

신생마우스에서 고농도 산소 노출 및 Ascorbate 처치에 따른 폐 조직과 폐내 Interleukin-6의 변화

연세대학교 의과대학 소아과학교실, 한림대학교 의과대학 강동성심병원 소아과*,
한림대학교 의과대학 강남성심병원 소아과†

장혜영 · 박은혜* · 오창희† · 박민수 · 남궁란 · 박국인 · 이 철 · 한동관

= Abstract =

Changes in Pulmonary Interleukin-6 and Pulmonary Pathology in Neonatal Mice After Exposure to Hyperoxia and Ascorbate Treatment

Hye Young Chang, M.D., Eun Hye Park, M.D.*, Chang Hee Oh, M.D.†
Min Soo Park, M.D., Ran Namgung, M.D., Kook In Park, M.D.
Chul Lee, M.D. and Dong Gwan Han M.D.

*Department of Pediatrics, Yonsei University Collage of Medicine,
Department of Pediatrics, Kangdong* and Kangnam† Sacred Hospital,
College of Medicine, Hallym University, Seoul, Korea*

Purpose : Levels of proinflammatory cytokines such as IL-1, IL-6 and TNF- α have been shown to be increased in the lung of adult mice after exposure to hyperoxia. Ascorbate, a non-enzymatic antioxidant, might have a protective effect against oxygen-induced lung injury. We examined effects of hyperoxia and ascorbate treatment on pulmonary IL-6 levels and pathology in the lungs of newborn mice.

Methods : Neonatal mice were exposed to hyperoxia (95% O₂) or room air (control) for 24 h or 48 h. Other groups, exposed to hyperoxia for up to 48 h, were injected intraperitoneally preventive doses (0.1 mg/10 g mouse weight) or therapeutic doses (1 mg/10 g mouse weight) of ascorbate or distilled water (placebo control) twice, immediately before and at 24 h of exposure to hyperoxia. IL-6 concentrations in the supernatant of minced lungs were measured by ELISA.

Results : There were no pathologic changes in the lungs except mild emphysema and alveolar hemorrhage. The median pulmonary IL-6 concentration was significantly higher in mice exposed to hyperoxia for 24 h ($P<0.05$) and for 48 h ($P<0.001$) than room air controls. There was no difference in pulmonary IL-6 concentration between hyperoxia-exposed (48 h) mice treated with either preventive or therapeutic doses of ascorbate and placebo controls.

Conclusion : Neonatal mice exposed to hyperoxia for 24 h and 48 h showed higher pulmonary IL-6 concentrations than room air controls. Preventive or therapeutic doses of ascorbate had no effect on pulmonary IL-6 concentrations nor pulmonary pathology of neonatal mice exposed to hyperoxia for 48 h. (**J Korean Soc Neonatal 2001;8:103-109**)

Key Words : Hyperoxia, Interleukin-6, Ascorbate

*This study was supported by the Brain Korea 21 Project
for Medical Science, Yonsei University in 2001

책임저자 : 박민수, 서울시 강남구 도곡동 146-92
연세의대 영동세브란스병원 소아과
Tel : 02)3497-3352 Fax : 02)3461-9473
E-mail : minspark@yumc.yonsei.ac.kr

서 론

신생아 호흡곤란증 치료시 혈중 산소분압을 유지하

기 위하여 고농도 산소 치료가 필요하지만, 동시에 활성산소(reactive oxygen species)의 증가에 의한 산소 독성으로 조직 손상이 일어날 수 있다. 성숙마우스에서 95% 이상 고농도 산소에 3일간 노출시 tumor necrosis factor- α , IL-1 및 IL-6의 mRNA 표현이 증가하였고,¹⁾ 또 신생아의 폐 섬유아세포를 48시간 동안 고농도 산소에 노출시 fibroblast-conditioned medium내 IL-6의 농도가 증가하였다고 보고하였다.²⁾ Ascorbate는 비효소계 항산화제이며 수용성이어서 세포내와 세포외에 광범위하게 분포한다. 성숙마우스에서 ozone에 노출시키기 직전에 ascorbate의 복강내 투여로 사망률과 폐의 부종이 감소되었다고 하였다.³⁾ Ascorbate이 결핍된 제 II형 폐포 상피 세포에서 95% 산소 노출시 세포 손상이 증가하였고, 이러한 세포에 ascorbate 투여로 세포의 괴사 및 apoptosis가 감소되었다고 보고되었다.⁴⁾ 이는 조직에서의 ascorbate 사용 가용성(availability)이 제한될 경우 oxygen stress에 더 예민해짐을 의미한다. Ascorbate는 생성된 superoxide anion과 hydroxyl radical을 직접적으로 제거시킬 뿐만 아니라 유리기(free radical)의 생성을 감소시키는 작용도 같이 있는 것으로 알려져 있다.^{5, 6)}

