

장 허혈-재관류에서 폐조직의 Inducible Nitric Oxide Synthase 유전자 발현에 대한 저체온증의 효과

서울대학교 의과대학 응급의학과, 서울대학교 의과대학 외과*, 제주대학교 의과대학 응급의학과**
서울대학교 의과대학 병리학교실***, 전북대학교 치과대학 구강악안면외과학교실****

김규석 · 이정훈 · 서길준 · 윤여규* · 강영준** · 김민아*** · 조상기**** · 신호범****

— Abstract —

The Effect of Hypothermia on Lung Inducible Nitric Oxide Synthase Gene Expression in Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury

Kyuseok Kim, M.D., Jeong Hun Lee, M.D., Gil Joon Suh, M.D.,
Yeo Kyu Youn, M.D. *, Young Joon Kang, M.D. **, Min A Kim, M.D. ***,
Sang-Ki Cho, Ph.D. ****, Hyo-Keun Shin, Ph.D. ****

Department of Emergency Medicine, Seoul National University College of Medicine

*Department of Surgery, Seoul National University College of Medicine**

*Department of Emergency Medicine, Cheju National University College of Medicine***

*Department of Pathology, Seoul National University College of Medicine****

*Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Chonbuk National University*****

Purpose: Although hypothermia has been used in many clinical situations, such as post cardiopulmonary resuscitation, stroke, traumatic brain injury, septic shock, and hemorrhagic shock, the mechanism by which it works has not been clearly elucidated. We aimed to evaluate the effect of hypothermia on the plasma nitric oxide (NO) concentration, lung iNOS expression, and histologic changes in intestinal ischemia-reperfusion (IR).

Method: Male Sprague-Dawley rats were randomly divided into the hypothermia group (HT, n=8, 27~30°C) and the normothermia group (NT, n=8, 36~37°C). They underwent 30 min of intestinal ischemia by clamping the superior mesenteric artery, which was followed by 1.5 h of reperfusion. They were then sacrificed. The acute lung injury (ALI) score, the plasma NO concentration, and lung iNOS gene expression were measured.

Results: Compared with the HT group, the NT group showed severe infiltrations of inflammatory cells, alveolar hemorrhages, and interstitial hypertrophies in lung tissues. There were significant differences in the ALI scores between the NT and the HT groups (8.7 ± 1.5 /HPF in NT vs 5.8 ± 1.2 /HPF in HT, $p=0.008$). Although the plasma NO concentration was slightly lower in the HT group, there was no significant difference between the two groups (0.80 ± 0.24 μ mol/L in NT vs 0.75 ± 0.30 μ mol/L in HT, $p=0.917$). Lung iNOS gene expression was stronger in the NT group than in the HT group. The band density of the expression of iNOS in lung tissues was significantly increased in the NT group compared to the HT group (5.54 ± 2.75 in NT vs 0.08 ± 0.52 in HT, $p=0.002$).

Conclusions: This study showed that hypothermia in intestinal IR reduces inflammatory responses, ALI scores, and iNOS gene expression in lung tissues. There was no significant effect of hypothermia on the plasma NO concentration. (K Korean Soc Traumatol 2006;19:14-20)

Key Words: Hypothermia, Ischemia-reperfusion, iNOS

* Address for Correspondence : Gil Joon Suh, M.D.

Department of Emergency Medicine, Seoul National University College of Medicine,
28 Yongon-dong, Chongno-gu, Seoul, 110-744, South Korea
Tel : 82-2-2072-2470, Fax : 82-2-3672-8871, E-mail : suhgil@snu.ac.kr

접수일: 2006년 5월 12일, 심사일: 2006년 5월 24일, 수정일: 2006년 6월 5일, 승인일: 2006년 6월 14일

I. 서론

허혈-재관류 손상은 반응성 산소기(reactive oxygen intermediate)를 형성하고 이로 인하여 세포의 지질과산화물을 초래하여 세포의 손상을 유발하는 것으로 알려져 왔다(1).

장 허혈-재관류 손상 역시 장 점막의 보호기능의 손상을 초래하여 장내 내용물, 세균, 세균 부산물이 장 점막을 통하여 장간막 림프절과 문맥으로 침범한다는 증거가 많이 있다. 짧은 기간의 장의 허혈성 손상은 다양한 염증매개물질, 예를 들면 아라키돈산 대사산물, 히스타민, TNF- α 등을 분비하며, 장 점막의 투과성을 변화시키고, 점막손상을 유발시킨다(2). 허혈-재관류 손상에 관여하는 기전은 확실하지는 않으나 증성구에 의해 산소유리기의 생성 및 단백질분해효소의 분비에 의한다는 것(3) 미세혈관의 저항을 증가시켜 혈류를 흐르지 않게 하여서 발생한다고 하였으며(4), 일부는 비만세포가 과립구를 활성화시키고 과립구 침윤을 야기시키며, 점막기능의 이상을 야기시킨다고 하였다(5).

