

자궁내막종의 감별진단을 위한 난소낭종 환자의 혈청 Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) 농도의 진단적 유용성에 대한 연구

충북대학교 의과대학 산부인과학교실

김만기 · 김유래 · 홍승화 · 박연진 · 지일운 · 정은환 · 김학순

Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) Concentration in the Serum of Patients with Ovarian Cysts for Differential Diagnosis of Endometrioma

Man Ki Kim, Yu Re Kim, Seong Hwa Hong, Yeon Jin Park,
IL Woon Ji, Eun Hwan Jeong, Hak Soon Kim

Department of Obstetrics and Gynecology, College of Medicine
Chungbuk National University, Cheong-ju, Korea

Objective: To evaluate the usefulness of serum concentrations of macrophage migration inhibitory factor (MIF) of patients with ovarian cysts for differential diagnosis of endometrioma.

Method: From Jan. 2003 to Dec. 2004, preoperative serum MIF levels were assessed in 28 women with endometrioma, 32 with benign epithelial tumor, 23 with functional and simple cysts, 22 with benign mature cystic teratoma, and 25 women without ovarian tumor as control. MIF levels were determined using an ELISA (Quantikine Human MIF immunoassay, R&D Systems, Inc., USA).

Results: Mean MIF levels were higher in all groups with benign tumors than control (all $p < 0.01$), but there was no significant difference between benign tumor groups ($p = 0.95$). There was no significant correlation between MIF levels and tumor volume, body mass index (BMI) ($p = 0.635, 0.674$ respectively). Serum MIF level had significant correlation with count of WBC and neutrophils ($p = 0.008, 0.024$ respectively), but had no correlation with count of lymphocytes and monocytes ($p = 0.688, 0.294$ respectively).

Conclusions: This study showed a marked increase in MIF concentrations in the peripheral blood of patients with endometrioma, but there was no significant difference with other benign tumors. Serum MIF level had significant correlation with count of WBC and neutrophils. These suggest serum MIF level has no usefulness for differential diagnosis of endometrioma from other benign ovarian cysts.

Key Words: MIF, Endometrioma, Ovarian tumor

Macrophage migration inhibitory factor (MIF)는 선천면역반응의 중요한 매개자이며 많은 염증성질환, 자가면역질환, 종양질환의 병태생리에 관여한다. MIF는 면역에 관계되는 다른 cytokine들과 달리 많

은 양이 일상적으로 monocytes/macrophages에 발현되며 이미 만들어져 세포내에 저장되어 있다. MIF는 또한 T cells, B cells, neutrophils, eosinophils, mast cells 등에서도 발현된다.^{1~4}

주관책임자: 박연진, 우) 361-711, 충북 청주시 흥덕구 개신동, 충북대학교 병원 산부인과
Tel: (043) 269-6054, Fax: (043) 275-7359, e-mail: ajuriangol@chungbuk.ac.kr

자궁내막증의 발생기전에는 면역반응이 관여한다. 역류된 자궁내막 조직은 복막의 백혈구와 대식세포 (macrophage)의 동원과 활성화를 포함하는 면역-염증반응을 유발하며 interleukin (IL)-1, IL-6, IL-8, TNF- α 등 cytokine의 생산을 증가시킨다. 또한 역류된 이들 자궁내막세포에 대한 natural killer (NK) 세포와 T-cell 매개 세포독성의 결함과 감소가 있다. 대식세포에서 유래한 TGF- β , VEGF 등은 혈관신생을 촉진시킨다. 이러한 결과로 자궁내막증에서는 이소성의 자궁내막세포를 제거하기 보다는 오히려 성장을 활성화 시키게 된다.⁵⁻⁷

자궁내막증의 면역학적인 병발생 기전에서 MIF에 대한 연구로는 자궁내막증의 병변 중에서 특히 혈관이 풍부하고, 초기이며, 가장 활동적인 시기의 병변에서 MIF가 현저하게 발현되었으며, 자궁내막증 환자의 복수에 MIF의 농도가 증가되어 있다는 연구가 있었다.^{8,9} 최근 이 연구자들은 이러한 결과를 바탕으로 자궁내막증 환자의 말초혈액의 혈청에서 MIF를 측정하고 대조군과 비교하여 자궁내막증에서 뚜렷하게 MIF 농도가 증가되어 있으며, 이는 질병의 진행 정도, 불임, 골반통과 연관이 있다는 보고를 하였다.¹⁰

