

홍막삼출액 감별에 있어서
C-반응성단백과 혈관내피성장인자의
유용성

연세대학교 대학원
의 학 과
김 상 하

흉막삼출액 감별에 있어서
C-반응성단백과 혈관내피성장인자의
유용성

지도교수 용 석 중

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2003년 7월 일

연세대학교 대학원

의 학 과

김 상 하

김상하의 석사 학위논문을 인준함

심사위원_____인

심사위원_____인

심사위원_____인

연세대학교 대학원

2003년 7월 일

차 례

차례	i
그림 차례	ii
표 차례	iii
국문요약	1
I. 서 론	3
II. 재료 및 방법	5
1. 대상	5
2. 방법	6
가. 검체의 분리 및 일반적 검사	6
나. 환자군의 분류	6
다. CRP의 측정	7
라. VEGF의 측정	7
마. 통계분석	7
III. 결 과	8
1. 여출액과 삼출액에서의 CRP와 VEGF의 측정값	8
2. 여출액과 삼출액의 감별을 위한 흉막삼출 액 CRP의 특이도와 민감도	10
3. 양성 흉막삼출액과 악성 흉막삼출액에서 의 CRP와 VEGF의 측정값	12
IV. 고 찰	14
V. 결 론	18
참고문헌	19
영문요약	24

표 차 례

표 1	각 군별 환자의 특성	5
표 2	여출액과 삼출액에서의 혈청 CRP, 흉막삼출액 CRP, CRP비, 혈청 VEGF, 흉막삼출액 VEGF, VEGF비	8
표 3	양성 흉막삼출액과 악성 흉막삼출액에서의 혈청 CRP, 흉막삼출액 CRP, CRP비, 혈청 VEGF, 흉막삼출액 VEGF, VEGF비	12

국문요약

흉막삼출액 감별에 있어서 C-반응성단백과 혈관내피성장인자의 유용성

흉막삼출액은 임상적으로 그 원인에 대한 감별을 위하여 우선적으로 여출액 (transudate)과 삼출액 (exudate)으로 구분하게 되며 이것은 고전적으로 Light's criteria에 의한다. 삼출액일 경우에는 그 원인질환들을 감별해야 하나 쉽지 않은 경우가 많으며 특히 악성 흉막삼출액에 대한 감별이 필요하지만 임상적으로 적용할 만한 표지자가 많지 않다. 이에 급성기반응물질 (acute phase reactants)인 C-반응성단백 (C-reactive protein, CRP)과 혈관형성시토카인 (angiogenic cytokine)인 혈관내피성장인자 (vascular endothelial growth factor, VEGF)가 흉막삼출액을 여출액과 삼출액으로 감별하는데 각각 임상적으로 유용한지를 알아보고 나아가 악성 삼출액에 대한 감별 표지자로서의 유용성이 있는지를 함께 검토하기 위하여 연구하였다.

흉막삼출액이 있는 것으로 진단된 환자 80명을 대상으로 진단적 흉강천자와 가능한 경우엔 흉막생검을 시행하여 Light's criteria로 여출액과 삼출액으로 구분하였고, 삼출액은 다시 원인에 따라 결핵성, 부폐렴성, 악성 흉막삼출액으로 구분하였다. 각 20명씩 네 군에서 혈청에서와 흉막삼출액에서의 CRP, VEGF를 측정하였고 각각의 혈청에 대한 흉막삼출액의 측정치의 비를 계산하였다. CRP는 혼탁도측정의 면역측정법 (turbidimetric immunoassay)으로, VEGF는 효소결합면역흡착검사 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)로 각각 측정하였다.

먼저, 각 군을 여출액과 삼출액으로 대별하여 두 군 간의 측정치의 평균을 비교하였다. 여출액과 삼출액에서의 흉막삼출액 CRP는 각각 1.29 ± 1.45 mg/dl, 4.19 ± 4.22 mg/dl로 측정되었으며 삼출액에서 유의한 증가를 보였다 ($p < 0.05$). 여출액과 삼출액에서의 흉막삼출액 VEGF는 각각 0.389 ± 0.325 ng/ml, 1.011 ± 1.055 ng/ml, VEGF비는 각각 1.550 ± 0.869 , 3.881 ± 4.723 으로 삼출액에서 모두 의미 있는 증가를 보였다. 의미 있는 차이를 보인 흉막삼출액 CRP는 차단값 (cutoff value)이 2.35 mg/dl일

때 민감도 56.7%, 특이도 90.0%의 감별력을 보였다. 두 번째로 각 군을 다시 악성 흉막삼출액과 양성 흉막삼출액으로 나누어 각각의 측정치의 평균을 비교하였다. 흉막삼출액 CRP는 양성 흉막삼출액과 악성 흉막삼출액에서 각각 4.15 ± 4.20 mg/dl, 1.43 ± 1.91 mg/dl로 양성 흉막삼출액에서 의미 있게 증가하였고, VEGF비는 각각 2.759 ± 3.632 , 4.917 ± 5.448 로 악성 흉막삼출액에서 의미 있게 증가하였다.

이상의 결과로 흉막삼출액의 감별에 있어서 흉막삼출액 CRP, 흉막삼출액 VEGF, VEGF비는 여출액과 삼출액을 감별하는 표지자로, 흉막삼출액 CRP와 VEGF비는 양성 흉막삼출액과 악성 흉막삼출액의 감별에도 도움을 줄 수 있는 표지자로 유용할 것으로 생각된다.

핵심되는 말 : C-반응성단백, 혈관내피성장인자, 흉막삼출액, 악성 흉막삼출액, 양성 흉막삼출액

흉막삼출액 감별에 있어서 C-반응성단백과 혈관내피성장인자의 유용성

<지도교수 용석중>

연세대학교 대학원 의학과

김 상 하

I. 서 론

흉막삼출액은 다양한 원인들에 의하여 생성되어 임상적으로 그 원인에 대한 감별을 요하며 매년 인구 백만 명당 3000에 이상의 발생을 보이고 있다¹. 흉막삼출액은 생성의 증가나 배출의 감소의 결과로 흉막공간에 쌓이게 되며 이에 대한 원인 감별을 위하여 우선적으로 여출액과 삼출액으로 구분하게 되는데 이것은 고전적으로 Light's criteria에 의한다². 만일 흉막삼출액의 양상이 여출액일 경우에는 더 이상 흉막삼출액에 대한 진단적 검사가 필요 없으며 울혈성 심부전, 간경화, 신부전 등의 원인을 감별하여야 한다. 만일 Light's criteria에 의해 삼출액인 경우에는 그 원인으로 올 수 있는 다양한 상태들을 감별해야 한다. 특별히 임상적으로 중요한 원인이 되는 악성 흉막삼출액에 대한 감별에 있어서는 현재 임상적으로 적용할 만한 표지자가 많지 않으며 몇 가지 암표지자가 연구되었으나 만족할 만한 것이 되지 못했다^{3,4}.

