

금은화가 LPS로 유발된 급성 폐 손상에 미치는 영향

이창건 · 최해윤 · 박미연 · 김종대*

대구한의대학교 한의과대학 내과학교실

Effects of *Lonicerae Flos* Extracts on LPS-induced Acute Lung Injury

Chang-Geon Yi, Hae-Yun Choi, Mee-Yeon Park & Jong-Dae Kim*

Department of Internal Medicine, College of Oriental Medicine, Daegu Haany University

Abstract

Objective: The object of this study was to observe the effects of *Lonicerae Flos* (LF) aqueous extracts on lipopolysaccharide (LPS)-induced rat acute lung injury.

Method: Five different dosages of LF extracts were orally administered once a day for 28 days before LPS treatments, and then all rats were sacrificed after 5 hour-treatment of LPS. Eight groups of 16 rats each were used in the present study. The following parameters caused by LPS treatment were observed; body weights, lung weights, pulmonary transcapillary albumin transit, arterial gas parameters (pH, PaO₂ and PaCO₂) bronchoalveolar lavage fluid (BALF) protein lactate dehydrogenase (LDH), and proinflammatory cytokines tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β) contents, total cell numbers, neutrophil and alveolar macrophage ratios, lung malondialdehyde (MDA), myeloperoxidase (MPO), proinflammatory cytokines TNF- α and IL-1 β contents. In addition, the histopathologic changes were observed in the lung in terms of luminal surface of alveolus, thickness of alveolar septum, number of polymorphonuclear neutrophils.

Result: As results of LPS-injection, dramatical increases in lung weights, pulmonary transcapillary albumin transit increases, increases in PaCO₂, decreases in pH of arterial blood and PaO₂, increases of BALF protein, LDH, TNF- α and IL-1 β contents, total cells, neutrophil and alveolar macrophage ratios, TNF- α and IL-1 β contents increases were detected with decreases in LSA and increases of alveolar septum and PMNs numbers, respectively as compared with intact control. These are means that acute lung injuries

· 접수: 2011년 4월 1일 · 수정접수: 2011년 4월 25일 · 채택: 2011년 4월 26일

* 교신저자: 김종대. 대구한의대학교 한의과대학 폐계내과학교실, 대구광역시 수성구 상동 165번지 대구한의
대한방병원, 전화: 053-770-2122, 팩스: 053-770-2169, 전자우편: omendoim@dhu.ac.kr

(resembling acute respiratory distress syndrome) are induced by treatment of LPS mediated by inflammatory responses, oxidative stress and related lipid peroxidation in the present study. However, these LPS-induced acute lung injuries were inhibited by 28 days continuous pretreatment of 250 and 500mg/kg of LF extracts. Because of lower three dosages of LF treated groups, 31.25 and 62.5 and 125mg/kg did not showed any favorable effects as compared with LPS control, the effective dosages of LF in LPS-induced acute lung injuries in the present study, is considered as about 125mg/kg. The effects of 250mg/kg of LF extracts showed almost similar effects with α -lipoic acid 60mg/kg in preventing LPS-induced acute lung injuries.

Conclusion : It seems that LF play a role in protecting the acute respiratory distress syndrome caused by LPS.

Key words : *Lonicerae Flos*, Acute Lung Injury, lipopolysaccharide (LPS)

I. 서론

급성 폐 손상은 다양한 원인으로 폐의 염증 및 투과성 증가로 생리적, 임상적 및 방사선학적 이상을 나타내는 증후군이다. 급성 호흡곤란 증후군(acute respiratory distress syndrome 이하 ARDS)은 급성 폐 손상 중 심한 상태로 과거 중요한 원발성 폐질환이나 좌심실기능부전이 없었던 개체에서 갑자기 발생한 심한 호흡곤란, 저산소혈증, 광범위한 양측성 폐침윤 및 폐유순도가 현저히 감소하는 임상 및 병태생리학적 상태의 증후군을 말한다.¹⁾ ARDS의 급성 폐 손상은 폐모세혈관 내피세포와 폐포상피세포의 투과성 증가로 인한 폐부종을 특징으로 하며 이러한 투과도 증가에 의해 폐의 작용과 기능이 손상 받게 되는 것으로 알려져 있다.²⁾

이와 같이 급성 폐 손상으로 인한 ARDS의 치료로는 원인 질환에 대한 치료, 영양 공급, 수액 공급, 기계 환기 등 보존적 치료가 추가되고 있으며 이러한 치료에 따라 최근 사망률 저하에 큰 역할을 하고 있으나 서양 의학적 약

물 치료에서는 효과를 입증하지 못하고 있어³⁾ 급성 폐 손상으로 인한 ARDS의 치료제 개발이 시급한 실정이다.

金銀花(*Lonicerae Flos*, LF)는 인동과(Capri-foliaceae)에 속한 인동(*Lonicera japonica Thunb*)의 花蕾를 건조 것으로 여름철 꽃이 피기 전에 채취한 것을 이용하는 약재로 性은 寒하고, 味는 甘하며, 清熱解毒, 養血止血, 散風熱의 효능이 있다. 즉, 性이 寒하여, 清熱시키고 解毒시키는 효능이 있어, 熱毒瘡癰을 치료하는 療藥으로 알려져 있는 대표적인 항염증 약물의 하나이다.¹⁰⁻¹¹⁾

금은화 물 추출물에 대한 연구는 항암효과,⁶⁾ 항바이러스효과,⁷⁾ 항염효과,⁸⁾ 면역증강효과⁹⁾에 대해서는 비교적 잘 알려져 있다. 또한 급성 폐 손상에 관련한 효과 연구는 *in vitro*에서의 RAW264.7 세포가 LPS로 유도된 NO생성과 iNOS, COX-2 및 cytokine에 미치는 영향에 대한 보고가 있었다.¹⁰⁾ 그러나 금은화 물 추출물이 급성 폐 손상에 미치는 영향에 대해서 *in vivo*에서의 효과는 아직까지 보고된 바 없었다. 따라서 본 연구에서는 금은화 물 추출물이 LPS로 유발된 급성 폐 손상에 미치는 영향을 확인하였다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 금은화 추출

본 실험에 사용된 금은화(중국산)는 지역 약업사(옵니허브, Korea)에서 매입한 것을 현미경 하에서 관능검사를 통하여 선정하여 사용하였다. 또한 금은화 100g을 취하여 정제수 2000ml로 80℃에서 3시간 동안 3번 가열 추출한 후, 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator (Buchi Rotavapor R144, Buchi Labortechnik AG, Switzerland)로 감압 농축하였다. 또한 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer(Labconco Freezone1, Labconco Corp., MO, USA)를 사용하여 동결 건조시켜 총 23.80g(수율 약 23.80%)의 연갈색 추출물을 얻어 실험에 사용하였다. 추출한 금은화 동결 건조물은 -20℃의 냉장고에 보관 후 실험에 사용하였으며 본 실험에서 사용한 용매인 증류수에 100mg/ml의 농도까지 연갈색으로 비교적 잘 용해되었다.

2) 실험동물 및 사양 관리

128마리의 암컷 Sprague-Dawley Rat(6-week old upon receipt, SLC, Japan)를 7일간의 순화 과정을 거쳐 실험에 사용하였다. 순화 과정 및 실험 전 기간 동안 온도(20~25℃)와 습도(30~35%)가 조절된 사육실에서 rat용 polycarbonate 사육 상자에 5마리씩 수용하여 사육하였다. 사육기간 동안 명암 주기는 12시간 주기로 조절하였으며 사료(Samyang, Seoul, Korea)와 음수는 자유롭게 공급하였다. 112마리는 LPS로 급성 폐 손상을 유발하였으며 나머지 16마리는 정

상 대조군으로 사용하였다. 모든 실험동물은 투여 시작일 및 최종 부검일(LPS 투여일)에 각각 18시간 정도 절식이 이루어졌으며 음수는 자유롭게 공급되었다. 약 반수의 실험동물은 폐 모세혈관 투과율 측정에 사용하였으며, 나머지 실험동물은 기관 폐 세정액(이하 BALF) 등 다른 검사 항목에 사용하였다.

