

## 토끼에서 Myocardial Infarction 후 Left Ventricular Remodeling에 대한 Matrix Metalloproteinase의 차단 효과

김수현\* · 한승세\*\* · 정태은\*\* · 홍그루\*\*\*

### The Effect of Matrix Metalloproteinase Inhibitor for Left Ventricular Remodeling after Myocardial Infarction in a Rabbit Model

Soo Hyun Kim, M.D.\*, Sung Sae Han, M.D.\*\*, Tae Eun Jung, M.D.\*\*, Geu Ru Hong, M.D.\*\*\*

**Background:** Matrix Metalloproteinase (MMP) inhibition has emerged as a potential therapeutic strategy for the left ventricular dilatation that occurs after myocardial infarction. This study is designed to evaluate which treatment is better for attenuating the left ventricular remodeling via MMP inhibition 1) during the early, short highly MMP producing period of the initial phase or 2) during most of the period of the initial phase after myocardial infarction. **Material and Method:** Myocardial infarction was induced by ligation of the left anterior descending coronary artery in rabbits. The experimental group was divided into 3 groups. The myocardial infarction only (MI only) group consisted of 7 cases. The MMP inhibitor administered for 5 days after MI (MMPI 5d) group had 6 cases, and these rabbits were given MMP inhibitor for 5 days after myocardial infarction, beginning with the postoperative first day. MMP inhibitor administered for 9 days (MMPI 9d) group consisted of 5 cases and these rabbits were given MMPI for 9 days the same manner as above. CG2300 was used as a selective MMPI; this is a potent MMP-2 and -9 inhibitor. Two-D echocardiograms were performed on all the groups at the time of preoperative period, the postoperative 1st week, the postoperative 2d week and the postoperative 3d week, and we measured the end-diastolic dimension (EDD), the end-systolic dimension (ESD), and the ejection fraction (EF). **Result:** The echocardiograms generally showed postoperative left ventricular dilatation in the MI only group. The EDD was increased significantly higher in the postoperative 1 week compared to the preoperative value ( $p < 0.05$ ). The ESD was also increased significantly higher in the postoperative 1st week, the postoperative 2d week and the postoperative 3d week compared to the preoperative value ( $p < 0.05$ ). Left ventricular dilatation was noted to be less in the MMPI 9d group than in the MI only and MMPI 5d groups. In the MMPI 9d group, there was no significant change of EF postoperatively compared to the preoperative period. MMP-2 and MMP-9 were measured from the infarcted myocardial tissue at post-MI 4 weeks by performing western blotting and zymography. The changes the of protein expression and activity of MMP-2 and MMP-9 were not significant in the three MI groups and the normal heart group. Histopathologic examination revealed severe collagen deposition in the MI only group. Collagen accumulation

\*수 흉부외과의원

Su Thoracic and Cardiovascular Surgical Clinic

\*\*영남대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Yeungnam University

\*\*\*영남대학교 의과대학 순환기내과

Division of Cardiology, Department of Internal Medicine, College of Medicine, Yeungnam University

논문접수일 : 2007년 2월 15일, 심사통과일 : 2007년 3월 26일

책임저자 : 한승세 (705-717) 대구시 남구 대명5동 317-1, 영남대학교병원 흉부외과

(Tel) 053-620-3881, (Fax) 053-626-8660, E-mail: sshan@med.yu.ac.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

was reduced in both the MMPI groups. The MMPI 9d group revealed an increased number of capillaries. **Conclusion:** Left ventricular dilatation developed rapidly after, MI from ligation of the coronary artery and MMPI attenuated the ventricular dilatation. The effect of MMPI seemed to have better a result from its usage during most of the period of the initial phase after myocardial infarction. This suggested that increased neovascularization by MMPI may also contribute to attenuation of the left ventricular remodeling.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2007;40:329-340)

**Key words:** 1. Myocardial infarction  
2. Matrix metalloproteinase  
3. Left ventricular remodeling

## 서 론

심근경색 후 부분적으로 혈류를 회복하고 경색부 크기를 제한하는 치료적 중재술에 의하여 단기 생존율이 크게 개선되었으나 심근경색의 장기 예후는 아직도 좋지 않은데, 이는 경색에 의한 좌심실 재형성(remodeling)에 뒤이어 울혈성 심부전으로 발전하기 때문이다. Janicki 등[1]은 심장에 발생하는 혈량 과부하(volume overload), 압력 과부하(pressure overload), 또는 심근 손상(myocardial injury) 등으로 인한 심근벽 스트레스의 지속적인 상승이, 심장 재형성을 촉발하고 이어서 심실의 보상기전불능과 심부전을 초래하게 된다고 하였다. 심장 재형성의 과정은 일반적으로 심실의 차원과 심근의 여러 가지 구성 성분들, 특히 심근세포(cardiomyocyte)와 세포외기질(extracellular matrix, ECM)에 일련의 변화를 일으키는데, matrix metalloproteinase (MMP)의 활성화가 중요한 원인의 하나로 알려져 있다[2]. 최근 심근경색 후 좌심실 재형성으로 인한 심부전에 ACE inhibitor와  $\beta$ -adrenergic receptor blocker 등이 흔히 사용되지만 심부전 환자의 수가 점차 증가함에 따라 다른 치료 전략의 필요성이 절실하게 되었다.

여러 연구자들[3-6]은 심근경색 후 MMP의 활성을 차단함으로써 좌심실 재형성의 완화에 기여할 것이라고 보고하였다. 그러나 심근경색 후 MMP의 활성화 시기에 대해서는 연구자에 따라 다양한 차이를 보였다.

이에 저자 등은 심근경색 후 선택적 MMP 차단제의 투여가 경색 후 초기 단계에 MMP가 대량으로 분비되는 짧은 기간을 차단하는 것이 좋을 것인지, 초기 대부분의 기간 동안 MMP 차단제를 투여하여야 할 것인지를 알아보

고자 하였으며, 또한 MMP 차단제에 의한 심실 재형성의 완화 기전의 일부를 밝히고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1) 실험동물과 실험군의 분류

실험동물은 New Zealand White 토끼를 암수 구별 없이 사용하였다. 실험군은 3군으로 나누었다(Table 1). 각 군간의 체중은 유의한 차이가 없었다. 심근경색 단독(MI only)군은 7예로, 관상동맥을 결찰하여 심근경색을 만들었다. MMP 차단제 5일 투여(MMPI 5d)군은 6예로, 심근경색을 만든 후 1일부터 5일간 MMP 차단제 30 mg/kg/day를 2회 분할 경구 투여하였다. MMP 차단제 9일 투여(MMPI 9d)군은 5예로, 심근경색 수술 후 1일부터 9일간 MMP 차단제 30 mg/kg/day를 2회 분할 경구 투여하였다. 정상 심장군은 5예로 개흉하여 심장만을 적출한 군인데 MMP-2와 MMP-9를 측정하고 실험 3군들과 비교하는 대조군으로 하였다.

총 48마리의 토끼가 실험에 이용되었는데 17마리가 사망하였다. 사망 원인은 관상동맥 결찰로 인한 직접적인 사망은 드물었고, 마취제의 과용, 기관 삽관 시도 또는 기관 절개와 관련된 기술적인 문제, 동물사의 환경 변화에 따른 스트레스, 술 후 관리 소홀 등이었다. 생존 토끼 중에서도 술 후 추적 검사 누락 등에 의한 자료 부실 예들은 대상에서 제외되었다.

### 2) 마취 및 수술

Ketamine 2 cc (1 mL=50 mg, 유한양행, 한국)와 xylazine 0.3~0.4 cc (렘폰; rompun 2% solution: 동물용 진통 진정

**Table 1.** Numbers and average weights of experimental three groups

Group	No. of case	Weight (kg)*
MI only	7	4.2±0.35
MMPI 5d	6	4.1±0.65
MMPI 9d	5	3.9±0.22

MI=Myocardial infarction; MMPI=Matrix metalloproteinase inhibitor; 5d=5 days; 9d=9 days. \*p=ns.

