

□ 원 저 □

## 패혈증환자에서 혈청 TNF- $\alpha$ 및 IL-1 $\beta$ 농도 측정의 임상적 의의<sup>†</sup>

서울대학교 의과대학 내과학교실 및 의학연구원 패 연구소

김재열<sup>‡</sup>, 이춘택, 김영환, 한성구, 민경업, 김유영, 심영수, 유철규

= Abstract =

### Clinical Implication of Serum Tnf- $\alpha$ and Il-1 $\beta$ Measurement in Patients with Sepsis

Jae-Yeol Kim, M.D., Hyung-Seok Choi, M.D., Choon Taek Lee, M.D.,  
Young Whan Kim, M.D., Sung Koo Han, M.D., Kyung-Up Min, M.D.,  
Yoo-Young Kim, M.D., Young Soo Shim, M.D., Chul-Gyu Yoo, M.D.

*Department of Internal Medicine & Lung Institute, Seoul National University,  
College of Medicine, Seoul, Korea*

**Background :** It is well known that when macrophages are stimulated with endotoxin, they produce a wide variety of cytokine mediators, including TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ . However, there is an alteration in the macrophages' responsiveness when they are challenged with repeated bouts of endotoxin, termed "endotoxin tolerance" which is regarded as a self-protective phenomenon from continuous stimulation. In this study, endotoxin tolerance in the peripheral blood monocytes of sepsis patients was evaluated.

**Methods :** Fourteen patients with organism-documented sepsis were included. The severity of illness was evaluated by APACHE II score. Peripheral blood monocytes were isolated from the patients and diluted to  $1 \times 10^5$ /well. After stimulation with endotoxin (LPS of E. coli O114 : B4, 100 ng/ml), they were incubated at 37°C in 5% CO<sub>2</sub> incubator for 24 hours. Supernatant was collected for the measurement of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  with

<sup>†</sup>본 논문은 1997년도 서울대학교병원 임상연구비(과제번호 : 01-1997-004-0)의 보조로 이루어 졌음.

<sup>‡</sup>현 주소는 중앙대학교 의과대학 내과학교실

Address for correspondence :

Chul-Gyu Yoo, M.D.

Department of Internal Medicine and Lung Institute, Seoul National University, College of Medicine  
28 Yongon-dong, Chongno-gu, Seoul 110-744, Korea

Phone : 02-760-3760 Fax : 02-762-9662 E-mail : cgyoo@snu.ac.kr

ELISA method. Peripheral blood monocytes of seven healthy volunteers were used as control.

**Results :** The APACHE II score (mean $\pm$ SD) of the patients at the time of blood sampling was  $12.2\pm5.7$ . The primary infection foci were urinary tract infection, pneumonia, subacute bacterial endocarditis, and catheter related infection, etc. The causative organisms were gram negative rods (10 cases), gram positive cocci (6 cases) with two cases of mixed infection. Serum TNF- $\alpha$  could be measured in 4 cases with  $29.9\pm27.7$  pg/ml. Serum IL-1 $\beta$  was measurable in only one patient. The TNF- $\alpha$  level of supernatant of cultured peripheral blood monocytes was  $2,703\pm2,066$  pg/ml in patients and  $2,102\pm1914$  pg/ml in controls. The IL-1 $\beta$  level of supernatant was  $884\pm1,050$  pg/ml in patients and  $575\pm558$  pg/ml in controls. There was no difference of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  level between patients and controls.

**Conclusion :** We cannot prove the phenomenon of endotoxin tolerance in this study. Future study needs to be focused on the more severe sepsis patients who were taken for sampling earlier. Addition of serum to the culture medium could be an another valuable option for the success of this study. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 2000, 49 : 217-224)

**Key words :** Endotoxin tolerance, sepsis, Peripheral blood monocyte, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ .

