Original Articles Korean Circulation J 1998;28(9):1590-1599

실험적 급성 심근경색증 후 좌심실 재성형에 관여하는 간질 조직의 변화에 대한 전환효소억제제의 기전에 대한 연구

- 백서의 非通壁性 심근경색 후 좌심실 재성형 및 Transforming Growth Factor β-1의 발현 변화와 이에 대한 레닌-안지오텐신계 차단제의 효과 분석 -

서울대학교 의과대학 내과학교실,[1] 병리학교실,[2] 서울대학교 의학연구원 심장연구소[3]
연태진[1,3] · 김석연[1] · 김효수[1,3] · 김어진[2,3] · 김소영[1,3] · 정은주[1,3] · 서정욱[2,3] · 오병희[1,3]

The Role of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor in Ventricular Remodeling after Experimental Nontransmural Myocardial Infarction

- Effects on Transforming Growth Factor-β 1 Expression -

Tae-Jin Youn, MD[1,3], Seok-Yeon Kim, MD[1], Hyo-Soo Kim, MD[1,3], Eo-Jin Kim, MD[2,3], So-Young Kim, MD[1,3], Eun-Joo Chung, MD[1,3], Jeoung-Wook Seo, MD[2,3] and Byung-Hee Oh, MD[1,3]

[1]Department of Internal Medicine, [2]Pathology, Seoul National University College of Medicine, [3]Heart Research Institute of Seoul National University, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background : With the application of early reperfusion by thrombolysis after acute MI, the importance of nontransmural infarction is increasing. We evaluated 1) the changes of LV dimension, LV fibrosis and transforming growth factor-β1 (TGF-β1) mRNA expression in a rat model of nontransmural infarction and 2) effects of angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEI) and angiotensin II receptor blocker (ATRB) treatment after nontransmural infarction. **Method and Results** : Female Sprague-Dawley rats were subjected to 45 minutes of coronary occlusion followed by reperfusion, and at 5 days after the operation, animals were randomized to untreated (MI-vehicle, n=19), captopril-treated (MI-captopril, n=15) and losartan-treated (MI-losartan, n=14) groups. LV dimension, measured by transthoracic echocardiography, was significantly increased at 26 days after MI, and both captopril and losartan treatment inhibited LV cavity dilatation (LV end-diastolic dimension (mm) : MI-vehicle, MI-captopril, MI-losartan ; 8.6±0.2, 7.8±0.2, 8.0±0.2, $p<0.05$ vs. MI-vehicle each). Interstitial fibrosis was reduced with both captopril and losartan treatment ($p<0.05$ vs. MI-vehicle). TGF-β1 mRNA increased 2.6 fold at 10 days ($p<0.05$ vs. pre-MI), and normalized at 26 days after nontransmural MI. Captopril and losartan treatment blocked the induction of TGF-β1 expression after nontransmural MI (p=NS vs. pre-MI). **Conclusion** : After large nontransmural MI, ACEI and ATRB treatments attenuate LV remodeling and decrease interstitial fibrosis, at least partly by blocking the acute induction of TGF-β1 mRNA expression. **(Korean Circulation J 1998;28(9):1590-1599)**

KEY WORDS : Nontransmural myocardial infarction · Remodeling · Transforming growth factor · Captopril · Losartan.

논문접수일 : 1998년 7월 2일
심사완료일 : 1998년 9월 25일
교신저자 : 오병희, 110 - 744 서울 종로구 연건동 28 서울대학교 의과대학 내과학교실
전화 : (02) 760 - 3345 · 전송 : (02) 744 - 2819
E - mail : ohbhmed@plaza.snu.ac.kr

서 론

급성 심근경색증 후 좌심실은 경색 부위의 팽창에 이어 비경색 부위의 확장 및 비대라는 일련의 재성형 과정을 거치며 이는 궁극적으로 환자의 장기적인 예후와 밀접한 관계가 있다.[1] 안지오텐신 전환효소억제제는 백서의 실험적 심근경색 모델이나 급성 심근경색증 환자에서 좌심실의 재성형을 억제하며, 예후를 향상시키는 것으로 알려져 있고,[2-6] 근래 개발된 안지오텐신 수용체 차단제 또한 안지오텐신 전환효소억제제와 비슷한 혈역학적 효과 및 재성형 효과를 백서의 심근경색 모델에서 보인 바 있다.[7-9]

종래 레닌 안지오텐신계 차단제의 유익한 효과가 증명되었던 동물 실험은 측부혈관이 거의 없다고 알려진 백서에서 관동맥을 영구히 결찰함으로써 완전한 통벽성 심근경색증을 유도하여 실험한 것이다. 그러나, 인체의 심장에는 백서에 비해 비교적 풍부한 측부혈관이 있으며, 급성 심근경색증 초기에 재관류 요법을 시행하는 최근의 경향을 고려하면, 오히려 비통벽성 심근경색 후의 심실 재성형과 그에 대한 레닌 안지오텐신계 차단제의 효과를 검토해야 할 것이다. 특히, 백서의 실험적 급성 비통벽성 심근경색 후 3주간의 captopril 투여에 의해 좌심실의 질량은 감소하나, 동일한 좌심실내강압으로 고정한 좌심실 면적 및 좌심실의 유순도가 증가한다는 보고[10,11]는 비통벽성 심근경색 후 레닌 안지오텐신계 차단제 투여에 따른 좌심실 기능이나 용적의 변화를 실제 생체 내에서 측정해야할 필요성을 시사한다.

한편, 좌심실의 재성형 과정은 잔여 심근세포의 비대칭성 비후(eccentric hypertrophy)와 간질 조직 및 세포외 기질의 구조적인 변화를 가져오며 이러한 형태의 변화가 좌심실의 확장 정도나 수축력에 중요한 영향을 미친다. 심실 간질 조직의 섬유화에 관여하는 인자로 안지오텐신 II,[12] 카테콜아민[13] 및 TGF-β1(transforming growth factor-β1)[14,15] 등이 알려져 있으나, 아직 섬유화의 정확한 기전은 밝혀져 있지 않다.

