

급성 관동맥 증후군에서 혈중 Hydroxyproline 측정의 임상적 의의

연세대학교 원주의과대학 순환기내과학교실,¹ 응급의학교실,² 한국기초과학지원연구원³

유병수¹ · 윤정환¹ · 김우재¹ · 정현숙¹ · 안민수¹ · 이경훈¹
김장영¹ · 이승환¹ · 고지연¹ · 황성오² · 정영호³ · 최경훈¹

The Clinical Significance of Serum-Hydroxyproline in Acute Coronary Syndrome

Byung-Su Yoo, MD¹, Junghan Yoon, MD¹, Woo-Jae Kim, MD¹, Hyun-Sook Jung, MD¹,
Min-Soo Ahn, MD¹, Kyung-Hoon Lee, MD¹, Jang-Young Kim, MD¹, Seung-Hwan Lee, MD¹,
Ji-Yean Ko, MD¹, Sung-Oh Hwang, MD², Young-Ho Jung, MD³ and Kyung-Hoon Choe, MD¹

¹Department of Cardiology and ²Emergency Medicine, Wonju College of Medicine, Yonsei University, Wonju,

³Korea Basic Science Institute, Daejeon, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : The serum hydroxyproline level (SHL) has been regarded as evidence of collagen breakdown or extra-cellular matrix reorganization. The role of SHL as a diagnostic parameter in acute coronary syndrome, and the SHL changes depending on the left ventricular remodeling after acute myocardial infarction, was evaluated. **Subjects and Methods :** Venous blood samples were obtained from 122 patients with AMI at the time of admission, and on days 7, 21 and 90, and once from 15 patients with stable angina, 15 with unstable angina and 12 healthy subjects. The SHL was measured using the amino acid analysis system (HPLC). The regional wall motion index (RWMI), LVEF and LV dimensions were determined in the early (<1 week) and chronic (3 months) phases using echocardiography. Based on the final angiogram, patients were allocated to the reperfusion (TIMI II-III ; n=103) or non-reperfusion (TIMI 0-I ; n=19) groups. **Results :** There were significant differences in the SHL among patients with AMI ($6.49 \pm 3.77 \mu\text{g/L}$), unstable angina ($2.92 \pm 1.81 \mu\text{g/L}$), stable angina ($2.22 \pm 1.29 \mu\text{g/L}$) and the normal control groups ($2.35 \pm 0.92 \mu\text{g/L}$). There was no significant difference in the SHL between the reperfusion and non-reperfusion groups on admission ($p>0.05$). However, there was a significant elevation in the SHL 14 day after AMI in the patients of the non-reperfusion group ($4.36 \pm 1.46, 7.63 \pm 2.69 \mu\text{g/L}$, $p=0.032$). After 2 week, there was no significant difference in the SHL. There was a significant relationship between the late left ventricular ejection fraction and the SHL ($r=-0.414$, $p=0.037$), but no significant relationship between the other factors and the SHL ($p>0.05$). **Conclusion :** The serum hydroxyproline levels were significantly increased in patients with acute coronary syndrome, which reflect the early change in left ventricular remodeling in acute myocardial infarction. (Korean Circulation J 2004;34(12):1148-1157)

KEY WORDS : Myocardial infarction ; Collagen ; Hydroxyproline.

논문접수일 : 2004년 9월 8일

심사완료일 : 2004년 9월 24일

교신저자 : 윤정환, 220-701 강원도 원주시 일산동 162 연세대학교 원주의과대학 순환기내과학교실

전화 : (033) 741-0917 · 전송 : (033) 741-1219 · E-mail : yoonj@wonju.yonsei.ac.kr

서 론

급성 관동맥 증후군의 가장 중요한 병태생리학적 기전인 죽상 경화반의 파열은 죽상 조직의 변화뿐만 아니라 염증 반응, 혈 역학적 변화, 주위 혈관 벽에 미치는 스트레스 및 혈관의 수축 등이 기여하는 것으로 알려져 있다.¹⁻³⁾ 또한 죽상 경화증뿐 아니라 다른 염증반응에서 collagen 형성 및 세포 외 결체조직의 분해는 만성 염증 혹은 회복 단계를 결정하는 중요한 요소이며³⁻⁶⁾ 급성 심근경색 회복 시 좌심실의 재형성과정에서 세포 외 결체조직의 변화는 좌심실의 형태와 기능유지에 중요한 역할을 한다.⁷⁻¹⁰⁾

Hydroxyproline은 collagen 구성 성분의 아미노산으로 최근 Shah 등³⁾ 이 국소 죽상 경화반의 파열은 조직 내 대식 세포가 증가와 연관이 있으며 이에 따라 hydroxyproline의 양이 증가된다는 것을 보고 하였다. 이들의 결과에 근거하여 국소 조직 내에 hydroxyproline의 양의 증가는 혈중 내에 hydroxyproline치의 증가로 반영될 수 있을 것이라 기대되며 또한 급성 심근경색 시 좌심실 재형성 과정은 세포 외 결체 조직의 변화와 밀접하여 심근 결체 조직내의 변화뿐만 아니라 혈중 hydroxyproline치의 증가로 반영될 수 있을 것으로 추측된다.⁷⁻¹⁰⁾

이에 본 연구는 급성 관동맥 증후군에서 혈중 hydroxyproline치의 관동맥 질환에 따른 진단적 유용성을 평가하고 급성 심근경색 환자에서 좌심실 재형성 시 좌심실 변화 양상에 따른 혈중 hydroxyproline치의 변화를 알아 보고자 하였다.

대상 및 방법

대 상

대상 환자는 50세 이상 70세 이하인 환자 군에서 가능한 남녀 비가 1 : 1이 되도록 정하였고 대조 군은 검진을 위해 내원한 일반인을 대상으로 자각 증상이 없고 운동부하 검사상 음성인 경우로 하였다. 급성 심근경색 증은 증상발현 12시간 안에 흉통으로 내원한 환자를 대상으로 진단기준에 의해 1) 30분 이상의 허혈성 흉통의 병력, 2) 심전도상 적어도 2개의 유도에서 전형적인 심전도 소견(ST절의 상승 또는 하강, 새로운 병적 Q파의 출현), 3) 심근 효소 중 CK-MB가 8 U/L이상의 상승

이 있을 때의 3가지 항목 중 2가지 이상이 있는 경우로 정의 하였고 내원 시 관상 동맥 조영술 및 심초음파도를 시행한 환자만을 대상으로 하였다.

