

□ 원 저 □

간질성 폐질환에서 TUNEL 아포프토시스 지수와 임상적, 방사선학적, 및 병리학적 지표와의 상관관계

단국대학교 의과대학 내과학교실, 병리학교실*

김윤섭, 명나혜*, 박재석, 지영구, 이계영

=Abstract=

The Correlation of TUNEL Apoptotic Index with Clinicoradiologicopathologic Scores in Interstitial Lung Disease

Youn Seup Kim, M.D., Na Hye Myung, M.D.*, Jae Seuk Park, M.D.,
Young Koo Jee, M.D., Kye Young Lee, M.D.

*Department of Internal Medicine and Pathology**
Dankook University College of Medicine, Cheonan, Korea

Background : Interstitial lung disease has various manifestations that are differentiated by their pathology, progress and treatment. However, all manifestations eventually progress to pulmonary fibrosis. Recent studies have shown that apoptosis of pulmonary epithelial cells might be related to pulmonary fibrosis. The correlation of the apoptotic index with the clinical manifestations, pathological findings, HRCT findings and the response to treatment were examined.

Method : Twenty subjects (14 men, 16 women), who had been diagnosed with interstitial lung disease through an open lung biopsy, were enrolled in this study. The subtypes were one AIP, two NIP, eight BOOP, and seven UIP cases. The apoptotic index was scaled from 0-2 depending on the fraction of positive staining cells by TUNEL method. The clinical severity was assessed by a modification of a previously developed CRP scoring system. The pathologic scores were based on 4 components: fibrosis, cellularity, desquamation, and granulation. In the HRCT study, each lobe was scored by the radiologists on a scale for both fibrosis and ground-glass attenuation. The treatment response was assessed by an increase in more than 10% of the CRP score, and comparing the results 3 months before and after

*이 연구는 2000학년도 단국대학교 대학연구비의 지원으로 연구되었음

Address for correspondence :

Kye Young Lee, M.D.

Department of Internal Medicine, Dankook University Medical Center

16-5, Anseo-dong, Cheonan, 330-715, Korea

Phone : 041-550-3916 Fax : 041-556-3256 E-mail : kyleemd@dankook.ac.kr

.treatment.

Results : The apoptotic index showed no correlation with the CRP and HRCT scoring system. The apoptotic index correlated with the pathologic elements including fibrosis, cellularity and the desquamation score ($p<0.05$). Of the 16 patients who received corticosteroid therapy, 9 patients (56.3%) responded to therapy. There was no correlation between the response to corticosteroid and the apoptotic index. In the case of patients with acute and subacute ILD, the apoptotic index showed a correlation with the cellularity, desquamation, and the total histological score ($p<0.05$). In the case of patients with chronic ILD, the apoptotic index correlated with the fibrosis and cellularity score ($p<0.05$).

Conclusion : Apoptosis of the pulmonary epithelial cells is implicated in the pathogenesis of interstitial lung disease particularly on a pathological basis. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2002, 53:136-147)

Key words : Interstitial lung disease, Apoptosis, TUNEL.

서 론

간질성 폐질환은 아직 밝혀지지 않은 원인에 의해 만성적으로 폐간질 및 폐포에 만성적으로 진행성 염증을 일으키고 이에 따른 섬유화가 초래되는 질환으로서 기능적으로 강직폐가 되어 제한성 기능장애와 폐포-모세혈관의 산소섭취, 그리고 확산능력의 저하를 일으킨다. 일반적으로 중년이후의 성인에서 호발하며 기침, 호흡곤란 등의 호흡기 증상이 서서히 진행되어 폐의 섬유화에 따른 만성적인 호흡부전을 초래하는 질환이다¹⁻³. 간질성 폐질환은 병리소견을 기준으로 일반적으로 통상성 간질성 폐렴(UIP), 탈락성 간질성 폐렴(DIP), 비특이성 간질성 폐렴(NSIP), 급성 간질성 폐렴(AIP), 폐쇄성 세기관지염-기질화 폐렴(BOOP)으로 분류를 하며 이에 따른 임상양상과 치료에 대한 반응은 다양하게 나타나지만 궁극적으로는 폐섬유화로 진행하게 된다⁴⁻⁶.

간질성 폐질환의 병태생리에 대해서는 확실히 규명되지는 않았지만 원인 미상의 폐 상피세포의 손상이 적절히 치유되지 않으면서 간엽세포의 증식이 유발되고 결국에는 섬유화로 진행된다는 것이 일반적인 설명이다. 최근에는 간질성 폐질환 환

자의 기관지폐포세척액의 염증세포에서 Fas-FasL의 발현이 증가된다는 것이 알려졌으며, 폐상피세포의 재생과정에서 2형 폐포세포의 아포프토시스가 폐 섬유화의 주요기전으로 작용한다고 보고되어 간질성 폐질환의 기전에 아포프토시스가 관여한다는 것이 알려지고 있다⁷⁻⁹.

이에 연구자들은 간질성 폐질환 환자의 폐조직에서 아포프토시스의 지수가 간질성 폐질환 환자의 임상양상, 방사선소견, 그리고 병리소견과 어떠한 상관관계가 있는지에 대해서 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

개흉 또는 흉강경을 통한 수술적 폐생검 검사를 통해서 간질성 폐질환이 진단되었던 20명의 조직 표본을 대상으로 하였으며 환자의 평균연령은 60.3세, 성별은 남성 14명, 여성 6명 이었다. 병리학적 분류로 급성 간질성 폐렴 3례, 비특이성 간질성 폐렴 2례, 폐쇄성 세기관지염-기질화 폐렴 8례, 그리고 통상성 간질성 폐렴 7례 이었다.

