

폐유육종증의 활동성 지표로서 IL-12의 효용성에 관한 연구

울산대학교 의과대학 서울중앙병원 내과학교실, 아산생명과학연구소*

김태형, 전용감*, 심태선, 임채만, 이상도, 고윤석, 김우성, 김원동, 김동순

= Abstract =

The Value of Interleukin-12 as an Activity Marker of Pulmonary Sarcoidosis

Tae-Hyung Kim, M.D., Yong-Gam Jeon, M.D., Tae Sun Shim, M.D.,
ChaeMan Lim, M.D., Yunsuck Koh, M.D., SangDo Lee, M.D.,
Woo Sung Kim, M.D., Won Dong Kim, M.D., and Dong Soon Kim, M.D.

Department of Pulmonary Medicine, Asan Institute of Life Science
Asan Medical Center, College of Medicine University of Ulsan, Seoul, Korea*

Background : Sarcoidosis is a chronic granulomatous inflammatory disease of unknown etiology often involving the lungs and intrathoracic lymph nodes. The natural course of sarcoidosis is variable from spontaneous remission to significant morbidity or death. But, the mechanisms causing the variable clinical outcomes or any single parameter to predict the prognosis was not known. In sarcoidosis, the number and the activity of CD4+ lymphocytes are significantly increased at the loci of disease and their oligoclonality suggests that the CD4+ lymphocytes hyperreactivity may be caused by persistent antigenic stimulus. Recently, it has been known that CD4+ lymphocytes can be subdivided into 2 distinct population(Th1 and Th2) defined by the spectrum of cytokines produced by these cells. Th1 cells promote cellular immunity associated with delayed type hypersensitivity reactions by generating IL-2 and IFN- γ . Th2 cells play a role in allergic responses and immediate hypersensitivity reactions by secreting IL-4, IL-5, and IL-10. CD4+ lymphocytes in pulmonary sarcoidosis were reported to be mainly Th1 cells. IL-12 has been known to play an important role in differentiation of undifferentiated naive T cells to Th1 cells. And, Moller et al. observed increased IL-12 in bronchoalveolar lavage fluid(BALF) in patients with sarcoidosis. So it is possible that the elevated level of IL-12 is necessary for the continuous progression of the disease in active sarcoidosis. This study was performed to test the assumption that IL-12 can be a marker of active pulmonary sarcoidosis.

Methods : We measured the concentration of IL-12 in BALF and in conditioned medium of alveolar macrophage(AM) using ELISA(enzyme-linked immunosorbent assay) method in 26 patients with pulmonary sarcoidosis (10 males, 16 females, mean age : 39.8 ± 2.1 years) and 11 normal control. Clinically, 14 patients had

active sarcoidosis and 12 patients had inactive.

Results : Total cells counts, percentage and number of lymphocytes, number of AM and CD4/CD8 lymphocyte ratio in BALF were significantly higher in patients with sarcoidosis than in control group. But none of these parameters could differentiate active sarcoidosis from inactive disease. The concentration of IL-12 in BALF was significantly increased in sarcoidosis patients (49.3 ± 9.2 pg/ml) than in normal control (2.5 ± 0.4 pg/ml) ($p < 0.001$). Moreover it was significantly higher in patients with active sarcoidosis (70.3 ± 14.8 pg/ml) than in inactive disease (24.8 ± 3.1 pg/ml) ($p = 0.001$). Also, the concentration of IL-12 in BALF showed significant correlation with the percentage of AM ($p < 0.001$), percentage ($p < 0.001$) and number of lymphocyte ($p < 0.001$) in BALF, suggesting the close relationship between the level of IL-12 in BALF and the inflammatory cell infiltration in the lungs. Furthermore, we found a significant correlation between the level of IL-12 and the concentration of soluble ICAM-1 : in serum ($p < 0.001$) and BALF ($p = 0.001$), and also between IL-12 level and ICAM-1 expression of AM ($p < 0.001$).

The AM from patients with pulmonary sarcoidosis secreted significantly larger amount of IL-12 (206.2 ± 61.9 pg/ml) than those of control (68.3 ± 43.7 pg/ml) ($p < 0.008$), but, there was no difference between inactive and active disease group.

Conclusion : Our data suggest that the BALF IL-12 level can be used as a marker of the activity of pulmonary sarcoidosis. (Tuberculosis and Respiratory Diseases 1999, 46 : 215-228)

Key words : Sarcoidosis, IL-12, Disease activity, BAL, Alveolar macrophage, ICAM-1.

서 론

유육종증은 아직 정확한 원인은 밝혀지지 않았으나 병소에 단핵구 및 조력 T 임파구의 침윤과 이들의 과다한 활성화로 인해 비건락성 상피성 육아종이 진행되는 전신 질환이다^{1, 2)}. 유육종증은 모든 장기에서 다 발생할 수 있으나, 흉곽내 병변이 가장 빈도가 높아서 진단 당시에 90% 이상의 환자들에서 폐 또는 폐문부 임파선의 병변이 발견된다. 예후는 비교적 양호하여 50~60%의 환자들에서 자연 치유가 될 수 있으나³⁾, 일부 환자들에서는 치료하지 않는 경우에 섬유화가 진행되어 심각한 호흡 부전을 야기하고 심하면 사망하기도 한다. 유육종증의 치료는 steroid가 섬유화를 방지하고 비정상적인 칼슘 대사 과정을 극복하는 효과가 있어서 steroid 제제가 가장 많이 사용되고 있으며 반응도 좋으나 장기간 투여 시에는 심각한 부작용이 초래되므로 그 사용에 제한을 받고 있다. 그러나 이미 섬유

화가 많이 진행된 경우에는 steroid를 투여해도 효과가 없으므로, 질병의 초기에 정확한 진단을 하고 진단 당시에 환자의 예후를 미리 예측하는 것이 매우 중요하다.

유육종증의 예후를 예측하는 지표로서 Gallium scan이나 혈청 angiotensin converting enzyme (ACE) 농도, 99mTc-DTPA 폐주사(scan), 기관지폐포세척액(BALF) 내 임파구 총수 및 CD4/CD8 비, 혈청 lysozyme치, 혹은 가용성 IL-2 수용체 등이^{4, 5-14)} 거론되었으나 논란이 많고 어떠한 지표도 아직은 임상적으로 유용하다고 판명되지는 못하였다. 폐 유육종증에서는 BALF에서 임파구 총수나 백분율, CD4/CD8비가 증가할 뿐 아니라, 이들 CD4+ 세포가 과다하게 활성화되었다는 사실이 밝혀졌다. 이러한 CD4+ 세포의 활성화를 야기하는 원인은 아직도 밝혀지지 않았으나, 이들이 펩클론성(oligoclonality)을 가진 것으로 미루어 어떠한 항원에 의한 지속적인