이에, 본 연구자들은 비통벽성 심근경색 후 생체 내에서 좌심실 재성형의 과정을 관찰하고, 안지오텐신 전환효소억제제나 안지오텐신 수용체 차단제 투여가 이에 미치는 영향을 평가하고자 하였으며, 동시에 간질 조직의 섬유화에 관련되어 있다고 알려진 TGF-β1 mRNA의 발현 양상 및 레닌 안지오텐신계 차단제 투여에 따른 변화를 알아보고자 하였다.

연 구 방 법

실험동물 모델의 개발 및 수술적 준비

백서(female Sprague-Dawley rat, 생후 9 10주)에, 미리 혼합된 마취용액(ketamine hydrochloride 100 mg/kg body weight, xylazine 10 mg/kg)을 복강 내로 주사하여 전신마취를 시켰다. 동물을 수술대위에 누인 후 기관지를 삽관하고 소동물용 인공호흡기(Harvard apparatus, model 683)를 이용하여 일회 호흡량 1.5 cc, 분당 75회 전후로 양압 인공호흡시켰다. 좌측 제4늑간을 절개하여 흉곽 내로 들어간 뒤, 심막을 절개하고 좌측 관동맥이 주행한다고 추측되는 우심실 유출로와 좌심방이(Left atrial appendage) 사이의 심근(관동맥을 포함한)을 6-0 silk 수술사로 묶음으로서 좌관동맥을 결찰하였다. 비통벽성 심근경색증을 유도하기 위해서 45분간 결찰한 후 다시 결찰을 풀어 관동맥을 재개통시켰다. 실을 자른 뒤 심근에 명백한 색조의 변화가 있거나 재관류 부정맥의 출현 여부 중 하나 이상이 나타나면 효과적인 재관류가 일어난 것으로 판정하였다. 이어 흉곽을 차례로 봉합하고 흉곽 내 공기를 흡인한 뒤에 피부를 봉합하고 실험동물을 소생시켰다.

실험 계획

수술 후 백서는 크기에 따라 사육 상자 하나에 2 3마리씩 넣은 다음 물과 표준 사료를 마음대로 먹이고, 12시간의 낮과 밤의 주기를 유지하는 장소에서 사육하였다. 심근경색 5일 후에 무작위로 정상 tap water만을 투여한 위약 투여군(MI-vehicle), 안지오텐신 전환효소억제제(captopril, Sigma) 투여군(captopril 투여군, MI-captopril) 및 안지오텐신 수용체 차단제(losartan, MSD) 투여군(losartan 투여군, MI-losartan)으로 나누어 분류하였다. Captopril 및 losartan은 각각 2 gm/liter의 농도로 물에 희석하여 마음껏 복용할 수 있게 하였고, 일주일에 3회 물병을 교체하면서 복용량을 점검하였다.

심초음파도 검사

Litwin 등[16]의 방법을 응용하여, 수술 26일 후에 백서를 전술한 방법으로 마취한 다음, 7.0 MHz 탐촉자를

사용하여 심초음파를 시행하였다. 먼저, 이면성 심초음파도를 통해 좌심실의 단층영상을 관찰하여 좌심실 전벽 및 측벽의 무운동성을 확인한 후 100 mm/sec의 속도로 M형 심초음파도를 시행하였다. American Society of Echocardiography의 선도법에 의거하여 좌심실 수축말기 및 확장말기 내경을 측정하였고 이를 통해 좌심실 분획단축율을 계산하였다.

혈역학적 검사

심초음파 검사 후 백서의 우측 내경동맥을 통해 PE 50 도관을 삽입하여 상행 대동맥에서 맥박수, 수축기압, 확장기압 및 평균 동맥압을 측정하였고, 다시 도관을 좌심실까지 전진시켜서 좌심실 확장말기압을 측정하였다. 기록은 polygraph model 7(Grass Instruments)을 이용하였다.

혈역학적 검사를 시행한 후 백서를 무작위로 조직 표본 제작군 및 RNA 추출군으로 나누었다.

조직 표본 제작 및 좌심실의 형태학적 분석

흉곽을 절개하고 포화 KCl을 우심방에 주사하여 확장기에서 심정지시킨 다음 대동맥을 통해 60 mmHg의 압력으로 10% phosphate-buffered formaline으로 20 30분간 역행 관류시켜 심근을 고정시켰다. 이어 심장을 분리하고 10% buffered formaline 용액에 24시간 더 고정시킨 후, 심방과 기타 조직을 제거한 뒤 우심실과 좌심실을 분리하였다. 심첨부부터 기저부 쪽으로 4개의 횡단면 절편을 만들어 가운데 2개의 절편을 paraffin에 embedding 시킨 다음, 4 μm의 두께로 박절하여 Massons trichrome 염색법으로 슬라이드를 만들었다.

현미경(Olympus BH2) 400배의 시야에서 optical image analysis system(BMI plus)을 이용하여 섬유화 정도를 측정하였다. 경색 변연부의 섬유화는 경색 부위에서 반흔을 제외한 심외막하 생존 심근에서 측정하였고, 비경색 심근의 섬유화는 심실중격에서 측정하였다. 각각의 부위에서 10 15개의 field를 측정하였으며, 한 심장에서 2개의 slide를 취했으므로, 한 심장의 각 부위마다 20 30개의 field를 측정하여 그 평균값을 얻었다. 섬유화의 정도는 각 field에서 심근 조직과 섬유 조직을 합한 면적에 대한 섬유 조직 면적의 %로 표현하였다. 심외막(pericardium)의 섬유 조직 및 혈관주변부 섬유화(perivascular fibrosis)와 심내막하 섬유화(subendocardial fibrosis)는 측정에서 제외하였다.

TGF-β1 mRNA의 발현상 분석

조직으로부터 RNA의 추출

마취한 백서에서 심장을 적출하고 재빨리 생리식염수로 세척하여 혈액을 제거하였다. 좌심실 free wall의 경색부위를 제거하고 비경색 심근만을 취해서 액체 질소에 급속 냉동시켰다. 위의 조작은 2분을 넘지 않도록 시행되었다. 이후 조직을 -70℃ 냉동고에 보관하였다.

