

결핵성 흉막염 환자에서 흉수 내 Matrix Metalloproteinases 및 Tissue Inhibitors of Metalloproteinases 농도와 잔여 흉막비후와의 관계

¹가천의과대학교 의학전문대학원, ²가천의과대학교 길병원 호흡기내과

최영권¹, 안창혁², 김유진², 경선영², 이상표², 박정웅², 정성환²

The Relation of Residual Pleural Thickening with Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases of Pleural Effusion in Patients with Tuberculous Pleuritis

Youngkwon Choi¹, Chang Hyeok An, M.D.², Yu Jin Kim, M.D.², Sun Young Kyung, M.D.², Sang Pyo Lee, M.D.², Jeong Woong Park, M.D.², Sung Hwan Jeong, M.D.²

¹Graduate School of Medicine, Gachon University of Medicine and Science, ²Division of Pulmonology, Department of Internal Medicine, Gachon University Gil Medical Center, Incheon, Korea

Background: Residual pleural thickening (RPT) is the most frequent complication of tuberculous pleurisy (TP), and this can happen despite of administering adequate anti-tuberculous (TB) therapy. Yet there was no definite relation between RPT and other variables. The aim of this study was to examine matrix metalloproteinases (MMPs) and the inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) and to identify the factors that can predict the occurrence of RPT.

Methods: The patients with newly-detected pleural effusions were prospectively enrolled in this study from January 2004 to June 2005. The levels of MMP-1, -2, -8 and -9, and TIMP-1 and -2 were determined in the serum and pleural fluid by ELISA. The residual pleural thickness was measured at the completion of treatment and at the point of the final follow-up with the chest X-ray films.

Results: The study included 39 patients with pleural fluid (PF). Twenty-three had tuberculous effusion, 7 had parapneumonic effusion, 7 had malignant effusion and 2 had transudates. For the 17 patients who completed the anti-TB treatment among the 23 patients with TP, 7 (41%) had RPT and 10 (59%) did not. The level of PF TIMP-1 in the patients with RPT ($41,405.9 \pm 9,737.3$ ng/mL) was significantly higher than that of those patients without RPT ($29,134.9 \pm 8,801.8$) at the completion of treatment ($p=0.032$). In 13 patients who were followed-up until a mean of 8 ± 5 months after treatment, 2 (15%) had RPT and 11 (85%) did not. The level of PF TIMP-2 in the patients with RPT (34.4 ± 6.5 ng/mL) was lower than that of those patients without RPT (44.4 ± 15.5) at the point of the final follow-up ($p=0.038$).

Conclusion: The residual pleural thickening in TP might be related to the TIMP-1 and TIMP-2 levels in the pleural fluid. (*Tuberc Respir Dis* 2008;65:7-14)

Key Words: Matrix metalloproteinase, Pleural effusion, Residual pleural thickening, Tissue inhibitor of metalloproteinase, Tuberculous pleuritis

서론

기질 단백질 분해효소인 matrix metalloproteinase (MMP)와 이들의 길항체인 tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)의 불균형이나 발현이 삼출성 흉수를 발생시키는 흉막질환들에 따라 차이가 있다는 연구가 최근 발표되고 있다¹⁻⁷. 여출성 흉수에서 보다 결핵성 흉수에서 MMP-9과 TIMP-1의 단백질에 대한 비가 더 높다는 보고가 있었고², 폐암에 의해 발생한 흉수 내의 MMP-9 농도가 결핵성 흉

Address for correspondence: Chang Hyeok An, M.D.
Division of Pulmonology, Department of Internal Medicine,
Gachon University Gil Medical Center, 1198, Guwol-dong,
Namdong-gu, Incheon 405-760, Korea
Phone: 82-32-460-3200, Fax: 82-32-469-4320
E-mail: anch@gilhospital.com

Received: Feb. 17, 2008

Accepted: Jul. 7, 2008

수에서 보다 높다는 보고도 있었으나³, 다른 연구에서는 결핵성 흉수 내의 MMP-9 농도가 폐암에 의해 발생한 흉수에서 보다 높다는 보고도 있었다⁵. 또한 농흉, 부폐렴성 흉수, 결핵성 흉수, 악성 흉수, 여출성 흉수 내의 MMP-1, -2, -8, -9와 TIMP-1, -2의 농도 차이를 비교한 연구들도 있었다⁶. 하지만 지금까지의 연구들은 초기 진단 시 흉수 내의 MMP들과 TIMP들의 농도를 측정함으로써 흉수를 동반한 질환들의 감별진단에만 초점을 둔 연구들이며, 진단 시 MMP와 TIMP 농도가 향후 잔여 흉막비후와 예후와 연관되는지 관찰한 연구는 없었다.

잔여 흉막비후는 결핵성 흉막염 또는 부폐렴성 흉수 후 나타날 수 있는 합병증이다. 특히 결핵성 흉막염에서는 치료 후에 잔여 흉막비후를 예측할 수 있는 임상적, 검사실적 지표들에 대한 연구는 많으나, 확립된 예측인자나 발병 기전, 치료 등은 아직까지 정립되지 못한 상황이다.

