

## 내독소 유도 급성폐손상에서 항히스타민의 역할

울산대학교 의과대학 강릉아산병원, 서울아산병원\* 내과학교실

정복현, 고윤석\*, 김원동\*

= Abstract =

### The Effect of Antihistamine on Endotoxin-induced Acute Lung Injury

Bock Hyun Jung, M.D., Younsuck Koh, M.D., Won Dong Kim, M.D

Division of Respiratory and Critical Care Medicine, University of Ulsan College of Medicine,  
Kangneung Asan Hospital and Asan Medical Center, Kangneung, Korea

**Background** : Sepsis-induced acute lung injury (ALI) is caused by many cellular and humoral mediators induced by an endotoxin. Histamine, which is widely distributed in the lungs and has been considered as an important mediator of sepsis. It increases P-selectin expression on the endothelial cell surfaces and induces IL-8 secretion. Therefore, an endotoxin-induced histamine may be related to neutrophil-mediated ALI by inducing the migration and activation of neutrophils in the lung tissue. However, the role of endogenous histamine in endotoxin-induced ALI has not been clarified. The purpose of this study was to investigate how endotoxin-induced ALI is influenced by endogenous histamine and to identify the possible mechanism of action.

**Methods** : The study consisted of 4 groups using *Sprague-Dawley* rats : 1) control group, where the rats were infused intratracheally by normal saline, 2) an endotoxin group, where lipopolysaccharide (LPS) was administered intratracheally 3) the H<sub>2</sub> receptor antagonist-treated group (H<sub>2</sub> group) and 4) the H<sub>1</sub> receptor antagonist-treated group (H<sub>1</sub> group), where H<sub>2</sub>-receptor blocker (ranitidine) and H<sub>1</sub>-receptor blocker (pyrilamine) were co-treated intravenously with the intratracheal administration of an endotoxin. The lung leak index using I<sup>125</sup>-BSA, the total protein and LDH concentration in the lung lavage fluid, myeloperoxidase (MPO) activity in the lung tissue, the pathologic score and the total number of neutrophils, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-10 in lung lavage (BAL) fluid were measured in each group as the indices of lung injury.

---

**Address for correspondence :**

Younsuck Koh, M.D.

Division of Pulmonary and Critical Care Medicine, Asan Medical Center, University of Ulsan College of Medicine  
388-1, Pungnap Dong, Songpa-gu, Seoul, 138-736, Korea

Phone : 02-3010-3134 Fax : 02-3010-6968 E-mail : yskoh@amc.seoul.kr

**Result** : Compared to the control group, the endotoxin group exhibited significant increases in all lung injury indices. Significant reductions in the endotoxin-mediated increases in lung leak index ( $p < 0.05$ ) were observed in both the H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> groups. In addition, the total protein ( $p < 0.05$ ) and LDH concentration ( $p < 0.05$ ) in the BAL fluid were also lower in the H<sub>2</sub> group compared to the endotoxin group. However, there was no change in the MPO activity in the lung tissue, the pathologic score and the total number of neutrophils in the BAL fluid in both the H<sub>2</sub> and H<sub>1</sub> groups compared to the endotoxin group. The increases in TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  and IL-10 concentrations in the BAL fluid observed in the endotoxin group were not reduced in the H<sub>2</sub> and H<sub>1</sub> groups.

**Conclusion** : Antihistamine attenuated the enhanced alveolar-capillary permeability induced by the endotoxin via the H<sub>2</sub> receptor. However the attenuating mechanism may not be related to the pathogenesis of neutrophil dependent lung injury. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2002, 52 : 219-229)

**Key words** : Endotoxin, Acute Lung Injury, Antihistamine, Endogenous Histamine, Neutrophil.

## 서 론

급성호흡곤란증후군(acute respiratory distress syndrome, ARDS)은 내과적 혹은 외과적 손상에 노출된 후 폐포-모세혈관 막의 투과성이 증가되어 양측성 미만성 폐부종이 나타나고 심한 저산소증을 초래하는 급성호흡부전 상태를 말한다<sup>1</sup>. 의학의 많은 발전에도 불구하고 ARDS에서는 발병 기전에 근거한 특이 치료가 확립되지 못하여 그 사망률의 뚜렷한 개선도 이루어지지 못하고 있다. ARDS의 병리기전은 여러 가지 유발 원인에 의한 생리학적 염증 반응으로 주로 폐포-모세혈관 막의 광범위한 손상을 초래하며 이러한 염증 반응에는 폐포대식세포, 호중구, 혈소판 및 TNF- $\alpha$ , proteases, arachidonic acid 대사물질 그리고 활성 산소기 등을 매개로 유발되는 것으로 알려져 있다<sup>2</sup>. 특히 패혈증에 의한 급성폐손상은 내독소에 의한 직접적인 손상과 내독소에 의해 활성화된 호중구, 폐포대식세포 및 혈관내피세포들로부터 유리되는 염증전구 사이토카인(proinflammatory cytokine)인 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  및 IL-8와 항염증 사이토카인(anti-inflammatory cytokine)인 IL-10, soluble TNF- $\alpha$ , IL-1 receptor antagonist 및 IL-8 autoantibody 등의 상호 작용들이 그 발병기전에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 왔다<sup>3,4</sup>. 그러나 이러한 물질들만으

로 급성폐손상의 병태생리가 모두 설명되지는 못하며, 최근 연구들에서 상기 매개물질 외에도 급성폐손상의 병태생리에 관여하는 다른 매개물질들에 대한 연구가 많이 진행되고 있다. 한편 히스타민은 많은 알러지 및 면역성 염증반응의 주요 매개물질로 알려져 있고 염증 반응에서 그 수용체의 종류 및 분포에 따라 다양한 반응을 나타내는 것으로 알려져 있다<sup>5</sup>. 히스타민은 폐 내에 널리 분포하며<sup>6</sup>, 기존에 알려진 염증전구물질의 조절작용에도 불구하고 급성폐손상에서 히스타민의 역할에 대해서는 아직 잘 알려져 있지 않다<sup>7,8</sup>. 저자들은 내독소로 유도되는 급성폐손상의 발병기전에 내인성 히스타민이 관여한다면 항히스타민제를 전처치 시 내독소에 의한 폐손상이 감소될 것으로 가정하였다. 본연구의 목적은 상기 가설을 검증하고 만약 항히스타민제에 의해 폐손상이 감소된다면 어떤 기전이 연관되는지 알아보고자 하였다.

