

Paraquat에 의한 백서폐의 급성기변화에 대한 연구*

——기관지폐포세정액분석과 폐포염의 초미세 형태학적 소견——

계명대학교 의과대학 병리학교실

0| 상 속·정 재 흥

=Abstract=

Acute Paraquat Poisoning on Rat Lungs

—Bronchoalveolar Lavage Analysis and Ultrastructural Findings of Alveolitis—

Sang-Sook Lee, MD; Chai-Hong Chung, MD

Department of Pathology, Keimyung University

School of Medicine, Taegu, Korea

This study was carried out to investigate the intricate mechanisms of alveolitis of rat lungs treated with paraquat.

Thirty-nine male Sprague-Dawley rats, maintained on a stock diet, weighing 200gm, average were divided into 3 experimental groups.

Group 1. Control group.

Ten rats. Intraperitoneal injections of 2–4 ml normal saline only.

Group 2. Thirteen rats. Ten, 20, 25, 30, and 40mg per kg of body weight was administered intraperitoneally. Animals were sacrificed 5 hours, 1, and 2 days after paraquat treatment.

Group 3. Sixteen rats. Twenty, 25, 30, and 40mg per kg of body weight was administered to the animal, and animals died 2–5 days after paraquat administration.

Sacrificed animal lungs were examined gross, light microscopic, ultrastructural observation, along with cellular analysis of sequential bronchoalveolar lavage fluid.

The results were as follows:

Light microscopically, the salient features found of acute stage lungs were alveolitis. Earliest forms of intraalveolar bud were occasionally seen. The spontaneously dead rats showed marked congestion and hyaline membrane formations along the alveolar walls.

Electron microscopically, the acute stage lung revealed many neutrophils and macrophages in the alveolar spaces and wall. Foci of earliest intraalveolar bud formation were also evident, along with macrophages passing through the defect of alveolar wall.

Cellular analysis of bronchoalveolar fluid lavage in acute stage lungs revealed marked increase of neutrophils, leading to the increase in the total absolute cell counts.

It can be concluded, therefore:

That alveolitis of the paraquat-treated lungs of the rat is probably mediated by intraalveolar migrations of the alveolar macrophages through the defects created in the epithelial lining surface to its basement membrane, which were inflicted upon the alveolar wall by the paraquat toxicity.

* 이 논문은 1988년도 계명대학교 윤종연구비 및 동산의료원 조사연구비로 이루어졌다.

Activated macrophages may be responsible for the migrations of neutrophils into the alveolar spaces to form the neutrophilic alveolitis. Activated neutrophils may be responsible for injury to the lung parenchyma, leading to spontaneous death of rats.

서 론

Paraquat (1-1'-dimethyl-4,4'-dipyridylium dichloride)는 1955년 영국에서 처음 소개된 이래 세계적으로 널리 보급되어 사용되고 있는 제초제로서 우리나라에서도 최근에 gramoxone 이런 상품명으로 널리 보급되고 있으며 사고 또는 자살 목적으로 paraquat를 흡입하는 경우가 종종 보고되고 있다^{1,2)}. Paraquat를 흡입시는 모든 장기애에 영향을 미치나 특히 폐가 손상을 받기 쉽고^{3,4)} 대부분의 환자들은 급성호흡부전으로 1주일 내에 사망한다. Paraquat 투여 후 인체에서 생기는 것과 유사한 폐의 병변들이 생쥐⁵⁾, 백서^{6,7)}, 햄스터⁸⁾ 등에서도 생긴다.

사람의 기관지폐포세정액에서 발견되는 대식구, 임파구, 호중구와 섭유아세포들이 분비하는 mediator와 그외의 분비산물에 대한 연구가 활발하게 이루어져 간질성폐질환에서 생기는 폐포염과 섭유화의 병인연구에 기여하고 있다^{9,10)}. Paraquat에 노출된 사람이나 실험동물의 폐는 호중구와 대식구로 구성된 폐포염을 일으키고¹⁰⁾ 또한 폐포의 염증세포들이 섭유증을 일으키는데 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 이에 저자들은 paraquat를 백서의 복강내에 투여하여 paraquat의 주사후 생기는 폐포염의 발생기전을 기관지폐포세정액의 분석과 광학 및 전자현미경소견을 통해 알아보고자 이 실험을 하게 되었다.

재료 및 방법

재료

1. 실험동물: 일정기간 사육하여 건강이 양호하다고 인정되는 체중 200gm 정도의 백서 숫컷 39마리를 골라 실험에 제공하였다. 실험동물은 대조군과 실험군으로 나누어 실험군은 표 1에서와 같이 경해진 양의 paraquat(10, 20, 25, 30, 40mg/kg)를 1회 복강내에 주사하였다.

1) 제 1군: 대조군으로 10마리 중 6마리를 사전처리 없이 도살하고 나머지 4마리는 2~4ml의 생리식염수를 복강내 주사하여 5시간, 1일과 2일에 도살

하였다.

2) 제 2군: 급성기의 변화를 보고자 백서 13마리를 5시간, 1일과 2일째 도살하였다.