이에 본 연구자들은 삼출성 흉수를 발생시키는 질환의 진단 시 흉수 내의 MMP들과 TIMP들의 농도가 각 질환의 감별진단과 초기 흉수의 양과 연관 관계가 있는지 알아보는 데에 그치지 않고, 특히 결핵성 흉막염에서 치료 후 잔여 흉막비후가 지속되는 예측인자가 될 수 있는지 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

흉수를 동반한 18세 이상의 성인을 대상으로, 2004년 1월부터 2005년 6월 사이에 가천의대 길병원 호흡기내과에 입원한 환자 중 흉수가 발견된 환자를 대상으로 전향적 연구를 시행하였다.

흉수는 Light 기준에 따라 삼출액과 여출액으로 구분하여 다음과 같이 네 개의 군으로 분류하였다⁸. 결핵성 흉수는 다음의 기준 중 하나 이상을 만족하는 경우 진단하였다: (1) 흉수에서 결핵균이 배양된 경우, (2) 흉막 조직검사에서 건락육아종이 관찰되는 경우, (3) 림프구-우세 삼출액이고 흉수의 adenosine deaminase > 45 IU/L이고 항결핵제에 치료 반응이 좋은 경우⁹. 농흉을 포함한 부폐렴성 흉수는 다음의 기준 중 하나 이상을 만족할 경우 진단하였다: (1) 육안적으로 농인 경우, (2) 그람 염색 또는 배양에서 균이 검출된 경우, (3) 임상 및 방사선학적으로 폐렴이면서 흉수가 동반된 경우¹⁰. 악성 흉수는 흉수나 흉막 조직검사에서 악성 세포가 발견되는 경우 진단하였다. 여출액은 Light 기준 상 삼출액에 해당되지 않으면서 타

흉막 질환의 증거가 없으며 심부전 등 여출액이 발생할 수 있는 질환이 동반된 경우 진단하였다⁸.

이전에 한번이라도 동일한 또는 다른 흉막 질환을 앓았거나 흉강천자를 한 환자, 흉부 수술을 받은 환자는 제외하여, 입원 후 첫 흉강천자로 채취한 흉수를 그 분석 대상으로 하였다. 또한 상기 네 군에 해당하지 않는 환자들도 본 연구에서 제외하였다. 본 연구는 가천의대 길병원 임상시험위원회의 심의를 거쳐 승인을 받았다.

2. 방법

1) 방사선학적 측정

내원 당시 흉수의 양은 최초의 단순 흉부 방사선 촬영에서 흉수 정점부의 위치를 기준으로 grade 1에서 6까지 6단계로 나누었다¹¹. 등급 1은 흉수가 횡격막 수준 이하인 경우로 정의하였다. 단순 흉부 후전위 촬영상 다음의 두 조건 중 하나라도 만족하는 경우에 잔여 흉막비후로 정의하였다: (1) 흉골 안쪽연에서 2 mm를 초과하여 흉막이 두꺼워진 경우, (2) 흉골 횡격막각 둔화(costophrenic angle blunting)가 있을 때 흉골 안쪽연에서 횡격막까지의 두께가 2 mm를 초과한 경우¹². 흉막의 두께는 흉골 안쪽연에서 가장 두꺼운 부분을 측정하였다. 잔여 흉막 비후의 측정은 치료 종결 시와 마지막으로 추적 관찰이 가능한 시점의 측정치를 비교 분석하였다.

2) 흉수 및 혈청의 분석

모든 환자에서 내원 당시 각 질환의 진단 및 치료에 필요한 혈액검사와 진단적 흉강천자, 그리고 필요 시 흉막 조직검사를 시행하였다. 환자의 혈액과 흉수는 즉시 원심분리기를 이용하여 상청액(supernatant)을 채취한 후 MMPs와 TIMPs의 분석 전까지 -70°C 에 보관하였다. 환자의 혈청과 흉수내의 MMP-1, -2, -8, -9와 TIMP-1, -2를 효소면역측정(ELISA) 방법(Amersham Bioscience, Little Chalfont Buckinghamshire, England)을 이용하여 측정하였다. 또한 흉수의 MMP-2와 MMP-9의 경우에는 gelatin zymography를 시행하여 그의 발현을 알아보았는데, 이전 연구에서 사용한 방법을 응용하여 다음과 같이 시행하였다¹³. 흉수를 10% gelatin을 기질로 하여 단백질 전기영동(SDS-PAGE)을 시행하였다. 전기영동 후 gel을 2.5% Triton X-100에 30분간 담가두었다가, 다시 50 mM Tris-HCl, 0.2 M NaCl, 5 mM CaCl_2 , 1% Triton X-100을 조성으로 하는 완충제에서 24시간 동안 37°C 에서 배양하였다. 배양 후 gel은 Coomassie Brilliant Blue R250 (Sigma)으로 염색하였고, 5% methanol과 7.5% acetic

Table 1. Clinical characteristics of patients with pleural effusions

Groups	Tuberculous	Parapneumonic	Malignant	Transudates	p-value*
Subjects (n)	23	7	7	2	
Age (year old)	40±18	57±17	62±15	66±21	0.010
Male:Female	11:12	5:2	4:3	1:1	0.741
PF WBC ($\times 10^3/L$)	2,888±2,452	8,817±8,936	1,531±2,098	73±46	0.054
Neutrophils (%)	10±14	68±30	13±22	13±18	0.007
Lymphocytes (%)	86±15	27±33	81±22	65±32	0.011
Protein P/S ratio	0.8±0.1	0.7±0.1	0.7±0.1	0.3±0.0	0.376
PF LDH (IU/L)	1,307±653	2,446±2,349	937±1,046	266±174	0.046
PF ADA (U/L)	86.8±18.0	34.9±20.3	20.1±14.4	6.4±1.6	0.000
Blood ESR (mm/hr)	50±21	86±19	44±17	23±2	0.002
Serum CRP (mg/dL)	7.0±5.3	20.3±14.0	2.2±1.4	1.4±0.0	0.006

Data are presented as mean±standard deviation.

