

고콜레스테롤혈증을 유발한 토끼의 대동맥 판막에서 β_3 Integrin 발현의 변화

박찬범* · 김영두* · 최미선** · 진 웅* · 문석환* · 김용한* · 김치경* · 조건현* · 권종범*

Altered Expression of β_3 Integrin on Sclerotic Aortic Valves in a Hypercholesterolemic Rabbit Model

Chan Beom Park, M.D.*, Young-Du Kim, M.D.*, Misun Choe, M.D.**, Ung Jin, M.D.*, Seok-Whan Moon, M.D.*, Yong Han Kim, M.D.*, Chi-Kyung Kim, M.D.*, Keon Hyon Jo, M.D.*, Jong-Bum Kweon, M.D.*

Background: Although aortic valve sclerosis causes no significant hemodynamic alterations, it is associated with an increased risk of cardiovascular death and myocardial infarction. However, the role of β_3 integrin in aortic valve sclerosis remains unclear. **Material and Method:** Twenty male New Zealand rabbits were divided into two groups. Group 1 rabbits (n=10) received a normal chow diet, while group 2 (n=10) rabbits received a diet containing 1% cholesterol for 12 weeks. After the rabbits were euthanized, their aortic valves and ascending aortas were excised for analysis. **Result:** Total serum cholesterol (2,148.3±1,012.5 mg/dL versus 53.7±31.8 mg/dL, p<0.05), triglyceride (240.4±218.3 mg/dL versus 31.6±6.4 mg/dL, p<0.05), and low density lipoprotein (LDL)-cholesterol (2,065.3±960.9 mg/dL versus 29.1±30.9 mg/dL, p<0.05) levels were significantly higher in the cholesterol diet group compared with the normal diet group. Myofibroblasts and macrophages were more highly expressed in the aortic valve leaflets of rabbits in the cholesterol diet group than of those in the normal diet group. A real-time polymerase chain reaction revealed decreased β_3 integrin mRNA levels in the hypercholesterolemic aortic valves and aortas. **Conclusion:** The present study shows that hypercholesterolemia induces aortic valve sclerosis. These findings suggest that alterations in β_3 integrin may play a role in the development of aortic valve sclerosis.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 2008;41:687-694)

- Key words:** 1. Aortic valve
2. Hypercholesterolemia
3. Atherosclerosis
4. Integrins

서 론

우리나라에서는 2000년에 65세 이상의 노령인구가 7.1%를 차지해 고령화 사회에 진입했으며, 2020년에는 65세 이상의 노인인구의 비율이 14%를 차지해 본격적인 고령

화 사회로 접어들 것으로 전망되고 있어 고령에서의 질환은 향후 건강재정의 중요한 문제점으로 대두되고 있다. 따라서 고령의 환자에서 점차로 늘어나고 있는, 과거에는 퇴행성 질환으로 알려졌던 대동맥 판막 질환의 적절한 치료와 예방은 매우 중요하다.

*가톨릭대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, College of Medicine, The Catholic University of Korea

**계명대학교 의과대학 동산의료원 병리학교실

Department of Pathology, Dongsan Medical Center, Keimyung University College of Medicine

†이 논문은 2008년 가톨릭중앙의료원 정의장학 학술연구비에 의하여 이루어졌음.

논문접수일 : 2008년 6월 11일, 심사통과일 : 2008년 7월 4일

책임저자 : 권종범 (301-723) 대전시 중구 대흥동 520-2, 대전성모병원 흉부외과

(Tel) 042-220-9114, (Fax) 042-220-9114, E-mail: jbkwon@catholic.ac.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

과거 퇴행성 병변으로 알려졌던 대동맥 판막의 경화(Aortic valve sclerosis)는 65세 이상의 인구의 약 25%, 75세 이상의 인구에서는 약 35%에서 발견되며[1,2], 이는 석회화 대동맥 판막 협착증(Calcific aortic valve stenosis)으로 진행되어 흉통이나, 호흡곤란, 실신과 같은 증상을 유발할 수도 있으며, 혈액학적으로 좌심실출구의 폐쇄가 없더라도 심혈관질환에 의한 사망이나 심근경색이 발생할 위험성이 50%정도 높은 것으로 알려져 있다[3].

이러한 대동맥 판막 질환의 원인은 주로 판막의 표면에 결합된 칼슘의 수동적 축적과 연관된 퇴행성 변성으로 알려져 왔으나, 최근의 연구들에서는 대동맥 판막의 석회화에서 골모세포(Osteoblast)의 발현, 세포의 증식, 죽상경화의 특징들이 발견되고 있으며[4-7] 또한, 대동맥 판막 질환의 위험인자에 관한 역학적 연구에 의하면, 고령, 남성, 흡연, 고혈압, 증가된 콜레스테롤 수치등으로 죽상경화의 위험인자와 유사하다는 것이 알려진 이후[1] 최근의 연구들은 혈관의 죽상동맥경화와 연관된 석회화를 동반한 대동맥 판막 질환의 기전에 관한 연구들이 진행되고 있다.

