

황금이 LPS로 유발된 급성 폐 손상에 미치는 영향

신호필 · 김종대 · 박미연 · 최해운*

대구한의대학교 한의과대학 내과학교실

Effects of *Scutellariae Radix* Extracts on LPS-induced Acute Lung Injury

Ho Phil Sin, Jong Dae Kim, Mee Yeon Park, Hae Yun Choi*

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

The object of this study was to observe the effects of *Scutellariae Radix* (SR) aqueous extracts on lipopolysaccharide (LPS)-induced rat acute lung injury. Five different dosages of SR extracts were orally administered once a day for 28 days before LPS treatments, and then 5 hours after lipopolysaccharide treatment, all rats were sacrificed. 8 groups, each of 16 rats per group were used in the present study. Changes on the 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 cytokine TNF- α and IL-1 β contents were observed with histopathology of the lung, changes on luminal surface of alveolus (LSA), thickness of alveolar septum, number of polymorphonuclear neutrophils (PMNs). The results were compared with a potent antioxidant α -lipoic acid, 60 mg/kg, in which the effects on LPS-induced acute lung injury were already confirmed. The results obtained in this study suggest that over 125 mg/kg of SR extracts showed favorable effects on the LPS-induced acute lung injury, and 250 mg/kg of SR extracts resembling acute respiratory distress syndrome mediated by their antioxidant and anti-inflammatory effects and .as similar to α -lipoic acid in the present study. Therefore, it is expected that SR will be showed favorable effects on the acute respiratory distress syndrome.

Key words : *Scutellariae Radix*, Acute Lung Injury, lipopolysaccharide

서 론

황금 (*Scutellariae Radix*; SR)은 꿀풀과에 속한 다년생 초본인 황금 (*Scutellaria baicalensis Georg*)의 뿌리를 건조한 약재로 性은 寒하고, 味는 苦하며, 淸熱燥濕, 瀉火解毒, 淸熱涼血, 安胎의 效能이 있다¹⁾. 황금 추출물에 대한 연구로는 항산화 효과²⁾, 면역활성³⁾, 항염효과⁴⁾가 비교적 잘 알려져 있다.

급성 호흡 곤란 증후군 (acute respiratory distress syndrome 이하 ARDS)의 연간 발생수는 100,000명당 30명이이고 사망률은 41~65%로 추측된다⁵⁾. ARDS의 치료는 원인 질환에 대한 치료와 영양 공급, 수액 공급, 기계 환기 등 보존적 치료가

주가 되고 있다. 이러한 치료에 따라 최근 사망률이 저하되고 있으나 약물 치료에서 효과를 입증하지 못하고 있어⁶⁾ 급성 폐 손상으로 인한 ARDS의 치료제 개발이 시급한 실정이다. ARDS 시의 폐 손상은 폐 모세 혈관 내피세포와 폐포 상피세포의 투과성 증가로 인한 폐부종을 특징으로 하며⁷⁾ 이러한 투과도 증가에 의해 폐의 작용과 기능이 손상 받는 것으로 알려져 있다.

황금 추출물은 강력한 free radical 형성 억제 효과, 즉 항산화 효과와²⁾, NF-kappaB regulation을 통한 항염효과가 알려져 있어⁴⁾ 폐 손상 유발 기전을 차단하여 양호한 효과를 나타낼 것으로 기대된다.

LPS는 내독소로 그람 음성균의 세포외막에 존재하여, RAW 264.7 세포와 같은 대식세포 또는 단핵세포에서 TNF- α , IL-6, IL-1 β 와 같은 proinflammatory cytokine을 증가시키는 것으로 알려져 있다⁸⁻¹⁰⁾. ARDS에도 폐포 대식세포와 폐 모세혈관 상피세포의 활성화에 의해 혈관 부착인자^{11,12)}와 proinflammatory

* 교신저자 : 최해운, 포항시 남구 대잠동 대구한의대학교 부속 포항한방병원

· E-mail : cauri@dhu.ac.kr, · Tel : 054-271-8005

· 접수 : 2010/12/27 · 수정 : 2011/01/12 · 채택 : 2011/01/18

cytokine^{13,14}의 활성이 초래되어 백혈구의 폐내 유주가 초래된다. 따라서 LPS 유발 급성 폐 손상 rat 모델은 현재 ARDS에 대한 치료제 개발에 가장 흔히 사용되는 실험동물 모델이 된다¹⁵.

국내에서는 우¹⁶의 시호 추출물이 급성 폐 손상에 미치는 유의한 효과 (*in vivo*)에 대한 보고가 있었으나, 황금 추출물이 급성 폐 손상에 미치는 영향에 대한 효과는 보고된 바 없다. 이에 저자는 황금 추출물이 LPS로 유발된 급성 폐 손상에 미치는 영향에 대해 관찰하여 유의한 결과를 얻었기에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

1. 재료

1) 황금 추출

본 실험에 사용된 황금은 약업사 (옵니허브, 대구 Korea)에서 매입한 것을 현미경하에서 관능검사를 통하여 선정하고 사용하였다. 황금 100 g을 취하여 정제수 2000 ml로 가열 추출한 후, 흡인 여과한 여과액을 rotary vacuum evaporator (Buchi Rotavapor R144, Buchi Labortechnik AG, Switzerland)로 감압·농축하여 점조성의 추출물을 얻은 다음 programmable freeze dryer (Labconco Freezone1, Labconco Corp, MO, USA)를 사용하여 동결 건조시켜, 총 27.20 g (수율 약 27.20%)의 연갈색의 추출물을 얻어 실험에 사용하였다. 준비한 황금 추출물은 -20℃의 냉장고에 보관 후 실험에 사용하였으며, 본 실험에서 사용한 용매인 증류수에 100 mg/ml의 농도까지 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 사용하였으며, 순화 과정 및 실험 전 기간 동안 온도 (20-25℃)와 습도 (30-35%)가 조절된 사육실에서 rat용 polycarbonate 사육 상자에 4마리씩 수용하여 사육하였고, 명암 주기는 12시간 주기로 조절하였으며, 사료 (Samyang, Korea)와 음수는 자유롭게 공급하였다. 이 중 112마리는 LPS로 급성 폐 손상을 유발하였으며, 나머지 16마리는 정상 대조군으로 사용하였다. 모든 실험동물은 투여 시작일 및 최종 부검일 (LPS 투여일)에 각각 18시간 정도 절식을 실시하였으며 (이 기간에도 음수는 자유롭게 공급하였다), picric acid로 개체를 식별하였다. 약 반수의 실험동물은 폐 모세혈관 투과율 측정에 사용하였으며, 나머지 실험동물은 기관 폐 세정액 (Brochoalvelar lavage fluid 이하 BALF) 등 다른 검사 항목에 사용하였다.

