

□ 원 저 □

폐결핵 환자에서 sICAM-1, sE-selectin, sVCAM-1 농도의 변화

전북대학교 의과대학 내과학교실

오상미 · 장재호 · 최상인 · 이흥범 · 이용철 · 이양근

= Abstract =

sICAM-1, sE-selectin, sVCAM-1 Concentration in Patients with Pulmonary Tuberculosis

Sang Mi Oh, M.D., Jae Ho Jang, M.D., Sang In Choi M.D.,
Heung Bum Lee, M.D., Yong Chul Lee, M.D., Yang Keun Rhee, M.D.

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

Background : Leukocyte-endothelial adhesion molecules have been implicated in the pathogenesis of inflammatory disease. ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin are cell surface adhesion molecule on vascular endothelial cells. They are up-regulated by inflammatory cytokines and regulate the adhesion and migration of leukocytes across the endothelium.

Tuberculosis, a granulomatous disorder is an infection caused by *Mycobacterium tuberculosis*. The clinical manifestations of tuberculosis are dependent on the cellular immune response to tubercule bacilli. Circulating adhesion molecules are probably formed by cleavage and release into the circulation of the extracellular domain of the membrane bound form. The elevated levels of circulating adhesion molecules have been reported in numerous disease state. To evaluate their role as markers of disease activity in tuberculosis, we measured a sE-selectin, sVCAM-1 and sICAM-1 levels in the serum with severities of mild, moderate and far advanced pulmonary tuberculosis.

Methods : The control and test groups were divided as follows. Group I : control(n=5), Group II : patients with mild pulmonary tuberculosis(n=12), Group III : pateints with moderate pulmonary tuberculosis(n=20), Group IV : patients with far advanced pulmonary tuberculosis(n=19). Serum sICAM-1, sVCAM-1 and sE-selectin were measured by ELISA kit.

Results : Serum soluble adhesion molecules are elevated in patients with pulmonary tuberculosis. Circulating

ICAM-1 levels were significantly elevated in patients with moderate and far advanced pulmonary tuberculosis when compared with control group. When compared with control group, serum sVCAM-1 levels showed significant elevation in patients with mild, moderate and far advanced pulmonary tuberculosis. Serum sE-selectin levels were significantly elevated in patients with far advanced pulmonary tuberculosis when compared with control group.

Conclusion : These results suggest that sICAM-1, sVCAM-1, and sE-selectin may be involved in the pathogenesis of tuberculosis. And, particularly, sICAM-1 and sVCAM-1 may be useful markers of the disease activity.

Key words : sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin, Pulmonary tuberculosis

서 론

백혈구의 혈관내피세포와의 유착은 염증반응 초기에 세포들의 혈관의 유출 및 염증반응 부위로의 이동에 관여하는 것으로 알려져있다¹⁾. 최근에 염증세포와 혈관내피세포의 유착에 관여하는 ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1)²⁾, VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule)³⁾, E-selectin⁴⁾을 포함한 세포표면의 유착분자들이 확인되었다. ICAM-1은 여러 조직세포에서 넓게 분포되고 VCAM-1은 ICAM-1보다는 제한되어 있으며 내피세포와 수지세포(dendritic cell)등에서 표현된다^{2, 5)}. E-selectin은 혈관내피세포에서만 표현된다⁶⁾. 이러한 유착분자들은 활성화된 cytokine이나 세균의 내독소에 의하여 세포표면에 표현되고 각각의 수용체에 결합함으로써 염증성질환과 여러 악성종양의 전이에 관련이 있다고 보고 되었다^{8, 9)}.

결핵은 Mycobacterium tuberculosis 감염에 의한 질환으로, 병인에는 세포면역반응이 중요한 역할을 한다고 알려져 있으며, 결핵병변부위로 단핵구/대식세포, 임파구 그리고 다형핵백혈구등이 모여들게 된다¹⁰⁾. 이러한 세포들의 조직내로의 이동에는 백혈구 표면의 유착분자와 cytokine등에 의해 유도되는 내피세포와 조직세포의 배위자(ligand)의 상호작용과 깊은 관련이 있다고 보고되고 있다^{1, 11)}. 최근 정상인이나 악성

질환, 각종 염증질환, 혈관질환이 있는 환자의 순환혈장이나 다른 체액내에서 circulating 또는 soluble 형태의 유착분자가 보고되었다^{12, 13)}. 이와같은 혈장내의 유착분자들은 활성화된 세포의 표면으로부터 기원한 것으로 사료되며 혈장내의 정도가 조직의 염증정도를 반영한다는 보고가 있다^{13, 14)}.

