Keratinocyte Growth Factor (KGF), Epidermal Growth Factor (EGF) 및 Dexamethasone의 산전 투여에 의한 쥐 태자의 폐 내 Surfactant Protein mRNA 발현의 변화

연세대학교 의과대학 소아과학교실, 아주대학교 의과대학 소아과학교실*

박민수 · 박문성* · 유재은* · 남궁란 · 이 철

= **Abstracts** =

Effects of Antenatal Administration of Keratinocyte Growth Factor (KGF), Epidermal Growth Factor (EGF), and Dexamethasone on mRNA Levels of Surfactant Proteins in Fetal Mouse Lungs

Min Soo Park, M.D., Moon Sung Park, M.D.*, Jae Eun Yu, M.D.*
Ran Namgung, M.D. and Chul Lee, M.D.

Department of Pediatrics, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea
Department of Pediatrics, Ajou University College of Medicine, Suwon, Korea*

Purpose : Growth factors such as keratinocyte growth factor (KGF) and epidermal growth factor (EGF) have been shown to stimulate alveolar proliferation and pulmonary surfactant production in neonatal animals, raising the question of their antenatal uses. We studied the effects of antenatal administration of recombinant human KGF (rhKGF), recombinant human EGF (rhEGF), or dexamethasone (Dexa) in mouse pups on mRNA synthesis of surfactant proteins A, B, and C.

Methods : Time-dated pregnant mice were divided into 5 groups. At gestational day 16, the pregnant mice received intraperitoneal injection of saline, rhKGF, rhKGF+Dexa, Dexa alone, or rhEGF. Fetuses were delivered by cesarean section 24 h later. Lung tissues were obtained for isolation of RNA and realtime RT-PCR for SP-A, -B, and -C.

Results : Relative SP-A mRNA levels of any of the treatment groups were not significantly different from the control group. Either KGF or Dexa group did not show higher levels of SP-B mRNA than control group. Relative mean values of SP-B mRNA of KGF +Dexa and EGF groups were higher than the control group, but not statistically significant. Even though there was a trend of increasing levels of SP-C mRNA in all the treatment groups, the differences were not statistically significant.

Conclusion : Antenatal intraperitoneal administration of KGF, EGF, or dexamethasone to pregnant mice did not increase the mRNA expressions of surfactant proteins in preterm mouse pups. However, the effects of different doses, timing, and routes of administration are important factors that may influence the outcomes and should further be investigated in the future. **(J Korean Soc Neonatol 2005;12:1-7)**

Key Words : Keratinocyte growth factor, epidermal growth factor, dexamethasone, antenatal administration, surfactant proteins

이 논문은 1999년도 연세대학교 의과대학 교수 연구비 지원에 의한 것임.

책임저자 : 박민수, 서울시 강남구 도곡동 146-92 연세대학교 의과대학 소아과학교실
Tel : 02)3497-3351, Fax : 02)3461-9473, E-mail : minspark@yumc.yonsei.ac.kr

서 론

미숙아 질환 중 사망률의 가장 중요한 부분을 차지하고 있는 신생아 호흡 곤란증(respiratory distress syndrome, RDS)은 1959년 미국의 Avery와 Mead[1]가 처음으로 RDS의 원인이 폐의 미성숙으로 인한 폐계면활성제의 부족에 기인한다고 밝힌 바 있다. 1980년 일본의 Fujiwara 등[2]이 신생아호흡곤란증 환자에게 소의 폐를 이용하여 만든 폐계면활성제인 Surfactant TA를 투여하여 세계 최초로 성공적인 임상보고를 발표하였고, 이를 계기로 폐계면활성제는 1990년대 초부터 RDS의 치료에 근간을 이루는 치료법으로 자리 잡게 되었고, 그 효과로 미숙아 생존율의 괄목할 만한 상승을 이루게 되었다.