환자 내원 시 혈중 hydroxyproline치에 영향을 주는 질환 및 환자 상태를 고려하여 내원 시 쇼크(수축기 혈압 90 mmHg이하), 신부전, 발열(38.3℃ 이상), 흉통 발현시간이 애매한 경우, 내원 전 심폐 소생술을 시행 받은 환자 및 내원 전 외상이 있는 경우 및 감염 질환, 염증성 질환 및 신장 질환, 골 및 대사 질환 자는 연구에서 제외하도록 하였다.

안정형 협심증은 전형적 증상 및 혈관 조영술상 협착이 있는 환자로 정의하였고, 불안정형 협심증은 내경 협착이 관찰된 환자에서 임상적 기준에 합치된 경우로 하였다. 연구 대상은 정상 대조군(n=12), 안정형 협심증 환자(n=15), 불안정형 협심증(n=15), 급성 심근경색(n=122)으로 나누었다.

심장표식자의 채취 및 측정

검체는 정맥혈에서 채취하였으며, 채취 시점은 각각의 환자당 최초 내원 시에 채취하였다. 채취된 정맥혈은 실온에서 30분간 방치하여 완전히 응고시킨 후 3,000 g에서 원심 분리한 다음 혈청을 분리하고 모든 환자에서 CK-MB, CRP, Fibrinogen, troponin-I, myoglobin의 측정은 immunoassay(ACCESS® immunoassay system, Sanofi Diagnostics Pasteur, Inc., MN, USA)로 측정하였다.

급성 심근경색증인 경우 CK-MB mass, troponin-I, myoglobin을 0, 4, 8, 12, 24, 48시간에 채취 후 측정하였다.

혈중 Hydroxyproline치 측정

정맥혈에서 채취한 검체를 위와 같은 방법으로 혈청을 분리하여 PTT tube에 보관 후 결과 분석까지 -70℃에서 보관하였다. Hydroxyproline치의 측정은 HPLC(high performance liquid chromatography)를 이용하여 측정하였다.

시료는 Tarr 방법¹¹⁾에 준하여 constant boiling HCl(Sigma, St. Louis)을 이용하여 110℃에서 24시간 가수분해 하였다. Cysteine의 분석은 formic acid와 과산화수소 혼합물(19 : 1, v/v)을 이용하여 cysteic acid로 산화 시킨 후 Tarr 방법을 이용하여 산 가수분해 하였다.

Tryptopan의 분석은 4 N methanesulfonic acid¹²⁾를 이용하여 직접 가수분해 하였다. 가수분해 산물은 건조한 후, 재건조 용액(Ethanol/DW/Triethylamine, 2/2/1, v/v)을 이용하여 재 건조하였다. 가수 분해시료와 free amino acid 시료의 derivatization은 Pico-Tag method (Waters, Milford, USA)을 이용하였으며, 아래의 조건으로 분석하였다.

- a. 컬럼 : Waters Pico-tag column(3.9×300 mm, 4 μm)
- b. 검출기 : 254 nm, Waters 996 photodiode array detector(PDA)
- c. 이동상 : buffer A ; 140 mM sodium acetate (6% acetonitrile)

- buffer B ; 60% acetonitrile
- d. 컬럼 온도 : 46 C
- e. 분석시간 : 30분

상기 방법으로 얻어진 hydroxyproline의 양(pmol)을 분석된 시료의 용량(injection volume, μL)으로 나누어 혈중 농도(μg/L)를 구하였다(Fig. 1).
 대조군, 안정형 협심증 환자군, 불안정형 협심증 환자 군은 내원 당일 혈액 채취를 시행 하였고 급성 심근 경색증 환자의 경우 내원 당일(1.6±2.7일, n=122) 심근경색 초기(평균 16.3±7.4일, n=101), 심근경색 중기(평균 31.6±10.2일, n=89) 및 만성기(평균 102±22.8일, n=109)에 각각 혈중 hydroxyproline치를 측정하기 위해 검체를 채취하여 측정하였다.

