

가와사키병에서 Matrix metalloproteinase 9과 Tissue inhibitor of metalloproteinase 1, 2의 임상적 중요성

중앙대학교 의과대학 소아과학교실, 진단검사의학과*

윤기욱 · 윤신원 · 이정주 · 채수안 · 임인석 · 최응상 · 유병훈 · 이미경*

= Abstract =

Clinical significance of matrix metalloproteinase 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase 1 and 2 in Kawasaki disease

Ki Wook Yun, M.D., Sin Weon Yun, M.D., Jung Ju Lee, M.D., Soo Ahn Chae, M.D.
In Seok Lim, M.D., Eung Sang Choi, M.D., Byoung Hoon Yoo, M.D. and Mi-Kyung Lee, M.D.*

Department of Pediatrics, Laboratory Medicine*, College of Medicine, Chung-Ang University, Seoul, Republic of Korea

Purpose: Kawasaki disease (KD) is a systemic vasculitis, a leading cause of pediatric acquired heart disease. Histopathological findings of coronary artery lesion (CAL) in KD indicate destruction of the coronary artery wall with diffuse vasculitis. Matrix metalloproteinases (MMPs) and their endogenous tissue inhibitors (TIMPs) might play central roles in this process. Special attention to MMP-9 has recently been emerging. This study was performed to investigate the clinical significance of MMP-9 and its inhibitors, TIMP-1 and TIMP-2, in KD.

Methods: We compared 47 KD patients with 14 febrile controls. Serum MMP-9 and TIMP-1, TIMP-2 were measured by ELISA and compared according to clinical stages and coronary involvement.

Results: In acute stage, MMP-9 and TIMP-1 were significantly higher, whereas TIMP-2 was lower, in KD than those in febrile controls ($P < 0.05$). The elevated MMP-9 levels in acute phase significantly decreased during the subacute and convalescent phases ($P < 0.05$). During acute phase, the MMP-9, TIMP-1, and MMP-9/TIMP-2 levels in the CAL group were lower than those in the non-CAL group, but they increased significantly in the subacute phase ($P < 0.05$). MMP-9 has a positive correlation with TIMP-1 in the acute and subacute phases, and negative correlation with TIMP-2 in the subacute and convalescent phases ($P < 0.05$).

Conclusion: These results suggest that MMP-9, TIMP-1, and the imbalance in MMP-9 and TIMP-2 might play important roles on the pathophysiology of KD and especially on the development of CAL. However, further larger studies are needed.

(Korean J Pediatr 2010;53:510-518)

Key Words: Kawasaki disease, Matrix metalloproteinase, Tissue inhibitor of metalloproteinases, Coronary vessels

서 론

가와사키병은 주로 영아나 어린 소아에서 발생하는 급성 전신성 미세 혈관염으로서 관상동맥의 침범을 그 특징으로 하고, 동맥류, 동맥혈전성 폐색, 급사 등의 원인이 되는 질환이다. 1967

년 일본의 Tomisaku Kawasaki에 의해 처음 기술된¹⁾ 이후 현재까지 전 세계적으로 수많은 증례가 보고되어 왔으며, 더욱이 최근에는 그로 인한 합병증에 대한 관심과 함께 가장 흔한 후천성 심질환으로서 주목 받고 있다. 아직까지도 정확한 원인이나 병리기전이 밝혀져 있지 않은 상태이지만, 치료로는 고용량 면역글로불린과 아스피린이 사용되며, 이것은 특히 관상동맥 합병증의 빈도를 20% 감소시킨다고 알려져 있다²⁾.

Matrix metalloproteinase (MMP)는 아연에 의존하면서 세포 외 기질을 분해하고 재구성하는 endopeptidase로서 다양한 생리과정들에 관여하는 물질이다. MMP의 생성은 여러 사이토카인들에 의해 자극되고, 그 억제자인 tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)에 의해 주로 조절된다. MMP의 활성이 증가하거나 MMP와 TIMP 간의 양적 불균형이 있으면 여러 질

Received : 11 January 2010, Revised : 18 February 2010

Accepted : 2 March 2010

Address for correspondence: Sin Weon Yun, M.D.

Department of Pediatrics, Chung-Ang University Medical Center, 224-1, Heukseok-dong, Dongjak-gu, Seoul 156-070, Korea

Tel : +82.2-62991478, Fax : +82.2-8144920

E-mail : yswmd@cau.ac.kr

This research was supported by the Chung-Ang University Research Grant in 2006

환에서 병태생리학적 변화를 초래할 수 있는데, 다양한 압^{3, 4)}, 동맥경화증^{5, 6)}, 심부전증⁷⁾, 대동맥류^{8, 9)} 류마티스 관절염¹⁰⁾ 등에서 그 관련성이 이미 확인되었다.

한편, MMP의 증가는 가와사키병에서도 관찰되며, 이 때 MMP의 주 생산원인 활성화된 호중구와 단핵구들이 손상된 혈관 부위로 이동하는 것을 볼 수 있고, 따라서 MMP가 관상동맥 합병증과 관련이 있을 것이란 가설이 나오게 되었다¹¹⁾. 이후 MMP 및 TIMP가 관상동맥벽의 파괴를 유도하여 관상동맥질환을 일으키는 데 중요한 역할을 할 것으로 보고 이에 대한 연구가 최근 십 수년간 특히 일본과 미국 등지에서 주로 있어왔으나, 아직까지 그 양이 적은 실정이고 실험 결과 및 해석에도 조금씩 이견이 있었다. 하지만 그런 중에도 몇몇 연구들은 20여 종의 MMP들 중 특히 MMP-2와 MMP-9이 가와사키병 및 그 관상동맥 합병증과 관련이 깊다는 결과들을 도출해 냈다¹²⁾. 이들은 MMP family 중 gelatinase 군에 속하는 효소들로서, 특히 MMP-9은 혈관 내벽 elastic lamina를 분해함으로써 거대세포 동맥염(giant cell arteritis)과 측두 동맥염(temporal arteritis) 같은 염증성 혈관 질환들의 병리기전에 관여하는 것으로 생각되는 물질이다^{3, 14)}. 또한 성인의 동맥경화증과 고혈압, 그리고 대동맥류의 병리기전에도 깊이 관여하는 것으로 알려져 있다^{8, 12, 15, 16)}. 최근 연구들은 가와사키병에서 관상동맥질환의 병리기전에 있어서도, 이 MMP-9이 여러 MMP들 중에서 가장 중심적인 역할을 한다는 데 의견을 모으고 있다¹⁷⁻²³⁾.

