

# 프로테옴 분석을 이용한 급성 관동맥 증후군 환자의 혈청 연구

순천향대학교 의과대학 내과학교실

방덕원 · 현민수 · 김성구 · 권영주

## Proteomic Analysis of the Serum in Patients with Acute Coronary Syndrome

Duk-Won Bang, MD, Min-Soo Hyun, MD, Sung-Koo Kim, MD and Young-Joo Kwon, MD

Department of Internal Medicine, College of Medicine, Soonchunhyang University, Seoul, Korea

### ABSTRACT

**Background and Objectives :** Proteomics is a new technology that allows the detection and identification of several proteins at a given time in a sample. There are currently few reports concerned with the proteomic study of serum from patients during acute coronary syndrome. We performed proteomics to analyze the modifications in the serum protein map of patients with acute coronary syndrome (ACS). **Subjects and Methods :** We investigated the serum from 12 patients who suffered with acute myocardial infarction (AMI), 12 patients with unstable angina (UA) and 13 age- and sex-matched patients as the control group. Two-dimensional electrophoresis, Coumassie staining and image analysis were performed. Mass spectrometry was performed to identify the selected spots. **Results :** For the two-dimensional electrophoresis with using a pH range of 3 to 10, two different areas within the serum protein map were observed, and this showed differences between the groups. In area 1, three fibrinogen gamma chain isoforms were identified. All of them were increased in the serum from the AMI and UA patients when compared with the control group. In area 2, four fibrinogen beta chain isoforms were identified. Three isoforms of them were increased in the serum from the AMI and UA patients. **Conclusion :** Three fibrinogen gamma chain isoforms were identified and they were increased in the serum from ACS patients. Four fibrinogen beta chain isoforms were identified and three isoforms of them were increased in the serum from ACS patients. (*Korean Circulation J* 2007;37:271-276)

**KEY WORDS :** Myocardial infarction ; Unstable angina ; Proteomics ; Fibrinogen.

## 서 론

급성 관동맥 증후군의 발생에는 염증 반응, 혈소판 활성화, 심근괴사, 혈액 응고 및 경화반 파열 등이 관련된다. 이러한 일련의 병태생리적 현상의 원인 또는 결과로서 혈액 내의 여러 단백질 구성의 변화를 초래한다.<sup>1)2)</sup>

최근 proteomics라는 기술이 소개되면서 조직, 세포 및

혈장을 포함한 체액 등에서 표현되는 단백질 지도를 얻을 수 있게 되었다.<sup>3)</sup> 하나의 단백질을 protein이라 하고 그 개체가 지니고 있는 단백질 전체를 proteome(단백질체)라 하며 이들 단백질 전체를 연구하는 것이 proteomics이며 large-scale의 단백질 발현 양상을 분석하는 것이다. 단백질 수준에서 그 전체적인 발현패턴을 분석함으로써 특정 유전자의 기능 및 종합적 관점에서의 유전자들 사이의 관계를 분석할 수 있다. Proteomics는 2D 전기영동기술, 이미지 분석과 질량 분석기를 통해 이루어지며<sup>4)</sup> 암과 다른 결체조직 질환 등을 연구하는데 많이 이용되고 있고,<sup>5)6)</sup> 국내에서도 많은 연구가 이루어지고 있다.<sup>7)8)</sup> 그러나 급성 관동맥 증후군 환자에서 proteomics에 대한 보고는 드물다. 이에 저자들은 proteomics를 이용하여 급성 관동맥 증후군 환자에서 단백질 발현의 차이를 연구하였다.

