

친염증 사이토카인과 백혈구 기능 : Pentoxifylline에 의한 백혈구 기능조절

연세대학교 의과대학 내과학교실

김 응

Modulation of the Action of Proinflammatory Cytokines on Neutrophil Function by Pentoxifylline

Eung Kim, M.D.

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

서 론

탐식구는 감염의 인지에서 최종적인 처리에 이르기까지 일관되게 관여한다. 이중 호중구의 침착은 초기 또는 급성 염증반응의 한 특징을 이룬다. 호중구의 활성화 및 침착은 감염외에도 외상, 이물반응, 허혈-재순환 질환, 종양, 약물등의 의해서도 유도될 수 있다. 과도한 호중구 활성화에 의한 염증반응은 본래의 침입균이나 이물 제거외에도 건강한 세포나 조직에게도 손상을 주어 숙주를 위협에 빠트리게 할 수 있다. 따라서 효과적이면서도 적절하고 선택적인 염증반응의 유지는 숙주방어에 있어서 대단히 중요하다. 조직손상이나 감염부위에서 호중구의 침착, 활성화는 친염증 사이토카인(proinflammatory cytokines)의 형성에 의해 매개되고 증폭된다. 염증, 특히 세균감염시에는 거의 모든 사이토카인 유전자들이 발현될 수 있지만, 그 중에서도 일차적으로 중요한 친염증 사이토카인으로서 interleukin-1 β (IL-1 β)과 tumor necrosis factor (alpha)(TNF- α)를 들 수 있다¹⁾. 따라서 이들 친염증 사이토카인의 작용을 면역학적으로 또는 약물학적으로 조절함으로써 적절한 염증 반응을 기대할 수 있다. pentoxifylline의 anti-TNF효과에 의한 과도한 호중구 활성화의 조절도 그 중 하나이다.

친염증 사이토카인의 백혈구 기능에 대한 작용

염증반응에 관여하는 사이토카인은 펩타이드홀몬(~15-50 KDa)으로서 미생물 및 내독소(endotoxin), Lipopolysaccharide (LPS), 보체활성물(C_{5a}), 림포카인 등에 의해 주로 백혈구에서 분비되어진다. 이들중 친염증 사이토카인으로 분류되어 중요한 것은 IL-1 β , TNF- α , neutrophil-activating protein-1 (NAP-1/IL-8), granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)등이 있다. 친염증 사이토카인처럼 발열, 간성급성반응단백(hepatic acute phase protein)을 유도하지만 내독소 유도 IL-1 β 및 TNF- α 형성을 유도하지 않고 속크증후군을 초래하지 않는 관계로 항염증 사이토카인(antiinflammatory cytokines)으로 분류되는 IL-6가 있다. 이들은 사이토카인 그물망내에서 상승적으로 ("예" TNF- α 와 IL-1 β) 또는 길항적으로 작용하여 백혈구 기능에 영향을 주며, 많은 경우에서 서로 중첩된 생물학적 성질을 갖는다²⁾. 생체 내에서 백혈구 염증반응중 조화된 염증세포 침윤의 전체적인 기전은 아직 확실히 알려져 있지 않다. 그러나 지금까지 알려진 호중구 침윤은 염증세포, 혈관내피세포등 관련세포에 친염증 사이토카인, 부착 단백질들의 복합적인 작용에 의하여 화학주성 변화율(chemotactic gradients)에 따라 일어나리라 생각되어지고 있다. 요약하면, 백혈구

