

히스타민으로 유발시킨 피부염증 부위의 RISA 클리어런스 및 수분 이동

RISA Clearance and Water Shift in Skin Inflammatory Region Induced by Histamine Injection

서울대학교 의과대학 생리학교실

邊 鼎 埴 · 南 基 鏞

염증 조직에서 조직 세포의 변성, 삼출 및 조직 증식이 순서적으로 발생한다는 조직학적 지견은 주지의 사실이며 염증 반응의 공통적인 현상이지만 염증 반응의 진전 혹은 강도를 양적으로 판별할 수 있는 방법은 별로 신통한 것이 구명되어 있지 않다. 물론 종래에 염증 반응의 정도를 구명하기 위하여 여러 저자들에 의하여 많은 방법이 소개되어 있다.

즉 염증 조직에 삽입한 솜뭉치의 무게를 달아서 비교하는 방법¹⁾, 미리 감각된 동물에 항원(antigen)을 주입한 후 무릎 관절의 무게를 측정하는 방법²⁾, 염증 부위 팔다리의 용적을 정상 부위와 비교하는 방법³⁾, 염증 부위 피부 및 정상 부위 피부의 같은 넓이를 적출하여 무게를 비교하는 방법⁴⁾, 또는 염증 부위의 홍조(erythema)의 정도로 구별하는 방법⁵⁾ 등 여러 방법이 종래에 소개되고 있으나 이들 방법론 및 평가 기준이 애매하므로 혼히는 사용되고 있지 않다. 이러한 목적에 흔히 사용되는 방법으로서 Evans blue 와 같은 청색 염료가 발견되고 이 염료가 혈청 단백질과 강하게 결합한다는 특성⁶⁾을 이용하여 피부 염증에서 Evans blue 를 주입한 후 이 염료의 염증 부위의 착색 정도를 육안적으로 관찰하여 염증의 범위와 강도를 판별하는 방법^{7,8)} 등을 들 수 있다. 이러한 방법에 의한 연구는 염증 부위에서 일어나는 순환과 물질이동의 변화를 확실한 것이다. 더구나 근래에 와서 혈청 단백질을 I¹³¹로 표지한 동위원소가 이용됨에 따라 순환계 생리학에 있어서 측정불가능하였던 여러 과정이 해명되었고⁹⁻¹⁶⁾ 특히 조직 손상의 경우에 혈청 단백질의 모세관벽을 통한 투과성의 변화를 직접 관찰할 수 있게 되었다^{17,18)}.

염증 반응에서 전술한 바와 같이 초기에 국소적으로 혈관확장이 유발되고 2차적으로 모세관벽이 손상을 입어서 삼출현상을 초래한다는 조직학적 소견은 Evans blue 주입으로 염증 부위에 색소 침착 범위가 넓어진다는 사실¹⁹⁾과 부합되며 이러한 사실은 혈청 단백질이 조

직으로 이동하는 분량이 증가함을 의미한다.

이 실험은 radioiodinated serum albumin 을 이용하여 histamine 으로 유발한 토끼의 피부 염증 부위에서 혈청 단백질의 모세관벽을 통과하는 이동을 양적으로 측정함으로써 피부 염증의 진행정도 및 강도와와의 관계를 구명하고자 한 것이다. 한편 염증 부위의 단백질 이동에 동반하는 Starling hypothesis 로 인한 수분 이동의 변화를 관찰하고 세포의 체액의 크기도 측정하여 비교하였다.

실험 방법

1. 실험재료

20 마리의 토끼를 사용하였다. 토끼에는 30 mg/kg 의 pentobarbital sodium 을 귀의 가장자리 정맥을 통하여 주입하여 마취시키고 복부 피부의 털을 면도로 깎아서 노출시켰다.

2. RISA 의 주입 용액

1 mC 의 RISA (Abott, Oak Ridge) 를 생리적 식염수 50 cc 에 희석하고 1 gm% 의 농도로 즉 0.5 gm 의 Evans blue 를 첨가하여 용액으로 만들어 주입 용액으로 사용하였다.

토끼 한 마리에 2 cc 의 주입 용액 즉 40 μ C 의 RISA 를 주입하였다. RISA 의 I¹³¹의 반감기는 8 일 내외이므로 8 일 이후의 주입방사능량은 약 20 μ C 에 해당한다. 본 실험에서의 방사능 측정은 주입 RISA 의 I¹³¹의 감쇠로 인한 오류를 제거하기 위하여 RISA 용액을 만든 후 약 8 일 내외에 측정하였으므로 동물처리의 날자에 관계없이 제측치를 상호 비교할 수 있었다.

3. 일반 실험 조작

실험 동물을 마취한 후 복부 피부를 면도하여 노출하고 RISA 주입용액을 2 cc 정맥주입한 후 10 분동안 생체

내에 주입한 RISA 가 균등히 분포될 때까지 기다려 노출된 복부 피부에서 7 부위를 선택하여 0.05 cc 용적의 histamine dihydrochloride 용액을 서로 함량을 달리하여 피내주사 하였다.

복부 피부의 histamine dihydrochloride 용액 주사 부위는 정중선에 명행된 좌우 2 줄을 임의로 선택하고 각주사 부위사이의 간격은 적어도 3 cm 이상으로 하여 피내주사 하였다. 7 부위중 6 부위에 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} , 10^0 , 10^1 , $10^2 \mu\text{g}$ 의 histamine dihydrochloride 를 대수적으로 함량을 증가시켜 0.05 cc 용적을 주입하고 한 부위는 생리적 식염수 0.05 cc 만 주입하여 대조 부위로 이용하였다. Histamine 용액의 피내주입시에 용액의 누출을 방지하기 위하여는 24 게이지 주사침을 적어도 1.5 cm 이상 삽입한 다음 0.05 cc 의 주사 용액을 주입하고 바늘이 들어간 자리는 곧 반창고로 봉을 하였다.