현재 자궁내막증의 진단은 복강경에 의한 조직검사에 의해 확정된다. 그러나 복강경 시술은 위음성의 결과와 마취, 술기의 합병증, 비용의 발생 등이 불가피하다. 따라서 자궁내막증을 비 수술적인 방법으로 예측할 수 있는 진단법은 꼭 필요하며, 종양표지자와 자기공명영상, 초음파 등의 영상 진단법이 연구되고 있다. 위에서 언급한 면역학적인 발생기전에 관여하는 IL-6, TNF- α 등의 cytokine들이 종양표지자로 연구되고 있다.^{11,12}

대부분의 자궁내막종 (endometrioma)은 그 크기가 약 15 cm를 넘지는 않으나 초음파 소견은 완전한 낭성 소견에서 고형 소견까지 다양하며 경질초음파 진단은 약 70~90%의 민감도와, 약 90%의 특이도를 가진다고 보고되었다. 그러나 이들 연구는 조직학적인 진단과 연결시키지 않은 문제점을 가지고 있었으며,^{11,13} 최근의 보고에 의하면 경질초음파를 이용한 양성종양의 조직학적 진단의 예측은 약 60%의 정확도를 가진다고 하였다.¹⁴

자궁내막종 치료의 원칙은 모든 병변의 완전한

제거와 해부학적 구조의 복원에 있다. 이 경우 더글라스와의 폐색 및 직장질중격의 침윤을 제거하고 복원하는 수술이 필요할 때가 많으며 장천공에 대비하여 수술 전 장청소와 항생제 투여가 선행되어야 한다. 그렇지 않으면 불완전한 수술이 될 수 밖에 없다. 따라서 수술 전 자궁내막종의 진단이 이루어진다면 충분한 준비를 통하여 완전한 수술을 시행할 수 있을 것으로 환자나 의사 모두에게 이익이 된다.

자궁내막증의 진단에서 MIF의 혈장농도에 관한 최근의 보고는 자궁내막증과 대조군의 비교에 그치고 있으며 다른 양성 질환과의 비교는 없었다는 점과 말초혈액의 MIF 농도에 영향을 미칠 수 있는 혈액세포에 대한 고려를 하지 않았다는 문제점들이 있었다.¹⁰ 이에 본 연구는 MIF를 진행된 자궁내막증을 가진 자궁내막종 환자와, 이와 감별이 필요한 양성 난소종양 환자들의 혈청에서 측정하여, 자궁내막종 환자의 혈청에서 과연 증가하였는지, 자궁내막증에 대한 특이도가 있으면서 자궁내막종과 다른 양성종양을 감별진단할 수 있어 초음파 진단을 보완할 수 있는지 알아보려고 하였다. 또한 MIF와 MIF의 혈청농도에 영향을 줄 수 있는 혈액세포와의 관계, 그리고 환자의 특성과의 관계를 알아보려고 하였다.

연구 대상 및 방법

2003년 1월부터 2004년 12월까지 초음파로 진단된 난소종양으로 수술을 받은 111명의 수술 전 혈청 MIF를 부인과 질환이 없는 환자 25명의 그것과 함께 후향적으로 측정하였다. 이들 중 종양의 크기가 최대 장경 15 cm 이상인 양성 상피성 종양 2예와 MIF의 농도가 225 ng/ml 이상으로 측정되어 정확한 농도를 알 수 없는 4예는 분석에서 제외하였다. 분석된 환자의 최종 조직검사 소견은 자궁내막종 28명, 양성 상피성 종양 33명, 기능성 종양 및 단순 낭종 23명, 양성 양성성숙기형종 22명 이었다. 수술 전날 말초 정맥혈 10 cc를 채혈하여 30분간 상온에 방치한 다음 5,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 혈청을 얻은 다음 -80℃에 보관하였다. MIF 농도는 상업적 ELISA kit (Quantikine Human MIF

Table 1. Serum concentration of MIF according to histological diagnosis

Histology	No. of patients	Age	MIF concentration (ng/ml)			P value
			Median	Range	Mean ± SEM ^a	
Control	25	48.9	5.5	3.7~76.7	13.2±3.5	
Endometrioma	28	36.5	20.3	2.9~210.1	42.6±10.4	0.0061
Benign epi.	32	42.7	24.0	3.2~206.5	40.2±7.9	0.0002
Functional	23	41.4	17.7	5.4~217.2	38.4±10.2	0.0002
Teratoma	22	39.5	14.2	3.4~173.9	37.6±9.2	0.0012