RDS 환자에게서 폐계면활성제의 투여는 대부분 신속한 치료효과를 보이지만 약 30-50% 정도에서는 폐계면활성제의 불활성화, 부적절한 분포와 팽창, 폐동맥 고혈압, 산혈증, 및 패혈증 등으로 사망에 이르기도 한다[3-5]. 또한 미숙아들은 폐계면활성제의 투여에도 불구하고 고농도의 산소 투여와 인공 환기기에 의한 압력 및 용적 상해 등으로 인하여 만성 폐질환이 발생하기 쉬우며 이것은 장기적인 후유증을 유발하게 된다. 이와 같이 RDS의 치료가 아직도 어려운 이유는 단순한 폐계면활성제의 부족보다는 폐의 발달이 미성숙하여 생기는 폐의 구조적, 기능적 결함이 동반되어 있기 때문이다. 폐의 성장 및 분화가 동반되지 않는 상태에서 인공 환기 요법을 시행함으로 인해 폐조직의 손상이 일어나게 되고 산소 및 호흡기에 의존하게 되는 만성 폐질환을 초래하게 된다.

최근 여러 연구에 의해 몇몇 성장인자(growth factors)가 폐의 발달과 연관성이 있음이 보고되었고, 신생 쥐를 이용한 동물실험에서는 출생 후 투여 시 폐포 증식을 촉진시키며 폐계면활성제 생산을 증가시키는 것으로 알려져 있다[6, 7]. 그러나 이러한 성장인자들을 산전에 투여하여 폐 성숙을 도모하고 출생 후 RDS를 예방하는 효과에 대한 연구는 이루어지지 않고 있다. 따라서 본 연구에서는 폐의 발달에 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려진 성장인자 중 KGF, EGF 및 dexamethasone을 임신쥐 모델을 이용하여 산전에 투여하여 이에 의한 미숙태자 출생 후의 폐의 surfactant protein A, B와 C mRNA 발현을 평가하고자 하였다.

대상과 방법

1. 동물 및 시약

Time-dated pregnant Balb/c mice 15 마리를 구입하였다. 밤에 mating하고 다음날 vaginal plugging을 확인하여 임신 0일로 계산하였다. 임신쥐는 동물실에 도착한 후 3일간 적응기간을 가졌고, 표준식과 물을 필요한대로 공급하였으며, 12:12시간 명암주기를 반복하였다. 동물실험 계획서는 연세의대 임상의학연구센터의 동물실험위원회의 승인을 받았다. 임신쥐의 체중은 51.3±3.3 g이었고, 각 군 간의 차이는 유의하지 않았다(P>0.05). Recombinant human KGF, rhEGF (Chemicon International, CA, USA) 및 dexamethasone (Sigma®)을 사용하였다.

2. 투 약

대조군(Con), KGF군(KGF), dexamethasone군(Dexa), KGF-dexamethasone군(KGF-Dexa), 및 EGF 군(EGF)으로 나누어 임신 16일에 각각 체중 g 당 10 μL 식염수, rh-KGF 5 μg/kg, dexamethasone 5 mg/kg, rh-KGF 5 μg/kg+dexamethasone 5 mg/kg, 및 rh-EGF 1 mg/kg을 체중 g 당 10 μL 식염수에 희석하여 복강 내 주사하였다. 약물 투여 24시간 후 임신쥐에게 치사량의 pentobarbital (50 mg/kg)과 ketamine (5 mg/kg)을 주사 후 제왕절개를 실시하였다. 분만된 쥐 태자의 무게를 측정한 후 양측 대퇴동맥과 정맥을 절단하여 체내의 혈액을 제거하였다. 양측 폐를 적출하여 곧바로 액화질소에 넣어 -80℃에 보관하였다.

3. Isolation of total RNA and Reverse Transcription

총 RNA는 RNeasy® procedure (Qiagen)로 분리하였다. 냉동된 폐 조직을 rotor-stator (PowerGen 700®, Fisher Sci)을 이용하여 guanidine isothio-

cyanate (GITC)를 함유한 버퍼에 파쇄 하였다. 균질화된 조직 샘플을 silica-gel-based membrane이 있는 RNeasy mini columns에 넣고 원심분리한 후 RNA를 50 μL RNase-free 증류수로 용출하였다. RNA 농도는 스펙트로미터로 260 nm에서 측정하였다. 정제된 총 RNA를 cDNA로 역전사 하였다. 우선, 총 RNA를 100 ng/μL로 희석한 후, 5 μL (500 ng) RNA를 5.5 mM $MgCl_2$, 500 μM dATP, dCTP, dGTP와 dTTP, 2.5 μM random hexamers, 0.4 U/μL RNase inhibitor, 1.25 U/μL MultiScribe reverse transcriptase 및 1X TaqMan RT buffer와 섞고 총 50 μL의 반응혼합물을 준비하였다. 반응혼합물을 25℃에 10분간, 48℃에 30분간 반응시킨 후, 95℃에서 5분간 가열하여 반응을 중단시켰다.

