Tuberculosis and Respiratory Disease 결핵 및 호흡기질환, Vol. 43, No. 4, August, 1996

□ 원 저 □

백혈구 CD11b에 대한 단 클론 항체 (MAb 1B6)는 Spraque Dawley의 E. coli 폐렴의 조기 사망률을 증가시킨다

연세대학교 의과대학 내과학교실

김 형 중 · 김 성 규 · 이 원 영

= Abstract =

Monoclonal Antibody against leucocyte CD11b(MAb 1B6) increase the early mortality rate in Spraque Dawley with E. coli pneumonia

Hyung Jung Kim, M.D., Sung Kyu Kim, M.D. and Won Young Lee, M.D.

Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : Activation of neutrophil is critical for the clearance of microorganisms and toxic host mediators during sepsis. Unfortunately the activated neutrophil and its toxic byproducts can produce tissue injury and organ dysfunction. The leucocyte CD11/18 adhesion complex regulates neutrophil endothelial cell adhesion, the first step in neutrophil migration to sites of infection and inflammation.

To investigate the potential of neutrophil inhibition as a treatment strategy for sepsis, we evaluated the effects of monoclonal antibody against CD11b (MAb 1B6) in rats intrabronchial challenged with Escherichia coli.

Methods : Animals were randomly assigned to receive monoclonal antibody against CD11b (1 mg/kg, sc) and bovine serum albumin(BSA, 1 mg/kg, sc) 6 hr before, at 0 and 6 hr after intrabronchial challenge of $20x10^9$ CFU/kg E. coli 0111. Animals were randomized to treat either 24, 60 or 90% oxygen after bacterial challenge and begining 4 hr after inoculation, all animals were received 100 mg/kg ceftriaxone qd for 3 days. Peripheral and alveolar neutrophil(by bronchoalveolar lavage) counts and lung injury parameters such as alveolar-arterial PO_2 difference, wet to dry lung weight ratio and protein concentration of alveolar fluid were measured in survived rats at 12 hr and 96 hr.

Results : Monoclonal antibody against CD11b decreased circulating and alveolar neutrophil especially more in 12 hr than in 96 hr. The lung injury parameters of antibody-treated animals were not different from those of BSA-treated animals. but It was meaningless due to small number of survived animals. The early(6 hr) mortality rate was significantly increased in antibody-treated group(51%) compared to BSA-treated group(31%)(P = 0.02) but late(from 12 hr to 72 hr) mortality rate was not different in antibody-treated group(44%) from BSA-treated group(36%)(P =0.089).

Conclusion : Leucocyte CD11b/18 adhesion molecule is known to regulate neutrophil migration to the site of infection and inflammation. The monoclonal antibody against CD11b decreased alveolar neutrophil in rats with pulmonary sepsis and increased early mortality rate. Therefore, we can speculate that monoclonal antibody against CD11b blocks of alveolar recruitment of neutrophils, impairs host defense mechanism and increases early mortality rate of pulmonary sepsis in rat.

Key Words : E. coli pneumonia, CD11b/18 adhesion molecule, Monoclonal antibody against CD11b

서 론

패혈증은 그람 음성 및 양성 세균 및 진균을 포함한 여러 미생물에 의해 유발되는 증후군으로 패혈증 쇼크 및 성인형 호흡 곤란 증후군을 포함한 다장기 기능 부전증을 초래한다. 최근 고령 인구의 증가, 적극적인 항암 및 면역 요법으로 감염에 위험이 높은 환자의 증가 및 중재적 의료 시술의 증가로 발생률은 증가하나 적극적인 치료에도 불구하고 사망률은 보고자에 따라 25-75%로 높은 실정이다[1-3].

혈액으로 침입한 세균에서 분비하는 독성 세균 산물에 의해 보체 및 혈액 응고 cascades등의 혈장 요소들이 활성화되고 백혈구, 단핵구, 대식세포 및 내피세포등이 활성화되어 독성 숙주 산물인 TNF, interleukin-1, kinins, eicosanoids, platelet-activating factor, 및 nitric oxid등이 패혈증에서 분비된다[2-4]. 이런 물질이 독성 세균 산물과 함께 쇼크 및 다장기 기능 부전증을 유발하여 사망에 이르게 한다. 이런 과정에서 호중구는 방어 기전[15] 뿐만 아니라 숙주의 조직 손상[16]에 중요하게 작용함으로 이런 호중구의 기능을 조절하여 방어 기전을 강화하고 숙주의 조직 손상을 줄여 패혈증 및 패혈증 쇼크를 치료 해보려는 시도가 진행중에 있다.

CD11b/18(Mac-1) 유착 분자(adhesion molecule)는 호중구 및 단핵 식세포 표면에 존재 하는 당단백으로 비공유 결합을 하는 155,000 D의 alpha subunit과 94,000 D의 alpha subunit과 94,000 D의 beta subunit의 결합체로 구성되어 있으며 내피세포에 존재하는 intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1)과 작용하여 감염 혹은 염증 부위로 호중구 이동에 관여 하는등 백혈구의 여

러 작용을 조절하는 것으로 알려져 있다[22-26].