Integrin은 세포상호간의 작용을 연결하는데 중요한 역할을 하는 세포막의 수용체(cell surface adhesion receptor)로 기관발생(Organogenesis), 유전자 발현의 조절, 세포의 증식, 분화, 이동, 그리고 사망과 같은 다양한 기능들을 조절하는 역할을 한다[8,9]. 또한 Integrin은 동맥경화의 진행이나 경피적 관상동맥 중재술 후 재협착에 연관이 있는 것으로 알려져 있으나[10], 그 역할에 관하여는 잘 알려져 있지 않다.

따라서 본 연구에서는 고콜레스테롤 식이에 의해 유발된 대동맥 판막의 석회화 병변에서 아직까지 잘 알려지지 않은 Integrin의 발현에 관하여 알아보고자 한다.

대상 및 방법

1) 실험동물

본 실험은 가톨릭대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받았으며, 20마리의 뉴질랜드산 실험용 토끼들이(2.5~3.0 kg, 3~4개월령) 1주일간 정상식이(시행한 후 2군으로 나뉘었다. 1군(10마리)은 정상식이(Purina #5321 Rabbit Chow)(Dyets, Inc, Bethlehem, PA, USA)를 시행하였으며, 2군은 1% cholesterol을 포함한 콜레스테롤식이(Purina #5321 Rabbit Chow with 1% Cholesterol)(Dyets, Inc, Bethlehem)를 시행하였다. 12주의 식이기간 후 실험용 토끼들은 Xylazine hydrochloride (Rompun 2 mg/kg; Bayer, Leverkusen, Germany)

와 Tiletamine/Zolazepam (Zoletil 1.5 mg/kg; Virbac, Carros, France)의 근육주사를 통해 마취하였으며, 상행대동맥을 세로로 절개하여 약 1 cm 크기의 대동맥조직을 채취한 뒤 대동맥 판막을 절제하였다. 3엽의 판막중 1엽은 10% 포르말린에 고정시킨 후 파라핀에 파묻어 Hematoxylin and Eosin 염색과 면역조직화학염색을 준비하였으며, 나머지 판막은 RNA later solution (Ambion Inc., Austin, Tex, USA)에 담그어 하룻밤동안 냉장보관 하였으며, 다음날 상침액을 제거한 후 조직은 -80°C 에 보관하였다.

2) 혈액지질분석

해부전날 실험용 토끼의 말초혈액을 이정맥(ear vein)에서 채취하였으며, 실온 2,500 rpm에서 10분간 원심분리를 시행하여 혈장을 분리하였고, 상용화된 효소용 도구(Eiken, Japan)를 이용하여 총 콜레스테롤(total cholesterol), 중성지방(triglyceride), 저밀도-콜레스테롤(LDL-cholesterol), 고밀도-콜레스테롤(HDL-cholesterol) 수치를 측정하였다.

3) 면역조직화학염색

대동맥 판막에서 근육섬유모세포(α -actin), 대식세포(CD-68)의 발현을 확인하기 위하여 면역조직화학염색을 시행하였다.

채취한 대동맥 판막조직을 이용하여 5 μm 두께로 파라핀 절편을 만들었으며, 2% 3-aminopropyl-triethoxysilane으로 처리한 유리슬라이드에 부착시키고 xylene과 계열알코올(graded ethanol)을 사용하여 탈파라핀과 함수를 하였다. 내인성 과산화효소의 차단을 위하여 30% 과산화수소 1 mL에 메타놀 99 mL을 혼합하여 만든 용액에서 30분간 처리하고 0.1 M 인산염 완충용액으로 수세하였다. 조직항원이 잘 노출될 수 있도록 조직절편을 단백질분해효소인 0.4% 펩신으로 37°C에서 1시간 동안 방치시킨 후 0.1 M 인산염 완충용액으로 수세하였다. 일차항체인 1 : 1,000 anti-smooth muscle actin antibody (DAKO, Carpinteria, CA, USA) 및 anti-CD68 antibody (DAKO)를 사용하여 37°C에서 2시간 동안 반응시킨 후 인산염완충용액으로 수세하였다. Goat anti-mouse IgG 이차항체(Zymed Laboratories, San Francisco, CA, USA)를 사용하여 37°C에서 30분간 방치한 후 인산염 완충용액으로 수세하고, avidin-biotin 혼합용액(ABC Elite Kit, Vector, USA)으로 37°C에서 30분간 작용시켰다. Diaminobenzidine (3,3'-diaminobenzidine-tetrachloride; Sigma, St Louis, MO, USA)를 사용하여 10분간 실온에서 발색시킨 후 Mayer's hematoxylin으로 대조염색을 실시하고 광학현미경으로 관찰하였다.

