

## 토끼에서 내독소 유도 급성 폐손상에 미치는 Propofol과 Gabexate Mesilate (Foy)의 영향

전남대학교 의과대학 마취통증의학교실, <sup>1</sup>치의학전문대학원 마취통증의학교실

정성수<sup>1</sup> · 배홍범 · 김석재 · 정철원 · 정혜진 · 리 매 · 곽상현\*

### Effects of Propofol and Gabexate Mesilate (Foy) on Endotoxin-induced Acute Lung Injury in Rabbit

Sung-Su Chung<sup>1</sup>, Hong-Beom Bae, Seok-Jae Kim, Cheol-Won Jeong, Hye-Jin Chung, Mai Li and Sang-Hyun Kwak\*

Department of Anesthesiology and Pain Medicine, Chonnam National University Medical School and <sup>1</sup>School of Dentistry, Gwangju, Korea

This study was to clarify the effects of propofol and gabexate mesilate (foy), a synthetic protease inhibitor, on endotoxin induced-acute lung injury in rabbit. Animals were randomly assigned to one of five groups. Each group received intravenous infusion of saline only, saline and Escherichia coli endotoxin, propofol (4 mg/kg bolus, then 20 mg/kg/hr) and endotoxin, foy (2 mg/kg bolus, then 2 mg/kg/hr) and endotoxin and propofol (4 mg/kg bolus, then 20 mg/kg/hr) plus foy (2 mg/kg bolus, then 2 mg/kg/hr) and endotoxin. Infusion of saline, propofol or foy was started 30 minutes before the infusion of saline or endotoxin, and continued for 6 hours thereafter. At the end of infusion, animals were sacrificed and the wet to dry (W/D) weight ratio of lung, lung injury score, leukocyte counts, percentage of polymorphonuclear leukocyte (PMNL), and concentrations of albumin and interleukin-8 (IL-8) in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) were evaluated. Endotoxin decreased the PaO<sub>2</sub> and peripheral blood leukocyte and platelet counts. And it increased the W/D weight ratio of lung, the lung injury score, leukocyte counts, percentage of PMNL, and concentration of albumin and IL-8 in BALF. Each propofol or foy attenuated all these changes except the leukocyte count in peripheral blood. These findings suggest that each propofol or foy attenuates endotoxin-induced acute lung injury in rabbit by inhibiting neutrophil, IL-8 and platelet responses which may play a central role in sepsis related lung injury. But both propofol and foy do not show synergic effect.

**Keywords:** Acute lung injury; Endotoxin; Gabexate mesilate (foy); Propofol

## 서 론

급성 호흡곤란 증후군(acute respiratory distress syn-

drome, ARDS)은 높은 유병률과 사망률을 보이는 강력한 폐의 염증반응으로, 중성구 침윤, 간질부종, 외피 구조의 파괴, 그리고 단백이 폐포 공간으로 방출됨으로써 나타나는 심각한 폐의 가스교환 장애를 특징으로 한다.<sup>1</sup>

급성 호흡곤란 증후군에 의한 사망률은 30~70% 정도로 보고되고 있는데, 이는 최근 중환자 의학의 발달에도 불구하고

게재결정: 2008년 11월 19일

\*교신저자: 곽상현, 501-757, 전남대학교병원 마취통증의학과, Phone: 062-220-6893, FAX: 062-232-6294, E-mail: shkwak@jnu.ac.kr

이 질환이 처음 소개되었을 때와 거의 차이가 없다.<sup>2,4</sup> 패혈증은 급성 호흡곤란 증후군을 일으키는 대표적인 병인으로 널리 알려져 있으나<sup>5,6</sup> 급성 호흡곤란 증후군을 유발하는 패혈증에 관한 정확한 병태생리는 아직 밝혀지지 않았다. 급성 호흡곤란 증후군은 폐 내로의 다량의 중성구 침착 및 tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-6, 그리고 IL-8과 같은 염증성 사이토카인들의 증가를 보이며, 이러한 유도체들이 이 질환의 발병과 진행에 중요한 역할을 담당함이 알려져 있다.<sup>7-10</sup> 또한 폐 내에서 중성구의 활성화로 중성구 단백분해 효소(neutrophil protease)와 활성 산소종(reactive oxygen species, ROS)이 방출되어 미세혈관 손상을 일으킨다고 알려져 있다.<sup>11,12</sup>

Propofol은 용량 조절이 쉽고, 회복이 빨라 수술실에서 마취제로 중환자실에서 진정약물로 널리 사용되고 있다. Propofol은 항산화 효과(antioxidant effect)가 있으며,<sup>13-15</sup> 비록 활성산소기가 세포 밖에는 존재하지 않지만, propofol은 임상적인 농도에서 oxidative transformation을 감소시키는 효과가 있고,<sup>16</sup> 사람의 중성구에 영향을 주어 염증반응을 감소시키며,<sup>17</sup> 지혈과정에 영향을 주지 않으면서 혈소판 응집을 방해한다.<sup>18</sup> Propofol은 생체 외에서 지질다당류에 의해 자극된 중성구로부터 IL-8의 분비를 억제한다.<sup>19</sup> 따라서 이러한 Propofol의 효과들은 패혈증으로 인한 급성 폐손상에 긍정적인 방향으로 작용할 것으로 생각한다.

Gabexate Mesilate (foy)는 합성 단백분해 억제제(synthetic protease inhibitor)로 급성췌장염 치료와 혈관내 파종성 응고(disseminate intravascular coagulation, DIC) 치료에 효과적임이 알려져 있다.<sup>20-22</sup>

Foy는 thrombin, plasmin, kallikrein, trypsin 그리고 중성구 elastase의 기능을 억제하며 동시에 중성구의 흡착과 활성화를 억제하는 작용이 있다.<sup>23,24</sup> Foy는 일측 폐환기에 의한 IL-8의 분비를 억제하고,<sup>25</sup> DIC나 패혈증 환자에서 나타나는 혈소판 응집을 억제한다. 이상의 foy의 효과들 역시 패혈증으로 인한 급성 폐손상의 발생에 긍정적인 방향으로 작용할 것으로 생각한다.

