

중증 승모판 폐쇄부전 환자에서 세포자멸의 관점에서 본 심방근세포의 변화

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실,¹ 흉부외과학교실,² 임상병리학교실³

조은주¹ · 윤호중¹ · 박철수¹ · 정해억¹ · 전희경¹ · 김종진¹ · 노태호¹ · 김소양¹
김정표¹ · 김재형¹ · 최규보¹ · 홍순조¹ · 심성보² · 이선희² · 서은주³

Fate of Atrial Myocardium in Severe Mitral Regurgitation in the Aspect of Programmed Cell Death

Eun-Ju Cho, MD¹, Ho-Joong Youn, MD¹, Chul-Soo Park, MD¹, Hae-Ok Chung, MD¹,
Hui-Kyung Jeon, MD¹, Chong-Jin Kim, MD¹, Tai-Ho Rho, MD¹, So-Yang Kim, MD¹,
Jeong-Pyo Kim, MD¹, Jae-Hyung Kim, MD¹, Kyu-Bo Choi, MD¹, Soon-Jo Hong, MD¹,
Sung-Bo Sim, MD², Sun-Hee Lee, MD² and Eun-Joo Seo, MD³

¹Department of Internal Medicine, ²Thoracic and Cardiovascular Surgery, ³Clinical Pathology, College of Medicine,
The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

ABSTRACT

Background and Objectives : From the view point of the molecular aspects, the fate of long standing pressure and volume overloaded atrium in severe MR has not been evaluated. This study was performed to elucidate whether apoptosis of right atrial myocytes is related to atrial changes. **Subjects and Methods** : The medical records of 16 patients (M : F=8 : 8, mean age=52±12), with severe MR having undergone valve replacement surgery, were retrospectively reviewed. The subjects were divided into 2 groups according to the duration of their symptoms (group I, symptom duration less than 12 months, n=10 and group II, more than 12 months, n=6). Using the atrial myocardium specimens obtained during surgery, TUNEL assays and immunohistochemical staining were performed for the expressions of Fas, Bax and the Bcl family. **Results** : Apoptotic indices of TUNEL assay were 31.1±12.6 and 4.9±4.3% in groups I and II, respectively (p<0.01). The Fas expressions were 42.1±14.4 and 27.8±10.5% in groups I and II, respectively (p<0.05), but in group I, with atrial fibrillation (AF), was 49.3±6.9%, which was higher than the 29.2±12.5% in group I without AF and group II (p<0.001). The Bax expression in group I patients with a left atrial size less than 4 cm was 19.2±10.7%, which was higher than the 7.2±6.2% in group I with a left atrial size more than 4 cm and group II (p<0.05). **Conclusion** : Programmed cell death of the atrial myocardium, in severe MR, might be an early molecular pathological change rather than the late sequelae. The causality between programmed cell death and electrical and structural changes of the atrium should be further investigated. (Korean Circulation J 2003;33(10):901-908)

KEY WORDS : Mitral valve insufficiency ; Atrial fibrillation ; Apoptosis.

논문접수일 : 2003년 4월 23일

수정논문접수일 : 2003년 6월 24일

심사완료일 : 2003년 7월 28일

교신저자 : 윤호중, 150-713 서울 영등포구 여의도동 62 가톨릭대학교 의과대학 내과학교실

전화 : (02) 3779-1325 · 전송 : (02) 3779-1374 · E-mail : younhj@catholic.ac.kr

중증 승모판 폐쇄부전 환자에서 좌심방의 변화는 대략 3가지 경향을 보인다. 즉 중증 승모판 폐쇄부전이 급성으로 발생한 경우에는 좌심방의 순응도(compliance)가 증가할 수 있는 시간적인 여유가 없어 심방확장 없이 심방내압만 증가하여 심방비대가 일어나고 정상동방결절리듬(regular sinus rhythm)을 유지하는 경우가 많다. 반면에 승모판 폐쇄부전이 서서히 진행하여 중증 질환이 된 경우에는 좌심방의 순응도가 증가되면서 뚜렷한 심방확장을 보이고 심방내압은 정상이거나 오히려 감소되어 있으며 심장 리듬은 심방세동인 경우가 흔하다. 그러나 대부분의 경우에는 위의 두 경우의 중간단계로서 다양한 정도의 심방확장과 심방내압 증가를 보이고 심장리듬도 정상동방결절리듬이나 심방세동을 보인다.¹⁾

심방세동 및 심방 확장이 있는 환자의 심방근 세포의 변화를 알아보고자 시도된 몇몇 연구에서 심방의 구조적, 전기적인 변화의 상호관계나 심근 세포의 자멸이 관여되었을 가능성이 제시된 바가 있었다.²⁻⁶⁾ 저자들은 다양한 정도의 심방 확장과 리듬의 변화가 발생하는 중증 승모판 폐쇄부전 환자에서 분자생물학적 방법을 이용하여 심방근 세포의 변화를 관찰하고자 하였다.

