

Original Article

부자 추출물이 LPS로 유도된 C57BL6 마우스의 패혈증 연관 급성 폐 손상에 미치는 영향

이인승^{1,#}, 부민아², 심재욱², 백승호¹, 박진봉^{2,*}

¹동국대학교 한의과대학 병리학교실, ²경희대학교 한의과대학 약리학교실

Effect of Water Extract of Aconiti Lateralis Preparata Radix on Lung Injury in LPS-induced Septic C57BL6 Mice

In-Seung Lee^{1,#}, Mina Boo², Jae Ouk Sim², Seung-Ho Baek¹, Jinbong Park^{2,*}

¹Department of Pathology, College of Korean Medicine, Dongguk University

²Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Kyung Hee University

Objectives: Tsepsis and subsequent acute lung injury (ALI) is a critical state of health caused by infection or endotoxins. This study was conducted to evaluate the effect of Water Extract of Aconiti Lateralis Preparata Radix (AR) on lipopolysaccharide (LPS)-induced sepsis in C57BL/6 mice.

Methods: Male C57BL/6 mice were intraperitoneally injected with LPS to induce sepsis and ALI. AR was orally fed twice at 30 min and 180 min after LPS injection. At 24 h post injection, mice were sacrificed, bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and blood was collected, and lung tissue was harvested. Hematoxylin and eosin staining was performed in lung tissues, wet/dry ratio of the lung tissue was measured, and the serum cytokine and chemokine levels were analyzed.

Results: AR revoked the LPS-induced pathological changes in lung tissues, such as abnormal histological structures, immune cell infiltration and lung edema. Also, AR suppressed the neutrophil infiltration into the lung which was greatly increased by LPS injection based on the cell content of collected BALF. Serum cytokines and chemokines were measured, and AR reversed the LPS-induced increase of cytokines such as interleukin 1 beta, interleukin 6, tumor necrosis factor alpha and chemokines including C-X-C motif chemokine ligand 1 and 2.

Conclusion: TAR showed a protective effect in the pathological progress of LPS-induced ALI. Especially, AR suppressed lung edema and infiltration of neutrophils by inhibiting cytokine and chemokine expressions. Such results demonstrate the potential of AR as a therapeutic agent for sepsis and sepsis-induced ALI.

Keywords : Sepsis, Acute Lung Injury, Lipopolysaccharide, Aconitii Laterails Perparata Radix

* Corresponding author: Jinbong Park, Department of Pharmacology, College of Korean Medicine, Kyung Hee University, 26 Kyungheedae-ro, Dongdaemun-gu, Seoul 02447, Republic of Korea.

· Tel : +82-2-961-9191 · E-mail : thejinbong@khu.ac.kr

First author: In-Seung Lee, 1Department of Pathology, College of Korean Medicine, Dongguk University, 32 Dongguk-ro, Ilsandong-gu, Goyang-si 10326, Republic of Korea

· Tel : +82-31-961-5840 · E-mail : leejohn1031@gmail.com

· Received : 06 Dec 2022 · Revised : 08 Dec 2022 · Accepted : 26 December 2022

서론

패혈증(sepsis)이란 세균, 곰팡이, 기생충 및 바이러스 등의 미생물에 감염되어 급격한 체온 변화, 빈맥과 호흡수 증가, 백혈구 수의 병리적 증가 또는 감소 등의 전신에 걸친 염증 반응이 나타나는 상태로 정의한다. 패혈증은 전 세계적으로 매년 600만 명의 사망자가 발생하는 질환임에도 불구하고, 그 중요성에 비해 관심을 충분히 끌지 못하고 있는 실정이다. 우리나라에서는 최근 10년간 패혈증 사망자 수가 지속적으로 증가하고 있어 이로 인한 사회적 부담도 급격히 증가하고 있다¹⁾.

패혈증의 증상은 질병의 원인이 되는 감염원의 종류에 따라서 다양하지만, 사망의 큰 원인은 전신 염증성 반응 증후군(systemic inflammatory response syndrome)으로 인해 발생하는 다발성 장기손상(multiple organ damage)에 의함이다²⁾. 손상되는 장기에는 폐, 간, 신장 등이 포함되어 있으며, 이 중 급성 폐손상(acute lung injury)가 발생할 경우 급성 호흡장애 증후군(acute respiratory distress syndrome)까지 이어지며 생존율에 부정적인 영향을 미친다³⁾. 실험적으로는 패혈증을 모사하기 위해 박테리아를 복강 내 혹은 정맥 내 주입하는 모델, 수술적으로 맹장(cecal) 또는 대장(colon)의 손상을 유도하는 모델과 더불어 내독소(endotoxin)인 박테리아 지질다당류(lipopolysaccharide, LPS)를 주입하는 마우스 모델을 활용하고 있다⁴⁾.

