

胸部 X-線照射가 家兔肺胞 表面活性物質에 미치는 影響*

慶北大學校 醫科大學 生理學敎室

(指導 呂 雄 淵 助敎授)
朱 永 恩 敎 授)

李 鐵

==Abstract==

Effect of X-ray Irradiation on the Pulmonary Surfactant in Rabbits

Chull Lee, M.D.

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

(Director: Assist. Prof. Ung Yun Ryo & Prof. Young Eun Choo)

It is well known that mammalian alveolar membrane is covered with a very thin layer of surfactant film which characteristically reduces surface tension of alveolar membrane, and maintains alveolar stability.

Since Clements in 1957 demonstrated that the surfactant is extractable by mincing the lung tissue in saline, various studies on the subject have been succeeded by many workers. However, the effect of radiation on the surfactant is not well clarified.

Present study was attempted to observe the effect of x-irradiation on the activity of surfactant in rabbits. X-ray in dose of 300 r, 600 r or 900 r was irradiated to the chest of rabbits. The lung was removed from normal or irradiated rabbits sacrificed by arterial blood shedding, and lung-saline extract, adding 3 grams of lung tissue to 50 mili-liters of saline, was prepared by means of Vertis homogenizer. Tension-area diagram of lung extract was recorded automatically by a modified Langmuir-Wilhelmy balance with a synchronized recording system designed in this department.

The surface tension of lung extract was measured at 1st, 2nd, 3rd, 7th and 15th post-radiation day in 300 r irradiated group, at 3rd, 7th and 15th post-radiation day in 600 r irradiated group, 3rd and 7th post-radiation day in 900 r irradiated group respectively. For the histo-pathological study, lung tissue preparations were made in all irradiated groups on the day of experiment and in normal group.

The results obtained are summarized as follows:

1. The minimal surface tension, maximal surface tension and stability index of normal rabbits lung extracts were 7.68 dynes/cm, 38.84 dynes/cm, and 1.39 respectively.
2. The activity of surfactant was depressed prominently by x-irradiation. However, increase in the dose of x-irradiation did not show any significant change in the degree of surfactant activity suppression. The most marked depression in surfactant was observed at the third post-radiation day in all irradiated groups.
3. Activity of surfactant depressed by x-irradiation showed a tendency of recovering to normal on 15th post-radiation day.

* 本 論文의 要旨는 1968 年 第 20 次 大韓生理學會에서 發表하였음.

4. The tendency of change in activity of surfactant following x-irradiation was somewhat correlative with histo-pathological changes. But the degree of depression of surfactant by x-irradiation did not correspond to the degree of histo-pathological changes, and recovery of lung tissue from radiation damage, tissue edema and congestion, seemed to be followed by restoration of surfactant activity.

5. The width of the tension-area diagram was measured at the surface area of 40% in lung extract of normal and x-irradiated rabbits. And it was found that the changes of the width corresponded well with that of minimum surface tension and of stability index in all normal and x-irradiated groups.

緒 論

肺胞表面의 특이한 物理的性狀이 肺의 機能에 重要한 意義를 가지고 있을 것이라는 主張이 1929年 von Neergaard(1929)에 의하여 發表된 以後 肺胞表面에 表面張力을 低下 시키는 薄膜이 있을 것이라는 것이 McKlin (1954) 및 Pattle(1955)에 의하여 報告 되었다. 其後 1957年 Clement 가 家兔의 肺胞表面活性物質을 처음으로 抽出하여 그 表面張力을 測定하고 이 物質이 生理的食鹽水에 의하여 洗滌 또는 抽出될 수 있음을 證明하면서 “anti-atelectatic factor”라고 命名하게 된 以來 肺胞表面活性物質에 關한 研究는 더욱 많은 사람들의 關心을 끌게 되었으며 現今에 이르기 까지 多方面에서 有意한 業績들이 이루어져 있다. 即 肺胞表面에서 그 表面張力을 低下시키는 薄膜物質이 Buckingham(1961) 및 Klaus 등 (1961)에 의하여 lipoprotein 或은 phospholipid 系라는 서로 다른 主張이 同時에 發表된 以後 表面活性物質의 本質에 關한 追求가 活潑히 進行되어 Klaus 등(1962)은 肺胞의 lining cell의 mitochondria에 의하여 肺胞表面活性物質이 生成될 것이라는 劃期的인 發表를 한바 있으며 한편 電子顯微鏡을 使用한 研究等에서(Groniowski & Biczyskova, 1964; Tombropoulos, 1964; Buckingham et al., 1966; McClenahan & Urtnowski, 1967) 肺胞表面活性物質이 肺胞 lining cell에 의하여 分泌된다는 데는 意見들이 一致되고 있다. 또한 肺胞表面活性物質의 本性을 追究하는 研究에서 主된 成分이 lecithin 이며 그 外의 phospholipid 도 主要構成成分이 되는 複合物質이라는 事實이 많은 研究者들(Buckingham, et al. 1966; McClenahan & Urtnowski, 1967; Kuenzig, et al. 1965; Abrams, 1966; Naimark, 1966; Scarpelli, et al. 1967)에 의하여 確認되었다.

이러한 肺胞表面活性物質의 活性은 phospholipase(Johnson et al, 1964)나 肺의 加溫에(Clements & Trahan, 1963)에 의하여 또는 純酸素나(Morgan, et al. 1965; Giama, et al. 1965)肺의 過度擴張에(Greenfield, et al. 1964)에 의하여 低下되며 試驗管內에서 血漿(Tierney, 1965) 또는 fibrinogen (Taylor & Abrams, 1964)에 의하여

非活性化된다는 등 여러가지狀態 또는 實驗條件에 의한 表面活性物質의 活性變化에 關한 業績들도 많다. 特히 肺胞表面活性物質의 生成過程과 關聯지어 實驗的인 無氣肺에서나 肺動脈結紮後에 表面活性物質의 活性變化過程 및 變化程度도 많이 研究되었으나(Chernick et al. 1966; Edmund, & Huber, 1967; Morgan, & Edmund, 1967; Greenfield et al. 1967) 아직 明確한 結論은 내려지지 않고 있다. 한편 放射性物質의 利用이 社會各分野에서 急進的으로 增加됨에 따라 人體가 放射線에 露出되는 機會나 程度가 漸增하고(Little, 1966)있을 뿐아니라 各種 癌의 治療分野에서 放射線深部治療를 施行하는 例가 많고 또한 이의 副作用이 問題視되고 있으나 아직 放射線照射가 肺胞表面 活性物質에 미치는 影響을 究明한 業績은 알려져 있지 않다. 따라서 本 研究에서는 家兔의 胸部에 X-線을 照射한 後 肺를 摘出하고 表面活性物質—食鹽水抽出液의 表面張力을 測定함으로써 X-線照射가 이에 미치는 影響과 또한 時間經過에 의한 變化를 觀察하고 그 結果를 考察하였다.

實驗材料 및 方法

I. 實驗動物

本大學動物舍에서 同一條件下에 飼育된 白色家兔로서 體重 2kg 前後의 外見上健康한 것을 雌雄의 區別없이 任意로 選擇하여 實驗에 使用하였으며 總 82匹의 家兔들은 다음과 같은 實驗群들로 分類하였다.

1. 對照群：正常家兔들에서 肺抽出液을 만든 群 14例.