본 연구의 목적은 토끼의 내독소 유도 급성 폐손상 모델에서 서로 다른 기전을 가진 약물인 propofol과 foy의 각각의 작용과 두 약물을 동시에 투여하였을 경우에 상승효과가 있는지를 알아보고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 실험동물

체중 2.0~2.5 kg의 백색 토끼를 준비하여 결과치의 안전

성을 위해서 동물 사육사에서 3일간의 적응기간을 거쳤으며 12시간 금식 후 연구를 시행하였다. 모든 실험은 동물 실험 윤리위원회의 승인을 받은 후 시행하였다.

### 2. 외과적 처치

실험실로 운반된 토끼는 ketamine (30 mg/kg, Boehringer Ingelheim)과 xylazine (0.3 mg/kg, Rompun<sup>®</sup>, Bayer, Germany)을 대퇴부에 근육하여 마취를 유도한 후 양와위로 눕힌 상태에서 머리와 사지를 고정하였다. 전 실험동안 하트만용액(8 ml/h)과 마취유지 및 근이완 약물(ketamine 3 mg/kg/h, vecuronium bromide 0.05 mg/kg/h) 투여를 위해 22 gauge 카테터를 사용하여 귀정맥을 확보하였다.

또한 자발호흡 상태에서 lidocaine 국소마취 하에 기관절개술 후 외경 3.5 mm 기관튜브로 기도를 확보하였다. 기도 확보와 동시에 마취제 및 근이완제 투여를 시작하고 압력 보조 인공호흡기(IV100B, Sechrist, Anaheim, CA, USA)를 이용하여 양압환기(FiO<sub>2</sub> 0.5, Inspiratory pressure 18 cmH<sub>2</sub>O, PEEP 3 cmH<sub>2</sub>O)를 실시하였다. 분당호흡횟수는 동맥혈 이산화탄소분압(PaCO<sub>2</sub>)이 35~50 mmHg를 유지하도록 조절하였다.

양압환기가 안정적으로 유지되는 상태에서 우측경동맥에 20 gauge 카테터를 삽입하여 변환기를 통해 환자감시장치(Datex, A/S 3, Finland)에 연결하여 동맥압 및 심박수의 지속적 감시와 혈액가스 분석을 위한 채혈 경로로 이용하였다.

전 실험기간동안 자외선 램프 및 담요를 이용하여 실험동물의 체온을 36~38°C로 유지하였다.

### 3. 실험방법

실험동물들이 혈액학적으로 안정화되면 실험동물들을 투여 약물에 따라 무작위로 다음과 같이 분류하였다. 생리식염수만 정주한 S-S군(n=7), 생리식염수와 Escherichia coli 내독소 0111:B4 (Sigma Chem Co., St. Louis, Mo, U.S.A.)를 30분에 걸쳐 5 mg/kg로 정주한 S-E군(n=7), propofol 5 mg/kg을 부하용량으로 정주한 뒤 propofol 20 mg/kg/hr과 내독소를 정주한 P-E군(n=7), foy 2 mg/kg을 부하용량으로 정주한 뒤 foy 2 mg/kg/hr과 내독소를 정주한 F-E군(n=7), propofol 5 mg/kg과 foy 2 mg/kg 부하용량을 동시에 정주 후 propofol 20 mg/kg/hr, foy 2 mg/kg/hr 그리고 내독소를 정주한 P-F-E군(n=7)으로 분류하였다.

Propofol과 foy의 용량은 과거 본 연구실에서 시행한 실험결과에 의해 내독소 유도 급성폐손상 모델에서 폐손상 정

도를 의미 있게 감소시키는 propofol과 foy 각각의 용량으로 선택하였다.<sup>26,27</sup> S-E와 S-S 그룹은 propofol이나 foy 대신 그에 상응하는 용량의 생리식염수를 주입하였다.

생리식염수, propofol 그리고 foy 주입은 생리식염수나 내독소 주입 30분 전에 시작하였고, 생리식염수나 내독소 주입 시작 후 6시간 동안 지속하였다. 혈액학 변수, 말초혈액 내 백혈구 및 혈소판 수, 동맥혈 가스변수 등을 실험시작 0, 1, 2, 3, 4, 5 및 6시간에 검사를 시행하여 기록하였으며, 실험 시작 6시간 후에 실험동물을 희생하여 폐의 습/건 무게비, 폐손상 정도의 측정을 위한 병리 조직학적 검사 그리고, 폐 세척액 내의 백혈구 수, 호중구(polymorphonuclear leukocyte)의 비율, 알부민 및 interleukin-8 (IL-8) 등의 농도를 측정 비교하였다.

#### 4. 동맥혈 가스 및 세포 분석

동맥혈은 혈액가스분석기(GEM Premier Plus, Instrumentation laboratory, USA) 및 cell counter (XE 2100, Sysmex, Japan)를 사용하여 PaO<sub>2</sub>, PaCO<sub>2</sub>, pH 및 말초혈액의 백혈구와 혈소판 수를 각각 측정하였다.

#### 5. 습/건폐 무게 비

조직 부종의 정도를 측정하기 위해 폐의 좌상엽을 적출하여 습 무게를 측정 후 60°C의 오븐에 48시간 건조시킨 후 건 무게를 측정하여 그 무게의 비를 계산하였다.

#### 6. 조직병리학적 검사

폐의 조직학적 검사를 위해 좌측 폐의 하엽을 분리한 후 주기관지를 통하여 10% glutaraldehyde를 20 cmH<sub>2</sub>O의 압력으로 점적하여 12시간 고정시킨 후 조직을 나누어 hematoxylin-eosin (H-E) 염색을 위한 파라핀(paraffin) embedding하였다. 두 명의 관찰자가 400배율의 광학현미경하에 폐의 손상 정도를 측정하였다. 손상정도는 폐포의 울혈정도, 출혈, 부종, 호중구의 침윤과 집합정도, 폐포 벽의 두께, 하이알린(hyaline)막 생성 정도 등에 따라 0+(no damage)부터 4+(maximal damage)로 나누었다.

#### 7. 기관지 폐포 세척액 준비

세척은 우측폐에서 시행하였고 우측 주기관지를 통하여 35 mL의 생리식염수를 서서히 주입한 후 회수하는 방법으로 5회 시행하였다. 세척에 사용된 식염수는 EDTA (ethylene diamine tetraacetic acid)-Na (Sodium)를 첨가하고 4°C를 유지하여 백혈구의 대사를 최소로 하였다. 또한 arachidonic

acid가 prostaglandin (PG)로의 대사를 억제하기 위해 세척액 내에는 indomethacin을 첨가하였다.

