

자발성 세균성 복막염 환자에서 치료 경과에 따른 복수 Nitric Oxide (NO)의 변화

연세대학교 의과대학 내과학교실 소화기병연구소, 약리학교실*, 임상연구센터†

박영수 · 전재윤 · 김혜영* · 백용한 · 송시영 · 안상훈 · 홍시내† · 한광협 · 문영명

Abstract

Changes of Ascites Nitric Oxide According to the Treatment Course in Cirrhotic Patients with Spontaneous Bacterial Peritonitis

Young Soo Park, M.D., Chae Yoon Chon, M.D., Hyeyoung Kim, Ph.D.*, Yong Han Paik, M.D., Si Young Song, M.D., Sang Hoon Ahn, M.D., Sinae Hong†, Kwang-Hyub Han, M.D. and Young Myoung Moon, M.D.

Institute of Gastroenterology, Department of Internal Medicine, Department of Pharmacology*, Clinical Research Institute†, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background/Aims: Nitric oxide (NO) is a molecule involved in vascular dilatation and pathogen suppression. It also has immunologic and regulatory functions. Liver cirrhosis is characterized by an increased risk for bacterial infections, including spontaneous bacterial peritonitis (SBP). The role of NO in SBP which develops in cirrhosis has not been clearly established. The aim of this study was to investigate the role of NO in the pathogenesis of SBP and its clinical usefulness for prediction of disease prognosis. **Methods:** This study was designed to investigate the changes of ascites NO in the course of treatment. Nitric oxide metabolite (nitrites+nitrates [NOx]) was measured by chemiluminescence in 84 ascites samples obtained from 84 cirrhotic patients. Among them, the 38 patients with SBP were treated with cefotaxime 2.0 g, q 12hr for 7 days. In 24 of SBP patients, ascites was obtained consecutively before treatment (day 0), during treatment (day 2), and after treatment (day 7). **Results:** Ascites NO levels in the patients with SBP (n=38; $82.3 \pm 14.4 \mu\text{M}$) were not different from those in patients with sterile ascites (n=46; $54.6 \pm 13.0 \mu\text{M}$). There was no significant change of NO levels in sequential ascites samples during antibiotic treatment. Ascites NO level before treatment was significantly higher in SBP patients who responded to antibiotics (n=26; $101.86 \mu\text{M/L}$) than that in SBP patients who did not respond to antibiotics (n=12; $40.03 \mu\text{M/L}$, $P=0.044$). A significant direct correlation was found between ascites and serum NO levels before treatment (Pearson correlation, $r^2=0.86$, $P=0.001$). Among the SBP patients, treatment response rate to antibiotics were significantly higher in those patients with pretreatment NO level $\geq 80 \mu\text{M/L}$ in multivariate analysis. **Conclusions:** Ascites NO level was not different between ascites from SBP patients and ascites from cirrhotic patients with sterile ascites. There were no changes of ascites NO in SBP patients during treatment. Therefore ascites NO was not useful to predict the progress of SBP. Ascites NO levels reflect serum NO levels, and the patients with higher NO level may have better response to antibiotics. (Korean J Hepatol 2004;10:207-215)

Key Words: Liver cirrhosis, Spontaneous bacterial peritonitis, Ascites, Nitric oxide

◇ 접수 2004년 1월 20일; 수정본 접수 2004년 5월 17일; 승인 2004년 6월 7일

◇ Abbreviations: HBV, hepatitis B virus; HCC, hepatocellular carcinoma; HCV, hepatitis C virus; NO, nitric oxide; IL-6, interleukin-6; NOS, nitric oxide synthase; SBP, Spontaneous bacterial peritonitis; TNF- α , tumor necrosis factor- α

◇ 책임저자 : 전재윤, 서울시 서대문구 신촌동 134번지 연세대학교 의과대학 내과학교실 (우) 120-752

Phone: 02-361-5426, Fax: 02-393-6884, E-mail: cychon@yumc.yonsei.ac.kr

※ 본 연구는 2000년도 보건복지부 보건의료기술연구개발사업 지원(관리번호 00-PJ1-PG1-CH09-0002; 세부과제책임자 전재윤)으로 이루어진 것임.

서 론

Nitric Oxide(이하 NO)는 1979년 말에 Furchgott 등¹이 발견한 이래로 혈관의 확장에 작용하는 중요한 매개 물질로 알려져 왔다. 또한 NO는 혈관 확장과 같은 작용 이외에도 인체에서 다양한 기능이 있는 것으로 알려져 있으나 이에 대한 자세한 기전은 아직 명확하게 밝혀지지 않았다.

현재까지 NO의 기능은 불분명하지만 크게 세 가지로 요약할 수 있다.² 첫째는 조절 기능으로 심장 수축, 혈관 확장, 세포 유착, 혈관 침투 등에 관여하며, 둘째는 보호 기능으로 항산화 기능, 백혈구 유착을 억제하는 기능 등이 있다. 그 외에 여러 효소의 작용을 억제하고 DNA의 손상을 유발하며 방사선 및 독성 물질 등에 대한 세포의 감수성을 증가시켜 세포 손상에 관여한다.

