

한번의 간질발작 후 혈청 Neuron-Specific Enolase 농도 변화

계명대학교 의과대학 신경과학교실

최승호 · 이장준 · 김지언 · 임정근 · 이상도 · 박영춘

Serum Neuron-Specific Enolase Concentration After Single Seizure

Seung-Ho Choi, M.D., Jang-Joon Lee, M.D., Ji-Eun Kim, M.D., Jeong-Geun Lim, M.D.,
Sang-Doe Yi, M.D., Young-Choon Park, M.D.

*Department of Neurology, Keimyung University School of Medicine
Taegu, Korea*

=Abstract=

An increase in neuron-specific enolase (NSE) levels in serum and CSF has been shown to be an useful marker of brain damage after stroke, global ischemia, and coma. We report the changes of serum NSE levels after seizure attacks in epileptic patients compared with the levels in normal controls and epileptic patients without seizure attack at least 7 days (epileptic controls). Twenty-four seizures were included in this study. Blood was drawn within 1 hour, at 12 hour, 24 hour, and 48 hour after seizure attack. Serum NSE levels were measured with radioimmunoassay. The mean NSE levels for normal controls and epileptic controls were 6.94 ng/ml and 7.46 ng/ml, respectively. There were significant increase in level of serum NSE measured within 1 hour after seizure attack in epileptics compared with the level in normal controls (15.10 ng/ml versus 6.94 ng/ml, p<0.05) and epileptic controls (15.10 ng/ml versus 7.46 ng/ml, p<0.05). Serum NSE measured at 12 hours after seizure also increased compared with normal controls (12.32 ng/ml versus 6.94 ng/ml, p<0.05) and epileptic controls (12.43 ng/ml versus 7.46 ng/ml, p<0.05). Between normal controls and epileptic controls, there were no significant difference in serum NSE levels. We conclude that serum NSE level was elevated in epileptic patients who had seizure attack within 12 hours. Serum NSE levels can be useful marker for seizure within 12 hours after onset. The elevated serum NSE level after single seizure attack may suggest that the brain was injured in single seizure.

Key words : Neuron specific enolase, Brain damage, Seizure

서 론

간질중첩증(Status epilepticus)이 뇌에 손상을 일으킨다는 사실은 인간과 동물 실험을 통해 비교적 잘 알려져 있으나(Siesjo & Wieloch, 1986; Degiorgio *et al.*, 1992; Cavazos *et al.*, 1994; Degiorgio *et al.*, 1995), 한번의 간질발작이 인간의 뇌에 미치는 영향에 대한 연구는 아직 미비한 상태이다(Holmes, 1991).

Neuron specific enolase(이하 NSE라고 함)는 수용성 뇌조직 단백질의 1.5%를 구성하고 있으며 신경내분비세포나 신경원의 세포질, 혈소판, 적혈구, 림프구 등에 분포하고 있다(Marangos *et al.*, 1997).

이런 NSE 측정의 임상적 의의는 심정지 후나 뇌졸중 환자 그리고 혼수환자, 뇌 손상을 받은 환자, 간질중첩증, 크로이츠펠트-야콥병(Creutzfeld-Jakob disease)환자 등에서 신경원 조직의 파괴에 따른 임상경과에 따라 혈청과 뇌척수액에서 NSE 농도가 증가되는 것을 이용하여 예후를 예측할 수 있다는 것이다(Royds *et al.*, 1983; Steinberg *et al.*, 1984; Persson *et al.*, 1987; Roine *et al.*, 1989; Cunnin-gham *et al.*, 1994; Schaarschmidt *et al.*, 1994; Degiorgio *et al.*, 1995; Zerr *et al.*, 1995; Butterworth *et al.*, 1996).

최근의 국내 보고에서는 현훈 환자의 혈청 NSE 농도가 중추성 현훈인 경우에 유의하게 증가되어 말초성 현훈과 중추성 현훈을 감별하는데 도움이 된다고 하였다(김원주 외, 1998).

저자들은 신경손상을 예측하는 혈액내 지표로서 혈청 NSE의 변화를 한번의 간질발작 후 급성기에 연속적으로 측정하여 대조군과의 비교를 통해 뇌손상의 여부를 알아보고자 하였다.