4. Real time PCR

Real time PCR은 ABI PRISM™ 7700 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Foster City, CA)을 이용하여 3배수로 반응시켰다. 반응혼합물은 1X universal master mix, 각 300 nM forward 및 reverse primer, 그리고 200 nM fluorescent probe (TaqMan® Molecular Beacons, Applied Biosystems, Foster City, CA)를 혼합하여 25 μL를 만들었다. PCR 반응의 질적 적정성은 no template control을 사용하여 확인하였다. 18s rRNA를 internal positive control로 사용하였다. 증폭환경은 초기에 50℃에서 2분간, 95℃에서 10분, 그 후 95℃에서 15초-60℃에서 1분의 싸이클을 40회 반복하였다. 흰쥐의 SP-A, SP-B, 및 SP-C의 primer와 probe를 디자인하여 Applied Biosystems, Foster City, CA에 의뢰하여 합성하였다. SP-A primer는 5′-TGGTCCATGTTGAGGAGTGA-3′ 및 5′-CATGGTCGCATTCCACATAG-3′ probe는 5′-6FAM-TGCATGGAATGGATTATGGGATTCATAMRA-3′을 사용하였고, SP-B primer는 5′-TGTCCACCTCCTCACAAAGA-3′ 및 5′-TTGGGGTT AATCTGGCTCTG-3′ probe는 5′-6FAM-TGACCAAGGAAGATGCTTTCCAGGA-TAMRA-3′을 사용하였고, SP-C primer는 5′-GAGATGGTCCTTGAGATGAGC-3′ 및 5′-GCAGTAGGTTCCTGGAGCTG-3′ probe는 5′-6FAM-ATCGGAGCACCGGAAACTCAGAAA-TAMRA-3′을 사용하였다.

Fluorescence intensity thresholds를 증폭기의 linear phase에 맞추고, active reporter fluorescence가 threshold를 지나는 시기의 싸이클을 결정하여 cycle threshold (C_T)로 정하였다. 유전자 발현의 상대적 정량을 위해서 비교 CT 방법을 사용하여 계산하였다. 시험유전자의 CT치에서 18s C_T 치를 감하여 $\triangle C_T$를 구하였고 [즉, C_T (target gene)-C_T (18s)], $\triangle\triangle C_T$ 치는 시험군의 $\triangle C_T$치에서 대조군의 $\triangle C_T$치를 감하여 구하였다. [즉, $\triangle\triangle C_T$=$\triangle C_T$(test group)-$\triangle C_T$(reference group)]. 시험군의 mRNA의 대조군에 대한 상대적 양은 $2^{-\triangle\triangle CT}$로 계산하였다.

결 과

각 임신쥐에서 제왕절개술로 분만된 태자의 수는 평균 9.1±0.8 마리였고, 평균 체중은 0.79±0.09 g이었고, 각 군 간의 유의한 차이는 없었다(P>0.05).

1. 신생 태자 쥐의 폐내 SP-A mRNA 발현

신생 태자 쥐의 폐내 SP-A mRNA 발현의 변화를 비교한 결과, KGF투여군은 대조군(1.01±0.11)에 대

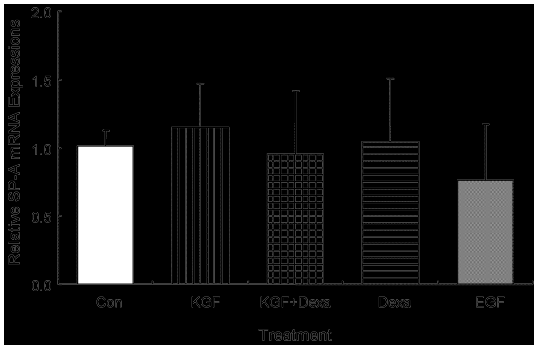

Fig. 1. Relative SP-A mRNA expressions measured by real-time RT-PCR in the lungs of premature mouse pups delivered on gestational day 17 from pregnant mice treated with intraperitoneal injection of saline (Con), rh-KGF 50 μg/kg (KGF), dexamethasone 5 mg/kg (Dexa), rh-KGF 50 μg/kg+dexamethasone 5 mg/kg (KGF+Dexa), or rh-EGF 1 mg/kg (EGF) on the 16th day of gestation.