NO의 합성에 관여하는 nitric oxide synthase (NOS)는 세 가지의 다른 형태가 존재하는데 neuronal NOS (nNOS)는 뇌 조직에 존재하고, endothelial NOS (eNOS)는 혈관내피세포에 주로 존재하고, inducible NOS (iNOS)는 평상시에는 거의 검출되지 않다가 내독소에 의해 대식세포가 활성화되면 증가하여 NO를 합성하게 된다.^{3,4} NOS에 의해서 L-arginine이 citrulline으로 전환하는 과정에서 발생하는 NO는 수용성의 무색의 기체로 매우 불안정한 분자 구조를 갖는다. NO는 대기 중에서 반감기가 약 3-4초에 불과하여 수초 내에 산소와 반응하여 nitrite (NO₂) 또는 nitrate (NO₃)로 전환된 후 소멸된다. 그러나 체액에서는 NO₂ 또는 NO₃로 산화하여 수시간 동안 안정적인 구조를 유지하게 된다.^{5,6}

이전의 보고^{7,8}에 따르면 간경변증 환자에서는 일반적으로 NO가 증가하는 것으로 알려져 있고 증가된 NO는 내장 및 전신의 혈관 확장을 유발하여 전신 순환의 장애를 초래하고 신 기능을 저하시키는 것으로 알려지고 있다. 그러나 간경변증 환자에서 NO는 혈관 확장 작용 이외에 ATP와 DNA의 합성과 세포 호흡 주기를 억제하므로 세균의 증식을 억제하거나 살균 작용이 있어 자발성 세균성 복

막염 환자에서 숙주 보호 기능이 있다는 보고도 있었다.^{5,9,10} 또한 복수 발생이 유도되는 간경변증 모델의 쥐에서 복강내 대식세포가 출현하고 출현한 대식세포에서 iNOS가 증가한다고 알려져 있다.¹¹ 이와 같은 현상은 정상적인 대조군 쥐에서는 거의 관찰되지 않으며 간경변증 모델의 쥐에서 NO의 합성을 억제하였을 경우 세균 감염이 발생하는 것을 관찰하고 NO에 항균 효과가 있는 것으로 보고하였다. 그러나 NO가 항균 작용을 갖는 명확한 기전은 밝혀지지 않았고 사람에서도 동일한 작용이 있다는 보고도 없다.

자발성 세균성 복막염은 복수를 동반한 간경변증 환자에서 흔히 발생하는 치명적인 합병증이다.¹² 자발성 세균성 복막염을 동반한 환자의 경우 복수에서 TNF- α , IL-6 등과 같은 사이토카인들이 증가되어 있고¹³ 이와 같은 여러 종류의 증가된 사이토카인들은 iNOS에 의한 NO의 합성을 증가시킨다.^{14,15} 이와 같은 결과들을 종합해 보면 자발성 세균성 복막염을 동반한 환자의 복수에서 NO가 증가해 있을 것이라고 추정할 수 있다. 자발성 세균성 복막염을 동반한 환자의 복수에서 자발성 세균성 복막염이 없는 환자의 무균성 복수보다 NO가 유의하게 높은 것으로 알려져 있고¹⁶ 치료되지 않고 지속되는 자발성 세균성 복막염 환자에서 복수 NO가 증가하는 것으로 보고되고 있다.¹⁷ 그러나 이와는 상이하게 자발성 세균성 복막염을 동반한 환자의 복수와 간경변증만 있는 환자의 복수에서 NO 값에 유의한 차이가 없다는 보고도 있으며 중한 경로를 밟는 환자의 경우에서만 경한 환자에 비해 복수 NO가 증가해 있다는 연구 결과도 있다.¹⁸ 반면 또 다른 실험 결과들은 NO가 자발성 세균성 복막염의 병태 생리에서 숙주 보호 기능이 있는 것으로 보고하였다.¹⁹ 이와 같이 현재까지 복수를 동반한 간경변증 환자의 복수와 자발성 세균성 복막염을 동반한 환자의 복수에서 NO의 기능과 변화에 대한 구체적인 결론은 아직 없는 실정이다. 따라서 본 연구는 자발성 세균성 복막염 환자의 복수를 치료 기간 동안 일정한 간격으로 채취하여 NO의 변화를 살펴보고 자발성 세균성 복막염이

없는 간경변증 환자의 무균성 복수와 비교하여 NO의 임상적 의의를 살펴보고 동시에 혈액 내의 NO와 비교하여 NO의 전신적인 역할과 임상적 의미를 살펴보고자 하였다.