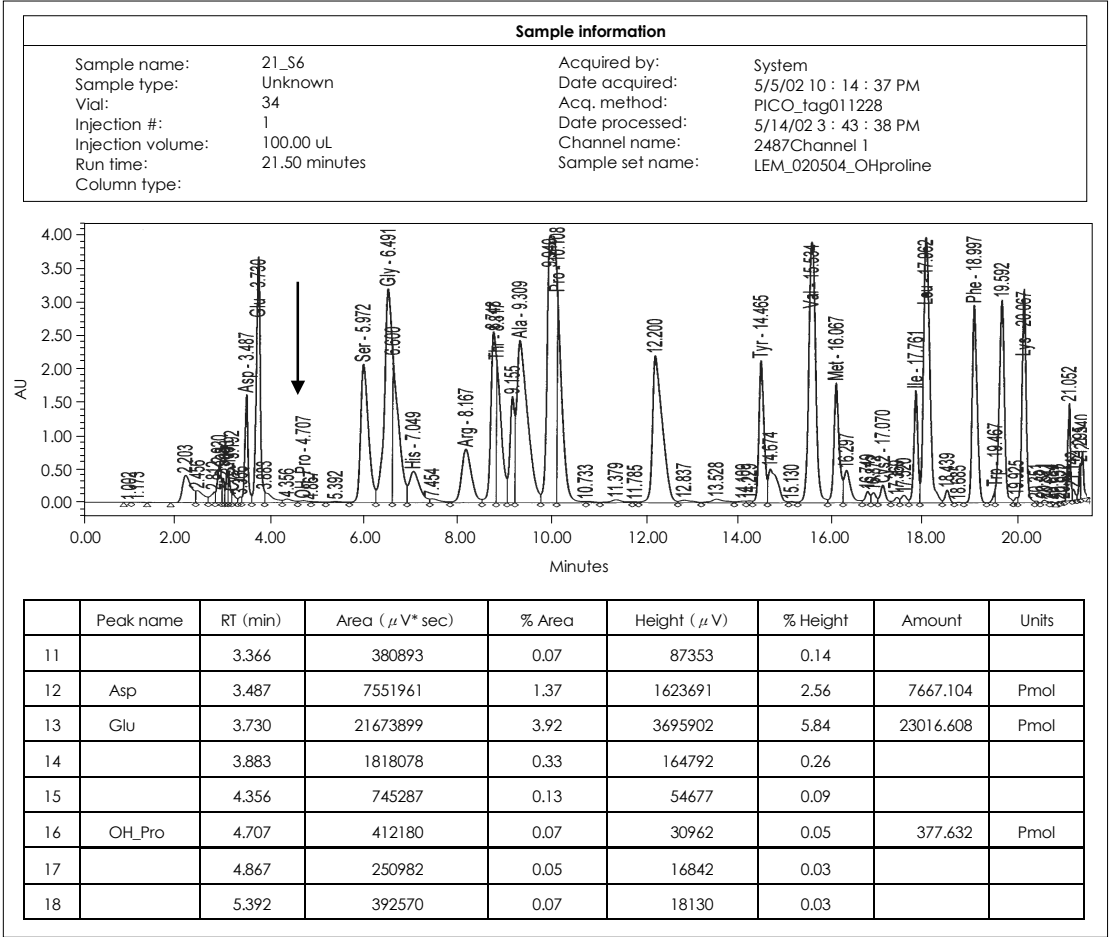


Fig. 1. Example of amino acid analysis by Waters HPLC (high performance liquid chromatography) system. The amino acids and hydroxyproline (arrow and dash line) levels were shown in the panel. OH_Pro : hydroxyproline.

좌심실 지표 측정

모든 환자는 내원 시 Hewlett-Packard사의 SONOS 1500 심초음파기를 사용하여 심초음파도 검사를 하였다. 급성 심근경색 환자에서는 내원 1주 이내와 경색 후 평균 3.2 ± 2.8 개월째 추적 심초음파를 시행하였다. 좌심실 용적과 구혈률의 측정은 2.5 MHz 탐촉자를 심첨부에 위치한 후, 심첨 2방 및 4방 단면도 정지 화면에서 심초음파기에 내장된 프로그램을 이용하여 Disc 방법(modified Simpson's method)으로 좌심실 이완기말 용적(EDV ; end-diastolic volume)과 수축기말 용적(ESV ; end-systolic volume)을 구한 후 각각의 수치를 체표면적으로 나누어서 좌심실 이완기말 용적지수(EDVI ; end-diastolic volume index)와 수축기말 용적지수(ESVI ; end-systolic volume index)를 계산하였다. 또한 EDV와 ESV로부터 구혈률(EF ; ejection fraction)을 계산하였다.

모든 환자에서 평균 3.2 ± 2.8 개월 후에 추적 검사를 시행하여 내원 당시의 심초음파 소견과 추적시의 심초음파 소견을 비교하여 평가하였다.

관동맥 조영술 및 관동맥 성형술 및 재관류 정도의 평가

대상 환자 모든 예에서 요골동맥 혹은 대퇴동맥을 이용하여 관동맥 조영술 및 관동맥 성형술을 시행하였다.

급성 심근경색증 환자에서 관동맥 중재시술 후 심근의 재관류를 평가는 기존의 Thrombolysis In Myocardial Infarction flow(TIMI flow)를 이용하여 측정하였고,¹³⁾ TIMI 0-1인 환자군을 Group I으로, TIMI II-III인 환자 군을 Group 2로 나누었다.

통계 분석

모든 통계 값은 평균±표준편차로 표시하였다. 각 군당 혈중 CRP, CK-MB, fibrinogen 및 hydroxyproline 값을 ANOVA test를 이용하여 비교하였다. 심근경색 환자군에서 혈중 hydroxyproline과 좌심실 구혈률, 국소 벽 운동 지수, CRP, Fibrinogen 등과의 관계는 선형 회귀분석을 이용하여 관계를 분석 하였다. 두 환자 군의 연속 변수는 Student's t-test를, 비연속 변수는 chi-square test를 하였다. 환자 군에서 시간 경과에 따른 측정치 변화의 검증에 paired t-test를 하였다. 모든 통계 처리에 window용 SPSS 10.0을 이용하였다. p 값이 0.05 이하인 경우에 통계학적인 유의성을 인정하였다.

결 과

환자의 임상적 특성

환자의 평균 나이는 대조군 63.2 ± 7.4 세, 안정형 협심증 환자군 58.3 ± 7.9 세, 불안정형 협심증 환자군 55.4 ± 8.6 세 였으며, 급성 심근경색증 환자 군은 59.8 ± 9.8 세 였다. 대상 환자의 성별 분포는 남자인 경우 대조군 6예(50.0%), 안정형 협심증 환자군 9예(60.0%), 불안정형 협심증 환자군 8예(53.3%), 급성 심근경색증 환자군 71예(58.2%)였다. 내원 환자의 관상동맥 위험 인자 분포는 환자 군 사이에 유의한 차이가 없었다(Table 1).

관상동맥 조영술을 시행한 안정형 협심증 환자군 15예 중 50% 이상의 관상동맥 협착이 관찰된 환자는 9예(60.0%), 다혈관 병변 환자는 4예(26.7%)였고 PCI를 시행한 환자는 5예(33.3%)였다. 불안정 협심증 환자 중 50% 이상의 관상동맥 협착이 관찰된 환자는 11

Table 1. Clinical characteristics

	Control (n=12)	SA (n=15)	UA (n=15)	AMI (n=122)
Age (yrs.)	63.2 ± 7.4	58.3 ± 7.9	55.4 ± 8.6	59.8 ± 9.8
Sex (male)	6 (50.0)	9 (60.0)	8 (53.3)	75 (61.5)
DM	0	4 (26.7)	5 (33.3)	25 (20.5)
HTN	0	8 (53.3)	7 (46.6)	55 (45.1)
Hypercholesterolemia	2 (16.7)	6 (40.0)	7 (46.6)	53 (43.4)
Smoking	4 (33.3)	7 (46.6)	8 (53.3)	58 (47.5)
Significant CAD	0	9 (60.0)	12 (80.0)	103 (84.4)
PCI	0	5 (33.3)	10 (66.7)	89 (72.9)

CAD: coronary artery disease (>50% diameter stenosis), PCI: percutaneous coronary intervention, SA: stable angina, UA: unstable angina, AMI: acute myocardial infarction, DM: diabetes mellitus, HTN: hypertension

예(73.3%)였고, 좌주간지 병변을 포함한 다혈관 병변 환자는 6예(40.0%)였으며 PCI를 시행한 환자는 9예(60.0%)였다. 급성 심근경색증 환자군에서 122예 중 50% 이상의 관상동맥 협착이 관찰된 환자는 99예(81.2%)였고, 좌주간지 병변을 포함한 다혈관 병변 환자는 49예(40.2%)였으며 PCI를 시행한 환자는 87예(71.3%)였다.

