

당뇨병성 심혈관계 합병증과 관련된 생체표지자의 임상적 의의

가톨릭대학교 의과대학 내과학교실

손장원 · 권혁상

Clinical Implications of Serum Biomarkers in Diabetic Cardiovascular Complications

Jang Won Son, Hyuk Sang Kwon

Department of Internal Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Abstract

Diabetes is associated with increased risk of cardiovascular disease, with atherosclerosis responsible for most associated morbidity and mortality. Atherosclerosis often causes acute thrombotic events through plaque rupture and formation of platelet-rich thrombi. The principal clinical manifestations of atherosclerosis are coronary artery disease, ischemic stroke, and peripheral arterial disease. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and low-grade inflammation are key features in the pathophysiology of atherosclerosis.

Diabetes is also associated with hypercoaguable states and endothelial injury. Hyperactivated platelets at injured endothelial surfaces act together due to the increased availability of thrombotic precursors and diminished fibrinolysis. Advances in the understanding of the pathogenesis of atherosclerosis associated with diabetes have yielded new hypotheses regarding the links between risk factors and the cellular and molecular alterations that underlie cardiovascular disease. Recently, there has been increasing interest in utilizing novel biomarkers of cardiovascular disease risk that have the potential to be useful indicators for better risk assessment, diagnosis, and prognosis. However, to date, most conventional and emerging biomarkers have only modest predictive values, and there remains a need to identify additional biomarkers using new biological approaches. This review highlights the clinical implications of emerging biomarkers associated with cardiovascular disease in patients with diabetes and recent developments in new technologies for the identification of biomarkers. (Korean Diabetes J 33:363-372, 2009)

Key words: Atherosclerosis, Biological markers, Cardiovascular disease, Diabetes mellitus

서 론

당뇨병은 심혈관질환의 독립적인 위험인자로, 당뇨병환자에서 심혈관 합병증의 발생 빈도는 매년 1~3%이며 정상인에 비하여 2~3배 높다. 또한 당뇨병으로 인한 전체사망률 중 약 75%는 심혈관 합병증에 기인하며, 죽상경화증(atherosclerosis)은 이러한 심혈관 합병증의 주요한 요인으로 여겨진다¹⁾. 당뇨병에 의한 고혈당 환경, 인슐린저항성, 유리 지방산 과방출에 따른 혈소판 활성화 증가는 염증성 반응과 산화스트레스에 의한 혈관 내피세포 기능부전을 유발하며 이는 죽상경화증

의 발생원인이 된다²⁾. 내피세포에서 생성되는 산화질소(nitric oxide, NO)의 생성 억제는 내피 산화질소 합성효소(endothelial NO synthase) 활성화를 억제하고 NO를 peroxynitrite 이온으로 변형시키는 일련의 반응을 증가시킨다. 이는 프로스타시클린(prostacyclin)의 생성을 억제하여 내피세포 의존성 혈관이완을 감소시키게 된다. 또한 NO의 생성 감소는 nuclear transcription factor- κ B (NF- κ B)의 활성 증가와 관련되며 이는 혈관 내 chemokine과 염증성 시토카인(cytokine)을 증가시켜 죽상경화증의 진행에 관계한다³⁾. 내피세포의 protein kinase C 활성화에 따른 혈관수축

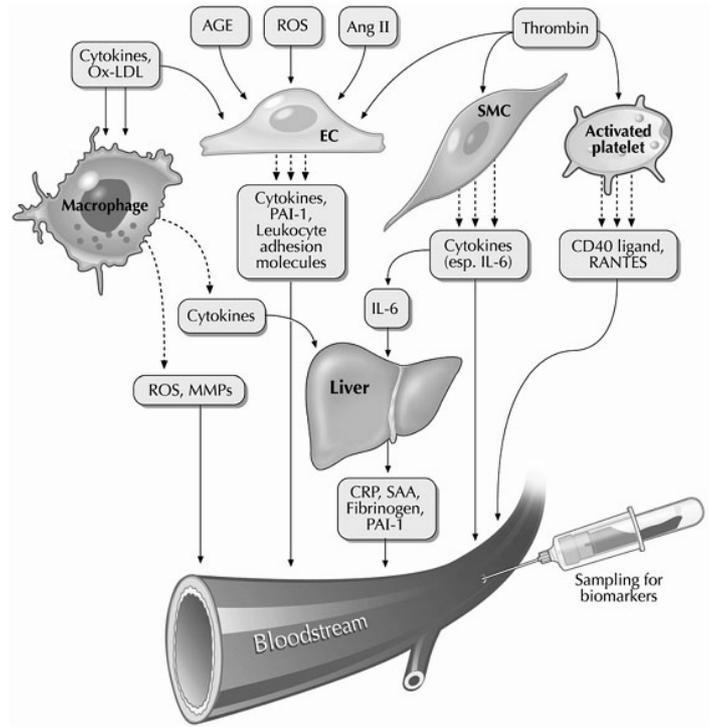


Fig. 1. An inflammatory pathway links risk factors to altered cellular behavior and elevated inflammatory markers in peripheral blood. (Adapted from reference 4)

과 최종당화산물(advanced glycation end-product, AGE) 증가에 따른 내피세포 손상은 활성화된 혈소판과의 반응을 통해 응고인자 증가와 응고과정의 활성화를 유도하고 혈전 생성을 용이하게 한다. 또한 혈관벽 내의 염증성 반응 역시 염증성 세포에서 유도되는 여러 시토카인을 통해 죽상경화관(atherosclerotic plaque)의 파열을 초래하고 혈전 생성을 자극하게 된다. 이러한 복합적인 인자들의 영향으로 당뇨병환자에서 더욱 빠르고 심각한 심혈관 합병증이 발생하는 것으로 보인다⁴⁾. 당뇨병환자에서 이러한 죽상경화증은 주로 경동맥, 관상동맥 및 말초동맥과 같은 large-sized 혹은 medium-sized 혈관의 내막에서 발생하며 죽상경화관의 파열과 혈전 생성에 따라 진행하게 되어, 임상적으로 급성 관상동맥질환, 허혈성 뇌졸중, 말초혈관질환(peripheral arterial disease, PAD)으로 주로 발현하게 된다⁵⁾. 당뇨병환자에서 이러한 심혈관질환의 높은 위험성은 과거의 전통적인 위험인자들만으로는 예측하는데 한계가 있으며, 최근 이에 대한 추가적인 병태생리적 기전이 밝혀지고 해당 분야의 분자생물학적인 연구의 발전으로 새로운 생체표지자에 대한 관심이 높아지게 되었다. 이를 통해 밝혀진 다양한 생체표지자들은 현재 실험실 수준에서 벗어나 실제 임상적 지표들과도