감염, 외상, 수술, 화상, 조직경색, 여러 가지 염증성 반응 및 진행성 암 등에서 주로 간세포에 의해 생성되는 CRP는 interleukin-6 (IL-6)와 IL-1 또는 종양괴사인자- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)의 자극을 받아서 분비가 증가되며, 염증 과정에서 여러 가지 병리생리학적 역할을 수행한다^{5,6}. 한편, 흉막삼출액의 형성과정에서 세포들과 혈장은 체순환에서 흉막공간으로 이동하며 이 과정에서 혈관장벽과 증피장벽을 통과하여야 한다. 이 중에서 혈관장벽은 보다 더 통과하기 어려운 "문지기 (gatekeeper)"로서 역할을 하지만 혈관투과도가 히스타민보다 오만 배나 강한 VEGF가 혈관투과도를 높여줌으로써 흉막삼출액을 형성하는데 매우 중요한 역할을

하며 단층으로 되어있는 중피세포층의 투과도도 함께 증가시킨다^{7,9}. VEGF는 기본적으로 흉막에 존재하는 중피세포에서 분비되며 흉막공간 내에 침윤된 염증세포와 종양세포에서도 발현된다^{7,9}.

이처럼 삼출액은 흉막의 염증과 혈관성 누출에 의하므로 이에 따른 조직의 손상 및 염증을 반영하는 표지자로서 급성기반응물질인 CRP를 측정하였고, 혈관투과도를 강력하게 높여 주어 흉막삼출액 형성에 중요한 매개체로서 역할하는 것으로 생각되는 혈관형성시토카인인 VEGF를 측정하여 여출액과 삼출액을 감별하는데 임상적으로 유용한지를 알아보려고 하였으며, 나아가 이들 CRP 및 VEGF의 측정치가 악성 흉막삼출액에 대한 감별 표지자로서 유용한지에 대한 가능성도 함께 검토하기 위하여 연구하였다.

II. 재료 및 방법

1. 대 상

2002년 12월 15일부터 2003년 3월 15일까지 연세대학교 원주의과대학 원주기독병원 호흡기내과로 흉막삼출액이 있는 것으로 입원하였거나 입원 중 흉막삼출액을 보인 환자와 입원 중에 흉막삼출액이 있어 협진 의뢰되었던 연속된 환자 총 96명을 전향연구하였다. 이 중에서 정확한 진단이 가능하였던 80명을 분석하였는데, 남자 47명, 여자 33명이었고 연령은 62 ± 15 세 (평균 \pm 표준편차)였다. 삼출액이었으나 원인이 명확히 규명 되지 않은 4예, 연구기간 이전에 입원하여 계속되는 흉막삼출액으로 연구기간 전에 여러 차례 흉강천자를 시행하였던 2예와 암으로 진단되었던 환자가 폐렴이 동반되어 발생한 흉막삼출액 4예는 모두 분석에서 제외하였다. 또한 외상으로 인한 경우 2예, 폐혈전색전증으로 인한 경우 2예, 공기색전증으로 인한 경우 1예, 수기흉으로 인한 경우 1예도 모두 분석에서 제외하였다.

Light's criteria에 의하여 삼출액과 여출액으로 분류하였고 삼출액은 60명, 여출액은 20명이었다². 삼출액은 다시 악성 흉막삼출액과 양성 흉막삼출액으로 나누었으며, 양성 흉막삼출액은 결핵성, 부폐렴성, 여출성 흉막삼출액을 포함하였고 양성 60명, 악성 20명이었다.

표 1. 각 군별 환자의 특성

실 험 군	환 자 수	평균 연령 ¹
삼 출 액	60	61 \pm 15
결핵성 흉막삼출액	20	56 \pm 21
부폐렴성 흉막삼출액	20	64 \pm 11
악성 흉막삼출액	20	65 \pm 12
누 출 액	20	65 \pm 15

¹ 단위는 세이고 그 값은 평균 \pm 표준편차로 나타냄.

2. 방 법

가. 검체의 분리 및 일반적 검사

흉막삼출액에 대하여 흉강천자를 시행하여 단백질, glucose, lactate dehydrogenase (LDH), ADA를 일반생화학검사 (Hitachi 7170, Hitachi, Tokyo, Japan)로 측정하였으며, ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA)를 첨가한 튜브에 모은 검체로는 백혈구 감별계산을 하였다. 시행이 가능한 경우에는 흉막생검을 시행하였으며, 모든 흉막삼출액에 대하여 세균배양 및 세포학검사를 시행하였다.

동시에 흉막삼출액을 얻은 즉시 검체를 10분간 3000 rpm으로 원심분리하여 세포성분은 침전시키고 상정액을 분리한 후 cytokine을 측정하기 전까지 -70℃로 냉동 보관하였다. 혈청에서의 측정치 분석을 위하여 채혈을 하였으며 흉막삼출액과 동일한 방법으로 처리하였다.