Cell counter (XE 2100, Sysmex, Japan)를 이용하여 기관지 세척액 내의 백혈구와 혈소판 수를 각각 측정하였고, 원심분리(cyocentrifuged spin preparation, CF-RD, Sakura, Japan)를 이용하여 세포를 분리한 후 호중구의 비율의 측정을 위해 Wright-Giemsa 염색을 시행하였다. 또한 나머지 세척액은 원심분리(2500 rpm, 4°C, 5분)를 하여 세포들을 분리하였으며, 여러 가지 매개인자(mediators)의 측정을 위해 세포가 없는 상청액(supernatant)을 여러 개의 작은 용기에 나누어 영하 80°C에 보관하였다.

#### 8. 폐포 세척액의 여러 매개체 측정

폐포 세척액 내의 여러 물질, 유도체, 그리고 매개체들을 측정하였다. albumin의 농도는 goat anti-rabbit albumin (Cappel, Durham, NC, U.S.A.)의 immunoglobulin G fraction을 이용하여 nephrometry로 측정하였고, TxA<sub>2</sub>는 enzyme immunoassay (Amersham, Little Chalfont, U.K.)를 이용하여 TxA<sub>2</sub>의 안정 대사산물인 TxB<sub>2</sub>로 정량화 하여 측정하였으며, IL-8의 농도는 enzyme-linked immunosorbent assay (Amersham, Bucks, U.K.)을 이용하여 측정하였다.<sup>28</sup>

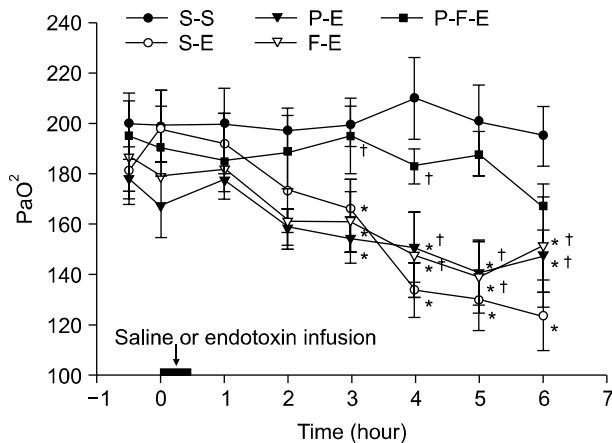
#### 9. 통계분석

중간 값으로 표시한 폐 손상지수를 제외한 모든 측정치는 평균±표준편차로 표현하였다. 통계분석을 위하여 각각의 변화는 반복측정자료의 분산분석법(repeated measured ANOVA)으로 검정한 후 다중 비교를 위해 Dunnett's 검사를 시행하였고, 동맥혈 산소화의 변화는 기준치에 대해 t검정을, 조직학적 측정치는 Wilcoxon-u 검사를 이용하여 p값이 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의하다고 하였다. 통계학적 처리를 위하여 SPSS 11.5를 사용하였다.

## 결 과

#### 1. 동맥혈 가스분석, 말초혈액의 백혈구와 혈소판의 수, 혈액학 변화

동맥혈 내 산소분압은 생리식염수를 투여한 S-S군에 비해 내독소를 투여한 S-E군에서 감소하기 시작하여 내독소 투여 3시간 후부터 투여 전에 비해 유의한 차이를 보였다. Propofol과 foy는 이러한 감소의 정도를 둔화시켰으나 두



**Fig. 1.** Effect of propofol or fof or both of them on changes in arterial oxygen tension( $\text{PaO}_2$ ) in endotoxin induced acute lung injury. Horizontal axis indicates time period after the start of saline or endotoxin infusion. Red circle, saline control group (S-S), blue diamond, endotoxin control group (S-E), black triangle, propofol treated group (P-E), brown square, fof treated group (F-E), propofol and fof treated group (P-F-E). Each point represents mean $\pm$ SEM from seven rabbits. \* $p < 0.05$  versus time matched values in S-S group.

약물을 혼합 투여에 의한 상승효과는 없었다(Fig. 1). 동맥혈 내 pH 및 염기과잉 역시 내독소 투여 후 감소하기 시작하였으나, 이 감소의 정도는 propofol과 fof을 동시에 투여한 군에서만 둔화되었다(Table 1).

말초혈액의 백혈구와 혈소판의 수 역시 내독소를 투여한 후 점차적으로 감소하였고, propofol과 fof을 동시에 투여한 군에서 혈소판 수의 감소만이 둔화되었다.

동맥혈 내 이산화탄소분압과 평균동맥압, 심박동 수는 내독소 투여 후 전 실험 기간 동안 유의한 변화는 보이지 않았다.

## 2. 기관지폐포 세척액 분석

모든 실험 동물의 기관지폐포 세척액의 회수율은 각 군간에 차이 없이 77~85%로 세척액이 비슷하게 회수되었음을 보여 주었다.

세척액 내의 백혈구 수는 내독소를 투여한 군에서 유의하게 증가하였으며, propofol과 fof은 이러한 백혈구 수의 증가를 둔화시켰으나 두 약물의 혼합투여로 인한 상승효과는