논문접수일 : 2007년 3월 7일

수정논문접수일 : 2007년 4월 25일

심사완료일 : 2007년 5월 7일

교신저자 : 현민수, 140-745 서울 용산구 한남동 657

순천향대학교 의과대학 내과학교실

전화 : (02) 709-9217 · 전송 : (02) 709-9554

E-mail : mshyon@yahoo.com

## 대상 및 방법

### 환자 및 검체

대상 환자는 급성 관동맥 증후군 환자 24명으로 이중 급성 심근 경색증군이 12명, 불안정 협심증군이 12명이었다. 대조군은 나이 및 성별이 유사하고 고혈압, 당뇨 등의 병력이 있는 13명을 대상으로 하였으며 심혈관계 질환의 병력이 없는 환자였다. 지질 강하제(스타틴)의 사용에 대해서는 제한을 두지 않았다. 급성 심근 경색증은 ESC/ACC(European Society of Cardiology/American College of Cardiology) 진단기준<sup>9)</sup>에 따라 CK-MB나 troponin T의 상승과 허혈성 흉통의 동반이나 심전도에서 병적인 Q파나 허혈을 시사하는 소견이 있는 경우로 정의하였다. 불안정 협심증은 심근효소는 정상이나 새롭게 생겼거나 안정시에 발생 또는 심하거나 악화되는 흉통 양상을 보일때 또는 심전도에서 ST-T절 변화를 보일때 기준으로 하였다. 제외기준은 최근 2주 이상 항혈소판 제제, 스테로이드, 비스테로이드성 소염제, 헤파린을 투여받았던 경우, 중양, 감염, 자가면역성 질환, 수술적 치료를 받은 경우는 제외하였다. 혈액은 진단후 12시간 이내에 정맥혈로 채취하였고, 채취한 혈액은 원심분리를 하여 혈청을 얻은 후  $-70^{\circ}\text{C}$ 의 냉동고에 보관하였다. 실험을 위해 냉동보관된 혈액을 실온에서 해동한 후 한번 더 원심분리한 후에 각 환자의 혈액에서 각각 1 cc를 채취하여 각 군별로 하나의 튜브에 모아 총 3개의 튜브를 준비하였다.

### 2차 전기영동(2-dimensional electrophoresis, 2-DE)

2차 전기영동을 위한 샘플 완충액은 7 M urea, 4.5% CHAPS, 20 mM dithiothreitol, 0.2% Bio-Lyte ampholyte를 이용하여 준비하였고, 이 완충액을 이용하여 샘플을 희석하였다. 샘플은 고정된 pH 3~10 nonlinear gradient strips 18 cm(Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden)을 이용해서 부하를 걸었고 isoelectric focusing(IEF)는 80,000 Vh에서 실행하였다. 2차원 분석은 5시간 동안 젤당 일정한 40 mA에서 9~16% linear gradient polyacrylamide gels을 이용하여 분석하였다. 젤을 고정한 후에 Coumassie Brilliant Blue G250(Hercules, CA, USA)를 이용하여 12시간동안 염색하였다. 염색된 gels의 이미지는 GS-710 Imaging Densitometer(Bio-Rad, Richmond, CA, USA)로 얻었고 Image Master Platinum 5 Computer software program(GE Healthcare, USA)으로 분석하였다.

이미지 분석기를 이용하여 각 군간에 차이를 보이는 spot을 확인한 후 의미있는 차이를 보이는 spot 들은 질량분석기를 이용하여 분석, 확인하였다. 의미있는 차이를 보이는 spot의 값은 %volume으로 표시하였으며, 이는 해당 spot의 volume을 전체 gel내의 총 spot의 volume으로 나눈 값으로 단위는 arbitrary unit(AU)를 사용하였다.

### 질량 분석기를 이용한 단백질의 확인

프로테오믹의 2-DE gel mapping을 위해서 mass fingerprinting이나 다양한 2-DE maps을 이용하면서 단백질을 확인하였다. 2-DE gels로부터 제거된 단백질 spots은 염색을 제거하고 환원하고 알칼리화한 후에 trypsin(Promega, Madison, WI, USA)으로 분리하였다. 분리된 펩타이드는 alpha-cyano-4-hydroxy cinnamic acid(CHCA), 50% acetonitril, 1% formic acid를 섞은 후에 matrix-assisted laser desorption ionization(MALDI-TOF) mass spectrometer(MS)를 준비하였고 샘플 방울은 MALDI sample plate에서 건조하였다. Peptide mass fingerprinting(PMF)은 Voyager DE-PRO MALDI-TOF MS(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)를 사용하였고 delayed reflector mode를 이용하였다. 단백질은 peptide mass maps으로 확인하였고 단백질 데이터베이스 사이트인 MASCOT([http://www.matrixscience.com/search\\_form\\_select.html](http://www.matrixscience.com/search_form_select.html))을 이용하였다.

## 결 과

평균 나이는 급성 심근 경색증군이  $63 \pm 6$ 세, 불안정 협심증군이  $63 \pm 8$ 세 그리고 대조군이  $60 \pm 7$ 세로 세군간에 차이는 없었다. 성별은 급성 심근 경색증군, 불안정 협심증군이 각각 남자 7명(58%), 여자 5명(42%)이었으며 대조군은 남자가 7명(54%), 여자가 6명(46%)로 세군간에 유의한 차이는 없었다. 고혈압 및 당뇨는 각 군간에 유의한 차이를 보이지 않았고, 혈청 지질은 세 군간에 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 1).