2. 방법

1) 실험군 분리 및 약물의 투여

실험동물은 군당 16마리씩 Table 1에 기록한 8 그룹으로 구분하였다. 멸균 생리 식염수를 투여한 정상 대조군 (정상 대조군; intact control), 멸균 증류수 및 LPS 투여 대조군 (LPS 대조군; LPS control), α-lipoic acid (Sigma, MO, USA) 60 mg/kg 및 LPS 투여군 (α-lipoic acid 투여군; α-lipoic), 황금 추출물 31.25 mg/kg 및 LPS 투여군 (황금 추출물 31.25 mg/kg 투여군; SR 31.25), 황금

추출물 62.5 mg/kg 및 LPS 투여군 (황금 추출물 62.5 mg/kg 투여군; SR 62.5), 황금 추출물 125 mg/kg 및 LPS 투여군 (황금 추출물 125 mg/kg 투여군; SR 125), 황금 추출물 250 mg/kg 및 LPS 투여군 (황금 추출물 250 mg/kg 투여군; SR 250), 황금 추출물 500 mg/kg 및 LPS 투여군 (황금 추출물 500 mg/kg 투여군; SR 500)의 8군으로 구분하여 실험하였다 (Table 1).

α-lipoic acid 및 황금 추출물은 각각 멸균 증류수에 용해시켜 동물 체중 kg 당 5 ml의 용량으로 LPS 투여 전, 매일 1회씩 28일간 금속제 sonde가 부착된 3 ml 주사기를 이용하여 강제 경구 투여하였다.

Table 1. Experimental design used in this study

	Groups		Test article/ LPS/ Dose (mg/kg/day)
	Control	Intact	Distilled water and saline treated rats (5 ml/kg)
	LPS	Distilled water and LPS treated rats	
Reference	α-lipoic acid 60	α-lipoic acid and LPS treated rats	
SR extracts	SR 31.25	SR extract 31.25 mg/kg and LPS rats	
	SR 62.5	SR extract 62.5 mg/kg and LPS rats	
	SR 125	SR extract 125 mg/kg and LPS rats	
	SR 250	SR extract 250 mg/kg and LPS rats	
	SR 500	SR extract 500 mg/kg and LPS rats	

SR: *Scutellariae Radix* aqueous extract, α-lipoic acid or vehicle (distilled water) were dosed at 5 ml/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, 500 µg/head, all animals were sacrificed after 28 days of test article treatment, and 5 hours after LPS treatment.

2) 급성 폐 손상의 유발

급성 폐 손상을 유발하기 위하여, 멸균 증류수, α-lipoic acid 및 황금 추출물을 28일간 투여하고, 18시간 이상 절식한 다음, Nathens 등¹⁷의 방법에 따라, 모든 실험동물을 Zoletile mixture (Zoletile 50; Virbac Lab, France) 25 mg/kg을 복강 주사하여 마취시키고, 기관 절개술을 실시하여 500 µg의 *Escherichia coli* 0111:B4 LPS (Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)를 0.5 ml의 생리식염수에 용해시켜, 기관 내로 주입하였다. 정상 대조군에서는 LPS를 포함하지 않은 0.5 ml/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 공식 [1]을 이용하여 실험 전 기간인 4 주 동안의 체중 증가량 (body weight gains)을 측정하였다.

EQUATION [1]. Body Weight Gains (g)

Throughout the whole experimental periods = Body weight gains of 4 weeks of experiments (At start of administration-at sacrifice, the end of 28 days of test article treatments)

4) 폐 중량의 측정

최종 희생일에 모든 실험동물의 폐를 적출하여 분리한 다음 각각의 중량을 측정하여, 절대 중량으로 하였으며, 체중의 변화

에 수반된 이차적 변화를 최소화하기 위해 체중에 대한 폐 절대 중량의 비율인 상대 중량을 하기의 공식 [2]을 이용하여 산출하였다.

EQUATION [2]. Relative Lung Weights (%)
 = (Absolute lung weight / Body weight at sacrifice) × 100

5) 폐 혈관 투과율의 측정

폐 혈관 투과율을 Nathens 등¹⁷⁾과 Hybertson 등¹⁸⁾의 방법에 따라 [¹²⁵I] 표지 albumin (Montreal, Quebec, Canada)을 이용하여 측정하였다. 1 mCi의 [¹²⁵I] 표지 albumin을 최종 희생 30분전에 복대정맥에 투여하고, heparin (100 U; Sigma, MO, USA)을 우측 심방에 주입한 다음 심장 천자로 1 ml의 혈액을 채취하였다. 모든 실험 동물을 방혈 한 다음, 폐정맥으로 삼관하고, 10 ml의 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 공식 [3]을 이용하여 산출하였다.

EQUATION [3]. Permeability Index (%)
 = (Lung cpm / Blood cpm/ml) × 100

6) 동맥혈 가스 지표의 측정

최종 희생일에 LPS 투여 5시간 후, 0.5 ml의 동맥혈을 복대 동맥에서 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 세정액의 수집

LPS 투여 5시간 후, Dunn 등¹⁹⁾의 방법에 따라 경부와 흉부를 열어, 조직병리학적 검사에 사용할 좌측 폐를 보호하기 위해 좌측 주 기관지를 결찰한 후 기관에 삼관하고 2번에 걸쳐 inactivated fetal bovine serum (FBS; Gibco BRL, USA) 용액을 0.5 ml를 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 등²⁰⁾의 방법에 따라, bicinchoninic acid assay로 측정하였으며, LDH 함량은 Bergmeyer²¹⁾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 1 ml로 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 등²²⁾의 방법으로 in 9 vols ice-cold 0.15 M/L KCl 및 1.9 mM/L ethylenediaminetetraacetic acid가 함유된 용액에서 homogenize 하고, 상층액을 분리하여 MDA를 측정하였다. 폐내 단백질 함량은 Lowry 등²⁰⁾의 방법으로 bovine serum albumin을 standard로 이용하여 측정하였으며, 지질 과산화 정도는 Asakawa와 Matsushita²³⁾의 방법으로 2-thiobarbituric acid를 이용하고, 흡광도 525 nm에서 측정하여, MDA nmole/mg protein 단위로 측정하였다. 또한 염증 지표인 MPO 함량을 Liu 등²⁴⁾의 방법에 따라, 측정 Kit (Nanjing Jiancheng Biochemistry Co, Nanjing, China)를 이용하여 흡광도 620 nm에서 MPO U/mg protein 단위로 측정하였다.

11) Proinflammatory cytokine 함량의 측정

Gamze 등²⁵⁾의 방법에 따라, BALF 수거 직후 4000 × g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 준비하였으며, 폐 조직을 Ultra Turrax T25 basic homogenizer (IKA Labortechnik, Janke and Kunkel GmbH, Co, Germany)로 균질화하고, 4000 × g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 수거하였다. 이후 BALF 및 폐 균질 상층액에서 ELISA kits (Med-Systems Diagnostics GmbH, Vienna, Austria)를 이용하여, proinflammatory cytokine인 TNF-α와 IL-1β의 함량을 각각 측정하였다.

12) 조직 병리학적 관찰

좌측 폐 조직을 분리하여 10% neutral buffered formalin에 고정된 다음 탈수와 포매를 거쳐 파라핀 블럭을 준비하고, 3 μm의 조직절편을 제작하여 hematoxylin-eosin 염색을 실시하여 광학현미경하에서 관찰하였다. 또한 폐포공간비율 (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, %, μm 및 ×5 /1 mm² of histological lung field 로 측정하였다.