산화질소(nitric oxide : NO)는 다양한 생물학적 활성도를 지닌 지질친화성 가스로서 조직이 허혈성 상태에 있는 경우 합성이 증가한다. 산화질소는 합성에 관여하는 효소인 nitric oxide synthase (이하 NOS라 함)에 의해 아미노산인 L-arginine이 반응성 유리기인 NO와 citrulline으로 만들어지는 과정을 통해 생성된다. 산화질소 합성효소인 NOS는 세가지 형태의 동종효소가 있으며, 각각 다른 유전자에서 합성된다. 크게 c-NOS (constitutive NOS)와 i-NOS (inducible NOS)가 있으며, c-NOS는 다시 신경세포에 존재하는 neuronal c-NOS (NOS-I)와 혈관내피세포에 존재하는 endothelial c-NOS (NOS-III)로 나뉜다. Inducible NOS (NOS-II)는 cytokines, 세균부산물, 내독소 등에 의해 유도되며, 대식세포, 백혈구, Kupffer 세포, 혈관내피세포, 간세포, 폐포세포 등에서 발현된다. 이들 세가지 NOS-I, II, III는 각각 염색체 12, 17, 7에 존재하는 유전자에 의해 형성되는 단백질이기 때문에 NOS의 유전자 발현을 알게 되면 산화질소의 합성과 관련이 있는 NOS의 동종효소의 종류를 알 수 있어 질병의 원인 및 치료에 유용하게 사용할 수 있다(6). 산화질소의 현재까지 알려진 작용으로는 첫째, guanylyl cyclase를 자극하여 세포내의 cGMP를 증가시켜 혈관평활근을 이완시켜 혈압을 감소시키며, 둘째, 신경세포의 N-methyl D-aspartate (NMDA) 수용체를 자극하여 신경전달물질로 작용하며, 셋째, 산소유리기 등과 반응하여 살균작용 및 세포독성 작용을 나타내며, 염증반응에 관여하여 항염증작용을 하거나 염증반응을 촉진하는 이중적인 작용을 한다(7).

장의 허혈-재관류시 산화질소의 합성이 증가하는 것으로 알려져 있지만 산화질소의 증가가 폐조직에 나타내는 효과

는 아직도 확실하지 않다. 허혈-재관류시에 산화질소의 합성증가는 장점막의 파괴에 관여한다는 보고(8)가 있지만, 반대로 산화질소의 증가가 장 허혈-재관류 손상에서 장점막을 보호하고 미세혈관의 기능이상을 줄여주는 역할을 한다는 보고도 있다(9). 외부에서 산화질소 성분을 가진 제제를 투여시 장허혈-재관류로 인한 장점막의 투과성을 감소시켜준다고 하였으며 이는 장내 혈류변화와는 관계가 없다고 하였다(10). 장의 허혈-재관류 손상시 산화질소의 생성은 재관류의 시간이 경과함에 따라 감소하는 양상을 보여주었고, 이는 NOS의 농도의 감소에 의한 것이라는 연구도 있다(5).

최근에 저체온증에 대한 연구 및 임상 적용이 증가하는 추세다. 2003년 International Liaison Committee on Resuscitation (ILCOR)에서는 2002년에 발표된 임상연구를 토대로 심실세동으로 인한 병원의 심정지 환자에서 자발 순환이 회복되었고, 의식이 없는 환자에서는 32~34°C의 정도의 저체온증을 12~24시간 유지할 것을 권고하였고, 심실 세동 외의 다른 리듬으로 인한 심정지, 혹은 병원내 심정지에서도 저체온증 치료를 권고하였다(11). 이외에도 저체온증의 임상적용은 뇌졸중, 급성심근경색, 외상성 뇌 손상, 패혈증성 쇼크, 출혈성 쇼크 등에서 다양하게 이루어지고 있다(12,13). 그러나, 현재까지 저체온증의 작용 기전에 대해서는 아직 확실하게 밝혀진 바가 없다. 제안되는 기전으로는 대사 감소에 따른 효과라는 전통적인 주장에서부터(14) 세포자멸사(apoptosis) 및 미토콘드리아 손상을 감소시키고(15), 면역 반응과 염증 반응에 대한 영향의 변화에 따른 것이라는 주장(16), free radical 형성을 감소시킨다는 주장(17) 등이 있다. 백서 패혈증 모델에서 저체온증이 폐(18)와 심장(19)에서 iNOS의 발현을 억제하고, 소장의 허혈중 국소적 저체온증 적용이 소장의 iNOS 발현을 억제한다는 결과들이 알려져 있다(20). 하지만 소장의 허혈-재관류 모델에서 저체온증에 따른 폐조직의 iNOS의 발현의 차이에 대한 연구는 아직 보고된 바가 없었다. 본 연구에서는 장의 허혈-재관류 손상에서 저체온증이 산화질소의 합성과 폐조직의 염증변화에 미치는 영향을 알아보기 위해 폐조직내의 iNOS 유전자 발현 및 혈중 산화질소의 농도를 측정하고, 폐 조직내의 병리조직학적 변화를 관찰하고자 하였다.