1995년 3월부터 2001년 2월까지 본원에서 중증 승모판 폐쇄부전으로 승모판막 치환수술을 받은 환자 중 다른 판막에 중등도 이상의 기능부전 없이 승모판막의 폐쇄부전만 있었던 환자를 택하여 그 중 우심방부속기(right atrial appendage)의 조직이 보관되어있는 환자 16명(남 : 여=8 : 8, 평균연령=52(12세)을 대상으로 하였다. 문진 결과 환자로부터 얻은 정보를 바탕으로 중증 승모판 폐쇄부전과 관련이 있다고 판단되는 증상의 시작시기로부터 수술 전까지 증상 지속기간은 평균 12.6 ± 10.4 개월이었고 수술 전 심장리듬은 각각 정상동방결절리듬이 8명, 심방세동이 8명이었다. 수술 전 증세지속기간이 12개월 미만인 군과 12개월 이상인 군을 각각 I 군과 II 군으로 분류하였다.

심장초음파 검사

대상이 되는 모든 환자는 수술 전에 심장초음파검사(Hewlett-Packerd, Sonos 1000, Mountain view, Palo Alto, California)를 받았다. 이면성 및 M-mode 심초음파 영상을 이용하여 좌심방 크기, 좌심실의 이완기말 및 수축기말 내경(dimension)과 내경 분획율, 좌심실 구혈율 및 우심실 크기를 측정하였는데 우심실의 크기는 이

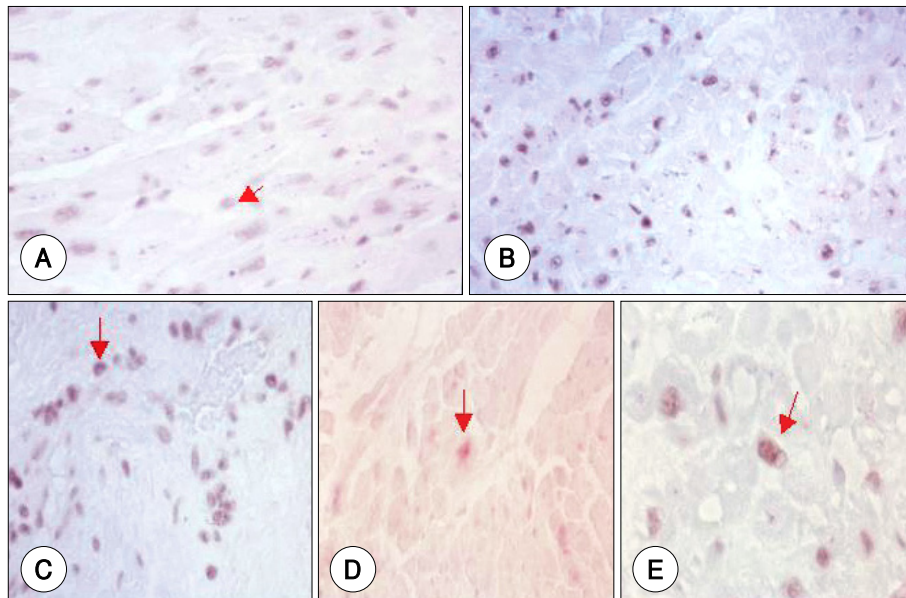


Fig. 1. Immunohistochemical analysis of right atrium for Fas (A and B, Magnification ; $\times 200$ and $\times 400$, respectively), Bax (C), Bcl (D) and TUNEL stain (E) ($\times 400$).

면성 심초음파 영상의 심첨 4방도(apical 4 chamber view)에서 확장기 말 우심실의 유입로 직경을 사용하였다. 삼첨판 폐쇄부전의 정도는 흉골연단축단면도(parasternal short axis view)에서 색채 도플러를 이용하여 관찰하였다.

심도자 검사

대상이 되는 모든 환자는 수술전에 심도자 검사를 시행받았다. Seldinger씨 방법으로 오른쪽 대퇴정맥을 puncture한 뒤 6 F Cournand씨 도자를 이용하여 우측 심의

Table 1. Compared conditions to investigate the factors associated with the apoptosis

1. Age	<60 years (n=12) ≥ 60 years (n=4)
2. Rhythm	RSR (n=8) AF (n=8)
3. LA size	<4.0 cm (n=12) ≥ 4.0 cm (n=4)
4. Symptom duration	<12 months (n=10) ≥ 12 months (n=6)
5. PCWP (v)	<30 mmHg (n=7) ≥ 30 mmHg (n=9)
6. TR grade	<Grade 2 (n=12) ≥ Grade 2 (n=4)
7. PASP	<50 mmHg (n=10) ≥ 50 mmHg (n=6)

RSR : regular sinus rhythm, AF : atrial fibrillation, LA : left atrium, PCWP : pulmonary capillary wedge pressure, TR : tricuspid regurgitation, PASP : pulmonary artery systolic pressure

Table 2. Comparison of general characteristics, echocardiographic parameters and catheterization data