MMP의 억제인자인 TIMP는 지금까지 TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, TIMP-4 4가지가 확인되었고, 각각은 정도의 차이는 있으나 모든 종류의 MMP들을 억제할 수 있는 것으로 알려져 있다. 그 중 MMP-9은 TIMP-1이, 그리고 MMP-9의 비활성 전구체인 proMMP-9은 TIMP-2가 주로 억제하는 것으로 생각되고 있다. 따라서, 최근 MMP-9이 가와사키병의 관상동맥병변에서 그 임상적 중요성이 부각되면서 TIMP-1, TIMP-2도 같이 주목을 받고 있고, MMP-9과 이들의 불균형이 갖는 임상적 의의를 찾으려는 노력이 계속되고 있다^{13, 14)}.

따라서 본 연구에서는, 한국의 가와사키병 환자들을 특히 급성 세균성 감염질환을 가진 환자들과 비교하여 MMP-9 및 TIMP-1, TIMP-2가 가와사키병에서 갖는 임상적 중요성을 평가하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

2005년 1월부터 2008년 7월까지 중앙대학교병원 소아과에 입원한 가와사키병 환자 47명을 연구대상으로 하였고, 같은 시기에 내원한 열성 세균성 감염질환 환자 14명을 대조군으로 하였다. 대조군은 연령과 성별이 가와사키군과 적합하도록 설정되었고, 초기 임상양상이 가와사키병과 유사하고 총 백혈구 수와 C-

반응 단백질이 유의하게 상승한 급성 세균성 인두도염 환자들로 구성되었다. 이들에게서 다른 기저 질환은 존재하지 않았다.

가와사키병의 진단은 미국 심장 학회(American Heart Association)의 진단 기준²⁴⁾에 근거하여 내렸으며, 이 기준을 모두 만족하지는 못하지만 임상적으로 가와사키병이 의심되며 심장 초음파로 관상동맥 이상이 확인되고 다른 유사한 질환은 배제되었을 경우 비정형적 가와사키병²⁵⁾으로 진단하였다.

모든 가와사키병 환아는 진단 직후 고용량 면역글로불린(SK chemical®) 2 g/kg을 약 12-24시간 동안 서서히 투여 받았고, 동시에 고용량 아스피린(30-50 mg/kg/day)을 투여 받기 시작하였으며 항생제는 사용하지 않았다. 발열이 소실되고 약 48-72시간 후에는 퇴원하였으며, 이후 발열 10-14일 쯤부터 외래에서 저용량 아스피린(3-5 mg/kg/day)으로 바꾸어 회복기인 약 2개월까지 투여 받았다.

2. 방 법

1) 검체 채취

가와사키군에서 혈액의 채취는 급성기, 아급성기, 회복기에 총 3회 시행하였으며, 급성기는 입원 직후 급성발열기에 감마글로불린 및 아스피린 사용 전, 아급성기는 발열이 시작된 지 약 10-14일이 지난 시기, 그리고 회복기는 발열이 시작된 지 약 2개월이 지난 시기로 정의하였다. 또한 발열이 있는 급성 세균감염성 대조군의 혈액은 입원 직후 항생제 사용 전에 채취하였고, 모든 혈액은 채취 즉시 혈청만을 원심 분리하여 분석 전까지 -70°C에서 냉동보관 하였다. 이후 이들 가와사키군과 대조군의 혈액에서 총 백혈구 수, C-반응 단백질 등과 혈중 MMP-9, TIMP-1, TIMP-2의 농도를 측정하였다.

2) 혈청 MMP-9, TIMP-1, TIMP-2 측정 방법

MMP-9, TIMP-1, TIMP-2는 Quantikine human cytokine (R&D system Inc. Minneapolis, MN, USA) kit를 통한 Microplate ELISA method를 이용하여 측정하였다. 인간 MMP-9 및 TIMP-1, TIMP-2 항체가 처리되어 있는 96-well microplate에 대상 환자들로 부터 채취한 혈액 100 μL와 완충액 100 μL, 그리고 표준시약을 넣은 후 실온에서 2시간 동안 반응시켰다. 각 효소와 결합된 항체들은 이후 3회의 세척과정을 통해 걸러지고 다시 각 well에 첨가되었다. 여기에 기질 용액(substrate solution; 형광 물질)을 첨가하여 효소-항체 결합 물질과 30분간 반응시킨 후 분광측정기(Power wave X340, BioTek Instrument, Inc., Winooski, VT, USA)로 450 nm에서 판독 하여 수치를 기록하였다.

3) 관상동맥 병변의 판정

관상동맥의 변화 유무를 보기 위해 SONOS 5500 심초음파 기기(Philips Medical System, Andover, MA, USA)를 이용하여 이면성 심초음파를 시행하였다. 심장초음파 역시 급성발열기 및 아급성기, 그리고 회복기에 적어도 3회 이상 시행하였다.

심장초음파상 관상동맥 이상(coronary artery lesion, CAL)

의 정의는 좌주관상동맥(left main coronary artery), 좌전하행 동맥(left anterior descending artery), 좌회선동맥(left circumflex artery) 및 우관상동맥(right coronary artery)의 내경을 측정하여, 최대 내경이 2세 미만에서 2.5 mm, 2세 이상에서 3.0 mm 이상이면서 내경이 명확히 불규칙할 경우 및 일부 분절이 포낭형 혹은 방추형으로 확장되어 있는 경우로 정의하였다. 관상동맥내경의 확대 기준은 상기 수치적 기준 외에도, 한 분절 내경이 인접부위 분절의 1.5배 이상이거나, 환자의 체표면적별 정상 관상동맥 크기의 2 표준 편차 이상 늘어난 경우 역시 포함하였다²⁶⁾.

4) 통계

통계처리는 SPSS version 13.0을 사용하였고, 모든 자료는 평균±표준편차로 나타내었다. 통계분석은 주로 Independent student t-test를 이용하였고, non-parametric sample들에 대한 분석은 Mann-Whitney U test를 이용하였다. 혈청 MMP-9과 TIMP-1, TIMP-2 간의 상관관계는 Pearson's correlation으로 비교하였다. 모든 값은 $P < 0.05$ 일 때 통계적으로 유의하다고 하였다.