Table 1. Demographic features of the subjects

	Normal control	Sarcoidosis		
		All cases	Inactive	Active
Number of cases	11	26	12	14
Age(year)	30.0±3.8	39.8±2.1*	39.0±3.1*	39.7±2.9*
Sex(M : F)	9 : 2	10 : 16	4 : 8	6 : 8
Smoking(S : NS*)	8 : 3	14 : 12	3 : 9	10 : 4
Stage(I : II : III)		8 : 16 : 2	7 : 5 : 0	1 : 11 : 2
Extra-thoracic involvement				
Hypercalcemia		5	2	3
Uveitis		2		2
Skin lesion		1	1	
Peripheral LN		1		1
Liver		1		1
Pericarditis		1		1
PFT ^b				
FVC(%)		87.3±3.4	98.5±3.4	76.9±3.9 [†]
DLCO(%)		86.4±3.5	93.4±3.2	77.9±5.6
ACE ^c (IU/L)		73.0±6.9	62.3±8.5	82.9±10.2

*S, smokers ; NS, nonsmokers LN : lymph node enlargement ^aangiotensin converting enzyme

^bPFT : pulmonary function test, FVC : forced vital capacity, DLCO : diffusing capacity

[†]p<0.05 compared to normal [‡]p<0.05 compared to inactive group

자극에 의한 것으로 추측되고 있다¹⁵⁻¹⁹⁾. 근래에 CD4 + 임파구에는 대식세포의 활성화와 지연성 과민반응에 관여하는 Th1 세포와 항체 매개성 면역 반응, 알레르기 반응 및 대식세포의 비활성화에 기여하는 Th2 세포의 두 종류가 있다는 것이 밝혀졌고²⁰⁻²²⁾ 폐유육종증환자들의 BALF에서 IFN- γ 와 IL-2 등 Th1-cytokine의 증가를 관찰할 수 있어서²³⁻²⁶⁾, 폐유육종증 병변 내 CD4+ 임파구는 Th1 세포가 주인 것으로 생각되고 있다²⁷⁾. 또한, 최근에 미분화 T세포(T₀ 세포)들을 Th1 세포쪽으로 분화를 유도함에 있어서 IL-12가 중요한 역할을 한다는 것이 알려짐에 따라^{28, 29)}, 폐유육종증의 활동성, 즉 폐유육종증의 병변이 계속 진행하기 위해서는 병소부위에 IL-12가 증가되어 Th1 세포들의 증가와 활성화가 지속되는 것으로 추정할 수 있고, 따라서 IL-12가 폐유육종증의

활동성의 지표가 될 것으로 추측된다. 이에 저자들은 IL-12가 폐유육종증의 활동성의 지표로 사용될 수 있는지 알아보기 위하여 본 연구를 시행하였다.

대상 및 방법

1. 연구 대상

임상 초진 및 조직학적 검사로 유육종증이 확인되었고 3개월 이상 추적 관찰이 되었던 26명 (남자 10명, 여자 16명, 평균 연령 : 39.8±2.1세)의 환자들을 대상으로 하였고, 호흡기 증상 및 다른 질환의 병력이나 알레르기 병력이 없는 건강한 정상인 11명(남자 9명, 여자 2명, 평균 연령 : 30±3.8세)을 대조군으로 하였다. 이들 중 흡연자는 8명이었다. 본 연구의 대상

환자들의 임상적 특성은 Table 1과 같다. 흉부 방사선 검사상 8명이 1기에 속하였고, 2기가 16명, 3기가 2명이었다.

본 연구에서 폐유육종증의 활성도는 본 연구의 초점이 BALF 및 폐포대식세포 (alveolar macrophage : AM)에서 분비되는 IL-12이므로 폐유육종증의 활성도만을 대상으로 하는 것이 적합하여 호흡기 소견만을 지표로 사용한 Boudouin³⁰⁾의 기준(criteria)을 사용하였다. 즉, 1) 진단 당시에 호흡 곤란 등의 의미 있는 호흡기 증상이 있거나 폐기능이 유의하게 감소되었거나, 혹은 2) 추적 기간 중에 호흡 곤란의 증상, 방사선학 검사 혹은 폐기능 검사상 이상 소견이 새로 나타나거나 또는 기존의 병변이 악화되는 경우에 활동성 폐유육종증으로 진단하였다. 이 기준에 따르면⁴⁾, 비활동성이 12명이었고, 14명이 활동성 폐유육종증 환자였다.

2. 연구 방법

1) 기관지 폐포세척 및 폐포대식세포 배양

모든 대상군에서 고식적인 방법으로³¹⁾ 국소 마취 후 굴곡성 기관지 내시경을 분절기관지에 wedging시킨 후에 무균적 생리식염수 50ml씩 5번 세척을 시행하였다. 회수된 용액은 2~3장의 무균 gauze를 통과시켜 점액 등을 제거한 후 1,500rpm에서 10분간 원심시킨 후에 상청액은 -70℃에 보관하였다. 세포층은 무균적으로 RPMI 1640배양액으로 2번 세척한 후에 hemocytometer로 총 세포수를 측정하고 Trypan 염료제거법으로 viability를 측정하였다. 폐포대식세포는 1 ml 당 1×10^6 개가 되도록 1% 소혈청알부민(Bovine serum albumin : BSA)을 가한 RPMI 1640 배지로 희석하여 24 well culture plate에 심어 37℃, 5% CO₂에서 배양하였다. 한시간 배양 후에 세포층을 여러 번 세척하여 바닥에 부착되지 않은 세포들은 제거하고 부착된 폐포대식세포만 새 배지에서 24시간 같은 조건하에 배양하였다. 24시간 후에 배지를 걷고 원심분리하여 잔유물 등을 제거한 후 상청액

만 분리하여(AM 배양액) IL-12 측정 시까지 -70℃에 보관하였다. 일부 세포는 cytospin을 한 후에 Diff-Quick염색을 하여 세포감별산출을 시행하였다.

2) IL-12 측정

기관지폐포세척액과 24시간 동안 배양된 폐포대식세포에서 분비된 IL-12의 양을 p40에 대한 단클론 항체(monoclonal antibody)를 이용한 상업용 ELISA kit(PREDICTA® Total IL-12 ELISA kit : Genzyme Diagnostics, Cambridge, USA)로 측정하였다. 이는 human IL-12에 대한 단일 클론 항체(immobilized monoclonal antibody)가 부착된 96개의 well로 구성된 microtiter plate로 구성되어 있어, 실험 시 적당량의 희석된 시험 용액(sample diluent)을 각 well에 첨가한 후, 다시 시험 용액과 IL-12 기준액(standard)을 적당량 첨가하고, 각 용액에 존재하는 IL-12가 microtiter plate에 존재하는 항체에 부착할 수 있도록 배양하였다. 이후 포획된(captured) IL-12에 대한 생분해 항체(biotinylated antibody)를 첨가하고, 그 결과 plate에 부착되는 면역 복합체(immune complex)내의 biotin에 결합하는 과산화효소(oxidase)가 부착된 streptavidin reagent를 첨가하여 배양과 재세척 과정을 거친 후, 과산화효소에 반응하여 청색을 나타내는 기질(substrate) 용액을 첨가하였다. 기질 용액은 산(acid)을 첨가하면 반응을 멈추고 황색으로 변화하게 되며, 이러한 황색의 강도(intensity)는 실험 용액 또는 기준 용액 내의 IL-12의 양과 비례하므로, 각 well이 spectrophotometer의 450nm에서 나타내는 광흡수량(absorbance)과 표준 곡선을 이용하여 표본 용액 내의 IL-12농도를 정량화하였다. BALF는 폐포 표면을 식염수로 세척해 얻은 액이므로 BALF내의 성분의 농도는 이것이 얼마나 희석되었는지를 아는 것이 중요하나 아직은 좋은 방법이 알려져 있지 않다. 일부 연구자들은 혈청 및 BALF 내 albumin이나 methylene blue, urea에 대한 비율을 이용하여 그 희석 정도를 표시하기도 하나 논란이 많고^{32, 33)}, 폐내 염증이