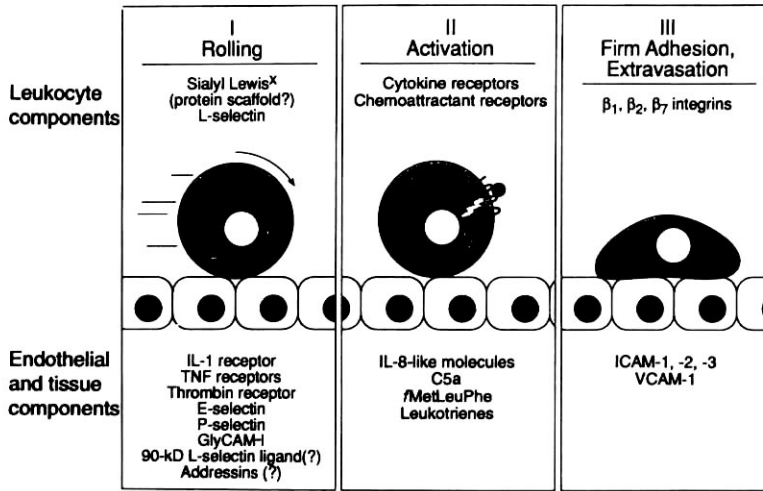


Fig. 1. Combinatorial aspects of leukocyte inflammation. Shown are the three major steps that lead to leukocyte inflammation and some of the various adhesion molecules, chemotactic factors, and cell surface receptors that are involved with the process. Step I is the initial low-affinity rolling interaction that is mediated by the selectins. Step II is the neutrophil activation event that is mediated by the concentration gradients of various chemotactic factors. C_{5a}, chemotactic fragment of complement protein C₅. Step III is the high-affinity adhesion, leukocyte shape change, and extravasation event that is mediated by the binding of various leukocyte integrins to their cognate endothelial ligands. VCAM-1, vascular cell adhesion molecule-1. (Lasky LA, 1992)

의 침윤은 세포 측면에서 염증세포와 모세혈관 내피세포와의 상호작용에서부터 시작된다. 호중구가 화학주성 자극에 노출된 즉시 순환 백혈구는 “capture”되어 혈관 내피세포를 따라 움직이기 (rolling) 시작한다. 이러한 호중구와 내피세포와의 초기부착반응은 주로 CD11/CD18-independent mechanism을 통하여 selectins에 의해 매개되어지리라 생각되어진다. 초기의 저친화성 rolling하는 호중구는 친염증 싸이토카인에 의해 활성화되면서 적극적으로 화학주성 농도변화율에 따라 염증부위로 유주한다(directed migration). 염증부위에서 호중구는 integrins에 의해 매개되는 고친화성 CD11/CD18-dependent adhesion에 의해 혈관내피세포에 단단히 부착, 형태변화를 일으키며 내피세포를 벗어나 (diapedis and extravasation) 염증부위에 이르게 된다^{3,4)} (Fig. 1). 그리고 침입 세균이나 원치않는 이물, 손상된 조직, 면역 복합체에 대한 탐식(phagocytosis)이 일어나고 이를 소화하기 위한 탈과립(degranulation), 산화반응(oxidative burst)이 진행된다. 시험관내에서

그 효과를 관찰할 수 있는 화학주성 인자로는 anaphylatoxin C_{5a}, fomylmethionyl peptide(FMLP), platelet activating factor (PAF), leukotriene B₄ (LTB₄)이 주로 알려져 있다. TNF- α 와 IL-1 β 는 호중구의 형태를 변화케하고 부착을 촉진한다. TNF- α 와 IL-1 β 자체는 시험관내에서 FMLP 유도 호중구 유주를 억제하며^{5~7)}, 처음에는 화학주성 효과를 갖고 있었다고 보고한 연구들도 TNF- α 또는 IL-1 β 의 직접적인 작용이 아니었음이 밝혀지고 있다. GM-CSF 역시 TNF- α 처럼 시험관내에서 FMLP 유도 호중구 유주를 억제한다. 반면에 IL-8은 FMLP에 비하여 10~100배의 강력한 화학주성능을 가지며 백혈구나 혈관내피세포에서 TNF- α 또는 IL-1 β 에 의해 그 생성 발현이 유도된다. 따라서 생체내에서 TNF- α 또는 IL-1 β 에 의해 호중구의 유주가 촉진된다면 그 효과는 TNF- α 또는 IL-1 β 자체보다는 이들 싸이토카인에 의해 유도된 IL-8에 의해서 매개되어지리라 생각되어지고 있다. 이제까지 알려진 화학주성 인자들이 범백혈구적으로 작용하는데 반

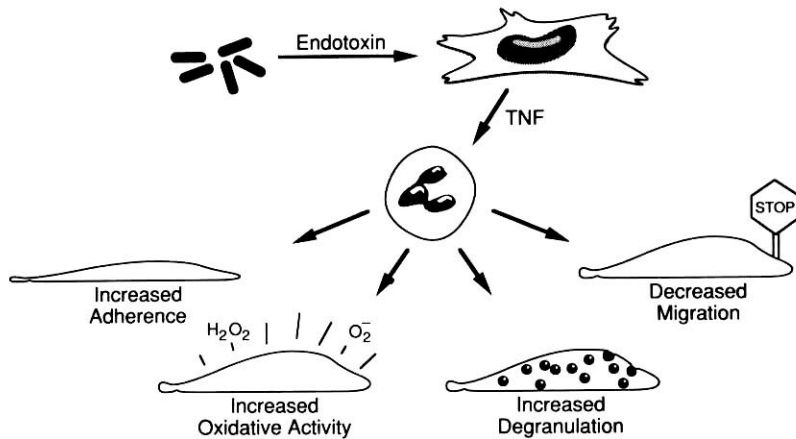


Fig. 2. TNF effects on neutrophil function. TNF- α increases PMN adherence, oxidative activity, and degranulation and decreases PMN non-directed and directed migration. (Mandell GL, 1991)

