

동맥관개존증의 폐쇄술 전후 Endothelin-1의 변화*

이화여자대학교 의과대학 흉부외과학교실
원 용 순

= Abstract =

Changes of Endothelin-1 Level after the Closure of Patent Ductus Arteriosus

Yong Soon Won

*Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine,
Ewha Womans University*

Objectives : Pulmonary hypertension is characterized by an increase in vascular tone or an abnormal proliferation of muscle cells in the wall of small pulmonary arteries. Endothelin-1(ET-1) is a potent endothelium-derived vasoconstrictor peptide with important mitogenic properties. It has been recognized that endothelin-1 may contribute to increase in pulmonary arterial tone or smooth muscle proliferation in congenital heart disease patients with pulmonary hypertension. To explore the role of endothelin-1 in patent ductus arteriosus, we measured endothelin-1 before and after closure of ductus in artery and vein plasma.

Methods : Seven patients of patent ductus arteriosus underwent thoracoscopic clipping of ductus in 1997 June - August. Their age was 1 - 24 months and male 4, female 3. Blood samples were drawn from radial artery and inferior vena cava before, 30 minutes and 90 minutes after closure of ductus. Endothelin-1 was measured by radioimmunoassay method.

Results : Arterial endothelin-1 was 17.96 ± 8.09 pg/ml at before closure of ductus, 13.47 ± 3.14 pg/ml at 30 minutes after closure of ductus and 11.43 ± 2.9 pg/ml at 90 minutes after closure of ductus. Venous endothelin-1 was 9.34 ± 3.55 pg/ml at before closure, 8.9 ± 3.74 pg/ml at 30 minutes after closure and 8.4 ± 3.71 pg/ml at 90 minutes after closure of ductus. Arterial endothelin-1 was significantly higher than venous one at before and 30 minutes after ductus closure ($p < 0.05$). Arterial endothelin-1 at 90 minutes after ductus closure was significantly lower than that at before the closure ($p < 0.05$).

Conclusions : Patients of patent ductus arteriosus have substantial alterations in plasma endothelin-1 which is decreased after closure of ductus. Comparing with venous plasma, the higher levels of ET-1 in arterial plasma suggest pulmonary production of endothelin-1, which may contribute to induce pulmonary hypertension.

KEY WORDS : Patent ductus arteriosus · Endothelin-1.

*이 논문은 1995년도 교내연구비 지원으로 연구를 수행하였음.

서 론

혈관내막에서 혈관 수축, 혈관 확장에 관여하는 여러 가지 물질이 생성·작용하는 것이 알려지면서, endothelin에 대한 많은 연구가 진행되었다. Endothelin은 혈관내피세포에서 생성되어 혈관평활근(vascular smooth muscle)과 심근을 수축 또는 확장시키는 작용을 하며¹⁻⁴⁾ 선천성 심장기형, 원발성 폐동맥 고혈압증, 폐손상, 저산소증과 같은 질환에서 혈중 농도가 증가되는 것으로 보고되고 있다⁵⁻⁷⁾. 특히 심장질환 중에서 폐동맥 고혈압이 동반된 경우, 폐혈관에서 endothelin이 많이 생성되어 폐혈관 수축을 강화시키게 되므로 폐동맥 혈압을 증가시키고, 우심실 비대가 일어난다. 더욱이 시간이 오래 경과하면 폐혈관 벽의 근육세포를 증식시켜 혈관 변성을 유발하는 작용을 한다.

동맥관 개존증(PDA: patent ductus arteriosus)은 높은 압력의 대동맥에서 낮은 압력의 폐동맥으로 혈류의 좌우단락이 일어나 폐혈류를 증가시킬 뿐 아니라, 폐동맥 혈압도 증가시킨다. Endothelin은 폐동맥 고혈압이 있는 심장질환에서 상승하여 폐동맥 혈압을 더욱 상승시키고 폐혈관의 변성을 유발한다고 알려져 있으므로 endothelin-1은 동맥관 개존증의 병태생리에도 작용할 것으로 예상된다. 심장내에서 단락이 이루어지는 선천성 심장기형에서는 endothelin에 대한 연구가 있으나^{8,9)} 동맥관 개존증에서의 endothelin에 관한 연구는 그리 많지 않다. 따라서 본 연구에서는 동맥관 개존증 환자들에서 동맥관 폐쇄를 전후하여 endothelin-1의 변화를 측정하여 동맥관개존증에서의 endothelin-1의 작용을 알아보고자 하였다.