	Group I (n=10)	Group II (n=6)
General characteristics	Age (years)	49±10
	Age<60 years (%)	56±15
	Male (%)	9 (90)
	AF (%)	3 (50)
	DM (%)	5 (50)
Echocardiographic parameters	EF (%)	6 (60)
	FS (%)	1 (10)
	LA size (cm)	53.5±9.6
	LVDd/s (cm)	30.6±9.5
	PASP (mmHg)	30.4± 6.4
Catheterization data	PCWP v (mmHg)	3.6±0.9
		5.8±0.4/3.2±0.5

p=NS, AF : atrialfibrillation, DM : diabetes mellitus, EF : ejection fraction, FS : fractional shortening, LA : left atrium, LVDd/s : left ventricular end-diastolic and end-systolic dimension, RVITD : right ventricle inflow tract diameter PASP : pulmonary artery systolic pressure, PCWP v : pulmonary capillary wedge pressure v wave

도자검사를 실시하여 그 결과 중 폐모세혈관 폐기압과 폐동맥 수축기압을 본 연구의 자료로 이용하였다.

면역조직학적 염색

Fas, bax 및 bcl protein 발현을 보기위한 염색

Fas, Bax, Bcl 단백질의 심근 내 발현을 보기위해 paraffin에 고정되어있는 심방조직을 절삭기를 이용하여 7 μ m 두께로 잘라서 L-lycin으로 처리된 슬라이드에 고정한 뒤 xylen용액으로 파라핀을 제거 후 3% 과산화수소수와 메탄올 용액으로 세척한 뒤 phosphate buffered saline (PBS) 용액으로 다시 세척하였다. Fas 자가 항체 (mouse IgG1, BD Transduction Laboratories, San Diego, California)와 Bax 자가 항체(mouse monoclonal IgG2h, Santa Cruz Biotechnology), Bcl 자가 항체 (mouse monoclonal IgG2h, Santa Cruz Biotechnology)를 각각 1 : 100, 1 : 100, 1 : 200으로 희석하여 조직의 항원과 결합시킨 후 아비딘-바이오틴 효소복합체(avidin-biotin enzyme complex) 검출법으로 면역 조직염색을 진행하였고 과산화 수소수 용액과 DAB(3, 3'-diaminobenzidine) 혼합 용액을 조직위에 가한 후 hematoxylin 대조염색을 하였다. 이들 조직은 Olympus BH-2로 관찰하였다(Fig. 1A, B, C, D).

TUNEL assay

Paraffin에 고정되어있는 심방조직을 절삭기를 이용하여 7 μ m 두께로 잘라서 슬라이드에 고정한 뒤 xylen

용액으로 파라핀을 제거하고 세포 자멸정도를 관찰하기 위해 TUNEL kit(apoptag detection kit, Santa Cruz Biotechnology)를 이용한 terminal deoxynucleotidyl transferase(TdT)-mediated dUTP-biotin nick end labeling technique(TUNEL assay)로 뉴클레오솜간의 핵산분절화(internucleosomal DNA fragmentation)를 관찰하였다. 자멸사 세포의 판정을 위해 농축된 핵이 갈색으로 뚜렷하게 염색되어 있는 것을 양성으로 하여 광학 현미경인 Olympus BH-2를 이용하여 400배 고배율에서 최소 3곳 이상 관찰하여 그 수를 계산하였다(Fig. 1E).

연구 대상의 분류

이상의 결과를 토대로 세포자멸지수 및 관련 단백질의 표현율에 영향을 주는 요소를 찾기 위해 대상환자를

연령, 심전도상 심장의 리듬, 좌심방 크기, 중증 승모관 폐쇄부전과 관련된다고 여겨지는 주관적인 증상의 지속 시간(NYHA functional class II 이상), 심도자 검사상 폐모세혈관 폐기압, 폐동맥 수축기압, 색채 도플러를 이용한 삼첨판막 폐쇄부전의 정도에 따라 비교해 보았다(Table 1).

통계적 검증

모든 실험결과는 평균±표준편차로 표시하였다. Apoptag Kit에 양성인 세포의 발현도의 차이는 Wilcoxon Rank sum test를 이용하여 검정하였다, 각 군간 측정치의 차는 윈도우용 Statistical Package for Social Science 9.0(SPSS 9.0) 통계프로그램을 이용하여 독립표본 T-검정을 하여 비교하였고 이때 신뢰구간은 95%, $p < 0.05$ 를 유의한 차이로 하였다.

결 과

I 군과 II 군의 평균 증상 지속기간은 각각 6.1 ± 5.3 개월과 23.5 ± 6.5 개월이었고 그 외 다른 임상 특성에는 큰 차이가 없었다(Table 2).