나. 환자군의 분류

일반적으로 문헌에서 받아들여지고 있는 진단기준의 정의에 근거하여 각각의 흉막삼출액의 원인 군을 아래와 같이 나누어 분류하였다(표 1)^{3,4,10-17}. 결핵성 흉막삼출액은 흉막생검에서 건락성육아종 소견을 보이거나, 흉막삼출액이나 흉막생검 조직에서 *Mycobacterium tuberculosis* 배양 양성을 보인 경우, 또는 *M. tuberculosis*에 대한 객담배양 양성이면서 삼출액이 있을 때와 흉막삼출액에서 단핵구가 우세하면서 adenosine deaminase (ADA)치가 45 U/L 이상일 때로 정의하였다. 부폐렴성 늑막삼출액은 암이나 다른 흉막삼출액을 야기할 만한 다른 질환이 없으면서 폐침윤을 보이고 화농성 객담이 있는 급성 열성 질병이 있는 경우에 동반된 흉막삼출액으로 정의하였다. 악성 흉막삼출액은 흉막생검이나 흉막삼출액의 세포학검사에서 암세포가 규명된 경우이거나 이미 암으로 진단된 환자에서 흉막삼출액을 동반할 수 있는 다른 질환이 진단되지 않은 경우로 정의하였다. 여출성 흉막삼출액으로 분류된 경우는 원인 질환으로 울혈성 심부전, 만성 신부전, 간경화가 있었다.

다. CRP의 측정

CRP의 측정은 짝지은 혈청과 흉막삼출액에서 turbidimetric immunoassay (Cobas Integra 800, Roche, Basel, Switzerland)로 측정하였다.

라. VEGF의 측정

VEGF의 측정은 짝지은 혈청과 흉막삼출액에서 ELISA (Quantikine Kit, R&D Systems Inc., Minneapolis, MN, USA)로 제조회사의 지침에 따라 측정하였다.

마. 통계 분석

윈도우용 SPSS 11.0을 사용하여 서로 다른 두 군 간의 평균값을 Student t-test로 통계적인 비교를 하였다. 통계학적으로 유의한 차이를 보이는 측정값에 대하여 윈도우용 MedCalc 7.0을 사용하여 ROC curve (Receiver Operating Characteristic curve) analysis를 통해 민감도와 특이도가 높게 유지되는 cutoff value를 구하였다. P값은 0.05 미만일 때 통계적으로 유의하다고 판정하였다.

III. 결 과

1. 여출액과 삼출액에서의 CRP와 VEGF의 측정값

여출액과 삼출액 군에서 측정한 혈청 및 흉막삼출액에서의 CRP와 VEGF 값과 각각의 혈청에 대한 흉막삼출액에서의 측정치의 비를 비교하였다(표 2). 여출액과 삼출액에서의 혈청 CRP는 각각 3.83 ± 4.96 mg/dl, 10.47 ± 10.25 mg/dl, 흉막삼출액 CRP는 각각 1.29 ± 1.45 mg/dl, 4.19 ± 4.22 mg/dl, CRP비는 각각 0.65 ± 0.66 , 0.49 ± 0.27 이었다. 또한 여출액과 삼출액에서의 혈청 VEGF는 각각 0.316 ± 0.266 ng/ml, 0.335 ± 0.290 ng/ml, 흉막삼출액 VEGF는 각각 0.389 ± 0.325 ng/ml, 1.010 ± 1.055 ng/ml, VEGF비는 각각 1.550 ± 0.869 , 3.881 ± 4.723 이었다. 측정치 중에서 혈청 CRP, 흉막삼출액 CRP, 흉막삼출액 VEGF, VEGF비가 여출액에서보다 삼출액에서 유의하게 증가되었고, CRP비는 유의하게 감소되었다(그림 1,2,3).

표 2. 여출액과 삼출액에서의 혈청 CRP, 흉막삼출액 CRP, CRP비, 혈청 VEGF, 흉막삼출액 VEGF, VEGF비

변 수	여출액(n=20)	삼출액(n=60)	P값
혈청 CRP ¹	3.83 ± 4.96	10.47 ± 10.25	0.000*
흉막삼출액 CRP ¹	1.29 ± 1.45	4.19 ± 4.22	0.000*
CRP비 ²	0.65 ± 0.66	0.49 ± 0.27	0.000*
혈청 VEGF ³	0.316 ± 0.266	0.335 ± 0.290	0.628
흉막삼출액 VEGF ³	0.389 ± 0.325	1.010 ± 1.055	0.006*
VEGF비 ⁴	1.550 ± 0.869	3.881 ± 4.723	0.008*

¹ 단위는 mg/dl이고 그 값은 평균±표준편차로 나타냄.

² 흉막삼출액 CRP / 혈청 CRP, 그 값은 평균±표준편차로 나타냄.

³ 단위는 ng/ml이고 그 값은 평균±표준편차로 나타냄.

⁴ 흉막삼출액 VEGF / 혈청 VEGF, 그 값은 평균±표준편차로 나타냄.

* P < 0.05

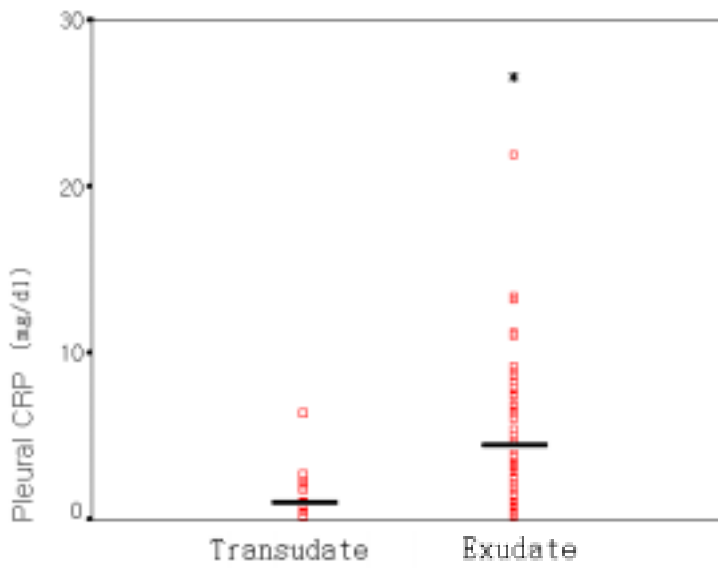


그림 1. 여출액과 삼출액에서의 흉막삼출액 CRP 값.
* P<0.05.