연구대상 및 방법

비디오-뇌파 감시검사를 위해 1997년 5월에서 8월 사이에 계명대학교 동산의료원 신경과에 입원한 간질 환자들 중 최소 7일 이상 간질 발작 증상을 보이지 않았던 18명은 간질 대조군으로 하였고 혈액채취를 거부하거나 소세포 폐암 등 NSE의 증가된 소견이 보일 수 있는 경우와 48시간내 2회 이상의 연속적인 간질발작이 있는 경우 등을 제외한 24명은 간질 환자군으로 정하였다. 그리고 같은 시기에 입원한 비슷한 연령군의 정상 성인 15명을 정상 대조군으로 정하여 전향적 연구를 시행하였다.

혈액의 채취는 한번의 발작 후 1시간내 시행하였으며 그 이후로 첫 혈액 채취한 뒤 12시간, 24시간, 48시간 후에 순차적으로 혈액 채취를 시행하였다. 채취된 혈액은 4시간 내에 1500g(gravity)에서 10분 동안 원심분리하여 혈청을 -20°C에서 보관하였다. 혈청 NSE 활성치는 용혈에 의해 적혈구 중의 NSE가 혈청으로 유출되면 큰 영향을 받으므로 용혈된 혈청은 제외하였다.

혈청 NSE는 방사선면역측정법으로 측정하였고 사용된 Kit는 125I에 의해 표지된 NSE(125I-NSE)와 γ 아단위에 특이한 항NSE 혈청, 그리고 2차 항체(second antibody), NSE 표준(standard)으로 구성되어 있으며, 혈청 NSE 측정을 위해 먼저 125I-NSE와 항NSE 혈청, 채취된 혈청을 각각 100/ μ l씩 섞어서 실내온도에서 약 3시간 동안 배양후 2차 항체 200/ μ l을 다시 섞어 실내온도에서 30분 동안 배양하였다. 이것을 3,000g에서 30분 동안 원심분리후 상층액을 뽑아 감마 섬광 계수기(gamma scintillation counter)로 NSE를 측정하였다.

통계방법은 SPSS/PC 프로그램을 이용하였으며 두군간의 평균치 비교는 Wilcoxon Rank

Sum test를 이용하였고, 세군간의 평균치 비교는 Kruskal-Wallis test을 이용하였다.

결 과

연구대상에 포함된 환자군의 나이는 16세에서 37세사이로 평균 25.96 ± 5.50 세였으며 정상 대조군이 29.07 ± 6.65 세, 간질 대조군이 28.78 ± 8.64 세로 각 군간의 유의한 차이는 없었다. 환자군은 24명으로 남자가 15명, 여자가 9명이었다. 환자군의 간질발생나이, 유병기간 및 항

경련제의 복용기간은 각각 13.67 ± 7.14 세, 12.29 ± 4.99 년, 11.92 ± 5.41 년이었고 간질 대조군의 간질발생나이, 유병기간 및 항경련제의 복용기간은 각각 15.33 ± 7.47 세, 13.44 ± 6.22 세, 12.56 ± 6.51 세로 두군간의 유의한 차이는 없었다. 18명의 환자들에서 24회의 간질발작이 관찰되었다. 그리고 간질양상은 24회의 간질발작 모두가 복합부분발작이었으며 이중 14예에서 복합부분발작후 이차성 전신성 발작이 있었다. 평균 발작 시간은 10초에서 130초까지로 평균 64.1초였다 (Table 1).

Table 1. Clinical features of epilepsy patients with seizure and control subjects

	Epilepsy patients with seizure	EC	NC
Number of subjects	24	18	15
Sex ratio (M:F)	15:9	11:7	7:8
Age (years old)	25.96 ± 5.50	28.78 ± 8.64	29.07 ± 6.65
Age of onset (years old)	13.67 ± 7.14	15.33 ± 7.47	
Duration of epilepsy (years)	12.29 ± 4.99	13.44 ± 6.22	
Duration of medication (years)	11.92 ± 5.41	12.56 ± 6.51	
Frequency of seizure	1.8/Mo(0.5-4.5)	0.6/Mo(0-5)	

Analyzed by Kruskal-Wallis one-way ANOVA by ranks and Wilcoxon Rank Sum test.