WBC: white blood cells; PF: pleural fluid; P/S ratio: pleural fluid to serum ratio; LDH: lactate dehydrogenase; ADA: adenosine deaminase; ESR: erythrocyte sedimentation rate; CRP: c-reactive protein.

*Kruskal-Wallis test were performed for difference among groups except male:female ratio.

acid, 증류수로 조성된 용액으로 탈염색하였다. 그리고 gelatin 가수분해에 의하여 나타나는 band를 관찰하였는데, active MMP-2는 66 kDa, pro-MMP-2는 72 kDa, active MMP-9은 85 kDa, pro-MMP-9은 92 kDa의 분자량에 해당하는 band를 찾아 관찰하였다.

3. 통계 분석

통계 처리는 SPSS for Windows 12.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하였다. 자료는 평균±표준편차로 표시하였다. 비모수적 통계방법으로, 연속변수의 각 군간의 차이 여부는 Kruskal-Wallis 검사를 시행하였고, 양군간 비교에는 Mann-Whitney U 검사를 시행하였으며, 상관관계는 Spearman coefficient of correlation을 이용하여 비교 분석하였다. 각 군간의 명목식 자료는 Chi-square 검사를 시행하였다.

결 과

1. 임상적 특징

가천의대 길병원 호흡기내과에 입원한 환자 중 흉수가 발견된 환자 중 제외 기준에 해당하는 환자를 제외하고 총 39명의 환자가 대상이 되었다. 이 중 결핵성 흉막염은 23명, 부폐렴성 흉수 7명, 악성 흉수 7명, 여출액 2명이었고, 각 군의 환자의 임상적 특징은 다음과 같았다(Table 1).

결핵성 흉막염 환자들의 연령(40±18세)이 부폐렴성 흉수(57±17)나 악성 흉수(62±15)의 환자들의 연령보다 의

미 있게 낮았다($p=0.010$). 부폐렴성 흉수 내의 중성구 분획(68±30%)이 결핵성 흉수(10±14)와 악성 흉수(13±22)보다 의미 있게 높았으나($p=0.007$), 림프구 분획(27±33)은 결핵성 흉수(86±15)와 악성 흉수(81±22)보다 의미 있게 낮았다($p=0.011$). 결핵성 흉막염에서의 흉수 내 adenosine deaminase (ADA)(86.8±18.0 U/L)가 다른 세 군(부폐렴성 34.9±20.3; 악성 20.1±14.4; 여출액 6.4±1.6)에서 보다 의미 있게 높았다($p=0.0001$). 혈액 검사 상 적혈구침강속도(erythrocyte sedimentation rate, ESR)와 c-reactive protein (CRP)은 부폐렴성 흉수를 가진 환자군이 다른 세 군의 환자군보다 의미 있게 높았다(Table 1).

2. 혈청과 흉수 내의 MMPs와 TIMPs의 level (Table 2)

흉수 내의 MMP-8은 부폐렴성 흉수(8,720.2±12,594.4 ng/mL)가 결핵성(199.0±443.6)이나 악성(0.2±0.2), 여출액(0.0±0.0)보다 의미 있게 높았다(각각 $p=0.004$; $p=0.002$; $p=0.040$). 결핵성 흉수 내의 MMP-8은 부폐렴성 흉수의 MMP-8보다 낮았으나 악성이나 여출액 흉수 내의 MMP-8 보다는 의미 있게 높았다(각각 $p=0.0001$; $p=0.021$). 결핵성 흉수의 MMP-8은 결핵성 흉수 내 백혈구의 다형핵백혈구 분획과 의미 있는 양의 상관관계를 보였다($p=0.021$, $r=0.479$). 흉수 MMP-1과 MMP-2는 각 군간에 의미 있는 차이는 보이지 않았으며, gelatin zymography 상에서도 흉수의 MMP-2 band는 각 군간에 유사한 관찰 소견을 보였다(Figure 1). 흉수 MMP-9는 부폐렴성 흉수(383.6±410.0 ng/mL)가 결핵성(74.0±68.7), 악성(62.1±61.0), 여출성

Table 2. Levels of metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinase (TIMPs) in serum and pleural effusions

