Tuberculosis and Respiratory Diseases 결핵 및 호흡기질환, Vol. 48, No. 4, Apr, 2000

□원 저□

급성 천식환자에서 혈중 Interleukin-6 및 Soluble Interleukin-6 수용체의 변화

전북대학교 의과대학 내과학교실

이경훈, 이용철, 천기태, 이흥범, 이양근

= Abstract =

Circulating Levels of Interleukin-6 and Soluble Interleukin-6 Receptor in Acute Asthma

Kyoung Hoon Lee, M.D., Yong Chul Lee, M.D., Ki Tae Cheon, M.D., Heung Bum Lee, M.D., Yang Keun Rhee, M.D.

Department of Internal Medicine, Chonbuk National University Medical School, Chonju, Korea

Background : The recognition of bronchial asthma as an inflammatory disease led to the search for soluble markers that would be useful in assessing airway inflammation. Interleukin-6 (IL-6) is a representative proinflammatory cytokine that has been shown to be connected with various inflammatory diseases. IL-6 acts via specific receptors that consist of the IL-6 binding glycoprotein gp80 and the signal transducer gp130. In the search for markers of airway inflammation, delete the role of soluble interleukin-6 receptor (sIL-6R) and IL-6 in acute asthma were investigated.

Methods : Serum levels of sIL-6R and IL-6 were measured in 78 acute asthmatics, in 15 patients with asymptomatic asthma and in 10 healthy control subjects by a specific ELISA using a murine antihuman IL-6R, IL-6 mAb (Quantikine®sIL-6R, IL-6).

Results : Serum levels of IL-6 in acute asthmatics significantly exceeded those of control subjects. The levels of sIL-6R in acute asthmatics were also significantly increased compared to those of control subjects. The serum concentrations of IL-6 obtained in acute asthmatics were elevated compared with those in asymptomatic asthmatics. However, association between eosinophilic count/IgE and IL-6/sIL-6R in acute asthma could not

Address for correspondence :
Yong Chul Lee, M.D.
Department of Internal Medicine, Chonbuk National University, Medical School.
634-18, Keum-am Dong, Chonju, Chonbuk, 561-712 Korea.
Phone : 0652-250-1660, 1686 Fax : 0652-254-1609 E-mail : leeyc@moak.chonbuk.ac.kr

be found.

Conclusion : Our results suggest that IL-6 may be involved in the pathogenesis of acute asthma, and serum levels of IL-6 and sIL-6R may reflect the severity of airway inflammation. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2000, 48 : 464-470)

Key words : IL-6, sIL-6R, Acute asthma, Asymptomatic asthma.

서 론

기관지 천식은 기도의 과민성과 만성 염증반응을 보이는 질환이다. 천식의 급성악화와 기도 염증과의 관계가 밀접하게 관련이 있음이 인식되면서 기도염증을 간접적으로 측정할 수 있는 방법이 많이 시도되고 있다[1,2]. Gosset 등[3,4]은 급성 천식 반응을 보이는 환자에서 폐포 대식 세포로부터 interleukin-6 (IL-6)가 많이 만들어지며, 천식환자의 기관지 상피세포에서 IL-6의 유전자와 단백질의 표현이 증가한다고 보고하였다. 또한, Yokoyama 등[5]은 급성 발작후 2내지 3일 후에 혈청 soluble interleukin-6 receptor (sIL-6R)가 급격하게 증가하며 알레르겐 흡입 후에도 증가함을 보고하였으며 이러한 혈청 sIL-6R가 기도염증을 반영할 수 있다고 하였다. 이러한 천식 환자의 기도에서 비반세포와 호산구가 증가하며 이들 세포로부터 IL-6가 만들어지고 증상이 있는 환자의 경우에서 기관지 폐포 세척액 내의 IL-6가 상승하는 것으로 알려져 있다[6-8]. 하지만, 급성 천식 환자에서 IL-6와 sIL-6R를 동시에 측정해 이들의 병태생리학적 기전에 어떠한 영향을 미치는지에 대한 보고는 거의 없다.

