

## 스테로이드제가 Surfactant Protein A의 유전자 발현과 총단백량에 미치는 영향에 관한 실험적 연구

한양대학교 의과대학 내과학교실

임병성, 손장원, 양석철, 윤호주, 신동호, 박성수

= Abstract =

### The Effect of Dexamethasone on Gene Expression and Total Amount of Surfactant Protein A

Byung Sung Lim, M.D., Jang Won Sohn, M.D., Seok Chul Yang, M.D.,  
Ho Joo Yoon, M.D., Dong Ho Shin, M.D., Sung Soo Park, M.D.

Department of Medicine, Colleges of Medicine, Hanyang University, Seoul, Korea

**Background** : Surfactant protein A (SP-A) is important for regulating surfactant secretion, synthesis and recycling. However, its regulation *in vivo* is unclear. SP-A has important roles in regulating surfactant metabolism as well as determining its physical properties. Glucocorticoid accelerates the morphologic differentiation of epithelial cells into type II cells and increase the rate of phosphatidylcholine synthesis.

**Methods** : The authors investigated the effects of glucocorticoid on the accumulation of mRNA encoding SP-A and SP-A protein content. Adult rats were given various doses of subcutaneous dexamethasone and sacrificed after 24 hours and one week. SP-A mRNA was measured using a filter hybridization method. The lung SP-A protein content was determined using a double sandwich ELISA assay with polyclonal antiserum raised in rabbits against purified rat SP-A.

**Results** : 1) The accumulation of SP-A mRNA in the dexamethasone treated group 24 hours after 0.2 mg/kg dexamethasone treatment was increased 38.8% compared to the control group. 2) The accumulation of SP-A mRNA in the dexamethasone treated group 1 week after 2 mg/kg dexamethasone treatment was 49.7% higher than the control group ( $P < 0.01$ ). 3) The total lung SP-A level was not altered after 24 hours by the

---

**Address for correspondence :**

Sung Soo Park, M.D.

Department of Medicine, College of Medicine, Hanyang University

17 Haeng dang dong, Sung dong ku, Seoul, 133-792, Korea

Phone : 02-2290-8347 Fax : 02-2298-9183 E-mail : parkss@hanyang.ac.kr

0.2mg/kg treatment. The total lung SP-A content one week after 2 mg/kg dexamethasone administration was 373.7% higher than the control group ( $P < 0.005$ ).

**Conclusions** : Dexamethasone treatment results in an increase in the SP-A mRNA and SP-A protein levels, suggesting that the pretranslational events *in vivo* may in part contribute to this process. (*Tuberculosis and Respiratory Diseases* 2002, 52 : 395-404)

**Key words** : Gene expression, Surfactant protein A, Dexamethasone

## 서 론

Surfactant protein A (SP-A)는 사람에 있어 10번 염색체에 위치하는데 이 부위에는 SP-A와 관련된 염기서열들에 대하여 암호화되어 있는(encoding) 여러 유전자들을 포함한다. SP-A에 영향을 주는 cis-active element들에는 사람과 토끼의 SP-A 유전자들의 5' flanking 부위에 위치하고 있는 glucocorticoid와 cAMP에 반응하는 여러 잠재적인 분자들을 포함하고 있다<sup>1,2</sup>. SP-A의 발현은 여러 가지 호르몬에 의하여 영향을 받는다. 즉 cAMP, 감마 인터페론, 베타 아드레날린작용성 약제, 표피성장인자들은 SP-A의 발현을 증가시키는<sup>3-5</sup> 반면에 인슐린, transforming growth factor- $\beta$ 와 glucocorticoid는 시험관 내에서 SP-A mRNA와 SP-A의 합성을 억제한다<sup>6-8</sup>. 또한 85% 산소에 노출된 쥐의 폐에서는 SP-A와 SP-A mRNA의 발현이 현저히 증가하는 반면에<sup>9</sup> 산모에게 dexamethasone으로 치료하면 태아의 폐발생단계와 치료기간에 따라 SP-A mRNA와 SP-A 단백질의 발현양상이 서로 상이하게 나타난다고 하였다<sup>10,11</sup>. 이와같이 surfactant proteolipid의 발생학적 및 호르몬의 조절은 출생시 surfactant기능에 중요한 역할을 한다<sup>12</sup>.

Surfactant 단백질들은 surfactant의 물리적 성상의 결정과 대사조절에 있어서 중요한 역할을 담당한다. SP-A의 기능은 제2형 폐포세포로부터 인지질의 흡수를 강화하고 제2형 폐포세포로부터 surfactant의 분비를 조절하여 지질교체를 관장하며 tubular myelin 구조를 안정시키는 중요한 역할을 한다. 이와같이 SP-A는 surfactant의 분비, 합성 및 재순환에 관여

하는 중요한 역할을 담당한다.