2. X-線照射群：

(1) 300 r 照射群；300 r의 X-線을 照射한 群으로서 이틀 다시 照射後 滿 1日째에 肺를 摘出하여 肺抽出液을 만든 300 r 第 1日群 5例, 滿 2日째에 肺抽出液을 만든 300 r—第 2日群 5例, 滿 3日째의 300 r—3日群 6例, 滿 7日째의 300 r—7日群 8例, 그리고 滿 15日째의 300 r—15日群 8例의 5個 小群으로 다시 나누었다.

(2) 600 r 照射群；600 r의 X-線을 照射한 群으로서 이는 다시 照射後 滿 3日째에 肺抽出液을 만든 600 r—3日群 6例, 滿 7日째의 600 r—7日群 8例, 그리고 滿 15日째의 600 r—15日群 9例의 小 3群으로 나누었다.

(3) 900 r 照射群; 900 r의 X-線을 照射한 群으로서 照射後 滿 3 日째에 肺抽出液을 만든 900 r—3 日群 6 例와 滿 7 日째의 900 r—7 日群 7 例로 나누었다.

實驗의 進行은 平均 1 日에 2 個小群의 家兎 1 例씩을 實驗하였고 各群의 實驗進行이 모두 交代로 되고 每 4 乃至 5 例의 X-線照射群 實驗後에 1 例씩의 對照群實驗이 되도록 實驗計劃을 作成進行하였으며 X-線照射群中 300 r 및 600 r의 7 日以後群과 900 r 群에서는 家兎의 致死를 豫想하여 처음부터 例數를 增加시켰으며 實際로 X-線照射後 外見上 認定되는 病的狀態 또는 致死로 實驗하지 못한 例가 300 r—7 日群 1 例, 300 r—15 日群 2 例, 600 r—7 日群 2 例, 600 r—15 日群 3 例, 900 r—3 日群 2 例 및 900 r—7 日群에서 2 例였다. 900 r 照射群에서 15 日까지의 觀察은 처음 試圖한 2 例가 15 日以前에 死亡한 後 拋棄하였다.

II. X-線照射

X-線은 家兎를 仰臥位로 固定하여 胸部에만 局所照射하였으며 250 KV. 1 mm aluminium 및 0.5 mm copper filter 의 X-線深部治療器를 使用하였고 照射線量의 調節은 照射時間으로 하였다.

照射 X-線量의 決定은, 肺胞表面活性物質이 X-線照射에 依하여 活性이 抑制되는 것인지 또는 어느程度 抑制될 수 있는지를 究明하려는 것이기 때문에 哺乳動物에 全身照射, 또는 試驗管內에서 細胞에 直接照射時 約 30% 에서 100% 까지의 致死量이 될 수 있는(Hall, et. al., 1966; Byron, & Lajtha, 1966; Berry, 1966) 300 r에서 900 r 까지로 定하였으며 이 範圍의 X-線은 多幸히 急激한 自律神經 및 體神經損傷症狀를 나타내지 않는 線量이다. (Baco, & Alexander, 1961)

III. 肺抽出液의 作成法:

肺抽出液의 作成은 Clements 等의 (Clements, et. al.

1961) 方法에 準하였으나 表面活性物質의 食鹽水抽出過程을 若干 改良하였다. 即 頸動脈으로 부터의 瀉血으로써 犧牲시킨 家兎의 左右 兩側肺를 摘出하여 가위로 肺實質小片들로 찢르고 이中 3 gm 을 秤量한 後 50 ml 의 生理的食鹽水를 加하여 Vertis—45 型 homotgenizer 로 約 2,000 r.p.m. 으로 2 分間 磨碎하여 肺抽出液을 만들고 表抽出液 作測定하기 前에 3 枚의 gauze 로 濾過하였다. 肺面張力을 成過程에 使用되는 beaker 等 容器는 全部 그 內面을 固體 paraffin 으로 被覆하였다.

IV. 肺抽出液의 表面張力測定 및 記錄

肺抽出液의 表面積增減에 따른 表面張力變化 測定을 爲하여 Brown 等이(1959) 使用한 裝置인 Langmuir-Wilhelmy balance 를 改造하여 抽出液의 表面積을 擴大 또는 縮少시킴에 따른 表面張力의 變化를 連續的으로 記錄할 수 있는 裝置를 本 教室에서 考案하여(姜, 1968) 使用하였으며 그 裝置의 略圖는 第 1 圖과 같다. 即 內面積이 100 cm², 容積이 約 60 ml 인 直角 plexiglass 製 容器에 肺抽出液을 加注하면 四方壁에는 teflon ribbon 이 둘러져 있으며 ribbon 外方에 固定되어 있는 平板(P)을 移動하면 抽出液面의 높이는 變하지 않고 液表面의 面積만이 縮少 또는 擴大된다. 平板이 固定된 反對端에는 幅 54.5 mm, 두께 0.1 mm 그리고 높이 10 mm 크기의 白金板이 特殊 strain gauge 의 고리에 걸려 있으며 이 白金板이 抽出液에 沈漬되면 그 液의 表面張力이 클 수록 더욱 下方으로 牽引當하게 되며 따라서 白金板이 걸려있는 strain gauge 가 前方으로 굽혀진다. 白金板이 걸린 고리 直上부의 strain gauge 에 작은 거울을 附着시켜서 strain gauge 의 捻轉度 變化에 따라 거울의 角度가 달라지게 되며 이 거울에 光束을 投射시키면 反射光線은 擴大된 上下運動을 거울의 反對側에 보 내게 된다. 反射光線을 받는 側에 感光紙를 감은

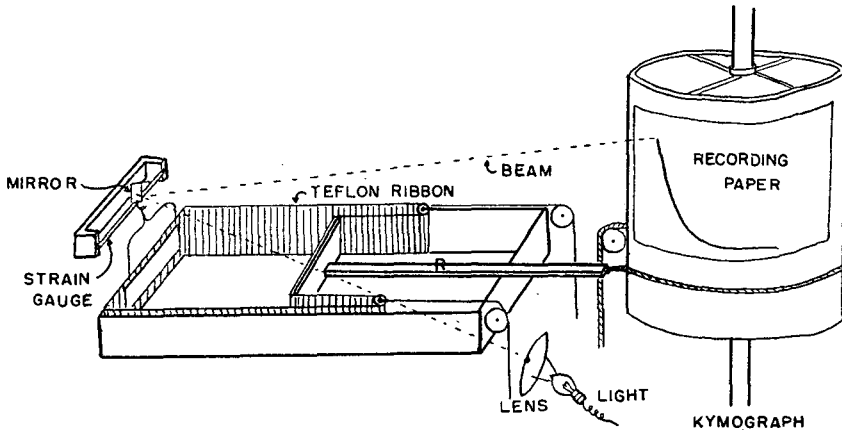


Fig. 1. Schematic representation of the device for the recording of surface tension change following expansion or reduction of surface area.

kymograph 를 두고 減速된 cycle motor 로 回轉되는 環狀 belt 에 平板과 kymograph 를 連動시킴으로써 平板은 抽出液中을 12分에 1回씩 等速이며 直線的인 運動을 하게되고 이와 完全히 同調로 kymograph 의 回轉 運動이 되어서므로 暗室內에서 抽出液의 表面積縮少 또는 擴大에 따른 表面張力變化 即 張力—面積曲線(T-A 曲線)을 自動的으로 連續描記할 수 있는 것이며 抽出液의 表面積 縮少, 擴張은 極히 徐徐히 하여야 表面活性 物質의 表面張力을 安定狀態에서 測定할 수 있는 것이므로(姜, 1968; 金, 1964; Mendenhall, & Mendenhall; 1964) 本 裝置에서 平板이 抽出液의 最大表面積에서 20% 面積까지 한번 往復하는데 24分이 所要되게 한 것이다.

