

# Quinolyl Piperazine Phosphate가 흰쥐 규폐증에 미치는 영향\*

가톨릭대학교 의학부 직업병과

임 현 우 · 정 장 영 · 오 상 용  
김 경 아 · 임 영 · 윤 입 중

산업의학센터

노 영 만

= Abstract =

## The Effect of Quinolyl Piperazine Phosphate on the Silicotic Rats

Hyeon Woo Yim, M.D., Chang Young Jung, M.D., Sang Yong Oh, M.D.  
Kyung Ah Kim, M.D., Young Lim, M.D. and Im Goung Yun, M.D.

*Department of Occupational Disease, Catholic University Medical College, Seoul, Korea*

Young Man Roh, M.Sc.

*Catholic Industrial Medical Center*

**Backgrounds :** The goal of drug therapy in pneumoconiosis is to inhibit the progression of pulmonary fibrosis related to a toxic effect of the inhaled substance. Although there have been many studies on the therapy of pneumoconiosis, it is still elusive. Quinolyl piperazine phosphate (QP), a derivative of chloroquine, is less toxic, more effective, and longer action than chloroquine. This investigation was performed to examine the effect of the quinolyl piperazine phosphate in silicotic rats.

**Methods :** The silica group was administered intratracheally by 40 mg free silica dust with 0.5 ml normal saline, and the QP group was orally administered QP 10 mg per week after free silica instillation. The animals in the silica group and the QP group were killed at the 1st, 3rd, 8th and 20th week after free silica instillation. We observed the total cell count in bronchoalveolar lavage fluid, luminol-dependent chemiluminescence by viable alveolar inflammatory cells, the dry weights and the amount of hydroxyproline in the left lung and the histopathologic examination in the right lung.

**Results :**

- 1) The total number of cells of bronchoalveolar lavage fluid in the QP group tended to be decreased in comparison with the silical group. But, It was not significant.
- 2) Luminol-induced chemiluminescence by viable alveolar inflammatory cells in the QP group was similar to that in the silical group.
- 3) The dry weights in the left lung at the 3th and 8th week in the QP group were significantly decreased compared to the silical group.
- 4) The total amount of hydroxyproline at the 3rd week of the QP group were significantly

\*본 논문은 1992년 해산장학금기금으로 이루어진 것임.

decreased compared to the silical group. In the silica group, the total amount of hydroxyproline was significantly increased at the 3rd week compared with the 1st group. But, in the QP group, it was significantly increased at the 8th week.

5) In tissue pathology, the infiltration of inflammatory cells around bronchiole, and the number and the size of silicotic nodule in the QP group were similar to the silica group. But, the extent of fibrosis is less than the silica group. Especially we observed progressive massive fibrosis which located in the periphery in 3 cases among the silica group, but couldn't observe in the QP group.

**Conclusions** : QP doesn't significantly suppress the pulmonary fibrosis consequent to the intratracheal instillation of free silica dust, but delay the progression of fibrosis.

**Key Words**: Silicosis, Quinoly piperazine phosphate

## 서 론

진폐증은 공기중에 있는 호흡성 분진의 흡입에 의하여 폐에 조직반응을 일으킨 상태를 의미한다. 조직반응은 크게 두가지로 대별되는데 첫번째는 섬유화(fibrosis) 반응으로 폐조직에 비가역성 반응이 일어나는 것으로서, 흉부 방사선 사진상 규폐증의 경우는 규칙성 음영(regular opacity)을<sup>1)</sup>, 석면폐증과 알루미늄폐증은 불규칙성 음영(irregular opacity)으로 나타나며<sup>2)</sup>, 이는 흡입된 분진이 폐상피세포, 혹은 폐염증세포에 독성 효과를 나타내기 때문인 것으로 생각된다<sup>3-5)</sup>. 섬유화 병변이 심해지면 흉부 방사선 사진상 대응영을 보이며 폐기능의 장애를 초래한다<sup>6-7)</sup>. 또 다른 조직반응으로서 분진을 탐식한 대식세포의 집합으로 섬유화 반응을 거의 동반하지 않는데 용점공폐증, 주석폐증, 바륨폐증, 칼륨폐증이 이에 해당되며 기능적 환기 장애나 임상적 증상은 매우 적은 것으로 알려져 있다. 진폐증의 치료 역사는 1614년 Panzer가<sup>8)</sup> 발한제, 구토제, 완하제 등을 사용하여 체내로 들어온 먼지를 체외로 배출시키고자 노력한 이후 조직반응인 섬유화의 진행을 억제하고자 Schlipkötter와 Brockaus(1961)가 polyvinyl piridine-N-oxide(PVNO)를 사용하였고<sup>9)</sup>, 규폐증의 발생에서 면역학적인 면을 중시하여 한순자와 윤임중(1978)은 면역 억제제인 cyclophosphamide와 steroid를 흰쥐 규폐증에 투여하여 치료효과를 보고하였고<sup>10)</sup>, 항염증 치료제인 tetradrine(bis-benzyl isoquinoline)도 중국에서 투여가 시도되었으나 불행히도 기대 할만큼 진폐증에서 섬유화를 억제하지는 못하였다. 따라서 현재 진폐증 환자에서 약제 투여는 호흡기 증상에 대한 대증적 치료에 그치고 있는 수준이다. 그러나, 1973년 중

국에서는 chloroquine 유도체인 quinoly piperazine phosphate(QP : 이하 QP로 명명)를 개발하였는데 섬유화를 억제 시키는 능력이 있는 것으로 알려졌다. 따라서, 저자들은 실험적으로 유발시킨 흰쥐 규폐증에서 QP가 규폐증의 발생 및 진행에 영향을 줄 수 있는지를 알아보기 위하여 기관지 폐포 세척액내 세포의 변동, 살아있는 염증세포에서 유리되는 산소유리기의 양, 폐내 hydroxyproline 함량의 측정 및 병리조직학적으로 유리규산균과 유리규산 투여후 QP 투여한 군을 비교함으로써 약제의 효능을 규명하여 보고자 본 실험을 시도하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 동물

체중 240~320 그램의 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley)를 실험 일주일 전부터 일정한 사료로 사육한 후 외견상 건강한 쥐를 대상으로 하였으며, 생리식염수 투여군 8마리, 유리규산 투여군 27마리, 유리규산 투여후 quinoly piperazine phosphate(QP) 경구 투여군 24마리로 모두 59마리였다. 도살 시기별 실험 작군에 사용된 흰쥐는 Table 1과 같다.