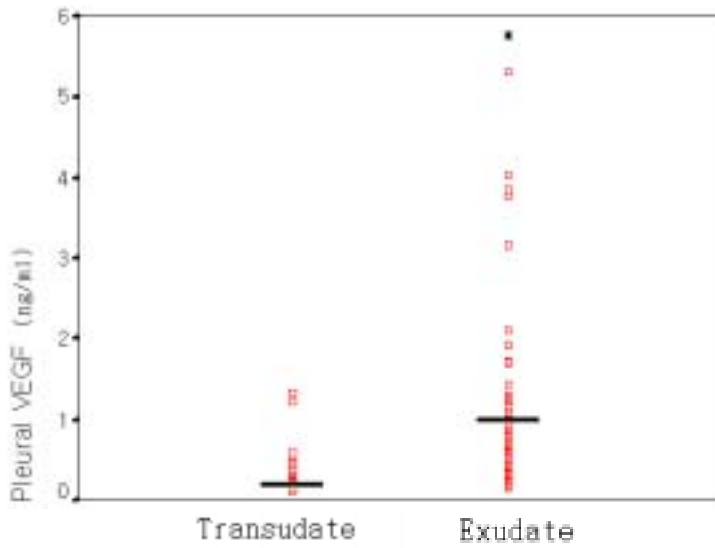


그림 2. 여출액과 삼출액에서의 흉막삼출액 VEGF 값.
* P<0.05.

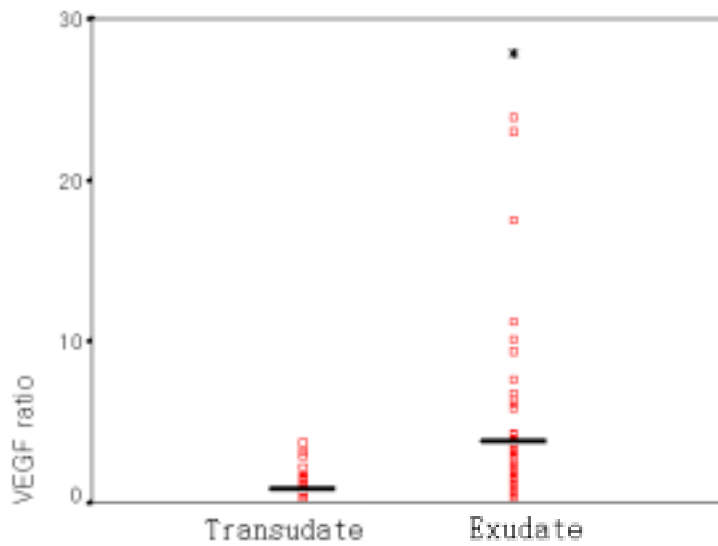


그림 3. 여출액과 삼출액에서의 VEGF비. * P<0.05.

2. 여출액과 삼출액의 감별을 위한 흉막삼출액 CRP의 특이도와 민감도

여출액과 삼출액에서의 매우 유의한 차이를 보인 흉막삼출액 CRP에 대하여 민감도와 특이도가 가장 높게 유지되는 cutoff value를 구하기 위하여 ROC curve를 그려보았다(그림 4). 흉막삼출액 CRP값이 2.35 mg/dl일 때 특이도 90.0%, 민감도 56.7%로 AUC가 가장 높았다.

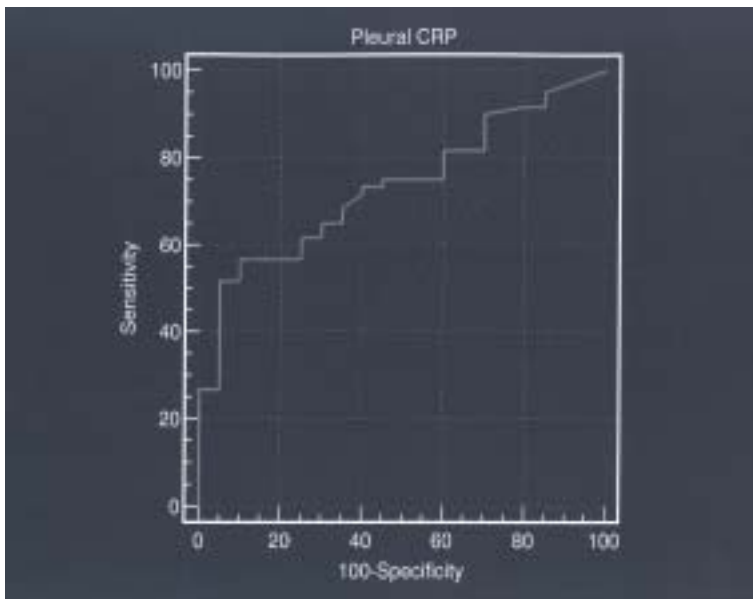


그림 4. 여출액과 삼출액 감별을 위한 흉막삼출액 CRP의 ROC curve.

3. 양성 흉막삼출액과 악성 흉막삼출액에서의 CRP와 VEGF의 측정값

결핵성, 부폐렴성, 여출성 흉막삼출액 세 군을 함께 양성 흉막삼출액으로 구분하여 악성 흉막삼출액과 측정치를 비교하였다(표 3). 양성 흉막삼출액과 악성 흉막삼출액에서의 혈청 CRP는 각각 10.42 ± 10.01 mg/dl, 3.98 ± 6.44 mg/dl, 흉막삼출액 CRP는 각각 4.15 ± 4.20 mg/dl, 1.43 ± 1.91 mg/dl, CRP비는 각각 0.54 ± 0.44 , 0.51 ± 0.27 이었다. 또한 양성 흉막삼출액과 악성 흉막삼출액에서의 혈청 VEGF는 각각 0.347 ± 0.308 ng/ml, 0.280 ± 0.184 ng/ml, 흉막삼출액 VEGF는 각각 0.792 ± 0.891 ng/ml, 1.047 ± 1.163 ng/ml, VEGF비는 각각 2.579 ± 3.632 , 4.917 ± 5.448 이었다. 측정치중에서 혈청 CRP와 흉막삼출액 CRP는 양성 흉막삼출액에서 유의하게 증가하였고, VEGF비는 악성 흉막삼출액에서 유의하게 증가하였다(그림 5,6).