## 서 론

패혈증 및 다장기부전증은 높은 사망률을 보이는 질환군으로 주로 감염, 외상, 화상 및 기타의 염증성 질환들에 의해 유발된다. 현재까지 밝혀진 바로는 패혈증에서 나타나는 전신 염증 반응의 병인에는 그람음성균의 세포벽에서 유래된 내독소(lipopolysaccharide)가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 내독소는 단핵구 등의 염증세포에 작용해서 염증의 유발 및 증폭을 유발하며<sup>1-5</sup>, 중증의 패혈증에서는 지속적인 내독소의 자극에 의해 유발된 염증 반응이 개체의 사망을 유발하는 것으로 생각되고 있다.

정상적으로 인체는 지속적인 자극에 대해 스스로 반응을 낮춤으로써 방어하는 현상을 보이는데 이를 내성(tolerance)이라고 한다. 내독소 자극에 있어서도 마찬가지로, 염증세포들은 지속적인 내독소 자극에 대해 반응성이 낮아지는 현상을 보인다. 실제로 단핵구에 대해 낮은 농도의 내독소로 전처리 한 후에 이어서 높은 농도의 내독소를 투여하는 경우에는 낮은 농도의 전처리가 없는 경우에 비해서 TNF- $\alpha$ 와 IL-1과 같은 proinflammatory cytokine의 분비가 억제된다<sup>6-9</sup>.

또한 패혈증 환자의 단핵구는 정상대조군에 비해서 내독소로 자극하여도 TNF- $\alpha$ 와 같은 염증매개 cytokine의 분비능이 현저히 떨어져 있다는 보고도 있다<sup>10</sup>. 이러한 현상을 “내독소 내성(endotoxin tolerance)”이라고 하며, 내독소의 지속적인 자극에 대해 염증세포의 반응도를 낮춤으로써 인체 스스로를 보호하려는 작용으로 이해되고 있다. 따라서 패혈증이 중증으로 진행되거나 사망에 이른 경우는 자체 방어 작용의 하나인 내독소 내성 현상의 발생이 제대로 작동하지 않았을 가능성이 있다. 하지만 내독소 내성의 현상이 모든 패혈증에서 일관되게 보이는 현상인지, 원인질환과 원인균에 따라서 내독소 내성의 발현에 차이가 있는지 그리고 내독소 내성의 발생과 질환의 예후 사이에 실제로 관련이 있는지 등에 대해서는 아직까지 확실하게 밝혀지지 않은 상태이다. 본 연구에서는 전신 염증 반응을 나타내면서 정상적으로는 무균상태인 임상검체에서 균배양 양성을 보인 패혈증 환자를 대상으로 하여 질환의 중증도를 평가한 뒤, 실제로 환자의 말초혈액단핵구에서 정상대조군과 비교하였을 때 내독소 내성이 나타나는지를 확인하고자 하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 연구 대상

1996년 3월부터 9월까지 서울대학교 병원에 입원한 환자 중에서 American College of Chest Physician-Society의 Critical Care Medicine Consensus Conference에서 정한 sepsis의 기준<sup>1)</sup> 즉 1) 체온  $\geq 38^{\circ}\text{C}$  또는  $\leq 36^{\circ}\text{C}$  2) 심박동  $\geq 90$ 회/분 3) 호흡수  $\geq 20$ /min 또는  $\text{PaCO}_2 \leq 32$  mmHg 4) 백혈구수  $\geq 12,000$  또는  $4,000/\mu\text{l}$  미성숙 호중구 (band)  $\geq 100/\mu\text{l}$  중에서 2개 이상을 만족시키면서 미생물학적으로 배양 양성인 환자를 대상으로 하였다. 패혈증 중증도는 채혈 당시의 APACHE score로 평가하였다.