**Table 1.** Changes in pH, base excess, leukocyte and platelet counts in peripheral blood

Variables	Time after start of endotoxin or saline infusion							
	-0.5 hr	0 hr	1 hr	2 hr	3 hr	4 hr	5 hr	6 hr
pH								
S-S	7.23 $\pm$ 0.01	7.32 $\pm$ 0.01	7.36 $\pm$ 0.03	7.38 $\pm$ 0.02	7.33 $\pm$ 0.02	7.34 $\pm$ 0.02	7.33 $\pm$ 0.01	7.34 $\pm$ 0.04
S-E	7.31 $\pm$ 0.01	7.29 $\pm$ 0.02	7.28 $\pm$ 0.01	7.22 $\pm$ 0.02*	7.17 $\pm$ 0.02*	7.09 $\pm$ 0.05*	7.06 $\pm$ 0.04*	7.04 $\pm$ 0.04*
P-E	7.34 $\pm$ 0.01	7.35 $\pm$ 0.02	7.32 $\pm$ 0.02	7.13 $\pm$ 0.05*	7.11 $\pm$ 0.04*	7.09 $\pm$ 0.04*	7.08 $\pm$ 0.04*	7.02 $\pm$ 0.04*
F-E	7.34 $\pm$ 0.01	7.32 $\pm$ 0.02	7.34 $\pm$ 0.02	7.16 $\pm$ 0.03*	7.14 $\pm$ 0.03*	7.11 $\pm$ 0.03*	7.02 $\pm$ 0.04*	7.01 $\pm$ 0.07*
P-F-E	7.35 $\pm$ 0.02	7.32 $\pm$ 0.02	7.34 $\pm$ 0.03	7.26 $\pm$ 0.02*	7.24 $\pm$ 0.02*†	7.28 $\pm$ 0.02*†	7.26 $\pm$ 0.03*†	7.25 $\pm$ 0.03*†
Base excess (mEq/L)								
S-S	-7.8 $\pm$ 0.3	-8.0 $\pm$ 0.9	-7.5 $\pm$ 1.0	-5.3 $\pm$ 0.8	-8.2 $\pm$ 0.7	-7.3 $\pm$ 0.8	-7.0 $\pm$ 0.6	-7.6 $\pm$ 1.3
S-E	-6.8 $\pm$ 1.2	-6.5 $\pm$ 0.5	-7.5 $\pm$ 0.8	-10.0 $\pm$ 0.8*	-12.8 $\pm$ 0.2*	-14.2 $\pm$ 0.5*	-15.6 $\pm$ 0.9*	-16.3 $\pm$ 1.1*
P-E	-9.7 $\pm$ 1.3	-10.8 $\pm$ 1.2	-11.0 $\pm$ 0.6	-16.0 $\pm$ 1.4*	-14.5 $\pm$ 1.4*	-16.7 $\pm$ 1.3*	-16.5 $\pm$ 1.6*	-17.2 $\pm$ 1.2*
F-E	-8.4 $\pm$ 1.3	-9.5 $\pm$ 1.2	-11.4 $\pm$ 0.5	-15.1 $\pm$ 0.8*	-14.5 $\pm$ 1.4*	-16.9 $\pm$ 1.2*	-16.4 $\pm$ 1.6*	-18.3 $\pm$ 1.2*
P-F-E	-8.6 $\pm$ 1.2	-8.7 $\pm$ 1.4	-9.1 $\pm$ 1.2	-11.3 $\pm$ 1.2*	-12.0 $\pm$ 1.6*	-10.1 $\pm$ 1.1*†	-12.5 $\pm$ 1.4*†	-8.6 $\pm$ 0.9†
Leukocytes ( $\times 10^2/\text{mm}^3$ )								
S-S	43 $\pm$ 2	46 $\pm$ 2	44 $\pm$ 3	48 $\pm$ 4	49 $\pm$ 4	48 $\pm$ 5	42 $\pm$ 3	45 $\pm$ 2
S-E	52 $\pm$ 5	51 $\pm$ 6	26 $\pm$ 4*	21 $\pm$ 3*	16 $\pm$ 2*	14 $\pm$ 2*	11 $\pm$ 2*	16 $\pm$ 2*
P-E	47 $\pm$ 4	56 $\pm$ 5	27 $\pm$ 5*	20 $\pm$ 3*	10 $\pm$ 2*	13 $\pm$ 4*	15 $\pm$ 7*	12 $\pm$ 2*
F-E	54 $\pm$ 4	52 $\pm$ 6	26 $\pm$ 5*	22 $\pm$ 2*	13 $\pm$ 3*	13 $\pm$ 4*	17 $\pm$ 7*	12 $\pm$ 1*
P-F-E	46 $\pm$ 3	50 $\pm$ 5	23 $\pm$ 2*	23 $\pm$ 2*	11 $\pm$ 2*	12 $\pm$ 2*	12 $\pm$ 1*	13 $\pm$ 3*
Platelets ( $\times 10^3/\text{mm}^3$ )								
S-S	235 $\pm$ 13	235 $\pm$ 17	240 $\pm$ 15	242 $\pm$ 19	240 $\pm$ 21	229 $\pm$ 16	242 $\pm$ 21	237 $\pm$ 24
S-E	252 $\pm$ 29	242 $\pm$ 27	119 $\pm$ 35*	138 $\pm$ 32*	106 $\pm$ 21*	97 $\pm$ 31*	64 $\pm$ 21*	89 $\pm$ 32*
P-E	271 $\pm$ 25	268 $\pm$ 24	157 $\pm$ 27*	156 $\pm$ 31*	153 $\pm$ 27*	133 $\pm$ 17*	135 $\pm$ 16*	126 $\pm$ 30*
F-E	271 $\pm$ 32	268 $\pm$ 25	165 $\pm$ 19*	153 $\pm$ 37*	158 $\pm$ 31*	129 $\pm$ 18*	132 $\pm$ 18*	119 $\pm$ 22*
P-F-E	265 $\pm$ 22	274 $\pm$ 19	209 $\pm$ 10*†	205 $\pm$ 17*†	181 $\pm$ 10*†	147 $\pm$ 12*†	166 $\pm$ 13*†	147 $\pm$ 18*†

Values are mean $\pm$ SEM. S-S, saline only; S-E, saline+endotoxin; P-E, propofol+endotoxin; F-E, fof+endotoxin; P-F-E, propofol+fof+endotoxin. \* $p < 0.05$  versus group S-S; † $p < 0.05$  for group P-E, F-E and P-F-E versus group S-E.