Table 2. Bronchoalveolar lavage fluid findings in active and inactive pulmonary sarcoidosis

	Normal control	Sarcoidosis		
		All cases	Inactive	Active
Number of cases	11	26	12	14
Total cell ($\times 10^5/\text{ml}$)	0.09 ± 0.03	$0.25 \pm 0.12^*$	$0.24 \pm 0.16^*$	$0.26 \pm 0.09^*$
Differential cell count				
Macrophage %	86.8 ± 2.9	$53.7 \pm 3.9^*$	$61.2 \pm 6.7^*$	$47.7 \pm 4.1^*$
Lymphocyte %	12.4 ± 2.2	$43.0 \pm 4.1^*$	$35.0 \pm 6.6^*$	$49.3 \pm 4.6^*$
Neutrophil %	0.61 ± 0.18	1.90 ± 0.85	1.13 ± 0.29	2.49 ± 1.48
CD4/CD8 ratio	2.1 ± 0.4	$6.3 \pm 0.9^*$	$6.5 \pm 1.4^*$	$6.2 \pm 1.3^*$

* $p < 0.05$ compared to normal

있는 경우에는 albumin등으로 교정을 한 경우에 오히려 더 오차가 크다는 보고가 있기 때문에 본 연구에서는 BALF 자체에서의 농도를 그대로 비교하였다.

3) sICAM-1 측정

sICAM-1농도는 sICAM-1분자의 2개의 서로 다른 epitope에 대한 항체를 이용한 ELISA방법으로 상용 kit(Human soluble ICAM-1 : R&D systems, Minneapolis, USA)를 사용하여 측정하였다.

4) 접착분자 발현도

폐포대식세포에서의 ICAM-1(CD54)의 발현도는 이전에 보고된 방법으로³⁴⁾ 유세포측정법(flow cytometry)으로 RMFI(relative linear median fluorescence intensity)를 측정하여 비교하였다. 이는 5×10^5 개의 세포에 phycoerythrin이 부착된 ICAM-1 (Becton-Dickins)에 대한 단일 클론 항체를 가하여 섭씨 4도에서 40분간 반응시킨 후, PBS로 세척하여 1% paraformaldehyde로 4도에서 고정시키고 다음 날 flow cytometry(BD Facscan)로 mean fluorescence intensity(MFI)를 측정하였다. 즉 dot plot상에서 AM에 해당하는 부위를 gating하여 약 1×10^4 개의 세포에서 나오는 형광도 (fluorescence intensity)의 분포도를 측정한 후에 중간값 (median channel number)을 구한다.

폐포대식세포에서의 ICAM-1 발현도는 ICAM-1 항체(anti-ICAM-1 antibody)에 의해 발현되는 MFI(median fluorescence intensity)와, ICAM-1과 type은 같으나 항원특이성이 없는 대조군 항체(isotope control antibody)에 의한 MFI의 비로 표현하였으며, 이 방법을 사용함으로써 AM의 자가형광 (autofluorescence) 문제도 보정이 가능하였다.

3. 통계 분석

모든 자료는 평균 표준 오차로 표기되었으며(mean \pm SEM), 각 군간의 비교로서 BALF내 IL-12 수치 등의 연속변수에 대하여는 Mann-Whitney U test를 이용하였다. 각 변수들간의 상관성에 대하여는, 정규 분포를 하는 변수에는 Pearson's correlation을, 정규 분포를 하지 않는 변수에는 non-parametric Spearman's rank correlation을 적용하였으며, $p < 0.05$ 인 경우 통계학적으로 유의한 것으로 간주하였다.

결 과

1. 기관지폐포세척액 소견

BALF 내 총세포수, AM의 총수, 임파구 백분율 및 총수와 T-임파구 아형 변화(CD4/CD8비)는 폐유육

Table 3. IL-12 & soluble ICAM-1 level in active and inactive sarcoidosis

	Normal control	Sarcoidosis		
		All cases	Inactive	Active
Bronchoalveolar lavage fluid				
IL-12(pg/ml)	2.5 ± 0.4	49.3 ± 9.2*	24.8 ± 3.1*	70.3 ± 14.8*†
sICAM-1(ng/ml)	22.7 ± 6.8	38.2 ± 4.2*	27.4 ± 5.3	48.2 ± 5.5*†
Alveolar macrophage				
IL-12(ng/ml/× 10 ⁶)	68.3 ± 43.7	206.2 ± 61.9*	179.4 ± 89.3*	216.9 ± 81.2*
ICAM-1*(RMFI)	1.2 ± 0.2	2.6 ± 0.3*	1.7 ± 0.2*	3.3 ± 0.4*†
Serum-sICAM-1(s)	191.0 ± 21.2	436.7 ± 46.3*	281.8 ± 33.7	579.1 ± 58.9*†

*Manifestation of soluble ICAM-1

*p<0.05 compared to normal, p<0.05 compared to inactive group

ICAM : intracellular adhesion molecule, RMFI : relative median fluorescence intensity

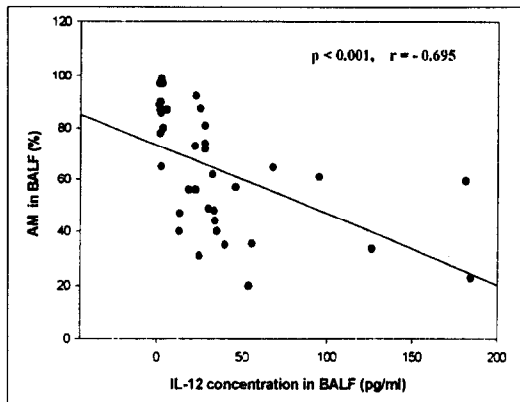


Fig. 1. The correlation between IL-12 concentration in BALF and percentage of AM in BALF.