### 2. 말초혈액 단핵구의 분리

대상환자에서 헤파린을 묻힌 주사기를 이용하여 20 ml의 말초혈액을 채취한 뒤 동량의 생리식염수를 섞어서 희석시킨 뒤 Ficoll-Hypaque density gradient method를 이용하여 단핵구를 분리하였다. 분리한 단핵구는 trypan blue 염색을 통하여 viability를 측정하였다. 건강한 자원자를 대상으로 하여 같은 방법으로 말초혈액 단핵구를 분리하여 대조군으로 이용하였다.

### 3. 말초혈액 단핵구에 대한 내독소 자극

분리한 말초혈액 단핵구는 96 well culture plate에  $1 \times 10^6$ /well의 농도로 분주한 뒤에 5%  $\text{CO}_2$  incubator ( $37^{\circ}\text{C}$ )에 약 한 시간 동안 배양한 뒤, 부착되지 않고 상층액에 남아있는 성분은 제거하여 단핵구 분획만을 분리하였다. 이어서 RPMI 1640 배양액 0.1 ml를 추가한 뒤에 환자군과 대조군 모두 LPS(E coli 0111 : B4, Sigma)를 100 ng/ml의 농도로 투여하였다.

### 4. 상층액에서 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 측정

LPS로 자극 후 24시간 뒤에 상층액을 회수한 뒤, 500 RPM으로 5분간 원심분리하여 세포 성분을 가라앉힌 뒤 상층액을 분리하여 측정 전까지  $-70^{\circ}\text{C}$  defreezer에 보관하였다. 상층액에서 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 농도 측정은 ELISA (R&D system, MN, USA) 방법을 이용하였다.

### 5. 통계분석

평균치 비교는 T-test를 이용하였고, p값이  $< 0.05$ 인 경우에 통계적으로 의미가 있다고 판단하였다.

## 결 과

### 1. 대상 환자들의 임상적 특성

환자는 총 14명으로 남자 8명 여자 6명이었고, 나이 (평균  $\pm$  표준편차)는  $56 \pm 19$ 세였다. 환자들은 1명을 제외하고는 모두 악성종양(4명), 만성신부전(3명), 당뇨(2명), 판막성심질환(1명), 간경변증(1명), 간내결석(1명), 궤양성 대장염(1명) 등의 기존질환을

Table 1. Demographic features of patients

Patient number	14 (M : 8, F : 6)
Age	$56 \pm 19$
Underlying disease	Malignancy (4), CRF (3), DM (2), VHD (1), LC (1), IHD stone (1), UC (1)
APACHE score	$12.2 \pm 5.7$
Sampling time (min) <sup>†</sup>	$113 \pm 184$

CRF : chronic renal failure

DM : diabetes melitus

VHD : valvular heart disease

LC : liver cirrhosis

IHD : intrahepatic duct

UC : ulcerative colitis

<sup>†</sup>: time from fever to blood sampling

Table 2. Infection sites and causative organisms of sepsis

Infection source	Culture site	Organism
Acute cholangitis	PTBD fluid	<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. cloacae</i>
Acute pharyngitis	Throat swab	<i>K. pneumoniae</i> , <i>S. aureus</i>
Catheter infection	Blood/Catheter	<i>S. epidermis</i>
Infectious diarrhea	Blood	<i>S. sanguis</i>
Liver absces	Blood	<i>K. pneumoniae</i>
Peritonitis	Ascites	<i>E. cloacae</i>
Pneumonia	Sputum	<i>S. pneumoniae</i>
Pneumonia	Sputum	<i>K. pneumoniae</i>
SBE	Blood	<i>MSSA</i>
UTI	Blood	<i>E. coli</i>
UTI	Blood	<i>E. coli</i>
UTI	Urine	<i>E. coli</i>
UTI	Blood	<i>E. coli</i>
Wound	Blood	<i>S. hemolyticus</i>

SBE : subacute bacterial endocarditis

UTI : urinary tract infection

MSSA : Methicillin sensitive staphylococcus aureus

가지고 있었다.