3) 제 3군: 2~5일에 걸쳐 죽은 백서 16마리를 대상으로 하였다.

Table 1. Protocol for Induction of Acute Paraquat Poisoning in Rats

Group	No. of Animal	Paraquat Dosage (mg/kg)	Time of Survival
I	10	saline only	5hr, 1, 2days
II	13	10, 20, 25, 30, 40	5hr, 1, 2 days
III	16	20, 25, 30, 40	2~5 days

2. 시약

1) Paraquat dichloride (methyl viologen, 1,1'-dimethyl-4,4'-bipyridinium dichloride, Sigma M2254, USA)을 생리식염수에 회색하여 10mg/ml의 농도로 만들어 백서의 무게에 따라 경해진 일정량을 복강내 주사하였다.

2) Nembutal (pentobarbital sodium, 50mg/ml, Abbott No. 3778, Japan)을 체중당 20mg/kg 씩 복강내 주사하여 백서를 마취시켜 도살하였다.

3) Trypan blue (Sigma T0887, USA)는 일단 0.4% trypan blue 용액을 만든 후 다시 5배 회색하여 0.08% trypan blue 용액으로 만들어 동량의 세포부유액과 혼합하여 5~15분간 실온에 두어 염색하였다. 이때 viable cell은 염색이 되지 않고 non-viable cell은 푸르게 염색되므로 viable cell exclusion test에 사용하였다¹¹⁾.

4) Giemsa's solution (Merck, Art. 9204, W. Germany)을 중류수로 50배 회색시켜 20~25분간 기관지폐포세정액의 도말표본을 염색하고 pH 6.8의 buffered water solution으로 수세하여 검정하였다.

3. 기기

1) Sorvall GLC-2B General Centrifuge(USA)로 기관지폐포세정액을 2000rpm으로 15분간 원심침전하였다.

2) Sorvall ultramicrotome MT 5000 (USA)를 사용하여 전자현미경시료의 초박절을 시행하였다.

3) Hitachi H-600 transmission electron mic-

roscope(Japan)을 사용하여 전자현미경 소견을 관찰하였다.

방법

1. 기관지폐포세정액의 세포분석

백서를 nembutal 마취하에 Kawanami⁹⁾에 의한 기관지폐포세정법에 따라 10cc의 생리식염수로 기관지폐포내 세정을 3번 하였다. 혈구계에 trypan blue로 염색된 소량의 세정액을 넣고 chamber의 10개의 모눈속에 있는 세포수를 세었다. 총세포수는 각 모눈에서 센 평균세포수에 10^4 과 회색배수인 2와 수거량을 곱하여 계산하였다. 세포의 viability는 toluidine blue로 염색이 되지 않은 세포수를 전세포수로 나눈 백분율로 계산하였다. 나머지 세정액은 2000rpm으로 15분간 원심첨전하여 상청액은 버리고 세포결정소구(cell pellet)는 유리슬라이드에 도말하여 Giemsa 염색을 하여 광학현미경의 400배 하에서 200개 이상의 세포를 세어 대식구, 임파구, 호중구와 호산구로 대별하여 각 세포의 백분율을 구하였다. 통계분석을 위해 호중구와 호산구를 함께 다핵백혈구로 나타내었다. 결과는 평균 ± 표준오차로 나타내었다. 각 군마다 평균의 비교는 SPSS/PC+를 이용한 단순분류분석에 의하였으며 유의자는 Scheffe test에 의하여 계산하였다¹²⁾.

2. 육안 및 광학현미경적 관찰

광학현미경 검사를 위해 폐조직은 마지막 분획의 세정후 약 10cc의 10% 중성 포르말린 용액을 주입하여 고정한 후 육안적 소견을 관찰하고 좌엽은 횡절편, 우엽은 종절편을 만들어 hematoxylin-eosin 염색, PAS(Periodic acid-schiff) 염색, Masson's trichrome 염색, reticulum 염색 및 PASM(Periodic acid silver methanamine) 염색으로 검정하였다.

3. 전자현미경적 관찰

투과 전자현미경용으로 제공된 조직편은 1mm³로

세정한 후 2.5% glutaraldehyde 용액(0.1M, phosphate buffer, pH 7.4)으로 0~4°C에 2시간 전고정하고 buffer로 세척하였다. 다음으로 1% OSO₄ 용액(0.1M, phosphate buffer, pH 7.4, 0~4°C)에 2시간 동안 후고정을 한후 세척하고 계열 ethanol로 탈수하고 propylene oxide로 치환시켜 Luft 방법¹³⁾에 의한 epon mixture에 포매하여 열증합을 시켰다. 초박절은 Sorvall ultramicrotome MT 5000으로 Du-pont diamond knife로 행하고 Reynolds 법¹⁴⁾에 의한 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 전자 염색을 하여 Hitachi H-600 전자 현미경으로 관찰하였다.