2. 방 법

1) 아포프토시스 지수

조직학적으로 아포프토시스 세포를 특이적으로 확인할 수 있는 in situ cell death detection kit(Boehringer Mannheim, Germany)를 이용한 TUNEL (Tdt-mediated dUTP nick end labeling)방법을 이용하였다^{10,11}. TUNEL 방법은 terminal deoxynucleotidyl transferase (Tdt)를 이용하여 기질반응 후에 염색하여, 현미경으로 염색유무를 확인함으로써 in situ로 아포프토시스를 확인할 수 있는 표준 방법으로 사용되고 있다. 파라핀에 포매된 조직절편을 탈파라핀시킨 후 다시 탈수시키고, 단백질을 제거하기 위하여 proteinase K로 처리한 후 증류수로 세척하였다. Hydrogen peroxide를 가하여 내인성 peroxidase를 불활성화 시키고 세척한 후 permeabilization 용액으로 얼음 위에서 2분간 처리하고 세척한 다음, TUNEL 반응용액으로 37℃에서 60분간 반응시킨 후 세척하였다. Converter-POD 용액으로 37℃에서 30분 간 습도가 유지되는 chamber에서 반응시킨 후 세척과정을 거쳐서 기질용액을 첨가하여 실온에서 10분간 염색시킨 후 광학현미경으로 관찰하였다(Fig. 1a,b).

아포프토시스의 지수는 조직검체의 모든세포를 대상으로 염색반응을 나타내는 아포프토시스가 일어난 세포의 비율에 따라서 0에서 2로 정량화하였다. 0은 양성소견을 보이는 세포가 없을 때, 1은 10% 미만일 때, 2는 세포의 10%이상에서 양성소견을 보일 때로 결정하였다¹².

2) 임상적 지표 : CRP 점수체계

임상적 중증도는 Watters등이 사용하였던 CRP 점수체계를 이용하였다¹³. 환자의 임상소견, 흉부방사선 검사, 폐기능검사 및 동맥혈 가스분석검사 등을 시행하여 각각의 점수를 치료전과 치료후로 비교 분석하였다.

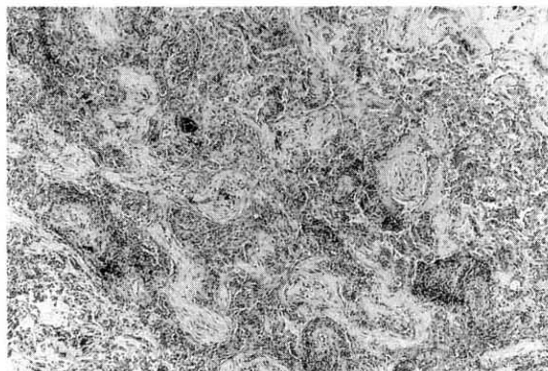


Fig. 1a. BOOP. Cellular mesenchymal proliferation is observed expanding the lumen of several bronchioles accompanied by some interstitial changes in the surrounding parenchyma. (H & E, $\times 100$)

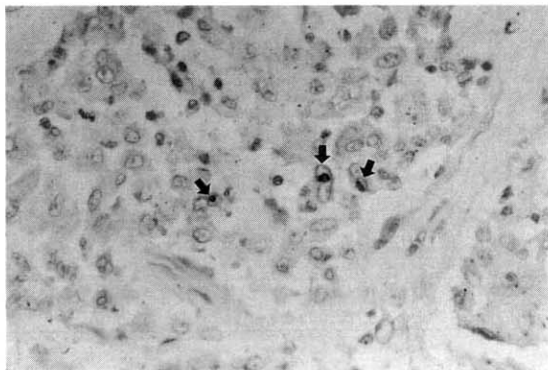


Fig. 1b. TUNEL stain of BOOP reveals the localization of DNA strand breaks in epithelial cells. ($\times 400$)

가. 임상점수(C) :

호흡곤란의 정도를 문진을 통하여 최소 0점에서 최고 20점까지 치료전과 후로 각각 점수화하였다.

나. 방사선학 점수(R) :

흉부 전후위 방사선촬영을 시행하여 간질성 폐질환에 의한 폐침범양상을 폐실질 침윤, 붕와폐양상 및 폐성고혈압 여부에 의해 치료전과 후로 각각 점수화하였다.

다. 생리적검사 점수(P) :

폐기능검사와 동맥혈 가스분석검사를 시행하여 노력성 폐활량, 1초간 노력 성 호기량, 일산화탄소 확산능-폐포용적비, 그리고 폐포-동맥혈 산소분압차 등을 구하였고 치료 전과 후로 각각 점수화하였다.

임상점수, 방사선학점수, 그리고 생리적검사점수를 합하여 전체 CRP 점수를 구하였고 3개월간의 치료후에 CRP 점수가 10점이상 감소하면 치료에 반응을 하는 군으로, 10점이상 증가하면 치료에 반응을 하지 않는 군으로 분류하였다.

3) 흉부고해상도단층촬영 점수(HRCT Score)

간질성 폐렴의 HRCT 소견인 간유리음영 (Ground glass opacity)과 봉와양음영 (Honeycombing)을 각 엽별로 침범한 정도에 따라서 Kazerooni등이 사용하였던 방법으로 점수화하였다¹⁴.

