

내독소로 유도된 급성폐손상에서 Moxifloxacin의 효과

백종현* · 이장훈* · 이정철* · 이동협* · 문용석** · 이영만***

The Effects of Moxifloxacin in Endotoxin-induced Acute Lung Injury

Jong Hyun Baek, M.D.*, Jang Hoon Lee, M.D.*, Jung Cheul Lee, M.D.*, Dong Hyup Lee, M.D.*,
Yong Suk Moon, Ph.D.**, Young Man Lee, M.D.***

Background: The pathophysiology of acute respiratory distress syndrome with sepsis is acute lung injury (ALI) that's caused by endotoxin (LPS). We evaluate effects of moxifloxacin on LPS-induced ALI in a rat model.

Material and Method: The rats were divided into 3 groups as the control group (C), the LPS insult group (L), and the LPS+moxifloxacin treated group (L-M). ALI was induced by endotracheal instillation of *E.coli* LPS, then moxifloxacin was given in 30 minutes. Five hours later, we checked the lung weight/body weight ratio(the L/BW ratio), the protein & neutrophils in the bronchoalveolar lavage fluid (BALF), the myeloperoxidase (MPO) activity & the malondialdehyde (MDA) content, the expressions of cytosolic and secretory phospholipase A₂ (c, sPLA₂), and the morphology of the lung with using a light microscope.

Result: The L/BW ratio, the protein content and the neutrophil count in the BALF, and the MPO activity and the MDA content in lung were significantly increased in group L compared to group C, and these factors were markedly decreased in group L-M compare to group L. The cPLA₂ expression and the sPLA₂ expression were increased in group L and the cPLA₂ expression was decreased in group L-M. Yet the sPLA₂ expression was not changed in group L-M. Morphologically, many inflammatory findings were observed in group L, but not in group L-M.

Conclusion: Many of the inflammatory changes of ALI that were caused by LPS insult were ameliorated by moxifloxacin treatment.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2009;42:1-8)

Key words: 1. Acute respiratory distress syndrome
2. Neutrophils
3. Phospholipase A

서 론

급성호흡곤란증후군(acute respiratory distress syndrome)은 다양한 병인에 의해 유발되는 염증성 폐부종을 주소로 하는 질환으로서 사망률이 30~50%에 이르는 심각한 질환이다[1]. 병인론에 관한 현재까지의 연구결과들은 급성호흡곤

란증후군을 인체 내 면역계의 과도한 활성화에 따른 장기기능부전의 한 형태로 보고있으며, 탐식세포들, 특히 단핵구의 활성화에 따른 염증성 사이토카인의 과도한 생성을 그 시발점으로 보는 견해가 많다. TNF, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 등의 염증성 사이토카인은 단핵구 또는 대식세포에서 유리되어 임파구나 호중구의 기능을 강화시켜 respiratory burst

*영남대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Yeungnam University

**대구가톨릭대학교 의과대학 해부학교실

Department of Anatomy, College of Medicine, Catholic University of Daegu

***대구가톨릭대학교 의과대학 생리학교실

Department of Physiology, College of Medicine, Catholic University of Daegu

논문접수일 : 2008년 10월 16일, 심사통과일 : 2008년 12월 3일

책임저자 : 이장훈 (705-717) 대구시 남구 대명동 317-1, 영남대학교 의과대학 흉부외과학교실

(Tel) 053-620-3885, (Fax) 053-626-8660, E-mail: heartjh@med.yu.ac.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