II. 대상 및 방법

1. 실험동물

1) 실험군

서울대학교병원 임상의학연구소 동물실험실에서 280~310 g의 병원균이 없는 스프라그-다울리 (Sprague-Dawley)종의 수컷 쥐를 분양받아 사용하였다. 실험동물군

은 실험 2주 전부터 실험실에서 일반사료와 물을 먹이면서 주위환경에 적응시켰으며, 실험 시작 8시간 전부터 금식시켰다. 대조군과 실험군으로 나누었으며, 대조군의 경우 장 허혈재관류 손상 유발과 더불어 정상체온(36~37°C)을 유지하였고, 실험군의 경우는 장 허혈재관류 손상 유발과 더불어 저체온(27~30°C)을 유지하였다. 각군의 실험동물은 각각 8마리로 하였다.

2. 실험동물에 대한 처치

Ether가 들어있는 유리통에 백서를 10초간 넣어서 일시 마취시킨 후 ketamine hydrochloride (50 mg/kg)와 xylazine (25 mg/kg)를 근육주사하여 마취시키고 복부의 털을 깎았다. 개복부위를 potadine 액으로 닦은 후에 상복부를 정중절개하여 복강을 개복하였다. 핀셋등을 사용하여 복강내 장기와 혈관에 손상을 주지 않으면서 상장간동맥을 조심스럽게 박리한 후, 소형 혈관겸자(Bulldog clamp)를 사용하여 상장간동맥 기시 부위를 차단 후 수분과 열손실을 최소화 하기 위해 복강을 3-0 봉합사로 봉합하였다. 상장간동맥 차단은 30분간 시행하였다. 수액보충을 위하여 모든 군에서 생리식염수 50 ml/kg를 피하에 주사하였다. 30분간의 차단 후에 복강을 재개복하여 혈관겸자를 제거하여 상장간동맥의 혈류를 재개시킴으로써 재관류가 이루어지게 한 후 복강을 다시 재봉합하였다.

실험군은 재관류 시행 시점부터 백서를 얼음을 넣은 비닐봉지로 덮어서 27°C까지 체온을 떨어뜨린 후 1.5시간 정도 27~30°C 사이로 체온을 유지하였다. 대조군은 재관류 시점부터 1.5시간 동안 36~37°C 사이로 정상체온을 유지하였다. 필요한 경우 가열램프(radiant warmer)를 사용하였다. 체온 측정은 백서의 직장내로 체온계 탐식자를 넣어서 심부체온을 지속적으로 측정하였다.

실험동물은 재관류 1.5시간 후 희생시켜 검체를 채취하였다.

3. 검체 처리

재관류 1.5시간 후 백서는 추가로 ketamine hydrochloride (50 mg/kg)와 xylazine (15 mg/kg)를 근육주사하여 마취시킨 후, 정중절개를 시행하여 복강과 흉강을 개복하였다. 23 gauge 주사기를 사용하여 우심실을 천자하여 채혈하였다. 채혈한 혈액은 일단 얼음 상자에 넣어 보관하였다가, 곧바로 4°C 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈장만을 분리하여 -70°C에서 동결 보관하였다. 혈액 채취 후 신속히 폐조직을 절제한 후, 얼음온도의 생리식염수로 3차례 세척하여 혈액성분 및 폐조직내 내용물을 최대한 제거하였다. 마지막으로 얼음온도의 phosphate-buffered saline (PBS)용액에 20초간 세척한 후 물기를 제거한 다음, 즉시 액체 질소탱크에 넣어 -70°C에서 동결

보관하였다. 조직관찰을 위해 폐조직의 일부는 4% 포르말린액에 고정시켰다.

1) 광학현미경 관찰

백서의 폐 조직절편을 4% paraformaldehyde에 넣어 고정한 뒤 알코올로 탈수하고 파라핀으로 포매(embedding)하였다. 포매된 표본은 활주마이크로톰(sliding microtome)으로 4~5 μm의 절편으로 자르고 조직처리 과정을 거쳐 hematoxylin & eosin 염색법으로 염색한 후 광학현미경으로 40배 및 100배하에서 조직학적 변화를 관찰하였다.

폐조직의 염증 변화를 점수화 하기 위해 본 연구와 무관한 1인의 병리의사가 각군의 구별없이 폐조직 표본을 무작위로 판독하였다. Acute lung injury (ALI) score는 폐포부종, 출혈, 폐포와 혈관벽의 중성구의 침윤이나 응집, 폐포벽의 비후/hyaline membrane 형성 등의 4가지 항목으로 측정하였다. 각 항목의 점수는 중증도에 따라 0점(minimal)부터 4점(maximal)으로 평가되어 총점수는 0점부터 16점까지 부여되었다.