하여 IL-8은 호중구에만 선택적으로 영향을 준다^{8~10}. 실제로 TNF- α 와 IL-1 β 의 시험관내에서의 호중구 유주 억제 효과를 생체내에서 호중구 침윤이라는 결과론적 현상으로 이끌어낼 수 있는 합리적인 설명은 부족하였던 실정이었었는데, 강력한 화학주성능을 가진 IL-8의 매개로서 이것이 가능해졌다. 즉 호중구 유주는 화학주성 인자들과 더불어 IL-8이 주된 역할을 수행하지만, 일단 유주된 호중구들을 염증부위에 묶어두어 고농도로 유지시켜주는(“stay put and not leave”) 역할은 TNF- α 와 IL-1 β 에 의해 이루어지리라는 것이다. 호중구의 산화능과 탈과립 역시 TNF- α 와 IL-1 β 로 프라이밍(priming) 시켰을 때 현저히 증강됨을 볼 수 있다. 무질서하고 절제되지 않은 호중구 활성화에 의한 과도한 산화능과 탈과립에 의한 소화효소(lysosomal enzymes) 분비야말로 염증반응에 있어서 조직손상의 직접적인 기전이다(Fig. 2). TNF- α 와 IL-1 β 에 의한 산화능 및 탈과립 증강은 시험관내에서 부유세포 보다 부착세포에서 더욱 현저하며, 이는 부착 자체가 호중구의 활성을 유도하기 때문이다. 실험적으로 프라이밍시 산화능 증강 효과는 TNF- α 가 IL-1 β 보다 Mol 농도 기준으로 25~500배 더 강력하다¹¹. 그리고 TNF- α 와 IL-1 β 를 같이 작용시켰을 경우 호중구 산화능 증가는 상승적이다. 재미있는 것은 일단 TNF- α 에 작용시켰던 세포도 재차 TNF- α 로 프라이밍하였을 경우에는 수용체경유자 극유도에 의한 산화능이나 탈과립의 증강효과를 더이상

볼 수 없거나 상당히 둔화되어 나타나는데(deactivation), 이는 반복적 자극시 TNF- α 수용체의 내재화(endocytosis or internalization of TNF- α receptors)에 의한 하향조절(down regulation of receptors) 때문으로 생각되어진다. 실제로 패혈증 환자에서 분리된 호중구가 건강한 정상인에서 분리된 호중구에 비하여 TNF- α 에 대한 저반응성(hyporesponsiveness)을 보이는 이유를 이러한 수용체 하향조절 기전으로 설명이 가능하며, 이는 패혈증후군시 생체내에서 조직 손상을 최소화하기 위한 자연적인 숙주 방어기전의 하나일 수 있다¹². 백혈구의 활성화에 의한 원심기능(effector function of leukocytes), 특히 탈과립과 산화능은 세포내 신호전달 매개물질의 하나인 세포내 자유 칼슘 농도 증가와 밀접한 관련을 맺고 있다¹³.

항염증 제제로서 Pentoxifylline의 백혈구 기능에 대한 효과

Pentoxifylline은 methylxanthine계의 화합물 [1-(5-oxohexyl)-3, 7 dimethylxanthine]로서 적혈구의 유연성(red cell flexibility or deformability)을 증가시키는 미소 순환 개선제로서 사용되어 왔다. 최근 이 약물은 혈류 개선 효과 이외에도 친염증 사이토카인에 의한 호중구 활성화를 억제함으로써 항염증 제제로 사용할 수 있는 가능성이 점쳐지고 있다. 즉 이 약물은 단핵세포에서 TNF- α 형성을 억제할 뿐만 아니라,