결 과

1. 대상 환자의 특성

대조군의 설정을 연령과 성별에 대하여 가와사끼군과 적합하도록 하였으므로, 연령의 중앙값은 가와사끼군과 대조군에서 각각 25.3개월(0.6-79), 23.0개월(0.8-86)로, 성비는 1.88: 1, 1.56:1로 두 군 간의 유의한 차이는 없었고, 체중의 중앙값도 가와사끼군에서 12.8 kg (4.2-20), 대조군에서 13.0 kg (4.6-45)으로 유의한 차이가 없었다. 또한, 대조군이 가와사끼병에서와 같이 총 백혈구 수치와 C-반응 단백질이 증가한 급성 세균성 감염질환이었기 때문에, 이들 수치들도 가와사끼군과 대조군에서 각각 $14,180 \pm 4,736/\text{mm}^3$ 와 $13,790 \pm 2,821/\text{mm}^3$, 87.4 ± 67.8 mg/dL와 79.8 ± 42.9 mg/dL로 가와사끼군에서 약간 높았으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다(Table 1).

2. 급성발열기에 가와사끼군과 대조군에서 혈청 MMP-9, TIMP-1, TIMP-2의 비교

가와사끼군에서 MMP-9은 791.53 ± 584.84 ng/mL로 대조군의 376.05 ± 507.78 ng/mL에 비해서 높았고($P=0.016$), TIMP-1 역시 각각에서 3.06 ± 0.97 ng/mL와 1.78 ± 0.56 ng/mL로 가

와사끼군에서 통계적으로 유의하게 높았다($P < 0.01$). 그러나 TIMP-2는 가와사끼군에서 1.38 ± 0.29 ng/mL로 대조군의 1.67 ± 0.34 ng/mL에 비하여 유의하게 낮았다($P=0.01$). 한편 MMP-9과 그 억제인자인 TIMP의 비는, MMP-9/TIMP-1이 가와사끼군과 대조군에서 각각 264.24 ± 197.39 와 221 ± 303.01 로 큰 차이가 없었으나, MMP-9/TIMP-2는 가와사끼군에서 591.65 ± 463.94 로 대조군의 220 ± 253.09 에 비하여 유의하게 높았다($P < 0.01$, Table 2).

3. 가와사끼군에서 MMP-9과 TIMP-1, TIMP-2의 시간적 변화 양상

면역글로불린 투여 전 급성발열기에 MMP-9은 791.53 ± 584.84 ng/mL로 면역글로불린 투여 후 아급성기의 369.84 ± 405.86 ng/mL와 2개월 후 회복기의 320.81 ± 153.31 ng/mL에 비해 각각 유의하게 높았다($P < 0.05$). TIMP-1은 면역글로불린 투여 전과 후에는 큰 차이가 없었으나, 회복기에 유의하게 감소하였다($P < 0.05$). TIMP-2는 MMP-9과 반대로 급성발열기에서의 값이 아급성기와 회복기에서의 값보다 각각 유의하게 낮았다($P < 0.05$). MMP-9/TIMP-1은 급성기에서 아급성기로 가면서 유의한 감소를 보였고($P < 0.05$), 회복기에는 아급성기에 비해 약간 증가하였다. MMP-9/TIMP-2는 MMP-9과 같은 양상으로 급성기와 비교해 아급성기 및 회복기에 각각 유의하게 감소하였다($P < 0.05$, Fig. 1-3). 결국 시간적인 변화는 MMP-9, TIMP-1, MMP-9/TIMP-2가 같은 양상을 보여 점점 감소하였고, 특히 MMP-9과 MMP-9/TIMP-2는 아급성기에서, TIMP-1은 회복기에서 의미 있는 변화를 보였다. 그리고 TIMP-2는 이상과 반대의 양상을, MMP-9/TIMP-1은 감소하였다가 다시 증가하는 일정한 양상을 보였다.

Table 2. MMP-9 and TIMPs in Acute Kawasaki Disease vs Infectious Control

	KD group (n=47)	Control (n=14)	P-value
MMP-9 (ng/mL)	791.53±584.84	376.05±507.78	0.016
TIMP-1 (ng/mL)	3.06±0.97	1.78±0.56	<0.01
TIMP-2 (ng/mL)	1.39±0.29	1.67±0.34	0.01
MMP-9/TIMP-1	264.24±197.39	221±303.01	0.338
MMP-9/TIMP-2	591.65±463.94	220±253.09	<0.01

Abbreviations : KD, Kawasaki disease; MMP, Matrix metalloproteinase; TIMP, Tissue inhibitor of metalloproteinase

Table 1. Baseline Demographic Characteristics

	Median Age (months)	Median B.W. (Kg)	M:F	WBC (mm ³)	CRP (mg/dL)
KD group (n=47)	25.3 (0.6-79)	12.8 (4.2-20)	1.88:1	14,180±4,736	87.4±67.8
Control (n=14)	23.0 (0.8-86)	13.0 (4.6-45)	1.56:1	13,790±2,821	79.8±42.9

Abbreviations : KD, Kawasaki disease; B.W., body weight; M, male; F, female; WBC, white blood cell; CRP, C-reactive protein

4. 회복기까지 관상동맥이 지속적으로 확장된 군에서의 MMP-9, TIMP-1, TIMP-2의 변화

MMP-9은 급성발열기에 관상동맥 확장군에서 393.89 ± 176.69 ng/mL로 관상동맥 비확장군의 848.34 ± 599.48 ng/mL에 비해 유의하게 낮았다($P < 0.05$). 그러나 급성기 이후 계속 감소하였던 비확장군이나 가와사키병 환자 전체에서의 MMP-9의 진행 양상과는 달리, 관상동맥 확장군에서는 아급성기에 오히려 큰 증가를 보였다($P < 0.05$). TIMP-1 역시 관상동맥 확장군에서는 아급성기로 가면서 증가하였다가 회복기로 가면서 다시 감소하는 양상을 보였고, 특히 아급성기에는 관상동맥 비확장군에 비해 큰 수치를 보였으며 이는 모두 통계적으로 유의하였다($P < 0.05$). MMP-9과 TIMP-1이 가와사키병의 아급성기에 관상동맥질환의 발생과 밀접하게 연관되어 있을 것이라 추정해볼 수 있는 소견

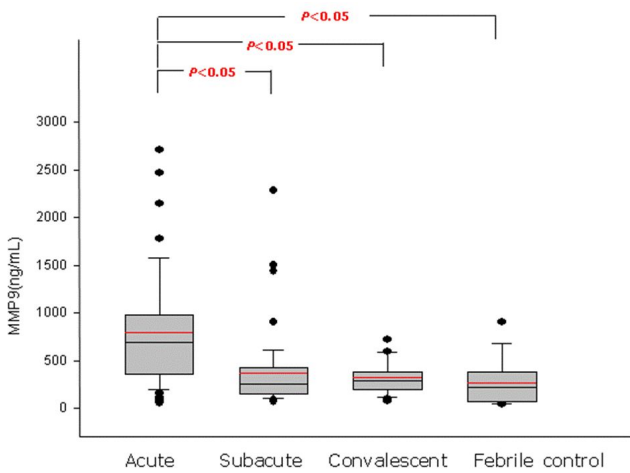


Fig. 1. Serial change of MMP-9 in KD.

