

Anaphylaxis의 동물 모델과 cytokine에 의한 조절

전북대학교 의과대학 면역학교실

이 헌 구

알레르기 질환은 알레르겐과 세포 표면의 특이 항체가 결합함으로써 세포에서 분비되는 여러 종류의 화학물질에 의해 발생되는데, anaphylaxis는 전신적인 항원-항체 반응에 의해 일시에 다량의 화학물질이 분비되어 여러 장기에서 중증 증상을 보이는 과민성 반응이다. Anaphylaxis는 IgE, (단백질, 다당류 및 hapten) 보체, 그리고 arachidonate 매개에 의한 것, direct mast cell-releasing agents, 물리적인 요인 등¹⁾으로 분류되나 여기에서는 동물실험이 가능한 단백질과 합텐에 의한 anaphylaxis에 관하여 논하고자 한다.

1. Anaphylaxis 동물 모델

(1) 단백질에 의한 anaphylaxis 동물 모델

Anaphylaxis 동물 모델로는 guinea pig, mouse 및 rat 등이 이용되어져 왔으나 이중 mouse는 다양한 inbred strain이 확립되어 있고 경제적인 이유로 가장 많이 이용되어 왔다. Mouse에서 전신적 anaphylaxis 유발에 관한 방법은 실험자마다 다소 차이는 있으나 10-500 µg의 단백질 항원, $1-2 \times 10^6$ 세포의 백일해균, 그리고 1.0 mg의 alum을 혼합하여 복강내로 주사하여 면역하고, 10-14일 후에 10 µg 이상의 동일한 단백질 항원을 정맥 주사 (challenge)하면 주사 후 30 초 이내에 anaphylaxis 증상이 나타나기 시작하여 15-30 분 후 사망에 이른다²⁻⁵⁾. Mouse에서 anaphylaxis시 사망원인은 혈소판 활성화인자 (platelet-activating factor: PAF)에 의한 hypovolemic shock에

기인하기 때문에 PAF 길항제를 전처치함으로써 anaphylaxis에 의한 사망을 예방할 수 있다⁶⁻⁸⁾. Mouse를 이용한 anaphylaxis시 사망률은 strain에 따른 PAF에 대한 감수성에 따라 큰 차이를 보인다. 우리나라에서 쉽게 구할 수 있는 inbred strain중 C57BL/6, BALB/c 및 ICR을 대상으로 PAF에 대한 감수성 (LD₅₀)을 비교해보면 C57BL/6: 0.4-0.5 µg, BALB/c: 1.5-2.0 µg, 그리고 ICR: 1-1.5 µg으로 C57BL/6가 가장 예민하다 (미발표 성적). 따라서 위에 기술한 방법으로 anaphylaxis를 유발시키면 C57BL/6 및 BALB/c는 각각 100% 그리고 50-80%의 사망률을 보인다.

(2) Hapten에 의한 anaphylaxis 동물 모델

임상에서 anaphylaxis를 일으키는 hapten에는 가장 그 빈도가 높은 항생제를 포함하여 마취제 그리고 여러 종류의 약물이 포함된다¹⁾. 그러나 hapten에 대한 실험동물 모델은 최근까지 개발되지 않아 hapten에 의한 anaphylaxis의 병인이나 병태생리를 연구하는데는 단백질에 대한 것에 비교하여 제한적이었다. 최근 본 교실에서는 항생제 (penicillin V 및 cephalothin)에 대한 murine anaphylaxis 모델을 개발하여 이 분야의 연구에 실험적 동물 모델을 제공하였다⁹⁾. 항생제-carrier protein (ovalbumin, OVA) conjugate 500 µg와 2×10^6 백일해균, 1.0 mg의 alum을 혼합하여 복강내로 주사하여 면역하고, 2-6주 후에 50-200 µg의 항생제-bovine serum albumin conjugate를 정맥내 주사하여

통신저자: 전북의대 면역학교실 이헌구

전북 전주시 금암동 산 2-20 (우 560-180)

e-mail: leehk@moak.chonbuk.ac.kr

anaphylaxis를 유발시킨다. 이러한 방법에 의하여 strain 간에 사망률을 비교하면 C57BL/6: 100%, ICR: 50-70%, 그리고 BALB/c: 0%⁹⁾로 사망률은 위에서 기술한 바와 같이 strain의 PAF에 대한 감수성과 밀접한 관련이 있음을 알 수 있다. 단백질 및 hapten에 의한 anaphylaxis시 혈중 PAF과 히스타민 농도는 단백질에 의한 anaphylaxis시 hapten에 의한 경우보다 4-5배 더 높아 (미발표 성적) 그 반응이 더 강하다.