실험성적

1. 기관지폐포세정액의 세포분석

정상백서의 기관지폐포세정액의 평균회수율은 $89.8 \pm 2.5\%$, 총세포수는 $2.94 \pm 0.7 \times 10^6/30\text{cc}$ 이었다. 각 세포들의 분포는 대식구가 평균 $90.4 \pm 1.7\%$, 임파구가 $7.0 \pm 1.4\%$, 다핵백혈구가 $2.6 \pm 0.7\%$ 였다. 회수가 거듭됨에 따라 수거율이 늘고 세포성분 중 대식구는 점차 증가되나 다핵백혈구는 감소됨을 표 2에서 볼 수 있다.

실험군에서 각 군의 기관지폐포세정액의 세포분석 결과의 비교는 표 3에서와 같다. Paraquat의 복강내주사후 5시간까지는 정상백서와 유사한 소견을 보였으나 1일째부터는 총세포수가 증가되었는데 대부분은 호중구의 증가였다. 호산구는 1일째 일시적인 증가를 보였다가 그후 감소했다. Paraquat 투여 후 2일까지의 제 2군의 급성기 기관지폐포세정액의 특징은 회수율이 $86.2 \pm 2.2\%$ 였으며 총 세포수는 $5.32 \pm 1.2 \times 10^6/30\text{cc}$ 로 정상백서보다 약 1.8배 증가되었고 그중 호중구가 주로 증가하였다. Paraquat 주사후 사망한 제 3군의 백서들에서의 기관지폐포

Table 2. Cellular Composition of Bronchoalveolar Lavage in Control Rats

SBAL	Recovery of Infused Lavage Fluid(%)	Total Cells Recovered (no. $\times 10^6$)	Macrophages (%)	Lymphocytes (%)	Polys (%)
1	79.5 ± 4.3	1.08 ± 0.2	87.6 ± 2.6	7.9 ± 2.6	4.6 ± 1.6
2	91.7 ± 3.1	0.91 ± 0.2	93.8 ± 1.0	4.8 ± 1.0	1.4 ± 0.4
3	98.3 ± 1.7	0.95 ± 0.3	91.6 ± 2.8	7.0 ± 2.6	1.3 ± 0.4
Total	89.8 ± 2.5	2.94 ± 0.7	90.4 ± 1.7	7.0 ± 1.4	2.6 ± 0.7

SBAL = Sequential bronchoalveolar lavage

Table 3. Cellular Composition of Bronchoalveolar Lavage in Experimental Rats

Group*	Number of Animal	Recovery of Infused Lavage Fluid(%)	Total Cells Recovered (no. $\times 10^6$)	Macrophages (%)	Lymphocytes (%)	polys (%)
I	10	89.8 \pm 2.5*	2.94 \pm 0.7	90.4 \pm 1.7	7.0 \pm 1.4	2.6 \pm 0.7
II	13	86.2 \pm 2.2	5.32 \pm 1.2	72.3 \pm 6.9	9.3 \pm 1.7	19.4 \pm 7.4
III ⁺	16	73.8 \pm 2.8	9.50 \pm 3.1	34.5 \pm 7.7	6.3 \pm 1.9	59.2 \pm 5.9

* Data expressed as mean \pm standard error.

+ Group III ($p < 0.05$) different from group I and II in that total cells recovered and polys ratio in group III were significantly higher than groups I and II, whereas recovery rate of infused lavage fluid and macrophage ratio in group III were significantly lower than the rest of the groups.

세정액은 수거율이 $73.8 \pm 2.8\%$ 로 타군들에 비해 저하되었으며 총 세포수는 $9.50 \pm 3.1 \times 10^6 / 30\text{cc}$ 로 증가되었다. 각 세포의 분포를 보면 호중구가 $59.2 \pm 5.9\%$ 로 증가하였고 대식구가 $34.5 \pm 7.7\%$ 로 감소하였다. 이러한 호중구의 증가는 기관지폐색 같은 감염에 의한 것이 아님을 조직학적 검사로 배제할 수 있었다. 제 3군은 나머지 군들에 비해 수거율, 총 세포수, 호중구와 대식구의 백분율에서 통계학상 유의성이 있음이 밝혀졌다($p < 0.05$).

Toluidine blue 염색에 의한 cell viability의 백분율은 저예에서 90% 이상이었다.

2. 육안 및 광학현미경소견

급성기의 변화를 보기 위해 5시간, 1일과 2일 후 도살한 제 2군 백서의 폐에서는 산재한 울혈과 부분적 변색을 볼 수 있었다. 체중당 20~40mg/kg의 paraquat을 주사한 16마리가 2일에서 5일 사이에 심한 호흡곤란 끝에 죽었는데 이 제 3군의 백서의 폐는 커져 있었고, 점붉고 무거웠으며 절단면은 심한 부종과 출혈을 보였다.

광학현미경소견을 보면 제 1군인 대조군의 백서의 폐는 정상폐포와 모세혈관의 구조를 보였다. 제 2군에서 paraquat 주사후 5시간만에 도살한 백서의 폐는 폐포강과 폐포벽내에 부종을 보였다. 1일 후 도살한 백서의 폐는 전체적으로 염증세포수가 상당히 증가되었으며, 육아종같은 병소를 폐포내에서 볼 수 있었는데 이는 섬유아세포, 호중구, 임파구와 대식구들로 구성되어 있었다. 2일째 도살된 백서의 폐의 소견은 대체적으로 1일째 것과 유사하였으나 염증세포수가 감소됨을 볼 수 있었다. Paraquat의 주사양이 증가함에 따라 폐포의 모세혈관의 울혈이 더 심해지는 양상을 볼 수 있었다.