각 환자 군에서의 생화학적 지표

각 환자 군에서의 혈중 CRP치는 정상 대조군 0.29 ± 0.31 mg/dL, 안정형 협심증 0.36 ± 0.53 mg/dL, 불안전 협심증 0.98 ± 1.59 mg/dL, 급성 심근경색증 3.53 ± 2.68 mg/dL로 급성 심근경색증 환자 군에서 다른 환자보다 유의하게 증가된 소견을 나타내었다($p=0.005$). 또한 불안정 협심증 환자 군에서 대조 군과 안정형 협심증 환자 군에 비해 유의하게 증가 되었다($p=0.045$). 혈중 fibrinogen치는 대조군 292 ± 32 mg/dL, 안정형 협심증 294 ± 51 mg/dL, 불안전 협심증 269 ± 30 mg/dL, 급성 심근경색증 276 ± 70 mg/dL로 유의한 차이

가 없었다($p=0.269$). 또한 Troponin I치는 심근경색증에서 가장 높았고($p=0.001$), 불안정형 협심증에서도 안정형 협심증과 대조 군보다 증가된 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이는 보이지 않았다($p=0.054$) (Table 2).

질환 별 혈중 Hydroxyproline치

각 환자 군에서의 혈중 hydroxyproline치는 대조군 2.35 ± 0.92 μ g/L, 안정형 협심증 2.22 ± 1.29 μ g/L, 불안정형 협심증 2.92 ± 1.21 μ g/L, 급성 심근경색증 6.49 ± 3.77 μ g/L로 불안정형 협심증 환자군($p=0.042$)과 급성 심근경색증 환자 군($p=0.002$)에서 대조 군과 안정형 협심증 환자보다 유의하게 증가된 소견을 나타내었다. 또한 불안정형 협심증보다 심근경색증 환자에서 유의하게 증가된 소견을 보였다($p=0.014$) (Table 2). 또한 환자의 hydroxyproline치와 CRP, fibrinogen와 Troponin I치와 연관성은 통계적으로 유의한 관계가 없었다(Fig. 2).

Table 2. Serum concentrations of the variable markers in ischemic heart disease

	Control (n=12)	SA (n=15)	UA (n=15)	AMI (n=122)
CRP (mg/dL)	0.29 ± 0.31	0.36 ± 0.53	0.98 ± 1.59	$3.53 \pm 2.68^*$
Fibrinogen (mg/dL)	292 ± 32	294 ± 51	269 ± 30	$276 \pm 70^*$
Troponin I (ng/mL)	0.03 ± 0.18	0.02 ± 0.29	0.15 ± 0.81	$9.49 \pm 4.77^*$
Hydroxyproline (μ g/L)	2.35 ± 0.92	2.12 ± 1.29	2.92 ± 1.11	$4.49 \pm 3.77^*$

*: $p < 0.05$ significant differences among the patients groups. SA: stable angina, UA: unstable angina, AMI: acute myocardial infarction, CRP: c-reactive protein

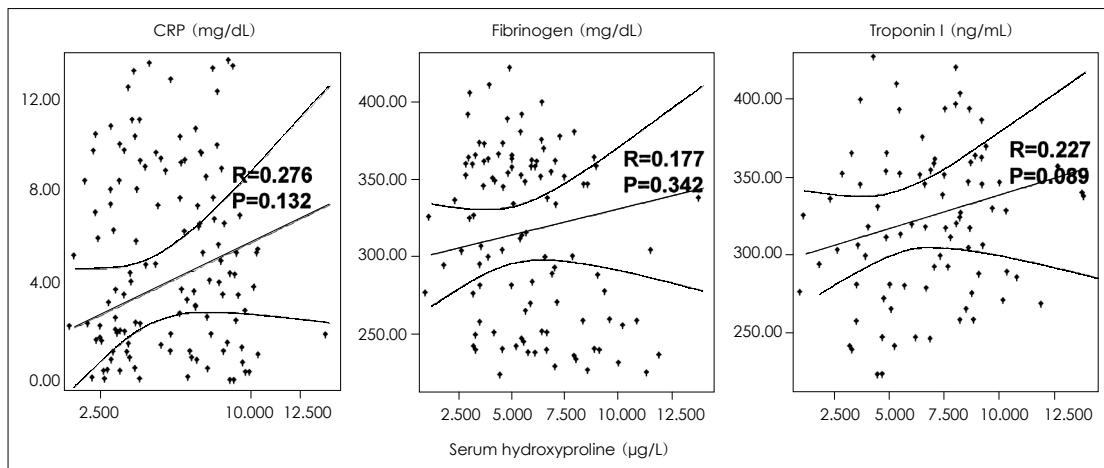


Fig. 2. The relationships between the hydroxyproline and CRP (c-reactive protein), fibrinogen or troponin I in patients with acute coronary syndromes. There were no significant relationships between the hydroxyproline and other serum markers.

급성 심근경색증 환자에서 Hydroxyproline 수치 변화

대상 환자는 경색 발생 평균 1.8 ± 2.9 일 후에 관동맥 조영술 및 관동맥 성형술을 시행 받았으며 이들 환자 중 일차적 관동맥 중재술을 시행 받은 환자는 74명, 급성 심근경색의 재관류를 위해 응급실에서 혈전 용해제를 투여 받았던 28예 중 14예에서 구체적인 관동맥 중재술 시행하였고 34예는 대동맥 중재술을 시행하였다.

대상 환자는 관동맥 스텐트 삽입술 후 TIMI 선행 혈류 정도에 따라 I군(TIMI grade 0-I) 19 예(15.6%), II군(TIMI grade II-III)은 103예(84.4%)였다. 두 군 간의 나이, 성별 분포에는 유의한 차이가 없었다. 관상동맥 질환의 위험 인자인 흡연, 고혈압, 당뇨병 및 고지혈증 등은 두 군간에 유의한 차이가 없었다. 두 군간의 Killips 분류상 유의한 차이는 없었고 경색 관련 혈관의 분포도 두 군간의 유의한 차이는 없었다. 또한 일차적 관동맥 중재술을 시행 받은 환자 군은 I군에서 61.8%, II군에서는 70.7%로 유의한 차이가 없었다(Table 3).