CD11b/18의 어느 한 subunit에 대한 단클론 항체는 C3bi-opsonized particles에 백혈구의 결합, 기질 표면에 호중구의 유착(adhesion), 퍼짐(spread) 및 호중구의 응집(aggregation)등의 기능을 억제하는 것으로 알려져 있다[25]. 따라서 호중구의 과다한 활성화에 의한 조직 손상을 특징으로 하는 패혈증에서 CD11b에 대한 단클론 항체(MAb 1B6)의 치료 효과를 평가하고자 본 실험을 수행하였다.

실험 재료 및 방법

1) CD11b에 대한 단클론 항체(MAb 1B6)의 말초 혈액 및 폐 손상 평가 : 폐렴을 유발하지 않은 정상 Spraque Dawley에서 CD11b에 대한 단클론 항체(MAb 1B6) 0.1 mg/kg 및 1 mg/kg와 대조군으로 bovine serum albumin(BSA) 1 mg/kg를 -6, 0, 6 hr에 피하로 투여하여 말초 혈액 소견 및 폐 손상의 지표인 alveolar-arterial PO_2 difference (D(A-a)O2), wet to dry lung weight ratio (W/D LW ratio) 및 폐포세척액내 호중구수 및 단백 농도를 측정하였다.

2) Spraque Dawley에서 실험적 폐렴의 유발 : 250-300 gm의 Spraque Dawley를 Charles River로부터 구입하여 2일간 환경에 적응시킨후 실험을 시작하였으며 폐렴 유발은 ketamine과 rompum으로 마취하여 polyethylene catheter를 이용하여 기도 삽관후 E. coli 0111를 75% 치사 용량인(LD75%) 20×10^9 CFG/kg을 투여하여 폐렴을 유발하였으며 마취에서 완전 회복 할때까지 관찰하였다. 폐렴 유발후 4, 24, 48, 72 시간에 ceftriaxone을 근육 주사하였다.

3) Leucocyte CD11b에 대한 단클론 항체(MAb 1B6) 투여 : Repligen Corporation, Cambridge, Massachusetts으로부터 확보한 CD11b에 대한 단클론 항체(MAb 1B6) 1 ㎎/kg과 BSA 1㎎/kg를 각각 폐렴 유도 -6, 0, 6 시간에 무작위적으로 피하 주사하였다.

4) 생존 시간 관찰 : 항체 투여군과 BSA 투여군에 폐렴을 유발한후 24, 60 및 90% oxygen chamber에 무작위적으로 나누어 사육하였으며 생존 여부(생존 시간)를 4(0) 6(4) 12(6) 24(12) 48(24) 72(48) 및 96(72)시간에 관찰하였다.

5) 폐 손상의 평가 : alveolar-arterial PO_2 difference는 고식적인 방법으로 측정하였으며[6] wet to dry lung weight ratio는 동물 희생 당시 폐 조직 일부와 같은 조직을 vaccum dry oven에 48시간 건조후 중량의 비로 구하였다[17]. 기관지폐포세척을 실시하여 총 세포수를 electronic cell counter(ZBI, Coulter Electronics, Hialeah, FL)를 이용하여 측정하였으며 5×10^4 폐포세척액 세포를 100 μl의 fetal bovine serum에 잘 혼합하여 cytocentrifuge후 슬라이드를 건조시켜 Wright-Giemsa solution으로 염색하여 세포를 감별하였다. 폐포세척액내 단백은 세척액을 45μm filter로 여과후 Folin-Lowry방법으로 측정하였다[5].

본 연구의 모든 자료는 평균과 표준 편차(mean±S.D)로 표기하였으며 각 군의 유의성 검정은 unpaired student's t-test로 하였다. 생존률은 SPSS program의 Kaplan-Meier법에 의해 분석하였으며 log rank test로 P 값을 결정하였다.

실 험 결 과

1) CD11b에 대한 단클론 항체의 말초 혈액 및 폐 손상 평가 : 폐렴을 유발하지 않은 정상 Spraque Dawley에서 0.1 mg/kg(10 례) 및 1 mg/kg의 MAb 1B6(10 례) 및 1 mg/kg BSA(10 례)를 -6, 0, 6 시간에 투여하여 12 시간 사육후 희생시켜 말초 혈액 소견 및 폐 손상의 여부를 평가하였다. 말초 혈액 검사상 호중구(cells$\times10^3$ /mm3)는 대조군 1.6±0.2,

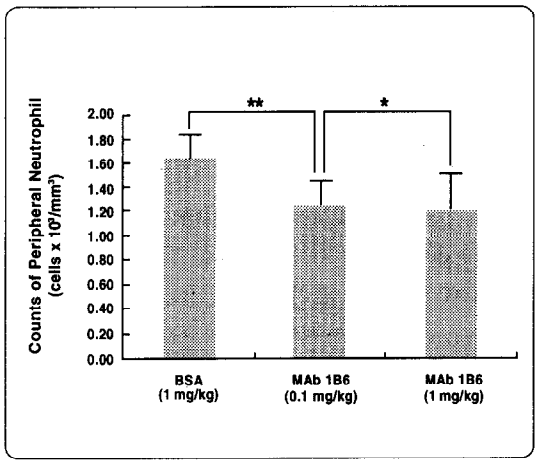

Figure 1. The counts of peripheral neutrophils in control and antibody groups : 0.1㎎/㎏ and 1㎎/㎏ of monoclonal antibody decreased peripheral neutrophil counts(*:p>0.05 and **:p<0.01)