上記裝置에서 白金板이 沈漬된 抽出液의 表面張力이 10 dynes/cm 일때 白金板을 牽引하는 힘은 0.1115 gm이 되며 白金板이 抽出液에 沈漬되지 않았을 때의 表面張力은 零이므로 이때 kymograph 의 感光紙上 反射光點 位置를 0 dyne/cm 으로 定하고 0.1115 gm 석의 무게를 白金板에 加할 때 光點移動을 차례로 感光紙에 露出시킴으로써 表面張力 10 dynes/cm 間隙을 미리 calibrate 하였다.

抽出液容器에서 平板의 移動을 抽出液表面積이 最大面積의 20% 까지 減少되도록 하였으며 이때의 表面張力을 最少表面張力으로(Abrams, 1966; Scarpelli, et. al. 1967; Morgan, & Edmunds, 1967)하였다.

抽出液의 表面積을 反復하여 增減시킬때 肺泡表面 活性物質의 最少表面張力은 漸次 더 低下되어 5~6回의 表面積 壓縮, 擴張後에 一定值로 固定되는 것으로 報告되어 있으며(Buckingham, 1961; Clements, et. al., 1961) 本實驗에서도 第5回以後에 表面張力이 安定됨을 確認하고 全實驗例에서 第5回제의 張力—面積曲線을 實驗成績으로 取하였다.

V. 張力—面積曲線의 幅計測과 Extract Stability Index 의 計算

肺抽出液이 나타내는 hysteresis 程度를 張力—面積曲線의 幅으로 表現하여 보기 爲하여 全群에서의 T-A 曲線을 分析하여 보았던 바 그 幅이 가장 큰 곳이 거의 全例에서 表面積 40% 線이었으며 따라서 이 點에서의 T-A 曲線의 幅을 dynes/cm 으로 表示하였고 또한 Clement 等(1961) 이 提案한 extract stability index 를 ($\bar{S}=2(r \max-r \min.) / (r \max.+r \min.)$) ($r \max.$ 는 最大表面張力, $r \min.$ 은 最少表面張力) 計算하였다.

VI. 肺組織의 病理所見 觀察

X-線을 照射한 各群들에서 肺抽出液作成과 同時에 餘分의 組織을 formalin 液으로 固定하였다가 本大學 病理學教室의 協助로 顯微鏡組織標本을 製作, hematoxilin

eosin 染色으로 X-線照射에 依한 病變有無 및 그 程度를 觀察하였다.

實驗成績

I. 對照群

正常家兎들에서 作成한 肺抽出液의 表面張力을 最大面積에서 부터 20%로 까지 縮少시켰다가 다시 擴張시키면서 그린 T-A 曲線의 定型的인 例는 第2圖에서

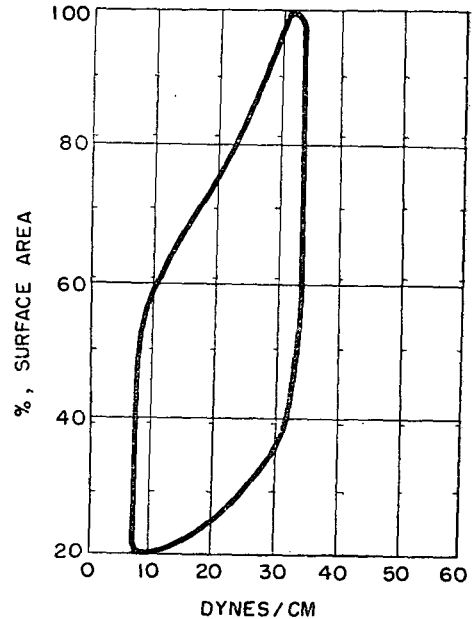


Fig. 2. A typical tension-area diagram of minced lung extract of normal rabbit.

보는바와 같다. 即 表面積을 減少시키면 처음에는 急激히 後에는 徐徐히 表面張力이 低下하여 (左側曲線) 10 dynes/cm 以下로 내려왔다가 表面積을 增大시킴에 따라 表面張力이 처음에는 急激히 後에는 極히 徐徐히 增加되어 (右側曲線) 하나의 閉曲線을 形成하며 이러한 模樣이 摘出肺의 壓力—容積曲線이나 肺抽出液의 T-A 曲線에서 볼 수 있는 hysteresis 現象인 것이다.

正常家兎 14例에서 測定한 肺抽出液의 最少表面張力, 最大表面張力 및 表面積 40%線에서의 T-A 曲線幅의 平均值 및 標準誤差는 第1表에서 보는 바와 같이 各各 7.68 ± 0.88 dynes/cm., 38.84 ± 1.87 dynes/cm 및 28.68 ± 1.85 dynes/cm 였으며 最少表面張力에 있어서 實驗例에 따른 變異가 甚하였다.

本 實驗에서 얻은 正常家兎肺抽出液의 表面張力은 姜(1968) 및 金(1964)의 成績에 比하여 最少 및 最大值에서 모두 낮으며 이는 本實驗에서 Vertis-45 homogenizer 를 使用하여 肺抽出液을 作成하였기 때문에 肺組織을

Table 1. Surface tensions of minced lung extracts in normal rabbits

Exptl. No.	Surface Tension, dyne/cm		
	Minimum	Maximum	Width
1	7.3	35.0	24.3
2	6.7	39.3	30.2
3	5.2	43.0	35.3
4	6.7	35.3	28.1
5	2.7	23.3	20.7
6	11.3	39.6	26.7
7	10.7	30.0	18.7
8	7.3	42.7	22.0
9	8.0	34.0	24.7
10	10.8	40.9	27.7
11	13.6	46.6	30.8
12	10.1	46.6	35.6
13	2.8	49.1	43.4
14	4.3	38.3	33.3
Mean.	7.68	38.84	28.68
S.E.	0.88	1.87	1.85

(width: width of area-tension diagram at area of 40%)

가위로 찢은 上記 두사람의 研究들에서 보다 肺胞表面 活性物質의 抽出이 더 잘된 때문이라 생각되며 Scarpelli 等 (1967) 및 Greenfield 等(1967) 이 發表한 正常犬肺 抽出液의 그것과 本 實驗成績이 거의 一致되는 값이다.

II. X-線照射群

第 3 圖은 X-線照射에 依하여 肺抽出液의 表面張力에 變化가 일어난 一例의 T-A 曲線이며 第 2 圖의 正常例曲 線과 比較할 때 最大表面張力에는 別變化를 認定할 수 없으나 最少表面張力은 顯著히 增加되어 있으며 hysteresis의 幅이 또한 더 狹少해져 있음을 볼 수 있다.