4) 조직학적 점수(Histologic Score)

생검으로 얻은 환자의 조직절편을 염색하여 폐포벽의 세포화 범위와 정도, 기도강내 이형성 세포들, 폐포공간내의 세포화의 범위와 정도, 새로운 간질성 교원조직, 간질성 섬유화, 봉와양 낭종, 기질내 이형성 평활근, 혈관벽내 근동맥내막벽의 비후, 기도관내 과립성조직, 기도강 과립성조직, 기도벽 염증, 기도벽 섬유화 등의 14가지의 특징적인 조직병리학적 모양을 가지고 분석을 하였다. 이러한 조직학적 특징은 Gay, Cherniack등의 연구를 토대로 기본적으로 섬유화 점수, 세포충실도 점수, 탈락성 점수, 그리고 육아조직성 점수로 점수화 하였다^{15,16}.

3. 통계적 방법

각각의 검사지표를 치료전후로 아포프토시스 지수와 상관관계를 비교하였으며 통계처리는 Spear-

Table 1. Relationships between apoptotic grading and component of the CRP scores

Apoptotic grading	r	p
vs age	-0.22	0.34
smoking	0.05	0.84
symptom onset	-0.36	0.13
follow up chest PA score	-0.07	0.77
FVC%pred change	0.43	0.11
FEV1%pred change	0.43	0.11
DLC0/VA%pred change	0.33	0.26
CRP score change	-0.02	0.95

man's rank correlation coefficient 와 T-test를 이용하였고 p 값이 0.05 미만인 경우를 의미있는 것으로 보았다.

결 과

1. 아포프토시스 지수와 임상적 지표와의 상관관계

아포프토시스 지수 0에서 나이는 63.7 ± 8.5 , 흡연력(pack year, 이하 py)은 18.3 ± 21.4 , 방사선점수의 변화는 2.6 ± 2.3 , FVC 변화점수는 22.7 ± 26.1 , FEV₁ 변화점수는 16.5 ± 26.8 , DLC0/VA 변화점수는 9.5 ± 26.2 , 그리고 총 CRP 점수의 변화는 33.2 ± 46.4 이었다. 아포프토시스 지수 1에서는 나이 59.1 ± 10.5 , 흡연력(py) 18.3 ± 16.6 , 방사선점수의 변화 2.3 ± 2.7 , FVC 변화점수 37.1 ± 25.5 , FEV₁ 변화점수 25.5 ± 24.0 , DLC0/VA 변화점수 27.7 ± 55.9 , 그리고 총 CRP 점수의 변화 34.1 ± 51.6 이었다. 아포프토시스 지수 2에서는 나이 57.5 ± 14.8 , 흡연력(py) 20.0 ± 28.3 , 방사선점수의 변화 2.0 ± 2.8 , FVC 변화점수 51.1 ± 20.0 , FEV₁ 변화점수 59.8 ± 21.5 , DLC0/VA 변화점수 48.0 ± 26.7 , 그리고 총 CRP 점수의 변화 31.5 ± 72.9 로 아포프토시스의 정도와 CRP 점수체계의 요소들과는 통계적으로 유의한

Table 2. Relationships between apoptotic grading and HRCT scores

Apoptotic grading	r	p
vs		
Ground-glass score	0.31	0.24
Fibrosis score	-0.01	0.97

상관관계가 없었다(Table 1).

2. 아포프토시스 지수와 HRCT 점수와의 상관관계

아포프토시스지수 0에서 간유리음영의 점수는 5.2 ± 6.0 , 붕와양음영의 점수는 1.4 ± 2.2 이었고, 아포프토시스지수 1에서는 간유리음영의 점수는 6.8 ± 8.1 , 붕와양음영의 점수는 3.0 ± 6.7 이었으며, 그리고 아포프토시스지수 2에서는 간유리음영의 점수는 13.5 ± 4.9 , 붕와양음영의 점수는 0 으로 아포프토시스의 정도와 HRCT 소견인 간유리음영 점수와 붕와양음영 점수는 p값이 각각 0.24, 0.97, r값이 각각 0.31, -0.01 로 유의한 상관관계가 없었다(Table 2).

3. 아포프토시스 지수와 조직학적 점수와의 상관관계

아포프토시스 지수 0에서 섬유화 점수는 3.8 ± 3.0 , 세포충실도 점수는 2.8 ± 1.8 , 탈락화 점수는 0.8 ± 1.1 , 육아조직성 점수는 1.8 ± 1.5 , 총 조직학적 점수는 9.2 ± 4.9 이었고, 아포프토시스 지수 1에서는 섬유화 점수 8.5 ± 4.0 , 세포충실도 점수는 6.2 ± 1.3 , 탈락화 점수는 6.0 ± 3.1 , 육아조직성 점수는 2.5 ± 1.2 , 총 조직학적 점수는 23.1 ± 6.8 이었으며, 그리고 아포프토시스 지수 2에서는 섬유화 점수 12.0 ± 4.2 , 세포충실도 점수는 9.5 ± 0.7 , 탈락화 점수는 7.0 ± 4.2 , 육아조직성 점수는 1.5 ± 0.7 , 총 조직학적 점수는 30.0 ± 9.9 로 아포프토시스의 정도와 조직학

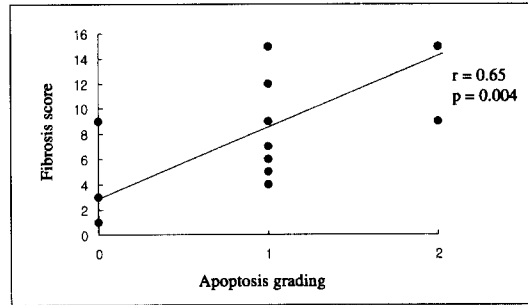


Fig. 2a. Relationships between apoptosis grading and fibrosis score.