Table 1. Sequences for primers of β_3 integrin

| Genes | Forward primer | Reverse primer | Size |
|--------------------|----------------------------|----------------------------|-------|
| β_3 integrin | TTA CCA CTG ATG CCA AGA CT | ATG TGA CAC TGC CCA TCG TT | 82 bp |

Table 2. Lipid profiles of the experimental groups

| | Cholesterol diet group | Normal diet group | p-value |
|---------------------------|------------------------|-------------------|---------|
| Total cholesterol (mg/dL) | 2,148.3±1,012.5 | 53.7±31.8 | 0.004 |
| LDL-cholesterol (mg/dL) | 2,065.3±960.9 | 29.1±30.9 | 0.003 |
| Triglyceride (mg/dL) | 240.4±218.3 | 31.6±6.4 | 0.041 |
| HDL-cholesterol (mg/dL) | 34.9±23.5 | 18.3±3.5 | 0.146 |

LDL=Low density lipoprotein; HDL=High density lipoprotein.

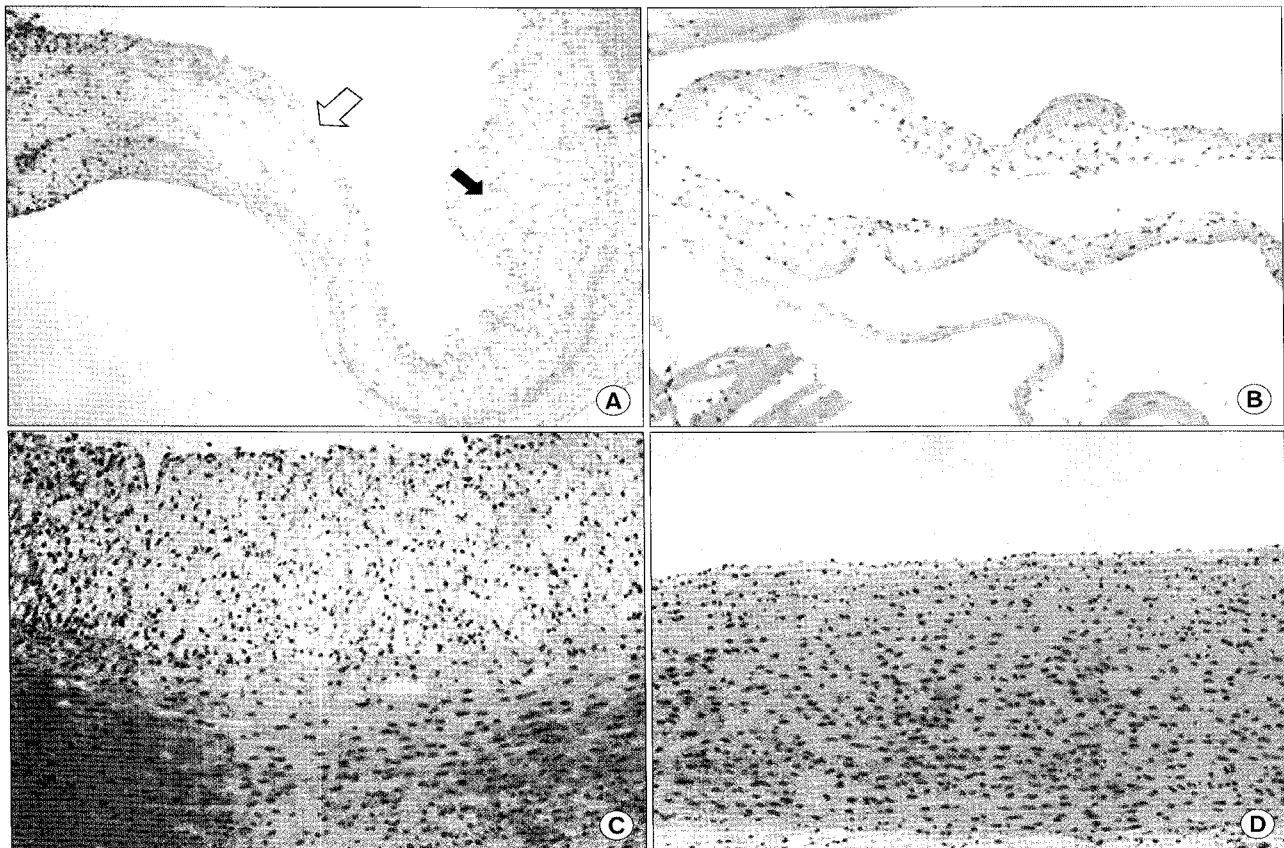


Fig. 1. H&E staining for the aortic valve and ascending aorta. Hematoxylin and eosin staining showed the presence of cellular infiltration and foam cells (black arrow) in the leaflet of cholesterol diet group. Those findings were prominent in the aortic side (white arrow) of the endothelium. Fatty streak was observed in the aorta of cholesterol diet group. (A) Aortic valve of cholesterol diet group. (B) Aortic valve of normal diet group. (C) Aorta of cholesterol diet group. (D) Aorta of normal diet group (Original magnification, $\times 100$).