좋은 연관성을 보이고 있으며, 심혈관질환 환자의 조기 진단과 치료 결정, 예후 판단에 있어 매우 유용할 것으로 기대되고 있다(Fig. 1). 기존의 콜레스테롤과 함께 대표적 생체표지자인 C-reactive protein (CRP)의 임상적 유용성은 많은 연구를 통해 밝혀져 있으며 현재 심혈관질환의 예방과 치료의 새로운 기준을 제시하고 있다^{6,7)}. 이번 종설에서는 이 외에도 지속적으로 밝혀지고 있는 다양한 새로운 생체표지자들과 당뇨병성 심혈관 합병증의 상관관계를 알아보고, 그 임상적 유용성 및 한계점과 앞으로의 생체표지자 연구방법에 대한 최신 지견을 알아보하고자 한다.

당뇨병성 심혈관질환

1. 관상동맥질환

일반적으로, 급성 관상동맥질환의 임상적 발현은 병리학적으로 초기 형성된 죽상경화관의 염증성 반응 증가, 불안정성 경화관 형성, 경화관의 파열 및 혈전 형성으로 인한 혈관 내경의 급격한 감소에 따라 나타난다. 각 단계에 관련된 생체표지자를 살펴보면, 초기 경화관의 형성과 관련하여 산화 저밀도 지단백(oxidized low density lipoprotein, oxLDL),

CRP, interleukin-6 (IL-6), IL-10, IL-18, 섬유소원(fibrinogen), 종양괴사인자- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), lipoprotein associated phospholipase A2 (Lp-PLA2)이 있으며, 불안정성 경화판과 관련하여 matrix metalloproteinase-2 (MMP-2), MMP-9, myeloperoxidase (MPO), soluble intracellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), soluble vascular adhesion molecule-1 (sVCAM-1), serum amyloid A (SAA)가 알려져 있다. 경화판의 파열과 관련해서는 soluble DC40 ligand (sCD40L), placental growth factor (PIGF), pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A)의 염증성 반응이 알려져 있으며, 혈전 형성과 관련해서는 플라스미노겐 활성인자 억제제-1 (plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1), von-Willebrand factor (vWF), 섬유소원, P-selectin, 호모시스테인(homocysteine) 등의 생체표지자가 밝혀져 있다⁸⁾. 이러한 다양한 생체표지자 중 당뇨병성 심혈관질환의 병인을 충분히 설명할 수 있고 임상적으로 의미 있는 민감도 및 재현성을 가진 생체표지자를 밝히고자 여러 관찰연구와 전향적 임상연구들이 진행되어 왔다. 대표적인 연구들을 살펴보면, 제2형 당뇨병 환자 328명을 대상으로 9년간 추적 관찰한 전향적 연구에서 vWF, CRP, 섬유소원, 플라스미노겐 활성인자(tissue plasminogen activator, t-PA), E-selectin이 기존의 위험인자와 독립적으로 관상동맥질환에 의한 사망률 증가와 유의한 상관관계를 보이는 것으로 규명되었고⁹⁾, 후속 연구로 제2형 당뇨병과 내당능장애 환자 631명을 대상으로 11.7년간 추적 관찰한 Hoom Study에 의하면 혈관의 염증성 반응 표지자인 CRP, sICAM-1 및 내피세포 기능부전과 관련한 vWF, sVCAM-1은 심혈관 합병증에 의한 사망률 증가와 관련하여 다변량 분석에서 독립적인 예측인자로 밝혀졌다¹⁰⁾. 또한 The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study에서 1,676명의 당뇨병환자를 8년간 전향적으로 관찰한 연구에서는 알부민, 섬유소원, vWF, factor VIII activity가 심혈관질환의 발생 증가와 의미 있는 연관성을 보였고, 예측인자로서의 유용성을 시사하였다¹¹⁾.

호모시스테인은 CRP, 섬유소원, 지단백(a) (lipoprotein (a))와 함께 심혈관질환의 잘 알려진 생체표지자로 임상적 지표들과 좋은 연관성을 보이며, 이 중 관상동맥질환 발현과의 연관성을 전향적으로 확인한 대규모 연구에서 혈청 호모시스테인 농도가 15 $\mu\text{mol/L}$ 이상인 경우 심혈관 합병증에 의한 사망의 상대적 위험도가 26.1% 증가하는 것으로 확인되었다¹²⁾. 또한 내인성 NO 합성 억제제 역할을 하는 asymmetric dimethylarginine (ADMA)와 호모시스테인의

당뇨병성 심혈관질환 발생과의 연관성을 관찰한 연구에서는 ADMA 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 상승 시 심혈관질환의 발생 위험성이 1.63배 증가하는 것을 알 수 있었다¹³⁾. 불안정성 경화판과 관련한 SAA는 아포지단백(apolipoprotein)으로 저밀도지단백과 연관되어 혈액 내 순환하게 되며 일종의 급성기 반응성단백으로 염증성 반응 표지자 역할을 한다. 11번 염색체에 위치한 네 가지 형태의 SAA 중 SAA1, SAA2, SAA4 유전자가 전사되어 그 기능을 수행하며 세포의 지질대사와 죽상경화증 발생의 매개체 역할을 하는 것으로 생각된다¹⁴⁾. Remnant-like lipoprotein particle (RLP) 콜레스테롤은 또 다른 심혈관질환의 위험인자로 중성지방, 콜레스테롤, 아포지단백 E를 포함하며, 제2형 당뇨병환자에서 상대적으로 증가하는 것으로 알려져 있다. 임상적으로 이 두 표지자 SAA, RLP 콜레스테롤은 관상동맥질환이 동반된 제2형 당뇨병환자를 대상으로 한 비교연구에서 CRP와 함께 그 혈중 농도가 유의하게 증가한다는 것으로 판명되었다¹⁵⁾.

