

IPF와 NSIP에서 MMPs와 TIMPs의 발현

가천의대 길병원 호흡기내과, 병리과¹

김유진, 김정호, 전호근, 김미경, 조용찬, 경선영, 안창혁, 이상표, 박정웅, 하승연¹, 정성환

The Expression of MMPs and TIMPs in IPF and NSIP

Yu Jin Kim, MD., Jung Ho Kim, M.D., Hyo Keun Jeon, M.D., Mi Kyeong Kim, M.D., Young Chan Jo, M.D., Sun Yong Kyung, M.D., Chang Hyeok An, M.D., Sang Pyo Lee, M.D., Jung Woong Park, M.D., Seung Yeon Ha, M.D., Sung Hwan Jeong, M.D.

Division of Pulmonary Medicine, Department of Internal Medicine and Department of Pathology¹, Gachon Medical School Gil Medical Center, Incheon.

Background: MMPs and TIMPs are important factors for abnormal remodeling the pulmonary parenchyme in idiopathic interstitial pneumonia(IIP). This study evaluated the expression of MMPs and TIMPs in the tissue of IPF, NSIP and normal control subjects.

Method: The MMP-2 and -9 activity in the lung tissue was studied by gelatin zymography, and the expression of MMP-1, -2, -9, TIMP-1 and -2 in the lung tissue was measured by immunohistochemistry. Thirty five patients, who were diagnosed with IIP (UIP; 22, NSIP; 13), were enrolled in the immunohistochemical study. Thirteen patients with IIP (UIP; 9, NSIP; 4) and five patients with lung cancer were enrolled in the zymographic assay.

Results: (1) The immunohistochemistry for MMP-1, -2, -9, TIMP-1 and -2; MMP-1, -9 and TIMP-2 were stained stronger in the UIP subjects than NSIP and the normal control. TIMP-2 was strongly stained in the UIP tissue, particularly the fibroblasts in the fibroblastic foci. (2) Zymography for MMP-2 and MMP-9 revealed MMP-2 to have prominent expression in the UIP tissue than in the NSIP tissue.

Conclusions: These results suggest that the overexpression of the TIMPs and gelatinases in UIP might be important factors in the irreversible fibrosis of the lung parenchyme (*Tuberc Respir Dis* 2006; 61: 447-455)

Key words: IIP, MMPs, TIMPs.

서 론

특발성 간질성 폐렴(idiopathic interstitial pneumonia, IIP)은 원인 불명의 간질성 폐렴 질환군의 통칭으로 현재 임상적-방사선학적-조직학적 기준에 의해 7개의 질환으로 분류되고 있다¹. 이 중 특발성 폐섬유화증(idiopathic pulmonary fibrosis; IPF)은 폐에만 국한되어 원인 모르게 만성적으로 폐 간질에 섬유화가 진행하고, 조직학적으로 통상형 간질성 폐렴(usual interstitial pneumonia; UIP)의 소견을 보이는 질환이다². 특발성 폐섬유화증은 특발성 간질성 폐렴 중에서 가장 흔한 질환이며, 임상적으로 생존기간 평균값

이 2.5-3.5년으로 예후가 나쁜 것으로 알려져 있다¹.

이에 비해 비특이성 간질성 폐렴(nonspecific interstitial pneumonia; NSIP)은 특발성 폐섬유화증보다 비교적 양호한 예후를 갖는데, 이전에 특발성 폐섬유화증으로 통칭되다가 1994년 Katzenstein 등³에 의해 특발성 폐섬유화증과 달리 치료 반응과 예후가 좋은 질환군을 병리학적으로 구분하면서 정의된 질환이다.

조직학적인 특징을 살펴보면, 특발성 폐섬유화증/통상형 간질성 폐렴은 병변의 분포가 산발적이고, 병변 자체도 교원질 침착이 심한 말기 섬유화 병변(honeycomb)과 함께 활발히 증식하는 섬유모세포들이 모인 fibroblast foci 및 염증 소견이 동시에 관찰된다는 것이다. 비특이성 간질성 폐렴은 특발성 폐섬유화증/통상형 간질성 폐렴과 비슷하게 간질성 섬유화와 염증 소견이 보이나 동일한 시기의 병변이 비교적 균일하게 나오는 것이 특징이다. 비특이성 간질성 폐렴은 만성 간질성 염증이 폐포벽에 병발되는 세포성 비특이성 간질성 폐렴과 진행된 섬유화가 포함되는

Address for correspondence: **Sung Hwan Jeong, M.D.**
Division of Pulmonary Medicine, Department of Internal Medicine, Gachon Medical School Gil Medical Center, Guwol-1-dong, Namdong-gu, Incheon, 405-760, Korea
Phone: 032-460-3818 Fax: 032-469-4320
E-mail: jsw@gilhospital.com
Received: Aug. 9. 2006
Accepted: Oct. 18. 2006