Histamine 용액을 복부 피내에 주사한 후 정확히 10 분 후에 채혈하고 동물을 희생시켜 histamine 으로 유발된 염증 부위 피부를 적출하였다. 염증 부위의 한계는 RISA 주입용액에 같이 용해한 Evans blue 염료의 착색을 기준으로 하여 피부를 적출하였다. 실제로 histamine 주입 용량에 따라 Evans blue 의 착색 범위가 증가함을 육안으로 관찰할 수 있었다.

적출한 각 피부 표본은 두 구분으로 나누어 정확히 무게를 달은 다음 하나는 110°C 항온기에서 24 시간 건조시켜 건조 전후의 무게의 차이로 조직 수분량을 측정하고 건조 조직은 다시 유발에 담고 염산으로 처리된 모래와 농질산과 함께 갈아서 균동액을 만들고 원침하여 상청액을 분리하였다. 상청액을 일정량 잡아서 조직 Na 농도를 Baird flame photometer 로 측정하였다. Histamine 주사 후 10 분 후에 채혈한 혈액으로 부터도 혈장을 분리하여 같은 방법으로 Na 농도를 측정하였다. 나머지 조직 표본은 직접 농염산 3 cc 를 첨가하여 균동액을 만들고 well type scintillation counter 로 방사능을 측정하여 cpm/gm 으로 표시하였다.

4. 계산방법

a. 조직 수분량: 건조 전후의 무게의 차이를 wet weight 로 제하여 wet weight 의 분율로 표시하였다.

b. 피부 혈장량: 복부 피부에 생리적 식염수만 주사한 대조 부위의 RISA 의 방사능과 혈장의 RISA 방사능과의 비율을 구하고 cc/gm 으로 표시하였다.

c. 피부 조직의 RISA clearance (C): 피부 조직의 RISA clearance 라 함은 혈청 단백질이 혈관밖으로 이동할 때 동반하는 혈장량 혹은 수분량을 의미하며 다음과 같이 계산하였다.

$$C = \frac{\text{조직 } I^{131}\text{방사능(cpm/gm)}}{\text{혈장 } I^{131}\text{방사능(cpm/ml)}}$$

d. 세포의 체액: 이것의 측정은 염증 조직의 Na 의 투과성 변화를 무시하고 Na 분포용적을 계산하여 세포의 체액량으로 간주하여 비교하였다.

e. 세포내 체액(ICF): 조직 총수분량과 Na 분포용적의 차이로 얻었다.

실험 성적

Histamine dihydrochloride 의 log doses 로 유발한 여러 강도의 토끼 피부 염증 부위에서 RISA 의 국소 clearance 를 측정하고 동시에 Na 분포용적 및 총수분량의 염증 강도에 따르는 변동을 측정하여 제 1 표에 종합하였다.

염증 부위에 식별은 RISA 주입 용액에 같이 용해한 Evans blue 의 착색 부위를 육안으로 결정하여 적출하였다. Evans blue 염료의 피부 착색은 생리적 식염수만 주입한 대조 부위에서는 다른곳 정상 부위와 차이 없이 무시할 정도였으나 histamine 주입 부위는 용량 증가에 따라 색소의 농도 및 범위가 증가되었다. 즉 염증 강도에 따라 혈청단백질이 혈관 밖으로 이동함을 보여 주고 있었다.

첫째로 건조 전후의 조직 무게차로 측정된 염증 부위의 총수분량은 대조 부위에서 평균 조직 무게의 $67.8 \pm 2.3 \%$ 의 값을 얻었는데 비하여 히스타민 주입 부위에서는 주입량 증가에 따라 현저한 증가를 보였다. 즉 $10^{-3} \mu\text{g}$ 의 소량의 히스타민을 주입한 부위에서는 $68.6 \pm 1.5 \%$ 로 대조 부위값에 비하여 1% 미만인 증가하였을뿐이어서 큰 차이가 없었으나 히스타민 주입량을 10배 증가한 $10^{-2} \mu\text{g}$ 주입 부위에서는 $70.5 \pm 2.3 \%$ 로 급격히 상승하기 시작하여 대조값의 3.98%의 증가를 보였고 $10^{-1} \mu\text{g}$ 주입 부위에서 $72.0 \pm 3.2 \%$ 로 대조값의 6.18%, $10^0 \mu\text{g}$ 주입 부위에서 $73.8 \pm 2.6 \%$ 로 8.84%, $10^1 \mu\text{g}$ 주입 부위에서 평균 $75.6 \pm 3.5 \%$ 로 11.5%, $10^2 \mu\text{g}$ 주입 부위에서 평균 $76.0 \pm 2.9 \%$ 로 12.1%의 증가를 각각 보였다.

총수분량의 변동을 종합적으로 관찰하면 제 1 도에서 보는 바와 같이 $10^{-3} \mu\text{g}$ 이하의 소량의 히스타민 주입 부위에서 대조값과 별로 차이 없이 비등하였으나 $10^{-2} \sim 10^1 \mu\text{g}$ 범위의 히스타민 용량 주입 부위에서 급격히 직선적으로 증가하고 그 이상의 용량에서는 최대 평탄값(plateau)을 보였으므로 히스타민 사용량—총수분량 곡선은 전체적으로 S 자형을 이루었다. 이러한 사실은 피부 국소의 염증 반응은 히스타민 용량에 따라 그 강도가 변화하며 염증 반응의 강도가 클 수록 국소 수분량이 증가되어 부종을 초래하는 것을 가리킨다.