Table 3. Clinical characteristics in acute myocardial infarction

	Group I (n=19)	Group II (n=103)	p
Age (years)	57±9	60±12	0.742
Male sex (%)	13 (68.4)	66.8	0.564
Risk factor (%)			
Hypertension	8 (42.1)	38.7	0.729
DM	6 (31.6)	22.3	0.104
Smoking	9 (47.3)	51.0	0.297
Killips class (%)			
I	53.6	56.6	0.886
II	24.1	24.3	0.883
III	17.2	12.2	0.436
IV	5.1	7.0	0.763
Anterior wall MI (%)	44.9	57.8	0.102
Infarct related artery (%)			
LAD	47.0	57.3	0.312
LCX	14.0	10.6	0.537
RCA	38.0	26.2	0.283
Left main	1.0	5.9	0.653
Primary PCI (%)*	61.8	70.7	0.354

DM: diabetes mellitus, MI: myocardial infarction, LAD: left anterior descending artery, LCX: left circumflex artery, RCA: right coronary artery, PCI: percutaneous coronary intervention

모든 환자는 급성 심근경색으로 내원 하여 3.3 ± 4.2 일에 심초음파도 검사를 시행하였고 평균 3.2 ± 2.8 개월 후에 추적 검사를 반복하여 실행 하였다. 두 군 간의 내원 시 좌심실 확장기말 용적 지수(I군 59 ± 8 mL/m², II군 54 ± 13 mL/m² : p=0.362), 좌심실 수축기말 용적 지수(I군 34 ± 9 mL/m², II군 29 ± 14 mL/m² : p=

Table 4. Echocardiographic parameter and serum hydroxyproline level

	Group I (n=19)	Group II (n=103)	p
LV remodeling index (acute)			
LVEDVI (mL/m ²)	59±8	54±13	0.362
LVESVI (mL/m ²)	34±9	29±14	0.342
LVEF (%)	44±6	48±9	0.398
LV remodeling index (chronic)			
LVEDVI (mL/m ²)	64±7	50±11	0.021
LVESVI (mL/m ²)	37±16	24±12	0.029
LVEF (%)	41±6	51±9	0.047
Change			
ΔLVEDVI (mL/m ²)	6±4	-7±6	0.003
ΔLVESVI (mL/m ²)	6±3	-8±4	0.002
ΔLVEF (%)	-4±4	-4±4	0.005
Hydroxyproline level			
0 day	4.61±1.07	5.23±3.03	0.062
2 week	7.63±1.23	5.26±2.75	0.032
1 month	4.92±2.69	5.08±2.69	0.101
3 month	4.12±2.69	3.73±2.69	0.122

LVEDVI: left ventricular end-diastolic volume index, LVESVI: left ventricular end-systolic volume index, LVEF: left ventricular ejection fraction, Change: Chronic index-acute index, LV: left ventricular

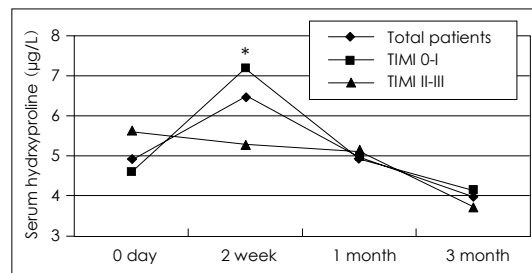


Fig. 3. The serial changes of hydroxyproline level in post-infarction periods. There was no significant difference in hydroxyproline between the reperfusion group and non-reperfusion group on admission (p>0.05). However, there was significant elevation of hydroxyproline 2 weeks after acute myocardial infarction in the patients with reperfusion group (4.36 ± 1.46 , 7.63 ± 2.69 μg/L, p<0.05). After 2 weeks, there was no significant difference in serum hydroxyproline. *: p<0.05, TIMI 0-I vs. II-III. TIMI: thrombolysis in myocardial infarction flow.

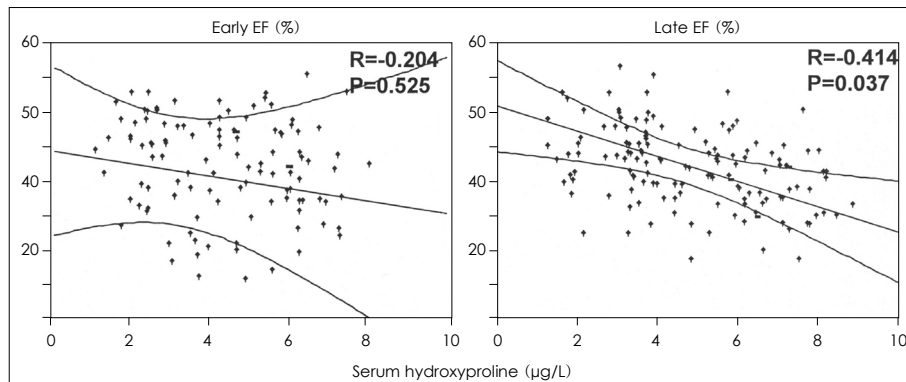


Fig. 4. The relationships between the hydroxyproline and ejection fractions. There was significant relationship between late ejection fraction and hydroxyproline ($r=-0.414$, $p=0.037$) but there was no significant relationship between early ejection fraction and hydroxyproline ($p=0.525$). EF: ejection fraction.

0.342), 및 좌심실 구혈률(I군 $44 \pm 6\%$, II군 $48 \pm 9\%$: $p=0.398$)에는 유의한 차이가 없었다. 추적 심초음파도 상 좌심실 확장기말 용적 지수, 좌심실 수축기말 용적 지수 및 좌심실 구혈률에 유의한 차이를 보였다($p<0.05$) (Table 4). 추적 관찰 기간 동안에 체표 면적당 좌심실 확장기말용적 변화량은 I군에서 $6 \pm 4 \text{ mL/m}^2$ 증가한 반면 II군에서는 $7 \pm 2 \text{ mL/m}^2$ 감소하였고($p=0.003$), 체표면적당 좌심실수축기말 용적 변화량은 I군에서 $6 \pm 3 \text{ mL/m}^2$ 감소한 반면 II군에서는 $8 \pm 4 \text{ mL/m}^2$ 감소하였으며($p=0.002$), 좌심실 구혈률 변화는 I군에서 $4 \pm 4\%$ 감소한 반면 II군에서는 $4 \pm 4\%$ 증가하였다($p=0.005$) (Table 4).