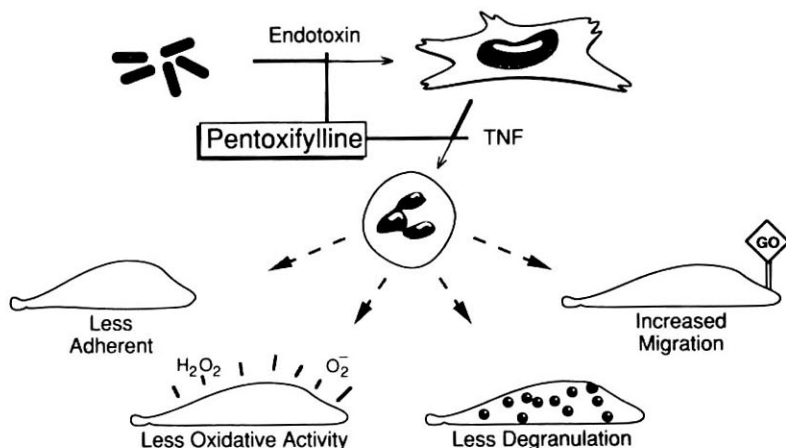


Fig. 3. Pentoxifylline blocks endotoxin-stimulated $TNF-\alpha$ production and modulates the effects of $TNF-\alpha$ on PMN function. (Mandell GL, 1991)

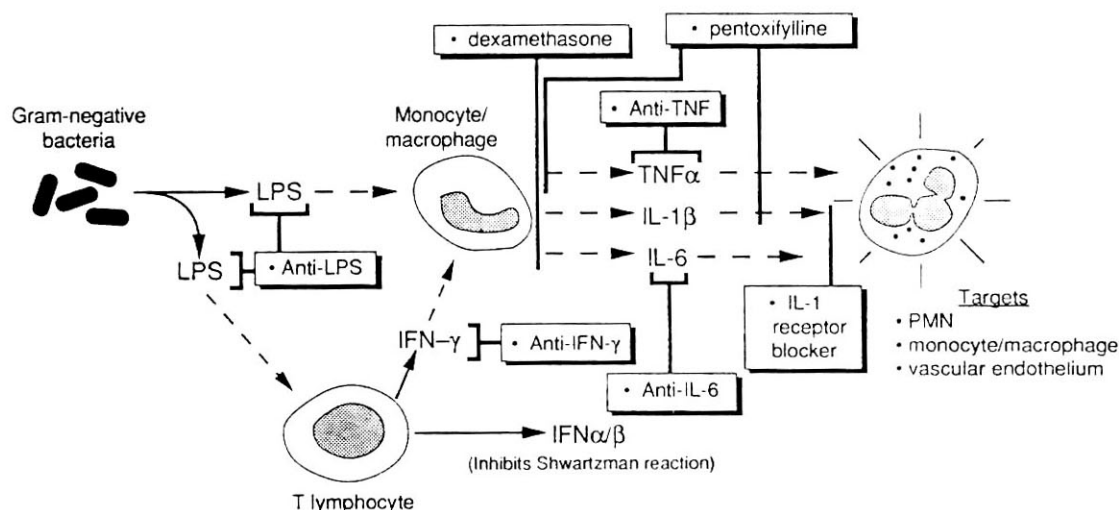


Fig. 4. Modulation of the cytokine cascade in gram-negative septic shock. When LPS from gram-negative bacteria binds to monocyte/macrophages, it stimulates the expression and release of $TNF-\alpha$, $IL-1\beta$, and $IL-6$. $TNF-\alpha$, $IL-6$, and $IL-1\beta$ induce an inflammatory reaction from a number of targets including monocyte/macrophages, PMN, and vascular endothelial cells. The phagocytes become oxidatively active and secretory and adherence sites are expressed on both the leukocytes and vascular endothelial cells. These changes can result in tissue damage and capillary leakage leading to shock. LPS can also stimulate T cells to release $IFN-\gamma$ and $IFN-\alpha/\beta$ which appear to have opposing roles in the inflammatory response. $IFN-\gamma$ increases the inflammatory response by stimulating monocyte/macrophages and $IFN-\alpha/\beta$ decreases the severity of shock by an unknown mechanism. Experimentally it has been possible to modulate the septic shock cytokine cascade. Anti-LPS neutralizes LPS so that it is not available to react with leukocytes. Antibodies to $TNF-\alpha$, $IL-6$, and $IFN-\gamma$ decrease the activity of these cytokines. The production of $IL-1$, $IL-6$, and $TNF-\alpha$ can be decreased by treating the monocyte/macrophages with dexamethasone. Pentoxifylline decreases the production of $TNF-\alpha$ by monocyte/macrophages and modulates the activity of $TNF-\alpha$ and $IL-1\beta$ on PMN function. Recombinant $IL-1$ receptor blockers interfere with binding of $IL-1$ to the target cells. (Mandell GL, 1992)