SP-A에 대한 스테로이드제의 효과는 복잡하다. Glucocorticoid는 사람의 선암 세포계열에서 SP-A mRNA의 합성을 억제한다<sup>13</sup>. 대량( $10^{-7}$ 과  $10^{-6}$  M)의 glucocorticoid는 SP-A 유전자 발현 및 SP-A 단백을 억제하는 반면에<sup>12</sup> 소량( $10^{-8}$  M)의 glucocorticoid제는 오히려 SP-A mRNA와 SP-A 단백질의 축적을 자극한다<sup>3,14</sup>. 이와같이 시험관 내에서의 실험을 통한 결과들에 의하면 투여한 glucocorticoid제의 용량에 따라 SP-A mRNA와 SP-A 단백질이 증가하기도 하고 감소하기도 한다. 그러나 동물실험 내에서 SP-A mRNA와 SP-A 단백질에 대한 dexamethasone의 효과에 관한 보고는 드물다.

이에 저자들은 실험동물 내에서의 현상을 파악하고자 백서에 서로 다른 용량의 dexamethasone을 투여한 후 SP-A의 유전자 발현양상은 filter hybridization 방법으로, SP-A 단백질량은 double sandwich enzyme linked immunosorbant assay (ELISA) 방법으로 각각 검색하여 dexamethasone의 투여양과 투여기간에 따라 실험동물 내의 SP-A 유전자 발현과 총 SP-A 단백질에 대한 dexamethasone의 효과를 관찰하기 위하여 이 연구를 시행하였다.

## 재료와 방법

### 1. 실험동물

Sasco 회사로부터 분양받은 300-380 gm의 Sprague-Dawley 쥐 (Grand Island, Nebraska)를 새 환경에 2주 동안 순응 시킨 후 본 연구의 실험동물로

사용하였다. Dexamethasone을 일일 0.2 mg/kg 및 일일 2 mg/kg를 각각 8마리의 실험동물의 피하 내 투여 후 일일 0.2 mg/kg의 투여군에서는 24시간 경과후에, 일일 2mg/kg의 투여군에서는 일주일간 투여 후에 각각 희생시켰다. 정상 대조군 8마리는 동량의 증류수를 피하 내 주사한 후 24시간 경과후 및 일주일간 투여후에 각각 희생하였다. 폐조직을 얻기 위해 실험동물을 희생한 후 폐를 전부 절취하였다. mRNA를 측정하기 위하여 500-750 mg의 폐조직을 10 mL의 solution D (4 M guanidium thiocyanate, 25 mM sodium citrate pH 7, 0.5% sarcosyl, 0.1 M 2-mercaptoethanol)에 넣은 후 Tissumizer (Tekma, Cincinnati, Ohio)로 high speed에서 30-60초 동안 균질화 후 -70°C의 냉동실에 보관하였다.

## 2. RNA의 분리

Chomczynski와 Sacchi<sup>15</sup>의 방법으로 총 RNA을 solution D의 균등액으로부터 분리하였다. 즉 Eppendorf tube에 500  $\mu$ L의 solution D에 pH 4.0인 50  $\mu$ L 2 M sodium acetate를 가하여 산성화한 후 pH 7.5인 0.1 M Tris 및 pH 7.5인 10 mM ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)로 완충한 후 phenol 500 $\mu$ L을 가하였다. 교반(vortex)으로 잘 섞은 다음 chloroform과 isoamyl alcohol의 비가 49 : 1인 용액 100  $\mu$ L을 가한 후 다시 교반하였다. Eppendorf tube 내 이 혼합물을 15분 동안 얼음에 담근 후 10,000 G의 microfuge로 5분 동안 실온에서 원침하였다. Aqueous phase를 micropipet로 새로운 Eppendorf tube에 옮긴 후 동량의 isopropanol을 가하여 RNA를 침강시켰다. 2시간이상 -20°C에 잠복시킨 후, 10,000 G에서 5분동안 원침하였다. 상층액을 가만히 따른 후 침전물을 150  $\mu$ L의 solution D에 녹인 후 -20°C에 하룻밤동안 동량의 isopropanol로 재침전 시켰다. 5분동안 10,000 G로 원심분리 후 침전물을 모은 다음 70% ethanol로 한차례 씻었다. 침전물을 건조한 후 diethyl pyrocarbonate (DEPC)로 처리한 1 mM EDTA pH 8로

다시 부유액을 만들었다. 분리한 RNA는 spectrophotometry의 260 nanometer에서 정량 측정하였다. RNA의 질은 ethidium bromide로 염색한 formaldehyde/agarose denaturing gel로 확인하여 붕괴 변질된 시료는 분석대상에서 제외시켰다.

## 3. RNA Hybridization Assay

mRNA의 정량을 전체 RNA의 fraction과  $\beta$ -cytoskeletal actin mRNA와 관련지어 filter hybridization 방법으로 측정하였다. 쥐의 SP-A의 surfactant 단백질의 complementary DNA (cDNA)에 대한 완전한 coding부위를 Gem 4Z에 각각 subclone 하였다. Anti-sense나 sense 복사체를 SP6 RNA polymerase를 이용하여 얻었다. 복사반응으로부터 산출물은 linealized vector microgram ( $\mu$ g)당 전체 길이가 20-30  $\mu$ g의 복사체였다.