표 3. 양성 흉막삼출액과 악성 흉막삼출액에서의 혈청 CRP, 흉막삼출액 CRP, CRP비, 혈청 VEGF, 흉막삼출액 VEGF, VEGF비

변 수	양성 흉막삼출액(n=60)	악성 흉막삼출액(n=20)	P값
혈청 CRP ¹	10.42 ± 10.01	3.98 ± 6.44	0.002*
흉막삼출액 CRP ¹	4.15 ± 4.20	1.43 ± 1.91	0.002*
CRP비 ²	0.54 ± 0.44	0.51 ± 0.27	0.449
혈청 VEGF ³	0.347 ± 0.308	0.280 ± 0.184	0.310
흉막삼출액 VEGF ³	0.792 ± 0.891	1.047 ± 1.163	0.370
VEGF비 ⁴	2.579 ± 3.632	4.917 ± 5.448	0.009*

¹ 단위는 mg/dl이고 그 값은 평균±표준편차로 나타냄.

² 흉막삼출액 CRP / 혈청 CRP, 그 값은 평균±표준편차로 나타냄.

³ 단위는 ng/ml이고 그 값은 평균±표준편차로 나타냄.

⁴ 흉막삼출액 VEGF / 혈청 VEGF, 그 값은 평균±표준편차로 나타냄.

* P < 0.05

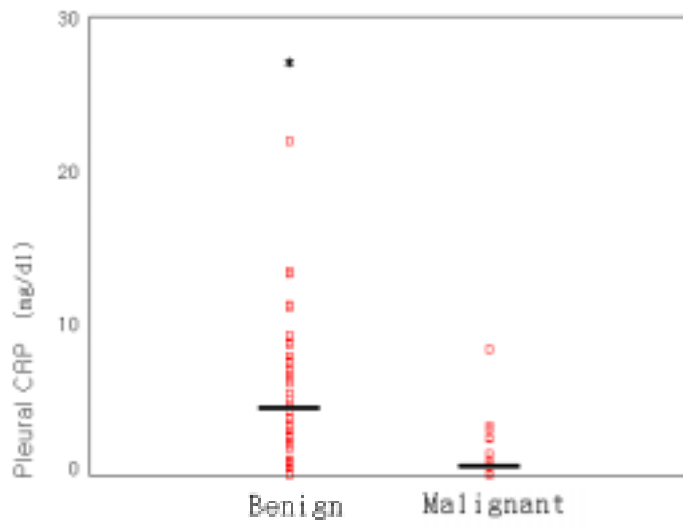


그림 5. 양성 흉막삼출액과 악성 흉막삼출액에서의 흉막삼출액 CRP 값. * P<0.05.

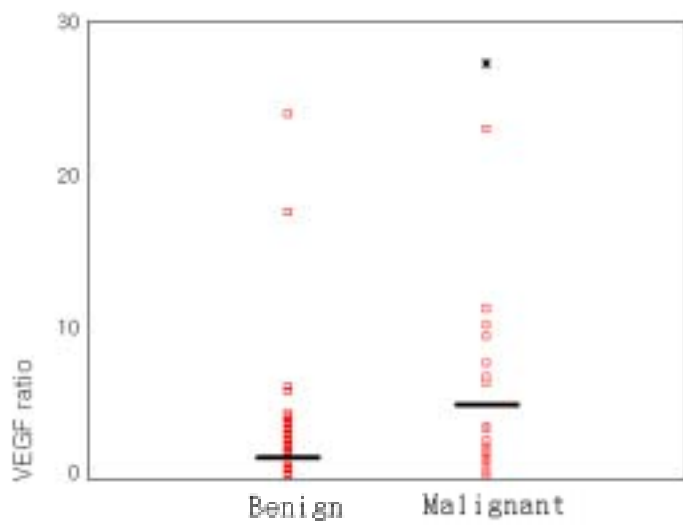


그림 6. 양성 흉막삼출액과 악성 흉막삼출액에서의 VEGF비.
* P<0.05.

IV. 고 찰

CRP는 염증반응에서 중요한 역할을 수행하는데, 선천면역계 (innate immune system)의 한 요소로 손상된 세포의 인지질 성분뿐만 아니라 이물 병원체 (foreign pathogen)를 인지하며, phosphocholine에 결합할 수 있는 능력이 있다¹⁸. 또한 배위자 (ligand)와 결합하여 보체계 (complement system)을 활성화시키기도 하며, 포식세포와 결합할 수도 있다. 뿐만 아니라 염증과정에서 체액면역 및 세포면역계와 상호 작용하여 표적이 되는 세포를 제거하기도 한다¹⁸. 본 연구에서 혈청 CRP, 흉막삼출액 CRP, CRP비가 여출액과 삼출액 두 군 간에 유의한 차이를 보였다. 그런데 CRP비를 제외한 혈청 CRP, 흉막삼출액 CRP는 삼출액에서 증가를 보였고, 반대로 CRP비는 감소하였다. 이것은 혈청 CRP와 흉막삼출액 CRP가 여출액에 비하여 삼출액에서 각각 유의한 증가를 보였으나 혈청 CRP의 증가가 흉막삼출액 CRP의 증가보다 더욱 더 현저하였기 때문이라고 볼 수 있다. 그래서 CRP의 증가를 유발시키는 요인이 국소적인 효과로 작용하는 것보다 전신적인 효과를 통하여 작용하는 것이 보다 더 큰 것으로 생각될 수 있다. 하지만 유의한 차이를 보인 흉막삼출액 CRP의 증가가 단순히 혈청 CRP의 증가로 인한 전신적인 효과의 이차적인 현상으로 볼 수 없는 이유가 있다. CRP는 IL-6, IL-1, TNF- α 등에 의해 분비가 자극되는데 여출액에 비하여 삼출액에서 흉막삼출액 IL-6, IL-1, TNF- α 가 의미 있는 증가를 보였다^{6,19}. 또한 흉막삼출액 IL-6의 증가는 이로 인한 B세포, T세포의 기능을 조절하게 되는 국소적 면역반응에 의한 것으로 보기도 하였다¹⁹. 본 연구에서도 결과에 기술하지는 않았지만, 흉막삼출액과 혈청 IL-6를 측정하여 혈청에 대한 흉막삼출액에서의 IL-6비를 계산하였는데 여출액과 비교하여 삼출액에서 흉막삼출액 IL-6가 유의하게 증가되었고, IL-6비가 마찬가지로 유의하게 증가되어 있었다. 그러므로 흉막삼출액 CRP의 증가는 IL-6의 증가를 동반하는 국소적 염증반응으로 인한 국소적인 작용에 의한 것으로 생각할 수 있다.