연구대상 및 방법

1997년 6월부터 1997년 8월까지 동맥관 개존증으로 수술 받은 7명의 환자를 대상으로 연구하였다. 환자의 연령은 1~24개월이었고 남자 4명, 여자 3명이었다.

환자 각각에 대한 수술 전 진단은 심에코검사로 하였고, 심도자술은 시행하지 않았다. 수술은 흉강경을 이용하여 동맥관을 박리한 후 혈관 클립으로 clipping하여 폐쇄하였다. 즉 전신 마취 하에 좌측 흉와위에서 제 3번 늑간과 후액와선상에 4mm 흉강 내시경을 흉강내

에 삽입한 후 정중액와선상에 15mm의 개방창을 만들고, 얇은 견인기로 좌폐상엽을 하방으로 견인한다. 그리고 나서 흉강경 시야를 동맥관이 위치하는 흉부대동맥의 상부에 고정된 후 내시경용 수술 기구로 동맥관 주위 조직을 박리한다. 성대신경을 손상하지 않기 위해 대동맥 쪽에서부터 박리하며 금속 클립으로 동맥관을 폐쇄하는데 필요한 만큼만 박리한다. 동맥관의 상부와 하부가 충분히 박리되면 내시경용 혈관 클립으로 2회 clipping하여 동맥관을 폐쇄시킨다.

Endothelin 검사용 혈액은 요골동맥혈, 하대정맥혈을 동맥관 폐쇄전, 폐쇄후 30분, 폐쇄후 90분에 4ml씩 각각 채혈하여 7.5mM ethylenediaminetetraacetic acid와 aprotinin(500 kallikrein inactivator units/ml)이 담긴 용기에 담아서 즉시 15분간 2000rpm의 속도로 원심 분리하였다. 분리된 혈장은 혈장보관 용기에 담아서 영하70℃로 냉동 보관하였다.

ET-1검사는 Amersham社의 RPA 535 Kit를 이용한 방사면역법(radioimmunoassay)을 사용하였다. 자료의 통계처리는 수술전후의 ET-1변화는 paired Student t-test로 하였고, 동맥혈과 정맥혈간의 차이는 unpaired Student t-test로 하였으며 $p < 0.05$ 인 경우 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

동맥관을 금속 클립으로 폐쇄하기 전의 ET-1은 요골동맥혈 17.96 ± 8.09 pg/ml이고 하대정맥혈이 9.34 ± 3.55 pg/ml로 요골동맥혈의 수치가 유의하게 높았다. 동

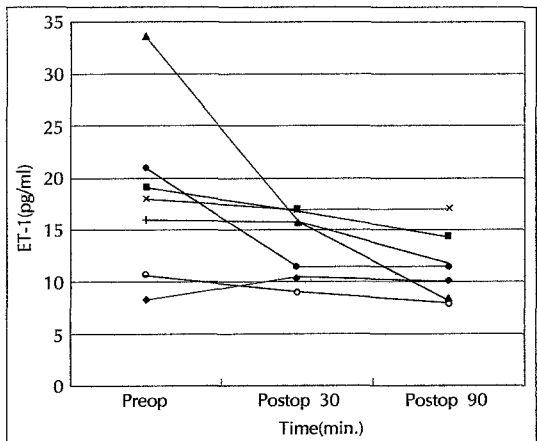


Fig. 1. Postoperative changes of arterial plasma ET-1 level.

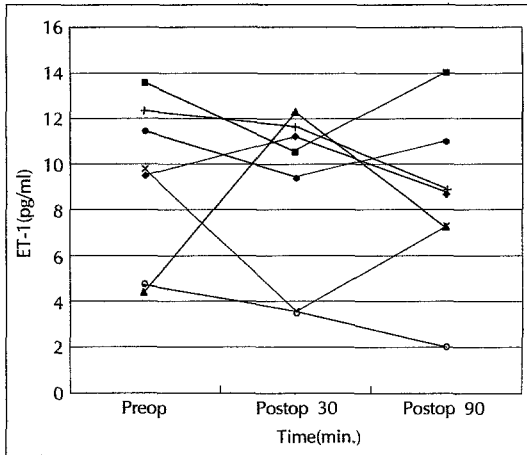


Fig. 2. Postoperative changes of venous plasma ET-1 level.