All:not significant ($P>0.05$)

EC:Epilepsy Controls, NC : Normal Controls

혈청 NSE 측정치의 결과는 정상 대조군에서는 평균치가 6.94 ± 1.81 ng/ml, 간질 대조군은 7.46 ± 2.17 ng/ml로 두군간의 유의한 차이가 없었으며, 이에 대해 환자군에서 발작 후 1시간내에 15.1 ± 7.04 ng/ml, 12시간후에 12.43 ± 6.93 ng/ml로 정상 대조군 및 간질 대조군과 비교하여 유의한 차이로 증가된 반면($P<0.05$), 24시간 및 48시간 후의 혈청내의 NSE 수치는 7.80 ± 3.67 ng/ml와 6.70 ± 2.60 ng/ml로 차이를 보이지

않았다 (Table 2). 그리고 간질의 양상에 따른 혈청내 NSE의 농도는 복합부분발작군과 복합부분발작후 이차적 전신성 발작군간에 비교하여 발작후 1시간내, 12시간, 24시간 및 48시간 모두에서 차이가 없었다 (Table 3). 발작지속시간이 60초 이하인 군(14명)과 60초 이상인 군(10명)으로 나누어 비교하였을 때도 각 시간대마다 양군의 혈청 NSE 농도는 차이가 없었다 (Table 4).

Table 2. Temporal changes in serum NSE in epilepsy patients with seizure and control subjects.

Sex	Time From Seizure Onset (hours)					
	Within 1h	12h	24h	48h	EC	NC
M	15.59 ± 8.03*	13.30 ± 7.12*	8.19 ± 3.89	8.08 ± 2.90	6.27 ± 1.35	7.68 ± 2.07
F	14.19 ± 5.11*	10.80 ± 6.81*	7.02 ± 3.33	7.66 ± 3.76	7.25 ± 2.05	7.16 ± 2.32
Total	15.10 ± 7.04*	12.43 ± 6.93*	7.80 ± 3.67	6.70 ± 2.60	6.94 ± 1.18	7.46 ± 2.17

Analyzed by Kruskal-Wallis one-way ANOVA by ranks

*: p<0.05 compared to the NC and EC.

NSE, ng/ml: mean ± SD

EC : Epilepsy Controls, NC : Normal Controls

Table 3. Temporal changes in serum NSE in different type of seizure.

Seizure type	Time From Seizure Onset (hours)			
	Within 1h	12h	24h	48h
Partial				
Complex partial(n=14)	13.67 ± 4.97	12.08 ± 6.23	7.07 ± 3.94	8.04 ± 3.97
Secondarily generalized(n=10)	15.98 ± 8.22	12.63 ± 7.58	8.25 ± 3.58	7.90 ± 2.79

Wilcoxon Rank Sum test.

All : not significant (P>0.05)

NSE; ng/ml : mean ± SD

Table 4. Temporal changes in serum NSE according to duration of seizure.

Duration of Seizure(Sec)	Time From Seizure Onset (hours)			
	Within 1h	12h	24h	48h
≤ 60(n=14)	14.10 ± 7.44	12.40 ± 4.95	8.00 ± 4.24	8.25 ± 3.20
> 60(n=10)	16.09 ± 6.65	12.46 ± 8.63	7.58 ± 3.14	7.44 ± 3.04

Wilcoxon Rank Sum test.

All : not significant (P>0.05)

NSE, ng/ml : mean ± SD

Mean duration of seizures(Sec) : 64.1(10-130)

고 찰

에놀라제(Enolase(2-phospho-D-glycerate hydrolyase))는 2-Phosp-hoglycerate에서 2-phosphoenol-pyruvate로의 반응을 촉매하는 해당계 효소이다. 동물의 에놀라제는 α , β , γ 의 3종류 아단위(subunit)로 된 2배체로서 $\alpha\alpha$, $\beta\beta$, $\gamma\gamma$, $\alpha\beta$, $\alpha\gamma$ 의 5가지의 이소엔자임(isoenzyme)이 알려졌다(Fletcher, 1976).