심초음파 검사 소견(Table 2)

심초음파검사의 흉골연장축단면도(parasternal long

Table 3. Results of TUNEL and immunohistochemical stain and its correlation according to symptom duration

	Group I (n=10)	Group II (n=6)	Correlation according to the symptom duration (r)
TUNEL (%)	$31.1 \pm 12.6^*$	4.9 ± 4.3	-0.796
Fas (%)	$42.1 \pm 14.4^\dagger$	27.8 ± 10.5	-0.357
Bax (%)	11.9 ± 11.5	19.4 ± 9.2	0.257
Bcl (%)	6.3 ± 3.2	7.5 ± 6.2	-0.108

* : $p < 0.01$ vs ≥ 12 months, † : $p < 0.05$ vs ≥ 12 months

Table 4. Results of TUNEL and immunohistochemical stain according to various conditions

		TUNEL (%)	Fas (%)	Bax (%)	Bcl (%)
Age	<60 years (n=12)	23.1 ± 16.0	37.7 ± 15.1	14.6 ± 11.5	6.0 ± 5.7
	≥ 60 years (n=4)	19.8 ± 15.3	31.0 ± 12.7	14.8 ± 11.2	9.4 ± 8.0
Rhythm	RSR (n=8)	19.0 ± 17.6	31.2 ± 12.5	14.4 ± 12.3	8.1 ± 7.9
	AF (n=8)	23.5 ± 15.1	51.1 ± 41.3	14.9 ± 9.4	5.3 ± 4.6
LA size	<4.0 cm (n=10)	19.7 ± 16.0	34.1 ± 14.5	14.6 ± 12.2	7.1 ± 6.9
	≥ 4.0 cm (n=6)	26.1 ± 19.8	44.8 ± 13.2	14.9 ± 8.0	5.3 ± 4.9
PCWP (v)	<30 mmHg (n=7)	21.0 ± 14.4	42.0 ± 8.7	14.4 ± 10.0	3.6 ± 3.2
	≥ 30 mmHg (n=9)	21.4 ± 18.9	32.6 ± 17.3	14.9 ± 12.4	8.9 ± 7.7
TR grade	<Grade 2 (n=12)	24.3 ± 17.3	39.2 ± 12.8	12.7 ± 9.6	4.6 ± 3.9
	\geq Grade 2 (n=4)	12.1 ± 10.9	29.5 ± 19.1	20.7 ± 14.5	12.5 ± 9.8
PASP	<50 mmHg (n=10)	25.1 ± 16.5	41.6 ± 7.9	21.1 ± 9.3	3.7 ± 2.6
	≥ 50 mmHg (n=6)	16.0 ± 14.8	28.6 ± 19.9	19.0 ± 13.3	11.4 ± 8.4
Valve pathology	Myxomatous (n=7)	16.8 ± 15.4	30.8 ± 17.4	17.4 ± 11.6	9.7 ± 8.0
	Others (n=9)	25.8 ± 15.7	41.3 ± 10.7	12.5 ± 10.8	4.2 ± 3.1

p=NS, RSR : regular sinus rhythm, AF : atrial fibrillation, LA : left atrium, PCWP : pulmonary capillary wedge pressure, TR : tricuspid regurgitation, a. : artery, PASP : pulmonary artery systolic pressure

axis view)상 평균좌심방 크기는 4.2 ± 0.7 cm이었다. 양 군(I, II군)간에 좌심실 크기와 구혈율, 좌심실 내경 분획률에 유의있는 차이가 없었고 우심실 크기에도 차이가 없었다.

심도자 검사(Table 2)

심도자 검사 결과 폐모세혈관 폐기압과 폐동맥 수축기압이 II군에서 높은 경향을 보였으나 통계적으로 유의있는 차이를 보이지는 않았다.

면역조직화학염색

대상환자를 여러 요인으로 나누어 세포자멸지수와 관련 단백질 표현율을 비교해 본 결과 수술 전 증상지속 기간이 12개월 미만인 군(I군, 10명)과 12개월 이상인 군(II군, 6명)으로 나누었을 때 세포자멸지수를 나타내는 TUNEL assay 결과($31.1 \pm 12.6\%$ vs $4.9 \pm 4.3\%$, $p < 0.01$)와 Fas 단백질 표현율(42.1 ± 14.4 vs $27.8 \pm 10.5\%$, $p < 0.05$)이 유의있는 차이를 보였고 Bax나 Bcl 단백질 표현율은 유의있는 차이를 보이지 않았다(Table 3). 증상 지속기간이 배제된 다른 요소에 의해 나누어진 집단 간에서는 어떤 수치도 차이를 보이지 않았다(Table 4). I군에 속한 환자들 중 심방세동이었던 환자(6명)를 따로 분리하여 정상동방결절리듬을 가졌거나 II군에 속한 환자(10명)들과 비교해본 결과 TUNEL assay 결과에서 통계적으로 유의있는 차이를 보였고($30.3 \pm 9.7\%$ vs $17.8 \pm 15.8\%$, $p < 0.05$) 특히 Fas 단백질 표현율에는 p값이 0.001미만으로 더욱 현저한 차이

