

# 심근경색 실험동물 모델에서 Insulin-like growth factor system의 조절

태현진, 안동춘, 박병용, 심정하<sup>1</sup>, 김인식

전북대학교 생체안전성연구소, 수의과대학 해부학교실, <sup>1</sup>예수대학교 간호학부  
(2011년 4월 1일 접수, 2011년 5월 18일 수정접수, 2011년 6월 15일 게재승인)

**간추림** : Insulin-like growth (IGF) system은 여러 가지 다양한 심근질환과 연관성이 있는 것으로 알려져 있으나 심근경색에서 IGF system의 변화에 대해서는 밝혀져 있지 않다. 따라서 본 연구에서는 흰쥐 심근경색 모델을 활용하여 IGF system의 변동을 살펴보고 심근경색에서 IGF system의 역할을 규명해보고자 하였다.

60일령의 수컷 흰쥐 원심장동맥을 결찰하여 심근경색 모델을 만들었고 개흉하여 sham 대조군을 삼았다. 실험군은 심근경색 유발 후 1, 3, 7, 14 및 30일에 희생시켰고 대조군은 가슴안을 열고 30일에 희생시켰다. 혈청과 심근내 IGF-I과 IGF-II 농도와 혈청내 IGF binding protein (IGFBP)-1, IGFBP-3 농도를 측정하였다.

심장동맥을 결찰한 실험군에서 평균 심근경색의 크기는 원심실의 35.2~42.3%이었다. 혈청내 IGF-I의 농도는 대조군과 비교하여 명확하게 감소하였으나 IGF-II 농도는 차이를 나타내지 않았다. 혈청내 IGFBP-1의 농도는 심근경색 후 1일과 3일에 큰 폭으로 상승하였고 IGFBP-3는 전 실험군에서 유의성 있게 증가하였다. 심근경색 실험동물에서 심근의 IGF-I의 농도는 대조군과 비교하여 명확하게 감소한 반면, IGF-II의 농도는 변화가 없었다.

이상의 결과는 심근경색시 IGF system의 변동이 있음을 확인하였고 심근경색 후 심장의 반응에서 IGF system이 중요한 작용이 있음을 알 수 있었다.

**찾아보기 낱말** : 심근경색, IGF system, 흰쥐

## 서 론

심근경색 (myocardial infarction)과 관련된 생체내 구조와 기능의 변화에 관한 상세한 정보를 얻기 위하여 다양한 실험동물에서 심장동맥 (coronary artery)을 결찰한 후에 심근경색을 유발시키는 심근경색 실험동물 모델이 오랜 기간 동안 이용되어 오고 있다. 심근경색 후에 원심실 기능이상의 정도는 심근경색 크기와 직접적인 연관이 있어서 유사한 크기의 경색을 유발 할 수 있는 동물이 요구되는데 흰쥐에서 원내림심장동맥 (left descending coronary artery)을 결찰하여 심근경색을 유발하는 방법이 최근까지도 가장 흔하게 적용되고 있다 (Pfeffer 등 1979, Anversa 등 1985, Pfeffer와 Braunwald 1990, Pfeffer 등 1991, Liu 등 1997, Hearse와 Sutherland

2000, Muders와 Elsner 2000, Ahn 등 2003, Nahrendorf 등 2003).

한편, Insulin like growth factor (IGF) system은 IGF-I과 IGF-II 2개의 ligands, 즉 2종류의 IGF receptors와 6종류의 IGF-binding proteins (IGFBPs)으로 구성되어 있다. IGF-I과 IGF-II는 인슐린과 구조적으로나 기능적으로 밀접한 유사성을 갖는 polypeptide로서 주로 간과 콩팥에서 합성되며, 심근세포를 포함한 많은 세포의 성장과 발달에 관여하고 이들의 작용은 세포막에 있는 각각의 수용체에 의해서 매개되어, 6가지의 IGFBPs에 의해 조절되는 것으로 알려져 있다 (Baxter 1994, Delafontaine 1995, Jones와 Clemmons 1995, Colao 2008).

IGFs/IGFBPs system은 특히 심장, 간 및 콩팥의 성장 기능 및 발달에 관여하며 이들 장기중 심근세포, 간세포 및 콩팥 토리쪽세관세포는 IGF-I, IGF-II, IGF-I 수용체, IGF-II 수용체 및 IGFBPs를 발현시켜 세포의 기능에 관여한다고 한다. IGFBPs는 대략 6가지 종류가 있으며 이들 중 IGFBP-3는 혈중에 존재하는 주요 단백질로서 대

\*이 논문은 2009년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임 (No. 2009-0074581).

교신저자: 김인식 (전북대학교 수의과대학 해부학교실)  
전자우편: iskim@chonbuk.ac.kr

부분 IGFs와 85 kDa acid labile subunit (ALS)이 결합된 150 kDa 복합체 형태로 존재하고 일부는 분자량이 작은 IGFBP-1, IGFBP-2 및 IGFBP-4와 결합하여 50 kDa 복합체 형태를 이루어 순환 혈액내 IGFs의 활성을 조절하며, IGFBP-I은 심근세포의 기능을 활성화 시키는 기능을 가지고 있다(Elgin 등 1987, Baxter 1994, Jones와 Clemmons 1995, Dean 등 1999, Matthews 등 1999).

심근경색과 IGF system의 관련성은 사람에서 급성심근경색으로 응급실에 내원한 환자를 대상으로 관찰한 결과 혈청내 IGF-I 및 IGF-II 농도의 변화가 많은 차이를 나타내었다는 보고에서 찾을 수 있다(Ren 등 1999, Conti 등 2001, Yamaguchi 등 2008). IGF-I은 사람 및 동물에서 정상 및 심근경색시 심장기능개선에 일부 작용을 하여(Ren 등 1999, Kotlyar 등 2001), 심장마비와 같은 심혈관 질환의 대체 후보 약물로 언급되고 있다(Friberg 등 2000, Siminiak와 Kurpysz 2003). IGF-II는 insulin receptor와 IGFBP-5를 경유하여 IGF-II mRNA를 4~5배 과발현시켜 심장 보호 효과를 나타냄으로써 심근경색을 지연시키는 효과가 있다(Kluge 등 1997, Vogt 등 1997, Kotlyar 등 2001). 최근에는 IGF-I 수용체 길항제를 처리하였을 때 심근경색 쥐에서 경색의 크기가 감소하는 것으로 역시 보고 되어 있어 수용체도 일부 작용을 하고 있음을 시사해주고 있다(Ren 등 1999).