2. 방법

1) 실험군 분리 및 약물의 투여

실험동물은 군당 16마리씩 8그룹으로 구분하였다. 멸균 생리 식염수를 투여한 정상 대조군(정상 대조군; intact control), 멸균 증류수 및 LPS 투여 대조군(LPS control), α-lipoic acid (Sigma, St. Louis, MO, USA) 60mg/kg 및 LPS 투여군(α-lipoic 60), 금은화 물 추출물 31.25mg/kg 및 LPS 투여군(LFe 31.25), 금은화 물 추출물 62.5mg/kg 및 LPS 투여군(LFe 62.5), 금은화 물 추출물 125mg/kg 및 LPS 투여군(LFe 125), 금은화 물 추출물 250mg/kg 및 LPS 투여군(LFe 250), 금은화 물 추출물 500mg/kg 및 LPS 투여군(LFe 500)의 8군으로 구분하여 실험하였다 (Table 1). 금은화 물 추출물 및 α-lipoic acid는 각각 멸균 증류수에 용해시켜 동물 체중 kg당 5ml의 용량으로 LPS 투여 전, 매일 1회씩 28일간 금속제 sonde가 부착된 3ml 주사기를 이용하여 강제 경구 투여하였다.

2) 급성 폐 손상의 유발

급성 폐 손상을 유발하기 위하여, 금은화 물 추출물, α-lipoic acid 또는 멸균 증류수를 28일간 전 투여하고, 18시간 이상 절식한 다음, Nathens 등¹¹⁾의 방법에 따라, 모든 실험동물을 Zoletile mixture(Zoletile 50; Virbac Lab., France) 25 mg/kg을 복강 주사하여 마취 시키고, 기관 절개

Table 1. Experimental design used in this study

Group ID		Test article/ LPS/ Dose (mg/kg/day)
Control	Intact	Distilled water and saline treated rats (5ml/kg)
	LPS	Distilled water and LPS treated rats
Reference	α-lipoic acid	α-lipoic acid LPS treated rats
LF extracts	LF 31.25	LF extracts 31.25mg/kg and LPS rats
	LF 62.5	LF extracts 62.5mg/kg and LPS rats
	LF 125	LF extracts 125mg/kg and LPS rats
	LF 250	LF extracts 250mg/kg and LPS rats
	LF 500	LF extracts 500mg/kg and LPS rats

LF, *Lonicerae Flos*; LF aqueous extract, α-lipoic acid or vehicle (distilled water) were dosed at 5ml/kg volume, once a day for 28 days before LPS treatment; 16 rats per group, total 8 groups were used this study; acute lung injuries were induced by single intra tracheal instillation of LPS, 500µg/head, all animals were sacrificed after 28 days of test article treatment, and 5 hours after LPS treatment

술을 실시하여 500µg의 *Escherichia coli* 0111 : B4 LPS(Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)를 0.5ml의 생리식염수에 용해시켜, 기관 내로 주입하였다. 정상 대조군에서는 LPS를 포함하지 않은 0.5ml/head의 생리 식염수만 동일한 방법으로 투여하였다.

3) 체중 측정

모든 실험동물의 체중을 투여 시작 1일전, 투여 시작일, 투여 1, 7, 14, 21, 27 및 최종 희생일에 각각 측정하였으며, 사료 섭취에 따른 체중 변화를 최소화하기 위해 투여 시작일 및 최종 희생일에 모든 실험동물은 18시간 정도 절식시켰으며, 실험 시작시의 개체 차이에 의한 체중 변화를 최소화하기 위해 하기의 공식을 이용하여 실험 전 기간인 4주 동안의 체중 증가량을 측정하였다.

Body Weight Gains(g)

$$= \text{Body weight at sacrifice} - \text{Body weight at start of the administration}$$

4) 폐 중량의 측정

최종 희생일에 모든 실험동물의 폐를 적출하여 분리한 다음 각각의 중량을 측정하여, 절대 중량으로 하였으며, 체중의 변화에 수반된 이차적 변화를 최소화하기 위해 체중에 대한 폐 절대 중량의 비율인 상대 중량을 하기의 공식을 이용하여 산출하였다.

Relative Lung Weights(%)

$$= (\text{Absolute lung weight} / \text{Body weight at sacrifice}) \times 100$$

5) 폐혈관 투과율의 측정

폐혈관 투과율을 Nathens 등¹¹⁾의 방법에 따라 [¹²⁵I] 표지 albumin(Montreal, Quebec, Canada)을 이용하여 측정하였다. 1 mCi의 [¹²⁵I] 표지 albumin을 최종 희생 30분전에 복대정맥(inferior vena cava)에 투여하고, heparin(100U; Sigma, MO, USA)을 우측 심방에 주입한 다음 심장 천자로 1ml의 혈액을 채취하였다. 모든 실험동물을 방혈 한 다음, 폐정맥으로 삽관하고, 10ml의 0.5

mg/ℓ prostaglandin E₁을 포함한 low-potassium dextran solution을 infusion 하여 폐를 세척한 다음, 폐를 적출하였다. 채취한 혈액과 좌엽과 우하엽에서 [¹²⁵I] 표지 albumin 량을 각각 측정하여, 투과율을 하기의 공식을 이용하여 산출하였다.

$$\text{Permeability Index (\%)} = (\text{Lung cpm} / \text{Blood cpm/ml}) \times 100$$

6) 동맥혈 가스 지표의 측정

최종 희생일에 LPS 투여 5시간 후, 0.5ml의 동맥혈을 복대동맥 (abdominal aorta)에서 채혈하여, pH, 산소 분압(이하 PaO₂) 및 이산화탄소 분압(이하 PaCO₂)을 각각 혈액 가스 분석장치(blood gas analyzer; OMNI S6, Roche Diagnostics, Switzerland)를 이용하여 측정하였다.

7) 기관 폐 세정액(BALF)의 수집

LPS 투여 5시간 후, Dunn 등¹²⁾의 방법에 따라 경부와 흉부를 열어, 조직병리학적 검사에 사용할 좌측 폐를 보호하기 위해 좌측 주 기관지를 결찰한 후 기관에 삽관하고 2번에 걸쳐 inactivated fetal bovine serum(FBS; Gibco BRL, USA) 용액을 0.5ml를 주입하여, 30초간 흉부를 마사지한 후 폐로부터 BALF를 얻어냈다.

8) BALF 내 단백질 및 LDH 함량의 측정

BALF 내 단백질 함량은 bovine serum albumin(Sigma, MO, USA)을 standard로 이용하여, Lowry 등¹³⁾에 따라, bicinchoninic acid assay로 측정하였으며, LDH 함량은 Bergmeyer¹⁴⁾의 방법에 따라 enzymatic analysis로 측정하였다.

9) BALF 내 총 세포 수, 호중구 및 폐포 대식세포 비율의 측정

BALF를 1:1의 비율로 trypan blue와 혼합한 다음 hemocytometer(Fisher Scientific, PA, USA)를 이용하여 총 세포 수를 ×10⁴/BALF 1ml로 계산하였고, 준비된 BALF를 slide glass에 도말한 다음 giemsa(Fischer, MO, USA) 염색 후 현미경 하에서 총 100개의 세포 중 호중구 및 폐포 대식세포의 수를 기록하였다.

10) 폐내 MDA (malondialdehyde) 및 MPO (myeloperoxidase) 함량의 측정

최종 희생일에 모든 실험동물을 18시간 이상 절식 후 개흉하여 폐 조직을 적출한 다음, 멸균 생리 식염수로 세척하고 주변 지방조직을 제거하였다. 이후 Kavutcu 등¹⁵⁾의 방법으로 in 9 vols ice-cold 0.15 M/L KCl 및 1.9 mM/L ethylenediaminetetraacetic acid가 함유된 용액에서 homogenize하고, 상층액을 분리하여 MDA를 측정하였다.

폐내 단백질 함량은 Lowry 등¹³⁾의 방법으로 bovine serum albumin을 standard로 이용하여 측정하였으며, 지질 과산화 정도는 Asakawa와 Matsushita¹⁶⁾의 방법으로 2-thiobarbituric acid를 이용하여, 흡광도 525 nm에서 측정하여, MDA nmole/mg protein 단위로 측정하였다.

또한 염증 지표인 MPO 함량을 Liu 등¹⁷⁾의 방법에 따라, 측정 Kit(Nanjing Jiancheng Biochemistry Co, Nanjing, China)를 이용하여 흡광도 620nm에서 MPO U/mg protein 단위로 측정하였다.