대상과 방법

1. 대상 환자

1) 대상 기준

2000년 11월부터 2002년 12월까지 간경변증으로 입원한 환자 중에서 복수천자가 가능한 84명의 환자를 대상으로 하였다. 환자의 평균 연령은 53.5 ± 9.7 세이고 간경변증의 원인은 B형간염이 68명, C형 간염이 4명, 알코올성 간염이 5명, 기타 원인이 분명하지 않은 경우가 7명이었다. 이 중 Child-Pugh Class A는 1명, B는 29명, C는 54명이었다. 간경변증은 임상 증상과 초음파 및 복부컴퓨터단층촬영 등의 영상 자료를 이용하여 진단하였다. 환자의 복수와 혈액을 채취하여 백혈구 수와 총 단백, 알부민 및 NOx [NOx=nitrite (NO₂)+nitrate (NO₃)]를 측정하고 혈액에서는 혈청화학검사와 말초혈액검사를 시행하였고 복수에서는 세균 배양을 시행하였다.

2) 자발성 세균성 복막염의 진단 및 치료

자발성 세균성 복막염의 진단은 발열, 복통 및 동통 등의 임상 증상을 동반하며 복수천자 시에 복수내 다형핵 백혈구가 $250/\text{mm}^3$ 이상이거나 복수 배양검사로 세균이 동정되는 경우로 하였다. 자발성 세균성 복막염의 치료는 cefotaxime 2.0 g을 12시간마다 7일 동안 정주하는 것을 원칙으로 하였다.^{20,21} 완치 판단의 기준은 치료를 시작하고 7일 후에 다시 복수를 천자하여 복수내 다형 핵구가 $250/\text{mm}^3$ 이하로 감소되고 증상이 소실되는 경우로 정의하였고, 복수천자가 불가능한 경우에는 발열 및 복통 등의 증상이 소실되는 경우로 하였다.

2. 연구 방법

1) Nitric Oxide의 분석 및 측정

복수는 환자가 내원하여 항생제로 치료하기 직전(Day 0), 항생제로 치료한 2일 후(Day 2), 그리고 치료 후 7일째(Day 7)에 각각 10 mL의 복수와 동량의 혈액을 채취하여 원심분리기(25,000 rpm, 10분)를 이용하여 상층액을 분리하여 -70°C의 냉동고에 보관하였다.

NO의 분석은 상용화된 kit (Nitrate/Nitrite Colorimetric Assay Kit, Cayman chemical[®])를 사용하여 Griess reagent [(1% sulfanic acid+5% H₃PO₄)+(0.1% naphthyl ethylene diamine dihydrochloride+distilled water)]를 이용한 방법으로 측정하였다. 냉동고에 보관된 복수 견본을 해동시킨 후에 nitrate reductase를 이용하여 nitrate를 nitrite로 환원시킨 후 540 nm의 파장을 가진 분광광도계를 이용하여 NOx [NOx=nitrite (NO₂)+nitrate (NO₃)]를 측정하였다.

2) 분석 내용

대상 환자를 복막염군과 무균성 복수군으로 나누어 대상 환자의 임상적 특성을 비교하였고, 복막염군(n=38명)과 무균성 복수군(n=46명)의 치료 직전의 복수 NO 값을 비교하였다. 복막염군에서 치료 경과에 따른 복수 NO 값의 변화를 살펴보았으며(n=24명), 복막염군에서 항생제 치료에 반응한 군(n=26명)과 반응하지 않은 군(n=12명) 사이의 특성을 비교하였다. 복막염군의 복수 NO 값과 복수내 백혈구 수의 상관관계를 알아보았고, 복수 NO 값과 혈액 NO 값의 상관관계를 알아보았다.

3) 통계

통계는 SPSS 10.0을 사용하여 대상 환자의 연령, 혈액 및 복수의 백혈구치, NO 값을 비교 분석하였고, 복막염군의 치료 시기에 따른 NO의 변화는 반복 측정 분산 분석법(repeated measured ANOVA) 및 logistic regression 방법을 사용하였다. 각 표와 그림에 통계 처리 방법을 명시하였고 P value가 0.05 이하인 경우에 통계학적인 유의성이 있는 것으로 하였다.

결 과

1. 대상 환자의 임상적 특징

본 연구에 포함된 환자는 모두 84명으로 남자가 53명(63.1%),여자가 31명(36.9%)이었고 평균 연령은 53.5±9.7세이었다(표 1). 대상 환자의 간 기능을 살펴보면 Child-Pugh 분류에 따라 C등급이 54명(64.3%)으로 가장 많았고 그 다음 B등급(29명)과 A등급(1명) 순으로 전반적으로 본 연구에 포함된 환자들은 간경변증이 진행된 경우였다. 전체 대상 환자 중 간암을 동반한 경우는 32명으로 약 38%에 해당하였다. 84명 중 자발성 세균성 복막염으로 입원한 환자는 전체의 45.2%인 38명이었고 나머지 46명(54.8%)은 복수를 동반한 간경변증으로 입원하였으나 자발성 세균성 복막염은 없었다(표 1). 대조군과 복막염군의 임상 양상은 크게 차이가 없었으나 복막염군에서 대조군에 비해 통계적으로 유의하게 Child-Pugh C등급에 속하는 환자가 많았다($P=0.044$, 표 1). 두 군 간에 프로트롬빈 시간과 혈소판의 평균에 차이가 있었고 복수내 백혈구 수치의 평균이 달랐으나 그 외에는 양군 간에 통계적으로 유의한 차이가 없었다.