Table 2. Surface tensions of minced lung extracts in 300r x-irradiated rabbits

Day after Irradiation		1st	2nd	3rd	7th	15th
Surface Tension dynes/cm	Minimum	7.84	9.40	12.74	9.98	10.34
	S. E.	0.33	0.64	2.01	1.23	1.87
Maximum	Mean	38.42	39.35	36.52	37.46	37.55
	S. E.	1.47	1.40	1.10	2.04	1.43
Width*	Mean	28.44	26.54	22.02	24.23	24.95
	S. E.	2.17	1.01	2.18	1.76	2.32
Numbers of cases		5	5	6	8	8

*width of area-tension diagram at area of 40%

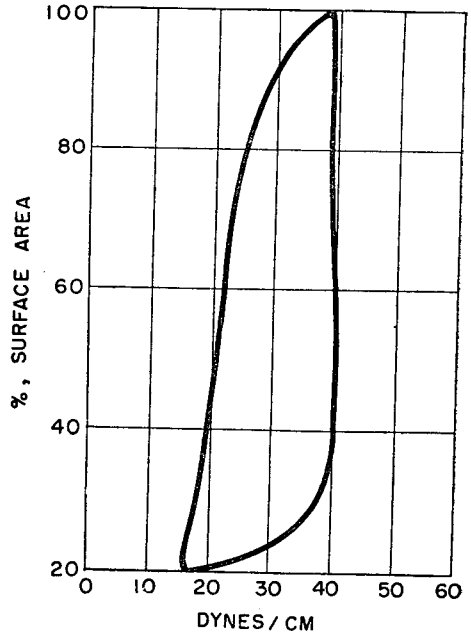


Fig. 3. A tension-area diagram of minced lung extract of X-irradiated (900r) rabbit.

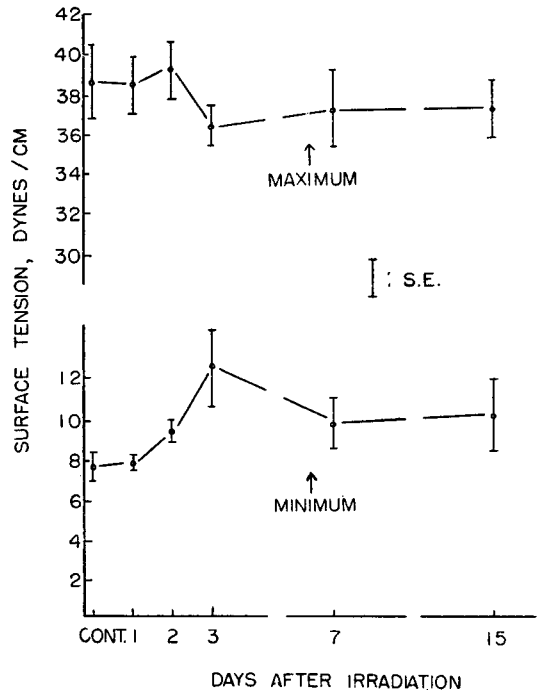


Fig. 4. Minimum and maximum surface tensions of minced lung extract of 300 r X-irradiated rabbits.

X-線照射群 肺抽出液의 表面張力測定結果를 照射線量 別 및 時間經過別로 서로 比較하여 보면 다음과 같다. 胸部에 300 r의 X-線을 照射한 群들에서 肺抽出液의

表面張力은 第2表 및 第4圖에서 볼 수 있는 바와 같이 照射後 第1日에 別變化를 보이지 않았으나 第2日에서 最少表面張力은 增加되기 始作하여 第3日에는 對照值에 比하여 顯著히 ($p < 0.02$) 더 增加되었으며 第7日 및 第15日에서 最少表面張力은 第3日에 比하여 漸次 低下되는 傾向을 ($p < 0.3$ 및 $p < 0.4$) 보였다.

한편 最大表面張力은 X-線照射後 若干의 變化를 보이는 하였으나 모두 有意하지 않는 것이었다. T-A 曲線의

Table 3. Surface tensions of minced lung extracts in 600 r x-irradiated rabbits

Day after Irradiation		3rd	7th	15th
Surface Tension, dynes/cm				
Minimum	Mean S. E.	13.42 1.25	15.79 0.88	10.16 1.19
Maximum	Mean S. E.	37.03 1.99	40.28 1.73	38.01 1.27
Width*	Mean S. E.	21.10 1.88	20.83 2.03	25.04 2.13
Number of cases		6	8	9

*width of area-tension diagram at area of 40%

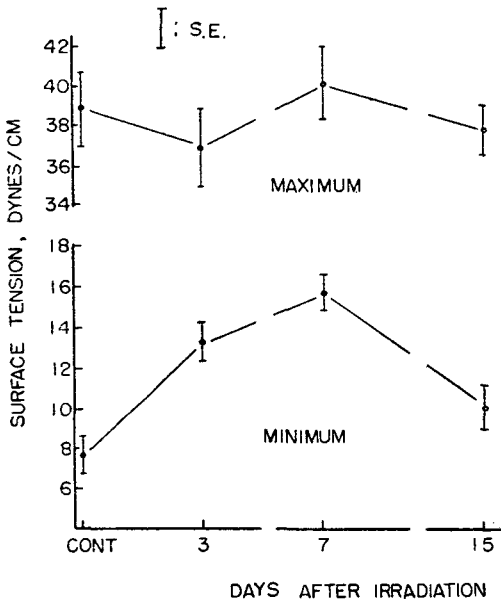


Fig. 5. Minimal and maximum surface tensions of minced lung extract of 600 r X-irradiated rabbits.

幅은 300 r 照射後 第2日서 부터 좁아지기 始作하였으며 第3日에는 有意하게 ($p < 0.05$) 對照值보다 좁아졌다가 第7 및 第15日에는 第3日에 比하여 다시 擴張되는 傾向을 ($p < 0.2$ 및 $p < 0.3$) 보여 그 變化樣相이 最

少表面張力에서와 同一하였다. 600 r의 X-線을 照射한 群에서 肺抽出液의 時日經過에 따른 表面活性變化는 第3表 및 第5圖와 같다. 即 最少表面張力은 對照值에 比하여 照射後 第3日에 顯著히 增加되었으며 ($p < 0.01$) 第7日에는 第3日에서 보다 더 增加되는 傾向을($p < 0.2$) 보였으나 第15日에는 다시 低下되어 第3日에서 보다 낮은 값을 보였다 ($p < 0.1$). 600 r X-線照射群에

Table 4. Surface tensions of minced lung extracts in 900 r x-irradiated rabbits

Day after Irradiation		3rd	7th
Surface Tension, dynes/cm			
Minimum	Mean S. E.	14.45 2.41	13.30 2.63
Maximum	Mean S. E.	35.12 3.60	37.51 1.47
Width*	Mean S. E.	22.43 2.92	23.34 3.13
Number of cases		6	7

*width of area-tension diagram at area of 40%

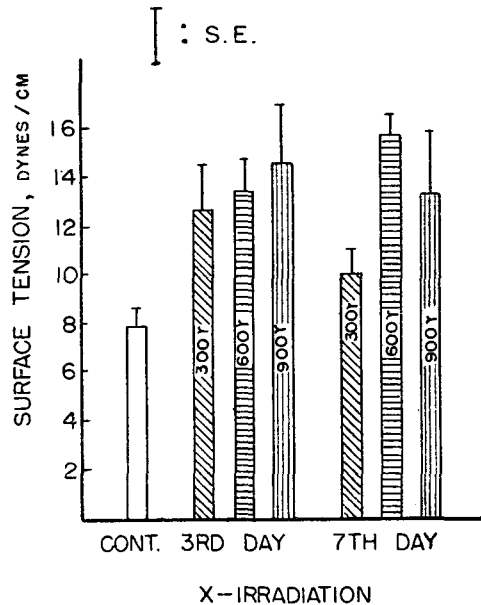


Fig. 6. Minimal surface tensions of minced lung extract of normal and X-irradiated rabbits.