이상과 같이 총수분량을 직접 측정하여 염증 강도에 따르는 부종의 정도를 구명할 수 있었으나 국소 염증부

Table 1. Tissue water, RISA clearance, extracellular fluid and intracellular fluid in the histamine induced inflammatory skin tissue

Histamine dose	No of case	Tissue water		Na space				ICF	RISA clearance	
		% tissue wt.	% increase	(Na) plasma	(Na) tissue	Na space	% increase		CRISA	*ratio (Ch/Cc)
μg		%	%	meq/l	meq/kg	%	%	%	cc/gm	
0 (control)	20	67.8 (± 2.3)	0	138.2 (± 2.4)	57.4 (± 2.6)	41.5 (± 1.0)	0	26.3	0.036 (± 0.005)	1
10^{-3}	20	68.6 (± 1.5)	1.18	137.8 (± 5.6)	57.5 (3.2)	41.8 (± 1.2)	0.70	26.8	0.046 (± 0.009)	1.3
10^{-2}	20	70.5 (± 2.3)	3.98	140.2 (± 2.3)	59.6 (1.6)	42.4 (± 3.5)	2.17	28.1	0.115 (± 0.039)	3.2
10^{-1}	20	72.0 (± 3.2)	6.19	139.5 (5.6)	60.5 (± 1.8)	43.4 (± 2.3)	4.57	28.6	0.153 (± 0.023)	4.3
10^0	20	73.8 (± 2.6)	8.84	138.0 (± 1.9)	61.1 (± 2.5)	44.3 (± 2.5)	6.74	29.5	0.175 (± 0.057)	4.9
10^1	20	75.6 (± 3.5)	11.5	141.2 (± 3.5)	62.8 (± 3.6)	44.5 (± 2.0)	7.23	31.1	0.187 (± 0.068)	5.2
10^2	20	76.0 (± 2.9)	12.1	138.5 (± 2.6)	62.2 (± 2.3)	44.8 (± 1.9)	7.95	31.2	0.206 (± 0.072)	5.7

*Clearance ratio = $\frac{\text{Clearance in histamine induced inflammation}}{\text{Clearance in control}}$

위에서 증가된 수분량의 세포의 체액 및 세포내 체액의 분포 상태를 구별할 수 없으므로 피부 염증 조직의 Na 분포용적을 측정하여 세포의 체액으로 간주하고 총수분

량과 Na 분포용적의 차이로 세포내 체액을 계산하여 히스타민 주입량에 따르는 국소 조직의 두 부분의 크기의 변동을 비교하였다.

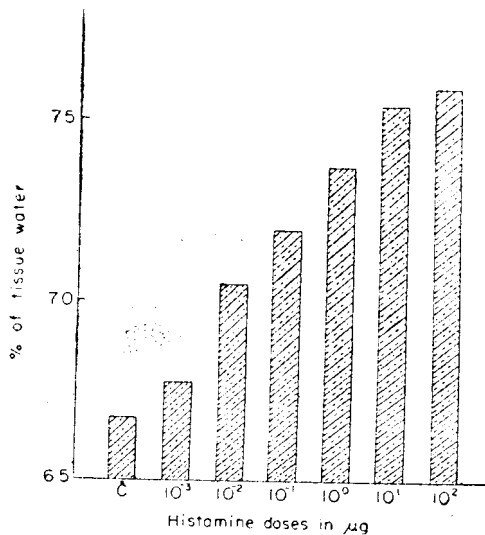


Fig. 1. Changes in percent water content of tissue by graded doses of histamine in rabbits.

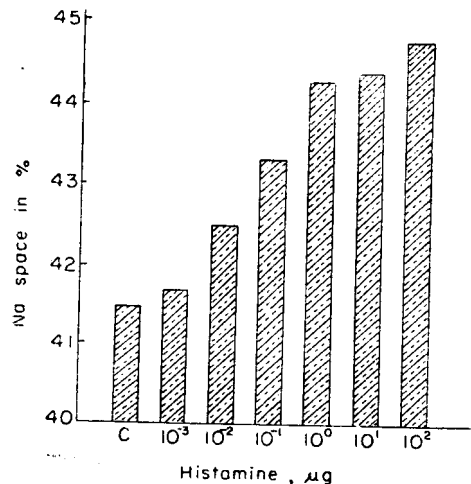


Fig. 2. Increase in extracellular fluid by graded doses of histamine.

소듐 분포용적 즉 세포의 체액량은 제 1표 및 제 2도에서 보는 바와 같이 $10^{-3}\mu\text{g}$ 주입 부위에서 평균 $41.8 \pm 2.0\%$ 로 대조 부위의 값 평균인 $41.5 \pm 1.0\%$ 에 비하여 큰 차이는 없었으나 $10^{-2}\mu\text{g}$ 주입 부위부터 $10^0\mu\text{g}$ 주입 부위까지는 히스타민 주입량 증가에 따라 거의 직선적으로 증가하고 그 이상의 주입 부위에서는 증가율이 저하되면 비교적 일정한 값을 보였다. 전체적인 소듐 분포용적—히스타민 사용량 곡선은 총수분량—용량 곡선의 모양과 같이 S자형을 이루었으나 소듐 분포용적의 히스타민 주입량에 따르는 증가율은 총수분량 증가율에 비하여 완만하였다. 한편 세포내 체액량은 제 1표에 표시한 바와 같이 대조 부위에서 조직 무게의 26.3% , $10^{-3}\mu\text{g}$ 주입 부위에서 26.6% 로 별반 차이가 없었으나 $10^{-2}\mu\text{g}$ 주입 부위에서 평균 28.0% , $10^{-1}\mu\text{g}$ 주입 부위에서 28.6% , $10^0\mu\text{g}$ 주입 부위에서 29.5% , $10^1\mu\text{g}$ 주입 부위에서 평균 31.1% , $10^2\mu\text{g}$ 주입 부위에서 31.2% 로 히스타민 주입량에 따라 증가하였고 전체적인 증가율은 제 3도에서 보는 바와 같이 총수분량 및 소듐 분포용적의 증가율과 비슷한 모양의 변동을 보였다.