본 연구의 목적은 신생마우스에서 고농도 산소 노출에 의한 폐 조직의 병리학적 변화 및 폐내 IL-6의 변화 여부를 조사하고, 항산화제인 ascorbate 투여가 고농도 산소 노출에 의한 폐 조직과 폐내 IL-6의 변화에 영향을 미치는지 여부를 규명하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

체중이 3-5 g 되는 생후 4-5일된 신생마우스(ICR)를 암수 구별 없이 사용하였다. 신생마우스는 어미와 같이 있게 하였고, 어미는 음식과 물을 필요에 따라 섭취할 수 있도록 하였으며 신생마우스는 모유수유를 하였다. 마우스는 보육기에 넣어 온도를 섭씨 24-26도로 유지하였다.

2. 방법

1) 고농도 산소 노출

고농도 산소 노출 상자는 가로, 세로, 높이가 20 cm×15 cm×14 cm의 플라스틱 상자이며, 공기 주입구와 배출구를 제외하고는 외부와 차단된 형태로 만들었다. 주입구를 통하여 100% 산소를 일정유속(flow rate)으로 들어가도록 하였고, 주입된 산소량 만큼의 동일량의 공기는 배출구를 통하여 계속적으로 나가게 하였다. 고농도 산소 노출 상자에 100% 산소를 3 L/min의 속도로 5분간 주입시킨 후 1 L/min으로 지속적으로 주입시키면 산소 농도가 95% 이상임을 산소 농도 측정계를 사용하여 확인하였다.

신생마우스를 대기 중 산소 및 고농도 산소 노출 시간에 따라 네 군으로 나누어 각 군당 7마리로 실험을 진행하였다.

I군: 대기 중 산소 농도에 24시간 노출군: 7마리

II군: 대기중 산소 농도에 48시간 노출군: 7마리

III군: 고농도 산소 농도에 24시간 노출군: 7마리

IV군: 고농도 산소 농도에 48시간 노출군: 7마리

I군은 대기 중 산소 농도에 24시간, II군은 48시간 동안 노출시킨 후 희생시켰다. III군과 IV군은 고농도 산소에 각각 24시간과 48시간 동안 노출시킨 후 희생시켰다.

2) Ascorbate 투여

신생마우스를 항산화제인 ascorbate 투여에 따라 세 군으로 분류하였다.

IV-A군: 증류수 투여군: 11마리

IV-B군: 예방용량 ascorbate 투여군: 9마리

IV-C군: 치료용량 ascorbate 투여군: 10마리

정상 신생아에서 ascorbate의 1일 권장 용량은 5-13 mg/kg/d이고 ascorbate 부족시 치료용량은 70-130 mg/kg/d이다.⁷⁾ 본 실험에서 예방용량은 ascorbate 10 mg/kg에 준하여 0.1 mg/10 g 마우스 체중으로 정하였고, 치료용량은 100 mg/kg에 준하여 예방용량의 10배인 1 mg/10 g 마우스 체중으로 투여하였다. 예방용량 ascorbate 투여시 치료용량 ascorbate를 10배 희석하여 같은 용적인 0.01 cc/g을 복강내 주사하였다. 대조군은 증류수를 0.01 cc/g로 복강내 주사하였다. 투여 시기는 고농도 산소 노출 직전과 노출 후 24시간째로 2회 투여하였다. 투여 후 상기 방

범대로 고농도 산소에 48시간 동안 노출시킨 후 희생시켰다. IV-A군에서 2마리와 IV-C군 II에서 1마리가 24시간 전후에 사망하여 결과 분석에서 제외하였다.