2) 혈중 산화질소 측정

액체 용액상태 하에서는 산화질소는 저질로 nitrate(NO₃)와 nitrite(NO₂) 이온으로 변하는데 생체 내에서는 이들이 가장 안정된 산화질소 산물이다. 본 연구에서는 Griess reagent를 사용하여 nitrate와 nitrite를 합한 산화질소의 농도를 측정하였다(R&D, Nebraska, USA). 본 방법에서는 nitrate와 nitrite의 농도를 구분하지 않았다(21). 혈중 산화질소의 농도는 μmol/L로 표시하였다.

3) iNOS mRNA 발현 측정

상업용 kit (TRI Reagent, Molecular Research Center, Inc, USA)를 사용하여 절제된 폐조직 100 mg에서 RNA를 추출한 뒤, 분광광도계(Beckman, USA)를 사용하여 260 nm에서 추출된 RNA의 농도를 측정하였다. 추출된 RNA중 100 ng을 역전사하여 first strand complementary DNA (cDNA)를 만들었다. 역전사에 필요한 반응혼합물은 5 mM MgCl₂, 1 mM dNTP, 2.5 mM Random Hexmer (Promega, USA), 1 U/μl ribonuclease inhibitor (Promega, USA), and Moloney Murine Leukemia Virus reverse transcriptase (GibcoBRL, USA) 등으로 만들었다. cDNA를 합성한 후에 rat iNOS and rat glyceraldehyde-3 phosphate dehydrogenase (GAPDH) 유전자에 대한 PCR (PCT-200 Peltier Thermal Cycler, MJ Research, USA)을 시행하였다. PCR을 위한 반응혼합물은 2 pmol of primer, 2.5 U/μl Taq polymerase (Takara,

Japan), 0.8 mM of dNTP, and 1.5 mM MgCl₂ 등으로 만들었다. PCR은 초기 94°C에서 3분간 denaturation 후 30 cycle을 시행하였으며, 각 cycle은 94°C에서 1분간 denaturation 후 58°C에서 1.5분간 annealing을 하고 72°C에서 10분간 elongation하였다. 백서의 iNOS cDNA 합성에 필요한 oligonucleotide primer는 5'-CCCTTCCGAAGTTTCTGGCAGCAGG-3' (sense)와 5'-GGCTGTCAGAGCCTTGTGCCTTTGG-3' (anti-sense)이고, 백서의 GAPDH cDNA를 위한 oligonucleotide primer는 5'-TCCCTCAAGATTGTCAGCAA-3' (sense)와 5'-AGATCCACAACGGATACATT-3' (antisense)였다. Housekeeping gene GAPDH의 발현을 control로 하며, GAPDH band가 없는 RNA는 제외시켰다. 증폭된 PCR products는 0.5 µg/ml ethidium bromidewere가 포함된 1.5% agarose gels에서 전기영동 시킨 후에 자외선으로 검사하였다. iNOS and GAPDH gene PCR products의 크기는 각각 498 bp and 309 bp로 하였다. 겔 사진촬영은 bioimage processing system (Biomedlab, Korea)를 사용해서 스캐닝하였다. iNOS와 GAPDH 유전자 발현의 band density는 imaging densitometer (BIO-RAD, USA)를 사용하여 측정하였다.

4. 자료 분석

자료분석은 SPSS for Windows 11.0 package를 이용한 비모수적 통계분석법 중에서 Mann-Whitney U test를 이용하여 분석하였다. 각 측정치의 값은 평균 ± 표준오차로 표시하고 유의검정 수준은 $p < 0.01$ 로 하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 조직 병리학적 소견

정상체온군에서는 염증세포의 침윤이 심하게 관찰되었으

며, 군데군데 폐포내 출혈의 소견과 심한 간질의 비후 소견을 보였다. 저체온군에서는 염증세포의 침윤이 경미하게 있었으며, 간질의 비후, 출혈 등 소견은 보이지 않았다 (Fig. 1).

ALI score는 정상체온군에서는 8.7 ± 1.5 였으며, 저체온군에서는 5.8 ± 1.2 로 나타나 저체온군에서 정상체온군에 비해 유의하게 낮게 나타났다 ($p = 0.008$) (Fig. 2).

2. 혈중 산화질소 농도

정상 체온군의 혈중 산화질소의 농도는 0.80 ± 0.24 µmol/L 이었다. 저체온군의 혈중 산화질소의 농도는 0.75 ± 0.30 µmol/L 으로 나타나 저체온군에서 낮게 나타났으나 두 군간의 유의한 차이는 보이지 않았다 ($p=0.917$) (Fig. 3).