**Table 2.** Analysis of bronchoalveolar lavage fluids (BALF), wet to dry (W/D) weight ratio and lung injury score (LIS)

Variables	S-S	S-E	P-E	F-E	P-F-E
BALF					
Leukocyte count	183±79	534±126*	429±178* <sup>†</sup>	378±122* <sup>†</sup>	415±125* <sup>†</sup>
% PMN	3.34±0.22	8.61±0.43*	5.14±0.36* <sup>†</sup>	5.19±0.64* <sup>†</sup>	3.83±0.22 <sup>†</sup>
Albumin (mg/dl)	1.3±0.5	8.7±1.3*	4.7±0.4* <sup>†</sup>	3.7±0.5* <sup>†</sup>	2.5±0.4 <sup>†</sup>
IL-8 (fmol/ml)	1±0.2	14±4*	7±0.5* <sup>†</sup>	6.8±0.5* <sup>†</sup>	3±2* <sup>†</sup>
TxB <sub>2</sub> (pg/ml)	134±25	222±44*	188±48*	187±38*	156±22* <sup>†</sup>
W/D ratio	2.33±0.29	3.99±0.34*	2.75±0.32* <sup>†</sup>	3.11±0.21* <sup>†</sup>	2.74±0.47 <sup>†</sup>
LIS (median [range])	1 (1~2)	3 (2~4)	2 (1~3)	2 (1~3)	2 (1~3)

Values are mean±SEM. S-S, saline only; S-E, saline+endotoxin; P-E, propofol+endotoxin; F-E, foy+endotoxin; P-F-E, propofol+foy+endotoxin. PMN, polymorphonuclear neutrophil; IL-8, Interleukin-8; TxB<sub>2</sub>, Thromboxane B<sub>2</sub>. \*p<0.05 versus group S-S; <sup>†</sup>p<0.05 for group P-E, F-E or P-F-E versus group S-E; <sup>‡</sup>p<0.01 for group P-E, F-E or P-F-E versus group S-E versus group S-E.

없었다(Table 2).

백혈구의 분화계수(differential counts)에 의하면 식염수를 투여한 S-S 군에서 대부분이 대식세포였으나, 내독소를 투여한 S-E 군에서는 다형핵 중성구의 증가(평균 8%)를 보였으며, propofol (평균 5.1%)과 foy (평균 5.1%)는 이러한 증가를 억제시켰으며, 두 약물을 혼합투여(평균 3.8%) 시 이러한 억제 정도가 단독 투여 시보다 유의하게 증가하였다(Table 2).

Albumin, TxB<sub>2</sub> 그리고 IL-8의 농도 역시 내독소를 투여한 군에서 증가하였고, propofol과 foy는 이러한 증가를 억제시켰으며, 두 약물을 혼합투여 시 이러한 억제 정도가 단독 투여 시보다 유의하게 증가하였다(Table 2).

### 3. 습/건폐 무게 비

폐 부종의 정도를 나타내는 습/건폐 무게비는 식염수를 투여한 S-S군과 비교하여 내독소를 투여한 S-E군에서 유의한 증가를 보였으나, propofol과 foy는 이러한 증가를 억제시켰으며, 두 약물을 혼합투여 시 이러한 억제 정도가 단독 투여 시보다 유의하게 증가하였다(Table 2).

### 4. 조직병리학적 검사

내독소를 투여받은 토끼의 폐조직에서 부종, 출혈, 폐포벽의 비후 그리고 염증세포의 폐포 내 침윤을 특징으로 하는 폐손상 소견이 보였으며, 폐손상 정도를 점수화한 폐손상 점수는 생리식염수를 투여한 S-S군에 비해 내독소를 투여한 S-E군에서 유의하게 증가하였으며, propofol과 foy는 이러한 증가를 억제하였다. 하지만 두 약물의 동시 투여에 의한 상승효과는 보이지 않았다.

## 고 찰

본 연구에서 propofol과 foy, 그리고 이약물의 혼합 투여는 내독소에 의해 유도된 산소화의 장애, 폐 부종(습/건폐 무게비의 증가, 폐포 세척액에서의 albumin 농도증가) 소견과 IL-8과 중성구의 활성화 그리고 조직학적인 폐손상 소견들을 예방하였다.

폐혈증으로 인한 급성 호흡곤란 증후군은 중성구의 침착, 간질부종, 폐포 외피 구조의 붕괴와 단백질의 폐포 내로의 유출 등에 의한 가스교환에 심각한 장애를 특징으로 하는 폐의 염증반응 복합체이다.<sup>1</sup> 지금까지 폐혈증으로 인한 급성 폐손상의 기전을 설명하는 여러 가설들이 제기되어 왔으나 아직 정확한 기전은 완전히 밝혀지지 않은 실정이다.

급성 호흡곤란 증후군 환자의 혈액과 폐포 세척액에서 발견되는 중성구, cytokines/chemokines, lipid mediators (phospholipase A2, thromboxane A2, prostacyclin) 그리고 혈소판 활성화 인자(platelet activating factor) 등을 포함하는, 다양한 염증 유도체들이 급성 폐손상 및 호흡곤란 증후군의 시작과 진행에 중요한 역할을 담당함이 알려진 바 있다.<sup>29,30</sup>

내독소는 폐포의 대식세포 활성화를 통해 TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 그리고 IL-8과 같은 염증성 사이토카인의 분비를 촉진하고, 이들은 중성구의 주화성(chemotaxis)과 중성구를 폐포 혈관 내피 막에 밀착을 촉진시킨다.<sup>31,32</sup> 또한 C3a나 C5a와 같은 보체의 분비를 활성화 시켜, 중성구의 유리 및 활성화를 초래한다.

폐포 혈관 내막에 유착된 활성화된 중성구는 접착 분자를 통하여 단백질분해 효소, 반응성 산소종, 그리고 특히 TxA<sub>2</sub>와 같은 arachidonic acids 유도체를 분비하여 내막을 공격한

다. 이러한 물질들은 기관지 수축과 폐혈관 수축을 야기하고, 모세혈관 투과성을 증가시킴으로써 폐부종을 야기하게 된다.

중성구와 염증 전구 단백질은 병원균 박멸에 필수적이기는 하지만 과다한 분비는 장기 손상을 일으키므로 중성구와 염증 전구 단백질은 폐혈증에서 양날의 칼에 비유된다. 따라서 그들의 활성화와 폐내 제거 사이의 균형은 폐손상의 발현에 매우 중요하다.

본 연구에서 propofol과 foy의 단독 및 혼합투여는 내독소에 의한 습/건폐 무게 비의 증가 정도와 폐포 세척액의 albumin 농도 증가, 그리고 조직학적 변화 등으로 측정된 폐부종의 정도를 감소시켰다.