서도 最大表面張力은 有意한 變化를 보이지 않았으며 T-A 曲線의 幅은 第3 및 第7日에서 對照值보다 顯著하게 ($p < 0.05$ 및 $p < 0.02$) 좁아졌고 第15日에는 第3日值에 比하여 擴張된 傾向을 ($p < 0.3$) 보였다. 900 r의 X-線을 照射한 群들의 肺抽出液表面張力測定結果는 第4表와 같다. 即 最少表面張力은 第3 및 第7日에서

Table 5. Changes in stability index of minced rabbit lung extract following x-irradiation

Group	Control	X-irradiation, 300 r					600 r		900 r		
		1st day	2nd day	3rd day	7th day	15th day	3rd day	7th day	15th day	3rd day	7th day
Mean	1.39	1.31	1.19	1.16	1.17	1.18	0.93	0.91	1.16	0.83	0.98
S. E.	0.073	0.029	0.035	0.250	0.067	0.138	0.081	0.029	0.065	0.173	0.161
Number of cases	14	5	5	6	8	8	6	8	9	6	7

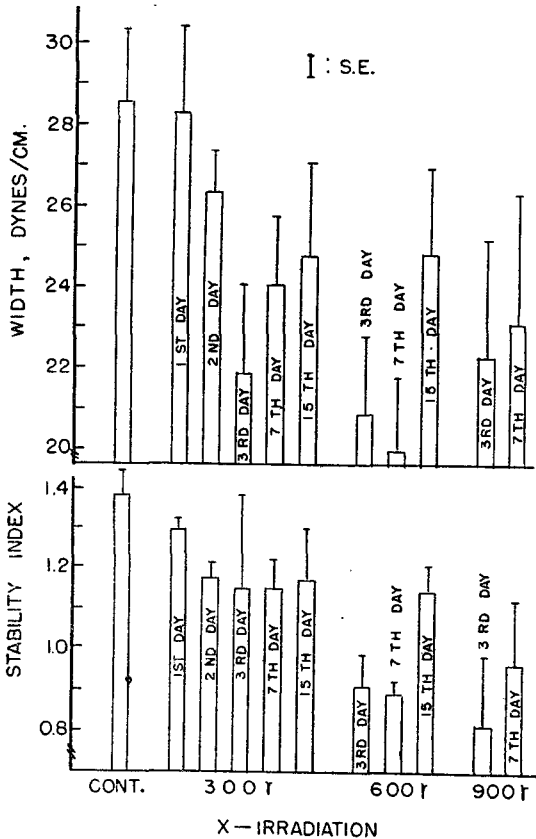


Fig. 7. Extract stability index and width of tension-area diagram at area of 40% in minced lung extracts of normal and X-irradiated rabbits.

모두 對照群의 그것보다 甚히 增加되었으며 ($p < 0.01$ 및 $p < 0.02$) 第3日 및 第7日群間에는 有意한 差異가 없었고 T-A 曲線의 幅역시 第3日 및 第7日值에서 서로 差異는 없었으며 對照群值에 比하여서는 모두 縮아진 傾向을 認定할 수 ($p < 0.1$ 및 $p < 0.2$) 있었다. 900 r 照射群들에서도 最大表面張力의 變化는 有意한 것이 아니었다.

X-線 照射群들에서 가장 顯著한 變化를 보인 第3日 및 第7日에서의 肺抽出液 最少表面張力值들을 照射線量別

로 比較하여 보면 第6圖와 같다. 照射後 第3日에 肺抽出液의 最少表面張力은 照射線量의 增加에 따라 增大되는듯 하나 有意한 差異가 아니었으며 第7日에서는 600 r 및 900 r 照射群의 最少表面張力이 모두 300 r 照射群보다 有意하게 增大되어있으나 ($p < 0.01$ 및 $p < 0.02$) 900 r 照射群의 最少表面張力이 600 r 照射群의 그것보다는 더 減少되었던 傾向을 보였다. ($p < 0.3$). 對照群 및 X-線照射를 한 各群에서 計算하여 본 stability index(S)는 第5表 및 第7圖와 같다. 對照群에서 S는 1.39로서 姜이(1968) 發表한 正常家兔肺抽出液의 S, 1.00보다 顯著히 크나 이는 前述된 바와 같이 肺胞表面活性物質이 本實驗에서 더 많이 抽出된 때문이라 볼 수 있으며 正常犬에서는 S가 1.9까지도(Kentner, et al., 1965) 이름이 알려져 있다. 300 r X-線照射群에서 S는 第1日서 부터 若干씩 低下되기 始作하여 第3日에 가장 많이 減少되었고 ($p < 0.01$) 第7日 및 15日에서는 第3日에서 보다 조금씩 增加되었다. 600 r照射群에서 S는 第3日에서 7日까지 對照群에 比하여 有意한 減少를 보였다가 ($p < 0.01$ 및 $p < 0.001$) 第15日에서는 第7日에서 보다 많이 增加되었으며 ($p < 0.02$) 900 r X-線照射群에서는 第3日 및 第7日에 모두 對照群보다 有意하게 低下되어 ($p < 0.01$ 및 $p < 0.02$) 있었다.

T-A 曲線의 幅으로서 肺抽出液의 hysteresis 程度를 數値로 表現하여 보기 爲하여 各群에서 測定한 表面積 40% 線에서의 幅을 各群의 S와 比較하여 보면 (第7圖) 對照群을 基準으로 하여 X-線을 照射한 各群에서 兩者의 變化比에 差異는 있으나 變化傾向은 一致함을 알 수 있다. 即 300 r 照射群들에서 T-A 曲線의 幅의 減少程度順位가 S의 低下程度順位와 完全히 一致하고, 600 r 照射群과 900 r 照射各群들에서도 變化程度의 順이 完全히 對應되는 것이며, 全群을 總括하여서 幅이 가장 많이 減少된 것이 600 r 7日群인데 S가 가장 낮은 群은 900 r 3日群이라는 것만이 本實驗에서 T-A 曲線의 幅과 stability index 變化가 서로 一致되지 않는 點이다.