급성 심근경색 환자에서 혈중 hydroxyproline치는 내원 당시 두 군간에 유의한 차이가 없었고 초기 2주째 시행한 혈중 hydroxyproline치는 I군($7.63 \pm 1.23 \text{ µg/L}$)에 비해 II군($5.26 \pm 2.75 \text{ µg/L}$)에서 유의하게 작았다($p=0.032$) (Fig. 3). 또한 평균 1개월 및 약 3개월 후의 혈중 hydroxyproline치는 내원 당시 두 군간에 유의한 차이가 없었다(Table 4). 2주째 측정된 혈중 hydroxyproline치와 좌심실 재형성 인자와의 회귀 선형 분석 결과 만성기 좌심실 구혈률과 유의한 상관관계($r=-0.414$, $p=0.037$)가 있었으나(Fig. 4) 급성기 좌심실 구혈률($p=0.525$) (Fig. 4), 좌심실 이완기 용적 지수 변화($p=0.081$), 좌심실 수축기 용적지수의 변화($p=0.13$), 좌심실 구출율의 변화($p=0.081$)와는 유의한 연관성이 없었으며 그 외의 시기에 측정된 혈중 hydroxyproline 치와 다른 요소와의 관계는 유의한 연관성은 관찰되지 않았다.

고 찰

급성 관동맥 증후군의 가장 중요한 병태생리학적 기전인 죽상 경화반의 파열은 침투된 대식 세포 및 혈관 평활근 세포에서 proteinase 특히 matrix metalloproteinase(이하 MMP) 등을 분비하여 죽상 경화반의 세포 외 결체조직의 국소 파괴를 일으키고 이로 인해 죽상 경화반의 파열을 가져오는 것으로 알려지고 있다.⁴⁻⁶ 죽상 경화증뿐 아니라 다른 염증반응에서 collagen 형성 및 세포 외 결체조직의 분해는 만성 염증 혹은 회복 단계를 결정하는 중요한 요소이며 급성 심근경색 회복 후 좌심실의 재형성과정에서 세포외 결체조직의 변화는 좌심실의 형태와 기능유지에 중요한 역할을 한다. 이중 collagenase인 MMP와 억제제인 tissue inhibitors of metalloproteinases(이하 TIMP)의 변화는 급성 심근경색증 이후에 좌심실의 재형성과 유의한 관계가 있다고 보고 하였다.⁸⁻¹⁰

Shah 등³⁾은 국소 죽상 경화반의 파열이 조직내 대식 세포가 증가와 연관이 있으며 대식 세포의 침투로 인한 MMP 양이 증가하고 이에 따라 fibrous cap에서 분비되는 hydroxyproline의 양이 증가된다는 것을 보고 하였다. 이는 임상 상황에서 불안정한 국소 죽상 경화반의 파열은 Shah의 예에서와 같이 혈중내로 MMP, TIMP의 혈중 수치의 증가와 같이 혈중 hydroxyproline의 수치가 초기에 증가 될 가능성이 있다고 하겠다.³⁾ 이와 같은 가능성은 본 연구에서 대조 군과 안정형 협심증 환자에서보다 불안정형 협심증 및 급성 심근경색증의 급성 관동맥 증후군 환자에서 혈중 hydroxyproline

치가 유의하게 증가 됨을 관찰하였다. 이는 TIMP, MMP 증가에 따른 2차적 부산물로 추정 될 수 있으나 본 연구에서는 TIMP, MMP의 수치를 동시에 측정하지 않아 이의 연관성 및 증가의 기전에 대한 연구가 누락되어 있고 이의 증가가 focal fibrous cap에서 분비 되었다는 증거가 부족한 연구 제한 점이 있다.

저자 등은 급성 심근경색 환자에서 좌심실 재형성에 예측인자로서 hydroxyproline과의 관계를 평가 하였다. 급성 심근경색 후 초기에 좌심실 기능부전의 정도를 예측하는 것은 향후의 치료방법의 선택에 있어 중요하다.¹⁴⁻¹⁷⁾ 심근경색 후 발생하는 좌심실의 확장은 급성 심근경색 후 수시간에서 수주 혹은 그 이상의 시간에 환자의 상태에 따라 다양하게 발생하며 그 원인으로서 좌심실의 수축기 기능 및 확장기 기능의 저하, 경색심근의 확장(expansion) 등에 기인하는 용적 과부하(volume overload)에 의하며 동물 실험에서도 동일하게 관찰된 바 있다.¹⁸⁻²²⁾ 이러한 좌심실의 재구도는 경색 후 저하된 좌심실의 기능을 보상하는 작용이 있으나 장기적으로는 오히려 좌심실 기능의 저하를 초래하며 환자의 예후에도 악영향을 미친다.¹⁹⁾²⁰⁾ Mukherjee 등¹⁴⁾은 돼지 심근경색 모델에서 MMP 억제제의 효과를 검증하여 실제 심근경색 후 5일 내에는 조직 내 MMP의 농도 및 좌심실 용적 변화가 없었으나 MMP 억제제의 치료 효과는 급성 심근 초기 2주 후 혹은 만성기 8주에서 모두 나타났다고 보고 하였다. 특히 초기에는 MMP-2의 혈중 농도가 대조 군에서 높게 유지 되었고 8주 후에 좌심실 심근의 조직 내 MMP농도 및 endogenous tissue inhibitor of MMP도 증가 됨을 알 수 있었다. 하지만 혈중 MMP농도는 초기 1~2주 내에 가장 크게 증가하며 또한 membrane type MMP 수치는 초기에 증가하다가 8주 후 만성 기에는 감소 하는 것으로 관찰되었다. 이는 본 연구에서 혈중 hydroxyproline을 각각의 시기 별로 입원 시, 2주, 1개월, 3개월 후에 분석을 하여 hydroxyproline의 수치가 심근경색 2주 후에 최대 상승하여 그 후에는 더 증가 하지 않아 동물 모델 및 MMP 등의 proteolytic enzyme의 활성화와 비슷한 시기에 되어 실제 이를 어느 정도 반영하였으리라 추측 된다.²¹⁻²³⁾ 하지만 본 연구가 위에서 언급한 데로 다양한 단백 효소를 측정하지 않아 상호 연관성에는 제한 점이 있다.