를 보였다($49.3 \pm 6.9\%$ vs $29.2 \pm 12.5\%$, $p < 0.001$) (Table 5). 또한 I군에 속한 환자들 중에서 특히 좌심방의 크기가 4.0 cm 미만으로 크지 않은 환자(6명)를 따로 분리하여 좌심방 크기가 4.0 cm 이상이거나 II군에 속한 환자(10명)와 비교해 본 결과 역시 TUNEL assay에서 세포자멸지수에 차이를 보였고($33.0 \pm 10.9\%$ vs $15.6 \pm 14.2\%$, $p < 0.01$), 특히 Bax 단백질 표현율이 통계적으로 유의있게 높게 나타났다($19.2 \pm 10.7\%$ vs $7.2 \pm 6.2\%$, $p < 0.05$) (Table 6). 그러나 I군이면서 심방 크기 4.0 cm 이하이고 심방세동이 있었던 환자(4명)는 그렇지 않은 환자(12명)와 비교했을 때 Fas 단백질 표현율이 높게 나왔으나($49.0 \pm 17.3\%$ vs $33.5 \pm 15.3\%$, $p < 0.05$) 세포자멸지수를 나타내는 TUNEL assay 결과에 차이가 없었기 때문에 세포자멸 정도에 차이가 있었다고 볼 수는 없었다(Table 7).

고 찰

승모판 폐쇄부전에 따른 혈액학적 변화로 관찰되는 심

Table 5. Results of TUNEL and immunohistochemical stain according to symptom duration and rhythm

	Group I with AF (n=6)	Group I with RSR or Group II (n=10)
TUNEL (%)	$30.3 \pm 9.7^*$	17.8 ± 15.8
Fas (%)	$49.3 \pm 6.9^\dagger$	29.2 ± 12.5
Bax (%)	11.6 ± 7.6	16.6 ± 12.7
Bcl (%)	5.4 ± 4.4	6.7 ± 6.0

* : $p < 0.05$, † : $p < 0.001$ vs <12 months with RSR or ≥ 12 months, RSR : regular sinus rhythm, AF : atrial fibrillation

Table 6. Results of TUNEL and immunohistochemical stain according to symptom duration and left atrial size

	Group I with LA size <4.0 cm (n=6)	Group I with LA size ≥ 4.0 cm or Group II (n=10)
TUNEL (%)	$33.0 \pm 10.9^*$	15.6 ± 14.2
Fas (%)	43.8 ± 8.2	32.5 ± 16.2
Bax (%)	$19.2 \pm 10.7^\dagger$	7.2 ± 6.2
Bcl (%)	4.3 ± 2.8	8.0 ± 7.8

* : $p < 0.01$, † : $p < 0.05$ vs <12 months with LA size ≥ 4.0 cm or ≥ 12 months, LA : left atrium

Table 7. Results of TUNEL and immunohistochemical stain according to symptom duration and rhythm and left atrial size

	Group I with AF and LA size <4.0 cm (n=4)	Group I with LA size ≥ 4.0 cm or RSR or Group II (n=12)
TUNEL (%)	26.0 ± 6.2	21.2 ± 18.5
Fas (%)	$49.0 \pm 17.3^*$	33.5 ± 15.3
Bax (%)	10.6 ± 9.0	14.7 ± 11.6
Bcl (%)	5.3 ± 3.6	6.0 ± 5.7

* : $p < 0.05$ vs <12 months with LA size ≥ 4.0 cm or RSR or ≥ 12 months, RSR : regular sinus rhythm, AF : atrial fibrillation, LA : left atrium

방의 반응은 심방의 확장과 심방의 리듬변화이다. 심방 세동은 혼한 부정맥으로 심방근 세포의 유효 불응기가 짧아지면 발생하고, 특징적인 심장의 전기적 변화인 다발성 회귀 미세파장(multiple reentrant wavelets)이 생기면 지속적인 세동 상태를 유지한다.⁷⁾ 이러한 조건은 심방 확장이나 그 밖의 구조적인 이질성(heterogeneity)이 있을 때 잘 발생한다고 여겨지고 있으나⁸⁾ 오히려 일단 심방세동이 발생하면 심박동수가 빨라져서 세포내 칼슘 유입이 증가하기 때문에⁹⁾ sodium channel expression이 감소하여¹⁰⁾ 심방의 수축기능이 감소하고 결국 심근의 수동적인 신전(passive stretch)을 유발하여 심방 확장을 일으키며 그로 인해 역시 심방세동이 지속된다는 연구가 있어¹¹⁾¹²⁾ 심방의 확장과 심방세동 사이의 인과관계는 서로 상호 보완적이라 할 수 있다. Thijssen 등¹³⁾은 의한 심방세동에 의한 심방근의 구조적 재형성으로 심방의 확장이 초래되는데 이것이 세포자멸을 일으키는 유력한 기전이라고 주장하였으며 Aime-Sempe 등²⁾은 심방세동과 심방확장, 그리고 좌심실 기능부전을 세포자멸 유도의 주요 요소로 지적하였으나 이들의 연구에서는 심방세동을 가진 환자 모두 양심방 크기가 4.5 cm 이상이었고, 폐동맥압이 35 mmHg 이상이었기 때문에 대체로 결과의 해석이 용이했을 수 있었을 것으로 보인다. 본 연구에서는 세포자멸의 정도가 리듬이나 심방 확장 정도를 포함한 심 초음파 상 어떤 지표 들과도 의의있는 연관성이 없었기 때문에 이들 요소가 심방근 세포의 자멸정도에 영향을 미친다고 생각할 수 없었다.