0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5 및 5.0 ng의 sense 복사체와 1 $\mu$ g의 RNA를 65°C에서 10-15분 변성시킨 후 3장의 13 mm nitrocellulose filter(0.45  $\mu$ m in pore size, Schleicher and Schuell, Keene, N.H.)에 10x standard saline citrate(SSC)/ 50% formaldehyde을 20  $\mu$ L씩 가하였다. Filter들을 80°C에서 2시간 구워낸 후 1 M sodium chloride, 10% dextran sulfate, 50% formamide, 1% sodium dodecyl sulfate(SDS)를 포함하는 prehybridization 용액을 filter당 0.2-0.5 mL 양으로 56°C에서 12-14시간 동안 50 mL Falcon centrifuge tube내에서 흔들면서 prehybridization 하였다. Prehybridization 후 4 $\times$ SSC, 1 $\times$ Denhardt's solution, 45% formamide, 10% dextran sulfate, 0.5% SDS, 0.1mg/mL salmon sperm DNA의 용액을 filter당 0.2-0.5 mL 가한 후 특이 활성도가 5 $\times$ 10<sup>6</sup> cpm/mL인 <sup>32</sup>P로 표지시킨 쥐의 특이 cDNA probe로 56°C에서 흔들면서 17-20시간 동안 hybridization하였다. 모든 filter는 실온에서 2 $\times$ SSC, 0.2% SDS 용액으로 3번, 65°C에서 0.1 $\times$ SSC, 0.2% SDS 용액으로 3번 세척하였다. Filter는 공기 중에 말린 후

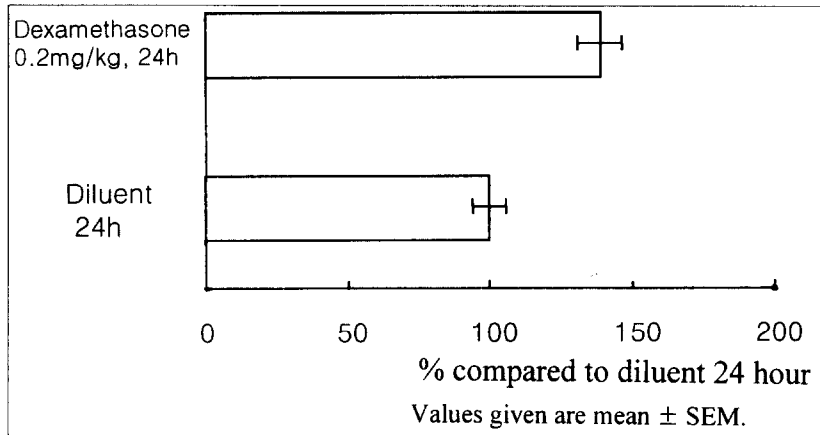


Fig. 1. Effect of 0.2 mg/kg dexamethasone on SP-A mRNA accumulation in 24 hours

scintillation vial로 각각 계산하였다. 특히 mRNA는 회귀방정식을 사용하여 표준곡선으로부터 산출하였다.

#### 4. SP-A 단백질량의 측정

폐의 SP-A 단백질량의 측정은 정제된 쥐의 SP-A에 대한 토끼에서 제조한 다클론성 항혈청을 이용한 double sandwich ELISA 방법으로 측정하였다. 측정할 폐조직을 4 mL의 1% Triton X-100/polytron을 사용한 phosphate-buffered saline(PBS)에 균등화한 후 잠시동안 초음파 처리 하였다. Well당 0.1mL의 rabbit anti-rat SP-A IgG fraction(0.1 µg/mL와 0.1 M NaHCO<sub>3</sub>, pH 9.3)으로 22°C에서 하룻밤동안 담겼다. 항체용액을 제거한 후 30분동안 1% Triton X-100과 3% bovine serum albumin이 포함된 PBS용액에 담근다음 같은 buffer 용액으로 2번 씻었다. 0-20 ng/mL의 정제된 쥐의 SP-A 표준회석액 0.1 mL에 1 : 250에서 1 : 1000로 희석된 폐조직 균등회석액을 각 well들에 가한 다음 37°C에서 90분동안 잠복시켰다. Well들은 3% albumin/PBS/1% Triton X-100과 horseradish peroxidase와 접합시킨 rabbit anti-rat SP-A IgG fraction 0.1 mL을 각 well에 첨가한 후 37°C에서 90분동안 잠복시켰

다. Well들을 1% Triton X-100/PBS로 4차례 씻은 다음 각 well에 0.1 mL의 0.1% [wt/vol] o-phenylenediamine, 0.03% (vol/vol) hydrogen peroxide와 0.1M citrate buffer pH 4.6를 첨가하였다. Plate를 22°C에서 10분동안 어두운 곳에서 잠복시켰다. 0.1 mL의 2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>를 각 well에 가한 후 490 nm에서 microtiter autoreader EL307 (Biotech Instruments)로 측정하였다<sup>16</sup>.