저자들은 sIL-6R 및 IL-6 혈중치의 변화를 측정하여 이들이 급성 천식의 병태 생리에 관여하고 기도 염증의 중증도를 예측하는 표식자로의 유용성을 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1998년 3월 부터 1999년 3월까지 전북대학교 병원을 내원한 기관지 천식환자 중 급성 발작으로 내원한 급성 천식 78명과 무증상 천식 환자 15명을 대상으로 하였다. 평균연령은 급성 발작환자가 53.0±18.9세, 무증상 천식은 56.0±11.4세였고, 급성발작환자에서 남자가 43명, 여자가 35명이었으며, 무증상 천식환자에서는 남자 10명 여자 5명이었다. 또한 평균 FEV_1은 각각 38.5±12.2%, 89.0±9.4%이었다. 정상 대조군은 기관지 천식 환자군과 유사한 연령과 성별 분포를 가지면서 심폐질환의 기왕력이 없고 진찰 및 알레르기 검사 소견상 아토피 및 천식이 없는 경우로 하였다(Table 1). 기관지 천식은 반복적인 천명음, 흉부 압박감과 호흡 곤란 등의 임상증상이 있으며, β_2-agonist의 사용후 FEV_1이 15% 이상 가역적으로 회복되고 메타콜린 유발검사상 PC_{20}치가 8mg/㎖이하인 경우로 정의 하였다. 내원한 급성 천식환자에게

Table 1. Subject characteristics in each group

	N	Mean Age	Sex(M/F)	Mean FEV_1(%)
Control	10	48.6±10.2	6/4	91.5±8
Acute asthma	78	53.0±18.9	43/35	38.5±12.2
Asymptomatic asthma	15	56.0±11.4	10/5	89.0±9.4

* Mean±standard deviation

기관지 확장제 또는 스테로이드등를 투여하여 치료한 후 4주 뒤 증상이 없는 환자를 무증상 천식 환자로 정의하였다. 대상 환자중에서 발열 등과 같은 감염이 의심되는 환자, 간기능 이상자, 혈액학적, 결체조직 혈관질환 및 염증성 장 질환은 본 연구에서 제외하였고, 환자의 병력과 임상 소견, 피부반응검사, 그리고 특이 IgE 및 호산구수를 측정하였다.

2. 방 법

1) 혈청의 처리

급성 발작 천식환자에서 치료를 시작하기 전에 정맥혈 10㎖를 채취하였다. 채취한 혈액은 항응고제 처리가 안된 시험관에 담아 3000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 Eppendorf tube에 담아 1-2시간 응고시켰으며 실험 이전까지 -80℃에 보관하였다.

2) 혈청 IL-6 및 sIL-6R의 측정

혈청에서 IL-6와 sIL-6R는 endogen ELISA kit (QuantikineTM, R & D System Europe, United Kingdom)를 사용하여 sandwitch 원리에 근거한 solid phase enzyme-immunoassay를 이용하여 측정하였다. 방법을 약술하면 IL-6, sIL-6R가 각각 피복된 Kit내의 microtitre plate에 측정하려는 검체 100 $\mu\ell$와 형광물질이 부착된 다크론성의 항체를 함께 첨가하면 검체내의 사이토카인들은 피복된 다크론성의 항체와 결합하여 고정된다. 이후 30분에 항 형광 Streptavidine-HRP항체의 배합체 200$\mu\ell$를 각각의 well에 첨가한 뒤 기질용액 200$\mu\ell$를 첨가하면 결합되어진 사이토카인의 농도에 비례하여 발색반응이 나타난다. 이를 450nm에서 흡광도를 측정하여 미리 작성한 표준곡선을 이용하여 각 검체의 농도를 산출하였다. 이들 kit에서 측정가능한 IL-6, sIL-6R의 예민도는 각각 <1pg/㎖, <7 pg/㎖였다. 사용된 재료로는 anti-human IL-6/sIL-6R precoated stripwell plate, lyophilized E. coli-derived recombinant human IL-6/sIL-6R standard, biotinylated antibody reagent, streptavidin-HRP concentrate와 premixed TMB substrate solution였다.