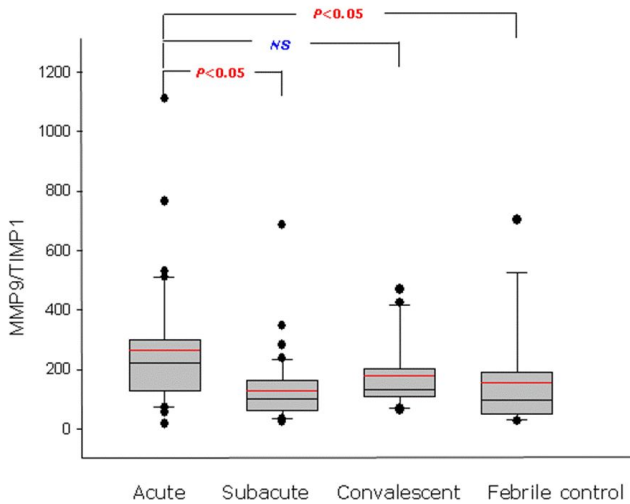


Fig. 2. Serial change of MMP-9/TIMP-1 in Kawasaki disease.

이다. 한편 TIMP-2, MMP-9/TIMP-1은 시간 경과 및 두 군 간에 큰 차이가 없었다. 그러나 MMP-9/TIMP-2는 MMP-9과 TIMP-1의 양상과 마찬가지로, 관상동맥 확장군에서 아급성기에 상승하였다가 회복기에 다시 감소하는 의미 있는 변화를 보였다($P < 0.05$). 관상동맥 확장군과 비확장군의 단순 비교에서는, 확장군에서 급성기 MMP-9과 MMP-9/TIMP-2가 유의하게 낮았으며, 아급성기 TIMP-1이 유의하게 높았다($P < 0.05$, Fig. 4, 5).

5. MMP-9과 TIMP-1, TIMP-2의 상관관계

MMP-9은 급성기와 아급성기에 TIMP-1과 통계적으로 유의한 양의 상관관계를 보였고, TIMP-2와는 아급성기와 회복기에 음의 상관관계를 보였다($P < 0.05$, Fig. 6).

고 찰

가와사키병은 주로 5세 이하의 영유아에서 중소 크기의 동맥을 침범하는 혈관염으로서, 급성 발열성 질환의 형태로 발생한다. 이환된 환아들 중 15-25%에서 관상동맥 병변이 발생하게 되는데, 진단과 치료가 늦어질 경우 심각한 심장 합병증을 초래하기도 한다²⁾. 가와사키병은 모든 인종의 소아들에서 발생하지만 특히 아시아인에서 가장 많이 보고되고 있으며 높은 위험이 있는 것으로 알려져 있고, 소아과 영역에서 비교적 흔한 질환으로서 전 세계적으로 매년 5세 이하 소아 100,000명 당 60-150명 가량의 발생률을 보이고 있다. 현재 일본에서는 매년 약 5,000건의 새로운 발생이 보고되고 있고, 미국에서는 100,000명당 9-19명 정도의 발생률을 보인다²⁷⁾. 한국에서는 1973년 처음 보고된 이래 매해 보고례가 증가되고 있어 최근 보고에 따르면 5세 이하 소아 100,000명 당 105명 정도로 일본에 이어 두 번째로 많은 상태이다²⁸⁾.

가와사키병의 원인파 병리기전에 대해서는 여러 가지 가설들이

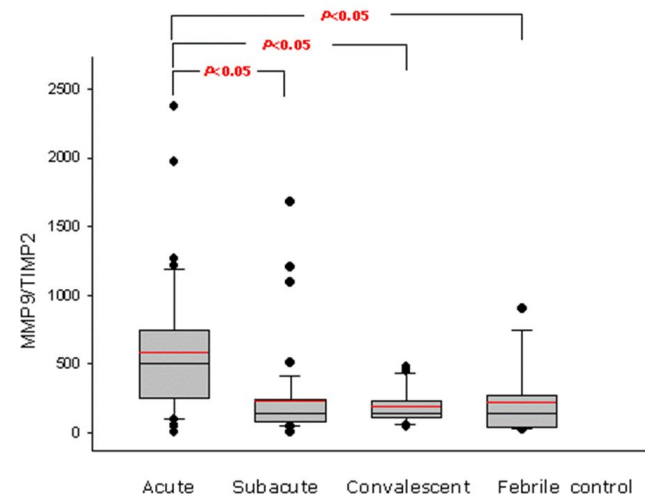


Fig. 3. Serial change of MMP-9/TIMP-2 in Kawasaki disease.

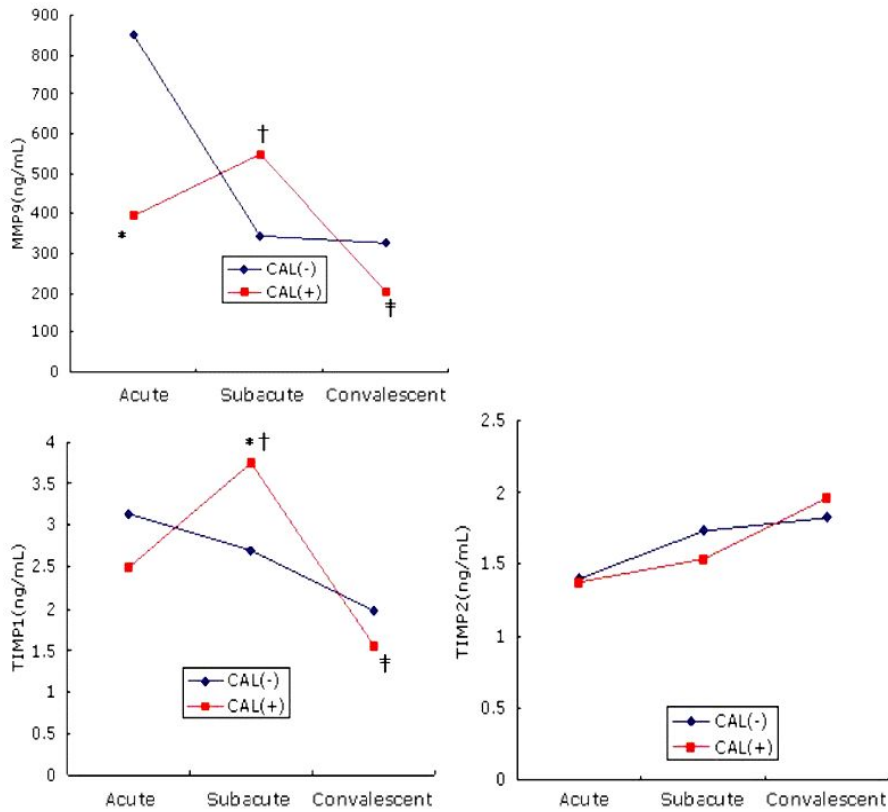


Fig. 4. Serial changes in serum MMP-9 and TIMP levels in the coronary artery lesion vs non-coronary artery lesion groups of Kawasaki disease.