#### 5. 성적 분석

통계학적 평가는 unpaired student's t-test로 정상 대조군과 각 군간의 mRNA 값 사이에서 평가하였다. 회귀방정식은 Epistat statistical package로부터 산출하였다. Probability value는 0.05미만을 유의한 것으로 판정하였다.

## 결 과

#### 1. SP-A에 대한 sense 복사체의 표준곡선

SP-A의 sense 복사체 0, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5 및 5 ng에 대한 cpm과의 표준곡선 및 상관계수(r)는 다음과 같다. SP-A에 대한 sense 복사체의 표준곡선은

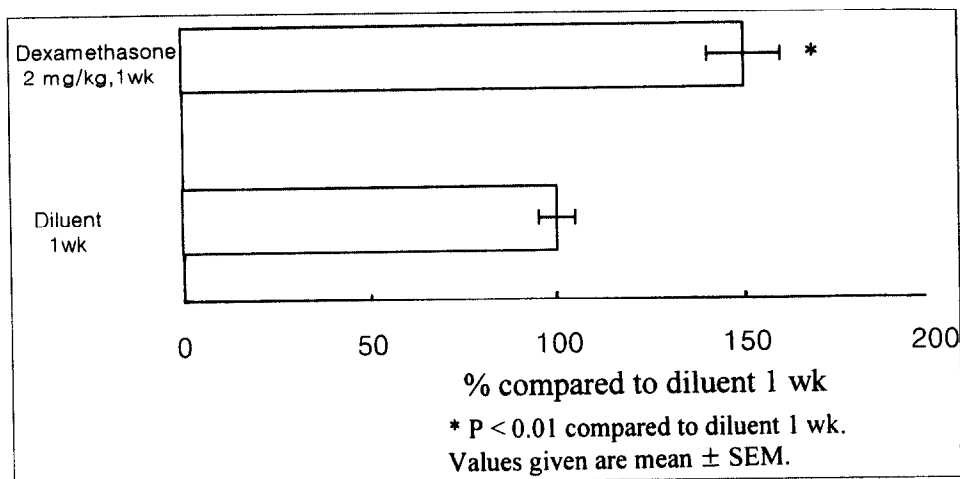


Fig. 2. Effect of 2 mg/kg dexamethasone on SP-A mRNA accumulation in 1 week.

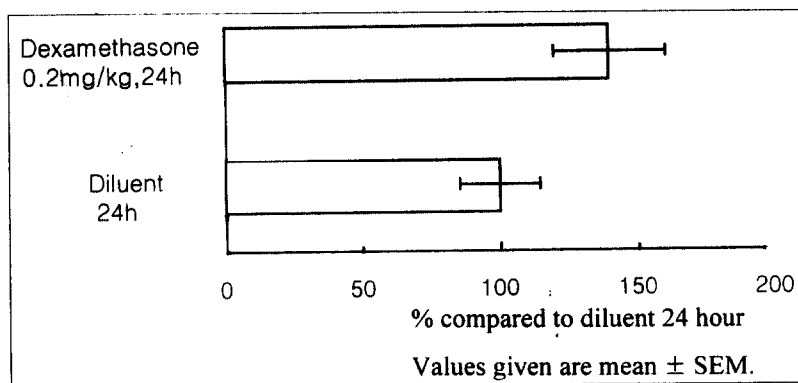


Fig. 3. Effect of 0.2 mg/kg dexamethasone on total lung SP-A in 24 hours

$Y = 0.00068X - 0.065$  ( $Y = \text{SP-A mRNA 복사체}$ ,  $X = \text{CPM}$ )이고 상관계수는 0.99 이었다.

## 2. SP-A mRNA의 축적

Dexamethasone의 투여양에 따른 SP-A mRNA량은 dexamethasone을 일일 0.2 mg/kg를 투여한지 24시간 경과후에 대조군에 비하여 38.8%가 증가하였다(Fig. 1). Dexamethasone투여기간에 따른 SP-A mRNA량은 dexamethasone을 일일 2 mg/kg씩 일주일간 투여후에 대조군에 비하여 49.7%가 유

의하게 증가하였다( $P < 0.01$ )(Fig. 2).

$\beta$ -actin mRNA의 축적은 정상대조군과 각 군간의 유의있는 변화는 없었고,  $\beta$ -actin mRNA의 축적은 일정하였다.