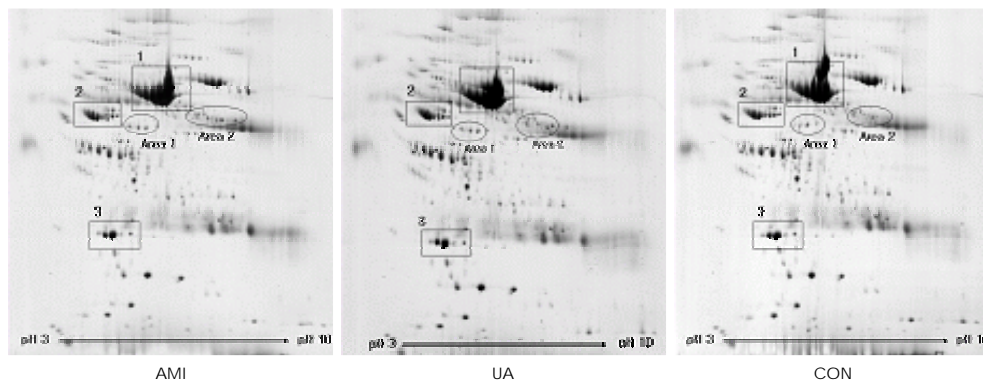
2차 전기영동을 통해 각 군당 약 500여개의 spots을 얻었다. 대표적인 주요 단백질로 albumin, alpha-1-antitrypsin 및 apolipoprotein A-1 등을 확인할 수 있었고 이미지 분석 프로그램을 이용하여 비교한 결과 차이를 보이지 않았다(Fig. 1).

이미지 분석 프로그램을 이용해 대조군과 비교해서 증가하거나 감소한 spots을 찾았다. 차이를 보인 spots은 총 12개

Table 1. Baseline characteristics

	ACS		CON (n=13)	p
	AMI (n=12)	UA (n=12)		
Age (years)	$63 \pm 6$	$63 \pm 8$	$60 \pm 7$	0.37
Sex (M/F)	7/5	7/5	7/6	0.97
Hypertension	9 (69)	7 (58)	8 (57)	0.66
DM	3 (25)	5 (42)	4 (31)	0.67
TC (mg/dL)	$168.8 \pm 45.7$	$175.1 \pm 38.2$	$177.5 \pm 27.4$	0.84
TG (mg/dL)	$176.7 \pm 155.3$	$167.0 \pm 79.2$	$142.9 \pm 56.7$	0.71
HDL (mg/dL)	$37.7 \pm 4.6$	$40.0 \pm 10.9$	$44.9 \pm 6.7$	0.07
LDL (mg/dL)	$95.8 \pm 29.9$	$101.6 \pm 31.8$	$104.6 \pm 18.9$	0.71

Values are means  $\pm$  SD and No. of cases with percentage in parenthesis. ACS: acute coronary syndrome, AMI: acute myocardial infarction, UA: unstable angina, CON: control, M: male, F: female, DM: diabetes mellitus, TC: total cholesterol, TG: triglyceride, HDL: high density lipoprotein, LDL: low density lipoprotein



**Fig. 1.** Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of plasma in patients with acute coronary syndrome and control. There was no difference between the groups from computer-based image analysis. AMI: acute myocardial infarction, UA: unstable angina, CON: control, 1: albumin, 2: alpha-1-antitrypsin, 3: apolipoprotein A-I, Area 1: fibrinogen gamma, Area 2: fibrinogen beta.

**Table 2.** Identification of the analyzed proteins

Protein	Matched peptides	Major decision database	Sequence coverage	Theoretical value	
				Mr	pI
Fibrinogen gamma	7	MS	47%	24337	6.49
Fibrinogen beta	12-18	MS	29-34%	51358	7.95

MS: mass spectrometer, Mr: nominal mass, pI: isoelectric point

**Table 3.** Fibrinogen gamma chain isoforms in patients with acute coronary syndrome and control

	ACS		CON(n=13)
	AMI (n=12)	UA (n=12)	
Isoform 1	142.3	102.7	57.7
Isoform 2	144.5	120.6	53.0
Isoform 3	61.7	55.9	0

Experimental mass (kDa/pI) of isoform 1 was 24.3/6.5, Experimental mass of isoform 2,3 were 50.0/5.7, Values are arbitrary units. Arbitrary units are %vol of individual spot. ACS: acute coronary syndrome, AMI: acute myocardial infarction, UA: unstable angina, CON: control, pI: isoelectric point

였으며 이중 의미가 있으며 큰 차이를 보이는 spots을 area 1과 area 2로 선택하여 질량을 분석하였으며 분석 결과는 각각 fibrinogen gamma와 fibrinogen beta였다(Table 2). 나머지 5개의 spots은 prealbumin, deoxyhemoglobin 등이었다. 허혈성 심질환과의 연관성이 없다고 판단되어 결과에서 제외하였다.