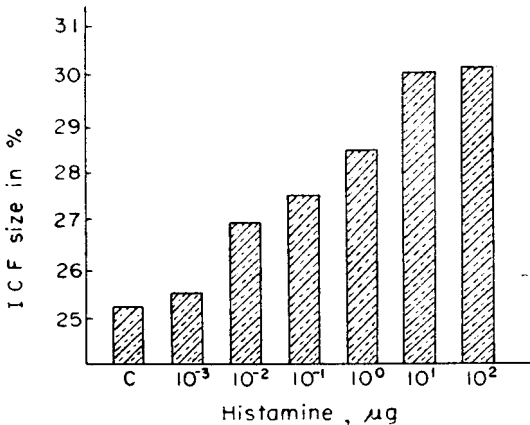


Fig. 3. Increase in the size of intracellular fluid after injection of various doses of histamine.

이상과 같이 피부 염증 반응에 있어서 증가된 수분은 세포의 체액 뿐만 아니라 세포내 체액에도 상당한 양이 분포되어 부종을 초래함을 확인할 수 있었다.

이상 실험 성적에서 염증 강도에 따르는 국소 조직의 수분 이동 및 분포 상태의 변동은 어느 정도 량적으로 구명할 수 있었으나 부종의 발생 기전에 관한 설명은 할 수 없었다. 따라서 국소 염증 부위의 부종 발생의 기전을 구명하기 위하여 셋째로 모세관벽을 통한 혈청 단백질 이동에 따르는 수분의 이동 즉 혈청 단백질의 국소 클리어런스(local clearance of RISA)를 측정하여 제 1

표 및 제 4도에 표시하였다.

대조 부위의 RISA의 클리어런스는 곧 국소 피부조직의 혈장량을 의미하며 평균 $0.036 \pm 0.005 \text{ cc/gm}$ 의 값을 보였다. 만약에 헤마토크릿 값을 40% 라고 가정하면 피부조직의 정상 혈액량은 0.06 cc/gm 로 조직 무게의 약 6% 를 차지하는 셈이며 이것은 정상값이라 할 수 있다. 그러나 히스타민으로 유발된 염증부위의 RISA 클리어런스는 히스타민 주입량에 따라 현저히 증가하고 $10^{-3}\mu\text{g}$ 주입 부위에서 평균 $0.046 \pm 0.008 \text{ cc/gm}$, $10^{-2}\mu\text{g}$ 주입 부위에서 평균 $0.115 \pm 0.012 \text{ cc/gm}$, $10^{-1}\mu\text{g}$ 주입 부

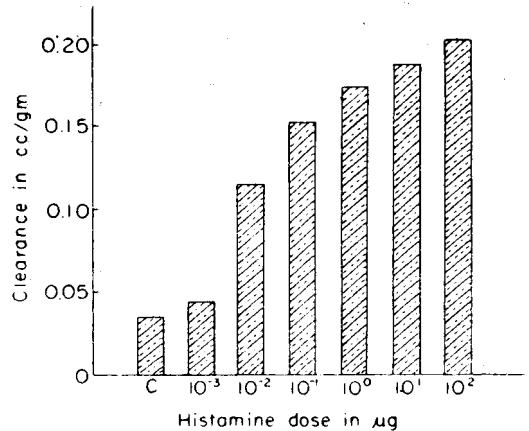


Fig. 4. Skin clearance of I^{131} after graded doses of histamine dichloride.

위에서 $0.153 \pm 0.032 \text{ cc/gm}$, $10^0\mu\text{g}$ 주입 부위에서 $0.175 \pm 0.062 \text{ cc/gm}$, $10^1\mu\text{g}$ 주입 부위에서 $0.187 \pm 0.073 \text{ cc/gm}$, $10^2\mu\text{g}$ 주입 부위에서 $0.206 \pm 0.072 \text{ cc/gm}$ 로서 $10^{-3}\mu\text{g}$ 주입 부위를 제외하고는 히스타민 용량 증가에 따라 급격히 증가하고 제 4도에서 보는 바와 같이 전반적으로 S자형 곡선을 이루었다. 한편 대조 부위 및 히스타민 주입 부위의 클리어런스 값의 비율(clearance ratio)을 구하여 클리어런스의 증가율을 관찰한 바 제 5도에서 보는 바와 같이 $10^{-3}\mu\text{g}$ 주입 부위에서 대조값의 약 1.3배로 변화가 크다고 할 수는 없으나 $10^{-2}\mu\text{g}$ 주입 부위에서 3.2배, $10^{-1}\mu\text{g}$ 주입 부위에서 4.3배, $10^0\mu\text{g}$ 주입 부위에서 4.9배, $10^1\mu\text{g}$ 주입 부위에서 5.2배, $10^2\mu\text{g}$ 주입 부위에서 5.7배로 급격히 증가 되었다.

