

당뇨망막병증 및 당뇨황반부종환자에서의 중증도에 따른 전방수내 사이토카인 상관관계 분석

신범호¹ · 김진영¹ · 박지영² · 박성표¹

한림대학교 의과대학 안과학교실¹, 한림대학교 의과대학 진단검사의학교실²

목적: 당뇨망막병증 및 당뇨황반부종의 중증도에 따른 전방수내 사이토카인 분석을 통해 당뇨망막병증의 단계별 및 당뇨황반부종의 중증도와 관련된 사이토카인의 변화를 알아보고자 하였다.

대상과 방법: 당뇨망막병증 중증도에 따라 4군으로 분류, 정상대조군 1군 포함, 총 70명을 대상으로 전방수내 Interleukin (IL)-6, 8, 10, 13, Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), Vascular endothelial growth factor (VEGF)의 농도 및 황반부종의 정도를 측정하였다.

결과: IL-6, 8, 10, MCP-1, VEGF는 당뇨망막병증 진행에 따라 증가하는 경향을 보여주었다. IL-13은 당뇨망막병증 환자에서 높아진 경향을 보였지만 유의한 차이는 없었다. 황반두께와 IL-6, MCP-1, VEGF의 농도는 양의 상관관계를 보여주었다.

결론: 당뇨환자의 전방수내 사이토카인은 항염증성 인자인 IL-10, 13을 포함하여 정상 대조군에 비해 증가하였으며 IL-13을 제외한 모든 인자들이 당뇨망막병증이 진행됨에 따라 증가하였다. 당뇨황반부종과 관련하여 IL-6, MCP-1, VEGF 등이 양의 상관관계를 보였다. (대한안과학회지 2013;54(4):618-626)

당뇨망막병증은 신생혈관으로 말미암은 출혈, 망막박리, 신생혈관 녹내장 등의 합병증이 발생하여 실명에 이르게 되는 질환이다.¹ 당뇨망막병증의 진행과 관련하여 Vascular endothelial growth factor (VEGF)는 가장 잘 알려진 잠재적인 혈관생성인자이다. 혈관의 과투과성과 관련 깊은 인자로 알려진 VEGF는 망막의 저산소증의 자극으로 인하여 활성화되며 당뇨망막병증의 진행에 있어 중요한 역할을 하게 된다.²⁻⁴ 또한 염증반응이 당뇨망막병증의 진행과 관련하여 중요한 역할을 하게 되는 것으로 알려졌는데^{5,6} Interleukin (IL) 및 Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) 등의 다양한 염증성 사이토카인 및 케모카인들이 관련이 있다고 밝혀졌다.^{1,5-8} 그러나 당뇨망막병증의 발병 및 진행과 관련하여 각각의 정확한 역할에 대해서는 아직 잘 알려져 있지 않다.

당뇨황반부종은 당뇨망막병증 환자에서 중심시력소실에 가장 큰 영향을 미치는 원인 중 하나로, VEGF가 혈관의 과투과성을 유발하여 원인이 되는 것으로 알려졌다.² 그 외에도 여러가지 염증성 사이토카인들 또한 당뇨황반부종과 관련이 있는 것으로 알려졌으며, 이는 당뇨황반부종이 염증과

관련있음을 시사한다.^{2,9-11} 당뇨황반부종이 염증과 관련된 과정임을 황반부종을 치료하는 데 있어서 유리체강내 베바시주맵(Bevacizumab)주입술 보다도 유리체강내 트리암시놀론 주입술이 더 효과적인 점에서 알 수 있다.^{9,10}

최근 들어 당뇨망막병증의 발병과 관련된 여러가지 사이토카인, 케모카인, 염증세포 및 혈관생성인자 등에 대하여 많은 연구결과들이 보고되고 있으며, 이러한 연구결과들은 당뇨망막병증 및 당뇨황반부종이 만성염증의 진행과 관련된 과정이라는 점을 보여준다.^{1,5,6,8-13} 하지만 그러한 연구들의 대다수는 진행된 당뇨망막병증을 대상으로 한 경우가 많으며, 각 단계별 당뇨망막병증 환자를 대상으로 하여 당뇨망막병증의 진행과 관련한 사이토카인의 연속적인 변화에 대한 연구는 매우 부족한 실정이다. 특히 한국인을 대상으로 시행한 IL-10, IL-13 등과 같은 항염증 사이토카인에 관련한 연구는 아직까지 시행된 바 없다 이에 본 저자들은 당뇨망막병증 및 당뇨황반부종의 중증도에 따른 전방내 사이토카인, 케모카인 및 VEGF분석을 통하여 당뇨망막병증 및 당뇨황반부종의 진행과 관련된 여러가지 인자들에 대한 구체적인 역할에 대해 알아보고자 하였다.

■ 접수 일: 2012년 8월 10일 ■ 심사통과일: 2012년 9월 24일
■ 게재허가일: 2013년 2월 25일

■ 책임저자: 박 성 표
서울특별시 강동구 성안로 150
한림대학교강동성심병원 안과
Tel: 02-2224-2274, Fax: 02-470-2088
E-mail: sungpyo@hanafos.com

대상과 방법

2009년 1월부터 2011년 1월까지 한림대학교의료원 강동성심병원 안과에서 당뇨망막병증으로 유리체강내 베바시주맵(Bevacizumab) 주입술 및 전방천자를 시행 받은 환자

들 중 추적관찰 기간이 최소 6개월 이상인 경우를 대상으로 의무기록 조취를 통해 후향적 조사를 시행하였다. 본 논문의 연구과정은 한림대학교 강동성심병원 기관윤리심의 위원회의 승인을 받았다. 이전에 다른 안과적인 질환 및 안과적인 영향을 미칠 수 있는 다른 질환을 앓았던 환자, 유리체강내 주입술을 포함하여 다른 안과적인 수술을 받았던 환자, 최근 6개월 이내에 국소 레이저 광응고술 혹은 격자 레이저 광응고술을 받은 환자는 연구대상에서 제외하였으며, 혈당 및 혈압 조절이 어려운 환자, 안외상, 녹내장 환자들도 연구대상에서 제외하였다. 전방수내 여러가지 인자들의 농도에 영향을 줄 수 있는 인공수정체안도 제외하였다.

모든 대상환자에게 시술 전 스넬렌 시력표를 이용한 최대교정시력, 안압검사, 세극등현미경검사 및 안저검사, 형광안저조영술, 빛간섭단층촬영(Optical coherent tomography 3; Carl Zeiss Ophthalmic Systems Inc, Dublin, Ireland)을 포함한 검사들이 시행되었다. 빛간섭단층촬영은 fast macular scan mode로 황반부 단면상을 얻은 후 retinal thickness analysis로 0.5 mm radius값을 분석하여 황반부 두께를 측정하였다.