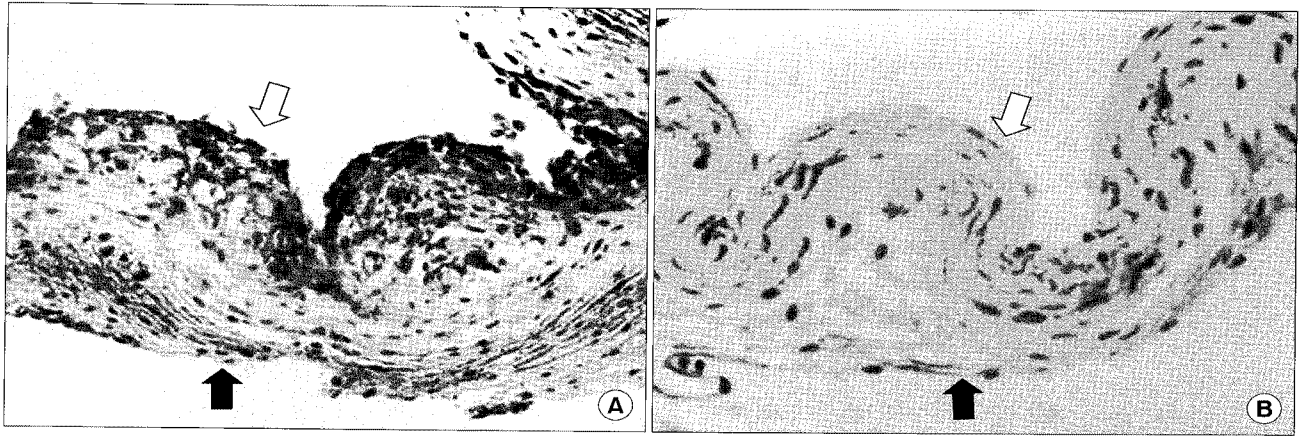


Fig. 2. Immunohistochemistry for myofibroblast. α -actin was highly expressed in the cholesterol diet group compared with the normal diet group. α -actin was detected in the aortic and ventricular sides of the endothelial layer of the aortic leaflets. The black arrow indicates the aortic side and the white arrow indicates the ventricular side of the endothelium. (A) Cholesterol diet group. (B) Normal diet group (Original magnification, $\times 400$).

4) Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) 분석

β_3 integrin (GenBank accession number. AF184591) 유전자에 대해서(Table 1) 정상식이군과 콜레스테롤식이군의 대동맥 및 대동맥판막에서 cDNA와 Probe를 이용하여 발현변이의 변화를 분석하기 위해 RT-PCR을 시행하였다. House keeping gene과 실험유전자는 콜레스테롤식이군의 cDNA를 control template로 하여 각각 1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625로 희석하여 표준곡선(standard curve)를 도출해내었고, 이를 이용하여 각각의 template의 변이에서 기인하는 증폭 양을 정상화(normalization)하였고, 또한 house keeping gene인 GAPDH을 이용하여 각 유전자의 기준으로 정하여 정량을 유도해내었고, 콜레스테롤 식이군에서의 각 유전자를 측정기로 정하여 상대적인 정량을 하였다.

5) 통계분석

SPSS 15.0 소프트웨어(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)를 이용하여 통계적 분석을 시행하였다. 모든 인자들은 평균 \pm 표준편차로 표시하였으며, 각군간의 차이는 Unpaired *t*-test를 이용하여 분석하였다. *p*-value가 0.05미만일 때 통계학적으로 의미있는 것으로 판단하였다.

결 과

1) 혈액지질분석

총 콜레스테롤 수치는 콜레스테롤식이군에서 정상식이

군보다 의미있게 증가하였으며($2,148.3 \pm 1,012.5$ mg/dL versus 53.7 ± 31.8 mg/dL, $p < 0.05$), 저밀도-콜레스테롤($2,065.3 \pm 960.9$ mg/dL versus 29.1 ± 30.9 mg/dL, $p < 0.05$)과 중성지방 (240.4 ± 218.3 mg/dL versus 31.6 ± 6.4 mg/dL, $p < 0.05$) 수치도 콜레스테롤식이군에서 의미있게 증가하였다(Table 2). 고밀도-콜레스테롤 수치(34.9 ± 23.5 mg/dL versus 18.3 ± 3.5 mg/dL, $p = 0.146$)는 양군에서 차이가 없었다.