혈액채취시의 APACHE II score(평균 ± 표준편차)는  $12.2 \pm 5.7$  이었다. 발열부터 혈액채취까지의 시간(평균 ± 표준편차)은  $113.3 \pm 184.8$ 분이었다. 대수환자 중에 경과 중 사망한 경우는 1례였다(Table 1).

감염 원발부위는 요로감염(4례), 폐렴(2례), 아급성심내막염(1례), 도관감염(1례), 급성담관염(1례), 창상감염(1례), 간농양(1례), 복막염(1례), 감염성 설사(1례), 급성편도선염(1례)이었다. 배양 양성 검체는 혈액이 8례, 객담이 2례, 복수가 1례, 담즙이 1례, 소변이 1례, 편도선 도말이 1례였다. 원인균은 그람음성간균 10례(*E. coli* 5례, *K. pneumoniae* 4례, *E. cloacae* 1례), 그람양성균 6례였고 이 중에는 복합감염이 2례가 있었다(Table 2). 대조군은 건강한 자원자 총 7명(남자 6명, 여자 1명)으로 나이(평균 ± 표준편차)는  $32 \pm 2.9$ 세였다.

## 2. 혈청 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 측정치

환자군의 혈청 TNF- $\alpha$ 는 4명에서 측정이 가능했고, 측정된 환자의 TNF- $\alpha$ 값(평균 ± 표준편차)은  $29.7 \pm 27.7$  pg/ml이었다. 혈청 IL-1 $\beta$ 는 1명의 환자에서만 측정되었고 측정치는 16.1 pg/ml 이었다. 대조군의 혈청에서는 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$  모두 측정되지 않았다.

## 3. 말초혈액단핵구 배양 상층액의 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 농도

내독소 자극 전에는 환자와 대조군 모두 배양 상층액에서 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 가 측정되지 않았다. 내독소 자극 후 24시간 뒤에 환자군의 말초혈액 단핵구 배양상층액의 TNF- $\alpha$  농도는  $2,703 \pm 2,066$  pg/ml, 환자군은  $2,101 \pm 1,914$  pg/ml이었다. 내독소 자극 후 24

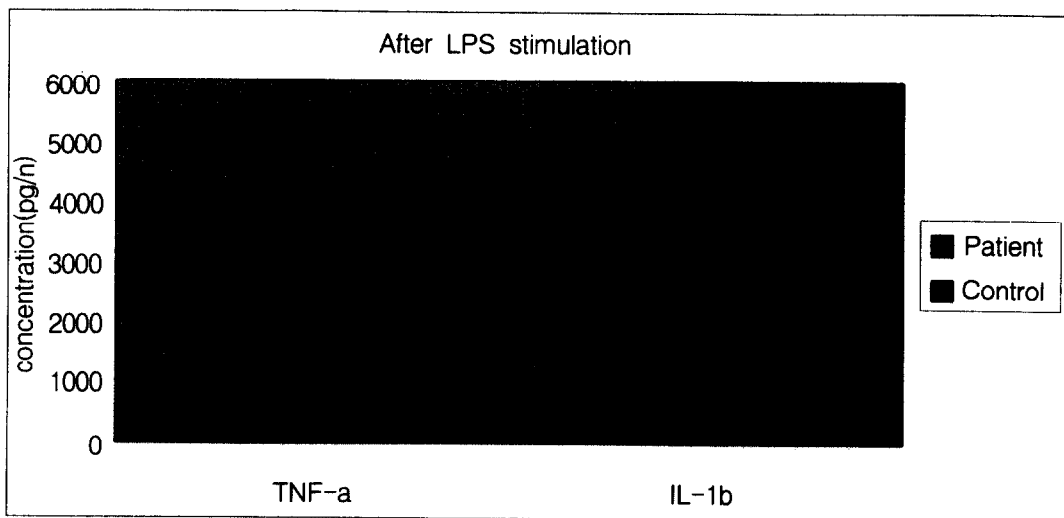


Fig. 1. Concentration of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in the supernatant of mononuclear cell culture in patients with sepsis and healthy control. After stimulation with LPS (100 ng/ml), mononuclear cells ( $1 \times 10^6$ ) were incubated at 37°C in 5% CO<sub>2</sub> incubator. The concentration of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  were measured by ELISA method.