## 연구 대상 및 방법

### 1. 사용 동물과 측정 지표들

몸무게 270-370gm인 *Sprague-Dawley* 수컷쥐 (Section of Laboratory animals, ASAN Institute for Life Science, Seoul, Korea)를 사용하여 정상군

은 생리식염수 0.5ml를 기도 내 투여하였고, 내독소균은 기도 내로 내독소(*Escherichia coli* lipopolysaccharide 055:B5, sigma, L2880, St. Louis, MO, USA)를 체중당 3mg을 투여하여 급성폐손상을 유발시켰다. 항히스타민 병용군은 내독소를 기도 내 주입 직전에 H<sub>1</sub>수용체 차단제 mepyramine (pyrilamine, Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA)을 체중 kg당 10mg 정주하거나(H<sub>1</sub>차치군), H<sub>2</sub>수용체 차단제 ranitidine (Sigma Chemical, St. Louis, MO, USA)을 체중 kg당 10mg을 정주하였다(H<sub>2</sub>차치군). 네 군 모두 약물 투여 5시간 후 BAL액을 얻어 총 백혈구수, 호중구수, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10, 총단백농도 및 lactic dehydrogenase (LDH)농도를 측정하였고, 폐포모세혈관으로부터 폐조직 내로 단백질 누출을 측정하기 위해 iodine-125 (DuPont, NEN, Boston, MA, USA)가 부착된 bovine serum albumin (I<sup>125</sup>-BSA)을 사용하여 폐단백누출지표(lung leak index)를 측정하였다. 또한 폐조직 내의 myeloperoxidase (MPO)활성도와 10% 포르마린(formalin)으로 고정된 폐조직을 이용하여 병리학적 손상지수(pathologic score)를 측정하였다.

## 2. 실험 방법

실험 쥐에 enflurane을 기도로 흡입 시켜 마취시킨 후 기도로 생리 식염수 혹은 내독소를, 정맥 내로 항히스타민을 투여한 후 곧 깨워서 다음 실험 때까지 쥐가 활동하도록 하였다. 각 실험군에서 ketamine과 xylazine을 이용한 복강 마취 후(내독소 투여 4시간 30분째) I<sup>125</sup>-BSA 1.0  $\mu$ Ci를 쥐의 정맥 내에 주입 20분후 개흉술을 시행하여 우심실을 통해 폐파린 200단위를 주입 후 30분이 경과되면 phosphate-buffered saline (PBS)을 관류펌프(masterflex pump, Cole-Parmer Instrument Co. Barrington, IL, USA)를 사용하여 폐를 관류 시키면서 양측 폐와 심장을 함께 떼어내었다. 우측 폐 내 I<sup>125</sup>-BSA 분당 측정량 대비 1ml의 혈중 내 I<sup>125</sup>-BSA의 분당 측정량

의 비율을 gamma-counter (Beckman, Fullerton, CA, USA)를 사용하여 측정하여 폐단백누출지표로 정의하였다.

좌측폐는 추출 즉시 -70°C에 냉동 보관후 조직분쇄기(Vertishear tissue homogenizer, Virtis, Gardiner, NY, USA)로 4ml의 phosphate buffer와 함께 분쇄 시킨 후 Sorvall RC-5B refrigerated centrifuge (Dupont Instruments, Irving, TX, USA)로서 4°C에서 30,000 $\times$ g로 30분간 원심분리하였다. Pellet을 얻으면 이를 다시 4ml phosphate buffer와 0.5% hexadecyl-trimethyl ammonium bromide로서 잘 섞은 후 다시 90초 동안 sonification (Kontes micro-ultrasonic cell disrupter, Vineland, NJ, USA)시켰다. 잘게 부서진 검체는 조직 내 존재하는 MPO억제제를 불활성화시키기 위해 60°C에서 2시간 동안 보온 시킨 뒤 O-dianisidine을 이용한 분광광도법(spectrometry)으로 폐장내 MPO의 활성도를 측정하였다.

조직학적 검사를 위해 흉곽에서 폐조직을 분리 후 30cmH<sub>2</sub>O 압력으로 10% 포르마린을 기도 내로 주입하여 폐조직을 고정한 후 좌-우측 폐를 각각 4개, 모두 8개의 paraffin절편으로 만들었다. Microtome으로 4-5 mm의 절편을 만들어 hematoxylin & eosin (H&E)염색을 하였다. 염색된 슬라이드를 광학현미경으로 200배(접안렌즈 10배 $\times$ 대물렌즈 20배)에서 한절편 당 5시야씩 총 40시야를 검색 하였다. 한시야 당 호중구의 침윤정도를 0-3으로 점수화하여 총점을 구하여 병리학적손상지수로 정의하였다.