X-線照射群 肺의 組織學的 變化. 300 r照射群에서 顯微鏡으로 觀察된 肺組織所見은 거의 正常이거나 若干의 浮腫 및 鬱血이 있었으며 第7日群까지 顯著한 差

가 없이 비슷한 程度의 浮腫과 鬱血을 보였으나 第 15 日群에서는 全然 이러한 所見을 볼 수 없었고, 600 r 照射群들에서는 浮腫과 鬱血이 第 3 日 및 第 7 日群에서 輕度 또는 中等度로 觀察되었고 第 15 日群에서는 아무런 病變을 볼 수 없었다. 900 r 照射群들에서는 모두 中等度 또는 그 이상의 浮腫과 鬱血을 볼 수 있었다. 이와 같이 組織學的 變化들은 그 變化傾向에서 肺胞表面活性物質의 活性變化和 併行되는 듯 하나 具體的인 各群別 比較에서는 서로 對應되지 않음을 알 수 있다. 即 X-線照射後 第 3 日의 300 r, 600 r 및 900 r 群들에서 表面活性物質變化에는 서로 有意한 差異가 없음에도 病變의 差異는 照射線量에 따라 顯著히 더 甚하여, 經時的인 變化程度에도 서로 다른點이 많을 뿐 아니라 300 r 및 600 r 第 15 日群에서는 病變을 肺組織에서 觀察할 수 없으나 肺胞表面活性物質의 活性은 正常肺에서 보다 뚜렷이 低下되어 있다.

考 察

實驗的인 放射線照射에 의하여 1 次的으로 組織에 뚜렷한 病變은 잘 일어나지 않는 것으로 생각되고 있으며 (Little, 1968, a, & b.) 核彈爆發時의 極甚한 放射線被害者에서도 主死因은 抵抗性減退로 인한 2 次感炎 및 再生 不能性貧血인 것으로 (Liebow, et al. 1949) 報告되어 있다. 그러나 抵抗性이 弱한 核酸은 그 量 및 機能이 放射線照射에 의하여 低下될 수 있다는 事實이 알려져 있으며 (Vermund, et al., 1954; Tillotson & Warren, 1953; 徐 1964; Sung, 1965) 따라서 核酸에 의하여 調節되고 運營되는 諸酵素系의 活性 및 細胞의 再生, 增殖이 2 次的으로 低下될 것은 當然하다 할 것이다. 動物의 胸部에 深部 X-線照射를 하여 臟心の 組織檢査를 한 Hartman 等 (1927)은 心囊의 輕度變性이 唯一한 病變이 있음을 報告하였고, Stone 等 (1964)은 γ 線照射로서 心臟筋變性이 甚함을 觀察하여 서로 相異한 結果를 發表하였으나 이는 照射方法 및 線量の 差異에 따라 다를 수 있을 것이다. 肺胞內面に 薄膜을 形成하고 있는 表面活性物質은 肺臟에서 脂肪酸으로 부터 合成된다는 事實이 證明되어 있으며 (Buckingham, et al. 1966; Nars, & Heinemann, 1965, Johnson, et al., 1964) 또 이 細胞들 內의 mitochondria 가 表面活性物質의 合成에 直接 關與된다는 意見들과 (Klaus, et al., 1962; Tombropoulos, 1964) 함께 肺組織의 代謝狀態 또는 條件變化가 곧 肺胞表面活性物質의 生成과 直結된다는 研究業績들이 많이 發表되어 있다 (Chernick, et al. 1966; Clements, 1965; Morgan, & Edmunds, 1967, Finely, et al., 1964; Faridy, et al. 1966) 따라서, 放射線照射에 의하여 2 次的으로 酵素의 活性 또는 代謝過程이 抑制될 때 肺胞

表面活性物質의 生成도 低下되어 肺의 力學的 安定性이 減少될 것이라 豫測할 수 있다. 本實驗의 結果에서 300 r의 X-線照射群肺抽出液의 最少表面張力이 第 2 日에서 부터 增加되기 始作하고 第 3 日에는 對照群에 比하여 有意한 增加를 보였으며 第 7 日以後에는 다시 低下하는 傾向을 보여 300 r X-線照射에 의하여 分明히 肺胞表面活性物質의 活性이 抑制되고, 一定한 時日이 經過하면 恢復될 수 있음을 알 수 있다.

X-線照射에 의하여 肺胞表面活性物質의 活性이 抑制될 수 있는 機轉은 1) X-線의 ionizing effect에 의하여 이미 生成되어 있는 表面活性物質이 變化 또는 分解될 可能性과 2) 表面活性物質을 合成, 分泌하는 (Klaus, et al, 1962; Tombropoulos, 1964; Buckingham, et al., 1966; Greenfield, et al., 1967) granular pneumocytes의 機能低下로 인한 表面活性物質의 減量, 두가지로 생각할 수 있다. 萬若 直接的인 ionizing effect에 의하여 表面活性物質이 變性될 수 있다면 이 反應은 X-線照射直時에 일어나는 것이며 (Baco, & Alexander, 1961; Little, 1968, a & b.) 照射第 1 日에는 最少表面張力變化가 없다가 第 2 日에서 부터 增加되기 始作한 本實驗에서의 結果로 보아 表面活性物質이 X-線의 直接的 影響으로 變性되었을 可能性은 除外할 수 있다. 따라서 X-線照射群에서 表面活性物質의 活性低下는 granular pneumocytes의 表面活性物質合成, 分泌機能의 抑制에 의한 것이라 할 수 있으며 X-線에 의하여 이들 細胞의 機能이 抑制되는 機轉은 여기서 알 수 없으나 前述한 바와 같이 核酸이 放射線에 의하여 減量되거나 機能이 抑制된 다면 이로 因하여서도 細胞의 모든 代謝過程이 阻害될 것은 쉽게 豫測되는 것이며 放射線에 의한 酵素系의 直接的 活性阻害가 일어날 수 있음이 (Little, 1968, b.; Dale, 1940; Adelstein, 1965) 오래前부터 알려져 있고 또한 少量(25 rads)의 X-線에 의하여서도 A.T.P. 合成이 顯著히 低下됨을 觀察하였다는 報告들도 (Creasey, & Stocken, 1959; Klouwen, & Betel, 1963) 있다.

X-線의 照射線量에 따른 肺胞表面活性物質의 活性低下程度를 比較하여 보면 가장 顯著한 活性低下를 보인 照射後 第 3 日의 肺抽出液表面張力이 300 r, 600 r 또는 900 r 照射群들에서 서로 有意한 差를 보이지 않았으며 따라서 300 r로 부터 照射線량이 3 倍로 될때 까지 肺胞表面活性物質의 活性和 照射線量間에는 相關性이 거의 없는 것이라 볼 수 있을 것이다.

各群에서 製作한 肺組織標本의 病理所見觀察에서 900 r 群에서 만은 鬱血과 浮腫이 甚하여 肺組織重量基準으로 作成한 肺抽出液의 表面張力測定 結果에 實驗誤差가 많이 內包되었을 可能性이 있으나 300 r 및 600 r 群에서는 若干의 病變이 肺抽出液表面張力測定에 큰 誤差를

출 정도가 되지 않는 것이라 보았다. 肺組織의 浮腫 및 鬱血이 本 實驗에서의 肺胞表面活性物質의 活性觀察에 크게 影響을 미치는 것이라면 第3日 및 第7日群에서 照射線量の 增大에 따라 表面活性物質의 活性은 顯著히 더 低下되는 結果로 나타났을 것이다.

한편 300 r 및 600 r 照射群들에서 모두 第15日에 肺胞表面活性物質의 活性은 第3日에서 보다 分明히 充進된 傾向을 보이고 있어 X-線에 依하여 阻害된 肺胞表面活性物質이 第15日에는 恢復되고 있음을 알 수 있으며 肺組織所見에서는 第15日에 이미 完全히 正常狀態로 恢復되어 있어 放射線에 依하여 損傷된 肺胞表面活性物質의 生成 또는 分泌가 恢復되는 過程 및 機轉은 더욱 追究하여 볼 興味있는 問題라 생각된다.