2) Hematoxyline & Eosin 염색

콜레스테롤식이군의 대동맥 판막에서 판막의 두께는 약간 증가되어 있었으며 판막의 대동맥 부위의 내피세포에서 세포들의 침윤이 증가되어 있었으며(Fig. 1A, B), 증가된 세포들의 침윤부위에서는 거품세포(Foam cell)들이 관찰되었다. 콜레스테롤식이군의 상행대동맥 조직에서는 지방선(fatty streak)을 보이는 죽상경화병변이 관찰되었다(Fig. 1C, D).

3) 면역조직화학염색

근육섬유모세포(myofibroblast)를 나타내는 α -actin은 정상식이군보다 콜레스테롤식이군의 대동맥 판막에서 발현이 증가되었다. α -actin은 판막의 대동맥부위뿐만 아니라 좌심실부위의 내피세포에서도 발현 양성소견을 보였다(Fig. 2). 대식세포(macrophage)를 나타내는 CD-68의 발현도 α -actin과 유사한 양상을 보였다(Fig. 3).

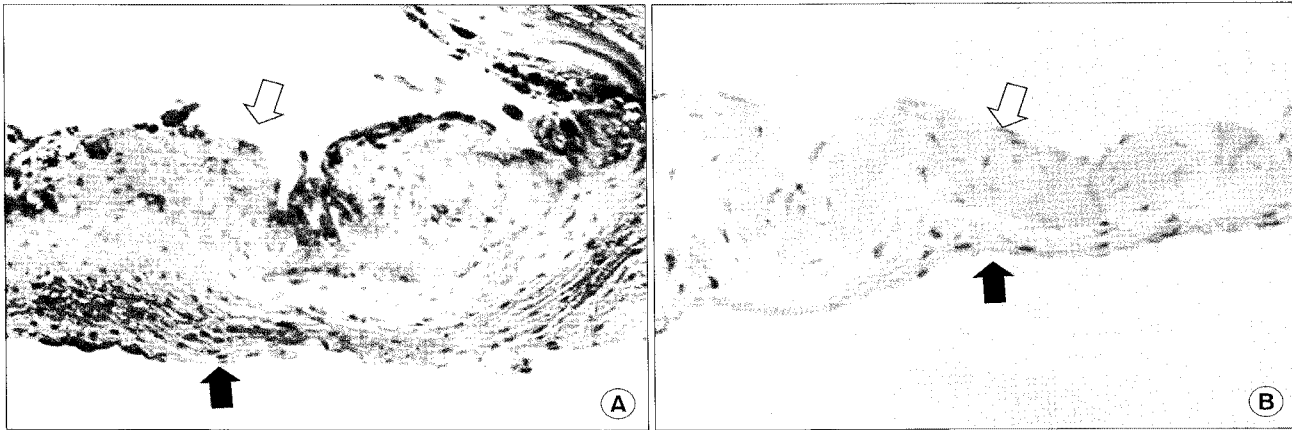


Fig. 3. Immunohistochemistry for macrophage. CD-68 was found in the aortic and ventricular sides of the endothelial layer of the aortic valves but that was more expressed in cholesterol diet group than normal diet group. The black arrow indicates the aortic side and the white arrow indicates the ventricular side of the endothelium. (A) Cholesterol diet group. (B) Normal diet group (Original magnification, $\times 400$).

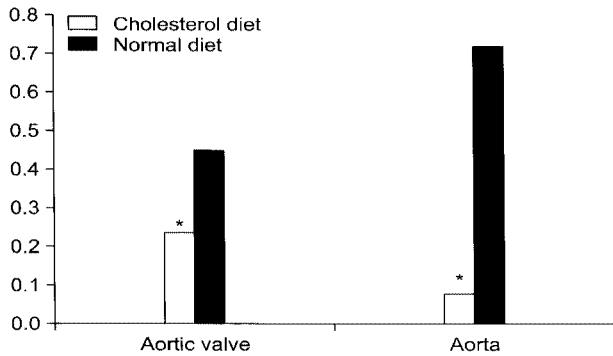


Fig. 4. Aortic valve and aorta gene expression of β_3 integrin mRNA. The expression of β_3 integrin gene of aortic valve and aorta was decreased in the cholesterol diet group. *Significance $p < 0.05$.

4) Real time PCR 분석

대동맥 판막과 대동맥에서 β_3 integrin mRNA의 상대적인 수치를 RT-PCR로 분석하였다. β_3 integrin의 mRNA는 대동맥 판막(0.24 ± 0.14 versus 0.45 ± 0.27 , $p < 0.05$)과 대동맥(0.08 ± 0.07 versus 0.72 ± 0.16 , $p < 0.05$) 모두 콜레스테롤 식이군에서 정상식이군보다 의미있게 감소되어 있었다(Fig. 4).