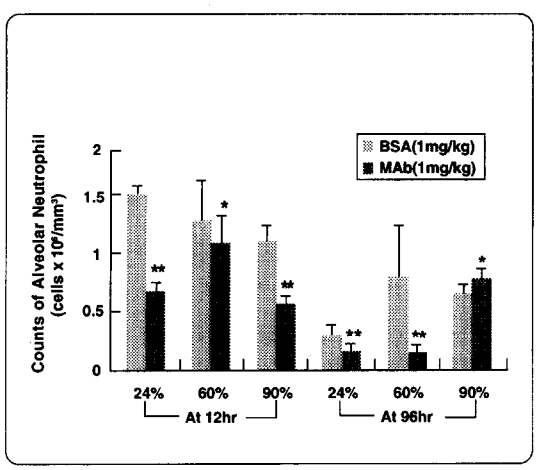

Figure 2. The counts of alveolar netrophils in control and antibody groups treated with 24, 60 and 90% oxygen at 12 and 96 hr after induction of pneumonia : The alveolar neutrophil was decreased by treatment of monoclonal antibody at 12 hr and 96 hr(**:p<0.01 and * : p>0.05)

0.1 mg/kg 항체 투여군 1.2±0.2으로 항체 투여군에서 통계학적으로 의미 있는 감소를 보였으나 (P<0.01) 0.1 mg/kg 와 1 mg/kg 항체 투여군 사이에는 통계학적 유의성이 없었다(Fig. 1). 한편 폐포세척액내 호중구수 및 폐 손상의 지표인 D(A-a)O_2, W/D LW ratio 및 폐포세척액내 단백 농도등은 세 군간에 통계학적으로 유의성 있는 변화가 없었다 (P>0.05)(data not shown).

2) 폐렴 유발 및 고산소 처치시 CD11b에 대한 단클론 항체 투여가 12, 96시간에 폐포세척액내 호중구 수에 미치는 영향 : E. coli를 기도로 투여한 Spraque Dawley에 -6, 0, 6시간에 1 mg/kg MAb 1B6 및 1 mg/kg BSA를 투여하여 무작위적으로 24, 60 및 90% oxygen chamber에 사육하여 12, 96 시간에 폐포 세척하여 호중구 수(cells×10^6/m m^3)를 계산하였다. 폐렴을 유발하지 않은 경우 폐포내 호중구 수는 0.17±0.06(n=10)이었으며 폐렴 유발후 12시간에 관찰한 호중구 수는 24% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(5) 1.48±0.1 항체 투여군(6) 0.66±0.15, 60% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(7) 1.25±0.47 항체 투여 군(7) 1.07±0.31, 90% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(5) 1.08±0.25 항체 투여군(7) 0.55±0.1이었으며 96 시간에 관찰한 호중구 수는 24% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(6) 0.30±0.08 항체 투여군(8) 0.16±0.01, 60% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(7) 0.77±0.49 항체 투여군(7) 0.14±0.01, 90% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(5) 0.63±0.11 항체 투여군(5) 0.78±0.08으로 90% oxygen chamber에서 사육하여 96 시간에 측정한 경우를 제외하고는 항체 투여군에서 통계학적으로 의미 있는 감소를 보였다 (P<0.01)(Fig. 2).

3) 폐렴 유발 및 고산소 처치시 CD11b에 대한 단클론 항체 투여가 12, 96시간에 D(A-a)O2 미치는 영향 : E. coli를 기도로 투여한 Spraque Dawley에 -6, 0, 6 시간에 1 mg/kg MAb 1B6 및 1 mg/kg BSA를 투여하여 무작위적으로 24, 60 및 90% oxygen chamber에 사육 하여 12, 96 시간에 D(A-a)O_2(Torr)을 측정하였다. 12 시간에 측

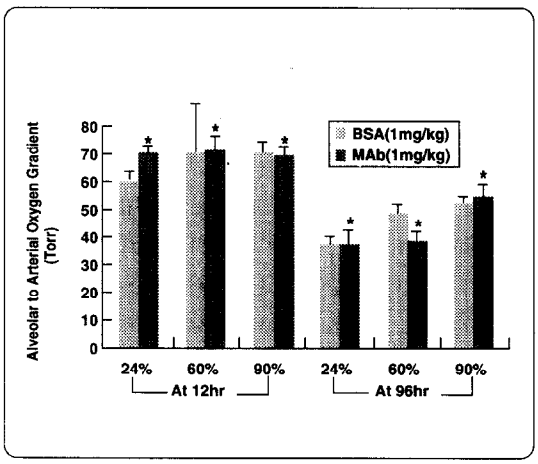

Figure 3. The alveolar to arterial oxygen gradients in control and antibody group treated with 24, 60 and 90% oxygen at 12 and 96 hr after induction of pneumonia. : The alveolar to arterial oxygen gradient was not changed by treatment of monoclonal antibody at 24 and 96 hr(* : p>0.05)