肺胞表面活性物質의 量 또는 活性도를 알기 爲한 抽出液의 表面張力測定 研究들에서 最大表面張력은 큰 意義를 갖지 못함이 알려져 있으며 (Giammona, et al. 1965; Greenfield, et al. 1967; 姜, 1968; Bondurant, & Miller, 1962) 最少表面張力만으로써 活性도를 表現할 수 있겠으나 肺胞表面活性物質의 活性 및 安定성이 가장 잘 表示될 수 있는 것은 T-A 曲線이며 金이 (1964) 提案한 바와 같이 여기서 hysteresis 現象의 幅이 表面活性도와 比例될 것은 當然하며 Clements 等은 (1961) 最大表面張력과 最少表面張力 兩值으로써 表面活性物質의 活性을 表現하기 爲한 stability index 를 創案 提示하여 이 方面 研究者들에게 많이 利用되고 있다 (姜, 1968; 金, 1964; Kentera, et al. 1965). 簡單하지 않은 計算을 必要로 하는 이 stability index 도 結局은 最大 및 最少表面張力の 差로 表現되는 것이므로 本研究에서는 hysteresis 의 幅이 거의 全例에서 가장 넓은 곳이 面積 40% 線입을 觀察하고 이 線에서의 幅을 實測하여 T-A 曲線の X-軸單位인 dyne/cm 으로 表示하여 보았던 바 各群에서 이 幅의 變化가 最少表面張力 및 stability index 變化와 잘 對應됨을 알 수 있었다. 따라서 肺胞表面活性物質의 活性도를 肺抽出液의 最少表面張力 및 T-A 曲線の 幅測定值만으로써 充分히 表現할 수 있으며 簡單하면서도 肺胞表面活性物質의 活性을 더욱 正確히 나타낼 수 있는 方法이라 할 수 있을 것이다.

結 論

放射線이 肺胞에 機械的安定성을 賦與하는 表面活性物質의 活性도에 미칠 수 있는 影響을 究明하여 보기 爲하여 家兎胸部에 X-線을 300 r, 600 r 또는 900 r 씩 照射한 後 300 r 照射群에서는 第1日에서 第15日까지 600 r 照射群에서는 第3日에서 第15日까지, 그리고 900 r 照射群에서는 第3日 및 第7日에 肺를 摘出하여 Ver-tis homogenizer 로 肺抽出液을 만드고, 本 敎室에서 考

案, 製作한 表面張力測定 및 連續描記裝置로 肺抽出液의 張力—面積曲線을 描記, 表面張力變化를 測定하여 健康家兎群과 X-線照射를 받은 各群에서의 肺胞表面活性物質 活性도를 서로 比較 檢討하여 보았으며 다음과 같은 結論들을 얻었다.

1. 正常家兎肺抽出液의 最少表面張力, 最大表面張力 및 stability index 는 各各 7.68 dynes/cm, 38.84 dynes/cm 및 1.39 였다.

2. X-線照射에 依하여 肺胞表面活性物質의 活性은 有意하게 阻害되었으며 照射線量에 따른 抑制程度差異는 認定할 수 없었고 各群에서 본 表面活性物質의 活性低下度는 X-線照射後 第3日群에서 가장 顯著하였다.

3. X-線照射에 依하여 阻害된 肺胞表面活性物質의 活性도는 照射 15日後에서 恢復되어지고 있는 傾向을 보였으며 組織學的 病變所見觀察結果와 表面活性物質의 活性度變化는 비슷한 傾向을 보였으나 一致되지는 않는 것이었다. 그리고 照射後 第7日에 까지 觀察된 浮腫 및 鬱血等 組織病變이 第15日에는 完全히 消失되어 組織學的變化의 恢復이 表面活性物質의 活性度恢復에 先行되는 듯하였다.

4. 肺胞表面活性物質의 活性을 表示하는 한 方法으로서 肺抽出液의 張力—面積曲線상의 面積 40% 線에서 幅을 測定하여 各群에서 肺抽出液의 最少表面張力變化 또는 Clements 가 提議한 stability index 와 比較하여 보았던바 張力—面積曲線の 幅이 이들의 變化와 잘 一致됨을 알았으며 따라서 肺胞表面活性物質의 活性表示를 肺抽出液의 最少表面張력과 張力—面積曲線の 幅測定值로써 나타낼이 좋은 方法일 것으로 생각되었다.

(本 研究過程에서 肺組織病理標本을 製作, 判讀하여 주신 李泰淑 徐泰俊先生에게 深謝드립니다)

參考文獻

- Adelstein, S. J.: *Radiation induced changes in biologically active macromoles. Radiol. Clin. North. America, 3: 181, 1965.*
- Abrams, M.E.: *Isolation and quantitative estimation of pulmonary surface-active lipoprotein. J. Appl. Physiol. 21: 718, 1966.*
- Brown, E. S., Johnson, R.P. and Clements, J. A.: *Pulmonary surface tension. J. Appl. Physiol., 14:717, 1959.*
- Baco, Z. M. and Alexander, P.: *Fundamentals of Radiology, 2nd Ed., Perhamon Press, Oxford. London. New York, Paris, 1961, p. p. 409-410*
- Buckingham, S.: *Studies on the identification of an*