약물 투여 후 5시간 뒤에 마취 유도 후 기도 내 16-gauge stub adaptor tube를 삽입하고 기도내로 생리식염수 6ml씩 3회 넣은 후 뒤 모은 총 BAL액을 검체로 사용하여 총백혈구수와 호중구의 백분율을 계산 하였다. 우심실에서 얻은 정맥혈은 즉시 원심분리 후 상층액을 분리하여 혈장으로 보관하였다. 혈장 및 BAL액의 총단백량은 BSA 농도를 표준으로 biconchonic acid (BCA) method<sup>9</sup>를 이용하여 구하였고 LDH는 kit (Roche Diagnostics, Mannheim,

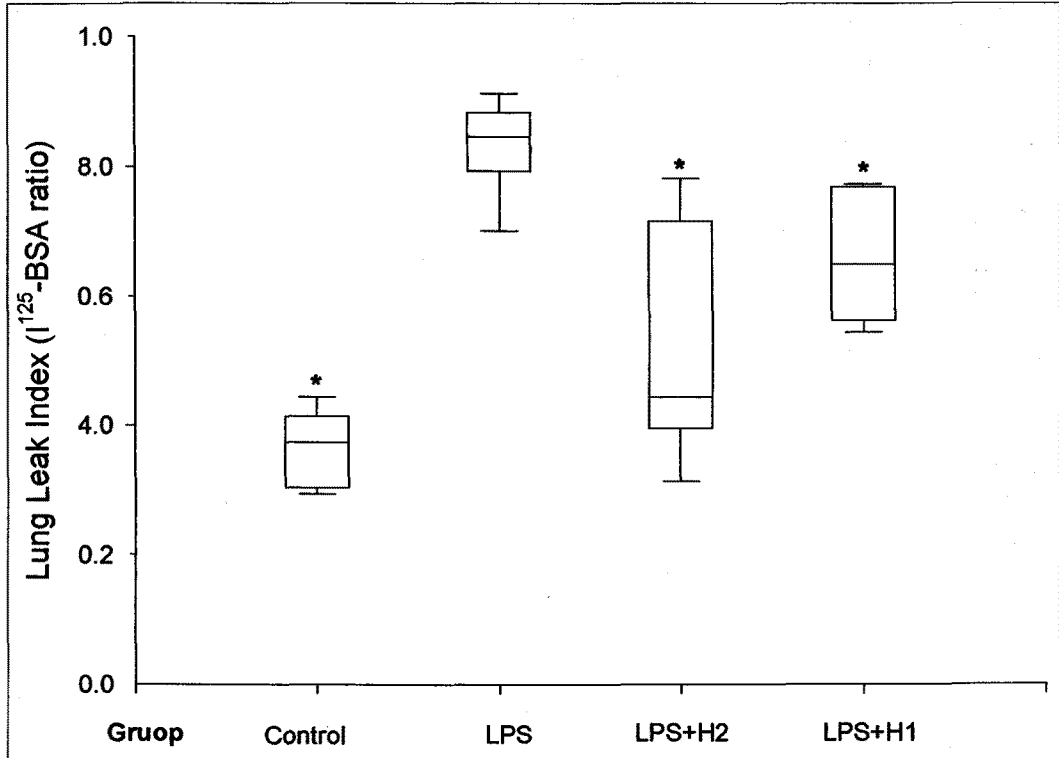


Fig. 1. Effect of H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> histamine receptor blockers on lung leak index in rats treated with lipopolysaccharide (LPS) intratracheally. \*p<0.05 compared with LPS group. Boxplot : Box=25-75 percentile ; Line within box indicate median value ; Whiskers indicate the minimum and maximum value.

Germany)에서 주어진 표준 프로토콜에 따라 측정하였다. IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL-10의 BAL액 내의 농도는 ELISA kits (Biosource, Camarillo, CA, USA)를 이용하여 측정하였다.

### 3. 통계처리

각 수치는 중앙값(median)과 범위로 표기하였다. 정상군, 내독소군, H<sub>1</sub> 처치군 및 H<sub>2</sub> 처치군의 폐손상 지표들 사이의 비교는 통계꾸러미 SPSS 9.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 nonparametric Kruskal-Wallis test를 시행 후 Duncan's multiple comparison으로 네 군의 폐손상 지표 사이의

차이를 비교하였고 두 군 사이의 비교는 Mann-Whitney U test로서 검증하였다. 유의 수준은 p<0.05로 하였다.

## 결 과

### 1. 폐포-모세혈관 막의 투과성 지표

폐단백누출지표는 정상군(n=6)은 0.38 (0.29-0.45), 내독소군(n=7)은 0.85 (0.68-0.92)로서 내독소군에서 정상군에 비해 유의하게 높았다 (p<0.01). 반면 H<sub>2</sub>처치군(n=5)은 0.44 (0.31-0.78), H<sub>1</sub>처치군(n=5)은 0.65 (0.54-0.77)로서 내독소군에 비해