-70℃에 냉동 보관된 조직으로부터 RNAzol-B(CINNA/BIOTECX Lab. Inc., 성분 : Guanidine thiocyanate, 2-Mercaptoethanol, Phenol)를 이용하여 다음과 같은 방법으로 RNA를 추출하였다.

조직 100 mg에 RNAzol 2 ml을 넣은 후 homogenizer를 이용하여 조직을 분쇄하였다. 분쇄된 조직 sample에 1/10 부피의 chloroform을 넣고 15초간 세게 흔든 뒤 얼음 속에서 15분간 반응시킨 후 15000 rpm으로 15분간 4℃로 원심분리하여 상층액을 얻었다. 이렇게 얻은 상층액에 같은 양의 isopropanol을 추가하여 잘 섞고 -20℃에서 45분간 반응시킨 후 15000 rpm으로 15분간 원심분리하여 RNA의 침전을 확인하고 75% ethanol로 세척한 후 12000 rpm으로 8분간 원심분리하여 RNA를 얻었다. 이와 같은 RNA 침전에 0.5% SDS(sodium dodecylsulfate, pH 7.2)를 넣어 suspension을 얻었다. 각 샘플에서의 RNA 양은 파장 260 nm에서 spectrophotometer를 이용하여 측정하였고, 각 샘플에서 같은 양을 취하여 0.8% agarose gel(ethidium bromide stained)에 전기영동한 후 UV transilluminator(UVP)로 관찰하여 RNA의 분해(degradation) 여부 및 각 샘플의 18S와 28S band를 통해 같은 양임을 확인하였다.

RNA transfer membrane의 제작

30 ug의 RNA 샘플에 10×MOPS, formaldehyde, formamide를 넣은 뒤 65℃에서 15분 동안 incubation 하였다. 그 뒤 formaldehyde gelloading buffer(50% glycerol, 1mM EDTA(pH 8.0), 0.25% bromophenol blue, 0.25% xylene cyanol FF)를 1/10 부피로 넣은 뒤 1.2% agarose gel(ethidium bromide stained)에서 70 V로 5시간동안 전기영동하였다. Agarose gel을 Whatmann paper를 이용하여 18시간동안 핵산 trans-

fer membrane(Hybond - N^+, Amersham)에 transfer 시켰다. Transfer된 membrane을 UV transilluminator를 통하여 transfer 여부를 확인하고 UV crosslinker (UVP, model CL - 1000)를 이용하여 12×10^4 J로 cross - link시켰다.

Hybridization

Membrane을 hybridization봉에 넣고 거품이 생기지 않도록 prehybrid buffer(deionized formamide, 20× SSPE, 100×Denhardt's solution, 0.5% SDS, denatured Salmon sperm DNA)를 넣은 후 42℃ rolling incubator에서 rolling시키면서 overnight prehybridization시켰다.

TGF - β1 cDNA fragment(601 - 1585 nt of cDNA : X52498)[17]에 Megaprime DNA labelling kit(Amersham)를 이용하여 32P - dCTP를 부착하였다. 이렇게 제작한 Isotope labelled TGF - β1 DNA probe를 hybrid buffer(성분은 prehybrid buffer와 동일)에 넣고 42℃ rolling incubator에서 20시간 hybridization시켰다. Hybridization시킨 membrane을 먼저 상온에서 2x SSC로 5분씩 2번 세척하고, 0.1x SSC/0.1% SDS로 20분씩 2번 세척하였다. 그 뒤 50℃에서 0.1x SSC/0.1% SDS로 15분씩 2번 세척한 다음, film(X - OMAT, Kodak Co.)에 노출시킨 후 - 70℃에 보관하여 autoradiogram을 얻었다. Membrane을 dehybridization시킨 후, mouse GAPDH(glyceraldehyde - 3 - phosphate dehydrogenase) cDNA probe(190bp, Eco RI/Xha I fragment)를 이용하여, Internal control로 사용될 GAPDH mRNA의 hybridization을 시행하였다.

TGF - β1과 GAPDH band의 감광 정도를 densitometer를 이용하여 측정한 후, TGF - β1 mRNA/GAPDH mRNA ratio를 구하였다.

통계학적 분석

모든 측정치는 평균±표준오차로 표시하였으며, 자료의 통계학적 분석은 t - test 혹은 Wilcoxon rank sum test(SPSS for window)를 이용하였다.

결 과

혈역학적 변화

심근경색 후 위약 투여군의 평균 대동맥압은 Sham군과 비교하여 유의한 차이가 없었으나, 레닌 안지오텐신계 차단제를 투여한 군의 평균 대동맥압은 Sham군 및 위약 투여군과 비교하여 유의하게 낮았다. 한편, 심근경색군의 좌심실 확장말기압은 Sham군과 비교하여 유의하게 높았다. 그러나, 경색 후 captopril 투여군의 좌심실 확장말기압은 위약 투여군에 비해 유의하게 낮았으며, losartan 투여군의 좌심실 확장말기압도 통계적으로 유의하지는 않았으나, 위약 투여군에 비해 낮았다(Table 1).

좌심실 내경 및 분획단축율의 변화

대부분의 실험 동물에서 분석 가능한 심초음파도 소견을 얻을 수 있었다. 심근경색 26일 후, 위약 투여군의 좌심실 수축말기 및 확장말기 내경은 Sham군과 비교하여 각각 220% 및 144% 증가하였으며, 좌심실 분획단축율은 약 56%가 감소하였다. Captopril 및 losartan 투여군의 좌심실 확장말기 내경은 위약 투여군과 비교하여 유의하게 작았다. 위약 투여군, captopril 투여군 및 losartan 투여군의 좌심실 분획단축율은 유의한 차이가 없었다(Fig. 1, Table 2).