병리학적으로 경화판의 파열과 연관된 MMP-2, MMP-9은 혈관 내피세포 및 단핵구에서 유도된 대식세포에서 T-세포의 자극을 받아 생성되고, 단백질 분해능에 따라 경화판의 fibrous-cap를 취약하게 하여 불안정성 경화판을 유도하게 된다. tissue inhibitors of metalloproteinase (TIMP)는 이러한 MMP의 작용을 억제하는 인자로 알려져 있다^{16,17)}.

이와 관련한 연구 결과에서는, 급성 관상동맥질환을 동반한 제2형 당뇨병환자에서 상대적으로 MMP-2, MMP-9 및 TIMP-1, TIMP-2 농도가 유의하게 증가하는 것이 관찰되었고, 이를 통해 세포외기질(extracellular matrix)의 비정상적인 대사작용이 심혈관질환의 발병과 직접적인 연관성이 있음을 확인할 수 있었다¹⁸⁾. 당뇨병환자에서 LDL은 산화스트레스로 인해 비효소적 당화(non-enzymatic glycation)와 산화반응이 증가하고 수용체를 통한 대사가 억제되어 oxLDL이 증가하게 된다. oxLDL은 죽상경화관 형성에 관여하여 대식세포의 거품세포(foam cell)로의 변형을 증가시키고 LDL 응집을 유도하게 된다¹⁹⁾. Total antioxidant status (TAOS)는 산화스트레스와 관련한 또 다른 표지자로, 심혈관질환 발생과 관련하여 MMP 활성화와 sICAM-1, sVCAM-1 발현 및 혈관 이완 소실을 유도한다²⁰⁾. 제2형 당뇨병환자에서 관상동맥질환의 발생과 산화스트레스 표지자 간의 연관성을 확인하고자 한 대규모 University College London Diabetes and Cardiovascular Disease Study (UDACS) 단면적 연구에서, 관상동맥질환의 발생은 혈장 oxLDL : LDL이 높은 군에서 낮은 군에 비해 35.1% 증가하는 것이 관찰되었고 TAOS가 높은 군에서는 32.7% 유의

하게 증가하는 것이 관찰되었다²¹⁾.

AGE는 receptor for AGE (RAGE)와 결합하여 NADH oxidase를 통해 활성산소종(reactive oxygen species, ROS) 생성을 일으키고 산화-환원민감성 전사인자의 활성화와 염증 매개체의 발현을 통해 죽상경화증을 유발하는 것으로 알려져 있다. RAGE는 세 종류의 spliced-variant가 존재하며, 최근 밝혀진 C-terminally truncated RAGE인 endogenous secretory RAGE (esRAGE)와 그 외 soluble RAGE (sRAGE)가 알려져 있다²²⁾. esRAGE와 sRAGE는 AGE에 대한 decoy receptor로 작용하며 AGE와 RAGE의 결합을 방해하여 RAGE의 자극에 따른 염증성 반응 증가를 억제하는 역할을 담당하게 된다. Dallas Heart Study에서 진행된 일반 인구 2,571명을 대상으로 sRAGE와 관동맥 석회화 지수(coronary artery calcium score, CACS)와의 상관관계를 관찰한 연구에서, sRAGE는 CACS 정도와 음의상관관계를 보였으며, 관상동맥질환 발생과 반비례 관계를 보이는 새로운 생체표지자로 밝혀졌다²³⁾. 그러나 일부 다른 연구에서는 제2형 당뇨병환자에서 염증성 반응 표지자인 MCP-1, TNF- α 와 양의 상관관계를 보이며, 관상동맥질환을 동반한 환자군에서 오히려 증가하는 것으로 관찰되어 서로 일치하지 않는 결과를 보이기도 하였다²⁴⁾. 최근 일본에서 진행된 연구에서는, 제1형 당뇨병환자 47명을 대상으로 sRAGE 및 esRAGE와 경동맥 초음파 소견의 진행정도를 4년간 추적 관찰한 결과, 두 표지자의 혈중 농도가 지속적으로 감소된 경우 경동맥 내중막 두께증가 및 관상동맥질환의 진행과 관련해 기존의 위험인자와 비교하여 매우 강력한 독립적 위험인자로 확인되었다²⁵⁾.

혈장 F2-isoprotanes은 프로스타글란딘(prostaglandin)의 대사물질로 세포막 인지질인 아라키돈산(arachidonic acid)의 enzyme-independent free radical 산화작용에 의해 생성되며 지질과산화(lipid peroxidation) 정도를 정량적으로 가장 의미 있게 반영하는 표지자로 알려져 있다²⁶⁾. 제2형 당뇨병환자 21명을 대상으로 한 연구에서, 75 g 경구당부하 검사를 통해 급성 고혈당 상태 유도 시 혈장 F2-isoprotane이 34% 유의하게 증가하는 것이 관찰되었고, 이는 free-radical에 의한 세포막 손상을 의미하는 것으로 이로 인한 심혈관 합병증 발생과도 직접적으로 연관될 것으로 생각되고 있다²⁷⁾.

열충격단백(heat shock protein, HSP)은 산화스트레스를 포함한 다양한 스트레스 환경에 노출된 직후 세포 내에서 생성되는 폴리펩티드(polypeptide)로, 다른 단백질들의 응집을 방지하고 변형된 단백질의 구조를 복구(refolding)하며

손상된 단백질을 분해하여 세포의 항상성을 유지하는 molecular chaperones의 역할을 한다. 이들 HSP는 분자의 크기에 따라 HSP90, 70, 60, 27, 25, 20으로 나누어지고, 이 중 대표적인 HSP70은 허혈성 손상 후 심근의 재관류 및 심근세포의 회복과 관련되며, HSP60은 죽상경화증에서 자가항원(autoantigen)의 역할을 하는 것으로 생각되고 있다^{28,29)}. 제1형 당뇨병환자 531명을 대상으로 항 HSP70 항체(anti-HSP70 antibody) 및 항 HSP60 항체(anti-HSP60 antibody) 발현과 심혈관 합병증 발생 간의 연관성을 확인한 EURODIAB 단면적 연구에서, 항 HSP70 항체와 심혈관질환 발생은 서로 반비례하는 것으로 밝혀졌고, 항 HSP70 항체 상위군에서 심혈관 합병증의 상대 위험도가 47% 감소하는 것이 확인되었다. 반면 항 HSP60 항체와는 유의한 연관성이 확인되지 않았다³⁰⁾.