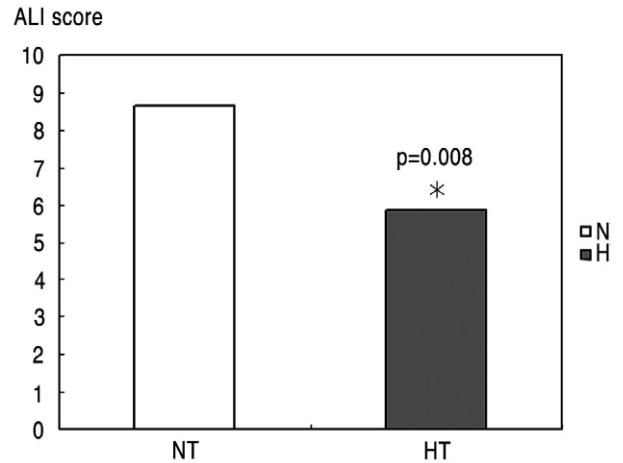


Fig. 2. Acute lung injury (ALI) score in lung tissue.

ALI score was significantly lower in the HT group than the NT group.

*: Significantly different compared with the NT group ($p=0.008$), NT: normothermia, HT: hypothermia.

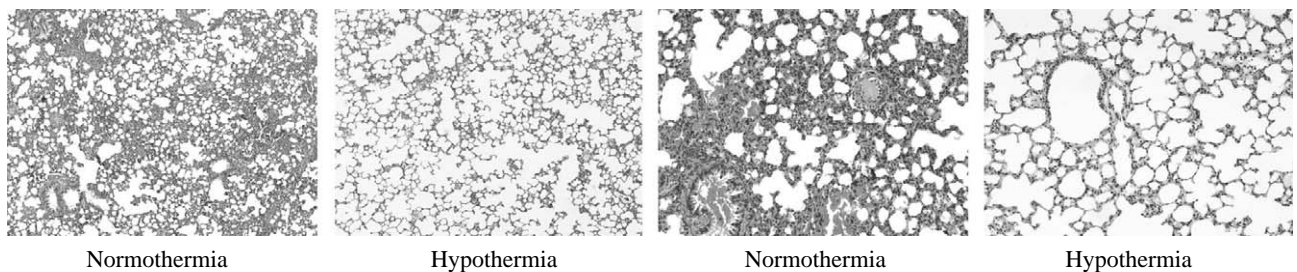


Fig. 1. Microscopic finding of lung histology (H & E × 40 & 100).

Compared with the HT group, the NT group showed severe infiltrations of inflammatory cells, alveolar hemorrhages, and interstitial hypertrophies in lung tissues.

NT: normothermia, HT: hypothermia.

3. 폐조직의 iNOS mRNA의 발현

정상 체온군의 폐조직에서는 iNOS의 유전자 발현은 정상체온군이 저체온군에 비해 강하게 나타났으며(Fig. 4), densitometer로 측정 한 band density는 정상체온군에서 5.54 ± 2.75 였고, 저체온군에서는 0.08 ± 0.52 로 나타나 두 군간에 유의한 차이를 보여주었다 ($p=0.002$) (Fig. 5).

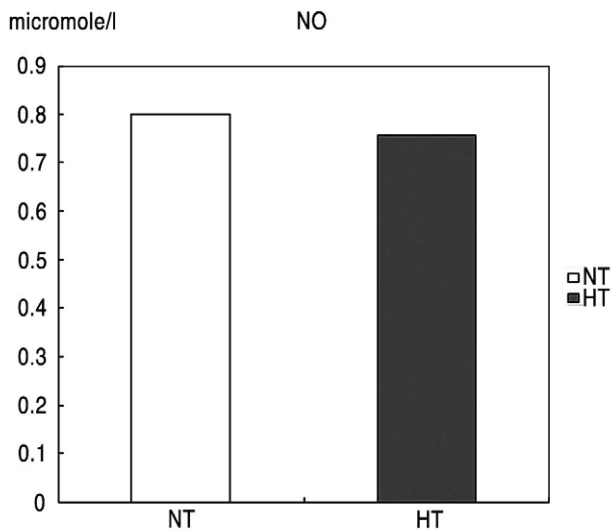


Fig. 3. Plasma NO concentration. There was no significant change between the NT and HT groups ($p=0.917$). NT: normothermia, HT: hypothermia.