3) 기본 폐기능 검사

환자에게 미국 Sensor Medics사의 Model 2200을 사용한 폐기능 검사로 1초간 노력성 호기량, 노력성 폐활량, 노력성 호기 중간 유량을 측정하였다.

4) 혈청 IgE농도의 측정

모든 환자에서 치료를 시작하기 전에 채취한 정맥혈 10㎖를 enzyme-linked immunoassay (ELISA) 방법으로 측정하였으며, coating antibody로는 1 : 100으로 희석한 단일 클론성 anti-human IgE (HP 6029)를 사용하였으며, 2차 항체로는 alkaline phosphatase-conjugated anti-human IgE를 사용하였다.

5) 통계 처리

급성 천식환자와 무증상 천식 환자의 혈청 IL-6, sIL-6R, IgE, 호산구수의 측정치를 평균±표준편차로 표시하였다. 양군에서 변화비교는 SPSS 7.0 통계 package를 통한 Mann-Whitney test 및 Wilcoxon's test를 이용하였고 각각의 상관관계를 correlation analysis법으로 분석하였으며 유의 수준은 $p<0.05$로 하였다.

결 과

혈청내 IL-6농도는 급성 천식 환자에서 69.9±26.1 pg/㎖로 대조군 0.5±1.5 pg/㎖에 비해 유의한 증가가 있었으며($p<0.05$) (Fig. 1), sIL-6R는 급성 천식 환자에서 72156.7±2861.3 ng/㎖로 대조 군의 62394.7±4023.1 ng/㎖에 비해 증가하였다($p<0.05$) (Fig. 2). 급성 천식 환자는 무증상 천식 환자와 비교하였을때 IL-6가 의미있게 증가하였다(Fig. 1,

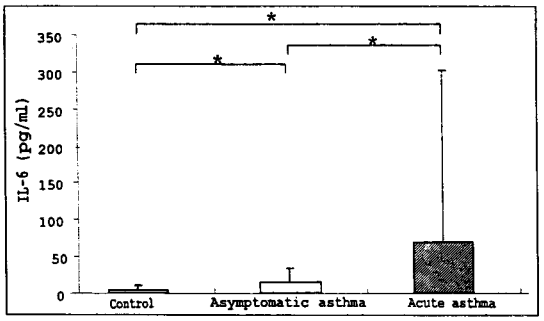

Fig. 1. Serum IL-6 in patients with acute asthmatics, asymptomatic asthma and in healthy control subjects.
The mean value for each group is shown as a horizontal bar. *$p<0.05$; Mann-whitney U-test.

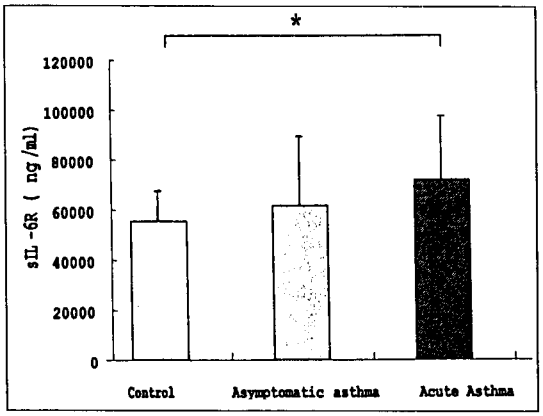

Fig. 2. Serum sIL-6R levels in patients with acute asthmatics, asymptomatic asthma and in healthy control subjects.
The mean value for each group is shown as a horizontal bar. *$p<0.05$; Mann-whitney U-test.