근육 이완제, 바이엘코리아, 한국)를 근육주사하여 마취하고 수술대에 사지를 묶고 양와위로 눕혔다. 토끼의 귀 바깥쪽 가장자리의 귀정맥에 24 G 혈관주사용카테터로 정맥주사선을 만들고 100 cc saline을 연결하였다. 기관절개 전에 ketamine을 0.25 cc 정맥주사하고 이후 필요에 따라 xylazine을 0.3 cc씩 정맥주사를 추가하여 마취하였다. 맥박은 심전도 유도바늘을 사지에 삽입하고, 심전도기기(BPM-300, Biosis, 한국)를 이용하여 측정하였다. 맥박은 평균 약 150~250회 정도이었다. Betadine 액으로 수술부위를 소독한 다음 경부에 기관절개술을 시행하여 인공호흡기에 연결하였다. 일회환기량은 30~40 mL (10 mL/kg)로 하였고, 환기율은 약 40회/분으로 하였다. 흉부 절개는 흉골 하반부에 정중절개로 종절개하였다.

### 3) 관상동맥의 결찰에 의한 심근경색의 유도

심낭을 개방한 뒤, 좌전하행지 관상동맥의 위치를 확인하고, 대각지의 첫 분지와 둘째 분지 사이, 좌전하행지 전제 길이의 1/2 위치가 되는 지점에, 4~0 proline으로 심근과 함께 관상동맥을 봉합 결찰하여 심근경색을 유도하였다. 좌전하행지 관상동맥의 결찰 전에 부정맥을 예방하기 위하여 lidocaine 0.5 cc (1 mL=20 mg, 제일제약, 한국)를 정맥주사하였다. 심근경색 유도가 끝난 다음, 근육을 비연속 봉합하고 흉골은 봉합하지 않았다.

### 4) 심초음파도 검사

가벼운 마취와 자발적 호흡상태에서 심초음파도를 시행하였다. 심초음파도 검사는 수술 전, 수술 후 제1주, 제2주 및 제3주 등 4회에 걸쳐서 시행하였다. 각 검사 때 이완기말 좌심실내경(end-diastolic dimension, EDD)과 수축기말 좌심실내경(end-systolic dimension, ESD), 좌심실 구혈률(ejection fraction, EF)을 Siemens 사의 Sequoia C-256 (Mountain View, USA)을 이용하여 좌심실 중간부위인 좌심실

유두근 위치에서 parasternal long-axis view 및 parasternal short-axis view에서 측정하였다. 수술 후 제4주에 토끼를 희생시켰다.

### 5) MMP 차단제의 투여

MMP 차단제는 카이로제닉스(Chilogenix, 경기도, 한국)사에서 제조한 약제 CG2300을 사용하였고 토끼 체중 kg당 30 mg을 1일간 투여 용량으로 하여 아침 저녁으로 1일 2회 분할, 경구로 투여하였다. CG2300 (USA patent 6,548,667)은 MMP-2와 -9에 대한 선택적 차단제이다. 효소 활성은 IC50이 MMP-2에 대하여 0.0017 uM이고, MMP-9에 대하여는 0.016 uM이었다. 분자량은 429.58이었다.

### 6) MMP-2와 MMP-9의 단백질 발현 분석

적출 심장에서 심근경색 부위 좌심실 근육을 조금 잘라 조직의 MMP-2와 MMP-9 발현을 Western blot 방법으로 검토하였다. 얼려놓은 각 군(정상 심장군, 심근경색 단독군, MMP 차단제 5일 투여군, MMP 차단제 9일 투여군)의 심장 조직으로부터 단백질을 추출하여 전기 영동한 후, nitrocellulose막으로 이동시켰다. 희석한 MMP-2 또는 MMP-9 항체와 반응하고 horseradish peroxidase가 부착된 2차 항체와 반응시킨 후, ECL 용액으로 발색한 형광 band의 두께 차이를 비교하였다.

### 7) Zymography를 이용한 MMP-2와 MMP-9 활성 측정

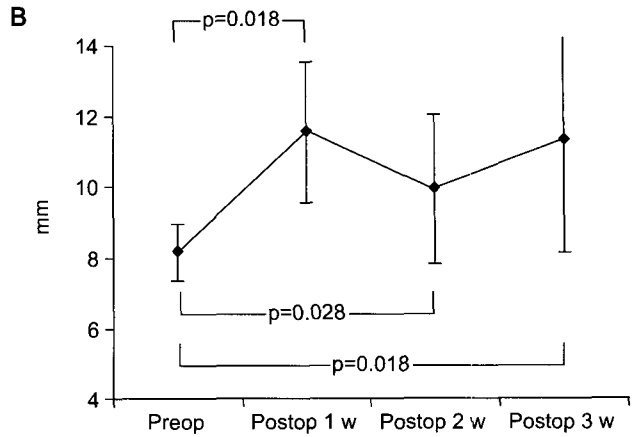
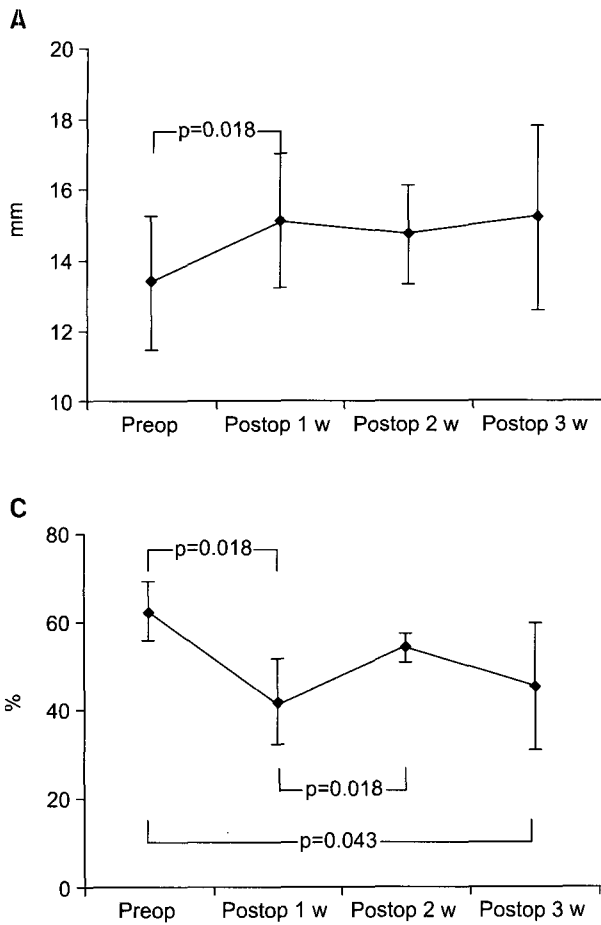
실험군들과 정상군의 토끼 심장 조직으로부터 단백질을 추출하여 MMP-2와 MMP-9 활성을 zymography 방법으로 측정하였다. Gelatin을 함유한 SDS-polyacrylamide gel을 사용하여 위와 같은 방법으로 전기영동한 후, renaturation buffer에서 30분 동안, developing buffer에서 16시간 동안 연속적으로 반응한 후, Coomassie brilliant blue 용액으로 염색하고 재탈색하여 나타난 band를 통하여 MMP 활성 정도를 나타내었다.

### 8) 병리학적 조직검사

적출 심장에서 심근경색이 일어난 좌심실 경색부위의 조직변화를 관찰하였다.