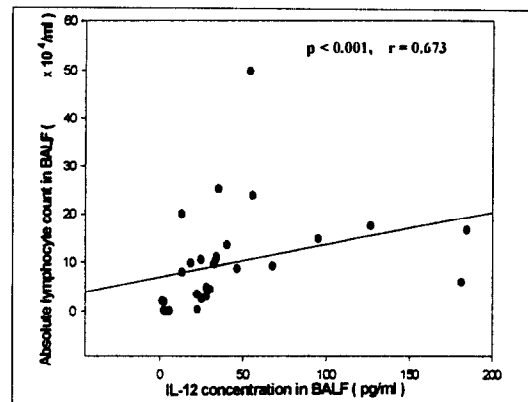


Fig. 2. The correlation between IL-12 concentration in BALF and absolute count of lymphocytes in BALF.

중증 환자들에서 정상 대조군에 비해 현저하게 증가하였으나, 활동성 및 비활동성 환자군간에는 유의한 차이가 관찰되지 않았다 (Table 2).

2. 기관지폐포세척액 IL-12 농도

기관지폐포세척액 (BALF)내 IL-12 농도는 유육종증 환자에서 49.3 ± 9.2 pg/ml로 정상 대조군(2.5 ± 0.4 pg/ml)에 비해 증가하였으며(p<0.001), 특히

활동성 폐유육종증 환자에서 70.3 ± 14.8 pg/ml로 비활동성 환자에서의 24.8 ± 3.1 pg/ml에 비해 유의하게 증가하였다(p=0.001) (Table 3). 또한 BALF 내 IL-12농도는 BALF내 AM 총수와 백분율 (rho = -0.695, p<0.001) (Fig. 1), 임파구 백분율 (rho=0.684, p<0.001) 및 임파구 총수 (rho=0.673, p<0.001) (Fig. 2)와도 유의한 상관관계를 보여 폐내 염증세포의 침윤과도 관계가 있음을 시사하였다. BAL은 기관지 내시경을 시행하여야만 하기 때문

에 여러 번 실시하기가 힘들어 치료 후 변화를 관찰하지 못하는 단점이 있다. 그러나 대상 환자들 중 1명에서 steroid 투여 후 호전되었을 때에 BALF내 IL-12 농도가 치료전의 181.1 pg/ml에서 21.1 pg/ml로 현저히 감소하는 것을 관찰하였고, 같은 환자에서 병이 호전되어 steroid를 중단하고 1년 후에 다시 병이 악화되었을 때에 BALF내 IL-12 농도가 54.7 pg/ml로 증가하여 병의 경과와 BALF내 IL-12 농도가 일치하는 것을 관찰하였다.

3. 폐포대식세포에서의 IL-12 분비량

정상 대조군 중 9예와 폐유육종 환자들 중 25예에서 BALF를 원심 분리하여 얻은 폐포대식세포(AM)를 24시간 동안 배양하여, 배양액 내로 분비된 IL-12 농도를 측정하였다. 폐포대식세포에서의 IL-12 분비량은 정상 대조군에서 68.3 ± 43.7 pg/ml, 폐유육종 환자들에서 206.2 ± 61.9 pg/ml로 유육종 환자들에서 증가하였으나($p < 0.001$), 비활동성 및 활동성 환자군간에 유의한 차이를 관찰할 수 없었다(Table 3). 그러나, 폐포대식세포에서의 IL-12 분비량은 BALF내 IL-12 농도와 유의한 상관관계를($p = 0.002$) 보여주었다.

4. 가용성 ICAM-1 (sICAM-1) 농도 및 폐포대식세포의 ICAM-1 발현도

BALF내 sICAM-1 농도는 폐유육종 환자들에서는 38.2 ± 4.2 ng/ml로 정상 대조군의 22.7 ± 6.8 ng/ml에 비해 유의하게 높았으며($p < 0.001$), 같은 유육종 환자들중에서도 활동성 환자군에서 48.2 ± 5.5 ng/ml로 비활동성 환자군의 27.4 ± 5.3 ng/ml에 비해 특히 증가된 것을 관찰하였다($p < 0.05$) (Table 3). 혈청 내 가용성 ICAM-1 농도도 폐유육종 환자군에서는 436.7 ± 46.3 ng/ml로 정상 대조군의 191.0 ± 21.2 ng/ml보다 유의한 증가를 보였으며($p < 0.001$), 또한 비활동성 폐유육종 환자군의 281.8 ± 33.7 ng/ml에 비해 활동성 환자에서는 $579.1 \pm$

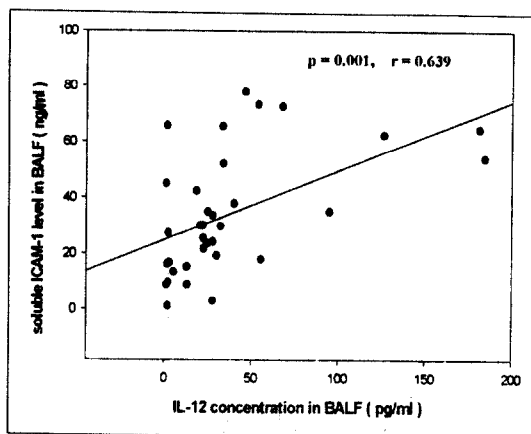


Fig. 3. The correlation between IL-12 concentration in BALF and soluble ICAM-1 level in BALF.

58.9 ng/ml로 유의하게 높았다($p < 0.001$). 유세포 분석법 (flow cytometry)으로 측정한 폐포대식세포 표면의 ICAM-1 발현도(RMFI)는, 정상 대조군에서 1.2 ± 0.2 , 비활동성 폐유육종 환자군에서 1.7 ± 0.2 , 활동성 환자군에서 3.3 ± 0.4 로 정상 대조군에 비해 폐유육종 환자군에서 증가하였으며($p < 0.001$), 비활동성 환자군에 비해 활동성 환자군에서 더욱 현저하였다($p < 0.01$).

또한, BALF내의 IL-12 농도는 최근에 폐유육종의 활동성의 지표로 알려지고 있는 혈청내 sICAM-1 농도($\rho = 0.544$, $p < 0.00$)와 BALF내 sICAM-1 농도($\rho = 0.639$, $p = 0.001$) (Fig. 3) 및 AM의 ICAM-1 발현도와도($\rho = 0.7$, $p < 0.001$) 유의한 상관관계를 보였다.

본 연구에서 혈청 angiotensin converting enzyme(ACE)농도는 폐유육종환자들에서 정상 대조군보다 증가하기는 하였으나, 활동성 환자군과 비활동성 환자군사이에 유의한 차이를 관찰할 수 없었다.