13) 통계분석

모든 수치는 평균 ± 표준편차로 표시하였으며, 다중비교검증을 이용하여 통계분석을 실시하였고, 분산동질성을 Levene test를 실시하여 검증 하였다. 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 통계분석은 SPSS for Windows (Release 14.0K, SPSS Inc, USA)를 이용하여 평가하였으며, p-value가 0.05 이하인 경우 통계적 유의성을 인정하였다.

결 과

1. 체중의 변화

정상 및 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) 체중의 증가가 황금 추출물 250 및 500 mg/kg 투여군에 국한되어, 투여 27 일후와 최종 희생일에 인정되었으며, 투여 전기간인 28일간의 체중 증가량 역시 정상 및 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) 증가를 각각 나타내었다. 그러나 α -lipoic acid, 황금 추출물 31.25, 62.5 및 125 mg/kg 투여군에서는 정상 및 LPS 대조군과 유사한 체중 증가량을 나타내었으나 유의성은 없었다(Fig. 1, 2).

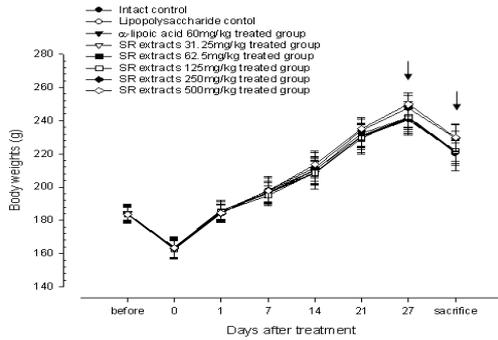


Fig. 1. Body weight changes after test article administration. SR ; *Scutellariae Radix* aqueous extract, Day 0 means at start of test article administration, and before means 1 day before start of test article administration, values are expressed mean \pm SD of 16 rats, all animals at LPS treatment day, sacrifice and Day 0 were overnight fasted.

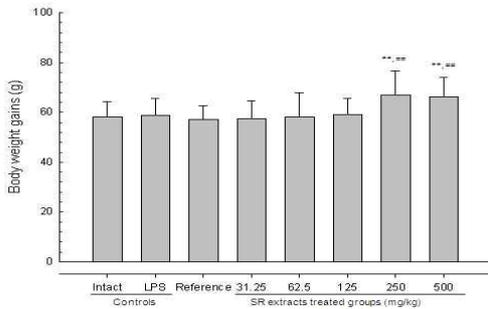


Fig. 2. Body weight gains after test article administration. LPS ; lipopolysaccharide, SR ; *Scutellariae Radix* aqueous extract, Reference ; α -lipoic acid 60 mg/kg, values are expressed mean \pm SD of 16 rats, * ; $p < 0.01$ as compared with intact control, ** ; $p < 0.01$ as compared with LPS control.

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, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) 폐 상대 및 절대 중량치의 감소가 인정되었다. 그러나 황금 추출물 31.25 및 62.5 mg/kg 투여군에서는 LPS 대조군과 유사한 폐 중량의 변화를 나타내었으나 유의성은 없었다(Table 2).

3. 폐 혈관 투과도의 변화

LPS 대조군을 포함한 모든 시험군에서는 서로 유사한 혈중 투여 albumin 농도를 나타내었으나, LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) 폐 혈관 투과도의 증가를 나타내었다. 한편, α -lipoic acid, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/

kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$) 폐내 잔존 albumin 함량의 감소와 이에 따른 폐 혈관 투과도의 유의성 있는 감소가 각각 인정되었다. 그러나 황금 추출물 31.25 및 62.5 mg/kg 투여군에서는 LPS 대조군과 유사한 폐내 잔존 albumin 농도와 폐 혈관 투과도를 각각 나타내었으나 유의성은 없었다(Table 3).

Table 2. Changes on the lung weights after test article administration

Groups	Lung Weights	
	Absolute (g)	Relative (%) of body weights
Controls		
Intact	1.440 \pm 0.146	0.658 \pm 0.064
LPS	2.158 \pm 0.118**	0.978 \pm 0.053**
α -lipoic acid 60 mg/kg	1.713 \pm 0.130**,#	0.778 \pm 0.063**,#
SR extract		
31.25 mg/kg	2.104 \pm 0.242*	0.944 \pm 0.108**
62.5 mg/kg	2.110 \pm 0.189*	0.970 \pm 0.105**
125 mg/kg	1.872 \pm 0.133**,#	0.842 \pm 0.057**,#
250 mg/kg	1.729 \pm 0.222**,#	0.754 \pm 0.086**,#
500 mg/kg	1.628 \pm 0.209**,#	0.702 \pm 0.105**,#

Values are expressed mean \pm SD of 8 rats, * ; $p < 0.05$, ** ; $p < 0.01$ as compared with intact control, # ; $p < 0.01$ as compared with LPS control.

Table 3. Changes on the pulmonary transcapillary albumin transit test after test article administration

Groups	Intensity of [¹²⁵ I] Albumin (cpm)		Permeability Index (B/A)
	Blood (A)	Lung (B)	
Controls			
Intact	0.587 \pm 0.092	0.006 \pm 0.003	0.010 \pm 0.005
LPS	0.586 \pm 0.070	0.091 \pm 0.012**	0.157 \pm 0.025**
α -lipoic acid 60 mg/kg	0.583 \pm 0.086	0.032 \pm 0.015**,#	0.058 \pm 0.034**,#
SR extract			
31.25 mg/kg	0.589 \pm 0.088	0.092 \pm 0.013**	0.159 \pm 0.034**
62.5 mg/kg	0.587 \pm 0.062	0.086 \pm 0.013**	0.147 \pm 0.015**
125 mg/kg	0.584 \pm 0.073	0.063 \pm 0.013**,#	0.112 \pm 0.034**,#
250 mg/kg	0.583 \pm 0.063	0.035 \pm 0.011**,#	0.059 \pm 0.018**,#
500 mg/kg	0.585 \pm 0.089	0.020 \pm 0.012**,#	0.033 \pm 0.017**,#

Values are expressed mean \pm SD of 8 rats, * ; $p < 0.05$ and ** ; $p < 0.01$ as compared with intact control, # ; $p < 0.05$, ## ; $p < 0.01$ as compared with LPS control.

4. 동맥혈 가스 지표의 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) 동맥혈의 pH 및 PaO₂의 감소와 PaCO₂의 증가가 함께 인정되었으나, α -lipoic acid, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$) pH 및 PaO₂의 증가와 PaCO₂의 감소가 인정되었다. 그러나 황금 추출물 31.25 및 62.5 mg/kg 투여군은 LPS 대조군과 유사한 동맥혈의 pH, PaO₂ 및 PaCO₂를 각각 나타내었으나 유의성은 없었다(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, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) BALF 내 단백질 함량의 감소가 인정되었다. 그러나 황금 추출물 31.25 및 62.5 mg/kg 투여

군은 LPS 대조군과 유사한 BALF 내 단백질 함량을 나타내었다 (Fig. 3).