시간 뒤에 환자군의 배양상층액의 IL-1 $\beta$  농도는  $884 \pm 1,050$  pg/ml, 대조군은  $575 \pm 558$  pg/ml 이었다. 환자군과 대조군 모두 내독소 자극 후에는 상층액에서 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 농도가 의미있게 증가하였으나( $p < 0.05$ ), 두 군 사이에서 농도의 의미있는 차이는 없었다(Fig. 1).

## 고 찰

이미 잘 알려진 바와 같이 그람음성균의 세포벽의 한 성분인 내독소는 패혈증에서 염증 반응을 유발하는 중요한 성분이다. 내독소로 자극받은 단핵구/대식세포는 interleukin-1(IL-1), IL-6 그리고 TNF- $\alpha$ 와 같이 염증반응을 매개하는 cytokine의 생성을 촉진시키며<sup>12</sup>, 패혈증에서의 전신 염증 반응에 이러한 cytokine의 작용이 중요한 역할을 수행하는 것으로 이해되고 있다<sup>13,14</sup>. 하지만 패혈증에서 내독소의 자극에 대해 지속적으로 염증 유발 cytokine이 생성된다면 생체는 증폭된 염증반응에 의해서 생명을 유지하는

것이 불가능할 것이다. 따라서 지속적인 내독소의 자극이 있는 경우에는 염증세포의 반응이 감소되는 현상을 보임으로써 스스로를 보호하게 되며, 이러한 현상을 “내독소 내성(endotoxin tolerance)” 이라고 한다. 이 현상은 생체의외에서 단핵구/대식세포에 내독소를 소량 전처리한 후 다시 내독소를 추가로 준 연구들<sup>6-9,15,16</sup>과 패혈증 환자에서 말초혈액 단핵구를 채취 분리한 후에 내독소를 준 실험<sup>10</sup>에서 증명된 바 있다.

박 등<sup>17</sup>은 정상인의 말초혈액 단핵구를 채취 분리하여 저농도의 내독소로 전처리한 뒤 다시 고농도의 내독소를 투여한 경우에 TNF- $\alpha$  단백질 생성 및 mRNA의 발현이 억제되었다고 보고한 바 있다. 위 연구는 생체의외의 내독소 자극에 의한 내성발현을 살펴본 것인 것이며, 본 연구는 생체내에서 내독소의 자극을 받는 패혈증 환자의 말초혈액 단핵구에서 내독소 내성의 현상을 살펴보고자 하였다. 패혈증 환자에서는 지속적인 내독소의 자극에 의해 말초혈액 단핵구에서의 염증 유발 cytokine 생성능이 감소되어 있을 것이라는 가정을 하였으며, 환자군과 대조군에서 분리한 말초혈액

단핵구에 대해 내독소를 투여한 뒤에 배양 상층액에서 대표적인 염증 유발 cytokine인 IL-1 $\beta$ 와 TNF- $\alpha$ 의 농도를 측정하였다. 하지만 결과를 살펴보면 예상과는 달리 양 군 사이에서 배양 상층액의 IL-1 $\beta$ 와 TNF- $\alpha$ 의 농도에 의미있는 차이를 관찰할 수 없었다.