섬유성 비특이성 간질성 폐렴으로 구분된다⁴. 병변의 위치와 섬유화 및 염증의 정도는 다르나 특발성 폐섬유화증/통상형 간질성 폐렴, 비특이성 간질성 폐렴은 폐 간질의 섬유화와 동반된 염증 소견이 공통적으로 존재한다고 할 수 있다. 그러나 이들의 임상적 경과는 매우 다르다. 이들 특발성 간질성 폐렴의 임상적 차이는 앞에서 기술한 바와 같이, 비특이성 간질성 폐렴은 폐 간질의 섬유화 소견을 보이거나 비교적 가역적인 변화로 임상적 회복으로 이어지는 경우가 일반적이나, 특발성 폐섬유화증은 비가역적으로 진행되는 폐 간질의 섬유화로 인해 임상적으로 증상의 악화를 겪게 되고 결국 호흡 부전으로 사망에 이르게 된다. 앞선 연구들에 의하면 예후는 세포성 비특이성 간질성 폐렴이 제일 좋은 편이고 그 다음 섬유성 비특이성 간질성 폐렴이고, 특발성 폐섬유화증이 제일 나쁜 것으로 보고되어져 있다⁴. 이들 중 특히 특발성 폐섬유화증의 발생기전에 대하여 많은 연구가 이루어졌는데 아직도 확실히 규명된 것은 없는 상태이다. 다만 알 수 없는 원인에 의해 폐포 상피세포가 손상을 입게 되고, 손상된 폐포상피세포의 치유 과정에서 비정상적인 섬유화가 일어나게 된다는 것이 현재까지의 가설이다²¹⁵. 즉, 폐포상피 세포의 정상적인 복구는 지연되고, 섬유모세포는 계속 증식하며, 세포외 기질은 과도하게 생산되어 침착 되면서 섬유화가 진행된다. 세포외 기질의 과도한 침착의 기전으로 기질 단백 분해효소인 MMPs (matrix metalloproteinases; MMPs)와 이들의 길항체인 TIMPs (tissue inhibitors of metalloproteinases; TIMPs)의 불균형, TIMPs의 과발현에 의한 세포외 기질의 분해능 저해가 작용한다는 주장이 있다. 또한 과도하게 증식된 섬유모세포는 기저막이 파괴됨으로써 폐포 내로 유입되어 fibroblast foci를 형성하고 활발한 섬유화와 함께 폐포상피 세포의 회복도 더욱 지연시키게 되는데, 이때 기저막 파괴에 관여하는 것이 gelatinases이다. 이와 같이 특발성 폐섬유화증에서 TIMPs와 gelatinases의 과발현은 어느 정도 밝혀졌으나, 비교적 예후가 양호한 비특이성 간질성 폐렴에서 이들 MMPs와 TIMPs의 발현 양상은 아직 일관된 결과를 보여주고 있지는 못하다^{9,11,12}.

이에 저자들은 단백 분해 효소의 일종으로 폐 간질

의 섬유화 과정에서 나타나는 교원질의 과다 침착과 폐포 기저막 파괴에 관여하는 것으로 알려져 있는 MMP-1, TIMP-1, TIMP-2, MMP-2 및 MMP-9의 발현 양상을 이들 질환군에서 알아보고 그 차이를 비교해 보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 면역조직화학 염색 검사 (immunohistochemical study)

1) 연구대상

1999년 3월부터 2003년 3월까지 가천의대 길병원에 서 개흉 폐 생검을 통해 특발성 간질성 폐렴으로 진단 받은 환자 35명을 대상으로 하였고 병리 조직학적 진단으로 22례가 특발성 폐섬유화증/통상형 간질성 폐렴이었고, 13례가 비특이성 간질성 폐렴이었다.

연구대상에서 얻어진 조직은 10% 완충 포르말린 용액으로 고정시키고 파라핀 처리 후 hematoxylin과 eosin (H&E) 염색과 Masson trichrome 염색을 시행하여 병리조직학적 진단을 얻었고 면역조직화학 염색을 하였다.

2) 면역조직화학 염색 검사

10% 중성 포르말린에 고정 후 파라핀에 포매된 조직을 4 μ m 두께로 연속 절편하여 poly-L-lysine처리된 슬라이드에 붙인 후 xylene에 탈랍시키고 알코올에 함수시킨 후 10분간 3% H₂O₂에 처리하여 내인성 과산화효소를 차단하였다. 5분간 Tris 완충액으로 수세 후 항원성 회복(antigen retrieval)을 위하여 10mM citrate 완충용액에 담근 후 5분간 극초단파로 가열하였다. 가열 후 15분간 식힌 다음 Tris 완충액으로 15분간 수세 하였다. 비특이적 인 단백질과의 결합을 방지하기 위하여 정상 염소혈청으로 10분간 반응시킨 후 일차항체로는 MMP-1(IM35L), MMP-2(Fuji), MMP-9(Fuji), TIMP-1(IM41L), TIMP-2 (IM56L) (Fiji chemical industries)를 사용하여 각각 4°C에서 12시간 동안 반응시켰다. Tris 완충용 액으로 5분간 수세 하고 바이오틴이 부착된 이차 항체를 30분간 작용시

키고 다시 Tris완충액으로 수세하였다. Streptavidin peroxidase reagent를 실온에서 20분간 처리한 후 다시 Tris 완충용액으로 수세하였다. Diaminobenzidine 으로 발색한 후 Mayer's hemato-xylin으로 대조 염색하고 봉입하였다.