이처럼 최근에 심근경색에 연구에 IGF system이 관련되는 연구가 집중되는 이유 중의 하나는 그만큼 심근경색시에 중요한 성장인자로 작용하고 있다는 것이다. 그러나 심근경색 상황에서 사람에서는 적용의 한계가 있기 때문에 심근경색에서 IGF system에 대한 시간 경과에 따른 광범위한 연구는 이루어지지 않고 있다. 그러므로 IGF system 변화가 심근경색의 진행에 있어서 어떻게 관여하는지에 대한 연구가 필요한 시점에 이르렀다. 따라서 흰쥐를 대상으로 일정한 부위의 심장동맥을 결찰하여 임상과 유사한 실험동물 모델을 확립하고 심근경색시 시간경과에 따른 IGF system의 변동을 관찰하여 갈수록 심각해지고 있는 심근경색질환의 차세대진단, 예방 및 치료법 개발에 대한 기초 자료를 제공하기 위하여 본 연구를 수행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험동물

이 연구는 전북대학교 실험동물 윤리위원회의 승인을 거쳐 실험을 진행하였다. 한일실험동물센터(Hanil

Animal Laboratory Co, Jeonju)에서 60일령의 수컷 흰쥐(Sprague-Dawley rats)를 구입하여 사료와 물을 자유급식시키는 조건으로 사육하면서 실험에 사용하였다.

### 2. 심근경색 모델과 수술처치

구입한 실험동물은 원내림심장동맥(left decending coronary artery)을 결찰하여 심근경색을 인위적으로 유발하였다(Pfeffer와 Braunwald 1990, Pfeffer 등 1991, Ahn과 Kim 2007). 요약하면, 마취 20분전에 atropine (0.05 mg/kg)을 피부밑주사한 뒤 펜토바비탈(70 mg/kg, BW)을 배안에 주사하여 마취하였다. 마취된 흰쥐를 높고 기관에 삽관을 하고 인공호흡기(rodent ventilator, model 683, Havard)를 연결하여 호흡을 유지시켰다. 윈넷째갈비뼈사이를 개흉하여 심장을 노출시키고 심장막을 열어 심장의 원심방귀, 심실, 동맥원뿔이 뚜렷이 관찰되도록 노출시킨 다음 동맥원뿔과 원심방귀 사이에 주행하는 원뿔결심실사이가지(paraconal interventricular branch) 위치를 찾아 curved needle과 7~10 polypropylene을 이용하여 완전히 결찰하였다. 결찰부위 아래쪽 원심실 색이 변하는 것을 확인하여 적절한 결찰이 되었는지 확인하였고 가슴벽과 피부를 각 층별로 봉합하고 소독을 하여 일정한 시간이 지난 후에(1, 3, 7, 14 및 30 일, n=13마리/group) 실험동물을 희생시켜 실험에 사용하였다. 심근경색에 대한 sham 대조군(n=13마리)은 개흉을 하고 심장막을 열어 심장을 노출시키고 가슴을 닫은 후 30일령에 희생시켰다.

### 3. 시료 채취와 심근경색의 크기 측정

대조군과 각 실험군(n=13마리/group)의 동물에 8% chloral hydrate solution (4 mL/100 g BW)을 배안에 주사하여 마취한 다음 뒤대정맥에서 혈액을 채취하여 혈청을 분리하고, 심장 조직내 IGF-1과 IGF-II의 농도를 측정하기 위하여 심장조직을 채취한 다음 혈청과 심장조직을  $-70^{\circ}\text{C}$ 에 보관하여 실험에 사용하였다.

심근경색의 크기를 측정하기 위하여 수술 후 1일 및 3일에는 planimetry (면적구획법)법을 적용하였다. 심장을 PBS와 Evans blue를 연속하여 주입한 다음 5분 후 적출한 심장을 2 mm 간격으로 가로 절단하여 1% TTC에  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 10분간 반응시켰다. PBS에 세척한 이후 윈심실 단면 별로 해부현미경(Leica, Germany)을 사용하여 사진촬영한 다음 윈심실 벽의 면적 대비 경색부위 면적의 비율을 합산하고 평균을 구하였다(Pfeffer 등 1979, Pfeffer와 Braunwald 1990, Ahn 등 2003). 수술 후

5일부터 30일령까지는 심장을 10% neutral buffered formalin에 고정된 후 파라핀에 포매하고 rotary microtome (Shandon, England)을 사용하여 6 $\mu$ m 두께의 절편을 제작하여 H-E 염색을 실시하고 image analyzer system (Leica Q 500MC, Germany)을 이용하여 심실 바깥둘레와 안쪽둘레 대비 경색부위 길이의 비를 합산하고 평균을 구하는 perimetry (둘레구획법)를 적용하여 각각 실험군의 심근경색의 크기를 측정하였다(Pfeffer 등 1979, Pfeffer와 Braunwald 1990, Ahn 등 2003).

#### 4. IGFs (IGF-I과 II)의 방사면역측정

##### 1) 시료의 전 처리

시료중 IGFs는 대부분 IGF-BPs와 결합된 형태로 존재하므로 IGF-BPs로부터 IGFs를 분리하기 위하여 acid-ethanol extraction (Daughaday와 Rotwein 1989)과 formic acid extraction (Berfield 등 1997)방법에 의하여 분리하였다. IGF-I의 분리는 혈청 200  $\mu$ L에 acid-ethanol (2 M HCL : ethanol=1 : 7) 800  $\mu$ L를 첨가하여 혼합한 다음 실온에서 30분간 방치하여 유리형과 결합형을 분리시켰다. 그 후 3,000 rpm, 4°C에서 30분간 원심분리하여 유리 IGF-I를 함유하는 상층액 500  $\mu$ L에 0.855 M trizma base를 200  $\mu$ L 넣어 분석에 사용하였다. 대조군의 심근 조직과 각각 실험군 심근경색 유발부위 심장조직 0.25 g에 1% trifluoroacetic acid (TFA) 2 mL를 넣고 균질마쇄기 (Polytron)로 마쇄하고 원심분리하여 상층액을 취한 다음 acid-ethanol 추출법으로 IGF-BPs로부터 IGF-I을 분리하여 농도를 측정하였다.

IGF-II의 분리는 혈청 50  $\mu$ L에 0.5% Tween 20을 함유하는 8.0 M formic acid 100  $\mu$ L를 넣어 혼합하고 350  $\mu$ L의 아세톤을 첨가하였다. 그 후 3,500 $\times$ g에서 15분간 4°C에서 원심분리하여 상층액 200  $\mu$ L에 1.75 M trizma base 85.7  $\mu$ L를 넣어 분석에 사용하였다. 대조군의 심장 조직과 각각 실험군 심근경색 유발부위 심장조직 0.25 g을 1% TFA 2 mL에 넣어 균질마쇄기로 마쇄하고 원심분리하여 상층액을 취한 다음 formic acid-acetone 추출법으로 IGF-BPs로부터 IGF-II를 분리하여 농도를 측정하였다.