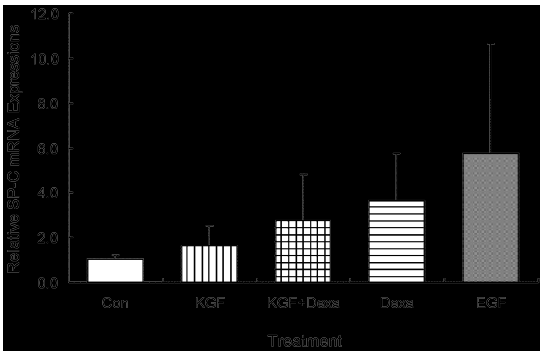

Fig. 2. Relative SP-B mRNA expressions measured by real-time RT-PCR in the lungs of premature mouse pups delivered on gestational day 17 from pregnant mice treated with intraperitoneal injection of saline (Con), rh-KGF 50 μg/kg (KGF), dexamethasone 5 mg/kg (Dexa), rh-KGF 50 μg/kg+dexamethasone 5 mg/kg (KGF+Dexa), or rh-EGF 1 mg/kg (EGF) on the 16th day of gestation.

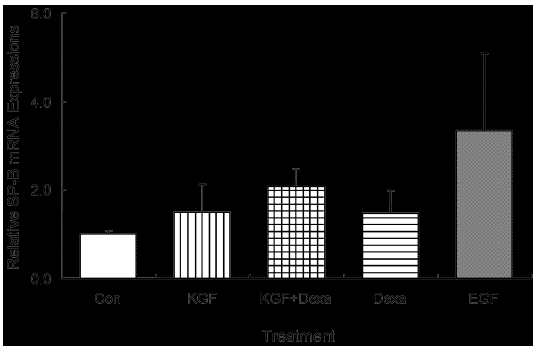

Fig. 3. Relative SP-C mRNA expressions measured by real-time RT-PCR in the lungs of premature mouse pups delivered on gestational day 17 from pregnant mice treated with intraperitoneal injection of saline (Con), rh-KGF 50 μg/kg (KGF), dexamethasone 5 mg/kg (Dexa), rh-KGF 50 μg/kg+dexamethasone 5 mg/kg (KGF+Dexa), or rh-EGF 1 mg/kg (EGF) on the 16th day of gestation.

한 상대적 SP-A mRNA치가 1.15±0.32, KGF+Dexa군은 0.95±0.46, Dexa군은 1.04±0.47, EGF군은 0.76±0.41로서 대조군에 비하여 유의한 차이를 보이지 않았다. 각 군 간의 비교 시에도 의미 있는 차이는 없었다(P>0.05).

2. 신생 태자 쥐의 폐내 SP-B mRNA 발현

대조군(1.00±0.06)에 비한 KGF투여군의 상대적 SP-B mRNA치는 1.50±0.61, KGF+Dexa군은 2.08±0.39, Dexa군은 1.48±0.52, EGF군은 3.35±1.73로서 투여약물에 따른 유의한 차이를 보이지 않았다. 또한 post hoc 분석에 의해서도 각 군 간의 유의한 차이는 없었다. 그러나 평균치를 비교하여 볼 때, KGF 및 Dexa가 각각 대조군에 비해 약 1.5배의 증가를 보였고, 두 약물의 동시 투여로 약 2배의 증가를 나타내는 추세를 보였다. 또한 표준오차가 크기는 하지만 EGF투여군의 평균치도 대조군에 비해 3배 이상에 달하는 수치를 나타냈다.

3. 신생 태자 쥐의 폐내 SP-C mRNA 발현

SP-C mRNA치는 각 군 내의 오차가 SP-A나 SP-B보다 더 크게 나타나 개인차가 큼을 알 수 있었다. KGF투여군은 대조군(1.03±0.20)에 대한 상대적 SP-C mRNA치가 1.62±0.88, KGF+Dexa군은 2.77±2.02, Dexa군은 3.66±2.09, EGF군은 5.75±4.92로서 각각의 투여약물에 따라 평균치의 상승을 나타내고 있으나 통계학적으로 유의한 차이는 보이지 않았다.