고 찰

본 연구에서 BALF 내 IL-12 농도는 폐유육종 환자에서 정상 대조군에 비해 유의하게 높았고, 특히 활

동성 폐유육종증 환자군에서 비활동성 환자군보다 더 많이 증가하여, BALF 내 IL-12 농도가 유육종증의 활동성과 관련이 있음을 보여 주었다. 또한 비록 한 명의 환자가기는 하나 BALF내 IL-12 농도가 steroid 치료 후 감소하였다가 병이 재발하였을 때에 다시 증가하는 것을 관찰하여 BALF내 IL-12 농도가 병의 경과와 일치하여 변화할 가능성을 보여 주었다. 뿐만 아니라 BALF내 IL-12 농도는 BALF내 AM총수 및 AM 백분율($p < 0.001$), 임파구 백분율($p < 0.001$) 및 총수($p < 0.001$)와도 유의한 상관관계를 보여 폐내 염증세포의 침윤과도 관계가 있음을 시사하였고, 최근에 폐유육종증의 새로운 활동성의 지표로 알려져 있는³⁵⁻³⁷⁾ 접착 분자, 특히 혈청 sICAM-1 농도와 BALF sICAM-1 농도 및 AM의 ICAM-1 발현도와도 유의한 상관관계를 보인 점등은 이러한 가설을 뒷받침해 주었다. 하지만, 흔히 유육종증의 경과 및 활동성에 대한 추적 지표로 사용하고 있는 Angiotensin-converting enzyme(ACE) 수치에서는 정상 대조군 및 비활동성, 활동성 환자군간에 유의한 차이는 없었다.

유육종증의 기본 병리적 현상은 아직 밝혀지지 않은 원인에 의해 AM이 활성화되면서 조력 T-임파구(CD4 임파구)들이 병소 내에 증가되고, 이들 활성화된 세포들에서 여러 가지 cytokine들이 분비되어 육아종성 염증반응이 발생할 뿐 아니라 cytokine들의 autocrine 작용에 의해 AM과 임파구들의 숫적인 증가와 기능항진 상태가 지속되는 것으로 생각되고 있다^{2, 38-40)}. 최근 CD4+ 임파구들이 단일한 성상을 가진 것이 아니고, IFN- γ , IL-2, TNF- β (lymphotoxin)를 분비하여 대식세포의 활성화와 세포성 면역, 지연성 과민반응 및 자가면역질환의 발생과 연관이 있다고 생각되는 Th1 세포와, IL-4, IL-5, IL-10등 항체 매개성 면역 반응 및 알레르기 반응과 대식 세포의 비활성화에 기여하는 Th2 세포로 구분된다는 것이 밝혀졌다. 또한, 이 두 세포는 서로 교차조절반응(cross-regulation)을 하여 Th1 세포가 분비하는 IFN- γ 에 의해 Th2 세포의 증식과 cytokine 생성이 저하되며,

Th2 세포가 분비하는 IL-4와 IL-10 역시 Th1 세포에 대해 유사한 억제작용을 나타낸다²⁰⁻²²⁾.

폐유육종증환자들의 기관지폐포세척액에서는 CD4+ 임파구의 수적 증가 이외에도 IFN- γ , IL-2등의 Th1-cytokines의 증가가 관찰되었고²³⁻²⁶⁾, 말초 혈액과 BALF, 폐실질 등 각각 다른 체내 구획(compartment)에서의 clone에서 cytokine mRNA를 이용하여 폐유육종증 환자에서의 T 임파구의 분포를 알아보았던 연구에서는 폐병소내에 Th1 세포는 증가하면서 Th2 세포들은 감소 혹은 비활성화가 일어나는 것을 관찰하여 유육종증 병변내 CD4+ 임파구는 주로 Th1 세포인 것으로 생각되고 있다. 또한 활성화된 유육종증에서 병변을 유발, 또는 지속시킨다고 생각되는 Th1-cytokine들은 폐병소에서만 발견되며^{41, 42)}, 말초 혈액에서는 이와 같은 변화를 관찰할 수 없어서 질병 부위에 따른 면역반응의 구획화(compartmentalization) 현상이 유육종증의 특징적인 소견으로 알려져 있다. 임파구의 분화가 주로 Th1 세포로 될지 또는 Th2 세포로 되는지를 결정하는 데에는 항원의 종류도 중요하지만 면역반응의 초기에 병변 내의 cytokine종류에 의해 결정이 된다는 것이 알려졌다. 즉 IL-12가 주로 존재할 때에는 Th1 세포들이 증가, 활성화되고, IL-4나 IL-10 이 작용하면 Th2 세포로 분화된다. IL-12는 제1형 및 제2형 면역 반응을 조절하는 중요한 cytokine으로서⁴³⁾, 서로 다른 2가지 유전자에서 유도된 p35와 p40의 두 가지 단백질의 결합으로 이루어진 이형복합체(heterodimer)이며, 말초 혈액에서는 주로 항원을 처리 전달하는 세포인(antigen presenting cell) 단백질 탐식구(monocytic phagocytes)에서 분비되나, 그 외에도 dendritic cells, 활성화된 B-세포 및 keratinocyte 등에서도 생산된다. 또한, 그 생산 반응은 세포 내 기생충, 세균, 혹은 LPS (Lipopolysaccharide)등 세균의 합성물에 의해 유도됨이 알려졌다. IL-12는 미분화된 T-세포들을(T_0 세포) Th1 세포로 분화를 유도 할 뿐 아니라, Th1 세포의 성장에 필수적인 분화 인자(differentiation factor)이며, 활성화된 T 임파구

및 Natural killer(NK) 세포의 증식을 자극하며, 이들 세포로부터 IFN- γ 의 생산을 증진시킴으로써 세포 매개성 면역반응을 상승시키고 제1형 면역반응의 진행에 중심적인 역할을 하는 것으로 생각되고 있다^{44, 47)}. 그러므로, Th1 면역 반응이 주기적인 여러 종류의 육아종성 질환 뿐 아니라 Hashimoto씨 병, Grave 병 및 비인슐린-의존성 당뇨병 등의 자가면역성 질환에서 IL-12가 중요한 역할을 할 것으로 추정되어 많은 연구들이 진행되고 있다^{25, 28, 48)}.

육아종증도 Th1 세포가 주이므로 IL-12가 중요한 역할을 할 것으로 추정되나 이에 대한 보고는 거의 없는 형편이다. 1996년 Moller 등은²⁵⁾ 폐육아종증 환자들의 BALF 내 폐포대식세포에서의 cytokine mRNA 발현을 정상 대조군 및 특발성 폐섬유화증 환자들과 비교하여, 정상 대조군이나 특발성 폐섬유화증에 비해 폐육아종증 환자들에서 IL-12의 현격한 상승을 관찰함으로써 IL-12가 폐육아종증에 있어서 육아종성 염증 반응이나 이에 따른 장기 기능 저하를 유발하는 육아종증의 제1형 면역 병리 반응에 결정적인 역할을 한다고 주장하였다. 또한, 이와 대조적으로 IL-12의 강력한 방해 인자(inhibitory factor)로 알려진 IL-10은 감소된 경향을 보임으로써 그 결과 발생하는 IL-12의 비억제적 생산(uninhibited-production)이 폐육아종증의 병인에 중요한 역할을 한다고 추정하였다. 그러나 Moller 등은 IL-12와 육아종증의 활동성과는 연결짓지 못하였다. 본 연구가 진행되고 있는 사이에, 1997년 Minshall 등은⁴⁹⁾ 활동성 및 비활동성 폐육아종증 환자들에서 in-situ hybridization 법으로 기관지폐포세척액 내 세포들의 IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-12 및 IFN- γ 등 여러 가지 cytokine들의 mRNA 발현도를 측정하고 결과 IL-2, IL-10, IL-12 및 IFN- γ 양성인 세포들의 백분율이 폐육아종증 환자들에서 증가하였고, 비활동성 환자군에 비해 활동성 환자군에서 유의하게 더 증가한 것을 관찰하여 처음으로 IL-12가 육아종증 환자에서의 질병의 활성도와 관련됨을 보고하였다. 그러나 이들의 보고는 mRNA를 발현하는 세포