패혈증은 그 원인이 다양한 바, 한의학적으로 일치하는 변증이 있다고 보기 어려우나, 크게는 함중陷證의 범주로 볼 수 있다. 함중陷證이란 창양瘡瘍에서 사독邪毒이 안으로 빠져 들어가는 병증으로 사기가 성盛하거나 정기正氣가 부족하여 발생하며, 예후가 좋지 않다. 특히 본 연구는 기단핍력氣短乏力, 완복창추脘

腹脹墜, 설사泄瀉, 탈항脫肛, 부인음정婦人陰挺 등이 주증이고, 요산육절腰痠欲折, 유뇨遺尿, 경수루하經水漏下, 유산流產, 신피뢰인神疲懶言, 두훈목현頭暈目眩 등이 차증이며, 설담반舌淡胖, 맥세완무력脈細緩無力이 나타나는 기함중氣陷證의 측면에서 패혈증 증상을 이해하고, 이에 따라 부자 추출물의 패혈증 개선 효과를 연구해보고자 하였다⁵⁾.

부자(附子, *Aconiti Lateralis Preparata Radix*)는 미나리아재비과(Ranunculaceae) 오두의 자근(子根)을 가공한 것으로⁶⁾ 성미는 성질은 뜨겁고, 맛은 맵고 달며 유독하다고 하였으며(性大熱, 味辛甘, 有大毒). 귀경은 심경, 비경, 신경(心脾腎)에 해당한다⁷⁾. 효능은 산한제습散寒除濕, 회양보화回陽補火하여 각기수종脚氣水腫, 대한망양大汗亡陽, 비설냉리脾泄冷痢, 소아만경小兒慢驚, 심복냉통心腹冷痛, 위벽구련蹙臍拘攣, 음성격양陰盛格陽, 음저창루陰疽瘡漏, 일절침한고랭一切沈寒痼冷, 토이궤역吐痢厥逆, 풍한습비風寒濕痺 한 것을 치료한다⁷⁾.

본 연구에서는 LPS로 유도된 패혈증 마우스에서 ALI의 소견 중 폐 조직의 병리적 손상에 대한 부자의 개선 효과를 탐색하였으며, 패혈증 및 SIRS의 대표적인 증상인 염증성 사이토카인 증가에 대한 조절 효과 또한 연구하였다.

재료 및 방법

1. 약물의 조제

본 연구에 사용된 부자는 음니허브에서 구입하여 사용하였다. 1000 mL의 증류수에 부자 100g을 넣고 100°C에서 2시간 동안 전탕하여 추출한 뒤, 그 액을 여과 및 동결건조하여(수율 11%) 사용하였다. 획득한 동결건조분을 3차 증류수에 녹여서 실험에 이용하였다.

2. 폐혈종의 유발

실험동물인 6주령 수컷 C57BL6 마우스(평균 체중 22 g)은 대한바이오링크(충북 음성)로부터 구입하였다. 항온항습 시설에서 7일 간의 적응기를 거친 후 폐혈종 유도를 위해 LPS (Sigma-aldrich)를 15 mg/kg의 용량으로 복강주사(intraperitoneal injection)하였다. LPS 주입 30분과 180분 후 부자 추출물을 100 mg/kg 용량으로 총 2회 경구투여하였으며 LPS 주입 24 시간 후 마우스는 CO2로 마취하여 안와정맥총을 통해 채혈한 뒤 경추탈골을 통해 희생되었다. 모든 동물실험 과정은 National Institutes of Health의 실험동물관리 규정(Principle of Laboratory Animal Care)에 준거하여 경희대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 수행되었다(승인번호: KHSASP-22-131).