Groups	Tuberculous	Parapneumonic	Malignant	Transudates	p-value*
Subjects (n)	23	7	7	2	
Serum					
MMP-1 (ng/mL)	5,9±5,8	7,2±8,7	4,1±2,8	5,3±4,9	0,941
MMP-2 (ng/mL)	1,299,6±268,7	1,353,4±179,0	1,491,9±455,8	36,5±0,0	0,308
MMP-8 (ng/mL)	47,5±114,0	3,1±4,4	0,0±0,0	0,0±0,0	0,001
MMP-9 (ng/mL)	358,8±162,4	811,8±254,2	251,5±100,1	282,5±265,2	0,003
TIMP-1 (ng/mL)	935,9±810,8	1,342,2±525,7	853,0±403,8	1,575,9±0,0	0,155
TIMP-2 (ng/mL)	33,2±3,9	38,0±8,0	32,1±5,9	50,4±0,0	0,144
Pleural Effusion					
MMP-1 (ng/mL)	3,9±2,3	9,6±8,5	2,7±1,7	1,8±0,2	0,100
MMP-2 (ng/mL)	12,389,9±5,360,5	8,352,0±2,926,4	10,354,6±4,635,6	8,323,8±6,205,4	0,238
MMP-8 (ng/mL)	199,0±443,6	8,720,2±12,594,4	0,2±0,2	0,0±0,0	0,000
MMP-9 (ng/mL)	74,0±68,7	383,6±410,0	62,1±61,0	40,0±42,4	0,170
TIMP-1 (ng/mL)	35,704,1±12,573,8	36,573,9±12,291,1	21,637,2±9,452,7	12,527,7±2,658,0	0,008
TIMP-2 (ng/mL)	41,9±18,8	53,3±23,6	43,9±20,4	52,3±7,3	0,411
MMP-1/TIMP-1 ($\times 10^{-5}$)	11,0±5,9	25,5±22,3	15,4±11,9	14,9±4,9	0,276
MMP-8/TIMP-1 ($\times 10^{-3}$)	5,7±13,1	227,2±332,6	0,009±0,012	0,002±0,002	0,000
MMP-8/TIMP-2	5,0±11,8	163,7±233,1	0,005±0,007	0,000±0,0003	0,000
MMP-9/TIMP-1 ($\times 10^{-3}$)	2,2±2,2	10,5±10,4	2,7±2,6	2,9±2,8	0,131
MMP-9/MMP-2 ($\times 10^{-3}$)	6,8±7,1	61,2±58,8	8,9±11,8	4,0±2,1	0,094

Data are presented as mean±standard deviation.

*Kruskal-Wallis test were performed for difference among groups.

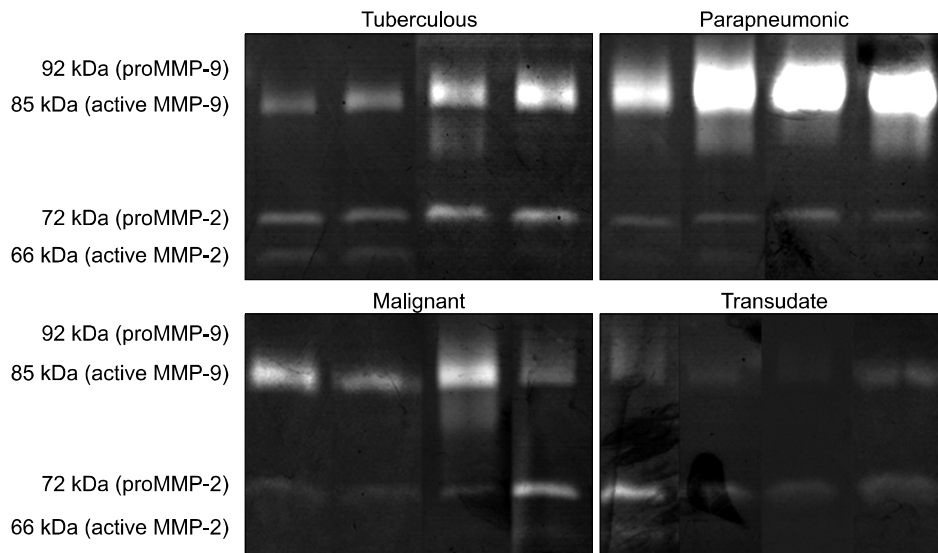


Figure 1. Gelatin zymograms of pleural effusions from parapneumonic effusions, tuberculous pleuritis, malignant effusions and transudates. Gelatinolytic bands of 92 kD (proMMP-9), 85 kD (active MMP-9), 72 kD (proMMP-2), 66 kD (active MMP-2) were detected. Intense lytic bands corresponding to the MMP-9 were visible in parapneumonic effusion. MMP: metalloproteinase.

(40,0±42,4)보다 높은 경향을 보였으나 통계적 의미는 보이지 않았다(p=0,170). 하지만 gelatin zymography 상에서는 부폐렴성 흉수에서의 MMP-9 band가 다른 세 군에서 보다 두드러지게 관찰되었다(Figure 1). 흉수 MMP-9/MMP-2 비($\times 10^{-3}$)는 부폐렴성 흉수(61,2±58,8)가 결핵성(6,8±7,1), 악성(8,9±11,8), 여출액(4,0±2,1)보다 높은 경

향을 보였으나 통계적 의미는 보이지 않았다(p=0,094).

흉수 TIMP-1은 결핵성 흉수(35,704,1±12,573,8 ng/mL)가 악성(21,637,2±9,452,7)이나 여출액(12,527,7±2,658±0)보다 의미 있게 높았다(각각 p=0,006; p=0,021). 흉수 TIMP-2는 각 군간에 의미 있는 차이를 보이지 않았다. 흉수 MMP-8/TIMP-1 비($\times 10^{-3}$)는 부폐렴성 흉수(227,2±332,6)가