Table 1. Number of Animals Used for the Experiment

Group	Durations (wks)				Total
	1	3	8	20	
Saline	8	—	—	—	8
Silica 40mg	6	9	6	6	27
Silica 40mg + QP 10mg/wk	6	6	6	6	24

## 2. 투여된 분진

실험군에 투여된 유리규산분진(Sigma제)의 입자크기는 0.5~10  $\mu\text{m}$ 이고, 그 중 1~5  $\mu\text{m}$  크기의 분진은 약 80%였다.

## 3. 실험 방법

Ketamine(25 mg/kg)을 근육주사하여 전신 마취시킨 흰쥐의 경부를 절개하고, 기관을 노출시킨 다음 유리규산 투여군에서는 유리규산분진이 40 mg이 함유된 0.5 ml 생리식염수를 주사기를 이용하여 기도내에 1회에 주입하였고, QP 투여군에서는 유리규산 투여군에서와 동일한 방법으로 유리규산을 투여한 후 QP 10 mg을 gastric lavage tube를 통하여 1주에 한번씩 경구투여하였고, QP 투여는 시료를 얻기전까지 계속되었다. 두 군 모두에서 1주, 3주, 8주, 그리고 20주째 도살하였고, 생리식염수 군에는 생리적 식염수 0.5 ml를 같은 방법으로 주입한 후 1주째에 도살하여 시료를 얻었다.

## 4. 기관지 폐포 염증세포의 획득

흰쥐에 urethan(0.12 g/100 gm)을 복강내에 주사하여 마취한 후 개흉하여, 우심실에 18번 혈관바늘을 삽입한 후 헤파린이 함유된 4°C의 phosphate 완충액으로 폐장이 깨끗해질 때까지 관류시켰다. 관류상태하에서 후두 밑의 기도를 절개한 후 정맥도자(14번)를 기관지에 삽입하고 삽입된 도자를 이용하여 37°C 생리 식염수 0.3 ml/체중(g)를 10회로 나누어 기관지 세척을 시행하였다<sup>11~12)</sup>. 회수된 세척액을 50 ml falcon tube에 모은 후 즉시 얼음속에 보관하였다. 기관지 폐포세척액을 1000 rpm으로 10분간 4°C에서 원심분리한 후 남은 cell pellet을 phenol이 없는 Hanks' balanced salt solution에 부유시켜 2회 세척한 후 hemocytometer로 상피세포수를 제외한 세포수를 측정하였다. Viability는 trypan blue exclusion 법으로 측정하였으며 살아있는 폐포 염증세포가  $3 \times 10^6/\text{ml}$ 가 되도록 하였다.

## 5. Luminol을 이용한 화학발광측정

살아있는 폐포염증세포에서 생성된 산소유리기는 luminol을 이용한 화학발광측정방법(Strauax et al, 1990)으로 측정하였다. 이 방법은 10 mM의 luminol(5-amino-2, 3-dihydro-1, 4-phthalazinedione; Sigma

Chemical Co., U.S.A.)을 dimethylsulfoxide(DMSO: Sigma Chemical Co., U.S.A.)에 용해시키고 이를 18 mM HEPES 가 함유된 Hank's balanced salt solution(Hanks' HEPES)으로 희석시켰는데 전자와 후자의 비는 1 : 50이 되도록 하였다. 폐포 염증세포에서 분비되는 산소유리기의 분비를 촉진시키기 위한 자극제로는 phorbol myristate acetate (PMA) 2.4  $\mu\text{M}$ 을 사용하였고, 산소 유리기종의 초과산화 이온의 형성을 억제시키기 위하여 superoxide dismutase(SOD: 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )를 사용하였다. 용량은 상기농도의 luminol, PMA, SOD를 100  $\mu\text{l}$ 씩 사용하였다. 화학발광 측정은 luminometer(1250 luminometer, Bio-Orbit Co.)로 0, 15, 30, 45, 60분마다 1초 동안 방출된 값을 연속하여 측정하여 그 중 최대값을 취하였고, 그 값은 살아있는 폐포 염증세포  $3 \times 10^6$ 당 상대적인 발광 단위로서 단위는 CL (chemiluminescence)로 표기하였으며, 측정 중간에는 37°C의 배양기에서 배양하였다.

## 6. 좌폐의 마른 폐무게와 Hydroxyproline 양의 측정

도살한 흰쥐로부터 양측폐를 적출한 후 그 중 좌폐를 절제하여 이를 안과용 가위로 약 1×1 mm 크기로 자른 다음 이를 곧 50°C 건조기에서 4시간동안 건조시켰다. 완전히 건조되면 폐 무게를 측정한 후 -40°C로 냉동 보관하였다. 건조된 폐조각에 7N 염산 3 ml를 첨가하여 초음파 균등 분사기로 균질화 시킨 후 동일한 염산 5 ml를 다시 첨가하여 총 용량이 8 ml이 되도록 하였다. 섭시 150도에서 16시간 동안 가수분해 시킨 후에 그 중 1 ml를 채취하여 증류수로 100배 희석하였다. 희석된 용액 100 ml를 2.5 N의 NaOH로 pH 6~7이 되도록 중화시켰다. 그 중 2 ml를 채취하여 chloramine T 1 ml로 hydroxyproline을 산화시키고, p-dimethyl amino-benzaldehyde 1 ml를 첨가하여 붉은색으로 발색시킨 후 557  $\mu\text{m}$ 로 고정시킨 분광광도계로 hydroxyproline의 양을 측정하였다<sup>13)</sup>.