IV. 고 찰

본 연구에서 장 허혈-재관류 손상에서 저체온증을 적용한 백서에서 정상체온으로 유지한 백서에 비해 폐조직의 염증변화가 유의하게 감소한 소견을 보여주었다. 장 허혈-재관류 손상에서 저체온증이 타 장기에 미치는 영향에 대

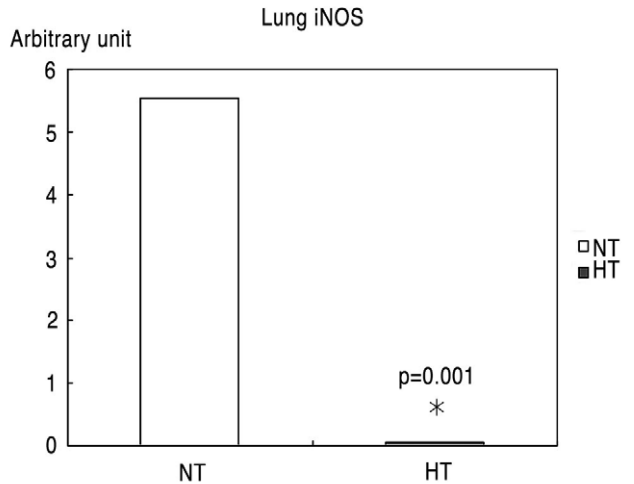


Fig. 5. Band densities of iNOS gene expression in lung tissues. The band densities of iNOS gene expression in lung tissues was significantly lower in the HT group than the NT group. *: significant compared with the NT group ($p=0.001$), NT: normothermia, HT : hypothermia.

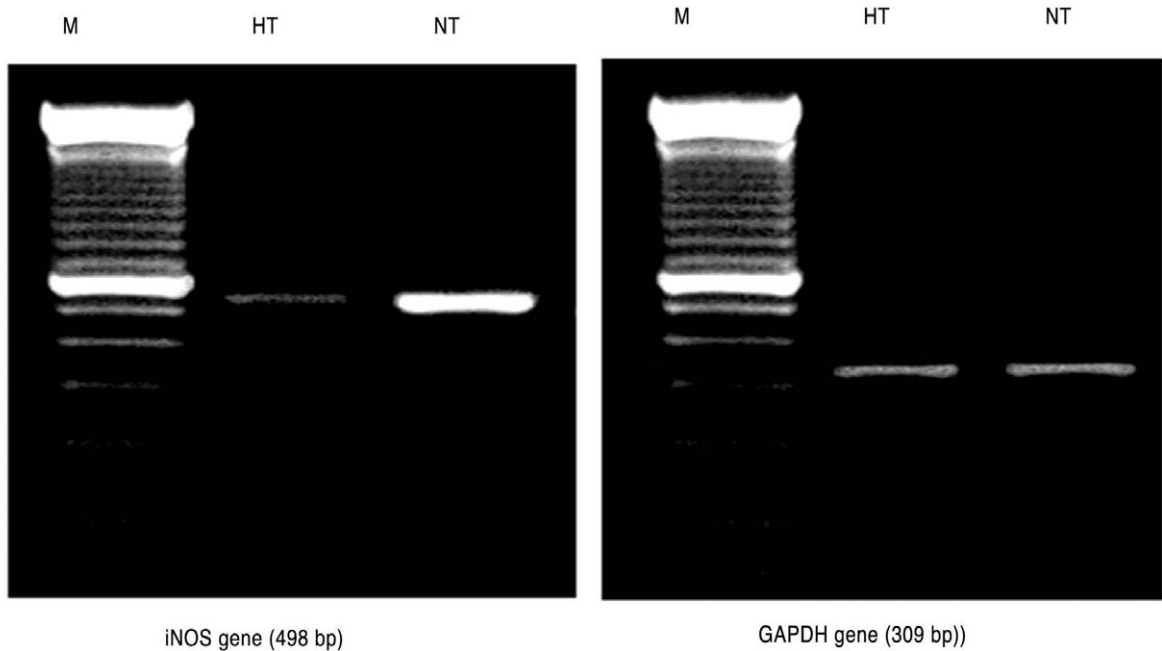


Fig. 4. iNOS gene expression in lung tissues. The iNOS gene in lung tissues was expressed strongly in the normothermia group compared to the hypothermia group. NT: normothermia, HT: hypothermia.

한 연구는 최근들어 많이 보고되고 있다. Pierro 등(22)은 장 허혈-재관류 손상은 간의 에너지 부전, 장손상 및 폐조직의 중성구 침윤을 야기시켜, 다발성 장기 부전을 유발시킨다고 하였으며, 정상체온군에서는 4시간의 재관류 후에 100% 백서가 사망하였으나, 중증도의 저체온증군에서는 사망률이 감소하였다고 하였다. 이러한 장 허혈-재관류 손상에서 저체온증의 효과는 STAT(Signal Transducers and Activators of Transcription) 단백질의 활성화가 감소되어 생긴다는 최근의 보고도 있다(23).