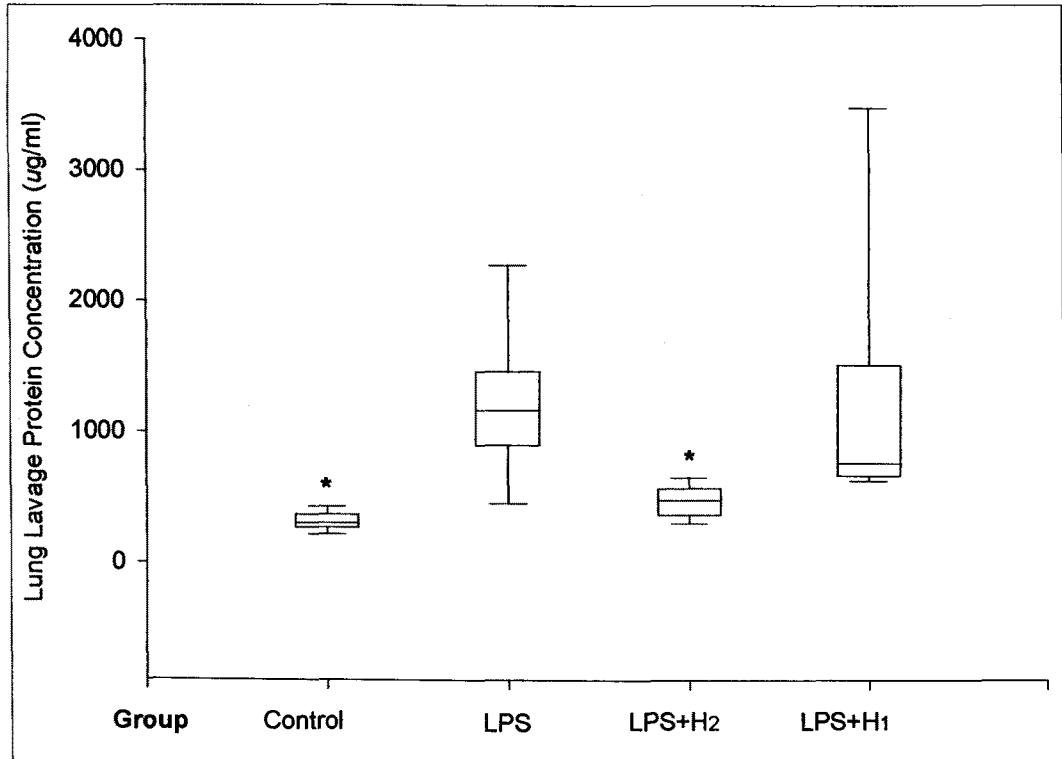


Fig. 2. Effect of H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> histamine receptor blockers on lung lavage protein concentration in rats treated with lipopolysaccharide (LPS) intratracheally. \*p<0.05 compared with LPS group.

각각 유의하게 낮았다(각 p<0.05) (Fig. 1). BAL 액내 총단백농도는 정상군 301.8 (215.2-429.2) µg/ml에 비하여 내독소군은 1,170.9 (454.4-2,287.5) µg/ml로서 유의하게 높았으며(p<0.01), H<sub>2</sub>처리군은 484.1 (302.9-659.0) µg/ml로서 내독소군에 비해 유의하게 낮았으나(p<0.05), H<sub>1</sub>처리군은 763.6 (629.3-3,485.7) µg/ml로서 내독소군과 유의한 차이가 없었다(Fig. 2). BAL액내 LDH농도는 정상군은 0.013 (0.011-0.026)unit/ml, 내독소군은 0.038 (0.022-0.114)unit/ml로서 내독소군에서 유의하게 높았고(p<0.01), H<sub>2</sub>처리군은 0.014 (0.011-0.015)unit/ml로서 내독소군에 비해 유의하게 낮았으나(p<0.01), H<sub>1</sub>처리군은 0.032 (0.012-0.070) unit/ml로서 내독소군에 비해 유의한 차이는 없었다(Fig.

3).

## 2. 호중구의 폐침윤 지표

호중구의 폐조직내 침윤과 활성도의 지표인 폐장내 MPO활성도는 정상군 1.72 (1.38-8.36)unit/g에 비하여 내독소군은 9.23 (6.10-16.16)unit/g 로서 유의하게 높았으며(p<0.01), H<sub>2</sub>처리군은 10.30 (9.23-12.52)unit/g, H<sub>1</sub>처리군은 13.21 (3.82-14.20) unit/g로서 내독소군에 비해 폐장내 MPO활성도의 유의한 차이가 없었다(Fig. 4). 호중구의 폐조직내 침윤도를 수치화한 병리학적손상지수도 정상군은 17(6-44)점에 비하여 내독소군은 78(63-93)점으로 유의하게 높았으나(p<0.01), H<sub>2</sub>처리군은 63(42-75)

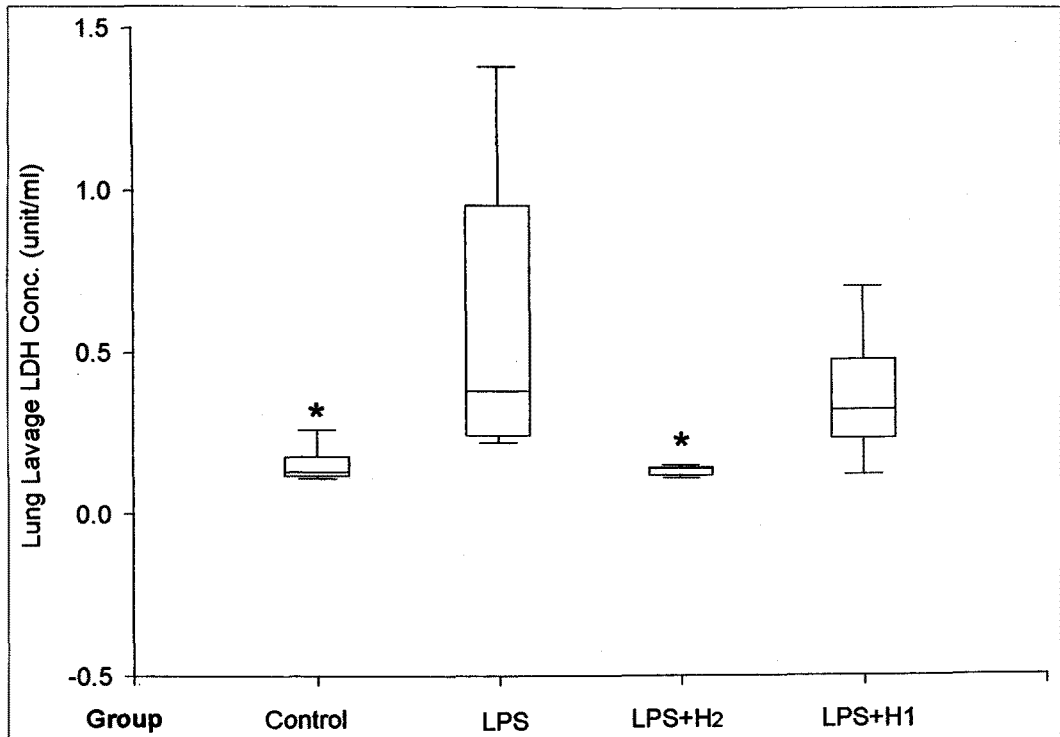


Fig. 3. Effect of H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> histamine receptor blockers on lung lavage LDH concentration in rats treated with lipopolysaccharide (LPS) intratracheally. \**p*<0.05 compared with LPS group.