당뇨망막병증의 중증도에 따른 분석을 하기 위하여, 대상 환자를 당뇨망막병증 정도에 따라 대조군을 포함하여 모두 5개의 그룹으로 나누었는데 1군: 당뇨가 없는 정상 대조군 환자 10명 10안, 2군: 가벼운(mild) 비증식당뇨망막병증(nonproliferative retinopathy) 및 중등도(moderate) 비증식당뇨망막병증 7명 7안, 3군: 심한(severe) 비증식당뇨망막병증 12명 12안, 4군: 증식당뇨망막병증(proliferative retinopathy)환자 중 범망막광응고술(panretinal photocoagulation)치료를 전혀 받지 않은 환자 15명 15안, 5군: 증식당뇨망막병증 환자 중 범망막광응고술을 받은 환자 26명 26안이었다. 2군의 모든 환자들은 당뇨황반부종으로 인하여 유리체강내 베바시주맙 주입술을 시행 받았다.

당뇨황반부종은 빛간섭단층촬영에서 fast macular scan mode로 측정된 중심황반두께가 250 μ m 이상인 경우로 하였으며 6개월 이내에 황반부 레이저 치료를 포함한 모든 레이저 치료를 받은 환자는 제외하였다. 추가하여 그밖에 다른 망막, 유리체 질환이 있거나 빛간섭단층촬영 이미지 상 신호강도가 5 미만인 경우는 제외하였다. 당뇨황반부종이 있으며 제외기준에 포함되지 않는 대상환자는 2군의 7명 중 5명, 3군의 12명 중 9명, 4군의 15명 중 11명으로 총 25명이었으며 5군의 경우 레이저 치료를 하였기 때문에 제외하여 당뇨황반부종과 관련하여 치료를 받지 않은 상태에서 분석하고자 하였다.

유리체강내 베바시주맙 주입술은 모든 환자들에게 시술에 관련하여 충분한 설명을 통하여 동의를 얻은 후 수술실

에서 무균 방법으로 시행하였다. 프로파라케인(proparacaine, Alcaine[®], Alcon)으로 점안마취 후 5% 포비돈 요오다인(povidone iodine)으로 눈 표면을 소독한 뒤 눈꺼풀 주위와 눈썹을 문질러 소독하였다. 소독된 개검기를 눈꺼풀 사이에 끼우고 베바시주맙(0.05 ml/1.25 mg)을 30 Gauge 바늘이 달린 1 ml 주사기를 이용하여 각막 윤부에서 3.0 mm(무수정체안) 또는 3.5 mm(유수정체안) 되는 지점에 섬모체 평면부를 통하여 유리체강으로 주사하였다. 첫 유리체강내 주입술 시술 시 0.1 ml 전방천자를 동시에 시행하였다. 전방수내 관련 인자들의 농도변화를 비교하기 위하여 안과적 기저질환이 없는 10명, 10안의 백내장 환자에서 백내장 수술 시행 전에 전방천자를 통하여 0.05 ml의 전방수를 얻었다. 전방수 검체는 milliplex human cytokine panel I-6 plex kit (xMAP; Luminex Corp. Austin, TX, USA)를 이용하여 전통적인 ELISA 방법과 훌륭한 연관성을 보여주는 Luminex multiplex bead assay를 시행하였다.¹⁴

분석방법은 제조회사의 검사방법을 준수하여 시행하였으며 IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, MCP-1, VEGF를 포함한 6개의 관련 인자들을 분석하였다. 전방수 표본은 희석하지 않고 모든 과정은 빛을 차단한 후 실온 상태에서 시행되었다. 표본은 suspension array system에 의해 입력되었다. 각 관련 인자들의 표준곡선은 제조회사의 reference cytokine concentrations에 의해 만들어졌다. 농도의 정확한 측정을 위하여 대조군을 포함한 모든 표본은 같은 실험 과정을 두 번에 걸쳐 이중으로 측정하였다. 측정가능범위는 1.0-10,000 pg/ml였다.

각 인자들에 대한 결과는 평균값, 중간값 및 사분위수 범위(25-75퍼센트)로 나타내었다. 당뇨환자군과 대조군간의 비교분석은 independent *t*-test로 검정하였고, 다그룹간 분석을 위해 Kruskal-Wallis test를 시행하였다. 두 그룹간의 비교 검정을 위해 Wilcoxon rank sum test를 사용하였고, 인자들과 빛간섭단층촬영에서의 중심황반두께와 연관성 검정을 위해 Spearman's correlation test를 이용하였다. 통계분석은 SPSS 17.0 software (SPSS Inc. Chicago, IL, USA)을 사용하였다. *p*-value가 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

당뇨망막병증으로 유리체강내 베바시주맙 주입술 및 전방천자를 시행한 환자는 60명 60안이었으며 대조군은 모두 10명 10안이었다. 대상환자 60명의 평균연령은 59.22 \pm 11.2세였으며 남자가 28명, 여자가 32명이었다. 대조군 10명의 평균연령은 61.30 \pm 6.4세였고 남자가 4명, 여자가

6명이었다. 대상환자 중 52명(87%)이 고혈압 병력이 있었으며 9명(15%)의 환자에서 고지혈증 병력이 있었다. 대조군에서는 각각 7명(70%), 1명(10%)에서 해당 병력이 있었다. 환자군과 대조군의 연령과 성비의 유의한 차이는 없었다($p=0.128$, $p=0.291$). 6개월의 관찰기간 동안 망막박리나 안내염 등의 유리체강내 주입술과 관련된 합병증이 발생한 예는 없었다.

당뇨망막병증의 증증도에 따른 전방수의 사이토카인, 케모카인 및 VEGF 분석 결과

Interleukin-6

대상환자 및 대조군(1군)에서 채취한 전방수의 평균(중간값 및 사분위값)은 1군 2.08 pg/ml (2.05 pg/ml, 0.22-3.75 pg/ml), 2군 10.73 pg/ml (10.45 pg/ml, 8.67-14.32 pg/ml), 3군 81.03 pg/ml (51.26 pg/ml, 34.13-109.16 pg/ml), 4군 155.31 pg/ml (120.34 pg/ml, 73.93-231.37 pg/ml), 5군 85.27 pg/ml (46.21 pg/ml, 21.49-87.53 pg/ml)였다(Fig. 1). 환자군에서의 전방수의 IL-6는 당뇨가 없는 대조군보다 통계적으로 유의하게 높

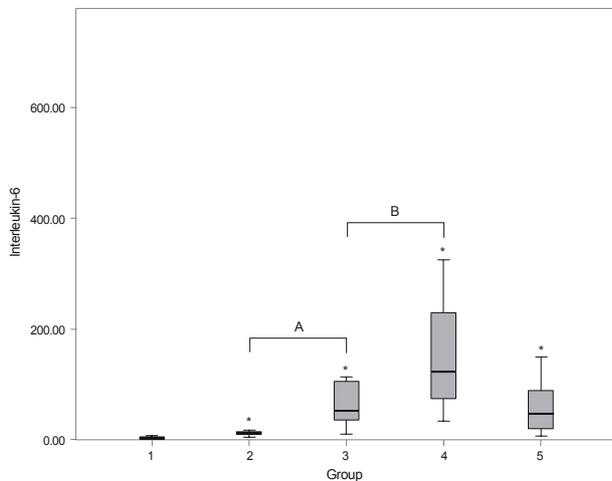


Figure 1. Aqueous levels of IL-6 in each of the five groups. The levels of IL-6 are significantly higher in all the other groups than in group 1(*). Compared with levels of IL-6 in group 2 and 3, each level of IL-6 in group 3 (A) and 4 (B) is significantly elevated. No statistically significant differences in IL-6 levels were found between group 4 and 5.