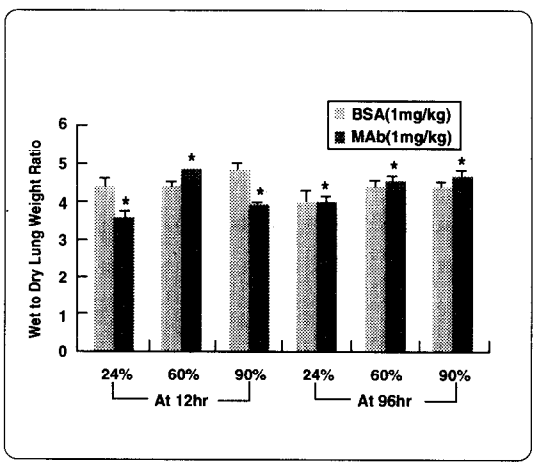

Figure 4. The wet to dry lung weight ratio in control and antibody group treated with 24, 60 and 90% oxygen at 24 and 96 hr after induction of pneumonia. : The wet to dry lung weight ratio was not changed by treatment of monoclonal antibody at 12 and 96 hr(* : p>0.05)

정한 D(A-a)O_2(Torr)는 24% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(5) 60.6±7.2 항체 투여군(7) 72.3±5.0, 60% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(8) 70.6±25.6 항체 투여군(6) 71.4±6.9, 90% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(7) 70.6±6.6 항체 투여군(6) 69.1±5.8이었으며 96 시간 에 측정한 D(A-a)O_2는 24% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(6) 38.8±3.6 항체 투여군(7) 38.5±5.5, 60% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(5) 50.4±3.0 항체 투여군(8) 39.3±2.7, 90% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(7) 53.9±3.0 항체 투여군(5) 56.2±5.6 으로 통계학적으로 의미 있는 변화가 없었다 (P>0.05)(Fig. 3).

4) 폐렴 유발 및 고산소 처치시 CD11b에 대한 단클론 항체 투여가 12, 96 시간에 W/D LW ratio에 미치는 영향 : E. coli를 기도로 투여한 Spraque Dawley에 -6, 0, 6 시간에 1 mg/kg MAb 1B6 및 1 mg/kg BSA를 투여하여 무작위적으로 24, 60 및 90% oxygen chamber에 사육하여 12, 96 시간에 W/D LW ratio를 측정하였다. 12 시간에 측정한 W/D LW ratio는 24% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(4) 4.4±0.5 항체 투여군(2) 3.6±0.3, 60% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(4) 4.4±0.3 항체 투여군(1) 4.8, 90% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(5) 4.8±0.3 항체 투여군(3) 3.9±0.3이었으며 96 시간에 측정한 W/D LW ratio는 24% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(3) 4.0±0.4 항체 투여군(3) 4.0±0.1, 60% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(5) 4.4±0.1 항체 투여군(4) 4.5±0.1, 90% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(5) 4.3±0.3 항체 투여군(4) 4.6±0.4으로 통계학적으로 의미 있는 변화가 없었다 (P>0.05)(Fig. 4).

5) 폐렴 유발 및 고산소 처치시 CD11b에 대한 단클론 항체 투여가 12, 96 시간에 폐포 세척액내 단백에 미치는 영향 : E. coli를 기도로 투여한 Spraque Dawley에 -6, 0, 6 시

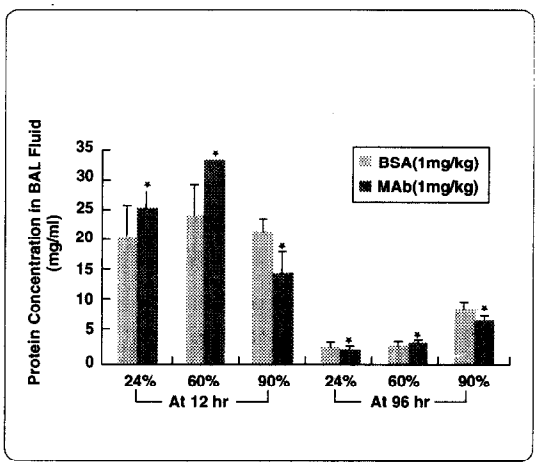

Figure 5. The protein concentration in bronchoalveolar lavage fluid in control and antibody group treated with 24, 60 and 90% oxygen at 12 and 96 hr after induction of pneumonia. : The protein concentration in bronchoalveolar lavage fluid was not changed by treatment of monoclonal antibody at 12 and 96 hr(* : p>0.05)

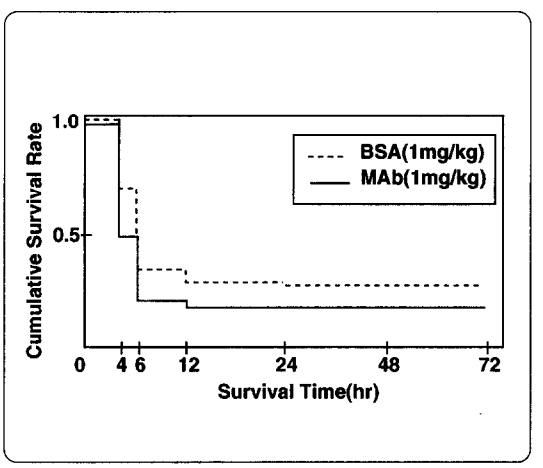

Figure 6. The survival curve in control and antibody group : The early(6hr) mortality rate was increased by treatment of monoclonal antibody, but the late(from 12 to 72 hr) mortality rate was not increased (p=0.01).