중성구의 활성화로 생성된 단백질 분해효소와 활성산소유리기 같은 염증 매개체와 중성구 응집들이 폐혈관 손상에 밀접한 연관이 있음이 알려져 있다.<sup>33</sup> 또한 활성 산소유리기는 단백질분해효소(antiprotease)를 불활성화 시키고, 또한 중성구 분해효소(neutrophil elastase)의 미세혈관 구조에 친화성을 증가시켜 궁극적으로 부종성 폐손상의 초래에 관여하게 된다.

Inada 등<sup>34</sup>은 복부 폐혈증을 가진 쥐에서 propofol이 neutrophil hydrogen peroxide 생성을 억제시킨다고 하였다. 비록 본 실험에서 혈장이나 폐포 세척액에서 hydrogen peroxide의 농도를 구하지는 않았지만 propofol에 의한 연쇄반응의 중단은 혈장 혈소판 응집과 폐로의 중성구 침착을 감소시키는 데 합당하였다. 이는 propofol이 내독소에 의한 폐부종과 동맥혈 산소화 악화에 반하는 작용을 한다는 것을 암시한다. Propofol이 혈장 cytokine에 미치는 여러 보고가 있었다.

Crozier 등<sup>35</sup>은 propofol과 alfentanil을 이용한 전정맥 마취 하에서 자궁적출술을 시행받은 환자에서 IL-6의 발현의 억제를 보고하였다. Galley 등<sup>19</sup>은 propofol은 IL-8 분비를 포함하는 지질다당류(LPS)에 의한 중성구활성화를 억제시켰다고 하였다. 또한 Taniguchi 등<sup>36</sup>은 propofol이 쥐의 내독소 혈증 모형에서 IL-6의 발현을 감소시켰다고 하였다. 본 연구에서는 P-E군에서 내독소 혈증 군에 비하여 폐포 세척액 내 IL-8의 농도를 의미 있게 감소시켰다. 이 소견은 폐포 세척액 내에서라도 propofol이 내독소 혈증에 대한 cytokine의 작용에 반대효과가 있음을 나타낸다. 이러한 소견은 cytokine 증가가 없음이 P-E군에서 산소화의 악화와 폐부종을 감소시키는 데 도움을 준다는 것을 암시한다.

본 연구에서 폐포 세척액의 다형핵 중성구의 증가는 P-E

군에서 용량 의존적으로 감소되었다. 여러 연구자들이 생체 외에서 propofol의 중성구 억제능력을 보고하였다. Mikawa 등<sup>17</sup>은 propofol이 대식세포의 기능을 억제하고 중성구의 활성 산소기 생성을 억제함을 보고하였다. Inada 등<sup>34</sup>은 propofol과 midazolam이 폐혈증의 임상적 농도에서 중성구의 hydrogen peroxide 생성을 억제한다고 하였다. 본 실험의 결과는 그들의 결과와 일치하며, 우리는 생체 내 실험에서도 propofol이 내독소 혈증에 미치는 중성구의 기능을 억제한다는 결론을 내릴 수 있겠다.

본 실험에서 propofol은 폐혈증으로 인한 혈소판 수 감소의 정도를 억제시켰다. 이러한 소견은 propofol이 혈소판 응집을 억제함을 암시한다. Hirakata 등<sup>37</sup>은 생체 외에서 사람 혈소판에 대하여 propofol의 증강과 억제기능 모두를 가지고 있다고 하였는데, 낮은 농도의 propofol (40 nM)은 adenosin diphosphate와 epinephrine에 의해 유도된 이차적 혈소판 응집을 증강시키는데 비하여 고농도의 propofol (100 M)에서는 이를 억제한다고 하였다. Aoki 등<sup>18</sup>은 생체 내와 생체 외 모두에서 propofol이 혈소판 응집을 억제한다고 하였다. De La Cruz 등<sup>38</sup>은 수술을 받는 환자들의 혈소판을 측정용 통하여 propofol이 세포 산화 손상을 감소시킨다고 하였다. 이러한 보고는 본 연구에서의 고농도의 propofol이 혈소판 응집 억제효과를 보인 것과 일치하였다.

본 실험에서 foy가 습/건 폐 무게비와 폐포 세척액에서 albumin의 농도의 증가를 둔화시키고, 폐혈증 토끼의 폐 조직학적 손상의 정도를 감소시켰다. 그리고 내독소에 의한 중성구, IL-8, 및 혈소판의 반응을 약화시켰다. 이러한 지표들은 혈관 내피 투과성 장애에 의한 폐부종의 지표가 되기 때문에 매우 중요한 결과이다.

폐혈증에서 이런 foy의 효과에 대한 정확한 기전은 알려져 있지 않지만 foy로 인한 일련의 반응 중단은 폐로의 중성구 유입과 혈장 내 혈소판의 응집을 막는 데 역할을 하는 것으로 추측된다. 이러한 사실은 foy가 내독소에 의한 동맥 내 산소화의 저하와 폐부종을 막는 것을 암시한다. 또한 F-E군에서 폐포 세척액의 다형핵 백혈구의 비율의 증가가 감소되어 있었다. 몇몇의 연구자들은 foy가 중성구의 기능을 억제하는 것을 보고하였다. Nishijima 등<sup>23</sup>과 Mikawa 등<sup>39</sup>은 foy가 인간 중성구의 기능을 방해하는 것을 보고하였다. Okumura 등<sup>11</sup>은 foy가 급성체장염에 의한 급성 호흡곤란 증후군에서 다형핵 백혈구의 축적을 방해할 수도 있음을 보고하였다. Tamura 등<sup>17</sup>은 foy가 인간 다형핵 백혈구에 의한 superoxide와 hydrogen peroxide, hydroxyl radical의 생성

을 억제함을 보고하였다. Foy가 폐혈증에서 중성구의 기능을 방해한다는 본 연구에서의 결과는 이들의 결과들과 일치하며 생체 내에서도 증명되었다. 본 연구에서 내독소 혈증을 가진 토끼에서 foy가 폐포 세척액에서 IL-8의 발현을 억제한다는 사실은 매우 흥미롭다.