TNF superfamily 중 하나로 알려진 soluble TNF-like weak inducer of apoptosis (sTWEAK)는 주로 뇌, 심장, 췌장에서 TWEAK mRNA의 발현이 확인되었고, 수용체인 fibroblast growth factor-inducible14 (Fn14)와 반응하여 세포 증식, 혈관 신생(neovascularization), 염증성 반응 및 세포자살(apoptosis)에 관여한다고 밝혀져 있다³¹⁾. Blanco-Colio 등의 최근 연구에서, sTWEAK는 경동맥 협착증이 관찰되는 환자군에서 대조군에 비해 유의하게 감소되어 있었고, 경동맥 내중막 두께와 음의상관관계를 보이는 것으로 확인되었다³²⁾. 또한 신부전을 동반한 제2형 당뇨병환자를 대상으로 한 또 다른 연구에서, 대조군에 비해 당뇨병환자군에서 신부전 정도에 비례하여 sTWEAK가 유의하게 감소하는 것이 확인되어 죽상경화증의 새로운 생체표지자로서 sTWEAK을 제시하였다³³⁾.

Fetuin-A는 과거 $\alpha 2$ -Heremans schmid glycoprotein (AHSG)로 알려진 인산화 당단백질(phosphorylated glycoprotein)로 간에서 분비되며, 인슐린 수용체의 자가인산화(autophosphorylation)와 tyrosin kinase의 활성을 억제하여 인슐린저항성과 관련된 것으로 알려져 있다. 대규모 European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam study에서 Fetuin-A는 당뇨병 발생의 독립적인 위험인자로 밝혀졌고³⁴⁾, 또 다른 연구에서는 혈청 Fetuin-A 농도 증가는 심근경색증과 허혈성 뇌졸중의 상대적 위험도를 각각 3.2배, 3.7배 증가시켜 심혈관질환의 위험인자로도 주목을 받고 있다³⁵⁾. 전향적인 연구를 통해 당뇨병환자에서 Fetuin-A와 심혈관 합병증 발생 간의 연관성을 확인하는 것은 의미 있을 것으로 기대된다.

2. 뇌혈관질환

당뇨병은 뇌혈관질환의 주요한 위험인자로, 특히 당뇨병을 동반한 동양인의 경우 서양인에 비해 뇌졸중의 상대적 위험도가 높은 것으로 알려져 있다. 당뇨병환자에서는 특징적으로 허혈성 뇌졸중과 일과성 허혈 발작(transient ischemic attack, TIA)의 빈도가 상대적으로 높고 이로 인한 이환율과 사망률이 증가된다. Framingham 연구를 통해 당뇨병이 뇌혈관질환의 독립적인 위험인자임이 입증되었고³⁶⁾, 핀란드에서 시행된 15년간의 전향적 연구에서 당뇨병환자의 뇌졸중 발생 상대위험도가 남자의 경우 3.4배, 여자의 경우 4.9배에 달하는 것으로 밝혀졌다. 당뇨병은 또한 뇌졸중의 재발과 이와 관련한 치매증상의 발생 위험도를 2~3배 증가시키는 것으로도 보고되고 있다^{37,38)}. 그러나 이러한 높은 위험성에도 불구하고 뇌혈관질환과 관련한 유용한 선별검사 및 예측인자들에 대해 아직까지 많이 알려진 바가 없다. 이와 관련된 기존의 연구들을 살펴보면, 심혈관질환의 과거력이 없는 제2형 당뇨병환자 179명을 8년간 추적 관찰한 일본의 전향적 연구에서 sICAM-1과 CRP는 뇌혈관질환 발생과 유의한 연관성을 보였고³⁹⁾, 또 다른 연구에서도 sICAM-1은 sVCAM-1, E-selectin, CRP와 달리 유일하게 뇌혈관질환의 발생과 유의한 연관성을 보여, 예측인자로서의 유용성을 보여주었다⁴⁰⁾. 최근 일본에서 진행된 제2형 당뇨병환자를 대상으로 한 환자-대조군, 단면적 연구에서 resistin (RETN)이 뇌혈관질환의 기왕력을 가진 당뇨병환자에서 의미 있게 증가된 것이 관찰되었고, 염색체 19p13.3에 위치한 RETN의 coding gene 다형성(polymorphism)과 뇌혈관질환의 발생 간에 유의한 연관성이 확인되었다⁴¹⁾.

당뇨병성 말초혈관질환

심혈관질환 및 허혈성 뇌졸중과 함께 PAD 역시 죽상경화증에 의해 발생하는 주요한 당뇨병성 대혈관 합병증 중 하나이다. 최근 일반인구를 대상으로 한 연구에서 PAD의 유병률은 4.5%로 관찰되었고, 이러한 PAD환자의 20~30%가 당뇨병환자인 것으로 밝혀졌다⁴²⁾. 또한 당뇨병환자에서 PAD 발생의 위험은 당뇨병이 아닌 환자에 비해 2~4배에 이르는 것으로 알려져 있다. 당뇨병환자에서 PAD는 대개보다 원위부 혈관을 침범하며 혈관 중막 석회화를 특징으로 한다. 이러한 특징으로 인해 정상적인 측부혈관의 생성과 혈관재형성(revascularization) 요법에 제한이 따르게 된다. National Cholesterol Education Program의 Adult Treatment Panel III에서는 당뇨병과 마찬가지로 PAD 역시 관상동맥

