

늑막액의 당 및 단백질분획상

延世醫大 藥理學敎室

金 源 准 · 安 英 秀 · 金 惠 英

延世醫大 內科

李 沅 永

= Abstract =

Sugar Content and Protein Fractionation in Human Pleural Fluid

W.J. Kim, Y.S. Ahn, H.Y. Kim

Department of Pharmacology

W.Y. Lee

*Department of Medicine, Yonsei University College of Medicine
Seoul, Korea*

Previous studies concerning the usefulness of pleural fluid glucose levels in differentiating causes of pleural effusions have been conflicting. Gelenger and Wiggers(1949), Calnan et al(1951) and Barber et al(1957) concluded that the lower the level of pleural fluid glucose, the more likely was tuberculosis, and that tuberculosis was unlikely if the pleural fluid glucose level was more than 80 mg/100 ml.

Light and Ball(1973), however, reported that in the great majority of tuberculous pleural fluids the glucose concentration was high rather than low, concluded that the pleural fluid glucose levels were not useful in the differential diagnosis of pleural effusion.

In this study, pleural fluid glucose was determined in 46 pleural effusions from various causes to evaluate the usefulness in the differential diagnosis of pleural effusion. In addition, the protein concentration and the electrophoretic patterns of protein and amylases in pleural fluid was compared with that of serum. And the results were as follows.

1. The mean glucose concentration of pleural fluid was 80.8 mg/100 ml in 22 tuberculous origin, 92.5 mg/100 ml in 12 cancer patient and 70.4 mg/100 ml in 10 undiagnosed cases. In 2 cases of paragonimiasis the pleural fluid glucose levels were low(mean, 32.0 mg/100 ml). The percentage of pleural fluid protein to serum is about 75% in all disease groups and the protein level of tuberculous pleural fluid was significantly correlated with that of serum.

2. The disc electrophoretic patterns of pleural fluid were almost similar with that of serum in all disease groups but the prealbumin fraction was not observed in pleural fluid.

3. With the isoelectric focusing, 4 to 7 isoamylase was observed in serum and the isoelectric point was ranged from pH 5.8 to 7.8 and isoelectric point of main fraction is pH

(본 연구는 1979년도 유한교실연구비의 보조로 이루어졌음).

7.2. The isoelectric focusing patterns of amylase of pleural fluid were identical to that of serum in all disease group.

With the above results it is concluded that the pleural fluid is exudate of serum and that the glucose levels of pleural fluid are not useful in the differential diagnosis of pleural effusions.

I. 서 론

늑막에 저류는 늑막염의 한 증상으로 나타나는 것이 보통이나 그의 질환 즉, 심장, 간장, 취장 및 기타 장기의 질환의 이차적인 현상으로 나타나기도 한다. 그러므로 늑막액을 분석하여 진단에 이용하려는 노력이 여러학자들에 의해 꾸준히 진행되어, 식도파열이나 취장질환에서 늑막액의 amylase 함량이 증가된다고 하며 (Sherr 등 1972; Light 및 Ball, 1973), 류마치스성 관절염 (Carr 및 Power, 1960; Carr 및 Mayne, 1962) 에서는 늑막액 당치가 낮아 진단에 도움이 된다고 하였다. 특히 결핵성 늑막염에서 늑막액 당치가 현저하게 감소되기 때문에 결핵성 늑막염의 감별진단에 큰 도움을 줄 수 있다고 주장되어 왔다 (Gelenger 및 Wiggers, 1949; Calnan 등, 1951; Barber 등, 1957). 그러나 최근 결핵성 늑막염 환자의 늑막액 당치가 다른 보고와는 달리 높다고 보고하면서 늑막염의 감별진단에 별 도움을 줄 수 없다는 주장도 있다 (Glenert, 1962; Light 및 Ball, 1973). 한편 Sherr 등 (1972)은 식도 파열환자에게 늑막액내의 amylase 가 상승된 것을 관찰하고 늑막액을 전기영동하여 amylase 분획을 관찰한 바 타액이 amylase 상승원인을 입증한 바 있다. 본 교실에서도 체액의 기원을 추구하기 위하여 전립선액 (이 등, 1974), 뇌척수액 (이 및 김, 1975), 양수 (김 및 김, 1975) 및 관절액 (Kim et al, 1976)을 전기영동하여 각 체액의 단백질분획을 혈청과 비교한 바 있고 또한 담즙 (김 및 홍, 1974), 타액, 혈청, 취액 (Kim 및 Hong, 1975) 및 관절액 (Kim et al, 1976) 등에서

amylase 분획을 비교 관찰한 바 있다. 그러므로 본 실험은 결핵, 폐암 및 폐흉종 환자의 늑막액을 채취하여 늑막액 당 및 단백질 감별진단에 유효한가를 검토하기 위하여 수행되었으며 동시에 원반전기영동 및 등전집조를 시행하여 늑막액의 단백질분획 및 amylase 분획을 혈청과 비교 관찰하였다.