고 찰

과거에는 석회화 대동맥 판막 협착증의 원인은 판막에

칼슘이 수동적으로 침착되는 퇴행성 변성으로 여겨졌으나, 최근의 여러 연구들에 의하면 대동맥 판막질환은 염증반응, 산화작용, 혈관생성, 골모세포의 발현, 세포의 증식, 산화된 지질산물, 골형성 및 세포외 골기질 단백질의 증가와 같은 다양한 생물학적 과정들이 관여하는 능동적 과정으로 여겨지고 있으며, 죽상동맥경화의 한 부분이라는 관점에서의 연구가 진행되고 있다. 또한 레닌-엔지오텐신 시스템의 활성화나 골격계 골형성과 콜레스테롤 대사의 활성화에 관여하는 저밀도지질단백질 수용체 연관단백질 5 (LDL receptor-related protein 5, Lrp5)도 판막 질환과 연관이 있는 것으로 알려져 있으나, 세포학적 기전은 아직도 명확하지 않다.

본 연구에서는 죽상경화의 유발이 용이한 실험동물인 토끼를 이용하였으며, 상행대동맥의 H&E 염색에서 지방선(Fatty streak)을 보이는 죽상경화가 유발되었음을 확인할 수 있었다. 동시에 콜레스테롤식이군에서는 대동맥 판막의 두께가 증가되었으며, 내부에서는 거품세포(Foam cell)가 관찰되었으며, 면역조직화학염색상 두꺼워진 판막에서는 근육섬유모세포의 증식과 대식세포의 침윤이 관찰되었다. 이러한 판막의 특징들은 초기의 혈관 죽상경화 병변과 매우 유사하며, 대동맥 판막 경화증의 병변과도 거의 일치한다. 그러므로 본 연구에 의하면 고콜레스테롤 혈증이 대동맥 판막 질환을 일으킬 수 있음을 나타내며 이러한 대동맥 판막의 병변은 죽상경화와 유사한 능동적 과정을 거친다는 것을 알 수 있다.

Integrin은 α (120~180 kDa)와 β (90~110 kDa) 소단위(subunit)로 구성된 Heterodimeric 경세포막(transmembrane) 수용체로 포유동물에서는 18가지 이상의 α 소단위와 8가지 이상의 β 소단위가 알려져 있으며, α 와 β 소단위의 다양한 조합이 Integrin의 다양한 기능적 역할을 나타낸다. Integrin은 세포와 세포간(cell-cell), 세포와 세포외 간질간(cell-extracellular matrix) 그리고, 세포와 세포골격(Cytoskeleton) 사이를 연결하는 역할을 하는데, 이러한 세포안팎의 상호작용을 통해 기관발생, 유전자 발현의 조절, 세포의 증식과, 분화, 이동, 죽음과 같은 다양한 기능들을 조율한다. Integrin은 혈관, 혈액, 심근세포, 비근육성 심장세포등의 심혈관계의 모든 세포성분에서 발현되는데[8], 성인의 심장에서 Integrin은 세포의 환경에 따라 선택적으로 발현하게 되며, 이러한 Integrin의 변화에 의한 세포의 적응성의 변화는 발달(development)이나 질병상태에 따라서 세포의 기능에 매우 중요한 역할을 하게 된다. 인간의 정상 대동맥 판막에서는 α_2 , α_3 소단위와 β_1 , β_4 소단위가 발현된다고 알려져 있으나[11], 대동맥 판막질환에서 Integrin의 역할에 관하여는 잘 알려져 있지 않다.

β_3 integrin은 α IIb β_3 와 $\alpha v\beta_3$ 두가지의 integrin을 구성한다. α IIb β_3 는 혈소판이나 거대핵세포(megakaryocyte)에서 발현되며, 혈전형성에 관여하는 것으로 알려져 있으며, $\alpha v\beta_3$ 는 혈관이나 염증세포에서 발현되는 것으로 알려져 있다. $\alpha v\beta_3$ Integrin은 인간의 죽상경화병변의 평활근세포나 내피세포에서 광범위한 발현을 보이는 것으로 알려져 있으며[12], 혈관손상부위의 신생내막형성부위에서 발현이 증가되며 특히 평활근 세포에서 증가되는 것으로 알려져 있다[13,14].

β_3 integrin은 혈소판이나 혈관과 연관된 기전을 통해 죽상경화를 조절할 수 있으나, 혈관질환에서 β_3 integrin의 역할은 명확하지 않다.

본 연구에서는 고콜레스테롤혈증에 의해 유발된 대동맥판막경화증에서 β_3 integrin의 역할을 알아보고 하였다. 본 연구에서는 β_3 integrin이 죽상경화와 연관된 대동맥판막 경화증에서 발현이 증가될 것으로 가정하였으나, 결과는 오히려 대동맥 판막과 대동맥 모두 콜레스테롤식이균에서 정상식이균보다 감소되는 결과를 나타내었다. 이는 대동맥 판막의 병변이 β_3 integrin의 발현의 감소와 밀접한 연관관계가 있음을 나타낸다고 할 수 있다.