11) Proinflammatory cytokine 함량의 측정

Gamze 등¹⁸⁾의 방법에 따라, BALF 수거 직후 4000 × g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 준

비하였으며, 폐 조직을 Ultra Turrax T25 basic homogenizer(IKA Labortechnik, Janke and Kunkel GmBH, Co, Germany)로 균질화하여, $4000 \times g$ 에서 10분간 원심분리하여 상층액을 수거하였다.

이후 BALF 및 폐 균질 상층액에서 ELISA kits(Med-Systems Diagnostics Gmbh, Vienna, Austria)를 이용하여, Proinflammatory cytokine 인 TNF- α 와 IL-1 β 의 함량을 각각 측정하였다.

12) 조직 병리학적 관찰

좌측 폐 조직을 분리하여 10% neutral buffered formalin에 고정한 다음 탈수와 포매를 거쳐 과라핀 블럭을 준비하고 3 μ m의 조직절편을 제작하여 Hematoxylin-eosin 염색을 실시하여 광학현미경하에서 관찰하였다. 또한 폐포 공간비율(luminal surface of alveolus; LSA), 폐포벽의 두께 및 다형핵 백혈구(polymorphonuclear neutrophils; PMNs)의 수를 각각 CCD image analyzer(DMI-300, DMI, Korea)를 이용하여, %, μ m 및 $\times 5 / 1\text{mm}^2$ of histological lung field 로 측정하였다.

13) 통계처리

모든 수치는 평균 \pm 표준편차로 표시하였으며, 다중비교검증을 이용하여 통계처리를 실시하였고, 분산동질성을 Levene test를 실시하여 검증하였다. 등분산일 경우, one way ANOVA test를 실시한 다음 least-significant differences (LSD) test로 사후 검증을 실시하여 군간의 유의성을 측정하였다. 비등분산일 경우에는 비모수 검증인 Kruskal-Wallis H test를 실시하여 유의성이 인정된 경우에는, Mann-Whitney U-Wilcoxon Rank Sum W를 실시하여 군간의 유의성을 검증하였다. 모든 통계처리는 SPSS for Windows(Release 14.0K, SPSS Inc, USA)

를 이용하여 평가하였으며, p -value가 0.05 이하인 경우 통계적 유의성을 인정하였다.

III. 결 과

1. 체중의 변화

정상 및 LPS 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 체중의 증가가 금은화 물 추출물 500mg/kg 투여군에 국한되어, 투여 21일부터 인정되었으며, 투여 전 기간인 28일간의 체중 증가량 역시 정상 및 LPS 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 증가를 각각 나타내었다.

그러나 α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 31.25, 62.50, 125 및 250mg/kg 투여군에서는 정상 및 LPS 대조군과 유사한 체중 및 체중 증가량을 나타내었으며, LPS 대조군 역시 정상 대조군과 유사한 체중 및 체중 증가량의 변화를 나타내었다(Fig. 1, 2).

2. 폐 중량의 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 폐 상대 및 절대 중량치의 증가가 각각 인정되었으나, α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 폐 상대 및 절대 중량치의 감소가 인정되었다(Table 2).

3. 폐혈관 투과도의 변화

LPS 대조군을 포함한 모든 시험군에서는 서로 유사한 혈중 투여 albumin 농도를 나타내었으나, LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 폐혈관 투과도의 증가를 나타내었다.

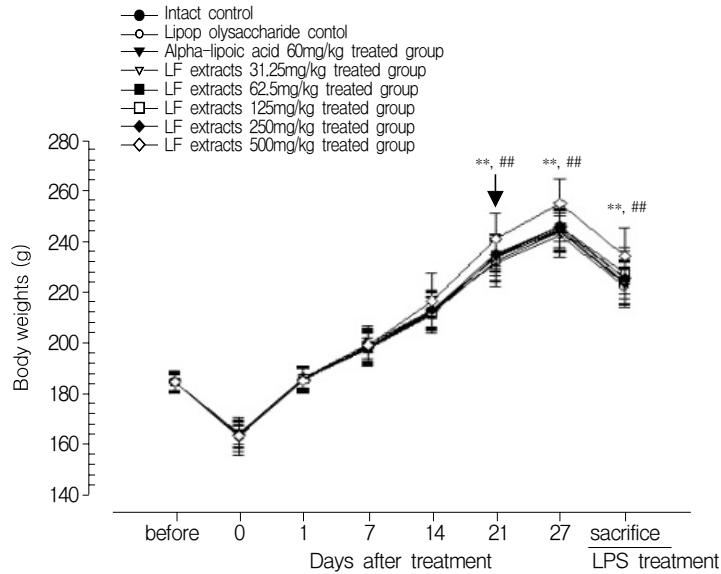


Fig. 1. Body weight changes after α -lipoic acid, LF aqueous extracts and LPS administration. LPS, lipopolysaccharide; LF, *Lonicerae Flos*; Day 0 means at start of test article administration, and before means 1 day before start of test article administration, values are expressed mean \pm SD of 16 rats, all animals at LPS treatment day, sacrifice and Day 0 were overnight fasted.

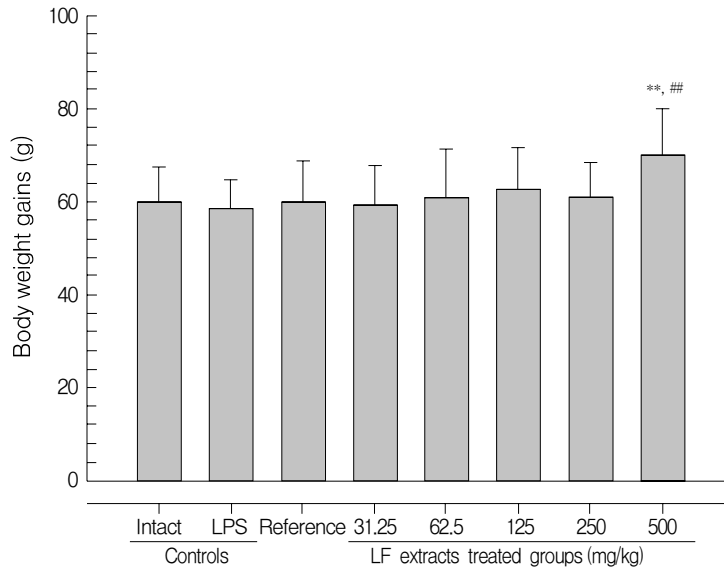


Fig. 2. Body weight gains after α -lipoic acid, LF aqueous extracts and LPS administration. LPS, lipopolysaccharide; LF, *Lonicerae Flos*; Reference, α -lipoic acid 60mg/kg, values are expressed mean \pm SD of 16 rats, **, $p < 0.01$ as compared with intact control, ##, $p < 0.01$ as compared with LPS control.

Table 2. Changes on the lung weights after α -Lipoic acid, LF aqueous extracts and LPS administration

Group ID	Lung Weights	
	Absolute (g)	Relative (%) of body weights
Control		
Intact	1.456 ± 0.101	0.656 ± 0.049
LPS	2.141 ± 0.155**	0.971 ± 0.092**
α -lipoic acid	1.751 ± 0.090**, ##	0.788 ± 0.044**, ##
LF extract		
LF _e 31.25	2.070 ± 0.131**	0.932 ± 0.052**
LF _e 62.5	2.055 ± 0.199**	0.917 ± 0.100**
LF _e 125	2.085 ± 0.114**	0.908 ± 0.063**
LF _e 250	1.733 ± 0.108**, ##	0.772 ± 0.062**, ##
LF _e 500	1.589 ± 0.089*, ##	0.678 ± 0.032###

Group ID was listed in Table 1; Values are expressed Mean ± SD of 8 rats, *; p<0.05 and **; p<0.01 as compared with intact control, ##; p<0.01 as compared with LPS control

Table 3. Changes on the pulmonary transcapillary albumin transit test after α -Lipoic acid, LF aqueous extracts and LPS administration

Group ID	Intensity of [¹²⁵ I] Albumin (cpm)		Permeability Index (B/A)
	Blood (A)	Lung (B)	
Controls			
Intact	0.531±0.098	0.006±0.003	0.010±0.004
LPS	0.538±0.079	0.089±0.011**	0.171±0.046**
α -lipoic acid	0.522±0.049	0.038±0.012**, ##	0.073±0.024**, ##
LF extract			
LF _e 31.25	0.552±0.049	0.086±0.016**	0.158±0.040**
LF _e 62.5	0.540±0.057	0.086±0.013**	0.162±0.028**
LF _e 125	0.542±0.045	0.086±0.007**	0.159±0.011**
LF _e 250	0.535±0.034	0.042±0.010**, ##	0.079±0.020**, ##
LF _e 500	0.539±0.056	0.026±0.012**, ##	0.047±0.019**, ##

Group ID was listed in Table 1; Values are expressed Mean ± SD of 8 rats, **; p<0.01 as compared with intact control, ##; p<0.01 as compared with LPS control.