본 연구에서 측정한 hydroxyproline치는 만성 심부전 환자나 골질환 환자에서 정상 환자에 비해 수배 정

도 혈중 수치가 증가 되어있다고 보고 되었고 진단적 방법으로 24시간 소변 채취를 이용하거나 일부 혈중 내에서 측정하여 진단에 이용하기도 한다.²⁴⁾²⁵⁾ 본 연구에서는 collagen의 주요한 구성 성분인 hydroxyproline을 Fluorescence Analysis System(Amino Acid Analyzer)을 이용한 HPLC 방법(Pico-tag system)으로 소량의 혈중 내에서 미량단백질 동정과 유리 아미노산 분석을 하여 hydroxyproline의 혈중 농도를 측정하였다. 이는 단백질의 동정 법 중에서 아미노산 조성 분석을 통해 미지의 단백질에 대한 신뢰할 수 있는 동정 결과를 제시해 주고 30종 이상 존재하는 유리 아미노산의 분리는 실험적으로 유용한 기술로 입증 되어 있다.¹¹⁾¹²⁾ 이러한 방법으로 측정된 hydroxyproline치는 진단적 검사상 신뢰할만한 것으로 생각 되나 이는 실험실 적인 방법으로 이를 진단적 kit나 일반적으로 적용할 수 있는 진단법으로 이용할 수 있는 진단 장비의 개발도 고려 해 볼 수 있을 것이라 생각된다. 하지만, 단백질의 대사 산물을 측정함에 있어 검체 측정의 진단적 유용성을 고려하면 혈중에 지속적으로 분비되는 특성 때문에 실제 한번의 채취로 혈중에서 얻는 값 보다 24시간 소변에서 얻는 값이 더 유용할 것으로 생각되며 실제 진단적 효율성 및 유용성에 있어 방법적인 모색이 필요할 것으로 생각 된다.²⁴⁾²⁵⁾

결론적으로 본 연구를 통하여 다양한 환자 군에서 임상 양태에 따른 혈중 hydroxyproline치를 관찰하여 혈중 급성 관동맥 증후군에서 hydroxyproline치의 증가를 확인하였고 급성 심근경색 환자에서 좌심실 재형성 초기에 변화를 반영하는 것으로 생각된다.

본 연구의 제한점

첫째로, 본 연구에서 혈중 hydroxyproline치를 측정하였는데 이는 실제 혈중 수치의 정상 기준치 등이 없고 분비의 대부분은 피부 및 진피 등에서 분비되어 피부 질환이나 골 질환을 동반하는 환자에서 증가 되어 있을 수 있어 본 연구의 대상 질환 환자에서 대상 환자의 성별이나 나이 등을 고려 하지 않았고 혈중 수치가 상승되었을 수 있는 질환을 완전히 배제하지 못해 분석에 영향을 미쳤을 가능성이 있다. 둘째로, 병태생리학적인 특성상 hydroxyproline치가 증가되는지는 MMP나 TIMP 등의 상승 시기를 고려하면 연관성이 있을 수 있으나 이는 추정에 근거한 것이라 수치증가와의 직접적

인 연관이 없어 본연구가 hydroxyproline 수치가 증가에 따른 이론적인 접근이 부족하다고 생각된다.

요 약

배경 및 목적:

국소 죽상 경화반의 파괴 및 급성 심근경색 시 좌심실 재형성 과정 시 혈중 hydroxyproline치의 증가로 반영될 수 있을 것으로 추측된다. 이에 본 연구는 급성 관동맥 증후군에서 혈중 hydroxyproline치의 관동맥 질환에 따른 진단적 유용성을 평가하고 급성 심근경색 환자에서 좌심실 재형성 시 좌심실 변화 양상에 따른 혈중 hydroxyproline치의 변화를 알아 보고자 하였다.

방 법:

연구 대상은 정상 대조군(n=12), 안정형 협심증 환자(n=15), 불안전형 협심증(n=15), 급성 심근경색(n=122)으로 나누었다. 모든 환자에서 CK-MB, CRP, fibrinogen, troponin-I, myoglobin을 측정하였고 급성 심근경색증인 경우 내원 시, 14일, 28일, 90일에 채취하였다. 검체 시료의 hydroxyproline 치는 amino acid analysis system(HPLC : Pico-Tag system)을 이용하여 측정하였다. 또한 내원 당시의 심초음파 소견과 추적시의 심초음파 소견을 비교하여 평가하였다. 급성 심근경색증의 환자에서 Thrombolysis In Myocardial Infarction flow(TIMI flow)를 측정하였고, TIMI 0-1인 환자군을 I군으로, TIMI II-III인 환자 군을 II군으로 나누었다.

결 과:

각 환자 군에서의 혈중 hydroxyproline치는 대조군 2.35 ± 0.92 , 안정형 협심증 2.22 ± 1.29 , 불안전형 협심증 2.92 ± 1.21 , 급성 심근경색증 $6.49 \pm 3.77 \mu\text{g/L}$ 로 불안정형 협심증 환자 군과 급성 심근경색증 환자 군에서 유의하게 증가된 소견을 나타내었다($p < 0.05$). 급성 심근경색 환자에서 혈중 hydroxyproline치는 내원 당시 두 군간에 유의한 차이가 없었고 초기 7일 이내에 시행한 혈중 hydroxyproline치는 I군(7.63 ± 1.23)에 비해 II군($5.26 \pm 2.75 \mu\text{g/L}$)에서 유의하게 작았다($p = 0.032$). 측정된 2주째 혈중 hydroxyproline치와 좌심실 재형성 인자와의 회귀 선형 분석 결과 만성기 좌심실 구혈률과 유의한 상관 관계($r = -0.414$, $p = 0.037$)가 있었으나 그 외의 시기에 측정된 혈중 hydroxypro-

line 치와 다른 요소와의 관계는 유의한 연관성은 관찰되지 않았다($p > 0.05$).

결 론:

결론적으로 본 연구를 통하여 다양한 환자 군에서 임상 양태에 따른 혈중 hydroxyproline치를 관찰하여 급성 관동맥 증후군에서 혈중 hydroxyproline치의 증가를 확인하였고 급성 심근경색 환자에서 좌심실 재형성 초기에 변화를 반영하는 것으로 생각된다.

중심 단어 : 심근경색 ; 콜라겐 ; 하이드록시프로린.

본 연구는 2000년 연세대학교 원주의과대학 교수 연구비 보조로 진행되었고, 혈중 hydroxyproline치의 분석은 한국 기초과학지원연구원(생명과학 연구부 프로테옴 분석팀)에서 분석하였음.