Table 4. Changes on the arterial blood gas parameters after test article administration

Groups	pH	Partial Pressure	
		PaO2	PaCO2
Controls			
Intact	7.46±0.10	106.63±8.25	30.63±3.96
LPS	7.10±0.13 [*]	74.50±6.99 ^{**}	45.13±5.33 ^{**}
α-lipoic acid 60 mg/kg	7.27±0.07 ^{**} , ^{##}	92.38±4.81 ^{**} , ^{##}	35.50±3.93 ^{##}
SR extract			
31.25 mg/kg	7.12±0.12 ^{**}	73.75±8.19 ^{**}	46.38±4.72 ^{**}
62.5 mg/kg	7.19±0.16 ^{**}	76.75±7.36 ^{**}	44.50±7.17 ^{**}
125 mg/kg	7.24±0.08 ^{**} , [#]	86.38±8.03 ^{**} , ^{##}	38.25±5.28 ^{**} , [#]
250 mg/kg	7.28±0.08 ^{**} , ^{##}	92.63±7.74 ^{**} , ^{##}	35.25±5.80 ^{##}
500 mg/kg	7.33±0.08 ^{**} , ^{##}	98.25±7.85 ^{**} , ^{##}	32.38±4.00 ^{##}

Values are expressed mean±SD of 8 rats, ^{*}; p<0.05, ^{**}; p<0.01 as compared with intact control, [#]; p<0.05 and ^{##}; p<0.01 as compared with LPS control.

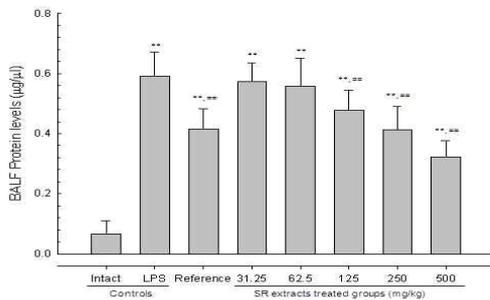


Fig. 3. Changes of BALF protein levels after test article administration. BALF; bronchoalveolar lavage fluid, LPS; lipopolysaccharide, SR; *Scutellariae Radix* aqueous extract, Reference; α-lipoic acid 60 mg/kg, values are expressed mean±SD of 8 rats, ^{*}; p<0.05 and ^{**}; p<0.01 as compared with intact control, [#]; p<0.01 as compared with LPS control.

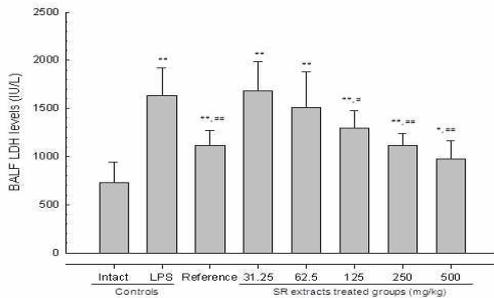


Fig. 4. Changes of BALF LDH levels after test article administration. BALF; bronchoalveolar lavage fluid, LPS; lipopolysaccharide, LDH; lactate dehydrogenase, SR; *Scutellariae Radix* aqueous extract, Reference; α-lipoic acid 60 mg/kg, values are expressed mean±SD of 8 rats, ^{*}; p<0.05 and ^{**}; p<0.01 as compared with intact control, [#]; p<0.05 and ^{##}; p<0.01 as compared with LPS control.

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, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 (p<0.01 또는 p<0.05) BALF 내 LDH

함량의 감소가 인정되었다. 그러나 황금 추출물 31.25, 62.5 mg/kg 투여군은 LPS 대조군과 유사한 BALF 내 LDH 함량을 나타내었다 (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, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 (p<0.01) BALF 내 총 세포 수의 감소가 인정되었다. 그러나 황금 추출물 31.25 및 62.5 mg/kg 투여군은 LPS 대조군과 유사한 BALF 내 총 세포 수를 나타내었다 (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, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/kg (p<0.01 또는 p<0.05) 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 BALF 내 호중구 및 폐포 대식세포 비율의 감소가 인정되었다. 특히 황금 추출물 500 mg/kg에서는 BALF 내 대식세포 비율이 정상 대조군보다 감소되었다. 그러나 황금 추출물 31.25 및 62.5 mg/kg 투여군은 LPS 대조군과 유사한 BALF 내 호중구 및 폐포 대식세포의 비율을 각각 나타내었으나 유의성은 없었다 (Table 5).

Table 5. Changes on the cellular components of BALF after test article administration

Groups	Total Cells (× 10 ⁴ cells)	Cell Classification: ratio (%/100 cells)	
		Neutrophil granulocytes	Alveolar macrophages
Controls			
Intact	7.63±2.39	10.25±2.38	51.25±11.87
LPS	102.00±13.32 ^{**}	22.38±3.34 ^{**}	70.50±5.45 ^{**}
α-lipoic acid 60 mg/kg	80.63±12.55 ^{**} , ^{##}	17.50±3.59 ^{**} , ^{##}	54.38±4.81 ^{##}
SR extract			
31.25 mg/kg	101.50±17.66 ^{**}	21.75±3.77 ^{**}	67.75±5.85 ^{**}
62.5 mg/kg	94.88±21.45 ^{**}	22.88±3.87 ^{**}	70.63±5.71 ^{**}
125 mg/kg	85.75±15.14 ^{**} , ^{##}	18.38±3.11 ^{**} , [#]	59.38±6.74 ^{**} , ^{##}
250 mg/kg	80.38±13.03 ^{**} , ^{##}	17.63±2.26 ^{**} , ^{##}	53.75±10.53 ^{##}
500 mg/kg	49.75±7.76 ^{**} , ^{##}	12.75±3.01 ^{**} , ^{##}	42.75±9.94 ^{##}

Values are expressed mean±SD of 8 rats, ^{*}; p<0.05 and ^{**}; p<0.01 as compared with intact control, [#]; p<0.05 and ^{##}; 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, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 (p<0.01) 폐내 MDA 함량의 감소가 인정되었다. 그러나 황금 추출물 31.25 및 62.5 mg/kg 투여군은 LPS 대조군과 유사한 폐내 MDA 함량을 나타내었다 (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, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) 폐내 MPO 함량의 감소가 인정되었다. 그러나 황금 추출물 31.25 및 62.5 mg/kg 투여군은 LPS 대조군과 유사한 폐내 MPO 함량을 나타내었다(Fig. 6).

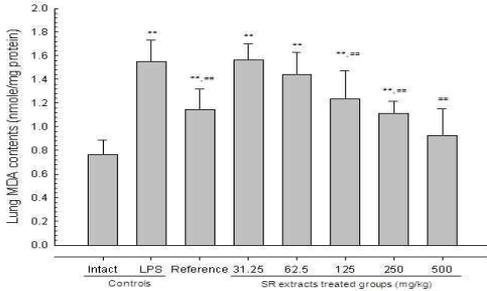


Fig. 5. Changes of lung MDA levels after test article administration. LPS ; lipopolysaccharide, MDA ; malondialdehyde, SR ; *Scutellariae Radix* aqueous extract, reference ; α -lipoic acid 60 mg/kg, values are expressed mean \pm SD of 8 rats, * ; $p < 0.01$ as compared with intact control, # ; $p < 0.01$ as compared with LPS control.