### 9) 통계학적 분석

각 자료는 평균±표준 편차로 표시하였고, 통계처리는 SPSS 13.0 프로그램을 이용하였다. 각 군 간의 비교는 Chi-square test와 Wilcoxon rank sum test, Kruskal-Wallis test를



**Fig. 1.** Changes of end-diastolic dimension (EDD: A), end-systolic dimension (ESD: B), and ejection fraction (EF: C) at the preoperative, postoperative 1 week, 2 week, and 3 week in the MI only group. EDD was increased higher postoperatively than preoperative period. EDD at postoperative 1 week was increased significantly higher than preoperative value. ESD was increased significantly higher at postoperative 1 week, 2 week and 3 week than preoperative value. EF was decreased more significantly at postoperative 1 week and 2 week than preoperative value.

시행하였다. 분석 결과 p값이 0.05 이하인 경우 통계학적으로 유의성이 있는 것으로 하였다.

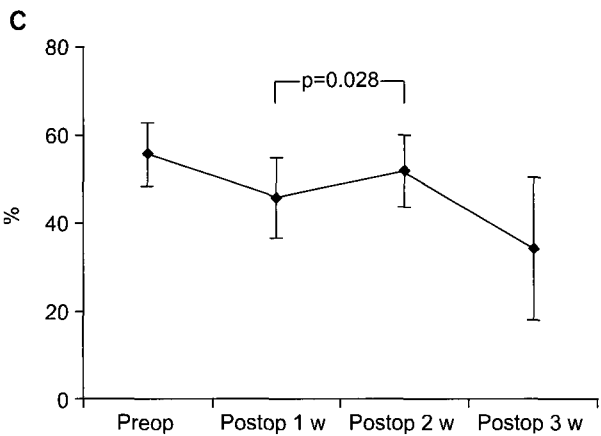
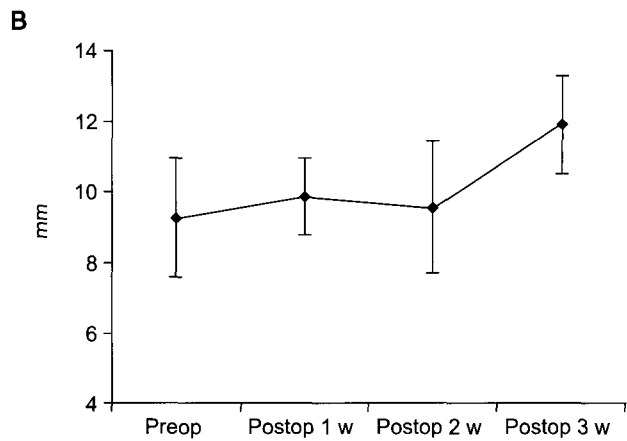
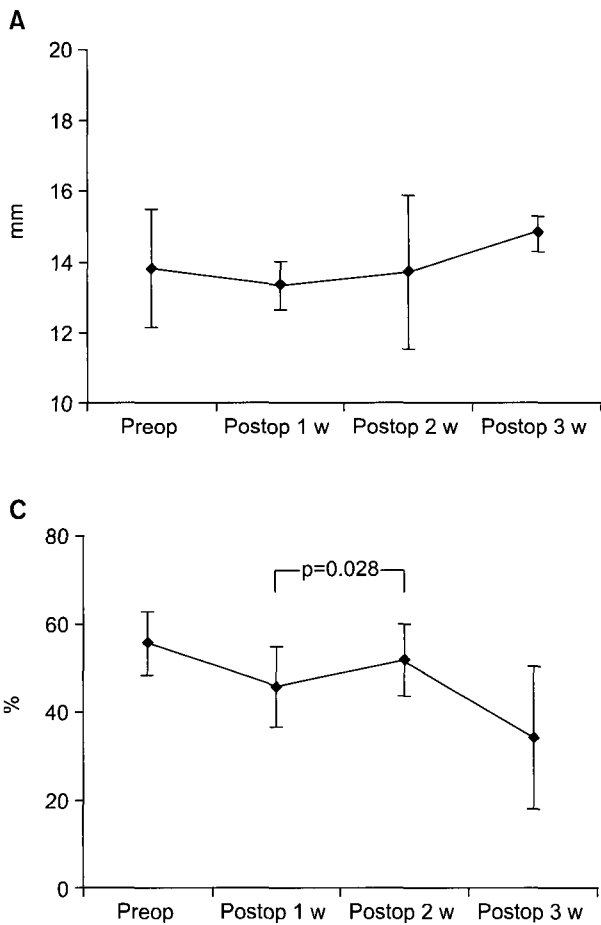
## 결 과

### 1) 심초음파도 검사 결과

(1) **각 군 내에서의 변화:** 심근경색 단독군에서, EDD는 대체로 술 전보다 술 후 증가한 추세인데, 술 후 1주가 술 전보다 유의하게 증가하였다( $p=0.018$ )(Fig. 1A). ESD는 술 후 1주, 2주, 3주 모두 술 전보다 유의하게 증가하였는데 ( $p=0.018$ ,  $p=0.028$ ,  $p=0.018$ ), 술 후 2주에서는 술 후 1주보다 유의하게 감소하였다( $p=0.027$ )(Fig. 1B). EF는 대체로 술 전보다 술 후 감소한 추세인데, 술 후 1주, 3주에서 술 전보다 유의하게 감소하였고( $p=0.018$ ,  $p=0.043$ ), 술 후 2주는 술 후 1주보다 유의하게 증가하였다( $p=0.018$ )(Fig. 1C). MMP 차단제 5일 투여군에서 보면, EDD와 ESD에서는 통계적인 유의성은 없었으나 술 전보다 술 후 시간이 경과

할수록 증가하는 경향을 보였다(Fig. 2A, B). EF에서는 대체로 술 전보다 술 후 시간이 경과할수록 감소하는 추세였으나 술 후 2주가 술 후 1주보다 유의하게 증가하였다 ( $p=0.028$ )(Fig. 2C). MMP 차단제 9일 투여군에서 보면, EDD, ESD, EF 모두에서 술 전, 술 후 시간대별 사이에 별다른 차이가 없는 변화를 보였다(Fig. 3).

(2) **각 군 간의 변화:** EDD에서는 각 군간에 유의한 변화가 없었지만, MMP 차단제 5일 투여군과 9일 투여군에서는 술 후 각 시기에서 심근경색 단독군보다 낮은 경향이 있었다(Fig. 4A). ESD에서는 MMP 차단제 9일 투여군이 심근경색 단독군보다 술 후 1주에 유의하게 감소하였다 ( $p=0.042$ )(Fig. 4B). 전반적으로 보면, MMP 차단제 5일 투여군은 심근경색 단독군과 각 시기에서 별다른 차이가 없었다. 한편 MMP 차단제 9일 투여군은 심근경색 단독군과 MMP 차단제 5일 투여군에 비교하여 술 후 3주에서 상대적으로 낮은 수치를 보이는 경향이 있었다(Fig. 4B). EF에서는 각 군 간에 유의한 차이가 없었다. 그러나 MMP 차단



**Fig. 2.** Changes of end-diastolic dimension (EDD: A), end-systolic dimension (ESD: B), and ejection fraction (EF: C) at the preoperative, postoperative 1 week, 2 week, and 3 week in the MMP inhibitor 5 days group. EDD and ESD were increased at postoperative times, but there were not significant statistically. EF was decreased at postoperative times without statistical significance.

제 9일 투여군에서는 MMP 차단제 5일 투여군이나 심근경색 단독군에 비해서 술 후 1주와 3주에 더 증가하는 경향을 보였다(Fig. 4C).