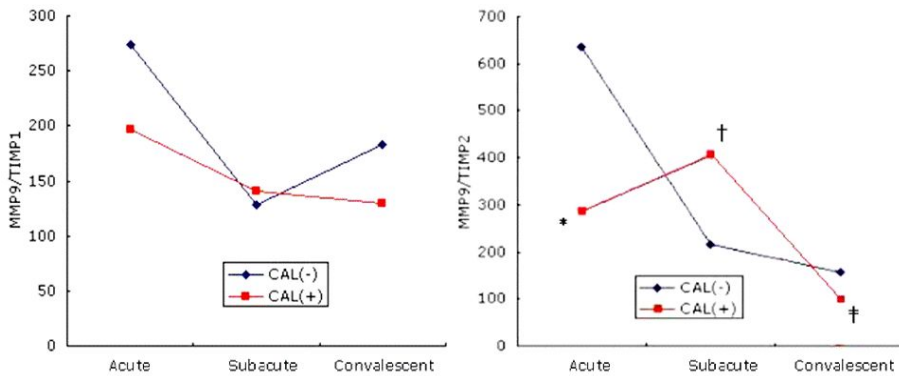


Fig. 5. Serial changes in MMP-9/TIMP-1 and MMP-9/TIMP-2 ratio in the coronary artery lesion vs non-coronary artery lesion groups of Kawasaki disease.

제시되어 왔으나, 아직 정확히 밝혀지지는 않고 있다. 다만, 원인에 대해서는 그 임상발현 양상 및 계절적 발생 빈도의 차이, 5세 이하의 호발 연령 등으로 미루어 감염성 질환의 가능성에 무게를 두고 있다. 그러나 아직까지 어떠한 단일 미생물도 이 병과의 정확한 관련성이 확인된 바는 없으며, 다양한 혈청학적인 연구들에서도 감염성 기원에 대한 확실한 증거를 내놓지는 못하고 있는 실정이다²⁹⁻³¹⁾.

Matrix metalloproteinase (MMP)는 주로 염증세포들이나 혈관내피세포 등에서 생성되는 단백분해효소의 일종으로서 collagen, gelatin, fibronectin과 같은 세포 외 기질의 구성 요소를 분해하여 조직 파괴를 유도한다. MMP는 대부분 불활성 전구체의 형태로 분비되며 자연 억제자인 TIMP에 의해 그 기능이 주로 조절되는데, MMP와 TIMP의 활성이 균형을 이룰 때 태아의 발달, 염증 반응, 상처 회복, 혈관 생성 등과 같은 정상적인 생리

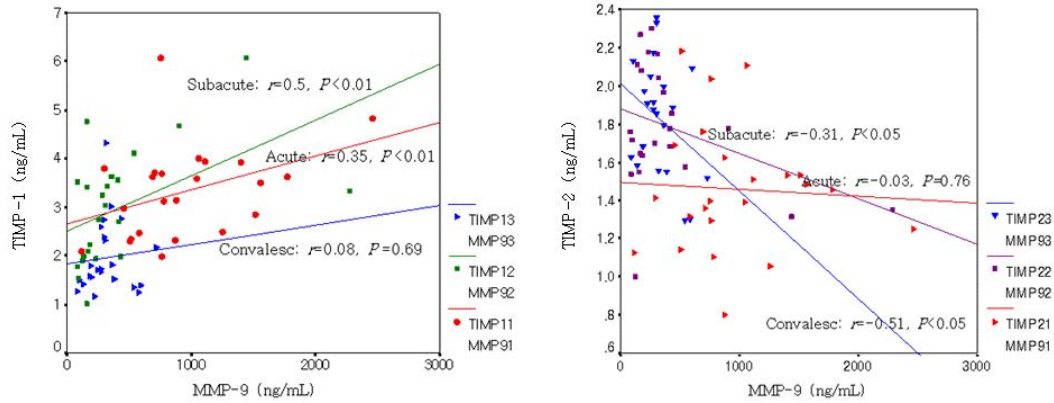


Fig. 6. Correlation between the serum MMP-9 and TIMP-1, TIMP-2 levels in Kawasaki disease.

과정들이 이루어지고, 이들 간의 양적 불균형이 있으면 여러 질환에서 주요한 병태생리학적 변화를 초래하는 것으로 알려져 있다³⁻¹⁰. 최근 들어 이러한 MMP의 증가가 가와사키병에서도 다양한 형태로 관찰되고 있으며, 따라서 가와사키병과 그 관상동맥 합병증의 병태생리를 좀 더 깊이 이해하기 위한 시도로 MMP에 대한 여러 연구들이 지속되고 있다.

MMP-9은 MMP family 중 gelatinase 군에 속하는 효소로서, 전구체 형태인 proMMP-9으로 분비된 이후 여러 proteinase 들을 통해 활성 형태인 MMP-9으로 변화하는데, 이 MMP-9과 proMMP-9은 그 주요 억제인자인 TIMP-1, TIMP-2와 1:1로 결합함으로써 활성이 억제된다^{13, 14}. 혈관 내벽 elastic lamina를 분해함으로써 염증성 혈관 질환들의 병리기전에 관여하는 것으로 생각되며, 혈액-뇌 장벽의 파괴로 뇌수막염의 진행에도 영향을 주는 것으로 알려져 있다³². 성인에서는 동맥경화증 및 복부 대동맥류에서도 높게 발현되고, 특히 대동맥류의 갑작스러운 팽창과 파열에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다^{10, 12, 15}. 또한 고혈압 환자들도 높은 MMP-9과 TIMP-1 농도를 보이는데, 이들의 혈청 농도가 고혈압 환자들에서 초기 동맥경화와 혈관 재형성의 주요 표지자인 맥파 속도(PWV, pulse wave velocity)와 의미 있는 양의 상관관계를 갖는다는 보고가 있다¹⁶. 이러한 모든 소견들은 여러 심혈관계 질환들의 병리기전에 MMP-9과 TIMP-1이 깊이 관여한다는 것을 암시한다.