II. 실험대상 및 방법

1) 실험대상

연세대학교 부속 세브란스병원 흉곽내과에 내원한 환자중 결핵, 폐암 및 폐흉종증을 가진 46명의 환자에서 혈액 및 늑막액을 채취하여 실험하였다.

2) 화학측정

혈액에 대한 측정을 위하여는 혈청을 사용하였고 늑막액은 채취후 여과지 (Whatman No. 1)를 통과시킨 후 사용하였다. 당은 Folin 및 Wu 법 (1920)으로, 단백질은 biuret reagent 로 비색 측정하였다.

3) 원반전기 영동법

원반전기 영동법은 Car. lco Model No. 6 apparatus 를 이용하여 김등 (1972)의 방법에 의거, 시행하였다. 즉 혈청 및 늑막액 0.016 ml 를 stacking solution 과 혼합하여 광학적 중합을 일으키고 다시 seperating gel 을 채워 ammonium persulfate 로 화학적 중합을 일으킨 후 tris buffer (pH 8.2) 로 column 당 5 mA 의 전류가 흐르도록 영동하여 aniline blue black 0

Table 1. Sugar and Protein Content in Serum and Pleural Fluid

Disease	No. of Cases	Sugar (mg/100 ml)		Protein (g/100 ml)	
		Serum	Pleural Fluid	Serum	Pleural Fluid
Pul. TB	22	99.6±3.79	80.8±6.07	7.3±0.18	5.5±0.15
Cancer	12	110.7±8.38	92.5±12.63	6.6±0.22	5.1±0.43
P.W.	2	73.5	32.0	8.5	6.3
Undiagnosed	10	107.2±13.70	70.4±10.60	7.0±0.22	5.3±0.27

Values are mean±S.E.

Table 2. Protein Fractions of Serum and Pleural Fluid by Disc Electrophoresis

	No. of Protein Fraction						Total
	Pre-albumin	Albumin	Globulin			immuno & α_2	
			α_1	β_2	β_1		
Serum	2	1	5±0.3	1	1	11±1.9	21±0.7
Pleural Fluid	0	1	5±0.3	1	1	13±1.0	21±1.1

Values are mean±S.E.

로 염색하였다. 염색이 끝나면 다시 7% 초산으로 gel 1개당 12.5 mA의 전류를 흘려 탈색하였다.

4. 등전집초법에 의한 amylase 입증

등전집초법은 전술한 김등(1972)의 방법으로 시행하였다. 즉 혈청은 0.2 ml, 녹말액은 0.4 ml를 사용하여 Ampholine carrier ampholyte, pH 3~10(LKB, Sweden)과 acrylamide를 혼합하여 광학적 중합을 일으켜 박판을 만들었다. 이 박판은 12 cm 간격의 탄소봉 전극에서 처음에는 200 V(약 12 mA)의 전압을 유지시켜 4시간 후 0.5 mA로 떨어지면 전압을 300 V로 일정하게 유지시키면서 총 24시간 등전집초하였다. 집초가 끝나면 그 위에 starch gel을 중합시켜 실온에서 1시간 방치 후 iodine 시약으로 starch gel을 염색시키면 염색되지 않는 백색의 amylase 분획을 관찰할 수 있다.

Starch gel은 2% starch 용액(Noredux Standard, Switzerland), 30% acrylamide 용액 및 riboflavin 용

액을 혼합하여 광학적 중합으로 박판을 만들어 사용하였다(김 및 홍, 1974).