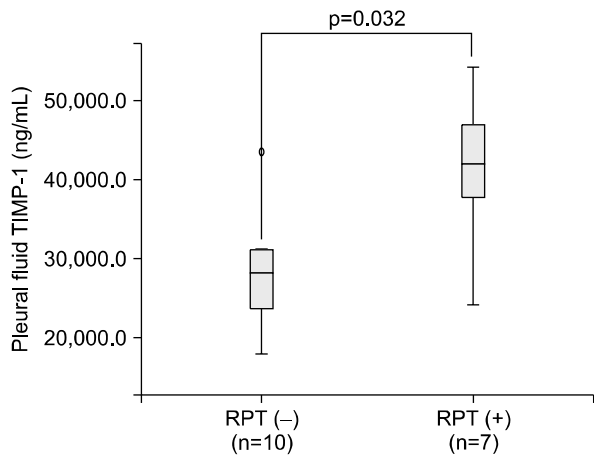


Figure 2. Pleural fluid TIMP-1 levels according to the RPT in tuberculous pleuritis. The level of TIMP-1 in patients with RPT was significantly higher than that of those without RPT at the completion of treatment. Data are presented as box-plots, where the horizontal line represents the mean. TIMP: tissue inhibitor of metalloproteinase; RPT: residual pleural thickening.

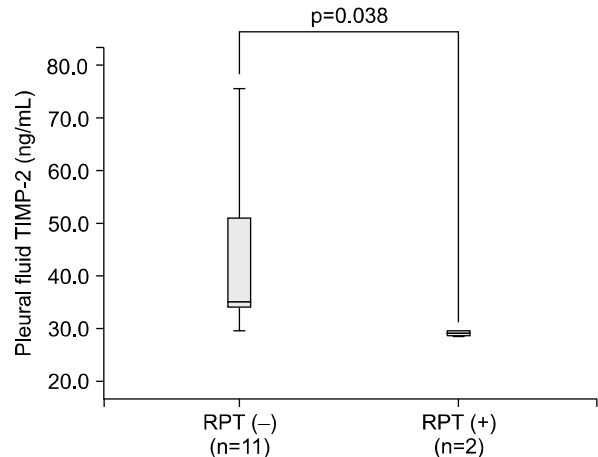


Figure 3. Pleural fluid TIMP-2 levels according to the RPT in tuberculous pleuritis. The level of TIMP-2 in patients with RPT was lower than that of those without RPT at the point of final follow-up. The mean follow-up period was 8 ± 5 months after treatment. Data are presented as box-plots, where the horizontal line represents the mean. TIMP: tissue inhibitor of metalloproteinase; RPT: residual pleural thickening.

결핵성(5.7±13.1), 악성(0.009±0.012), 여출액(0.002±0.002)보다 의미 있게 높았으며(각각 p=0.001; p=0.002; p=0.04), 결핵성 흉수가 악성과 여출액보다 의미 있게 높았다(각각 p=0.0001; p=0.021). 흉수 MMP-8/TIMP-2 비는 부폐렴성 흉수(163.7±233.1)가 결핵성(5.0±11.8), 악성(0.005±0.007), 여출액(0.000±0.0003)보다 의미 있게 높았으며(각각 p=0.003; p=0.002; p=0.04), 결핵성 흉수가 악성과 여출액보다 의미 있게 높았다(각각 p=0.0001; p=0.021). 흉수 MMP-9/TIMP-1 비($\times 10^{-3}$)는 부폐렴성 흉수(10.5±10.4)가 결핵성(2.2±2.2), 악성(2.7±2.6), 여출액(2.9±2.8)보다 높은 경향을 보였으나 통계적 의미는 보이지 않았다(p=0.131).

3. 결핵성 흉막염에서 흉수 MMPs 및 TIMPs와 잔여 흉막비후의 관계

결핵성 흉막염 환자의 초기 흉수양은 등급(grade)이 높아질수록 흉수 MMP-8이 의미 있게 낮았고(p=0.05, $r = -0.413$), MMP-8/TIMP-1 비도 의미 있게 낮았다(p=0.008, $r = -0.536$).

결핵성 흉막염 환자 23명 중 타 병원으로 전원간 5명을 제외하고 항결핵제 치료를 종료한 환자는 17명이었다. 이 중 치료 종료 시 촬영한 단순 흉부 후전위 촬영에서 잔여 흉막비후가 없는 군은 10명(59%)이었으며, 잔여 흉막비후

가 있는 군은 7명(41%)이었다. 잔여 흉막비후가 있는 군은 초진 시 흉수 TIMP-1 (41,405.9±9,737.3 ng/mL)이 잔여 흉막비후가 없는 군(29,134.9±8,801.8)보다 의미 있게 높았다(p=0.032)(Figure 2). 잔여 흉막비후가 있는 군의 초진 시 흉수 TIMP-2 (34.4±6.5 ng/mL)은 잔여 흉막비후가 없는 군(44.4±15.5)보다 낮았으나 통계적 의미는 보이지 않았다(p=0.087).

치료 종료한 17명의 환자 중 추적관찰이 불가능한 4명을 제외하고 8±5개월의 추적관찰이 가능한 13명의 환자들에서, 마지막으로 촬영한 흉부 후전위 촬영에서 잔여 흉막비후가 없는 군은 11명(85%)이었고, 잔여 흉막비후가 있는 군은 2명(15%)이었다. 잔여 흉막비후가 있는 군은 초진 시 흉수 TIMP-2 (34.4±6.5 ng/mL)가 잔여 흉막비후가 없는 군(44.4±15.5)보다 의미 있게 낮았다(p=0.038)(Figure 3). 잔여 흉막비후가 있는 군의 초진 시 흉수 TIMP-1 (41405.9±9734.3 ng/mL)은 잔여 흉막비후가 없는 군(29134.9±8801.8)보다 높았으나 통계적 의미는 보이지 않았다(p=0.076).

