Ischemic control (n=10)	4.21±1.14	4.21±2.03	-0.15±1.15
α -MSH (n=19)	3.01±1.19	1.15±1.11	1.21±0.58
P value	0.008	0.004	0.005

$\Delta = \{ \sum(Cr24-Cr48) \} / n$. Statistical analysis was done between α -MSH group and ischemic control group. Analysis between three groups was statistically significant in all comparisons (P value < 0.05).

Table 3. Histologic score

Group	Score	
	Tubular necrosis	Inflammmtory infiltration
Sham (n=6)	0	0
Ischemic Control (n=10)	2.4±0.84	1.9±0.74
α -MSH (n=19)	1.08±0.86	0.69±0.63
P value	0.001	0.001

Mean of total score was compared.

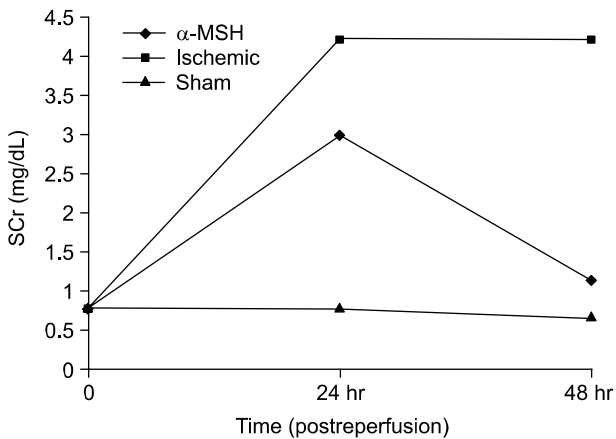


Fig. 1. Changes of serum creatinine after reperfusion. Each value represents the mean.

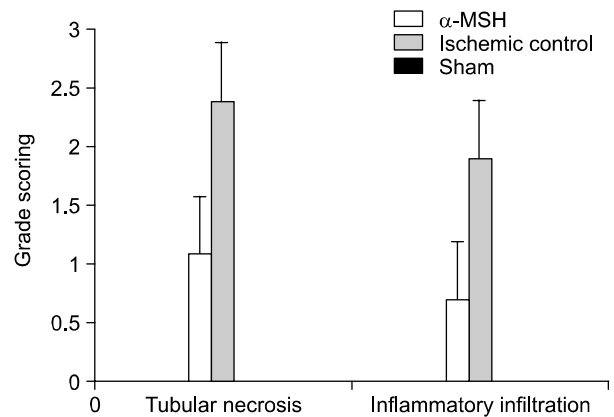


Fig. 2. Comparison of histologic Score. Each value represents the mean (P=0.001).