Table 1. Hemodynamic variables 26 days after coronary occlusion and reperfusion

	Sham (n=8)	MI-vehicle (n=8)	MI-captopril (n=9)	MI-losartan (n=9)
HR (bpm)	350±19	338±17	353±9	326±18
SBP (mmHg)	136±4	128±5	108±3**‡	110±4**†
DBP (mmHg)	103±4	98±5	85±2*†	82±3**†
MBP (mmHg)	116±4	111±5	94±2**†	93±3**†
LVEDP (mmHg)	6±1	21±3**	11±1*†	13±3*

DBP, diastolic blood pressure ; HR, heart rate ; LVEDP, left ventricular end diastolic pressure ; MBP, mean blood pressure ; MI-captopril, infarcted rats treated with captopril ; MI-losartan, infarcted rats treated with losartan ; MI-vehicle, untreated infarcted rats ; SBP, systolic blood pressure ; Sham, sham operated rats.
All values are shown as mean ± SEM. * : $p<0.05$, ** : $p<0.005$ vs. Sham, † : $p<0.05$, ‡ : $p<0.005$ vs. MI-vehicle

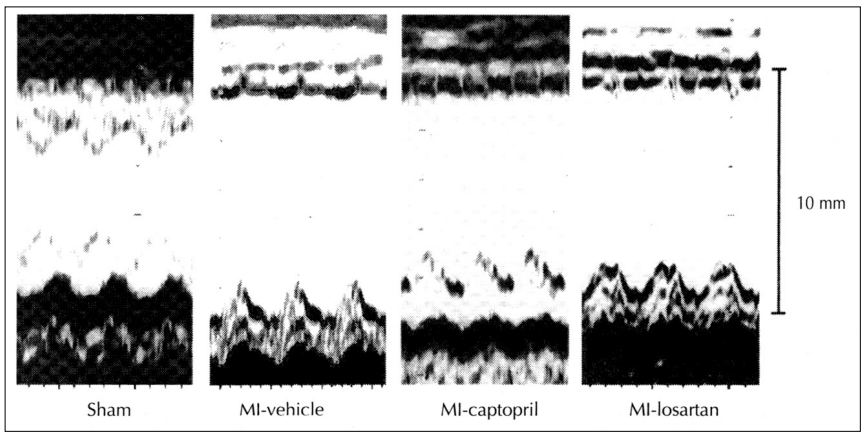

Fig. 1. M-mode echocardiograms of left ventricle at 26 days after nontransmural myocardial infarction in rats.

Table 2. Echocardiographic variables 26 days after coronary occlusion and reperfusion

	Sham	MI-vehicle	MI-captopril	MI-losartan
ESD (mm)	3.1±0.1	6.7±0.2*	6.2±0.1*	6.3±0.2*
EDD (mm)	6.0±0.2	8.6±0.2*	7.8±0.2*†	8.0±0.2*†
FS (%)	48.6±1.8	21.4±1.3*	20.4±2.3*	20.4±1.4*

EDD, end diastolic dimension ; ESD, end systolic dimension ; FS, fractional shortening
All values are shown as mean±SEM. * : p<0.05 vs. Sham, † : p<0.05 vs. MI-vehicle

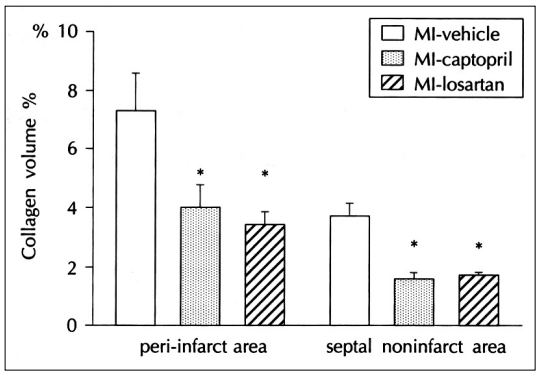

Fig. 2. Changes of interstitial fibrosis in uninfarcted myocardium of left ventricle 26 days after experimental nontransmural myocardial infarction. All data are shown as mean ±SEM. n=5 for each group. *p<0.05 vs. MI-vehicle.

간질 조직 섬유화의 정량적 분석

심근경색 후 심근경색 변연부의 섬유화가 심실중격보다 심했다. 심근경색 변연부 및 심실중격의 섬유화 정도는 captopril 투여군 및 losartan 투여군에서 모두, 위약 투여군과 비교하여 유의하게 낮았다(Fig. 2).

TGF-β1 mRNA의 발현

비통벽성 심근경색 후 위약 투여군의 비경색 심근내 TGF-β1 mRNA 발현은 경색 10일 후에 경색 전과 비교하여 약 2.6배 상승하였으며(p<0.05 vs. pre-MI), 이후 26일째에는 정상화되었다. Captopril 및 losartan 투여군에서는 경색후 급성기의 TGF-β1 발현 상승이 관찰되지 않았다(p=NS vs. pre-MI)(Figs. 3 and 4).

고 안

본 연구에서, 백서의 실험적 비통벽성 심근경색 후 captopril 혹은 losartan 투여는 좌심실 확장말기 내경의 증가를 억제시켜, 비통벽성 심근경색 후에도 레닌 안지오텐신계 차단제 투여가 좌심실의 재성형에 효과적임을 시사하였다. 또한, 레닌 안지오텐신계 차단제 투여는 비경색 심근의 간질 조직 섬유화 및 TGF-β1 mRNA의 발현 증가를 억제하였는데, 이러한 결과는 좌심실 재성형 과정에 중요한 간질 조직의 섬유화에 TGF-β1이 일부 관여함을 시사한다.

'통벽성' 심근경색 후 좌심실의 재성형과 captopril 투여의 효과

Fletcher 등[18]은 백서의 통벽성 심근경색 26일 후, 좌심실의 압력-용적 곡선이 우측으로 이동하는 것을 보고하여, 심근경색 후 좌심실의 재성형에는 첫째, 좌심실

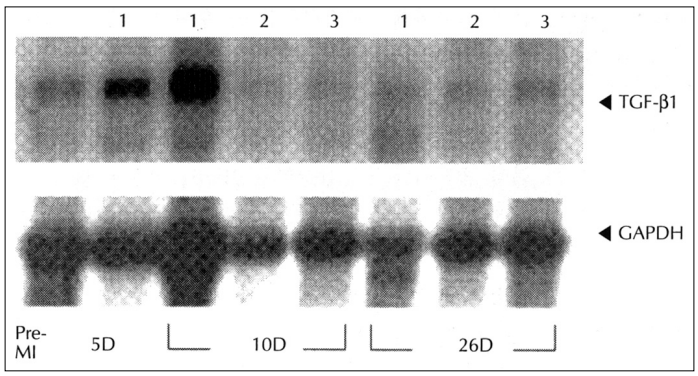

Fig. 3. Typical autoradiogram of northern blot analysis for sequential changes of transforming growth factor-β1 (TGF-β1) mRNA expression in uninfarcted myocardium after experimental nontransmural myocardial infarction and effects of captopril or losartan treatment. Pre-MI, normal control rats ; 5D, 5 days ; 10D, 10 days ; 26D, 26 days after myocardial infarction ; 1, untreated infarcted rats ; 2, infarcted rats treated with captopril ; 3, infarcted rats treated with losartan.