처음의 예상과는 달리 본 연구에서 내독소 내성의 현상을 관찰할 수 없었던 이유를 몇 가지로 추론해볼 수 있다. 우선은 대상환자 선정의 문제이다. 본 연구에서 패혈증의 진단은 American College of Chest Physician-Society의 Critical Care Medicine Consensus Conference에서 정한 sepsis의 기준을 적용하였기 때문에 패혈증이 아닌 환자가 포함되었을 가능성은 적을 것으로 생각된다. 하지만 대상 환자들의 APACHE II score (평균  $\pm$  표준편차)가  $12.2 \pm 5.7$ 로 대체적으로 낮은 편이었기 때문에 패혈증 중에서 경증의 환자가 선택되어 발생한 selection bias의 가능성이 있다. 실제로 Wilson 등<sup>10</sup>에 의하면 패혈증 환자의 말초혈액 단핵구에서는 내독소 내성의 현상이 관찰되었으나, 전신염증반응증후군(systemic inflammatory response syndrome : SIRS) 환자에서는 이러한 현상이 관찰되지 않았으며, 이 연구에서 단핵구의 염증 반응의 지표로 측정된 단핵구 배양 상층액의 TNF- $\alpha$ 의 농도는 염증의 중증도 지표로 이용한 multiple organ dysfunction (MOD) score와 의미있는 상관관계를 나타내었다. 따라서 향후에는 보다 중증의 패혈증 환자를 대상으로 한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

다른 이유로는 패혈증 발생과 혈액 채취 사이의 시간에 의한 영향을 고려할 수 있다. 본 연구에서 발열부터 채혈까지의 시간(평균  $\pm$  표준편차)은  $113.3 \pm 184.8$  분이었다. 그 때문인지 총 14명의 환자 중에서 혈청내에서 TNF- $\alpha$ 가 측정된 경우는 4례였고, IL-1 $\beta$ 가 측정된 경우는 1례에 불과하였다. 패혈증에서는 발생 시점에서 시간이 경과할수록 혈청의 염증 유발 cytokine의 농도가 급격히 감소한다<sup>18</sup>. 본 연구에서 대상으로 한 환자는 대부분 패혈증 돌입 직후에 항생제를 처방받았기 때문에 시간이 경과할수록 패혈증에

서 관찰되는 말초혈액 단핵구의 변화를 관찰하기가 어려웠을 가능성이 높다.

마지막으로 말초혈액 단핵구의 배양액에 혈청을 추가하지 않았던 점을 들 수 있다. 내독소가 말초혈액 단핵구에 작용하는 데에는 혈청에 존재하는 lipopolysaccharide-binding protein (LBP)의 존재가 중요하다<sup>19-22</sup>. LBP와 결합한 내독소는 단핵구의 CD14에 결합하여 반응을 유발하는 것으로 알려져 있다<sup>23,24</sup>. Martin 등<sup>19</sup>은 LBP의 존재하에서는 내독소의 연속적인 자극에 대해 말초혈액 단핵구의 반응 감소 현상이 더욱 뚜렷했다고 보고한 바 있다.

본 연구에서는 패혈증 환자를 대상으로 내독소 내성 현상을 살펴보려 하였으나, 상기한 가능성들에 의해서 내독소 내성의 현상을 확인하지는 못하였다. 향후에는 보다 중증의 패혈증 환자를 대상으로 하고, 혈액 채취 시간을 패혈증 돌입 직후에 시행하며, 말초혈액 단핵구의 배양액에 혈청을 추가하는 등의 보완이 필요할 것으로 사료된다.

## 요 약

### 연구배경 :

패혈증에서는 지속적인 내독소 자극에 의해 염증 반응이 계속 유발될 수 있으나, 염증반응에 주도적인 역할을 하는 말초혈액 단핵구는 반응도를 스스로 낮춤으로써 염증 반응을 감소시키는 경향을 보이는데, 이러한 현상을 내독소 내성(endotoxin tolerance)라고 한다. 내독소 내성은 과도한 염증반응에 대한 자체의 방어작용으로 이해되고 있다. 본 연구에서는 조직액에서 감염균이 증명된 패혈증 환자를 대상으로 추출한 말초혈액 단핵구에서 내독소 내성의 현상을 관찰하고자 하였다.