았다($p=0.005$) (Table 1). 1군보다 2군에서 통계적으로 유의하게 높은 수치를 나타냈으며($p=0.043$). 나머지 군에서도 1군에 비하여 높은 수치를 보였다(1군 vs. 3군, $p=0.001$; 1군 vs. 4군, $p<0.001$; 1군 vs. 5군, $p<0.001$). 또한 비증식당뇨망막병증에서 정도가 심한 3군에서의 결과가 2군보다 통계적으로 유의하게 높았다($p=0.006$). 그리고 심한 비증식당뇨망막병증(3군)보다 레이저치료를 하지 않은 증식당뇨망막병증(4군)에서 높은 수치를 보였다($p=0.042$). 레이저치료를 시행하지 않은 증식당뇨망막병증(4군)에 비해 레이저치료를 시행하였던 5군에서 수치가 낮아진 경향을 보였으나 통계적으로 유의하지는 않았다($p=0.577$) (Fig. 1).

Interleukin-8

전방내 농도의 평균은 1군 6.14 pg/ml (5.36 pg/ml, 4.26-8.58 pg/ml), 2군 9.23 pg/ml (8.34 pg/ml, 5.42 pg/ml-12.31 pg/ml), 3군 23.76 pg/ml (26.15 pg/ml, 16.06-29.22 pg/ml), 4군 37.50 pg/ml (39.87 pg/ml, 34.12-44.87 pg/ml), 5군 31.62 pg/ml (27.72 pg/ml, 13.29-42.31 pg/ml)였다(Fig. 2). 환자군에서의 IL-8의 농도는 대조군보다 통계적으로 유의하게 높았다($p=0.001$) (Table 1). 대조군(1군)과 2군의 유의한 차이는 보이지 않았다($p=0.103$). 나머지 3, 4, 5군과 1군 사이에는 통계적으로 유의한 차이(1군 vs. 3군, $p=0.003$; 1군 vs. 4군, $p=0.012$; 1군 vs. 5군, $p=0.001$)를 보였지만, 군 간의 유의한 차이를 보이지는 않았다(2군 vs. 3군, $p=0.113$; 3군 vs. 4군, $p=0.505$). 레이저 치료를 받은 군(5군)에서 치료를 받지 않은 군(4군)에서보다 유의하게 낮아진 수치를 보여주었다($p=0.042$) (Fig. 2).

Interleukin-10

대상환자 및 대조군에서 채취한 전방수의 평균(중간값 및 사분위값)은 1군 0.43 pg/ml (0.28 pg/ml, 0.04-0.77 pg/ml), 2군 0.85 pg/ml (0.57 pg/ml, 0.47-1.34 pg/ml), 3군 1.24 pg/ml (0.67 pg/ml, 0.43-1.95 pg/ml), 4군 1.67 pg/ml (1.68 pg/ml, 0.19-2.45 pg/ml), 5군 1.35 pg/ml (1.27 pg/ml, 0.55-1.97 pg/ml)였다(Fig. 3). 환자군에서의 전방수의 IL-10은 당뇨가 없는 대조군보다 통계적으로

Table 1. Mean aqueous levels (Mean \pm Standard deviation, pg/ml) of inflammatory cytokines, chemokine and VEGF in diabetic and nondiabetic subjects

	IL-6	IL-8	IL-10	IL-13	MCP-1	VEGF
Nondiabetic (10 eyes)	2.083 \pm 1.67	6.14 \pm 0.78	0.43 \pm 0.15	0.78 \pm 0.10	723.25 \pm 46.24	21.91 \pm 2.98
Diabetic (60 eyes)	93.23 \pm 110.44	28.90 \pm 2.41	1.35 \pm 0.14	0.93 \pm 0.04	1878.46 \pm 91.56	46.50 \pm 5.94
<i>p</i> -value	0.005	0.001	0.035	0.775	<0.001	0.034

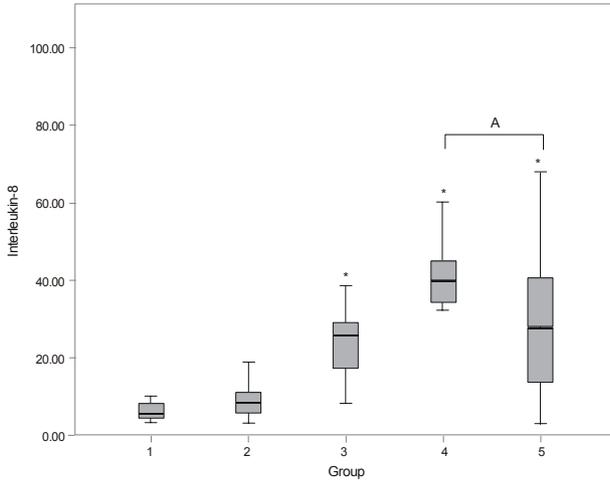


Figure 2. Aqueous levels of IL-8 in each of the five groups. The levels of IL-8 are significantly higher in group 3, 4, 5 than in group 1(*). There are no statistically significant differences between group 1 and group 2. The levels of IL-8 are significantly lower in group 5 than in group 4 (A).

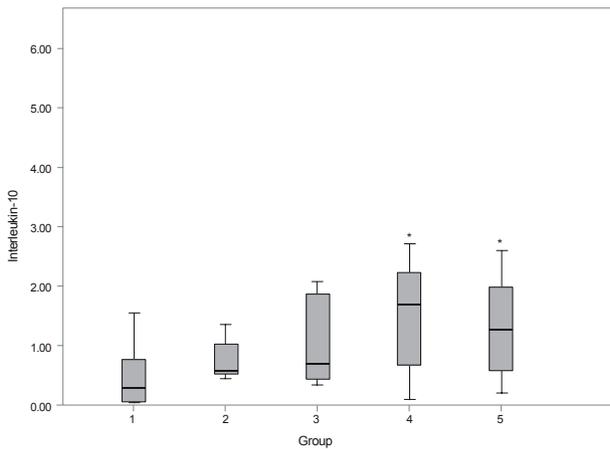


Figure 3. Aqueous levels of IL-10 in each of the five groups. The levels of IL-10 in group 4 and 5 are significantly higher than in group 1(*). No statistically significant differences in IL-10 levels are found among the five groups.

유의하게 높았다($p=0.035$) (Table 1). 대조군과 2군, 대조군과 3군의 차이는 보이지 않았지만(각각 $p=0.593$; $p=0.051$), 증식당뇨망막병증의 단계로 들어간 군(4군, 5군)에서는 유의하게 증가된 수치를 보여주었다(각각 $p=0.044$; $p=0.043$). 대상환자 사이의 군간의 통계적인 차이는 보이지 않았다(2군 vs. 3군, $p=0.154$; 3군 vs. 4군, $p=0.614$; 4군 vs. 5군, $p=0.234$) (Fig. 3).

