Pilocarpine 投與 家兎肺臟의 壓力—容積曲線 및 肺胞表面活性物質에 關하여

慶北大學校 醫科大學 生理學敎室

<指導 朱 永 恩 敎授>

李 勝 正·蔡 洙 喜·李 錫 江

=Abstract=

Effects of Pilocarpine on Pressure-Volume Curve of the Excised Rabbit Lung and Pulmonary Surfactant

Seung Jung Lee, M.D., **Soo Hi Chae**, M.D. and **Suck Kang Lee**, M.D.

Department of Physiology, Kyungpook National University School of Medicine
Taegu, Korea

(Director: Prof. Young-Eun Choo)

A single dose of pilocarpine was subcutaneously injected into the rabbit in order to clarify the effects of cholinergic activities on the secretion of the pulmonary surfactant.

The animal was sacrificed four hours after the injection, and the pressure-volume curve of the excised lung was obtained. The surfactant activities of the lung washings were also measured, and a comparison was made with the normal.

The pressure-volume curve of the excised lung by the injection and ejection of air formed a loop (hysteresis) and the mean intra-alveolar pressure at 35 ml of air was 220 mmH_2O in the normal. The mean deflation curve of the pilocarpine treated rabbit lungs was shifted to the left compared with the normal. The surfactant activities were slightly increased than the normal.

The above results suggest that pilocarpine stimulates the secretion of the pulmonary surfactant from the Type II alveolar epithelial cell.

緖 論

呼息末期 即 肺胞가 縮少되었을 때에도 肺胞內壓이 LaPlace의 法則에 準해서 甚히 增加되지 않는 機轉은 肺胞內面을 둘러싸고 있는 薄膜의 液體層이 表面張力을 低下시키는 特殊한 物質—肺胞表面活性物質—로 되어 있기 때문이다.[1]

肺胞表面活性物質의 主成分[2,3]은 dipalmitoyl lecithin이며 肺胞壁細胞中 圓形의 第Ⅱ型 肺胞細胞에서 分泌된다고 한다.[4]

한편 肺臟은 항상 胸壁으로부터 recoil 할려는 傾向을 가지고 있으며 이와같은 힘은 肺臟組織自體가 많은 彈性纖維素로 構成되어 있기 때문이며 또 肺胞內面의 液體層 即 肺胞表面活性物質層의 物理的 性質에 依해서 나타난다고 한다.[5]

新生兒에서 볼 수 있는 hyaline membrane disease는 肺胞表面活性物質의 先天的인 缺乏 때문에 肺胞內面液體層의 表面張力 增加로 因해서 肺胞가 collapse 된 것을 말한다.[5] 이와같은 肺臟의 recoil 할려는 힘의 대부분은 肺胞內面의 液體層의 表面張力에 依해서 나타난다고 한다.[5] 그러므로 肺胞表面活性物質의 活性度는 肺臟의 compliance(容壓率)에 重要한 影響을 미치는 因子가 된다고 말할 수 있다. Goldenberg 等[6]의 電子顯

微鏡的 觀察에 依하면 pilocarpine에 依해서 第Ⅱ型 肺胞細胞의 肺胞表面活性物質의 分泌가 增加되었다고 하며 李[7]는 迷走神經切斷, 迷走神經의 電氣的인 刺戟等 一連의 副交感神經性作用에 依해서 第Ⅱ型 肺胞細胞의 機能이 亢進됨을 指摘한 바 있다.

한편 Kirkland[8]는 atropine을 投與한 흰 쥐의 肺抽出液의 表面活性度는 變化가 없었으며 이 硏究結果를 기초로 하여 副交感神經系가 肺胞表面活性物質의 生成 및 分泌와 關係가 없다고 主張하였다. 이러한 見地에서 著者들은 pilocarpine 投與家兎의 肺臟을 摘出하여 肺臟의 壓力—容積曲線을 그려보고 또 肺洗滌液의 表面活性度를 測定하여 봄으로써 副交感效能藥劑에 依한 第Ⅱ型 肺胞細胞의 肺胞表面活性物質의 分泌機能의 一端을 究明코자 本 實驗을 實施하여 그 結果를 發表하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

實驗材料로는 體重 2~2.1 kg의 健康한 雜種 白色家兎를 使用하였으며 總 19匹을 다음과 같이 2群으로 나누었다.