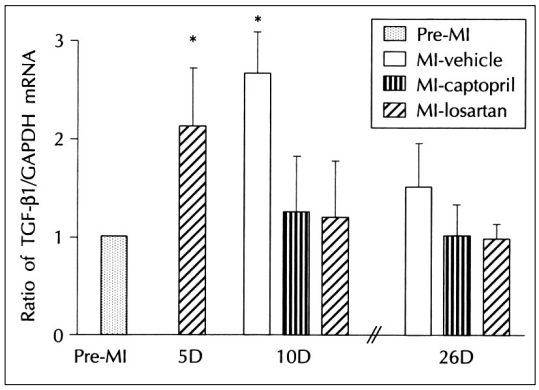

Fig. 4. Changes of transforming growth factor-β1 (TGF-β1) mRNA expression in uninfarcted myocardium after experimental nontransmural myocardial infarction. Each mRNA value is corrected for GAPDH mRNA value and the Pre-MI TGF-β1/GAPDH mRNA ratio is represented as 1. All data are shown as mean±SEM. 5D, 5 days ; 10D, 10 days ; 26D, 26 days after myocardial infarction ; Pre-MI, normal control rats. n=4 for each group and week, *, $p<0.05$ vs. Pre-MI.

압력이 증가함에 따라 용적이 증가하는 distension과 둘째, 유순도가 증가하여 같은 압력에서도 용적이 증가하는 dilation의 두 가지 기전이 함께 작용한다는 것을 시사하였다. 위의 연구에서 좌심실 압력-용적 곡선이 우측으로 이동하는 주원인은, 섬유 조직으로 치환된 경색 부위가 0 2.5 mmHg의 낮은 압력 범위에서 팽창되기 때문이었으며, 경색 반흔 부위가 완전히 팽창된 후 비경색 심근의 유순도가 관여하는, 2.5 mmHg 이상의 압력에서 좌심실 압력-용적 곡선의 기울기는 경색군과 Sham군 사이에 유의한 차이가 없었다. 한편, Pfeffer 등[2]은 백서의 통벽성 심근경색 3달 후에도 좌심실은 계속 확장되며, 경색군의 좌심실 압력-용적 곡선이 5 mmHg 이하의 압력 범위만이 아니라, 10 20 mmHg의 범위에서도 Sham군과 비교하여 우측으로 이동하는 것을 보고하여, 심근경색 후 만성기의 재성형에는 비경색 부위의 확장 및 유순도 증가가 관여함을 시사하였다. 또한 위 실험에서 경색 후 captopril의 투여는 10 20 mmHg 부위의 압력-용적 곡선을 좌측으로 이동시켜서, 즉, 비경색 부위의 재성형을 감소시켜서, 좌심실 확장을 억제하는 효과를 나타내었다. 이후, captopril이 통벽성 심근경색 후 좌심실 재성형에 유익한 효과를 나타내는 사실은 여러 동물실험 및 임상 상황에서 증명되어 왔다.

'비통벽성' 심근경색 후 좌심실의 재성형과 captopril 투여의 효과

급성 심근경색증 초기의 혈전용해요법은 심근 손상이 심내막하 부위에서 심외막하 부위로 진전되는 것[19)20)]을 차단하여 비통벽성 심근경색을 유도하게 된다. 이러한 비통벽성 심근경색 후 좌심실 재성형의 정도가 통벽성 경색과 비교하여 경미하다는 것은 이미 잘 알려져 있다.[21-23)] 그러나, 비통벽성 심근경색 후 captopril의 투여가 좌심실 재성형에 추가적인 효과가 있는지의 여부는 확실하지 않다. Oh 등[10)11)]은 관동맥 결찰 45분 후 재관류를 시킨 백서의 비통벽성 심근경색 모델에서, 수술 5일부터 21일간의 captopril 투여에 의해, 일정한 압력으로 고정한 좌심실 용적이 증가하며, 좌심실 압력-용적 곡선이 10 20 mmHg 범위에서 우측으로 이동한다고 보고하였다. 즉, 통벽성 심근경색 후 captopril의 투여가 좌심실 재성형에 유익한 효과를 보이는 것과는 달리, 비통벽성 심근경색 후 captopril의 투여는 좌심실의 유순도를 증가시켜 좌심실의 dilation을 유발할 가능성이 있다는 것이다.

전술한 바와 같이 경색후 좌심실의 확장에는 ' distension '과 ' dilation '이 관여한다. 그러나, 비통벽성 심근

경색 후 captopril이 좌심실 재성형에 미치는 영향에 대한 위의 연구들은 주로 dilation, 즉, 압력-용적 곡선에서의 좌-우측 이동에 관해서만 연구하였으므로, 실제 생체내의 재성형을 이해하기에는 어려움이 있었다. 본 연구에서 비통벽성 심근경색 후 captopril 투여군의 좌심실 확장말기압은 위약 투여군과 비교하여 유의하게 낮았으며, 심초음파를 통해 생체 내에서 측정한 좌심실의 확장말기 내경 또한 유의하게 작았다. 즉, 비통벽성 심근경색 후 captopril 투여에 의해 좌심실 유순도가 증가하더라도, 확장말기압의 감소에 의해 좌심실 distension이 억제됨으로써 좌심실 용적 증가를 억제할 수 있었던 것으로 생각된다.