간에 1 mg/kg MAb 1B6 및 1 mg/kg BSA를 투여하여 무작위적으로 24, 60 및 90% oxygen chamber에 사육하여 12, 96 시간에 폐포세척액내 단백(mg/ml)을 측정하였다. 12 시간에 측정한 단백 농도는 24% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(5) 20.7±5.9 항체 투여군(3) 25.3±3.5, 60% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(4) 24.5±8.8, 항체 투여군(1) 33.2, 90% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(4) 21.4±2.5 항체 투여군(4) 14.6±4.2이었으며 96 시간에 측정한 단백 농도는 24% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(5) 2.3±0.3 항체 투여군(3) 1.9±0.4, 60% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(5) 2.5±0.3 항체 투여군(3) 2.6±0.3, 90% oxygen chamber에 사육한 경우 대조군(5) 8.5±1.8 항체 투여군(3) 6.4±1.5으로 통계학적으로 의미 있는 변화가 없었다(P>0.05)(Fig. 5).

6) 폐렴 유발 및 고산소 처치시 CD11b에 대한 단클론 항체 투여가 24, 96 시간에 생존률에 미치는 영향 : E. coli를 기도로 투여후 항체 투여군과 대조군을 무작위적으로 24, 60 및 90% oxygen chamber에 나누어 사육하였으며 생존 여부(생존 시간)를 4(0) 6(4) 12(6) 24 (12) 48(24) 72(48) 및 96(72)시간에 관찰하였다. 산소 투여량에 따른 사망률에 차이가 없어(data not shown) 대조군과 항체 투여군으로 나누어 사망률을 평가하였으며 조기(생존 시간 : 6시간) 사망률은 대조군 32/104(31%) 항체 투여군 52/101(51%)으로 통계학적(P = 0.028)으로 의미 있게 항체 투여군에서 증가 하였으나 후기(생존 시간 : 12 - 72시간) 사망률은 대조군 16/45(35.6%) 항체 투여군 15/34(44.1%)으로 통계학적(P=0.89)으로 의미 있는 차이를 보이지 않았다(Fig. 6).

고 찰

최근 분자 생물학 및 면역학의 진보로 패혈증 쇼크의 병리 기전에 대한 이해가 증가하여 이에 기초하여 치료에 대한 연구와 임상적 응용이 시도되고 있다. 패혈증은 혈액내

로 침범한 세균에서 분비되는 독성 세균 산물이 보체 및 혈액 응고 cascade 등의 혈장 효소를 활성화하고 백혈구, 단핵구, 대식 세포 및 내피 세포등을 활성화하여 독성 숙주 산물인 TNF, interleukin-1, kinins, eicosanoids, platelet-activating factor, 및 nitric oxide 등을 분비한다[1-5, 7-8]. 이런 물질이 독성 세균 산물과 함께 쇼크 및 다장기 기능 부전 등을 초래하여 사망에 이르게 한다.

패혈증의 이런 병리 기전에 기초하여 치료 개념을 생각하여 보면 감염의 핵(nidus of infection)을 제거하는 방법이 있으며 혈액내로 침범한 세균으로부터 분비되는 독성 산물인 내독소(endotoxin), TNF 및 IL-1을 중화시키려는 개념의 치료가 있다[3] 내독소의 Core Epitopes와 Lipid A에 대한 단클론 항체의 치료는 여러 기관에서 동물 및 인체를 대상으로 실험 한 결과 기대에 미치지 못하는 것으로 알려져 있다[9]. 패혈증의 병리 기전에 중요하게 작용하는 TNF 및 IL-1등 염증성 cytokine에 대한 단클론 항체 역시 동물 및 3 상 임상 실험에서 유해한 결과를 얻었으며 투여 시기, 기간 및 조직 손상이 심한 부위로 약물의 투여 방법을 고려한 연구를 시도해 볼만 것으로 알려져 있다[10-13]. 패혈증에서 조직 손상 및 사망을 예견하는 저혈압을 유발하는 물질로 nitric oxide가 잘 알려져 있으며 NO synthetase 억제 물질인 N^{w}-methyl-L-arginin(L-NMA) 혹은 N^{w}-amino-L-arginin(L-NAA)에 대한 동물 실험이 진행중에 있으나 이에 대한 효과 역시 기대에 미치지 못하는 것으로 알려져 있다[3].