그 중 α 에놀라제는 신경교세포(glial cell)에 포함되어 있으나 γ 아단위를 갖는 $\gamma\gamma$ 와 $\alpha\gamma$ 형 에놀라제는 주로 신경세포와 축색돌기에만 존재하고 신경교세포에는 존재하지 않기 때문에 신경 특이성 에놀라제(neuron specific enolase, NSE)라고 명명되었다(Zom-zely, 1982; Shimizu et al., 1983).

NSE를 측정하는데 있어 Ishiguro 등이 개발한 효소면역측정법(enzymeimmunoassay)과 Marangos 등이 개발한 방사선면역측정법이 주로 이용되고 측정값은 소아가 성인에 비해 약간 높은 활성치를 보이며 성별에 따른 차이는 없는 것으로 알려져 있다. 혈청 및 뇌척수액의 NSE는 신경원의 가역적 또는 비가역적 손상후 혈관뇌관문(blood-brain barrier)의 파괴로 신경 원내의 NSE가 혈행이나 뇌척수액으로 빠져나가게 되므로 손상의 범위 및 심한 정도에 비례하여 증가하게 되는데, 이러한 점을 이용하여 여러 질환들에서 뇌 손상의 유무를 검사하는 민감하면서도 유용한 지표로 이용되고 있다(Cunningham et al., 1994; Schaarschmidt et al., 1994; Degiorgio et al., 1995).

본 연구에서는 혈청내 NSE를 측정하여 한번의 발작이 인간에서 뇌손상을 일으킬 수 있는지를 알아보자 하였으며 정상 대조군 및 간질 대조군과 간질 환자군을 비교하여 간질 환자군에서 발작 후 첫 1시간과 12시간에서 NSE

농도의 유의한 증가를 보였으며 그 이후 감소된 점으로 보아 발작후 급성기의 뇌손상이 있음을 추측할 수 있었다. Royds et al(1983)은 한번의 발작 후 5일 이내에 뇌척수액의 NSE 수치가 증가되었고, 발작이 조절되지 않고 계속될 때 가장 높은 수치를 보였다고 하였다. DeGiorgio et al(1995)은 간질중첩증 후 24시간에서 48시간 내에 채취한 혈청의 NSE치가 대조군이나 간질 대조군과 비교하여 의미 있게 증가하였다고 보고하였다.

이러한 결과로 보아 혈청 NSE 수치는 간질 발생대(Epileptogenic zone)의 범위와 여기에 포함된 해부학적 구조물의 취약성을 반영 할 수 있을 것으로 생각된다.

한번의 발작의 지속시간과 경련의 양상에 따른 혈청내 NSE의 수치의 차이는 본 연구 결과에서는 없었으나 여러 보고에서 발작이 지속된 시간이 길수록 혈청내 NSE 수치의 증가의 정도가 커졌고 전신성 발작이나 부분성 발작 중에서 이차적 전신성 경련을 동반된 경우가 부분성 발작만을 가진 경우 보다 혈청내 NSE의 수치가 높았다고 보고하였는데(Lowenstein and Alldredge, 1993; Towne et al., 1994; Degiorgio et al., 1995; Degiorgio et al., 1996; Rab-inowicz et al., 1996), Lowenstein and Alldredge(1993)는 간질중첩증의 평균 시간이 11.2시간 이상인 경우에 예후가 좋지 않은 반면에 2.4시간 이내에서는 좋은 예후를 보였다고 하였고, Towne et al(1994)은 1시간 이상의 간질중첩증에서 사망률이 훨씬 높았다고 하여 본 연구에서의 130초 이내의 짧은 발작 시간에서 혈청내 NSE 수치의 비교는 의미가 없는 것으로 생각된다.

그리고 Ko et al(1990)은 잦은 발작을 보인 경우와 약물에 반응하지 않는 난치성 환자에서 더 높은 NSE 수치를 보였다고 하였다. 인간에서의 간질중첩증에 의한 뇌손상의 정도를 반

영하는 NSE 방출의 기전은 명확치 않은 상태이나 간질중첩증의 동물실험에서 간질중첩증 후 60~120분내에 해마와 대뇌피질에서의 신경원 손상 후 혈관뇌관문의 투과성의 증가로 인해 NSE 수치의 증가된다고 생각되어지고 있는 점을 통해 이 기전으로 한번의 발작을 가진 환자에서의 혈청 NSE 수치의 증가는 발작의 활동성(seizure activity)에 의해 혈관뇌관문의 투과성의 증가되기 때문으로 생각한다(Mihaly and Bozoky, 1984; Nevander *et al.*, 1985; Saija *et al.*, 1992).