본 연구에서 저체온증은 장 허혈-재관류 손상에서 폐조직의 iNOS 유전자 발현을 감소시켜 준다는 것을 보여주었다. Scumpia 등(2004)은 백서의 폐혈증 모델에서 저체온증 적용 시 폐, 심장 조직에서 iNOS의 발현이 억제된다고 보고하였다. 그러나, 현재까지 장 허혈-재관류 손상에서 저체온증이 폐조직의 iNOS의 발현에 미치는 효과를 보여준 연구는 없었다.

iNOS의 발현으로 인한 산화질소의 과다생산이 내독소혈증의 병인과 관련이 있다는 것이 잘 알려져 있다. 또한, 다양한 물질로 iNOS의 활성도나 발현을 억제함으로써 심기능을 개선시키고 장기손상과 쇼크를 억제한다고 보고되었다(24). 한 연구에서는 저체온증이 내독소로 유도된 폐조직내 iNOS의 발현을 억제하여 산화질소의 생성이 감소된다고 보고 하였다(18). 또한, 저체온증이 심장조직에서 내독소로 유도된 iNOS messenger RNA 증가를 약화시키고 nitrotyrosine 농도를 감소시켜, 궁극적으로 산화질소의 형성을 억제하여 내독소에 의한 심폐조직 손상을 예방한다고 보고되었다(19).

본 연구에서 산화질소의 혈중 농도는 저체온군에서 정상체온군에 비해 낮게 나타났지만 통계적인 유의한 차이를 보여주지는 못했다. 이는 산화질소 합성효소중의 하나인 iNOS의 유전자 발현의 정도가 저체온군에서 유의하게 낮게 나타난 것과는 약간의 차이가 있다. 이에 대한 설명은 본 연구만 가지고는 확실히 하기 어렵다. 유추해 볼 수 있는 것은 시기적으로 iNOS의 유전자 발현은 되었으나, 아직 iNOS단백질 형성이 되지 않음으로 인해 NO의 형성이 충분히 되지 않은 경우가 있다. 이 경우는 iNOS의 발현정도를 면역조직화학검사를 통해 직접 확인하면 될 것으로 보이지만, 본 실험에서는 이루어지지 않았다. 이 경우 폐조직의 손상의 차이는 NO에 의한 것이 아니고, 다른 기전에 의해서라고 생각할 수 있고, 저체온증자체가 항산화 효과를 가진다는 것도 하나의 기전일 수 있겠다. 이는 추가 실험을 통해 확인해 보아야 할 문제라고 생각된다.

본 연구는 생존율을 비교하는 실험은 아니었지만, 실험도중 정상체온군이 저체온군에 비해 생존율이 낮았다(정상체온군: 15마리중 8마리 생존(53.3%) vs 저체온군 10마리중 8마리 생존(80%). 장 허혈-재관류 손상에서 저체온증이

생존율을 증가시키는 기전에 대해서는 아직까지 명확히 확립된 바가 없다. 다만 본 연구에서 저체온증 유발은 iNOS 발현 감소와 관련이 있을 수 있다는 것을 보여주었다. 따라서 저체온증에 의한 iNOS의 발현 억제가 장 허혈-재관류 손상에서 생존율을 증가시키는 원인이 될 수도 있다고 보여진다. 이는 추후 장 허혈-재관류 손상 실험에서 iNOS 억제제들을 사용함으로써 확실히 밝힐 수 있다고 생각한다.

본 연구의 제한점으로는 첫째, 중증도의 저체온증(27~30°C)을 유발시켰다는 것이다. 저체온증을 유발한 대부분의 연구에서는 주로 경도의(32~34°C) 저체온증이 유발시켰는데, 이는 사람에서는 그 이하의 저체온유도 및 유지 시, 부정맥 등의 부작용이 잘 알려져 있고, 이로 인해 현재까지 사람을 대상으로 하는 저체온 요법은 대개 경도의 저체온증을 적용하였기 때문이다. 그러나, 18~24°C의 저체온증을 적용했던 연구자에 의하면 백서에서는 사람에서 보였던 심각한 부정맥 등의 부작용이 없었다고 보고되어서 이는 백서는 저체온증에 대해 사람과는 다른 생리학 반응을 보인다고 볼 수 있다(19). 둘째, 대조군 설정에서 장 허혈-재관류 손상을 야기시키지 않고 Sham 술식만 시행한 군에서 저체온증과 정상체온의 효과를 알아보지 못했다. 따라서 실제로 장허혈-재관류 손상으로 인한 iNOS 유전자 발현, 혈중 산화질소 농도, 폐조직의 병리학적인 변화가 손상이 없었던 군에 비해 어느 정도의 변화가 있었는지를 알 수가 없었다. 향후 이 부분에 대한 추가적인 연구가 필요할 것으로 보인다.

V. 결 론

본 연구는 장 허혈-재관류 손상을 유발시킨 백서 모델에서 저체온증의 적용은 폐조직의 염증반응과 다형백혈구의 침윤을 감소시켰고, 폐조직의 iNOS 유전자 발현을 감소시켰다. 저체온증이 혈중 산화질소의 농도에 미치는 효과는 유의하게 나타나지 않았다.