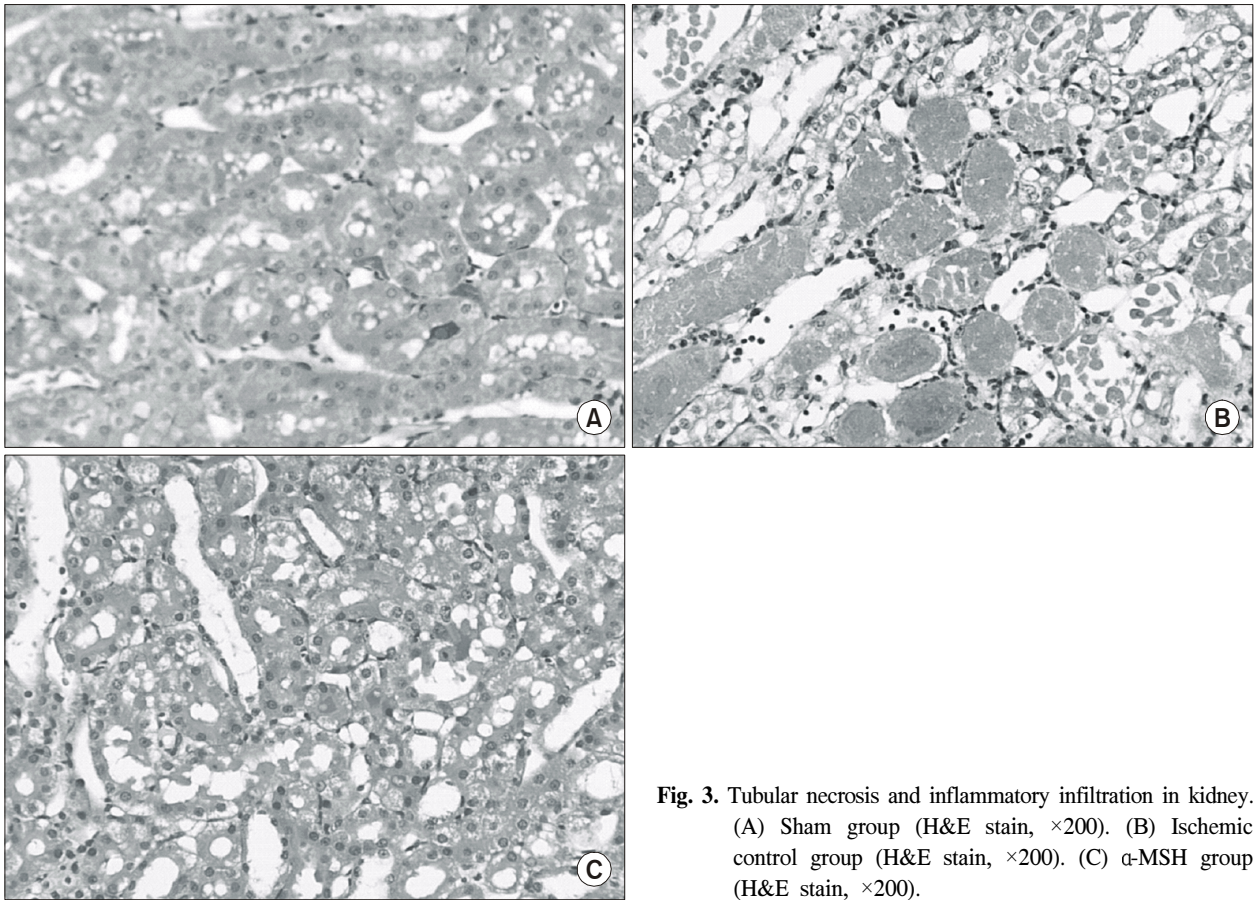


Fig. 3. Tubular necrosis and inflammatory infiltration in kidney. (A) Sham group (H&E stain, ×200). (B) Ischemic control group (H&E stain, ×200). (C) α-MSH group (H&E stain, ×200).

tem을 이용한 정량적 분석에서 세뇨관 괴사는 Sham군, α-MSH 실험군, 허혈 대조군에서 각각 0점, 1.08점, 2.4점으로 실험군과 허혈 대조군은 통계학적으로 유의하게 차이를 보였다 (P=0.001). 염증성 침윤의 정도에 있어서도 각각 차례대로 0점, 0.69점, 1.9점으로 Sham군에 비교하여 허혈 대조군보다 α-MSH 실험군에서 감소 소견을 보이며 이는 통계학적으로 유의하였다(P=0.001)(Table 3, Fig. 2, 3).

3) 생존율

Sham군(n=6)과 α-MSH를 투여한 실험군(n=19)에서는 재관류 후 사망한 경우가 없었으나, 허혈 후 아무것도 투여하지 않은 대조군에서는 재관류 후 1일에 다섯마리(33.3%)가 사망하였다.

고 찰

급성 신부전은 지난 50여년간 그 병태생리에 대한 이해 및 혈액투석 등의 보존적인 치료법의 발달에도 불구하고, 기저질환에 따라 높은 사망률이 보고되고 있으며 임상적으로는 허혈/재관류 손상에 의한 급성 세뇨관 괴사가 가장 많은 부분을 차지한다. 허혈/재관류에 의한 급성 신부전은 가

역적인 변화로 알려졌으나 최근의 연구들에 의하면 손상에서 회복된 후에도 만성적 조직 손상이 남는다고 한다. 또한 신 이식 동안 일어나는 허혈/재관류 손상은 이식 신의 기능지연을 야기시키고 나아가 급만성 거부반응의 발생을 증가시킨다.(1-5)