(^a: SEM = standard error of mean)
epi: epithelial tumor

immunoassay, R&D Systems, Inc., USA)를 이용하여 제조회사의 방법에 따랐으며 450 nm에서 반응강도는 EIA reader (E max precision, Molecular device, USA)를 이용하였다. 측정값의 민감도는 0.017 ng/ml이다. 측정 간 및 측정 내 변이 (inter and intra assay variation)는 모두 10% 미만이다. 대상 환자들의 혈청 MIF 농도, 자궁내막증 점수 및 병기를 검토하였다. 자궁내막증의 병기는 revised American Fertility Society (1985) classification system에 따랐다. 통계 분석은 의학통계 프로그램인 Medcalc[®] version 8.1을 이용하였으며 표본의 비교는 비모수 검정법인 Mann-Whitney U test와 Kruskal-Wallis test를 적용하였다. 두 표본의 상관관계는 Spearman correlation analysis로 하였다. 모든 통계의 유의성은 $p < 0.05$ 일 때로 간주하였다.

결 과

각 실험군의 대상 환자 수, 나이, MIF 혈청농도는 Table 1과 같으며 분포는 Figure 1과 같다. 각 실험군의 연령 차이는 없었다. 모든 양성종양 환자군의 MIF 혈청농도는 대조군에 비하여 통계학적으로 유의하게 증가하였다 (Mann-Whitney U test). 그러나 대조군을 제외한 양성종양 환자군 사이에는 통계학적으로 유의한 차이가 없었다 (Kruskal-Wallis test, $p=0.95$). 각 대상군의 body mass index (BMI, Kg/m^2), 종양용적 ($\text{length} \times \text{length} \times \text{length} \times 0.523 \text{ cm}^3$), 백혈구 수, 호중구 수, 임파구 수, 단핵구 수는 Table 2와 같다. 대상군들 사이의 비교에서 BMI는 유의한 차이가 없었으며 (Kruskal-Wallis test, $p=0.38$),

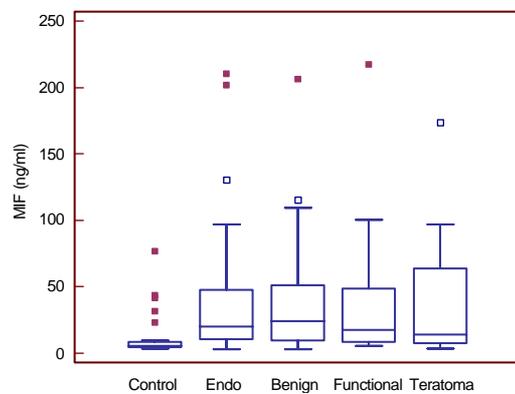


Figure 1. Serum MIF values among study groups. Benign = benign epithelial tumor, endo = endometrioma.

종양용적은 양성 상피성종양이 자궁내막종과 기능성종양에 비해 컸다 (Mann-Whitney U test, $p=0.004$, 0.010 respectively). 그러나 혈청 MIF 농도와 BMI, 종양용적 사이에는 의미 있는 상관관계가 없었다 (Spearman correlation analysis, $p=0.674$, 0.635 respectively). 대상군 사이에 백혈구 수와 호중구 수는 의미 있는 차이가 있었으며 (Kruskal-Wallis test, $p=0.002$, 0.003 respectively), 임파구 수와 단핵구 수는 차이가 없었다 (Kruskal-Wallis test, $p=0.247$, 0.763 respectively). 혈청 MIF 농도와 백혈구 수, 호중구 수 (Figure 2)는 비례적 상관관계를 보였으며 (Spearman correlation coefficient, $r=0.23$, $p=0.008$; $r=0.20$, $p=0.024$ respectively), 임파구 수와 단핵구 수 (Figure 3)는 상관관계가 없었다 (Spearman correlation coefficient, $r=0.04$, $p=0.668$; $r=0.10$, $p=0.294$ respectively).