(1) 正常群(8匹)

(2) pilocarpine 投與群(11匹)

體重 kg 當 0.5 mg의 pilocarpine hydrochloride를 蒸溜水에 녹인 後 家兎背部皮下에 注射하였으며[9] 4時間 後에 觀察한 群.

2. 實驗方法

各 實驗群의 家兎를 實驗臺에 固定하고 兩側 頸動脈을 切斷하여 失血致死시킨 後 前胸部壁을 切開하고 肺臟의 損傷을 避하면서 氣管을 包含한 兩側肺臟을 摘出하여 壓力—容積曲線을 作成하였으며 곧 左側 肺臟만을 使用해서 肺洗滌液을 만들었다.

(1) 壓力—容積曲線의 作成

肺臟의 容積增減에 따른 肺內壓의 測定을 爲해서 摘出한 氣管을 包含한 兩側 肺臟을 2 l 들이의 비커에 懸垂固定하였으며 비커에는 肺臟의 건조를 막기 爲해서 약간의 蒸溜水를 두었다.

固定한 兩側 肺臟의 氣管에 polyethylene 管을 연결하고 polyethylene 管을 다시 three way cock에 연결해서 一端은 Hewlett Packard 製 pressure transducer type 268 B와 연결하였으며 다른 一端은 空氣注入을 爲해서 注射器에 연결하였다.

壓力記錄裝置로는 Hewlett Packard 製 7712 recorder를 使用하였으며 壓力은 mmH_2O로 환산하였다. 1回에 5 ml 空氣를 10 ml 들이 注射器를 使用하여 注入하였으며 이 過程을 7回 反復함으로써 最大空氣注入量을 35 ml되게 하였다.

空氣注入 直後 肺內壓은 차츰 減少하였으며 一定時間 後에는 壓力이 固定되었다(equilibrium pressure). 그때의 壓力을 肺內壓으로 記錄하였으며, 全量 35 ml의 空氣注入이 完了되면 肺內壓이 equilibrium pressure에 도달하기를 기다린 후 곧 5 ml 씩의 空氣를 단계적으로 다시 注射器를 通해서 徐徐히 排出한 後 壓力을 記錄하였다. 肺內空氣의 排出時는 空氣注入時와는 달리 排出直後의 壓力에서부터 차츰 增加하였으며 一定時間 後에는 壓力이 固定되었다(equilibrium pressure). 空氣排出過程에는 注入量 35 ml 全量이 排出되기 前에 이미 肺內壓이 陰壓을 나타내었으며 陰壓이 나타나기 始作하면 空氣排出을 中止했다.

(2) 肺洗滌液의 作成 및 表面張力測定

肺容積增減에 따른 肺內壓의 測定이 끝난 後 곧 左側 肺臟만을 使用하여 生理的 食鹽水 60 ml를 1回에 30 ml 씩을 徐徐히 注入하여 다시 吸引하는 過程을 各各 2回 反復하며 肺洗滌液을 作成하였으며 이중 45 ml의 肺洗滌液을 取하며 Brown 等[10]이 使用한 裝置인 Langmuir-Wilhelmy balance를 改造한 裝置에서 表面張力을 測定하였다.