한편, α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 폐내 잔존 albumin 함량의 감소와 이에 따른 폐혈관 투과도의 유의성 있는(p<0.01) 감소를 나타내었다(Table 3).

4. 동맥혈 가스 지표의 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 동맥혈의 pH 및 PaO₂의 감소가 PaCO₂의 증가와 함께 인정되었으나, α -

Table 4. Changes on the arterial blood gas parameters after α -Lipoic acid, LF aqueous extracts and LPS administration

Group ID	pH	Partial Pressure	
		PaO ₂	PaCO ₂
Controls			
Intact	7.40±0.06	105.63±6.91	30.38±1.69
LPS	7.13±0.07**	77.00±7.69**	42.75±2.55**
α -lipoic acid	7.27±0.04**,#	94.13±4.85**,#	34.00±3.21**,#
LF extract			
LFe 31.25	7.13±0.06**	77.25±9.38**	41.88±2.10**
LFe 62.5	7.17±0.09**	77.13±8.01**	42.50±2.73**
LFe 125	7.17±0.06**	78.13±8.11**	40.88±3.14**
LFe 250	7.26±0.06**,#	94.25±6.58**,#	33.75±3.45*,#
LFe 500	7.29±0.06**,#	103.25±6.39##	31.38±1.77##

Group ID was listed in Table 1; Values are expressed Mean \pm SD of 8 rats, *; p<0.05 and **; p<0.01 as compared with intact control, ##; p<0.01 as compared with LPS control

lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) pH 및 PaO₂의 증가와 PaCO₂의 감소가 인정되었다(Table 4).

5. BALF 내 단백질 함량의 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) BALF 내 단백질 함량의 증가가 인정되었으나, α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) BALF 내 단백질 함량의 감소가 인정되었다(Fig. 3)

6. BALF 내 LDH 함량의 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) BALF 내 LDH 함량의 증가가 인정되었으나, α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) BALF 내

LDH 함량의 감소가 인정되었다(Fig. 4).

7. BALF 내 총 세포 수의 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) BALF 내 총 세포 수의 증가가 인정되었으나, α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) BALF 내 총 세포 수의 감소가 인정되었다(Table 5).

8. BALF 내 호중구 및 폐포 대식세포 비율의 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) BALF 내 호중구 및 폐포 대식세포 비율의 증가가 각각 인정되었으나, α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) BALF 내 호중구 및 폐포 대식세포 비율의 감소가 인정되었다(Table 5).

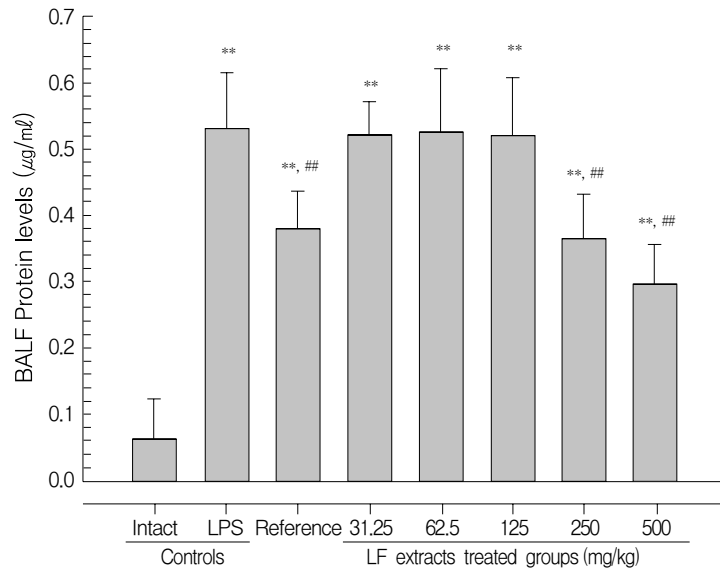


Fig. 3. Changes of BALF protein levels after α -lipoic acid, LF aqueous extracts and LPS administration. BALF, bronchoalveolar lavage fluid; LPS, lipopolysaccharide; LF, *Lonicerae Flos*; Reference, α -lipoic acid 60mg/kg, values are expressed mean \pm SD of 8 rats, **; p<0.01 as compared with intact control, ##; p<0.01 as compared with LPS control.

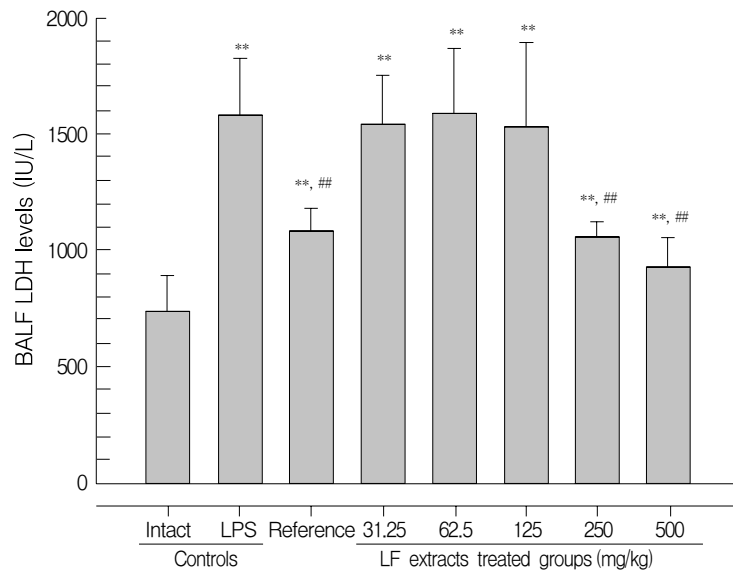


Fig. 4. Changes of BALF LDH levels after α -lipoic acid, LF aqueous extracts and LPS administration. BALF, bronchoalveolar lavage fluid; LPS, lipopolysaccharide; LF, *Lonicerae Flos*; Reference, α -lipoic acid 60mg/kg, values are expressed mean \pm SD of 8 rats, *; p<0.05 and **; p<0.01 as compared with intact control, ##; p<0.01 as compared with LPS control.

Table 5. Changes on the cellular components of BALF after α -Lipoic acid, LF aqueous extracts and LPS administration

Group ID	Total Cells ($\times 10^4$ cells)	Cell Classification : ratio (%/100 cells)	
		Neutrophil granulocytes	Alveolar macrophages
Controls			
Intact	5.25 \pm 2.66	8.50 \pm 2.07	51.13 \pm 8.72
LPS	99.88 \pm 17.31**	21.63 \pm 2.62**	69.88 \pm 5.77**
α -lipoic acid	69.63 \pm 16.83**,#	14.63 \pm 4.31**,#	51.38 \pm 2.56##
LF extract			
LFe 31.25	100.50 \pm 15.67**	20.75 \pm 2.92**	70.13 \pm 3.14**
LFe 62.5	104.50 \pm 12.87**	21.00 \pm 3.46**	68.88 \pm 2.95**
LFe 125	98.38 \pm 18.94**	20.50 \pm 1.60**	66.75 \pm 5.26**
LFe 250	69.88 \pm 17.80**,#	14.50 \pm 3.07**,#	52.50 \pm 8.65##
LFe 500	52.00 \pm 16.04**,#	11.50 \pm 2.98**,#	40.00 \pm 10.90*,#

Group ID was listed in Table 1; Values are expressed Mean \pm SD of 8 rats, *; p<0.05 and **; p<0.01 as compared with intact control, ##; p<0.01 as compared with LPS control

9. 폐내 MDA 함량의 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 폐내 MDA 함량의 증가가 인정되었으나, α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 폐내 MDA 함량의 감소가 인정되었다(Fig. 5).

10. 폐내 MPO 함량의 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 폐내 MPO 함량의 증가가 인정되었으나, α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 폐내 MPO 함량의 감소가 인정되었다(Fig. 6).