2). 급성 천식 환자에서 혈청내 IL-6와 sIL-6R는 유의한 상관 관계가 있었다($r=0.427$, $p=0.034$) (Fig. 3). 하지만 급성 천식환자에서의 IgE와 호산구 수는 IL-6 및 sIL-6R와 유의한 상관 관계가 없었다 (Fig. 4).

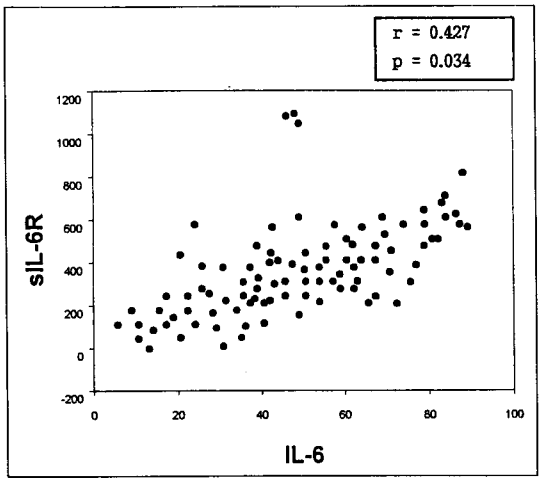

Fig. 3. Association between IL-6 and sIL-6R in acute asthma.

고 찰

기도내 염증반응은 다양한 사이토카인이 호산구, 림프구, 호중구, 비반세포와 같은 다양한 염증세포를 매개하는 세포 면역 반응이 중요하다. 몇몇의 사이토카인에 대한 연구가 말초 혈액 단핵 세포등을 이용한 검사를 통하여 급성 천식 환자에서 시행되었으며 IL-5 및 IL-2 수용체가 급성 천식환자에서 증가한다는 보고들이 있다[9,10]. 하지만, 급성 발작이 일어난 천식환자에게 기관지 내시경을 이용한 조직검사와 기관지 폐포세척액의 획득과 같은 침습적인 검사의 시행은 매우 어렵기 때문에 혈청치의 측정과 같은 비침습적인 방법이 연구되고 있다.

본 연구에서는 sIL-6가 급성 천식환자에서 대조군에 비해 의미있게 증가함을 보였고, 무증상 천식환자에서 측정한 IL-6의 농도 또한 의미있게 증가하였다. 이는 급성 발작 기관지 천식환자에서 sIL-6 혈청 수치가 기도 염증의 중증도를 예측하는 표식자로 유용할 수 있음을 시사한다. IL-6는 감염이나 조직손상에 의하여 시작되는 다양한 면역학적 및 염증 효과에 중요한 역할을 하며, B세포의 분화 및 항체분비의 자극에