## 7. 조직학적 검사

10% 포르마린 7 ml를 주사기로 우폐에 주입하여 폐를 팽창시킨 후 결찰하고 이를 다시 같은 농도의 포르마린액에 고정시킨 후 hematoxyline-eosin 염색과 Mason's trichrome 염색을 실시하여 폐의 조직학적 변화

와 폐조직의 섬유화 정도를 관찰하였다.

### 8. 유의성 검정

모든 실험 성적은 평균±표준편차로 표시하였으며, 각 군간의 통계학적 유의성은 Student's t-test로 검정하였다.

## 성 적

### 1. 기관지폐포 세척액 소견

기관지폐포 세척액의 회수율은 각군에 따라 달랐으나 71.6~89.7%였다. 특히 유리규산 투여군 8주와 20주에서 회수율은 다른 군에 비하여 낮았다. 생리식염수 투여군의 기관지폐포 세척액내 총세포수( $10.4 \pm 0.9$ )  $\times 10^5$ 에 비하여 동일 기간내에 유리규산 투여군과 QP 투여군의 기관지 폐포 세척액내 총세포수는 각각 ( $45.3 \pm 16.6$ )  $\times 10^5$ , ( $31.9 \pm 9.3$ )  $\times 10^5$ 으로 유의하게 증가하였고, 이러한 유의한 증가는 20주째에도 ( $30.2 \pm 13.5$ )  $\times 10^5$ , ( $19.0 \pm 4.3$ )  $\times 10^5$ 으로 계속되었다. QP 투여군의 기관지 폐포 세척액내 총세포수는 전 관찰기간에 걸쳐 유리규산 투여군에 비하여 감소하였으나 유의하지는 않았다(Table 2). 한편, 기관지 폐포 염증세포의 감별세포 비율은 생리식염수 투여군에 비하여 유리규산 투여군과 QP 투여군의 1주, 3주, 8주, 그리고 20주째 대식세포는 현저히 감소한 반면 임파구와 호중구는 유의하게 증가하였다( $p < 0.05$ ). 유리규산 투여군과 QP 투여군에서의 백혈구

Table 2. Recovery Rate and Total Cell Count in Bronchoalveolar Lavage Fluid

Group	Observation period (wks)	Recovery (%)	Total cell count ( $\times 10^5$ )
Saline	1	89.7 $\pm$ 4.9	10.4 $\pm$ 0.9
Silica dust	1	84.4 $\pm$ 5.6	45.3 $\pm$ 16.6*
	3	85.1 $\pm$ 7.5	34.0 $\pm$ 14.2
	8	71.6 $\pm$ 18.3	30.3 $\pm$ 11.2
	20	73.6 $\pm$ 16.4	30.2 $\pm$ 13.5
QP	1	90.5 $\pm$ 7.5	31.9 $\pm$ 9.3*
	3	82.7 $\pm$ 13.5	32.8 $\pm$ 17.5
	8	84.9 $\pm$ 6.0	19.3 $\pm$ 9.3
	20	83.4 $\pm$ 7.8	19.0 $\pm$ 4.3

\*  $p < 0.05$  : compared with saline group in the same observation period.

감별세포 비율은 유사하였다(Fig. 1).

### 2. 폐포 염증세포에서 산소 유리기의 생성

$3 \times 10^6$ 개의 폐포염증세포에서 자발적으로 유리되는 산소유리기의 양은 생리식염수 투여군에서  $0.63 \pm 0.52$  CL/sec이었으나, 동일 기간의 유리규산 투여군에서는  $3.92 \pm 1.45$  CL/sec로 현저히 증가하였고, 3주와 8주째에서도 각각  $2.61 \pm 0.88$  CL/sec,  $1.92 \pm 1.57$  CL/sec로 현저한 증가가 지속됨을 관찰할 수 있었다. 유리규산 투여후 QP를 매주 투여한 군에서도 폐포염증세포에서 유리되는 산소 유리기 양은 생리 식염수 군에 비하여 1주와 3주째에  $1.80 \pm 1.39$  CL/sec,  $3.22 \pm 2.03$  CL/sec로 유의한 증가를 보였고, 유리규산 투여군과의 비교에서는 1주째에 비하여는 유의한 감소를 보였으나, 3주와 8주에서는 큰 차이를 보이지 않았다.

시험관내에서 PMA로 폐포염증세포를 자극 하였을 때 유리되는 산소유리기의 양은 생리식염수군에서  $3.83 \pm 2.11$  CL/sec이나, 유리규산 투여군에서는 동일 기간인 1주째에  $7.50 \pm 2.49$  CL/sec로 유의한 증가를 보였고, 이러한 증가는 3주, 8주째에 각각  $7.99 \pm 3.38$  CL/

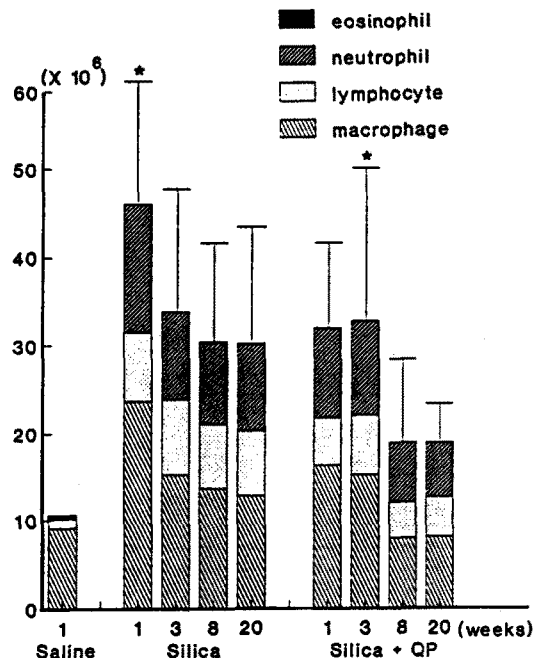


Fig. 1. The total cell count and differential count in bronchoalveolar lavage fluid in each group.