3) 발현의 평가

MMP-1,-2,-9, TIMP-1 및 TIMP-2의 발현 양상은 염색되는 정도에 따라서 0; 음성(negative), 1;경도(mild), 2;중등도(moderate), 3;중증도(strong)으로 4단계로 구분하여 대상 표본들을 분석 평가 하였다⁶. 면역조직화학 염색 정도는 최빈값으로 나타내었다.

2. Zymography

1) 연구대상

1999년 3월부터 2003년 3월까지 개흉 폐 생검에 의해서 진단받은 특발성 간질성 폐렴 환자 13명을 대상으로 하였다. 그 중 9례가 특발성 폐섬유화증/통상형 간질성 폐렴, 4례가 비특이성 간질성 폐렴이었다. 정상 대조군으로 폐암으로 진단받고 폐 부분절제술을 시행받은 환자 5명에서 정상 부위의 폐 조직을 얻었다. 이들 폐조직에서 단백 성분을 추출하여 gelatin zymography를 시행하였다.

2) Zymography

MMP-2와 MMP-9의 발현을 보기 위해 gelatin zymography를 시행하였다. Gelatinases인 MMP-2와

MMP-9이 gelatin을 분해하는 특성을 이용하여, 폐 조직에서 추출한 단백 성분을 10% gelatin을 기질로 하여 60볼트에서 5시간 동안 내려서 zymography를 시행하였다. 이 후 분리한 gel을 2.5% triton X-100에 30분간 담가두었다가 다시 50mM Tris-HCl, 0.2M NaCl, 5mM CaCl₂, 1% Triton X-100 조성의 완충제에서 밤 새 37°C에서 배양하였다. 배양 후 gel은 0.5% coomassie blue로 염색하였고 밤 새 methanol, acetic acid, 증류수로 조성된 용액으로 탈염색하였다. 그리고 gelatin 가수분해에 의하여 나타나는 band를 관찰하였는데, active MMP-2는 66 kD, pro MMP-2는 72 kD, active MMP-9은 85 kD, pro MMP-9은 92 kD의 분자량에 해당하는 band를 찾아 분석하였고, 정량분석을 위해 densitometry를 시행하였다. 각 측정치는 평균 \pm 표준오차로 표시하였고 독립표본 t검정을 실시하였다. p값은 0.05 미만인 경우 통계적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1. 면역조직화학 염색 검사의 결과 (Table 1).

1) 통상형 간질성 폐렴 (UIP)

MMP-1은 기관지 상피세포와 폐포 대식세포에서 grade 3으로 강하게 염색되는 소견을 보였고, 폐포 상피세포에서도 중등도 (grade 2)의 염색 소견을 보였다. TIMP-1은 폐포 상피세포와 섬유모세포/근섬유모세포에서 경도 (grade 1)로 관찰 되었고 TIMP-2의

Table 1. Immunoreactivity of components of lesions of IIP for MMP-1, -2, -9, TIMP-1 and 2.

	MMP-1		TIMP-1		TIMP-2		MMP-2		MMP-9	
	UIP	NSIP	UIP	NSIP	UIP	NSIP	UIP	NSIP	UIP	NSIP
Bronchiolar epithelial cells	3	3	0	1	0	0	0	1	1	1
Alveolar epithelial cells	2	1	1	1	0	0	1	2	1	1
Alveolar macrophages	3	2	0	1	0	0	1	1	1	1
Fibroblasts/myofibroblast	0	0	1	0	2	1	2	2	2	0
Endothelial cells	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Lymphocytes	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Neutrophils	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2

The intensity of the immunohistochemical staining was graded as follows:

0, no reaction; 1, mild or weak staining; 2, moderate staining;

3, intense or strong staining; NSIP, nonspecific interstitial pneumonia; UIP, usual interstitial pneumonia.