Paraquat를 복강내 주사후 2~5일 내에 죽은 제 3군 백서에서는 폐포와 세기관지내에 상당한 양의

단백성 삼출물이 있었다. 폐정맥, 미세정맥, 폐포모세혈관 내에 많은 적혈구가 차여 용혈성 변화(hemolytic change)를 보였고, 호중구, 대식구 및 임파구들이 폐실질에 산재해 있었다. 폐포구조는 대부분 파괴되고 부종을 보였으며 초자양막 및 피브린 사상체들이 폐포간과 폐포벽을 따라 관찰되었다.

3. 전자현미경소견

광학현미경으로 정상구조를 보인 제 1군은 전자현미경적 소견상 I형폐포상피세포, II형폐포상피세포, 모세혈관과, 폐포벽내 간질조직의 정상적인 배열을 보였다(Fig 1). I형폐포상피세포는 평평한 세포질로 폐포벽 상방을 덮고, 둘째 II형폐포상피세포의 가장자리와 붙어 있었다. II형폐포상피세포는 주로 폐포벽의 두꺼운 부위에 위치했다. II형세포의 세포막은 내강측에 미세융모와 기저면에 micro-folding를 가졌다. 간질세포는 자신의 세포질돌기를 II형상피세포기저막의 갈라진 틈을 통해 뻗어

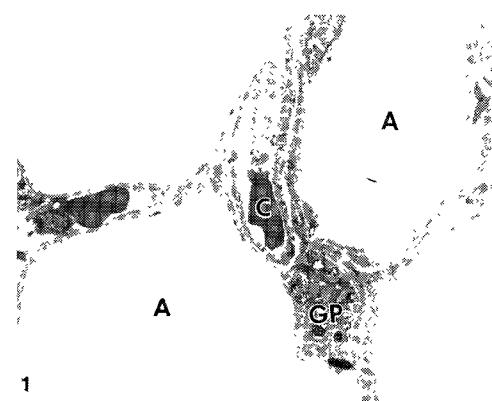


Fig 1 Electron micrograph of normal rat lung, showing normal architecture of lung parenchyma (original magnification, $\times 2,500$).

II형 상피세포기저막의 microfolding과 접촉하였다. 폐포모세혈관의 내피의 세포질은 기강측에서 얇고 막성(membranous)으로 공기와 혈관의 관문을 이루었다. 모세혈관과 상피기저막은 여러 곳에서 융합하여 하나의 기저막을 형성하였다.

Paraquat 투여후 급성기의 제2군과 3군의 폐는 폐포강내에 적혈구와 삼출물로 차여 있었고(Fig 2) 상피와 모세혈관 기저막은 많은 곳에서 해리되었다. 미세혈관의 내피세포들은 손상은 없었으나 세포질 내에 세포출수소포들의 형성이 저명하였다(Fig 3). 기저막의 단열부위를 따라 폐포대식구의 이동과 함께 폐포강내에 충만소체들을 탐식한 폐포대식구의

증식도 관찰되었다(Fig 4). 폐포강과 폐포벽내에 소수의 호중구와 대식구들의 침윤이 관찰되었다(Fig 5). II형 폐포상피세포들은 제한된 범위에서 증식하여 하부의 섬유아세포들과 접촉하였다. 일부 II형 상피세포는 친장되고 세포질내의 충만소체는 커지고 수는 감소하였다. 또한 폐포강내에 유리된 충만소체들을 볼 수 있었다. 폐포벽은 심한 부종을 보였다. 어떤 곳에는 폐포강에 활성화된 섬유아세포가 기저막에 부착되어 있었다. 2개의 연결된 II형 상피세포들이 기저막의 결손부위를 덮고 있는 부위도 역시 관찰되었다(Fig 6). 2일째부터 일부 기질화를 보

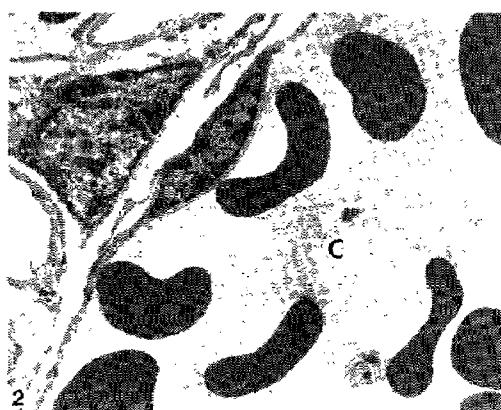


Fig 2 Electron micrograph of rat lung, 5 hours after paraquat administration of 30 mg/kg. There is engorgement of red blood cells in the alveolar capillary (original magnification, $\times 4,000$).