REFERENCES

- 1) Granger DN, Rutili G, McCord JM. Superoxide radicals in feline intestina ischemia. *Gastroenterology* 1981;81:22-9.
- 2) Crissinger RL, Dahlgren DN. Mucosal injury induced by ischemia and reperfusion in the piglet intestine: influence of age and feeding. *Gastroenterology* 1989;97:920-26.
- 3) Weiss SJ. Oxygen, ischemia and inflammation. *Acta Physiol Scand, Suppl* 1986;548:9-37.
- 4) Engler RL, Dahlgren DD, Morris MA, et al. Role of leukocytes in response to acuta myocardial ischemia and reflow in dogs. *Am J Physiol* 1986;251:H314-

- H322.
- 5) Kanwar S, Tepperman BL, Payne D et al. Time course of nitric oxide production and epithelial dysfunction during ischemia/reperfusion of the feline small intestine. *Circ Shock* 1994;42:135-40.
 - 6) Ulrich F, Hartmut K. Nitric oxide synthase: expression and expressional control of the three isoforms. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharm* 1995;352:351-364.
 - 7) Robbins RA, Grisham MB. Nitric Oxide. *Int J Biochem Cell Biol* 1997;29:857-90.
 - 8) Shigematsu K, Hamada Y, Hioki K, et al. Participation of nitric oxide in the mucosal injury of rat intestine induced by ischemia-reperfusion. *J Pharmacol Exp Ther* 1998;287:403-7.
 - 9) Kubes P. Ischemia-reperfusion in feline small intestine: a role for nitric oxide. *Am J Physiol* 1993;264:G143-9.
 - 10) Payne D, Kubes P. Nitric oxide donors reduce the rise in reperfusion-induced intestinal mucosal permeability. *Am J Physiol* 1993;265:G189-95.
 - 11) Bernard SA, Gray TW, Buist MD, et al: Treatment of comatose survivors of out-of-hospital cardiac arrest with induced hypothermia. *N Engl J Med* 2002; 346:557-63.
 - 12) Conroy BP, Grafe MR, Jenkins LW, Vela AH, Lin CY, DeWitt DS, and Johnston WE. Histopathologic consequences of hyperglycemic cerebral ischemia during hypothermic cardiopulmonary bypass in pigs. *Ann Thorac Surg* 2001;71:1325-34.
 - 13) Biagas KV and Gaeta ML. Treatment of traumatic brain injury with hypothermia. *Curr Opin Pediatr* 1998;10:271-77.
 - 14) Milde LN Clinical use of mild hypothermia for brain protection: a dream revisited. *J Neurosurg Anesthesiol* 1992;4:211-5.
 - 15) Ning XH, Chen SH, Xu CS, Li L, Yao LY, Qian K, Krueger JJ, Hyyti OM, Portman MA Hypothermic protection of the ischemic heart via alterations in apoptotic pathways as assessed by gene array analysis. *J Appl Physiol* 2002;92:2200-7.
 - 16) Kimura A, Sakurada S, Ohkuni H, Todome Y, Kurata K (2002) Moderate hypothermia delays proinflammatory cytokine production of human peripheral blood mononuclear cells. *Crit Care Med* 30:1499-502.
 - 17) Globus MY-T, Busto R, Lin B, Schnippering H, Ginsberg MD Detection of free radical activity during transient global ischemia and recirculation: effects of intraschemic brain temperature modulation. *J Neurochem* 1995;65:1250-6.
 - 18) Scumpia PO, Sarcia PJ, DeMarco VG, et al. Hypothermia attenuates iNOS, CAT-1, CAT-2, and nitric oxide expression in lungs of endotoxemic rats. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002;283:L1231-L1238.
 - 19) Scumpia PO, Sarcia PJ, Kelly KM, et al. Hypothermia Induces Anti-Inflammatory Cytokines and Inhibits Nitric Oxide and Myeloperoxidase-Mediated Damage in the Hearts of Endotoxemic Rats. *Chest* 2004;125(4):1483-91.
 - 20) Hassoun HT, Kozar RA, Kone BC, Safi HJ, Moore FA. Intraischemic hypothermia differentially modulates oxidative stress proteins during mesenteric ischemia/reperfusion. *Surgery*. 2002 Aug;132:369-76.
 - 21) Green LC, Wagner DA, Glogowski J, et al. Analysis of nitrate, nitrite, and nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982;126:131-138.
 - 22) Pierro A, Eaton S. Intestinal ischemia reperfusion injury and multisystem organ failure. *Semin Pediatr Surg*. 2004;13:11-7.
 - 23) Parkinson EJ, Townsend PA, Stephanou A, Latchaman DS, Eaton S, Pierro A. The protective effect of moderate hypothermia during intestinal ischemia-reperfusion is associated with modification of hepatic transcription factor activation. *J Pediatr Surg*. 2004;39:696-701.
 - 24) Kilbourn RG, Jubran J, Sazbo C, et al. Reversal of endotoxin-mediated shock by NG-methyl-L-arginine, and inhibitor of nitric oxide synthesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1990;172:1132-8.