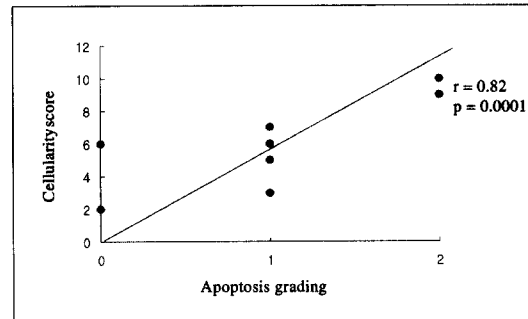


Fig. 2b. Relationships between apoptosis grading and cellularity score.

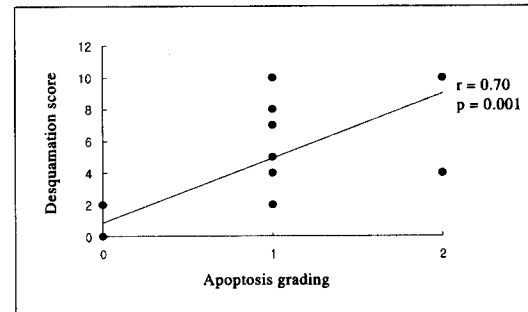


Fig. 2c. Relationships between apoptosis grading and desquamation score.

적 소견의 상관관계는 섬유화 점수, 세포충실도 점수, 탈락화 점수, 그리고 총 조직학적 점수에서 통계적으로 유의한 상관관계를 보였으나 육아조직성 점수에서는 유의한 상관관계를 보이지 않았다(Fig 2a-e).

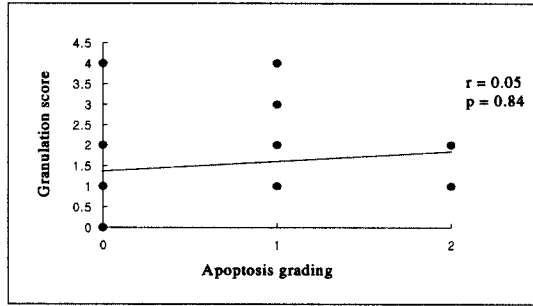


Fig. 2d. Relationships between apoptosis grading and granulation score.

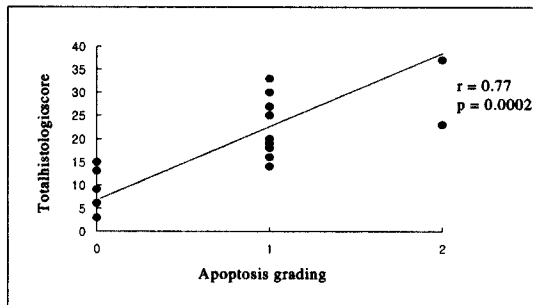


Fig. 2e. Relationships between apoptosis grading and total histologic score.

4. 아포프토시스 지수와 치료의 반응과의 상관관계

아포프토시스 정도와 치료에 반응을 한 군에서의 여러 지표들을 비교해 보았다. 연령과 흡연력, 증상의 시작정도, 폐기능 검사소견, 방사선 소견등과는 통계적으로 무관한 관계를 보였으며 병리학적 소견에서도 아포프토시스 지수 0에서 섬유화 점수는 4.3 ± 4.2 , 세포충실도 점수는 3.3 ± 2.3 , 탈락화 점수는 6.7 ± 4.0 , 육아조직성 점수는 2.0 ± 2.0 , 총 조직학적 점수는 10.3 ± 6.4 이었고, 아포프토시스 지수 1에서는 섬유화 점수 8.5 ± 4.7 , 세포충실도 점수는 6.5 ± 0.8 , 탈락화 점수는 6.5 ± 3.2 , 육아조직성 점수는 2.4 ± 1.3 , 총 조직학적 점수는 23.9 ± 7.4 이었으며, 그리고 아포프토시스 지수 2에서는 섬유화 점수 8.0, 세포충실도 점수는 7, 탈락화 점수는 7,

육아조직성 점수는 2, 총 조직학적 점수는 24로 역시 통계적으로 무관한 상관관계를 보였다.

5. 아포프토시스 지수와 급성, 만성 간질성 폐렴과의 상관관계

급성 및 아급성 간질성 폐렴에 속하는 급성 간질성 폐렴, 비특이성 간질성 폐렴, 그리고 폐쇄성세기관지염-기질화폐렴과 만성 간질성 폐렴인 통상성 간질성 폐렴을 구분하여 아포프토시스 지수와 상관관계를 알아보았다. 아포프토시스 지수와 급, 아급성 간질성 폐렴에서는 나이, 흡연력, 증상의 발현시점과는 상관관계가 없었으며 방사선 소견, 폐기능 검사소견과도 무관하였다. 조직학적 소견에서는 아포프토시스 지수 0에서 섬유화 점수는 4.3 ± 4.2 , 세포충실도 점수는 3.3 ± 2.3 , 탈락화 점수는 0.7 ± 1.2 , 육아조직성 점수는 2.0 ± 2.0 , 총 조직학적 점수는 10.3 ± 6.4 이었고, 아포프토시스 지수 1에서는 섬유화 점수 8.3 ± 4.4 , 세포충실도 점수는 6.6 ± 0.7 , 탈락화 점수는 6.2 ± 3.1 , 육아조직성 점수는 2.3 ± 1.2 , 총 조직학적 점수는 23.4 ± 7.4 이었으며, 그리고 아포프토시스 지수 2에서는 섬유화 점수 15, 세포충실도 점수는 10, 탈락화 점수는 10, 육아조직성 점수는 2, 총 조직학적 점수는 37로 세포충실도 점수, 탈락화 점수, 그리고 총 조직학적 점수에서 통계적으로 유의한 상관관계를 보였다 (Table 3).