$10^{-3}\mu\text{g}$ 주입 부위에서 클리어런스가 1.3배로 증가하였음은 히스타민이 혈관확장을 초래하여 혈관내 혈장량의 증가현상이라고 보겠으나 $10^{-2}\mu\text{g}$ 이상의 히스타민 주입 부위에서 clearance ratio가 3배 이상으로 증가한 사실은 히스타민 자극으로 인하여 모세관벽의 혈장 단백질에 대한 투과성이 증가 또는 혈관벽의 파괴로 조직으로 혈장이 이동되어 염증 부위의 수분량을 증가시켜 부

Table 2. Actual increments in tissue water, ECF, ICF and RISA clearance

Histamine dose (μg)	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^0	10^1	10^2
Tissue H ₂ O (cc/gm)	0.006	0.027	0.042	0.060	0.076	0.082
ECF (cc/gm)	0.003	0.010	0.019	0.028	0.030	0.033
ICF (cc/gm)	0.003	0.017	0.023	0.032	0.046	0.049
*Difference of RISA clearance cc/gm	0.010	0.079	0.117	0.139	0.151	0.170

*Extravasated plasma volume which was estimated from the differenc of RISA clearance in the histamine induced inflammatory skin and that in the control skin.

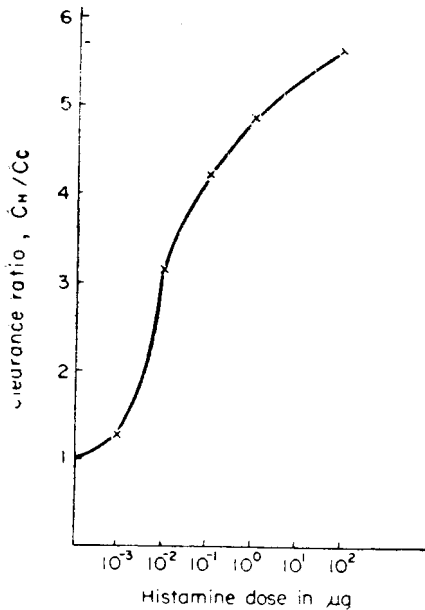


Fig. 5. Clearance ratio at various sites of histamine induced inflammatory skin.

종을 초래한다고 지적할 수 있겠다.

넷째로 여혈된 혈장량을 염증부위와 대조부위의 RISA 클리어런스의 차이로 구하고 이것과 조직의 수분량, ECF 및 ICF 증가를 비교하기 위하여 제 2 표 및 제 6 도를 만들었다.

즉 히스타민 자극으로 인하여 혈관밖으로 이동한 실지의 혈장량은 $10^{-3}\mu\text{g}$ 주입 부위에서 평균 0.01 cc/gm 으로 조직 무게의 1 %에 불과하고 조직 총수분량의 증

가는 0.006 cc/gm 이었으므로 조직에 삼출한 혈장의 약 60 %가 총수분량 증가에 관여한 셈이 된다. 한편 세포 외 체액 및 세포내 체액의 증가는 전자에서 평균 0.003 cc/gm, 후자에서 0.003 cc/gm 이었으므로 증가된 총수분량의 50%가 각각 세포의 체액량 및 세포내 체액량을 증가하는데 관여한 셈이다. 더 많은 히스타민을 주었을 때의 값도 제 2 표에 보는 바와 같이 분석할 수 있다. 그

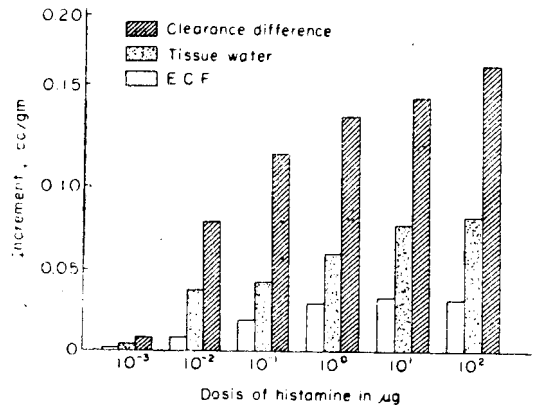


Fig. 6. Actual increment of tissue water, extracellular fluid, and the difference of RISA clearance by graded doses of histamine hydrochloride.

것이 세포의 체액과 세포내 체액 구분에 어떻게 나누어졌는가를 분석하여 제 3 표에 실렸다. 표에서 보면 히스타민 자극 부위에서 삼출 혈장의 평균 45.3 %가 총수분량, 그중 19.7 %가 세포의 체액량, 25.6 %가 세포

Table 3. Ratio of actual increments in tissue water, extracellular fluid and intracellular fluid to extravasated plasma

Histamine dose (μg)	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^0	10^1	10^2	Mean	Equivalent of % increase in tissue water
Tissue water (%)	60.0	34.2	35.9	43.2	50.3	48.2	45.3	100
ECF (%)	30.0	12.7	16.2	20.1	19.8	19.4	19.7	43.5
ICF (%)	30.0	21.5	19.7	23.1	30.5	28.8	25.6	56.5

내체액량 증가에 관여하였음을 계산할 수 있었다. 따라서 조직에 증가된 수분량의 43.5%가 세포외 체액에 첨가되고 나머지 56.5%가 세포내 체액에 첨가되어 부종을 만들었다.

총수분량 증가에 관여하지 않은 부분의 삼출 혈장의 행방은 본 실험에서 구명할 수 없었으나 임파계를 통하여 흡수될 가능성을 지적할 수 있겠다.

고 찰

히스타민으로 유발시킨 피부 염증 부위에서 수분 및 혈청 단백질의 이동을 관찰하기 위하여 RISA 주입용액을 주사 후 10분에 염증 부위를 적출하여 분석한 이유는 Zweifach¹⁷⁾ 등의 실험 성적 즉 염증 부위의 혈청 단백질의 축적은 시간의 함수이며 RISA의 조직 분포가 10분까지는 급격히 지수적으로 증가하지만 10분 이후는 최대 평탄값을 보인다는 사실을 참작하여 시간적인 간격을 결정한 것이었다. 즉 10분 후의 각 염증 부위의 수분 및 단백질의 분포 과정이 히스타민 용량에 따르는 염증 강도에서 최대로 변화하였다는 가정하에 각 부위를 비교하였다.