Ⅲ. 실험 성적

1) 혈청 및 녹말액의 당 및 단백질

22명의 결핵성 녹말액 환자의 혈당은 평균 99.6±3.79 mg/100 ml을 나타내며 비하여 녹말액의 당은 평균 80.8±6.07 mg/100 ml로 혈당의 81.1%정도의 수치를 보이며 혈당과 녹말액 당과의 상관관계는 없었다. 암환자의 녹말액 당치는 혈당치의 83.6%를 보여 결핵성 녹말액과 비슷한 수치를 나타낸 반면 2례의 폐흡충증 환자에서는 녹말액 당치가 혈당치의 43.5%로 낮은 값을 보여 주었다(표 1, 그림 1). 녹말액의 단백질은 모든 질환군에서 혈청단백의 75% 내외를 보여주며 특히 결핵성 녹말액 환자에서는 상관계수가 0.5442로 의의있는 (p<0.05) 상관관계를 보였다(표 1, 그림 2).

2) 혈청 및 녹말액의 원반전기영동상

결핵, 폐암 및 폐흡충증 환자의 녹말액 전기영동상을 각각 혈청과 비교하여 본 결과 prealbumin 분획이 혈청에는 1~2개 나타나나 녹말액에는 거의 나타나지 않을 뿐 전체적인 분획수나 양상은 거의 같았다(표 2, 그림 3).

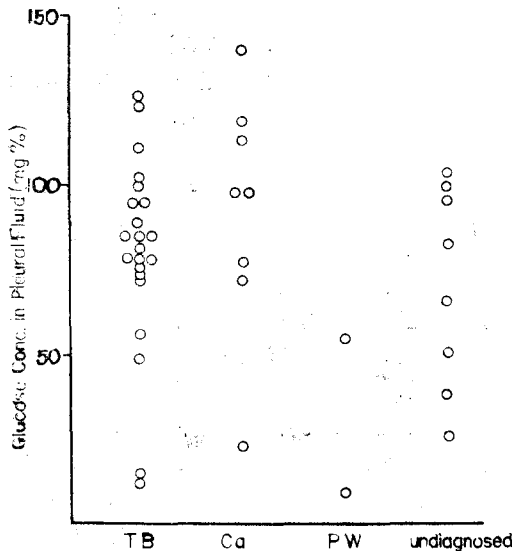


Fig. 1. Glucose concentration in pleural fluid. TB; Pulmonary Tuberculosis Ca; Carcinoma PW; Paragonimiasis

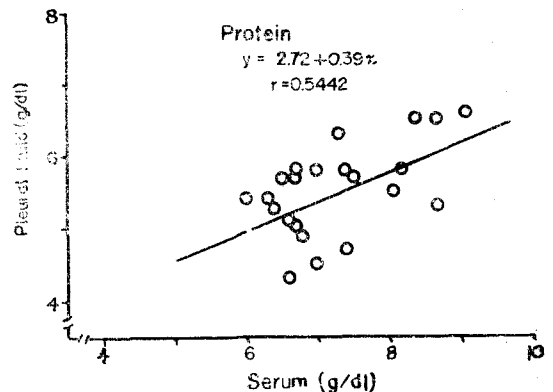


Fig. 2. Correlative relationship between pleural fluid and serum protein.

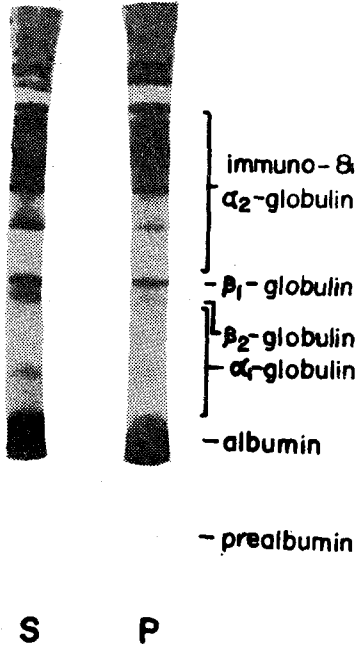


Fig. 3. Disc electrophoretic pattern of serum(S) and pleural fluid(P) protein.

3) 혈액 및 늑막액의 amylase 분획상

혈액 및 늑막액 단백을 등전집초하여 amylase 동종효소를 관찰한 바 모든 질병군에서 혈청 및 늑막액 모두 amylase 동종효소의 양상이 비슷하여 수는 4~7개로 대부분의 등전점이 pH 5.8~7.8이었으며 주분획의 등전점은 pH 7.2부근이었다.