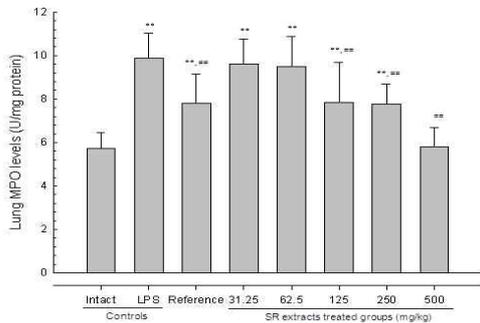


Fig. 6. Changes of lung MPO levels after test article administration. LPS ; lipopolysaccharide, MPO ; myeloperoxidase, SR ; *Scutellariae Radix* aqueous extract, reference ; α -lipoic acid 60 mg/kg, values are expressed mean \pm SD of 8 rats, * ; $p < 0.01$ as compared with intact control, # ; $p < 0.01$ as compared with LPS control.

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, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) 폐내 TNF- α 함량의 감소가 인정되었다. 그러나 황금 추출물 31.25 및 62.5 mg/kg 투여군은 LPS 대조군과 유사한 폐내 TNF- α 함량을 나타내었다(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, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$) 폐내 IL-1 β 함량의 감소가 인정되었다. 그러나 황금 추출물 31.25 및 62.5 mg/kg 투여군은 LPS 대조군과 유사한 폐내 IL-1 β 함량을 나타내었다

(Table 6).

Table 6. Changes on the lung proinflammatory cytokine contents after test article administration

Groups	Lung Proinflammatory Cytokine Contents	
	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)
Controls		
Intact	105.13 \pm 8.61	174.13 \pm 17.50
LPS	154.88 \pm 10.99*	259.88 \pm 32.69*
α -lipoic acid 60 mg/kg	124.13 \pm 17.34* [#]	211.50 \pm 19.46* [#]
SR extract		
31.25 mg/kg	147.00 \pm 15.40*	247.75 \pm 43.96*
62.5 mg/kg	147.25 \pm 19.75*	261.63 \pm 43.59*
125 mg/kg	134.63 \pm 13.06* [#]	225.00 \pm 19.60* [#]
250 mg/kg	125.50 \pm 14.05* [#]	210.38 \pm 17.67* [#]
500 mg/kg	109.00 \pm 13.48* [#]	186.63 \pm 19.84* [#]

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, # ; $p < 0.05$ and ## ; $p < 0.01$ 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 증가가 인정되었으나, α -lipoic acid, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$) BALF 내 TNF- α 함량의 감소가 인정되었다. 그러나 황금 추출물 31.25 및 62.5 mg/kg 투여군은 LPS 대조군과 유사한 BALF 내 TNF- α 함량을 나타내었다(Table 7).

4) BALF 내 IL-1 β 함량의 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) BALF 내 IL-1 β 함량의 증가가 인정되었으나, α -lipoic acid, 황금 추출물 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$ 또는 $p < 0.05$) BALF 내 IL-1 β 함량의 감소가 인정되었다. 그러나 황금 추출물 31.25, 62.5 및 125 mg/kg 투여군은 LPS 대조군과 유사한 BALF 내 IL-1 β 함량을 나타내었다(Table 7).

Table 7. Changes on the BALF contents after test article administration

Groups	BALF Proinflammatory Cytokine Levels	
	TNF- α (pg/ml)	IL-1 β (pg/ml)
Controls		
Intact	30.38 \pm 7.13	26.88 \pm 5.79
LPS	51.75 \pm 8.28*	42.50 \pm 4.28*
α -lipoic acid 60 mg/kg	39.50 \pm 6.44* [#]	33.25 \pm 4.46 [#]
SR extract		
31.25 mg/kg	53.63 \pm 8.40*	38.75 \pm 7.44*
62.5 mg/kg	48.50 \pm 7.65*	40.25 \pm 10.08*
125 mg/kg	42.75 \pm 4.06* [#]	36.38 \pm 4.17* [#]
250 mg/kg	39.00 \pm 3.55* [#]	32.63 \pm 8.96* [#]
500 mg/kg	36.88 \pm 6.47* [#]	29.25 \pm 8.41* [#]

Values are expressed mean \pm SD of 8 rats: TNF- α , IL-1 β , * ; $p < 0.05$, ** ; $p < 0.01$ as compared with intact control, # ; $p < 0.05$, ## ; $p < 0.01$ as compared with LPS control.

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 손상

은, α -lipoic acid, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 감소되었다. 그러나 황금 추출물 31.25 및 62.5 mg/kg 투여군에서는 LPS 대조군과 유사한 폐 조직 병리학적 변화를 나타내었다(Fig. 7).

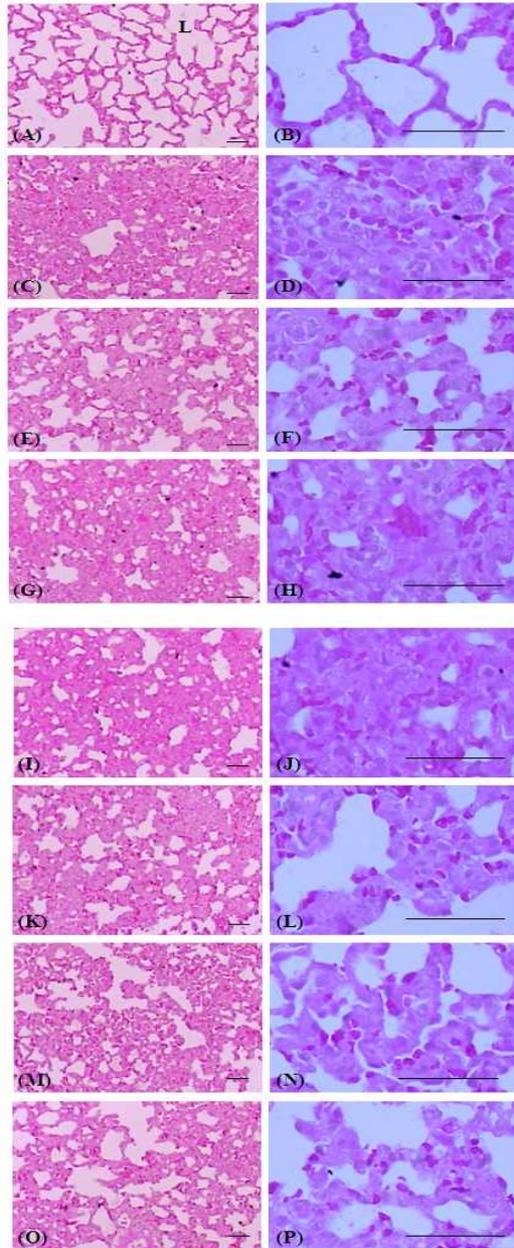


Fig. 7. Changes on the lung histopathological profiles after test article administration. Note that the severe PMNs infiltrations were detected in the alveolar septum of LPS control and consequently, the luminal surface (L) were decreased but the alveolar septum were increased. It is general histopathological features of LPS-induced lung acute injuries. However, these lung histopathological changes were markedly inhibited by treatment of α -lipoic acid, SR extracts 125, 250 and 500 mg/kg, respectively; Quite similar lung histopathological profiles were detected in SR extracts 31.25 and 62.5 mg/kg-treated group as compared with LPS control. LPS; lipopolysaccharide, SR; *Scutellariae Radix* aqueous extract, L; luminal surface A, B: Intact control; C, D: LPS control; E, F: α -lipoic acid 60 mg/kg treated group G, H: SR extracts 31.25 mg/kg treated group; I, J: SR extracts 62.5 mg/kg treated group K, L: SR extracts 125 mg/kg treated group; M, N: SR extracts 250 mg/kg treated group O, P: SR extracts 500 mg/kg treated group. All Hematoxylin-eosin stain; Scale bars = 40 μ m