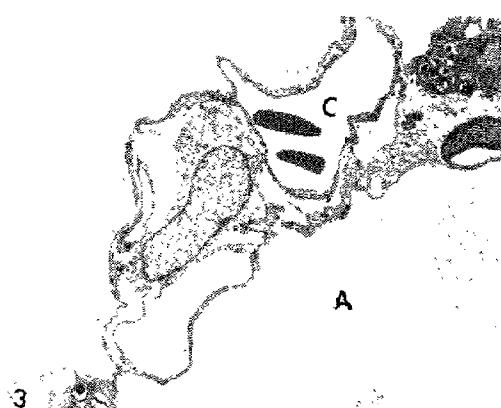


Fig 3 Electron micrograph of rat lung, 1 day after paraquat treatment of 40 mg/kg. Marked edema in the cytoplasm of endothelial cells (original magnification, $\times 2,500$).

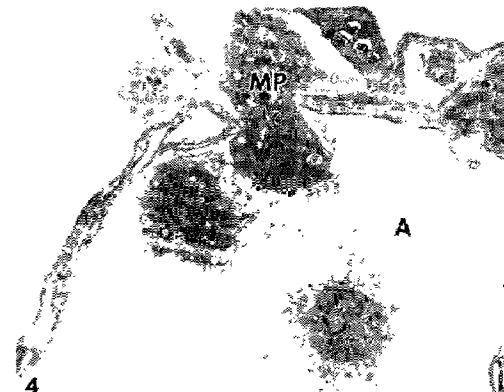


Fig 4 Electron micrograph of rat lung, 1 day after paraquat treatment of 10 mg/kg. Macrophages are passing through a gap of epithelial basement membrane into the alveolar space (original magnification, $\times 2,500$).

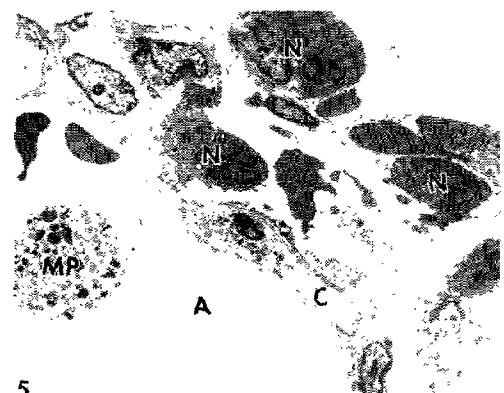


Fig 5 Electron micrograph of rat lung, 2 days after paraquat administration of 10 mg/kg. There are many inflammatory cells, including neutrophils, macrophages in the alveoli (original magnification, $\times 2,500$).

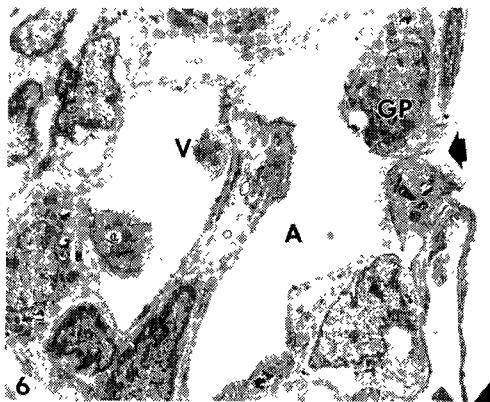


Fig 6 Electron micrograph of rat lung, 2 days after paraquat administration of 10mg/kg. Proliferation of type II cells covering the defect of alveolar wall(arrow). Note the villus formation (original magnification $\times 4,000$).

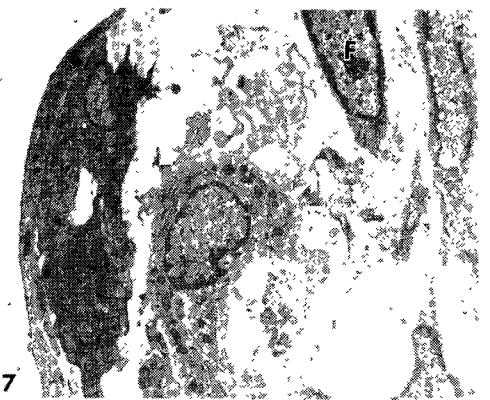


Fig 7 Electron micrograph of rat lung, 1 week after paraquat treatment of 30mg/kg. Area of early alveolar bud composed of fibroblasts, macrophages, cell debris and loose connective tissue, covered by thin, elongated alveolar epithelial cells (original magnification, $\times 4,000$).

이는 작은 폐포강내 싹이 형성되어(Fig 7) 싹의 내부는 매우 엉성한 간질조직과 결합조직세포들로 구성되고 표면은 폐포상피세포로 덮혀 있었다(Fig 8).

고 찰

지난 십년동안 기관지폐포세정법의 도입으로 폐질환의 규명에 새로운 차원을 이루웠다^{9,15,16}. 기관지폐포세정액의 세포분석으로는 면역주호체세포들의 대체적 분포를 알 수 있는데, 즉 염증이 기관지에



Fig 8 Electron micrograph of rat lung, 2 days after paraquat administration of 30mg/kg. Low magnification view of an organizing intraalveolar bud, the surface of which is covered by alveolar epithelial cells. The bud contains connective tissue cells in a very loose stroma (original magnification, $\times 2,000$).