점, H<sub>1</sub>처치군은 72(68-82)점으로 내독소균과 유의한 차이가 없었다. BAL액내 총백혈구수는 정상군은  $17.6 \times 10^6/\text{ml}$  ( $4.5-39.9 \times 10^6/\text{ml}$ ), 내독소균은  $76.8 \times 10^6/\text{ml}$  ( $32.7-112.0 \times 10^6/\text{ml}$ )으로 내독소균에서 유의하게 높았으며 (*p*<0.01), H<sub>2</sub>처치군은  $56.7 \times 10^6/\text{ml}$  ( $5.9-123.0 \times 10^6/\text{ml}$ ), H<sub>1</sub>처치군은  $51.6 \times 10^6/\text{ml}$  ( $34.5-95.6 \times 10^6/\text{ml}$ )으로 내독소균과 유의한 차이가 없었다. BAL액내 호중구수도 정상군은  $12.310^6/\text{ml}$  ( $1.8-36.2 \times 10^6/\text{ml}$ ), 내독소균은  $76.2 \times 10^6/\text{ml}$  ( $32.1-106.0 \times 10^6/\text{ml}$ )으로 내독소균에서 유의하게 높았으나 (*p*<0.01), H<sub>2</sub>처치군은  $56.1 \times 10^6/\text{ml}$  ( $3.5-119.0 \times 10^6/\text{ml}$ ), H<sub>1</sub>처치군은  $48.6 \times 10^6/\text{ml}$  ( $32.5-93.2 \times 10^6/\text{ml}$ )으로 내독소균과 유의한 차이가 없었다(Table 1).

### 3. 염증전구 사이토카인(proinflammatory cytokines) 농도

BAL액내 TNF- $\alpha$ 농도는 정상군 425 (98-777)pg/ml에 비하여 내독소균은 1,065 (1,010-1,108) pg/ml으로 유의하게 높았으며 (*p*<0.01), H<sub>2</sub>처치군은 1,067 (1,018-1,232) pg/ml, H<sub>1</sub>처치군은 1,151 (1,073-1,183) pg/ml으로 내독소균과는 유의한 차이가 없었다. IL-1농도는 정상군 75.6 (67.0-100.5) pg/ml에 비하여 내독소균 131.6 (105.2-240.8) pg/ml에서 유의하게 높았고 (*p*<0.01), H<sub>2</sub>처치군은 117.5 (81.8-173.7) pg/ml, H<sub>1</sub>처치군은 119.9 (89.0-175.3)pg/ml으로 내독소균에 비해 유의한 차이가 없었다. IL-10농도는 정상군 16.08 (14.90-17.76) pg

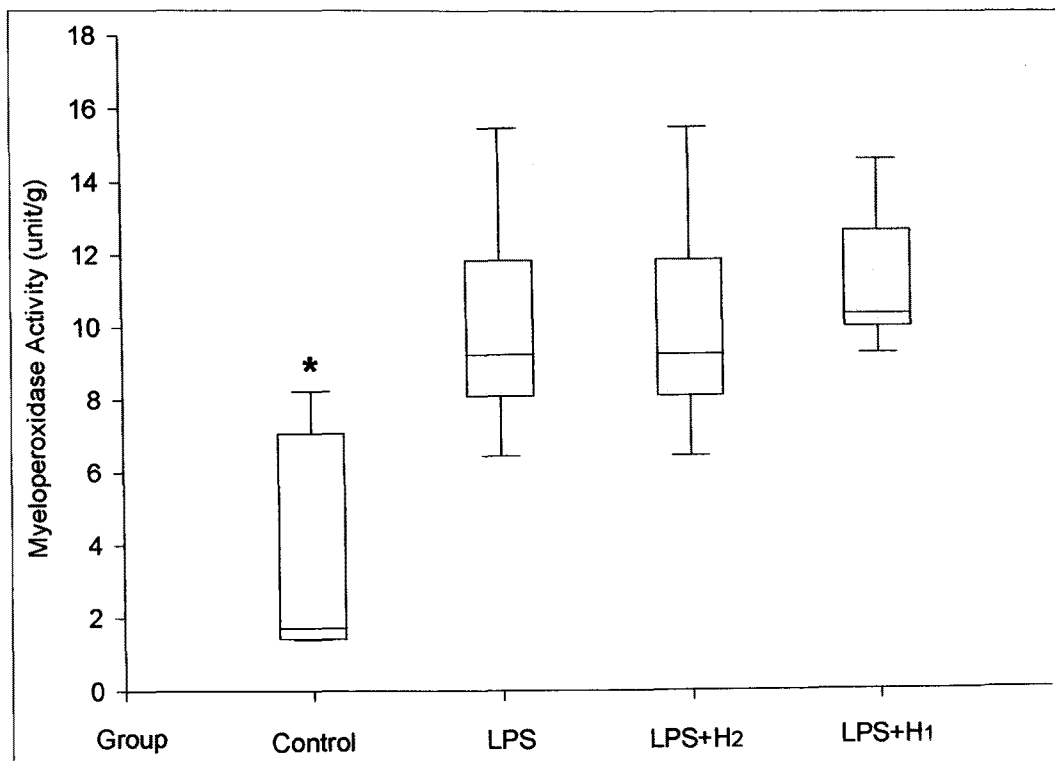


Fig. 4. Effect of H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> histamine receptor blockers on myeloperoxidase activity in rat lung treated with lipopolysaccharide (LPS) intratracheally. \*p<0.05 compared with LPS group.

Table 1. Effect of H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> histamine receptor blockers on lung lavage WBC and neutrophil numbers in rats treated with lipopolysaccharide (LPS) intratracheally

Group		Control	LPS	LPS+H <sub>2</sub>	LPS+H <sub>1</sub>
Total WBC (×10 <sup>6</sup> /ml)	Median	17.6	76.8	56.7	51.6
	Range	4.5-39.9	32.7-112.0	5.9-123.0	34.5-95.6
	p-value	<0.01		NS	NS
Neutrophil (×10 <sup>6</sup> /ml)	Median	12.3	76.2	56.1	48.6
	Range	1.8-36.2	32.1-106.0	3.5-119.0	32.5-93.2
	p-value	<0.01		NS	NS

p-value compared with LPS treated group (Mann-Whitney U test), NS : not significant

LPS : lipopolysaccharide 3 mg/kg intratracheally

LPS+H<sub>2</sub> : LPS along with ranitidine 10 mg/kg i.v.