## 3. 폐의 총 Surfactant A 단백질량

SP-A 단백질량과 SP-A mRNA 사이에 상관관계를 알아보기 위하여 폐의 SP-A 단백질량의 축적을 측정하였던 바, 폐의 총 SP-A 단백질량은 dexamethasone을 일일 0.2 mg/kg 투여한지 24시간 경과후에 대조군

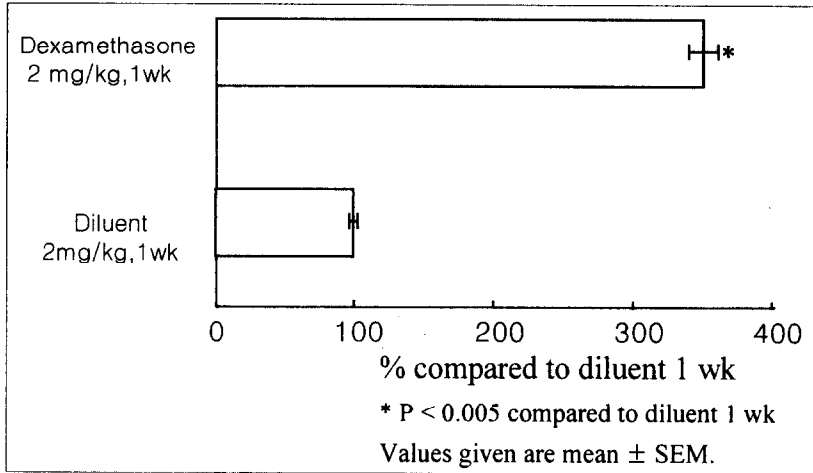


Fig. 4. Effect of 2 mg/kg dexamethasone on total lung SP-A in 1 week.

에 비하여 41.7%가 증가하였으나(Fig. 3), dexamethasone을 일일 2mg/kg씩 일주일간 투여후에 대조군에 비하여 373.3%가 유의하게 증가하였다( $p < 0.005$ )(Fig. 4).

### 고 찰

전체 RNA에 대한 정상 mRNA의 함량은 sense복사체를 이용한 표준곡선을 이용하여 얻을 수 있었다. 이와는 대조적으로  $\beta$ -actin mRNA의 축적은 각 군에 있어서 항상 일정하였다. 이와같이 cpm치가 각 filter에 부하된 RNA와 관련하여 직선관계가 성립되고, hybridization이 특이하다면 정상대조군 및 dexamethasone으로 처치한 군에서 filter당 cpm을 비교함으로써 상대량을 평가할 수 있었다. 본 실험에서 사용한 각 nitrocellulose filter는  $80 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ 량의 RNA와 결합할 수 있다. 본 연구에서 사용한 filter hybridization 방법은 Northern blot이나 slot blot보다 소량의 변화에도 민감하고 재현성이 높을 뿐 아니라 방법에 있어서도 용이하다<sup>17</sup>.

Surfactant는 폐방어기전에 영향을 미쳐서 염증에 관여되는 많은 매개물들을 적절히 조정하며<sup>18,19</sup>, surfactant 단백질 자체가 중요한 산화방지능이 있고<sup>20</sup>, 또

한 호기시 폐포밖으로 입자들을 제거하며<sup>21</sup> 특히 SP-A와 대식세포간 상호작용이 적절한 대식세포기능을 유지하는데 중요하다<sup>22</sup>. 이 중 어느 하나에 장애가 있게 되면 급성호흡곤란증후군(ARDS)의 병인에 중요한 영향을 미친다. ARDS에 빠지게 되면 surfactant를 구성하고 있는 성분 중에 표면활성의 특성을 갖는 phosphatidylinositol 및 phosphatidylethanolamine같은 지질성분과 surfactant의 유포기능 및 폐의 방어기전에 중요한 역할을 하는 surfactant 단백질의 변화가 초래된다<sup>21, 23, 24</sup>.

Surfactant 단백질들은 제2형 폐포세포기능의 표지자로 이용되고, 염증성 cytokine들에 의하여 조절되며, surfactant 단백질농도들은 ARDS 발생시 감소한다<sup>25, 26</sup>. Surfactant 단백질들은 surfactant의 물리적 성상의 결정 및 대사조절에 있어서 중요한 역할을 담당하는데 surfactant 단백질 중 SP-A는 당단백이며, 환원형의 분자량은 28-36 kD. 이고, 전체 surfactant 단백질의 30-40%를 점한다<sup>27</sup>. SP-A의 기능은 제2형 폐포세포로부터 인지질의 흡수를 강화하고 제2형 폐포세포로부터 surfactant의 분비를 조절하여 지질교체를 관장하며 tubular myelin구조를 안정시키는 중요한 역할을 한다. SP-A는 surfactant의 신속한 film형성에 있어 필수적인 배수성단백인 SP-B와 SP-C와

상호협동작용을 하여 단층의 표면장력을 감소시킨다<sup>28</sup>. 즉, SP-A는 surfactant의 분비, 합성 및 재순환에 관여하는 중요한 역할을 담당한다. SP-A 치가 ARDS환자 및 ARDS으로 발전할 위험성이 큰 환자의 기관지폐포세척액내에서 감소하였다는 보고<sup>24, 29, 30</sup>가 있고 양수내 저농도의 SP-A 수치는 폐의 미성숙 및 ARDS의 발생을 예측할 수 있다 하였다<sup>31, 32</sup>. 또한 혈청 SP-A 수치를 이용하여 ARDS로 발전할 위험성이 큰 환자를 조기에 확인할 수 있었다<sup>33</sup>.