Fibrinogen gamma chain인 area 1에서는 세 개의 isoform이 있었다(Table 3). Isoform 1은 급성 심근경색증군에서 142.3 AU, 불안정 협심증군에서 102.7 AU였으며 대조군에서는 57.7 AU로 급성 심근경색증군에서 가장 높았다. Isoform 2는 급성 심근경색증군에서 144.5 AU, 불안정 협심증군에서 120.6 AU였으며 대조군에서는 53.0 AU로 급성 심근경색증군에서 가장 높았다. Isoform 3은 급성 심근경색증군에서 61.7 AU, 불안정 협심증군에서 55.9 AU로 두군이 비슷하였고 대조군은 검출되지 않았다(Fig. 2).

Fibrinogen beta chain인 area 2에서는 네 개의 isoform이 있었다(Table 4). Isoform 1은 급성 심근경색증군에서 22.8

**Table 4.** Fibrinogen beta chain isoforms in patients with acute coronary syndrome and control

	ACS		CON (n=13)
	AMI (n=12)	UA (n=12)	
Isoform 1	22.8	35.0	35.1
Isoform 2	181.2	162.1	85.7
Isoform 3	150.1	120.6	33.7
Isoform 4	60.2	70.1	33.0

Experimental mass (kDa/pI) of isoform 1-4 were 51.3/8.0, Values are arbitrary units. Arbitrary units are %vol of individual spot. ACS: acute coronary syndrome, AMI: acute myocardial infarction, UA: unstable angina, CON: control, pI: isoelectric point

AU, 불안정 협심증군에서 35.0 AU였으며 대조군에서는 35.1 AU로 불안정 협심증군과 대조군이 비슷하였고 급성 심근경색증군이 가장 낮았다. Isoform 2는 급성 심근경색증군에서 181.2 AU, 불안정 협심증군에서 162.1 AU였으며 대조군에서는 85.7 AU로 급성 심근경색증군에서 가장 높았다. Isoform 3은 급성 심근경색증군에서 150.1 AU, 불안정 협심증군에서 120.6 AU였으며 대조군에서는 33.7 AU로 급성 심근경색증군에서 가장 높았다. Isoform 4는 급성 심근경색증군에서 60.2 AU, 불안정 협심증군에서 70.1 AU였으며 대조군에서는 33.0 AU로 불안정 협심증군에서 가장 높았다(Fig. 3).

## 고 찰

하나의 유전체(genome)로부터 발현된 단백질들의 총집합체(PROTEins expressed by a genome)를 의미하는 proteome이란 개념은 Wilkins 등<sup>10,11)</sup>에 의해 처음으로 소개되었다. 이후 많은 proteome에 관한 연구가 진행되어 왔으며 단

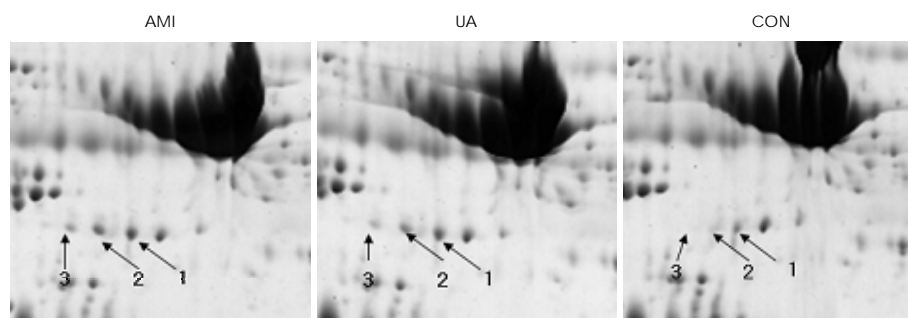


Fig. 2. Patterns of fibrinogen gamma chain isoforms of plasma in patients with acute coronary syndrome and control. AMI: acute myocardial infarction, UA: unstable angina, CON: control, 1: isoform 1, 2: isoform 2, 3: isoform 3.

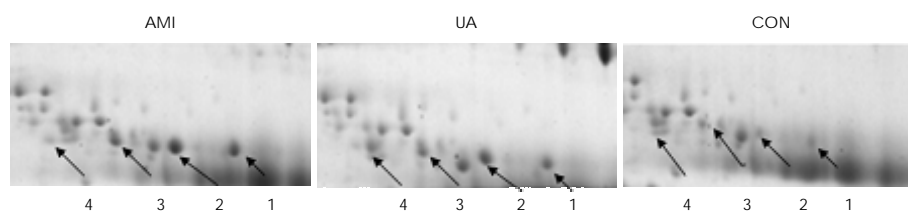


Fig. 3. Patterns of fibrinogen beta chain isoforms of plasma in patients with acute coronary syndrome and control. AMI: acute myocardial infarction, UA: unstable angina, CON: control, 1: isoform 1, 2: isoform 2, 3: isoform 3, 4: isoform 4.