\* $P < 0.05$ : compared with the saline group.

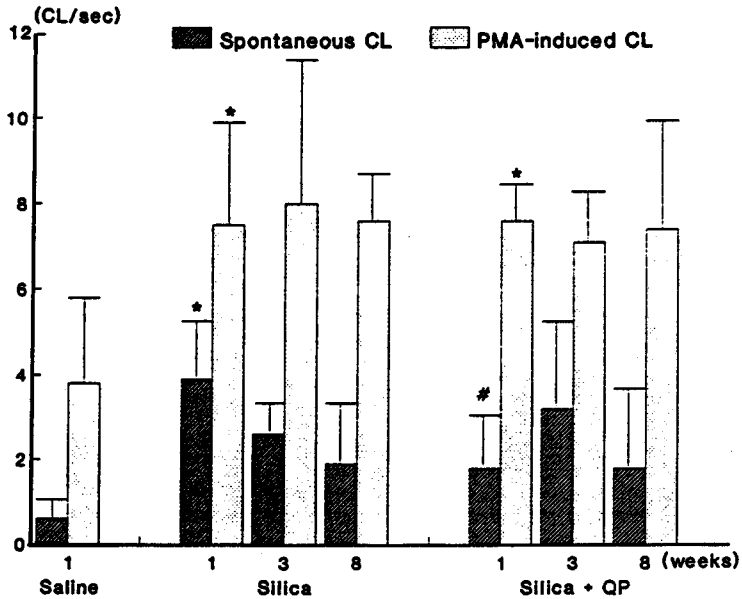


Fig. 2. Spontaneous chemiluminescence and PMA-induced chemiluminescence by viable alveolar inflammatory cells in each group.

\*P<0.05: compared with the saline group.

#P<0.05: compared with the silica group.

sec,  $7.56 \pm 1.22$  CL/sec로 계속해서 현저히 증가한 소견을 보였다. QP 투여군에서도 1주, 3주, 8주째에 각각  $7.60 \pm 0.95$  CL/sec,  $7.07 \pm 1.13$  CL/sec,  $7.38 \pm 2.70$  CL/sec로 생리 식염수군에 비하여 현저한 증가가 계속되었다. 유리규산 투여군과 비교시 유사한 수치를 보였다.

한편 자발적 혹은 PMA로 자극하였을 때 폐포 염증세포에서 생성되는 산소유리기의 양은 SOD(superoxide dismutase)의 투여로 70~90%가 억제되었다.

### 3. 좌측폐의 마른 폐무게

좌측폐의 마른 무게는 유리규산 투여군과 QP 투여군에서 생리식염수 투여군에 비하여 1주째에 각각 2.3, 2.4배가 증가하였고, 시간이 지남에 따라 마른 폐무게는 두군에서 모두 점차 증가하였다. QP 투여군 3주와 8주에서 마른 폐무게가  $0.23 \pm 0.06$  g,  $0.27 \pm 0.01$  g로 유리규산 투여군의  $0.32 \pm 0.04$  g,  $0.34 \pm 0.08$  g에 비하여 유의하게 적은 수치를 보였다( $p < 0.05$ ). 20주째에도 QP 투여군에서  $0.29 \pm 0.08$  g로 유리규산 투여군의  $0.35 \pm 0.10$  g에 비하여 유의하지는 않았으나 적은 수치를 보였다(Fig. 3).

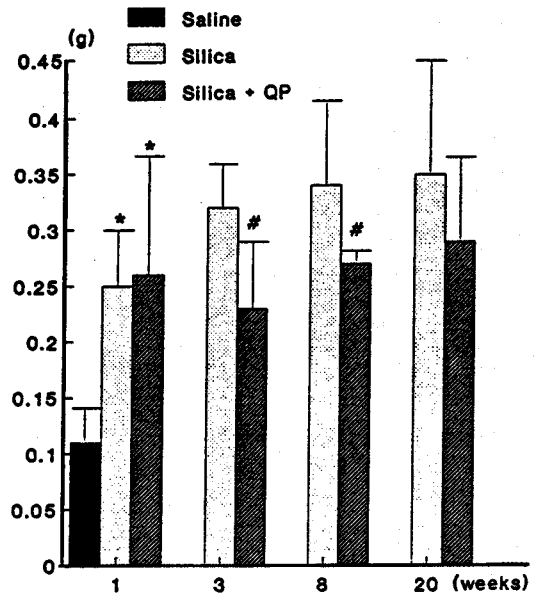


Fig. 3. The dry weight of left lung in each group.

\*P<0.05: compared with the saline group.

#P<0.05: compared with the silica group.

Table 3. Histopathologic Finding of the Lung

Group	Observation period (wks)	Inflammatory cell infiltration around bronchiole	Silicotic nodule	Fibrosis	Number of PMF case
Saline	1	—	—	—	0
Silica dust	1	+	±	—	0
	3	++	+	+	0
	8	++	++	++	1
	20	++	++ ~ +++	++ ~ +++	2
QP	1	+	±	—	0
	3	++	+	± ~ +	0
	8	++	++	+ ~ ++	0
	20	++	++	++	0

PMF : progressive massive fibrosis.

Grade : + ; mild, ++ ; moderate, +++ ; severe

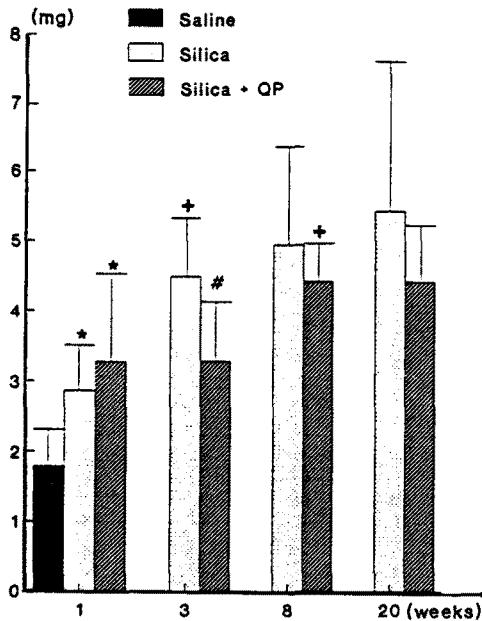


Fig. 4. The amounts of hydroxyproline of left lung in each group.