본 연구에서 저자들은 폐결핵 환자에서 혈청내 soluble ICAM-1, soluble VCAM-1, soluble E-selectin을 측정하여 결핵병변의 활성화도 및 중증도와 관련성에 대하여 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

1995년 1월부터 1996년 3월까지 전북대학교병원 내과에 입원하여 폐결핵으로 진단 받은 환자 51명을 대상으로 하였다. 정상 대조군은 제1군으로 다른 질환을 갖고 있지 않은 5명으로 하였다. 대조군의 평균연령은 36.5세이며 남자 2명과 여자 3명이었다. 폐결핵 환자군은 국제 결핵 협회의 분류법에 따라 분류하여 제2군은 경증 환자군으로 평균연령 46.5세, 남자 6명, 여자 6명이었고, 제3군은 중등증 환자군으로 평균연령 55.6세, 남자 13명, 여자 7명이었으며 제4군은 중증 환자군으로 평균연령은 49.1세이며 남자

13명, 여자 6명으로 구성되었다.

2. 방법

1) 폐결핵의 진단 및 임상적 분류

폐결핵의 진단은 객담이나 기관지 세척술을 시행하여 얻은 가검물에서 도말검사나 배양검사상 양성인 경우 또한 늑막이나 경피적 폐생검술상 건락성 육아종이 발견된 경우로 하였다. 다른 세균성 질환이나 바이러스성 질환이 있는 경우는 제외하였다. 모든 대상환자는 흉부 X선 촬영을 하였으며 국제 결핵 협회의 기준에 따라 각각 경증, 중등증, 중증으로 분류하였다.

2) 혈액 채취 방법

결핵으로 진단된 후 항결핵 화학요법을 시행하기전에 혈액 10cc를 채취하여 2000rpm으로 5분 동안 원심 분리후 혈청을 분리하였다.

3) 혈청 sICAM-1, sE-selectin, sVCAM-1의 측정

Genzyme사의 Predicta ICAM-1 ELISA kit와 R & D systems사의 VCAM-1 ELISA kit, E-selectin ELISA kit를 이용하여 측정하였다. 혈청을 표본 희석액과 1:100으로 희석시킨 후 희석한 검체 25 μ l를 96 well microliter plate의 각 well에 담은 후 Anti-ICAM-HRP conjugate 75 μ l를 첨가하였다. 2시간 동안 실온(18-24 $^{\circ}$ C)에서 배양 후 배양이 끝나기 직전 각 well에 100 μ l의 working substrate reagent를 혼합하고 다시 20분간 실온에서 배양한다. 배양 후 1M H₂SO₄ 100 μ l를 혼합한 후 30분 이내에 450nm에서 plate reader(Dynatech Lab Inc, MR 700, ELISA Reader, USA)를 이용하여 관찰한 다음 표준용액에서 관찰한 발색도와 비교하여 sICAM-1 농도를 계산하였다. sVCAM-1과 sE-selectin도 R & D systems사의 protocol에 따라 측정하였다.

3. 통계처리

본 연구의 모든 자료는 평균(\pm SEM)으로 표기하였고 환자군과 대조군의 유의성은 Mann-Whitney U test를 이용하여 검증하였고, p값이 0.05 미만인 경우에 유의성이 있는 것으로 하였다.

결 과

1. sICAM-1의 level

정상 대조군과 비교시 경증 결핵 환자군에서는 유의있는 차이가 없었으나 중등증 결핵 환자군과($p < 0.05$) 중증 결핵 환자군에서($p < 0.01$) 유의한 상승을 보였다. 결핵군간의 차이는 경증과 중증사이($p < 0.05$), 중등증과 중증사이($p < 0.01$)에서 결핵병변이 심할수록 sICAM 측정치가 유의하게 상승함을 보였다(Fig. 1).