안지오텐신 전환효소억제제와 안지오텐신 수용체 차단제의 효과 비교

백서의 통벽성 심근경색 후, 안지오텐신 전환효소억제제 혹은 안지오텐신 수용체 차단제 투여에 의한 혈역학적 부하의 감소 효과와 심근세포 비대나 간질 조직 섬유화 억제 효과에 유의한 차이가 없다는 것은 여러 연구를 통하여 알려져 있다.[7)9)24)] 그러나, 비통벽성 심근경색 후의 재성형 효과를 비교 연구한 논문은 없었다. 본 연구에서 비통벽성 심근경색 후 losartan 투여군의 좌심실 내경은 위약 투여군과 비교하여 통계적으로 유의하게 작았으며, 심근경색 후 losartan 투여에 의한 혈역학적 효과 혹은 좌심실 재성형 억제 효과는 captopril과 비교하여 차이가 없었다. 이는 비통벽성 심근경색 후에도, 통벽성 심근경색 후와 마찬가지로, 안지오텐신 전환효소억제제 혹은 안지오텐신 수용체 차단제의 투여가 모두 좌심실 재성형에 유익한 효과를 나타냄을 시사한다.

심근경색 후 TGF-β1 mRNA의 발현 및 레닌 안지오텐신계 차단제 투여의 영향

TGF-β1은 세포외 기질의 생성을 조절하는 데에 중추적 역할을 담당하고 있으며,[25)] 그 발현에는 안지오텐신 II가 깊숙이 관여하고 있다.[26)] 심근 세포의 경우, 심근의 섬유아세포에 TGF-β1을 투여하거나 그 발현을 촉진시키면, collagen mRNA의 발현이 증가하고, 세포외 기질의 생산이 증가한다.[14)27)] 또한, 심근 섬유아세포 배양액에 안지오텐신 II를 첨가하면 TGF-β1의 발현이 증가한다.[28)29)] 심장의 TGF-β1 발현은 압력 과부하에 의한 심장 비대 모델이나 심근 경색 모델에서도 증명되고 있다.[15)30-32)] 그러나, 대동맥 결찰 모델이나 심근경색 모델에서 TGF-β1 mRNA 발현은 수술 후 1 2주일 내의 급성기에만 증가하나, 자발적 고혈압 모델에서는 생후 24주에도 계속 TGF-β1 mRNA 발현이 증가되어 있어, 좌심실 부하의 모델에 따라 그 발현 양상은 다르다. 또한, 자발적 고혈압 백서에서 안지오텐신 전환효소억제제나 안지오텐신 수용체 차단제 투여 후 TGF-β1의 발현이 감소하나,[30)31)] 통벽성 심근경색 후 안지오텐신 수용체 차단제 투여는 TGF-β1 발현을 감소시키지 못하여,[32)] 동물 모델에 따라 레닌 안지오텐신계 차단제 투여에 대한 반응은 다르게 나타난다.

본 연구에서는 비통벽성 심근경색 후 TGF-β1 mRNA의 발현이 경색후 5일 및 10일의 급성기에 증가하였으나 이후 만성기에는 정상화되었다. 또한, captopril 혹은 losartan의 투여는 급성기 TGF-β1 mRNA 발현을 억제하였으며 비경색 심근의 섬유화를 감소시켜, 심근 섬유화와 TGF-β1 및 레닌 안지오텐신계의 연관성을 시사하였다.

한편, 본 연구의 결과는 통벽성 심근경색 후 안지오텐신 전환효소억제제나 안지오텐신 수용체 차단제의 투여가 비경색 심근의 TGF-β1 mRNA 발현을 억제하지 못했던 본 교실의 다른 연구(Figs. 5 and 6)나 Hanatani 등[32)]의 연구와는 차이가 있다. 심근경색의 통벽성 여부에 따라 레닌 안지오텐신계 차단제 투여 효과에 차이가 있는 이유는 아직 확실하지 않다. 아마도, 비통벽성 심근경색 후 좌심실에 대한 혈역학적 부하는 통벽성 심근경색에 비해 작았을 것으로 생각되며, 혈역학적 부하 혹은 이와 연관된 레닌 안지오텐신계의 활성도 차이에 의해, 비통벽성 심근경색과 통벽성 심근경색에 따른 차이가 발생하였을 것으로 추정할 수 있다. 즉, 경색 후 좌심실 벽장력 정도나 레닌 안지오텐신계의 활성화 정도가 비경색 심근의 TGF-β1 발현을 조절하는 데에 중요하며, 레닌 안지오텐신계 차단제의 투여 효과도 좌심실 벽장력 및 레닌 안지오텐신계 활성화 정도에 의해 영향을 받을 것으로 생각된다.

결 론

관동맥 결찰 및 재관류를 통해 유도한 백서의 실험적 비통벽성 심근경색 후 안지오텐신 전환효소억제제 혹은 안지오텐신 수용체 차단제 투여에 의해 좌심실의 확장이

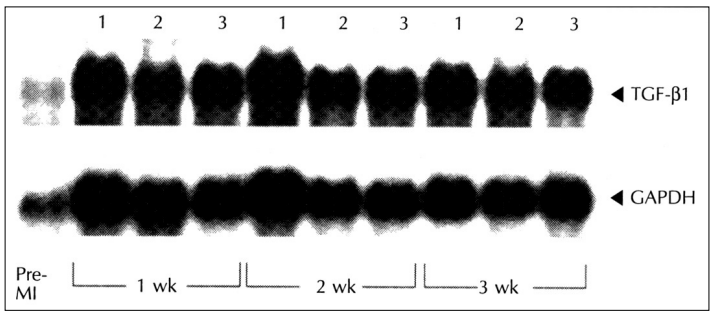

Fig. 5. Typical autoradiogram of northern blot analysis for sequential changes of transforming growth factor-β1 (TGF-β1) mRNA expression in uninfarcted myocardium after experimental nontransmural myocardial infarction and effects of captopril or TCV-116 treatment. Pre-MI, normal control rats ; 1wk, 1 weeks ; 2wk, 2 weeks ; 3wk, 3 weeks after myocardial infarction ; 1, untreated infarcted rats ; 2, infarcted rats treated with captopril ; 3, infarcted rats treated with TCV-116.