TNF- α 또는 IL-1 β 에 의해 억제된 호중구의 FMLP 유도 화학주성을 개선시키고 증가된 호중구 부착을 완화시킨다. 또한 친염증 사이토카인에 의한 과도한 호중구의 산화능을 억제하고 탈과립에 의한 소화효소 유리를 억제하여 조직손상을 감소시킨다(Fig. 3). 그리고 pentoxifylline에 의한 호중구의 원심기능 조절은 세포내 자유칼슘 농도의 조절과도 상관 관계가 있음이 알려지고 있다^{6,14,15}). 그람 음성균에 의한 패혈증후군에서 LPS가 강력한 병원성 물질로 작용하여 TNF- α 또는 IL-1 β 를 유리하며 결국 속크에 이르게 하는 물질로 알려져 있다. 따라서 최근 LPS에 의한 단클론항체를 투여하여 LPS를 중화하여 치료에 응용해보고자 하는 시도가 거의 실용화 단계에 이르고 있다¹⁶). 또한 주된 매개염증 사이토카인에 대한 단클론항체(anti-TNF monoclonal antibody)를 투여하거나, 또는 사이토카인의 수용체 차단제(recombinant IL-1 receptor antagonist)를 투여함으로써 친염증 사이토카인의 작용을 억제하여 패혈증후군을 완화시키보려는 시도가 행해지고 있다¹⁷⁻²¹). 약물학적인 방법으로는 고전적으로 부신피질호르몬이 강력한 항염증제로서 사용되어 왔다. 이 약물은 염증 사이토카인의 형성을 억제함으로써 범혈구적으로 염증반응을 억제한다. 따라서 염증반응이 갖는 양면성중 항염증 효과에 의한 조직손상을 감소시킬 수 있을지 모르나, 면역기능을 저하시킴으로서 항균 내지 항이물 측면에서의 숙주방어를 약화시키는 결과를 초래한다. pentoxifylline은 TNF- α 의 형성을 억제함과 아울러 이들 친염증 사이토카인의 호중구에 대한 과도한 작용을 적절히 제어함으로써 염증반응을 숙주에 유리하게 이끌수 있는 가능성을 가질수 있을 것으로 생각된다²²(Fig. 4).

결 론

친염증 사이토카인에 의한 무질서하고 과도한 호중구 활성화는 숙주 위해적 염증을 야기한다. 따라서 원인에 구애받지않고 이러한 호중구 활성화를 적절히 제어함은 숙주 방어적 염증을 위해 대단히 중요하다. pentoxifylline은 이러한 약물학적 접근의 하나로서 TNF- α 또는 IL-1 β 에 의한 호중구 염증반응을 억제한다. 따라서 이 약물은 패혈증후군 그리고 그에 의한 호흡부전증(adult respiratory distress syndrome) 및 다기관기능상실(multiorgan failure), 심폐우회순환손상(cardiopul-

monary bypass lung damage), 심근재순환손상(myocardial reperfusion injury) 등 과도한 염증반응에 의한 조직손상을 감소시킬 수 있으며 부신피질호르몬 제제를 보완하거나 대체할 수 있는 약물로서 기대되어진다.

REFERENCES

- 1) Dinarello CA: Cytokines: interleukin-1 and tumor necrosis factor (cachectin), in "Inflammation: basic principles and clinical correlation" eds. John I. Gallin, Ira M. Goldstein, Ralph Snyderman, p195-208, Raven press, New York, 1988
- 2) Dinarello CA: The proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor and treatment of the septic shock syndrome. *J Infect Dis* **163**: 1177-1184, 1991
- 3) Osborn L: Leukocyte adhesion to endothelium in inflammation. *Cell* **62**:3-6, 1990
- 4) Lasky LA: Selectins: interpreters of cell-specific carbohydrate information during inflammation. *Science* **258**:964-969, 1992
- 5) Ferrante A, Nandoskar M, Walz A, Goh DHB, Kowanko IC: Effect of tumor necrosis factor alpha and interleukin-1 alpha and beta on human neutrophil migration, respiratory burst and degranulation. *Int Arch Allergy Appl Immunol* **86**:82-91, 1988
- 6) Sullivan GW, Carper HT, Novick Jr WJ, Mandell GL: Inhibition of the inflammatory action of interleukin-1 and tumor necrosis factor (alpha) on neutrophil function by pentoxifylline. *Infect Immun* **56**:1722-1729, 1988
- 7) Sullivan GW, Linden J, Hewlett EL, Carper HT, Hylton JB, Mandell GL: Adenosine and related compounds counteract tumor necrosis factor- α inhibition of neutrophil migration: implication of a novel cyclic AMP-independent action on the cell surface. *J Immunol* **145**:1537-1544, 1990
- 8) Yoshimura T, Matsushima K, Tanaka S, Robinson EA, Apella E, Oppenheim JJ, Leonard EJ: Purification of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor that shares sequence homology with other host defense cytokines. *Proc Natl Acad Sci USA* **84**:9233-9237, 1987
- 9) Peveri P, Walz A, Dewald B, Baggiolini M: A novel neutrophil-activating factor produced by human mononuclear phagocytes. *J Exp Med* **167**:1547