질환의 동등한 위험인자로 분류하고 있다⁴³⁾. 그러나 PAD 환자의 50%에서 조기에 임상증상이 발현되지 않는 점을 고려할 때, PAD의 조기진단 및 예측과 관련한 생체표지자의 확인은 심혈관 합병증의 예방에 있어 유용할 것으로 기대된다. GenePAD (Genetic Determinants of PAD) Study의 일환으로 진행된 일반 인구대상의 한 단면적 연구에서, β 2-microglobulin, Cystatin-C, CRP 및 포도당의 증가가 PAD의 발생 위험도 증가와 유의한 연관성이 있는 것으로 확인되었고⁴⁴⁾, NO-PAIN (Nitric Oxide in Peripheral Arterial Insufficiency) Study에서도 β 2-microglobulin은 PAD의 발생과 좋은 상관관계를 보여 의미 있는 예측인자로서 주목받고 있다⁴⁵⁾. 제2형 당뇨병환자를 대상으로 한 최근 연구에서 tPA 활성화는 과응고 및 저섬유소 용해와 관련된 표지자로, 무증상 PAD 환자의 조기진단에 있어 독립적인 표지자로 밝혀져 그 유용성이 기대되고 있으며⁴⁶⁾, 또 다른 환자-대조군 연구에서는 AGE, pentosidine, Malondialdehyde (MDA), total reactive antioxidant potentials (TRAP), 비타민 E와 같은 다양한 생체표지자와 PAD 발생 간의 상관관계를 확인하였고, 이 중 pentosidine과 MDA가 제2형 당뇨병환자에서 PAD 발생과 유의한 연관성이 있는 것으로 관찰되었다⁴⁷⁾.

무증상 죽상경화증(Subclinical Atherosclerosis)

미세혈관 합병증과 달리 심혈관질환의 경우 제2형 당뇨병 진단 시 많게는 약 50%에서 이미 동반되어 있으며, 이는 심혈관질환이 당뇨병의 합병증이라기보다는 공존하는 질환임을 시사하고 있다. 이를 뒷받침하는 근거로 Stern에 의해 제안된 “Common soil hypothesis”에 따르면 당뇨병과 심혈관질환은 공통된 유전적, 환경적 인자의 영향을 받으며, 대사증후군과 같은 다양한 위험인자들이 두 질환의 위험도를 증가시키는 것으로 설명하고 있다⁴⁸⁾. 이와 같은 특징으로 심혈관질환의 조기진단은 중요한 의미를 가지며, 이와 관련하여, 경동맥의 내중막 두께와 CACS의 평가 및 무증상 죽상경화증의 생체표지자에 대한 연구가 최근 많은 관심을 받고 있다. Veterans affairs diabetes trial (VADT) Study에서 40세 이상의 제2형 당뇨병환자 306명을 대상으로 진행된 연구에 따르면, IL-6, CRP, Lp-PLA2와 electron-beam-computer-assisted tomography (EBCT)로 평가한 CACS와의 연관성 분석에서, IL-6는 CACS 증가와 가장 강력한 상관관계를 보여 무증상관상동맥질환의 예측에 좋은 지표임이 밝혀졌다⁴⁹⁾. Leptin 역시 제2형 당뇨병환자에서 EBCT로 측

정한 CACS 정도와 기존의 위험인자들과는 독립적으로 가장 의미 있는 인자로 규명되었으며, leptin의 pro-atherogenic 역할 가능성을 제시하였다⁵⁰. 또 다른 연구에서는 AGE, pentosidine 농도와 경동맥 초음파 소견 및 pulse wave velocity (PWV) 간에 유의한 연관성이 관찰되었다⁵¹. Cystatin-C의 경우 제1형 당뇨병환자 509명을 대상으로 한 연구에서, 혈청 Cystatin-C 농도는 CACS 정도와 무증상 죽상경화증의 진행 정도를 가장 잘 반영하는 표지자로 밝혀졌으며⁵², 제2형 당뇨병환자에서도 심혈관질환의 예측에 있어 Cystatin-C의 유용성이 밝혀지고 있다. 이 외 많은 연구들을 통해 현재 다양한 생체표지자들이 무증상 죽상경화증의 예측인자로서 가능성이 제시되고 있으며, 향후 전형적인 대규모 임상 연구들을 통해 입증되어야 할 것으로 판단된다.

임상적 유용성과 한계점

미국의 National Institutes of Health에서는 2001년 생체표지자에 대해 정상적인 생물학적 현상, 병리학적인 현상 또는 치료과정에 대한 약리학적인 반응에 대해 객관적으로 평가하고 측정할 수 있는 인자라고 정의하였고, 혈액, 소변, 조직 검사와 같은 검체에서 쉽게 측정이 가능하며, 임상적 소견과 직접적인 인과관계 혹은 간접적인 연관성이 입증되는 경우 이상적인 조건을 갖춘 것으로 평가하였다⁵³. 이러한 점을 고려할 때 앞서 기술한 당뇨병성 심혈관 합병증과 관련한 다양한 생체표지자들은 죽상경화증의 발생 기전과 분자생물학적으로 밀접한 연관성을 보이며, 임상적으로도 좋은 상관관계를 보여 예후 판단과 발생의 위험도 예측에 있어 유용할 것으로 기대된다. 그러나 아직까지 일부 생체표지자의 경우 측정 방법이 복잡하고 결과 해석의 표준화가 이루어지지 않아 임상적인 적용이 명확하지 않은 점은 그 유용성의 한계점이라 할 수 있다. 최근 Framingham Heart Study에서 10년 이상의 추적관찰을 통해 다양한 생체표지자의 유용성을 확인한 대규모 연구에서는, CRP, B-type natriuretic peptide (BNP), 요 알부민, 레닌(rennin), 호모시스테인이 다른 심혈관질환 위험인자를 보정한 경우 사망의 발생과 관련해서 의미 있는 예측인자로 확인되었고, BNP와 요 알부민은 심혈관질환의 발생과 관련해서 매우 의미 있는 예측인자로 확인되었다. 다양한 생체 표지자를 통해 구한 multimarker score을 이용한 경우 상위 20%군에서 사망의 상대위험도는 4배, 주요 심혈관질환 발생은 2배 증가하는 것으로 관찰되었다⁵⁴. 그러나 multimarker score에 대한 receiver operating characteristic (ROC) 분석에 의하면, 결

과적으로 전통적인 심혈관질환의 위험인자와 비교하여 추가적인 이득은 적은 것으로 나타나 그 한계점을 보여주었다⁵⁵. 이러한 점을 감안할 때 기존 생체표지자들의 임상적 역할에 대한 대규모 연구가 지속적으로 요구되며, 최근 활발히 연구가 이루어지고 있는 proteomics와 분자영상학(molecular imaging)과 같은 새로운 접근이 필요할 것으로 판단된다.