實驗成績

1. 正常群

(1) 摘出肺臟의 壓力—容積曲線

正常家兎에서 摘出한 肺臟에서 1回에 5 ml의 空氣를 注入하는 過程을 7回 反復하여 肺內注入空氣量이 總 35 ml 되게 하는 동안 測定한 各 個體別 肺內壓의 變化는 第 1 圖에서 보는 바와 같이 10 ml 注入時까지는 急激한 增加를 보이나 그 以後는 徐徐히 增加하였다. 다시 5 ml 씩 空氣를 排出하는 동안 肺內壓은 徐徐히 減少하였다. 空氣注入曲線(inflation curve)은 排出曲線(deflation curve)에 比해서 下方에 位置하였으며 inflation curve와 deflation curve는 同一한 經路를 밟지 않는 hysteresis 現象을 보였으며, 全 實驗例에서 注入空氣中 마지막 5 ml을 排出시키기 始作 하면 肺內壓은 陰壓을 나타내었다. 同一한 空氣量에 對한 各 個體別 肺臟 크기의 大小를 考慮하며 實驗動物의 體重範圍를 2~2.1 kg로 極히 制限하였으나 肺臟의 壓力—容積

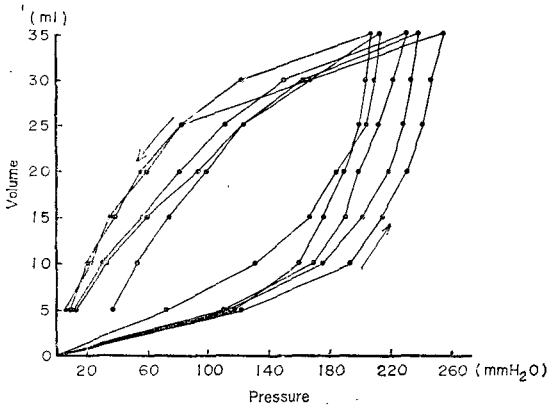

Fig. 1. The pressure-volume curves of the normal rabbit lung. Arrows indicate the directions of the volume change.

Table 1. The effect of pilocarpine on pulmonary surfactant of lung washings in the rabbit

	Surface tension dyne/cm		$\bar{S}$	No. of cases
	Maximum (range)	Minimum (range)		
Normal	46.6 (43~52)	7.4 (4.0~12)	1.5	8
Pilocarpine	47.5 (44~54)	6.1 (3.5~10)	1.5	11

$\bar{S}$: Stability index

曲線이 個體間 若干의 差異를 나타내었다.

(2) 肺洗滌液의 表面張力

正常家兎에서 作成한 肺洗滌液의 平均最大 및 最小表面張力 및 stability index는 第1表에서 보는 바와 같이 各各 46.6 dyne/cm, 7.4 dyne/cm 및 1.5이었으며 各 個體別 實驗値는 第4圖에서 보는 바와 같다.

2. 實驗群

Pilocarpine hydrochloride 0.5 mg/kg를 皮下注射 4時間 後에 摘出한 家兎肺臟의 實驗成績은 다음과 같다.

(1) 肺臟의 壓力—容積曲線

正常家兎의 實驗에서와 같은 方法으로 總 35 ml를 肺內로 注入하는 동안 肺內壓의 變化는 第2圖에서 보는 바와 같이 正常家兎의 그것과 類似한 傾向을 나타내었으며 排出曲線은 全 實驗例에서 左側으로 偏位되는 即 同一한 肺內空氣量에서 pilocarpine 投與群에서는 肺內壓이 正常群의 그것보다 若干 낮은 傾向을 보였으며 hysteresis 現象이 더욱 현저하였다. 肺內壓이 陰壓을 나타내는 정도는 正常群의 그것과 比較하여 더욱 甚하였다. 即 5例의 實驗中에서 2例에서는 肺內注入空氣 15ml 및 10m에서 다음의 空氣를排出시킬때 벌써 陰壓을 나타내었으며 나머지 3例는 正常家兎의 그것과 같았다. 第3圖는 注入空氣의 容積變化時 肺內壓變化의 平均値를 正常家兎의 그것과 pilocarpine 投與群의 그것을 比較한 것이며 여기서 보는 바와 같이 pilocarpine 投與家兎肺臟의 deflation curve가 正常家兎의 그것보다 현저히 左側으로 偏位되어 있다. 肺胞表面活性物質은 肺臟의