2. 자발성 세균성 복막염군과 무균성 복수군의 복수 NO 값의 비교

복수에서 측정된 NO 값은, 자발성 세균성 복막

염군(mean, 82.6 $\mu\text{M} \pm 14.4$)과 무균성 복수군(mean, 54.6 $\mu\text{M} \pm 13.0$)에서의 복수 NO 값이 차이가 없었다($P>0.05$, 그림 1).

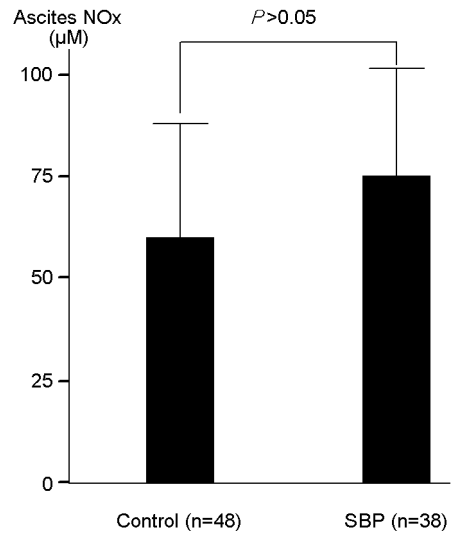


Figure 1. Ascites NOx levels in patients with sterile ascites (control) and patients with SBP (independent T-test, $P>0.05$).

자발성 세균성 복막염 환자군 36명 중 항생제 치료 7일 후에 복수 내에 백혈구가 250개 이하로 감소된 군(n=26)과 항생제에 반응하지 않아 치료 후에도 복수 내에 백혈구가 250개 이상인 군(n=12) 사이에 치료 전 복수 NO를 비교해 보면 치료에 반

Table 1. General Characteristics of Study Subjects

	SBP (n=38)	Control (n=46)	P
Mean age (years)	53.2	53.7	NS*
Sex (M/F) [†]	22/16	31/15	NS
Child (A or B/C) [†]	22/16	22/24	<0.05
Albumin (g/dL)	2.51	2.64	NS
Total Bilirubin (mg/dL)	8.73	6.35	NS
Prothrombin time (%)	45.7	57.6	<0.05
Platelet ($/\mu\text{l}$)	73,000	108,000	<0.05
HCC (Yes/No) [†]	13/25	19/27	NS
Ascites WBC ($/\text{mm}^3$)	5103	160	<0.05

* Statically non-significant, independent T-test, [†]Cross table analysis

응한 군에서 통계적으로 유의하게 NO의 값이 높았다(그림 2).

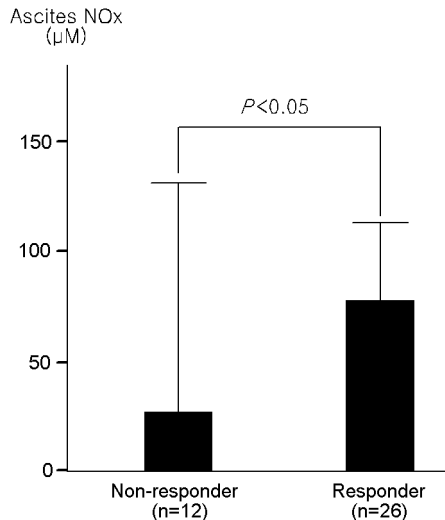


Figure 2. Ascites NOx levels in patients who responded to antibiotics and in patients who did not respond to antibiotics before treatment (independent T-test, $P < 0.05$).

자발성 세균성 복막염 환자 36명 중 24명에서 치료 기간에 따라 복수를 연속적으로 채취할 수 있었다. 치료 시기에 따른 복수 NO의 값은 각각 치료 직전(Day 0)이 88.4 µM, 치료 이틀 후(Day 2)가 82.7 µM, 치료 7일 후(Day 7)가 73.2 µM로 치료 경과에 따라 NO의 값이 다소 감소하였으나 통계적으로 유의한 차이는 없었다(그림 3). 그러나 복수를 연속적으로 채취할 수 있었던 24명을 치료 반응에 따라 나누어 보았을 때 치료에 반응한 군(n=18)이 치료에 반응하지 않은 군(n=6)보다 치료 종료시(Day 7)에 NO의 값이 통계적으로 유의하게 높았으나(그림 4) 치료 경과에 따른 양군 간의 차이는 없었다.

전체 대상 환자 중 17명에서 치료 직전 혈액과 복수를 동시에 채취하여 NO를 측정할 수 있었는데 혈액과 복수 각각에서 치료 기간에 따른 통계적으로 의미 있는 NO의 변화는 관찰되지 않았지만 치료 전 복수와 혈액의 NO 값은 상관관계를 보였

다(그림 5). 치료 전에 혈액과 복수를 동시에 채취할 수 있었던 17명 중 10명에서 연속적으로 복수와 혈액의 채취가 가능하였으나 치료 경과에 따른 변화는 관찰할 수 없었다.