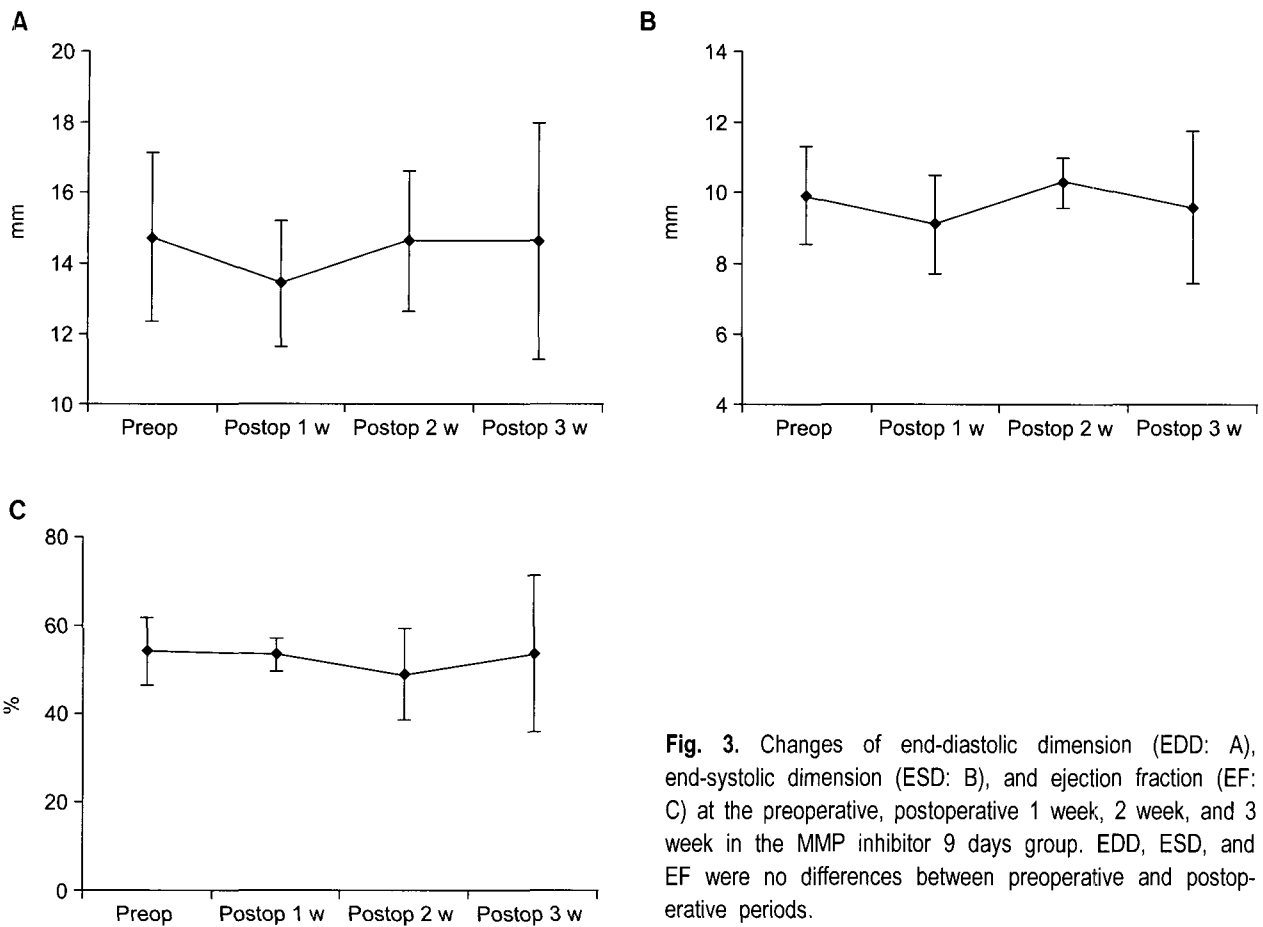
(3) 종합적인 변화의 분석: 심근경색 단독군에서는 술 전에 비하여 술 후 좌심실이 확장하였음을 알 수 있었다. MMP 차단제 5일 투여군에서는 심근경색 단독군과 좌심실의 확장에서 통계적으로 의미 있는 차이가 없었고, MMP 차단제 9일 투여군에서는 심근경색 단독군과 MMP 차단제 5일 투여군에 비해 좌심실의 확장이 감소한 경향을 보였다. 또한 MMP 차단제 9일 투여군에서는 심근경색 후에도 술 전에 비하여 좌심실이 더 증가하지 않은 소견을 보였다. 따라서 MMP 차단제의 사용기간이 길수록 좌심실의 확장이 완화되는 정도가 크다고 할 수 있다. EF는 MMP 차단제 9일 투여군에서 술 후에 술 전과 큰 변동이 없었으나, 다른 군들보다 높은 경향이었다. 심근경색 단독군과 MMP 차단제 5일 투여군에서는 양 군 간에는 별다른 차이를 보이지 않으면서, 술 전보다 심근경색 후 측정

치들이 상당히 낮은 경향을 보였다. 여기에서도 MMP 차단제를 오래 사용한 군에서 좌심실 기능이 더 잘 보존된다고 할 수 있다.

## 2) MMP 검사 결과

심근경색 심장에서의 MMP 단백질의 변화: MMP-2와 MMP-9의 단백질을 검사하였다. 본 실험에서는 정상 심장군과 실험 3군들을 비교하였을 때 MMP-2 단백질 발현 변화는 일어나지 않았다(Fig. 5). 그리고 MMP-9의 단백질 발현은 검출되지 않았다.

(1) 심근경색 심장에서의 MMP activity의 변화: MMP-2와 MMP-9의 활성을 검사하였다. 본 실험에서는 정상 심장군과 세 실험군들을 비교하였을 때 MMP-2의 활성 변화는 일어나지 않았다(Fig. 6). 그리고 MMP-9의 활성은 검출되지 않았다.



**Fig. 3.** Changes of end-diastolic dimension (EDD: A), end-systolic dimension (ESD: B), and ejection fraction (EF: C) at the preoperative, postoperative 1 week, 2 week, and 3 week in the MMP inhibitor 9 days group. EDD, ESD, and EF were no differences between preoperative and postoperative periods.