\*P<0.05: compared with the saline group.

#P<0.05: compared with the silica group.

+P<0.05: compared with the 1st week in each group.

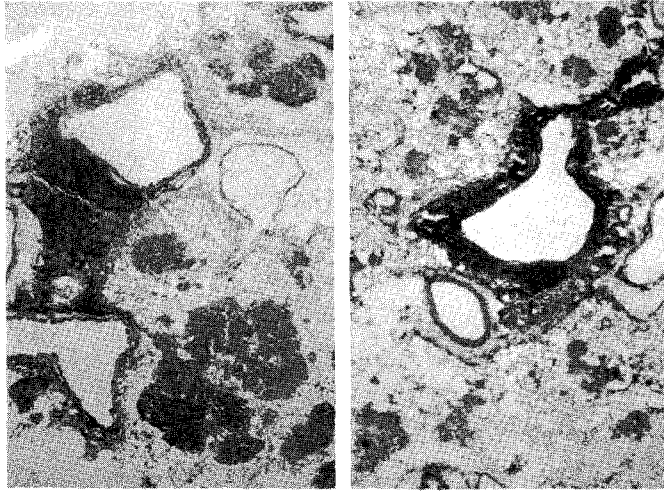
#### 4. 좌측폐의 Hydroxyproline 양

폐내 hydroxyproline 양은 유리규산 투여군과 QP 투여군에서 생리식염수 투여군에 비하여 1주째에 각각 1.

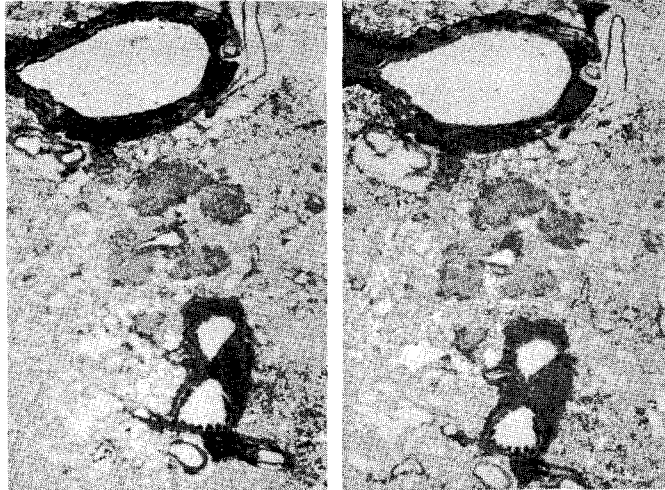
6, 1.8배가 증가하였고, 시간이 지남에 따라 hydroxyproline 양도 두 군에서 모두 점차 증가 하였다. QP 투여군 3주째에 폐내 hydroxyproline 양은  $3287.7 \pm 833.4 \mu\text{g}$ 으로 동일 기간의 유리규산 투여군  $4489.9 \pm 768.5 \mu\text{g}$ 에 비하여 유의하게 적은 수치를 보였으며 ( $p < 0.05$ ), 8주와 20주째에도 유의하지는 않았으나 QP 투여군에서 적은 수치를 보였다. 유리규산 투여군에서는 1주째에 비하여 3주째에 hydroxyproline 양이 현저히 증가한 소견을 보였으나 QP 투여군에서는 1주째에 비하여 hydroxyproline 양의 현저한 증가가 8주에서 관찰되었다 (Fig. 4).

#### 5. 조직 소견

유리규산 분진을 투여한 후 1주째에는 생리식염수 투여군에 비하여 세기관지 주위로 대식세포, 림프구, 유상피세포의 침윤이 관찰되었다. 대부분 말초부에 규폐결절의 생성이 관찰되지 않았으나, 두 예에서 규폐결절이 미약하게 생긴 것이 관찰되었다. 3주째에도 세기관지 주위로 염증세포의 침윤이 관찰되었으며, 호흡세기관지와 종말세기관지 주위에서 많은 규폐결절이 관찰되었다. 이 시기에 Masson's trichrome 염색으로 규폐결절내에 약간의 교원섬유 침착을 확인할 수 있었다. QP 투여군에서의 조직학적 소견은 유리규산 투여군에서 관찰되는 종말세기관지 주위에 염증세포침윤과 말초부에 규폐결절의 형성에 있어서는 큰 차이를 보이지 않았으나 규폐결절내 섬유화의 진행 정도에 지연이 관찰되었다. 유리



**Fig. 5.** Right. The silica group at 8th week after free silica instillation (hematoxylin-eosin,  $\times 20$ ). Left. QP group at 8th week (hematoxylin-eosin,  $\times 20$ ). The infiltration of inflammatory cells around bronchiole, and the number of the size of silicotic nodule in the QP group were similar with the silica group.



**Fig. 6.** The silica group at 20th week after free silica instillation. Right (hematoxylin-eosin,  $\times 100$ ), left (Masson's trichrome stain,  $\times 100$ ). We can find several coalescent collagenous silicotic nodules.

규산 투여후 8주째 관찰한 군은 6예 중 1예에서, 20주째 관찰한 군은 6예 중 2예에서 세포성분이 적고 진한 섬유 조직만으로 이루어진 성숙한 규폐결절을 관찰할 수 있었으나, QP 투여군에서는 위와 같은 성숙한 규폐결절을 관찰할 수 없었다.