과거 수십 년 동안 흉막삼출액과 혈청에서의 단백질과 LDH의 측정을 기준으로 한 Light's criteria에 따라서 여출액과 삼출액을 감별해 왔다². Light's criteria에서

측정하는 세 가지 항목을 살펴보면, 혈청에 대한 흉막삼출액에서의 단백질의 비가 0.5이상일 경우 민감도 86%, 특이도 84%로 삼출액으로 감별할 수 있고, 혈청에 대한 흉막삼출액에서의 LDH의 비가 0.6이상일 경우 민감도 90%, 특이도 82%로 삼출액으로 감별해 낼 수 있으며, 흉막삼출액 LDH가 혈청 LDH의 정상범위의 상한 값의 $\frac{2}{3}$ 이상일 경우 민감도 82%, 특이도 89%로 여출액에서 삼출액을 감별해 낼 수 있다. 그러나 이 기준이 인정된 이후에도 여출액과 삼출액을 완전히 감별하지 못하여 이를 위한 몇 가지 보완적인 측정지표들이 제안되었다^{20,21}. 그것은 혈청과 흉막삼출액에서 콜레스테롤을 측정하여 판단하는 지표로서, 흉막삼출액 콜레스테롤이 60 mg/dl이상일 경우 민감도 54%, 특이도 92%로 삼출액을 감별할 수 있으며 혈청에 대한 흉막삼출액에서의 콜레스테롤비가 0.3이상일 때 민감도 89%, 특이도 81%로 삼출액을 감별해 낼 수 있다^{20,21}. Light's criteria는 삼출액을 감별해 내는데 있어서 가장 민감하기는 하나 다른 기준들과 비교하여 특이도가 떨어진다. 그런 이유로 임상적으로는 여출액이 의심되지만 Light's criteria에 의해 삼출액으로 판단되는 경우가 있다. 이를 보완하기 위하여 보다 특이도가 높은 표지자를 제안하게 되었는데, 그 중에 한 방법으로 흉막삼출액 알부민보다 혈청 알부민이 1.2 g/dl이상 증가된 소견을 보일 경우에 여출액으로 판단할 수 있고 이 경우 민감도 87%, 특이도 92%의 감별력을 보인다²¹. 본 연구에서 삼출액에서 유의한 차이를 보인 흉막삼출액 CRP의 경우 2.35 mg/dl이상일 때 민감도 56.7%, 특이도 90.0%의 감별력으로 삼출액을 감별할 수 있었다. 이것은 흉막삼출액 콜레스테롤 측정치에 따른 삼출액 감별력과 비슷한 수준으로 Light's criteria와 함께 임상적으로 보완적인 지표로 사용할 수 있겠다. 다른 연구에서는 흉막삼출액 CRP가 1.0 mg/dl이상일 때 민감도 82%, 특이도 87.5%로, 또 다른 경우에는 민감도 74%, 특이도 74%로 삼출액을 감별할 수 있다고 하였다^{22,23}.

여출액과 삼출액 감별을 위한 지표로서 혈청 CRP는 유의한 차이를 보였으나 모든 염증반응에서 비특이적으로 증가할 수 있어 임상적인 유용성을 고려하지 않았으며, CRP비는 흉막삼출액 CRP뿐 아니라 혈청 CRP도 함께 유의한 증가를 보였으므로 의미를 두지 않았다.

VEGF는 mRNA의 alternate splicing에 의해 형성된 다섯 개의 이성체 (isomer)

즉, VEGF₁₂₁, VEGF₁₄₅, VEGF₁₆₅, VEGF₁₈₉, VEGF₂₀₆으로 구성되어 있는데 각각의 이성체는 서로 비슷한 생물학적 활성을 갖는다^{26,27}. 폐에서는 VEGF₁₆₅가 주된 이성체이며, 중피에서도 VEGF₁₆₅가 주된 이성체라는 증거가 있다⁹. 본 연구에서 혈청과 흉막삼출액에서의 VEGF를 측정하기 위하여 사용한 ELISA kit는 두 가지의 항체가 주로 VEGF₁₆₅와 반응하는 것으로 되어 있으므로 폐의 주된 이성체인 VEGF₁₆₅ 외에 측정되지 않은 소수의 이성체의 측정값은 결과에 크게 영향을 미치지 못할 것으로 생각된다. 본 연구에서 여출액과 삼출액 감별에서 흉막삼출액 VEGF와 VEGF비가 삼출액에서 모두 유의한 증가를 보였는데, 이것으로 삼출액이 형성되는데 있어서 흉막삼출액 VEGF의 증가는 국소적인 작용에 의한 것으로 생각할 수 있으며 삼출액에서의 VEGF 근원이 체순환에서 흉막공간으로 확산되어서 온 것이라기보다는 국소적인 흉막에서의 생성으로 인한 것이라고 생각할 수 있다.

본 연구에서 흉막삼출액 CRP는 양성 흉막삼출액과 악성 흉막삼출액에서의 감별력이 있었으며 이미 진단적인 유용성이 평가되었던 몇몇 암표지자들과 비교하여 볼 때 비교적 그 비용이 저렴하고 검사방법이 쉽고 간단하며 신속하다는 것이 장점이었다.

악성 흉막삼출액에서 유의하게 증가를 보였던 VEGF비는 삼출액에서와 마찬가지로 국소적인 흉막에서의 생성으로 인한 VEGF의 증가를 반영하는 결과로 악성 흉막삼출액의 VEGF가 짝지은 혈청 VEGF 측정치보다 열 배까지도 증가되어 있다고 보고했던 다른 연구와도 비슷한 결과이다^{24,25}. 흉막공간내에서 VEGF는 다양한 세포들에 의해 분비가 되며 흉막에 있는 중피세포에서 기본적으로 분비되고 흉막공간으로 침윤된 염증세포와 암세포에서도 VEGF가 발현된다^{7,9}. 흉막을 잘 침범하는 폐암이나 유방암을 포함한 대부분의 암세포들은 많은 양의 VEGF를 생성하는데, 이것은 악성 흉막삼출액의 경우 흉막삼출액 VEGF 증가에 주로 기여하는 요소가 바로 흉막을 침범한 암세포일 가능성이 높다는 사실을 말해준다^{7,8,28-31}.