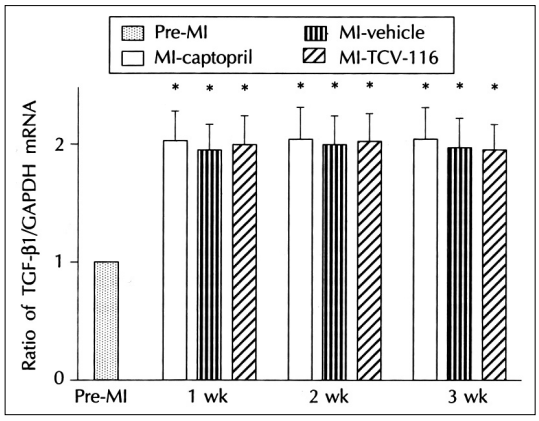

Fig. 6. Changes of transforming growth factor-β1 (TGF-β1) mRNA expression in uninfarcted myocardium after experimental nontransmural myocardial infarction. Each mRNA value is corrected for GAPDH mRNA value and the Pre-MI TGF-β1/GAPDH mRNA ratio is represented as 1. All data are shown as mean±SEM. 1wk, 1 weeks ; 2wk, 2 weeks ; 3wk, 3 weeks after myocardial infarction ; MI-TCV-116, infarcted rats treated with TCV-116. n=4 for each group and week, *, $p<0.05$ vs. Pre-MI.

감소한다는 결과는, 비통벽성 심근경색 후에도, 통벽성 심근경색 후와 마찬가지로, 레닌 안지오텐신계 차단제의 투여가 좌심실의 재성형에 유익한 효과를 나타냄을 시사한다. 대조군에서 관찰되는 간질 조직의 섬유화 정도와 급성 심근경색 후 급성기에 증가하는 TGF-β1 mRNA의 발현이 전환효소억제제나 안지오텐신 수용체 차단제의 투여에 의해 감소하거나 억제되는 결과는, 재성형 과정에 중요한 간질 조직의 섬유화에 TGF-β1이 일부 관여함을 시사한다.

요 약

연구배경 :

심근경색 후 혈전용해요법을 시행받는 경우가 증가함에 따라, 비통벽성 심근경색의 중요성이 강조되고 있으나, 비통벽성 심근경색 후 레닌 안지오텐신계 차단제의 투여효과 및 좌심실의 재성형에 관하여는 연구된 바가 많지 않다. 이에, 본 연구자들은 비통벽성 심근경색 후 1) 좌심실 내경의 변화 및 비경색 심근내 간질 조직의 섬유화와 TGF-β1 mRNA의 발현 양상을 관찰하고, 2) 안지오텐신 전환효소억제제나 안지오텐신 수용체 차단제 투여가 이에 미치는 영향을 평가하고자 하였다.

방법 및 결과 :

백서에서 45분간 관동맥을 결찰한 후 재관류시켜 비통벽성 심근경색을 유도한 뒤 5일 후 무작위로 약제를 투여하지 않는 군(위약 투여군, n=19), 안지오텐신 전환효소억제제(captopril 2 g/liter drinking water) 투여군(captopril 투여군, n=15) 및 안지오텐신 수용체 차단제(losartan 2g/liter drinking water) 투여군(losartan 투여군, n=14)으로 나누었다. 수술 26일 후 심초음파로 측정한 좌심실 확장말기 내경은 위약 투여군에서 Sham 군과 비교하여 유의하게 증가하였으며, 이러한 좌심실 내경의 증가는 captopril 및 losartan 투여에 의해 억제되었다(좌심실 확장말기 내경(mm) : MI-vehicle, MI-captopril, MI-losartan ; 8.6±0.2, 7.8±0.2, 8.0±0.2, $p<0.05$ vs. MI-vehicle each). 비경색 심근의 간질조직 섬유화는 captopril 및 losartan 투여군에서 위약 투여군과 비교하여 감소하였다($p<0.05$ vs. MI-vehicle). 비통벽성 심근경색 후 위약 투여군의 비경색 심근내 TGF-β1 mRNA 발현은 경색 10일 후에 경색 전과 비교하여 약 2.6배 상승하였으며($p<0.05$ vs. pre-MI), 이후 26일째에는 정상화되었다. Captopril 및 losartan 투여군에서는 경색후 급성기의 TGF-β1 발현 상승이 관찰되지 않았다.

결 론 :

1) 비통벽성 심근경색 후 안지오텐신 전환효소억제제

혹은 안지오텐신 수용체 차단제의 투여는 좌심실의 재성형 및 간질 조직의 섬유화를 억제한다. 2) 비통벽성 심근경색 후 간질 조직의 섬유화와 TGF - β1 mRNA의 발현이 레닌 안지오텐신 차단제 투여에 의해 억제되는 결과는, 경색후 좌심실의 섬유화에 TGF - β1이 일부 관여함을 시사한다.

중심 단어 : 비통벽성 심근경색 · 재성형 · Transforming growth factor · Captopril · Losartan.

본 연구는 1996년도 대한 순환기학회 MSD 학술 연구비의 보조로 이루어졌으며, 통벽성 심근경색 후 TGF - β1 mRNA 발현 변화 연구는 1997년도 보건복지부 보건의료기술연구개발 사업비의 보조로 이루어졌음.