3) 신생마우스의 체중 및 폐 무게 측정

신생마우스의 체중을 각각 측정하고, ketamine 0.15 cc (0.05 cc/g)를 복강내 주사하여 희생시켰다. 흉곽을 절개한 후 심장을 제거하고 양측 폐를 분리하여 무게를 측정하였다. 폐의 부중은 체중 대 폐 중량 비를 계량화하여 판단기준으로 사용할 수 있는데 본 실험에서는 Gottlieb의 계산 방식에 따라 지수를 구하였다.⁸⁾

$$\text{Gottlieb비} = \text{폐중량} / \text{체중} \times 1,000$$

4) 폐의 조직학적 검사

신생마우스의 오른쪽 폐의 중엽(middle lobe)만 분리하여 10% formalin 용액에 고정시킨 후에, paraffin으로 block을 만들어서 5 μm 두께로 절편을 만들어 hematoxyline-eosin 염색을 시행하여 폐의 조직 소견을 관찰하였다.

5) 폐내 IL-6의 측정

우중엽을 분리한 나머지 폐에 700 μL 의 증류수를 넣고 유발을 이용하여 갈아서 균질화하였다. 10,000 rpm으로 5분간 원심 분리하여 상층액을 취하여 -70 $^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다. IL-6의 농도는 ELISA kit (R&D System Inc., Minneapolis, MN, U.S.A.)를 사용하여 측정하였다. 방법을 간단히 요약하면 anti-mouse IL-6 polyclonal antibody가 도포된 96 well plate에 assay diluent를 각 well당 50 μL 씩 넣었다. Mouse IL-6 standard 및 폐의 상층액을 각각 2개의 well에 50 μL 씩 넣어 실온에서 2시간 방치하였다. Well 속의 액체를 제거하고 세척액으로 5회 세척하였으며, 100 μL 의 mouse IL-6 conjugate를 각 well당 넣고 실온에서 2시간 방치하였다. 다시 세척액으로 5회 세척 후 hydrogen peroxide와 chromogen 혼합용액 100 μL 를 각 well에 넣고 실온에서 30분간 방치한 후, hydrochloric acid 용액을 각 well당 100 μL 씩 넣어 반응을 중단시켰다. 30분 이내에 450 nm에서 흡광도를 측정하였고, mouse IL-6 표준곡선에 의해 각 well의 IL-6의 농도를 구하였다.

3. 통계 분석

마우스의 체중 및 무게는 평균(mean) \pm 표준편차

(standard deviation of the mean)로 표시하였고, 실험군 사이의 통계적 비교는 분산분석(analysis of variance, ANOVA)과 Student t-test를 사용하였다. IL-6 농도는 중앙값(median)과 범위(range)로 표시하였고, IL-6 농도의 통계적 비교는 Wilcoxon rank sum test 및 Kruskal-Wallis test를 사용하였다. P 값은 0.05 이하일 때 통계적으로 유의성이 있는 것으로 하였다.

결 과

1. 대상군의 특성

III군 마우스의 체중과 폐 무게는 I군과 비교할 때 차이가 없었다. IV군 마우스의 체중은 II군에 비하여 더 적었으나($P < 0.05$), 두 군간의 폐의 무게에는 차이가 없었다. 폐부종을 나타내는 Gottlieb 비는 고농도 산소 투여군과 대조군 간에 차이가 없었다(Table 1).

IV-A군, IV-B군, IV-C군 세 군간의 마우스의 체

Table 1. Body Weight and Lung Weight of Neonatal Mice for Hyperoxia Experiment

Group	Body weight (g)	Lung weight (g)	Gottlieb ratio*
Control I (n=7)	3.82 \pm 0.21	0.11 \pm 0.01	27.62 \pm 2.80
Control II (n=7)	4.37 \pm 0.59	0.12 \pm 0.01	27.39 \pm 2.98
Hyperoxia III (n=7)	3.70 \pm 0.51	0.10 \pm 0.01	28.54 \pm 3.55
Hyperoxia IV (n=7)	3.51 \pm 0.66 [†]	0.10 \pm 0.02	28.94 \pm 4.33

Values are mean \pm SD, *Gottlieb ratio=Lung weight/Body weight \times 1000, [†] $P < 0.05$ (vs control II)