3. 폐 조직의 헤마톡시린-에오신(hematoxylin & eosin, H&E) 염색

H&E staining을 실시하기 전 슬라이드 탈파라핀해주기 위해 슬라이드를 xylene이 담겨져 있는 jar에 5분씩 2번 dipping 한 후, xylene 제거 및 합수를 위해 100% → 90% → 80% → 70% ethanol 순으로 각각 5분씩 dipping 해주고 마지막으로 D.W에 1분 동안 dipping 후, hematoxylin에 2분 30초 동안 담근 뒤 흐르는 증류수에 여러 번 세척 하고, 0.3% Hcl-Alcohol로 1~2회 dipping 하고 바로 흐르는 증류수에 수세한다. 그 후, 0.1% Ammonia water에 30초간 dipping 하고 바로 흐르는 증류수에 마찬가지로 수세해준다. 0.1% acetic acid가 포함된 에오신에 2분간 담근 다음 70%, 95% ethanol에 차례로 각각 1분 간 세척한 후 xylene에 2번 나누어 각각 1분씩 dipping 하였다. 마지막으로 cover-slide를 부착한 후, 광학현미경(EVOS microscope, Thermo Fisher)을 통해 관찰하였

다.

4. 습건중량비의 측정

LPS 주입으로 인한 폐 손상 시 동반되는 폐 부종의 정도를 측정하기 위해 우선 적출한 폐 조직의 무게를 측정하여 습중량을, 해당 조직을 60°C의 건조 오븐 내에서 48시간 동안 두어 수분을 증발시킨 후에 조직의 건중량을 측정하여 습건중량비(dry/wet ratio)를 구하였다.

5. 기관지폐포세척액 채취 및 면역세포 염색

기관지폐포세척을 통해 기관지폐포세척액(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)을 채취하였다. 삼관을 통하여 모집된 BALF를 cytopsin(한일과학) 기기에서 1,000 rpm에서 5분간 원심분리를 시행하여 BALF 내의 세포를 슬라이드에 부착시킨 후, Hema 3 염색약(Fisher Scientific)을 통해 염색하였다. 슬라이드의 관찰은 광학현미경(EVOS microscope, Thermo Fisher) 하에서 이루어졌다.

6. 효소결합면역흡착분석법(Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA)

CO₂로 혈청 내 사이토카인과 케모카인 발현 측정을 위해서 R&D Systems의 Mouse IL-1 beta/IL-1F2 Quantikine ELISA Kit (MLB00C), Mouse IL-6 Quantikine ELISA Kit (M6000B), Mouse TNF-alpha Quantikine ELISA Kit (MTA00B), Mouse CXCL1/KC Quantikine ELISA Kit (MKC00B-1), Mouse CXCL2/MIP-2 Quantikine ELISA Kit (MM200) 제품이 실험에 이용되었다.

결 과

1. LPS로 유도된 패혈증 마우스에서 부자추출물의 폐 조직 손상 개선 효과

LPS 15mg/kg를 복강주입한 마우스를 24시간 후 희생한 뒤 폐 조직을 적출하여 조직학적 소견의 변화를 관찰하였다. 전반적인 폐 손상의 정도를 H&E 염색 하에서 관찰한 결과, LPS 처리군에서 폐포 전반에 많은 염증성 세포들의 침윤이 일어남을 확인할 수 있었으며, 폐모세혈관 주위 및 폐포 내 출혈과 간질의 비후 및 부종 등이 관찰되었다. 반면 부자 추출물을 투여한 군에서는 LPS 군에 비해 면역세포의 침윤이 감소하고 부종이 줄어들었다(Figure 1A).

정상대조군에서 6.06 ± 0.49 을 보인 습건중량비는 LPS 처리군에서 9.19 ± 0.68 으로 증가하였다($p=0.017$). LPS에 의해 증가한 습건중량비는 부자 투여군에서 8.51 ± 0.41 로 감소되는 경향을 보였으나 통계적 유의성은 없었다(Figure 1B).

2. LPS로 유도된 패혈증 마우스에서 부자추출물의 기관지 및 폐포 내 호중구 침윤 감소 효과

BALF에 포함된 세포를 염색하여 특히 호중구의 수를 센 결과 LPS로 패혈증을 유도한 마우스에서 큰 폭으로 증가함을 알 수 있었다. 정상 마우스의 BALF에는 적은 수의 대식세포만 확인되고 호중구는 거의 관찰되지 않은 반면(5.75 ± 1.16 개), LPS를 투여한 마우스에서는 호중구의 개수가 241.75 ± 21.47 개로 약 42배 증가하였다. 부자 추출물을 경구투여한 마우스에서는 관찰되는 호중구의 수가 166.5 ± 10.44 개로 감소함에 따라(Figure 2A, B), 부자가 패혈증이 진행되는 과정에서 호중구의 폐포 침윤을 억제하는 효과를 지님을 확인하였다.