IV. 고 찰

Gelenger 및 Wiggers(1949), Calnan 등(1951) 및 Barber(1957) 등은 결핵성 및 비결핵성 늑막염 환자의 늑막액 당치를 비교 측정 한 결과 늑막액이 결핵성 일 때 낮은 늑막액 당치를 나타낸다고 보고하여 일반적으로 결핵성 늑막염에서는 늑막액 당치가 낮은 것이 특징이라고 알려져왔다. 그러나 최근 Light 및 Ball(1973)은 176예의 늑막액 당치를 측정 한 결과 결핵성 늑막액 환자의 대부분에서 늑막액 당치가 높아 평균 81.7 mg/100 ml 를 나타냈다고 보고하여 결핵성 늑막염에서 늑막액 당치가 낮다는 종래의 주장을 반박하였다. 22예의 결핵성 늑막염 환자의 늑막액을 분석한 본 실험에서도 늑막액 당치가 80 mg/100 ml 이하가 9예, 80 mg/100 ml 이상이 13예로 평균 80.8 ± 6.07 mg/100 ml 의 높은 당치를 나타내어 암환자와 별 차이없는 늑

막액 당치를 보여 주어 늑막액 당이 감별진단에는 별 도움이 될 수 없겠다. 그러나 2예이긴 하나 폐흡충증 환자에서는 낮은 늑막액 당치를 나타내어 흥미로우나 더 추구해야 할 과제이다. 한편 Tiselius(1937)가 계면 이동 전기영동법(moving boundary electrophoresis)을 개발하여 현대 전기영동법에 획기적인 기여를 세운 이래 구획전기영동법이 개발되면서 여지, cellulose acetate 막 및 전분 gel 등이 매개체로 사용되어 왔다. 그 후 polyacrylamide gel 을 이용한 원반전기영동법은 종래의 매개체보다 훨씬 예민한 분리가 가능하여 본교실에서 여지상에 7개의 분획이던 취단백이 12개정도로 분리됨을 관찰한 이래(김 등, 1972) 전립선액(이등) 뇌척수액(이 및 김, 1974), 양수(김 및 김, 1975), 심낭액(조, 1976) 및 관절액(Kim et al, 1976) 등의 체액을 원반전기영동하여 15개 내외의 단백분획을 분리 보고한 바 있다. 본 실험에서 늑막액의 단백질량은 혈청의 약 75%에 해당하며 21개 내외의 단백분획으로 분획수 및 양상이 혈청과 흡사하여 늑막액은 혈청의 단순한 삼출액임을 추측할 수 있다. 한편 생체의 amylase 동종효소의 수는 실험방법에 따라 약간의 차이는 있으나 여러개가 존재함이 입증되어 있으며, 생성장기에 따라 이동도가 달라진다고 한다(Taussig 등, 1974) 즉, Müller 상피세포에서 생성되는 amylase 가 가장 빨리 움직이며 다음이 타액성 amylase 며 취장 amylase 는 가장 늦게 움직인다 하여 amylase 의 이동도에 따라 amylase 의 기원을 추측할 수 있다 하였다(Hobbs 및 Aw, 1974). 본 실험의 늑막액내 amylase 동종효소의 수에 있어서도 혈청과 마찬가지로 6개 내외를 나타내며 주분획의 등전점이 혈청과 동일한 사실로도 혈청의 단순 삼출액임을 의심할 여지가 없다.

V. 결 론

22명의 결핵환자, 12명의 암환자, 2명의 폐흡충증 환자 및 10명의 미진단환자의 혈액 및 늑막액을 채취하여 당, 단백을 측정하고, 동시에 전기영동을 이용한 단백분획 및 amylase 동종효소를 분리하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 늑막액의 당은 22명의 결핵환자 및 12명의 암환자에서는 평균 80.8 mg/100 ml 및 92.5 mg/100ml 로 혈청의 81.8% 및 83.6%의 높은 혈당을 보인 반면 2예의 폐흡충증 환자에서는 32.0 mg/100 ml 로 낮은 수치를 나타냈다. 늑막액의 단백질량은 모든 질병군에서 혈청에 비해 75%내외를 나타냈으며 특히 결핵성 늑막염 환자의 늑막액과 혈청간의 단백질량은 의의있는 상관

관계를 보여 주었다.

2. 늑막액의 원반 전기영동상은 모든 질병군에서 별 차이가 없었으며 혈청과 비교할 때 prealbumin 분획이 혈청에는 1~2개 나타나나 늑막액에는 거의 나타나지 않을 뿐 다른 양상은 거의 동일하였다.

3. 혈액 및 늑막액 단백을 등전집초하여 amylase 분획을 관찰한 바 혈청 및 늑막액 모두 분획 양상은 비슷하여 수는 6개내외로 등전점이 pH 5.8~7.8이었으며 주분획의 등전점은 pH 7.2 부근이었다.