##### 2) IGFs추적자 제조

Chloramin-T (Lee와 Henricks 1990)방법을 약간 변형시켜 제조하였다. IGFs 추적자는 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 7.4) 10  $\mu$ L에 recombinant human IGFs (Calbiochem, CA, USA) 1  $\mu$ g을 첨가한 후 [<sup>125</sup>I] (Amersham Life

Science, ILL, USA) 1 mCi를 첨가하고 0.04 mg/mL의 chloramin-T 10  $\mu$ L를 넣어서 신속히 교반한 후 IGFs 추적자를 분리하였다. IGF-I 추적자 [<sup>125</sup>I]IGF-I의 분리는 cellulose CF-11 column (Bio-Rad, CA, USA)에 혼합물을 가한 다음 20.6 mg/mL barbital buffer로 column을 세척하였다. 그 후 12% bovine serum albumin (BSA) 용액으로 용출시켜 분획 수집기(20 drops)로 받아서 gamma counter (Packard, ILL, USA)로 cpm을 측정하고 방사능이 3 $\times$ 10<sup>6</sup> cpm이 되도록 각각 분주하여 -70°C에 냉동보관하였다.

##### 3) IGF system 방사면역 측정

IGFs의 농도측정은 [<sup>125</sup>I]-IGFs에 polyclonal anti-IGFs를 사용한 방사면역 측정법 (radioimmunoassay, RIA)을 이용하였다. IGF-I의 측정 RIA 완충액은 0.5% BSA, 0.12 M NaCl, 0.1% sodium azide를 함유한 0.04 M sodium phosphate buffer (pH 7.4)를 사용하였다. IGF-I 표준액과 시료에 1,000배 희석시킨 polyclonal anti-IGF-I (Santa Cruz Biotechnology, CA, USA) 50  $\mu$ L를 첨가하여 실온에서 1시간 반응시키고 각각의 시험관에 [<sup>125</sup>I]-IGFs (20,000 cpm/100  $\mu$ L)를 첨가하여 4°C에서 18시간 동안 반응시켰다. 그 후 말 혈청 (Sigma) 50  $\mu$ L와 12% polyethylene glycol #8,000 (PEG) 1 mL를 첨가하여 3,000 rpm에서 30분간 원심분리시켜 결합형과 비결합형을 분리시켰고 결합형의 방사능을 gamma counter (Packard, ILL, USA)로 측정하였다. 혈청내 IGF-BP-1과 IGF-BP-3는 IRMA kits를 구입하여 사용하였다 (Diagnostic Systems Laboratories, USA).

#### 5. 통계처리

본 실험에서 얻어진 자료는 mean $\pm$ SEM으로 표시하였고 통계학적 유의성은 SAS package의 General Linear Model (GLM) Procedure (SAS Ver. 6.12, SAS Institute, 1998)를 ANOVA로 통계처리 후 유의성은 Duncan's multiple range test에 의하여 검정하였으며 P<0.05 이하의 유의성을 통계학적 차이로 인정하였다.

## 결 과

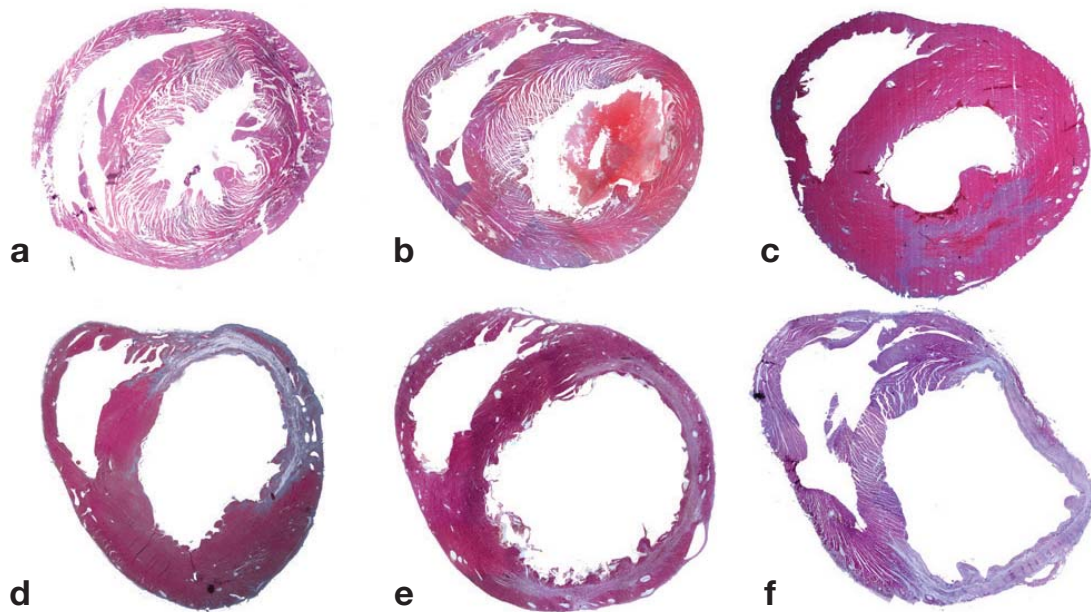
### 1. 몸무게와 심장무게의 변화

수술 후 30일령에 희생시켜 측정된 대조군의 몸무게는 345 $\pm$ 9 g이었고 전 실험군에서 대조군과 차이를 보

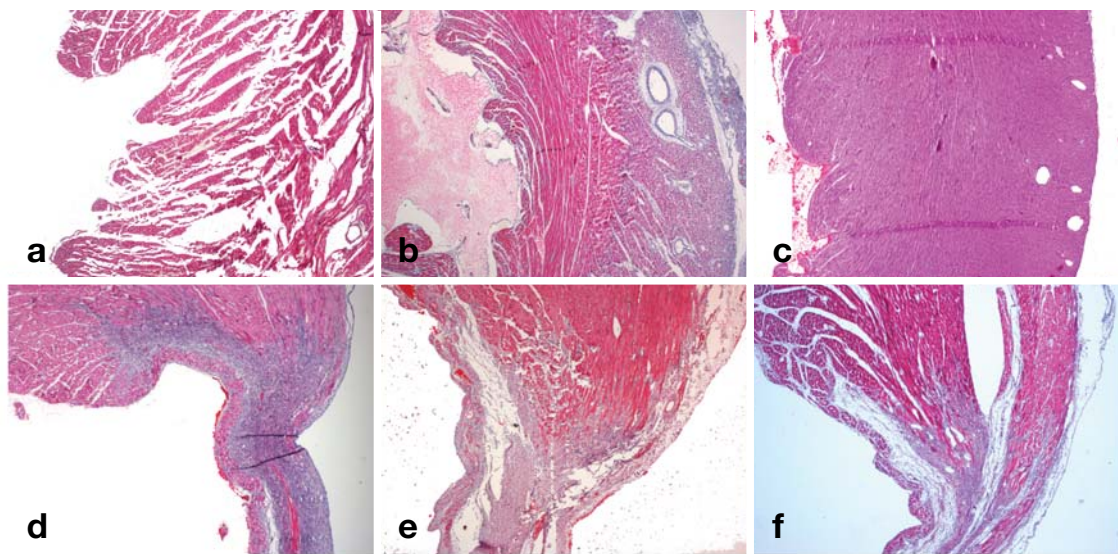
**Table 1.** Time course of body weight and heart weight after coronary artery or sham ligations