동맥경화에서의 염증반응은 대식세포와 같은 염증세포가 이동하고 침윤되는 특징이 있으며, 이러한 과정은 Integrin이나 P-selectin, E-selectin, ICAM-1, VCAM-1, PECAM-1

과 같은 세포부착물질(Cellular adhesion molecule), 그리고 MCP-1과 같은 Chemokine에 의해 매개된다. 이러한 여러가지 종류의 세포부착물질의 부재는 고지질식이에 의해 유도된 죽상경화를 감소시킨다. 인간에서도 ICAM-1, β_2 integrin[15], P-selectin의 항체는 혈관질환의 예후를 호전시키지 못하고 있다. 그러나, β_2 integrin의 antagonism과는 반대로 β_3 integrin family 중의 한가지인 α IIb β_3 의 antagonism은 단기간에서는 죽상경화를 가진 환자들에서 도움이 되는 것으로 알려져 있으나[16], 장기간의 역제는 오히려 인간에서 사망률을 증가시키는 것으로 알려져 있다[17]. Weng 등[18]에 의하면 고지질혈증에서 β_3 integrin의 결핍은 혈관의 죽상경화와 폐의 염증반응을 촉진한다고 하였으며, 죽상경화의 혈관벽에서는 CD36, CD40L, CD40과 같은 염증성 매개인자가 증가되는 것으로 볼 때 β_3 signaling의 결핍은 염증반응 매개물질을 증가시킬 수 있다고 하였다. Shneider 등[19]도 고지질식을 시행한 β_3 integrin 결핍 실험쥐모델에서 TNF- α 나 IL-6와 같은 염증반응 매개물질이 증가하는 것으로 보아 β_3 integrin은 서구형 식이에 의한 전신적 염증반응을 매개하는 후보물질로 보인다고 하였다.

결론

결론적으로, 석회화 대동맥 판막의 초기 상태인 대동맥 판막 경화증은 초기죽상경화병변과 유사한 과정을 보이며, 이는 β_3 integrin의 감소가 중요한 역할을 한다고 생각되며, 이는 염증반응의 증가와 연관이 있다고 생각된다. 따라서, 본 연구와 같이 콜레스테롤식이에 의한 염증반응을 억제하는 β_3 integrin의 역할을 고려하면, 향후에는 β_3 작용제(agonist)가 대동맥 판막질환의 진행을 억제할 수 있는 치료제로도 이용될 수 있을 것이다.

참고문헌

1. Stewart BF, Siscovick D, Lind BK, et al. For the cardiovascular health study. *Clinical factors associated with calcificvalve disease.* J Am Coll Cardiol 1997;29:630-4.
2. Lindroos M, Kupari M, Heikkila J, Tilvis R. *Prevalence of aortic valve abnormalities in theAn echocardiographic study of a random population sample.* J Am Coll Cardiol 1993;21:1220-5.
3. Otto CM, Lind BK, Kitzman DW, Gersh BJ, Phil D, Siscovick DS. For the cardiovascular study. *Association of*