를 일으키거나 단백분해효소를 조직으로 다량 유리하여 조직의 손상을 유발하고[2], 이때의 조직손상은 혈관장벽의 파괴 및 폐포장벽의 파괴로 이어져 혈액 중의 수분 및 단백질이 폐포 내로 이동한다[3]. 폐포로의 단백질 이동은 일련의 염증반응이 관여하며 폐장 내 모세혈관에서의 혈구응집을 일으키는 요소로 작용한다. 특히 대장균 내독소에 의한 폐혈증의 경우에 있어서는 이러한 혈관내의 혈구응집이 급성폐손상을 일으키는 직접적인 원인이 됨이 밝혀졌다[4]. 또 다른 연구는 염증성 사이토카인이 조직 또는 탐식구의 phospholipase A₂ (PLA₂)를 활성화 함으로써 염증성 지질분자의 생성을 증가시켜 염증반응을 증폭시킨다고 보고하였다[5]. 염증성 사이토카인이나 PLA₂에 의한 염증반응의 경로는 Pruzanski 등[6]이 지적한 바와 같이 사이토카인 특히 TNF나 IL-1은 대식세포 혹은 단핵구에서 내독소와 같은 물질에 의해 분비가 증가하고 탐식구의 활성화에 관여한다. 특히 호중구는 기동력이 있고 화학주성물질에 신속히 반응하여 사이토카인 중 IL-8과 같은 chemokine에 의해 화학주성을 일으키고, PLA₂에 의해 생성된 염증성 지질분자에 의해 산소기를 다량 생성한다[7]. PLA₂는 염증반응조절인자로서 급성호흡곤란증후군의 발병에 중요한 원인요소중의 하나이며, 최근에는 여러 종류의 아형이 발견되어 그 기능에 대한 연구가 진행되고 있다. 그 중에서도 분자량이 1.8 kilodalton (Kd) 정도인 secretory PLA₂ (sPLA₂)를 급성호흡곤란증후군에서 염증반응을 일으키는 주된 원인으로 보고 이에 대한 많은 연구가 이뤄졌으나 그 억제제의 효과는 아직 입증되지 않았다. PLA₂의 다른 종류 중 하나인 cytosolic PLA₂ (cPLA₂)는 분자량 8.0 Kd 이상의 heterodimer로서 칼슘이온에 의해 활성화 되거나(group IV-A cPLA₂), 칼슘과는 관계없이 활성화되는 cPLA₂ (iPLA₂)가 염증반응에 관여한다[8]. 이러한 PLA₂의 역할은 호중구에서의 산소기 생성과도 밀접한 관계가 있다. 즉 호중구는 PLA₂의 작용에 의해 생성된 지질분자들 특히 아라키돈산, lysophosphatidylcholine 등에 의해 호중구 세포막의 NADPH oxidase가 활성화되어 산소기를 생성하며, 또한 단백분해효소도 주위 조직으로 유리한다[9]. 또한, 폐혈증은 급성호흡곤란증후군의 원인 중 하나로서 진행경과나 사망률에 중요한 영향을 미치며, 폐혈증에 의한 급성호흡곤란증후군은 내독소에 의한 급성 염증성 폐부종이다. 최근에 이르러 이에 대한 화학요법제의 개발에 관한 관심이 커지고 있다. 이러한 상황에서 fluoroquinolone의 일종인 moxifloxacin이 항균성외에도 항염증 작용이 있다는 사실에 착안하여 moxifloxacin이 탐식구 특히 단핵구에서의 염증성 사이토카인 즉 IL-1, IL-6, IL-8,

TNF 등의 분비를 억제하고 항염증효과를 보이며 호중구의 침윤을 억제한다는 사실과, 단핵구 및 호중구의 혈관내피 세포로의 유착과 이동을 억제하여 조직에서의 염증반응을 감소시키고 호중구의 산화성 스트레스를 감소시키는 것이 밝혀졌다[10,11]. 본 연구에서는 이러한 사실들을 근거로 하여 moxifloxacin이 내독소에 의해 유도된 급성폐손상에 어떠한 영향을 미치는지를 호중구성 산화성 스트레스 및 이에 따른 염증성 조절자인 cPLA₂, sPLA₂의 작용과 연관하여 알아보려 하였다.

대상 및 방법

1) 실험재료

실험동물은 Sprague-Dawley종 흰쥐 수컷(체중 250~300 g)을 사용하였으며, 대조군을 C군, 내독소(lipopolysaccharide, LPS)로 급성폐손상을 유발한 군을 L군, 급성폐손상 유발 후 moxifloxacin을 주입한 군을 L-M군으로 나누어 실험을 진행하였다. 특별히 언급하지 않은 모든 시약은 Sigma 제를 사용하였고, cPLA₂, sPLA₂의 항체 및 secondary anti-donkey antibody는 Santa Cruz사(USA) 제품을 사용하였다. Moxifloxacin은 독일 Bayer사로부터 기증받아 사용하였다.

2) 방법

(1) 실험동물에서 급성폐손상의 유발과 Moxifloxacin의 투여: *E.coli* 내독소(*E.coli* 0217 : B8)를 이용하였고, LPS 100 μ g을 마취한 흰쥐의 기도 내로 직접 분무하였다. Moxifloxacin hydrochloride (10 mg/kg)는 내독소 투여 30분 뒤에 복강 내로 투여하였다.

(2) 폐질량/체중비의 산정(Lung weight/Body weight, L/B $\times 10^3$, L/B ratio): 내독소 투여 5시간 후에 흰쥐를 마취하여 체중을 측정하고 폐장을 적출하였다. 적출된 좌, 우 폐장의 무게를 측정 후 폐질량/체중비를 계산하였다.

(3) 폐세척액(bronchoalveolar lavage fluid, BALF) 내의 단백질량의 측정: 내독소에 의한 폐장 내 모세혈관의 손상에 따른 alveolar flooding을 확인하고 이때의 moxifloxacin의 효과를 확인하기 위하여 폐세척액 내의 단백질량을 정량하였다. 흰쥐를 마취한 뒤 치사시키고 기관절개를 시행하여 polyethylene tube를 삽관하였다. 8.0 mL의 생리적 식염수를 이용하여 폐, 기관지를 세척하여 약 6.0 mL의 폐세척액을 얻었다. 상온에서 이 용액을 1,500 rpm으로 10분간 원심분리 하여 상등액을 단백질량에 이용하였다.