REFERENCES

- 1) Libby P. *Molecular bases of acute coronary syndromes. Circulation* 1995;91:2844-50.
- 2) Hirohata S, Kusachi S, Murakami M, Murakami T, Sano I, Watanabe T, Komatsubara I, Kondo J, Tsuji T. *Time dependent alterations of serum matrix metalloproteinase-1 and metalloproteinase-1 tissue inhibitor after successful reperfusion of acute myocardial infarction. Heart* 1997;78:278-84.
- 3) Shah PK, Falk E, Badimon JJ, Fernandez-Ortiz A, Mailhac A, Villareal-Levy G, Fallon JT, Regnstrom J, Fuster V. *Human monocyte-derived macrophages induce collagen breakdown in fibrous caps of atherosclerotic plaques: potential role of matrix-degrading metalloproteinases and implications for plaque rupture. Circulation* 1995;92:1565-9.
- 4) Falk E, Shah PK, Fuster V. *Coronary plaque disruption. Circulation* 1995;92:657-71.
- 5) Manten A, de Winter RJ, Minnema MC, ten Cate H, Lijmer JG, Adams R, Peters RJ, van Deventer SJ. *Procoagulant and proinflammatory activity in acute coronary syndromes. Cardiovasc Res* 1998;40:389-95.
- 6) Liuzzo G, Buffon A, Biasucci LM, Gallimore JR, Caligiuri G, Vitelli A, Altamura S, Ciliberto G, Rebuzzi AG, Crea F, Pepys MB, Maseri A. *Enhanced inflammatory response to coronary angioplasty in patients with severe unstable angina. Circulation* 1998;98:2370-6.
- 7) Caligiuri G, Liuzzo G, Biasucci LM, Maseri A. *Immune system activation follows inflammation in unstable angina: pathogenetic implications. J Am Coll Cardiol* 1998;32:1295-304.
- 8) Nishiyama K, Ogawa H, Yasue H, Soejima H, Misumi K, Takazoe K, Yoshimura M, Kugiyama K, Tsuji I, Kumeda K. *Simultaneous elevation of the levels of circulating monocyte chemoattractant protein-1 and tissue factor in acute coronary syndromes. Jpn Circ J* 1998;62:710-2.
- 9) Yazdani S, Simon AD, Vidhun R, Gulotta C, Schwartz A, Rabbani LE. *Inflammatory profile in unstable angina versus stable angina in patients undergoing percutaneous interventions. Am Heart J* 1998;136:357-61.
- 10) Crea F, Biasucci LM, Buffon A, Liuzzo G, Monaco C, Caligiuri G, Kol A, Sperti G, Cianflone D, Maseri A. *Role of in-*

- flammation in the pathogenesis of unstable coronary artery disease. Am J Cardiol 1997;80:10E-16E.*
- 11) Tarr GE. *Methods of protein microcharacterization. Clifton: Humana Press: 1986. p.155-94.*
 - 12) Liu TY, Chang YH. *Hydrolysis of proteins with p-toluene-sulfonic acid: determination of tryptophan. J Biol Chem 1971; 246:2842-8.*
 - 13) van't Hof AW, Liem A, Suryapranata H, Hoorntje JC, de Boer MJ, Zijlstra F. *Angiographic assessment of myocardial reperfusion in patients treated with primary angioplasty for acute myocardial infarction: myocardial blush grade. Circulation 1998;97:2302-6.*
 - 14) Mukherjee R, Brinsa TA, Dowdy KB, Scott AA, Baskin JM, Deschamps AM, Lowry AS, Escobar GP, Lucas DG, Yarbrough WM, Zile MR, Spinale FG. *Myocardial infarct expansion and matrix metalloproteinase inhibition. Circulation 2003;107:618-25.*
 - 15) Pfeffer MA, Braunwald E. *Ventricular remodeling after myocardial infarction: experimental observations and clinical implications. Circulation 1990;81:1161-72.*
 - 16) Chareonthaitawee P, Christian TF, Hirose K, Gibbons RJ, Rumberger JA. *Relation of initial infarct size to extent of left ventricular remodeling in the year after acute myocardial infarction. J Am Coll Cardiol 1995;25:567-73.*
 - 17) St John Sutton M, Pfeffer MA, Moye L, Plappert T, Rouleau JL, Lamas G, Rouleau J, Parker JO, Arnold MO, Sussex B, Braunwald E. *Cardiovascular death and left ventricular remodeling two years after myocardial infarction: baseline predictors and impact of long-term use of captopril. Circulation 1997;96:3294-9.*
 - 18) Jugdutt BI, Michorowski BL. *Role of infarct expansion in rupture of the ventricular septum after acute myocardial infarction: a two-dimensional echocardiographic study. Clin Cardiol 1987;10: 641-52.*
 - 19) Sutton MG, Sharpe N. *Left ventricular remodeling after myocardial infarction. Circulation 2000;101:2981-8.*
 - 20) Jugdutt BI. *Effect of captopril and enalapril on left ventricular geometry, function and collagen during healing after anterior and inferior myocardial infarction in a dog model. J Am Coll Cardiol 1995;25:1718-25.*
 - 21) Rohde LE, Ducharme A, Arroyo LH, Aikawa M, Sukhova GH, Lopez-Anaya A, McClure KF, Mitchell PG, Libby P, Lee RT. *Matrix metalloproteinase inhibition attenuates early left ventricular enlargement after experimental myocardial infarction in mice. Circulation 1999;99:3063-70.*
 - 22) Etoh T, Joffe C, Deschamps AM, Davis J, Dowdy K, Hendrick J, Baicu S, Mukherjee R, Manhaini M, Spinale FG. *Myocardial and interstitial matrix metalloproteinase activity after acute myocardial infarction in pigs. Am J Physiol 2001; 281:H987-94.*
 - 23) Ducharme A, Frantz S, Aikawa M, Rabkin E, Lindsey M, Rohde LE, Schoen FJ, Kelly RA, Werb Z, Libby P, Lee RT. *Targeted deletion of matrix metalloproteinase-9 attenuates left ventricular enlargement and collagen accumulation after experimental myocardial infarction. J Clin Invest 2000;106: 55-62.*
 - 24) Inoue H, Iguch H, Kouno A, Tsuruta Y. *Fluorometric determination of N-terminal prolyl dipeptides, proline and hydroxyproline in human serum by pre-column high-performance liquid chromatography using 4- (5,6-dimethoxy-2-phthalimidylyl)-2-methoxyphenylsulfonyl chloride. J Chromatogr B Biomed Sci Appl 2001;757:369-73.*
 - 25) Kaufmann J, Mueller A, Voigt A, Carl HD, Gursche A, Zacher J, Stein G, Hein G. *Hydroxypyridinium collagen crosslinks in serum, urine, synovial fluid and synovial tissue in patients with rheumatoid arthritis compared with osteoarthritis. Rheumatology 2003;42:314-20.*