그 외에도 임상적으로 혈청 NSE 측정에 의한 경과관찰은 대단히 정확한 것으로 평가되고 채혈할 때 용혈만 주의하면 염증 등에 의한 영향도 받지 않으므로 저산소증에 의한 전반적인 혀혈상태에서 예후를 판정하는 것 뿐 아니라 뇌경색, 크로이츠펠트-야콥병, 심장 수술 후의 뇌손상의 여부 등도 알 수 있는 지표로 이용되고 있고 악성 신경내분비종양, 카르시노이드, 소세포폐암 등의 진행기종양에서 종양의 치료 효과 판정이나 재발을 미리 알 수 있는 지표로도 사용할 수 있다.

결 론

혈청 NSE는 뇌의 여러 질환들에서 뇌손상의 범위 및 심한 정도에 비례하여 증가되므로 뇌손상 유무를 검사하는데 민감하고 유용한 지표이다.

그러나 혈청 NSE 농도의 상승은 비특이적 현상이라 여러 질환을 감별하지는 못한다. 본 논문에서 간질 환자군에서만 발작 후 첫 1시간과 12시간에서 NSE 농도가 유의하게 증가된 후 감소되므로 급성기에 뇌손상이 발생함을 알 수 있었고, 그 기전은 발작의 활동성에 의해 혈관뇌관문의 투과성의 증가되기 때문으로 생

각한다. 결론적으로 한번의 간질발작으로도 인간에서 뇌에 손상이 있을 수 있다.

참 고 문 헌

- 김원주, 김선곤, 유철형 등. 현훈 환자 Neuron Specific Enolase의 임상적 의의. 대한신경과학회지 1998;16:506-509.
- Bergh J, Esscher T, Steinholtz L, Nilsson P. Immunocytochemical demonstration of neuron-specific enolase (NSE) in human lung cancers. *Am J Clin Pathol* 1982;84:1-7.
- Butterworth RJ, Wassif WS, Sherwood RA, *et al.* Serum Neuron-Specific Enolase, Carnosinase, and Their Ratio in Acute Stroke An Enzymatic Test for Predicting Outcome?. *Stroke* 1996;27:2064-2068.
- Carney D, Marangos P, Ihde D, Bunn P, Cohen M, Minna J, Gazdar A. Serum neuron-specific enolase: A marker for disease extent and response to therapy of small cell lung cancer. *Lancet* 1982;1:583-585.
- Cavazos JE, Das I, Sutula TP. Neuronal loss induced in limbic pathways by kindling: evidence for induction of hippocampal sclerosis by repeated brief seizure. *J Neurosci* 1994;14:3106-3121.
- Cunningham RT, Morrow JI, Johnston CF, Buchanan KD. Serum neurone-specific enolase concentrations in patients with neurological disorders. *Clin Chim Acta* 1994;230:117-124.
- DeGiorgio CM, Correale JD, Gott PS, *et al.* Serum neuron-specific enolase in human status epilepticus. *Neurology* 1995;45:1134-1137.
- DeGiorgio CM, Gott PS, Rabinowicz AL, Heck CN, Smith TD, Correale JD. Neuron-specific