-1559, 1988

- 10) Baggiolini M, Walz A, Kunkel SL: *Neutrophil-activating peptide-1/interleukin-8, a novel cytokine that activates neutrophils*. *J Clin Invest* **84**:1045-1049, 1989
- 11) Sullivan GW, Carper HT, Sullivan JA, Murata T, Mandell GL: *Both recombinant interleukin-1 (beta) and purified human monocyte interleukin-1 prime human neutrophils for increased oxidative activity and promote neutrophil spreading*. *J Leuk Biol* **45**:389-395, 1989
- 12) Schleiffenbaum B, Fehr J: *The tumor necrosis factor receptor and human neutrophil function*. *J Clin Invest* **86**:184-195, 1990
- 13) Murata T, Sullivan JA, Sawyer DW, Mandell GL: *Influence of type and opsonization of ingested particle on intracellular free calcium distribution and superoxide production by human neutrophils*. *Infect Immun* **55**:1784-1791, 1987
- 14) Sullivan GW, Patselas TN, Redick JA, Mandell GL: *Enhancement of chemotaxis and protection of mice from infection*. *Trans Assoc Am Phys* **97**:337-345, 1984
- 15) Novick WJ, Sullivan GW, Mandell GL: *New pharmacological studies with pentoxifylline*. *Biorheology* **27**:449-454, 1990
- 16) Ziegler EJ, Fisher Jr CJ, Sprung CL, Straube RC, Sadoff JC, Foulke GE, Wortel CH, Fink MP, Dellinger RP, Teng NNH, Allen IE, Berger HJ, Knatterud GL, LoBuglio AF, Smith CR, HA-1A Sepsis Study Group: *Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. *N Engl J Med* **324**:429

-436, 1991.

- 17) Opal SM, Cross AS, Kelly NM, Sadoff JC, Bodmer MW, Palardy JE, Victor GH: *Efficacy of a monoclonal antibody directed against tumor necrosis factor in protecting neutropenic rats from lethal infection with Pseudomonas aeruginosa*. *J Infect Dis* **161**:1148-1152, 1990
- 18) Exley AR, Cohen J, Buurman W, Owen R, Hanson G, Lumley J, Aulakh JM, Bodmer M, Riddell A, Stephens S, Perry M: *Monoclonal antibody to TNF in severe septic shock*. *Lancet* **335**:1275-1276, 1990
- 19) Silva AT, Bayston KF, Cohen J: *Prophylactic and therapeutic effects of a monoclonal antibody to tumor necrosis factor- α in experimental gram-negative shock*. *J Infect Dis* **162**:421-427, 1990
- 20) Ohlsson K, Björk P, Bergenfeldt M, Hageman R, Thompson RC: *Interleukin-1 receptor antagonist reduces mortality from endotoxin shock*. *Nature* **348**:550-552, 1990
- 21) Starnes Jr HF, Pearce MK, Tewari A, Yim JH, Zou J-C, Abrams JS: *Anti IL-6 monoclonal antibodies protect against lethal Escherichia coli infection and lethal tumor necrosis factor- α challenge in mice*. *J Immunol* **145**:4185-4191, 1990
- 22) Han J, Thompson P, Beutler B: *Dexamethasone and pentoxifylline inhibit endotoxin-induced cachectin/tumor necrosis factor synthesis at separate points in the signaling pathway*. *J Exp Med* **172**:391-394, 1990
- 23) Mandell GL, Sullivan GW: *Pentoxifylline: an inhibitor of inflammatory cytokine activity*, in "Proceedings of a workshop: pentoxifylline, leukocytes and cytokines" eds. Gerald L. Mandell, William J. Novick Jr., p1-6, Scottsdale, Arizona, 1991