2. sVCAM-1의 level

sVCAM-1의 level은 정상 대조군에 비해 경증 결핵

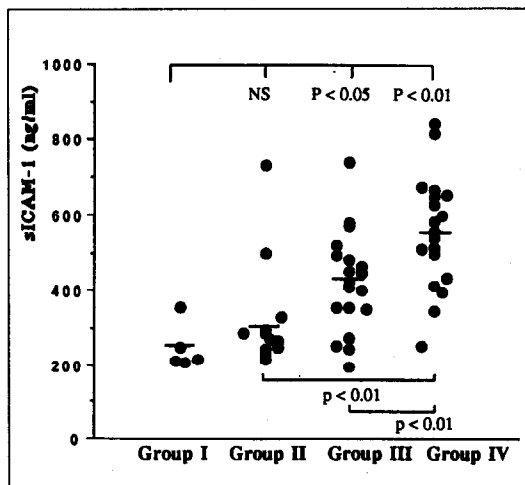


Fig. 1. Changes of sICAM-1 in patients with pulmonary tuberculosis.

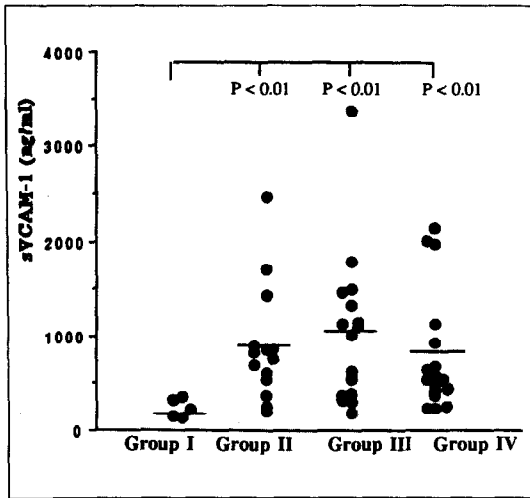


Fig. 2. Changes of sVCAM-1 in patients with pulmonary tuberculosis.

환자군($p < 0.01$), 중등증 결핵환자군($p < 0.01$), 중증 결핵 환자군($p < 0.01$) 모두에서 유의한 상승을 보였다. 그러나 질병의 중증도에 따른 유의한 차이를 보이지는 않았다 (Fig. 2).

3. sE-selectin 의 level

sE-selectin 은 중증의 활동성 폐결핵 환자($p < 0.01$)에서만 유의한 상승을 보였고 경증과 중등증은 유의한 차이를 보이지 않았다 (Fig. 3).

고 찰

유착분자는 세포 표면에 표현되는 당단백질로 세포와 세포 또는 세포와 세포의 기질 사이의 접촉을 매개하는 역할을 한다. 유착분자는 공통적인 특성에 따라 Integrin family와 Immunoglobulin supergene family, Selectin의 세개의 군으로 나눈다¹⁵. ICAM-1은 immunoglobulin supergene family에 속하며 80-100kD의 당단백 분자로서 백혈구 표면의 LFA-1(lymphocyte function-associated antigen-1

molecule)의 배위자이다^{7,16}. ICAM-1은 염증질환에서 중요한 역할을 하며 interferon, IL-1, tumor necrosis factor(TNF)의 분비로 세포활성화와 ICAM-1의 표현이 증폭하게 된다¹⁷. 최근에 기관지 천식과 같은 알레르기성 질환, 박테리아에 의한 감염이나 원발성 폐섬유화증 및 일부 악성종양의 전이나 예후에도 관여한다는 보고가 있다^{8,9,12,13,18}. VCAM-1은 105-110kD의 당단백질로 immunoglobulin supergene family에 속해 있으며 very late antigen-4(VLA-4)의 배위자(ligand)이다³. 비록 VCAM-1은 혈관내 피세포에 표현되는 것이 특징적이거나 수상돌기 세포(dendritic cell)나 세망세포(reticulum cells), Kupffer cell, 근위뇨세관 상피세포(renal proximal tubule epithelial cell)에서도 표현된다^{5,19,20}. 안정상태에서 VCAM-1의 혈관내피세포에서의 표현은 미미하지만 IL-1, TNF, lipopolysaccharide(LPS), IL-4의 자극에 의하여 염증질환에서나 천식, 류마티스 관절염이나 전신성 홍반성 낭창등의 질환에서 증가한다는 보고가 있다²⁰. E-selectin은 selectin group에 속하는 110-115kD의 당단백분자이다. E-selectin은 주로 cytokine이나 내독소에 의하여 활성화된 혈관내피세포에 표현되며 Sialylated Lewis-X like structure같은 당분자의 배위자이다^{4,21}. E-selectin은 여러 가지 염증질환과 당뇨병 환자, 신병증이나 신부전환자에서 증가된다는 보고가 있으며 결절성 다발성 동맥염이나 공피증, 전신성 홍반성 낭창증에서 높은 정도로 증가된다는 보고가 있으나 질환의 활성정도와는 관계가 없다고 한다²¹.