아포프토시스 지수와 만성 간질성 폐렴에서는

Table 3. Relationships between apoptotic grading and parameters of acute-subacute ILD

Apoptotic grading	r	p
vs fibrosis	0.54	0.06
cellularity	0.77	0.002
desquamation	0.76	0.003
granulation	0.05	0.88
total histologic score	0.77	0.002

Table 4. Relationships between apoptotic grading and parameters of chronic ILD

Apoptotic grading	r	p
vs fibrosis	0.91	0.03
cellularity	0.97	0.005
desquamation	0.70	0.12
granulation	-0.03	0.96
total histologic score	0.79	0.11

급, 아급성 간질성 폐렴과 마찬가지로 나이, 흡연력, 증상의 발현시점, 그리고 방사선 소견, 폐기능 검사소견등과는 무관한 상관관계를 보였다. 조직학적 소견에서는 아포프토시스 지수 0에서 섬유화 점수는 3.0 ± 0 , 세포충실도 점수는 2.0 ± 0 , 탈락화 점수는 1.0 ± 1.4 , 육아조직성 점수는 1.5 ± 0.7 , 총 조직학적 점수는 7.5 ± 2.1 이었고, 아포프토시스 지수 1에서는 섬유화 점수 6.0 ± 0 , 세포충실도 점수는 4.5 ± 2.1 , 탈락화 점수는 5.0 ± 4.2 , 육아조직성 점수는 3.0 ± 1.4 , 총 조직학적 점수는 18.5 ± 7.8 이었으며, 그리고 아포프토시스 지수 2에서는 섬유화 점수 9.0, 세포충실도 점수는 9, 탈락화 점수는 4, 육아조직성 점수는 1, 총 조직학적 점수는 23 으로 섬유화 점수와 세포충실도 점수에서 통계적으로 유의한 상관관계를 보였다(Table 4).

고 찰

간질성 폐질환은 아직 밝혀지지 않은 원인에 의하여 폐포염으로부터 시작하여 점차 섬유화로 진행되는 질환으로 임상소견 및 병리학적 소견이 다양하여 만성 간질성 폐렴의 경우에는 치료를 하지 않을 경우 대개 50% 이상의 환자가 5년내에 사망하게되는 치명적인 질환이다. 원인이 명확치 않은 관계로 특별한 치료가 개발되지 못하고 있으며 현재 일반적으로 스테로이드나 면역억제제가 사용되고 있다^{17,18}.

최근 간질성 폐질환의 빈도가 증가하는 경향을 보이며 개흉 또는 흉강경을 통한 폐 생검검사가 많이 시행되면서 간질성 폐질환이 단일한 질병이 아니며 병리조직학적으로 특성이 다른 몇 개의 군으로 분류할 수 있고 이에 따라서 임상양상도 다른 것이 알려져 있다. 일반적으로 병리소견을 기준으로 통상성 간질성 폐렴, 탈락성 간질성 폐렴, 비특이성 간질성 폐렴, 급성 간질성 폐렴, 그리고 폐쇄성 세기관지염-기질화 폐렴으로 분류되고 있으며 궁극적으로는 폐섬유화로 진행을 하게된다⁴⁻⁶.

간질성 폐질환의 발병기전은 많은 연구에 의해서 사이토카인 및 성장인자가 분비되어 폐포염과 섬유화가 계속 진행되기 때문으로 알려져 있다. 어떠한 원인으로 급성 폐손상 후에 폐조직이 손상을 받게되면 이에 의해 폐포대식세포가 자극되어 여러 가지 단백분해효소 및 독성이 심한 유리 산소기들이 유리되어 조직손상을 심화시키는 한편, 폐포대식세포에서 여러가지 사이토카인들이 분비되어 염증이 유발되며 또한 이러한 조직손상의 치유기전으로서 여러 가지 성장촉진 인자들이 분비되어 섬유모세포들이 증식하고 섬유모세포에서의 교원질 생성이 촉진되기 때문에 결국에는 섬유화가 수반된다¹⁹⁻²².

최근의 연구들에 의하면 DNA 손상을 받은 세포에서 세포분열 주기중 G1기를 정지시켜서 손상을 받은 DNA를 복구하거나, 복구하기 어려운 정도로 심하게 손상받은 세포인 경우에는 아포프토시스를 유도하는 p53 단백질이 간질성 폐질환의 폐상피세포에서 발현된다고 보고되고 있으며 간질성 폐질환의 병태생리에 아포프토시스가 관여한다는 것이 일반적으로 받아들여지고 있다¹². 성인의 폐포상피는 1형의 폐포세포와 2형의 폐포세포가 혼재해 있으나 1형의 세포가 폐포면의 95%를 차지하고 있다. 1형의 세포는 가스교환에 주로 관여하나 2형의 세포는 폐손상후의 반응에 관여한다. 일반적으로는 급성 폐손상후에 적절한 폐상피의 재생으로 손상

이 회복되지만 이 과정에서 지속적인 폐상피의 아포프토시스가 이루어지면, 폐상피세포의 과도한 세포사멸로 인해 염증이 지속되고 폐상피의 재생이 이루어지지 않아 간엽세포의 증식이 수반되고 결국에는 섬유화가 이루어진다²³⁻²⁶.