(4) 폐세척액에서 호중구수 산정: 혈관 및 간질조직의

호중구가 폐포 내로 이동한 것을 확인하기 위하여 폐세척액 내의 호중구 수를 산정하였다. 폐세척액의 상등액을 단백정탁에 이용하고 침전층을 다시 0.1 mL의 생리적 식염수에 재부유 한 뒤 백혈구의 수를 산정하였다. 재부유액의 일부를 이용하여 도말표본을 제작하고 건조 후 Wright 염색을 시행하여 전체의 백혈구 중 호중구가 차지하는 비율을 구한 다음 호중구 수를 계산하였다.

(5) 폐장 내 myeloperoxidase (MPO) 활성도의 측정: 폐장 내 호중구 침윤의 정도를 확인하기 위하여 MPO의 활성도(U/g of wet lung)를 측정하였다. 흰쥐를 마취한 뒤 기관지를 절개하여 삼관 후 Harvard Rodent Ventilator에 연결하고 개흉술을 시행하였다. 그 후 우심실에 1,000 단위의 헤파린을 주입한 후 폐동맥에 삼관하고 좌심실에 개출구를 낸 뒤 Masterflex 관류펌프를 이용, 생리적 식염수를 관류하여 폐장 내의 혈액을 제거하였다. 좌, 우측 폐장을 적출하여 즉시 액체질소에 담그고 동결시킨 후 -70°C 에서 보관하였다. 좌측폐장을 녹인 후 조직분쇄기(Polytron, Switzerland)를 이용하여 4.0 mL PH7.4, 4°C 의 인산완충용액(20 mM, potassium phosphate) 내에서 마쇄한 뒤 18,000 rpm, 4°C 에서 30분간 원심분리하였다. 침전층(pellet)을 다시 4.0 mL, 50 mM의 인산완충용액(PH6.9)에 재부유 시키고 4°C 에서 Vibra cell (Sonic & Material Inc, USA)을 이용하여 세포막을 파열시켰다. 그 후 균질액을 60°C 항온수조에서 120분간 처리하여 단백분해효소를 불활성 시킨 후 12,000 rpm으로 2분간 다시 원심분리 하였다. 상등액 0.1 mL와 0.0168 mg의 O-dianisidine이 함유된 $500\ \mu\text{M}$ 의 과산화수소용액 3.9 mL와 반응시켜 파장 460 nm에서 분광 비색기를 이용 enzyme-kinetics를 시행하였다.

(6) 폐장 내 malondialdehyde (MDA)의 측정: 산화성 스트레스가 유발된 것을 확인하기 위하여 과산화지질(lipid peroxide)의 일종인 MDA를 정량하였다. 흰쥐의 좌측 폐장에 4.0 mL, PH6.0의 50 mM 인산완충용액을 첨가하여 마쇄하였다. 18,000 rpm, 4°C 에서 30분간 원심분리한 뒤 0.2 mL의 상등액을 유리관(borosilicate tube)에 넣은 뒤 0.2 mL의 3.5% sodium dodecyl sulfate와 100% 빗초산 0.13 mL를 첨가하였다. 1N NaOH용액을 이용하여 PH를 3.5로 조정된 뒤 5.0 mL, 0.6% thiobarbituric acid (TBA)를 첨가 후 끓는 물에서 30분간 반응시켰다. 냉각 후 1.5 mL의 n-butanol : pyridine (15 : 1)을 첨가하고 30초간 진탕기를 이용하여 진탕한 후 4,000 rpm에서 10분간 원심 분리하였다. 그 후 상등액을 525 nm에서 비색정량 하였다. 비색정량 시 표준곡선의 작성은 1 mM tetraethoxypropane용액을 시료와

Table 1. Comparison of parameters indicating acute lung injury by LPS

	Group C	Group L	Group L-M
L/B ratio	5.17±0.41 (n=9)	8.23±1.52* (n=11)	5.92±0.45 [†] (n=12)
Protein in BALF (mg/mL BALF)	0.062±0.013 (n=5)	0.912±0.189 [‡] (n=9)	0.214±0.127 [§] (n=12)

Values are given as mean±standard deviation. n=The number of experiments; Group C=Control group; Group L=Endotoxin treated group; Group L-M=Endotoxin & moxifloxacin treated group; LPS=Lipopolysaccharide; L/B ratio=(lung weight/body weight)× 10^3 ; BALF=Bronchoalveolar lavage fluid; *p<0.001, group C vs. group L; [†]p<0.01, group L vs. group L-M; [‡]p<0.001, group C vs. group L; [§]p<0.001, group L vs. group L-M.

동일한 과정으로 반응시킨 후 작성하였다.

(7) 폐장의 cPLA₂, sPLA₂ Western blot: cPLA₂와 sPLA₂의 발현을 확인하기 위하여 폐 조직을 마쇄한 후(Polytron, Switzerland) 초음파 처리하여(Vibracell, Sonics & Material Inc, USA) Western blot을 시행하였다.