Table 2. Body Weight and Lung Weight of Neonatal Mice for Ascorbate Experiment

Group	Body weight (g)	Lung weight (g)	Gottlieb ratio*
IV-A (n=9)	3.87 \pm 0.48	0.11 \pm 0.02	28.70 \pm 3.62
IV-B (n=9)	3.85 \pm 0.53	0.12 \pm 0.01	32.02 \pm 2.67
IV-C (n=9)	3.92 \pm 0.43	0.12 \pm 0.01	31.73 \pm 1.86

Values are mean \pm SD, *Gottlieb ratio=Lung weight/Body weight \times 1000, $P > 0.05$

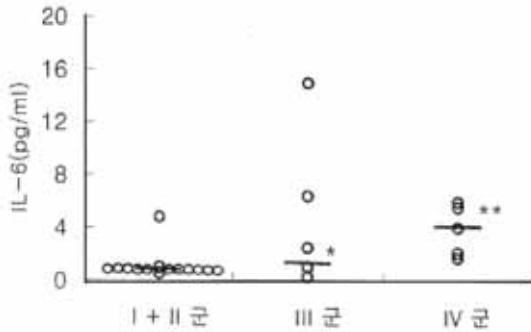


Fig. 1. Comparison of pulmonary IL-6 concentration in relation to the duration of exposure to hyperoxia. I+II group (n=14): room air (control), III group (n=7): hyperoxia for 24 h, IV group (n=7): hyperoxia for 48 h. * $P<0.05$, ** $P<0.001$.

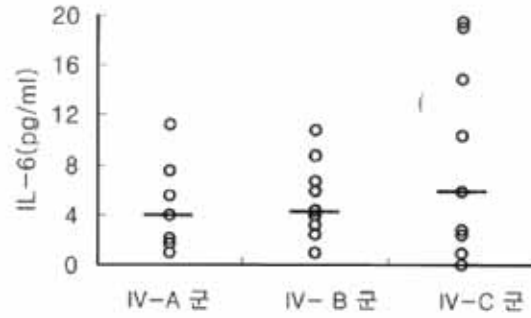


Fig. 2. Comparison of pulmonary IL-6 in relation to doses of ascorbate in mice IV-A group (n=9): distilled water (control), IV-B group (n=9): preventive doses of ascorbate IV-C group (n=9): therapeutic doses of ascorbate.

중과 폐 무게에 차이가 없었고, 폐 부종을 보는 Gottlieb 비도 차이가 없었다(Table 2).

2. 폐의 조직학적 변화

대조군 신생마우스의 폐의 조직소견은 부분적인 위축과 확장이 관찰되었으나, 폐포의 상피세포는 잘 유지되었고, 작은 혈관 및 세기관지들도 정상적으로 관찰되었다. III군에서는 간질성 출혈, 흉막하 출혈이 각각 한 마리씩에서 보였고, 폐기종이 부분적으로 보였으며, 고농도 산소 노출 시간에 따른 차이는 없었다. 염증세포의 증식, 부종 및 유리질막은 관찰되지 않았다. IV-A군은 한마리에서 출혈이 보였고, IV-B군과 IV-C군에서는 각각 두마리에서 간질성 출혈이 보였다. IV-A군, IV-B군 및 IV-C군에서 부분적으로 폐기종이 관찰되었으며 세 군 사이에 차이는 없었다.

3. 고농도 산소 노출 시간에 따른 신생마우스의 폐내 IL-6의 변화

신생마우스의 폐내 IL-6 농도는 I군과 II군 사이에 차이가 없어, 두 군을 통합하여 공동대조군(I+II군)으로 하여 고농도 산소군과 비교하였다. 폐내 IL-6 농도의 중앙값과 범위는 I+II군에서는 0.10 pg/mL (0.10-4.80 pg/mL), III군에서는 1.01 pg/ml (0.10-4.96 pg/mL), IV군에서는 4.02 pg/mL (1.74-5.98 pg/mL)로 세 군 사이에 유의한 차이가 있었다($P<0.001$). III군과 IV군의 폐내 IL-6 농도는 I+II군에 비하여 각각 유의하게 증가되어 있었다($P<0.05$, $P<0.001$). III군과 IV군 사이의 폐내 IL-6 농도는 유의

한 차이가 없었다($P=0.37$, Table 3, Fig. 1).