간질성 폐질환은 임상양상, 치료에 대한 반응도가 같은 분류에 속하는 환자들에 있어서도 차이를 보이며 자연경과도 다양한 경과를 보이기 때문에 그간 환자들의 임상경과를 객관화하기 위하여 CRP 점수체계를 이용한다. 본 연구에서도 Watters 등과 Gay등이 사용한 CRP점수체계를 수정하여 점수화하였고, 이것을 토대로 임상적 중증도와 아포프토시스 지수와의 상관관계를 알아보았으나 의미있는 결과를 보여주지는 못했다^{13,15}.

HRCT의 개발로 폐실질의 미세한 변화까지 관찰할 수 있게 되었고, 특히 비침습적인 방법이기 때문에 여러번 반복하여 실시할 수 있게 되면서 간질성 폐질환을 진단과 함께 치료에 있어서의 경과와 결과를 쉽게 알 수 있게 되었다²⁷. HRCT를 이용한 간질성 폐질환 환자에서의 많은 연구가 시행되어오고 있는데, HRCT 소견과 병리조직학적 소견을 비교 연구한 보고에 의하면 간유리음영은 조직학적으로 염증소견과 일치하고 붕와양음영은 말기 섬유화와 일치한다고 하였다^{28,29}. 본 연구에서는 간질성 폐질환 환자들의 아포프토시스 지수를, HRCT 소견을 점수화한 HRCT 점수와의 상관관계를 알아보았으나 간유리음영 점수, 섬유화 점수에서 각각 의미있는 결과를 보여주지는 못하였다.

간질성 폐질환 환자들의 빈도가 평균수명이 길어지면서 증가하는 경향을 보이며, 폐 생검검사의 증가로 간질성 폐질환에 있어서 병리조직학적 소견들에 대한 많은 연구가 있어 왔다. Cherniack등은 간질성 폐질환에 있어서의 병리소견을 섬유화 점수, 세포충실도 점수, 탈락화 점수, 육아조직성 점수 등으로 분류하였고, 이것을 기초로 임상소견들과의 연관관계등에 대한 연구가 있어왔다¹⁶. 본

연구에서는 병리조직학적 점수와 아포프토시스 지수와의 상관관계에 대해서 알아보려고 하였다. 섬유화 점수, 세포충실도 점수, 그리고 탈락화 점수에서 p 값이 각각 0.004, 0.0001, 0.001로 매우 강한 통계적 유의성을 보여주었으며 총 병리조직학적 점수와도 p 값이 0.0002로 유의한 관계를 보여주었다. 하지만 육아조직성 점수는 p 값이 0.84로 의미 있는 결과를 보이지는 않았다.

앞서 언급하였듯이 간질성 폐질환은 원인이 확실히 밝혀지지 않은 질환으로 다양한 임상경과와 치료에 있어서의 반응이 다양하다. 그간 많은 연구들은 이러한 간질성 폐질환 환자들에 있어서 임상적 중증도를 밝혀서 예후를 예측하고자 하였다. 이러한 연구들의 결과로 현재 CRP점수체계, 방사선 소견, HRCT소견, 그리고 병리조직학적 소견 등이 치료의 반응을 예측하는데 도움이 되며 따라서 환자의 예후를 예측하는데 도움이 되고 있다. CRP점수체계는 Gay등의 연구에서는 환자의 연령, 총 CRP점수, 호흡곤란정도, FEV₁이 치료에 반응을 보인 환자에서 통계적 유의성을 보였으나 본 연구에서는 결과를 보여주지는 않았지만 증상의 시작 시점, 방사선소견, FEV₁변화율, FVC변화율 등이 치료의 반응에 있어서 통계적 유의성을 보였다¹⁵. 그러나 예후인자로서의 폐기능검사는 많은 이견이 있다. 폐확산능감소, FVC 과 FEV₁의 감소가 있는 경우가 질병의 경과가 나쁘다는 보고도 있고, 폐기능자체가 생존기간에 중요한 영향은 없다는 보고가 있다^{30,31}. 최근에는 HRCT가 많이 이용됨에 따라 HRCT의 소견 중 특히 간유리음영이 조직학적으로 말기에 나타나는 섬유화와 일치하는 붕와양음영과 달리 스테로이드치료에 반응을 잘하고 비교적 예후도 좋다는 것이 알려져있다. Gay등은 폐기능검사보다 HRCT상의 섬유화 점수가 호기력 예후 측정에 중요한 인자이며 섬유화 점수가 높을수록 치료에 잘 반응을 하지 않는다고 보고하고 있으며 본 연구에서도 역시 치료에 반응한 군에서

는 섬유화 점수가 낮았다¹⁵. 병리조직학적 소견으로는 세포충실도와 탈락화정도가 높을수록 치료에 잘 반응을 한다고 알려져 있으나 본 연구에서는 유의한 차이는 없었다. 본 연구에서는 3개월간의 스테로이드 치료로 반응을 보였던 환자군을 대상으로 CRP점수체계, 방사선소견, HRCT 소견, 그리고 병리조직학적 소견을 가지고 아포프토시스 지수와의 상관관계를 알아보고자 하였으나 유의한 상관관계를 보이는 지표는 없었다.