Interleukin-13

대상환자 및 대조군에서 채취한 전방수의 평균(중간값 및 사분위값)은 1군 0.78 pg/ml (0.87 pg/ml, 0.46–0.96 pg/ml), 2군 0.85 pg/ml (0.92 pg/ml, 0.78–1.03 pg/ml),

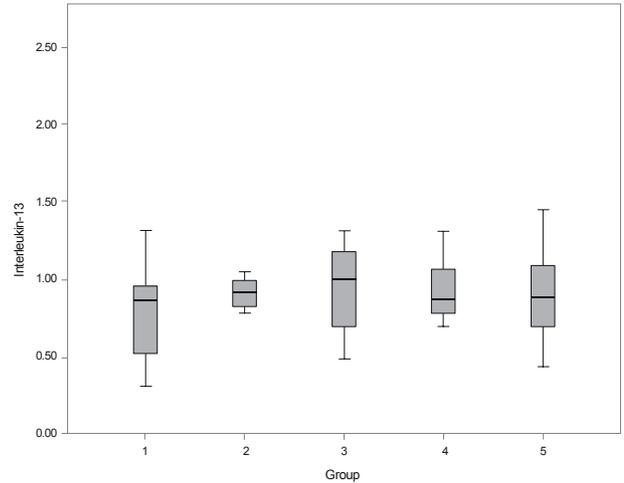


Figure 4. Aqueous concentrations of IL-13 in each of the five groups. No statistically significant differences in IL-13 levels are found among the five groups.

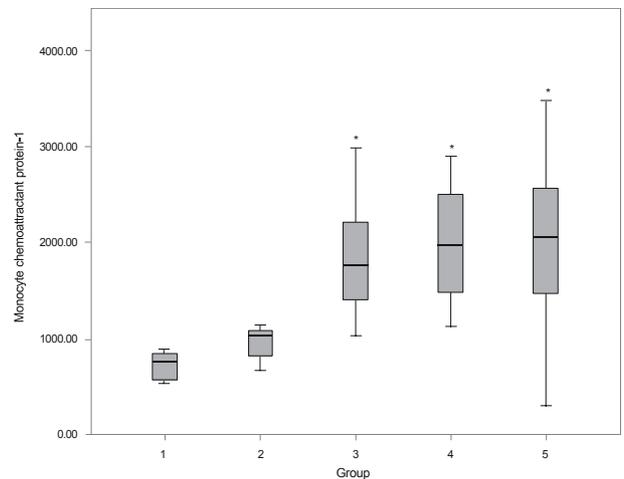


Figure 5. Aqueous concentrations of MCP-1 in each of the five groups. The levels of MCP-1 are significantly higher in group 3, 4, 5 than in group 1(*). No statistically differences are found among the five groups.

3군 1.03 pg/ml (1.01 pg/ml, 0.70–1.25 pg/ml), 4군 0.93 pg/ml (0.87 pg/ml, 0.78–1.09 pg/ml), 5군 0.91 pg/ml (0.89 pg/ml, 0.7–1.09 pg/ml)였다(Fig. 4). 환자군에서의 전방수의 IL-13은 당뇨가 없는 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다($p=0.775$) (Table 1). 또한 IL-13의 수치는 대조군보다 대상환자 모든 군에서 높아진 경향을 보였으며 특히 당뇨병망막병증의 초기와 중기에서 높아진 경향을 보였으나 유의한 차이를 나타내지는 못하였다(1군 vs. 2군, $p=0.490$; 1군 vs. 3군, $p=0.478$; 1군 vs. 4군, $p=0.230$; 1군 vs. 5군, $p=0.572$). 또한 각 군과의 차이도 통계적으로 유의하지 않았다(2군 vs. 3군, $p=0.311$; 3군 vs. 4군, $p=0.113$; 4군 vs. 5군, $p=0.460$) (Fig. 4).

Monocyte Chemoattractant Protein-1

대상환자 및 대조군에서 채취한 전방수의 평균(중간값 및 사분위값)은 1군 723.25 pg/ml (761.99 pg/ml, 570.92-859.40 pg/ml), 2군 1006.62 pg/ml (1032.45 pg/ml, 765.34-1136.49 pg/ml), 3군 1854.18 pg/ml (1775.64 pg/ml, 1339.09-2278.58 pg/ml), 4군 2008.84 pg/ml (1981.23 pg/ml, 1450.69-2545.23 pg/ml), 5군 2049.17 pg/ml (2062.19 pg/ml, 1468.86-2607.80 pg/ml)였다(Fig. 5). 환자군에서 전방수의 MCP-1은 대조군보다 통계적으로 유의하게 높았다($p < 0.001$) (Table 1). 또한 전방수의 MCP-1의 대조군과 차이는 2군에서는 유의하지 않았으나($p = 0.224$), 대조군에 비해 3군($p = 0.004$), 4군($p < 0.001$), 5군($p = 0.001$)에서 통계적으로 유의하게 증가된 수치를 보였다. 각 군과의 비교에서 2군에서 보다 3군에서, 3군에서 보다 4군에서, 4군에서보다 5군에서 증가된 경향을 보였으나 통계적 의미는 찾을 수 없었다(2군 vs. 3군, $p = 0.060$; 3군 vs. 4군, $p = 0.914$; 4군 vs. 5군, $p = 0.639$) (Fig. 5).

Vascular Endothelial Growth Factor

대상환자 및 대조군에서 채취한 전방수의 평균(중간값 및 사분위값)은 1군 21.91 pg/ml (20.44 pg/ml, 13.20-32.91 pg/ml), 2군 23.64 pg/ml (24.50 pg/ml, 14.23-28.34 pg/ml), 3군 32.47 pg/ml (32.96 pg/ml, 14.74-46.60 pg/ml), 4군 87.88 pg/ml (70.23 pg/ml, 46.54-140.28 pg/ml), 5군 35.25 pg/ml (20.97 pg/ml, 18.17-44.13 pg/ml)였다(Fig. 6). 환자군에서 전방수의 VEGF는 당뇨가 없는 대조군보다 통계적으로 유의하게 높았다($p = 0.034$)

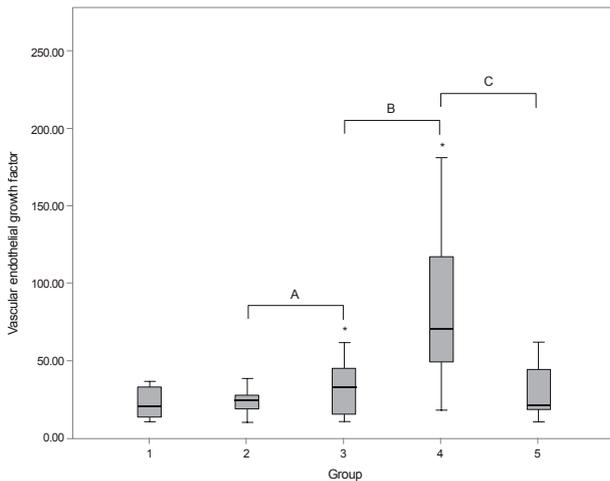


Figure 6. Aqueous concentrations of VEGF in each of the five groups. The levels of VEGF are significantly higher in group 3, 4 than group 1(*). There are significant differences between group 2 and 3 (A), group 3 and 4 (B), group 4 and 5 (C).