3. LPS로 유도된 패혈증 마우스에서 부자추출물의 혈청 내 사이토카인 및 케모카인

염증성 반응에 대한 부자추출물의 효과를 확인하기 위해 마우스의 안와정맥에서 채취한 혈액에서 혈청을 분리하여 혈청 내 사이토카인의 양을 측정하였다. 그 결과, 마우스의 혈청 내 염증성 전구 사이토카인 인터루킨 1 베타(interleukin 1 beta, IL-1 β), IL-6, 종양괴사인자 알파(tumor necrosis factor alpha, TNF- α)의 발현이 정상 마우스에 비해 LPS 유도 패

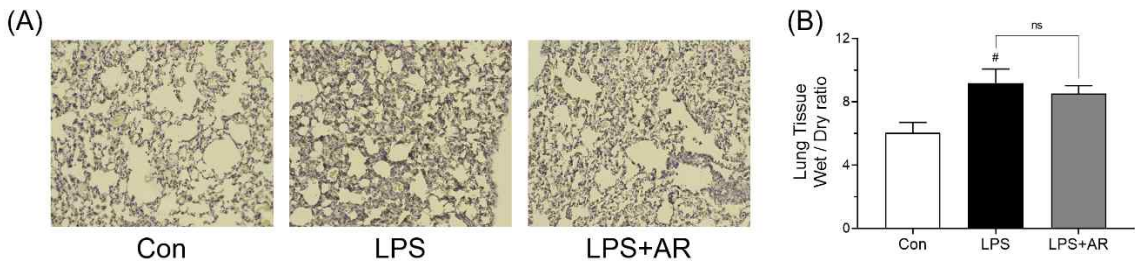


Figure 1. Effect of AR on lung injury in LPS-induced septic mice. (A) H&E staining was performed to analyze the histological changes in lung tissue of mice. Images are viewed under a regular light microscope (magnification $\times 100$). (B) After the lung tissues were harvested, the wet weight was measured. Then, the tissues were placed in an incubator at 60°C for 48 h to obtain the dry weight. Wet/dry (W/D) ratio was calculated by dividing the weight of wet lung tissue to dry lung tissue. # $p < 0.05$ vs. Control group.

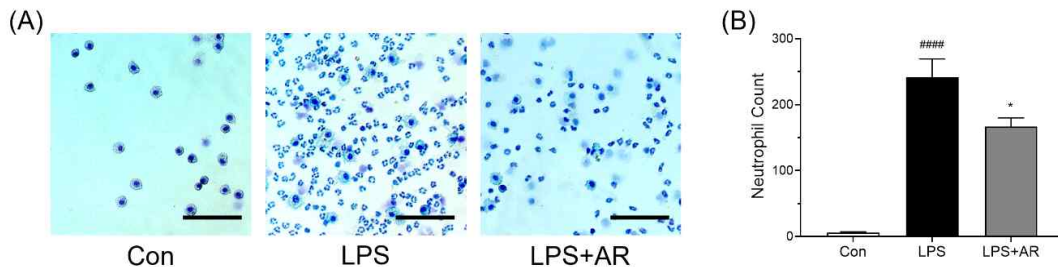


Figure 2. Effect of AR on neutrophil infiltration in the lung of LPS-induced septic mice. (A) Bronchoalveolar lavage fluid was collected, collected cells were spun down and stained to verify the cell type and numbers (magnification $\times 200$, scale bar 100 μm). (B) Neutrophil count was performed in 3 different slides. ### $p < 0.001$ vs. Control group; * $p < 0.05$ vs. LPS group.

혈증 마우스에서 큰 폭으로 증가하였다. 한편, 부자추출물이 투여된 마우스에서는 IL-1 β 를 제외한 IL-6와 TNF- α 의 혈청 내 수준이 LPS 유도 패혈증 군에 비해 유의적으로 감소함을 알 수 있었다(Figure 3A-C). 또한, 염증 반응에 의해 면역세포의 침윤을 유도하는 케모카인의 발현 또한 LPS 투여 마우스에서 큰 폭으로 증가하였으나, 부자추출물 경구투여에 의해 C-X-C motif chemokine ligand 1 (CXCL1)과 CXCL2의 발현이 유의미하게 감소하는 결과를 확인하였다(Figure 3D, E).