### 방 법 :

American College of Chest Physician-Society의 Critical Care Medicine Consensus Conference에서 정한 sepsis의 기준을 만족하고, 감염균이 확인된 14명의 환자를 대상으로 하였으며 질환의 중증도는

APACHE II score를 이용하여 평가하였다. 대상환자의 혈청에서 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 농도를 측정된 뒤, 말초혈액 단백구를 추출, 배양하여, 내독소(100 ng/ml)로 자극하였다. 내독소 자극 후 24시간 뒤에 배양상층액에서 ELISA 방법으로 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 농도를 측정하였다. 같은 방법으로 건강한 정상대조군 7명의 말초혈액단백구 배양 상층액의 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$  농도를 측정하였다.

#### 결 과 :

대상 환자는 총 14명(남자 : 8명, 여자 6명)으로 APACHE II score는  $12.2 \pm 5.7$ 이었다. 감염의 원발 부위는 노관감염, 폐렴, 아급성심내막염, 도관감염, 급성담관염 등이었다. 감염 원인균은 그람 음성 간균 10례, 그람 양성균 6례였고, 이 중에는 복합감염이 2례가 있었다. 환자군의 혈청 TNF- $\alpha$ 는 4명에서 측정이 가능했고 평균치는  $29.7 \pm 27.7$  pg/ml이었다. IL-1 $\beta$ 는 1명에서 측정가능했고 측정치는 16.1 pg/ml이었다. 내독소 자극 후 말초혈액 단백구 배양 상층액의 TNF- $\alpha$ 농도는 패혈증 환자는  $2,703 \pm 2,066$  pg/ml, 대조군은  $2,101 \pm 1914$  pg/ml이었고, IL-1 $\beta$  농도는 환자군은  $884 \pm 1,050$  pg/ml, 대조군은  $575 \pm 558$  pg/ml으로 두 군 사이에 의미있는 차이는 없었다.

#### 결 론 :

본 연구에서는 예상과는 달리 패혈증 환자의 말초혈액 단백구에서 내독소내성을 관찰할 수 없었다. 향후 보다 중증의 환자를 대상으로 하고, 조기에 혈액을 채취하며, 말초혈액 상층액에 혈청을 추가하는 등의 보완을 통하여 재평가가 필요할 것으로 판단된다.

## 참 고 문 헌

1. Michie HR, Manogue KR, Spriggs DR. Detection of circulating tumor necrosis factor after endotoxin administration. *N Engl J Med* 1988;318:1481-6
2. Munoz C, Carlet J, Fitting C, Misser B, Bleriot JP, Cavailon JM. Dysregulation of in vitro cytokine production by monocytes during sepsis. *J Clin Invest* 1991;88:1747-54
3. LeMay DR, LeMay LG, Kluger MJ, Daley LC. Plasma profiles of IL-6 and TNF with fever inducing doses of lipopolysaccharide in dogs. *Am J Physiol* 1991;259:R126-32
4. Lergen MT, Tannenbaum CS. LPS regulation of specific protein synthesis in murine peritoneal macrophages. *J Immunol* 1986;136:988-93
5. Fong Y, Moldawer LL, Marano M, Wei H, Tatter SB, Clarick RH, Santhanam U, Sherris D, May LT, Sehgal PB. Endotoxemia elicits increased beta2-IFN/IL-6 in man. *J Immunol* 1989;142:2321-4
6. West MA, Seatter SC, Bellingham J, Clair L. Mechanism of reprogrammed macrophage endotoxin (LPS) signal transduction after LPS pretreatment. *Surgery* 1995;118:220-8
7. West MA, Seatter SC, Clair L, Bellingham J, Bennett T. LPS pretreatment reprograms macrophage LPS-stimulated TNF and IL-1 release without protein tyrosine kinase activation. *J Leukocyte Biol* 1997;61:88-95
8. Seatter SC, Bergren T, Li MH, Bubrick MP, West MA. Macrophage endotoxin tolerance: Tumor necrosis factor and interleukin-1 regulation by lipopolysaccharide pretreatment. *Arch Surg* 1994;129:1263-9
9. Li MH, Seatter SC, Manthei R, Bubrick MP, West MA. Macrophage endotoxin tolerance: Effect of TNF or endotoxin pretreatment. *J Surg Res* 1994;57:85-92
10. Willson CS, Seatter SC, Rodriguez JL, Bellingham J, Clair L, West MA. In vivo endotoxin tolerance: Impaired LPS-stimulated TNF release of monocytes from patients with sepsis, but not