4. Ascorbate 투여 용량에 따른 신생마우스의 폐내 IL-6의 변화

폐내 IL-6의 중앙값과 범위는 IV-A군은 4.02 pg/mL (1.01-11.23 pg/mL), IV-B군은 4.41 pg/mL (1.01-10.82 pg/mL), IV-C군은 5.59 pg/mL (0.10-19.58 pg/mL)로 세 군 사이에 유의한 차이는 없었다($P=0.63$, Table 4, Fig. 2).

고 찰

고농도 산소 노출시 조직 손상의 정도는 흡입된 산소의 농도와 노출시간에 의해 좌우된다. 본 연구에서는 95% 고농도 산소에 24시간과 48시간 동안 노출시킨 후 신생마우스의 폐내 염증성 cytokine과 폐조직을 관찰하였다. 한 두 마리에서 부분적 폐기종과 폐포내 출혈소견을 보인 것 외에는 대부분 정상소견을 보였다. 이러한 소견은 ascorbate 투여군에서도 대조군과 마찬가지로 고농도 산소 노출에 의한 폐조직 손상에서 ascorbate의 보호효과 여부는 알 수 없었다. 모든 경우에서 호중구와 같은 염증세포의 침윤, 삼출(exudation) 및 유리질막 등은 관찰되지 않았다. 이는 신생마우스에서 48시간 동안의 고농도 산소 노출은 조직학적 변화가 시작되기 전 단계이기 때문에 이러한 조직학적 변화가 관찰되지 않은 것으로 생각된다. 그러나 조직학적 변화가 시작되기 전 시기에도 이미

염증성 cytokine이 의미있게 증가됨을 관찰됨을 알 수 있었다. 단, 염증성 cytokine의 변화와 연관되어 나타나는 조직손상 및 ascorbate 투여에 의한 조직 보호 효과 여부를 확인하기 위해서는 고농도 산소에 48시간 이상 장기간 노출을 해야 할 것으로 생각된다.

신생 rat에서 고농도 산소 노출시 대기 중 산소에서 보다 성장속도가 느리며, 몸무게가 적었다 한다.⁹⁾ 본 실험에서는 IV군은 II군에 비해 마우스의 체중이 적었는데, 이는 고농도 산소 노출 후에 체중을 측정하였기 때문에 노출 전후의 무게 변화를 알 수 없어 고농도 산소 노출에 의한 영향으로 볼 수 없다. 신생동물들이 어미에 비해 산소독성에 저항력이 큰 것으로 알려져 있다. 어미의 경우는 고농도 산소에 노출시 3-5일만에 죽지만, mice, rat, rabbit 등의 신생동물은 7일 후에도 대부분 생존하며, 폐의 조직학적 손상도 적었다 한다.¹⁰⁾ 본 실험에서는 고농도 산소에 저항력이 약한 어미도 고농도 산소에 같이 노출되었기에 어미의 산소독성에 의한 폐 및 다른 조직의 손상이 신생마우스의 영양 및 사육환경에 영향을 주었을 가능성도 있다.

활성산소에 의한 폐조직 손상시 염증 매개성 cytokines의 생성이 증가된다고 보고되고 있다. Cytokines는 폐포 모세혈관 공간(alveolar capillary space)에 있는 폐포 대식세포, 상피세포, 내피세포 및 섬유아세포에서 생성되어 다형핵구(polymorphonuclear leukocyte), 단핵구, 대식세포 등의 염증성 세포들의 침윤을 증가시킨다. 이들 염증성 세포들과 폐포 대식세포는 다양한 활성산소를 직접 형성하기도 한다. 또한 호중구와 내피세포의 상호작용에 의해 내피세포에 있는 xanthine dehydrogenase가 xanthine oxidase로 전환되면 이 효소에 의한 활성산소 생성도 증가되어 조직 손상이 증가된다. 활성산소에 의한 폐 손상시 내피세포의 손상이 상피세포 손상보다 일찍 나타나는데 이는 내피세포 표면에 염증성 세포들의 부착이 증가되어 이들에서 생성되는 유리기(free radical)에도 노출되기 때문으로 생각된다.¹¹⁾ IL-6는 다양한 기능을 가진 cytokine으로 급성기 반응(acute phase reaction), 숙주 방어(host defence) 및 면역 반응에 관여하며, T세포 및 대식세포를 분화시키고 활성화시켜 조직의 염증반응을 매개하기도 한다.