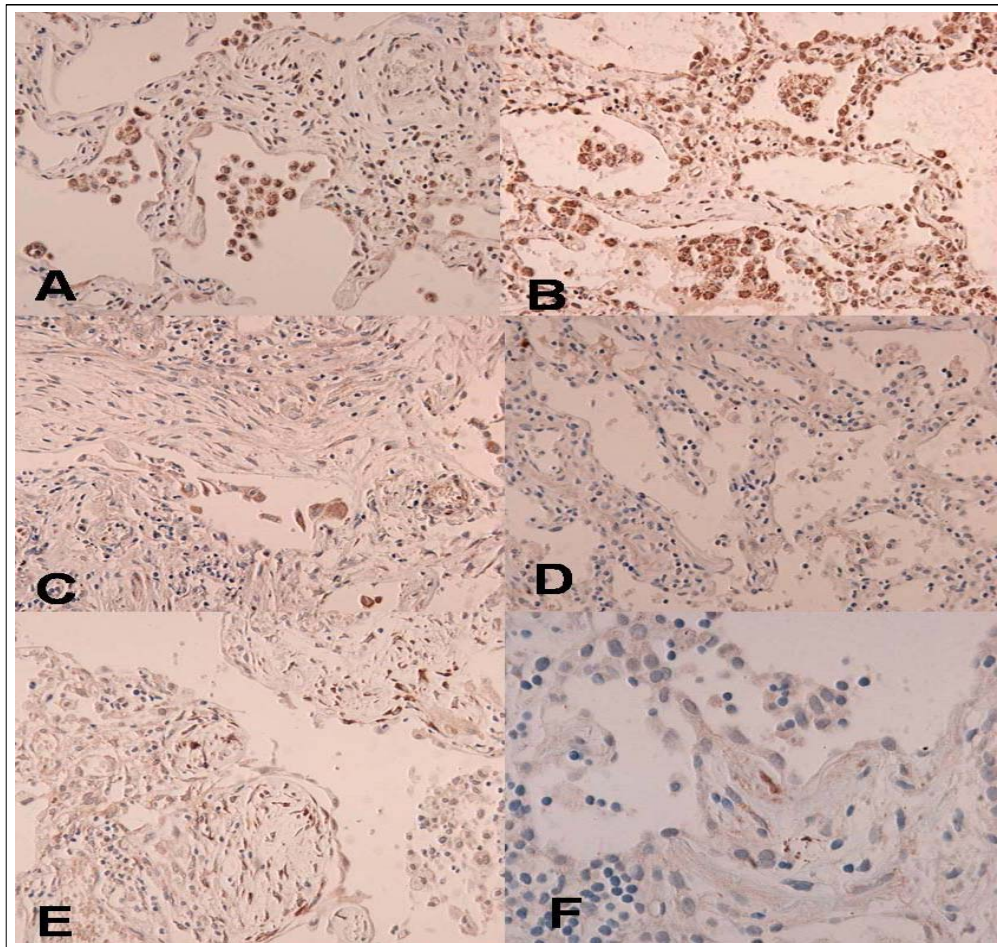


Figure 1. Immunohistochemical detection of MMP-1 in lung tissue with UIP (A), MMP-1 with NSIP (B), TIMP-1 with UIP (C), TIMP-1 with NSIP (D), TIMP-2 with UIP (E), TIMP-2 with NSIP (F). Immunoreactive MMP-1(collagenase-1) for UIP (A) and MMP-1 for NSIP (B) is noticed in reactive alveolar and bronchiolar epithelial cells and in clusters of alveolar macrophages (x 400). Fibroblasts/myofibroblasts show a weak reaction for TIMP-1(C) (x 400). The TIMP-1 immunoreactivity of the epithelial cells lining the alveolar space are little. Macrophages show only a minimal increase in reactivity(D) (x 400). TIMP-2 is intensely stained in the interstitial cells located in subepithelial fibroblasts/myofibroblast foci(E) (x 400). Most areas of NSIP are negative for TIMP-2. Rare foci of myofibroblastic cells in NSIP show positive reaction of TIMP-2(F) (x 400).

경우, 섬유모세포/근섬유모세포에서 만 중등도 (grade 2)의 염색정도를 보였다. MMP-2는 섬유모세포/근섬유모세포에서 중등도(grade 2), 폐포상피세포 및 대식세포에서 경도(grade 1)의 염색 정도를 보였으며, MMP-9 은 중성구에서 강하게(grade 3), 림프구에서 경도(grade 1)로 염색되었고, 그 외 섬유모세포/근섬유모세포에서 중등도 (grade 2), 기관지 및 폐포 상피세포와 폐포 대식세포에서 경도(grade 1)의 염색 소견을 보였다. (Figure 1 /Figure 2).

2) 비특이성 간질성 폐렴 (NSIP)

MMP-1에 대한 면역조직화학 염색은 기관지 상피세포에서 grade 3으로 매우 강하게 나타나는 경우가 많았고 그 외 폐포 상피세포에서 경도(grade 1), 폐포 대식세포에서 중등도 (grade 2)의 염색 정도를 관찰할 수 있었다. TIMP-1의 경우, 기관지 및 폐포 상피세포와 폐포 대식세포에서 경도 (grade 1)로 염색되는 소견을 보였고, TIMP-2는 섬유모세포/근섬유모세포에서 경도 (grade 1)의 염색 정도를 보였다. MMP-2는 폐포 상피세포, 섬유모세포 /근섬유세포에서 중등도(grade 2)로 기관지 상피세포와 폐포 대식