- SIRS. *J Surg Res* 1997;69:101-6
11. American College of Chest Physicians-Society of Critical Care Medicine Consensus Conference. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992;20:864-75
12. Nathan CF. Secretory products of macrophages. *J Clin Invest* 1987;79:319-26
13. Freudenberg M, Keppler D, Galanos C. Requirement for lipopolysaccharide-responsive macrophage in D-galactosamine-induced sensitization to endotoxin. *Infect Immun* 1986;51:891-5
14. Freudenberg M, Galanos C. Induction of tolerance to lipopolysaccharide (LPS)-D-galactosamine lethality by treatment with LPS is mediated by macrophage. *Infect Immun* 1988;56:1352-7
15. Mathison JC, Virca GD, Wolfson E, Tobias PS, Glaser K, Ulevitch RJ. Adaption to bacterial lipopolysaccharide controls lipopolysaccharide-induced tumor-necrosis factor production in rabbit macrophages. *J Clin Invest* 1990;85:1108-18
16. Mathison JC, Wolfson E, Steinemann S, Tobias P, Ulevitch R. Lipopolysaccharide (LPS) recognition in macrophages. Participation of LPS-binding protein and CD14 in LPS-induced adaption in rabbit peritoneal exudate macrophages. *J Clin Invest* 1993;92:2053-9
17. 박계영, 김재열, 유철규, 김영환, 한성구, 심영수. 말초혈액단핵구의 TNF- $\alpha$ 와 IL-8 발현에서 내독소에 대한 내성기전에 관한 연구. 결핵 및 호흡기 질환 1997;44:601-10
18. Riche FC, Cholley BP, Panis YH, Laisne MJ, Briard CG, Graulet AM, Gueris JL, Valleur PD. Inflammatory cytokine response in patients with septic shock secondary to generalized peritonitis. *Crit Care Med* 2000;28:433-7
19. Martin TR, Mathison JC, Tobias PS, Leturcq DJ, Moriarty AM, Maunder RJ, Ulevitch RJ. Lipopolysaccharide binding protein enhances the responsiveness of alveolar macrophages to bacterial lipopolysaccharide. Implications for cytokine production in normal and injured lungs. *J Clin Invest* 1992;90:2209-19
20. Kielian TL, Ross CR, McVey DS, Chapes SK, Blecha F. Lipopolysaccharide modulation of a CD14-like molecule on porcine alveolar macrophages. *J Leukoc Biol* 1995;57:581-6
21. Tobias PS, Mathison J, Mintz D, Lee JD, Kravchenko V, Kato K, Pugin J, Ulevitch RJ. Participation of lipopolysaccharide-binding protein in lipopolysaccharide-dependent macrophage activation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992;7:239-45
22. Ishii Y, Wang Y, Hazirot A, del Vecchio PJ, Goyert SM, Malik AB. Lipopolysaccharide binding protein and CD14 interaction induces tumor necrosis factor- $\alpha$  generation and neutrophil sequestration in lungs after intratracheal endotoxin. *Crit Res* 1993;73:15-23
23. Schutt C. Fighting infection: The role of lipopolysaccharide binding proteins CD14 and LBP. *Pathobiology* 2000;67:227-9
24. Fan X, Stelter F, Menzel R, Jack R, Spreitzer I, Hartung T, Schutt C. Structures in *Bacillus subtilis* are recognized by CD14 in a lipopolysaccharide binding protein-dependent reaction. *Infect Immun* 1999;67:2964-8