Foy의 혈장 cytokine에 대한 효과는 몇몇의 연구에서 보고되었다. Li 등<sup>18</sup>은 protease inhibitor를 투여받은 환자에서 일측 폐환기 하에 수술을 시행한 경우 IL-8의 생성이 억제되었음을 보고하였다. Harada 등<sup>40</sup>은 foy가 혈액 고를 방해하는 것이 아니라 활성화된 백혈구에서 IL-8의 분비를 억제하여 쥐에서 허혈과 재관류에 의한 간 손상을 감소시키는 것을 밝혔다. Foy가 내독소 혈증에 의한 중성구의 기능을 방해한다는 본 연구에서의 발견은 위의 결과들과 일치하며 폐포 세척액 농도에서 확정되었다. 위의 결과는 IL-8의 증가를 억제하는 것이 F-E군에서 폐부종과 산소화 결핍을 완화시키는 데 도움이 될 수도 있음을 암시한다. 본 실험에서 foy는 내독소 혈증을 가진 토끼에서 혈액 내 혈소판 수치의 감소를 약화시켰다. 이는 foy가 혈소판 응집을 억제하는 효과가 있음을 암시한다.

Toyozumi 등<sup>41</sup>은 foy가 급성 특발성 혈소판 감소증(ITP) 환자에서 ITP에서의 회복을 자극한다고 보고하였다. 그들은 foy의 보체 억제 기능이 혈소판 증가에 관여한다고 보았다. Tanaka 등<sup>21</sup>도 foy가 폐혈증이나 혈관 내 파종성 응고 환자에서 proteinase를 억제하고 이러한 환자에서 ITP의 원인으로 알려진 혈소판 응집을 억제하는 효과가 있어 사용될 수 있음을 보고하였다. 이러한 보고들은 foy가 혈소판 응집을 억제하는 효과가 있다는 우리의 실험결과와 일치한다.

내독소에 의한 폐손상 기전은 복잡하지만 이러한 손상의 마지막 단계는 활성화 산소기, protease, 활성화된 백혈구, 대식세포, 혈소판에 의한 arachidonic acid의 분비에 의한 내피 및 외피의 손상, 고투과성 부종이다. 이러한 반응은 활성화된 대식세포, 중성구, 혈소판, 내피세포와 cytokine이나 활성화된 보체에 의한 다양한 매개체에 의하여 수 시간이 소요된다. 그러므로 propofol과 foy의 조기 투여는 폐손상을 완화시키기 위해 이러한 마지막 단계를 목표로 할 수 있다.

이번 연구의 결과는 폐혈증에 의한 급성 호흡곤란 증후군을 가진 환자에게 propofol을 사용함으로써 진정효과뿐만 아니라 염증반응도 감소시킬 수 있는 장점이 있고, foy 또한 항염증효과에 이점을 지녔음을 암시하고 있다. 하지만 이러한 서로 다른 작용기전을 가진 두 약물을 동시에 투여하여

상승작용을 기대한 P-F-E군에서는 단지 additive 효과만이 나타났다.

본 실험의 제한점으로는 급성 호흡곤란 증후군 치료에 있어 단일 약제로 사용되었을 때의 propofol과 foy의 적절한 치료 용량과 보다 장시간에 걸친 치료효과에 대한 연구가 더 필요하다는 것이고 앞으로 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 생각한다. 또한 본 실험에서 propofol과 foy는 급성 호흡곤란 증후군 치료에 병합 사용되었을 경우에는 상승 효과는 없는 것으로 생각하지만, 앞으로 더욱 많은 연구가 진행되어 각각 다른 기전을 가진 약물을 병합 투여하였을 때 상승작용을 나타낼 수 있는 약물에 관하여 더욱 많은 연구가 진행되어야 하겠다.

## 알 림

이 논문은 2002년도 전남대학교 학술연구비 지원에 의하여 연구되었음.

## References

1. Kollef MH, Schuster DP. The acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med* 1995;332:27-37.
2. Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, et al. The American-European Consensus Conference on ARDS. Definitions, mechanisms, relevant outcomes, and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:818-24.
3. Sloane PJ, Gee MH, Gottlieb JE, Albertine KH, Peters SP, Burns JR, et al. A multicenter registry of patients with acute respiratory distress syndrome. Physiology and outcome. *Am Rev Respir Dis* 1992;146:419-26.
4. Vasilyev S, Schaap RN, Mortensen JD. Hospital survival rates of patients with acute respiratory failure in modern respiratory intensive care units. An international, multicenter, prospective survey. *Chest* 1995;107:1083-8.
5. Knaus WA, Sun X, Hakim RB, Wagner DP. Evaluation of definitions for adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150:311-7.
6. Repine JE. Scientific perspective on adult respiratory distress syndrome. *Lancet* 1992;339:466-9.
7. Chollet-Martin S, Jourdain B, Gibert C, Elbim C, Chastre J, Gougerot-Pocidalo MA. Interactions between neutrophils and cytokines in blood and alveolar spaces during ARDS. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:594-601.
8. Goodman RB, Strieter RM, Martin DP, Steinberg KP, Milberg JA, Maunder RJ, et al. Inflammatory cytokines in patients with persistence of the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*