Table 2. Blood cell counts, tumor volume, and BMI according to histologic diagnosis

Histology	BMI ^a	Tumor volume ^b	WBC ^c	Neutro.	Lympho.	Mono.
Control	23.4	-	5199	2560	1979	315
Endometrioma	21.9	132 (21~817)	6550	4044	1850	363
Benign epi.	23.3	265 (15~820)	5919	3180	1907	358
Functional	24.0	103 (18~287)	7256	4304	2091	390
Teratoma	23.2	236 (13~1351)	6514	4164	1807	347

(^a: Kg/m², ^b: length × length × length × 0.523 cm³, ^c: /ml)
Neutro = neutrophil, Lympho. = lymphocyte, Mono = monocyte

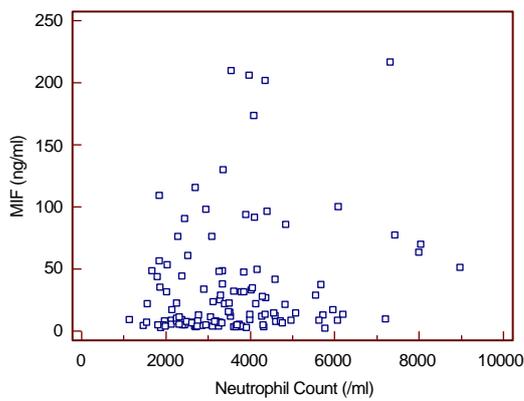


Figure 2. Scatter diagram of MIF according to neutrophils count (Spearman correlation coefficient, $r=0.20$, $p=0.024$).

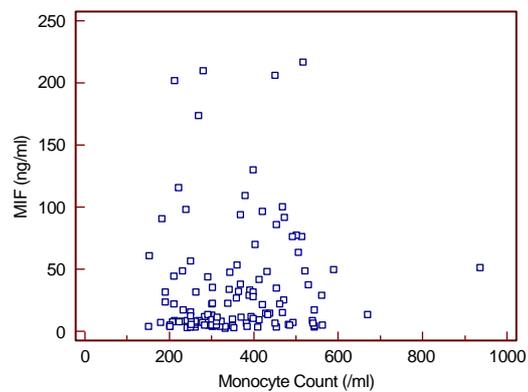


Figure 3. Scatter diagram of MIF according to monocytes count (Spearman correlation coefficient, $r=0.10$, $p=0.294$).

고 찰

MIF는 115개의 아미노산으로 이루어진 단백질로 12.5 kDa의 분자량을 가지며 급성 및 만성 염증반응의 매개자로 잘 알려져 있다. Endotoxin, exotoxin, TNF- α , IFN- γ 등의 cytokine의 자극에 의해 분비되며, 작용기전은 Toll-like receptor 4 (TLR4)를 up-regulation 시킨다. Autocrine and paracrine으로 모두 작용하며 대식작용 (phagocytosis) intracellular killing and H₂O₂ 생성을 촉진시킨다. 또한 세포의 성장과 생존에 강력한 자극을 주며 많은 염증성 cytokine의 생산을 촉진한다. MIF는 몇 개의 종양세포에서 발현이 증가하였으며 p53 종양 억제 단백질의 작용을 방해하고 혈관내피 성장 인자 (VEGF)의 발현과 혈관신생을 촉진시킨다. MIF는 선천면역과 획득면역 모두의 기본적인 기전에 관여하며 염증성질환, 자

가면역질환, 종양질환의 병태생리에 관여한다. 예를 들면 위염, 염증성 장염, 간경화, 급성 췌장염, 류머티즘 관절염, 전신성홍반성낭창, 사구체신염, 천식, 알러지성비염, 패혈증 등의 병발생 기전에 중요한 역할을 하며 혈중 농도는 증가되어 있다.¹⁻⁴

산부인과 영역에서는 자궁내막증 외에도 임신과 관련하여 임신 중독증, 분만 진통 등에서 증가하며, 비만과 관계된 것으로 보고되었다.¹⁵⁻¹⁷ 그러나 본 연구에서 MIF는 비만 정도를 나타내는 BMI와는 유의한 상관관계가 없었다.