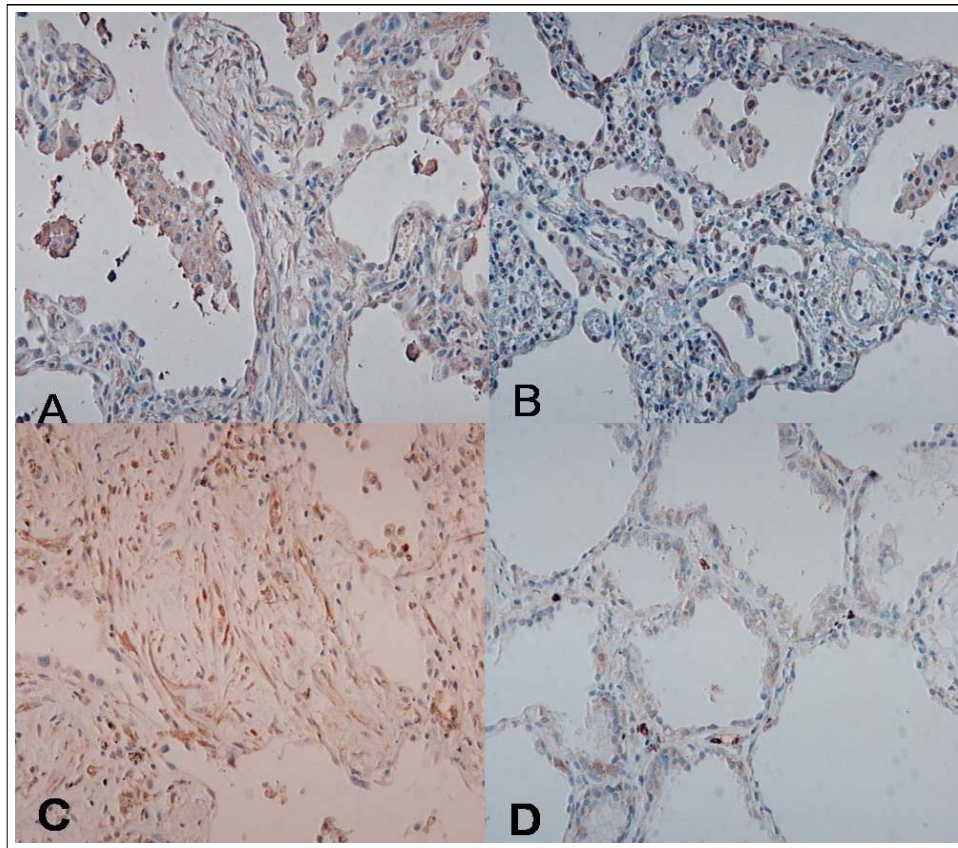


Figure 2. Immunohistochemical detection of MMP-2 in lung tissue with UIP (A), MMP-2 with NSIP (B), MMP-9 with UIP(C), MMP-9 with NSIP(D). MMP-2 for UIP(A), MMP-2 for NSIP(B) is stained in the interstitial cells located in subepithelial fibroblast/myofibroblast foci (x 400). Fibroblast/myofibroblast in UIP show moderate reaction for MMP-9(C). Also MMP-9 for UIP(C), MMP-9 for NSIP(D) is moderate to strong stained in the neutrophils and lymphocytes (x 400).

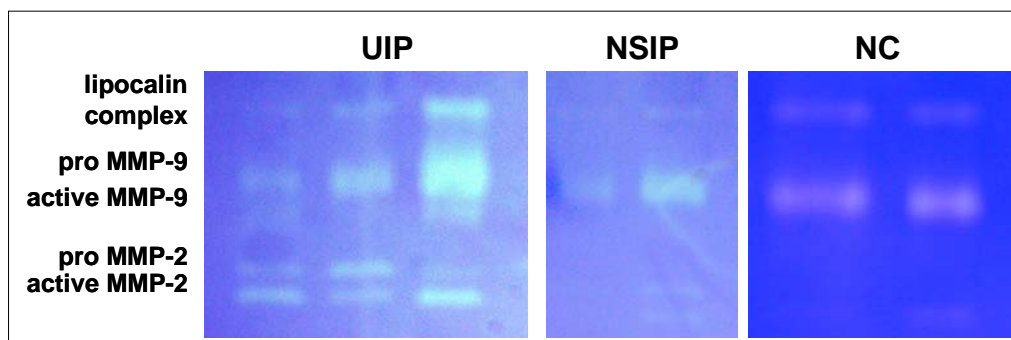


Figure 3. Gelatin zymograms of lung tissue from UIP, NSIP and normal controls. Gelatinolytic bands of 92 kD (proMMP-9), 85 kD (active MMP-9), 72 kD (proMMP-2), 66 kD (active MMP-2) are detected. Intense lytic bands corresponding to the MMP-9, and MMP-2 are visible in UIP. the bands of MMP-2 and -9 in NSIP and normal control were more less expressed than that UIP.

세포에서 경도로 관찰되었고, MMP-9의 경우 중성구에서 중등도(grade 2)로 림프구에서 경도(grade 1)

로 보였고, 기관지 및 폐포 상피세포와 폐포 대식세포에서도 경도(grade 1)로 관찰되었다(Figure 1 /Figure 2).

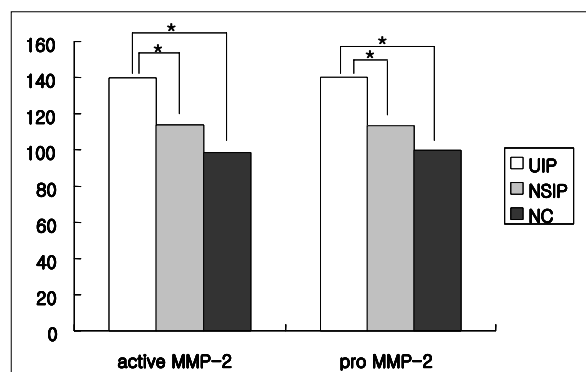


Figure 4. Densitometric analysis of gelatinolytic bands for MMP-2 in lungs from UIP, NSIP, Normal control (NC).

* $p < 0.05$

Densitometric analysis of gelatinolytic bands for active MMP-2 in lungs from UIP is higher than that of NSIP and NC. Also densitometric analysis of gelatinolytic bands for pro MMP-2 in lungs from UIP is higher than that of NSIP and NC.