VEGF는 여러 가지 물리적 또는 화학적 자극에 의하여 분비가 증가되며 이것은 세포와 환경에 특이적이다⁸. 이 중에서 저산소증이 가장 잘 알려진 VEGF 유전자 발현의 자극원으로 이와 관련하여 폐색전증으로 인한 흉막삼출액의 경우에 흉막삼출액 VEGF의 현저한 증가를 보인 예가 있다³². 하지만 저산소증이 흉막공간에

서의 VEGF의 생성을 증가시키는데 중요한 역할을 담당하는지에 대한 부분은 아직 명확하지 않으며, 폐색전증으로 인한 흉막삼출액에 대한 진단적 접근도 명확하지 않은 상태이다^{7,26,33}.

이에 이번 연구에서 제외되었던 폐색전증에 동반된 흉막삼출액에 대한 CRP와 VEGF의 진단적인 유용성에 대한 검토가 향후 필요하겠으며, 흉막삼출액 CRP의 증가를 설명할 수 있는 국소적 요인들의 영향에 대한 검토가 필요할 것으로 생각된다.

V. 결 론

본 연구는 혈청 및 흉막삼출액에서 CRP와 VEGF를 측정하는 것이 기존의 Light's criteria를 보완하여 여출액과 삼출액을 감별하고, 더 나아가 양성 흉막삼출액과 악성 흉막삼출액을 감별하는데 있어서 유용한지 알아보려고 연구를 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 흉막삼출액 CRP는 여출액과 삼출액에서 각각 1.29 ± 1.45 mg/dl, 4.19 ± 4.22 mg/dl로 측정되었으며 삼출액에서 유의한 증가를 보였고, cutoff value가 2.35 mg/dl 일 때 민감도 56.7%, 특이도 90.0%의 감별력을 보였다.
2. 흉막삼출액 VEGF는 여출액과 삼출액에서 각각 0.389 ± 0.325 ng/ml, 1.011 ± 1.055 ng/ml로 측정되었으며 삼출액에서 유의한 증가를 보였다.
3. VEGF비는 여출액과 삼출액에서 각각 1.550 ± 0.869 , 3.881 ± 4.723 으로 계산되었으며 삼출액에서 유의한 증가를 보였다.
4. 흉막삼출액 CRP는 양성 흉막삼출액과 악성 흉막삼출액에서 각각 4.15 ± 4.20 mg/dl, 1.43 ± 1.91 mg/dl로 측정되었으며 양성 흉막삼출액에서 의미 있게 증가하였다.
5. VEGF비는 양성 흉막삼출액과 악성 흉막삼출액에서 각각 2.759 ± 3.632 , 4.917 ± 5.448 로 계산되었으며 악성 흉막삼출액에서 의미 있게 증가하였다.

이상의 결과를 통하여 흉막삼출액 CRP, 흉막삼출액 VEGF, VEGF비는 흉막삼출액의 감별에 있어서 여출액과 삼출액을 감별하는데 보완적인 표지자로서 유용하며, 흉막삼출액 CRP와 VEGF비는 양성 흉막삼출액과 악성 흉막삼출액을 감별하는 표지자로서도 유용하리라 생각된다.

참고 문헌

1. Marel M, Zrustova M, Stasny B, Light RW. The incidence of pleural effusion in a well-defined region. Epidemiologic study in central Bohemia. *Chest* 1993;104:1486-9.
2. Light RW, Macgregor MI, Luchsinger PC, Ball WC Jr. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med* 1972;77:507-13.
3. Romero S, Fernandez C, Arriero JM, Espasa A, Candela A, Martin C, et al. CEA, CA 15-3 and CYFRA 21-1 in serum and pleural fluid of patients with pleural effusions. *Eur Respir J* 1996;9:17-23.
4. Villena V, Lopez-Encuentra A, Echave-Sustaeta J, Martin-Escribano P, Ortuno-de-Solo B, Estenoz-Alfaro. Diagnostic value of CA 72-4, carcinoembryonic antigen, CA 15-3, and CA 19-9 assay in pleural fluid. A study of 207 patients. *Cancer* 1996;78:736-40.
5. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999;340:448-54.
6. Mackiewicz A, Speroff T, Ganapathi MK, Kushner I. Effects of cytokine combinations on acute phase protein production in two human hepatoma cell lines. *J Immunol* 1991;146:3032-7.
7. Grove CS, Lee YC. Vascular endothelial growth factor: the key mediator in pleural effusion formation. *Curr Opin Pulm Med* 2002;8:294-301.
8. Brown LF, Detmar M, Claffey K, Nagy JA, Feng D, Dvorak AM, et al. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a multifunctional angiogenic cytokine. *EXS* 1997;79:233-69.
9. Mohammed KA, Nasreen N, Hardwick J, Logie CS, Patterson CE,

- Antony VB. Bacterial induction of pleural mesothelial monolayer barrier dysfunction. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;281:119-25.
10. Bartter T, Santarelli R, Akers SM, Pratter MR. The evaluation of pleural effusion. *Chest* 1994;106:1209-14.
 11. Light RW. Diagnostic principles in pleural disease. *Eur Respir J* 1997;10:476-81.
 12. Salyer WR, Eggleston JC, Erozan YS. Efficacy of pleural needle biopsy and pleural fluid cytopathology in the diagnosis of malignant neoplasm involving the pleura. *Chest* 1975;67:536-9.
 13. Escudero Bueno C, Garcia Clemente M, Cuesta Castro B, Molinos Martin L, Rodriguez Ramos S, Gonzalez Panizo A, et al. Cytologic and bacteriologic analysis of fluid and pleural specimens with Cope's needle. Study of 414 patients. *Arch Intern Med* 1990;150:1190-4.
 14. McKenna JM, Chandrasekhar AJ, Henkin RE. Diagnostic value of carcinoembryonic antigen in exudative pleural effusions. *Chest* 1980;78:587-90.
 15. Martinez-Vea A, Gatell JM, Segura F, Heiman C, Elena M, Ballesta AM, et al. Diagnostic value of tumoral markers in serous effusions: carcinoembryonic antigen, alpha1-acidglycoprotein, alpha-fetoprotein, phosphohexose isomerase, and beta 2-microglobulin. *Cancer* 1982;50:1783-8.
 16. Garcia-Pachon E, Padilla-Navas I, Dosda MD, Miralles-Llopis A. Elevated level of carcinoembryonic antigen in nonmalignant pleural effusions. *Chest* 1997;111:643-7.