심방세동을 정상동방결절리듬으로 회복시킨 후 재발 여부에 영향을 미치는 주요 인자로 심방세동의 유지 기간과 심방확장정도를 들 수 있다.⁹⁻²⁰⁾ 즉 심방세동의 지속기간이 12개월 이상인 경우 약물 치료에 반응이 없거나 동방결절리듬으로 회복된 후에도 재발이 잘되며 심방 확장이 심할수록 치료에 반응을 기대하기 힘들다. 이러한 사실은 12개월 이내에 세포자멸이 활발히 일어난다는 본 연구 결과와 연관지어 보면 아마도 12개월이 지나면 세포자멸에 의한 심방근의 구조적 변화가 완료되기 때문에 치료가 어렵거나 재발이 잘되는 것이라 추측해 볼 수 있다. 심방세동이 지속되면 증가된 압력과 빠른 심박동수에 대한 심근세포 적응과정의 일환으로 심근 용해와 퇴화가 일어난다는데³⁻⁵⁾ 이런 변화가 세포자멸을 유도하는 신호가 될 수 있다는 예측이 가능하다. 왜냐하면 세포자멸은 발생 과정이나 정상적인 세포 turno-

ver과정에서 뿐 아니라 여러 병리적 과정에도 관여하는 것이 확인되고 있어²¹⁾ 비정상적인 환경에 놓인 심방근 세포가 밟을 수 있는 가장 자연스러운 과정으로 추측할 수 있기 때문이다. 그러나 세포단계에서 심방 세동이 일어날 수 있는 조건과 심방세동 결과 일어나는 변화는 명확히 밝혀져있지 않다.

세포자멸이 일어나는 경로는 TNF receptor-1이나 Fas receptor와 그 ligand 같은 death receptor간의 상호 작용과 proapoptotic Bax 자가 항체나 antiapoptotic Bcl 계열의 발현이 관여하는 mitochondria 경로가 있는데 중국에는 caspase를 활성화하여 세포 자멸과 관련된 특징적인 형태학적, 생화학적 변화를 초래한다.²²⁾ Aime-Sempe 등²⁾은 질환을 가진 심방근 세포 내 proapoptotic 단백질인 Bax의 표현율은 더 증가해 있지는 않았으나 antiapoptotic protein 인 Bcl 계열의 표현율은 더 감소되어 있어 심방근 세포의 세포자멸을 주도적으로 이끄는 동력이 anti-apoptotic protein 인 Bcl 계열의 역할이 주된 것이라는 의견을 제시하였으나 또 다른 연구²³⁾에서는 말기 심부전 환자에서 Bax 단백질의 표현율이 대조군과 같은 반면 Bcl의 표현율이 오히려 증가되어 있었다는 보고를 발표하기도 하였다. 그렇기 때문에 질환이 있는 심방이나 심실 세포의 세포자멸에는 Bax와 Bcl 단백질의 비율이 중요한 역할을 할 것이라는 연구보고²⁴⁾²⁵⁾가 신빙성을 갖는 것이다. 본 연구에서는 Fas/Fas ligand 상호 작용이 중증 판막질환의 지속기간이 짧으면서 이미 심방의 전기적 변화가 일어난 환자에서 의의있게 증가되어 있는 것으로 나타났고 ($49.3 \pm 6.9\%$ vs $29.2 \pm 12.5\%$, $p < 0.05$) 특히 판막질환의 지속기간이 짧으면서 심장 리듬과 상관 없이 심방의 크기가 작은 경우(< 4.0 cm)에 Bax 단백질의 표현율이 증가해 있어($19.2 \pm 10.7\%$ vs $7.2 \pm 6.2\%$, $p < 0.05$) 중증 승모판 폐쇄부전 환자에서 심방의 전기적인 재형성에는 death receptor 경로가, 그리고 구조적인 재형성에는 mitochondria 경로가 유력함을 시사했다. 본 연구의 결과는 중증 승모판 폐쇄 부전과 같이 심방에 혈액 역학적으로 과부하가 생기게 되면 심방근 세포는 세포자멸의 경로를 거치게 되고 특히 환자의 주관적인 증상 있던 기간이 1년 미만으로 짧고 심방세동과 같은 부정맥이 생긴 경우나, 역시 증상이 1년 미만이면서 좌심방의 크기가 아직 커지지 않은 환자에서 그렇지 않은 경우보다 세포자멸 정도가 더 심했음을 보여준다. 이 결과

로 부터 심방이 혈액학적으로 과부하된 상태에 놓이면 비교적 초기에 세포자멸이 일어나며 이것이 심방의 전기적(심방세동의 발생), 구조적 변화(심방 확장)에 영향을 미칠 수 있음을 알 수 있다.