히스타민 주입 용량에 따라 국소 염증 부위의 총수분량, 세포외 체액, 세포내 체액 및 RISA 클리어런스 값은 제 1, 2, 3, 4도에서 보는 바와 같이 히스타민 용량-반응 곡선에서 모두 같은 모양으로 S자형 곡선을 이루며 증가하였다. 즉 $10^{-3}\mu\text{g}$ 이하의 소량 주입 부위에서는 대조 부위 값에 비하여 증가율이 적었으나 $10^{-2}\sim 10^1\mu\text{g}$ 범위의 용량에서는 용량 증가에 따라 급격히 지수적으로 증가하고 그 이상의 용량에서는 모두 최대값을 보이며 비교적 일정한 값을 보였으므로 염증 반응에 있어서 수분 및 혈청 단백질의 삼출현상을 염증 강도에 따라 3단계로 나누어 고찰하겠다.

첫째 단계로서 $10^{-3}\mu\text{g}$ 이하의 문턱 용량(thresholdal dose)에서 약간의 총수분량 및 RISA 방사능의 증가는 염증 반응 초기에 히스타민 자극으로 모세관 확장이 나타나고 혈관내 혈액량 증가에 기인된다고 생각할 수 있으며 세포외 체액, 세포내 체액의 용적도 2차적으로 모세관 확장에 이어 국소 혈관 내압증가로 혈장의 여과율이 증대되므로 세포외 체액의 용적이 증가되고 세포내 체액도 조직압증가로 인하여 연속적으로 증가를 초래한다고 볼 수 있겠다. 특히 세포내 체액의 증가는 염증 반응 초기에 모세관 내피세포가 1차적으로 팽대된다는 조직학적 소견과 부합된다.

이상과 같이 히스타민의 문턱 용량 주입 부위에서는 대조 부위의 값과 큰 차이는 볼 수 없었으나 매 실험에서 총수분량 및 그 분포상태가 약간 증가되었다는 사실

은 홍조(erythema)와 관련된 초기 염증 반응의 첫단계 변화로서 국소 모세관 확장으로 인한 혈관내 현상에 기인된다고 볼 수 있겠다.

둘째 단계로서는 $10^{-2}\mu\text{g}$ 이상의 히스타민 용량을 주입하였을 때 RISA 클리어런스가 히스타민 주입 용량에 비례하여 급격히 3배 이상으로 증가하고 이에 따라 국소 염증 부위의 총수분량, 세포외 체액 및 세포내 체액이 다같이 증가하는 것으로 보아 단순히 혈관확장으로 인한 혈관내 용적의 변화라고는 할 수 없으며 국소 모세관벽 파괴 또는 투과성 변화로 인한 혈정 단백질의 조직으로의 이동을 유발하는 단계로 간주할 수 있을 것이다. 즉 혈청 단백질이 히스타민 용량에 따라 혹은 염증 강도에 비례하여 혈관밖으로 이동할 때 혈장과 같은 농도를 유지하며 이동하므로 2차적으로 혈장 수분 이동의 증가를 초래하여 조직 수분량 및 세포외 체액의 용적도 증가시킨다고 볼 수 있다. 한편 혈관밖으로 새어나온 단백질로 인하여 모세관벽 사이의 교질 삼투압(colloid osmotic pressure)의 저하로 수분의 재흡수가 억제되므로 (Starling law) 국소 조직내 수분 축적은 촉진되어 심한 부종을 초래하는 단계라고 보았다.

셋째 단계로서 히스타민 용량을 $10\mu\text{g}$ 이상 주입하였을 때 RISA 클리어런스 뿐만 아니라 총수분량, 세포외 체액 및 세포내 체액의 용적이 최대값을 보이며 증가율이 저하하였다는 사실은 국소 조직의 모세관벽의 파괴가 극도에 달하여 자유로이 혈청 단백질이 모세관벽을 투과하여 조직에 축적되고 이때 동반하는 혈장량도 무제한으로 증가되었으나 세포내 체액 및 세포외 체액의 수용 능력에 한계가 있으므로 총수분량 및 세포외 체액의 용적이 더 이상 증가하지 못하고 이때 축적된 혈청 단백질은 수분과 함께 임파계를 통하여 제거되던가²⁰⁾ 또는 Rigdon²¹⁾ 등이 추측한 바와 같이 조직내 어떤 물질과 결합하여 실질 증식을 초래하여 제거되어야 될 것이다. 즉 셋째 단계의 국소 염증 반응은 모세관벽의 단백질에 대한 투과성이 최고에 달하였을 때 염증 부위의 단백질의 축적물이 조직 실질대사 및 임파계를 통한 제거율과 같을 때 어떤 평형상태를 유지하는 최대 염증 반응이라고 하겠다. 실지로 이 단계의 염증 부위에서는 RISA 주입 용액과 같이 주입한 Evans blue의 착색 범위가 증가되었다는 육안적 소견으로도 추측할 수 있는 바와 같이 국소 조직의 수분 수용 능력에 한계가 있으므로 잉여 수분은 인접 조직에 퍼지는 현상을 주었다.

이상과 같이 염증 강도에 따라 염증 부위의 수분 분포의 변동 및 단백질 이동을 3단계로 나누어 염증 반응을 분석하였으나 RISA 클리어런스를 기준으로 한 수분의 증가량은 직접 측정된 총수분량과 일치하지 않고 언제나 후자에 있어서 적은 값 즉 혈관내 단백질과 동

반하여 삼출된 수분의 약 45%가 조직수분량 증가에 관여하는데 불과하였다. 나머지 수분의 행방은 본 실험에서 구명할 수 없었으나 단백질이 임파계를 통하여 제거된다는 사실²³⁾로 보아 임파계로 확산할 때 수분의 확산 계수가 분자량이 큰 단백질의 값보다 훨씬 크므로 수분 확산이 선행되어 임파계를 통하여 수분이 단백질 보다 먼저 제거되는 현상이라고 보겠다.