간질성 폐질환을 임상적으로 임상증상의 발현양상에 따라 급성, 아급성, 그리고 만성 간질성 폐질환으로 분류할 수 있다. 급성에는 급성 간질성 폐렴이 속하며 수일에서 수주일 내에 임상증상이 발현하며, 아급성에는 비특이성 간질성 폐렴, 폐쇄성 세기관지염-기질화폐렴이 속하며 임상증상은 수주에서 수개월내에 나타난다. 만성에는 통상성 간질성 폐렴이 속하며 수개월에서 수년 후에 임상증상이 발현을 한다. 일반적으로 통상성 간질성 폐렴과 달리 아급성 간질성 폐렴이 치료에 비교적 반응을 잘하는 것으로 알려져있다. 본 연구에서는 급성, 아급성 간질성 폐렴군과 만성 간질성 폐렴군으로 나누어 각각의 지표들과 아포프토시스 지수와의 상관관계에 대해서 알아보았다. 급성, 아급성 간질성 폐렴군에서는 세포충실도, 탈락화정도, 그리고 총조직학적 점수에서 유의한 상관관계를 보였으며, 만성 간질성 폐렴군에서는 섬유화 정도에서 유의한 상관관계를 보였다. 이러한 결과는 급성 폐손상 후에 상피세포의 손상은 간엽세포의 증식을 초래하고, 상피세포의 복구가 실패 시에는 간엽세포의 증식을 수반하고 결국에는 섬유화로 진행되는 간질성 폐질환의 발병기전에 있어서 아포프토시스 기전이 섬유화로의 진행에 중요한 핵심 역할을 한다는 것을 보여준다. 결론적으로 간질성 폐질환의 발병기전에 폐 상피세포의 아포프토시스가 중요한 역할을 한다는 것을 알 수 있었으나 임상적인 지표들과는 유의한 상관관계가 없었다.

요 약

연구배경 :

간질성 폐질환은 병리소견, 임상경과 및 치료에 대한 반응에 있어서 다양한 양상을 보이지만 궁극적으로는 폐섬유화로 진행된다. 최근 간질성 폐질환의 병태생리에 있어서 폐상피세포의 아포프토시스가 폐섬유화로의 진행에 관여한다는 것이 보고되고 있다. 이에 저자들은 간질성 폐질환 환자에서 아포프토시스가 갖는 임상 및 병리학적 의미를 확인하기 위하여 TUNEL을 이용한 아포프토시스의 지수와 임상양상, 병리소견, HRCT소견, 그리고 치료반응 등과의 상관관계를 분석하였다.

방 법 :

개흉폐생검을 통해서 확진된 간질성 폐질환 환자 20명을 대상으로 하였다. 아포프토시스의 지수는 TUNEL 양성세포의 분율에 따라서 0-2로 구분하였다. 임상양상은 CRP 점수체계를 응용하여 이용하였다. 병리소견은 섬유화, 세포충실도, 탈락화, 육아조직성 정도에 따라 점수화하였다. HRCT소견은 간유리음영과 붕와양음영을 각 엽별로 침범한 정도에 따라서 점수화하였다. 치료의 반응은 치료전과 치료후 3개월째에 시행한 CRP 점수체계의 변화율이 10%이상 증가하였을 때 치료효과가 있는 것으로 판정하였다.

결 과 :

대상 환자는 20명(남 14명, 여 6명)으로 조직학적 아형으로는 AIP 3명, NIP 2명, BOOP 8명, UIP 7명이었다. 아포프토시스 지수와 CRP 점수체계의 요소들과는 유의한 상관관계가 없었으며 또한 HRCT소견인 간유리음영점수와 섬유화점수는 역시 유의한 상관관계가 없었다. 조직학적소견에서는 섬유화 점수, 세포충실도 점수, 그리고 탈락화 점수에서 아포프토시스 지수와 유의한 상관관계를 보였다. 부신피질호르몬 치료를 받은 16명의 환자 중에서 9명(56.3%)에서 치료효과가 있었는데 부신피

피질호르몬 치료효과 유무와 아포프토시스 지수 사이에는 상관관계는 없었다. 급, 아급성 간질성 폐렴에서는 세포충실도 점수와 탈락화 점수가 아포프토시스 지수와 유의한 상관관계를 보였으며 만성 간질성 폐렴에서는 섬유화 점수와 세포충실도 점수가 유의한 상관관계를 보였다.

결 론 :