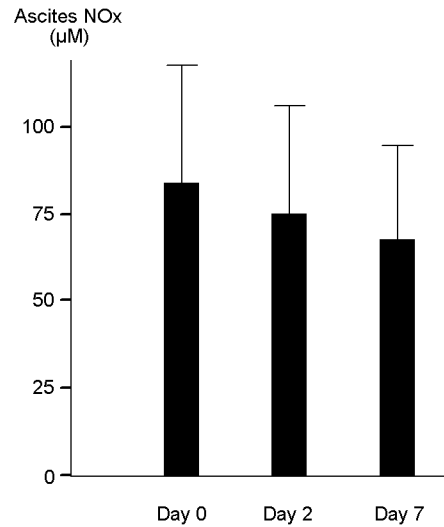


Figure 3. Ascites NOx levels according to treatment course (repeated measured ANOVA, $P > 0.05$).

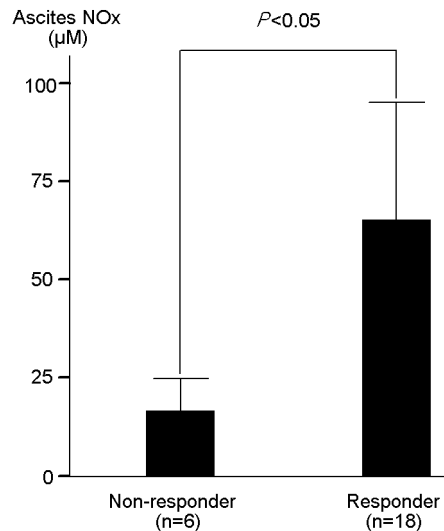


Figure 4. Ascites NOx levels in patients who responded to antibiotics and in patients who did not respond to antibiotics after treatment (Mann-Whitney U-test, $P < 0.05$).

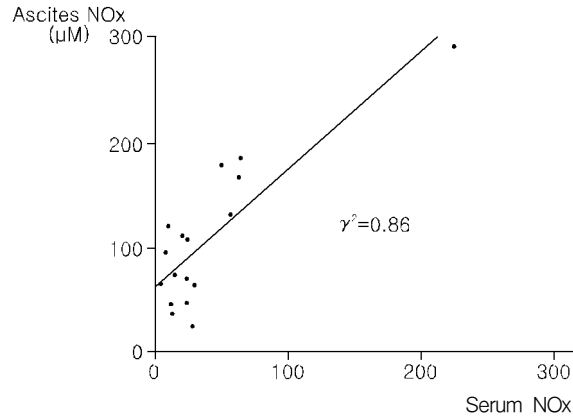


Figure 5. Correlation between serum NOx and ascites NOx levels (Pearson correlation, $r^2=0.86$, $P<0.05$).

치료 성적에 영향을 미치는 인자들을 검증하기 위해 간 기능, 간암 및 입원 당시의 복수 NO의 값을 포함하여 다변량 분석을 시행하였는데 NO가 80 μM 이상인 군에서 통계적으로 유의하게 항생제 치료에 반응을 하는 것으로 나타났다($P=0.049$). 즉 입원 당시 복수에서 측정된 NO 값이 높은 경우(80 μM 이상)에 치료에 양호한 반응을 보였다(표 2).

고 찰

Nitric oxide는 무색의 수용성 기체로 현재까지 보고된 바로는 주로 혈관 이완에 작용하지만 그 외에도 세포 유착이나 항산화 기능, 백혈구 유착 억제, 면역 작용 및 항균 작용을 갖는 것으로 알려져 있다.^{2,5,10}

자발성 세균성 복막염을 동반한 간경변증 환자의 복수에서 NO 값은 보고자마다 다르지만 일반적으로 무균성 복수보다 증가하는 것으로 알려져

있고^{7,16,17} 증가된 복수 NO는 내장 및 전신의 혈관 확장을 유발하여 전신 순환의 장애를 초래하고 신 기능의 저하를 초래하고⁸ 간세포의 세포사멸(apoptosis) 과정에 개입하여 간세포 손상에 관련하는 것으로 알려져 있다.²² 그 밖에 간 질환 환자에서 NO는 전신 순환의 장애를 초래하여 복수의 형성에도 관여하는 것으로도 알려져 있다.²³

그러나 NO가 간경변증 환자에서 위와 같이 해로운 작용만 하는 것은 아니고 자발성 세균성 복막염 환자에서는 세균의 증식을 억제하거나 살균 작용이 있어 숙주 보호 기능이 있다는 연구 보고도 있다.^{5,9,10} 또한 과거에 자발성 세균성 복막염으로 치료받은 적이 있는 환자의 복수에서 분리한 대식세포에서 NO 생성 활성도가 증가되어 있고 이러한 환자들에서 복수 NO의 농도가 복막염을 경험하지 않은 환자보다 증가하였다는 보고도 있다.²⁴ 간경변 모델 쥐에서 NO를 생성하는 대식세포의 iNOS를 억제하였을 때 세균 감염이 유발되어 대식세포의 iNOS를 유도하면 세균성 복막염을 예방할 수 있다는 주장도 있다.¹¹ 이는 곧 iNOS에 의해 합성되는 NO가 세균 감염에 대한 숙주 보호 효과가 있는 것을 의미한다. 그러나 이러한 결과가 사람에게도 동일하게 일어난다는 보고는 아직 없다.