LPS+H<sub>1</sub> : LPS along with mepyramine 10 mg/kg i.v.

**Table 2.** Effect of H<sub>1</sub> and H<sub>2</sub> histamine receptor blockers on lung lavage TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-10 cytokines in rats treated with lipopolysaccharide (LPS) intratracheally

Group		Control	LPS	LPS+H <sub>2</sub>	LPS+H <sub>1</sub>
Lung lavage TNF- $\alpha$ (pg/ml)	Median	425	1065	1067	1151
	Range	98-777	1010-1108	1017-1232	1073-1183
	p-value	<0.01		NS	NS
Lung lavage IL-1 $\beta$ (pg/ml)	Median	75.6	131.6	117.5	119.9
	Range	67.0-100.5	105.2-240.8	81.8-173.7	89.0-175.3
	p-value	<0.01		NS	NS
Lung lavage IL-10 (pg/ml)	Median	16.08	67.31	43.28	22.66
	Range	14.90-17.76	20.85-162.85	17.16-89.86	18.50-77.06
	p-value	<0.01		NS	NS

/ml에 비해 내독소군은 67.31 (20.85-162.85) pg/ml으로 유의하게 증가되었으나(p<0.01), H<sub>2</sub>처리군은 43.28 (17.16-89.86) pg/ml, H<sub>1</sub>처리군은 22.66 (18.50-77.06) pg/ml으로 내독소군과 유의한 차이가 없었다(Table 2).

## 고찰

ARDS는 병리기전은 여러가지 세포성 및 체액성 매개물질들간의 복잡한 상호작용에 의해 초래된다. 특히 급성 호중구성 염증반응은 급성폐손상의 주요기전 중 하나로 알려져 있으나<sup>10,11</sup> 아직도 다양하고 복잡한 발생기전에 대해 충분히 밝혀져 있지않다. 본연구에서 히스타민을 급성폐손상의 주요 매개물질로 주목한 것은 히스타민은 폐혈관 주위에 분포하는 비만세포 (mast cell)에 풍부하게 존재하며 폐포대식세포에서 분비되는 histamine releasing factor나 IL-1 등에 의해 비만세포에서 주로 분비되므로<sup>12</sup> 내독소로 증가된 IL-1에 의해 그 분비가 증가될 것으로 예상되기 때문이었다. 또한 히스타민의 염증 유발 조절 작용 중 에서 혈관 내피세포에 분포하는 히스타민 수용체에 작용하여 호중구의 조직으로의 이동에 관여하는 P-selectin의 표현을 내피세포 표면상에서 증가시키며<sup>13</sup> 염증세포 특히 호중구의 활성화에 중요한 작용을 하

는 IL-8의 분비를 내피세포에서 촉진시키는 것으로 알려져 있으므로<sup>15,16</sup> 내독소로 유도된 급성폐손상 발생에서 호중구의 조직 내 이동 및 활성화 기전에 관여할 수 있으며 특히, 호중구 의존성 폐손상에 관여할 것으로 추정된다. 만약 이러한 추정들이 맞다면 항히스타민으로 폐조직 내 히스타민의 작용을 차단하면 내독소로 유도되는 호중구의 폐 조직내로의 침윤이 감소될 수 있을 것이다. 그러나 본 연구에서 내독소에 의해 증가된 폐조직 내 MPO 활성도, 병리학적 손상지수 및 BAL액 내 호중구수 등은 H<sub>2</sub>처리군 과 H<sub>1</sub>처리군 모두에서 내독소군에 비해 유의하게 감소되지 않았다. 그러므로 항히스타민의 병용 처치만으로는 내독소로 유도된 호중구의 폐조직 내 침윤과 폐포강내로의 이동을 감소시키지는 못하며 내독소로 유도된 내인성 히스타민은 내독소에 의한 호중구의 폐 침윤과정에 큰 역할이 없을 것으로 사료되었다. 이러한 결과는 TNF- $\alpha$ 로 유도되는 Sprague-Dawley 쥐의 급성폐손상 모형에서 히스타민을 병용투여 시 TNF- $\alpha$ 로 유도되는 호중구의 폐내 침윤이 증폭되지 않는다고 보고한 고 등<sup>17</sup>의 연구와 일치하는 소견이다. 반면, 본 연구결과는 히스타민이 주로 H<sub>1</sub>수용체를 통해서 P-selectin의 발현을 증가시켜 장간막 세정맥에서 호중구의 조직 내 침윤을 증가시킨다는 Kubes등<sup>14</sup>의 보고와는 달랐는데 이는 세포내 히스타민 수용체의 종류, 분포, 수



및 availability에 따라 각 조직 및 세포에서 히스타민이 다른 작용을 나타낼 수 있으므로 폐장과 장간막 간의 차이에 따른 것일 수도 있으나 그보다는 내독소에 의해 유도되는 다른 강력한 호중구 chemoattractant들의 작용들 때문에 내인성 히스타민의 작용 차단만으로는 호중구의 폐내 침윤을 감소시키지 못한 것으로 사료된다. 이러한 추정은 본 연구에서 내독소로 그 생성이 증가된 강력한 호중구 chemoattractant들인 TNF- $\alpha$  및 IL-1 $\beta$ 가 H<sub>1</sub>처치군 및 H<sub>2</sub>처치군 모두에서 유의하게 감소되지 않은 점으로 뒷받침되었다.