## 고 찰

흡입분진에 의한 폐장의 조직반응, 특히 섬유화가 일어나는 진폐증을 치료하기 위하여 국내외의 여러 학자들이

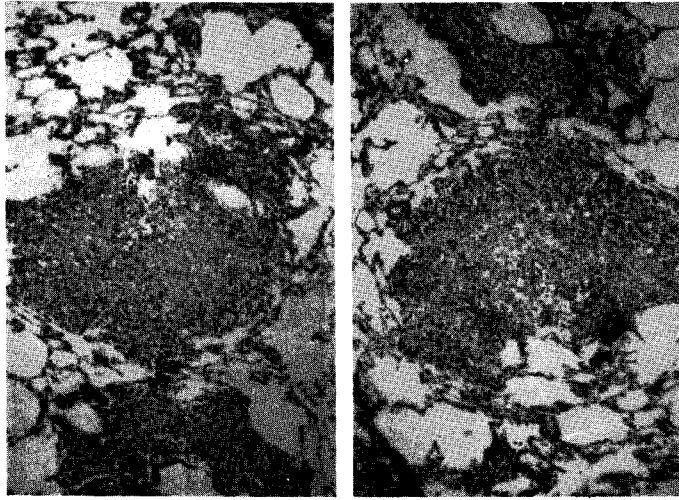


Fig. 7. QP group at 20th week. Right (hematoxylin-eosin,  $\times 100$ ), left (Masson's trichrome stain,  $\times 100$ ). The extent of fibrosis is less than the silica group.

$\beta$ -aminopropionitril (BAPN), polyvinyl pyridine-N-oxide (PVNO), cyclophosphamide, steroid 그리고 tetradrine (bis-benzyl isoquinoline) 등을 실험 동물 혹은 진폐증 환자에게 투여를<sup>9~10,14</sup> 시도하였으나, 불행히도 기대할만큼 폐장내 섬유화를 억제하지는 못하였다. 따라서 현재 진폐증 환자에서 약제 투여는 호흡기 증상에 대한 대증적 치료 및 합병증 치료에 그치고 있는 수준이다. 1971년 Dotschovski는 항말라리아 약제인 chloroquine phosphate를 86명의 진폐증 환자에 투여하여 증상의 호전을 제 4차 국제 진폐증 회의에서 보고하였고, 1973년 중국에서 chloroquine의 유도체로서 chloroquine보다 작용시간이 길고, 부작용이 적으며, 섬유화의 억제 능력이 더 우수한 quinolyl piperazine phosphate ( $C_{29}H_{32}Cl_2N_6 \cdot 4H_3PO_4$ : QP)를 개발하여 진폐증환자에게 투여가 시도되어 있으며 중국에서는 이 약제를 “anti-silicosis 14” 라고 부르고 있다.

과거 규폐증 발생의 기전에 의하면 흡입된 유리규산 분진을 폐포대식세포가 탐식하면 유리규산이 가진 독성 때문에 대식세포는 파괴되어 유리규산은 세포밖으로 유리되고 유리된 유리규산은 다른 대식세포에 의하여 다시 탐식되는 작용이 반복된다. 이러한 일련의 과정에서 새로운 폐포대식세포의 동원 혹은 분화가 이루어지고 파괴된 대식세포에서 유리된 독성물질이 규폐증을 유발시키는 것으로 알려져 왔다. 그러나, 최근 사람을 대상으로

한 연구<sup>15~16</sup>)와 동물실험<sup>17~18</sup>) 결과 유리규산을 함유하는 대식세포가 정상적으로 생존하며 식작용능력이 있음이 보고 되었다. 이러한 분진을 탐식한 대식세포는 활성화 반응을 유지케하는 인터류킨, 화학유인물질, 폐포대식세포 기인성 성장물질 등의 염증매개인자들을 분비하여 규폐증으로 이행된다고 한다.

한편 세균감염에 의하여 발생한 급성 폐염의 경우 염증이 심한 초기에는 기관지폐포 세척액내에 염증성 백혈구의 수가 현저히 증가되고, 이중 호중구의 비율이 70%를 넘지만 만성적인 병리학적 변화는 일반적으로 수반되지 않는다. 그러나, 유리규산에 폭로되어 매우 경미한 폐포염증이 있는 근로자에서 규폐증이 발병하는 것은 그러한 폐포염이 지속적으로 유지되기 때문이라고 하였다<sup>19~20</sup>). Brown들(1991)은<sup>21</sup>) 불활성 입자인  $TiO_2$ 와 독성을 가진 입자인 유리규산을 이용한 실험결과 입자의 내구성(durability)를 지속적인 염증유발에 중요한 인자로 작용하는 것은 아니며, 유리규산의 경우 염증반응이 계속해서 일어나는 것은 그 입자가 지닌 생물학적 반응성 때문이라 하였다. 본 실험에서도 기관지폐포 세척액내 염증세포의 총수는 생리 식염수군에서 비하여 유리규산 투여군 1주째에 4.3배가 증가하였고, 20주째에도 2.9배가 증가되어 있어 염증이 지속적으로 유지됨을 보여 주었다. QP 투여군에서는 1주째에 기관지 폐포 세척액내 염증세포의 총수가 생리식염수군의 3.1배이었고,



20주째는 1.8배이었으나 유리규산 투여군의 총세포수에 비하여 통계학적인 유의한 차이가 없었고, 감별세포에서도 유리규산 투여군과 유사한 바 소염작용은 없는 것으로 생각된다.

Allen들(1972)은<sup>22)</sup> 호중구가 세균을 탐식할 때 호중구의 respiratory burst 시기에 생성되는 빛을 처음으로 측정하였다. 용해성 물질이나 미립자의 접촉으로 생기는 화학발광의 정도는 세포의 살균 능력의 지표가 되며<sup>23)</sup>, luminol은 발광의 정도를 증폭시키는 작용이 있기 때문에 이를 이용하면 보다 효과적으로 발광의 정도를 측정할 수 있다고 하였다<sup>24)</sup>. 본 실험에서도 luminol을 이용하여 발광 정도를 측정하여 QP가 활성화된 폐포염증세포를 안정화시키는 정도를 측정하여 보았으나, QP 투여군에서의 자발적인 화학발광 수치와 PMA 자극에 의한 화학발광의 수치는 유리규산 투여군에서 보여지는 증가된 수치를 보였다. QP는 최근에 중국에서 진폐증의 치료제로서 시도되고 있는 약제로서 그 작용기전에 대하여는 정확히 밝혀지지 않은 상태이나 본 연구 결과로는 QP가 염증세포의 안정화에 기여하지 못하는 것으로 사료된다.