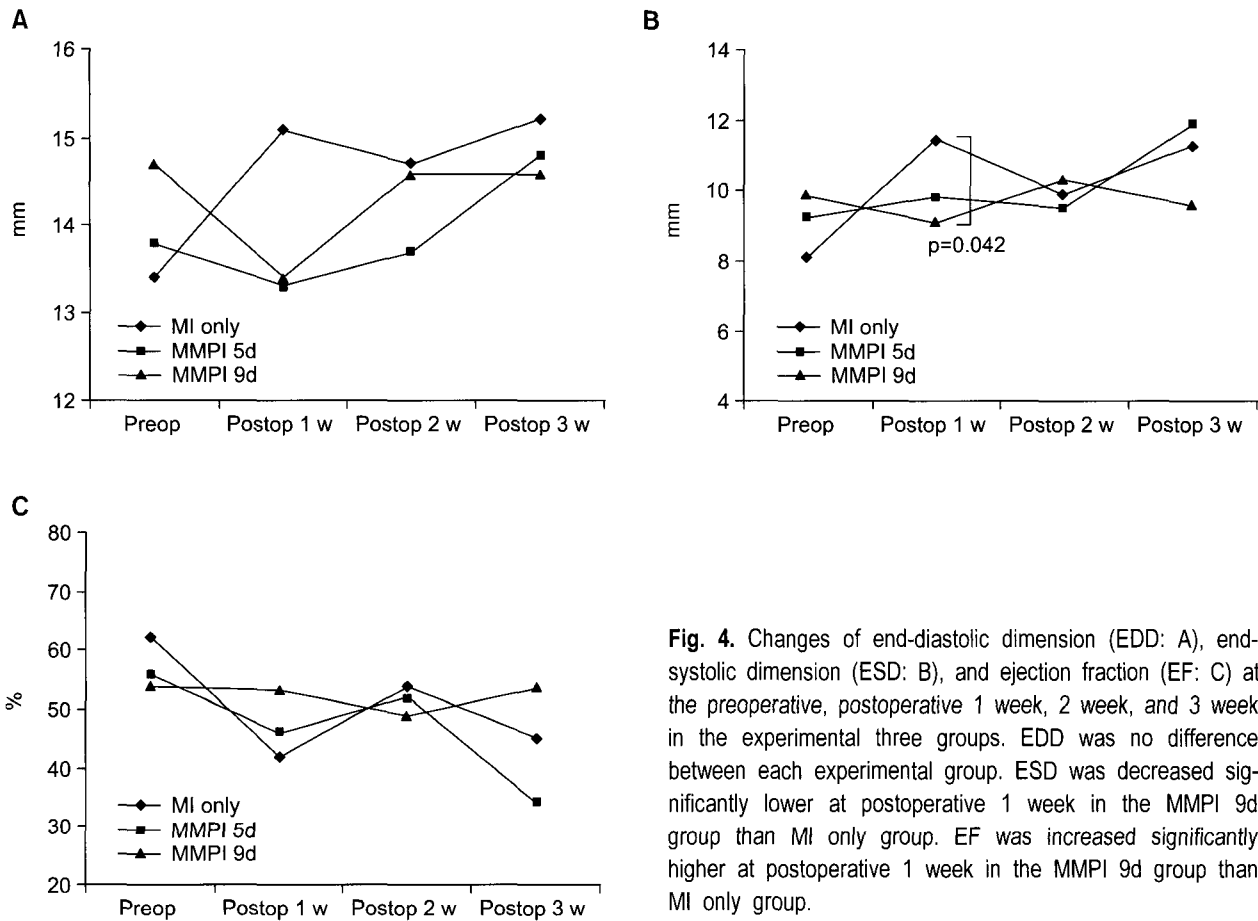
### 3) 병리학적 조직검사 결과

심근경색 단독군에서 심한 교원질 침착이 있었다. 그러나 MMP 차단제를 투여한 양 군, 5일 투여군과 9일 투여군에서는 교원질 축적이 감소된 경향을 보였다(H&E stain and Masson's trichrome stain,  $\times 100$ )(Fig. 7). 심근경색 단독군의 아내피층의 혈관신생은 현저하였고 MMP 차단제 5일 투여군에서는 감소하였는데, MMP 9일 투여군에서는 모세혈관의 수가 증가한 것을 볼 수 있었다(H&E stain,  $\times 100$ )(Fig. 8).

### 고찰

심근경색 후 좌심실 심근 재형성(remodeling) 과정은, 심근의 세포외기질(extracellular matrix) 내에서 일어난다고 인식되고 있다. 초기에 형태학적 연구에서는 심근경색 후 6~8주에 경색부 치유가 완성된다고 하였으나[7], 최근에

는 경색 반흔은 세포를 다량 함유하고, 혈관을 많이 분포하고 있으며, 대사적으로 활성화되어 있어 수축력을 보유하고 있는 역동적 조직으로 알려지고 있다[8]. 어떤 촉발하는 원인들에 관계없이 심실 재형성과정에는 3가지의 분명한 시기(phase)가 나타난다. MMP 활성도의 측정에 근거한 심실 재형성의 3시기들을 보면, 첫째 초기(initial phase)에서는 MMP 활동이 증가하고 이어서 부분적인 fibrillar collagen의 분해가 일어난다. 다음은 만성 보상기(chronic compensatory phase)인데, 이 시기에는 MMP 활성도와 collagen 농도가 정상으로 돌아온다. 한편으로 심근세포들의 크기가 지속적으로 증가한다. 마지막으로 보상불능기(decompensated phase)에는 보상기 때의 보상성 심실비후 기전이 없어지고, MMP 활성도가 다시 상승하며, 현저한 심실 확장과 섬유화로 특징지어지는 상태가 된다[1]. 이와 같이 심근경색 후 좌심실 재형성은 심장의 섬유화, 심장수행능력의 감소 및 심부전 등을 흔히 유도하는 중요한 임상적 문제이다. 최근 좌심실 재형성으로 인한 심부전



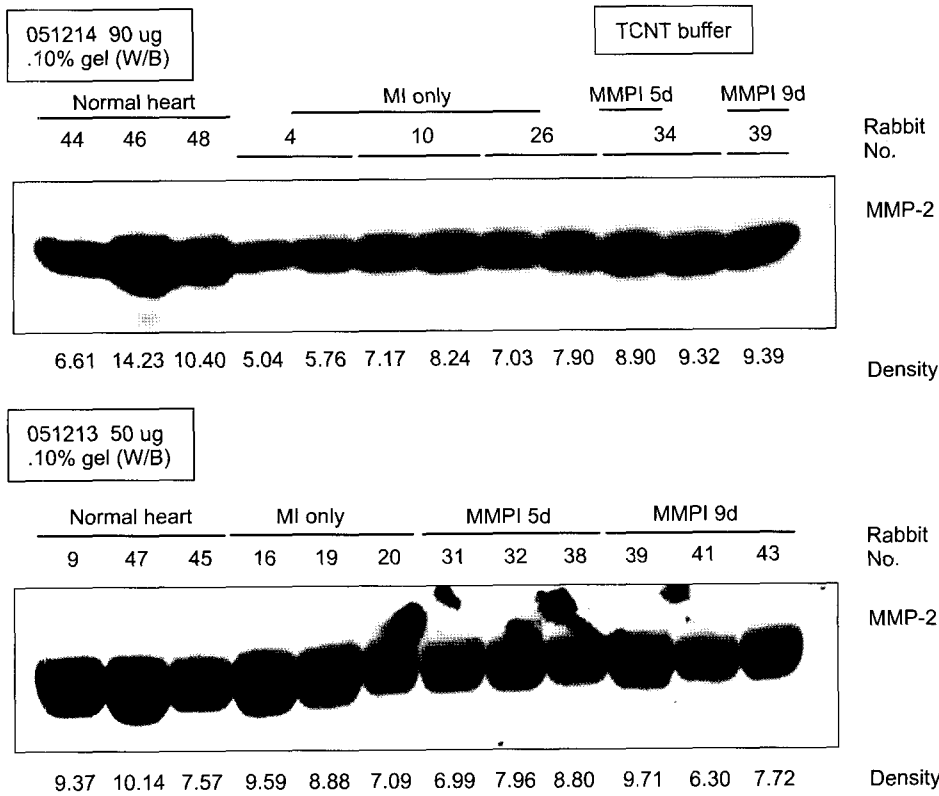
**Fig. 4.** Changes of end-diastolic dimension (EDD: A), end-systolic dimension (ESD: B), and ejection fraction (EF: C) at the preoperative, postoperative 1 week, 2 week, and 3 week in the experimental three groups. EDD was no difference between each experimental group. ESD was decreased significantly lower at postoperative 1 week in the MMPI 9d group than MI only group. EF was increased significantly higher at postoperative 1 week in the MMPI 9d group than MI only group.

환자의 수가 점차 증가함에 따라 흔히 사용되는 ACE inhibitor와  $\beta$ -adrenergic receptor blocker에 추가하여 다른 치료 전략의 필요성이 절실하게 되었다.