생체표지자 연구의 미래

당뇨병성 심혈관 합병증의 발생은 앞서 설명한 바와 같이 혈관의 염증성 반응, 혈소판의 활성화, 혈관 내피세포의 기능 부전을 특징으로 하며, 이러한 병태생리적 현상의 결과는 혈액 내 여러 단백질 구성의 변화를 가져오게 된다. 최근 새로운 생체표지자에 대한 연구는 이와 같은 근거에 기반하여 functional genomics를 통한 연구가 활발히 진행되고 있다. 이는 유전자인 DNA로부터 단백질의 발현 및 대사작용까지의 일련의 과정을 반영하는 genomics, transcriptomics, proteomics, metabolomics을 통칭하게 된다. 대표적으로 proteomics는 단백질의 발현, 기능, 구조, post-translational modification (PTM) 및 protein-protein interaction을 분석하여 유전체의 유전정보가 최종적으로 기능을 나타내게 되는 단백질을 통해 해당유전자의 세포 내 기능을 파악하고자 하는 것으로, 심혈관질환의 기전을 분자생물학적으로 이해하고 밝히는데 많은 도움이 될 것으로 생각되고 있다^{56,57}. 최근 2-Dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2D-PAGE)에 의해 분리된 단백질들을 mass spectrometer를 통해 동정하여 관련 단백질의 발현 양상을 정밀하게 분석할 수 있게 되었고, 이를 통해 새로운 생체표지자의 발견에 대해 다양한 가능성을 제시하고 있다. 이와 함께 활발히 연구되고 있는 분자영상학 분야는 분자 수준 및 유전자 수준의 작용에서 나오는 영상 신호를 이용하여 해부학적인 변화가 나타나기에 앞서 발현되는 유전자 변화, 단백질 변화, 대사 변화 및 세포 내 생물학적 변화를 영상화하는 것으로, 향후 혈관 내피세포에서 발현하는 다양한 표적분자와 이에 특이 반응하는 새로운 방사성 추적자(target contrast agents)를 연구하여 죽상경화증의 진행과 관련한 분자 수준의 변화를 확인하고 경화반의 불안정성과 혈전 형성의 가능성을 예측하는데 이용할 수 있을 것으로 기대된다⁵⁸⁻⁶⁰. 이러한 분자영상학 분야는 proteomics와 함께 당뇨병성 심혈관 합병증의 보다 근본적인 병인론을 규명하고 임상적으로 유용한 새로운 생체표지자를 입증하는데 앞으로 의미 있는 연구분야가 될 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. Gu K, Cowie CC, Harris MI: *Mortality in adults with and without diabetes in a national cohort of the U.S. population, 1971-1993. Diabetes Care* 21:1138-45, 1998
2. Hartge MM, Unger T, Kintscher U: *The endothelium and vascular inflammation in diabetes. Diabetes Vasc Dis Res* 4:84-8, 2007
3. Hadi A, Jassim A: *Endothelial dysfunction in diabetes mellitus. Vasc Health Risk Manag* 3:853-76, 2007
4. Libby P, Ridker PM: *Inflammation and atherothrombosis - from population biology and bench research to clinical practice. J Am Coll Cardiol* 48(suppl 1):A33 -46, 2006
5. Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard BV, Mitch W, Smith SC Jr, Sowers JR: *Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. Circulation* 100:1134-46, 1999
6. Schulze MB, Rimm EB, Li T, Rifai N, Stampfer MJ, Hu FB: *C-Reactive protein and incident cardiovascular events among men with diabetes. Diabetes Care* 27:889-94, 2004
7. Soinio M, Marniemi J, Laakso M, Lehto S, Rönnekaa T: *High-Sensitivity C-Reactive protein and coronary heart disease mortality in patients with type 2 diabetes. Diabetes Care* 29:329-33, 2006
8. Ferri N, Paoletti R, Corsini A: *Biomarkers for atherosclerosis: pathophysiological role and pharmacological modulation. Curr Opin Lipidol* 17:495-501, 2006
9. Stehouwer CD, Gall MA, Twisk JW, Knudsen E, Emeis JJ, Parving HH: *Increased urinary albumin excretion, endothelial dysfunction, and chronic low-grade inflammation in type 2 diabetes: progressive, interrelated, and independently associated with risk of death. Diabetes* 51:1157-65, 2002
10. de Jager J, Dekker JM, Kooy A, Kostense PJ, Nijpels G, Heine RJ, Bouter LM, Stehouwer CD: *Endothelial dysfunction and low-grade inflammation explain much of the excess cardiovascular mortality in individuals with type 2 diabetes: The Hoorn Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26:1086-93, 2006
11. Saito I, Folsom AR, Brancati FL, Duncan BB, Chambless LE, McGovern PG: *Nontraditional risk factors for coronary heart disease incidence among persons with diabetes: the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study. Ann Intern Med* 133:81-91, 2000
12. Soinio M, Marniemi J, Laakso M, Lehto S, Rönnekaa T: *Elevated plasma homocysteine level is an independent predictor of coronary heart disease events in patients with type 2 diabetes mellitus. Ann Intern Med* 140:94-100, 2004
13. Krzyzanowska K, Mittermayer F, Krugluger W, Schnack C, Hofer M, Wolzt M, Scherthaner G: *Asymmetric dimethylarginine is associated with macrovascular disease and total homocysteine in patients with type 2 diabetes. Atherosclerosis* 189:236-40, 2006
14. Yamada T: *Serum amyloid A (SAA): a concise review of biology, assays methods and clinical usefulness. Clin Chem Lab Med* 37:381-8, 1999
15. Hamano M, Saito M, Eto M, Nishimatsu S, Suda H, Matsuda M, Matsuki M, Yamamoto S, Kaku K: *Serum amyloid A, C-reactive protein and remnant-like lipoprotein particle cholesterol in type 2 diabetic patients with coronary heart disease. Ann Clin Biochem* 41:125-9, 2004
16. Li-Saw-Hee FL, Edmunds E, Blann A, Beevers DG, Lip GY: *Matrix metalloproteinase-9 and tissue inhibitor metalloproteinase-1 levels in essential hypertension. Relationship to left ventricular mass and antihypertensive therapy. Int J Cardiol* 75:43-7, 2000
17. Vincenti MP: *The matrix metalloproteinase (MMP) and tissue inhibitor of metalloproteinase genes. Methods Mol Biol* 151:121-48, 2001
18. Derosa G, D'Angelo A, Scalise F, Avanzini MA, Tinelli C, Peros E, Fogari E, Cicero AF: *Comparison between metalloproteinases-2 and -9 in healthy subjects, diabetics, and subjects with acute coronary syndrome. Heart Vessels* 22:361-70, 2007
19. Tsimikas S, Brilakis ES, Miller ER, McConnell JP, Lennon RJ, Kornman KS, Witztum JL, Berger PB: *Oxidized phospholipids, Lp(a) lipoprotein, and coronary artery disease. N Engl J Med* 353:46-57, 2005
20. Weinbrenner T, Cladellas M, Isabel Covas M, Fito M,