지금까지 여러 연구들에서 제시한 가와사키병 환자들의 급성기 MMP-9의 혈청 농도는 다소 상승되는 결과들을 보여주었지만^{16, 33, 34}, 적어도 관상동맥류가 있는 국소 부위에서는 MMP-9이 분명히 높게 발현되고 있음을 대부분 확인하였다. Lau 등¹⁷은 가와사키병의 관상동맥질환과 유사한 혈관염을 갖도록 만들어진 mice를 이용한 최근의 연구에서, MMP-9에 의한 elastin의 파괴가 이들 관상동맥 손상의 주요 기전이라고 하였다. 관상동맥 부위의 염증반응이 면역학적 반응을 유도하여 TNF α 의 농도를 높이며, 이것이 MMP-9의 유전자 전사를 유도한다. 그로 인해 혈관내피세포 자체는 직접 손상을 받지 않으면서 elastin의 분해로 관상동맥 손상을 초래하는 것이다. 손상된 혈관에 있는 내피

세포들이 MMP-9을 생산하고 분비하는 주요 인자로서, 이후 혈관벽의 재형성과 동맥류 형성에 핵심적인 역할을 하게 된다. 이 연구에서 다른 MMP들에 대해서도 확인하였지만 MMP-9만이 의미 있는 결과를 보였으며, 따라서 MMP-9이 가와사키병에서 국소 염증반응과 동맥류 형성에 가장 핵심적인 요소일 것이라고 하였다. 또한 그 특이 억제인자인 TIMP-1에 대해서는 MMP-9처럼 혈청 농도의 의미 있는 변화를 보이진 않았지만, MMP-9/TIMP-1은 국소 MMP-9의 효소적 활성과 직접적으로 연관이 있었다고 하였다.

한편, 같은 모델을 이용한 또 다른 실험¹⁸에서는 T-cell의 활성과 TNF α 의 생산을 억제 하는 doxycycline을 투여하였을 때 MMP-9의 효소 활성을 직접적으로 억제할 수 있었고, 이것은 관상동맥 내 elastin 파괴를 효과적으로 줄임으로써 관상동맥질환을 유의하게 감소시키는 효과를 보여주었다. 또한, 현재 가와사키병의 급성기 표준 치료로 인정받고 있고 관상동맥질환의 발생을 크게 감소시키는 것으로 알려져 있는 면역글로불린에 대해서도, 가와사키병 동물모델에서 TNF α 의 발현을 효과적으로 감소시키는 결과를 확인함으로써, 그로 인한 MMP-9의 감소가 관상동맥류 발생에 대한 면역글로불린의 주요한 작용기전일 것이라고 하였다¹⁹.

59명의 가와사키병 환자와 20명의 건강 대조군에 대한 최근의 한 연구²⁰에서는, 가와사키병의 급성기에 MMP-9과 TIMP-1의 혈청농도, 그리고 MMP-9/TIMP-1이 건강 대조군에 비하여 유의하게 높았다. 이 연구에서 면역글로불린 치료 전 MMP-9의 혈청농도와 MMP-9/TIMP-1이 관상동맥질환군에서 더 높았으며, 치료 후 유의하게 감소하였다. 이것은 급성기 동안 MMP-9의 혈청농도의 급격한 상승과 그로 인한 TIMP-1과의 불균형이 가와사키병에서 관상동맥병변의 고 위험 요소인 것을 의미하는 소견이라 하였다. 그러나 또 다른 연구¹²에서는 가와사키병의 급성기에 관상동맥에서 국소적으로 MMP-9과 TIMP-2는 증가하였지만 TIMP-1의 증가는 없었다고 하였다. 이와 같이 약간씩 상이한 결과들이 도출되고 있는 중에, Cho 등²¹은 최근 한국의 가와사키병 환자에서 면역글로불린 투여 전 MMP-9의 농도가

열이 없는 정상 대조군에 비해 유의하게 높았으며 회복기로 가면서 감소하였다고 보고하였다. 이 연구에서 MMP-9의 농도는 또한 총 백혈구 수치와 강한 양의 상관관계를 보여주었다. 또 다른 연구들에서도 가와사끼병의 급성기에 MMP-9²²⁾ 또는 proMMP-9²³⁾이 증가하는 것을 확인하였다.

본 연구에서도 MMP-9의 수치는 가와사끼병 환자에서 대조군에 비해 유의하게 높았다. 특히 이 대조군들은 지금까지의 대부분의 연구들에서와는 달리, 가와사끼병과 임상발현양상 및 염증반응지수가 유사한 급성 발열성 세균감염질환이었기 때문에, MMP-9이 단순히 염증반응 자체와 관련되어 있는 것이 아니라 가와사끼병의 병태생리에 특이적으로 관여한다는 사실을 시사한다 하겠다. 또 가와사끼병에서 MMP-9의 시간경과에 따른 변화를 보면, 면역글로불린을 투여하기 전인 급성기에 수치가 가장 높았고 면역글로불린을 투여한 이후와 회복기로 갈수록 점차 감소하는 양상을 보였는데, 이것은 면역글로불린의 투여가 다양한 기전을 통해 MMP-9의 생성을 감소시킨다는 여러 연구들의 결과와 같은 것이나, 면역글로불린을 투여하지 않은 군에서의 자연경과와 비교가 되지 않아 그 유의성을 확정하기는 어려울 것으로 보인다.

한편, 다른 연구들^{12, 20, 21)}에서와는 달리, 지속적인 관상동맥 확장군에서 MMP-9과 TIMP-1은 급성기에 유의하게 낮았고 아 급성기에 크게 상승하였는데, 이것은 가와사끼병에서 관상동맥병변이 발생하는 상황에서는 급성기에 MMP-9의 양이 어떤 다른 요인들에 의해서도 크게 영향을 받을 수 있다는 것을 시사하는 소견일 수 있겠으나, 관상동맥 확장군의 대상자 수가 적어 역시 확실한 결론을 내리기에는 무리가 있을 것으로 생각된다. 그러나 본 연구에서 아급성기에 상기 수치들이 유의하게 상승한 것은, 면역글로불린 투여 직후에 그로 인한 MMP-9과 TIMP의 반응을 관찰한 대부분의 연구들에서와는 달리, 본 연구는 면역글로불린 투여 후 약 2주가 지난 관상동맥의 변화가 가장 활발하게 일어난다고 알려진 아급성기에, 특히 면역글로불린 투여에도 불구하고 회복기까지 관상동맥병변이 지속된 군에서 이들 수치를 측정하였던 바, MMP-9과 TIMP-1이 가와사끼병에서 특히 관상동맥병변의 형성에 중요한 역할을 한다는 것을 보여주는 소견이라 하겠다. 또한 MMP-9/TIMP-2도 이들과 같은 양상을 보였던 결과에서, MMP-9과 그 주요 억제자인 TIMP-1의 관계뿐만 아니라, proMMP-9의 주요 억제자인 TIMP-2와 MMP-9의 불균형 역시 관상동맥병변의 발생에 중요하다는 것을 알 수 있었다.