고찰

패혈증은 세균감염에 의한 전신적 염증반응으로, 한 부위에서 시작된 감염이 혈류를 따라 다른 부위로 퍼지면서 전신적으로 염증성 반응이 진행된다. 패혈증은 특히 다발성 장기부전을 동반하는 패혈성 쇼크로까지 진행될 경우 생존에 위협이 되는 상태이다.

패혈증은 세균감염에 의한 전신적 염증반응으로, 한 부위에서 시작된 감염이 혈류를 따라 다른 부위로 퍼지면서 전신적으로 염증성 반응이 진행된다. 패혈증은 특히 다발성 장기부전을 동반하는 패혈성 쇼크로까지 진행될 경우 생존에 위협이 되는 상태이다. 패혈증은 높은 사망률에도 불구하고 저소득 국가에서는 충분히 통계가 이루어지지 못하는 관계로 전세계 패혈증 유병률 및 사망률은 추정치에 의존할 수밖에 없는 수준이다⁸⁾. 고소득 국가 통계치를 기반으로 전세계 패혈증 유병률을 추측할 경우 매년 3150만명의 환자가 발생하는 것으로 예상되며¹⁾, 사망률은 25~50% 정도로 기록되고 있다⁹⁾.

한국패혈증연대(Korea Sepsis Alliance) 주도로 구축된 웹 기반의 패혈증 데이터플랫폼을 통해 자료를 수집한 결과, 전국의 19개 대학병

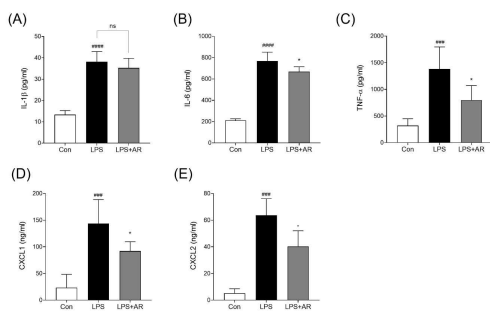


Figure 3. Effect of AR on serum cytokine and chemokine levels in LPS-induced septic mice. ELISA was performed to verify the serum levels of (A) IL-1 β , (B) IL-6, (C) TNF- α , (D) CXCL1 and (E) CXCL2. ### $p < 0.001$, #### $p < 0.0001$ vs. Control group; * $p < 0.05$ vs. LPS group.

원을 대상으로 2018년 1월 한 달간 응급실로 내원한 19세 이상 모든 환자 6만4021명 가운데 1.5%에 해당하는 977명이 패혈증 환자였고, 그 중 패혈증 쇼크 환자가 357명을 차지했다. 또한, 2019년 9월부터 2020년 2월까지 6개월 동안 등록된 2,125건의 패혈증 사례를 분석한 결과, 지역사회 발생 패혈증(community onset sepsis)은 1,720건(80.9%), 병원 발생 패혈증(hospital onset sepsis)은 405건(19.1%)으로, 응급실 방문 환자 10만 명당 각각 371.8건, 입원 환자 10만 명당 18.0건의 패혈증 사례가 발생하였으며, 국내 패혈증 사망률은 28.6%로 여전히 외국에 비해 높은 패혈증 사망률을 보이고 있다¹⁰⁾.

의학적으로는 인체가 세균, 곰팡이, 기생충 및 바이러스에 감염된 후 1) 체온이 38°C 이상 혹은 36°C 이하, 2) 맥박과 호흡수가 각각 분당 90회, 20회 이상, 3) 백혈구 수가 12,000개/mm³ 이상 혹은 4,000개/mm³ 이하, 4) 혈중에 어린 백혈구가 10% 이상 존재하는 4가지 증상 중 2가지 이상이 나타나면 패혈증으로 간주한다¹¹⁾. 감염원에 의한 독소가 순환계에 나타나면서 이러한 증상이 나타나며, 이에 대응하는 과정에서 여러 염증성 사이토카인의 작용 및 이에 동반된 혈액학적 장애에 의해 장기의 손상이 초래되기도 한다. 이러한 중요 장기의 손상이 동반된 패혈증을 ‘중증패혈증(severe sepsis)’, 수액요법으로 혈압이 유지되지 않는 상태를 ‘패혈성 쇼크(septic shock)’로 명명하며 일반적인 패혈증보다는 사망률이 증가한다¹²⁾. 진단 초기의 젖산(lactate) 농도 측정, 혈액배양 검사, 수액 투여, 광범위 항생제 투여 및 승압제 투여 등의 묶음치료 수행률(compliance with sepsis treatment bundle)이 패혈증 환자의 생존율을 높이는 데 매우 중요하다고 알려져 있으나¹³⁾, 연구에 따라 사망률에 큰 영향을 미치지 못했다는 결과도 존재하는 등¹⁴⁾, 적절한 치료제의 개발이 시급한 상황

이다.