간질성 폐질환에서 아포프토시스 지수와 병리학적 지표들과의 유의한 상관관계를 관찰한 본 연구를 통하여 간질성 폐질환의 병태생리에 아포프토시스가 관여한다는 사실을 확인할 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Crystal RG, Fulmer JD, Roberts WC, Moss ML, Line BR, Reynolds HY. Idiopathic pulmonary fibrosis. *Ann Internal Med* 1976; 85:769-88.
2. Fulmer JD, Roberts WC, Von Gal ER, Crystal RG. Morphologic-physiologic correlates of the severity of fibrosis and degree of cellularity in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 1979;63:665-76.
3. Cherniak RM, Crystal RG, Kalica AR. Currents concepts in idiopathic pulmonary fibrosis: a road map for the future. *Am Rev Respir Dis*. 1991;143:680-3.
4. Katzenstein A-LA. Idiopathic interstitial pneumonia: classification and diagnosis. *Monogr pathol* 1993;36:1-31.
5. Katzenstein A-LA, Fiorelli RF. Nonspecific interstitial pneumonia/fibrosis. Histologic features and clinical significance. *Am J Surg Pathol* 1994;18:136-47.
6. American Thoracic Society. Idiopathic pulmonary fibrosis: Diagnosis and treatment. International Consensus statement. *Am J respir Crit Care Med* 2000;161:646-64.
7. Polunovsky VA, Chen B, Henke C, Snover D, Wendt C, Ingbar DH, Bitterman PB. Role of mesenchymal cell death in lung remodeling after injury. *J Clin Invest* 1993;92: 388-97.
8. Kent S, James W, Pierre V, Jose J, Urvashi R, Marci K, Debra J, Henke C. Acute lung injury fibroblast migration and invasion of a fibrin matrix is mediated by CD44. *J Clin Invest* 1996;98:1713-27.
9. Barbas-Filho JV, Ferreirs MA, Sesso A, Kairalla RA, Carvalho CRR, Capelozi. Evidence of type II pneumocyte apoptosis in the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis(IPF)/usual interstitial pneumonia (UIP). *J Clin Pathol* 2001;54:132-8.
10. Schmitz GG, Walter T, Seibi R. Nonradioactive labeling of oligonucleotides in vitro with the hapten digoxigenin by tailing with terminal transferase. *Anal Biochem* 1991;192: 222-31.
11. Gavrieli Y, Sherman Y, Ben-Sasson SA. Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* 1992;119:493-501.
12. Kuwano K, Kunitake R, Kaswasaki M, Nomoto Y, Hagimoto N, Nakanishi Y, Hara N. p21Waf1/Cip1/Sdi1 and p53 Expression in association with DNA strand breaks in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:477-83.
13. Watters LC, King TE, Schwarz MI, Waldron JA, Stanford RE, Cherniak RM. A clinical, radiographic, and physiologic scoring sys-

- tem for the longitudinal assessment of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1986;133:97-103.
14. Kazerooni EA, Martinez FJ, Flint A, Jamadar DA, Gross BH, Spizarny DL, Cascade PN, Whyte RI, Lynch JP, Toews G. Thin-section CT obtained at 10-mm increments versus limited three-level thin-section CT for idiopathic pulmonary fibrosis : Correlation pathologic scoring. *AJR* 1997;169:977-83.
 15. Gay SE, Kazerooni EA, Toews GB, Lynch JP, Gross BH, Cascade PN, Spizarny DL, Flint A, Schork MA, Whyte RI, Popovich J, Hyzy R, Martinez FJ. Idiopathic pulmonary fibrosis; Predicting response to therapy and survival. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157:1063-72.
 16. Cherniack R, Colby T, Flint A, Thurlbeck W, Waldron J, Ackerson L, Schwarz M, King T. Correlation of structure and function in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151:1180-88.
 17. Turner-Warwick M, Burrow B, Johnson A. Cryptogenic fibrosing alveolitis: Response to corticosteroid treatment and its effect on survival. *Thorax* 1980;35:593-99.
 18. Carrington CB, Gaensler EA, Coutu RE. Natural history and treated course of usual and desquamative interstitial pneumonia. *N Engl J Med* 1978;296:801-10.
 19. Sheppard MN, Harrison NK. Lung injury, inflammatory mediators, and fibroblast activation in fibrosing alveolitis. *Thorax* 1992;47: 1064-74.
 20. Martinez Y, Rom W, Grotendorst G, Martin G, Crystal RG. Exaggerated spontaneous release of platelet derived growth factor by alveolar macrophages from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 1987;317:202-9.
 21. Broekekman TJ, Limper AH, Colby TV, McDonald JA. Transforming growth factor β -1 is present at sites of extracellular matrix gene expression in human pulmonary fibrosis. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88:6642-46.
 22. Ryu JH, Colby TV, Hartman TE. Idiopathic pulmonary fibrosis: Current concepts. *Mayo Clin Proc* 1998;73:1085-1101.
 23. Bardales RH, Xie SS, Schaefer RF, Hsu SM. Apoptosis is a major pathway responsible for the resolution of type II pneumocytes in acute lung injury. *Am J Pathol* 1996;149: 845-52.
 24. Uhal BD, Joshi I, True AL, Mundle S, Raza A, Pardo A, Selman M. Fibroblasts isolated after fibrotic lung injury induce apoptosis of alveolar epithelial cells in vitro. *Am Phy Soc* 1995;L819-28.
 25. Hagimoto N, Kuwano K, Kawasaki M, Yoshimi M, Kaneko Y, Kunitake R, Maeyama T, Tanaka T, Hara N. Induction of interleukin-8 secretion and apoptosis in bronchiolar epithelial cells by fas ligation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;21:436-45.
 26. Kuwano K, Hagimoto N, Kawasaki M, Yatomi T, Nakamur N, Nagata S, Suda T, Kunitake R, Maeyama T, Miyazaki H, Hara N. Essential roles of the fas-fas ligand pathway in the development of pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 1999;104:13-9.
 27. Hansell DM, Kerr IH. The role of HRCT in the diagnosis of interstitial lung disease.

- Thorax 1991;46:77-84.
28. Nishimura K, Kitaichi M, Izumi T, Nagai S, Kanaoka M, Itoh H. Usual interstitial pneumonia : Histologic correlation with HRCT. Radiology 1992;182:337-42.
29. Muller NL, Miller RR, Webb WR, Evans KG, Ostrow DN. Fibrosing alveolitis: CT-Pahtologic correlation. Radiology 1986;160:585-88.
30. Schwartz DA, Helmers RA, Galvin JR, Van Fossen DS, Frees KL, Dayton CS. Determinants of survival in IPF. Am J Respir Crit Care Med 1994;149:444-9.
31. Turner-Warwick M, Barrow B, Jonhson A. Cryptogenic fibrosing alveolitis: Clinical fibrosing alveolitis: clinical features and their influence on survival. Thorax 1980;35:71-90.
-