2. Cytokine에 의한 anaphylaxis의 조절

치명적 anaphylaxis 발생에 IgG도 관여함이 임상적으로 보고되어 있지만¹⁰⁾, 주요 항체는 IgE 이다. 항체 생산에 있어서 IgE로 isotype switching에 관여하는 중요한 cytokine은 IL-4 이다. 실험적으로 *in vivo* IgE 형성에 IL-4 역할을 고찰해 보면 항 IL-4 항체를 mouse에 주사하여 IL-4 활성을 차단하였을 때, 항원에 대한 1차 및 2차 IgE 반응을 포함하여 이미 형성된 IgE 반응 역시 억제됨이 보고되어¹¹⁻¹³⁾ IL-4는 IgE 생산 및 유지에 필수적임을 알 수 있다. IgE는 anaphylaxis 뿐 아니라 다른 알레르기 질환의 병인에 필수적이기 때문에 천식같은 질환에서 국소적으로 IL-4를 억제함으로써 질환을 치료하려는 노력이 시도되었다. IL-4 활성을 억제하는 인자에는 항 IL-4 항체, soluble IL-4 receptor 그리고 Th2 반응을 억제시키는 interferon- γ ¹⁴⁾, 그리고 Th0에서 Th1으로의 전환에 관여하는 IL-12¹⁵⁾가 속하지만 이러한 IL-4 억제제가 사람의 anaphylaxis 조절에 관한 보고는 찾아볼 수 없다. 다만 실험동물에서 항 IL-4 항체를 이용하여 IgE 생산을 억제함으로써 anaphylaxis를 예방하려는 시도는 본 교실에서 이루어진 연구 이외에는 없는 것 같다^{9, 16)}. 따라서 항 IL-4 항체를 이용하여 IL-4가 단백질 및 hapten에 의한 anaphylaxis를 어떻게 조절하는지를 기술하고자 한다.

(1) 항 IL-4 항체가 단백질에 의한 anaphy-

laxis 조절

Chicken gamma globulin (CGG)으로 감작시킨 경우 감작 초기부터 항 IL-4를 주사하여도 치명적 anaphylaxis는 예방되지 않는다. 이때 항체 반응을 측정해 보면 CGG에 대한 IgE 반응은 억제되나 IgG에 대한 반응은 전혀 억제되지 않는다¹⁶⁾. 이러한 현상은 IgE에 의해서도 치명적 anaphylaxis가 발생됨을 의미한다. 이를 증명하기 위하여 CGG에 대한 polyclonal 및 monoclonal 항체를 만들어 수동성 전신 anaphylaxis를 유도한 결과 IgG에 의해서도 치명적 anaphylaxis가 유도됨을 확인하였다¹⁶⁾. 이러한 사실은 사람에서도 IgG 항체가 치명적 anaphylaxis를 유발시킨다는 보고¹⁰⁾와 일치하여 단백질에 의한 anaphylaxis를 예방하기 위해서는 IgE 뿐 아니라 IgG 반응도 억제하여야 함을 의미한다.

(2) 항 IL-4 항체가 hapten에 의한 anaphylaxis 조절

Hapten에 의한 anaphylaxis에서 주요 항체 반응은 단백질에 의한 경우에 비하여 다르다. 중요한 차이점은 위에서 기술하였듯이 단백질에 의한 경우는 IgE 및 IgG 항체 모두가 치명적 anaphylaxis에 관여하는데 비하여 항생제에 의한 anaphylaxis는 IgE 의존적임을 항 Pen V 항체를 이용한 수동 전신성 anaphylaxis 모델에서 확인하였다⁹⁾. 따라서 항생제 anaphylaxis는 IgE를 억제함으로써 anaphylaxis를 예방할 수 있는 가능성이 높다. 항 IL-4 항체를 Pen V 감작 초기부터 투여하면 치명적 anaphylaxis가 100% 억제되며 이때 Pen V에 대한 특이 항체 반응을 관찰하면 IgE는 억제되나 IgG는 억제되지 않는다⁹⁾. 이러한 사실은 hapten에 의한 anaphylaxis는 IgE 의존성이며 이러한 경우 IL-4 활성을 억제가 유익할 수 있음을 시사한다.