이상의 실험성적으로 보아 결핵, 암 및 폐흡충증에 의한 늑막액은 혈청의 삼출액(exudate)임을 알 수 있으며 단백질분획 및 amylase 분획은 혈청과 큰 차이가 없음을 알 수 있다. 또한 결핵성 늑막액의 당치가 암환자의 늑막액 당치와 같이 높은 수치를 나타내어 감별진단 목적으로는 늑막액 당치가 별 도움을 주지 못함을 알 수 있었다.

REFERENCE

- 1) Barber, L.M., Mazzadi, L., Deakins, D.D., Reese, C.N. and Rogers, W.L.: *Glucose level in pleural fluid as a diagnostic aid. Dis. Chest, 3:680-687, 1957.*
- 2) Calnan, W.L., Winfield, B.J.O., Crowley, M. H. and Bloom, A.: *Diagnostic value of the glucose content of serous pleural effusion. Brit. Med. J., 1:1239-1240, 1951.*
- 3) Carr, D.T. and Mayne, J.G.: *Pleurisy with effusion in rheumatoid arthritis, with reference to the low concentration of glucose in pleural fluid. Am. Rev. Resp. Dis. 85:345-350, 1962.*
- 4) Carr, D.T. and Power, M.H.: *Pleural fluid glucose with special reference to its concentration in rheumatoid pleurisy with effusion. Dis. Chest, 37:321-324, 1960.*
- 5) 조범구: 한국인 심장질환의 임상적 고찰 및 심낭액 단백질에 관한 연구. 연세의대논문집, 9:1-19, 1976.
- 6) Folin, O. and Wu, H.: *A system of blood analysis. Supplement I: a simplified and improved method for determination of sugar. J. Biol. Chem., 41:367, 1920.*
- 7) Gelenger, S.M. and Wiggers, R.F.: *Relation of*

the pleural fluid sugar to pulmonary tuberculosis. Dis. Chest, 15:325-328, 1949.

- 8) Glenert, J.: *Sugar levels in pleural effusions of different etiologies. Acta Tuberc. Scand, 42:222-227, 1962.*
- 9) Hobbs, J.R. and Aw. S.E.: *Methods of enzymatic analysis. Ed. Bergmeyer, H.U., Verlag Chemie-Academic Press Inc., N.Y., 1974. pp. 909-915.*
- 10) 김학해, 김원준: 양수의 단백질량 및 단백질분획에 관한 검색. 최신의학, 17:1665-1670, 1974.
- 11) Kim, W.J. and Hong, S.S.: *Isoenzymes of Salivary Amylase in Cat and Man by Isoelectric Focusing. Korean J. Biochem., 7:1-7, 1975.*
- 12) Kim, W.J., Ahn, Y.S., Kim, S.J., Jahng, J.S. and Hong, S.S.: *Study on the fractionation of synovial fluid protein. Yonsei Med. J., 17:109-114, 1976.*
- 13) 김원준, 홍사석: 담즙중의 단백질 및 Amylase 분획에 관한 연구. 대한의학협회지, 17:288-292, 1974.
- 14) 김원준, 김경환, 홍사석: 전기영동법 및 등전집초법(Isoelectric focusing)을 이용한 쥐단백 분리실험. 대한의학협회지, 15:787-795, 1972.
- 15) 이춘희, 김원준: 뇌척수액 단백질분획에 관한 연구. 대한의학협회지, 18:67-71, 1975.
- 16) 이진무, 김경환, 김원준: 원반 전기영동법을 이용한 전립선액의 단백질분리에 관한 연구. 대한약리학잡지, 10:39-42, 1974.
- 17) Light, R.W. and Ball, W.C.: *Glucose and amylase in pleural effusions. J.A.M.A., 225:257-260, 1973.*
- 18) Sherr, H.P., Light, R.W., Merson, M.H., Wolf, R.O., Taylor, L.L. and Hendrix, T.R.: *Origin of pleural fluid amylase in in esophageal rupture. Ann. Int. Med., 76:985-986, 1972.*
- 19) Taussig, L.M., Wolf, R.O., Woods, R.E. and Deckelbaum, R.J.: *Use of seurm amylase isoenzymes in evaluation of pancreatic function. Pediatrics, 54:229-235, 1974.*
- 20) Tiselius, A.: *A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixture. Trans Faraday Soc., 33:524. 1937.*