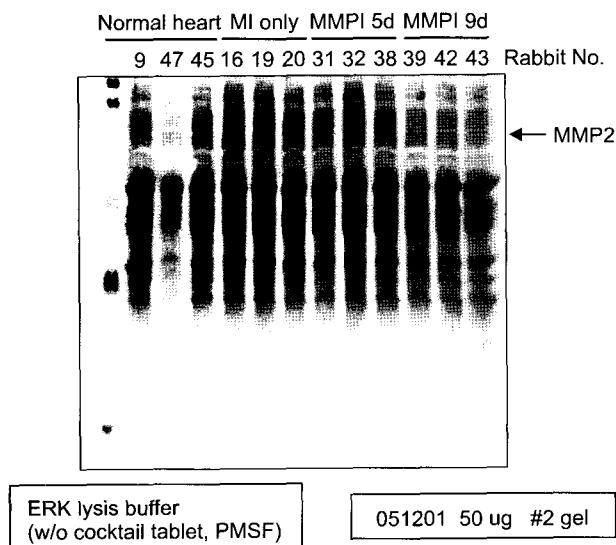
심근경색 후 심실 재형성에 관여하는 가능한 기전들을 보면, MMP, angiotensin-converting enzyme, endothelin-converting enzyme, neutral endopeptidase 및 tumor necrosis factor  $\alpha$ -converting enzyme 등이 있다[9]. MMP를 광범위하게 차단하는 약물이 mice와 rat에서 경색 후 심실 확장을 실험적으로 억제하였다고 여러 연구에서 보고되었다[9-11]. Rohde 등[10]은 mice에서 좌전하행지 관상동맥을 결찰하고, 광범위 MMP 차단제(CP-471,474)를 사용한 연구에서, 이완기말 및 수축기말 길이와 구역은 대조군에서는 큰 증가가 있었으나, MMP 차단제 투여군에서는 약간의 증가만 있었다고 하였다. White 등[12]은 심근경색 후 좌심실 확장의 정도는 사망률의 강력한 예견인자라고 하고, 수축기말용량이 이완기말용량, 또는 좌심실 구혈률보다 더 정확한 인자라고 하였다. 본 연구에서는 심근경색 단독군에서

술 전보다 술 후 1주, 2주 및 3주에 ESD의 유의한 증가를 나타내었고, MMP 차단제를 투여한 군, 특히 9일 투여군에서는 별다른 증가 소견이 없었던 것으로 보아 좌심실 확장에 MMP가 깊은 관련이 있음을 확인할 수 있었다.

Greenwald[13]는 MMP 차단제의 심각한 문제는 차단제의 첫 세대인 비선택적 광범위 MMP 차단제에서 발생한다고 하였다. Yarbrough 등[14]은 돼지를 이용한 실험에서 심근경색을 일으킨 군의 좌심실이완기말용량(LVEDV)이 대조군에 비해 증가하였으나 심근경색 전 및 심근경색 후 선택적 MMP 차단제를 투여한 군들에서는 LVEDV의 증가가 완화되었다고 하였다. Ducharme 등[6]의 MMP-9를 선택적으로 소멸시킨 mice의 심근경색 모델에서도 심실 재형성이 완화되었다. 본 연구에서도 MMP-2와 MMP-9를 차단하는 선택적 MMP 차단제를 사용한 결과 심근경색 단독군에서 보면 ESD가 심근경색 전보다 후에 유의하게 증가하였으나 MMP 차단제 9일 투여군에서는 경색 전후에 별다른 차이가 없음을 보여 좌심실의 확장이 완화되었



**Fig. 5.** MMP-2 expression from the infarcted heart tissue in the three experimental groups. MMP-2 expression is not noted in the three experimental groups. There is no statistical difference between normal heart group and three experimental groups.



**Fig. 6.** MMP-2 activity from the infarcted heart tissue in the three experimental groups. MMP-2 activity is not noted in the three experimental groups. There is no statistical difference between normal heart group and three experimental groups.

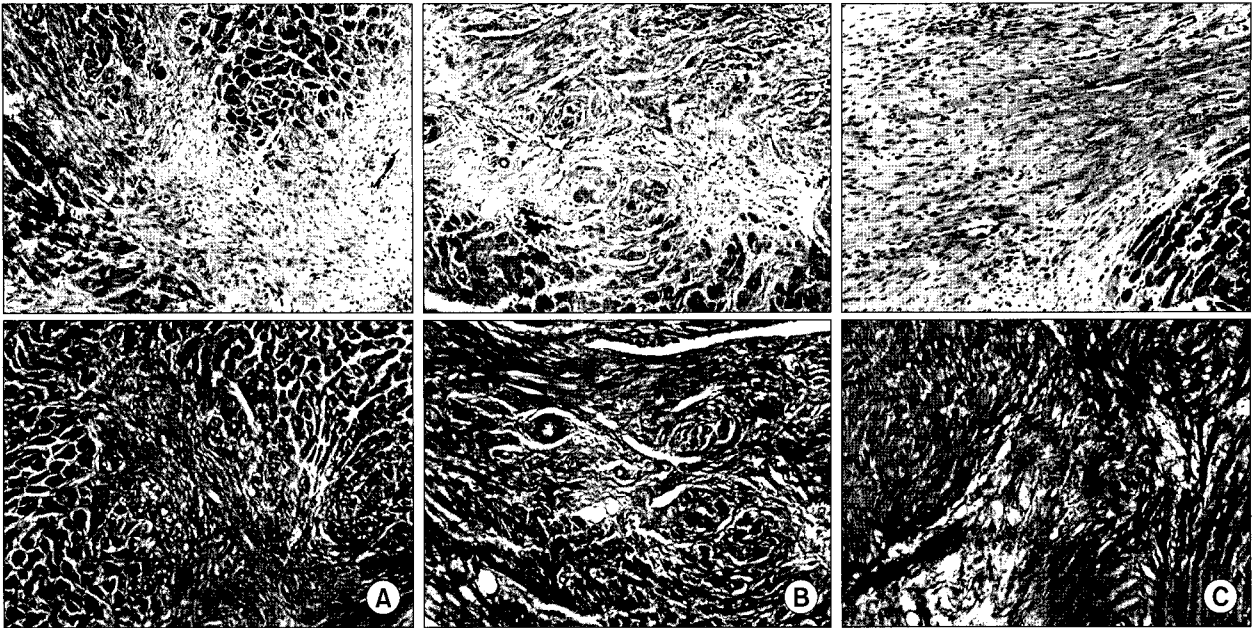
음을 증명하였다.

토끼 심근경색 실험 모델에서 Romanic 등[15]은 경색 후 24시간 내에 MMP-9이 증가하고 MMP-3은 2일에 증가하며 TIMP-1은 감소하는 것을 관찰하였다. MMP-9은 특히 심근경색 후 초기 치유 시기에서, 재관류의 유무와 관계없이, 일차적으로 호중구의 유입에 기인하여 과발현된다고 하였다[16].