Table 1. Mean value of arterial and venous endothelin-1 level

	Radial artery (pg/ml)	Inferior vena cava(pg/ml)	p-value
Preoperative	17.96 ± 8.09	9.34 ± 3.55	p < 0.05
Postop. 30min	13.47 ± 3.14	8.9 ± 3.74	p < 0.05
Postop. 90min	11.43 ± 2.9*	8.4 ± 3.71	ns

* : postoperative 90 minutes radial artery endothelin-1 level is decreased significantly from preoperative level
NS : not significant

맥관을 폐쇄하고 30분 후에는 요골동맥혈이 13.47 ± 3.14 pg/ml 이고 하대정맥혈이 8.9 ± 3.74 pg/ml 로 요골동맥혈내 ET-1 수치가 폐쇄 전보다 감소하였으나 하대정맥혈보다 유의하게 높은 상태였다. 그러나 동맥관을 폐쇄하고 90분이 지난 후 검사에서는 요골동맥혈이 11.43 ± 2.9 pg/ml 이고 하대정맥혈이 8.4 ± 3.71 pg/ml 로 요골동맥혈내 ET-1 수치가 하대정맥혈보다 높기는 하나 통계상으로 유의하지 않은 상태였다. 그리고 요골동맥혈의 ET-1 수치의 변화는 동맥관 폐쇄전에 비해 폐쇄하고 90분 후의 수치가 통계적으로 유의하게 낮아졌다. 이에 비해 하대정맥혈내의 ET-1 수치는 동맥관 폐쇄 후가 동맥관 폐쇄 전보다는 감소하지만 통계적인 의미는 없었다(Fig. 1, 2, Table 1).

고 안

Endothelin은 ET-1, ET-2, ET-3의 세 가지 형태로 나뉘어지는데¹⁰⁾ 이중 ET-1이 사람의 혈관 내피 세포에서 생성된다. ET-1은 21개의 아미노산이 결합된

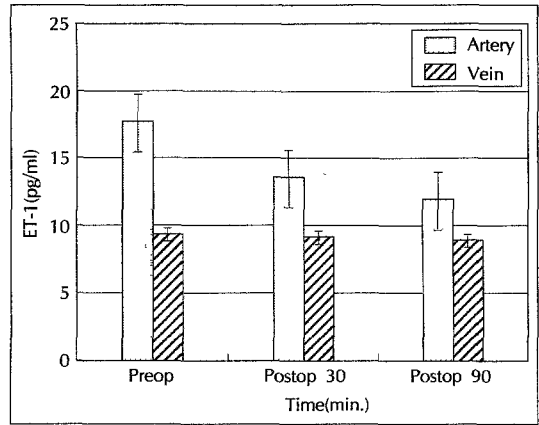


Fig. 3. Comparison of arterial and venous plasma ET-1 level.

펩타이드 형태로써 preproendothelin과 proendothelin으로부터 endothelin-converting enzyme에 의해 ET-1이 생성된다¹¹⁾. 혈관 내피 세포로부터 ET-1의 분비를 촉진시키는 물질은 epinephrine, angiotensin II, arginine, vasopressin, transforming growth factor- β , thrombin, interleukin-1과 hypoxia 등이 알려져 있다¹¹⁾. 물리적인 자극으로는 혈관내막에 shear stress가 작용할 때, 저온에 노출되었을 때 분비가 촉진된다. ET-1은 혈관 내막에 있는 수용체와 결합하여 작용을 나타내는데 이들에는 ET_A, ET_B, ET_C, ET_{AX}가 알려져 있고 ET_A와 ET_B는 포유동물에 존재한다¹²⁾¹³⁾. 수용체의 종류에 따라 나타나는 작용이 각기 다르다. ET_A수용체는 혈관내 smooth muscle에 작용하여 혈관을 수축시킨다²¹⁾¹⁴⁾. ET_B수용체는 그 기능상 두 가지로 분류한다. 즉 ET_{B1}수용체는 혈관을 확장시키고, ET_{B2}수용체는 혈관을 수축시킨다¹⁵⁾¹⁶⁾. ET-1의 혈관계에 대한 작용은 매개물질에 의해 그 효과가 나타나는데 혈관 수축작용은 Ca⁺⁺과 prostaglandins이 매개하고, 혈관 확장 작용은 K⁺과 endothelium-derived nitric oxide(EDNO)가 매개한다는 연구가 있다¹⁷⁻¹⁹⁾. ET-1은 폐혈관계에 작용하여 폐동맥혈압을 가중시키고 심장에 영향을 미치며 혈관벽의 조직변화를 일으킨다. 흰쥐에서 monocrotaline 근주로 폐동맥 고혈압을 유발한 경우, 혈중 ET-1이 상승하며 우심실벽이 비후된다고 보고된 바 있다¹⁵⁾²⁰⁾²¹⁾. 이것은 폐동맥 고혈압을 수반하는 선천성 심장기형 환자에서 우심실 비대가 나타나는 것과 유사한 연구결과이다²²⁾²³⁾. 또한 이러한 실험동물의 폐혈관은 혈관벽의 근육세포가 증식되어 혈관내경이 좁아지는 소견을 보