Dexamethasone이 hydrocortisone보다 폐조직에 더 큰 친화력이 있다<sup>34</sup>. Dexamethasone은 쥐의 폐에서 다른 폐세포들보다 특히 제2형 폐포세포의 핵에서 증명된다<sup>35</sup>. Young과 Silbajoris<sup>36</sup>은 dexamethasone을 일일 2 mg/kg씩 일주일간 투여 후에 쥐의 폐 surfactant lipid pool이 증가하는것은 lamellar body의 용적에는 변화가 없는 것으로 보아 lamellar body의 인지질의 용적변화 때문이라 보고하였다. 부신적출술을 시행한 쥐에서 세포의 인지질양의 감소현상이 있었으며, hydrocortisone을 투여하면 감소현상을 방지할 수 있었다<sup>37</sup>. 이와같이 glucocorticoid의 작용기전은 폐의 형태학적 발생을 촉진시키며, surfactant 인지질의 생산을 증가시키고, surfactant protein B와 C의 축적 및 폐탄성을 향상시킨다<sup>12, 14, 38</sup>.

본 연구의 결과 dexamethasone 투여량에 따른 SP-A mRNA량은 dexamethasone을 일일 0.2 mg/kg 투여한지 24시간 경과후에 38.8%가 증가하였다. Floros등<sup>39</sup>은 dexamethasone을 일일 0.2 mg/kg를 투여하고 24시간 경과후에 SP-A mRNA량은 40%가 증가하였다고 한다. 본 연구결과에서는 dexamethasone 투여기간에 따른 SP-A mRNA량은 dexamethasone을 일일 2 mg/kg씩 일주일간 투여 후에 대조군에 비하여 49.7%가 유의하게 증가하였다. 또한 폐의 총 SP-A 단백질량은 dexamethasone을 일일 2 mg/kg씩 일주일간 투여후에 대조군에 비하여 373.7%가 유의하게 증가하였다. Floros등<sup>39</sup>에 의한 동물실험에서 dexamethasone을 일일 0.2 mg/kg를 투여하고 24시간 경과후에 세포 내 및 분비된 SP-A

단백량은 대조군에 비하여 각각 2.3배, 4.5배가 증가하였다. Dexamethasone투여 후 SP-A mRNA와 SP-A 단백질량의 증가는 주로 폐포내 pool에서 일어난다<sup>40</sup>. Abe & Tierney<sup>41</sup>는 hydrocortisone을 일일 8 mg/kg씩 일주일간 쥐에 투여후에 전 폐의 saturated phosphatidylcholine이 25%가 증가되었다고 보고하였다.

본 연구의 dexamethasone을 2 mg/kg씩 일주일 동안 투여후에 SP-A mRNA와 총 SP-A 단백질이 증가된다는 결과는 다른 연구결과와 동일하다. 이는 풍부한 mRNA은 일반적으로 합성되는 SP-A 단백질과 상호관계가 있다는 사실을 의미하며<sup>42</sup>, SP-A 발현 조절은 주로 번역 전단계 (pretranslational level)에 발휘되는 것으로 생각된다.

이상의 결과는 실험동물 내에 dexamethasone양에 따른 SP-A mRNA량과 총 SP-A 단백질량은 소량을 투여하였을 때보다 대량을 투여 하였을 때, 단기간보다는 장기간 사용하였을때 유의한 증가가 있음을 알 수 있었다.

## 요 약

### 연구배경 :

SP-A는 surfactant의 분비, 합성 및 재순환에 관여하는 중요한 역할을 담당한다. Glucocorticoid는 폐의 형태학적 발생을 촉진시키며, surfactant인지질의 생산을 증가시키고, surfactant B와 C의 축적 및 폐탄성을 향상시킨다. 시험관 내에서의 실험을 통하여 관찰 한 바에 의하면 glucocorticoid의 투여량에 따라 SP-A mRNA와 SP-A 단백질의 총량이 증가하기도하고 감소하기도한다. 그러나 실험동물 내에서의 SP-A mRNA와 SP-A 단백질에 대한 스테로이드의 효과에 관한 보고는 드물다.

### 방 법 :

저자들은 실험동물 내에서의 현황을 파악하고자 dexamethasone을 백서에 투여한 후 SP-A의 유전자 발현양상은 filter hybridization방법으로, SP-A

단백량은 double sandwich ELISA 방법으로 각각 검색하여 dexamethasone의 투여양과 투여기간에 따라 실험동물 내의 SP-A 유전자 발현과 총 SP-A 단백질에 대한 dexamethasone의 효과를 관찰하였다.