서 생겼는지 폐포를 포함한 말초폐조직에서 생겼는지를 지적해 준다. 이번 연구에서 대조군인 정상백서에서 총세포수는 $2.94 \pm 0.7 \times 10^6 / 30\text{cc}$ 였고 대식구, 임파구 및 다핵백혈구의 백분율은 각각 $90.4 \pm 1.7\%$, $7.0 \pm 1.4\%$ 와 $2.6 \pm 0.7\%$ 였으며 대식구의 백분율은 회수가 거듭됨에 따라 증가되고 다핵백혈구는 감소되었다. 이 결과는 Kawanami 등¹⁶에 의한 연구와 일치되는 성격이다. 이번 연구에서 급성기인 제2군에서 총 세포수와 다핵백혈구의 백분율은 대조군보다 높았으며 반면 대식구는 감소했다. 다핵백혈구는 paraquat 투여후 1일까지 계속 증가하였다가 2일째부터는 감소하기 시작하였다. 그러나 paraquat 주사후 죽은 제3군의 백서에서는 총 세포수와 다핵백혈구의 백분율의 유의한 증가를 볼 수 있었다($p < 0.05$). 반면 세정액의 수거율과 대식구의 백분율은 유의하게 감소하였고($p < 0.05$) 임파구는 일정수준을 유지하였다. 호산구는 1일째까지 증가되었다가 그후부터 감소하였다. 염증세포들이 폐포에 이상을 초래하는 기전으로 첫째, 폐포벽의 국한된 장소에 염증세포들이 축적되어 정상구조의 변경을 일으켜 공기와 혈액간의 긴밀한 관계에 장애를 초래하고 둘째, 염증세포들이 폐실질세포들과 결합조직으로 구성된 기질에 상해를 줄 수 있는 mediator를 방출하고 섬유아세포가 증식하게 하여 섬유화를 촉진시킴을 들 수 있다¹⁷. 염증세포들은 간질성폐질환에 참여하면 활성화되어 정상폐포구조를 변경할

수 있는 mediator를 방출한다. 폐포대식구는 면역복합체에 의해 자극되어 호중구에 대한 화학전인인자를 국소적으로 방출하면 조직내에 호중구가 많아지고 활성화되어 neutral protease와 collagenase와 아울러 산화기(radical)를 방출하여 폐구조에 손상을 준다¹⁸⁾. 폐포대식구가 활성화되면 fibronectin¹⁹⁾과 AMDGF(alveolar macrophage derived growth factor)²⁰⁾를 방출하여 손상받은 간질내의 섬유아세포가 증식하여 수가 증가하고 섬유아세포가 결합조직, 주로 I형교원질을 생산하여 반흔을 형성하게 된다.

사람에서 paraquat로 야기된 폐질환은 잘 알려진 임상예로 이제초제의 사고 또는 의도적인 흡입으로 생겨 상당히 흥미롭다^{1,2)}. Paraquat에 의한 폐섬유증은 Wyatt 등²¹⁾이 주장한 바와 같이 크게 2시기로 나눌 수 있다. 첫째, 파괴시기로 폐포상피세포의 손상, 부종, 출혈과 염증세포, 즉 호중구와 대식구의 폐포실질내 침윤을 볼 수 있다. 둘째, 복구시기로 세포성분의 증가, 섬유화와 교원섬유의 축적이 있다. 양시기에서 산소결핍을 초래하여 심하면 사망하게 된다.

제 2군에서 10mg/kg의 paraquat를 복강내 투여한 백서에서 1일째부터 급성변화를 보이기 시작했다. 20mg/kg 이상의 paraquat를 투여한 백서에서는 폐실질을 통한 울혈과 부종을 보였다. 폐포강과 폐포벽내에 많은 호중구와 폐포대식구의 침윤을 보여 폐포염의 소견을 보였다. 곳에 따라 호찬구의 침윤도 눈에 띠었는데 2일째부터 감소되었다. 제 2군에서 폐포벽의 파괴는 분명하지 않았다. 전 폐포구조를 통해 장액성부종액이 축적되었다. 부종은 I형세포의 손상에 따른 삼투성변화의 결과로 생긴다. Paraquat의 양의 증가에 따라 특히 30mg/kg 이상을 투여한 백서의 폐에서 혈관계가 심하게 확장되어 많은 적혈구로 차여 있었다. 이러한 폐출혈의 원인은 모세혈관내피에 대한 paraquat의 직접적인 독성과 혈관수축의 이중작용으로 생긴다고 여겨진다⁸⁾. Paraquat 주사후 죽은 제 3군 백서의 폐포구조는 심하게 파괴되었고 전 모세혈관과 작은 혈관들은 확장되어 일부 용혈현상을 보이는 많은 적혈구들에 의해 차여 있었다. 혈관의 이런 변화들은 "angioparesis"라고 불리는 혈관운동의 마비에 의한다고 추정된다. 혈관마비의 이유는 아직 알려져 있지 않으나 아마 삼폐계내 급성순환부전에 기인하는 듯하다. 폐조직에서 호중구들도 심하게 침윤되어 있고 단백질이 풍부한 부종과 함께 많은 곳에서

초자양막형성을 관찰할 수 있었다. 어떤 동물들은 치명적인 다향의 paraquat 주사로도 단지 가역변화만을 일으키는데 이는 백서들이 이 약제에 매우 다른 감수성을 보임을 알 수 있다.