3. IgE 의존성 anaphylaxis에서 비만세포 (mast cell)의 역할

Anaphylaxis에서 비만세포의 역할은 비만세포가 선천적으로 결핍된 SI/SI^d 또는 W/W^v mouse를 대상으로 연구되었다. 단백질에 의한 anaphylaxis는 비만세포 결핍 mouse에서도 정상 마우스와 비교하여 거의 동일하게 발생됨이 보고되었다¹⁷⁾. 또한 W/W^v 마우스에서 항 OVA IgG 항체에 의하여 치명적 anaphylaxis가 발생한다는 보고¹⁸⁾로 미루어 단백질에 의한 anaphylaxis에 관여하는 세포는 비만세포 이외에도 세포 표면에 IgG Fc 수용체를 가지며 항원과 결합에 의해서 화학물질을 방출할 수 있는 세포들이 관여하는 것으로 생각된다. 비만세포는 오랜 동안 IgE 의존성 즉시형 과민반응에 주요 세포로 알려져 왔었다. 그러나 이러한 IgE 의존성 즉시형 과민반응의 모델이 개발되지 않은 관계로 *in vivo*에서 확립되지 않은 상태였으나 합텐에 의한 IgE 의존성 anaphylaxis 모델을 이용하여 이를 규명할 수 있게 되었다. Pen V에 대한 치명적 anaphylaxis는 예상과는 달리 비만세포 결핍 마우스인 W/W^v 마우스에서 증상이 약 5 분 정도 늦게 나타나는 차이는 있었으나 100 % 사망하였다¹⁹⁾. Anaphylaxis 발생 후 이들 마우스에서 PAF의 혈중 농도는 W/W^v 마우스에서 정상마우스에 비하여 5 분 정도 늦게 증가하였으며 전체 농도는 30% 정도이었다. 이는 비만세포는 IgE 의존성 anaphylaxis에서 필수적인 세포가 아님을 알 수 있었는데 이러한 사실은 i) 비만세포 이외에 IgE에 대한 수용체를 가지고 있으면서 항원과 결합에 의해서 화학물질을 방출할 수 있는 세포에 의해서도 IgE 의존성 anaphylaxis가 발생할 수 있다는 중요한 사실을 알게 되었다. 여기에 속하는 세포 군은 마우스에서는 잘 알려져 있지 않다. 그리고 ii)

anaphylaxis 후 즉시 분비되는 PAF은 그 source가 비만세포임을 알 수 있었다. 지금까지 기술하였던 단백질 및 합텐에 의한 anaphylaxis 차이점을 종합하여 표로 나타내면 다음과 같다.

4. 사람에서 anaphylaxis의 예방

실험적인 anaphylaxis는 항체형성에 관여하는 cytokine을 억제함으로써 예방할 수 있지만 사람에서는 대부분의 경우 이미 어떤 알레르겐에 감작되어 항체반응이 일어난 상태이기 때문에 실험동물에서와 같이 알레르겐 특이 IgE 또는 IgG 반응을 전신적으로 억제하는 방법은 거의 불가능하다. 따라서 사람 anaphylaxis는 예방이 최선이라 생각되며 이는 가급적 알레르겐의 유입을 차단함으로써 가능하다. 그러나 어떤 질환이 있는 환자에서 그 질환의 치료를 위해서는 필수적으로 사용해야 되는 약물 (항생제 같은 hapten 및 성분이 단백질인 호르몬 또는 cytokine 같은 치료 약물)에 과민반응이 있는 경우에는 약물 투여 전에 그 약물에 대하여 일시적으로 화학물질의 분비를 차단시킬 수 있는 소위 탈감작 (desensitization) 기술에 관하여 언급하고자 한다. 약물의 성격에 따라 경구 또는 정맥내로 반응을 일으킬 수 없는 극소량을 먼저 투여하고 15-20분 간격으로 투여량을 두배로 증가시키면서 수시간에 걸쳐 투여를 지속한 후 마지막으로 그 약물의 치료량을 투여하는 기술인데, 이러한 방법으로 그 약물에 대한 반응을 억제하면서 치료효과를 얻을 수 있다. 탈감작은 1960년대 페니실린을 대상으로 임상에 소개된 이후²⁰⁾ 많은 항생제²¹⁻²⁴⁾, 최근에는 치료 목적으로 사용되는 cytokine²⁵⁾에 이르기까지 폭넓게 이용된다. 그러나 이 방법은 일시적이며 근본적

Table 1. 단백질 및 합텐에 의한 murine anaphylaxis 특징

Type	항-IL-4 항체에 의한 예방	주 항체	혈중 히스타민 농도	비만세포의 역할
단백질	No	IgE 및 IgG	1	필수적이 아님
Hapten	Yes	IgE	0.2-0.25	필수적이 아님

인 치료효과는 거둘 수 없다. 탈감작의 기작은 동물 모델의 결핍으로 확실히 알려져 있지 않지만 Pen V에 의한 anaphylaxis 모델을 이용한 본 교실의 최근의 연구에서 탈감작은 비반세포 상에 존재하는 Pen V에 대한 특이 항체가 Pen V 경구투여시 항원과 서서히 결합하면서 이들 항원-항체 complex가 일시적인 internalization 이 일어나 세포표면에 항체수가 현저하게 감소하기 때문에 나타나는 현상이다 (미 발표 성적). 이러한 항체수의 감소는 항체가 세포표면에 recycling함으로써 다시 반응을 일으킬 수 있게 된다. 따라서 탈감작 상태는 약물을 더 오래 투여하거나 또는 약물이 작용 시간이 길수록 더 오래 지속시킬 수 있을 것이다.