1) 폐포공간비율 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) 폐 호흡 기능을 나타내는 luminal surface of alveolus (LSA)의 감소가 인정되었으나, α -lipoic acid, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) LSA의 증가가 인정되었다. 그러나 황금 추출물 31.25, 62.5 mg/kg 투여군은 LPS 대조군과 유사한 LSA를 나타내었다(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, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) 폐포 벽 두께의 감소가 인정되었다. 그러나 황금 추출물 31.25, 62.5 mg/kg 투여군은 LPS 대조군과 유사한 폐포 벽 두께를 나타내었다(Table 8).

3) 다형핵 백혈구의 수적 변화

LPS 대조군에서는 정상 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) 폐내 polymorphonuclear neutrophils (PMNs)의 수적 증가가 인정되었으나, α -lipoic acid, 황금 추출물 125, 250 및 500 mg/kg 투여군에서는 각각 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) 폐내 PMNs 수적 감소가 인정되었다. 그러나 황금 추출물 31.25, 62.5 mg/kg 투여군은 LPS 대조군과 유사한 폐내 PMNs의 수를 나타내었다(Table 8).

Table 8. Changes on the histopathological index after test article administration

Groups	Luminal Surface Area (%)	Thickness of Alveolar Septum (μ m)	Number of Polymorphonuclear Neutrophils ($\times 5/1$ mm ² field)
Controls			
Intact	88.47 \pm 4.57	22.01 \pm 4.04	23.75 \pm 6.20
LPS	39.71 \pm 3.77**	129.93 \pm 15.39**	232.25 \pm 16.49**
α -lipoic acid 60 mg/kg	56.47 \pm 3.96**,#	62.66 \pm 5.43**,#	123.75 \pm 38.76**,#
SR extract			
31.25 mg/kg	39.85 \pm 2.75**	130.98 \pm 21.68**	236.88 \pm 21.30**
62.5 mg/kg	40.67 \pm 2.87**	131.98 \pm 22.16**	232.13 \pm 30.15**
125 mg/kg	47.76 \pm 4.68**,#	90.73 \pm 10.94**,#	177.63 \pm 24.11**,#
250 mg/kg	57.74 \pm 5.54**,#	64.53 \pm 7.24**,#	121.50 \pm 30.65**,#
500 mg/kg	71.14 \pm 2.31**,#	54.77 \pm 9.60**,#	83.88 \pm 15.74**,#

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.

고찰

ARDS는 다양한 원인으로 초래되는 급성 염증성 폐질환으로 폐혈관 내피세포 및 폐포세포가 손상을 받은 후 폐포의 주요 기능인 가스 교환 및 수분 또는 체액의 폐포 내 삼출방지 기능에 이상이 초래되는 병리손상을 포괄적으로 일컫는 증후군이다²⁶⁾. 현재까지의 연구에 따르면 ARDS 초기 폐 손상 단계에서는 호중구, 대식세포 및 보체가 관여한다고 알려져 있다²⁷⁾.

호중구에 의한 ARDS의 폐 손상은 폐포-모세혈관계를 산화성 및 비산화성 기전에 의해 동시에 유발되는 것으로 알려져 있다. 이전 연구에 따르면, 단백분해 효소 또는 탄력소 분해 효소

저해제의 투여에 의해 급성 폐 손상이 완화되며²⁸⁾ 다양한 항산화제 투여에 의해 급성 폐 손상이 현저히 완화되는 것으로 알려져 있다¹⁸⁾.

α -lipoic acid는 octanoic acid의 dithiol 유도체로 다양한 세포의 효소 합성에 이용되는 물질로써²⁹⁾, α -lipoic acid는 rat의 뇌, 심장, 간 및 골격근에서 다른 항산화제의 효과를 활성화시키거나, 지질 과산화를 직접 억제하여 강력한 항산화제로 작용하는 것으로 알려져 있다³⁰⁾. 강력한 항산화 작용으로 LPS 유발 급성 폐 손상에도 유효한 것으로 알려져 있다³¹⁾.

본 연구에서는 황금의 뿌리를 건조한 약재로 대표적인 청열제의 하나인 황금¹⁾의 ARDS에 대한 효과를 LPS 유발 rat 급성 폐 손상 모델을 이용하여 평가하였다.

LPS 투여 전 황금 물 추출물을 매일 31.25, 62.5, 125, 250 및 500 mg/kg의 농도로 각각 28일간 경구 투여한 다음, LPS 투여 5시간 후 모든 동물을 희생하여, 체중, 폐 중량, 폐 혈관 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, 60 mg/kg 투여군과 각각 비교하였다.

본 실험에서는 LPS 투여 5시간 후 모든 실험동물을 희생하였으므로, LPS 투여 후 체중의 변화를 논하기는 어렵지만, 황금 물 추출물 250 및 500 mg/kg 투여군에 국한되어, 정상 및 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) 체중의 증가가 투여 27일과 최종 희생일에 관찰되었고, 투여기간 동안의 증체량 역시 정상 및 LPS 대조군에 비해 유의성 있는 ($p < 0.01$) 증가를 나타내었다.

일반적으로 면역활성 효과가 있는 물질 투여 시 체중의 증가 등 성장 촉진 효과가 인정되는 것으로 알려져 있으며³²⁾, 황금 자체의 면역활성 효과가 알려져 있어^{1,3)} 다른 약리작용에 수반된 이차적 변화로 추정된다. 이외 다른 실험동물은 동일한 연령의 정상 rat의 체중 증가 범주³³⁾에 포함되는 체중 및 증체량을 각각 나타내었다.

LPS 투여시 혈관 누출성의 증가로 폐 중량의 증가가 초래되며, 이러한 폐 중량의 증가는 LPS 유발 급성 폐 손상을 판단하는 가장 기본적인 지표로 이용되어 왔다^{31,34)}. 본 실험의 결과, LPS 투여 후 현저한 폐 절대 및 체중에 대한 상대 중량의 증가가 초래되었으나, 125, 250 및 500 mg/kg의 황금 물 추출물 투여에 의해 폐 중량의 증가가 억제되었다. 이러한 결과는 황금 물 추출물이 LPS유발 급성 폐 손상을 예방하는 간접적인 증거로 판단된다.