Paraquat에 의한 급성 상해의 초미세형태학적변화의 주된 장소는 I형 폐포상피세포이고 내피세포와 II형폐포상피세포는 변화가 적으나 만성상해에서는 II형폐포상피세포가 증식하여 I형세포의 파사에 의한 폐포벽의 결손을 대치한다고 한다^{21~24)}. 이번 연구에서도 모세혈관의 내피세포들의 장애는 없었고 단지 세포질내에 매우 증가된 흡수소포들을 보였다. 이는 Dearden 등²⁵⁾이 제시한 길판투과성의 증가를 지지하는 소견이다. 본 실험에서 II형상피세포들은 곳에 따라 증식하여 폐포기저막의 결손부위를 넓고 있었다. II형폐포상피세포들은 처음 변성하나 그후 재생하는 양상을 보여 유리된 리보좀과 골지체, 소포체와 사립체가 많아지고 반면 증판소체들의 수는 감소되었다. 또한 증판소체를 탐식한 폐포대식구의 기지막을 통한 이동이 보였다. 초기에 폐포강내로 투출하는 싹은 증식된 폐포대식구의 집합으로 구성되거나 섬유아세포, 폐포대식구, 염증세포와 소량의 기질로 이루어졌으나 절차 기질화됨에 따라 미세필라멘트와 교원질을 가지는 기질성분이 증가되고 반면 섬유아세포는 평행 또는 환형으로 베일리고 싹의 표면은 II형폐포상피세포로 피복됨을 볼 수 있었다. 곳에 따라 섬유아세포는 활성화되어 분명한 핵소체와 세포질내에 증식된 조면세포질 내세포를 가졌다. 급성기에서 기관지폐포세정액분석과 형태학적 연구로 호중구가 증가된 폐포염의 소견을 보였으며 이러한 호중구가 더욱더 증가한 제 3군에서는 백서가 2~5일에 걸쳐 사망하여 호중구의 폐포에 미치는 상해를 형태학적 변화에 의해 추측할 수는 있었으나 생화학적 연구를 통한 호중구가 방출하는 neutral protease와 collagenase 등 효소의 규명에는 미흡하였고 앞으로 연구할 과제라고 생각된다.

요약

환경오염물질의 하나로 등장한 paraquat는 1965년이래 제조제로서 널리 사용하고 있는데, 이것을 흡입하거나 마셨을 때 폐포염을 일으키고 이 폐포염이 지속되면 폐섬유증을 일으킨다. 그러나 그 기전과 치료법은 거의 알려져 있지 않다.

저자들은 상기한 paraquat로 인한 폐포염을 일

으키는 기전을 규명하고자 백서 39마리를 3군으로 나누어 10—40mg/kg의 paraquat를 1회 복강내로 주사하여, 폐조직의 광학현미경적 및 전자현미경적 관찰과 아울러 기관지폐포세정액의 세포분석을 하였다.

금성기의 기관지폐포세정액의 분석결과 주사후 1일째부터 총세포수가 증가되었는데 대부분은 호중구의 증가였다. Paraquat 주사후 사망한 군에서 수거율은 타군에 비해 유의하게 감소하였으며 총세포수는 정상백서보다 3배이상 유의하게 증가하였다. 각 세포의 성분을 보면 역시 호중구가 유의하게 증가하였고 반면 대식구는 유의하게 감소하였다.

금성기의 주된 광학현미경적 소견은 폐포강내 삼출물의 증가와 함께 중성백혈구를 포함한 염증세포의 출현으로 특징지워지는 폐포염의 소견을 보였다. 주사후 죽은 백서의 폐는 폐포벽의 심한 파괴와 함께 초자양막형성이 관찰되었다. 드물게는 폐포강내 섬유화의 초기 양상인 폐포강싹의 성장해 가는 과정도 볼 수 있었다.

전자현미경적으로는, 폐포강과 폐포벽내에 삼출물과 함께 다수의 호중구와 대식구들의 침윤이 관찰되었다. 일부에서 폐포벽이 파괴되어 증식된 II형 상피세포들에 의해 결손부위가 복구된 곳도 보이고 기저막의 단열부위를 따라 폐포대식구의 이동과 함께 폐포강내 싹을 형성한 부위도 관찰되었다.

이상의 성적으로 미루어 보아, 폐포염은 폐포벽간질의 손상부위를 따라 폐포대식구가 폐포강내로 들어가게 되고 이 폐포대식구는 호중구에 대한 화학견인인자를 방출하여 호중구가 폐포강내에 많아져 호중구의 증가를 보이는 폐포염을 일으킨다고 사료된다. 호중구가 조직내 더욱 많아지고 활성화되면 폐조직에 손상을 주게 되어 죽은 것으로 추정된다.