일 단백질 또는 단백질 복합체의 동정 및 정량분석, 단백질 기능 및 상호작용 특성 규명이나 단백질과 질병 간의 연결고리 규명 등이다.

분자 수준에서의 생체 반응 및 질병 기전을 이해하기 위해서는 관련 단백질 자체의 발현 양상을 정밀하게 분석할 필요가 있으며 세포내의 mRNA 양과 단백질의 발현 수준 사이에는 밀접한 연관성이 거의 없는 것으로 알려지고 있다.<sup>12)</sup>

단백질체 연구의 가장 중요한 도구로서 2 Dimensional Polyacrylamide Gel Electrophoresis(2D PAGE)의 방법이 이용된다. 종마다의 차이 혹은 어떠한 증세에 관련된 유전자를 연구하고자 할때 유전자 전사 패턴의 분석이란 분자단계의 연구가 필요하며 대체적인 접근이 2D PAGE에 의한 광범위한 양의 단백질 발현 패턴을 분석하는 것이다. 전기영동 방법으로 특정 고분자들의 특성을 나타내거나 그 순도를 분석할 수 있으며, 극성을 띠고 있는 분자들이 전기장 내에서 이동하는 성질을 이용한 것이다. 전기영동에서 중요한 것은 그 시료가 화학반응이 없으며 안정된 medium에 놓는 것이다. 이러한 화학적 불활성 medium은 polyacrylamide gel로 개발되어있다. 1차원 분리 수행은 IEF을 이용해 pH gradient가 걸려진 gel에 샘플을 놓고 전기장을 작용시키는 것으로 개개의 단백질들이 가지고 있는 고유한 isoelectric point(pI, 등전점)에 의해서 단백질들이 분리되는 성질을 이용하는 것이다. 2차원 분석은 단백질들을 강력한 음이온성 계면활성제인 sodium dodecylsulfate(SDS)로 처리하여 분자 간 전하차이를 최소화한 후 일정 전압 하에서 분자크기에 따라 분리하게 되며 횡으로는 pI, 종으로는 분자량을 나타내는 좌표위에 개개의 단백질을 나타내는 spot이 나타나게 된다. 이 방법으로 수천개 이상 많은 다른 단백질 가운데 하나를 추출해 낼수 있다.<sup>13)14)</sup>

2D PAGE 기술에 의해 분리된 단백질들은 mass spectrometer에 의해 빠르고 정확하게 동정될 수 있으며,<sup>15)</sup> MALDI MS는 대상 polypeptide를 trypsin으로 분해한 후 고형의 target 상에서 laser에 의해 이온화된 peptide들의 비행시간을 측정, 각각의 mass를 분석하는 TOF형이 이용된다. 이 방법에 의한 PMF는 proteolytic digestion 이후 분석된 각 peptide들의 질량을 대상 단백질에 대해 동일효소를 사용하여 얻을 수 있는 simulated protein database와 비교, 검색하는 방법이다.<sup>16)17)</sup>

심근의 허혈 조직의 평가는 허혈, 조직 방어 기전 및 손상 에 대한 전통적인 단백질 인자들로 확인되어 왔다. 토끼를 이용한 허혈-재관류의 실험에서 이차 전기영동을 통해 여러 종류의 알려진 새로운 단백질이 전체적으로 혼재되어 있는 것을 확인할 수 있었다.<sup>18)19)</sup>

Matteos-Caceres 등<sup>20)</sup>은 급성 관동맥 증후군 환자의 혈액을 이용한 분석에서 이차 전기영동 분석을 통해 대조군 환자와 비교해서 심근 경색 환자에서 alpha-1-antitrypsin의 몇 개의 isoforms이 감소되었고 fibrinogen isoforms은 증가되었으며 심근 경색 및 불안정 협심증 환자에서 apolipoprotein A-1 isoforms이 감소되었다고 발표하였다. 또한 gamma-immunoglobulin heavy chains 또한 급성 관동맥 증후군 환자에서 대조군에 비해 증가되어 있었다. 본 연구에서는 이차 전기영동 후에 이미지 분석기를 통해 각군간에 차이를 보이는 spot을 분석한 결과 각군간에 차이를 보이는 spot들의 2개의 areas를 확인할 수 있었고 이들을 질량분석기로 분석한 결과 fibrinogen gamma chain의 isoforms과 fibrinogen beta chain의 isoforms을 확인할 수 있었다. 이미지 분석 프로그램을 통한 분석에서 다른 spot들은 차이를 보이지 않았기 때

문에 연구 대상에서 제외되었다. Fibrinogen gamma에서 3개의 isoforms을 확인할 수 있었고 대조군에 비해 불안정 협심증 및 심근 경색증 환자에서 증가되어 비슷한 결과를 보여주었다. 또한 fibrinogen beta의 4개의 isoforms을 확인할 수 있었다. 역시 대조군에 비해 불안정 협심증 및 심근 경색증 환자에서 높게 검출되었다.