반면, H<sub>2</sub>수용체 차단제를 내독소와 병용 투여시 폐 단백질누출지표, BAL액 내 총단백농도 및 LDH농도가 내독소군에 비해 유의하게 감소되었는데 이는 내인성 히스타민이 내독소로 유도된 폐포모세혈관 내피세포 및 폐포상피세포의 투과성 증가에 어떤 기전을 통해서든 관여된 것을 시사하는 소견이다. H<sub>2</sub>수용체 차단제가 폐포-모세혈관 막의 투과성을 감소시키는 기전으로는 항히스타민이 비록 내독소로 유도되는 호중구의 침윤을 감소시키지 못하나 동원된 호중구의 활성화를 억제하였을 가능성이 있으나 이는 본 연구의 결과만으로는 알 수 없고 본 연구 모형에서 혈중 및 BAL액에서 호중구를 분리한 후 항히스타민의 전 처치 여부에 따른 호중구의 활성 정도를 여러 지표로 비교하여 보아야 알 수 있을 것이다. 또 다른 가능성은 급성폐손상의 발생기전 중 염증전구 사이토카인과 항염 매개물질간의 균형이 매우 중요하므로 히스타민이 이러한 사이토카인의 생성에 연관되었을 가능성도 있으나<sup>5,18</sup> 본연구에서 대표적인 항염증 사이토카인 IL-10과 전염증 사이토카인 TNF- $\alpha$  및 IL-1 $\beta$  농도의 유의한 변화가 없었다. 그러므로 항히스타민제가 사이토카인 생성의 변화를 일으켜 폐포-모세혈관 막의 투과성 감소를 초래한 것이 아니라 폐포모세혈관 및 폐포상피세포에 직접 작용하여 투과성을 감소시킨 것으로 사료되나 이에 대해서 추후 연구가 필요하다.

H<sub>1</sub>처치군에서 I<sup>125</sup>-BSA를 사용하여 측정된 폐단백

누출지표는 내독소군에 비해 유의하게 감소하였으나 BAL액내 총단백농도 및 LDH농도는 유의한 감소를 보이지 않았는데 이는 H<sub>1</sub>수용체 차단제가 내독소로 유도된 폐포혈관 내피세포로부터 단백 누출의 증가는 감소시키나 폐포상피세포의 투과성 증가에는 영향을 미치지 못한 것을 시사하는 결과이다. 이의 가능한 기전으로는 내인성 히스타민이 모세혈관 내피세포의 H<sub>1</sub>수용체를 통하여 내피세포들의 기계적 수축을 일으켜 내피세포의 간격을 증가시킴으로써 모세혈관 내피세포의 투과성을 더욱 증폭시킴으로서 주로 폐간질 림프액 내 단백질농도를 증가시키나 폐포상피세포의 투과성 증가로 인한 폐포 부종은 일으키지 않는다는 보고들이<sup>19-21</sup> 이러한 추정을 뒷받침 한다. 그러나 이러한 기전이 본 결과의 H<sub>2</sub>수용체 차단제에 의한 폐포-모세혈관 막의 투과성 감소 기전에도 관련이 있는 지는 확실하지 않다.

급성폐손상 병인에 호중구가 중요한 역할을 하나 호중구감소증 환자에서도 ARDS이 발생하며<sup>22</sup>, 주요 매개물질로 알려진 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  등의 사이토카인에 대한 단클론항체(monoclonal antibody)나 수용체 길항제(receptor antagonist) 투여로서 급성폐손상이 완전히 경감되지 않으므로<sup>23,24</sup> 호중구 비의존성 매개물질도 급성폐손상의 중요한 기전으로 작용할 것으로 여겨지고 있다. 호중구와는 별개의 매개물질로서 폐포-모세혈관 막의 투과성 증가에 관여하는 매개물질로는 arachidonate-lipoxygenase 대사물<sup>25</sup>, vascular permeability factor<sup>26</sup> 등이 있으며 히스타민도 호중구 비의존성 기전을 통해 폐포-모세혈관 막의 투과성에 관여하는 매개물질로 작용하는 것으로 사료된다. 본실험 모형에서 H<sub>2</sub>수용체 차단제는 호중구의 폐내 침윤을 감소시키지 못하였으나 폐포-모세혈관 막의 증가된 투과성을 감소시켰다. 이는 H<sub>2</sub>수용체 차단제가 폐포-모세혈관 막의 투과성 증가를 막아줄 수 있는 치료보조제로서의 가능성을 시사하며 내인성 히스타민이 폐혈증으로 유도되는 급성폐손상의 발생 기전에 미치는 영향에 대한 추후 연구가 필요하리라 사료된다.

## 요 약

### 연구배경 :

히스타민은 폐 내에 널리 분포하며 강력한 모세혈관 투과성 증가 작용이 있을 뿐만 아니라 내피세포 표면에서 P-selectin의 발현을 증가 시키고 IL-8 분비를 촉진시켜 호중구의 조직 내 이동 및 활성화에 관여한다고 보고되고 있다. 그러므로 내독소로 유도되는 급성폐손상의 발병기전에 내인성 히스타민이 호중구 의존성 폐손상의 주요 매개물질로 작용할 수 있을 것으로 추정되나 자세한 역할은 아직 잘 알려져 있지 않다. 저자들은 내독소로 유도되는 급성폐손상의 발병기전에 내인성 히스타민이 관여한다면 항히스타민제를 전처치 시 내독소에 의한 폐손상이 감소될 수 있는지 알아보고 폐손상이 감소된다면 어떤 기전이 연관되는지 알아보고자 하였다.

### 방 법 :

Sprague-Dawley 쥐를 이용하여 생리 식염수를 기도내 투여한 정상군, 내독소를 기도내 투여한 내독소군, H<sub>1</sub>수용체 차단제 (mepyramine) 및 H<sub>2</sub>수용체 차단제 (ranitidine)를 정주 후 내독소를 투여한 H<sub>1</sub>처치군 및 H<sub>2</sub>처치군 등 모두 네군으로 나누어 처치 5시간 후 급성폐손상의 여러 지표들을 측정 비교하였다.