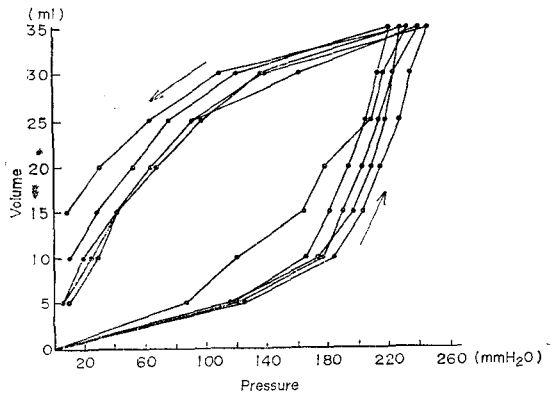

Fig. 2. The pressure-volume curves of pilocarpine injected rabbit lung. Arrows indicate the directions of the volume change.

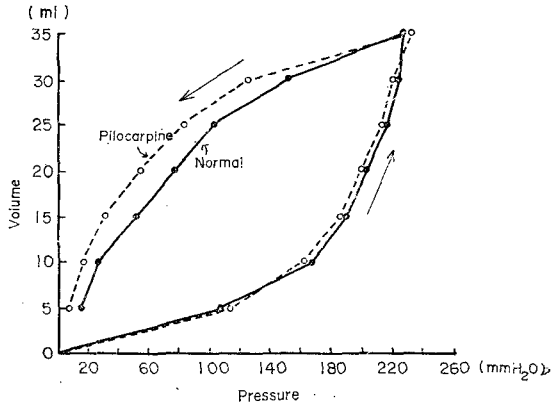

Fig. 3. The mean pressure-volume curve of pilocarpine injected rabbit lungs in comparison with that of the normal rabbit lungs. Arrows indicate directions of the volume change.

recoil force 를 유발시키는 重要한 因子라는 것을 勘案할 때 deflation curve 가 pilocarpine 을 投與한 家兎에서 左側으로 偏位되었다는 것은 意味있는 結果로 生覺된다.

(2) 肺洗滌液의 表面張力

Pilocarpine 을 投與한 家兎에서 作成한 肺洗滌液의 平均 最大 및 最小表面張力 및 stability index 는 第1表에서 보는 바와 같이 各各 47.5 dyne/cm, 6.1 dyne/cm 및 1.5로서 正常家兎의 그것들과 比較하여 그 平均値는 僅小한 差異를 보이나 第4圖의 各 實驗群의 個個値를 比較해 보면 pilocarpine hydrochloride 投與群의 最小表面張力이 正常群의 그것보다 낮은 傾向을 보였다.

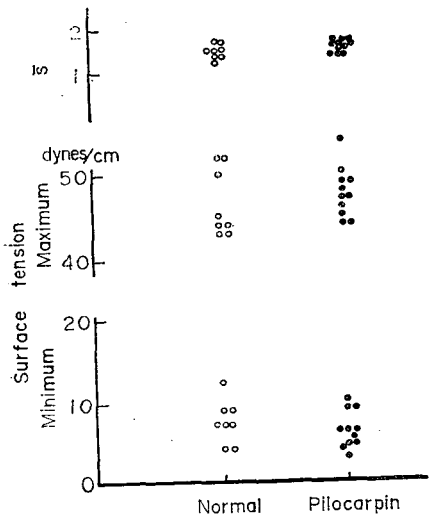

Fig. 4. The effect of pilocarpine on the pulmonary surfactant of the lung washings in the rabbit.