고 찰

폐의 성숙을 촉진시키는 요인들로서 여러 종류의 호르몬과 성장 인자에 대한 연구가 진행되고 있는데 그중 가장 많은 연구가 이루어진 것은 스테로이드이다. 1969년 Liggins 등[8]이 태아 양에게 스테로이드를 투여하여 폐 성숙이 촉진됨을 최초로 관찰한 이래 산전 스테로이드 투여는 RDS의 빈도와 질환의 정도를 감소시키는 효과적인 치료법으로 인식되고 있다. 약 20여 년간 산전 스테로이드 투여의 장단점에 대하여 찬반양론이 있었으나[9-11], 1994년 미국 보건성에서는 24주에서 34주 사이에 출생하는 모든 미숙아에 대하여 산전 스테로이드 투여를 권장하고 있으며, 현저한 치료 효과들이 보고되고 있다[12, 13]. 또한 산전 스테로이드는 폐계면활성제와 병용 시 더욱 폐 성숙을 촉진시키는 효과가 있는 것으로 보고되고 있다[14].

그러나 이와는 반대로 산전 스테로이드의 효과가 미미하다는 보고들도 무시할 수 없다. 산전 스테로이드는 폐포 상피 세포의 증식을 방해하고 폐포낭이 성숙한 폐포로 분화하는데 방해 작용을 나타낼 수 있는

가능성도 제시되고 있다[15]. 본 연구에서는 dexamethasone을 임신쥐에 단독 투여한 경우 SP-A mRNA 발현은 대조군에 비해 증가된 소견은 없었고, SP-B 및 SP-C mRNA의 평균치는 상대적으로 상승되는 추세를 보였으나, 통계학적인 의의를 찾을 수는 없었다. Dexamethasone이 폐의 성숙도를 촉진시키는 측면에서 볼 때, 폐조직의 분화와 더불어 폐계면활성제의 생성 및 분비의 증가를 생각할 수 있는데 transcriptional level에서의 발현을 증가시키지 않고도 이미 생성된 폐계면활성제의 분비만을 촉진시키는 것만으로도 폐의 기능향상을 유도할 수 있다.

폐 실질 및 혈관의 성숙에 관여하는 성장 인자들로는 EGF (epidermal growth factor), HGF (hepatocyte growth factor), VEGF (vascular endothelial growth factor), TGF (transforming growth factor) 및 KGF (keratinocyte growth factor) 등이 있다. 이중에서도 KGF는 폐 성숙과 매우 밀접한 관계를 가지는 인자로 보고되고 있다. KGF는 19 kDa의 당단백질로 in vitro 실험에서 외피 기원 세포의 핵산 합성과 세포 증식을 자극하는 작용을 한다[16]. KGF는 태아 폐 기원의 섬유아세포에서 처음 분리되었고 결체 조직 세포(stromal cell)에서 표현되나 그 수용체인 KGF-R (혹은FGFR-2IIIb)은 폐 상피세포에서만 발견된다[17]. KGF는 제2형 폐포 상피 세포에 대한 mitogen으로 작용하고[17], KGF-R은 초기 폐의 분지형성에서 중요한 역할을 한다[19, 20]. 그러나 KGF의 폐계면활성제 단백질(surfactant protein, SP)에 대한 영향은 다양하게 보고되고 있다. 분리된 성숙 백서의 제2형 폐포 상피 세포에서 외부에서 투여한 KGF는 전사이전 단계에서 SP-A와 SP-B의 표현을 증가시키나 SP-C의 표현에는 영향이 없었다[21]. 또한 폐 전체의 primordium을 사용한 연구에서는 KGF가 SP-B와 SP-C의 표현을 증가시키나 SP-A에는 영향이 없었다는 보고가 있는 반면[22], 결체 조직으로부터 분리된 폐포를 사용한 연구에서는 SP-A의 표현이 증가되나 SP-C에는 영향이 없었다고 보고되었다[23]. 이와 같은 연구들은 폐계면활성제가 축적되기 훨씬 전인 배아기를 모델로 한 것이다. 최근 임신 후기의 백서에서 제2형 폐포 상피 세포를 분리, 배양하여 KGF를 투여한 결과 DSPC (disaturated phosphatidylcholine) 및 SP-A, B, C의 표현을 모두 증가시켰다는 보고가 있다[24]. 즉, KGF가 폐포 상피 세포에 대한 mitogen으로서의 역할과 폐포 상피 세포의 성숙을 촉진할 가능성이 있다. 신생 토끼에 KGF를 투여한 연구에서는 폐계면활성제의 pool을 증가시키고 세포 유형에 관계없이 전체 조직의 DSPC량을 증가시키나 폐포내의 DSPC에는 영향이 없다는 결과가 제시되었다[6]. 또한 폐포 상피 세포 배양에서 KGF와 dexamethasone 병용투여가 SP-A 및 SP-B mRNA 발현을 상승적으로 증가시킨다고 보고되었다[25]. 따라서 in vivo 동물실험, 사용된 동물의 나이 및 투여량, 세포배양 등 실험방법에 따라 상이한 결과를 나타내고 있으나, 현재까지 알려진 정보를 종합해 보면 KGF는 폐포상피세포의 증식을 일으키는 동시에 폐계면활성제단백의 발현을 증가시키는 것으로 보인다.