(8) 폐조직의 sPLA₂ 면역형광화학검사(immunohistochemistry): $4\ \mu\text{m}$ 두께의 조직 절편에서 xylene으로 파라핀을 제거하고 graded alcohol을 거쳐 물로 씻은 뒤 PBS에 세척하고 10% normal rabbit serum을 30분간 적용하였다. 1차 항체로는 goat anti-human sPLA₂ polyclonal antibody (Santa Cruz, USA)를 1 : 200으로 희석하여 4°C 에서 16시간 적용하였다. 그 후 PBS로 10분씩 3회 세척한 후 2차 항체인 rabbit anti-goat IgG, FITC (Santa Cruz, USA)를 1 : 100으로 희석하여 실온에서 2시간 적용한 후 PBS로 3회 세척하였다. Propidium iodide (0.01 mg/mL)로 10분간 대조 염색을 하고 fluorescent mounting medium (DAKO, USA)으로 봉입한 후 관찰하였다.

(9) 광학현미경을 이용한 폐장조직의 형태학적 관찰: 폐장의 손상과 moxifloxacin의 효과를 보기 위해 흰쥐를 흡입마취 시킨 후 치사시키고 hematoxylin-eosin으로 염색한 폐장조직을 관찰하였다.

(10) 통계처리: 모든 성적은 평균±표준오차로 나타내었다. 유의성 검정은 Student-Neumann-Keul test를 이용하였고 p<0.05를 유의하다고 인정하였다.

Table 2. Effects of moxifloxacin on the infiltration and migration of neutrophils after endotoxin treatment

	Group C	Group L	Group L-M
Lung MPO (U/g of wet lung)	5.27±3.60 (n=14)	66.07±10.67* (n=13)	34.89±7.78 [†] (n=7)
PMNs in BALF (millions/mL BALF)	0.00±0.00 (n=5)	5.90±1.12 [†] (n=9)	1.44±0.85 [§] (n=12)

Values are given as mean±standard deviation. n=the number of experiments. Group C=Control group; Group L=Endotoxin treated group; Group L-M=Endotoxin & moxifloxacin treated group; MPO=Myeloperoxidase; PMNs=Polymorphonuclear neutrophils; BALF=Bronchoalveolar lavage fluid. *p<0.001, group C vs. group L; [†]p<0.001, group L vs. group L-M; [‡]p<0.001, group C vs. group L; [§]p<0.001, group L vs. group L-M.

Table 3. Malondialdehyde content in the lung

	Group C	Group L	Group L-M
MDA content (nmol/g of wet lung)	172.50±69.38 (n=8)	407.12±123.94* (n=8)	202.28±59.89 [†] (n=14)

Values are given as mean±standard deviation. n=the number of experiments. Group C=Control group; Group L=Endotoxin treated group; Group L-M=Endotoxin & moxifloxacin treated group; MDA=Malondialdehyde; BALF=Bronchoalveolar lavage fluid. *p<0.001, group C vs. group L; [†]p<0.001, group L vs. group L-M.

결 과

1) 폐질량/체중비

L군은 C군에 비해 폐질량/체중비가 유의하게 증가하였고 L-M군에서는 L군에 비해 의미있게 감소하였다(Table 1).

2) 폐세척액 내의 단백질함량(mg/mL of BALF)

L군은 C군에 비해 현저히 증가하였고, L-M군은 L군에 비해 현저히 감소하였다(Table 1).

3) 폐장 내 MPO 활성도(U/g of wet lung)

L군에서는 C군에 비하여 활성도가 월등히 증가하였고, L-M군은 L군에 비하여 현저히 감소하였다(Table 2).

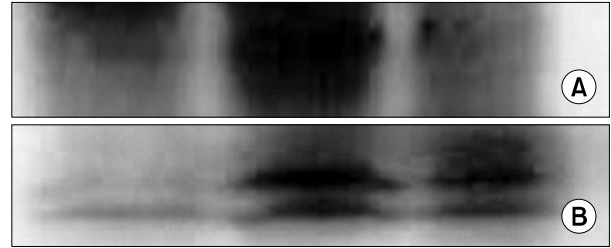


Fig. 1. Western blot of cPLA₂ and sPLA₂ in the lung. (A) The cPLA₂ expression was increased by LPS treatment and reduced by moxifloxacin treatment after LPS insult. (B) In contrast, the sPLA₂ expression was increased by LPS treatment but not reduced by moxifloxacin treatment after LPS insult.

4) 폐세척액 내의 호중구 수(millions/ml of BALF): 호중구 이동(migration)의 검사

C군에서는 호중구가 거의 관찰되지 않았고 L군에서 유의하게 증가하였으며, L-M군에서는 L군에 비하여 통계적으로 유의하게 감소하였다(Table 2).

5) 폐장 내 MDA 함량(nmol/g of wet lung)

폐장조직의 산화성 스트레스에 의한 지질과산화의 산물인 MDA 함량은 C군에 비해 L군에서 현저히 증가한 반면 L-M군에서는 L군에 비하여 상당한 감소를 보였다(Table 3).