패혈증에서 호중구가 숙주의 방어 기전 및 조직 손상에 중요한 역활을 하며 근거에 대한 in vivo 와 in vitro 연구를 보면 패혈증에서 손상된 조직내에 호중구의 침윤이 현저하고, 호중구의 수와 그로부터 분비된 물질의 조직내 농도는 장기의 기능 부전 정도와 일치하고, 패혈증과 관련 있는 유해 매개 물질인 내독소, TNF 및 활성화된 보체가 호중구에 의한 조직 손상을 자극 하는 것으로 알려져 있으며[15-16] 호중구의 고갈이 어떤 패혈증의 모델에서 예후를 개선시킨다는 보고가 있다[14]. Granulocyte-colony stimulating factor(G-CSF)는 임상적으로 종양 질환 환자에서 호중구 감소시 투여로 치료 효과가 입증되었으며 in vitro에서 호중구의 부착(adhesion), 화학주성(chemotaxis), ROS(reactive oxyg-en species)의 분비 및 미생물의 불활성화를 유도하며 in vivo에서 다양한 호중구의 기능을 자극하는 것으로 알려져 있다[18]. 패혈증 쇼크에 투어한 경우 말초 및 폐포 호중구의 수를 증가시키나 폐 손상을 초래하지 않는 것으로 알려져 있으며[17] 특히 개(canine)의 패혈증 모델에서 충분한 호중구 보충을 촉진시킬만한 용량을 투여하는 경우 내독소 청소률을 증가시키고 혈청내 TNF 양을 감소시키며, 평균 동맥압 및 심장 기능(좌심실 심박출량)을 증가시켜 생존 시간을 증가시키는 것으로 알려져 있고[21] 그외에 많은 상이한 결과의 보고가 있다[18-19].

본 연구에서 목표로한 물질은 "leucocyte integrins"으로 CD11/18 complex으로 불려지는 물질이다. 이들중 CD11b/18(Mac-1)은 주로 과립구(granulocyte)와 단핵구(monocyte)에 존재하며 자극이 가해지지 않은 상태에서는 세포질, 소포(vesicle) 및 세포 표면에 존재하며 화학주성 인자(C5a, FMLP, leukotriene B4) 및 여러가지 cytokine(TNF, IL-8)등에 의해 세포 표면에 3-10배까지 발현이 증가하는 것으로 알려져 있으며 염증 매개 물질에 의해 유도 되는 내피 세포에 존재하는 유착 분자인 ICAM-1과 반응하여 호중구와 내피 세포의 세포 유착을 조절하여 감염 부위 혹은 염증 조직으로 호중구의 이동을 조절하고 이런 유착 과정에서 분비되는 다량의 H_2O_2은 세포내 미생물의 살균(microbicidal) 작용과 함께 여러 병태생리 환경에서 조직 손상에 관여하는 것으로 알려져 있으며[22-26] CD11b/18의 어느 subunit에 대한 항체는 호

중구-내피 세포의 작용을 억제한다[22-24, 27]. 따라서 실험 모델에서 CD11b/18에 대한 항체 투여로 호중구의 숙주 방어 기전 및 과 활성화(excessive activation)로 인한 조직 손상을 조절하여 치료에 이용하고자 하는 시도가 있다.

개(canine)에서 CD11b/18에 대한 단클론 항체(904 MAb) 전처치후 recombinant TNF를 투여한 경우 동맥혈 산소 분압의 증가와 함께 24시간 이내 사망률이 71%에서 42%(P<0.05)로 감소하였으나(P<0.05) 심폐 기능에 호전을 보이지 않았으며 72 시간에 측정한 생존률에는 영향을 주지 못하였다. 결론적으로 CD11/18에 의한 조직 손상 기전이 TNF 투여 초기에 중요하게 작용함을 알수 있다[28]. 한편 개에서 복강내로 Escherichia coli 응괴(clot) 투여로 유발한 패혈증 모델에서 CD18에 대한 단클론 항체(MAb R15.7) 투여는 8시간 이내의 내독소 청소률을 감소시키고, 평균 동맥압(mean arterial pressure), 심장 계수(cardiac index), 중심 정맥압(central venous pressure)등 심혈관계를 불안정시키고 동맥혈 pH의 감소 및 동맥혈 lactate의 증가등 조직 관류를 감소시키며 예후에 좋지 않은 영향을 주었다. 결론적으로 CD11b/18에 대한 단클론 항체는 호중구와 내피 세포의 부착을 억제하여 염증 부위로 호중구의 유입을 억제하여 숙주의 방어 기전에 장애를 초래하여 예후를 악화시킨다[29].