그러나 임신 중에 미리 KGF를 투여할 경우 태아의 폐 발달이나 폐계면활성제의 생성 및 분비에 미치는 영향에 대한 연구는 아직 보고된 바 없다. 본 연구에서는 KGF 단독 투여에 의한 SP-A mRNA의 발현에는 영향이 없었고, SP-B 및 SP-C mRNA의 발현은 약간 상승시키며, KGF와 dexamethasone이 병용 투여된 경우에도 SP-A mRNA의 발현에는 별 영향이 없었으나, SP-B 및 SP-C mRNA의 발현은 현저히 증가되는 것으로 보아, 분만 전에 임신쥐에 투여된 경우에는 직접 신생 쥐에게 투여되거나 배양된 세포에 투여된 경우와는 투여효과가 상이하게 나타나는 것을 알 수 있다.

EGF는 주로 폐 발달의 초기단계에서 폐의 성장과 기도발달을 자극하는 인자로 알려져 있다[26]. 그러나 또한 폐포상피세포의 증식을 유도한다고 보고되기도 하였다[27]. 세포배양 연구에서는 EGF가 surfactant protein mRNA의 발현을 증가시킨다고 보고되었다[7]. 그러나 분만 전에 EGF를 투여한 효과에 대한 연구가 없어 아직까지 그 효과에 대해 알려진 바가 없다. 본 연구에서는 전반적으로 surfactant protein mRNA의 발현을 증가시키는 것으로 나타나 폐 발달에 대한 문헌상의 결과를 뒷받침 해 주고 있다.

앞서 언급한 성장인자들의 임신 중 투여의 효과는 직접 당사자인 태아나 신생 쥐에 투여한 경우 또는 배양된 세포에 투여한 경우와는 많은 차이가 있다. 그 이유로는 약동력학적인 차이를 고려해야 한다. 우선 임신쥐에게 복강 내로 투여된 성장인자 KGF의 용량

은 기존에 근거할 만한 연구가 선행되지 못하였기에 신생쥐에게 투여된 용량을 기준으로 결정되었다[6]. 그러나 이들이 얼마나 임신쥐의 혈중으로 흡수되었는지, 태반을 통한 이동, 태아에서의 대사 등 약동학적 측면에서 볼 때 아직 이에 대한 연구가 없는 상태이며, 이는 태아의 폐 조직 내 성장인자의 농도와 이에 따른 반응에 큰 영향을 미친다[28]. 태반을 통한 전달이 제대로 이루어지지 않는 경우 임신 중 성장인자 투여는 효과를 기대하기 어렵다. 그러나 투여량의 증가로 태아에 도달하는 농도를 유지시킬 수 있다면 용량조절로 투여효과를 노릴 수도 있다. 이러한 약동학적인 문제가 해결된다면 다음 단계로서 태내에서의 성장인자에 대한 반응이 어떻게 다른지에 대한 연구가 따라야 한다.

본 연구는 임신 중 성장인자 투여로 태아 쥐에 있어서의 폐계면활성 단백의 발현이 증가되지 않는다는 결론을 얻을 수 있다. 그러나 앞서 언급한 약동력학적 측면에 대한 연구가 추가로 실행되어 실제의 효과에 대한 확인이 필요할 것으로 본다.