고 찰

본 연구의 주요한 결과로는, 결핵성 흉막염 치료 후 잔

여 흉막비후가 있는 환자들이 흉막비후가 없는 환자들보다 흉수 TIMP-1은 높은 경향을, TIMP-2는 낮은 경향을 보였다는 것이다. 세포외기질은 아교질, proteoglycans 및 당단백질 등의 구조 단백질로 구성되어 있으며, 이의 분해는 조직의 흡수와 재형성에 필수적인 현상이다. 특히 matrixins라고도 명명하는 MMPs는 이러한 과정에서 매우 중요한 기능을 수행하는 것으로 알려져 있다¹⁴. 대부분의 MMPs의 발현은 세포성장인자, 호르몬, 시토카인 및 형질 전환 등에 의해 전사 조절된다. MMP-1은 MMP-8, -13, -18과 함께 결합조직의 콜라겐 성분은 분해하는 아교질분해 효소이며, 흉막강에서 MMP-1은 감염성 흉막염에서 섬유화 반응을 유도한다¹⁵. MMP-9은 MMP-2와 함께 젤라틴분해 효소이며, 결핵균의 lipoarabinomannan은 MMP-9의 분해를 촉진시키고, 대식세포에서 MMP-1과 MMP-9의 유전자 발현을 촉진시킨다¹⁶. MMPs의 단백질 분해 활성은 전구체로부터의 활성화된 형태로의 전환과 내인성 억제자인 TIMPs 및 α -macroglobulins와의 결합에 의해 조절되며, 이의 균형은 염증반응에서도 중요한 역할을 한다^{15,17}.

결핵성 흉수에서 MMP-1, -2, -8, 그리고 -9의 수치가 심부전증 흉수보다 높고², 국소 MMP-9과 TIMP-1의 농도 평형은 단백질분해의 순환성도(net activity)를 결정하는데 중요한 역할을 한다고 보고된 바 있다¹⁸. TIMP-1의 역할에 대해서는 아직 확립되지는 않았으나, MMPs가 기질을 분해하는 과정이 활성화 하는 것을 억제하고 조절하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다¹⁹. 특히 MMP-1, MMP-3, MMP-9은 TIMP-1이 TIMP-2보다 더 억제 시킨다고 알려져 있으며^{17,20-22}, proMMP-2도 TIMP-2보다는 약하지만 억제 시킨다고 알려져 있다^{20,23}. 이전의 연구에서와 마찬가지로 본 연구에서도 결핵성 흉수 내의 MMP-1, -2, -8, -9의 농도가 여출액보다 높은 경향을 보여 결핵성 흉막염의 염증 및 섬유화 반응에 이들 MMPs가 관여하는 것으로 생각된다. 이전의 연구들에서는 결핵성 흉수 내의 TIMP-1이 부폐렴성이나 악성, 여출액 내보다 높은 경향이 있는가 하면⁶, 이와 달리 여출액보다 낮았다는 보고도 있었으나², 잔여 흉막비후와 비교되지는 않았다. 본 연구에서는 초기 결핵성 흉막염 진단 시 흉수 TIMP-1의 농도가 높은 경우에는 치료 후에 잔여 흉막비후가 남는 경향을 보여, TIMP-1이 MMP-1, -2, -9의 활성화를 억제시킴으로써 염증반응으로 발생한 흉막비후의 흡수를 저해하는 것으로 추측하게 한다.

TIMP-2는 TIMP-1과 마찬가지로 MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9를 억제 시킨다고 알려져 있다^{17,20-23}. 하지

만 TIMP-2는 basic fibroblast growth factor 유도성 혈관 내피세포의 성장 억제 등, MMPs의 억제 작용과는 독립적인 생물학적 활성을 보이기도 한다²⁴. 본 연구에서는 흉수 TIMP-1에서의 결과와는 반대로, 초기 결핵성 흉막염 진단 시 흉수 TIMP-2의 농도가 낮은 경우에 치료 후 잔여 흉막비후가 남는 경향을 보였다. 이 같은 결과는, 상기와 같은 MMPs의 억제 작용과는 독립적인 TIMP-2의 생물학적 활성 때문인 경우; TIMP-2는 높은 농도에서는 MMP-2를 억제시키지만 proMMP-2가 활성화 되기 위해서는 오히려 어느 정도 농도의 TIMP-2를 필요로 하므로²⁵, MMP-2의 활성화에 관련된 경우; 또는 아직 밝혀지지 않은 다른 기전과의 상호작용에 의한 경우 등을 추정해 볼 수 있다.

염증성 흉수, 특히 결핵성 흉막염에서 흉수 내의 MMPs와 TIMPs의 농도는 흉강내의 국소적 염증 반응, 즉 tumor necrosis factor- α (TNF- α), interferon- γ (IFN- γ), interleukin(IL)-6, IL-8 림프구들이 관여하여 흉강 내 농도가 증가된다². 증가된 MMPs와 TIMPs는 흉강에서 체순환으로 수동확산이 되어 혈중 MMPs와 TIMPs의 농도가 증가된다². 결핵에 의한 염증 반응으로 흉막의 투과성이 증가 되면 반대로 혈액 내의 MMPs와 TIMPs가 흉강 내로 수동확산이 되기도 한다². 본 연구에서는 MMP-2, MMP-8, TIMP-1, TIMP-2의 흉수 내 농도가 혈청 내 농도보다 높았고, 특히 혈청 MMP-8 농도는 다른 군에서 보다 의미 있게 높았다. 이는 국소적인 흉수 MMP-8가 많이 생산된 후 혈액 내로 수동확산이 된 것으로 추정되고, 결핵성 흉막염과 타 질환과의 감별에 도움이 될 수 있는 가능성을 기대하게 했다. 하지만 혈중 MMP 농도는 다른 질환이나 신체 상태에 따라 다른 기원에서 발생되어 증가될 수 있으며, 본 연구에서는 다른 기저 질환이나 신체 상태에 대해서는 연구 대상에서 제외하였기 때문에 명확한 연관관계를 알 수 없었다.