본 실험의 결과, LPS 투여에 의해 폐포-모세혈관 누출의 지표인 폐 혈관 투과도¹⁷⁾의 증가가 초래되었으나, 125 mg/kg 이상의 황금 물 추출물 투여에 의해 이러한 폐 혈관 투과도의 증가가 억제되어, 황금 물 추출물이 LPS 유발 급성 폐 손상에 유효한 효과를 나타낼 것으로 기대된다.

또한 LPS 유발 급성 폐 손상시 폐의 가스 교환 작용의 억제에 의해 PaO₂ 감소와 PaCO₂ 증가가 초래되며, 이산화 탄소의 증가에 의해 pH는 감소되므로, PaO₂와 PaCO₂ 및 pH는 LPS 유발 급성 폐 손상을 판단하는 지표로 사용되어 왔다³⁴⁾. 본 실험에서

도 이전의 보고들³⁵⁾과 유사하게 LPS 투여 후 PaO₂ 및 pH 감소와 PaCO₂ 증가가 각각 초래되었다.

그러나 이러한 동맥혈 가스 지표의 변화는 125 mg/kg 이상의 황금 물 추출물 투여에 의해 PaO₂ 및 pH 증가와 PaCO₂가 감소되는 것으로 관찰되었다.

LPS 투여 시 급성 염증성 폐 손상이 초래되며, 그 결과 BALF 내 단백질 함량의 증가가 염증세포의 증가와 함께 초래된다³⁴⁾. LDH는 여러 가지 조직에 존재하는 효소로 조직의 손상 시 증가된다³⁶⁾. 본 실험의 결과, LPS 투여에 의해 BALF 내 단백질, LDH 및 염증세포의 증가가 인정되었으나, 125 mg/kg 이상의 황금 물 추출물 투여에 의해 이러한 BALF 내 단백질, LDH 및 염증세포의 증가가 억제되었다. 이러한 결과는 황금 물 추출물이 LPS에 의한 급성 폐 손상을 억제하는 간접적인 증거로 판단된다.

MPO assay는 호중구에서 형성되는 효소로, 염증의 지표로 흔히 이용되고 있다³⁷⁾. 본 실험의 결과, 폐내 MPO 함량의 증가가 초래되었으나, 125 mg/kg 이상의 황금 물 추출물 투여에 의해 이러한 폐내 MPO 함량의 증가가 현저히 억제되었다.

LPS 투여시 폐포 모세혈관의 누출성 증가로 PMNs의 폐포강 또는 벽 내로의 유주가 증가되고, 현저한 폐포벽의 비후가 초래되며, 이 결과 폐포 내강 비율, LSA는 폐포의 내강 비율로 폐의 기능을 나타내는 지표로³⁸⁾ 폐의 조직 병리학적 소견은 LPS 유발 급성 폐 손상을 나타내는 직접적인 지표로 이용되어 왔다³⁹⁾. 본 실험의 결과, LPS 투여에 의해 현저한 폐포벽 두께 및 유주 PMNs의 수적 증가와 함께 LSA의 감소가 초래되었으나, 이러한 조직병리학적 변화가 125 mg/kg 이상의 황금 물 추출물 투여에 의해 억제되었다. 이러한 결과는 황금 물 추출물이 LPS 유발 급성 폐 손상을 현저히 억제하는 직접적인 증거로 판단된다.

LPS에 의해 형성된 노쇠한 다형핵 백혈구에서 생성된 활성 산소와 급성 폐 손상은 밀접한 관련이 있는 것으로 알려져 있다⁴⁰⁾. 즉, ARDS 환자에서 얻어진 호기시 호흡 공기에서 과산화수소의 증가가 관찰되었고, 지질 과산화 생성물의 순환이 증가되었으며, 항산화제 투여에 의해 급성 폐 손상이 완화되는 것으로 알려져 있다¹⁸⁾. 본 실험의 결과, LPS 투여 시 지질 과산화 지표인 MDA 함량의 현저한 증가가 인정되었으나, 125 mg/kg 이상의 황금 물 추출물 투여에 의해 이러한 폐내 MDA 함량의 증가가 현저히 억제되었다. ARDS시 폐포 대식세포와 폐 모세혈관 상피세포의 활성화에 의해 혈관부착인자^{11,12)}와 proinflammatory cytokine^{13,14)}의 활성이 초래되어 백혈구의 폐내 유주가 초래된다.

본 실험의 결과, LPS 투여 후 증가된 BALF 및 폐내, proinflammatory cytokines인 TNF- α 가 125 mg/kg, IL-1 β 가 250 mg/kg 이상의 황금 물 추출물 투여에 의해 감소되었다. 항산화와 항염증 작용은 서로 긴밀한 관련이 있는 것으로 알려져 있어⁴¹⁾, 항산화 효과²⁾와 항염 효과⁴⁾가 LPS 유발 급성 폐 손상의 완화에 큰 역할을 할 것으로 생각된다.

이상의 결과에서 125 mg/kg이상의 황금 물 추출물은 항산화 및 항염 효과에 의해 LPS 유발 급성 폐 손상에 유효한 효과를 나타내는 것으로 판단되었으며, 황금 물 추출물 250 mg/kg은 60 mg/kg의 α -lipoic acid와 유사한 정도의 LPS 유발 급성 폐 손상에

유효한 효과를 나타냈다.

최근 연구에 따르면 항산화제의 LPS 유발 급성 폐 손상에 대한 효과가 NF-κB를 매개해 일어나는 것으로 알려져 있고⁴²⁾, 황금 역시 NF-κB를 매개하여 항염 작용을 나타내는 것으로 알려져 있다⁴⁾. 향후 생리활성을 나타내는 화학성분의 검색과 더불어 급후 다양한 방면으로 기전적인 연구를 더 수행해야 할 것으로 판단된다.

결 론

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

폐 중량, 폐 혈관 투과도, 동맥혈 가스 지표 (PaCO₂)의 변화는 125 mg/kg 이상의 황금 추출물 투여에 의해 억제되었다. BALF 내 단백질, LDH, 호중구 및 폐포 대식세포의 변화는 125 mg/kg 이상의 황금 추출물 투여에 의해 증가가 억제되었다. 폐내 MDA 및 MPO 함량의 변화는 125 mg/kg 이상의 황금 추출물 투여에 의해 증가가 억제되었다. 폐내, proinflammatory cytokine 인 TNF-α는 125 mg/kg 이상, IL-1β는 250 mg/kg 이상의 황금 추출물 투여에 의해 감소되었다. 폐 조직병리학적 변화인 폐포벽 두께 및 유주 PMNs의 수적 증가와 LSA의 감소가 125 mg/kg 이상의 황금 추출물 투여에 의해 억제되었다.