요 약

목 적 : Keratinocyte growth factor (KGF)와 epidermal growth factor (EGF) 같은 성장인자들이 신생 동물모델에서 폐포 형성 및 폐계면활성제의 생산을 증가시킨다고 알려져 있다. 이러한 성장인자들을 분만 전에 투여하여 미리 폐계면활성제의 생산을 증가시킬 수 있다면 출생 후 발생하는 신생아호흡곤란증을 예방할 수 있을 것이라는 가설 하에 본 연구를 수행하였다.

방 법 : 임신쥐를 5군으로 나누어 임신 16일째 각각 식염수, recombinant human KGF (rhKGF), rhKGF +dexamethasone (Dexa), Dexa, recombinant human EGF (rhEGF)를 복강 내 주사하고 24시간 후에 제왕절개술로 분만 시킨 뒤 쥐 태자의 폐를 적출하여 RNA를 분리하였다. Real-time RT-PCR법을 이용하여 surfactant proteins (SP)-A, B, 및 C mRNA의 발현을 측정하였다.

결 과 : 모든 치료군에서 SP-A mRNA의 발현은 대조군과 통계학적으로 의미 있는 차이를 보이지 않았다. KGF 또는 Dexa 군에서는 대조군과 유사한 정도의 SP-B mRNA의 발현을 보였고, KGF+Dexa군과 EGF군에서는 대조군에 비해 높은 mRNA 발현을 나타내었으나, 통계학적 차이는 없었다. SP-C mRNA의 경우 모든 치료군에서 대조군보다 높은 발현을 보이기는 하였으나, 이 또한 통계학적으로는 차이를 보이지 않았다.

결 론 : 분만 전 임신쥐에게 KGF, EGF, 또는 Dexa를 복강 내로 투여한 경우 분만된 미숙태자 폐에서의 폐계면활성 단백의 mRNA 발현에는 영향을 주지 않았다. 그러나 용량, 투여 시기, 투여 경로 등에 따라 다른 효과를 나타낼 수 있으므로 이에 대한 추적 연구가 요구된다.

참 고 문 헌

1) Avery ME, Mead J. Surface properties in relation to atelectasis and hyaline membrane disease. Am J Dis Child 1959;97:517-23.
2) Fujiwara T, Maeta H, Chida S, Morita T, Watabe Y, Abe T. Artificial surfactant therapy in hyaline-membrane disease. Lancet 1980;1:55-9.
3) Charon A, Taeusch W, Fitzgibbon C, Smith GB, Treves ST, Phelps DS. Factors associated with surfactant treatment response in infants with severe respiratory distress syndrome. Pediatrics 1989;83:348-54.
4) Jobe A, Ikegami M, Jacobs H, Jones S. Surfactant and pulmonary blood flow distributions following treatment of premature lambs with natural surfactant. J Clin Invest 1984;73:848-56.
5) Kim JN, Park DC, Park MS. High pulmonary artery pressure on echocardiogram after administration of surfactant in preterm respiratory distress syndrome can predict delayed ductal closure, lack of improvement of respiratory status, pulmonary hemorrhage and increased mortality. Pediatr Res 1999;43:205A.
6) Ikegami M, Jobe AH, Havill AM. Keratinocyte growth factor increases surfactant pool sizes in premature rabbits. Am J Respir Crit Care Med 1997;155:1155-8.
7) Chinoy MR, Zgleszewski SE, Cilley RE, Blewett CJ, Krummel TM, Reisher SR, et al. Influence of epidermal growth factor and transforming growth factor beta-1 on patterns of fetal mouse