(Table 1). 당뇨환자의 전방수의 VEGF는 2군에서의 경우는 대조군과 통계적으로 유의한 차이를 보이지는 않았지만($p = 0.643$), 3군과 4군에서는 유의하게 증가된 수치를 보였다(1군 vs. 3군, $p = 0.021$; 1군 vs. 4군, $p = 0.003$). 레이저 치료를 시행한 군(5군)에서는 차이를 보이지 않았다(1군 vs. 5군, $p = 0.117$). 군 간의 차이를 비교한 결과에서는 심한 비증식당뇨망막병증(3군)에서의 경우가 2군보다 유의하게 높아진 결과($p = 0.027$)를 보였고, 심한 비증식당뇨망막병증(3군)에서보다 레이저 치료를 받지 않은 증식당뇨망막병증(4군)에서 역시 증가된 수치를 보였다($p = 0.007$). 또한 레이저 치료를 받은 군(5군)은 레이저 치료를 받지 않은 증식당뇨망막병증(4군)에서 보다 통계적으로 유의하게 낮은 결과를 보였다($p = 0.009$) (Fig. 6).

당뇨황반부종의 증증도에 따른 전방수의 사이토카인, 케모카인 및 VEGF 분석 결과

전자의 대상환자 중 당뇨황반부종이 있으며 포함 및 제외기준 조건을 만족하는 환자를 선정하였는데, 대상환자는 2군의 7명 중 5명, 3군의 12명 중 9명, 4군의 15명 중 11명으로 총 25명이었다. 대상환자의 각 군에서의 빛간섭단층촬영의 중심황반두께 측정결과의 평균(중간값, 사분위값)은 각각 1군 204 μm (203 μm , 195-209 μm), 2군 411 μm (430 μm , 335-477 μm), 3군 470 μm (487 μm , 328-651 μm), 4군 475 μm (464 μm , 350-592 μm)였다. 당뇨황반부종이 있는 환자의 전방수의 IL-6와 MCP-1, VEGF수치는 중심황반두께와 양의 상관관계를 보였다(IL-6, Spearman's rho=0.604, $p = 0.001$, MCP-1, Spearman's rho=0.486,

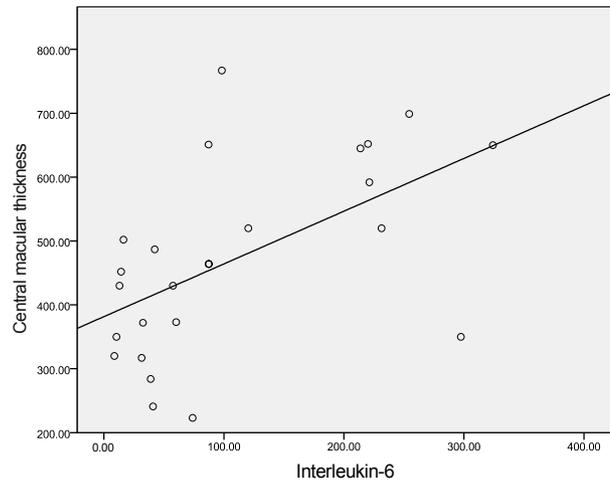


Figure 7. Correlation analysis of the IL-6 in aqueous humor and central macular thickness. Positive correlation between aqueous IL-6 level (pg/ml) and central macular thickness (μm) (Spearman's rho = 0.604, $p = 0.001$).

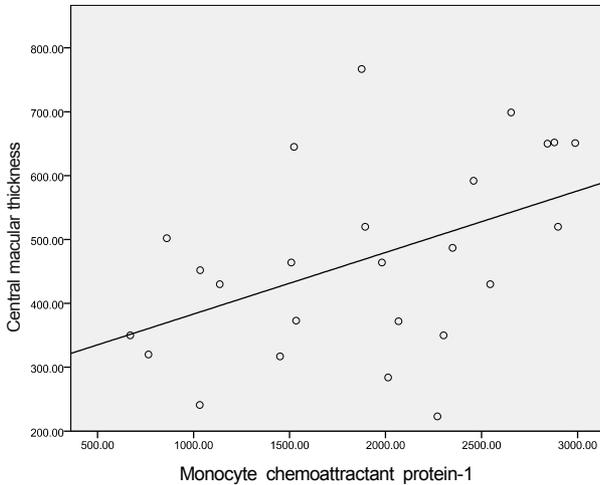


Figure 8. Correlation analysis of the MCP-1 in aqueous humor and central macular thickness showing the positive correlation between aqueous MCP-1 level (pg/ml) and central macular thickness (μm) (Spearman's rho = 0.486, $p = 0.014$).

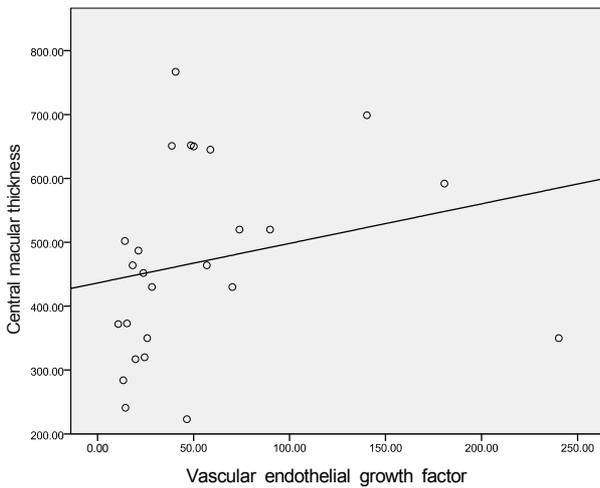


Figure 9. Correlation analysis of the VEGF in aqueous humor and central macular thickness showing the positive correlation between aqueous VEGF level (pg/ml) and central macular thickness (μm) (Spearman's rho = 0.467, $p = 0.019$).

$p=0.014$; VEGF, Spearman's rho=0.467, $p=0.019$). (Fig. 7-9).

IL-8의 경우는 중심황반두께와 유의한 연관성을 보이지는 않았으며(Spearman's rho=0.273, $p=0.187$) IL-10의 경우에는 음의 상관관계 경향을 보였으나 통계적인 의의는 보이지 않았다(Spearman's rho=-0.372, $p=0.067$). IL-13의 경우 양의 상관관계 경향을 보였으나 역시 통계적인 의의는 찾지 못하였다(Spearman's rho=0.355, $p=0.082$).

통계적인 상관성을 보여준 IL-6, MCP-1 및 VEGF 간의 상관성 분석을 시행하였는데 IL-6와 MCP-1, IL-6와 VEGF, MCP-1과 VEGF는 매우 높은 양의 상관관계(각각

Spearman's rho=0.681, $p<0.001$; Spearman's rho=0.722, $p<0.001$; Spearman's rho=0.486, $p=0.014$)를 보여주었다.