개의 복강내 패혈증에서 보였던 CD11/18에 대한 항체의 효과를 Spraque Dawley에서 시행함으로써 실험 종례의 수를 증가시켜 통계학적 의미를 확신하고자 하였다. Spraq-ue Dawley에서 E. coli에 의한 폐렴 유발은 24시간에 혈액내 호중구의 현저한 감소를 보였으며 CD11b에 대한 단클론 항체 투여는 투여 산소량에 관계없이 대조군에 비해 24시간 및 96 시간에 호중구의 감소를 초래하였다(P<0.01, data not shown). 폐렴 유발 및 산소 투여후 폐포내 호중구의 의미 있는 증가 소견을 볼수 있었으나 항체 투여는 이런 폐포내 호중구의 증가를 96 시간까지 억제 하였다. 작은 실험 동물로써 심혈관계 기능 평가의 어려움 및 실험 동물의 증례 수의 부족으로 항체 투여가 심혈관계에 미치는 영향 및 폐 손상 정도는 평가 할수 없었다. 조기(6시간) 사망률은 대조군 31%에 비해 항체 투여군 51%로 통계학적으로 의미 있는 증가를 보였으며 그이후 72 시간까지의 사망률은 대조군 35.6%, 항체 투여군 44.1%으로 의미 있는 차이가 없었다. 이런 결과는 Peter[29]등이 개의 복강내 패혈증에서 시행한 연구 결과와 일치 하였다. 결론적으로 Spraque Dawley에서 폐렴 및 고산소 투여등 폐손상에 의해 폐포내 호중구가 증가하며 CD11b에 대한 단클론 항체(MAb 1B6)는 이런 폐포내 호중구의 증가를 억제하여 숙주 방어 기전에 장애를 초래하여 조기 사망률을 증가시키는 것으로 사료된다.

요 약

연구배경 : 패혈증에서 백혈구의 활성화는 미생물 및 숙주 독성 물질의 청소에 중요한 역활을 하며 한편으로 활성화된 호중구와 그의 독성 물질은 조직 손상과 장기의 기능 부전을 초래한다. 백혈구의 CD11/18 유착 분자는 감염 및 염증 부위로 호중구 이동의 첫 단계인 호중구-내피 세포 유착을 조절한다. 패혈증 치료 전략으로 호중구 억제 효과의 가능성을 알아보기위해 rat 에서 Escherichia coli 폐렴을 유발하여 CD11b에 대한 단클론 항체(MAb 1B6)의 효과를 평가 하였다.

방법 : 1 mg/kg CD11b에 대한 단클론 항체와 1 mg/kg BSA를 폐렴 유발 6 시간전, 유발시 및 유발 6 시간후 무작위적으로 피하 투여하였다. 폐렴 유발후 무작위적으로 24, 60 및 90% 의 산소를 투여하였으며 폐렴 유발후 4시간 및 3일간 하루에 한번씩 100 mg/kg의 ceftriaxone을 투여하였다. 말초 및

폐포 호중구와 폐 손상의 지표인 D(A-a)O2, W/D LW ratio 및 폐포 세척액 단백 농도를 12시간과 96시간까지 생존한 동물에서 측정하였다.

결과 : CD11b에 대한 단클론 항체는 말초 및 폐포 호중구를 감소시켰으며 96시간 보다 12시간에 더욱 감소시켰다. 폐손상 지표는 단클론 항체 투여군과 대조군을 비교시 차이를 보이지 않았으나 생존 동물 수의 부족으로 통계학적 평가의 의미가 없었다. 조기(6 시간) 사망률은 항체 투여군 51%로 대조군 31%보다 의미(P = 0.02) 있게 증가하였으나 후기 사망률(12 시간에서 72 시간)은 항체 투여군 44% 대조군 36%로 의미(P = 0.089) 있는 차이가 없었다.

결론 : CD11b/18 유착 분사는 감염 및 염증 부위로 호중구의 이동을 조절하는 것으로 알려져 있다. CD11b에 대한 단클론 항체는 rat의 폐인성 패혈증에서 폐포 호중구를 감소시키고 조기 사망률을 증가시켰다. 따라서 CD11b에 대한 단클론 항체가 rat의 폐인성 패혈증의 초기에 호중구의 폐포내 이동을 억제시켜 숙주의 방어 기전에 장애를 초래하여 조기 사망률을 증가 시키는것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 Eichacker PQ(CCMD, CC, NIH)의 도움으로 NIH의 animal facility를 이용하여 수행하였다.

Reference

1) Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. Chest. **101** : 1644-55, 1992

2) Natanson C, Fink MP, Ballantyne HK, MacVittie TJ, Conklin JJ, Parrillo JE. Gram-negative bacteremia produces both severe systolic and diastolic cardiac dysfunction in a canine model that simulates human septic shock. J Clin Invest. **78** : 259-70, 1986

3) Natanson C, Hoffman WD, Suffredini AF, Eichacker PQ, Danner RL. Selected treatment strategies for septic shock based on proposed mechanisms of pathogenesis. Ann Intern Med. **120** : 771-83, 1994

4) Danner RL, Elin RJ, Hosseini JM, Wesley RA, Reilly JM, Parrillo JE. Endotoxemia in human septic shock. Chest. **99** : 169-75, 1991

5) Natanson C, Eichenholt PW, Danner RL, et al : Endotoxin and tumor necrosis factor challenges in dogs simulate the cardiovascular profile of human septic shock. J Exp Med. **169** : 823-32, 1989

6) Synder JV, Pinsky MR. Oxygen Transport in the Critically Ill. Chicago : Year Book, 1987

7) Stephens KE, Ishizaka A, Larrick JW, Raffin TA, Tumor necrosis factor causes increased pulmonary permeability and edema : comparison to septic acute lung injury. Am Rev Respir Dis. **137** : 1364-70, 1988