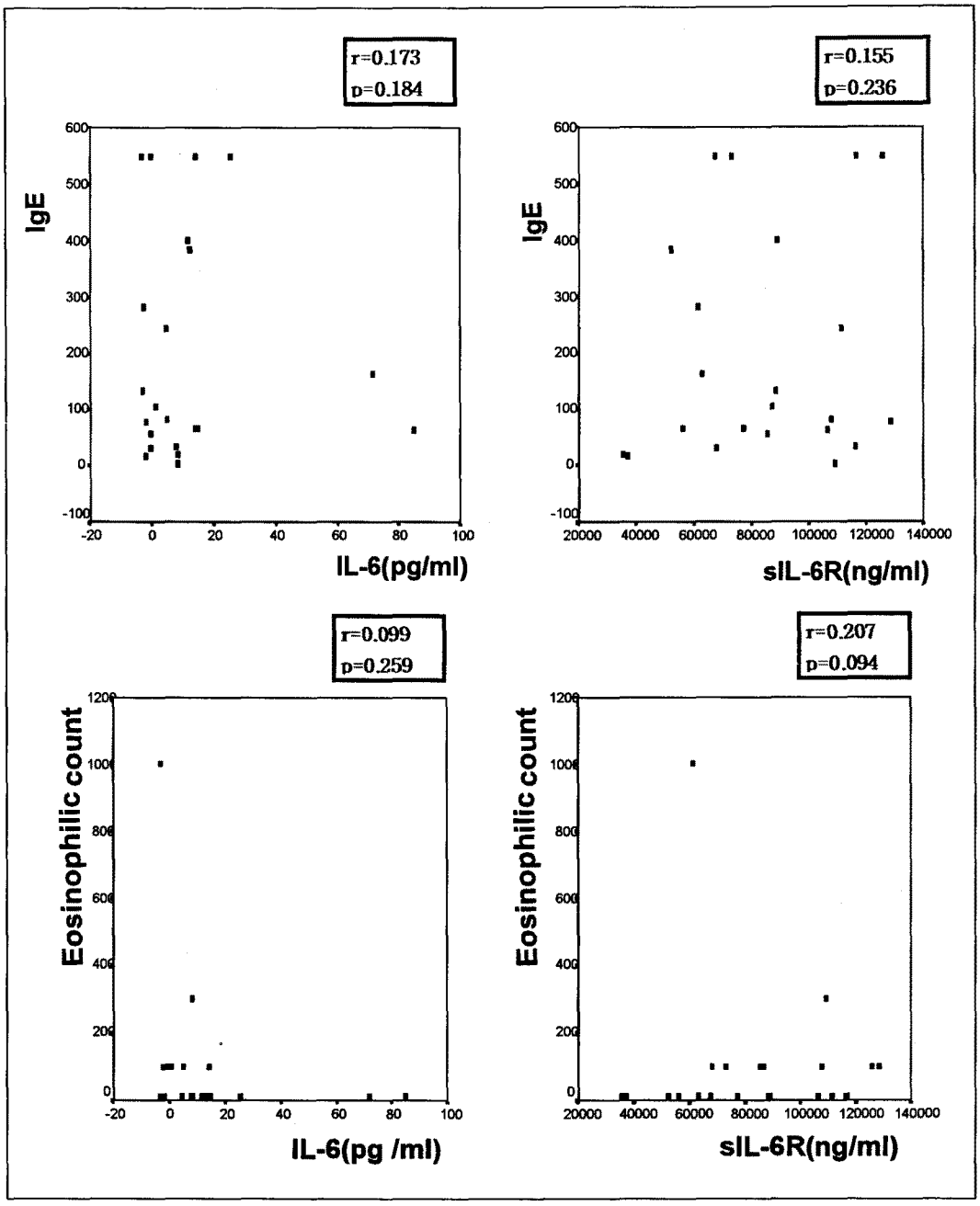

Fig. 4. Association between eosinophilic count / IgE and IL-6 / sIL-6R in acute asthma.

관여하며 T 세포와 자연 살해(natural killer)세포를 활성화하고, IL-4에 의한 IgE합성에 관여한다[1, 3, 6, 11]. Yokoyama 등[12]은 대조군에 비하여 무증상 천식 환자에서 혈청 IL-6가 증가한다고 하였으며, 이러한 무증상 환자보다는 급성 천식 환자에서 혈청 수치가 의미있게 증가한다고 보고하였는데, 이는 저자들의 연구

와 유사하며, 이를 통하여 급성 천식 환자에서 혈청 IL-6의 증가가 천식 증상의 악화 및 병태생리 기전에 관여함을 알 수 있다.

또한, sIL-6R는 급성 기관지 천식환자에서 정상인에 비해 의미있게 증가하였는데 Yokoyama 등[5]도 역시 정상인에 비하여 천식 환자에서 혈청 sIL-6R치가 상승하며 천식의 증상 악화시에 더욱 증가하여 혈청 sIL-6R가 기도염증을 반영할 수 있다고 보고하였다. 이는 IL-6 뿐만 아니라 sIL-6R도 기도 염증을 예측하는 표지자로 유용하리라 생각된다.