	Sham	Days				
		1	3	7	14	30
Body weight (g)	345±9	298±6	316±9	325±8	337±8	373±7
Heart weight (g)	1.12±0.03	1.0±0.17	1.13±0.02	1.14±0.04	1.3±0.03*	1.4±0.05*

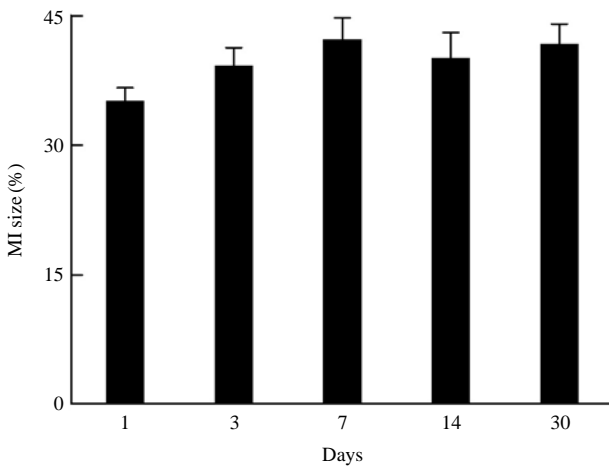
Values are means ± SEM. Significantly different from sham: \* $P < 0.05$ .



**Fig. 1.** Representative light micrographs of sham-operated rats (a) and myocardial infarct rats at different time points from 1 day (b), 3 days (c), 7 days (d), 14 days (e) and 30 days (f). All figures were of the same magnification ( $\times 25$ ). H-E stain.



**Fig. 2.** Representative light micrographs of sham-operated rats (a) and myocardial infarct rats at different time points from 1 day (b), 3 days (c), 7 days (d), 14 days (e) and 30 days (f). All figures were of the same magnification ( $\times 50$ ). H-E stain.



**Fig. 3.** Mean myocardial infarct (MI) size (%) in rats at various time intervals postinfarction. Values are means  $\pm$  SEM.

이지 않았다. 심장 무게는 대조군과 비교하여 심근경색 유발 후 1, 3 및 7일에는 차이를 보이지 않았으나 14일과 30일에 대조군에 비하여 유의성 있게 증가하였다 (Table 1).

2. 심근경색의 크기

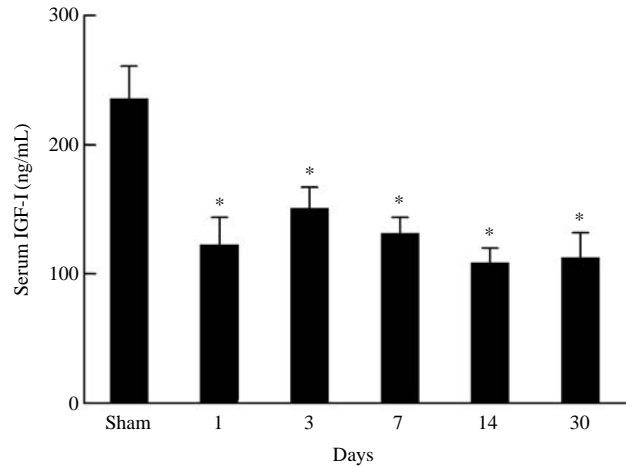
원내림심장동맥 결찰 후 1일에 원심실의  $35.2 \pm 1.4\%$ 가 경색이 유발되었고 3, 7, 14 및 30일 후에 각각  $39.2 \pm 2.1\%$ ,  $42.3 \pm 2.4\%$ ,  $40.1 \pm 2.9\%$  및  $41.8 \pm 2.2\%$ 로 시간 경과에 따른 심근경색 크기의 차이는 관찰되지 않았다 (Figs. 1~3).

3. 혈청내 IGF-I 농도의 변화

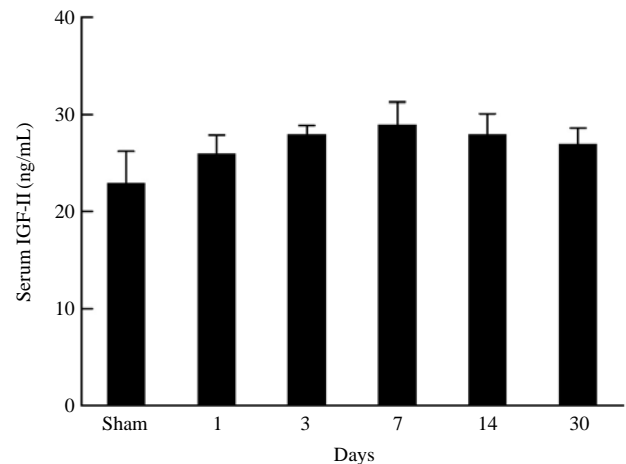
흰쥐에서 심근경색 유발 후 1, 3, 7, 14 및 30일 후에 혈청내 IGF-I 농도의 변동을 관찰한 결과 sham 대조군에서  $236 \pm 25$  ng/mL이었다. 심근경색 유발 후 1일 ( $123 \pm 21$  ng/mL), 3일 ( $151 \pm 16$  ng/mL), 7일 ( $132 \pm 12$  ng/mL), 14 ( $109 \pm 11$  ng/mL) 및 30일에  $113 \pm 19$  ng/mL로 대조군에 비하여 전 실험 군에서 유의성 있게 감소하였다 (Fig. 4).