考 察

第Ⅱ型 肺胞細胞가 肺胞表面活性物質을 分泌한다는 事實에 對해서는 學者들[4,11,12]間에 意見의 一致를 보고 있으나 이 物質의 合成 및 分泌機能이 다른 種類의 外分泌線細胞에서 보는 바와 같이 自律神經系에 依해서 支配를 받고 있는 것인지 혹은 全然 다른 어떤 機轉에 依한 것인지에 關해서 確定的인 說明이 이루어져 있지 않고 있다.[6~8] Goldenberg 等[6], Kirkland[8] 및 李[7]는 副交感神經作用에 依해서 肺胞表面活性物質의 分泌機能이 조절받을 것인지에 關해서 廣範圍한 研究를 한바 있으며, Kirkland[8]는 그 可能性을 否認하였으나 Goldenberg 等[6] 및 李[7]는 副交感神經性作用에 依해서 第Ⅱ型 肺胞細胞의 肺胞表面活性物質의 合成 및 分泌機能이 增加된다고 報告한 바 있다. 이와같이 學者들 間의 意見의 一致를 보지 못하고 있는 點에 비추어 著者는 副交感神經效能藥劑인 pilocarpine 를 投與한 家兎肺臟의 壓力—容積曲線 및 肺洗滌液의 表面張力을 測定함으로써 肺胞內에 遊離된 肺胞表面活性物質의 量的인 面을 追求하려고 試圖하였다. 本 實驗結果를 要約하면 壓力—容積曲線의 deflation curve 가 正常群의 그것과 比較해서 현저히 左側으로 偏位되었으며 肺洗滌液의 最小表面張力이 若干 減少된 傾向을 보였다. 한편 肺臟은 항상 胸壁으로부터 recoil 하려는 傾向을 나타내고 있으며 이 recoil force 는 主로 肺胞內面을 둘러싸고 있는 液體層 即 肺胞表面活性層의 表面張力에 依한다고 하며 또 肺實質組織의 彈力纖維에 依해서 나타난 힘이라고 한다.[5]

肺臟組織의 recoil force 의 減少는 肺內壓의 減少를 意味하는 것이며, 肺內壓의 減少機轉은 LaPlace 法則에 依하면 肺胞表面活性層의 表面張力이 減少되거나 肺胞의 직경이 增加되거나 兩者가 共히 減少될 때 나타날 수 있을 것이다. 肺臟의 recoil force 의 變化에 對한 評價는 肺臟의 壓力—容積曲線中 deflation curve 에서 가장 잘 나타나며[13,14] pilocarpine 를 投與한 本 實驗에서 家兎肺臟의 deflation curve 가 正常家兎의 그것보다 左側으로 偏位되었다는 것은 肺內壓이 減少되었다는 것을 뜻한다.

위에서 指摘한 바와 같이 肺內壓의 減少는 먼저 肺胞表面活性層의 表面張力 減少 即 肺胞表面活性物質의 增加에 依한 結果라고 推定할 수 있을 것이다. 또 pilocarpine 의 肺臟에 對한 藥理的 作用[15]을 고려한다면 氣管枝의 縮少 等에 依해서 肺內壓이 오히려 增加될 수 있을 것이다. 肺胞壁의 彈性減少에 依한 肺內壓의 減少를 本 實驗結果만으로는 完全히 排除할 수는 없으나 Goldenberg 等[6]은 pilocarpine 投與 rat 肺臟의 組織學的 檢査에서 氣管枝의 縮少外 特異한 變化를 認知할 수 없었다고 한 點을 미루어 볼 때 肺胞壁의 彈性이 變化되었을 可能性은 희박한 것이며 더구나 本 實驗結果에서 나타난 바와 같이 肺洗滌液의 最小 表面張力의 減少傾向을 고려에 넣는다면 pilocarpine 投與에 依한 肺內壓의 減少機轉은 肺實質組織의 彈性의 減少에 依한다기 보다는 肺胞表面活性物質의 增加에 依한 것이 主 原因이 아닌가 생각된다. 이런 점으로 미루어 보아 第Ⅱ型 肺胞細胞의 肺胞表面活性物質의 分泌機能이 副交感神經效能藥劑인 pilocarpine 에 依해서 增加되는 것으로 思料된다.