고 찰

당뇨는 고혈당과 관련된 낮은 단계의 만성 염증과 관련된 질환이라고 할 수 있다. 당뇨와 관련된 염증 수치들은 증가되고 결과적으로 사이토카인과 연관된 만성적인 염증이 여러 합병증을 유발하게 되며 당뇨병망막병증 및 당뇨황반부종이 그 예이다.^{15,16} 이러한 인자들에 대한 연구가 많이 진행되고 있지만 아직 각각의 정확한 역할에 대해 밝혀진 것은 거의 없다. 이에 본 저자들은 전방수내의 사이토카인, 케모카인 및 VEGF를 분석하여 당뇨병망막병증 진행과의 관련성 및 여러 인자들의 역할에 대하여 알아보기 위하여 연구를 진행하였다.

IL-6는 면역과정과 급성기 반응을 조절하는 중요한 사이토카인이다. 이는 섬유모세포, 단핵구, T 림프구, B 림프구, 혈관내피세포와 같은 다양한 세포에 의해 생산되며 VEGF의 발현증가와 관련되어 있는 것으로 알려졌다. 기존 연구에서 증식당뇨망막병증, 포도막염, 증식유리체망막병증, 신생혈관녹내장에서 IL-6가 증가된다는 것이 알려졌다.⁷ IL-6는 이전의 연구에서 증식당뇨망막병증에서 신생혈관의 생성과 관련이 있다는 것과 당뇨황반부종 발생에 중요한 역할을 한다고 알려졌다.¹⁷ Funatsu et al^{7,8}은 빛간섭단층촬영에서 중심망막두께와 황반부 용적의 증가에 따라 전방내 IL-6의 농도가 증가된다고 하였다. 본 연구의 결과 역시 당뇨병망막병증의 단계가 높아질수록 전방내 IL-6의 농도는 증가하였으며 급성기 염증과 관련하여 초기부터 증가하기 시작하여 혈관생성과 밀접한 연관이 있는 증식당뇨망막병증에서 크게 증가된 수치를 보여주었다. 이후 레이저 치료를 시행한 후에는 감소한 소견을 나타내었다. 또한 당뇨황반부종의 정도와도 유의한 관련성을 보였다.

IL-8은 증식당뇨망막병증 환자에서 유리체내 농도가 증가하는 것으로 알려졌으며¹⁸ 저산소증에 의해 유발되며 혈관생성을 촉진하는 것으로 알려졌다.¹⁹ 이전 연구에서 활발한 증식당뇨망막병증 환자에서 유리체내 IL-8이 비활성 단계의 증식당뇨망막병증 환자보다 높다고 하였다.¹⁸ 본 연구의 결과 역시 전방내 IL-8의 농도는 대조군과 비증식당뇨망막병증 환자군에서는 유의한 차이를 보이지 않았지만 비증식당뇨망막병증의 경우보다 증식당뇨망막병증에서 유의하게 높은 것으로 나타났으며 IL-8이 증식당뇨망막병증 환자에서 안구내 농도가 증가한다는 기존의 연구 결과와 일치한다. 이는 혈관신생을 촉진하는 것으로 알려진 IL-8이 신생혈관이 발생하는 증식당뇨망막병증 단계에서 중요

한 역할을 할 것이라는 근거가 될 수 있다.

MCP-1은 망막내피세포에 의해 생산되며 화학주성 사이토카인의 일종으로 혈관손상 후 혈관벽의 단핵구 보충에 주된 역할을 담당한다.²⁰ 기존 연구에서 당뇨망막병증의 진행에 따라 전방내의 MCP-1 농도가 증가한다고 하였으며⁴ 증식당뇨망막병증에서 유리체내 농도가 증가된다는 보고도 있다.¹⁸ 본 연구에서도 마찬가지로 중등도 비증식당뇨망막병증 단계에서부터 증가하는 추이를 보였다.

위의 내용을 종합하여 볼 때 당뇨망막병증의 정도가 심해짐에 따라 IL-6, IL-8, MCP-1 등의 염증성 사이토카인 및 케모카인의 전방수내 농도가 증가하는 경향을 보인다는 점을 확인할 수 있었으며, 이러한 사이토카인 및 케모카인의 전방수내 농도 증가가 만성적 염증진행과정인 당뇨망막병증의 진행과 관련이 있음을 추측해 볼 수 있겠다.

한편 IL-10은 활성화된 단핵구와 대식구, T, B 림프구에 의해 분비되고 염증성 사이토카인의 발현을 억제하는 역할을 하는 것으로 알려졌으며²⁰⁻²² 동물실험에서 저산소 상태에서 유발하는 신생혈관을 억제하는 것으로 보고되었다.²³ 그러나 IL-10과 당뇨망막병증의 관계에 대해서는 아직 명확히 알려져 있지 않다.²² 당뇨병 환자를 대상으로 한 연구에서 당뇨망막병증이 없는 군에서 당뇨망막병증이 있는 군보다 전방내 IL-10의 농도가 높은 것으로 보고 하였으며,²⁴ 당뇨망막병증환자를 대상으로 하여 혈청내 사이토카인 농도를 구한 다른 연구에서는 비록 통계적 유의성을 보이지 않았지만 비증식당뇨망막병증 환자에 비하여 증식당뇨망막병증 환자에서 혈청내 IL-10의 평균 농도가 증가된 결과를 보였다고 보고하였다.²⁵ 다른 연구에서 증식당뇨망막병증 단계에서 유리체내의 IL-10농도가 증가하였다는 보고도 있다.²⁶ 본 연구에서도 비슷한 연구 결과를 보였는데, 전방내 IL-10의 수치는 대조군과 비증식당뇨망막병증 사이에서 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았지만 증식당뇨망막병증의 단계에서 전방내 농도가 통계적으로 유의하게 증가되었다. 본 연구결과에서 증식당뇨망막병증 단계에서 IL-10의 전방내 농도가 증가한 것은 항염증 역할을 하는 IL-10이 당뇨망막병증에서 발생하는 염증연쇄과정에 대한 보상기전으로 이해할 수 있으며, 추가적으로 혈관신생과정에서 혈관신생의 발현과 관련한 과정에서의 보상기전 또한 추측해 볼 수 있다.

IL-10과 함께 항염증성 사이토카인 중 하나인 IL-13은 Th2 세포 및 비만세포, 자연살해세포에 의해 주로 생성되고 MHC class II 및 CD23 유전자 발현증가를 통하여 단핵구 및 대식구와 관련된 IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , IL-12 등의 염증성 사이토카인 유전자 발현을 억제하는 것으로 알려졌다.²⁷ 최근의 연구결과로 당뇨망막병증에서