신 손상은 염증반응에 의한 중성구의 침착으로 야기되는데, 중성구가 허혈성 손상을 악화시키는 기전에 대해서는 아직도 이견이 많고, 현재까지 제시되고 있는 기전은 활성화된 중성구로부터 각종 염증성 사이토카인, 반응성 산소 라디칼 및 myeloperoxidase, elastase, protease 등의 효소가 분비되고, 이러한 물질이 허혈조직의 손상을 가중시키며, 또한 혈관 내피세포 손상에 의해 혈관 수축인자와 확장인자간의 불균형을 촉진함으로써 허혈성 손상을 더욱 악화시키는 것으로 생각되고 있다. 또한 활성화된 중성구는 접착성(adhesiveness)이 증가되어 혈소판 등과 함께 중성구 응집(neutrophil plugging)을 형성하고 기계적인 요인으로 외수질부의 모세혈관의 충혈을 조장함으로써 외수질부의 허혈을 악화시키는 것도 중요한 요인으로 생각되고 있다.(1-3, 9-11,17)

α-MSH는 IL-1, TNF-α 등의 각종 염증성 사이토카인 또는 내독소 등을 주입한 후 관찰되는 발열을 감소시키며, 중

성구에 대한 화학주성 케모카인인 IL-8을 억제함으로써 직접적으로 중성구의 조직 내로의 침착을 억제하는 효과가 밝혀진 체내의 내인성 호르몬이다.(12-14,17) 또한 α -MSH는 신 손상에서 중요한 역할을 하는 염증성 반응과 산화질소 경로를 모두 억제하여 보다 효과적으로 신 손상을 감소시킬 수 있다.(14,17,18)

본 연구에서 α -MSH를 허혈직전, 재관류직전, 재관류 후 18시간에 투여하고, 재관류 후 24시간과 48시간에 측정된 혈청 크레아티닌의 수치가 허혈 대조군과 비교하여 유의하게 감소하였음을 알 수 있었다. 또한 α -MSH 투여한 실험군에서 혈청 크레아티닌은 재관류 후 24시간보다 48시간에 더욱 큰 폭으로 감소하여 α -MSH가 신 손상을 방지하는 역할은 물론, 이미 신 손상이 진행된 상태에서도 신장 기능의 손상 정도를 감소시킬 수 있다는 가능성을 확인할 수 있었다. α -MSH를 투여한 실험군에서는 사망이 없었으나 허혈 대조군에서는 33.3% (5/15)에서 사망이 있었으며 통계학적으로 유의하였다. 따라서 α -MSH는 허혈/재관류에 의한 신 손상을 방지할 뿐 아니라 생존율에서도 향상을 가져온다는 것을 알 수 있었다. 이 연구에서는 양측에 신허혈/재관류 손상을 가하였고, 허혈시간을 45분으로 하여 보다 치명적인 신 손상을 시도하였고, 이러한 심한 신 손상 정도에서도 α -MSH의 신 손상 경감효과를 확인하였다는 점에서 그 의의가 있다. 기존의 연구에서와 같이 신 손상의 초기에 투여되었을 경우 α -MSH는 신 손상을 예방하는 역할을 하며, 특히 이 연구에서 재관류 18시간 후에 다시 α -MSH를 투여하여 재관류 후 48시간에 측정된 혈청 크레아티닌 수치가 더욱 의미있게 감소되었다는 사실은 이미 신 손상이 진행된 조직에서도 α -MSH가 효과를 나타낼 수 있다는 가능성을 나타내며, 본 연구에는 포함되지 않았지만 앞으로 이것은 재관류 18시간에 α -MSH를 투여하지 않은 대조군과의 비교를 통하여 검증되어야 할 것이다.

결 론

급성 허혈/재관류에 의한 신손상에서 α -MSH는 생화학적, 조직학적으로 신손상 정도를 경감시키며 생존율에서도 향상을 가져온다. 이 연구는 α -MSH가 허혈 후 재관류 손상이 일어나는 과정에서 신장기능의 저하를 예방할 수 있으며, 또한 이미 손상이 진행된 신장에서도 효과에 대한 가능성을 보여, 급성 신부전의 예방 및 치료제로서 α -MSH의 효용성을 제시하였다. 앞으로 α -MSH가 신손상을 방지하는 정확한 기전을 연구하고 이미 신 손상이 진행된 후에 투여되었을 경우 α -MSH의 치료 효과에 대한 조직학적 변화의 확인 과정이 필요할 것이며 이러한 연구들이 신장 이식의 장기적인 기능과 예후 향상에 도움이 되리라 생각한다.