6) 폐장 내 cPLA₂, sPLA₂의 Western blot

C군에서는 cPLA₂의 발현이 미미하거나 거의 없었으며 L군에서는 현저히 그 발현이 증가했다. 반면 L-M군에서는 cPLA₂발현이 L군에 비하여 현저히 감소하였다(Fig. 1). 이에 비하여 sPLA₂는 C군에 비해 L군에서 현저히 그 발현이 증가하였으나 L-M군에서 그 발현은 감소하지 않았다(Fig. 1).

7) 폐장의 면역형광화학검사

L군과 L-M군에서 sPLA₂ 발현은 차이가 없었다(Fig. 2).

8) 광학현미경을 이용한 폐장조직의 형태학적 관찰

L군은 급성호흡곤란증후군 때 보이는 염증소견들 즉 perivascular cuffing, 호중구의 폐포강 내 유주, 출혈(적혈구의 혈관 밖으로의 이동), 폐포강 내 유리질막(hyaline membrane)의 형성, 폐포막 부종 등의 소견이 현저하나 L-M군은 C군과 거의 차이가 없었다(Fig. 3).

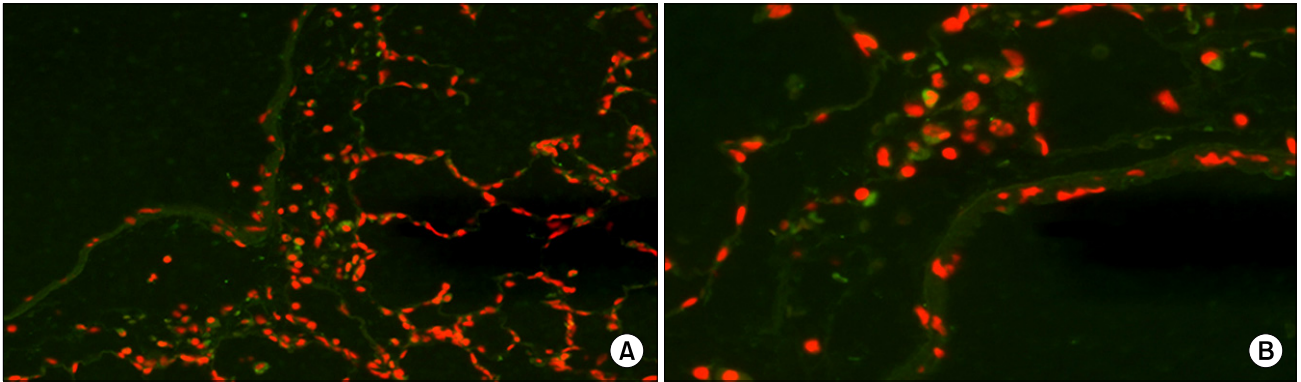


Fig. 2. Immunohistochemical stain shows that the sPLA₂ expression was increased by LPS treatment (A) but not reduced by moxifloxacin treatment after endotoxin insult (B).