4. 혈청내 IGF-II 농도의 변화

원심장동맥을 결찰하여 심근경색을 유발시키고 혈청내 IGF-II 농도의 변동을 관찰한 결과 1, 7 및 30일령에 각각  $26 \pm 1.8$  ng/mL,  $29 \pm 1.9$  ng/mL,  $27 \pm 1.6$  ng/mL로 sham 대조군과 비교하여 볼 때 증가하는 경향을 보여 주었으나 전 실험군에서 유의성이 관찰되지 않았



**Fig. 4.** Serum IGF-I levels (ng/mL) at 30 day after sham ligation and at 1, 3, 7, 14, and 30 day after ligation of left anterior descending coronary artery. Values are means  $\pm$  SEM. Significantly different from sham: \* $P < 0.05$ .

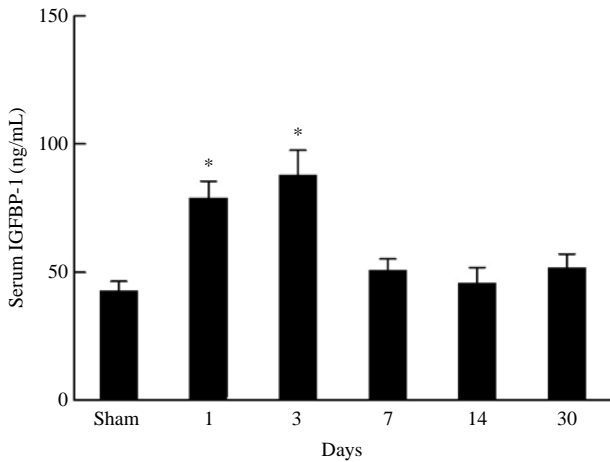


**Fig. 5.** Serum IGF-II levels (ng/mL) at 30 day after sham ligation and at 1, 3, 7, 14, and 30 day after ligation of left anterior descending coronary artery. Values are means  $\pm$  SEM. Significantly different from sham: \* $P < 0.05$ .

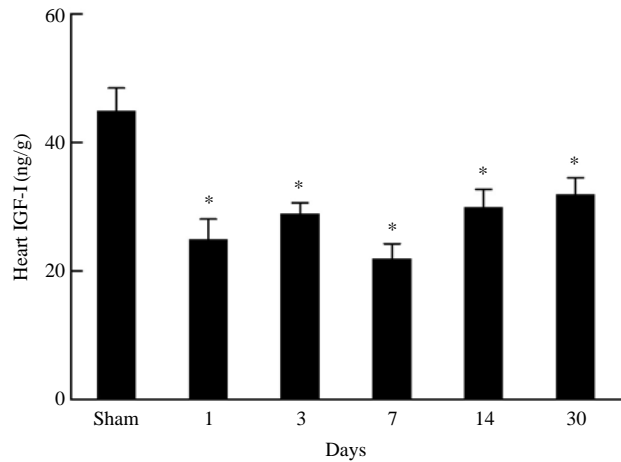
다 (Fig. 5).

5. 혈청내 IGFBP-1 농도의 변화

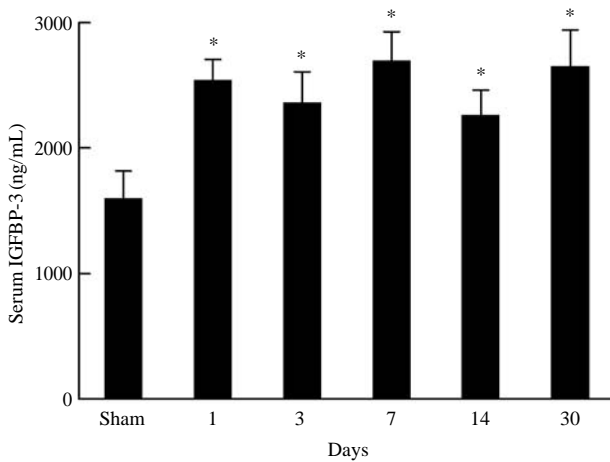
혈청내 IGFBP-1의 농도의 변화는 Fig. 5와 같이 sham 대조군에서  $40 \pm 3.5$  ng/mL으로 관찰되었다. 심근경색 후 초기인 1일령과 3일령에서 큰 폭으로 증가하여 대조군과 비교하여 유의성 있게 증가하였으나 ( $P < 0.05$ ), 후기에 접어들면서 감소하기 시작하여 7, 14 및 30일령에서는 대조군과 차이를 보이지 않았다 (Fig. 6).



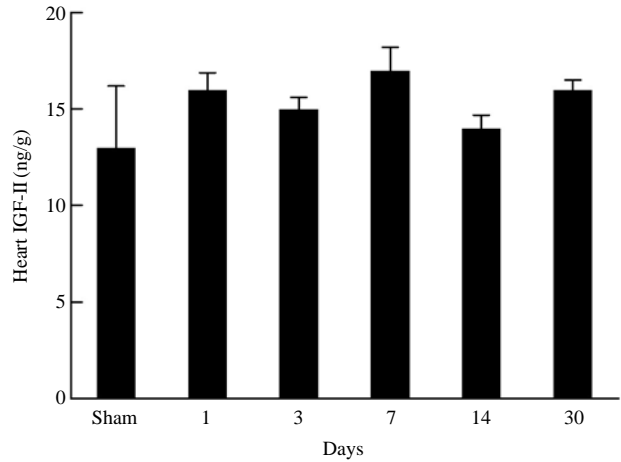
**Fig. 6.** Serum IGFBP-1 levels (ng/mL) at 30 day after sham ligation and at 1, 3, 7, 14, and 30 day after ligation of left anterior descending coronary artery. Values are means  $\pm$  SEM. Significantly different from sham: \* $P < 0.05$ .



**Fig. 8.** Heart IGF-I levels (ng/g) at 30 day after sham ligation and at 1, 3, 7, 14, and 30 day after ligation of left anterior descending coronary artery. Values are means  $\pm$  SEM. Significantly different from sham: \* $P < 0.05$ .



**Fig. 7.** Serum IGFBP-3 levels (ng/mL) at 30 day after sham ligation and at 1, 3, 7, 14, and 30 day after ligation of left anterior descending coronary artery. Values are means  $\pm$  SEM. Significantly different from sham: \* $P < 0.05$ .



**Fig. 9.** Heart IGF-II levels (ng/g) at 30 day after sham ligation and at 1, 3, 7, 14, and 30 day after ligation of left anterior descending coronary artery. Values are means  $\pm$  SEM. Significantly different from sham: \* $P < 0.05$ .