과거에 복막염으로 치료하고 회복된 환자에서 현재 복막염으로 치료받고 있는 환자보다 복수 NO가 더 높다는 보고가 있으나 이 연구의 대상 환자는 동일한 환자가 아니고 서로 다른 환자라는 문제점을 갖고 있다.²⁴ 그리고 자발성 세균성 복막염 환자와 일반적인 간경변 환자의 무균성 복수에서 측정된 NO 값이 차이가 없고 치료 경과에 따른 변화가 없다는 보고도 있다.¹⁸

Table 2. Factors Associated with Treatment Response

	Responder	Non-responder	P value
Child (A/B/C)	0/5/21	0/3/9	>0.05
HCC (Yes/No)	8/18	5/7	>0.05
Ascites NOx (≤80 μM/L/>80 μM/L)	15/11	11/1	<0.05

Cross table analysis

위와 같이 자발성 세균성 복막염 환자에서도 어떤 경우는 복수 NO가 증가되어 있고 어떤 경우는 증가되어 있지 않다. 어떤 이유로 이와 같은 차이가 발생하는지 뚜렷하지 않지만 일반적으로 대식세포에서 iNOS의 발현과 점화(priming)가 다르기 때문인 것으로 생각하고 있다.¹⁶

현재까지 자발성 세균성 복막염 환자에서 NO의 역할에 대한 분명하고도 구체적인 연구 결과는 없다. 본 연구는 자발성 세균성 복막염 환자 38명과 단순 복수만 동반한 간경변증 환자 46명을 대상으로 하여 복수를 채취하였다. 특히 자발성 세균성 복막염 환자군 중 24명에서 치료 경과에 따라 연속적으로 복수를 채취하여 복수 NO 값의 변화를 살펴보고 이 중 혈액 채취가 가능하였던 10명에서 혈액과 복수 NO의 값을 측정하여 NO의 변화와 복막염의 진행을 살펴보았다. 자발성 세균성 복막염군에서 대조군보다 복수 NO가 높았으나 통계적으로 유의하지 않았다. 또한 연속적으로 복수를 채취할 수 있었던 24명의 환자에서도 복수 NO의 변화를 살펴보았으나 통계적으로 유의한 변화는 없었다. 그러나 자발성 세균성 복막염 환자 중에서 7일째에 cefotaxime에 반응한 군(26명)이 반응하지 않은 군(12명)보다 입원 당시 복수 NO의 값이 증가해 있었다. 그러나 연속적으로 복수 채취가 가능했던 24명에서는 치료 전 NO의 값이 항생제에 반응한 군에서 다소 높았으나 통계적으로 유의하지 않았다($P=0.072$). 치료 7일째에는 치료에 반응한 군에서 통계적으로 유의하게 NO가 높아 NO가 복막염 치료에도 관여한다는 기존의 주장과 유사한 결과를 얻을 수 있었다. 그러나 이러한 NO의 항균 효과를 검증하기 위해서는 복수 대식세포를 분리 배양하여 iNOS의 발현을 확인하는 과정이 필요할 것으로 생각한다.

과거의 연구들은 복막염 환자에서 연속적으로 복수를 채취하여 NO를 확인하지 못하였으나 본 연구는 연속적으로 복수를 채취하여 NO 값이 감소하지 않은 경우에 복막염이 잘 치료된다는 결과를 보임으로 이전의 연구에 비해 보다 구체적으로 NO의 기능을 살펴보았다고 할 수 있다. 또한 복막

염을 치료함에 따라 복수 NO가 증가하지는 않았지만 치료 전에 복수 NO가 증가한 경우에 치료에 양호한 반응을 보이는 것을 확인할 수 있었다. 혈액과 복수 모두에서 NO를 측정할 수 있었던 10명의 환자를 대상으로 하여 살펴보았을 때 의미 있는 NO의 변화는 없었지만 치료 전 복수와 혈액의 NO 값이 상관관계가 있는 것으로 보였는데($r^2=0.86$, $P=0.001$) 이는 이전의 보고¹⁴와 유사한 결과로 혈액 NO가 복수 NO 값을 반영한다고 볼 수 있고 본 연구에서 사용한 NO 측정 방법이 타당하고 신빙성이 있다는 것을 의미한다. 그러나 복막염 환자군에서 NO의 값이 기존의 연구와 달리 대조군과 차이가 없는 이유는 NO를 측정하는 방법과 대상 환자가 다르기 때문인 것으로 생각된다.

본 연구에서는 복막염 환자에서 NO 값의 변화가 심하여 오차를 줄이기 위해서 복수와 혈액의 NO비를 구하여 변화를 살펴보았으나 의미 있는 변화는 없었다. 또한 복수 내의 백혈구 수와 NO 생성의 상관관계를 조사하였으나 유의한 결과를 보이지 않았다. 이와 같은 결과를 보인 이유는 사람마다 복수 대식세포에서의 iNOS 발현 정도가 다르기 때문으로 생각한다.