들을 관찰한 것으로서, 그 방법도 복잡하여 일반적으로 시행하기 곤란할 뿐 아니라, 전사 이후의 해독 과정(post-transcriptional translation)이나 해독 후 단백질 생성 과정(post-translational protein synthesis)등의 변화로 인해 mRNA의 양과 생성된 단백질의 양이 일치하지 않을 수 있다. 본 연구에서는 상용으로 시판되고 있으면서 사용이 간편한 ELISA 법으로 직접 작용을 하는 IL-12 단백질의 양을 측정하여 활동성 폐육아종증 환자군과 비활동성 환자군 사이에 뚜렷한 차이가 있음을 증명하였고, 한 명이기는 한 환자의 임상 경과와 BALF내 IL-12 농도가 일치하는 것을 관찰하여 IL-12가 활동성의 지표가 될 가능성을 뒷받침 하였다. 또한 IL-12와 혈청 및 BALF 내에서 측정된 가용성 세포 내 접착 분자(sICAM-1)와의 상관 관계를 알아봄으로써 폐육아종증의 경과에서 질병 활성도의 지표로서의 유용성에 대하여 조사하였다. 염증 세포들이 염증 부위로 이동하는 경우에는 ICAM(intercellular adhesion molecule)-integrin 등 접착 분자(adhesion molecule)들의 활성화가 필요하며, 다양한 만성 염증성 질환에서 이러한 접착 분자들의 발현이 증가된다는 것이 알려졌다. 또한, IL-1, TNF- α 등의 cytokines들이 이러한 접착 분자들의 발현을 상향 조절한다는 사실이 밝혀져⁵⁰⁻⁵³⁾, 염증세포나 다른 세포들에서 이들 접착 분자들의 발현 정도를 관찰함으로써 염증반응의 정도를 추측하고, 이후의 진행에 대한 예측인자로 활용하려는 시도들이 많이 있었다. 폐육아종증에서도 폐포대식세포 및 임파구의 접착 분자 발현도 및 가용성 접착 분자의 농도와 질병의 활성도 간의 상관 관계는 이미 이전의 연구에서 증명된 바 있다³⁴⁻³⁷⁾. 따라서, 본 연구에서 BALF내의 IL-12의 농도와 접착분자(혈청 혹은 BALF내 sICAM-1 농도 및 AM에서의 ICAM-1 발현도)와의 상관 관계를 입증함으로써 IL-12의 폐육아종증에서 질병의 활성도를 예측하는 인자로서의 가능성을 뒷받침하였다. 아직까지는 IL-12와 ICAM-1이 직접적인 인과관계가 있다는 보고는 없으나, IL-12가 Th1 세포의 분화 및 기능을 항진시켜서 Th1-cytokine 생성을

증진시키므로 이들 cytokine들이 ICAM-1의 발현을 상승시킬 가능성은 있다. 그러나 이러한 상관 관계는 IL-12와 ICAM-1간의 직접적인 인과 관계를 시사하기 보다는, 폐유육종증의 활동성을 반영하는 각각 다른 독립적 지표일 가능성도 있다. 본 연구에서 BALF 내 IL-12 농도에 비해 AM IL-12 농도는 비활동성 및 활동성 환자군간에 유의한 차이를 보이지 않았는데, 이는 IL-12가 AM 이외의 활성화된 임파구 등 다른 세포에서도 분비되기 때문인 것으로 추측된다.

결론적으로, 본 저자들은 폐유육종증 환자들에서 Th1 세포면역을 유도하는 주요한 유발 요소인 IL-12의 양이 유육종증에서 증가하며, 특히 활동성 환자군에서 비활동성 환자군에서보다 현저히 증가하는 것을 관찰하였다. 또한, IL-12 농도와 BALF 및 혈청 sICAM-1 농도 또는 폐포대식세포의 ICAM-1 발현도 사이의 유의한 상관관계를 관찰하여 IL-12가 폐유육종증의 활성화 지표가 될 수 있음을 보여 주었다. 그러나, IL-12가 환자의 예후를 예측할 수 있는 지표로 사용될 수 있는지는 앞으로 좀 더 많은 수의 환자들을 대상으로 한 연구가 필요할 것으로 생각된다.

요 약

배 경:

유육종증은 원인 모르게 비건락성 상피성 육아종이 전신에 발생하는 질환으로서 그 경과가 매우 다양하여 많은 환자들은 자연적으로 치유되기도 하나 일부 환자들은 계속 진행하여 호흡부전으로 사망하기도 하며 이러한 다른 결과가 초래되는 기전이나, 그 결과를 예측하는 지표는 아직 알려진 것이 없다. 유육종증은 병변 내에서는 CD4+ T 임파구가 수적으로 증가할 뿐 아니라 그 작용이 과다하게 증가하며 이러한 병변내에서의 CD4+ T 임파구의 과다한 작용은 정확한 원인은 아직도 모르지만 이들이 oligoclonality를 가진 것으로 미루어 어떤 항원의 지속적인 자극에 기인할 것으로 추측하고 있다. 근래에 CD4+ T 임파구가 주로

IL-2 및 IFN- γ 를 분비하고 지연성 과민 반응에 기여하는 Th1 세포와 IL-4, IL-5, IL-10을 분비하여 알레르기 반응에 관여하는 Th2 세포의 두 종류가 있다는 것이 밝혀졌고, 유육종증 병변 내 CD4+ T 임파구는 IL-2 및 IFN- γ 를 분비하는 Th1 세포가 주인 것으로 생각되고 있다. 또한 최근 미분화 T 세포들을 Th1 세포쪽으로 분화를 유도하는 데에 IL-12가 중요한 역할을 한다는 것이 알려졌으며, Moller 등은 폐유육종증 환자에서 기관지폐포세척액(Bronchoalveolar lavage fluid : BALF)내 IL-12가 증가한 것을 관찰하였다. 그러므로 폐유육종증의 병변의 지속적인 진행, 또는 자연치유 여부의 결정에 IL-12가 관여할 것을 추측할 수 있다. 이에 저자들은 IL-12가 유육종증의 활동성 지표로 사용될 수 있는지를 알아보기 위하여 본 연구를 시행하였다.