11. Proinflammatory cytokine의 변화

1) 폐내 TNF- α 함량의 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 폐내 TNF- α 함량의 증가가 인정되었으나, α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 폐내 TNF- α 함량의 감소가 인정되었다(Table 6).

2) 폐내 IL-1 β 함량의 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 폐내 IL-1 β 함량의 증가가 인정되었으나, α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 폐내 IL-1 β 함량의 감소가 인정되었다(Table 6).

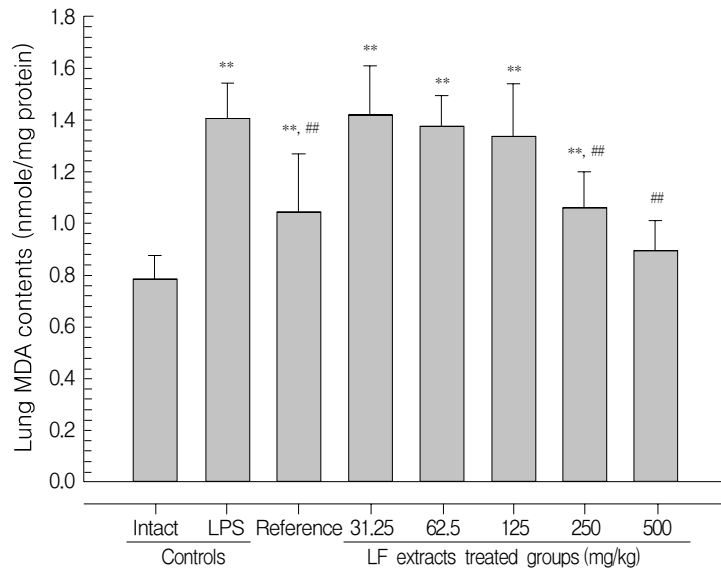


Fig. 5. Changes of lung MDA levels after α -lipoic acid, LF aqueous extracts and LPS administration. LPS, lipopolysaccharide; MDA, malondialdehyde; LF, *Lonicerae Flos*; Reference, α -lipoic acid 60mg/kg, values are expressed mean \pm SD of 8 rats, **; $p < 0.01$ as compared with intact control, ##; $p < 0.01$ as compared with LPS control.

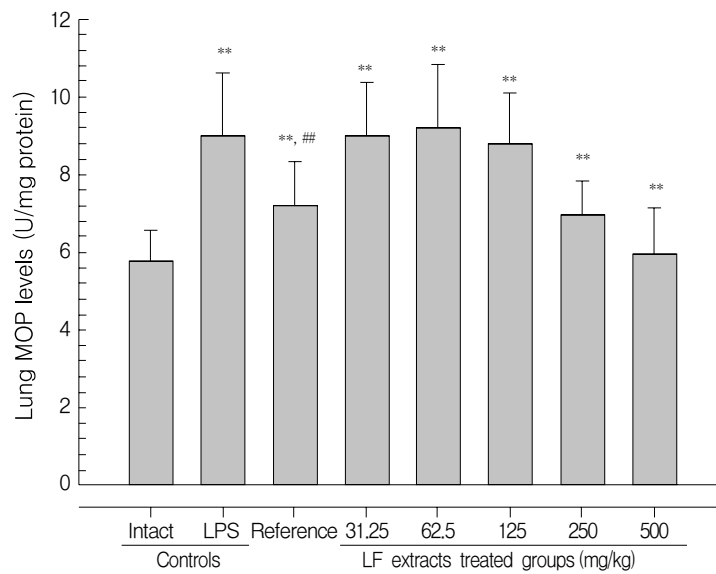


Fig. 6. Changes of lung MOP levels after α -lipoic acid, LF aqueous extracts and LPS administration. LPS, lipopolysaccharide; MPO, myeloperoxidase; LF, *Lonicerae Flos*; Reference, α -lipoic acid 60mg/kg, values are expressed mean \pm SD of 8 rats, *; $p < 0.05$ and **; $p < 0.01$ as compared with intact control, ##; $p < 0.01$ as compared with LPS control

Table 6. Changes on the lung proinflammatory cytokine contents after α -Lipoic acid, LF aqueous extracts and LPS administration

Group ID	Lung Proinflammatory Cytokine Contents	
	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)
Controls		
Intact	109.00 \pm 8.42	175.25 \pm 17.28
LPS	152.13 \pm 11.33**	262.00 \pm 24.28**
α -lipoic acid	126.00 \pm 5.48**,#	213.00 \pm 11.60**,#
LF extract		
LF _e 31.25	148.88 \pm 17.96**	253.13 \pm 31.00**
LF _e 62.5	143.63 \pm 17.13**	251.50 \pm 33.48**
LF _e 125	146.13 \pm 10.72**	257.38 \pm 39.09**
LF _e 250	126.88 \pm 11.33**,#	214.38 \pm 19.88**,#
LF _e 500	108.63 \pm 14.63##	196.50 \pm 10.28*,##

Group ID was listed in Table 1; Values are expressed Mean \pm SD of 8 rats; TNF- α , IL-1 β , *; p<0.05 and **; p<0.01 as compared with intact control, #; p<0.01 as compared with LPS control

Table 7. Changes on the BALF contents after α -Lipoic acid, LF aqueous extracts and LPS administration

Group ID	BALF Proinflammatory Cytokine Levels	
	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)
Controls		
Intact	31.25 \pm 3.11	26.75 \pm 4.30
LPS	46.00 \pm 7.65**	40.00 \pm 6.14**
α -lipoic acid	38.00 \pm 3.55*,##	32.63 \pm 4.24*,##
LF extract		
LF _e 31.25	46.63 \pm 7.50**	40.75 \pm 4.71**
LF _e 62.5	46.25 \pm 4.56**	38.13 \pm 5.82**
LF _e 125	43.75 \pm 4.80**	38.13 \pm 5.99**
LF _e 250	36.88 \pm 5.19**,#	32.38 \pm 3.62*,##
LF _e 500	33.75 \pm 3.99##	27.63 \pm 5.95##

Group ID was listed in Table 1; Values are expressed Mean \pm SD of 8 rats; TNF- α , IL-1 β , *; p<0.05 and **; p<0.01 as compared with intact control, #; p<0.01 as compared with LPS control

3) BALF 내 TNF- α 함량의 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) BALF 내 TNF- α 함량의 증

가가 인정되었으나, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) BALF 내 TNF- α 함량의 감소가 인정되었다(Table 7).

Table 8. Changes on the histopathological index after α -Lipoic acid, LF aqueous extracts and LPS administration

Group ID	Luminal Surface Area (%)	Thickness of Alveolar Septum (μ m)	Number of Polymorphonuclear Neutrophils ($\times 5/1\text{mm}^2$ field)
Controls			
Intact	85.12 \pm 4.47	27.26 \pm 4.20	18.38 \pm 6.16
LPS	39.39 \pm 4.41**	131.96 \pm 22.23**	215.38 \pm 14.17**
α -lipoic acid	51.82 \pm 8.01**, #	55.79 \pm 5.04**, #	99.50 \pm 11.75**, #
LF extract			
LF _e 31.25	38.64 \pm 6.19**	131.57 \pm 23.33**	206.13 \pm 22.88**
LF _e 62.5	40.35 \pm 6.10**	124.90 \pm 23.24**	214.25 \pm 19.60**
LF _e 125	38.34 \pm 6.37**	128.84 \pm 11.70**	198.50 \pm 24.62**
LF _e 250	52.35 \pm 7.68**, #	58.95 \pm 3.75**, #	109.25 \pm 13.51**, #
LF _e 500	58.04 \pm 11.47**, #	47.80 \pm 3.35**, #	86.88 \pm 20.55**, #

Group ID was listed in Table 1; Values are expressed Mean \pm SD of 8 rats, **; p<0.01 as compared with intact control, #; p<0.01 as compared with LPS control

4) BALF 내 IL- β 함량의 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) BALF 내 IL-1 β 함량의 증가가 인정되었으나, α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) BALF 내 IL-1 β 함량의 감소가 인정되었다(Table 7).

12. 폐 조직병리학적 변화

LPS 투여에 의해 혈관 누출성의 증가에 의한 염증세포의 침윤 및 폐포 벽의 비후와 함께 이로 인한 폐포 내강의 협소화 등 전형적인 급성 염증성 폐 손상이 초래되었으나, 이러한 폐 손상은, α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 감소되었다(Fig. 7).