Fibrinogen은 세 개의 chains(alpha, beta, gamma)이 두 개로 구성되어 있으며 disulfide bonds에 의해 결합되어 있다. 활성화된 혈소판은 fibrinogen에 결합을 하게 되는데 beta-chain의 N-terminal과 gamma chain의 C-terminal을 이용하여 된다.<sup>21)</sup>

Fibrinogen의 증가는 심혈관계의 위험인자이며,<sup>22)</sup> 경동맥의 두께를 증가시키며 이는 조기 동맥경화의 인자로 활용될 수 있다는 보고가 있으며<sup>23)</sup> 혈장의 점성을 증가시켜 허혈성 심질환을 유발시킬 수 있다.<sup>24)</sup> Fibrinogen의 생성에 beta chain이 중요한 인자로 작용하며 beta chain의 polymorphism이 fibrinogen의 농도를 증가시키며 허혈성 심질환을 유발한다고 알려져 있다.<sup>25)26)</sup>

Fibrinogen은 thrombin과 함께 fibrin을 만들며 glycoprotein IIb/IIIa 수용체를 통해 혈장내 응고와 혈소판의 응집을 유발시키며 혈전을 형성한다.<sup>27)</sup> 또한 fibrinogen은 혈소판, 혈관내막 세포와 백혈구의 결합을 증가시키고 백혈구와 혈소판의 활성화를 유발하며 이러한 세포로부터 여러 매개물질을 분비시키며,<sup>28)</sup> 심장벽내 혈전 형성과 동맥경화반의 진행에 중요한 역할을 한다. 이러한 변화는 혈관의 재형성을 가져오고 경화반은 불안정하게 되어 파열되며 폐쇄성 혈전을 만들게 된다.<sup>29)</sup> Manila 등<sup>30)</sup>은 혈장내 fibrinogen gamma의 농도가 증가할 때 심근경색의 위험성이 높아지며 fibrinogen gamma polymorphism 등도 심근경색의 위험성을 증가시킨다고 보고하였다.

본 연구의 결과 급성 관동맥 증후군 환자에서 대조군 환자와 비교하여 fibrinogen gamma isoforms 3개가 증가되었고 fibrinogen beta isoforms 4개가 증가되었다. 그러나 fibrinogen은 급성 염증 반응 및 비만, 당뇨, 알콜, 혈중 지질 농도, 흡연, 운동 등에 의해 증가되는 급성 반응 물질로 알려져 있다. Fibrinogen gamma와 beta chain의 isoforms에 증가가 급성 관동맥 증후군의 원인이 되는 혈전의 형성과 연관되어 증가되어 있는 것으로 생각되나 급성 관동맥 증후군 자체가 급성 염증 반응의 한부분이므로 해석에 신중해야 한다. Fibrinogen이 심혈관계 질환의 예측인자로도 알려져 있지만 fibrinogen 측정 방법이 표준화 되어 있지 않고, 검사 방법에 따라 기준이 다르다. 또한 fibrinogen의 농도에 영향을 미치는 인자가 많기 때문에 환자 개개인의 농도에 차이가 있으며 결과 해석에 신중해야 한다. 그리고 본 연구에서는 환자의 혈중 fibrinogen 농도를 측정하지 못했다. 이로 인해 결과에 보인 fibrinogen beta 및 gamma chain의 증가와 혈중 fibrinogen의 증가 사이에 관계를 확인할 수 없었다. 본 연구에 있어서 대조군에 비해 급성 관동맥 증후군 환자에서 혈

전과 관계된 fibrinogen beta, gamma chain의 isoforms의 다양한 발현이 있었다.