이와 같은 cytokines의 생성 증가가 고농도 산소

노출과 관련되어 있는지 알아보려고 본 연구를 시도하였는데 기대하였던 대로 대조군과 비교하여 고농도 산소 노출군에서 폐내 IL-6 농도가 유의하게 증가하였다. 이러한 폐내 IL-6의 증가는 고농도 산소 노출에 의해 활성산소의 생성증가와 관련되어 있을 것으로 보인다. IL-6 농도의 증가는 활성산소에 의한 조직의 염증반응을 매개 및 증폭시켜 조직 손상에 기여하는 것으로 알려져 있다. 고농도 산소 노출시간을 24시간과 48시간으로 달리 하였을 때 폐내 IL-6 농도에는 차이가 없어, 본 실험에서는 단기간의 산소 노출시간에 따른 IL-6 농도에 대한 영향이 없다는 것을 알 수 있었다.

Ascorbate는 사람에서 복용이 간편하고, 효과적이며, 부작용이 나타나기까지 고농도의 투여도 비교적 안전하여 이상적인 항산화제의 하나로 알려져 있다. Ascorbate는 수용성이기 때문에 대부분의 세포내와 세포외액에 존재한다. 정상인에서 폐포 대식세포와 제 II형 폐포 상피 세포의 ascorbate 농도가 혈중 ascorbate 농도보다 높았다고 보고되었고, 이러한 높은 ascorbate 농도는 이들 세포들이 다른 세포보다 산소독성에 대해 저항성을 갖는 이유로 생각되었다.¹²⁾ Ascorbate이 결핍된 먹이를 18일간 먹은 guinea pig에서 배양된 제 II형 폐포 상피 세포는 대조군(1 g Asc/kg diet)에 비하여 세포내 Ascorbate의 농도가 50% 감소하였으며, H₂O₂ 자극시 세포 손상이 두배 증가하였고, 95% 산소 노출시 세포 손상이 더 증가함이 보고되었다. Ascorbate가 결핍된 제 II형 폐포 상피 세포에 ascorbate을 투여한 경우 세포의 괴사 및 apoptosis가 감소하여 세포내의 ascorbate의 증가가 활성산소에 대한 보호 효과가 있음을 시사하였다.⁴⁾

Ascorbate의 항산화 기전은 free radical species (R')로부터 전자 한계를 받아들여 detoxified product (R)를 형성시키고 ascorbyl free radical이 된다. 이러한 chemical detoxification 뿐만 아니라 유리기의 생성을 감소시키는 ascorbate 고유의 작용도 같이 있는 것으로 알려져 있다.⁶⁾ 항산화제인 superoxide dismutase나 pentoxifylline을 투여한 경우 고농도 산소 노출시 IL-6는 감소하고 산소 독성이 감소된다는 보고가 있다.^{13, 14)}

본 연구에서는 고농도 산소 노출시 ascorbate의 항산화 작용이 폐내 IL-6 농도에 변화를 주는지 알아보

고자 하였으나 대조군과 ascorbate 투여군 사이에 폐내 IL-6 농도에 차이가 없었고, ascorbate 투여 용량에 따른 차이도 없었다. 이는 몇가지 실험 계획상의 문제를 생각해 볼 수 있다. 첫째, ascorbate의 항산화 작용이 폐내 IL-6 농도에는 영향이 없는 경우, 둘째, 본 실험에서 사용한 ascorbate의 용량이 불충분하여 폐 조직내 농도가 낮아 항산화제로 작용하기에는 불충분한 경우, 셋째, ascorbate 투여 방법 및 시기에 대한 문제이다.