부자는 특히 동의보감에 ‘삼초의 결역을 보하고, 육부의 한랭과 한습을 치료하며 다리가 위축되고 약하여 늘어지는 것을 치료하고, 낙태시킨다(補三焦厥逆, 六府寒冷, 寒濕, 痿躄, 墮胎, 爲百藥長)’고 되어 있으며⁷⁾ 경악전서에 ‘표리의 침한沈寒, 결역厥逆과 한금寒噤을 제거할 수 있고, 속을 따뜻하게 하여 음경을 강하게 하며, 오장을 따뜻하게 하고, 양기를 회복시킨다. 구역질과 딸꾹질, 곽란霍亂, 반위反胃, 열격噎膈, 심복통, 창만脹滿과 설사, 팔다리가 당기고 오그라드는 증상, 한사와 습기, 위위가 차서 생긴 회충, 한담寒痰과 한산寒疝, 풍습으로 인한 마비, 음저陰疽와 옹독癰毒, 구루久漏와 냉창冷瘡, 격양格陽으로 인한 후비喉痺, 양이 허하여 대소변이 나오지 않는 증상, 찬 기운으로 부인의 월경이 고르지 못한 증상, 어린아이의 만경풍 등을 제거한다(能除表裏沈寒, 厥逆·寒噤, 溫中強陰, 煖五臟, 回陽氣, 除嘔噦·霍亂, 反胃·噎膈, 心腹疼痛, 脹滿·瀉痢, 肢體拘攣, 寒邪·濕氣, 胃寒蛔蟲, 寒痰·寒疝, 風濕麻痺, 陰疽癰毒, 久漏冷瘡, 格陽喉痺, 陽虛二便不通, 及婦人經寒不調, 小兒慢驚等症)’고 신고 있으므로¹⁵⁾, 패혈증으로 인해 나타나는 대다수의 증상을 치료할 것으로 기대해볼 수 있겠다.

패혈증으로 인해 나타나는 급성 폐 손상은 호흡기계의 과도한 염증 반응으로 인해 나타나며¹⁶⁾, 이는 결과적으로 환자의 호흡부전과 나아가서는 사망에 이르게 한다¹⁷⁾. 본 연구에서는 부자추출물의 패혈증 개선효과를 특히 폐 손상에 대한 효과를 중심으로 확인하였다. 패혈증 및 이로 인한 폐 손상을 유발하는 LPS 복강주입 마우스 모델에서 부자추출물의 2회 투여는 LPS로 야기된 폐 조직 내 염증성 세포들의 침윤을 억제하는 효과를 보였다. 또한, 폐모세혈관 주위 및 폐포 내 출혈과 간질의 비후 및 부종 등의 폐 손상 징후가 부자추출물

투여로 개선되었음이 확인되었다. 특히 폐 조직의 울혈과 부종을 측정하는 지표인 습건중량비 등의 인자¹⁸⁾를 통해 부자추출물이 폐 조직의 병리적 부종을 감소시켜주는 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 또한, LPS 투여로 나타나는 기관지와 폐포 내 침윤된 호중구의 숫자의 증가가 부자추출물 군에서는 큰 폭으로 감소되는 결과를 보임으로써 폐 손상을 개선하는 효과가 면역세포 침윤 억제 효능임을 확인하였다.