본 연구의 제한점으로는 후향적으로 이루어진 연구로서 많은 수의 환자를 대상으로 하지 못했고 판막치환술을 받는 환자의 조직만을 수술장 내에서 얻을 수 있었기 때문에 전기적, 구조적으로 정상인 심방 조직을 얻지 못하여 대조군과의 비교를 할 수 없었으며 중증 승모판 폐쇄부전의 진단이 그 이전부터 경과 추적 된 소견이 아니고 내원 당시 진단되어 수술한 환자가 대부분이어서 판막질환의 지속기간을 환자의 증상으로만 판단했다는 것을 들 수 있다. 또한 본 연구가 승모판 폐쇄부전 환자를 대상으로 했음에도 불구하고 우심방부속기(right atrial appendage)를 연구 대상 검체로 이용 하였는데 판막치환술 시 수술장 내에서 우심방 부속기에 캐놀라를 삽입할 때 일괄적으로 조직을 보관해 놓기 때문에 후향적으로 진행된 본 연구에서 이를 이용하기 용이하였기 때문이었다. 그러나 본 연구의 대상이 되었던 모든 환자는 승모판 외에 다른 판막의 기능에 이상이 없었기 때문에 우심방의 심근세포에 생긴 변화가 중증 승모판 폐쇄부전에 의한 혈액학적 변화와 관련이 있을 것으로 생각할 수 있으며 무엇보다 중요한 이유는 심방세동에 의한 전기적 구조적 변화는 한쪽 심방에만 국한되지 않기 때문이다.

본 연구는 중증 승모판 폐쇄부전 환자의 심방에서 비교적 증상의 초기에 특히 심방세동이 이미 생겼거나 심방의 크기가 아직 확장되지 않았을 때 세포자멸의 병리학적인 소견이 나타남을 최초로 보였다. 세포자멸과 심장의 전기적, 구조적인 변화와의 인과 관계는 향후 더 많은 연구를 필요로 할 것으로 사료된다.

요 약

배경 및 목적 :

중증 승모판 폐쇄부전 환자에서 심방에 가해지는 과도한 혈류량과 압력이 심방의 전기생리학적 변화와 심기능의 장애를 초래할 수 있다. 본 연구는 중증 승모판 폐쇄부전 환자에서 심방의 전기적, 구조적 변화와 분자생물학적인 면에서 세포자멸과의 연관성을 알아보려고 하였다.

방 법 :

저자들은 중증 승모판 폐쇄부전으로 판막치환술을 받았던 16명(남 : 여F=8 : 8, 평균 나이=52±12세)을 대상으로 환자의 주관적인 증상 발현 시기를 중심으로 2군으로 나누어 었다(I 군, 증상 발현 후 수술까지 기간이 12개월 미만인 집단, n=10 ; II 군, 증상 발현 후 수술까지 기간이 12개월 이상인 집단, n=6). 수술장 내에서 얻은 대상 환자들의 심방근 표본을 이용하여 TUNEL 분석과 Fas 및 Bax 그리고 Bcl 계열의 표현을 보기 위한 면역 조직화학 염색을 실시하였다.

결 과 :

TUNEL 분석에 의한 세포자멸지수는 I 군에서 31.1±12.6% 였고 4.9±4.3% 였다(p<0.01). Fas 표현율은 I 군에서 42.1±14.4%였고 II 군에서 27.8±10.5% 였으나(p<0.05) I 군 환자 중 기본 심장 리듬이 심방 세동이었던 환자에서, I 군에 속하면서 정상 동율동을 가진 환자나 II 군에 속한 환자보다 Fas 표현율이 현저히 증가되어 있었다(49.3±6.9% vs 29.2±12.5%, p<0.001). Bax 표현율은 I 군에 속한 환자 중 좌심방 크기가 4 cm 미만인 환자에서, II 군에 속하거나 I 군에 속하면서 좌심방 크기가 4 cm 이상인 환자보다 유의있게 높게 나타났다(19.2±10.7% vs 7.2±6.2%, p<0.05). 중증 승모판 폐쇄부전으로 수술 받은 환자에서 심방의 세포자멸지수는 심초음파 결과의 지표나 심도자검사 결과의 혈액학적인 지표에 따른 차이를 보이지 않았다.

결 론 :

심한 승모판 역류환자에서 심방근의 세포자멸은 비교적 초기에 발생하는 분자생물학적인 변화로서 심장의 전기적 및 구조적인 변화에 관여할 가능성이 있다.

중심 단어 : 승모판 폐쇄부전 ; 심방세동 ; 세포자멸.

REFERENCES

- 1) Roberts WC, Braunwald E, Morrow AG. *Acute severe mitral regurgitation secondary to ruptured chordae tendinae: clinical, hemodynamic and pathological considerations. Circulation* 1966;33:58-70.
- 2) Aime-Sempe C, Folliguet T, Rucker-Martin C, Krajewska M, Krajewski S, Heimburger M, Aubier M, Mercadier JJ, Reed JC, Hatem SN. *Myocardial cell death in fibrillating and dilated human right atria. J Am Coll Cardiol* 1999;34:1577-86.
- 3) Mary-Rabine L, Albert A, Pharm TD, Hordof A, Fenoglio JJ Jr, Malm JR, Rosen MR. *The relationship of human atrial cellular electrophysiology to clinical function and ultrastructure. Circ Res* 1983;52:188-99.