1) LSA 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 폐 호흡 기능을 나타내는 LSA의 감소가 인정되었으나, α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) LSA의 증가가 인정되었다(Table 8).

2) 폐포 벽 두께의 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 폐포 벽 두께의 증가가 인정되었으나, α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 폐포 벽 두께의 감소가 인정되었다(Table 8).

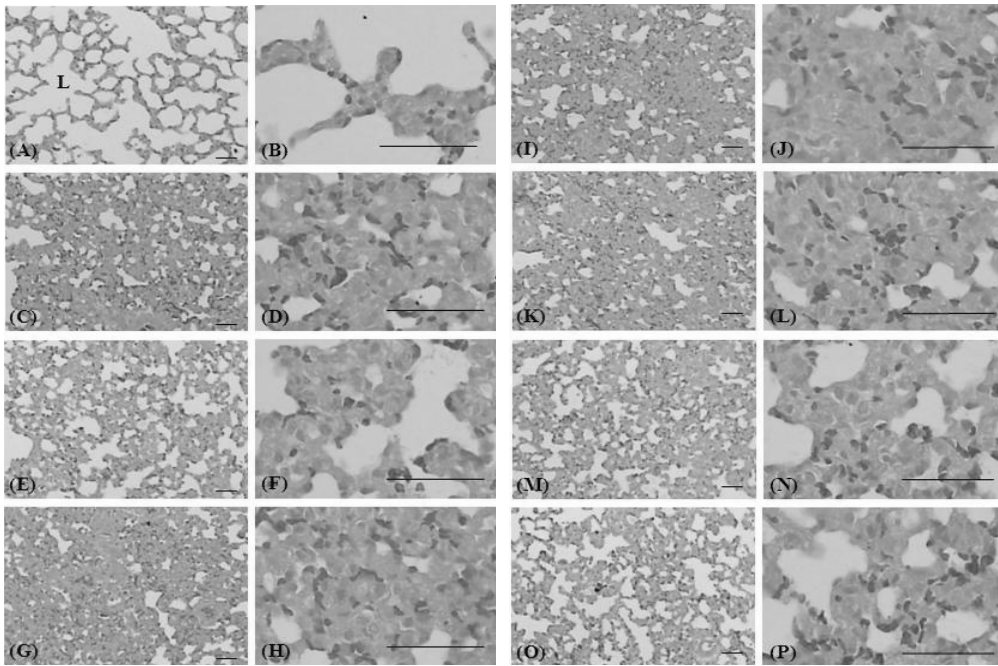


Fig. 7. Changes on the lung histopathological profiles after α -lipoic acid, LF aqueous extracts and LPS administration.

LPS, lipopolysaccharide; MPO, myeloperoxidase; LF, Lonicerae Flos; PMNs, polymorphonuclear

A, B: Intact control; C, D: LPS control; E, F: α -lipoic acid 60mg/kg treated group

G, H: LF extracts 31.25mg/kg treated group; I, J: LF extracts 62.5mg/kg treated group

K, L: LF extracts 125mg/kg treated group; M, N: LF extracts 250mg/kg treated group

O, P: LF extracts 500mg/kg treated group

All Hematoxylin-eosin stain; Scale bars = 40 μ m

3) PMNs의 수적 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 폐 내 PMNs의 수적 증가가 인정되었으나, α -lipoic acid, 금은화 물 추출물 250 및 500mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$) 폐 내 PMNs 수적 감소가 인정되었다(Table 8).

IV. 고 찰

현재까지의 연구에 따르면 ARDS 초기단계

는 폐 손상에 호중구, 대식세포 및 보체가 관여한다고 알려져 있으며,¹⁾ 호중구에 의한 ARDS 유발은 폐 내에서 호중구의 심한 침윤이 단시간 내에 일어나고 동시에 다량의 산소기를 조직으로 유리하므로 산소기-항산화계의 불균형이 초래되어 조직의 손상으로 나타나게 된다.¹⁹⁾ 또한 내독소를 실험동물에 투여하였을 때 폐혈관 투과성의 증가로 전신뿐만 아니라 폐혈류 동태상의 변화, 백혈구 감소증, 대사성 산증, 급성 폐 손상을 초래할 수 있다.¹⁾

LPS는 그람 음성세균의 균체내 독소로 외부 세포막을 구성하는 성분으로 이전부터 대식세포의 활성화 인자이며 내독소성 쇼크의 원인물

질로 알려져 있고 혈류 중으로 주입하면 급성 패혈성 쇼크와 같은 여러 가지 병리학적 변화가 초래되며, 이러한 급성 패혈성 쇼크는 ARDS와 직결되어, 사망률의 증가를 초래한다.²¹⁾ LPS 유발 급성 폐 손상 rat 모델은 현재 급성 폐 손상의 ARDS와 같은 질환에 대한 치료제 개발에 가장 흔히 사용되는 실험동물 모델에 하나이다.²²⁾

본 연구에 사용된 lipoic acid는 octanoic acid의 dithiol 유도체로 다양한 세포의 효소 합성에 이용되는 물질이다.²³⁾ 최근 연구에 따르면, α -lipoic acid는 rat의 뇌, 심장, 간 및 골격근에서 다른 항산화제의 효과를 활성화시키거나, 지질 과산화를 직접 억제하여 강력한 항산화제로 작용하는 것으로 알려져 있으며²⁴⁾ 강력한 항산화 작용으로 LPS 유발 급성 폐 손상에도 유효한 것으로 알려져 있다.²⁵⁾

그러나 급성 폐 손상으로 인한 ARDS의 치료로는 원인 질환에 대한 치료, 영양 공급, 수액 공급, 기계 환기 등 보존적 치료가 주가 되고 있으며 이러한 치료에 따라 최근 사망률 저하에 큰 역할을 하고 있으나 서양 의학적 약물 치료에서는 효과를 입증하지 못하고 있어³⁾ 급성 폐 손상으로 인한 ARDS와 같은 질환의 치료제 개발이 시급한 실정이다.

현재까지 금은화 추출물 및 금은화 유래 성분, 특히 flavone 유도체로서 luteolin(5,7,3',4'-tetrahydroxyflavone)의 약리효과에 대한 많은 연구가 진행되고 있는데, 금은화 추출물이 비교적 강력한 free radical 형성 억제 효과²⁶⁾를 가지고 있다는 보고와 ARDS와 같은 질환의 급성 폐 손상에 미치는 영향에 대해서 LPS 유도 염증 매개물 억제 효과²⁷⁾는 보고되었으나 *in vivo* 효과는 아직까지 보고된 바 없었다.

따라서 본 연구에서는 淸熱藥이며 인동과에 속한 인동(*Lonicera japonica* Thunb)의 花蕾를 건조 한 약재로 대표적인 항염증 약물의 하나인 금은화^{4, 5)}의 ARDS와 같은 질환의 급성

폐 손상에 대한 효과를 LPS 유발 rat 급성 폐 손상 모델을 이용하여 평가하였다.

LPS 투여 전 금은화 물 추출물을 매일 31.25, 62.5, 125, 250 및 500mg/kg의 농도로 각각 28일간 경구 투여한 다음, LPS 투여 5시간 후 모든 동물을 희생하여, 체중, 폐 중량, 폐혈관 투과도, 동맥혈의 pH, PaO₂, PaCO₂, BALF 내 단백질, LDH, TNF- α , IL-1 β 의 함량, 총 세포 수, 호중구 및 폐포 대식세포의 비율, 폐내 MDA, MPO, TNF- α 및 IL-1 β 의 함량의 변화를 폐 조직병리학적 변화와 함께 관찰하였다. 실험결과는 강력한 항산화제인 α -lipoic acid, 60mg/kg 투여군과 각각 비교하였다.

본 실험에서는 LPS 투여 5시간 후 모든 실험동물을 희생하였으므로, LPS 투여 후 체중의 변화를 논하기는 어렵지만, 금은화 물 추출물 500mg/kg 투여군에 국한되어, 정상 및 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01 또는 p<0.05) 체중의 증가가 투여 21일부터 관찰되기 시작하였고, 투여기간 동안의 체중 증가량 역시 정상 및 LPS 대조군에 비해 유의성 있는(p<0.01) 증가를 나타내었다. 일반적으로 면역 활성화 효과가 있는 물질 투여시 체중의 증가 등 성장 촉진 효과가 인정되는 것으로 알려져 있어²⁸⁾, 면역 활성화 등의 다른 약리작용에 수반된 이차적 변화로 추정된다. 이외 다른 실험동물은 동일한 연령의 정상 랫트의 체중 증가 범주²⁹⁾에 포함되는 체중 및 체중 증가량을 각각 나타내었다.