최근 ELISA 방법을 이용하여 cytokine에 의하여 활성화된 내피세포의 상층액(supernatants)으로부터 sICAM-1(soluble ICAM-1), sVCAM-1(soluble VCAM-1), sE-selectin(soluble E-selectin)의 존재가 밝혀졌다. 그러나 그 형성에 대해서 정확히 정립되어 있지는 않다. 내피세포와 같은 조직내에 존재하는 ICAM-1, VCAM-1, E-selectin이 단백 용해성 분해가 일어나면서 sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin이 생성된다는 설과 cytoplasmic domain과

transmembrane domain을 분리시키는 spliced messenger RNA의 작용에 의해 순환형태가 생성된다는 설이 있다²²⁾. 또한 cICAM-1(circulating ICAM-1), cVCAM-1(circulating VCAM-1), cE-selectin(circulating E-selectin)의 기능에 대해서도 논란이 많은데 cICAM-1, cVCAM-1, cE-selectin이 내피세포와 같은 조직에 존재하는 유착분자와 경쟁적으로 반응하여 염증세포와 조직세포와의 유착을 조절하여 cytokine과 같은 역할을 한다는 주장²³⁾과 T 림프구에 대한 세포막을 통한 신호체계의 활성화에 관여 한다는 주장도 있다²⁴⁾. 반면 어떤 특별한 기능이 있다기 보다는 단순히 조직손상이나 단백질 분해 과정 및 염증반응 과정에서 형성된 것으로 염증성 질환에서 염증반응의 정도를 반영하는 표식자로서의 역할을 제시하기도 하였다²⁵⁾.

결핵은 *Mycobacterium tuberculosis*에 의하여 야기되는 육아종성질환으로 육아종을 형성하는 과정에서 대식세포와 CD4 양성 T세포가 활성화되고 수가 많아져서 TNF, IFN, IL-6 등과 같은 다양한 cytokine을 분비하게 되고 이들에 의해서 염증세포들이 집합하며 대식세포의 식작용이 항진된다^{26, 27)}. 호중구는 주화인자(chemotaxin)를 분비하여 단백구를 병변부위로 이동시키고 대식세포의 식작용을 항진시키는 역할을 한다²⁸⁾. 저자들의 연구결과에서 sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin이 활동성 결핵환자의 혈청내에서 증가함을 보여주고 있는데 이것은 결핵으로 인하여 염증세포들이 활성화되고 이에 따라 각 유착분자와 그 수용체가 표현이 증가되어 호중구와 단백구, 임파구가 혈관내피세포로의 유착과 이동에 관여하는 것으로 보인다²⁹⁾.

저자들의 연구에서 활동성 결핵에서 sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin의 증가정도로 질환의 활동성의 지표로 유용하게 적용할 수 있음을 보여준다. 세 가지 분자중에서 sICAM-1은 질환의 중증도를 판단할 수 있는 지표로 가장 좋으며 sVCAM-1은 약하게 관련성을 보이고 sE-selectin은 중증도에 따라 연관시킬 수 없었다. 그러나 이 세 유착분자가 중증도에

관해서 다른 점을 보이는 이유에 대해서는 아직까지는 알 수 없으며 앞으로 더 많은 연구가 필요할 것으로 보인다. 또 한가지 고려할 점으로 다른 모든 단백질과 같이 혈청내 유착분자의 측정은 합성과 분비 청소율을 반영한다. 그러나 이 유착분자들의 청소기전(clearance mechanism)과 반감기에 대해서는 거의 알려진 바가 없으며 이러한 신장이나 간질환과 같은 질환에 있어서 수치의 변동에 대해서도 더 많은 연구가 필요할 것으로 보인다. 또한 결핵 치료 후에 세가지 유착분자의 농도의 변화에 대한 연구를 통하여 임상에 적용할 수 있으리라 사료된다.