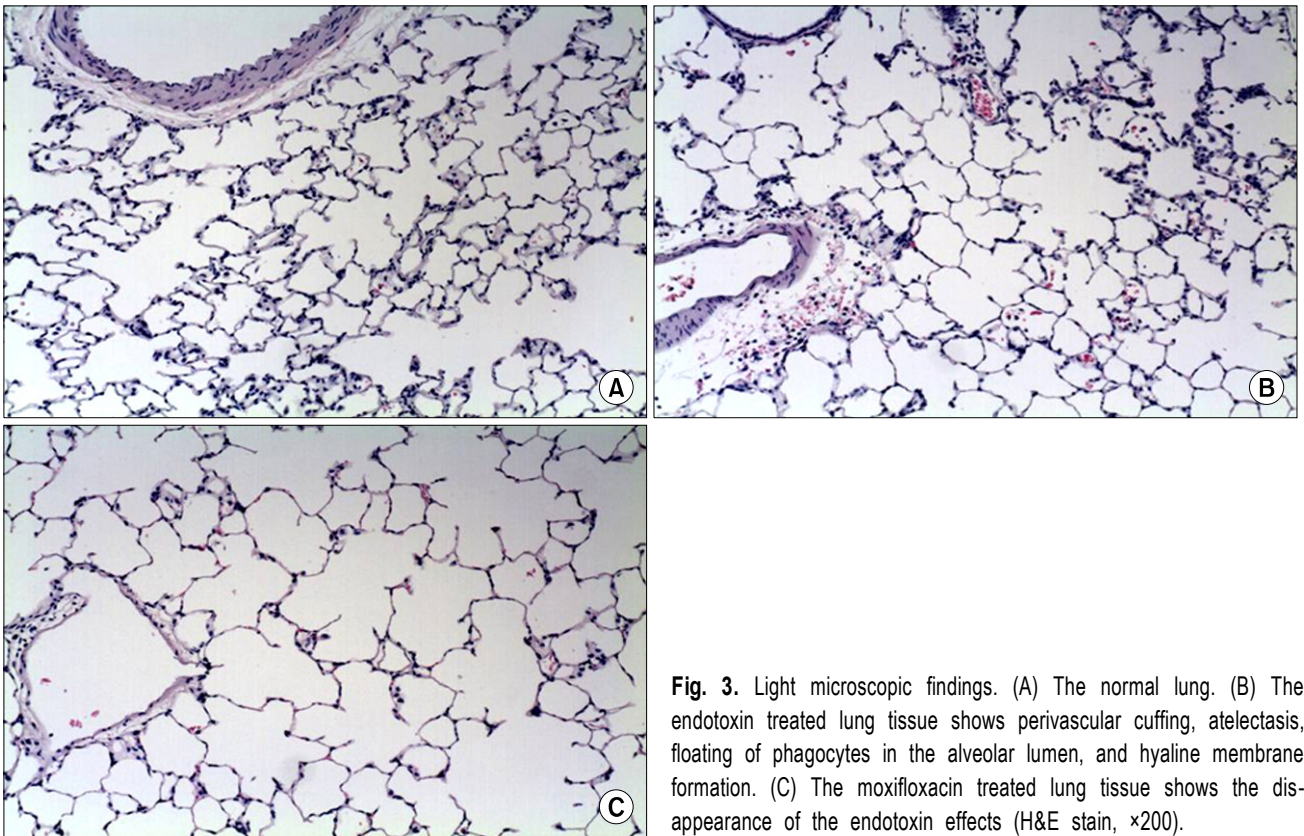


Fig. 3. Light microscopic findings. (A) The normal lung. (B) The endotoxin treated lung tissue shows perivascular cuffing, atelectasis, floating of phagocytes in the alveolar lumen, and hyaline membrane formation. (C) The moxifloxacin treated lung tissue shows the disappearance of the endotoxin effects (H&E stain, ×200).

고 찰

급성호흡곤란증후군은 방대하고 다양한 연구에도 불구하고 병태생리 및 치료법이 개발되어 있지 않아 고전적인 치료방법으로 회귀하는 경향이 있다. 특히 패혈증에 의한 급성호흡곤란증후군의 경우는 사망률이 높고 따라서 정

확한 병태생리에 대한 이해가 요구되므로 이에 대한 연구는 지속적으로 이뤄지고 있다. 패혈증에 의한 급성호흡곤란증후군의 동물모델은 폐장 내로 내독소를 직접 주입하는 방법이 사용되는데 임상적, 생물학적 측면에서 타당성이 있는 모델로 평가 받고 있다[12]. 내독소에 의한 이러한 급성폐부종은 주로 호중구의 작용에 의한 것이라는 많

은 실험적 증거들이 제시되는데 특히, Lee와 Dawney[13]는 호중구에 의한 급성폐손상 기전의 확립이 급성호흡곤란증후군의 병인론을 이해하는데 크게 기여했다고 주장하였다. 내독소는 폐장 내에 호중구의 침윤을 증가시키며 혈관내의 호중구가 폐포 쪽으로 이동하여 제1, 2형 폐포 세포의 손상을 일으킨다. 또한 혈관내피세포의 손상을 일으켜 상피장벽 및 혈관장벽을 파괴하고 alveolar flooding을 유발하며 또한 산화성 스트레스를 유발한다. Moxifloxacin은 이러한 내독소에 의한 폐장 내 염증성 변화를 효과적으로 억제한다. Moxifloxacin은 항균효과 외에도 면역변환 작용(immunomodulation)이 있는 것으로 알려져 있다. 즉 IL-8이나 MCP-1을 억제하여 단핵구가 혈관내피세포 쪽으로 이동하는 것을 억제한다든지[14], 폐포 세포에서의 NF-KB를 억제하여 염증반응을 억제한다고 한다[15]. 특히 moxifloxacin은 심한 감염 시에 NF-KB, ERK-1/2를 억제하여 호중구의 침윤을 효과적으로 차단한다고 한다[16]. 호중구의 산소기 생성에 따른 조직의 손상은 활성화된 호중구에서의 NADPH oxidase의 활성화에 따른 산소기의 대량 생성 때문이라는 것이 정설이지만[17], 이에 대한 의문을 제기한 연구 결과도 있다. 즉 NADPH oxidase knock out mouse에서 PLA₂에 의해 급성 폐손상이 유발된 경우 nitric oxide synthase 억제제에 의해 그 손상이 감소함을 보고하였다[18]. 내독소에 의한 폐손상은 염증성 조절인자로 알려진 PLA₂와도 관계가 있다. 지금까지는 sPLA₂가 주로 세포막의 인지질을 분해하여 염증성 지질분자를 유리한다고 알려졌지만[19] 급성호흡곤란증후군에서 sPLA₂의 역할이 크지 않다는 사실은 sPLA₂ 외에도 다른 종류의 PLA₂가 염증성 반응에 관여함을 시사한다. 내독소에 의한 급성폐손상이 PLA₂의 매개에 의한 것은 분명하며 sPLA₂, cPLA₂ 모두 관여하는 것으로 생각되지만 본 연구결과에 따르면 moxifloxacin은 cPLA₂의 발현을 억제하여 염증반응을 억제하는 것으로 생각된다. Levy[20]에 따르면 cPLA₂는 세포막의 인지질을 분해하여 염증성 지질분자를 유리할 뿐 아니라 호중구막의 NADPH oxidase를 eicosanoid를 통한 활성화가 아닌 또 다른 경로를 통해 활성화시켜 산소기의 생성을 증가시킨다고 한다. 또한 Nagase 등[21]에 의하면 cPLA₂ knock out mouse (cPLA₂^{-/-})에서는 내독소에 의한 급성폐손상이 유발되지 않는다고 한다. cPLA₂가 급성폐손상에 직접 관여하는 증거로는 강력한 sPLA₂억제제인 dexamethasone이 cPLA₂의 발현을 억제하지 못한다는 사실과 [22] TNF나 IL-1에 의해 유도된 염증반응에서 cPLA₂가 호중구의 NADPH oxidase (N_{ox2})의 활성도를 조절하여 산소