- Tomas M, Senti M: *High oxidative stress in patients with stable coronary heart disease. Atherosclerosis* 168:99-106, 2003
21. Stephens JW, Gable DR, Hurel SJ, Miller GJ, Cooper JA, Humphries SE: *Increased plasma markers of oxidative stress are associated with coronary heart disease in males with diabetes mellitus and with 10-year risk in a prospective sample of males. Clin Chem.* 52:446-52, 2006
 22. Yonekura H, Yamamoto Y, Sakurai S, Petrova RG, Abedin MJ, Li H, Yasui K, Takeuchi M, Makita Z, Takasawa S, Okamoto H, Watanabe T, Yamamoto H: *Novel splice variants of the receptor for advanced glycation end-products expressed in human vascular endothelial cells and pericytes, and their putative roles in diabetes-induced vascular injury. Biochem J* 370:1097-109, 2003
 23. Lindsey JB, de Lemos JA, Cipollone F, Ayers CR, Rohatgi A, Morrow DA, Khera A, McGuire DK: *Association between circulating soluble receptor for advanced glycation end products and atherosclerosis. Diabetes Care* 32:1218-20, 2009
 24. Nakamura K, Yamagishi S, Adachi H, Kurita-Nakamura Y, Matsui T, Yoshida T, Imaizumi T: *Serum levels of sRAGE, the soluble form of receptor for advanced glycation end products, are associated with inflammatory markers in patients with Type 2 Diabetes. Mol med* 13:185-9, 2007
 25. Katakami N, Matsuhisa M, Kaneto H, Matsuoka TA, Sakamoto K, Yasuda T, Umayahara Y, Kosugi K, Yamasaki Y: *Serum endogenous secretory RAGE level is an independent risk factor for the progression of carotid atherosclerosis in type 1 diabetes. Atherosclerosis* 204: 288-92, 2009
 26. Davi G, Ciabattini G, Consoli A, Mezzetti A, Falco A, Santarone S, Pennese E, Vitacolonna E, Bucciarelli T, Costantini F, Capani F, Patrono C: *In vivo formation of 8-iso-prostaglandin f2alpha and platelet activation in diabetes mellitus: effects of improved metabolic control and vitamin E supplementation. Circulation* 99:224-9, 1999
 27. Sampson MJ, Gopaul N, Davies IR, Hughes DA, Carrier MJ: *Plasma F2 isoprostanes: direct evidence of increased free radical damage during acute hyperglycemia in type 2 diabetes. Diabetes Care* 25:537-41, 2002
 28. Zhu J, Quyyumi AA, Rott D, Csako G, Wu H, Halcox J, Epstein SE: *Antibodies to human heatshock protein 60 are associated with the presence and severity of coronary artery disease: evidence for an autoimmune component of atherogenesis. Circulation* 103:1071-5, 2001
 29. Zhu J, Quyyumi AA, Wu H, Csako G, Rott D, Zalles-Ganley A, Ogunmakinwa J, Halcox J, Epstein SE: *Increased serum levels of heat shock protein 70 are associated with low risk of coronary artery disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 23:1055-9, 2003
 30. Gruden G, Bruno G, Chaturvedi N, Burt D, Pinach S, Schalkwijk C, Stehouwer CD, Witte DR, Fuller JH, Cavallo-Perin P; EURODIAB Prospective Complications Study Group: *ANTI-HSP60 and ANTI-HSP70 antibody levels and micro/macrovacular complications in type 1 diabetes: the EURODIAB Study. J Intern Med.* May 8 [Epub ahead of print], 2009
 31. Chicheportiche Y, Bourdon PR, Xu H, Hsu YM, Scott H, Hession C, Garcia I, Browning JL: *TWEAK, a new secreted ligand in the tumor necrosis factor family that weakly induces apoptosis. J Biol Chem* 272:32401-10, 1997
 32. Blanco-Colio LM, Martín-Ventura JL, Muñoz-García B, Orbe J, Páramo JA, Michel JB, Ortiz A, Meilhac O, Egido J: *Identification of soluble tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis (sTWEAK) as a possible biomarker of subclinical atherosclerosis. Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27:916-22, 2007
 33. Kralisch S, Ziegelmeier M, Bachmann A, Seeger J, Lössner U, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M: *Serum levels of the atherosclerosis biomarker sTWEAK are decreased in type 2 diabetes and end-stage renal disease. Atherosclerosis* 199:440-4, 2008
 34. Stefan N, Fritsche A, Weikert C, Boeing H, Joost HG, Häring HU, Schulze MB: *Plasma Fetuin-A Levels and the Risk of Type 2 Diabetes. Diabetes* 57:2762-7, 2008
 35. Weikert C, Stefan N, Schulze MB, Pischon T, Berger K, Joost HG, Häring HU, Boeing H, Fritsche A: *Plasma Fetuin-A levels and the risk of myocardial infarction*