이상을 요약해 보면 자발성 세균성 복막염 환자군과 단순 복수를 동반한 간경변증 환자의 복수 NO 값은 차이가 없었다. 치료 기간에 따른 혈액과 복수에서의 NO의 변화도 없었다. 그러나 치료 전 복수 NO가 높은 경우에 항생제 치료에 비교적 반응을 잘 하였고 이와 같은 경우는 치료가 끝난 7일째에도 지속적으로 NO가 상승해 있었다. 치료 전의 혈액과 복수의 NO는 상관관계를 보여 혈액 NO가 복수 NO의 값을 반영한다고 볼 수 있다. 그러나 이러한 결과가 곧 NO가 자발성 세균성 복막염의 예후인자로 사용될 수 있는 것을 의미하지는 않는다. 자발성 세균성 복막염의 치료에 관계되는 요인으로는 숙주의 면역 기능을 반영하는 전신 상태와 감염을 일으킨 세균과 항생제의 감수성 등이 있으나 본 연구에서는 복수 배양 결과가 20% 미만으로 감염군과 NO의 상관관계를 알 수 없었다. 따라서 더 많은 수를 대상으로 한 추가적인 연구가 필

요할 것을 생각한다.

결론적으로 항생제 치료에 양호한 반응을 보인 자발성 세균성 복막염 환자에서 치료 전 복수 NO 값이 높았으며 혈액 NO가 복수 NO를 반영한다고 할 수 있다. 그러나 위의 결과로 복수 NO가 항균 작용을 갖는지는 알 수 없고 NO의 항균 작용의 기전을 정확히 밝혀내기 위해서는 복막염 환자의 복수에서 대식 세포를 분리 배양하여 iNOS의 활성화도와 NO의 관계를 살펴보고 이에 대한 분자학적 수준에서의 연구가 향후 필요할 것으로 생각한다.

요 약

목적: Nitric Oxide는 혈관 확장에 작용하는 중요한 매개 물질로 알려져 왔다. 또한 NO는 혈관 확장과 같은 작용 이외에도 인체에서 다양한 기능이 있는 것으로 알려져 있으나 이에 대한 자세한 기전은 아직 명확하게 밝혀지지 않았다. 자발성 세균성 복막염은 복수를 동반한 간경변증 환자에서 흔히 발생하는 치명적인 합병증으로 자발성 세균성 복막염을 동반한 환자의 복수에서 NO가 증가해 있다고 알려져 있다. 그러나 복수를 동반한 간경변증 환자의 복수와 자발성 세균성 복막염을 동반한 환자의 복수에서 NO의 기능과 변화에 대한 구체적인 결론은 아직 없다. 본 연구는 자발성 세균성 복막염 환자의 복수를 치료 기간 동안 일정한 간격으로 채취하여 NO의 변화를 살펴보고 자발성 세균성 복막염이 없는 간경변증 환자의 무균성 복수와 비교하여 NO의 임상적 의의를 살펴보고 동시에 혈액 내의 NO와 비교하여 NO의 전신적인 역할과 임상적 의미를 살펴보고자 하였다. **대상과 방법:** 2000년 11월부터 2002년 12월까지 간경변증으로 입원한 환자 중에서 복수천자가 가능한 84명의 환자를 대상으로 하였다. 간경변증은 임상 증상과 초음파 및 복부컴퓨터단층촬영 등의 영상 자료를 이용하여 진단하였다. 환자의 복수와 혈액을 일정한 간격으로 채취하여 백혈구 수와 총 단백, 알부민 및 NO [NOx=nitrite(NO₂)+nitrate(NO₃)]를 측정하고 혈액에서는 혈청화학검사와 말초혈액검사를 시행하였고 복수에서는 세균 배양을 시행하였다. **결과:** 환

자의 평균 연령은 53.5±9.7세이고 간경변증의 원인은 B형간염이 68명, C형 간염이 4명, 알코올성 간염이 5명, 기타 원인이 분명하지 않은 경우가 7명이었다. 이 중 Child-Pugh Class A는 1명, B는 29명, C는 54명이었다. 복수에서 측정된 NO는 자발성 세균성 복막염군과 대조군 사이에 통계적으로 유의한 차이는 없었으나 복막염군(82.6 μM/L±14.4)이 대조군(54.6 μM/L±13.0)보다 다소 높았다. 자발성 세균성 복막염 환자군 36명 중 항생제 치료 7일 후에 복수 내에 백혈구가 250개 이하로 감소된 군(n=26)과 항생제에 반응하지 않아 치료 후에도 복수 내에 백혈구가 250개 이상인 양군(n=12) 사이에 입원 당시의 복수 NO 값을 비교해 보면 항생제 치료에 반응한 군에서 통계적으로 유의하게 NO의 값이 높았다(P=0.044). 전체 대상 환자 중 10명에서 치료 기간 동안 혈액과 복수를 동시에 채취하여 NO를 측정할 수 있었는데 혈액과 복수 각각에서 치료 기간에 따라 통계적으로 의미 있는 NO 값의 변화는 관찰되지 않았지만 치료 전 복수와 혈액의 NO 값은 상관관계를 보였다. 치료 성적에 영향을 미치는 인자들을 검증하기 위해 간 기능, 간암, 입원 당시의 복수 NO의 값을 포함하여 다변량 분석을 시행하였는데 NO가 80 μM 이상인 군에서 통계적으로 유의하게 항생제 치료에 반응을 하는 것으로 나타났다. **결론:** 이상으로 자발성 세균성 복막염 환자에서 치료 전 복수 NO 값이 높은 군에서 항생제 치료에 양호한 반응을 보였고 혈액 NO가 복수 NO를 반영한다고 할 수 있다.