8) Eichacker PQ, Hoffman WD, Farese A, et al. Tumor necrosis factor but not interleukin-1 challenge in canines produces lethal pulmonary injury and sustained but reversible multiple organ system dysfunction similar to human septic shock. J Appl Physiol. **71** : 1979-89, 1991

9) Corriveau CC, Danner RL. Endotoxin as a therapeutic target in septic shock. Infect Agents Dis. **2** : 35-43, 1993
10) Dinarello CA. The proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor and treatment of septic shock syndrome. J Infect Dis. **163** : 1177-84, 1991
11) Tracey KJ, Fong Y, Hesse DG, et al. Anti-cachectin/TNF monoclonal antibod ies prevent septic shock during lethal bacteremia. Nature. **330** : 662-4, 1987
12) Fisher CJ Jr, Opal SM, Dhainaut J-F, Stephens S, Zimmerman JL, Nightingale P, et al. Influence of an anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody on cytokine levels in patients with sepsis. Crit Care Med. **21** : 318-27, 1993
13) Fisher CJ Jr, Slotner GJ, Opal SM, Pribble JP, Bone RC, Emmanuel G, et al. Initial evaluation of human recombinant interleukin receptor antagonist in the treatment of sepsis syndrome : a randomized, open-label, placebo-controlled multicenter trial. Crit Care Med. **22** : 12-21, 1994
14) Stephens KE, Ishizaka A, Wu Z, Larrick JW, Raffin TA. Granulocyte depletion prevents tumor-necrosis-factor-mediated acute lung injury in guinea pigs. Am Rev Respir Dis **138** : 1300-7, 1988
15) Lehrer R, Ganz T, Selsted ME, Babior BM, Curnutte JT. Neutrophils and host defense. Ann Intern Med. **109** : 127-42, 1988
16) Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. N Engl J Med. **320** : 365-76, 1989
17) Kanazawa M, Ishizaka A, Hasegawa N, Suzuki Y, Yokoyama T. Granulocyte colony-stimulating facctor does not enhance endotoxin-inhanced acute lung injury in guinea pigs. Am Rev Respir Dis. **145** : 1030-35, 1992
18) Lieschke GH, Burgess AW. Graulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. N Engl J Med. **327** : 28-35, 1992
19) Nelson S, Summer W, Bagby G, Nakamura C, Stewart L, Lipscomb G, et al. Granulocyte colony-stimulating factor enhances pulmomnary host defenses in normal and ethanol-treated rats. J Infect Dis. **164** : 901-6, 1991
20) Mooney DP, Gamelli RL, O'Reilley M, Hebert JC. Recombinant human granulocyte colony-stimulating factor and pseudomonas burn wound sepsis. Arch Surg. **123** : 1353-7, 1988
21) Eichacker PQ, Waisman Y, Natanson C, Farese A, Hoffman WD, Banks SM, et al. Recombinant granulocyte colony stimulating factor reduces endotoxemia and improves cardiovascular function and survival during bacterial sepsis in non-neutropenic canines (Abstract). Clin Res. 41-240, 1993
22) Arnaout MA. Structure and function of the leukocyte adhesion molecule CD11/CD18. Blood **75** : 1037-50, 1990
23) Tonnesen MC. Neutrophil-endothelial cell interactions : mechanisms of neutrophil adherence to vascular endothelium. J Invest Dermatol. **93** : 53-8S, 1989
24) Mulligan MS, Smith CW, Anderson DC, Todd RF, Miyasaka M. Tamatani T, et al. Role of leukocyte adhesion molecules in complement-induced lung

injury. J Immunol. **150** : 2401-6, 1993

25) Doerschuk CM, Winn RK, Coxson HO, Harian JM. CD18-dependent and indepe ndent mechanisms of neutrophil emigr-ation in the pulmonary and systemic microcirculation of rabbits. J Immunol. **144** : 2327-33, 1990

26) Schleiffenbaum B, Moser R, Patarroyo M, Fehr J. The cell surface glycoprotein Mac-1(CD11b/CD18) mediates neutrop-hil adhesion and modulates degranulat-ion independently of its quantitative cell surface expression. J Immunol **142** : 3537-45, 1989

27) Walsh CJ, Carey PD, Cook DJ, Bechard DE, Fowler AA, Sugerman HJ. Anti-C D18 antibody attenuates neutropenia and alveolar-carillary membrane injury during gram-negative sepsis. Surgery. **110** : 205-12, 1991

28) Eichacker PQ, Hoffman WD, Farese A, Bank SM, Mouginis T. Richmond S, et al. Leukocyte CD11b/18 antigen-direct-ed monoclonal antibody improves early survival and decreases hypoxemia in dogs challenged with tumor necrosis factor. Am Rev Respir Dis. **145** : 1023-9, 1992

29) Eichacker PQ, Hoffman WD, Farese A,Danner RL, Suffredini AF, Waisman Y, et al. Leukocyte CD18 monoclonal antibody worsens endotoxemia and cardiovascular injury in canines with septic shock. J Appl Physiol. **74** : 1885-92, 1993