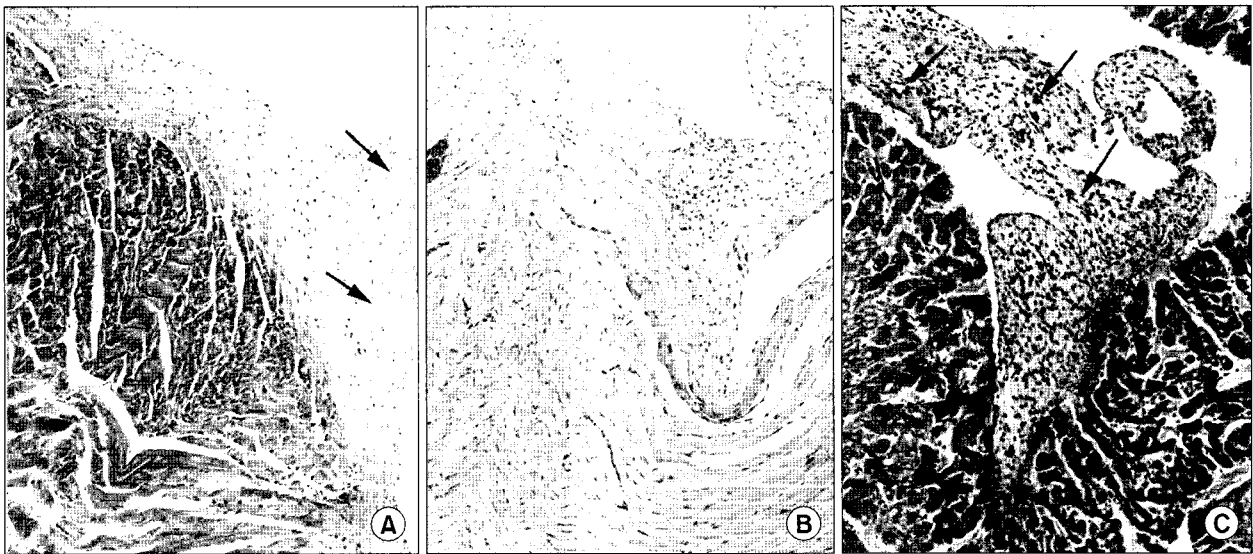
Etoh 등[17]은 MMP 활성화는 허혈 1시간 이내에 심근간질에서 일어난다고 하였다. Mukherjee 등[2]은 심근경색 후 시간이 경과함에 따라, 심근경색 단독군의 경색 지역에서 MMP-2 활성이 대조군보다 더 높았으며, MMP 차단제 투여군에서 MMP-2 활성은 경색 지역에서 정상이었다고 하였다.

본 연구에서는 western blotting과 zymography를 통하여 MMP-2와 MMP-9의 단백질과 활성을 검사하였다. 실험 토끼는 심근경색 후 4주에 희생하여 검사하였기 때문에 이 시기는 초기를 지나 보상에 해당할 것으로 추정되므로 각 군들 간에 특별한 차이를 예상할 수는 없었다. 실험 3군들과 정상 심장군에서 별다른 차이가 없었는데, MMP-9은 검출되지 않았고, MMP-2는 검출되었지만 군 간의 차이가 거의 없었다. 이는 심근경색 4주에는 심실 재형성과





**Fig. 7.** Severe collagen deposition is in MI only group. Collagen accumulation is reduced in both MMPI groups (upper: H&E stain,  $\times 100$ ; lower: Masson's trichrome stain,  $\times 100$ ). (A) MI only group. (B) MMPI 5d group. (C) MMPI 9d group.



**Fig. 8.** Subendocardial neovascularization (black arrow) of MI only group is prominent. Angiogenesis is decreased in MMPI 5d group. MMPI 9d group reveals increased number of capillaries (black arrow)(H&E stain,  $\times 100$ ). (A) MI only group. (B) MMPI 5d group. (C) MMPI 9d group.

정의 보상기에 속함을 의미하는 것으로 분석하였다.

Cleutjens 등[4]은 쥐 심장에서 MMP-1 활성이 경색 후 2일부터 확인되어 7일에 최고치에 도달한다고 하였다. MMP-1의 활성화는 MMP-2 활성을 증대하였고, MMP-2

활성은 7일에 최고치에 도달하였다. 한편 MMP-9 활성은 경색 후 4일부터 검출할 수 있었다고 하였다. Brower 등 [3]의 post-fistula 동물실험 모델에서 볼 때, 초기에는 좌심실 MMP 활성이 첫 12시간에 현저히 상승하여, 다음 5일

간 이 상태가 지속되다가, 이후 하강하기 시작하여 14일 경에 정상으로 되돌아온다고 하였다. 저자 등의 실험에서는 위 연구 보고들을 근거로 분석해 볼 때 경색 후 1일부터 5일간 투여한 MMP 차단제는 시간상 최대 효과를 거둘 수 없었기 때문에 심실 재형성 완화 효과가 나타나지 않은 것으로 보이며, MMP 차단제를 9일간 투여한 군은 MMP 증가기간 동안을 충분히 포함함으로써 그 차단 효과가 잘 나타나는 것이라고 생각되었다.

Yarbrough 등[14]은 collagen content는 대조군에 비해 심근경색군의 경색 지역에서 증가하였으나, 심근경색 전 및 심근경색 후 선택적 MMP 차단제를 투여한 군들에서는 감소하였다고 하였다. Ducharme 등[6]은 MMP-9 knockout (KO) mice가 wild-type (WT) mice보다 경색 지역에서 collagen 축적이 더 적었다고 하였다. 본 연구에서 병리학적 조직검사를 보면, 심근경색 후 4주에 심근경색 단독군에서 collagen의 심한 침착이 있는 것으로 보아 심부전 심근의 특징을 보였으나 MMP 차단제 5일 및 9일 투여군에서 교원질 축적이 다소 감소한 경향을 보였는데, 이는 상기 연구들과 유사한 결과로 생각되었다.

Sun과 Weber[18]는 심근경색 후 혈관신생은 경색 심근에서 3일에 시작하여 2주에 확실해지며 8주 이상 혈관을 형성한다고 하였다. Lindsey 등[19]은 토끼에서 MMP 차단제를 투여함으로써 MMP의 활동이 감소되어 혈관신생(neovascularization)이 증가하고, 또는 기존 혈관의 보존 등을 의미하는 경색 지역의 내피하층에 혈관의 수가 증가하였다고 하였다. 본 연구에서 MMP 차단제 9일 투여군에서 모세혈관의 수적 증가가 관찰되었는데, 이는 심근경색 후 MMP 차단에 의한 심실 재형성의 완화 기전으로 분석될 수 있을 것으로 보인다.

MMP 차단을 언제 하는 것이 wound-healing 과정을 장애하지 않고 좋을 것인지는 아직 밝혀지지 않고 있다[14]. Creemers 등[20]은 심근경색 후 선택적 MMP 차단제 투여군에 비하여 심근경색 전에 투여한 군에서 더 큰 이완기 말 구역의 확장을 나타내었다. 이는 심근경색 전에 MMP 차단제를 투여하는 것이 초기 wound-healing 과정을 장애할 수 있다는 근거가 된다고 할 수 있다. 그러나 MMP 차단제를 늦게 투여하면, 결국 경색 지역 심근의 실질적인 소생이 되지 못하고, 심근경색 경계 지역의 MMP 활성을 감소시킴으로써 경색부 확장을 완화하게 되는 결과가 될 것이라고 하였다[2]. 이들은 심근경색 후 5일부터 투여한 MMP 차단제가 지역적 심근경색의 크기와 심실 확장률을 감소시켰다고 하였다. 본 연구에서는 경색 후 바로 1일부

터 MMP 차단제를 투여한 MMP 차단제 9일 투여군에서 좌심실 확장은 완화하였고 EF의 감소를 보이지 않았다. 향후 MMP 차단제의 조기 투여 여부에 관한 더 많은 연구와 추가적인 실험들이 필요할 것으로 생각된다.

본 연구에서는 실험군들의 예의 수가 많지 않아 통계적인 분석에서 제한점이 있었다고 본다. 그리고 경색 후 초기에 MMP의 측정이 되지 못한 점, 각 시기별 병리학적 조직검사가 이루어지지 않은 점 등을 추가적 제한점으로 지적할 수 있을 것이다.

## 결 론

관상동맥을 결찰하여 심근경색을 유도하면 술 후 빠른 시간 내에 심실이 확장되며 MMP 차단제를 투여할 경우 심실의 확장이 완화됨을 알 수 있었다. 그러나 MMP 차단제의 효과는 초기 단계(initial phase)에 MMP가 가장 많이 상승하는 경색 직후 기간만 차단하여 그 효과를 기대할 수 없고 초기의 대부분 기간을 차단하는 것이 좋다고 생각된다. MMP 차단제 9일 투여군에서 경색 후 4주에 혈관신생이 증가함을 볼 수 있었는데, 이는 MMP 차단제가 MMP의 직접적인 차단 이외에 혈관신생의 증가에 의하여도 심실 재형성을 완화할 수 있는 것으로 분석된다.