기를 생성한다는 사실을 들 수 있다[23]. 급성호흡곤란증후군에서 steroid 제제가 염증반응의 소실에는 별 효과가 없다는 사실이나 비특이성 PLA₂억제제인 mepacrine이 급성폐손상을 감소시킨다는 사실[24] 또 Bellido-Reyes 등 [25]이 주장하듯 cPLA₂의 억제제가 재관류폐손상에서 급성폐손상을 감소시킨다는 사실은 cPLA₂가 급성호흡곤란증후군의 병인론에 중요한 역할을 하고 있음을 시사한다.

결 론

본 연구에서는 내독소에 의해 유발된 급성폐손상의 많은 염증성 소견들이 moxifloxacin에 의해 감소되는 것을 볼 수 있었다. 특히, 내독소에 의해 발현이 증가한 cPLA₂가 moxifloxacin에 의해 억제됨을 확인하는 흥미로운 결과를 얻었다. Moxifloxacin의 이러한 cPLA₂발현억제효과는 아직 알려진 바가 없고, cPLA₂는 분자량이 다양한 아형들로 구성되어 있으므로 향후 moxifloxacin에 특이성이 있는 cPLA₂에 대한 연구가 진행되어 급성호흡곤란증후군에서 염증반응의 기전을 이해하게 되고 새로운 치료법을 개발할 수 있게 되기를 기대한다.

참 고 문 헌

1. Bernard GR. *Acute respiratory distress syndrome: a historical perspective.* Am J Respir Crit Care Med 2005;172:798-806.
2. Ware LB. *Advances in the pathogenesis and treatment of the acute respiratory distress syndrome.* Clinical Pulmonary Medicine 2003;10:208-18.
3. Mendez JL, Hubmayr RD. *New insights into the pathology of acute respiratory failure.* Curr Opin Crit Care 2005;11:29-36.
4. Carraway MS, Welty-Wolf KE, Miller DL, et al. *Blockade of tissue factor: treatment for organ injury in established sepsis.* Am J Respir Crit Care Med 2003;167:1200-9.
5. Bulger EM, Maier RV. *Lipid mediators in the pathophysiology of critical illness.* Crit Care Med 2000;28:N27-36.
6. Pruzanski W, Vadas P, Browning J. *Secretory non-pancreatic group II phospholipase A2: role in physiologic and inflammatory processes.* J Lipid Mediat 1993;8:161-7.
7. Babior BM. *Phagocytes and oxidative stress.* Am J Med 2000;109:33-44.
8. Schaloske RH, Dennis EA. *The phospholipase A2 superfamily and its group numbering system.* Biochim Biophys Acta 2006;1761:1246-59.
9. McCord JM, Gao B, Leff J, Flores SC. *Neutrophil-generated*