자궁내막증 환자에서 말초혈액의 MIF는 복강내의 국소적인 병변의 다양한 세포에서 기원할 뿐만 아니라 전신적인 monocytes/macrophages의 활성화에 기인한다. 자궁내막증 환자의 복강액과 자궁내막증 조직에서 활성화된 대식세포의 수가 증가되어 있으며,^{18,19} 자궁내막증의 초기 병변에서 MIF가 현저히

발현되는데 주로 자궁내막 샘, 혈관내피세포, 대식세포, T-림파구에서 발현되며 또한 복강액에서 MIF의 농도가 증가하여 있다.^{8,9} 또한 말초혈액의 단핵구의 활성도가 증가하며 높은 세포독성을 가진다고 보고되었다.²⁰ 그러나 이들 말초혈액의 활성화된 단핵구들이 자궁내막증의 병발생에 어떤 기전으로 관계하는지는 정확하지 않다.^{21,22} 그러므로 자궁내막증의 면역학적인 병발생기전으로 볼 때 말초혈액에서의 MIF의 상승은 당연하며 다른 양성종양에 비해 특이도를 가질 것으로 예상된다.

그러나 연구의 결과는 처음의 기대와는 달리, MIF는 자궁내막증에 대하여 특이도가 없으며 초음파를 보완할 수 있는 감별진단을 위한 종양표지자로서의 효용성은 없는 것으로 보인다. 따라서 다른 양성종양의 증가된 MIF는 어디서 기원한 것인가에 대한 의문이 남는다. 이는 우선 두 가지 이유를 생각해 볼 수 있다. 먼저 말초혈액의 MIF는 국소적인 병변의 염증-면역반응을 주로 반영했다기 보다는 단지 말초혈액내의 혈액세포 수나 활성도를 반영했을 가능성이 있으며, 다른 양성종양 환자에서도 MIF의 상승을 초래할 수 있는 염증-면역반응이 일어나는 동반된 질환이 있을 가능성, 복강내 유착 혹은 염증반응이 있을 가능성, 혹은 양성종양의 발생과 진행에 면역반응이 관계되었을 가능성 등이 있다.

먼저 MIF는 면역에 관계되는 T cells, monocyte/macrophage, B cells, neutrophils, eosinophils, mast cells, eosinophils 등에서 발현되며 또한 endothelial cell 및 폐, 위장관, 피부, 내분비 기관의 상피세포에서도 발현된다.^{1~4} 본 연구에서 MIF는 백혈구 수, 호중구 수 (Figure 2)와 비례적 상관관계를 보였다. 그러나 림파구 수와 단핵구 수 (Figure 3)와는 의미 있는 관계를 보여주지 않았다. 이는 MIF 상승에 호중구가 역할을 하였음을 시사한다. 이전의 논문에서 언급한 말초혈액에서 단핵구의 활성의 증가는 알 수 없으나, 단핵구의 수와 상관관계가 없는 것으로 보아 다른 양성종양에서 증가된 MIF는 단핵구의 활성과는 거리가 있을 것으로 보인다.

다음으로 MIF가 75 percentile 이상 증가된 환자들의 의무기록을 분석하였다. 225 ng/ml 이상인 4예 중 2예는 난소낭종의 염전이 있는 환자였으며, 1예

는 골반염증성질환이 동반된 경우였다. 그외 임신, 출혈성 황체낭종, 자궁선근증의 동반, 양측성 종양, 말초혈액에서 호산구의 증가, 심한 복강내 유착 등이 발견되었다. 그러나 이런 요인이 없음에도 증가한 경우가 있어 이들이 단순한 증가의 원인이라고 말하는 데는 무리가 있다.

본 연구의 한계점은 자궁내막증 환자가 모두 수술 전에 자궁내막증이 발견되어 수술을 한 여성으로, 이는 초기의 자궁내막증 환자를 실험에 포함시킬 수 없었다는 점이다. 따라서 본 연구는 자궁내막증 환자의 조기진단을 위한 MIF의 종양표지자로서의 가치는 알 수 없다.

결론적으로 혈청 MIF는 자궁내막증을 가진 환자뿐만 아니라 다른 양성 난소종양을 가진 환자에서도 증가하여 있어 특이도가 없다. 그리고 양성종양의 조직학적 차이에 따른 혈중농도의 차이가 없어 경질초음파를 보완하는 종양표지자로서 감별진단에 사용하기는 어려울 것으로 보인다. 또한 말초혈액의 백혈구 수와 호중구 수에 비례적 상관관계를 보인다. MIF 혈중농도는 다양한 내 외과적 질환에서 상승하며, 이를 단지 국소적 병변의 대식세포에서 주로 기원한 것으로 보고 진단에 이용한다면 많은 편견과 오류를 범할 수 있을 것이다. MIF의 증가가 단순히 말초혈액의 호중구 수를 반영할 가능성도 있으며, 말초혈액의 MIF 증가에 기여하는 각종 세포들의 수와 활성도에 대한 더 많은 연구가 있어야 할 것이다.