IL-6의 생물학적 역할은 2개의 막성 당단백(membrane glycoprotein)으로 구성된 고친화성 복합 수용체에 사이토카인이 결합하면서 시작된다. 이러한 수용체는 IL-6가 결합하는 80kDa (gp80)의 저친화성 수용체와 IL-6가 자체적으로 결합되지 않는 130kDa (gp130)의 고친화성 수용체로 구성된다. sIL-6R는 주로 gp80으로 부터 만들어지며 IL-6가 이와 결합하여 복합체를 이루며 이 복합체가 세포 표면에 위치한 gp130에 결합을 한 후에 IL-6 signal로 변환시킨다. 또한, 지속적인 IL-6혈청치의 상승이 gp80을 하향조절하여 세포들이 IL-6에 반응하지 않도록 한다[13-19]. Saito 등[20]은 기도 염증이 IL-6의 분비를 증가시키며 증가된 IL-6가 sIL-6R를 상승시킨다고 보고해 급성 발작후 혈청 IL-6 및 sIL-6R의 상승을 일으킨다고 하였다. 저자들의 결과에서도 혈청 IL-6와 sIL-6R간에 유의한 상관관계가 있음을 볼 수 있었는데 급성 천식 환자에서 혈청 IL-6와 sIL-6R수치가 상승되는 기전은 아직까지 명확하지 않다.

하지만, 급성 발작 천식환자들에 대한 IL-6 및 sIL-6R의 활용은 IgE와 호산구수등과 같은 임상적 지표와 연관이 부족하며 이들의 혈청치가 다양하여 기준점을 정할 수 없다는 제한점이 있다. 이를 보완하기 위하여 개개인에게 연속적으로 IL-6와 sIL-6R를 측정하면 천식의 질병 활성도를 예측하는데 도움이 될 것으로 사료된다. 이러한 IL-6와 sIL-6R는 또한 객담, 비강내 분비물 및 소변에서도 측정이 가능하여 이를 활용하는 연구도 진행 중에 있다.

결론적으로, 혈청내 IL-6는 급성 천식의 병태 생리에 관여 할 수 있으며, IL-6와 sIL-6R의 혈청치는 기도 염증의 중증도를 예측하는 표식자로 유용할 것으로 생각된다.

요 약

연구배경 :
기관지 천식은 기도의 과민성과 만성 염증반응을 보이는 질환이다. 저자들은 sIL-6R 및 IL-6 혈중치의 변화를 측정하여 이들의 변화가 증상 악화시 기관지 천식의 병인과 관련이 있는지에 대하여 연구하고자 하였다.

방 법 :
1998년 3월 부터 1999년 3월까지 기관지 천식으로 치료중인 환자중에서 증상 악화로 응급실을 경유하여 전북대학교 병원 내과에 입원한 급성 천식 환자 78예와 무증상 천식 환자 15예 그리고 정상인 10예를 대상으로 하였다. 환자의 병력과 임상 소견, 피부반응검사, 그리고 특이 IgE 및 호산구수를 측정하고 endogen ELISA Kit (Quantikine®sIL-6R, IL-6)를 이용하여 sIL-6R, IL-6을 측정하였다.

결 과 :
혈청내 IL-6와 sIL-6R농도는 급성 천식 환자에서 대조군에 비해 유의 있는 증가를 보였으며, 무증상 천식 환자와 비교할 때 IL-6의 의미있는 증가를 보였다. 또한 급성 천식 환자에서 혈청내 IL-6와 sIL-6R간에 유의한 상관 관계가 있었다. 하지만 급성 천식환자에서의 IgE와 호산구수는 IL-6 및 sIL-6R와 유의한 상관 관계가 없었다.

결 론 :
혈청내 IL-6는 급성 천식의 병태 생리에 관여 할 수 있으며, IL-6와 sIL-6R의 혈청치는 기도 염증의 중증도를 예측하는 표식자로 유용할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Kishimoto T. The biology of interleukin-6. Blood 1992;74:1-10.