- aortic valve sclerosis with cardiovascular mortality and morbidity in the elderly. *New Eng J Med* 1999;341:142-7.
4. Rajamannan NM, Subramaniam M, Rickard D, et al. Human aortic valve is associated with an osteoblast phenotype. *Circulation* 2003;107:2181-4.
 5. O'Brien KD, Kuusisto J, Reichenbach DD, et al. Osteopontin is expressed in human aortic valvular lesions. *Circulation* 1995;92:2163-8.
 6. Mohler ER 3rd, Gannon F, Reynolds C, Zimmerman R, Keane MG, Kaplan FS. Bone formation and inflammation in cardiac valves. *Circulation* 2001;103:1522-8.
 7. Rajamannan NM, Subramaniam M, Springett M, et al. Atorvastatin inhibits cellular proliferation and bone matrix production in the aortic valve. *Circulation* 2002;105:2660-5.
 8. Ross RS, Borg TK. Integrins and the myocardium. *Circ Res* 2001;88:1112-9.
 9. Gille J, Swerlick RA. Integrins: integrin in cell adhesion and communication. *Ann NY Acad Sci* 1996;797:93-106.
 10. Bishop G, McPherson JA, Sanders JM, et al. Selective $\alpha_V\beta_3$ -receptor reduces macrophage infiltration and restenosis after balloon angioplasty in the atherosclerotic rabbit. *Arterioscler Thromb Vasc* 2001;103:1906-11.
 11. Przybylo M, Stepien E, Pfitzner R, Litynska A, Sadowski J. Characterisation of integrin content in human normal aortic valves and in valves affected by calcific aortic stenosis. *Cell Mol Biol Lett* 2002;7:944.
 12. Hoshiga M, Alpers CE, Smith LL, Giachelli CM, Schwartz SM. $\alpha_V\beta_3$ integrin expression in normal and atherosclerotic artery. *Circ Res* 1995;77:1129-35.
 13. Corjay MH, Diamond SM, Schlingmann KL, Gibbs SK, Stoltenberg JK, Racanelli AL. $\alpha_V\beta_3$, $\alpha_V\beta_5$, and osteopontin are coordinately upregulated at early time points in a rabbit model of neointima formation. *J Cell Biochem* 1999;75:492-504.
 14. Honda Y, Kitano T, Fukuya F, et al. A novel $\alpha_V\beta_3$ integrin antagonist suppresses neointima formation for more than 4 weeks after balloon injury in rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1376-82.
 15. Faxon DP, Gibbons RJ, Chronos NA, Gurbel PA, Sheehan F. HALT-MI Investigators. The effect of blockade of the CD11/CD18 integrin receptor on infarct size in patients with acute myocardial infarction treated with direct angioplasty: the results of the LALT-MI study. *J Am Coll Cardiol* 2002;40:1199-204.
 16. Topol EJ, Mark DB, Lincoff AM, et al. Outcomes at 1 year and economic implications of platelet glycoprotein IIb/IIIa blockade in patients undergoing coronary stenting: results from a multicenter randomized trial. *Lancet* 1999;354:2019-24.
 17. Chew DP, Bhatt DL, Sapp S, Topol EJ. Increased mortality with oral platelet glycoprotein IIb/IIIa antagonists: a meta-analysis of phase III multicenter randomized trials. *Circulation* 2001;103:201-6.
 18. Weng S, Zeman L, Standley KN, et al. β_3 integrin deficiency promotes atherosclerosis and pulmonary inflammation in high-fat-fed, hyperlipidemic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:6730-5.
 19. Schneider JG, Zhu Y, Coleman T, Semenkovich CF. Macrophage β_3 integrin suppresses hyperlipidemia-induced inflammation by modulating TNF α expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:2699-706.

=국문 초록=

배경: 대동맥 판막 경화증은 고령에서 흔히 나타나며, 대동맥 판막 협착증처럼 좌심실 유출로를 폐쇄하지는 않으나 심혈관질환으로의 사망 위험성이 50%나 증가되며, 심근경색증의 위험성이 높다. 그러나, 대동맥 판막경화증에서 β_3 integrin의 관련성은 잘 알려져 있지 않다. 대상 및 방법: 20마리의 뉴질랜드산 토끼들을 2군으로 나눈후, 1군(10마리)에서는 정상식을 시행하였고, 2군(10마리)에서는 1% 콜레스테롤식을 시행하였다. 12주간 식이후 실험동물을 희생시켜 대동맥 판막 및 상행대동맥을 채취하였다. 각군의 토끼들의 혈장에서 총 콜레스테롤, 중성지방, 저밀도(LDL)-콜레스테롤, 고밀도(HDL)-콜레스테롤 수치를 측정하였으며, 대동맥 판막과 대동맥에서 HE 염색을 시행하였고, 대동맥 판막에서 근육섬유모세포, 대식세포에 대한 면역조직화학염색을 시행하였으며, β_3 integrin에 대한 정량적검사를 위하여 Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR)을 시행하였다. 결과: 총 콜레스테롤(2148.3 ± 1012.5 mg/dL versus 53.7 ± 31.8 mg/dL, $p < 0.05$), 중성지방(240.4 ± 218.3 mg/dL versus 31.6 ± 6.4 mg/dL, $p < 0.05$), 저밀도-콜레스테롤 수치($2,065.3 \pm 960.9$ mg/dL versus 29.1 ± 30.9 mg/dL, $p < 0.05$)는 정상식이군과 비교해서 콜레스테롤 식이군에서 의미있게 증가하였다. 대동맥판막의 면역조직화학염색에서 근육섬유모세포와 대식세포는 콜레스테롤식이군에서 발현이 증가되었다. RT-PCR을 이용한 정량적 검사에서 β_3 integrin mRNA의 발현은 대동맥판막과 대동맥 모두 콜레스테롤 식이군에서 의미있게 감소되어 있었다($p < 0.05$). 결론: 콜레스테롤식에 의한 고콜레스테롤혈증은 토끼의 대동맥 판막에서 대동맥 판막경화증을 유발하였다. 석회화 대동맥 판막의 초기 상태인 대동맥 판막 경화증은 초기죽상경화병변과 유사한 과정을 보이며, 이는 β_3 integrin의 감소가 중요한 역할을 한다고 생각한다.

- 중심 단어 : 1. 대동맥 판막
2. 고콜레스테롤혈증
3. 죽상경화
4. 인테그린