### 6. 혈청내 IGFBP-3 농도의 변화

혈청에서 IGFBP-3 농도를 측정된 결과 sham 대조군 (1,600  $\pm$  215 ng/mL), 1일 (2,545  $\pm$  161 ng/mL), 3일 (2,364  $\pm$  245 ng/mL), 7일 (2,698  $\pm$  230 ng/mL), 14일 (2,265  $\pm$  195 ng/mL) 및 30일에 2,655  $\pm$  287 ng/mL으로 관찰되었으며, 대조군에 비하여 전 실험군에서 유의성 있게 증가하였다(Fig. 7).

### 7. 심장조직의 IGF-I 농도의 변화

sham 대조군과 심근경색 실험동물 심장근에서 IGF-I

농도를 관찰한 결과 sham 대조군은 45  $\pm$  3.5 ng/g이었고 1, 3, 7, 14 및 30일령에 각각 25  $\pm$  3.1 ng/g, 29  $\pm$  1.6 ng/g, 22  $\pm$  2.3 ng/g, 30  $\pm$  2.8 ng/g 및 32  $\pm$  2.6 ng/g으로 심근경색 초기와 후기 모든 실험군에서 대조군에 비하여 명확하게 감소하였다(Fig. 8).

### 8. 심장조직의 IGF-II 농도의 변화

심장 조직내 IGF-II 농도는 sham 대조군에서 13  $\pm$  3.2 ng/g이었고, 1일 (16  $\pm$  0.9 ng/g), 3일 (15  $\pm$  0.6 ng/g), 7일 (17  $\pm$  1.2 ng/g), 14일 (14  $\pm$  0.7 ng/g)이었고 30일령에 16

$\pm 0.5$  ng/g으로 대조군과 비교하여 볼 때 전 실험군에서 유의성이 관찰되지 않았다(Fig. 9).

## 고 찰

흰쥐 심근경색 모델은 품종에 따라서 심근경색 유발 확률, 사망률 및 심근경색의 크기가 다양하며 (Anversa 등 1985, Hearse와 Sutherland 2000, Muders와 Elsner 2000, Nahrendorf 등 2003), 심근경색을 유도한 후 원심실의 경색이 30%보다 작은 경우를 작은 심근경색, 30~40%를 중등도, 40% 이상인 경우를 큰 심근경색으로 분류한다. 주로 중간 크기의 심근경색이 실험에 사용되고 20% 이하인 경우에는 혈동력학적인 변화와 펌프기능에 변화가 있더라도 심근비대는 나타내지 않는다고 한다 (Pfeffer 등 1991). 본 연구에서도 심근경색을 유도하고자 수술을 시행할 때 동일한 부위의 원심장동맥을 결찰하고 일정한 시기별로 희생시켜 심근경색의 크기를 측정할 결과 그 크기가 다양하게 나타나 변동의 차이를 줄이기 위하여 심근경색의 크기가 35~43% 정도인 것만 실험군으로 사용하였다.

심근경색은 원심실의 비대, 기능이상과 팽창으로 인하여 원심실의 재구성이 이루어지는 것으로 알려져 있다 (Pfeffer와 Braunwald 1990, Pfeffer 등 1991, Liu 등 1997, Nahrendorf 등 2003). 본 실험에서는 원심실의 비대와 관련하여 심근경색 후 1, 3 및 7일에는 심장의 무게가 차이를 보이지 않았고 14일과 30일령에 증가하였는데, 이러한 증가의 원인은 주로 원심실의 비대로 인한 것으로 생각되며 본 실험에서 수행한 방법에 의하면 심근경색 후 14일부터 영향을 받지 않은 원심실 조직으로 인하여 원심실의 재구성이 활발하게 이루어지고 있음을 알 수 있었다.

IGF-I은 심혈관계통을 포함한 많은 기관과 조직에서 발현되는 성장 호르몬으로서 심근세포의 성장, 분화 및 기능을 조절하며 (Jones와 Clemmons 1995, Janssen 등 1998, Reeves 등 2000), 심근에서 IGF-I은 심근경색으로 살아남은 심근세포의 apoptosis로부터 보호 작용을 한다고 알려져 있다 (Lee 등 1999, Ren 등 1999). 이와 같이 심근경색에서 IGF-I은 매우 중요한 역할을 한다고 알려져 있지만 주로 심근경색 후 짧은 시간에 연구를 수행하였고 심근경색 일정시기에 따른 혈청과 심근조직에서의 변화에 관한 연구보고는 희소하다. 따라서 본 연구에서 심근경색을 유발하여 일정한 시기별로 혈청과 심근내 IGF 계통 농도의 변동을 규명한 보고는 매우 가치

있는 것으로 생각된다.

사람에서 급성 심근경색시 시간 경과에 따라 혈청내 IGF-I의 농도는 명확하게 감소한다는 보고 (Conti 등 2001)와 증가한다는 보고 (Lee 등 1999)가 있어 견해 차이를 보이고 있는데 흰쥐를 이용한 본 연구에서는 심근경색 후 1일부터 30일까지 전 실험군에서 감소하여 급성 및 만성 심근경색은 혈청과 심근 조직내 IGF-I의 농도를 명확하게 감소시키는 것을 입증하였으나 급성 심근경색시 IGF-I의 농도 변동을 더욱 더 명확하게 구명하기 위해서는 심근경색 실험동물 모델을 대상으로 일정한 시간대별로 실험을 진행하여 알아보는 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

한편, 나이가 들어감에 따라서 혈중내 IGF-I의 감소는 심부전을 포함한 심혈관계통 질환 증가에 어느 정도 관여하는 것으로 알려져 있고 (Janssen 등 1998, Reeves 등 2000), 심근경색 모델을 활용하여 짧은 시간 동안 IGF-I을 관찰한 결과 IGF-I 농도가 높게 관찰되면 심부전 위험요인이 감소가 되고 (Dean 등 1999), 사람에서 IGF-I의 농도는 급성심근경색 후 초기 예후를 판단하는데 유용될 수 있다 (Jones와 Clemmons 1995, Conti 등 2001, Bondanelli 등 2006, Yamaguchi 등 2008). 본 연구에서 IGF-I은 심근경색 후 심실재형성 기간 동안 명확하게 감소함을 알 수 있었고 이러한 결과는 적정 농도의 IGF-I을 유지한다면 심근경색 후 일어나는 심부전의 위험을 줄일 수 있는 가설설정을 가능케 해주고 이와 관련하여 IGF-I을 주사하여 그 결과를 관찰할 필요가 있으며, IGF-I은 전 실험기간에 걸쳐 증가하기 때문에 심장지표와 더불어 이러한 호르몬을 동시에 측정하면 심근경색의 임상진단에 있어서 진단정확성을 높일 수 있을 것으로 생각된다. 즉, 혈액내 IGF-I의 측정은 심근경색 생체표지인자 (biochemical marker)와 급성과 만성 심근경색의 예후를 판단하는데 응용할 수 있는 가능성을 제시해주고 있다.