대 상:

조직학적으로 확진된 폐유육종증 환자 26명(남자: 10명, 여자: 16명, 연령: 38.7 ± 10.6 세)과 정상 대조군 11명을 대상으로 진단 시 얻은 BALF 내 IL-12양과 BALF내 폐포대식세포(Alveolar macrophage : AM)를 24시간 배양 시 배양액 내로 분비되는 IL-12양을 ELISA방법으로 측정 비교하였다. 폐유육종증 환자들중 12명이 임상적으로 비활동성이었고, 14명은 활동성이었다.

결 과:

폐유육종증 환자들의 BALF내 총세포수, AM 총수, 임파구백분율 및 총수, CD4/CD8비가 대조군에 비해 유의하게 증가하였으나, 활동성 및 비활동성 환자군 사이에 유의한 차이는 없었다. BALF내 IL-12 농도는 폐유육종증 환자에서 49.3 ± 9.2 pg/ml로 정상대조군의 2.5 ± 0.4 pg/ml 보다 유의하게($p < 0.001$) 높았고, 활동성 유육종증에서는 70.3 ± 14.8 pg/ml로 비활동성 환자들의 24.8 ± 3.1 pg/ml 보다 유의하게 높았다($p = 0.001$). BALF내의 IL-12 농도는 BALF 내 AM백분율($p < 0.001$), 임파구 백분율($p < 0.001$) 및 임파구 총수($p < 0.001$)와도 유의한 상관관계를 보였다. 또한 BALF내의 IL-12 농도는 최근에

유육종증의 활동성의 지표로 알려지고 있는 혈청 및 BALF내 sICAM-1 농도(각각 $p < 0.001$, $p = 0.001$), AM의 ICAM-1 발현도와도($p < 0.001$) 유의한 상관관계를 보였다. AM에서의 IL-12분비량은 폐 유육종증 환자들에서 206.2 ± 61.9 pg/ml로 정상대조군의 68.3 ± 43.7 pg/ml 보다 높았으며($p < 0.008$), 활동성 및 비활동성 환자군간 유의한 차이는 없었다.

결 론 :

이상의 결과로 BALF내 IL-12 농도는 폐내 염증 세포의 침윤 정도를 반영하며, 유육종증의 활성도를 예측하는 지표로서 유용할 것으로 사료되었다.

참 고 문 헌

- Mitchell DN, and JG Scadding : Sarcoidosis. Am Rev Respir Dis 110 : 774, 1974
- Thomas PD, and GW Hunninghake : Current concepts of pathogenesis of sarcoidosis. Am Rev Respir Dis 135 : 747, 1987
- Hunninghake GW, S Gilbert, R Pueringer, C. Dayton, C.Floerchinger, R.Helmerts et al : Outcome of the treatment of sarcoidosis. Am J Respir Crit Care Med 149 : 893, 1994
- Crystal RG, Robert WC, Hunninghake GW, Gadek JE, Fulmer JD, Line BR : Pulmonary sarcoidosis : a Disease characterized and perpetuated by activated lung T-lymphocytes. Ann Intern Med 94 : 73, 1981
- Fanburg BL, Lazarus DL : Sarcoidosis. In Murray JF and Nadel JA Eds. Textbook of Respiratory Medicine, p1873-1888, Philadelphia, WB Saunders 1994
- Colp C : Sarcoidosis : course and treatment. Med Clin North Am 61 : 84, 1977
- Daniele RP, Rowlands DT, Jr : Lymphocytic subpopulation in sarcoidosis ; Correlation with disease activity and duration. Ann Intern Med 85 : 593, 1976
- Turner-Warwick M, McAllister W, Lawrence R, Britten A, Haslam PL : Corticosteroid treatment in sarcoidosis : do serial lavage lymphocyte counts, serum angiotensin-converting enzyme measurements and gallium67 scans help management? Thorax 41 : 903, 1986.
- Allen RKA : Angiotensin-converting enzyme, In James DG. Eds. Sarcoidosis and other granulomatous disorders, p529-564, New York, Marcel Dekker 1994
- Yotsumoto H : Longitudinal observation of serum angiotensin-converting enzyme activity in sarcoidosis with and without treatment. Chest 82 : 556, 1982
- Anslie GM, Bentar SR : Serum angiotensin-converting enzyme in sarcoidosis : Sensitivity and specificity in diagnosis : correlations with disease activity, duration, extrathoracic involvement, radiographic type and therapy. Q J Med 55 : 253, 1985
- Dusser DJ, Collignon MA, Stanislas-Leguern G, Barritaut LG, Cretien J, Huchon GJ. Respiratory clearance of ^{99m}Tc -DTPA and pulmonary involvement in sarcoidosis. Am Rev Respir Dis 134 : 493, 1986
- Chinet T, Dusser D, Labrune S, Collignon MA, Chretien J, Huchon GJ. Lung function decline in patients with pulmonary sarcoidosis and increased respiratory epithelial permeability to ^{99m}Tc -DTPA. Am Rev Respir Dis 141 : 445, 1993
- Pforte A, Brunner A, Gais P, Burger G, Breyer G, Stroebel M et al. Concomitant modulation of serum-soluble interleukin-2 receptor and alveolar macrophage interleukin-2 receptor in sarcoidosis. Am Rev Respir Dis 147 : 717, 1993