총괄

토끼에 1% Evans-blue 용액에 RISA 를 용해한 것 2 cc(30~100 μ C)를 정맥주사한 다음 복부 피부 7 부위를 임의로 선택하여 0.05 cc 용적의 히스타민 용액을 대수용량(logarithmic dose)으로 증가시켜 피내주사 함으로써 여러 강도의 피부염증을 유발시켰다. 히스타민 용액 주입 10분 후에 염증 부위를 미리 주입한 Evans blue의 착색 범위를 기준으로 하여 적출하고 심장 천자로 혈액을 채취하여 여러 검사를 하였다.

히스타민 용량 증가에 따르는 각 염증 부위의 RISA 클리어런스, 총수분량, 세포의 체액량 및 세포내 체액량의 변동을 생리적 식염수만 주입한 대조 부위의 값과 비교하고 한편으로는 염증 강도에 따르는 단백질 및 수분 분포의 변화를 비교하여 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. 총수분량은 대조 부위에서 평균 67.8 ± 2.3 %이었으며 $10^{-3} \mu$ g 주입 부위에서 약간 증가하였으나 대조값과 별반 차이가 없었다. 그러나 $10^{-2} \mu$ g 이상의 히스타민 주입 부위에서는 히스타민량의 증가와 더불어 급격히 증가되고 $10^1 \mu$ g 이상의 용량에서는 최대값을 보이며 비교적 일정하였다. $10^2 \mu$ g 주입 부위의 총수분량은 평균 76.0 ± 2.9 %로 대조값에 비하면 12.1%의 증가를 보였다. 이때 수분량 증가의 절대치는 0.082 cc/gm에 해당하였다.

2. 히스타민 량에 따르는 세포내 체액 및 세포의 체액의 증가는 총수분량의 변화 과정과 일치하며 용량—반응 곡선은 모두 S형을 이루고 $10^1 \mu$ g 히스타민 주입 부위에서 최대값을 보이기 시작하였다. 세포의 체액량은 대조값 41.5 ± 1.0 %에서 최대값 44.8 ± 1.9 %까지 증가하였고 실지의 세포의 체액의 수분 증가량은 0.33 cc/gm에 해당하였다. 세포내 체액량은 대조값 평균 26.3%에 비하여 $10^2 \mu$ g 주입 부위에서 측정된 최대값은 31.2%로 실지의 세포내 체액의 수분 증가량은 0.049 cc/gm에 해당하였다.

3. RISA 클리어런스 값은 대조 부위에서 평균 0.036 \pm 0.005 cc/gm 로 이는 정상 조직내 혈장량을 의미한다.

히스타민 염증 부위의 클리어런스는 $10^{-3} \mu$ g 이하의 히

스타민 주입 부위에서 평균 0.046 ± 0.009 cc/gm 로 대조값과 큰 차이가 없었으나 $10^{-2} \mu$ g 이상의 용량 주입 부위에서 급격히 상승하기 시작하여 $10^{-1} \mu$ g 주입 부위에서 최대 평탄값을 보였다. $10^2 \mu$ g 주입 부위의 클리어런스는 대조값의 5.7 배인 0.206 ± 0.032 cc/gm 의 값을 보였다. 실지의 혈관밖으로의 삼출 혈장량을 각 염증 부위와 대조 부위의 클리어런스 값의 차로 구한 바 $10^2 \mu$ g 주입 부위에 최대값은 0.170 cc/gm에 해당하였다. 이는 조직 총수분량 증가의 약 2.08 배에 해당하였다.

이상 실험성적을 종합하면 히스타민량 증가에 따르는 RISA 클리어런스, 총수분량, 세포의 체액 및 세포내 체액의 증가 과정은 용량—반응 곡선에서 정도의 차이는 있었으나 모두 S자형을 이루며 일치된 변화를 보였다. 즉 $10^{-3} \mu$ g 이하의 히스타민량으로는 대조값에 비하여 경미하게 증가하고 $10^{-2} \sim 10^1 \mu$ g 주입 부위에서 모두 주입량에 따라 급격히 증가되었으나 $10^1 \mu$ g 이상의 용량을 주입하였을 때는 최대 값을 보이며 증가율이 저하되었다. 따라서 염증 부위의 수분 및 단백질 이동을 문턱 용량의 히스타민 자극시의 변화, 급격히 히스타민 투여량과 더불어 증가할 때의 변화 및 최대값을 보일 때의 변화로 3 단계로 나누어 염증 강도에 따르는 반응을 분석하여 논의하였다.

(여러모로 협조를 아끼지 않은 신동훈·이상돈 두 박사께 감사한다)

ABSTRACT

RISA Clearance and Water Shift in Skin Inflammatory Region Induced by Histamine Injection

Jung Sik Pyun, M.D. and Kee Yong Nam, M.D.

Department of Physiology, College of Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

Movements of RISA across capillary membrane after intradermal injection of histamine were studied in anesthetized rabbits. Intravenous injection of 2 ml saline solution containing 30~100 μ C of RISA and 1% Evans blue dye was given to the animal. The dye served as a guide in delineating the area of inflammatory tissues. In order to ensure uniform distribution of the injected materials, 10 minutes were allowed to elapse before saline and logarithmic doses of histamine dihydrochloride in a volume of 0.05 ml were injected intradermally. A total of 7 sites were injected on the abdo-

minal skin of each animal. Ten minutes after the intradermal injections, animal was killed, the skin sites were excised and blood samples were taken by cardiac punctures. From the tissue and blood samples, radioactivities of RISA, concentration of sodium and tissue water content were analyzed. Calculations were made on contents of tissue water, Na space as a size of extracellular fluid space, size of intracellular fluid and local clearances of RISA.