요 약

연구배경:

유착분자는 염증세포와 내피세포의 유착과, 이동, 동원에 관여하는 것으로 알려졌다. 이러한 유착분자가운데 ICAM-1, VCAM-1, E-selectin은 각종 염증질환이나 알레르기질환, 박테리아나 바이러스성 질환 및 어떤 암종에서 혈청내 농도가 증가되어 있음이 보고되었다.

결핵은 *Mycobacterium tuberculosis*에 의하여 생기는 감염으로 세포면역반응이 중요한 역할을 하며 결핵병변 부위로 여러 염증세포들이 모여드는 것이 병인에 중요한 역할을 하고 여기에 유착분자들이 관여하는 것으로 보인다. 이에 저자들은 경증, 중등증, 중증 결핵 환자의 혈청에서 sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin 농도를 측정하여 결핵의 활성 정도와 농도와 의 관계, 결핵 병인과의 관계에 대하여 알아보고자 하였다.

방 법:

1995년 1월 부터 1996년 3월 까지 전북대학교병원 내과에 입원하여 진단 받은 환자 51명을 대상으로 하였으며, 정상 대조군은 5명으로 하였다. 결핵의 진단은 흉부 X선 촬영 및 도말검사나 배양검사로 하였으며 환자군은 국제 결핵 협회분류에 따라 각각 경증, 중등증, 중증으로 분류하였다. Genzyme사의 Predi-

cta ICAM-1 ELISA kit, R & D systems사의 VCAM-1 ELISA kit와 E-selectin ELISA kit를 이용하여 혈청 sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin 농도를 측정하였다.

결 과:

sICAM-1은 정상대조군에 비해 중등증 및 중증의 활동성 폐결핵환자에서 유의있게 증가하였고, 질병의 중증도에 따라 sICAM-1의 농도가 유의있게 증가하였다. sVCAM-1은 정상 대조군에 비해 활동성 폐결핵 환자에서 유의있게 증가하였으나 질병의 중증도에 따른 유의한 차이는 없었다. sE-selectin은 중증의 활동성 폐결핵 환자에서만 유의있게 증가하였다.

결 론:

sICAM-1, sVCAM-1, sE-selectin이 결핵의 병인에 관여하고, 이중 sICAM-1과 sVCAM-1이 유익하게 결핵의 활성도를 반영하며, 특히 sICAM-1은 중증도를 반영하는 유용한 지표로 사용될 수 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

1. Springer TA : Adhesion receptor of the immune system. *Nature* 346:425, 1990
2. Dustin ML, Rothlein R, Bhhan AK, Dinarello CA, Springer TA: Induction by IL-1 and IFN- γ : tissue distribution, biochemistry and function of a natural adherence molecule (ICAM-1). *J. Immunol* 137:245, 1986
3. Osborn L, Hesslon C, Tizord R, Vassalo C, Luhowski S, Chi-Rosso G, Lobb R: Direct expression cloning of vascular cell adhesion molecule-1, a cytokine induced endothelial protein that binds to lymphocyte. *Cell* 59: 1203, 1989
4. Bevilacqua MP, Stengeline S, Gimbrone MA, Seed BN: Endothelial leukocyte adhesion molecule 1: an inducible receptor for neutrophils related to complement regulatory protein and lectin. *Science* 243:1160, 1989
5. Norris P, Poston RN, Thomas DS, Thornhill M, Hawk J, Haskard DO: The expression of ELAM-1, ICAM-1 and VCAM-1 in experimental cutaneous inflammation. *J. Invest. Dermatol.* 96:763, 1991
6. Leung DY, Pober JS, Cotran RS: Expression of ELAM-1 in elicited late phase allergic reaction. *J. Clin. Invest* 87:1845, 1991
7. Barton RW, Rothlein R, Ksiazek J, Kennedy C: The effect of anti-intercellular adhesion molecule-1 on phorbol-ester induced rabbit lung inflammation. *J. Immunol.* 143:1278, 1989
8. Tsujisaki M, Imai K, Hirata H, Hanzowa Y, Masuya J, Nakano T: Detection of circulating intercellular adhesion molecule-1 antigen in malignant disease, *Clin. Exp. Immunol.* 85:3, 1991
9. Jonson JP, Stade BG, Holzmann B, Schwable W, Riethmuller G: De novo expression of intercellular adhesion molecule I in melanoma correlates with increased risk of metastasis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:641, 1989
10. Edward D, Kirkpatrick CH: The immunology of mycobacterial disease. *Am. Rev. Dis.* 134: 1062, 1986
11. Montefort S. Holgate ST: The role of adhesion molecule in inflammation. *Res. Med.* 85:91, 1992
12. Seth R, Raymond FD, Makgoba MW: Circulating ICAM-1 isoforms:diagnostic prospects for inflammatory and immune disorder. *Lancet.* 338:83, 1991
13. Rothlein R, Mainolfi EA, Czajkowski M: A