2. MMP-2, -9에 대한 zymography의 densitometry 결과 (Figure 3).

1) MMP-2

Active MMP-2의 경우, 통상형 간질성 폐렴 139.8 ± 11.1 AU, 비특이성 간질성 폐렴 113.6 ± 8.1 AU이었고, 정상 대조군은 98.5 ± 10.4 AU이었다. 통상형 간질성 폐렴은 비특이성 간질성 폐렴 그리고 정상 대조군 보다 active MMP-2의 농도가 높았다. Pro MMP-2 또한 통상형 간질성 폐렴 140.0 ± 7.2 AU, 비특이성 간질성 폐렴 113.4 ± 4.1 AU, 정상 대조군 99.9 ± 13 AU으로 나타났고, 통상형 간질성 폐렴은 비특이성 간질성 폐렴, 정상 대조군 보다 유의하게 높은 소견을 보였다 (Figure 4).

2) MMP-9

Active MMP-9은 통상형 간질성 폐렴 151.6 ± 14.6 AU, 비특이성 간질성 폐렴 111.0 ± 16.4 AU, 정상 대조군 149.7 ± 1.1 AU의 결과를 보였고, 통상형 간질성 폐렴의 경우 비특이성 간질성 폐렴보다 유의하게 높았으나, 정상 대조군과는 유의한 차이를 보이지 않았다. Pro MMP-9의 경우도 통상형 간질성 폐렴 141.2

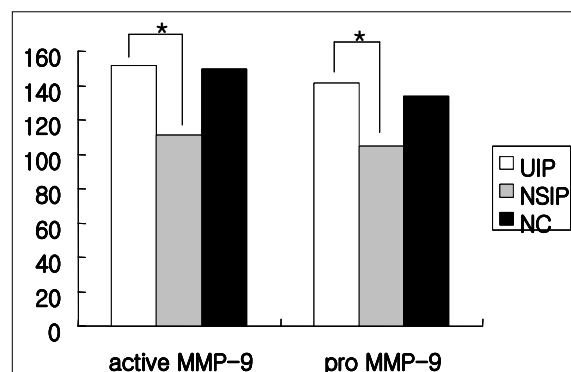


Figure 5. Densitometric analysis of gelatinolytic bands for MMP-9 in lungs from UIP, NSIP, Normal control (NC).

* $p < 0.05$

Densitometric analysis of gelatinolytic bands for active MMP-9 in lungs from UIP is higher than that of NSIP. Also densitometric analysis of gelatinolytic bands for pro MMP-9 in lungs from UIP is higher than that of NSIP.

± 15.0 AU, 비특이성 간질성 폐렴 104.9 ± 3.4 AU, 정상 대조군 133.7 ± 0.06 AU였고, 통상형 간질성 폐렴은 active MMP-9과 마찬가지로 비특이성 간질성 폐렴보다 유의하게 높은 소견을 보였으나, 정상 대조군과는 유의한 차이를 보이지 않았다 (Figure 5).

고 찰

기존의 연구에서 보면 특발성 간질성 폐렴 조직에서 정상 조직에 비해서 MMPs, TIMPs의 발현이 유의하게 높아 있다는 보고가 있었다^{8,11,12,14}. 이를 기반으로 하여 본 연구에서 특발성 폐섬유화증/통상형 간질성 폐렴, 비특이성 간질성 폐렴 환자의 폐 조직에서 MMP-1, TIMP-1, TIMP-2의 발현에 대하여 알아보았는데, MMP-1은 두 질환 모두 기관지 상피세포, 폐포 상피세포 및 대식세포에서 발견되었으며, 섬유모세포/근섬유모세포 부위에서는 발견되지 않았고, 통상형 간질성 폐렴 조직의 폐포 상피세포 및 대식세포에서 비특이성 간질성 폐렴에 비해 강하게 발현되었다. TIMP-1은 통상형 간질성 폐렴에서 폐포상피세포와 폐섬유모세포/근섬유모세포에서 정도의 염색소견을 보였고, 비특이성 간질성 폐렴에서는 기관지 상피세포, 폐포상피세포 및 대식세포에서 정도의 염색

소견만을 보였으나, TIMP-2의 경우 두 질환의 섬유모세포/근섬유모세포 부위에서만 발현되었으며 특히 통상형 간질성 폐렴에서 비특이성 간질성 폐렴보다 강하게 발현되었다.