이다. 이는 좌우단락 및 폐동맥 고혈압이 있는 심장기형 환자가 교정수술이 지연될 경우, 폐혈관이 비후되는 변성때문에 나중에 수술적 치료가 이루어지더라도 폐혈관 저항의 증가로 인해 심폐기능이 저하되는 것과 유사한 소견이다. 따라서 폐동맥 고혈압이 동반되는 선천성 심장기형 질환에서는 정상인보다 ET-1이 상승하여 폐혈관 수축작용이 활발하게 일어나므로 폐동맥 고혈압을 가중시키게 된다. 더욱이 시간이 오래 경과하면 폐혈관벽의 근육세포가 증식하여 비가역적인 혈관변성을 일으키는 등 이 같은 질환에서 ET-1이 차지하는 역할 비중은 상당히 높은 것으로 추정된다. 이러한 면에서 좌우단락을 갖는 선천성 심장기형 가운데 폐동맥 혈압은 상승하지 않고 폐혈류만 증가되는 경우보다 폐동맥 고혈압이 동반된 경우에 ET-1이 상승한다는 연구들은¹¹⁾²⁴⁾²⁵⁾ 폐혈관 내피세포가 shear stress에 의해 ET-1의 생성을 증가시킨다는 연구들과 일치하는 결과이다.²⁶⁾²⁷⁾

ET-1 혈중치는 객체의 연령과 밀접한 연관성이 있다. 이것은 동물실험과 임상연구에서 공통으로 나타난다.¹⁷⁾²⁸⁾ 특히 3개월 이내의 소아에게서 ET-1의 높은 혈중 수치가 나타나는데²⁹⁾ 이것은 출생 직후 폐혈관계의 혈류 저항 및 폐혈압이 높은 것과 상관이 있어 보인다.

폐동맥 고혈압 실험동물의 혈관내피세포에서 ET-1의 messenger RNA(mRNA)가 증가되어 있고³⁰⁾³¹⁾ 동물실험¹⁵⁾²⁰⁾²¹⁾ 및 임상연구³²⁾³³⁾ 모두에서 ET-1수치가 우심방보다 좌심방에서 더 높다는 연구결과를 토대로 심장기형에서 혈중 ET-1이 증가된 것은 폐혈관계에서 ET-1이 많이 생성되기 때문으로 추정된다. 본 연구에서도 폐혈관을 순환하고 나온 요골동맥에서 하대정맥보다 ET-1이 높아서 동맥관개존증 환자의 ET-1 상승은 폐혈관에서 많이 생성하기 때문인 것으로 추정할 수 있다. 동맥관 폐쇄후 요골동맥혈의 ET-1 수치가 감소하는 것으로 보아 동맥관을 폐쇄하면 과다하게 흐르던 폐혈류가 정상화되어 폐혈관 내피세포에 작용하던 물리적 자극이 소실되어 ET-1 생성이 감소하는 것으로 여겨진다. 그러나 본 연구에서는 수술전후의 폐동맥혈압을 측정하지 않았으므로 ET-1 혈중치의 변화와 폐동맥 혈압의 직접적인 연관성은 알 수 없었다.

폐동맥 고혈압이 동반된 심장기형 환자의 폐혈관 내막세포는 전자현미경적인 구조가 손상되어 있고³⁴⁾ 수술적 교정이 된 후에는 상승되어 있던 ET-1이 정상으

로 감소한다³⁵⁾는 연구와 본 연구의 결과인 동맥관 개존증 환자에서 수술전에 ET-1이 증가하고 동맥관이 폐쇄되면 ET-1이 감소하는 사실로 보아, 동맥관 개존증에서 폐혈류의 상승으로 폐혈관 내막에서 ET-1이 많이 생성되며 이로 인해 폐동맥 고혈압이 증폭될 수 있고, 시간이 오래 경과하면 폐혈관 변성이 나타나는 등의 병태생리에 ET-1이 중요하게 작용하는 것으로 생각된다.