## 참 고 문 헌

1. Janicki JS, Brower GL, Gardner JD, Chancey AL, Stewart JA Jr. *The dynamic interaction between matrix metalloproteinase activity and adverse myocardial remodeling*. Heart Failure Reviews 2004;9:33-42.
2. Mukherjee R, Brinsa TA, Dowdy KB, et al. *Myocardial infarct expansion and matrix metalloproteinase inhibition*. Circulation 2003;107:618-25.
3. Brower GL, Chancey AL, Thanigaraj S, Matsubara BB, Janicki JS. *Cause and effect relationship between myocardial mast cell number and matrix metalloproteinase activity*. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002;283:H518-25.
4. Cleutjens JPM, Kandala JC, Guarda E, Guntaka RV, Weber KT. *Regulation of collagen degradation in the rat myocardium after infarction*. J Mol Cell Cardiol 1995;27:1281-92.
5. Lindsey ML, Gannon J, Aikawa M, et al. *Selective matrix metalloproteinase inhibition reduces left ventricular remodeling but does not inhibit angiogenesis after myocardial infarction*. Circulation 2002;105:753-8.
6. Ducharme A, Frantz S, Aikawa M, et al. *Targeted deletion of matrix metalloproteinase-9 attenuates left ventricular enlargement and collagen accumulation after experimental myo-*

- cardial infarction*. J Clin Invest 2000;106:55-62.
7. Jugdutt BI, Amy RWM. *Healing after myocardial infarction in the dog: changes in infarct hydroxyproline and topography*. J Am Coll Cardiol 1986;7:91-102.
  8. Darby I, Skalli O, Gabbiani G.  *$\alpha$ -smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing*. Lab Invest 1990;63:21-9.
  9. Spinale FH, Coker ML, Krombach RS, et al. *Matrix metalloproteinase inhibition during developing congestive heart failure in pigs: effects on left ventricular geometry and function*. Circ Res 1999;85:364-76.
  10. Rohde LE, Ducharme A, Arroyo LH, et al. *Matrix metalloproteinase inhibition attenuates early left ventricular enlargement after experimental myocardial infarction in mice*. Circulation 1999;99:3063-70.
  11. Peterson JT, Hallak H, Johnson L, et al. *Matrix metalloproteinase inhibition attenuates left ventricular remodeling and dysfunction in a rat model of progressive heart failure*. Circulation 2001;103:2303-9.
  12. White Hd, Norris RM, Brown MA, Brandt PW, Whitlock RM, Wild CJ. *Left ventricular end-systolic volume as the major determinat of survival after recovery from myocardial infarction*. Circulation 1987;76:44-51.
  13. Greenwald RA. *Thirty-six years in the clinic without an MMP inhibitor. What hath collagenase wrought?* Ann NY Acad Sci 1999;878:413-9.
  14. Yarbrough WM, Mukherjee R, Escobar GP, et al. *Selective targeting and timing of matrix metalloproteinase inhibition in post-myocardial infarction remodeling*. Circulation 2003; 108:1753-9.
  15. Romanic AM, Burns-Kurtis CL, Gout B, Berrebi-Bertrand I, Ohlstein EH. *Matrix metalloproteinase expression in cardiac myocytes following myocardial infarction in the rabbit*. Life Sci 2001;68:799-814.
  16. Lindsey ML, Wedin K, Brown MD, et al. *Matrix-dependent mechanism of neutrophil-mediated release and activation of matrix metalloproteinase 9 in myocardial ischemia/reperfusion*. Circulation 2001;103:2181-7.
  17. Etoh T, Joffs C, Deschamps A, et al. *Myocardial and interstitial matrix metalloproteinases activity after acute myocardial infarction in pigs*. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2001;281:987-94.
  18. Sun Y, Weber KT. *Infarct scar: a dynamic tissue*. Cardiovasc Res 2000;46:250-6.
  19. Lindsey ML. *MMP induction and inhibition in myocardial infarction*. Heart Failure Reviews 2004;9:7-19.
  20. Creemers E, Cleutjens J, Smits J, et al. *Disruption of the plasminogen gene in mice abolishes wound healing after myocardial infarction*. Am J Pathol 2000;156:1865-73.

=국문 초록=

**배경:** Matrix metalloproteinase (MMP) 차단은 심근경색 후 좌심실 확장에 대한 가능한 치료 전략으로 대두되고 있다. 선택적 MMP 차단제의 투여가 심근경색 후 초기 단계에 MMP가 대량으로 분비되는 짧은 기간을 차단하는 것이 좋을 것인지, 초기 전체 기간 동안 차단하여야 할 것인지를 알아보려고 하였다. **대상 및 방법:** 토끼를 이용하여 기관 삽관 하에 전신 마취를 하고 흉골 정중절개한 다음 좌전 하행지 관상동맥을 결찰하여 심근경색을 만들었다. 실험군은 3군으로 나누었다. 심근경색 단독(MI only 군)군은 7예, MMP 차단제 5일 투여군(MMPI 5d 군)은 6예, MMP 차단제 9일 투여군(MMPI 9d 군)은 5예이었다. MMP 차단제로는 MMP-2와 MMP-9에 대한 선택적 차단제인 CG2300을 사용하였다. 각 군은 심장초음파도 검사를 4회 시행하였는데, 술 전, 술 후 1주, 2주 및 3주에 하였다. 검사는 2D 심초음파도를 사용하여 EDD, ESD 및 EF를 측정하였다. 술 후 4주에 희생한 토끼의 심장을 western blotting과 zymography를 하여 MMP-2와 MMP-9의 단백질과 활성의 변화를 조사하였고, 경색부위를 병리학적 조직검사를 하였다. **결과:** 심초음파도 검사상, MI only군에서는 대체로 술 전에 비하여 술 후 EDD와 ESD가 증가한 추세로 좌심실이 확장하였음을 알 수 있었다. MMP 차단제 9일 투여군에서는 심근경색 단독군과 MMP 차단제 5일 투여군에 비해 좌심실의 확장이 감소한 경향을 보였다. EF는 MMP 차단제 9일 투여군에서 술 후에 술 전과 큰 변동이 없었으며, 다른 군들보다 높은 경향이였다. MMP 단백질의 발현과 활성 변화를 보면, 심근경색 단독군, MMP 차단제 5일 및 9일 투여군 등 3군을 정상 심장군과 비교하였을 때 MMP-2 단백질 발현과 활성 변화는 일어나지 않았다. 그리고 MMP-9의 단백 발현 및 활성은 검출되지 않았다. 병리학적 조직 소견을 보면 심근경색 단독군에서 심한 교원질 침착이 있었다. MMP 차단제 5일 투여군과 9일 투여군에서는 교원질 축적이 감소된 경향을 보였다. MMP 9일 투여군에서는 모세혈관의 수가 증가한 것을 볼 수 있었다. **결론:** 관상동맥을 결찰하여 심근경색을 유도하면 술 후 빠른 시간 내에 심실이 확장되며 MMP 차단제를 투여할 경우 심실의 확장이 완화됨을 알 수 있었다. MMP 차단제의 효과는 초기의 대부분 기간을 차단하는 것이 좋다고 생각된다. MMP 차단제가 혈관신생을 증가시켜 심실 재형성을 완화할 수 있는 것으로 분석된다.

- 중심 단어 :** 1. 심근경색  
2. Matrix metalloproteinase  
3. 좌심실 재형성