MMP-1은 collagenase-1으로도 불리우며, MMP-8 (collagenase-2), MMP-13 (collagenase-3)와 함께 결합조직의 콜라겐 성분을 분해하는 MMPs의 한 종류이다⁷. 특발성 폐섬유화증에서는 collagenases와 그 길항체인 TIMPs의 활성도에 대하여 많은 연구가 이루어졌다^{6,8-11}. Selman 등⁸은 섬유화가 활발히 진행되는 fibroblast foci에서 TIMP-2/MMP-1 molar ratio가 정상 대조군에 비해 높음을 보고하였고, 이들 두 효소 간의 불균형을 특발성 폐섬유화증의 중요한 병인중의 하나로 주장하였다. 즉, TIMPs의 상대적인 과발현이 세포외 기질의 주성분인 콜라겐의 분해를 저하시켜 과도한 침착을 유발한다는 것이다^{8,15}. 저자들 또한 2003년에 통상형 간질성 폐렴, 비특이성 간질성 폐렴, 정상 대조군에서 TIMP-2의 발현이 통상형 간질성 폐렴에서 비특이성 간질성 폐렴과 정상 대조군에 비해 특히 fibroblast foci 내의 섬유모세포/근섬유모세포에서 증가되어 있음을 보고한 바 있다¹⁴. 본 연구에서는 MMP-1은 특발성 폐섬유화증, 비특이성 간질성 폐렴 모두에서 섬유화 병변에서는 발현이 관찰되지 않았고, TIMP-1 역시 염색 강도가 비교적 약하면서 염색부위가 특발성 폐섬유화증과 비특이성 간질성 폐렴 사이에 뚜렷한 차이를 보이지 않았으나, TIMP-2의 경우 특발성 폐섬유화증에서 비특이성 간질성 폐렴보다 과다하게 발현됨을 확인할 수 있었다. 이로써 특발성 폐섬유화증에서의 TIMP-2의 과발현은 정상 대조군 뿐만 아니라, 비특이성 간질성 폐렴과도 구별되는 특징으로, 비가역적인 폐 섬유화의 진행과도 연관이 있을 것으로 생각해 볼 수 있다.

또한 본 연구에서는 폐포 기저막의 주 성분인 gelatin을 분해하는 gelatinases 즉 MMP-2와 MMP-9의 발현 정도를 분석하였는데 gelatin zymography를 통한 densitometric analysis에서 MMP-2, -9 모두 특발성 폐섬유화증에서 비특이성 간질성 폐렴보다 유의하게 높았다.

특발성 간질성 폐렴에서 gelatinases가 정상 대조군

보다 높은 것은 폐 조직과 기관지 폐포세척액(bronchoalveolar lavage fluid; BALF)에서 모두 보고된 바 있다^{8,9,11-13}. 그러나 Suga 등¹²은 특발성 폐섬유화증에서는 MMP-9이, 비특이성 간질성 폐렴에서는 MMP-2가 기관지폐포세척액에서 증가되었다고 보고하여 이를 특발성 폐섬유화증의 비가역적인 섬유화의 한 요인으로 제시하였다. 본 연구의 면역화학염색 결과 중 MMP-2는 통상형 간질성 폐렴, 비특이성 간질성 폐렴 사이에서 큰 차이를 보이지 않았으나 두 질환 모두 섬유모세포/근섬유모세포에서 비교적 강한 염색을 보였고, MMP-9의 경우 섬유모세포/근섬유모세포 뿐만 아니라 중성구에서 더욱 강한 염색을 보였다. Zymography 결과는 MMP-2, -9 모두 비특이성 간질성 폐렴보다 유의하게 특발성 폐섬유화증에서 증가되어 있었다. 다만 MMP-9은 정상조직과 특발성 폐섬유화증 조직 사이에서 유의한 차이를 보이지 않았다. 이는 MMP-9을 생성하는 주 세포가 중성구등의 염증성 세포임을 고려해 볼 때 기존의 연구들에서는 연구의 대상이 주로 기관지폐포세척액으로 상대적으로 폐조직보다 염증성 세포가 많이 포함되어 있으므로 MMP-9이 증가되었을 가능성이 있다. 반면 본 연구에서는 상대적으로 염증성 세포가 적은 폐조직(lung parenchyme)에서 측정하였으므로 MMP-9의 증가가 확연히 규명되지 않았을 가능성도 있다고 생각된다. 이와 반해서 MMP-2는 주로 결합조직을 이루는 섬유모세포(fibroblast)등이 주요한 source가 되어 폐섬유화 조직에서 zymography로 직접 측정할 경우 섬유화의 진행 정도에 따라 증가된 것으로 사료된다^{8,12}. 본 연구의 결과대로라면, gelatinases에 의해 폐포 기저막이 파괴되고 이를 통해 섬유모세포의 폐포강 내로의 이동이 촉진된다고 생각해 볼 때, 특발성 폐섬유화증에서 gelatinases의 증가가 fibroblast foci 형성에 중요한 역할을 한다고 유추해 볼 수 있다. 또한 gelatinases의 발현이 상대적으로 약한 비특이성 간질성 폐렴에서 fibroblast foci의 형성이 거의 없는 것으로 추측해 볼 수 있다.

결론적으로 특발성 폐섬유화증/통상형 간질성 폐렴은 섬유모세포/근섬유모세포에 의해 활발히 섬유화가 진행되는 fibroblast foci에서 TIMP-2, gela-

tinases, 특히 MMP-2가 증가되어 있었고, 비특이성 간질성 폐렴은 특발성 폐섬유화증/통상형 간질성 폐렴에 비해 TIMP-2, gelatinases의 발현이 감소되어 있었다. 이러한 차이가 특발성 폐섬유화증/통상형 간질성 폐렴에서 gelatinases에 의한 기저막 파괴와 TIMP-2에 의한 세포외 기질의 콜라겐 침착을 유발하여, 비특이성 간질성 폐렴과는 다른 비가역적인 섬유화를 유발시키는 한 요인으로 작용할 가능성이 있음을 시사한다고 하겠다.