수용성 비타민인 ascorbate는 구강으로 복용시 2-3 시간이면 혈중농도의 최고치를 이루며 그 후에는 신장으로 배설된다. 조직내 ascorbate 농도를 높게 유지하기 위해서는 투여 방법, 용량 및 투여 간격이 중요하다. 5주간 ascorbate을 적정량(600 mg Asc/kg diet) 먹인 guinea pig는 최저량(marginal dose: 33 mg Asc/kg diet)을 먹인 대조군에 비하여 간의 상층액에서 측정된 ascorbate 농도가 높았으며, endotoxin에 의한 간의 oxidative 손상에 보호 효과가 있다는 보고가 있다.⁶⁾ 본 실험은 신생마우스가 작아서 ascorbate의 구강 투여에 어려움이 있었다. 또 어미 마우스의 모유에 함유된 ascorbate의 농도를 높이기 위해 출산 전에 일정기간 ascorbate을 복용시켜야 하는 문제점이 있었다. 본 실험에서는 ascorbate를 고농도 산소 노출 직전에 24시간 간격으로 2회 복강내 주사하였다. 복강내 주사로 어느 정도 혈중농도가 유지되었는지 본 실험에서는 확인하지 못하였고, 24시간 간격의 주사로 지속적인 혈중농도의 유지는 어려웠을 것으로 생각된다. 또한 본 실험에서 ascorbate 용량을 예방용량과 ascorbate 부족시 사용하는 치료용량을 투여하였으나, 지속적인 고농도 산소 노출에 의해 증가된 활성산소의 중화를 위해서는 일상적인 치료용량보다 더 많은 약리학 적 고용량의 사용이 필요할 가능성이 있다.

결론적으로 고농도 산소에 24시간 및 48시간 동안 노출된 신생마우스에서 의미있는 조직학적 변화는 없었으나 폐내 IL-6는 대조군에 비교하여 유의하게 증가하였고 노출 시간에 따른 의미있는 차이는 없었다. Ascorbate 투여군에서 대조군과 비교할 때 폐내 IL-6 농도에 대한 영향이 없었고, ascorbate 투여 용량에 따른 차이도 없었다. 본 연구결과에 근거하여 신생마우스에서 24-48시간 동안의 고농도 산소 노출시 폐내 IL-6가 증가되었으며, 이러한 폐내 IL-6의 증가는 고

농도 산소 노출에 의한 폐조직 손상에서 중요한 역할을 할 것으로 보인다. 예방 용량 및 치료 용량의 ascorbate 투여는 고농도 산소에 의한 폐내 IL-6 증가를 억제하는 효과는 없었다.

요 약

목적: 고농도 산소 노출시 활성산소의 생성 증가에 의하여 폐 조직 손상이 일어날 수 있다. Ascorbate는 비효소계 항산화제로서 활성산소에 의한 폐 조직 손상을 감소시킬 가능성이 제시되었다. 본 연구에서는 24시간과 48시간 동안 고농도 산소 노출 및 ascorbate 투여에 의한 폐의 조직학적 변화를 관찰하고 폐내 IL-6농도를 측정하였다.

방법: 신생마우스(ICR)를 고농도 산소(95% 이상)에 24시간(III군)과 48시간(IV군) 동안 노출시킨 후 폐 조직 소견을 관찰하였고, 폐를 갈아서 만든 상층액에서 IL-6를 ELISA로 측정하였다. 대조군(I군, II군)은 대기 중 산소 농도에 노출된 같은 연령의 신생마우스로 하였다. Ascorbate 투여 방법은 신생마우스를 증류수 투여군(IV-A군), 예방용량 ascorbate 투여군(IV-B군: 0.1 mg/10 g 마우스 체중)과 치료용량 ascorbate 투여군(IV-C군: 1 mg/10 g 마우스 체중)으로 나누어, 고농도 산소에 노출 직전과 노출 후 24시간째 증류수 및 ascorbate를 각각 2회 복강내 주사하였다. 이들 세 군을 고농도 산소에 48시간 동안 노출시킨 후 폐 조직 소견을 관찰하였고 동시에 폐내 IL-6 농도를 측정하였다.