요 약

동맥관 개존증 7명에서 수술전, 수술후 30분, 수술후 90분에 요골동맥, 하대정맥에서 endothelin-1을 검사한 결과 수술전 및 수술후 30분에 요골동맥에서 하대정맥보다 유의하게 ET-1이 높았다. 또한 수술후 90분에 요골동맥 ET-1이 수술전 보다 유의하게 낮았다. 이상으로 동맥관 개존증 환자에서 폐혈관계에서 ET-1이 과다하게 생성하여 ET-1이 높게 나타나는 것으로 추정되며, 수술후에는 폐혈관계의 자극이 소실되어 ET-1 생성이 감소하는 것으로 생각된다.

References

- 1) Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, et al : A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988 ; 332 : 411-415
- 2) Komuro I, Kurihara H, Sugiyama T, Takaku f, Yazaki Y : Endothelin stimulates c-fos and c-myc expression and proliferation of vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 1988 ; 238 : 249-252
- 3) Hirata Y, Takagi Y, Fukuda Y, Marumo F : Endothelin is a potent mitogen for rat vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis* 1989 ; 78 : 225-228
- 4) Janakidevi K, Fisher MA, Del Vecchio PJ, Tirupathi C, Figge J, Malik AB : Endothelin-1 stimulates DNA synthesis and proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells. *Am J Physiol* 1992 ; 263 : C1295-C1301
- 5) Margulies KB, Hilebrand FL Jr, Lerman A, Perrella MA, Burnett JC Jr : Increased endothelin in experimental heart failure. *Circulation* 1990 ; 82 : 2226-2230
- 6) Gernacek P, Stewart DJ : Immunoreactive endothelin in human plasma : Marked elevation in patients in