15. Moller DR, K Konishi, M Kirby, B Balbi, and RG Crystal. Bias toward use of a specific T cell receptor-chain variable region in a subgroup of individuals with sarcoidosis. *J Clin Invest* 82 : 1183, 1988
16. Grunewald J, CH Janson, A Eklund, M Ohn, O Olerup, U Persson et al. Restricted V2.3 gene usage by CD4+ T lymphocytes in bronchoalveolar lavage fluid from sarcoidosis patients correlates with HLA-DR3. *Eur J Immunol* 22 : 129, 1992
17. Forman JD, JT Klein, RF Silver, MC Liu, BM Greenlee, and DR Moller. Selective activation and accumulation of oligoclonal V-specific T cells in active pulmonary sarcoidosis. *J Clin Invest* 94 : 1533, 1994
18. Forrester JM, Y Wang, N Ricalton, JE Fitzgerald, J Loveless, LS Newman et al. TCR expression of activated T-cell clones in the lungs of patients with pulmonary sarcoidosis. *J Immunol* 153 : 4291, 1994
19. Klein JT, TD Horn, JD Forman, RF Silver, AJ Teirstein, and DR Moller. Selection of oligoclonal V-specific T cells in the intradermal response to Kveim-Siltzbach reagent in individuals with sarcoidosis. *J Immunol* 154 : 1450, 1994
20. Mossman TT, and RL Coffman. Th1 and Th2 cells : different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 7 : 145, 1989
21. Gadajewski TG, SR Schell, G Nau, and FW Fitch. Regulation of T-cell activation is different among T-cell subsets. *Immunol Rev* 111 : 79, 1989
22. Mossman TR, and KW Moore. The role of IL-10 in cross-regulation of Th1 and Th2 response. *Immunol Today* 12 : A49, 1991
23. Swider C, Laba A, Moniewska A, Gerdes J, Flad HD, Lnage A. Presence of m RNA for interferon- γ in blood mononuclear cells is associated with an active stage I sarcoidosis. *Clin Exp Immunol* 100(3) : 401, 1995
24. Robinson BWS, McLemore TL, Crystal RG. Gamma-interferon is spontaneously released by alveolar macrophages and lung T-lymphocytes in patients with pulmonary sarcoidosis. *J Clin Invest* 75 : 1488, 1985
25. Moller DR, Forman JD, Liu MC, et al. Enhanced expression of IL-12 associated with Th1 cytokine profiles in active pulmonary sarcoidosis. *J Immunol* 156 : 4952, 1996
26. Pinkston P, Bitterman PB, Crystal RG. Spontaneous release of interleukin-2 by lung T-lymphocytes in active pulmonary sarcoidosis. *Chest* 106 : 156, 1994
27. Brumer I, Zissel G, Schlaak M, Muller-Qüernheim J. Th1/Th2 cell distribution in pulmonary sarcoidosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 16 : 171, 1997
28. Hsieh CS, Macatonia SE, TriPP CS, Wolf SF, O'Garra A, Murphy KM. Development of Th1 CD4 T cells through IL-12 produced by *Listeria*-induced macrophage. *Science* 260 : 547, 1993
29. Manetti R, Parronchi P, Giudizi MG, Piccini MP, Maggi E, Trinchieri G, Romagnani S. Natural killer cell stimulatory factor (interleukin 12 : IL-12) induces T helper type 1(Th1)-specific immunoresponses and inhibits the development of IL-4 producing Th cells. *J Exp Med* 177 : 1199, 1993
30. Boudouin SV, du Bois RM. Disease activity. In Sarcoidosis and other granulomatous disorders. New York, Marcel Dekker, 573, 1994
31. Hunninghake GW, JD Fulmer, RC Young, JEGadek, and RG Crystal. Localization of the im-

- immune response in sarcoidosis. *Am Rev Respir Dis* 120 : 29, 1979
32. Haimovitzfriedman A, Vlodavsky I, Chaudhuri A, Write L, Fuks Z : Autocrine effects of fibroblast growth factor on repair of radiation damage in endothelial cells. *Cancer Res* 51 : 1552, 1990
33. Wilson A : Meeting reports(with extended abstracts) CEIR forum on the effects of cytokines on radiation responses. *Int J Radiat Biol* 63 : 529, 1993
34. 김동순, 최강현, 염호기, 박명재, 이상도, 고운석, 김우성, 김원동 : 간질성 폐질환 환자들의 기관지 폐포세척액내 폐포대식세포와 임파구의 접착 분자 발현 및 soluble ICAM-1 농도에 관한 연구. *결핵 및 호흡기 질환* 42 : 569, 1995
35. 김동순, 백상훈, 심태선, 임채만, 이상도, 고운석, 김우성, 김원동. 유육종증의 활동성 지표로서의 ICAM-1. *결핵 및 호흡기 질환* 45(1) : 116, 1998
36. Melis M, Gjomarkaj M, Pace E, Malizia G, Spatafora M. Increased expression of leukocyte function associated antigen-1 (LFA-1) and intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) by alveolar macrophage of patients with pulmonary sarcoidosis. *Chest* 100 : 910, 1991
37. Dalhoff K, Bohnet S, Braun J, Kreft B, Wiessman KJ. Inter cellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in the pathogenesis of mononuclear cell alveolitis in pulmonary sarcoidosis. *Thorax* 48 : 1140, 1973
38. Surcel HM, M Tryoe-Blenberg, S Paulie, G Andersson, C Moreno, and G. Pasvol. Th1/Th2 profiles in tuberculosis based on the proliferation and cytokine response of blood lymphocytes to mycobacterial antigens. *Immunology Today* 17 : 138, 1994
39. Quayle AJ, P Chomarat, P Miossec, J Kjeldsen-Kragh, O Forre, and JB Natvig. Rheumatoid inflammatory T-cell clones express mostly Th1 but also Th2 and mixed (Th0-like) cytokine profiles. *Scand J Immunol* 38 : 75, 1993
40. Ellias JA, B Freundlich, JA Kern, and J Rosenbloom. Cytokine networks in the regulation of inflammation and fibrosis in the lung. *Chest* 97 : 1439, 1990
41. Saltini C, JR Spurzem, MR Kirby, and RG Crystal. Sarcoidosis is not associated with a generalized defect in T cell suppressor function. *J Immunol* 140 : 1854, 1988
42. Muller-Quernheim J, C Saltini, P Sondermeyer, and RG Crystal. Compartmentalized activation of the interleukin-2 by T-lymphocytes in active pulmonary sarcoidosis. *J Immunol* 137 : 3475, 1986
43. Trinchieri G. Immunobiology of interleukin-12. *Immunologic Research*. 17(1-2) : 269, 1998
44. Kobayashi M, L Fitz, M Ryan, RM Hewick, SC Clark, S Chan et al. Identification and purification of natural killer cell stimulatory factor (NKSF), a cytokine with multiple biologic effects on human lymphocytes. *J Exp Med* 170 : 827, 1989
45. Stern AA, FJ Podiaski, JD Hulmes, YE Pan, PM Quinn, AG Wolitzky et al. Purification of homogeneity and partial characterization of cytotoxic lymphocyte maturation factor from human β -lymphoblastoid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 87 : 6808, 1990
46. Wolf SF, PA Temple, M Kobayashi, D Young, M Diczg, J Lowe et al. Cloning of cDNA for natural killer cell stimulatory factor, a heterodimeric cytokine with multiple biologic effects on T and NK cells. *J Immunol* 146 : 3074, 1991

47. Gubler U, AO Chua, DS Schoenhaut, CM Dwyer, W McComas, R Motyka et al. Coexpression of two distinct genes is required to generate secreted bioactive cytotoxic lymphocyte maturation factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 8 : 4143, 1991
 48. Trinchieri G. Interleukin-12 : a cytokine produced by antigen-presenting cells with immunoregulatory functions in the generation of T-helper cells type 1 and cytotoxic lymphocytes. *Blood* 84 : 4408, 1994
 49. Minshall EM, Tsicopoulos A, Yasrue Z, Wallaert B, Akoum H, Vorng H et al. Cytokine mRNA gene expression in active and nonactive pulmonary sarcoidosis. *Eur Respir J* 1997;10 : 2034, 1997
 50. Springer TA : Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 346 : 425, 1991
 51. Butcher EC. Leukocyte-endothelial cell recognition : three (or more) steps to specificity and diversity. *Cell* 67 : 1033, 1991
 52. Albelda SM, Buck CA. Integrins and other cell adhesion molecules. *FASEB J* 4 : 2368, 1990
 53. Furfaro S, Berman JS. The relation between migration and activation in inflammation : Beyond adherence. *Am J Respir Cell Mol Biol* 7 : 248, 1992
-