2. Marini M, Vittori E, Hollemborg J, Mattoli A. Expression of the potent inflammatory cytokines, granulocyte-macrophage-colony stimulating factor and interleukin-6 and interleukin-8 in bronchial epithelial cells of patients with asthma. J Allergy Clin Immunol 1992;89:1001-9.
3. Gosset PA, Tsicopoulos B, Wallaert C, Vannimenus M, Joseph A. Increased secretion of tumor necrosis factor α and interleukin-6 by alveolar macrophages consecutive to the development of the late asthmatic reaction. J Allergy Clin Immunol 1991;153:561-71.
4. Bradding PJ, Roberts KM, Britten S, Montefort R, Djukanovic R, Muller C, et al. Interleukin-4,-5 and -6 and tumor necrosis factor-α in normal and asthmatic airways. Am J Respir Cell Mol Biol 1994;10:471-80.
5. Yokoyama A, Kohno N, Sakai K, Kondo K, Hirasawa Y, Hiwada K. Circulating levels of soluble interleukin-6 receptor in patients with bronchial asthma. Am J Respir Crit Care Med 1997; 156:1688-91.
6. Yanagida MH, Fukamachi K, Ohgami T, Kuwaki H, Ishii H, Uzumaki K, et al. Effects of T-helper 2-type cytokines, interleukin-3(IL-3), IL-4, IL-5, and IL-6 on the survival of cultured human mast cells. Blood 1995;6:3705-14.
7. Hamid QJ, Barkans Q, Meng S, Ying JS, Abrams B, Kay A, et al. Human eosinophils synthesize and secrete interleukin-6. in vitro. Blood 1992; 80:1496-1501.
8. Broide DH, Lotz A, Cuomo D, Coburn E, Federman C, Wassermman A. Cytokines in symptomatic asthma airway. J Allergy Clin Immunol 1993;147:958-67.
9. Venge P. Soluble markers of allergic inflammation. Allergy 1994;49:1-8.
10. Brown PH, Crompton GK, Greening AP. Proinflammatory cytokines in acute asthma. Lancet 1991;338:590-3.
11. DiCosmo BF, Geba D, Picarella JA, Elias JA, Rankin BR, Stripp JA, et al. Airway epithelial cell expression of interleukin-6 in transgenic mice J Clin Invest 1994;94:2028-35.
12. Yokoyama A, Kohno N, Fujino S, Hamada H, Inoue Y, Fujioka S, et al. Circulating interleukin-6 levels in patients with bronchial asthma. Am J Respir Crit Care Med 1995;151:1354-8.
13. Romangnani S. Human Th1 and Th2 subsets: doubt no more. Immuno Today 1991;12:256.
14. Howard MC, Miyajima A, Coffman R. T-cell derived and their receptors In Paul W(Ed.) Fundamental immunology 1993;3:763.
15. Mosmann TR, Coffman RL. Th1 and Th2 cells : different patterns of lymphokine secretion lead different functional properties. Annu Rev Immunol 1989;7:145.
16. Wang ZP, Malmberg P, Larsson BM, Larsson K. Time course of interleukin-6 and tumor necrosis factor-α increase in serum following inhalation of swine dust. Am J Respir Crit Care Med 1996; 153:147-52.
17. Yokoyama A, Kohno N, Hirasawa K, Kondo M, Abe Y, Inoue Y, et al. Evaluation of soluble IL-6 receptor concentration in serum and epithelial lining fluid from patients with interstitial lung disease. Clin Exp Immunol 1995;100:325-9.
18. Heaney ML, Golde DW. Soluble cytokine receptors Blood 1996;87: 847-57.
19. Takishima TW, Hida H, Sasaki S, Suzuki N, Sasaki T. Direct-writing recorder of the dose-response curves of the airway to methacholine: clinical application. Chest 1981;80:600-6.
20. Saito M, Yoshida K, Hibi N, Nakano T, Kishimoto K. Molecular cloning of a murine IL-6 receptor-associated signal transducer gp 130, and its regulated expression in vivo. J Immunol 1992;148:4066-71.