### 결 과 :

내독소군은 정상군에 비해 측정된 폐손상지표들이 모두 유의하게 높았다(각  $p < 0.01$ ). H<sub>2</sub>처치군에서는 폐단백누출지표, BAL액내 총단백 및 LDH농도가 모두 내독소군에 비해 유의하게 낮았다(각  $p < 0.05$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ). H<sub>1</sub>처치군에서는 내독소군에 비해 폐단백누출지표 만이 유의하게 낮았다( $p < 0.05$ ). 그러나 H<sub>1</sub>처치군 및 H<sub>2</sub>처치군에서 측정된 MPO 활성도, 병리학적 손상지수 와 BAL액내 호중구수, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  및 IL-10 농도는 내독소군과 차이가 없었다.

### 결 론 :

백서에서의 내독소 유도 급성폐손상 모형에서 H<sub>2</sub>수용체 차단제는 폐포-모세혈관 막의 증가된 투과성을 유

의하게 감소시키나 호중구의 폐내 침윤은 감소시키지 못하였다.

## 참 고 문 헌

- Bernard GR, Artigas A, Brigham KL, Carlet J, Falke K, Hudson L, et al. Report of the American-European consensus conference on ARDS : definitions, mechanisms, relevant outcomes and clinical trial coordination. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:818-24.
- Lorraine BW, Michael AM. The acute respiratory distress syndrome. *NEJM* 2000;342:1334-49.
- Pugin J, Ricou B, Steinberg KP, Suter PM, Martin TR. Proinflammatory activity in bronchoalveolar lavage fluids from patients with ARDS, a prominent role for interleukin-1. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1850-6.
- Armstrong L, Millar AB. Relative production of tumor necrosis factor alpha and interleukin 10 in adult respiratory distress syndrome. *Thorax* 1997;52:442-6.
- Falus A, Meretey K. Histamine : an early messenger in inflammatory and immune reactions. *Immunology today* 1992;13:154-6.
- Barnes PJ. Histamine receptors in the lung. *Agents Actions* 1991;33:103-22.
- Brigham KL, Owen PJ. Increased sheep lung vascular permeability caused by histamine. *Circ Res* 1975;37:647-57.
- Brigham KL, Padove SJ, Bryant D, McKeen CR, Bowers RE. Diphenhydramine reduces endotoxin effects on lung vascular permeability in sheep. *J Appl Physiol* 1980;49:516-20.
- Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, Mallia AK, Gartner FH, Provenzano MD, et al. Mea-

- surement of protein using bicinchoninic acid. *Anal Biochem* 1985;150:76-85.
10. Bachofen M, Weibel ER. Structural alternations of lung parenchyma in the acute respiratory distress syndrome. *Clin Chest Med* 1982;3:35-56.
11. Matthay MA. Conference summary: acute lung injury. *Chest* 1999;116 suppl:119s-126s.
12. Subramanian N, Bray MA. Interleukin 1 release histamine from human basophils and mast cells in vitro. *J Immunol* 1987;138:271-5.
13. Jones DA, Abbassi O, McIntire LV, McEver RP, Smith CW. P-selectin mediates neutrophil rolling on histamine-stimulated endothelial cells. *Biophys J* 1993;65:1560-9.
14. Kubes P, Kanwar S. Histamine induces leukocyte rolling in post-capillary venules. A P-selectin-mediated event. *J Immunol* 1994;152:3570-7.
15. Perretti M, Harris TG, Flower RJ. A role for endogenous histamine in interleukin-8-induced neutrophil infiltration into mouse air-pouch: investigation of the modulatory action of systemic and local dexamethasone. *Br J Pharmacol* 1994;112:801-8.
16. Jeannin P, Delneste Y, Gosset P, Tonnel AB. Histamine induces Interleukin 8 secretion by endothelial cells. *Blood* 1994;84:2229-33.
17. 고유석, Hybertson BM, Jepson EK, 김미정, 임채만, 이상도, 등. The study for the roles of intratracheally administered histamine in the neutrophil-mediated acute lung injury in rats. *결핵 및 호흡기질환* 1996;43:308-22.
18. Sirois J, Menard G, Moses AS, Bissonnette EY. Importance of histamine in the cytokine network in the lung through H<sub>2</sub> and H<sub>3</sub> receptors: Stimulation of IL-10 production. *J Immunol* 2000;164:2964-70.
19. Majno G, Gilmore V, Leventhal M. On the mechanism of vascular leakage caused by histamine-type mediators. *Circ Res* 1967;21:833-
20. Pietra G, Szidon J, Leventhal M, Fishman A. Histamine and interstitial pulmonary edema in the dog. *Circ Res* 1971;28:323-37.
21. Joris J, Majno G, Ryan GB. Endothelial contraction in vivo: a study of the rat mesentery. *Virchows Arch* 1972;42:73-83
22. Ognibene FP, Martin SE, Parker MM, Schlesinger T, Roach P, Burch C, et al. Adult respiratory distress syndrome in patients with severe neutropenia. *New Engl J Med* 1986;315:547-51.
23. Abraham E, Jesmok G, Tuder R, Allbee J, Chang YH. Contribution of tumor necrosis factor- $\alpha$  to pulmonary cytokine expression and lung injury after hemorrhage and resuscitation. *Crit Care Med* 1995;23:1319-26.
24. Pruitt JH, Copeland EM 3rd, Moldawer LL. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism in sepsis, systemic inflammatory response syndrome, and septic shock. *Shock* 1995;3:235-51.
25. Cochrane CG, Spragg R, Revak SD. Pathogenesis of the adult respiratory distress syndrome: Evidence of oxidant activity in bronchoalveolar lavage. *J Clin Invest* 1983;71:754-61.
26. Collins PD, Connolly DT, Williams TJ. Characterization of the increase in vascular permeability induced by vascular permeability factor in vivo. *Br J Pharmacol* 1993;109:195-9.