REFERENCES

1) Pfeffer MA, Braunwald E. *Ventricular remodeling after myocardial infarction: Experimental observation and clinical implication. Circulation 1990;81:1161-72.*
2) Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. *Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. Circ Res 1985;57:84-95.*
3) Pfeffer MA, Pfeffer JM, Steinberg C, Finn P. *Survival after an experimental myocardial infarction: Beneficial effects of long-term therapy with captopril. Circulation 1985;72: 406-12.*
4) The SAVE investigators. *Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction: Results of the survival and ventricular enlargement trial. N Engl J Med 1992;327:667-77.*
5) Pfeffer MA, Lamas GA, Vaughan DE, Parisi AF, Braunwald E. *Effect of captopril on progressive ventricular dilatation after anterior myocardial infarction. N Engl J Med 1988;319:80-6.*
6) The TRACE study group. *A clinical trial of angiotensin converting enzyme inhibitor trandopril in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. N Engl J Med 1995;333:1670-6.*
7) Raya TE, Fonken SJ, Lee RW, Daughtery S, Goldman S, Wong PC, *et al. Hemodynamic effects of direct angiotensin II blockade compared to converting enzyme inhibition in a rat model of heart failure. Am J Hypertens 1991;4:334S-40S.*
8) Smits JFM, Van Krimpen C, Schoemaker RG, Cleutjens JPM, Daemen MJAP. *Angiotensin II receptor blockade after myocardial infarction in rats: Effects on hemodynamics, myocardial DNA synthesis, and interstitial collagen contents. J Cardiovasc Pharmacol 1992;20:772-8.*
9) Schieffer B, Wirger A, Meybrunn M, Seitz S, Holtz J, Riede UN, *et al. Comparative effects of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II type 1 receptor blockade on cardiac remodeling after myocardial infarction in the rat. Circulation 1994;89:2273-82.*
10) Oh BH, Seo JD, Lee YW. *Effects of converting enzyme inhibitor on the left ventricular remodeling after coronary artery reperfusion in rats. Kor Circ J 1995;25:499-509.*
11) Oh BH, Oh SI, Han KH, Kim HS, Kim CH, Sohn DW, *et al. Effects of converting enzyme inhibitor upon myocardial interstitial tissues and left ventricular remodeling after nontransmural myocardial infarction in rats. Kor Circ J 1997; 27:1318-27.*
12) Weber KT, Brilla CG. *Pathological hypertrophy and cardiac interstitium: Fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. Circulation 1991;83:1849-65.*
13) Jalil JE, Janicki JS, Pick R, Abrahams C, Weber KT. *Fibrosis-induced reduction of endomyocardium in the rat after isoproterenol treatment. Circ Res 1989;65:258-64.*
14) Eghbali M, Tomek R, Sukhatme VP, Woods C, Bhambi B. *Differential effects of transforming growth factor-βl and phorbol myristate acetate on cardiac fibroblasts: Regulation of fibrillar collagen mRNA and expression of early transcription factors. Circ Res 1991;69:483-90.*
15) Villareal FJ, Dillmann WH. *Cardiac hypertrophy-induced changes in mRNA levels for TGF-βl, fibronectin, and collagen. Am J Physiol 1992;31:H1861-6.*
16) Litwin SE, Katz SE, Morgan JP, Douglas PS. *Serial echocardiographic assessment of left ventricular geometry and function after large myocardial infarction in the rat. Circulation 1994;89:345-54.*
17) Qian SW, Kondaiah P, Roberts AB, Sporn MB. *cDNA cloning by PCR of rat transforming growth factor β1. Nucleic Acid Res 1990;18:3059.*
18) Fletcher PJ, Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. *Left ventricular diastolic pressure-volume relations in rats with healed myocardial infarction: Effects on systolic function. Circ Res 1981;49:618-26.*
19) Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. *The wavefront phenomenon of ischemic cell death: I. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. Circulation 1977;56:786-94.*
20) Connelly C, Vogel WM, Hernandez YM, Apstein CS. *Movement of necrotic wavefront after coronary artery occlusion in rabbit. Am J Physiol 1982;243:H682-90.*
21) Hochman JS, Choo H. *Limitation of myocardial infarct expansion by reperfusion independent of myocardial salvage. Circulation 1987;75:299-306.*
22) Hale SL, Kloner RA. *Left ventricular topographic alterations in the completely healed rat infarct caused by early and late coronary artery reperfusion. Am Heart J 1988; 116:1508-13.*
23) Oh BH, Ono S, Rockman HA, Ross J Jr. *Myocardial hypertrophy in the ischemic zone by exercise in rats after coronary reperfusion. Circulation 1993;87:598-607.*
24) Wollert KC, Studer R, Doerfer K, Schieffer E, Holubarsch C, Just H, *et al. Differential effects or kinins on cardiomyocyte hypertrophy and interstitial collagen matrix in the surviving myocardium after myocardial infarction in the rat. Circulation 1997;95:1910-17.*
25) Border WA, Noble NA. *Transforming growth factor-β in tissue fibrosis. N Engl J Med 1994;331:1286-92.*
26) Border WA, Noble NA. *Interaction of tansforming growth factor-β and angiotensin II in renal fibrosis. Hypertension 1998;31:181-8.*
27) Villarreal FJ, Lee AA, Dillmann WH, Giordano FJ. *Adenovirus mediated overexpression of human transforming growth factor-βl in rat cardiac fibroblasts, myocytes and smooth muscle cells. J Mol Cell Cardiol 1996;28:735-42.*

28) Sadoshima J, Izumo S. *Molecular characterization of angiotensin II induced hypertrophy of cardiac myocytes and hyperplasia of cardiac fibroblasts: Critical role of the AT1 receptor subtype. Circ Res 1993;73:413-23.*
29) Lee MA, Dillmann WH, McCulloch AD, Villarreal FJ. *Angiotensin II stimulates the autocrine production of transforming growth factor- β1 in adult rat cardiac fibroblasts. J Mol Cell Cardiol 1995;27:2347-57.*
30) Kim S, Ohta K, Hamaguchi A, Omura T, Yukimura T, Miura K, *et al. Angiotensin II type I receptor antagonist inhibits the gene expression of transforming growth factor- β1 and extracellular matrix in cardiac and vascular tissues of hypertensive rats. J Pharmacol Exp Ther 1995;273:509-15.*
31) Kim S, Ohta K, Hamaguchi A, Yukimura T, Miura K, Iwao H. *Effects of an AT1 receptor antagonist, an ACE inhibitor and a calcium channel antagonist on cardiac gene expressions in hypertensive rats. Br J Pharmacol 1996;118:549-56.*
32) Hanatani A, Yoshiyama M, Kim S, Omura T, Toda I, Akioka K, *et al. Inhibition of angiotensin II type 1 receptor antagonist of cardiac phenotypic modulation after myocardial infarction. J Mol Cell Cardiol 1995;27:1905-14.*