아울러 특발성 간질성 폐렴중에서 특발성 폐섬유화증/통상형 간질성 폐렴, 비특이성 간질성 폐렴에서 MMPs, TIMPs의 서로 다른 발현을 유도하는 원인 및 기전에 대한 추가적 연구가 행해져야 할 것으로 생각된다.

요 약

연구배경: 특발성 폐섬유화증/통상형 간질성 폐렴은 특발성 간질성 폐렴 중 하나로 세포외 기질의 과도한 침착과 기저막 파괴를 통해 섬유모세포/근섬유모세포가 폐포 내로 이동하면서 발생하는 fibroblast foci가 대표적인 병리학적 현상이며, 결국 비가역적인 섬유화로 진행되는 질환이다. 이에 대하여 기질 분해 효소인 MMPs와 그 길항체인 TIMPs의 과발현이 이러한 병태생리의 한 요인으로 설명되고 있다. 본 연구에서는 특발성 폐섬유화증/통상형 간질성 폐렴을 비롯, 비특이성 간질성 폐렴에서 MMPs와 TIMPs의 발현 양상을 살펴보고자 하였다.

연구방법: 특발성 폐섬유화증/통상형 간질성 폐렴, 비특이성 간질성 폐렴의 폐 조직을 이용하여 MMP-1,-2,-9, TIMP-1, -2에 대한 면역조직화학염색 검사와 MMP-2, MMP-9에 대한 gelatin zymography를 시행하였다. 면역조직화학염색 검사는 통상형 간질성 폐렴 22, 비특이성 간질성 폐렴 13례였으며, gelatin zymography는 통상형 간질성 폐렴 9, 비특이성 간질성 폐렴 4례, 정상 대조군 5례였다.

연구결과: 면역조직화학 염색 검사 결과 섬유모세포/근섬유모세포 부위에서 TIMP-1, -2, MMP-2, 9이 관찰되었고, 특히 통상형 간질성 폐렴에서 비특이성

간질성 폐렴보다 TIMP-2가 강하게 발현되었다. Gelatin zymography 결과는 MMP-2, MMP-9 모두 통상형 간질성 폐렴에서 비특이성 간질성 폐렴보다 유의하게 높은 소견을 보여 주었다.

결론: 통상형 간질성 폐렴에서 비특이성 간질성 폐렴보다 TIMP-2, MMP-2, MMP-9의 과발현을 관찰할 수 있었으며, 이는 통상형 간질성 폐렴의 비가역적인 섬유화 진행에 관여할 가능성이 있음을 추측해볼 수 있다.

References

1. American Thoracic Society, European Respiratory Society. American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Consensus Classification of the Idiopathic Interstitial Pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2002;165:277-304.
2. Gross TJ, Hunninhake GW. Idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2001;345:517-25.
3. Katzenstein AL, Fiorelli RF. Nonspecific interstitial pneumonia/fibrosis: histologic features and clinical significance. *Am J Surg Pathol* 1994;18:136-47.
4. Leslie KO. Historical perspective: a pathologic approach to the classification of idiopathic interstitial pneumonias. *Chest* 2005;128:513S-9S.
5. Kim DS. Idiopathic interstitial pneumonia. In: An CM, editor. *Respiratory diseases*. Seoul: Koonja publishing Inc;2004. p. 457-67.
6. Hayashi T, Stetler-Stevenson WG, Fleming MV, Fishback N, Koss MN, Liotta LA, et al. Immunohistochemical study of metalloproteinases and their tissue inhibitors in the lungs of patients with diffuse alveolar damage and idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Pathol* 1996;149:1241-56.
7. Murphy G, Docherty AJ. The matrix metalloproteinases and their inhibitors. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992;7:120-5.
8. Selman M, Ruiz V, Cabrea S, Segura L, Ramirez R, Barrios R, et al. TIMP-1, -2, -3, and -4 in idiopathic pulmonary fibrosis: a prevailing nondegradative lung microenvironment? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;279:L562-74.
9. Fukuda Y, Ishizake M, Kudoh S, Kitaichi M, Yamana N. Localization of matrix metalloproteinases-1, -2, and -9, and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 in interstitial lung diseases. *Lab invest* 1998;78:687-98.

10. Madtes DK, Eliston AL, Kaback LA, Clark JG. Selective induction of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;24:599-607.
11. Choi KH, Lee HB, Jeong MY, Rhee YK, Chung MJ, Kwak YG, et al. The role of matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in cryptogenic organizing pneumonia. *Chest* 2002;121:1478-85.
12. Suga M, Iyonaga K, Okamoto T, Gushima Y, Miyakawa H, Akaike T, et al. Characteristic elevation of matrix metalloproteinase activity in idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1949-56.
13. Park JH, Shim TS, Lim CM, Koh YS, Lee SD, Kim WS, et al. Matrix metalloproteinases in idiopathic pulmonary fibrosis. *Tuberc Respir Dis* 2001;51:303-14.
14. Kyung SY, Lim YH, An CH, Park JW, Jeong SH, Shin EK, et al. Immunohistochemical study of metalloproteinase-1 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1, -2 in idiopathic interstitial pneumonia. *Korean J Med* 2003;65:196-204.
15. Selman M, King TE, Pardo A. Idiopathic pulmonary fibrosis: prevailing and evolving hypotheses about its pathogenesis and implications for therapy. *Ann Intern Med* 2001;134:136-51.