LPS 투여시 혈관 누출성의 증가로 폐 중량의 증가가 초래되며, 이러한 폐 중량의 증가는 LPS 유발 급성 폐 손상을 판단하는 여러 가지 지표 중에서 하나의 기본적인 지표로 이용되어 왔다.³⁰⁾ 한편 본 연구에서도 LPS 투여 후 폐 절대 및 체중에 대한 상대 중량의 증가가 초래되었으나, 250 및 500mg/kg의 금은화 물 추출물 투여에 의해 폐 중량의 증가가 억제되었으며, 이러한 결과는 금은화 물 추출물이 LPS 유발

급성 폐 손상을 예방하는 간접적인 증거로 판단된다.

LPS 투여에 의해 폐포-모세혈관 누출·누수의 지표인 폐혈관 투과도¹¹⁾의 증가가 초래되었으나, 250 및 500mg/kg 이상의 금은화 물 추출물 투여에 의해 이러한 폐혈관 투과도의 증가가 억제되어, 금은화 물 추출물이 LPS 유발 급성 폐 손상에 비교적 유효한 효과를 나타낼 것으로 기대된다.

또한 LPS 유발 급성 폐 손상시 폐의 가스 교환 작용의 억제에 의해 PaCO₂ 증가와 PaO₂ 감소가 초래되며, 이산화탄소의 증가에 의해 pH는 감소되었다. 본 실험에서도 이전의 보고³¹⁾와 유사하게 LPS 투여 후 PaO₂ 및 pH의 감소 및 PaCO₂ 증가를 나타내었다. 이러한 동맥혈 가스 지표의 변화에서 250 및 500mg/kg의 금은화 물 추출물 투여에 의해 pH, PaO₂ 증가했고 PaCO₂는 감소되는 것으로 관찰되었다.

LPS 투여 시 급성 염증성 폐 손상이 초래되며, 그 결과 BALF 내 단백질 함량의 증가가 염증세포의 증가와 함께 초래된다.³²⁾ 또한 LDH는 여러 가지 조직에 존재하는 효소로 조직의 손상시 증가되며 LPS 유발 급성 폐 손상시에도 증가되는 것으로 알려져 있다.³¹⁾ 본 연구의 결과에서도 LPS 투여에 의해 BALF 내 단백질, LDH 및 염증세포의 증가가 인정되었으나, 250 및 500mg/kg의 금은화 물 추출물 투여에 의해 BALF 내 단백질, LDH 및 염증세포의 증가가 억제되었다.

MPO assay는 호중구에서 형성되는 효소로, 염증의 지표로 흔히 이용되고 있으며 LPS 유발 급성 폐 손상시에도 상승을 나타내어, 염증 반응의 지표로 이용되고 있다.³³⁾ 본 연구의 결과에서도, 폐내 MPO 함량의 증가가 초래되었으나, 250 및 500mg/kg 금은화 물 추출물 투여에 의해 이러한 폐내 MPO 함량의 증가가 억제되었다.

LPS 투여시, 폐포 모세혈관의 누출성 증가

로 PMNs의 폐포 강 또는 벽 내로의 유주가 증가되고, 폐포벽의 비후가 초래되며, 이 결과 폐포 내강 비율, LSA는 감소되어 호흡곤란이 초래되므로,³⁴⁾ 폐의 조직 병리학적 소견은 LPS 유발 급성 폐 손상을 나타내는 직접적인 지표로 이용되어 왔다.³⁵⁾ LSA는 폐포의 내강 비율로 폐의 기능을 나타내는 지표이다.³⁶⁾

본 실험에서도 LPS 투여에 의해 폐포벽 두께 및 유주 PMNs의 수적 증가와 함께 LSA의 감소가 초래되었으나, 이러한 조직병리학적 변화가 250mg/kg 이상의 금은화 물 추출물 투여에 의해 억제되었다.

급성 호흡곤란 증후군 환자에서 얻어진 호기시 호흡 공기에서 과산화수소의 증가가 관찰되었고,³⁷⁾ 지질 과산화(lipid peroxidation) 생성물의 순환이 증가되었으며, 항산화제 투여에 의해 급성 폐손상이 현저히 완화되는 것으로 알려져 있다.²⁰⁾ 본 연구에서도 LPS 투여 시 지질 과산화 지표인 MDA 함량의 증가가 인정되었으나, 250 및 500mg/kg 금은화 물 추출물 투여에 의해 이러한 폐내 MDA 함량의 증가가 억제되었다. 급성 호흡 곤란 증후군과 같은 급성 폐 손상시 폐포 대식세포와 폐 모세혈관 상피세포의 활성화에 의해 혈관부착인자³⁴⁾와 proinflammatory cytokines³⁸⁾의 활성이 초래되어 백혈구의 폐내 유주가 초래된다. 본 실험의 결과 LPS 투여 후 증가된 BALF 및 폐 내, proinflammatory cytokines인 TNF- α 와 IL-1 β 가 250 및 500mg/kg의 금은화 물 추출물 투여에 의해 감소되었다. 항산화와 항염증 작용은 서로 긴밀한 관련이 있는 것으로 알려져 있어,³⁹⁾ 항산화 효과 즉, 이미 잘 알려져 있는 금은화 추출물의 free radical scavenger 효과²⁶⁾가 LPS 유발 급성 폐 손상의 완화에 큰 역할을 할 것으로 생각된다. 또한 최근 연구에 따르면 항산화제의 LPS 유발 급성 폐 손상에 대한 효과가 NF- κ B를 매개해 일어나는 것으로 알려져 있고,⁴⁰⁾ 금은화가 NF- κ B를 매개하여 항염 작용

을 나타내는 것으로 알려져 있으나,^{9, 10)} 좀더 세밀하고 다양한 방면으로의 기전적 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

이상의 결과에서 250 및 500mg/kg의 금은화 물 추출물은 60mg/kg의 α -lipoic acid와 유사한 정도로, 항산화 및 항염 효과에 의해 LPS 유발 급성 폐 손상에 유효한 효과를 나타내는 것으로 판단되었으나, 향후 세밀하고 다양한 방면으로의 기전 연구 및 단미제와 더불어 복합 처방에 대한 임상적 활용 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

V. 결 론

금은화 물 추출물이 LPS로 유발된 rat의 급성 폐 손상에 미치는 영향에 대해 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 폐 중량, 폐혈관 투과도는 250 및 500mg/kg의 금은화 물 추출물 투여에 의해 증가가 억제되었고 동맥혈 가스 지표의 변화 중 pH, PaO₂ 증가했고 paCO₂는 감소되는 것으로 관찰되었다.
2. BALF 내 단백질, LDH 및 염증세포(호중구 및 폐포 대식세포)의 변화는 250 및 500mg/kg의 금은화 물 추출물 투여에 의해 증가가 억제되었다.
3. 폐내 MDA 및 MPO 함량의 변화는 250 및 500mg/kg의 금은화 물 추출물 투여에 의해 증가가 억제되었다.
4. 폐내, proinflammatory cytokines인 TNF- α 와 IL-1 β 가 250 및 500mg/kg의 금은화 물 추출물 투여에 의해 증가가 억제되었다.
5. 폐 조직병리학적 변화인 폐포벽 두께 및 유주 PMNs의 수적 증가와 LSA의 감소가 250 및 500mg/kg의 금은화 물 추출물 투여에 의해 증가가 억제되었다.

참고문헌

1. 대한결핵 및 호흡기학회. 호흡기학. 서울: 군자출판사. 2007: 919-23.
2. Spragg, R. Surfactant for acute lung injury. Am J Respir Cell Mol. Biol, 2007: 37: 377-8.
3. Wheeler, A.P., Bernard, G.R. Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. A clinical review. Lancet. 2007: 369: 1553-64.
4. 김동현, 김형민, 류중훈, 엄재영, 김상찬, 양재하 등. 한방약리학. 서울: 신일상사. 2006: 133-5.
5. 김인락, 김호철, 국윤범, 박성주, 박용기, 박지하 등. 本草學. 서울: 圖書出版 永林社. 2007: 240-2.
6. Park, E., Kum, S., Wang, C., Park, S.Y., Kim, B.S. Schuller-Levis G. Anti-inflammatory activity of herbal medicines: inhibition of nitric oxide production and tumor necrosis factor-alpha secretion in an activated macrophage-like cell line. Am J Chin Med. 2005: 33: 415-24.
7. Ko, H.C., Wei, B.L., Chiou, W.F. The effect of medicinal plants used in Chinese folk medicine on RANTES secretion by virus-infected human epithelial cells. J Ethnopharmacol. 2006: 107: 205-10.
8. Lee JH, Ko WS, Kim YH, Kang HS, Kim HD, Choi BT. Anti-inflammatory effect of the aqueous extract from *Lonicera japonica* flower is related to inhibition of NF-kappaB activation through reducing I-kappaBalpha degradation in rat liver. Int J Mol Med. 2001: 7: 79-83.