본 연구의 제한점으로는 결핵성 흉막염군 외의 대상자 수가 적어 비모수적 통계를 사용했다는 것이다. 기존의 연구들과 비교적 유사한 결과를 보인 것도 있었으나, 통계적 의미를 보는 데에는 제한이 따를 수 밖에 없었다. 향후에는 연구 대상자 수를 늘려 타 질환과의 비교 분석을 하는 것이 요할 것으로 사료된다. 더욱이 MMPs는 TIMPs에 의해서만 생산이나 활성화에 영향을 받는 것이 아니라 다른 염증매개체나 섬유소용해인자에도 영향을 받으므로^{6,15}, 다른 MMPs, TIMPs와 이에 영향을 주는 인자들의 추가 연구를 한다면 결핵성 흉막염의 잔여 흉막비후의 기전을 밝히는 데에 도움이 될 것으로 생각된다. ELISA 방법으로

측정하는 MMPs와 TIMPs는 유리형과 복합형이 함께 측정되는 한계가 있다. 연구자들에 따라 젤라틴분해효소인 MMP-2와 MMP-9은 gelatin zymography를 통해 pro form과 active form의 농도를 측정하여 비교하기도 한다. 본 연구에서는 결핵성 흉수의 MMP-2와 MMP-9의 gelatin zymography를 통해 관찰된 band가 다른 군들에 비해 두드러지지 않아 직접 densitometry로 측정하여 비교하지는 않고 ELISA 방법에 의한 것만 비교 분석하였다.

요약하면 결핵성 흉막염에서, 진단 시 흉수 TIMP-1 농도가 높고 흉수 TIMP-2 농도가 낮은 경우에 치료 후 잔여 흉막비후가 지속된 경우가 더 높아, 이들 사이에 연관 관계가 있을 것으로 추정된다.

요 약

연구배경: 잔여 흉막비후는 결핵성 흉막염 치료 후 흔히 나타날 수 있는 합병증 중의 하나이며, 이로 인해 호흡기능에 지장을 주는 경우가 있다. 이에 결핵성 흉막염 진단 시 흉수 내의 metalloproteinase (MMP)s와 tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)s의 농도가 치료 후 잔여 흉막비후가 지속되는 지 예측할 수 있는 인자가 될 수 있는 지 알아보고자 하였다.

방 법: 2004년 1월부터 2005년 6월 사이에 흉수가 발견되어 입원한 환자를 대상으로 전향적 연구를 시행하였다. 진단 시 흉수의 분석을 통해 결핵성 흉막염, 부폐렴성 흉수, 악성 흉수, 여출액군으로 나누고, 환자의 혈청과 흉수에서 ELISA 방법을 이용하여 MMP-1, -2, -8, -9와 TIMP-1, -2를 측정하였다. 결핵성 흉막염의 경우 흉부엑스선검사로 항결핵제 치료 종결 시점과 마지막 추적 관찰 시점에 잔여 흉막비후의 두께를 측정하여 잔여 흉막비후가 있는 군과 없는 군으로 나누었다.

결 과: 흉수가 발견되어 입원한 환자 중 제외 기준에 해당하는 환자를 제외하고 총 39명의 환자가 대상이 되었다. 이 중 결핵성 흉막염은 23명, 부폐렴성 흉수 7명, 악성 흉수 7명, 여출액 2명이었다. 결핵성 흉막염 환자 23명 중 본원에서 항결핵제 치료를 종료한 환자는 17명이었으며, 이 중 잔여 흉막비후가 없는 군은 10명(59%)이었으며, 잔여 흉막비후가 있는 군은 7명(41%)이었다. 잔여 흉막비후가 있는 군은 흉수 TIMP-1 (41,405.9±9,737.3 ng/mL)이 잔여 흉막비후가 없는 군(29,134.9±8,801.8)보다 의미 있게 높았다(p=0.032). 치료 종료 후 평균 8±5개월의 추적관찰이 가능한 13명의 환자들에서, 마지막으로 촬영한

흉부 후전위 촬영에서 잔여 흉막비후가 없는 군은 11명(85%)이었고, 잔여 흉막비후가 있는 군은 2명(15%)이었다. 잔여 흉막비후가 있는 군은 흉수 TIMP-2 (34.4±6.5 ng/mL)가 잔여 흉막비후가 없는 군(44.4±15.5)보다 의미 있게 낮았다(p=0.038).

결 론: 결핵성 흉막염의 잔여 흉막비후의 발생에 TIMP-1과 TIMP-2이 관여 될 수도 있을 것으로 추정된다.