IGF-I은 성숙 동물의 세포기능을 조절하는 반면에 IGF-II는 배자 발생 기간 동안 심근의 발달 및 심근의 비대성반응에 있어서 중요한 역할을 담당하고 있으며 (Daughaday와 Rotwein 1989, Jones와 Clemmons 1995, Kluge 등 1997), 심근의 수축력과 관련 있는 단백질인 actin, myosin과 같은 단백질의 발현을 유도하고 혈중 IGF-II 농도는 원심실의 부피와 밀접한 연관성이 있고 IGFs는 세포재구성 (cell remodeling)과 치유과정에 영향이 있다 (Delafontaine 1995, Heemskerk 등 1999). 최근에 돼지의 심근에서 허혈 및 재관류시 IGF-II의 mRNA가 과발현되어 심장을 보호하는 효과가 있음이 보고되었으

나 많은 논란이 되고 있다(Kotlyar 등 2001). 본 실험에서는 혈청과 심근내 IGF-II는 변화가 없고 심근내 IGF-I의 농도는 큰 폭으로 감소하였는데 이는 심근경색 후 원심실의 재구성에 IGF-I이 필요한 기능에 동원되어 감소한 것으로 판단된다. 따라서 IGF-II보다 IGF-I이 심근경색 후 일어나는 원심실의 다양한 변화의 과정에 있어 여러 가지 기능을 수행하는 것을 알 수 있었지만 IGF-II는 심근경색 초기에 심근을 보호하는 효과가 있다(Kluge 등 1997, Kotlyar 등 2001)는 보고와 차이를 보이고 있고 흥미롭게도 본 연구에서는 혈청내 IGFBP-1이 심근경색 초기에만 증가를 보여 Lee 등(1999)의 보고와 유사한 경향을 나타내주고 있어 선행 보고와 본 연구의 차이점과 더불어 심근경색 동물모델에서 IGF-II와 IGFBP-1과의 상호관계를 확인하기 위해서는 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

IGFs는 거의 대부분 IGF binding proteins (IGFBPs)과 결합한 상태로 존재하기 때문에 IGFBPs는 IGFs의 반감기를 연장시키고, 작용부위로 운반을 하는 등 생물학적 활성을 조절하는 것으로 알려져 있으며, 현재까지 6개의 IGFBPs가 보고되어 순환하는 혈액내에 IGFBP-3가 가장 많이 분포하고 있고 비교적 안정적이고 변동이 적은 반면에 IGFBP-1은 변동이 많고 IGF-I의 농도를 증가시키는 원인이 될 수 있다(Elgin 등 1987, Baxter 1994, Delafontaine 1995, Jones와 Clemmons 1995). 본 연구에서 IGF-I은 감소하였으나 IGFBP-3는 전 실험군에서 증가를 보여주었다. 이는 IGFBP-3의 증가로 인하여 IGF-I과 결합하는 양이 증가하여 IGF-I의 농도가 감소하는 한 원인으로 생각되며, IGFBP-1은 심근경색 초기인 1일과 3일에 큰 폭으로 증가한 후 변화를 보이지 않았는데 증가의 원인은 명확하지 않지만 심근경색 초기에 IGFBP-1은 IGF-I과 결합하지 않고 별도의 기능을 수행하는 가능성이 있음을 시사해 주고 있다. 또한 본 실험에서 mRNA나 단백질 발현의 변화를 관찰하지 않았기 때문에 IGFBPs가 어떻게 IGF-I의 작용을 저해 또는 자극하는 지에 관하여는 정확하게 설명할 수 없지만 IGFBPs는 IGF-I의 작용을 조절하기 때문에 심근경색 상황에서도 IGFBPs는 IGF-I의 작용을 조절하는 것으로 생각된다.

본 연구결과를 요약하면, 흰쥐에서 심근경색 유발 후 일정시간에 따른 IGF system의 변동을 관찰한 결과 혈청과 심근내 IGF-I의 농도는 명확하게 감소하였으나 IGF-II의 농도는 혈청과 심근내에서 변화가 없었고, 혈청내 IGFBP-1은 심근경색 초기에 증가하였으며, 혈청내 IGFBP-3의 농도는 전 기간에서 큰 폭으로 증가하였다.

이러한 결과는 IGF system은 심근경색 후 일어나는 여러 가지 심근의 반응에서 중요한 작용이 있음을 알 수 있었고 심근경색의 임상 진단에 적용할 수 있는 가능성을 제시해주고 있다.

## 참 고 문 헌

- Ahn DC, Cheng L, Moon C, Spurgeon H, Lakatta EG, Talan MI : Induction of myocardial infarcts of a predictable size and location by branch pattern probability-assisted coronary ligation in C57BL/6 mice. *Am J Physiol* 286: 1201-1207, 2003.
- Ahn DC, Kim IS : An anatomical study on the branching patterns of left coronary artery in the rats. *Korean J Vet Res* 47: 7-17, 2007.
- Anversa P, Beghi C, Kikkawa Y, Olivetti G : Myocardial response to infarction in the rat. *Am J Pathol* 118: 484-492, 1985.
- Baxter RC : Insulin-like growth factor binding proteins in the human circulation: a review. *Horm Res* 42: 140-144, 1994.
- Berfield AK, Spicer D, Abrass CK : Insulin-like growth factor I (IGF-I) induces unique effects in the cytoskeleton of cultured rat glomerular mesangial cells. *J Histochem Cytochem* 45: 583-593, 1997.
- Bondanelli M, Ambrosio MR, Onofri A, Bergozoni A, Lavezzi A, Zatelli MC, Valle D, Basaglia N, Uberti EC : Predictive value of circulating IGF-I levels in ischemic stroke outcome. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 3928-3934, 2006.
- Colao A : The GH-IGF-I axis and the cardiovascular system: clinical implications. *Clin Endocrinol* 69: 347-358, 2008.
- Conti E, Andreotti F, Sciahbasi A, Riccardi P, Maria G, Menini E, Ghirlanda G, Maseri A : Markedly reduced insulin-like growth factor-I in the acute phase of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 38: 26-32, 2001.
- Daughaday WH, Rotwein P : Insulin-like growth factors I and II. Peptide messenger ribonucleic acid and gene structure serum, and tissue concentrations. *Endocr Rev* 10: 68-91, 1989.
- Dean R, Edmonson SR, Burrell LM, Bach LA : Localization of the insulin-like growth factor system in a rat model of heart failure induced by myocardial infarction. *J Histochem Cytochem* 47: 649-659, 1999.
- Delafontaine P : Insulin-like growth factor I and its binding proteins in the cardiovascular system. *Cardiovas Res* 30: 825-834, 1995.
- Elgin RG, Busby Jr WH, Clemmons DR : An insulin-like