- and ischemic stroke. *Circulation* 118:2555-62, 2008
36. Wolf PA, D'Agostino RB, Belanger AJ, Kannel WB: *Probability of stroke: a risk profile from the Framingham Study. Stroke* 22:312-8, 1991
 37. Hankey GJ, Jamrozik K, Broadhurst RJ, Forbes S, Anderson CS: *Long-term risk of first recurrent stroke in the Perth Community Stroke Study. Stroke* 29:2491-500, 1998
 38. Luchsinger JA, Tang MX, Stern Y, Shea S, Mayeux R: *Diabetes mellitus and risk of Alzheimer's disease and dementia with stroke in a multiethnic cohort. Am J Epidemiol* 154:635-41, 2001
 39. Kanai A, Kawamura T, Umemura T, Nagashima M, Nakamura N, Nakayama M, Sano T, Nakashima E, Hamada Y, Nakamura J, Hotta N: *Association between future events of brain infarction and soluble levels of intercellular adhesion molecule-1 and C-reactive protein in patients with type 2 diabetes mellitus. Diabetes Res Clin Pract* 82:157-64, 2008
 40. Kawamura T, Umemura T, Kanai A, Nagashima M, Nakamura N, Uno T, Nakayama M, Sano T, Hamada Y, Nakamura J, Hotta N: *Soluble adhesion molecules and C-reactive protein in the progression of silent cerebral infarction in patients with type 2 diabetes mellitus. Metabolism* 55:461-6, 2006
 41. Tsukahara T, Nakashima E, Watarai A, Hamada Y, Naruse K, Kamiya H, Nakamura N, Kato N, Hamajima N, Sekido Y, Niwa T, Tomita M, Oiso Y, Nakamura J: *Polymorphism in resistin promoter region at -420 determines the serum resistin levels and may be a risk marker of stroke in Japanese type 2 diabetic patients. Diabetes Res Clin Pract* 84:179-86, 2009
 42. Marso SP, Hiatt WR: *Peripheral arterial disease in patients with diabetes. J Am Coll Cardiol* 47:921-9, 2006
 43. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol In Adults: *Executive summary of the third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). JAMA* 285:2486-97, 2001
 44. Fung ET, Wilson AM, Zhang F, Harris N, Edwards KA, Olin JW, Cooke JP: *A biomarker panel for peripheral arterial disease. Vasc Med* 13:217-24, 2008
 45. Wilson AM, Kimura E, Harada RK, Nair N, Narasimhan B, Meng XY, Zhang F, Beck KR, Olin JW, Fung ET, Cooke JP: *β 2-Microglobulin as a biomarker in peripheral arterial disease: proteomic profiling and clinical studies. Circulation* 116:1396-403, 2007
 46. Sahli D, Eriksson JW, Boman K, Svensson MK: *Tissue plasminogen activator (tPA) activity is a novel and early marker of asymptomatic LEAD in type 2 diabetes. Thromb Res* 123:701-6, 2009
 47. Lapolla A, Piarulli F, Sartore G, Ceriello A, Ragazzi E, Reitano R, Baccarin L, Laverda B, Fedele D: *Advanced glycation end products and antioxidant status in type 2 diabetic patients with and without peripheral artery disease. Diabetes Care* 30:670-6, 2007
 48. Celentano A, Vaccaro O, Tammaro P, Galderisi M, Crivaro M, Oliviero M, Imperatore G, Palmieri V, Iovino V, Riccardi G, Divitiis O: *Early abnormalities of cardiac function in non-insulin-dependent diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. Am J Cardiol* 76:1173-6, 1995
 49. Saremi A, Anderson RJ, Luo P, Moritz TE, Schwenke DC, Allison M, Reaven PD; VADT: *Association between IL-6 and the extent of coronary atherosclerosis in the veterans affairs diabetes trial (VADT). Atherosclerosis* 203:610-4, 2009
 50. Reilly MP, Iqbal N, Schutta M, Wolfe ML, Scally M, Localio AR, Rader DJ, Kimmel SE: *Plasma leptin levels are associated with coronary atherosclerosis in type 2 diabetes. J Clin Endocrinol Metab* 89:3872-8, 2004
 51. Yoshida N, Okumura K, Aso Y: *High serum pentosidine concentrations are associated with increased arterial stiffness and thickness in patients with type 2 diabetes. Metabolism* 54:345-50, 2005
 52. Maahs DM, Ogden LG, Kretowski A, Snell-Bergeon JK, Kinney GL, Berl T, Rewers M: *Serum Cystatin C predicts progression of subclinical coronary atherosclerosis in individuals with type 1 diabetes. Diabetes* 56:2774-9, 2007
 53. Biomarkers Definitions Working Group: *Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. Clin Pharmacol Ther* 69:89-95,

2001

54. Wang TJ, Gona P, Larson MG, Tofler GH, Levy D, Newton-Cheh C, Jacques PF, Rifai N, Selhub J, Robins SJ, Benjamin EJ, D'Agostino RB, Vasan RS: *Multiple biomarkers for the prediction of first major cardiovascular events and death. N Engl J Med 355:2631-9, 2006*
55. Ware JH: *The Limitations of Risk Factors as Prognostic Tools. N Engl J med 355:2615-7, 2006*
56. Gerszten RE, Wang TJ: *The search for new cardiovascular biomarkers. Nature 451:949-52, 2008*
57. Arab S, Gramolini AO, Ping P, Kislinger T, Stanley B, van Eyk J, Ouzounian M, MacLennan DH, Emili A, Liu PP: *Cardiovascular proteomics: tools to develop novel biomarkers and potential applications. J Am Coll Cardiol 48:1733-41, 2006*
58. Flacke S, Fischer S, Scott MJ, Fuhrhop RJ, Allen JS, McLean M, Winter P, Sicard GA, Gaffney PJ, Wickline SA, Lanza GM: *Novel MRI contrast agent for molecular imaging of fibrin: implications for detecting vulnerable plaques. Circulation 104:1280-5, 2001*
59. Chen J, Tung CH, Mahmood U, Ntziachristos V, Gyurko R, Fishman MC, Huang PL, Weissleder R: *In vivo imaging of proteolytic activity in atherosclerosis. Circulation 105:2766-71, 2002*
60. Winter PM, Morawski AM, Caruthers SD, Fuhrhop RW, Zhang H, Williams TA, Allen JS, Lacy EK, Robertson JD, Lanza GM, Wickline SA: *Molecular imaging of angiogenesis in early-stage atherosclerosis with $\alpha_v\beta_3$ -integrin-targeted nanoparticles. Circulation 108:2270-4, 2003*