- free radicals: possible mechanisms of injury in adult respiratory distress syndrome.* Environ Health Perspect 1994;102 (Suppl 10):57-60.
10. Weiss T, Shalit I, Blau H, et al. *Anti-inflammatory effects of moxifloxacin on activated human monocytic cells: inhibition of NF-kappaB and mitogen-activated protein kinase activation and of synthesis of proinflammatory cytokines.* Antimicrob Agents Chemother 2004;48:1974-82.
 11. Choi JH, Song MJ, Kim SH, et al. *Effect of moxifloxacin on production of proinflammatory cytokines from human peripheral blood mononuclear cells.* Antimicrob Agents Chemother 2003;47:3704-7.
 12. van Helden HP, Kuijpers WC, Steenvoorden D, et al. *Intratracheal aerosolization of endotoxin (LPS) in the rat: a comprehensive animal model to study adult (acute) respiratory distress syndrome.* Exp Lung Res 1997;23:297-316.
 13. Lee WL, Downey GP. *Neutrophil activation and acute lung injury.* Curr Opin Crit Care 2001;7:1-7.
 14. Uriarte SM, Molestina RE, Miller RD, et al. *Effects of fluoroquinolones on the migration of human phagocytes through Chlamydia pneumoniae-infected and tumor necrosis factor alpha-stimulated endothelial cells.* Antimicrob Agents Chemother 2004;48:2538-43.
 15. Werber S, Shalit I, Fabian I, Steuer G, Weiss T, Blau H. *Moxifloxacin inhibits cytokine-induced MAP kinase and NF-kappaB activation as well as nitric oxide synthesis in a human respiratory epithelial cell line.* J Antimicrob Chemother 2005;55:293-300.
 16. Blau H, Klein K, Shalit I, Halperin D, Fabian I. *Moxifloxacin but not ciprofloxacin or azithromycin selectively inhibits IL-8, IL-6, ERK1/2, JNK, and NF-kappaB activation in a cystic fibrosis epithelial cell line.* Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol 2007;292:L343-52.
 17. Guo RF, Ward PA. *Role of oxidants in lung injury during sepsis.* Antioxid Redox Signal 2007;9:1991-2002.
 18. Kristof AS, Goldberg P, Laubach V, Hussain SN. *Role of inducible nitric oxide synthase in endotoxin-induced acute lung injury.* Am J Respir Crit Care Med 1998;158:1883-9.
 19. Chakraborti S. *Phospholipase A(2) isoforms: a perspective.* Cell Signal 2003;15:637-65.
 20. Levy R. *The role of cytosolic phospholipase A2- α in regulation of phagocytic functions.* Biochim Biophys Acta 2006;1761:1323-34.
 21. Nagase T, Uozumi N, Ishii S, et al. *Acute lung injury by sepsis and acid aspiration: a key role for cytosolic phospholipase A2.* Nat Immunol 2000;1:42-6.
 22. Sun K, Qu X, Gao L, Myatt L. *Dexamethasone fails to inhibit the induction of cytosolic phospholipase A(2) expression by interleukin-1 β in cultured primary human amnion fibroblasts.* Placenta 2006;27:164-70.
 23. Chenevier-Gobeaux C, Simonneau C, Therond P, et al. *Implication of cytosolic phospholipase A2 (cPLA2) in the regulation of human synovial NADPH oxidase (Nox2) activity.* Life Sci 2007;81:1050-8.
 24. Adhikari N, Burns KE, Meade MO. *Pharmacologic treatments for acute respiratory distress syndrome and acute lung injury: systematic review and meta-analysis.* Treat Respir Med 2004;3:307-28.
 25. Bellido-Reyes YA, Akamatsu H, Kojima K, Arai H, Tanaka H, Sunamori M. *Cytosolic phospholipase A2 inhibition attenuates ischemia-reperfusion injury in an isolated rat lung model.* Transplantation 2006;81:1700-7.

=국문 초록=

배경: 폐혈증에 동반된 급성호흡곤란증후군의 병태생리는 내독소에 의해 유발된 급성폐손상이다. 이 연구에서 우리는 내독소로 인해 유발된 급성 폐손상에서 moxifloxacin의 영향을 알아보고자 하였다. **대상 및 방법:** 백서를 대조군(C), 내독소처리군(L), 내독소-moxifloxacin처리군(L-M)으로 나누었다. 대조군의 내독소를 기관 내 분무하여 급성폐손상을 유발하였고 L-M군에서는 내독소 분무 30분 후 moxifloxacin을 투여하였다. 내독소 투여 5시간 후 폐질량/체중비, 폐세척액 내의 단백질함량, 폐세척액 내의 호중구 수, 폐장 내 myeloperoxidase (MPO) 활성도, 폐장 내 malondialdehyde (MDA) 함량을 측정하였고, 폐장 내 세포질형 phospholipaseA₂ (cPLA₂)와 분비형 phospholipaseA₂ (sPLA₂)의 발현을 관찰하고 광학현미경을 이용하여 형태학적인 분석을 시행하였다. **결과:** 폐질량/체중비, 폐세척액 내의 단백질함량, 폐세척액 내의 호중구 수, 폐장 내 myeloperoxidase (MPO) 활성도, 폐장 내 malondialdehyde (MDA) 함량은 L군에서 대조군 보다 유의하게 증가되어 있었고, L-M군은 L군보다 의미 있게 낮은 것으로 나타났다. L군에서 cPLA₂와 sPLA₂의 발현은 증가되어 있었고 L-M군에서는 cPLA₂의 발현이 감소되어 있었다. 그러나 L-M군에서 sPLA₂의 발현은 L군과 차이가 없었다. 형태학적 분석으로 L군에서 많은 염증성 소견들을 관찰할 수 있었으나 L-M군에서는 관찰할 수 없었다. **결론:** 내독소에 의해 유발된 급성폐손상의 많은 염증성 변화들이 moxifloxacin처리에 의해 소멸됨을 관찰할 수 있었다.

- 중심 단어 :** 1. 급성호흡곤란증후군
2. 호중구
3. Phospholipase A