색인단어: 간경변증, 자발성 세균성 복막염, 복수, Nitric Oxide

참 고 문 헌

1. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-376.
2. Grisham MB, Jour'Heuil D, Wink DA. Nitric Oxide I. Physiological chemistry of nitric oxide and its metabolites: implications in inflammation. *Am J Physiol* 1999;276:G315-321.
3. Sessa WC. The nitric oxide synthase family of proteins. *J Vasc Res* 1994;31:131-143.

4. Nathan C, Xie QW. Regulation of biosynthesis of nitric oxide. *J Biol Chem* 1994;269:13725-13728.
5. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide Pathway. *N Engl J Med* 1993;329: 2002-2012.
6. Marletta MA, Yoon PS, Iyengar R, Leaf CD, Wishnok JS. Macrophage oxidation of L-arginine to nitrite and nitrate: nitric oxide is an intermediate. *Biochemistry* 1988;27:8706-8711.
7. Guarner C, Soriano G, Tomas A, et al. Increased serum nitrite and nitrate levels in patients with cirrhosis: relationship to endotoxemia. *Hepatology* 1993;18:1139-1143.
8. Sieber CC, Lopez-Talavera JC, Groszmann RJ. Role of nitric oxide in the in vitro splanchnic vascular hyporeactivity in ascitic cirrhotic rats. *Gastroenterology* 1993;104: 1750-1754.
9. MacMicking JD, Nathan C, Hom G, et al. Altered responses to bacterial infection and endotoxic shock in mice lacking inducible nitric oxide synthase. *Cell* 1995; 81:641-650.
10. Lowenstein CJ, Dinerman JL, Snyder SH. Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994;120:227-237.
11. Morales-Ruiz M, Jimenez W, Ros J, et al. Nitric oxide production by peritoneal macrophages of cirrhotic rats: a host response against bacterial peritonitis. *Gastroenterology* 1997;112:2056-2064.
12. Such J, Runyon BA. Spontaneous bacterial peritonitis. *Clin Infect Dis* 1998;27:669-674.
13. Byl B, Roucloux I, Crusiaux A, Dupont E, Deviere J. Tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 plasma levels in infected cirrhotic patients. *Gastroenterology* 1993; 104:1492-1497.
14. Nussler AK, Di Silvio M, Billiar TR, et al. Stimulation of the nitric oxide synthase pathway in human hepatocytes by cytokines and endotoxin. *J Exp Med* 1992;176:261-264.
15. Spitzer JA. Cytokine stimulation of nitric oxide formation and differential regulation in hepatocytes and nonparenchymal cells of endotoxemic rats. *Hepatology* 1994;19:217-228.
16. Such J, Frances R, Perez-Mateo M. Nitric oxide in patients with cirrhosis and bacterial infections. *Metab Brain Dis* 2002;17:303-309.
17. Bories PN, Campillo B, Azaou L, Scherman E. Long-lasting NO overproduction in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 1997;25:1328-1333.
18. Garcia-Tsao G, Angulo P, Garcia JC, Groszmann RJ, Cadelina GW. The diagnostic and predictive value of ascites nitric oxide levels in patients with spontaneous bacterial peritonitis. *Hepatology* 1998;28:17-21.
19. Kim YM, Hong SJ, Billiar TR, Simmons RL. Counterprotective effect of erythrocytes in experimental bacterial peritonitis is due to scavenging of nitric oxide and reactive oxygen intermediates. *Infect Immun* 1996;64: 3074-3080.
20. Rimola A, Garcia-Tsao G, Navasa M, et al. Diagnosis, treatment and prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis: a consensus document. *International Ascites Club. J Hepatol* 2000;32:142-153.
21. Rimola A, Salmeron JM, Clemente G, et al. Two different dosages of cefotaxime in the treatment of spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis: results of a prospective, randomized, multicenter study. *Hepatology* 1995;21:674-679.
22. Wang JH, Redmond HP, Wu QD, Bouchier-Hayes D. Nitric oxide mediates hepatocyte injury. *Am J Physiol* 1998;275:G1117-1126.
23. Cardenas A, Bataller R, Arroyo V. Mechanisms of ascites formation. *Clin Liver Dis* 2000;4:447-465.
24. Jimenez W, Ros J, Morales-Ruiz M, et al. Nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase expression in peritoneal macrophages of cirrhotic patients. *Hepatology* 1999;30:670-676.