사이토카인은 감염 및 내독소에 대응하여 나타나는 염증성 면역반응을 조절하는 물질로서 특히 염증성 전구 사이토카인(pro-inflammatory cytokine)은 염증을 유도하는 사이토카인이며, 이 중 IL-1 β , IL-6, TNF- α 등은 초기 면역 반응을 조절한다¹⁹⁾. IL-1 β 는 내독소에 반응하여 주로 대식세포와 단핵구에 의해 체내에서 생성되며, 급·만성 상기도 감염에서 중요한 역할을 하는 다기능의 염증성 사이토카인으로 특히 폐혈증으로 인한 사망자에서 큰 폭으로 증가하는 것으로 알려졌다²⁰⁾. IL-6 또한 면역 매개 염증성 질환에서 핵심적 역할을 담당하는 전 염증성 사이토카인으로서 T세포와 대식세포로부터 분비되며 폐혈증의 진행 과정에서 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었다²¹⁾. 특히 혈청 내 IL-6의 발현 수준은 폐혈증으로 인한 사망률과 가장 높은 상관관계를 가진 사이토카인으로 알려져 있다²²⁾. TNF- α 는 여러 면역 매개 염증성 질환에서 중요한 역할을 담당하는 사이토카인으로, 증식, 생존, 분화 및 세포사와 같은 다양한 종류의 세포 활동을 매개하며 발열, 혈역학적 이상, 식욕감소, 관절통, 호중구 밀집 등과 같은 폐혈증의 주요 증상을 유발한다²³⁾. LPS의 복강투여는 C57BL/6 마우스에서 이러한 사이토카인의 발현을 크게 증가시켰으나, 부자추출물의 후투여에 의해 혈청 내 IL-6와 TNF- α 의 수준이 유의하게 감소하였다. IL-1 β 의 경우 그 차

이가 유의하지 않았으나 다소 감소하는 경향을 보이는 것으로 확인되었다.

CXCL1은 본래 명칭인 호중구 활성화 펩타이드 3(neutrophil-activating peptide-3)에서 알 수 있듯 호중구의 주화성 및 면역반응을 조절하는 케모카인이다²⁴⁾. 감염이 발생하는 경우, 단핵구는 CXCL1을 분비하며 이를 감지한 호중구가 감염부위로 이동하고, 또다시 CXCL1의 작용에 의해 활성산소종(reactive oxygen species)을 발생해 항원을 죽이는 작용이 활성화된다²⁵⁾. CXCL2 또한 단핵구와 대식세포에 의해 분비되는 케모카인으로서 호중구의 침윤을 유도하는 역할을 한다²⁶⁾. 염증성 사이토카인에서의 결과와 유사하게, 부자추출물은 LPS로 유도된 혈청 내 케모카인 CXCL1과 CXCL2 모두의 발현증가를 유의적으로 억제하였다.

결론

본 연구는 LPS를 복강으로 주입해 폐혈증 및 폐혈증으로 인한 급성 폐 손상을 유도한 마우스 모델에서 부자의 열수 추출물의 효과를 확인하였다. 내독소 LPS를 주입하여 폐혈증을 유발한 뒤 부자추출물을 2회 경구 투여한 결과, 폐모세혈관 주위 및 폐포 내 출혈과 간질의 비후 및 부종을 비롯해 면역세포의 침윤 등 LPS로 유도되는 폐 조직에서 관찰되는 병리적인 변화를 개선하였으며, 혈청 내 염증성 사이토카인 및 케모카인의 발현을 유의미하게 낮추는 효과를 보였다. 이러한 결과는 현재 마땅한 치료제가 없는 폐혈증 및 폐혈증으로 인해 발생하는 급성 폐 손상에 대해 부자추출물이 치료제로 활용될 가능성을 시사한다.

감사의 말씀

This work was supported by the National Research Foundation of Korea (grant no.

N R F - 2 0 2 0 R 1 C 1 C 1 0 0 9 7 2 1 ,
NRF-2020R111A3063625 and
NRF-2022R111A3073095).

이해관계

The authors declare no conflict of interest.