결과: 고농도의 산소군과 ascorbate 투여군에서 부분적인 폐기종(emphysema)과 폐포내 출혈 이외에는 폐의 조직학적 변화가 없었다. 폐내 IL-6 농도의 중앙값과 범위는 I+II군에서 0.10 pg/mL (0.10-4.80 pg/mL), III군에서 1.01 pg/mL (0.1-14.96 pg/mL), IV군에서 4.02 pg/mL (1.74-5.98 pg/mL)으로 세 군 사이에 유의한 차이를 보였다($P < 0.001$). 고농도 산소 노출 24시간과 48시간 후의 폐내 IL-6는 대조군에 비하여 각각 유의하게 증가되어 있었으나($P < 0.05$, $P < 0.001$), 노출 시간에 따른 폐내 IL-6의 차이는 없었다($P = 0.37$). Ascorbate 투여 후 48시간 동안 고농도 산소에 노출시 폐내 IL-6는 IV-A군에서 4.02 pg/mL

(1.01-11.23 pg/mL), IV-B군에서 4.41 pg/mL (1.01-10.82 pg/mL), IV-C군에서 5.59 pg/mL (0.10-19.58 pg/mL)로 세 군 사이에 유의한 차이가 없었다($P=0.63$).

결론: 고농도 산소에 24시간과 48시간 동안 노출된 신생마우스에서 폐내 IL-6 농도는 대조군에 비교하여 유의하게 증가되었다. 이러한 폐내 IL-6의 증가는 고농도 산소 노출에 따른 활성산소의 증가에 의한 것으로 보이며, 고농도 산소에 의한 조직 손상에서 중요한 역할을 할 것으로 보인다. 예방용량 및 치료용량의 ascorbate 투여는 고농도 산소에 의한 폐내 IL-6 증가를 억제하는 효과는 없었다.

참 고 문 헌

- 1) Jensen JC, Pogrebniak HW, Pass HI, Buresh C, Merino MJ, Kauffman D, et al. Role of tumor necrosis factor in oxygen toxicity. *J Appl Physiol* 1992;72:1902-7.
- 2) Stancombe BB, Walsh WF, Dordak S, Dixon P, Hensley D. Induction of human neonatal pulmonary fibroblast cytokines by hyperoxia and *Urea-plasma urealyticum*. *Clin Infect Dis* 1993;17(suppl 1):S154-7.
- 3) Matzen RN. Effect of Vitamin C and hydrocortisone on the pulmonary edema produced by ozone in mice. *J Appl Physiol* 1957;II:105-9.
- 4) Brown LAS, Harris FL, Jones DP. Ascorbate deficiency and oxidative stress in the alveolar type II cell. *Am J Physiol* 1997;273:L782-8.
- 5) Rose RC, Bode AM. Biology of free radical scavengers: An evaluation of ascorbate. *FASEB J* 1993;7:1135-42.
- 6) Cadenas S, Rojas C, Barja G. Endotoxin increases oxidative injury to proteins in guinea pig liver: protection by dietary vitamin C. *Pharmacol Toxicol* 1998;82:11-8.
- 7) Bhatt DR, Reber DJ, Wirtschafter DD, Parikh AN, Thomas JC. Neonatal drug formulary. 4th ed. California: Fontana; 1997:430.
- 8) Bean JW, Johnson PC. Epinephrine and neurogenic factors in pulmonary edema and CNS reactions induced by oxygen at high pressure. *Am J Physiol* 1955;180:438-44.
- 9) Frank L, Groseclose E. Oxygen toxicity in newborn rats: the adverse effects of undernutrition. *J Appl Physiol* 1982;53:1248-55.
- 10) Frank L, Bucher JR, Roberts RJ. Oxygen toxicity in neonatal and adult animals of various species. *J Appl Physiol* 1978;45:699-704.
- 11) Stongner SW, Payne DK. Oxygen toxicity. *Ann Pharmacother* 1992;26:1554-62.
- 12) Davis WB, Pacht ER. Extracellular antioxidant defenses. In: Crystal RG, West JB, et al. eds. *The Lung: Scientific Foundation*. New York: Raven Press Ltd; 1991:1821-7.
- 13) Lindsey HJ, Kisala JM, Ayala A, Lehman D, Herdon CD, Chaudry IH. Pentoxifylline attenuates oxygen-induced lung injury. *J Surg Res* 1994; 56:543-8.
- 14) Mikawa K, Nishina K, Maekawa N, Obara H. Attenuation of hyperoxic lung injury in rabbits with superoxide dismutase: effects of inflammatory mediators. *Acta Anaesthesiol Scand* 1995;39: 317-22.