- growth factor binding protein enhances the biologic response to IGF-I. *Proc Natl Acad Sci* 84: 3254-3258, 1987.
- Friberg L, Werner S, Eggertsen G, Ahnve S : Growth hormone and insulin-like growth factor-I in acute myocardial infarction. *Eur Heart J* 21: 1547-1554, 2000.
- Hearse DJ, Sutherland FJ : Experimental models for the study of cardiovascular function and disease. *Pharmacol Res* 41: 597-603, 2000.
- Heemskerk VH, Daeman MA, Buurman WA : Insulin-like growth factor system and growth hormone in immunity and inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev* 10: 5-14, 1999.
- Janssen JAMJL, Stolk RP, Pols HAP, Grobbee DE, Lamberts SWJ : Serum total IGF-I, and IGFBP-1 levels in an elderly population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18: 277-282, 1998.
- Jones JJ, Clemmons DR : Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological actions. *Endocrinol Rev* 16: 3-34, 1995.
- Kluge A, Zimmermann R, Wehrauch D, Mohri M, Sack S, Schaper J, Schaper W : Coordinate expression of the insulin-like growth factor system after microembolisation in porcine heart. *Cardiovascular Res* 33: 324-331, 1997.
- Kotlyar AA, Vered Z, Goldberg I, Chouraqui P, Nas D, Fridman E, Chen-Levy Z, Fytlovich S, Sangiorgi G, Spagnoli, Orlandi A, Savion N, Eldar M, Scheinowitz M : Insulin-like growth factor I and II preserve myocardial structure in postinfarct swine. *Heart* 86: 693-700, 2001.
- Lee CY, Henricks DM : Comparisons of various acidic treatments of bovine serum on insulin-like growth factor-I immunoreactive and binding activity. *J Endocrinol* 127: 139-148, 1990.
- Lee WL, Chen JW, Ting CT, Lin SJ, Wang PH : Changes of the insulin-like growth factor I system during acute myocardial infarction: Implications on left ventricular remodeling. *J Clin Endocrinol Metab* 84: 1575-1581, 1999.
- Liu YH, Yang XP, Nass O, Sabbah HN, Peterson E, Carretero OA : Chronic heart failure induced by coronary artery ligation in Lewis inbred rats. *Am J Physiol* 272: 722-727, 1997.
- Matthews KG, Delvin GP, Conaglen JV, Stuart SP, Aitken WM, Bass JJ : Changes in IGFs in cardiac tissue following myocardial infarction. *J Endocrinol* 163: 433-445, 1999.
- Muders F, Elsner D : Animal models of chronic heart failure. *Pharmacol Res* 41: 606-612, 2000.
- Nahrendorf M, Hu K, Fraccarollo D, Hiller KH, Haase A, Bauer WR, Ertl G : Time course of right ventricular remodeling in rats with experimental myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284: H241-H248, 2003.
- Pfeffer JM, Pfeffer MA, Fletcher PJ, Braunwald E : Progressive ventricular remodeling in rat with myocardial infarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 29: H1406-H1414, 1991.
- Pfeffer MA, Braunwald E : Ventricular remodeling after myocardial infarction. *Circulation* 81: 1161-1172, 1990.
- Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, Braunwald E : Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res* 44(4): 503-512, 1979.
- Reeves I, Aribat T, Laramée P, Jasmin G, Brazeau P : Age-related serum levels of insulin-like growth factor-I, -II and IGF-binding protein-3 following myocardial infarction. *Growth Horm IGF Res* 10: 78-84, 2000.
- Ren J, Samson WK, Sowers JR : Insulin-like growth factor I as a cardiac hormone: physiological and pathophysiological implications in heart disease. *J Mol Cell Cardiol* 31: 2049-2061, 1999.
- Siminiak T, Kurpisz M : Myocardial replacement therapy. *Circulation* 108: 1167-1171, 2003.
- Vogt AM, Htun P, Kluge A, Zimmermann R, Schaper W : Insulin-like growth factor-II delays myocardial infarction in experimental coronary artery occlusion. *Cardiovas Res* 33: 469-477, 1997.
- Yamaguchi H, Komamura K, Choraku M, Hirono A, Takamori N, Tamura K, Akaike M, Azuma H : Impact of serum insulin-like growth factor-1 on early prognosis in acute myocardial infarction. *Inter Med* 47: 819-825, 2008.

# Regulation of IGF System in Rats after Experimental Myocardial Infarction

Hyun-Jin Tae, Dong-Choon Ahn, Byung-Yong Park, Jeong-Ha Sim<sup>1</sup>, In-Shik Kim

*Department of Veterinary Anatomy, College of Veterinary Medicine and Bio-Safety Research Institute, Chonbuk National University, Jeonju 561-756, Korea*

<sup>1</sup>*Department of Nursing, Jeju University, Jeonju 560-714, Korea*

---

**Abstract** : Insulin-like growth factor system (IGF system) has been reported to be associated with the variety of disorders of myocardial function. However, the effect of myocardial infarction (MI) on the IGF system has not been fully described. Thus, the present study was to investigate in more detail the changes of IGF system in the male rat following myocardial infarction (MI).

Ligation of the left coronary artery was performed in male Sprague-Dawley male rats at 60 days of age. Control rats were obtained sham-operated animals. MI rats were sacrificed at 1, 3, 7, 14, and 30 day after ligation of left anterior descending coronary artery. Control rats were sacrificed on 30 day after thoracotomy. Myocardial infarct size was assessed by planimetry and perimetry. Serum and heart concentrations of IGF-I and -II were determined by radioimmunoassay. Serum levels of IGF-binding protein (IGFBP)-1 and IGFBP-3 were analyzed with a two-site immunoradiometric assay.

Mean infarct size was 35.2~42.3% of the left ventricle after coronary occlusion in experimental groups. Serum levels of IGF-I were markedly reduced, but the levels of IGF-II were not altered in MI rats compared with sham-ligated controls. Serum IGFBP-I levels in MI rats were significantly increased at 1 and 3 day compared with sham rats. The levels of serum IGFBP-3 were significantly higher in the ligated rats. IGF-I levels of the infarct/peri-infarct area of the left ventricle were significantly decreased in rats with myocardial infarction, whereas the levels of IGF-II remained unchanged.

These results demonstrate that the IGF system is altered in the myocardial infarction and suggest that the IGF system plays an important role in the response of the heart to myocardial infarction.

---

**Keywords** : Myocardial infarction, IGF system, Rat