**결 과 :**

1) Dexamethasone 투여량에 따른 SP-A mRNA량은 dexamethasone을 일일 0.2 mg/kg 투여한 지 24시간 경과후에 38.8%가 증가하였다. 2) Dexamethasone투여기간에 따른 SP-A mRNA량은 dexamethasone을 일일 2 mg/kg씩 일주일간 투여후에 대조군에 비하여 49.7%가 유의하게 증가하였다 ( $P < 0.01$ ). 3) 폐의 총 SP-A 단백질은 dexamethasone을 일일 2 mg/kg씩 일주일간 투여후에 대조군에 비하여 373.7%가 유의하게 증가하였다 ( $P < 0.005$ ).

**결 론 :**

이상의 결과는 실험동물 내 dexamethasone양에 따른 SP-A mRNA량과 총 SP-A 단백질은 소량을 투여하였을때보다는 대량을 투여 하였을 때, 단기간보다는 장기간 사용하였을 때 유의한 증가가 있음을 알 수 있었다.

**참 고 문 헌**

1. White RT, Damm D, Miller J, Spratt K, Schilling J, Hawgood S, et al. Isolation and characterization of the human pulmonary surfactant apoprotein gene. *Nature* 1985;317:361-3.
2. Boggaram V, Qing K, Mendelson CR. Characteristic of cDNAs and the gene encoding the rabbit pulmonary surfactant apoprotein. *Fed Proc* 1987;46:2038.
3. Ballard PL, Hawgood S, Liley H, Wellenstein G, Gonzales LW, Benson B, et al. Regulation of pulmonary surfactant apoprotein SP 28-36 gene in fetal human lung. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986;83:9527-31.
4. Ballard PL, Liley HG, Gonzales LW, Warr RG, White RT, Benson B, et al. Interferon- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ ) and surfactant synthesis in human fetal lung. *Pediat Res* 1988;23 suppl:497A.
5. Mendelson CR, Chen C, Boggaram V, Zacharias C, Snyder JM. Regulation of the synthesis of the major surfactant apoprotein in fetal rabbit lung tissue. *J Biol Chem* 1986;261:9938-43.
6. Snyder JM, Mendelson CR. Insulin inhibits the accumulation of the major lung surfactant apoprotein in human fetal lung explants maintained in vitro. *Endocrinology* 1987;120:1250-7.
7. Whisett JA, Pilot T, Clark J, Weaver TE. Induction of surfactant protein in fetal lung. Effects of cAMP and dexamethasone on SAP-35 RNA and synthesis. *J Biol Chem* 1987;262:5256-61.
8. Whisett JA, Weaver TE, Libermann MA, Clark JC, Daugherty C. Differential effects of epidermal growth factor and transforming growth factor and transforming growth factor- $\beta$  on synthesis of Mr=35,000 surfactant-associated protein in fetal lung. *J Biol Chem* 1987;262:7908-13.
9. Nogee LM, Wispé JR. Effect of hyperoxia on alveolar surfactant-associated protein (SPA-35) and pulmonary compliance. *Pediat Res* 1988;24:565-73.
10. Kalinyak JE, Griffin CA, Hamilton RW, Bradshaw JG, Perlman AJ, Hoffman AR. Developmental and hormonal regulation of glucocorticoid receptor messenger RNA in the rat. *J Clin Invest* 1989;84:1843-8.
11. Schellhase DE, Shannon JM. Effects of maternal dexamethasone on expression of SP-A, SP-B, and SP-C in the fetal rat lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1991;4:304-12.
12. Whisett JA, Weaver TE, Clark JC, Sawtell N, Glasser SW, Korfhagen TR, Hull WM.