- form of circulating ICAM-1 in human serum. *J. Immunol* 147:3788, 1991
14. Pigott R, Dillon LP, Hemingway IM: Soluble forms of E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 are present in the supernatants of cytokine activated cultured endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 187:584, 1992
 15. Bleomen PGM, Henricks PAT, Nijkamp FP: [Review] Cell adhesion and asthma. *Clinic. Exp. Allergy.* 27:128, 1997
 16. Dustin ML, Staunton DL, Springer TA: Supergene families meet in the immune system. *Immunol. Today.* 9:213, 1988
 17. Wegner CD, Gunde RH, Reilly P: Inter-cellular adhesion molecule-1(ICAM-1) in the pathogenesis of asthma. *Science.* 247:456, 1990
 18. Shijubo N, Imai K, Aoki S, Hirasawa M, Sugawara H: Circulating intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) antigen in sera of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Clin. Exp. Immunol.* 89:58, 1992
 19. Freedman AS, Munro JM, Rice GE: Adhesion of human B cells to germinal centers in vitro involves VLA-4 and ICAM-110. *Science.* 249:1030, 1990
 20. Wellicome SM, Kapahi P, Mason JC, Lebranchu Y, Yarwood H, Haskard DO: Detection of a circulating form of vascular cell adhesion molecule-1: raised levels in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Clin. Exp. Immunol.* 92:412, 1993
 21. Gearing AJH: [Review] Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol. Today* 14:506, 1993
 22. Robert R, Elizabeth AM, Michele C, Steven DM: A form of circulating ICAM-1 in human serum. *J Immunol.* 147:3788, 1991
 23. Lo SK, Lee S, Lobb R, Rosa M, Chi-rosso, Wright SD: ELAM-1 stimulates the adhesive activity of leucocyte integrin CR3 (CD11b/CD18, Mac-1, $\alpha M\beta 2$) on human neutrophils. *Exp. Med* 173:1493, 1991
 24. Wacholtz MC, Patel SS, Lipsky PE: Leukocyte function-associated antigen 1 is an activation molecule for human T cells. *J. Immunol* 144:4579, 1990
 25. Ballantyne C, Elizabeth AM, Young JB, Windsor NT, Cocanougher B, Lawrence EC, Anderson DC, Robert R: Prognostic value of increased levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 after heart transplant. *Clin. Res.* 39:285, 1991
 26. Noriharu S, Kohzoh I, Fumio N, Akira Y, Shosaku A: Elevated concentration of circulation ICAM-1 in far advanced and miliary tuberculosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 148: 1298, 1993
 27. Barnes PF, Mistry SK, Cooper CL, Pirmez C, Rea TH, Modlin RL: Compartmentalization of a CD4 T lymphocyte subpopulation in tuberculous pleuritis. *J. Immunol.* 142:1114, 1989
 28. Antony VB, Sahn SA, Antony AC: Bacillus Calmette Guerin stimulated neutrophils release chemotaxis for monocyte in rabbit pleural space and in vitro. *J. Clin. Invest.* 76: 1514, 1982
 29. Sanders ME, Margoba MW, Sharrow SO: Human memory T lymphocytes express increased levels of three cell adhesion molecules and have enhanced IFN- γ production. *J. Immunol* 140:1401, 1988