要 約

第Ⅱ型 肺胞細胞의 肺胞表面活性物質 分泌機能이 副交感神經性作用에 依해서 影響을 받을 것인지를 究明하기 위해서 體重 每 kg 當 0.5 mg 의 pilocarpine hydrochloride 를 投與한 家兎에서 肺臟의 壓力—容積曲線 및 肺洗滌液의 表面活性度를 測定한 結果는 다음과 같다.

(1) 摘出家兎肺에 空氣를 注入 및 排出할 때의 壓力—容積曲線은 正常 家兎의 그것보다 hysteresis 現象이 더욱 甚하였으며 特히 排出曲線이 左側으로 偏位되어 있었다.

(2) 正常 家兎肺洗滌液의 平均最大 및 最小表面張力 및 stability index 는 各各 46.6 dyne/cm, 7.4 dyne/cm 및 1.5이었다.

(3) Pilocarpine 投與家兎肺洗滌液의 平均最大 및 最小表面張力 및 stability index 는 各各 47.5 dyne/cm, 6.1 dyne/cm 및 1.5로서 最小表面張力은 減少하는 傾向을 보였다.

(4) 이상의 實驗結果로 미루어 보아 pilocarpine 投與에 依해서 第Ⅱ型 肺胞細胞의 肺胞表面活性物質의 分泌機能이 增加되는 傾向을 보였다.

參考文獻

1) Mead. J.: *Mechanical properties of lungs. Physiol. Rev., 41:281, 1961.*

2) Abrams, M.E.: *Isolation and quantitative estimation of pulmonary surface active lipoprotein. J. Appl. Physiol., 21:718, 1966.*

3) Klaus, M.H., Clements, J.A. and Havel, R.J.: *Composition of surface active material isolated from beef lung. Proc. Nat. Acad. Sci., 47: 1858, 1961.*

4) Macklin, C.C.: *The pulmonary alveolar mucoid film and the pneumonocyte. Lancet, 1:1099, 1954.*

5) Guyton, A.C.: *Textbook of Medical Physiology. 4th. ED. W.B. Saunders Co. Philadephia, p. 458, 1971.*

6) Goldenberg, V.E., Buckingham, S. and Sommers, S.C.: *Pilocarpine stimulation of granular pneumonocyte secretion. Lab. Inves, 20:147, 1969.*

7) 李錫江 : 副交感神經性作用이 肺胞表面活性物質의 生成 및 分泌에 미치는 影響. 慶北醫大雜誌 *14:1, 1973.*

8) Kirkland, V.L.: *Effect of postganglionic parasympathetic blockade on pulmonary surfactant. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 136:1129, 1971.*

9) Barenes, C.D. and Eltherington, L.G.: *Drug dosage in laboratory animals, A Handbook, University of California Press. Berkeley and Los Angeles, p. 190, 1966.*

10) Brown, E.S., Johnson, R.P. and Clements, J.A.: *Pulmonary surface tension. J. Appl. Physiol, 14:717, 1959.*

11) Woodside, G.L. and Dalton, A.J.: *The ultrastructure of lung tissue from newborn and embryonic mice. J. Ultrastructure Res., 2:28, 1958.*

12) Kikkawa, Y., Motoyama, E.K. and Cook, C.D.: *The ultrasturcture of the lung of lambs. Amer. J. Pathol, 47:877, 1965.*

13) Filldy, G.F., Bower, G.C. and Mitchell, R.S.: *Report on the second Aspen conference on research in empysema, Amer. Rev. Res Dis., 81:734, 1960.*

14) Craig, J.M.: *Pressure volume expansion curves and alveolr expansion patterns of lungs of stlilborn and newborn infants with and without respiratory distresses. The uniuqe pattern of infants with hyaline membrane. Amer. J. Dis. Child, 102:207, 1961.*

15) Goodman, L.S. and Gilman, A.: *The Phamacological Basis of Therapeutics, 4th. Ed. The MacMillan Co. New York, p. 474, 1970.*