- Glucocorticoid enhances surfactant proteolipid Phe and pVal synthesis and RNA in fetal lung. *J Biol Chem* 1987;262:15618-23.
13. O'Reilly MA, Gazdar AF, Morris RE, Whisett JA. Differential effects of glucocorticoid on expression of surfactant proteins in a human lung adenocarcinoma cell line. *Biochim Biophys Acta* 1988;970:194-204.
  14. Liley HG, White RT, Benson BJ, Ballard PL. Glucocorticoids both stimulate and inhibit production of pulmonary surfactant protein A in fetal human lung. *Proc Natl Acad Sci* 1988;85:9096-100.
  15. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 1987;162:156-9.
  16. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem* 1985;150:76-85.
  17. Anderson MLM, Young BD. Chapter 4, Quantitative filter hybridisation. In: Hames BD & Higgins SJ, *Nucleic acid hybridisation*. 1st ed. Oxford: ILR Press.; 1985, p73-111.
  18. Ansfield MJ, Kaltreider H, Benson BJ, Shalaby MR. Canine surface active material and pulmonary lymphocyte function: studies with mixed-lymphocyte culture. *Exp Lung Res* 1980;1:3-11.
  19. Sitrin RG, Ansfield MJ, Kaltreider HB. The effect of pulmonary surface active material on the generation and expression of murine B- and T-lymphocyte effector functions in vivo. *Exp Lung Res* 1985;9:85-97.
  20. Ghio AJ, Young SL, Piantadosi CA. Synthetic surfactant diminishes oxidant generation in vitro. (Abst.) *Am Rev Respir Dis* 1993;147:A362.
  21. Lewis JF, Jobe AH. Surfactant and the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:218-33.
  22. van Iwaarden F, Welmers B, Verhoef J, Haagsman HP, van Golde LM. Pulmonary surfactant protein A enhances the host-defence mechanism of rat alveolar macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1990;2:91-8.
  23. Steinberg KP. Surfactant therapy in the adult respiratory distress syndrome. *Respir Care* 1993;38:365-72.
  24. Günther A, Siebert C, Schmidt R, Ziegler S, Grimminger F, Yabut M, et al. Surfactant alterations in severe pneumonia, acute respiratory distress syndrome, and cardiogenic lung edema. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:176-84.
  25. Wispé JR, Clark JC, Warner BB, Fajardo D, Hull WE, Holtzman RB, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  inhibits expression of pulmonary surfactant protein. *J Clin Invest* 1990;86:1954-60.
  26. Gregory TJ, Longmore WJ, Moxley MA, Whisett JA, Reed CR, Fowler III AA, et al. Surfactant chemical composition and biophysical activity in acute respiratory distress syndrome. *J Clin Invest* 1991;88:1976-81.
  27. Sueishi K, Benson BJ. Isolation of a major apolipoprotein of canine and murine pulmonary surfactant: biochemical and immunochemical characteristics. *Biochim Biophys Acta* 1981;665:442-53.
  28. Yu SH, Possmayer F. Reconstitution of surfactant activity by using the 6 kDa apoprotein associated with pulmonary surfactant. *Biochem J* 1986;236:85-9.
  29. Greene KE, Wright JR, Steinberg KP, Ruzinski

- JT, Caldwell E, Wong WB, et al. Serial changes in surfactant-associated proteins in lung and serum before and after onset of ARDS. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1843-50.
30. Veldhuizen RA, McCaig LA, Akino T, Lewis JF. Pulmonary surfactant subfractions in patients with the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:1867-71.
31. Katyal SL, Amenta JS, Singh G, Silverman JA. Deficient lung surfactant apoproteins in amniotic fluid with mature phospholipid profile from diabetic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1984;148:48-53.
32. Kuroki Y, Takahashi H, Fukada Y, Mikawa M, Inagawa A, Fujimoto S, et al. Two-site "simultaneous" immunoassay with monoclonal antibodies for the determination of surfactant apoproteins in human amniotic fluid. *Pediatr Res* 1985;19:1017-20.
33. Greene KE, Ye S, Mason RJ, Parsons PE. Surfactant protein-A levels predict development of ARDS in at-risk patients. *Chest* 1999;116:90S-91S.
34. Ballard PL. Glucocorticoid receptors in the lung. *Fed Proc* 1977;36:2660-5.
35. Beer DG, Cunha GR, Malkinson AM. Autoradiographic demonstration of the specific binding and nuclear localization of <sup>3</sup>H-dexamethasone in adult mouse lung. *Lab Invest* 1983;49:725-34.
36. Young SL, Silbajoris R. Dexamethasone increases adult rat lung surfactant lipids. *J Appl Physiol* 1986;60:1665-72.
37. Liebowitz D, Massaro GD, Massaro D. Adrenalectomy and surfactant in adult rats. *J Appl Physiol* 1984;56:564-7.
38. Odom MJ, Snyder JM, Boggaram V, Mendelson CR. Glucocorticoid regulation of the major surfactant associated protein (SP-A) and its messenger ribonucleic acid and of morphological development of human fetal lung in vitro. *Endocrinology* 1988;123:1712-20.
39. Floros J, Phelps DS, Harding HP, Church S, Ware J. Postnatal stimulation of rat surfactant protein A synthesis by dexamethasone. *Lung Cell Mol Physiol* 1989;1:L137-L143.
40. Young SL, Silbajoris RA. Distribution of surfactant apoprotein (SP-A) in rat lung subfractions and the effect of dexamethasone. (Abstr.) *Am Rev Respir Dis* 1989;139(Suppl.):A254.
41. Abe M, Tierney DF. Lung lipid metabolism after 7 days of hydrocortisone administration to adult rats. *J Appl Physiol* 1977;42:202-5.
42. Whisett JA, Weaver TE, Glasser SW, Korfhagen TR. Regulation of surfactant protein expression. In: Wichert P von, Müller B eds. *Basic research on lung surfactant*. Vol. 25. *Prog Respir Res* Basel Karger;1990.p.1-7.