- 1996;154:602-11.
9. Suter PM, Suter S, Girardin E, Roux-Lombard P, Grau GE, Dayer JM. High bronchoalveolar levels of tumor necrosis factor and its inhibitors, interleukin-1, interferon, and elastase, in patients with adult respiratory distress syndrome after trauma, shock, or sepsis. *Am Rev Respir Dis* 1992;145:1016-22.
10. Jacobs RF, Tabor DR, Burks AW, Campbell GD. Elevated interleukin-1 release by human alveolar macrophages during the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1989;140:1686-92.
11. Okumura Y, Inoue H, Fujiyama Y, Bamba T. Effects of serine protease inhibitors on accumulation of polymorphonuclear leukocytes in the lung induced by acute pancreatitis in rats. *J Gastroenterol* 1995;30:379-86.
12. McCord JM, Gao B, Leff J, Flores SC. Neutrophil-generated free radicals: possible mechanisms of injury in adult respiratory distress syndrome. *Environ Health Perspect* 1994;102(Suppl 10):S57-60.
13. Murphy PG, Bennett JR, Myers DS, Davies MJ, Jones JG. The effect of propofol anaesthesia on free radical-induced lipid peroxidation in rat liver microsomes. *Eur J Anaesthesiol* 1993;10:261-6.
14. Mathy-Hartert M, Deby-Dupont G, Hans P, Deby C, Lamy M. Protective activity of propofol, Diprivan and intralipid against active oxygen species. *Mediators Inflamm* 1998;7:327-33.
15. Murphy PG, Myers DS, Davies MJ, Webster NR, Jones JG. The antioxidant potential of propofol (2,6-diisopropylphenol). *Br J Anaesth* 1992;68:613-8.
16. Heine J, Leuwer M, Scheinichen D, Arseniev L, Jaeger K, Piepenbrock S. Flow cytometry evaluation of the in vitro influence of four i.v. anaesthetics on respiratory burst of neutrophils. *Br J Anaesth* 1996;77:387-92.
17. Mikawa K, Akamatsu H, Nishina K, Shiga M, Maekawa N, Obara H, et al. Propofol inhibits human neutrophil functions. *Anesth Analg* 1998;87:695-700.
18. Aoki H, Mizobe T, Nozuchi S, Hiramatsu N. In vivo and in vitro studies of the inhibitory effect of propofol on human platelet aggregation. *Anesthesiology* 1998;88:362-70.
19. Galley HF, Dubbels AM, Webster NR. The effect of midazolam and propofol on interleukin-8 from human polymorphonuclear leukocytes. *Anesth Analg* 1998;86:1289-93.
20. Pederzoli P, Cavallini G, Falconi M, Bassi C. Gabexate mesilate vs aprotinin in human acute pancreatitis (GA.ME.P.A.). A prospective, randomized, double-blind multicenter study. *Int J Pancreatol* 1993;14:117-24.
21. Taenaka N, Shimada Y, Hirata T, Nishijima M, Yoshiya I. New approach to regional anticoagulation in hemodialysis using gabexate mesilate (FOY). *Crit Care Med* 1982;10:773-5.
22. Yoshikawa T, Furukawa Y, Murakami M, Takemura S, Kondo M. Protective effect of gabexate mesilate against experimental disseminated intravascular coagulation in rats. *Haemostasis* 1983;13:262-7.
23. Nishijima J, Hiraoka N, Murata A, Oka Y, Kitagawa K, Tanaka N, et al. Protease inhibitors (gabexate mesilate and ulinastatin) stimulate intracellular chemiluminescence in human neutrophils. *J Leukoc Biol* 1992;52:262-8.
24. Tamura K, Manabe T, Imanishi K, Nonaka A, Asano N, Yamaki K, et al. Effect of synthetic protease inhibitors on superoxide (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and hydroxyl radical production by human polymorphonuclear leukocytes. *Hepatogastroenterology* 1992;39:59-61.
25. Li W, Wang J, Jiang YB, Xu MX. Effects of ulinastatin on interleukin-8 during one-lung ventilation in surgery. *Ai Zheng* 2003;22:1074-6.
26. Kwak SH, Choi JI, Park JT. Effects of propofol on endotoxin-induced acute lung injury in rabbit. *J Korean Med Sci* 2004;19:55-61.
27. Kwak SH, Jung G, Choi CH, Kim CM, Bae HB, Chung ST, et al. Effects of gabexate mesilate (Foy®) on endotoxin-induced acute lung injury in rabbit. *Korean J Anesthesiol* 2005;49(Suppl):S26-34.
28. Matsukawa A, Yoshimura T, Miyamoto K, Ohkawara S, Yoshinaga M. Analysis of the inflammatory cytokine network among TNF alpha, IL-1 beta, IL-1 receptor antagonist, and IL-8 in LPS-induced rabbit arthritis. *Lab Invest* 1997;76:629-38.
29. Demling RH. Adult respiratory distress syndrome: current concepts. *New Horiz* 1993;1:388-401.
30. Touqui L, Arbibe L. A role for phospholipase A2 in ARDS pathogenesis. *Mol Med Today* 1999;5:244-9.
31. Brigham KL, Meyrick B. Endotoxin and lung injury. *Am Rev Respir Dis* 1986;133:913-27.
32. Bernard C, Tedgui A. Cytokine network and the vessel wall. Insights into septic shock pathogenesis. *Eur Cytokine Netw* 1992;3:19-33.
33. Glauser FL, Fairman RP. The uncertain role of the neutrophil in increased permeability pulmonary edema. *Chest* 1985;88:601-7.
34. Inada T, Taniuchi S, Shingu K, Kobayashi Y, Fujisawa J, Nakao S. Propofol depressed neutrophil hydrogen peroxide production more than midazolam, whereas adhesion molecule expression was minimally affected by both anesthetics in rats with abdominal sepsis. *Anesth Analg* 2001;92:437-41.
35. Crozier TA, Muller JE, Quittkat D, Sydow M, Wuttke W, Kettler D. Effect of anaesthesia on the cytokine responses to abdominal surgery. *Br J Anaesth* 1994;72:280-5.
36. Taniguchi T, Yamamoto K, Ohmoto N, Ohta K, Kobayashi T. Effects of propofol on hemodynamic and inflammatory responses to endotoxemia in rats. *Crit Care Med* 2000;28:1101-6.
37. Hirakata H, Nakamura K, Yokubol B, Toda H, Hatano Y, Urabe N, et al. Propofol has both enhancing and suppressing effects on human platelet aggregation in vitro. *Anesthesiology* 1999;91:1361-9.
38. De La Cruz JP, Zanca A, Carmona JA, de la Cuesta FS. The effect of propofol on oxidative stress in platelets from surgical patients. *Anesth Analg* 1999;89:1050-5.
39. Mikawa K, Akamatsu H, Maekawa N, Nishina K, Obara H, Niwa Y. Inhibitory effect of gabexate mesilate on human neutrophil function. *J Int Med Res* 1994;22:245-54.
40. Harada N, Okajima K, Kushimoto S. Gabexate mesilate, a synthetic protease inhibitor, reduces ischemia/reperfusion injury of rat liver by inhibiting leukocyte activation. *Crit Care Med* 1999;27:1958-64.
41. Toyozumi H, Ikeda Y. Gabexate mesilate induced recovery from thrombocytopenia in a patient with acute ITP. *Rinsho Ketsueki* 1996;37:624-9.