참고문헌

1. 김동현, 김형민, 류종훈, 엄재영, 김상찬, 양재하 등. 한방약리학. 서울, 신일상사, pp 186-191, 2006.
2. Gabrielska, J., Oszmiański, J., Zyłka, R., Komorowska, M. Antioxidant activity of flavones from *Scutellaria baicalensis* in lecithin liposomes, *Z Naturforsch [C]*, 52: 817-823, 1997.
3. Wang, J.Y., Chuang, H.N., Chiu, J.H., Fu, S.L., Tsai, T.H., Tsou, A.P., et al. Effects of *Scutellaria baicalensis* Georgi on macrophage-hepatocyte interaction through cytokines related to growth control of murine hepatocytes, *Exp Biol Med (Maywood)*, 231: 444-455, 2006.
4. Chung, H.L., Yue, G.G., To, K.F., Su, Y.L., Huang, Y., Ko, W.H. Effect of *Scutellariae Radix* extract on experimental dextran-sulfate sodium-induced colitis in rats, *World J Gastroenterol*, 13: 5605-5611, 2007.
5. Kasper Braunwald, Fauci Hauser, Longo Jameson. Harrison's 내과학. 서울, MIP, pp 1737-1740, 2006.
6. Wheeler, A.P., Bernard, G.R. Acute lung injury and the acute respiratory distress syndrome. A clinical review, *Lancet*, 369: 1553-1564, 2007.
7. 유철규 등. 호흡기학. 서울, 서울대학교 출판부, p 282, 1997.
8. Axtelle, T., Pribble, J. IC14, a CD14 specific monoclonal antibody, is a potential treatment for patients with severe sepsis, *J Endotoxin Res*, 7: 310-314, 2001.

9. Lazarov, S., Balutsov, M., Lanev, E. The role of bacterial endotoxins, receptors and cytokines in the pathogenesis of septic (endotoxin) shock, *Vutr Boles*, 32: 33-40, 2000.
10. Scott, M.G., Hancock, R.E. Cationic antimicrobial peptides and their multifunctional role in the immune system, *Crit Rev Immunol*, 20: 407-431, 2000.
11. Squadrito, F., Altavilla, D., Canale, P., Ioculano, M., Campo, G.M., Ammendolia, L., et al. Contribution of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) to the pathogenesis of splanchnic artery occlusion in the rat, *Br J Pharmacol*, 113: 912-916, 1994.
12. 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*, 18: 389-398, 1994.
13. 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*, 74: 2812-2819, 1993.
14. Van Nhieu, J.T., Misset, B., Lebargy, F., Carlet, J., Bernaudin, J.F. Expression of tumor necrosis factor-alpha gene in alveolar macrophages from patients with ARDS, *Am Rev Respir Dis*, 147: 1585-1589, 1993.
15. Simpson, S.Q., Casey, L.C. Role of tumor necrosis factor in sepsis and acute lung injury, *Crit Care Clin*, 5: 27-47, 1989.
16. 우동수. 시호가 LPS로 유발된 급성 폐손상에 미치는 영향, 대구한의대학교 박사 학위논문, 2009.
17. Nathens, A.B., Bitar, R., Davreux, C., Bujard, M., Marshall, J.C., Dackiw, A.P., et al. Pyrrolidine dithiocarbamate attenuates endotoxin-induced acute lung injury, *Am J Respir Cell Mol Biol*, 17: 608-616, 1997.
18. 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*, 18: 537-542, 1995.
19. Dunn, C.J., Elliot, G.A., Steven, J.A., Richard, I.M. Development of a prolonged eosinophil-rich inflammatory leukocyte infiltration in the quinea pig asthmatic response to ovalbumine inhalation, *Am Rev Respir Dis*, 137: 541-547, 1988.
20. Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J Biol Chem*, 193: 265-275, 1951.
21. Bergmeyer, H.U. Enzymes 1: oxidoreductases, transferases. In *Methods of Enzymatic Analysis*. Bergmeyer HU, Bergmeyer J, and Grassl M (eds). Verlag Chemie, Weinheim, DeerfieldBeach, FL, pp 127-133, 1986.

22. Kavutcu, M., Canbolat, O., Oztürk, S., Olcay, E., Ulutepe, S., Ekinci, C., et al, Reduced enzymatic antioxidant defense mechanism in kidney tissues from gentamicin-treated guinea pigs: effects of vitamins E and C, *Nephron*, 72: 269-274, 1996.
23. Asakawa, T., Matsushita, S. Thiobarbituric acid test for detecting lipid peroxides, *Lipids*, 14: 401-406, 1974.
24. 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*, 58: 483-489, 2006.
25. Gamze, K., Mehmet, H.M., Devenci, 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*, 39: 614-620, 2007.
26. Spragg, R. Surfactant for Acute Lung Injury, *Am J Respir Cell Mol Biol*, 37: 377-378, 2007.
27. 대한결핵 및 호흡기학회, 호흡기학, 서울, 군자출판사, pp 919-923, 2007.
28. Knight, P.R., Druskovich, G., Tait, A.R., Johnson, K.J., The role of neutrophils, oxidants, and proteases in the pathogenesis of acid pulmonary injury, *Anesthesiology*, 77: 772-778, 1992.
29. Bilska, A., Wlodek, L. Lipoic acid - the drug of the future, *Pharmacol Rep*, 57: 570-577, 2005.
30. 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*, 355: 173-180, 2005.
31. Goraca, A., Józefowicz-Okonkwo, G. Protective effects of early treatment with lipoic acid in LPS-induced lung injury in rats, *J Physiol Pharmacol*, 58: 541-549, 2007.
32. Duarte, C.G., dos Santos, G.L., Azzolini, A.E., de Assis Pandochi, A.I. The effect of the antithyroid drug propylthiouracil on the alternative pathway of complement in rats, *Int J Immunopharmacol*, 22: 25-33, 2000.
33. Tajima, Y., (Ed). Biological reference data book on experimental animals, Soft Science Inc, Tokyo, 1989.
34. 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*, 27: 1848-1850, 2007.
35. Jie, Z., Cai, Y., Yang, W., Jin, M., Zhu, W., Zhu, C., Protective effects of alpha 1-antitrypsin on acute lung injury in rabbits induced by endotoxin, *Chin Med J (Engl)*, 116: 1678-1682, 2003.
36. Chin, J.Y., Koh, Y., Kim, M.J., Kim, H.S., Kim, W.S., Kim, D.S., et al. The effects of hypothermia on endotoxin-primed lung, *Anesth Analg*, 104: 1171-1171, 2007.
37. Krawisz, J.E., Sharon, P., Stenson, W.F. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assessment of inflammation in rat and hamster models, *Gastroenterology*, 87: 1344-1350, 1984.
38. 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*, 21: 151-160, 2005.
39. Koksel, O., Ozdulger, A., Tamer, L., Cinel, L., Ercil, M., Degirmenci, U., et al. Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipopolysaccharide-induced lung injury in rats, *Pulm Pharmacol Ther*, 19: 90-95, 2006.
40. Tsuji, C., Minhaz, M.U., Shioya, S., Fukahori, M., Tanigaki, T., Nakazawa, H. The importance of polymorphonuclear leukocytes in lipopolysaccharide-induced superoxide anion production and lung injury: ex vivo observation in rat lungs, *Lung*, 176: 1-13, 1998.
41. Joannidis, M. Medical therapy of acute kidney injury, *Acta Clin Belg Suppl*, pp 353-356, 2007.
42. Antonicelli, F., Brown, D., Parmentier, M., Drost, E.M., Hirani, N., Rahman, I., et al. Regulation of LPS-mediated inflammation in vivo and in vitro by the thiol antioxidant Nacystelyn, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 286: L1319-1327, 2004.