참 고 문 헌

1. 김정희, 이상숙, 노락균의 2인 : Paraquat 중독. —부검증례보고—. 대한병리학회지 1982 ; 16 : 562—566.
2. 김기식, 신현구, 혼성택 외 3인 : Gramoxone-HCl(Paraquat) 중독환자 13예에 대한 임상적 고찰. 대한내과학회지 1983 ; 26 : 292—301.
3. Kimbrough RD, Gaines TB: Toxicity of paraquat to rats and its effect on rat lungs. *Toxicol Appl Pharmacol* 1970 ; 17 : 679—690.
4. Rose MS, Lock EA, Smith LL, et al : Parquat accumulation: Tissue and species specificity. *Biochem Pharmacol* 1976 ; 25 : 419—423.
5. Brooks RE: Ultrastructure of lung lesions produced by ingested chemicals. I. Effect of the herbicide paraquat on mouse lung. *Lab Invest* 1971 ; 25 : 536—545.
6. Smith P, Heath D, Kay JM: The pathogenesis and structure of paraquat-induced pulmonary fibrosis in rats. *J Pathol* 1974 ; 114 : 57—67.
7. 이상숙, 정재홍, Kawanami O의 2인 : 백서 폐의 Paraquat 중독. —분할적 기관지폐포세정법과 혈액학적 연구의 비교—. 대한병리학회지 1984 ; 18 : 333—344.
8. Kokubo T: Pathogenesis of paraquat-induced pulmonary hemorrhage in hamsters with special reference to arterial constriction. *Acta Pathol Jpn* 1984 ; 34 : 41—46.
9. Kawanami O : A new aspect of the pulmonary researches by an application of the bronchoalveolar lavage method. *J Nippon Med School* 1982 ; 49 : 421—425.
10. Schoenberger CI, Rennard SI, Bitterman PB, et al: Paraquat-induced pulmonary fibrosis. Role of the alveolitis in modulating the development of fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1984 ; 129 : 168—173.
11. Colowick SP, Kaplan NO: *Methods in Enzymology*, in Jakoby WB, Pastau HI(eds): New York, Academic Press, 1979, Vol L VIII, Cell Culture, pp 143—144, 151—152.
12. Scheffe H, cited by Cochran WG, Cox GN: *Experimental designs*, ed 2. New York, John Wiley & Sons Inc, 1957, pp 74—75.
13. Luft JH: Improvement in epoxy resin embedding method. *J Biophys Biochem Cytol* 1961 ; 9 : 409—414.
14. Reynolds ES: The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol* 1963 ; 17 : 208—212.
15. Daniele RP, Elias JA, Epstein PE, et al: Bronchoalveolar lavage: Role in the pathogenesis, diagnosis and management of in-

- terstitial lung disease. *Ann Intern Med* 1985; 102: 93-108.
16. Reynolds HY, Fulmer JD, Kazmierowski JA, et al: Analysis of cellular and protein content of broncho-alveolar lavage fluid from patients with idiopathic pulmonary fibrosis and chronic hypersensitivity pneumonitis. *J Clin Invest* 1977; 59: 165-175.
17. Crystal RG: Interstitial lung disorders, in Braunwald E, Isselbacher KJ, Petersdorf RG, et al (eds): *Harrison's Principles of Internal Medicine*, ed 11. New York, McGraw-Hill Inc, 1987, chap 209, pp 1095-1100.
18. Scadding JG: Fibrosing alveolitis. *Br J Med* 1964; 2: 686.
19. Rennard SI, Hunninghake GW, Bitterman PB, et al: Production of fibronectin by the human alveolar macrophage: Mechanism for the recruitment of fibroblasts to sites of tissue injury in interstitial lung diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981; 78: 7147-7151.
20. Bitterman PB, Adelberg S, Crystal RG: Mechanisms of pulmonary fibrosis: Spontaneous release of the alveolar macrophage-derived growth factor in the interstitial lung disorders. *J Clin Invest* 1983; 72: 1801-1813.
21. Wyatt I, Doss AW, Zavala DC, et al: Intrabronchial instillation of paraquat in rats: Lung morphology and retention study. *Br J Ind Med* 1981; 38: 42-48.
22. Sykes BI, Purchase IFH, Smith LL: Pulmonary ultrastructure after oral and intravenous dosage of paraquat to rats. *J Pathol* 1977; 121: 233-241.
23. SKillrud DM, Martin WJ: Paraquat-induced injury of type II alveolar cells. An in vitro model of oxidant injury. *Am Rev Respir Dis* 1984; 129: 995-999.
24. Evans MJ, Cabral LJ, Stephens RJ, et al: Renewal of alveolar epithelium in the rat following exposure to NO₂. *Am J Pathol* 1973; 70: 175-198.
25. Dearden LC, Falshter RD, McRae DM, et al: Pulmonary ultrastructure of the late aspects of human paraquat poisoning. *Am J Pathol* 1978; 93: 667-680.