- antiatelectasis factor in normal sheep. Am. J. Diseases. Child* 102:521, 1961.
- Bondurant, S. and Miller, D.A.: *A method for producing surface active extracts of mammalian lungs. J. Appl. Physiol.*, 17:167, 1962.
- Berry, R.J.: *Effect of some metabolic inhibitors on X-ray dose-response curves for the survival of mammalian cells in vitro, and on early recovery between fractionated X-ray dose. Brit. J. Radiol.* 39:458, 1966.
- Buckingham, S., Heinemann, H. O., Sommers, S.C. and McNary, W.F.: *Phospholipid synthesis in the large pulmonary alveolar cell. Am. J. Path.* 48:1027, 1966.
- Byron, J.W. and Lajtha, L.G.: *Radioprotection in total body irradiated primates. Brit. J. Radiol.* 39: 382, 1966.
- Clements, J. A.: *Surface tension of lung extracts. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 95:170, 1957.
- Creasey, W.A. and Stocken, L.A.: *Effect of ionizing radiation on nuclear phosphorylation in radio-sensitive tissues of rat. Biochem. J.* 72:519 1959.
- Clements, J. A., Hustead, R. F., Johnson, R.P. and Gribetz, I.: *Pulmonary surface tension and alveolar stability. J. Appl. Physiol.* 16:444, 1961.
- Clements, J. A. and Trahan, H.A.: *Effect of temperature on pressure volume characteristics of rat lungs. Federation Proc.* 22:281, 1963.
- Clements, J.A.: *Surfactant in pulmonary disease. New Eng. J. Med.* 272:1336, 1965.
- Chernick, V., Hodson, W.A. and Greenfield, L.J.: *Effect of chronic pulmonary ligation on pulmonary mechanics and surfactant. J. Appl. Physiol.* 21:1315, 1966.
- Dale, W.M.: *Effect of X-rays on enzymes. Biochem. J.* 34:1376, 1940.
- Edmunds, L. H. Jr. and Huber, G.L.: *Pulmonary artery occlusion. I. Volume-pressure relationships and alveolar bubble stability. J. Appl. Physiol.* 22:990, 1967.
- Finley, T.N., Tooley, W.H., Swenson, E.W., Gardner, R.E. and Clements, J.A.: *Pulmonary surface tension in experimental atelectasis. Am. Rev. Resp. Dis.* 89:372, 1964.
- Faridy, E. E., Permutt, S. and Riley, R.L.: *Effect of ventilation on surface forces in excised dog's lungs. J. Appl. Physiol.* 21:1453, 1966.
- Greenfield, L.J., Evert, P. A. and Benson, D.W.: *Effect of positive pressure ventilation on surface tension properties of lung extract. Anesthesiology* 25:312, 1964.
- Groniowski, J., and Biczyskova, W.: *Structure of the alveolar lining film of the lungs. Nature.* 204:745, 1964.
- Giammona, S. T., Kerner, D. and Bondurant, S.: *Effect of oxygen breathing at atmospheric pressure on pulmonary surfactant. J. Appl. Physiol.* 20:855, 1965.
- Greenfield, L.J., Chernick, V., Dodson, W. A. and Brumley, G. W.: *Alterations in pulmonary surfactant following compression atelectasis, pulmonary artery ligation, and reimplantation of the lung. Ann. Surg.* 166:109, 1967.
- Hartman, F. W., Bolliger, A., Daub, H.P. and Smith, F. J.: *Heart lesions produced by the deep X-ray: an experimental and clinical study. Bull. Johns Hopkins Hosp.* 41:36, 1927.
- Hall, E. J., Bedford, J.S., Oliver, R.: *Extreme hypoxia; It's effects on the survival of mammalian cells irradiated at high and low dose rate. Brit. J. Radiol.* 39:309, 1966.
- Johnson, R.P., Levine, B.E. and Cumings, E.G.: *Alteration of Pulmonary surfactant and quasi-static pressure-volume relationships of rat lungs. Federation Proc.* 23:156, 1964.
- Klaus, M., Clements, J., and Havel, R.J.: *Surface-active extract of the lung. Am. J. Diseases Child.* 102:709, 1961.
- Klaus, M., Reiss, O.K., Tooley, W.H., Piel, C. and Clements, J.A.: *Alveolar epithelial cell mitochondria as source of the surface-active lung lining. Science* 137:750, 1962.
- Klouwen, H. M. and Betel, I.: *Radiosensitivity of nuclear ATP-synthesis. Internat. J. Rad. Biol.* 6:441, 1963.
- 金仁顯：肺胞의 表面活性物質의 性狀에 關한 研究. 綜合醫學 9:1201, 1964.
- Kentera, D., Wallace, C. R., Hamilton, W. F. and Ellison, L. T.: *Venous admixture in dogs with chronic pulmonary hypertension. J. Appl. Phy-*

- siol.* 20:919, 1965.
- Kuenzig, M.C., Hamilton, R.W. Jr. and Peltier, L.F.: *Dipalmitoyl lecithin: Studies on surface properties.* *J. Appl. Physiol.* 20:779, 1965.
- 姜賢植: Ozone, 酸素 및 Epinephrine 이 肺表面活性物質에 미치는 影響에 關하여. *綜合醫學* 13:43, 1968.
- Liebow, A. A., Warren, S. and DeCoursey, E.: *Pathology of atomic bomb casualties.* *Am. J. Path.* 25:853, 1949.
- Little, B.J.: *Environmental hazards; Ionizing radiation.* *New Eng. J. Med.* 275:929, 1966
- Little, J. B.: *Cellular effects of ionizing radiation.* *New Eng. J. Med.*, 278:308, 1968.-a
- Little, J. B.: *Cellular effects of ionizing radiation (concluded).* *New Eng. J. Med.* 278:369, 1968.- b
- McKlin, C. C.: *The pulmonary alveolar mucoid film and the pneumocytes.* *The Lancet* 1:1099, 1954.
- Mendenhall, R. M. and Mendelhall, A. L.: *Lung alveolar surfactant, lung elasticity, and lung stability.* *Nature* 204:747, 1964.
- Morgan, T.E., Finley, T.N., Huber, G. L. and Fialkow, H.: *Alteration in pulmonary surface active lipoids during exposure to increased oxygen tension.* *J. Clin. Invest.* 44:1737, 1965.
- McClenahan, J. B. and Urtnowski, A.: *Effect of ventilation on surfactant and its turnover rate.* *J. Appl. Physiol.* 23:215, 1967.
- Morgan, T.E. and Edmunds, L. H. Jr.: *Pulmonary artery occlusion. III. Biochemical alterations.* *J. Appl. Physiol.*, 22:1012, 1967.
- Nars, K. and Heinemann, H.O.: *Lipid synthesis by rabbit lung tissue in vitro.* *Am. J. Physiol.* 208:118, 1965.
- Naimark, A.: *Pulmonary blood flow and the incorporation of palmitate-C 14 by dog lung in vivo.* *J. Appl. Physiol.* 21:1292, 1966.
- Pattle, R. E.: *Properties function and origin of alveolar lining layer.* *Nature* 175:1125, 1955.
- Stone, H.J., Bishop, V. S. and Guyton, A. C.: *Progressive changes in cardiovascular function after unilateral heart irradiation.* *Am. J. Physiol.* 206:289, 1964.
- 徐尙永: X-線 照射와 Actinomycin-D 의 單獨 및 併用이 白쥐 數種組織의 呼吸, 解糖代謝 및 核酸量에 對한 影響에 關한 實驗的研究. *大韓內科學會誌* 7:9, 1964.
- Sung, S.C.: *Effect of X-irradiation on DNA synthesis in Ehrlich ascites carcinoma cells.* *Canad. J. Biochem.*, 43:859, 1965.
- Scarpelli, E. M., Clutario, B.C. and Taylor, F. A.: *Preliminary identification of the lung surfactant system.* *J. Appl. Physiol.* 23:880, 1967.
- Tillotson, F. W. and Warren, S.: *Nucleoprotein changes in the gastrointestinal tract following total body roentgen irradiation.* *Radiology* 61:249, 1953.
- Taylor, F. B. Jr. and Abrams, M. E.: *Inhibition of clot lysis by surface active lipoprotein from lung and inhibition of its surface activity by fibrinogen.* *Physiologist.* 7:269, 1964.
- Tombropoulos, E. G.: *Fatty acid synthesis by subcellular fractions of lung tissue.* *Science* 146:1180, 1964.
- Tierney, D. F.: *Pulmonary surfactant in health and disease.* *Disease of Chest* 47:247, 1965.
- von Neergaard, K.: *Neue Auffassungen Über einen Grundbegriff der Atem-mechanik: Die Retraktionskraft der Lunge, adhaigig von der Oberflächenspannung in dem Alveolen.* *Ztschr. fd. ges. exper. Med.* 66:373, 1929.
- Vermund, H., Barnum, C. P., Huseby, R. A. and Stenstrom, K. W.: *The effect of roentgen radiation on the incorporation of radiophosphorus into nucleic acids and other constituents of mouse mammary carcinoma.* *Cancer Res.* 13:633, 1953-quoted from *Abstracts of Current Literature in Radiology*, 63:313, 1954.