REFERENCES

- 1) 이소영, 조원용, 김형규, 원남희. 급성 허혈성 신 손상 회복 후의 잔여 신손상에 미치는 α -MSH의 영향에 대한 연구. 대한신장학회지 2005;24:191-203.
- 2) 정규영, 성순희, 김상이, 손성은, 이우정, 김유선, 정구용. Nitric Oxide Donor가 신장 허혈 재관류 손상 시 내인성 Endothelin-1 분비에 미치는 영향. 대한외과학회지 2004;66:169-76.
- 3) 조상경, 윤종우, 차대룡, 조원용. 급성 허혈성 신손상 백서에서 α -melanocyte stimulating hormone이 intercellular adhesion molecule-1의 발현 및 신기능에 미치는 영향에 관한 연구. 대한내과학회지 2000;59:641-50.
- 4) Deng J, Hu X, Peter ST Yeu, Robert AS. α - melanocyte stimulating hormone inhibits lung injury after renal ischemia/reperfusion. Am J Respir Crit Care Med 2004;169: 749-56.
- 5) Marshall VC. Renal preservation. In: Morris PJ editor. Kidney Transplantation. 5th ed. Philadelphia, W.B. Saunders Company; 2001. p.114-5.
- 6) Kwon TH, Frokier J, Han JS. Decreases abundance of major Na⁺ transporters in kidneys of rats with ischemia-induced acute renal failure. Am J Physiol Renal physiol 2000;278: 925-39.
- 7) Dubose TD Jr, Warnock DG, Mehta RL, Bonventer JV, Hammerman MR, Moottoris BA, Paller MS, Siegel NJ, Schebenske J, Striker GE. Acute renal failure in the 21st century: recommendations for management and outcomes assessment. Am J Kidney Dis 1997;29:793-9.
- 8) Chertow GM, Christiansen CL, Cleary PD, Munro C, Lazarus JM. Prognosis stratification in critically ill patient with acute renal failure requiring dialysis. Arch Intern Med 1995;155: 1505-11.
- 9) Robert S, Judith M, Subodh J, Peter M, Michael P, Barrett JR, Taubman B. Expression of cytokine-like genes JE and KC is increased during renal ischemia. Am J Physiol 1991;261: 1095-101.
- 10) Linas SL, Shanley PF, Whittenburg D, Berger E, Repine JE. Neutrophils accumulate ischemia reperfusion injury in isolated rat kidneys. Am J Physiol 1985;255:728-35.
- 11) Seigel NJ, Avison MJ, Reilly HF, Folk SA. Enhanced recovery of renal ATP with postischemic infusion of ATP-MgCl₂ determined by ³¹P-NMR. Am J Physiol 1983;245:530-4.
- 12) Catania A, Lipton JM. Alpha-melanocyte stimulating hormone in the modulation of host reactions. Endocr Rev 1993;14: 564-76.
- 13) Ceriani G, Diaz J, Murphree S, Catania A, Lipton J. The neuropeptide alpha-MSH inhibits experimental arthritis in rats. Neuroimmunomodulation 1994;1:28-32.
- 14) Chiao H, Foster S, Thomas R, Lipton J, Star R. α -Melanocyte stimulating hormone reduces endotoxin induced liver inflammation. J Clin Invest 1994;97:2038-44.
- 15) Basil DP, Donohoe D, Roethe K, Osborn JL. Renal ischemic

injury results in permanent damage to peritubular capillaries and influences long term function. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001;281:887-99.

- 16) Forbes JM, Hewitson TD, Becker GJ, Jones CL. Ischemic acute renal failure: long-term histology of cell and matrix change in the rat. *Kidney Int* 2000;57:2375-85.
- 17) Chiao H, Kohda Y, McLeroy P, Craig L, Housini I, Star RA.

α -melanocyte-stimulating hormone protects against renal injury after ischemia in mice and rats. *J Clin Invest* 1997;99:1165-72.

- 18) Star RA, Rajora N, Huang J, Chavez R, Catania A, Lipton JM. Evidence of autocrine modulation of macrophage nitric oxide synthase by α -melanocyte stimulating hormone. *Proc Natl Acad Sci* 1995;92:8016-20.
-