마지막으로 본 연구에서 MMP-9은 가와사끼병 환자들에서 TIMP-1과 유의한 양의 상관관계를 보였고 TIMP-2와는 음의 상관관계를 보였는데, 이는 TIMP-2의 감소가 proMMP-9과 MMP-9의 불균형을 초래하고, 그로 인한 MMP-9의 증가가 그 주요 억제자인 TIMP-1의 양을 증가시키는 것으로 이해할 수 있을 것이다. 이후 연구들을 통해 proMMP-9을 동시 측정하여 이들 사이의 관계를 더욱 확실히 알 수 있으리라 기대한다. 또한 TNF- α 와 같이 MMP의 발현과 연관이 있을 것으로 추정되는 싸

이토카인들에 대한 측정을 통해 MMP와 TIMP의 자세한 작용기전을 추론해 볼 수 있을 것이다.

정리하면, 본 연구는 가와사끼병에서 MMP-9과 TIMP-1, TIMP-2의 활성을 시기별로 확인하였고, 그 상관관계를 분석하였다. 더욱이 지금까지 국내에서는 정상 대조군과 비교하여 가와사끼병에서 MMP-9의 의미를 연구한 논문들은 있었으나, 본 논문은 앞서 언급하였듯이 열성 세균성감염 환아들과 비교하여 가와사끼병에서 MMP-9이 의미 있게 증가하는 것을 확인하였는데 그 의의가 있다. 또한, 면역글로불린 치료에도 불구하고 관상동맥병변이 발생하는 환아들에서 MMP-9, TIMP-1, MMP-9/TIMP-2 수치가 특징적인 변화를 보이는 것을 확인하여, 그 병태생리에 이들이 깊이 관여하리라는 예측과 함께 이들 수치가 향후 관상동맥병변의 발생을 예견하고 그들에서 더 적극적이고 적절한 치료를 할 수 있도록 활용될 수 있을 것으로 기대한다. 앞으로 좀 더 많은 대상자를 포함하는 큰 규모의 연구들을 통해 이러한 실험결과들을 확정하고, 그 의의와 유용성을 다시 한 번 확인할 것이다.

요 약

목적: 가와사끼병은 급성 전신성 미세혈관염으로서, 소아의 후천성 심질환의 가장 흔한 원인이다. 가와사끼병의 관상동맥병변에 대한 조직병리학적 소견은 미만성 혈관염에 의한 관상동맥벽의 파괴를 시사하는데, matrix metalloproteinase (MMP)와 그 내인성 억제자인 tissue inhibitor of metalloproteinases (TIMP)가 이러한 과정에 주요한 역할을 할 것으로 생각되고 있으며, 그 중에도 MMP-9이 최근 가장 주목을 받고 있다. 따라서 본 연구에서는, 한국의 가와사끼병 환아들에서 MMP-9과 그 억제자들인 TIMP-1, TIMP-2가 갖는 임상적 중요성을 평가하고자 하였다.

방법: 가와사끼병 환아 47명을 연구대상으로 하였고, 급성 열성 세균감염 환아 14명을 대조군으로 하였다. 혈중 MMP-9, TIMP-1, TIMP-2의 농도를 kit를 통한 효소 면역법을 이용하여 측정하였고, 각 임상 단계 및 관상동맥병변의 유무에 따라 비교분석하였다.

결과: 급성기에 MMP-9과 TIMP-1은 가와사끼군에서 대조군에 비해 유의하게 높았고, TIMP-2는 오히려 낮았다($P < 0.05$). 급성기에 증가한 MMP-9은 아급성기와 회복기에 유의하게 감소하였다($P < 0.05$). 관상동맥 확장군과 비확장군의 비교에서는, 확장군에서 급성기 MMP-9과 TIMP-1, MMP-9/TIMP-2가 낮았으며, 아급성기로 가면서 통계적으로 유의하게 증가하였다가 다시 회복기로 가면서 감소하는 양상을 보였다($P < 0.05$). MMP-9은 급성기와 아급성기에 TIMP-1과 통계적으로 유의한 양의 상관관계를 보였고, TIMP-2와는 아급성기와 회복기에 음의 상관관계를 보였다($P < 0.05$).

결론: 이러한 결과들은 MMP-9과 TIMP-1의 증가, 그리고

MMP-9과 TIMP-2의 불균형이 가와사키병, 특히 그 관상동맥 병변의 병태생리에 핵심적인 역할을 한다는 사실을 시사한다 하겠다. 더 종합적이고 심도 깊은 연구를 위해서 좀 더 많은 대상자를 포함하는 큰 규모의 연구들이 향후 이루어져야 할 것이다.