- cardiogenic shock. Biochem Biophys Res Commun* 1989 ; 161 : 562-567
- 7) Margulies KB, Hildebrand FL, Heublein DM, Burnett JC Jr : *Radiocontrast increases plasma and urinary endothelin. J Am Soc Nephrol* 1991 ; 2 : 1041-1045
 - 8) Randall MD : *Vascular activities of the endothelins. Pharmacol Ther* 1991 ; 50 : 1008-10012
 - 9) Lerman A, Edwards BS, Hallett JW, Heublein DM, Sandberg SM, Burnett JC : *Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced atherosclerosis. N Engl J Med* 1991 ; 325 : 997-1001
 - 10) Inoue A, Yanagisawa M, Kimura S, Kasuya Y, Miyachi T, Goto K, et al : *The human endothelin family : Three structurally and pharmacologically distinct isopeptides predicted by three separate genes. Proc Natl Acad Sci USA* 1989 ; 86 : 2863-2867
 - 11) Chang H, Wu HC, Wang S, Hung C : *Plasma endothelin levels and surgically correctable pulmonary hypertension. Ann Thorac Surg* 1993 ; 55 : 450-458
 - 12) Masaki T, Vane JR, Vanhoutte PM : *International Union of Pharmacology nomenclature of endothelin receptors. Pharmacol Rev* 1994 ; 46 : 137-142
 - 13) Kumar C, Mwangi V, Nuthulangi P, Wu HC, Pulen M, Brun K, et al : *Cloning and characterization of a novel endothelin receptor from Xenopus heart. J Biol Chem* 1994 ; 269 : 13414-13420
 - 14) Lerman A, Hildebrande Jr FL, Margulies KB, et al : *Endothelin. A new cardiovascular regulatory peptide. Mayo Clin Proc* 1990 ; 65 : 1441-1455
 - 15) Elton TS, Oparil S, Taylor GR, Hlebs PH, Jlm H, Yang RH, et al : *Nomobarbital hypoxia stimulates endothelin-1 gene expression in the rat. Am J Physiol* 1992 ; 263 : 1260-1264
 - 16) Okada M, Yamashita C, Okada M, Okada K : *Endothelin receptor antagonists in a begie model of pulmonary hypertension : Contribution to possible potential therapy? J Am Coll Cardio* 1995 ; 25 : 1213-1217
 - 17) Wong J, Vanderford PA, Fineman IR, Soifer SJ : *Developmental effects of endothelin-1 on the pulmonary circulation in sheep. Pediatric Res* 1994 ; 35 : 664-670
 - 18) DeNueel G, Thomas R, D'Orleans-Juste P, Antunes E, Walder C, Warner TD, et al : *Pressor effects of circulating endothelin are limited by its removal in the pulmonary circulation and by the release of prostacyclin and endothelium-derived relaxing factor. Proc Natl Acad Sci* 1988 ; 85 : 9797-9800
 - 19) Mann J, Farrukh IS, Michael JR : *Mechanisms by which endothelin-1 induces pulmonary vasoconstriction in the rabbit. J Appl Physiol* 1991 ; 71 : 410-416
 - 20) Eddahibi S, Raffestin B, Braquet P, Chabrier PE, Adnot S : *Pulmonary vascular reactivity to endothelin-1 in normal and chronically pulmonary hypertensive rats. J Cardiovasc Pharmacol* 1991 ; 17(suppl) : S358-361
 - 21) Stelzner TJ, O'Brien RF, Yanagisawa M, et al : *Increased lung endothelin-1 production in rats with idiopathic pulmonary hypertension. Am J Physiol* 1992 ; 262 : L614-L620
 - 22) Fandall MD : *Vascular activities of the endothelins. Pharmacol Ther* 1991 ; 50 : 73-93
 - 23) Lerman A, Edwards BS, Hallett JW, Heublein DM, Sandberg SM, Burnett JC : *Circulating and tissue endothelin immunoreactivity in advanced atherosclerosis. N Engl J Med* 1991 ; 325 : 997-1001
 - 24) Stewart DJ, Levy RD, Cernacek P, Langleben D : *Increased Plasma endothelin-1 in pulmonary hypertension : Maker or mediator of disease? Ann Intern Med* 1991 ; 114 : 464-9
 - 25) Cody RJ, Haas GJ, Binkley PF, Capers Q, Kelley R : *Plasma endothelin correlates with the extent of pulmonary hypertension in patients with chronic congestive heart failure. Circulation* 1992 ; 85 : 504-509
 - 26) Yoshizumi M, Kurihara H, Sugiyama T, Takaku F, Yanagisawa M, Masaki T, et al : *Hemodynamic shear stress stimulates endothelin production by cultured endothelial cells. Biochem Biophys Res Commun* 1989 ; 161:859-864
 - 27) Shirakami G, Nakao K, Saito Y, Magarbutchi T, Jougasaki M, Mokoyama M, et al : *Acute pulmonary alveolar hypoxia increases lung and plasma endothelin-1 levels in conscious rats. Life Sci* 1991 ; 48 : 969-976
 - 28) Wong J, Fineman JR, Heymann MA : *The role of endothelin and endothelin receptor subtypes in regulation of fetal pulmonary vascular tone. Pediatric Res* 1994 ; 35 : 664-670
 - 29) Yoshibayashi M, Nishioka K, Nakao K, et al : *Plasma endothelin levels in healthy children. High values in early infancy. J Cardiovasc Pharmacol* 1991 ; 17(Suppl 7) : S404-405
 - 30) Giaid A, Polak JM, Caitonde V, et al : *Distribution of endothelin-like immunoreactivity and mRNA in the developing and adult human lung. AM J Respir Cell Mol Biol* 1991 ; 4 : 50-58
 - 31) Nunez DJR, Brown MJ, Davenport AP, Neylon

- CB, Schofield JP, Wyse RK : *Endothelin-1 mRNA is widely expressed in porcine and human tissues. J Clin Invest* 1990 ; 85 : 1537-1541
- 32) Ziegler JW, Iry DD, Kinsella JP, Abman SH : *The role of nitric oxide, endothelin, and prostaglandins in the transition of the pulmonary circulation. Clin Perinatol* 1995 ; 22 : 387-403
- 33) Radunovic N, Lockwood CJ, Alvarez M, Nastic D, Petkovic S, Berkowitz RL : *Fetal and maternal plasma endothelin levels during the second half of pregnancy. AM J Obstet Gynecol* 1995 ; 172 : 28-32
- 34) Rabipovitch M, Bothwell T, Hayakawa BN, et al : *Pulmonary artery endothelial abnormalities in patients with congenital heart defects and pulmonary hypertension : A correlation of light with scanning electron microscopy and transmission electron microscopy. Lab Invest* 1986 ; 55 : 632-53
- 35) Shiro Ishikawa, Takashi Miyauchi, Satoshi Sakai, et al : *Elevated levels of plasma endothelin-1 in young patients with pulmonary hypertension caused by congenital heart disease are decreased after successful surgical repair. J Thorac Cardiovasc Surg* 1995 ; 110 : 271-273