본 연구의 제한점으로 환자의 수가 적다는 것이며, 주요 단백질을 제거하지 않은 상태로 진행을 했기에 이러한 주요 단백질이 많은 소량의 단백질의 발현에 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각된다. 또한 혈액을 이용한 연구는 약제, 기저 질환, 콜레스테롤, 흡연 등의 여러 가지 변수가 영향을 미칠 수 있기 때문에 대조군의 선택에 주의를 해야 한다. 본 연구에서는 나이, 성별 및 영향을 미칠 수 있는 위험인자를 고려하여 대조군을 선정하였지만 대조군 선정방식에 따른 오차가 있을 가능성은 배제할 수 없다. 그러나 급성 심근경색증 환자의 혈액을 이용한 단백질 분석의 연구가 거의 없으므로 적은 수의 환자이지만 단백질 발현 양상을 알아볼 수 있었다는데 의미를 둘 수 있다.

## 결론

급성 관동맥 증후군의 혈액내 단백질 분석하여 fibrinogen gamma chain의 세 개의 isoform과 fibrinogen beta chain의 네 개의 isoform을 확인하였다. Fibrinogen gamma chain의 세 개의 isoform과 Fibrinogen beta chain의 네 개의 isoform 중 세 개가 대조군에 비해 급성 관동맥 증후군에서 높게 발현되었다. 급성 관동맥 증후군 환자의 혈액내 단백질 분석을 통해 혈전의 형성과 관련된 fibrinogen gamma와 fibrinogen beta의 발현도가 대조군에서 비해 높게 발현되는 것을 확인할 수 있었다.

## 요약

### 배경 및 목적 :

최근 단백질 분석법은 많은 질환의 병태생리에 대한 연구에 광범위하게 이용되고 있다. 급성 관동맥 증후군은 염증, 혈소판의 활성화, 응고 및 혈전 형성 등과 관련된 여러 인자들과 관련되어 있으나 급성 관동맥 증후군의 단백질 발현 양상에 대한 연구는 드물다. 이에 저자는 급성 관동맥 증후군 환자의 혈액을 이용해 단백질 분석을 실시하여 단백질 발현의 차이를 연구하였다.

### 방법 :

대상 환자는 급성 관동맥 증후군 24명을 대상으로 하였으며 이중 급성 심근 경색증군이 12명, 불안정 협심증군이 12명이었다. 대조군으로는 나이, 성별 및 고혈압, 당뇨의 병력이 유사한 13명을 대상으로 하였다. 대상 환자의 혈액을 이용하여 2차 전기 영동법을 이용하여 단백질을 분리하였고 분리된 단백질을 이미지 분석한 후 환자간에 차이를 보이는 단백질은 질량 분석기로 분석한 후 데이터 베이스를 이용하였다. 차이를 보이는 spot의 값은 그 spot의%volume(해당 spot의 volume/전체 gel의 총 spot의 volume)을 가지고 비교하였고 단위는 AU로 사용하였다.

## 결 과 :

세군간에 차이를 보이는 두 개의 지역(area 1, 2)이 있었으며, area 1은 fibrinogen gamma chain이었으며 세 개의 isoform이 있었다. 세 개의 isoform 모두 대조군에 비해서 불안정 협심증군 및 급성 심근경색증군에서 높았다. Area 2는 fibrinogen beta chain이었으며 네 개의 isoform이 있었다. 네 개의 isoform 중 세 개는 대조군에 비해 불안정 협심증군 및 급성 심근경색증군에서 높았다. 나머지 하나의 isoform은 차이가 없었다.

## 결 론 :

급성 관동맥 증후군 환자의 혈액을 이용한 단백질 분석을 통해 fibrinogen gamma chain의 세 개의 isoforms과 fibrinogen beta chain의 네 개의 isoform을 확인하였다. Fibrinogen gamma chain의 세 개의 isoform과 fibrinogen beta chain의 네 개의 isoform 중 세 개가 급성 관동맥 증후군에서 가장 높았다. 급성 관동맥 증후군 환자의 단백질 발현 양상은 fibrinogen gamma와 fibrinogen beta에서 대조군에 비교해 높게 발현되었다.