참고문헌

- 1) Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NK, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, Angus DC, Reinhart K. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am J Respir Crit Care Med*, 2016;193(3):259-72.
- 2) Rossaint J, Zarbock A. Pathogenesis of Multiple Organ Failure in Sepsis. *Crit Rev Immunol*, 2015;35(4):277-91.
- 3) Varisco BM, The pharmacology of acute lung injury in sepsis. *Adv Pharmacol Sci*, 2011;2(5):46-19.
- 4) Lewis AJ, Seymour CW, Rosengart MR, Current Murine Models of Sepsis. *Surg Infect (Larchmt)*, 2016;17(4):385-93.
- 5) OASIS, Oriental Medicine Advanced Searching Integrated System [Internet]. [cited Nov 13, 2022], Available from: <https://oasis.kiom.re.kr/>.
- 6) Korean Pharmacopeia, 11, ed2019.
- 7) Yoon S, Kim H, Donguibogam. Seoul, Donguibogam Publishing Company, 2006:29(7):2189.
- 8) Hotchkiss RS, Moldawer LL, Opal SM, Reinhart K, Turnbull IR, Vincent JL. Sepsis and septic shock. *Nat Rev Dis Primers*, 2016;2:16045.
- 9) Prest J, Sathananthan M, Jeganathan N, Current Trends in Sepsis-Related Mortality in the United States. *Crit Care Med*, 2021;49(8):1276-84.
- 10) Kim SN, Park HJ, et. al, The Result of an In-depth Investigation to Improve the Management of Sepsis in Korea (1st year), 2020;13(37):2750-60.
- 11) Wiersinga WJ, van der Poll T, Immunopathophysiology of human sepsis, *EBioMedicine*. 2022:104363.
- 12) Vermassen J, Decruyenaere J, De Bus L, Depuydt P, Colpaert K, Characteristics of Sepsis-2 septic shock patients failing to satisfy the Sepsis-3 septic shock definition: an analysis of real-time collected data. *Ann Intensive Car*, 2021;11(1):154.
- 13) Levy MM, Evans LE, Rhodes A, The Surviving Sepsis Campaign Bundle: 2018 Update. *Crit Care Med*, 2018;46(6):997-1000.
- 14) Jeong WI, Kim JS, Yu JH, et. al, The prognostic value of 1-hour bundle completion in septic shock patients. the Korean Society of Emergency Medicine, 2019;30(6):537-44.
- 15) Jiebin Z. Jingyuequanshu (景岳全書),
- 16) Ning L, Rui X, Guorui L, Tinglv F, Donghang L, Chenzhen X, Xiaojing W, Qing G, A novel mechanism for the protection against acute lung injury by melatonin: mitochondrial quality control of lung epithelial cells is preserved through SIRT3-dependent deacetylation of SOD2. *Cell Mol Life Sci*, 2022;79(12):610.
- 17) Tang W, Tang R, Zhao Y, Peng J, Wang D. Comparison of Clinical Characteristics and Predictors of Mortality between Direct and Indirect ARDS. *Medicina (Kaunas)*, 2022;58(11):

- 18) Gu J, Ran X, Deng J, Zhang A, Peng G, Du J, Wen D, Jiang B, Xia F, Glycyrrhizin alleviates sepsis-induced acute respiratory distress syndrome via suppressing of HMGB1/TLR9 pathways and neutrophils extracellular traps formation. *Int Immunopharmacol*, 2022;10(8):108730.
- 19) Chaudhry H, Zhou J, Zhong Y, Ali MM, McGuire F, Nagarkatti PS, Nagarkatti M, Role of cytokines as a double-edged sword in sepsis. *In Vivo*, 2013;27(6):669-84.
- 20) Mera S, Tatulescu D, Cismaru C, Bondor C, Slavcovic A, Zanc V, Carstina D, Oltean M. Multiplex cytokine profiling in patients with sepsis. *Apmis*, 2011;119(2):155-63.
- 21) Gouel-Chéron A, Allaouchiche B, Guignant C, Davin F, Floccard B, Monneret G. Early interleukin-6 and slope of monocyte human leukocyte antigen-DR: a powerful association to predict the development of sepsis after major trauma. *PLoS One*, 2012;7(3):e33095.
- 22) Kumar AT, Sudhir U, Punith K, Kumar R, Ravi Kumar VN, Rao MY, Cytokine profile in elderly patients with sepsis. *Indian J Crit Care Med*, 2009;13(2):74-8.
- 23) Le J, Vilcek J, Tumor necrosis factor and interleukin 1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest*, 1987;56(3):234-48.
- 24) Schröder JM, Persoon NL, Christophers E, Lipopolysaccharide-stimulated human monocytes secrete, apart from neutrophil-activating peptide 1/interleukin 8, a second neutrophil-activating protein. NH2-terminal amino acid sequence identity with melanoma growth stimulatory activity. *J Exp Med*, 1990;171(4):1091-100.
- 25) Cummings CJ, Martin TR, Frevert CW, Quan JM, Wong VA, Mongovin SM, Hagen TR, Steinberg KP, Goodman RB, Expression and function of the chemokine receptors CXCR1 and CXCR2 in sepsis. *J Immunol*, 1999;162(4):2341-6.
- 26) Al-Alwan LA, Chang Y, Mogas A, Halayko AJ, Baglole CJ, Martin JG, Rousseau S, Eidelman DH, Hamid Q, Differential roles of CXCL2 and CXCL3 and their receptors in regulating normal and asthmatic airway smooth muscle cell migration. *J Immunol*, 2013;191(5):2731-41.