그러나, QP가 유리규산 분진에 의한 폐섬유화 과정에 미치는 정도를 알아보기 위하여 우측폐의 병리조직학적인 비교 및 좌측폐의 마른 무게와 폐내 hydroxyproline 양을 정량하여 비교하였다. 유리규산 분진 투여군에서는 병리조직학적으로 8주째 관찰한 군 6예 중 1예에서, 20주째 관찰한 군 6예 중 2예에서 세포성분이 적고 진한 섬유조직만으로 이루어진 성숙한 규폐결절을 관찰할 수 있었으며, 마른 폐무게 및 폐내 hydroxyproline의 양이 생리 식염수군에 비하여 유의하게 증가하였고, 시간이 지남에 따라 현저히 증가함을 보였다. QP 투여군에서도 마른 폐무게와 폐내 hydroxyproline 양이 생리 식염수 투여군에 비하여 유의한 증가를 보였고, 시간이 지남에 따라 수치가 증가했으나 유리규산 투여군에서 보다는 적은 수치를 보였다. 그러나 통계학적으로 유의하지는 않은 것으로 나타나 중국의 Hu(1992)<sup>25)</sup> 등이 실험 규폐증에서 QP의 치료효과를 본 연구에서는 QP 치료군에서 치료 시작 후 90일째 마른 폐의 무게와 collagen 함량이 유의한 감소를 나타내 본 연구와는 차이를 보였다. 그러나 병리 조직학적으로도 20주까지 진한 섬유조직으로 이루어진 성숙한 규폐결절을 관찰할 수 없었다. 따라서 QP가 흰쥐 규폐증에서 섬유화 과정을 완전히 억제 시키

지는 못하나, 섬유화의 진행을 지연시키는 효과는 있는 것으로 사료된다. 본 실험에서 흰쥐 규폐증을 만들기 위하여 유리규산 분진 40 mg을 1회 기도로 투여하였기 때문에 급성 규폐증에 해당되므로 탄광부 진폐증에서 보여지는 만성적인 분진 흡입에 의한 병변의 양상과는 다를 것으로 사료된다. 진폐증 환자중 복잡진폐증 환자들은 대부분이 호흡기 장애를 일으키며 수명의 단축을 초래한다<sup>25~26)</sup>. 이들은 흉부 방사선 사진상 폐상엽에 대용영(large opacity)를 형성하며 병리 조직학적으로는 진한 섬유조직으로 이루어진 성숙한 규폐결절을 형성하는데 이를 진행성 과상성 섬유화(progressive massive fibrosis, PMF)라 한다. 따라서 quinolyl piperazine phosphate가 단순 진폐증 환자에 투여시 복잡진폐증으로의 이행을 억제 혹은 지연시킬 수 있는지 여부에 대하여는 추후 연구가 필요할 것이다. 약제의 부작용에 대하여는 본 실험에서 자세히 관찰하지는 않았으나 QP 투여군 20주째 군에서 1마리가 간괴사로 죽었다. QP 투여로 인한 부작용에 대하여도 추후 연구가 필요할 것이다. QP는 기관지 폐포 세척액내 총세포수 및 luminol을 이용한 화학발광 측정에서 보여진 바와 같이 폐포염의 감소를 일으키는 소염작용은 그리 크지 않은 것으로 보여졌다. 따라서 소염작용제와의 병합 투여가 흰쥐 규폐증에서의 섬유화 억제에 더 큰 효과를 나타낼 것으로 기대된다.

## 요 약

**연구배경:** 진폐증환자의 궁극적인 치료목표는 호흡분진의 독성에 의한 폐섬유화의 진행을 억제 시키는 것이다. Quinolyl piperazine phosphate(QP)는 chloroquine의 유도체로서 섬유화 억제 효과가 있는 것으로 알려져 있다. 따라서 QP가 흰쥐 규폐증에 미치는 영향, 즉 폐섬유화 억제 정도를 알아보기 실험을 시도하였다.

**방법:** 생리식염수 0.5 ml에 유리규산 분진이 40 mg 함유한 현탁액을 기도내에 주입하여 흰쥐 규폐증을 만들었고, 이중 QP 투여군에서는 QP 10 mg을 유리규산 기도내 투여 직후 1주에 한번씩 경구 투여하였고 QP 투여는 쥐를 도살할때까지 계속하였다. 생리식염수군은 1주째에 그리고 유리규산 투여군 및 QP 투여군은 1주, 3주, 8주, 그리고 20주째에 각각 도살하여 시료를 얻었다.

**결과 :**

1) QP 투여군에서는 실험기간에 따라 유리규산 투여군에 비하여 기관지폐포 세척액내 총 세포수가 감소된 경향을 보였으나 유의한 차이는 아니었다.

2) Luminol을 이용한 살아있는 폐포 염증세포의 화학발광은 두 군간에 유의한 차이가 없었다.

3) 좌측폐의 다른 무게는 3주와 8주째에서 유리규산 투여군에 비하여 QP 투여군에서 유의하게 적은 수치를 보였다.

4) 폐내 hydroxyproline 양은 3주째에 유리규산 투여군에 비하여 QP 투여군에서 유의하게 적은 수치를 보였다. 유리규산 투여군은 1주째에 비하여 3주째에 hydroxyproline 양이 현저히 증가한 소견을 보였으나 QP 투여군에서는 1주째에 비하여 hydroxyproline 양의 현저한 증가가 8주에서 관찰되었다.