The following results were obtained.

1. Tissue water content of skin increased as the injected dose of histamine increased. The dose-response curve showed a S-shaped curve. Tissue water content at the control skin site was $67.8 \pm 2.3\%$. At $10^{-3} \mu\text{g}$ histamine injected skin site the tissue water content was only slightly greater than that of the control. As the injected dose of histamine increased up to a dose of $10^1 \mu\text{g}$, skin tissue water content increased steeply. Thereafter skin tissue water content maintained a maximum plateau value of $76.0 \pm 2.9\%$ at a dose of $10^2 \mu\text{g}$ histamine.

2. Histamine dose-response curves of extracellular and intracellular fluid were similar to the tissue water change showing a typical sigmoid curve. The size of extracellular fluid volume determined as Na-space showed $41.5 \pm 1.0\%$ in the control site and increased to the maximum plateau value of $44.8 \pm 1.9\%$ at the dose of $10^2 \mu\text{g}$ histamine. The size of intracellular fluid volume determined by difference between total tissue water and Na-space was averaged of 26.3% in the control site and increased to the maximum plateau value of 31.2% in the site injected $10^2 \mu\text{g}$ of histamine.

3. The RISA clearance was averaged 0.036 ± 0.005 cc/gm at the control site which value represents the plasma volume of normal skin. Clearances in the inflammatory sites induced by graded dose of histamine increased with the same fashion as in the change in tissue water. Thus, a modest increase at a dose of $10^{-3} \mu\text{g}$ histamine, steep increase at the doses of 10^{-2} — $10^1 \mu\text{g}$, thereafter a maximum plateau value of 0.206 ± 0.032 cc/gm were observed. The actual extravasated or transudated plasma volumes can be calculated by obtaining the differences of clearance values of control site and inflammatory sites. The maximum plasma volume extravasated was calculated as 0.17 cc/gm which

is about 5.7 times of the normal plasma volume.

4. From the point of view that dose-response curves of total tissue water, extracellular fluid, intracellular fluid and RISA clearance showed typical sigmoid curves, the inflammatory reactions induced by graded doses of histamine were divided into 3 steps according to their intensity and mechanism of changes. Each step of changes was discussed.

REFERENCES

- 1) Meier, R., W. Schuller, and R. Desaulles.: *Experientia*, 6:469, 1950.
- 2) Ungar, G., E. Damgaard, and F. P. Hummel.: *Action of salicylates and related drugs on inflammation. Am. J. Physiol.*, 171:545, 1952.
- 3) Winder, C.V., J. Wax, and M.A. Been: *Arch. Intern. Pharmacodynamie*, 112:174, 1957.
- 4) Ungar, G., S. Kobrin, and B.R. Sezesny: *Arch. Intern. Pharmacodynamie*, 123:71, 1959.
- 5) Schlager, C.A., and J.I. Northam: *Comparative anti-inflammatory efficiency of topically applied steroids on human skin (25041). Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 101:629, 1959.
- 6) Rawson, R.A.: *The binding of T-1824 and structurally related diazo dyes by the plasma proteins. Am. J. Physiol.*, 138:708, 1943.
- 7) Ramsdell, S.G.: *J. Immunol.*, 15:305, 1928.
- 8) Menkin, V.: *Physiol. Revs.*, 18:366, 1938.
- 9) Kety, S.S.: *Am. J. M. Sc.*, 215:352, 1948.
- 10) Kety, S.S.: *Measurement of regional circulation by the local clearance of radioactive sodium. Am. Heart J.*, 38:321, 1949.
- 11) Dewey, W.C.: *Vascular-extravascular exchange of I^{131} plasma proteins in the rat. Am. J. Physiol.*, 197:423, 1959.
- 12) Duncan, L.E., J. Cornfeld, and K. Buck.: *Circulation of iodinated albumin through aortic and other connective tissues of the rabbit. Circulation Research*, 6:244, 1958.
- 13) Everett, N. B., and B. Simmons.: *Measurement and radioautographic localization of albumin in rat tissues after intravenous administration. Circulation Research*, 6:307, 1958.
- 14) Fine, J., and A. M. Seligman.: *J. Clin. Invest.* 22:285, 1943.

- 15) Krieger, H., J.P. Storaasli, W.J. MacIntyre, W.D. Holden, and Priedell, M.T.: *Ann. Surg.*, 136:357, 1952.
 - 16) Levenson, J.M., L.E. Jimenez, E.T. Samet, and M.T. Friedell: *A. M. A. Arch. Surg.*, 71:167, 1955.
 - 17) Aschheim, E. and B.W. Zweifach: *Kinetics of blood protein leakage in inflammation. Circulation Research*, 9:349, 1961.
 - 18) Aschheim, E. and B.W. Zweifach: *Studies in the kinetics of inflammation. Federation Proc.* 19: 357, 1960.
 - 19) Ramsdell, S.G.: *J. Immunol.*, 15:305, 1928.
 - 20) Hollander, W., P. Reilly, and B.A. Burrows: *On the absorption of fluids from the connective tissue spaces. J. Clin. Invest.*, 40:222, 1961.
 - 21) Rigdon, R.H. In: *Lymphatic flow in human subjects as indicated by the disappearance of I¹³¹-labeled albumin from the subcutaneous tissue. The Mechanism of Inflammation*, edited by G. Jasmin and A. Robert. Montreal: Acta Inc., 1953, pp. 125-132.
-