- 4) Ausma J, Wijffels M, van Eys G, Koide M, Ramaekers F, Allesie M, Borgers M. *Dedifferentiation of atrial cardiomyocytes as a results of chronic atrial fibrillation. Am J Pathol* 1997;151:985-97.
- 5) Ausma J, Wijffels M, Thone F, Wouters L, Allesie M, Borgers M. *Structural changes of atrial myocardium due to sustained atrial fibrillation in the goat. Circulation* 1997;96:3157-63.
- 6) Benjamin EJ, Levy D, Vaziri SM, D'Agostino RB, Belanger AJ, Wolf PA. *Independent risk factors for atrial fibrillation in a population-based cohort. JAMA* 1994;271:840-4.
- 7) Moe GK. *On the multiple wavelet hypothesis of atrial fibrillation. Arch Int Pharmacodyn Ther* 1962;140:183-8.
- 8) Costantini M, Crema A. *The electrophysiology of atrial fibrillation. Ital Heart J* 2000;1:S632-40.
- 9) Leistad E, Aksnes G, Verburg E, Christensen G. *Atrial contractile dysfunction after short-term atrial fibrillation is reduced by verapamil but increased by BAY K8644. Circulation* 1996;93:1747-54.
- 10) Duff HJ, Offord J, West J, Catterall WA. *Class I and IV antiarrhythmic drugs and cytosolic calcium regulate mRNA encoding the sodium channel alpha subunit in rat cardiac muscle. Mol Pharmacol* 1992;42:570-4.
- 11) Sideris DA, Tzoumanidis ST, Tselepatiotis E, Kostopoulos K, Stringli T, Kitsiou T, Mouloupoulos SD. *Atrial pressure and experimental atrial fibrillation. Pacing Clin Electrophysiol* 1995;18:1679-85.
- 12) Ravelli F, Allesie M. *Effects of atrial dilatation on refractory period and vulnerability to atrial fibrillation in the isolated Langendorff-perfused rabbit heart. Circulation* 1997;96:1686-95.
- 13) Thijssen VL, Ausma J, Borgers M. *Structural remodelling during chronic atrial fibrillation: act of programmed cell survival. Cardiovasc Res* 2001;52:14-24.
- 14) Morillo CA, Klein GJ, Jones DL, Guiraudon CM. *Chronic rapid atrial pacing: structural, functional, and electrophysiological characteristics of a new model of sustained atrial fibrillation. Circulation* 1995;91:1588-95.
- 15) Sanfilippo AJ, Abascal VM, Sheehan M, Oertel LB, Harigan P, Hughes RA, Weyman AE. *Atrial enlargement as a consequence of atrial fibrillation: a prospective echocardiographic study. Circulation* 1990;82:792-7.
- 16) Suarez GS, Lampert S, Ravid S, Lown B. *Changes in left atrial size in patients with lone atrial fibrillation. Clin Cardiol* 1991;14:652-6.
- 17) Henry WL, Moranroth J, Pearlman AS, Clark CE, Redwood DR, Itscoitz SB, Epstein SE. *Relation between echocardiographically determined left atrial size and atrial fibrillation. Circulation* 1976;53:273-9.
- 18) Petersen P, Kastrup J, Brinch K, Godtfredsen J, Boysen G. *Relation between left atrial dimension and duration of atrial fibrillation. Am J Cardiol* 1987;60:382-4.
- 19) Vaziri SM, Larson MG, Benjamin EJ, Levy D. *Echocardiographic predictors of nonrheumatic atrial fibrillation. Circulation* 1994;89:724-30.
- 20) Got JJ, Kaufmann U, Kappenberger L, Sigwart U. *Restoration of sinus rhythm with flecainide in patients with atrial fibrillation. Am J Cardiol* 1988;62:38D-40D.
- 21) Majno G, Joris I. *Apoptosis, oncosis, and necrosis: an overview of cell death. Am J Pathol* 1995;146:3-15.
- 22) Zimmerman KC, Green DR. *How cells die: apoptosis pathways. J Allergy Clin Immunol* 2001;108:S99-103.
- 23) Olivetti G, Abbi R, Qaini F, Kajstura J, Cheng W, Nitahara JA, Quaini E, di Loreto C, Beltrami CA, Krajewski S, Reed JC, Anversa P. *Apoptosis in the failing human heart. N Engl J Med* 1997;336:1131-41.
- 24) Hanada M, Aime-Sempe C, Sato T, Reed JC. *Structure-function analysis of Bcl-2 protein: identification of conserved domains important for homodimerization with Bcl-2 and heterodimerization with Bax. J Biol Chem* 1995;270:11962-9.
- 25) Yin XM, Oltvai ZN, Korsmeyer SJ. *BH1 and BH2 domains of Bcl-2 are required for inhibition of apoptosis and heterodimerization with Bax. Nature* 1994;369:321-3.