17. Light RW. Clinical manifestations and useful tests. In: Light RW, editor. Pleural diseases. 3rd ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 1995. p.36-74.
18. Volanakis JE. Acute phase proteins in rheumatic disease. In: Koopman WJ, editors. Arthritis and allied conditions: a textbook of rheumatology. 13th ed. Baltimore: Williams & Wilkins; 1997. p.505-14.
19. Xirouchaki N, Tzanakis N, Bouros D, Kyriakou D, Karkavitsas N, Alexandrakis M, et al. Diagnostic value of interleukin-1 α , interleukin-6, and tumor necrosis factor in pleural effusions. Chest 2002;121:815-20.
20. Romero S, Candela A, Martin C, Hernandez L, Trigo C, Gil J. Evaluation of different criteria for the separation of pleural transudates from exudates. Chest 1993;104:399-404.
21. Burgess LJ, Maritz FJ, Taljaard JJ. Comparative analysis of the biochemical parameters used to distinguish between pleural transudates and exudates. Chest 1995;107:1604-9.
22. Castano Vidriales JL, Amores Antequera C. Use of pleural fluid C-reactive protein in laboratory diagnosis of pleural effusions. Eur J Med 1992;1:201-7.
23. Alexandrakis MG, Coulocheri SA, Bouros D, Vlachonikolis IG, Eliopoulos GD. Significance of alpha-2-macroglobulin, alpha-1-acid glycoprotein, and C-reactive protein in pleural effusion differentiation. Respiration 2000;67:30-5.
24. Kraft A, Weindel K, Ochs A, Marth C, Zmija J, Schumacher P, et al. Vascular endothelial growth factor in the sera and effusions of

- patients with malignant and nonmalignant disease. *Cancer* 1999;85:178-87.
25. Yeo KT, Wang HH, Nagy JA, Sioussat TM, Ledbetter SR, Hoogewerf AJ, et al. Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) in guinea pig and human tumor and inflammatory effusions. *Cancer Res* 1993;53:2912-8.
 26. Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J* 1999;13:9-22.
 27. Robinson CJ, Stringer SE. The splice variants of vascular endothelial growth factor (VEGF) and their receptors. *J Cell Sci* 2001;114:853-65.
 28. Ferrara N, Keyt B. Vascular endothelial growth factor: basic biology and clinical implications. *EXS* 1997;79:209-32.
 29. Takahama M, Tsutsumi M, Tsujiuchi T, Nezu K, Kushibe K, Taniguchi S, et al. Enhanced expression of Tie2, its ligand angiopoietin-1, vascular endothelial growth factor, and CD31 in human non-small cell lung carcinomas. *Clin Cancer Res* 1999;5:2506-10.
 30. Yoshiji H, Gomez DE, Shibuya M, Thorgeirsson UP. Expression of vascular endothelial growth factor, its receptor, and other angiogenic factors in human breast cancer. *Cancer Res* 1996;56:2013-6.
 31. Cacciotti P, Strizzi L, Vianale G, Iaccheri L, Libener R, Porta C, et al. The presence of simian-virus 40 sequences in mesothelioma and mesothelial cells is associated with high levels of vascular endothelial growth factor. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002;26:189-93.
 32. Cheng D, Rodriguez RM, Perkett EA, Rogers J, Bienvenu G, Lappalainen U, et al. Vascular endothelial growth factor in pleural

fluid. Chest 1999;116:760-5.

33. Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor. J Mol Med 1999;77:527-43.

Abstract

Diagnostic value of C-reactive protein and vascular endothelial growth factor in differentiation of pleural effusions

Sang Ha Kim

Department of Medicine

The graduate School, Yonsei University

(Directed by Professor Suk Joong Yong)

Pleural effusions have classically been divided into transudates and exudates. If the effusion is a transudate, no further diagnostic investigation of the pleural fluid is necessary. However, if it is exudative, more diagnostic tests are required in order to determine the cause of the local disease. Malignancy is a common and important cause of exudative pleural effusions. Because pleural fluid cytology and pleural biopsy specimens do not provide a diagnosis in a high percentage of malignant effusions, several tumor markers have been studied.

To overcome this limitation, we hypothesized that measurement of CRP and VEGF would be useful in differentiating between transudates and exudates and besides between benign and malignant effusion. We studied prospectively 80 consecutive patients with pleural effusion (tuberculous 20, parapneumonic 20, malignant 20, transudative 20): 60 of them were classified as having an exudative fluid and 20 a transudative fluid, according to Light's criteria. We examined standard parameters of pleural effusion and measured serum and pleural effusion VEGF using ELISA. CRP in serum and pleural fluid was determined by turbidimetric immunoassay.

Pleural CRP levels in exudate are significantly higher than those in transudate, 4.19 ± 4.22 mg/dl and 1.29 ± 1.45 mg/dl, respectively. VEGF levels in pleural effusion are significantly elevated in exudate compared with transudate, 1.011 ± 1.055 ng/ml and 0.389 ± 0.325 ng/ml, respectively. VEGF ratio in exudative effusion is significantly higher than transudative effusions, 3.881 ± 4.723 and 1.550 ± 0.869 , respectively. Pleural CRP levels in patients with benign effusion (4.15 ± 4.20 mg/dl) are significantly higher than those in malignant effusion (1.43 ± 1.91 mg/dl). VEGF ratio is significantly higher in malignant (4.917 ± 5.448) than benign effusion (2.759 ± 3.632).

Taken together, we conclude that level of CRP and VEGF in serum and pleural effusion is helpful in differentiating between transudates and exudates. Moreover it is useful in differentiation between benign and malignant pleural effusions.

Key Words : C-reactive protein, vascular endothelial growth factor, pleural effusion, malignant