9. 조성구. 金銀花 添加가 肉鷄 生産性과 臟器 發育에 미치는 影響. 韓國家禽學會誌, 1992: 19: 27-34.
10. 이동연, 이재명, 김영우 등. 금은화 및 금은화전초가 RAW 264.7 cell에서 LPS로 유도된 NO의 생성, iNOS, COX-2 및 cytokine에 미치는 영향. 대한동의생리병리학회지. 2005: 19(2): 481-9.
11. Nathens, A.B., Bitar, R., Davreux, C., Bujard, M., Marshall, J.C., Dackiw, A.P., Watson, R.W., Rotstein, O.D. Pyrrolidine dithiocarbamate attenuates endotoxin-induced acute lung injury. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1997: 17: 608-16.
12. Dunn, C.J., Elliot, G.A., Steven, J.A., Richard, I. Development of a prolonged eosinophil-rich inflammatory leukocyte infiltration in the guinea pig asthmatic response to ovalbumine inhalation. *Am Rev Respir Dis.* 1988: 137: 541-7.
13. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951: 193: 265-75.
14. Bergmeyer, H.U. Enzymes 1: oxidoreductases, transferases. In *Methods of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer HU, Bergmeyer J, and Grassl M (eds). Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, FL. 1986: 127-33.
15. Kavutcu, M., Canbolat, O., Oztürk, S., Olcay, E., Ulutepe, S., Ekinci, C., Gökhan, I.H., Durak, I. Reduced enzymatic antioxidant defense mechanism in kidney tissues from gentamicin-treated guinea pigs: effects of vitamins E and C. *Nephron.* 72, 269-74, 1996.
16. Asakawa, T., Matsushita, S. Thiobarbituric acid test for detecting lipid peroxides. *Lipids.* 1974: 14: 401-6.
17. Liu, S.H., Ma, K., Xu, B., Xu, X.R. Carbon monoxide inhalation protects lung from lipopolysaccharide-induced injury in rat. *Sheng Li Xue Bao.* 2006: 58: 483-9.
18. Gamze, K., Mehmet, H.M., Deveci, F., Turgut, T., Ilhan, F., Ozercan, I. Effect of bosentan on the production of proinflammatory cytokines in a rat model of emphysema. *Exp Mol Med.* 2007: 39: 614-20.
19. Schuster, D.P., Kollef, M.H. Acute respiratory distress syndrome. *Dis. Mon.* 1996: 42: 270-326.
20. Hybertson, B.M., Leff, J.A., Beehler, C.J., Barry, P.C., Repine, J.E. Effect of vitamin E deficiency and supercritical fluid aerosolized vitamin E supplementation on interleukin-1 induced oxidative lung injury in rats. *Free Radic Biol Med.* 1995: 18: 537-42.
21. Aderem, A., Ulevitch, R.J. Toll-like receptors in the induction of the innate immune response. *Nature.* 406(6797), 782-7, 2000.
22. Simpson, S.Q., Casey, L.C. Role of tumor necrosis factor in sepsis and acute lung injury. *Crit Care Clin.* 1989: 5: 27-47.
23. Biliska, A., Włodek, L. Lipoic acid - the drug of the future *Pharmacol Rep.* 2005: 57: 570-7.
24. Savitha, S., Tamilselvan, J., Anusuyadevi, M., Panneerselvam, C. Oxidative stress on mitochondrial antioxidant defense system in the aging process: role of DL-alpha-lipoic acid and L-carnitine. *Clin Chim Acta.* 2005: 355: 173-80.
25. Skibska, B., Ciejka, E., Goraca, A. Esti-

- mation of the effect of lipoic acid in the rat's lung during lipopolysaccharide-induced oxidative stress. *Pol Merkur Lekarski*. 2006; 20: 651-4.
26. Tang, D., Li, H.J., Chen, J., Guo, C.W., Li, P. Rapid and simple method for screening of natural antioxidants from Chinese herb *Flos Lonicerae Japonicae* by DPPH-HPLC-DAD-TOF/MS. *J Sep Sci*. 2008; 31: 3519-26.
27. 윤용갑, 김규민, 이성준, 유승훈, 장선일. 금은화 수용성 추출물의 LPS 유도 염증매개물 억제 효과. *大韓本草學會誌*, 2007; 22(3): 117-25.
28. Pinzone Fox, M.L., Sastry, M.K., Parenti, D.M., Simon, G.L. Plasma leptin concentration increases early during highly active antiretroviral therapy for acquired immunodeficiency syndrome, independent of body weight. *J Endocrinol Invest*. 2005; 28: 1-3.
29. Tajima, Y. (Ed). Biological reference data book on experimental animals. Tokyo: Soft Science Inc. 1989.
30. Feng, Q., Ren, Y., Wang, Y., Ma, H., Xu, J., Zhou, C., Yin, Z., Luo, L. Anti-inflammatory effect of SQC-beta-CD on lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *J Ethnopharmacol*. 2008; 118: 51-8.
31. Li-ying, Z., Zhong-yuan, X., Fang, X., Bang-chang, C. Effect of *radix paeoniae rubra* on expression of p38 MAPK/iNOS/HO-1 in rats with lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Chin J Traumatol*. 2007; 10, 269-74.
32. Wang, X.D., Lu, Y.L., Lai, R.C., Li, Y.P., Huang, W., Xu, M. Protective effect of ketamine against acute rat lung injury induced by lipopolysaccharide and its mechanism. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2007; 27: 1848-50.
33. Xu, X.L., Xie, Q.M., Shen, Y.H., Jiang, J.J., Chen, Y.Y., Yao, H.Y., Zhou, J.Y. Mannose prevents lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats. *Inflamm Res*. 2008; 57: 104-10.
34. Ulich, T.R., Howard, S.C., Remick, D.G., Yi, E.S. Intratracheal administration of endotoxin and cytokines VIII: LPS induces E-selectin expression. *Inflammation*. 1994; 18: 389-98.
35. Marzocco, S., Piccinelli, A.L., Rastrelli, L., Mazzon, E., Cuzzocrea, S., Autore, G. Inhibition of inducible nitric oxide synthase *in vitro* and *in vivo* by a water-soluble extract of *Wendita calysina* leaves. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2007; 375: 349-58.
36. Choi, H.Y., Jung, T.Y., Ku, S.K., Yang, H.B., Lee, H.S.. Toxicopathological study of p,p-DDE after experimental aerosol exposed to ICR Mouse. *J Toxicol Pub Health*. 2005; 21: 151-60.
37. Sznajder, J.I., Fraiman, A., Hall, J.B., Sanders, W., Schmidt, G., Crawford, G., Nahum, A., Factor, P., Wood, L.D.H. Increased hydrogen peroxide in the expired breath of patients with acute hypoxemic respiratory failure. *Chest*. 1989; 96: 606-12.
38. Berg, J.T., Lee, S.T., Thepen, T., Lee, C.Y., Tsan, M.F. Depletion of alveolar macrophages by liposome-encapsulated dichloromethylene diphosphonate. *J Appl Physiol*. 1993; 74: 2812-9.
39. Salas-Salvadó, J., Casas-Agustench, P., Murphy, M.M., López-Uriarte, P., Bulló, M. The effect of nuts on inflammation.

- Asia Pac J Clin Nutr. 2008;17:333-6.
40. Coimbra, R., Melbostad, H., Loomis, W., Porcides, R.D., Wolf, P., Tobar, M., Hoyt, D.B. LPS-induced acute lung injury is attenuated by phosphodiesterase inhibition: effects on proinflammatory mediators, metalloproteinases, NF-kappaB, and ICAM-1 expression. J Trauma. 2006;60:115-25.