감사의 글

본 연구에 아낌없는 도움을 주신 윤진영 연구원께 감사를 드립니다

참 고 문 헌

- Eickelberg O, Sommerfeld CO, Wyser C, Tamm M, Reichenberger F, Bardin PG, et al. MMP and TIMP expression pattern in pleural effusions of different origins. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1987-92.
- Hoheisel G, Sack U, Hui DSC, Huse K, Chan KS, Chan KK, et al. Occurrence of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in tuberculous pleuritis. *Tuberculosis* 2001;81:203-9.
- Jin HY, Lee KS, Jin SM, Lee YC. Vascular endothelial growth factor correlates with matrix metalloproteinase-9 in the pleural effusion. *Respir Med* 2004;98:115-22.
- Kotyza J, Pesek M, Puzman P, Havel D. Progelatinase B/matrix metalloproteinase-9 proenzyme as a marker of pleural inflammation. *Exp Lung Res* 2004;30:297-309.
- Park KJ, Hwang SC, Sheen SS, Oh YJ, Han JH, Lee KB. Expression of matrix metalloproteinase-9 in pleural effusions of tuberculosis and lung cancer. *Respiration* 2005;72:166-75.
- Iglesias D, Alegre J, Aleman C, Ruiz E, Soriano T, Armadans LI, et al. Metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinase in exudative pleural effusions. *Eur Respir J* 2005;25:104-9.
- Di Carlo A, Terracciano D, Mariano A, Macchia V. Matrix metalloproteinase-2 and matrix metalloproteinase-9 type IV collagenases in serum of patients with pleural effusions. *Int J Oncol* 2005;26:1363-8.
- Light RW, MacGregor MI, Luchsinger PC, Ball WC Jr. Pleural effusion: the diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med* 1972;77:507-13.
- Ocaña I, Martínez Vázquez JM, Segura RM, Fernandez de Sevilla T, Capdevila JA. Adenosine deaminase in

- pleural fluid: Test for diagnosis of tuberculous pleural effusion. *Chest* 1983;84:51-3.
10. Light RW, Girad WM, Jenkinson SG, George RB. Parapneumonic effusions. *Am J Med* 1980;69:507-12.
 11. Lee BH, Jee HS, Choi JC, Park YB, An CH, Kim JY, et al. Therapeutic effect of prednisolone in tuberculous pleurisy: a prospective study for the prevention of the pleural adhesion. *Tuberc Respir Dis* 1999;46:481-8.
 12. Kyung SY, Kim YJ, Lim YH, AN CH, Lee SP, Park JW, et al. Spontaneous resolution of residual pleural thickening in tuberculous pleurisy. *Tuberc Respir Dis* 2005; 59:69-76.
 13. Kim YJ, Kim JH, Jeon HK, Kim MK, Jo YC, Kyung SY, et al. The expression of MMPs and TIMPs in IPF and NSIP. *Tuberc Respir Dis* 2006;61:447-55.
 14. Nagase H, Woessner JF Jr. Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 1999;274:21491-4.
 15. Murphy G, Docherty AJ. The matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992;7: 120-5.
 16. Chang JC, Wysocki A, Tchou-Wong KM, Moskowitz N, Zhang Y, Rom WN. Effect of Mycobacterium tuberculosis and its components on macrophages and the release of matrix metalloproteinases. *Thorax* 1996;51: 306-11.
 17. O'Connell JP, Willenbrock F, Docherty AJ, Eaton D, Murphy G. Analysis of the role of the COOH-terminal domain in the activation, proteolytic activity, and tissue inhibitor of metalloproteinase interactions of gelatinase B. *J Biol Chem* 1994;269:14967-73.
 18. Light RW, Lee YCG. Textbook of pleural diseases. 1st ed. New York: Oxford University Press Inc.; 2003.
 19. Cho JH, Nam JH, Lee KH, Yoon BK, Ryu JS, Kwak SM, et al. Matrix metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 levels in exudative pleural effusions. *Tuberc Respir Dis* 2005;59:517-21.
 20. Howard EW, Bullen EC, Banda MJ. Preferential inhibition of 72- and 92-kDa gelatinases by tissue inhibitor of metalloproteinases-2. *J Biol Chem* 1991;266: 13070-5.
 21. Baragi VM, Fliszar CJ, Conroy MC, Ye QZ, Shipley JM, Welgus HG. Contribution of the C-terminal domain of metalloproteinases to binding by tissue inhibitor of metalloproteinases. C-terminal truncated stromelysin and matrilysin exhibit equally compromised binding affinities as compared to full-length stromelysin. *J Biol Chem* 1994;269:2692-7.
 22. Nguyen Q, Willenbrock F, Cockett MI, O'Shea M, Docherty AJ, Murphy G. Different domain interactions are involved in the binding of tissue inhibitors of metalloproteinases to stromelysin-1 and gelatinase A. *Biochemistry* 1994;33:2089-95.
 23. Stetler-Stevenson WG, Kruttsch HC, Liotta LA. Tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP-2). A new member of the metalloproteinase inhibitor family. *J Biol Chem* 1989;264:17374-8.
 24. Chesler L, Golde DW, Bersch N, Johnson MD. Metalloproteinase inhibition and erythroid potentiation are independent activities of tissue inhibitor of metalloproteinases-1. *Blood* 1995;86:4506-15.
 25. Kinoshita T, Sato H, Okada A, Ohuchi E, Imai K, Okada Y, et al. TIMP-2 promotes activation of progelatinase A by membrane-type 1 matrix metalloproteinase immobilized on agarose beads. *J Biol Chem* 1998;273: 16098-103.