**중심 단어** : 심근 경색증 ; 불안정 협심증 ; 단백질 분석 ; Fibrinogen.

## REFERENCES

- Oldgren J, Wallentin L, Grip L, Linder R, Norgaard BL, Siegbahn A. Myocardial damage, inflammation and thrombin inhibition in unstable coronary artery disease. *Eur Heart J* 2003;24:86-93.
- Kim KY, Bae JH. The clinical usefulness of decreased mean platelet component concentration in patients with acute coronary syndrome. *Korean Circ J* 2005;35:240-6.
- Lam L, Lind J, Semsarian C. Application of proteomics in cardiovascular medicine. *Int J Cardiol* 2006;108:12-9.
- Chabers G, Lawrie L, Cash P, Murray GI. Proteomics: a new approach to the study of disease. *J Pathol* 2000;192:280-8.
- Ahram M, Best CJ, Flaig MJ, et al. Proteomic analysis of human prostate cancer. *Mol Carcinog* 2002;33:9-15.
- Srinivas PR, Srivastava S, Hanash S, Wright GL Jr. Proteomics in early detection of cancer. *Clin Chem* 2001;47:1901-11.
- Baek SY, Lee YM, Lee KH, Kim DS. Comparison of serum proteome maps of children with kawasaki disease. *Korean J Pediatr* 2004;47:81-9.
- Lee CM, Kang SB, Cho YK, Choi H, Kim BR. Identification of biomarker for ovarian cancer by serum proteomic analysis using SELDI-TOF-MS. *Korean J Gynecol Oncol* 2006;17:147-56.
- The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee. Myocardial infarction redefined. *Eur Heart J* 2000;21:1502-13.
- Wilkins MR, Sanchez JC, Gooley AA, et al. Progress with proteome projects: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it. *Biotechnol Genet Eng Rev* 1996;13:19-50.
- Wilkins MR, Pasquali C, Appel RD, et al. From proteins to proteomics: large scale protein identification by two-dimensional electrophoresis and amino acid analysis. *Biotechnology* 1996;14:61-5.
- Anderson L, Seilhamer J. A comparison of selected mRNA and protein abundances in human liver. *Electrophoresis* 1997;18:533-7.
- Dunn MJ. Two dimensional gel electrophoresis of proteins. *J Chromatogr* 1987;418:145-85.
- Gorg A, Obermaier C, Boguth G, et al. The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis* 2000;21:1037-53.
- Aebersold R. Mass spectrometry of proteins and peptides in biotechnology. *Curr Opin Biotechnol* 1993;4:412-9.
- Gevaert K, Vandekerckhove J. Protein identification methods in proteomics. *Electrophoresis* 2000;21:1145-54.
- Patterson SD, Aebersold R. Mass spectrometric approaches for the identification of gel-separated proteins. *Electrophoresis* 1995;16:1791-814.
- White MY, Cordwell SJ, McCarron HC, et al. Proteomics of ischemia/reperfusion injury in rabbit myocardium reveals alterations to proteins of essential functional systems. *Proteomics* 2005;5:1395-410.
- Yoon CH, Youn HJ, Chun HK, et al. Expression of heat shock protein 70 and association with activity of superoxide dismutase in ischemic preconditioning model of rabbit. *Korean Circ J* 1999;29:965-75.
- Mateos-Caceres PJ, Garcia-Mendez A, Farre AL, et al. Proteomic analysis of plasma from patients during an acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1578-83.
- Farrell DH, Thiagarajan P, Chung DW, Darie EW. Role of fibrinogen alpha and gamma chain sites in platelet aggregation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:10729-32.
- Ernst E, Resch KL. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: a meta-analysis and review of the literature. *Ann Intern Med* 1993;118:956-63.
- Folsom AR, Wu KK, Shahar A, Davis CE. Association of hemostatic variables with prevalent cardiovascular disease and asymptomatic carotid artery atherosclerosis. *Arterioscler Thromb* 1993;13:1829-36.
- Meade TW. Fibrinogen in ischemic heart disease. *Eur Heart J* 1995;16 (Suppl A):31-5.
- Wang XL, Wang J, McCredie RM, Wilcken DE. Polymorphism of factor V, factor VII, and fibrinogen genes: relevance to severity of coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:246-51.
- Mannila MN, Eriksson P, Ericsson CG, Hamsten A, Silveira A. Epistatic and pleiotropic effects of polymorphisms in the fibrinogen and coagulation factor XIII genes on plasma fibrinogen concentration, fibrin gel structure and risk of myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2006;95:420-7.
- Bombeli T, Schwartz BR, Harlam JM. Adhesion of activated platelets to endothelial cells: evidence for a GP IIb/IIIa dependent bridging mechanism and novel roles for endothelial intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), alpha5beta3, integrin and GP Ib alpha. *J Exp Med* 1998;187:329-39.
- Laffan MA. Fibrinogen polymorphisms and disease. *Eur Heart J* 2001;22:2224-6.
- Mannila MN, Silveira A, Hawe E, et al. Plasma fibrinogen concentration predicts the risk of myocardial infarction differently in various parts of Europe: effects of beta-fibrinogen genotype and environmental factors. *Thromb Haemost* 2004;92:1240-9.
- Mannila MN, Lovely RS, Kazmierczak SC, et al. Elevated plasma fibrinogen gamma concentration is associated with myocardial infarction: effects of variation in fibrinogen genes and environmental factors. *J Thromb Haemost* 2007;5:766-73.