참 고 문 헌

1. Morand EF. New therapeutic target in inflammatory disease: macrophage migration inhibitory factor. *Intern Med J* 2005; 35: 419-26.
2. Donn RP, Ray DW. Macrophage migration inhibitory factor: molecular, cellular and genetic aspects of a key neuroendocrine molecule. *J Endocrinol* 2004; 182: 1-9.
3. Calandra T, Roger T. Macrophage migration inhibitory factor: a regulator of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 791-800.
4. Baugh JA, Donnelly SC. Macrophage migration in-

- hibitory factor: a neuroendocrine modulator of chronic inflammation. *J Endocrinol* 2003; 179: 15-23.
5. Paul Dmowski W, Braun DP. Immunology of endometriosis. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; 18: 245-63.
 6. Kyama CM, Debrock S, Mwenda JM, D'Hooghe TM. Potential involvement of the immune system in the development of endometriosis. *Reprod Biol Endocrinol* 2003; 1: 123-31.
 7. Berkkanoglu M, Arici A. Immunology and endometriosis. *Am J Reprod Immunol* 2003; 50: 48-59.
 8. Kats R, Collette T, Metz CN, Akoum A. Marked elevation of macrophage migration inhibitory factor in the peritoneal fluid of women with endometriosis. *Fertil Steril* 2002; 78: 69-76.
 9. Kats R, Metz CN, Akoum A. Macrophage migration inhibitory factor is markedly expressed in active and early-stage endometriotic lesions. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 883-9.
 10. Morin M, Bellehumeur C, Therriault MJ, Metz C, Maheux R, Akoum A. Elevated levels of macrophage migration inhibitory factor in the peripheral blood of women with endometriosis. *Fertil Steril* 2005; 83: 865-72.
 11. Brosens J, Timmerman D, Starzinski-Powitz A, Brosens I. Noninvasive diagnosis of endometriosis: the role of imaging and markers. *Obstet Gynecol Clin North Am* 2003; 30: 95-114.
 12. Bedaiwy MA, Falcone T. Laboratory testing for endometriosis. *Clin Ch im Acta* 2004; 340: 41-56.
 13. Moore J, Copley S, Morris J, Lindsell D, Golding S, Kennedy S. A systematic review of the accuracy of ultrasound in the diagnosis of endometriosis. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002; 20: 630-4.
 14. de Kroon CD, van der Sandt HA, van Houwelingen JC, Jansen FW. Sonographic assessment of non-malignant ovarian cysts: does sonohistology exist? *Hum Reprod* 2004; 19: 2138-43.
 15. Todros T, Bontempo S, Piccoli E, Ietta F, Romagnoli R, Biolcati M, et al. Increased levels of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* In press 2005.
 16. Ietta F, Todros T, Ticconi C, Piccoli E, Zicari A, Piccione E, et al. Macrophage migration inhibitory factor in human pregnancy and labor. *Am J Reprod Immunol* 2002; 48: 404-9.
 17. Church TS, Willis MS, Priest EL, Lamonte MJ, Earnest CP, Wilkinson WJ, et al. Obesity, macrophage migration inhibitory factor, and weight loss. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2005; 29: 675-81.
 18. McLaren J. Vascular endothelial growth factor and endometriotic angiogenesis. *Hum Reprod Update* 2000; 6: 45-55.
 19. McLaren J, Prentice A, Charnock-Jones DS, Millican SA, Muller KH, Sharkey AM, et al. Vascular endothelial growth factor is produced by peritoneal fluid macrophages in endometriosis and is regulated by ovarian steroids. *J Clin Invest* 1996; 98: 482-9.
 20. Dmowski WP, Gebel HM, Braun DP. The role of cell-mediated immunity in pathogenesis of endometriosis. *Acta Obstet Gynecol Scand Suppl* 1994; 159: 7-14.
 21. Gebel HM, Braun DP, Tambur A, Frame D, Rana N, Dmowski WP. Spontaneous apoptosis of endometrial tissue is impaired in women with endometriosis. *Fertil Steril* 1998; 69: 1042-7.
 22. Braun DP, Muriana A, Gebel H, Rotman C, Rana N, Dmowski WP. Monocyte-mediated enhancement of endometrial cell proliferation in women with endometriosis. *Fertil Steril* 1994; 61: 78-84.