References

- 1) Kawasaki T. Acute febrile mucocutaneous syndrome with lymphoid involvement with specific desquamation of the fingers and toes in children: Clinical observations of 50 cases (in Japanese). *Arerugi* 1967;16:178-222.
- 2) Wood LE, Tulloh RM. Kawasaki disease in children. *Heart* 2009;95:787-92.
- 3) Johnson LL, Dyer R, Hupe DJ. Matrix metalloproteinases. *Curr opin Chem Biol* 1998;2:466-71.
- 4) Roy R, Yang J, Moses MA. Matrix metalloproteinases as novel biomarkers and potential therapeutic targets in human cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:5287-97.
- 5) Zhang B, Ye S, Herrmann SM, Eriksson P, de Maat M, Evans A, et al. Functional polymorphism in the regulatory region of gelatinase B gene in relation to severity of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1999;99:1788-94.
- 6) Lee YH, Kim TY, Hong YM. Metalloproteinase-3 genotype as a predictor of cardiovascular risk in hypertensive adolescents. *Korean Circ J* 2009;39:328-4.
- 7) Li YY, Feldman RM, Sun Y, McTiernan CF. Differential expression of tissue inhibitors of metalloproteinases in the failing human heart. *Circulation* 1998;98:1728-34.
- 8) Herron GS, Unemori E, Wong M, Rapp JH, Hibbs MH, Stoney RJ. Connective tissue proteinases and inhibitors in abdominal aortic aneurysms involvement of the vasa vasorum in the pathogenesis of aortic aneurysms. *Arterioscler Thromb* 1991;11:1667-77.
- 9) Hovsepian DM, Ziporin SJ, Sakurai MK, Lee JK, Curci JA, Thomson RW. Elevated plasma levels of matrix metalloproteinase-9 in patients with abdominal aortic aneurysms: a circulating marker of degenerative aneurysm disease. *J Vasc Interv Radiol* 2000;11:1345-52.
- 10) Matsuyama T. Tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and matrix metalloproteinase-3 in Japanese healthy children and in Kawasaki disease and their clinical usefulness in juvenile rheumatoid arthritis. *Pediatr Int* 1999;41:239-45.
- 11) Senzaki H, Masutani S, Kobayashi J, Kobayashi T, Nakano H, Nagasaka H, et al. Circulating matrix metalloproteinases and their inhibitors in patients with Kawasaki disease. *Circulation* 2001;104:860-3.
- 12) Gavin PJ, Crawford SE, Shulman ST, Garcia FL, Rowley AH. Systemic arterial expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in acute Kawasaki disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:576-81.
- 13) Zhang Y, McCluskey K, Fujii K, Wahl LM. Differential regulation of monocyte matrix metalloproteinase and TIMP-1 production by TNF- α , granulocyte-macrophage CSF, and IL-1 beta through prostaglandin-dependent and -independent mechanisms. *J Immunol* 1998;161:3071-6.
- 14) Pugin J, Widmer MC, Kossodo S, liang CM, Preas HL II, Suffredini AF. Human neutrophils secrete gelatinase B in vitro and in vivo in response to endotoxin and proinflammatory mediators. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;20:458-64.
- 15) Yasmin, McEniery CM, Wallace S, Dakham Z, Pulsalkar P, Maki-Petaja K, et al. Matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), MMP-2, and serum elastase activity are associated with systolic hypertension and arterial stiffness. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:372.
- 16) Tan J, Hua Q, Xing X, Wen J, Liu R, Yang Z. Impact of the metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 system on large arterial stiffness in patients with essential hypertension. *Hypertens Res* 2007;30:959-63.
- 17) Lau AC, Duong TT, Ito S, Yeung RS. Matrix metalloproteinase 9 activity leads to elastin breakdown in an animal model of Kawasaki disease. *Arthritis Rheum* 2008;58:854-63.
- 18) Lau AC, Duong TT, Ito S, Wilson GJ, Yeung RS. Inhibition of matrix metalloproteinase-9 activity improves coronary outcome in an animal model of Kawasaki disease. *Clin Exp Immunol* 2009;157:300-9.
- 19) Lau AC, Duong TT, Ito S, Yeung RS. Intravenous immunoglobulin and salicylate differentially modulate pathogenic processes leading to vascular damage in a model of Kawasaki disease. *Arthritis Rheum* 2009;60:2131-41.
- 20) Peng Q, Zhou TF, Chen CH, Jua YM, Liu HM, Hong H, et al. Clinical value of serum matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 for the prediction and early diagnosis of coronary artery lesion in patients with Kawasaki disease. *Zhonghua Er Ke Za Zhi* 2005;43:676-80.
- 21) Cho AR, Hong YM. Matrix metalloproteinases, tissue inhibitors and cytokines in patients with Kawasaki disease. *Korean J Pediatr* 2004;47:656-64.
- 22) Takeshita S, Tokutomi T, Kawase H, Nakatani K, Tsujimoto H, Kawamura Y, et al. Elevated serum levels of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in Kawasaki disease. *Clin Exp Immunol* 2001;125:340-4.
- 23) Chua PK, Melish ME, Yu Q, Yanagihara R, Yamamoto KS, Nerurkar VR. Elevated levels of matrix metalloproteinase 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase 1 during acute phase of Kawasaki disease. *Clin Dign Lab Immunol* 2003;10:308-14.
- 24) American Heart Association, Inc. Adapted in part from the Japan Kawasaki Disease Research Committee. *Circulation* 2001;103:335-6.
- 25) Rowley AH, Gonzalez-Crussi F, Gidding SS, Duffy CE, Shulman ST. Incomplete Kawasaki disease with coronary artery involvement. *J Pediatr* 1987;110:409-13.
- 26) Kurotobi S, Nagai T, Kawakami N, Sano T. Coronary diameter in normal infants, children and patients with Kawasaki disease. *Pediatr Int* 2002;44:1-4.
- 27) Holman RC, Curns AT, Belay ED, Steiner CA, Schonberger LB. Kawasaki syndrome hospitalizations in the United States, 1997 and 2000. *Pediatrics* 2003;112:495-501.
- 28) Park YW. Epidemiology of Kawasaki disease in Korea. *Korean J Pediatr* 2008; 51:452-6.
- 29) Tsuchida S, Yamanaka T, Tsuchida R, Nakamura Y, Yashiro M, Yanagawa H. Epidemiology of infant Kawasaki disease with a report of the youngest neonatal case ever reported in Japan. *Acta Pediatr* 1996;85:995-7.
- 30) Cho EY, Eun BW, Kim NH, Lee JN, Choi EH, Lee HJ, et al.

- Association between Kawasaki disease and acute respiratory viral infections. *Korean J Pediatr* 2009;52:1241-8.
- 31) Onouchi Y, Gunji T, Burns JC, Shimizu C, Newburger JW, Yashiro M, *et al.* ITPKC functional polymorphism associated with Kawasaki disease susceptibility and formation of coronary artery aneurysms. *Nat Genet* 2008;40:35-42.
- 32) Yang JH, Park MH, Shim JY, Jung HL, Park MS, Keum DH. Increased matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 levels in the cerebrospinal fluid from children with aseptic meningitis. *J Korean Pediatr Soc* 2003;46:548-53.
- 33) Medley TL, Cole TJ, Dart AM, Gatzka CD, Kingwell BA. Matrix metalloproteinase-9 genotype influences large artery stiffness through effects on aortic gene and protein expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1479-84.
- 34) Lin J, Davis HB, Dai Q, Chou YM, Craig T, Hinojosa-Laborde C, *et al.* Effects of early and late chronic pressure overload on extracellular matrix remodeling. *Hypertens Res* 2008;31:1225-31.