lung branching morphogenesis in organ culture. Pediatr Pulmonol 1998;25:244-56.
8) Liggins GC. Premature delivery of foetal lambs infused with glucocorticoids. J Endocrinol 1969; 45:515-23.
9) Avery ME. The argument for prenatal administration of dexamethasone to prevent respiratory distress syndrome. J Pediatr 1984;104:240.
10) Crowley P, Chalmers I, Keirse MJ. The effects of corticosteroid administration before preterm delivery : an overview of the evidence from controlled trials. Br J Obstet Gynaecol 1990;97: 11-25.
11) Silver RK, Vyskocil C, Solomon SL, Ragin A, Neerhof MG, Farrell EE. Randomized trial of antenatal dexamethasone in surfactant-treated infants delivered before 30 weeks' gestation. Obstet Gynecol 1996;87:683-91.
12) Maher JE, Cliver SP, Goldenberg RL, Davis RO, Copper RL. The effect of corticosteroid therapy in the very premature infant. March of Dimes Multicenter Study Group. Am J Obstet Gynecol 1994;170:869-73.
13) Kari MA, Hallman M, Eronen M, Teramo K, Virtanen M, Koivisto M, et al. Prenatal dexamethasone treatment in conjunction with rescue therapy of human surfactant : a randomized placebo-controlled multicenter study. Pediatrics 1994;93:730-6.
14) Jobe AH, Mitchell BR, Gunkel JH. Beneficial effects of the combined use of prenatal corticosteroids and postnatal surfactant on preterm infants. Am J Obstet Gynecol 1993;168:508-13.
15) Massaro GD, Massaro D. Formation of pulmonary alveoli and gas-exchange surface area : quantitation and regulation. Annu Rev Physiol 1996;58:73-92.
16) Rubin JS, Osada H, Finch PW, Taylor WG, Rudikoff S, Aaronson SA. Purification and characterization of a newly identified growth factor specific for epithelial cells. Proc Natl Acad Sci 1989;86:802-6.
17) Miki T, Bottaro DP, Fleming TP, Smith CL, Burgess WH, Chan AM, et al. Determination of ligand-binding specificity by alternative splicing : two distinct growth factor receptors encoded by a single gene. Proc Natl Acad Sci 1992;89:246-50.
18) Panos RJ, Rubin JS, Csaky KG, Aaronson SA, Mason RJ. Keratinocyte growth factor and hepatocyte growth factor/scatter factor are heparin-binding growth factors for alveolar type II cells in fibroblast-conditioned medium. J Clin Invest 1993;92:969-77.
19) Peters K, Werner S, Liao X, Wert S, Whitsett J, Williams L. Targeted expression of a dominant negative FGF receptor blocks branching morphogenesis and epithelial differentiation of the mouse lung. EMBO J 1994;13:3296-301.
20) Post M, Souza P, Liu J, Tseu I, Wang J, Kuliszewski M, et al. Keratinocyte growth factor and its receptor are involved in regulating early lung branching. Development 1996;122:3107-15.
21) Sugahara K, Rubin JS, Mason RJ, Aronsen EL, Shannon JM. Keratinocyte growth factor increases mRNAs for SP-A and SP-B in adult rat alveolar type II cells in culture. Am J Physiol 1995;269:L344-50.
22) Shiratori M, Oshika E, Ung LP, Singh G, Shinozuka H, Warburton D, et al. Keratinocyte growth factor and embryonic rat lung morphogenesis. Am J Respir Cell Mol Biol 1996;15: 328-38.
23) Cardoso WV, Itoh A, Nogawa H, Mason I, Brody JS. FGF-1 and FGF-7 induce distinct patterns of growth and differentiation in embryonic lung epithelium. Dev Dyn 1997;208:398-405.
24) Chelly N, Mouhieddine-Gueddiche OB, Barlier-Mur AM, Chailley-Heu B, Bourbon JR. Keratinocyte growth factor enhances maturation of fetal rat lung type II cells. Am J Respir Cell Mol Biol 1999;20:423-32.
25) Mouhieddine-Gueddiche OB, Pinteur C, Chailley-Heu B, Barlier-Mur AM, Clement A, Bourbon JR. Dexamethasone potentiates keratinocyte growth factor-stimulated SP-A and SP-B gene expression in alveolar epithelial cells. Pediatr Res 2003;53:231-9.
26) Carpenter G, Cohen S. Epidermal growth factor. Annu Rev Biochem 1979;48:193-216.
27) Messmer TO, Armour R, Holley RW. Factors influencing the growth of alveolar type II epithelial cells isolated from rat lungs. Exp Cell Res 1982;142:417-26.
28) Bajoria R, Oteng-Ntim E, Fisk NM. Transfer and metabolism of thyrotropin releasing hormone across the perfused human term placenta. J Clin Endocrinol Metab 1996;81:3476-82.