유리체내 농도가 증가하였다는 보고가 있으나²⁶ 오히려 1형과 2형 당뇨병 환자를 대상으로 한 연구들에서는 당뇨환자에서 혈청내 농도는 정상대조군에 비하여 감소하였다는 보고가 있다.^{28,29} 본 연구에서도 비록 통계적으로 유의하지는 않으나 정상대조군에 비하여 당뇨망막병증 환자에서 전방수내 농도가 증가한 결과를 보였고, 특히 중등도 비증식당뇨망막병증에서 더욱 증가된 경향을 보였다. 유리체내에서의 연구결과와²⁶ 일치하는 결과를 보여주었다. 이러한 점을 미루어 볼 때 당뇨환자에서 IL-13의 전신적인 역할과 당뇨망막병증 환자의 안구내 국소적인 역할이 서로 다름을 시사하는데 안구내에서 당뇨망막병증에서 유리체내의 IL-6, IL-8, TNF- α , MCP-1 등의 염증성 사이토카인들이 증가하는 점으로 보아³⁰ IL-10과 마찬가지로 IL-13 역시 이러한 염증성 사이토카인들의 증가로 인한 보상적인 작용으로 전방내 농도가 증가하였다는 추론이 가능하다. 더 나아가 IL-13의 치료적 사용이 포도막염에서의 염증을 감소시킨다는 연구,³⁰ 동물실험에서 염증진행과정에 관여하여 신생혈관을 억제한다는 연구,³¹ 혈관 내 염증과 관련된 질환인 동맥경화에서 IL-13이 보호적인 역할을 한다는³² 연구 및 기존문헌들을 종합하여 볼 때 항염증 작용을 하는 IL-13이 만성적 염증이라는 관점에서 당뇨망막병증에서도 치료적 사용이 가능함을 생각해 볼 수 있다. 하지만 아직 안구내에서의 IL-13의 작용 및 역할이 명확히 밝혀지지 않은 점을 고려하여 볼 때 당뇨망막병증에서 IL-13의 정확한 역할에 대한 연구가 좀더 필요할 것으로 생각한다.

VEGF는 혈관증식 및 혈관누출과 관련된 대표적인 사이토카인으로 황반부종의 발생과도 관련되어 있다.^{3,4} 유리체내 및 전방수에서의 VEGF 수치는 망막혈관의 투과성 및 당뇨황반부종의 중증도와 연관된 것으로 알려졌다.⁸ 본 연구에서 전방내 VEGF 농도는 비증식당뇨망막병증 보다 증식당뇨망막병증에서 높은 수치를 보였으며 레이저 치료를 받지 않은 군에서 받은 군보다 통계적으로 유의하게 높은 수치를 보였다. 또한 당뇨황반부종의 정도가 심하면 심할수록 전방내에서의 VEGF 수치는 높게 측정되었다. 이전의 연구와 마찬가지로 VEGF는 당뇨망막병증의 진행과 관련이 깊으며 활발한 증식당뇨망막병증에서의 혈관생성 및 황반부종과 깊은 연관성이 있는 것임을 알 수 있다.

결과적으로 전방수내의 IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, MCP-1, VEGF은 정상 대조군에 비해 당뇨망막병증환자에서 증가하며 IL-13을 제외한 모든 인자들이 당뇨가 진행됨에 따라 증가하는 경향을 보여주었다. 염증성 사이토카인들의 안구내 농도증가가 만성적 염증과정인 당뇨망막병증의 진행과 관련이 있다고 생각한다. 또한 당뇨황반부종은 당뇨망막병증 환자에서 중심시력의 손실을 유발하는 중요

한 원인으로²⁵ IL-6, IL-8, MCP-1와 같은 염증성 인자 및 혈관 과투과성을 유발하는 VEGF와 관련이 되어 중심황반두께가 증가함에 따라 이들의 수치도 증가되었다. 이러한 연구 결과는 황반부종과 염증성 사이토카인들간의 안구내 농도를 연구한 기존 연구들과도 부합되는 것이다.^{3,4,7,8,17,20}

한편 IL-10과 IL-13 같은 항염증성 사이토카인은 아직까지 당뇨병망막병증의 진행과 관련하여 안구내의 농도와 관련된 연구가 부족할 실정이다. 항염증성 사이토카인의 치료적 사용을 위해서는 당뇨병망막병증의 진행과 관련하여 안구내 농도변화에 대한 연구가 더 필요할 것으로 생각한다.

본 연구는 후향적으로 실시되었으며 그러한 근본적인 한계로 인하여 모든 대상안에서 빛간섭단층촬영을 비롯한 여러 검사결과를 포함하지 못한 점이 아쉬운 부분이다. 또한 대상안의 숫자가 비교적 적다는 점, 비록 전방수내 사이토카인 농도가 유리체강내의 사이토카인 농도를 반영하지만³³⁻³⁵ 유리체강내의 사이토카인을 분석하는 것이 안구내의 사이토카인 농도를 좀더 정확히 알 수 있다는 점, 그 외에도 단면적인 연구방식으로 인하여 동일한 환자에서 진행과정과 관련된 사이토카인 농도변화를 알 수는 없다는 점 또한 아쉬운 점으로 생각한다.

그러나 본 연구는 여러가지의 염증성 및 항염증성 사이토카인 및 케모카인의 안구내 농도와 당뇨병망막병증의 단계별 진행 및 당뇨황반부종의 중증도에 따른 연관성에 대해 분석한 점, 특히 기존에 시행되지 않았던 한국인을 대상으로 항염증성 사이토카인인 IL-10과 IL-13의 전방내 농도변화를 분석하였다는 점에서 의의가 있으며 더 많은 수의 환자를 대상으로 당뇨병망막병증 및 당뇨황반부종의 자연 경과와 비교한 전향적, 무작위적 이중 맹검 대조군 연구가 필요할 것으로 생각한다.