- enolase, a marker of acute neuronal injury, is increased in complex partial status epilepticus. *Epilepsia* 1996;37:606-609.
- DeGiorgio CM, Tomiyasu U, Gott PS, Treiman D. Hippocampal pyramidal cell loss in human status epilepticus. *Epilepsia* 1992;33:23-27.
- Fletcher L, Rider CC, Taylor CB. Enolase isoenzymes. III. Chromatographic and immunological characteristics of rat brain enolase. *Biochem Biophys Acta* 1976; 452:245-252.
- Holmes G. Do seizures cause brain damage?. *Epilepsia* 1991;32(suppl 5):s14-28.
- Ko F, Chiang C, Wu C, et al. Studies of neuron specific enolase in serum and cerebrospinal fluid of children with neurological diseases. *Kaohsiung J Med Sci* 1990;6:137-143.
- Lowenstein DH, Alldredge BK. Status epilepticus at an urban public hospital in the 1980s. *Neurology* 1993;43:483-488.
- Marangos PJ, Schmeichel D, Parma AM, Clark RL, Goodwin FK. Measurement of neuron-specific and non-neuronal isoenzymes of enolase in rat, monkey, and human nervous tissue. *J Neurochem* 1997;33:319-329.
- Mihaly A, Bozoky B. Immunohistochemical localization of extravasated serum albumin in the hippocampus of human subjects with partial and generalized epilepsies and epileptiform convulsions. *Acta Neuropathol* 1984;5:127-139.
- Nevander G, Ingvar M, Auer R, et al. Status epilepticus in well oxygenated rats causes neuronal necrosis. *Ann Neurol* 1985;18:281-290.
- Notomi T, Morikawa J, Kato K, Tsuchida Y, Ohsawa R. Radioimmunoassay development for human neuron-specific enolase with some clinical results in lung cancer and neuroblastoma. *Tumour Biol* 1985;6:57-66.
- Odelstad L, Pahlman S, Lackgren G, Larsson E, Grotte G, Nilsson K. Neuron specific enolase: A marker for differential diagnosis of neuroblastoma and Wilm's tumor. *J. Pediatr Surg* 1982;17:381-385.
- Persson L, Hardemark H, Gustafsson J, et al. S-100 Protein and Neuron-Specific Enolase in Cerebrospinal Fluid and Serum: Markers of Cell Damage in Human Central Nervous System. *Stroke* 1987;18:911-918.
- Rabinowicz AL, Correale JD, Boutros RB, Couldwell WT, Henderson CW, Degiorgio CM. Neuron-specific enolase is increased after single seizures during inpatient video/EEG monitoring. *Epilepsia* 1996;37:122-125.
- Roine R, Somer H, Kaste M, Viinka L, Karonen S. Neurological outcome after out-of-hospital cardiac arrest. Prediction by cerebrospinal fluid enzyme analysis. *Arch Neurol* 1989;46:753-756.
- Royds JA, Aelwyn G, Davies-Jones B, Lewtas NA, Timperley WR, Taylor CB. Enolase-isoenzymes in the cerebrospinal fluid of patients with diseases of the nervous system. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1983;46:1031-1036.
- Royds JA, Timperley WR, Taylar CB. Levels of enolase and other enzymes in the cerebrospinal fluid as indices of pathologic change. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988;19:1140-1144.
- Saija A, Princi P, Pisani SA, et al. Blood-brain barrier dysfunctions following systemic injection of kainic acid in the rat. *Life Sci* 1992;51:466-477.
- Schaarschmidt H, Prange HW, Reiber H. Neuron-specific enolase concentrations in blood as a

- prognostic parameter in cerebro-vascular diseases. *Stroke* 1994;25:558-565.
- Shimizu A, Suzuki F, Kato K. Characterization of alpha, beta, and gamma human enolase isoenzymes and preparation of hybrid enolase from homodimeric forms. *Biochem Biophys Acta* 1983;748:278.
- Siesjo B, Wieloch T. Epileptic brain damage: pathophysiology and neurochemical pathology. In: Delgado-Escueta AV, Ward A, Woodbury DM, eds. *New York: Raven Press* 1986;813-847.
- Steinberg R, Gueniau C, Scarna H, Keller A, Worcel M, Pujol JF. Experimental brain ischemia: neuron specific enolase level in cerebrospinal fluid as an index of neuronal damage. *J Neurochem* 1984;577:249-252.
- Towne AR, Pellock JM, Ko D, DeLorenzo RJ. Determinants of mortality in status epilepticus. *Epilepsia* 1994;35:27-34.
- Zerr I, Bordener M, Sabine R, et al. Cerebrospinal fluid concentration of neuron-specific enolase in diagnosis of Creutzfelt-Jakob disease. *Lancet* 1995;345:1609-1610.
- Zomzely-Neurath CE. Nervous system specific protein: 14-3-2 protein, antigen alpha and neuron specific enolase. *Scand J Immunol* 1982;15(suppl 9):1-40.