5) 병리조직학적 소견상 QP 투여군은 유리규산 투여군에 비하여 세기관지 주위의 염증세포 침윤, 규폐결절의 수와 크기에 있어서 유사하였으나 섬유화의 정도는 덜하였다. 특히 유리규산 투여군의 몇 예에서 진행성 괴상성 섬유화가 관찰되었으나 QP 투여군에서는 관찰할 수 없었다.

**결론 :** Quinoly piperazine phosphate(QP)는 유리규산 분진의 기도내 투여로 인한 폐장의 섬유화 반응을 현저히 억제시키지는 못하나 지연시키는 효과는 있는 것으로 사료되었다.

**REFERENCES**

- 1) Ziskind M, Jones RN, Weill H: Silicosis. Am Rev Respir Dis 113:643, 1976
- 2) Kilburn KH, Raphael H, Warshaw BA: Irregular Opacities in the Lung, Occupational Asthma, and Airways Dysfunction in Aluminum Workers. Am J Ind Med 21:845, 1992
- 3) Bowden DH, Adamson IYR: The role of cell injury and the continuing inflammatory response in the generation of silicotic pulmonary fibrosis. J Pathol 144:149, 1984
- 4) Mossman BT, Marsh JP, Shatos MA: Alternation of Superoxide Dismutase Activity in Tracheal Epithelial Cells by Asbestos and Inhibition of Cytotoxicity by Antioxidants. Lab Invest 54(2):204, 1986
- 5) Vallyathan V, Shi X, Datal NS, Irr W, Castranova

- V: Silicon-oxygen radicals and their role in acute silicosis (abstract). Am Rev Respir Dis 137:404, 1988
- 6) Morgan WKC, Handelsman L, Kilbelstis J, Lappe NL, Reger RB: Ventilatory capacity and lung volumes of U.S. coal miners. Arch Environ Health 28: 182, 1974
- 7) 최명훈, 정치경 : 무연탄 광부 진폐증의 호흡역학. 가톨릭大學 醫學部 論文集 40(4):959, 1987
- 8) Worth G, Schiller E: Die Pneumokoniosen. Homberg Niederrhein: Stausen Verlag, 1954, p7
- 9) Schlipkötter HW, Brockhaus A: Die Hemmung der experimentellen Silikose durch subcutane Verabreichung Von polyvinylpyridin-N-oxide, Klim Wschr 39:1182, 1961
- 10) 한순자, 윤임중 : Cyclophosphamide가 실험규폐증에 미치는 영향. 韓國의 産業醫學 17(1):15, 1978
- 11) Sjöstrand M, Absher PM, Hemenway DR, Trombley L, Baldor LC: Comparison of lung alveolar and tissue cells in silica induced inflammation. Am Rev Respi Dis 143:47, 1991
- 12) Snella MC, Venaille T, Holt PG, Rylander R: Interstitial and free lung cells in acute inflammation. Agents Actions 22:261, 1987
- 13) 김경아, 윤임중 : 자연산 석탄분진과 유리규산분진의 흰쥐 기도내 주입에 따른 Hydroxyproline의 변화. 가톨릭大學 醫學部 論文集 44:677, 1991
- 14) Stadler K, Strecker FJ: Die Entwicklung des Silikotischen Granulomas bei Hemmung der Kollagenreifung durch  $\beta$ -Aminoprotionitril. Beitrage Silikose Forchung. SBd. Grundlagen, Silikose-Forchung. Ed 6:161, 1965
- 15) Schuyler MR, Gaumer HR, Stankus RP, Kaimal J, Hoffman E, Salvaggio JE: Bronchoalveolar lavage in silicosis. Lung 157:95, 1980
- 16) Christman JW, Emerson RJ, Graham WGB, Davis GS: Mineral dust and cell recovery from the bronchoalveolar lavage of healthy Vermont granite workers. Am Rev Respir Dis 132:393, 1985
- 17) Brody AR, Roe MW, Evans JN, Davis GS: Deposition and translocation of inhaled silica in rats: quantification of particle distribution, macrophage participation, and function. Lab Invest 47:533, 1982
- 18) Davis CS, Hemenway DR, Evans JN, Lapenas DJ, Brody AR: Alveolar macrophage stimulation and population changes in silica-exposed rats. Chest 80: 8, 1981
- 19) Rom WN, Bitterman PB, Rennard SI, Cantin A, Crystal RG: Characterization of the lower respira-

- tory tract inflammation of nonsmoking individuals with lung disease associated with chronic inhalation of inorganic dusts. *Am Rev Respir Dis* **136**:1429, 1987
- 20) Begin RO, Cantin AM, Boileau RD, Bisson GY: Spectrum of alveolitis in quartz-exposed human subjects. *Chest* **92**(6):1061, 1987
  - 21) Brown GM, Brown DM, Slight J, Onaldson K: Persistent biological reactivity of quartz in the lung: raised protease burden compared with a non-pathogenic mineral dust and microbial particles. *Br J Ind Med* **48**:61, 1991
  - 22) Allen RC, Stjernholm RL, Steele RH: Evidence for the generation of an electronic excitation state(s) in human polymorphonuclear leukocytes and its participation in bactericidal activity. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **47**:679-684, 1972
  - 23) Chest BD, Christensen RL, Sperling R, Kohler BE, Babior: The origin of the Chemiluminescence of Phagocytosing Granulocytes. *J Clin Invest* **58**:789, 1976
  - 24) Allred CD, Margetts J, Hill HR: Luminol-induced neutrophil chemiluminescence. *Biochemica et Biophysica Acta* **631**:380, 1980
  - 25) Hu Tx: A review on therapeutic effects of drugs on silicosis. *韓國의 産業醫學* **31**(Suppl):107, 1992
  - 26) Cochrane AL: Relation between radiographic categories of pneumoconiosis and expectation of life. *Br Med J* **2**:532, 1973
  - 27) Ortmeyer CE, Costello J, Morgan WKC, Swecker S, Peterson M: The mortality of Appalachian coal miners, 1963 to 1971. *Arch Environ Health* **29**:67, 1974