참고문헌

- 1) Murugeswari P, Shukla D, Rajendran A, et al. Proinflammatory cytokines and angiogenic and anti-angiogenic factors in vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy and Eales' disease. *Retina* 2008;28:817-24.
- 2) Funatsu H, Yamashita H, Noma H, et al. Increased levels of vascular endothelial growth factor and interleukin-6 in the aqueous humor of diabetics with macular edema. *Am J Ophthalmol* 2002; 133:70-7.
- 3) Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med* 1994;331:1480-7.
- 4) Boyd SR, Zachary I, Chakravarthy U, et al. Correlation of increased vascular endothelial growth factor with neovascularization and permeability in ischemic central vein occlusion. *Arch Ophthalmol* 2002;120:1644-50.
- 5) Moss SE, Klein R, Klein BE. Ten-year incidence of visual loss in a diabetic population. *Ophthalmology* 1994;101:1061-70.
- 6) Moss SE, Klein R, Klein BE. The 14-year incidence of visual loss in diabetic population. *Ophthalmology* 1998;105:998-1003.
- 7) Funatsu H, Yamashita H, Ikeda T, et al. Vitreous levels of interleukin-6 and vascular endothelial growth factor are related to diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2003;110:1690-6.
- 8) Funatsu H, Noma H, Mimura T, et al. Association of vitreous inflammatory factors with diabetic macular edema. *Ophthalmology* 2009;116:73-9.
- 9) Jousen AM, Poulaki V, Le ML, et al. A central role for inflammation in the pathogenesis of diabetic retinopathy. *FASEB J* 2004;18:1450-2.
- 10) Paccola L, Costa RA, Folgosa MS, et al. Intravitreal triamcinolone versus bevacizumab for treatment of refractory diabetic macular edema (IBEME study). *Br J Ophthalmol* 2008;92:76-80.
- 11) Early treatment Diabetic Retinopathy Study Research group. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs-An extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report number 10. *Ophthalmology* 1991;98:786-806.
- 12) Fisman EZ, Motro M, Tenenbaum A. Cardiovascular diabetology in the core of a novel interleukins classification: the bad, the good and the aloof. *Cardiovasc Diabetol* 2003;2:11.
- 13) Elshal MF, McCoy JP. Multiplex bead array assays: Performance evaluation and comparison of sensitivity to ELISA. *Methods* 2006;38:317-23.
- 14) Dupont NC, Wang K, Wadhwa PD, et al. Validation and comparison of luminex multiplex cytokine analysis kits with ELISA: Determinations of a panel of nine cytokines in clinical sample culture supernatants. *J Reprod Immunol* 2005;66:175-91.
- 15) Goldberg RB. Cytokine and cytokine-like inflammation markers, endothelial dysfunction, and imbalanced coagulation in development of diabetes and its complications. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:3171-82.
- 16) Gustavsson C, Agardh CD, Agardh E. Profile of intraocular tumour necrosis factor- α and interleukin-6 in diabetic subjects with different degrees of diabetic retinopathy. *Acta Ophthalmol* 2012. doi: 10.1111/j.1755-3768.2012.02430.
- 17) Hoekzema R, Murray PI, van Haren MA, et al. Analysis of interleukin-6 in endotoxin-induced uveitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1991;32:88-95.
- 18) Hernandez C, Segura R, Fonollosa A, et al. Interleukin-8, monocyte chemoattractant protein-1 and IL-10 in the vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Diabet Med* 2005; 22:719-22.
- 19) Kim KS, Rajagopal V, Gonsalves C, et al. A novel role of hypoxia-inducible factor in cobalt chloride- and hypoxia-mediated expression of IL-8 chemokine in human endothelial cells. *J Immunol* 2006;177:7211-24.
- 20) Schober A, Zernecke A. Chemokines in vascular remodeling. *Thromb Haemost* 2007;97:730-7.
- 21) Tashimo A, Mitamura Y, Nagai S, et al. Aqueous levels of macrophage migration inhibitory factor and monocyte chemoattractant protein-1 in patients with diabetic retinopathy. *Diabet Med* 2004;21: 1292-7.
- 22) Myśliwiec M, Zorena K, Balcerska A, et al. The activity of N-acetyl-beta-D-glucosaminidase and tumor necrosis factor-alpha at early stage of diabetic retinopathy development in type 1 diabetes mellitus children. *Clin Biochem* 2006;39:851-6.

- 23) Silvestre JS, Mallat Z, Duriez M, et al. Antiangiogenic effect of interleukin-10 in ischemia-induced angiogenesis in mice hindlimb. *Circ Res* 2000;87:448-52.
- 24) Cheung CM, Vania M, Ang M, et al. Comparison of aqueous humor cytokine and chemokine levels in diabetic patients with and without retinopathy. *Mol Vis* 2012;18:830-7.
- 25) Ozturk BT, Bozkurt B, Kerimoglu H, et al. Effect of serum cytokines and VEGF levels on diabetic retinopathy and macular thickness. *Mol Vis* 2009;15:1906-14.
- 26) Rangasamy S, McGuire PG, Das A. Diabetic retinopathy and inflammation: novel therapeutic targets. *Middle East Afr J Ophthalmol* 2012;19:52-9.
- 27) Hershey GK. IL-13 receptors and signaling pathways: an evolving web. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:677-90.
- 28) Chen H, Wen F, Zhang X, Su SB. Expression of T-helper-associated cytokines in patients with type 2 diabetes mellitus with retinopathy. *Mol Vis* 2012;18:219-26.
- 29) Hanifi-Moghaddam P, Kappler S, Seissler J, et al. Altered chemokine levels in individuals at risk of Type 1 diabetes mellitus. *Diabet Med* 2006;23:156-63.
- 30) Roberge FG, de Smet MD, Benichou J, et al. Treatment of uveitis with recombinant human interleukin-13. *Br J Ophthalmol* 1998;82:1195-8.
- 31) Haas CS, Amin MA, Ruth JH, et al. In vivo inhibition of angiogenesis by interleukin-13 gene therapy in a rat model of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2007;56:2535-48.
- 32) Fisman EZ, Motro M, Tenenbaum A. Cardiovascular diabetology in the core of a novel interleukins classification: the bad, the good and the aloof. *Cardiovasc Diabetol* 2003;2:11.
- 33) Noma H, Funatsu H, Yamasaki M, et al. Aqueous humour levels of cytokines are correlated to vitreous levels and severity of macular oedema in branch retinal vein occlusion. *Eye (Lond)* 2008;22:42-8.
- 34) Funatsu H, Yamashita H, Noma H, et al. Aqueous humor levels of cytokines are related to vitreous levels and progression of diabetic retinopathy in diabetic patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243:3-8.
- 35) Bakri SJ, Snyder MR, Reid JM, et al. Pharmacokinetics of intravitreal bevacizumab (Avastin). *Ophthalmology* 2007;114:855-9.

=ABSTRACT=

Analysis of Intraocular Cytokines According to Progression of Diabetic Retinopathy and Macular Edema in Diabetic Patients

Bum Ho Sin, MD¹, Jin Young Kim, MD¹, Ji Young Park, MD², Sung Pyo Park, MD¹

Department of Ophthalmology, Hallym University College of Medicine¹, Seoul, Korea
Department of Laboratory Medicine, Hallym University College of Medicine², Seoul, Korea

Purpose: To investigate the relationship between the aqueous concentrations of cytokines, chemokine, VEGF and the severity of diabetic retinopathy and diabetic macular edema.

Methods: Sixty eyes with diabetic retinopathy and diabetic macular edema, and 10 eyes of nondiabetic subjects were followed for 6 months. The aqueous levels of inflammatory and anti-inflammatory factors were measured. The aqueous levels of cytokines were investigated according to the severity of diabetic retinopathy and diabetic macular edema.

Results: The aqueous levels of IL-6, IL-8, IL-10, MCP-1, and VEGF were elevated according to the severity of diabetic retinopathy. The aqueous levels of IL-13 were higher in eyes of diabetic patients than in eyes of nondiabetic subjects, but there were no statistically significant difference between diabetic retinopathy and nondiabetic subjects. The aqueous levels of IL-6, MCP-1, and VEGF were positively correlated with central macular thickness in eyes with diabetic macular edema.

Conclusions: The aqueous levels of IL-6, IL-8, IL-10, MCP-1, and VEGF were correlated with the severity of diabetic retinopathy. The aqueous levels of IL-6, MCP-1, and VEGF were positively correlated with the severity of macular edema. *J Korean Ophthalmol Soc* 2013;54(4):618-626

Key Words: Anterior chamber, Cytokines, Diabetic macular edema, Diabetic retinopathy, Vascular endothelial growth factor

Address reprint requests to **Sung Pyo Park, MD**
Department of Ophthalmology, Hallym University Kangdong Sacred Heart Hospital
#150 Seongan-ro, Gangdong-gu, Seoul 134-814, Korea
Tel: 82-2-2224-2274, Fax: 82-2-470-2088, E-mail: sungpyo@hanafos.com