참 고 문 헌

- 1) Marquardt DL, Wasserman SI: Anaphylaxis. In Allergy: Principles and Practice. 4th ed. Middleton Jr E, Reed CE, Ellis EF, eds. Mosby Press 1525-35, 1988
- 2) Malkiel S, Hargis BJ: Anaphylactic shock in the pertussis-vaccinated mouse. J Allergy 23: 352-8, 1952
- 3) Tokuda S, Weiser RS: Induction of anaphylaxis in the white mouse with antigen-antibody complexes. Science 127: 1237-8, 1958
- 4) McCaskill AC, Hosking CS, Hill DJ: Grass pollen hypersensitivity in mice. Immunology 46: 745-50, 1982
- 5) Choi IH, Ha TY, Lee DG, Park JS, Lee JH, Park YM et al: Occurrence of disseminated intravascular coagulation (DIC) in active systemic anaphylaxis: role of platelet-activating factor. Clin Exp Immunol 100: 390-4, 1995
- 6) Braquet P, Etienne A, Touvay C, Bourgain RH, Lefort J, Vargaftig BB: Involvement of platelet activating factor in respiratory anaphylaxis, demonstrated by PAF-acether inhibitor BN 52021. Lancet 29: 1501, 1985
- 7) Vilain B, Lagente V, Touvay C, Desquand S, Randon J, Lefort J et al: Pharmacological control of the in vivo passive anaphylactic shock by the PAF-acether antagonist compound BN 52021. Pharmacol Res Commun 18: s119-26, 1986
- 8) Herbert JM, Lespy L, Maffrand JP: Protective effect of SR 27417, a novel PAF antagonist, on lethal anaphylactic and endotoxin-induced shock in mice. Eur J Pharmacol 205: 271-6, 1991
- 9) Park JS, Choi IH, Lee DG, Han SS, Ha TY, Lee JH et al: Anti-IL-4 monoclonal antibody prevents antibiotics-induced active fatal anaphylaxis. J Immunol 158: 5002-6, 1997
- 10) Weiss ME, Nyhan D, Peng ZK, Horrow JC, Lowenstein E, Hirshman C et al: Association of protamine IgE and IgG antibodies with life-threatening reactions to intravenous protamine. N Engl J Med 320: 886-92, 1989
- 11) Finkelman FD, Katona IM, Urban JF Jr, Holmes J, Ohara J, Tung AS et al: IL-4 is required to generate and sustain in vivo IgE responses. J Immunol 141: 2335-41, 1988
- 12) Ochel M, Vohr HW, Pfeiffer C, Gleichmann E: IL-4 is required for the IgE and IgG1 increase and IgG1 autoantibody formation in mice treated with mercuric chloride. J Immunol 146: 3006-11, 1991
- 13) Finkelman FD, Holmes J, Urban JF Jr, Paul WE, Katona IM: T help requirements for the generation of an in vivo IgE response: a late acting form of T cell help other than IL-4 is required for IgE but not for IgG1 production J Immunol 142: 403-8, 1989

- 14) Rocken M, Racke M, Shevach EM: IL-4-induced immune deviation as antigen-specific therapy for inflammatory autoimmune disease. *Immunol Today* 17: 225-31, 1996
- 15) Trinchieri G: Interleukin-12: a cytokine at the interface of inflammation and immunity. *Adv Immunol* 70: 83-243, 1998
- 16) Lee HK, Lee HH, Park YM, Park HJ, Lee JH, Ha TY: Anti-IL-4 antibody inhibits antigen specific IgE response but fails to prevent chicken gamma globulin-induced active systemic anaphylaxis: evidence for the involvement of IgG antibodies. *J Korean Med Sci* 11: 111-7, 1996
- 17) Ha TY, Reed ND: Systemic anaphylaxis in mast-cell-deficient mice of *W/W^v* and *Sl/Sl^d* genotypes. *Exp Cell Biol* 55: 63-8, 1987
- 18) Arimura A, Nagata M, Watanabe A, Nakamura K, Takeuchi M, Harada M: Production of active and passive anaphylactic shock in the WBB6F1 mouse, a mast cell-deficient strain. *Experientia* 46: 739-42, 1990
- 19) Choi IH, Shin YM, Park JS, Lee MS, Han EH, Chai OH et al: Immunoglobulin E-dependent active fatal anaphylaxis in mast cell-deficient mice. *J Exp Med* 188: 1587-92, 1998
- 20) Reisman RE, Rose NR, Witebsky E: Penicillin allergy and desensitization. *J Allergy*. 33: 178-81, 1962
- 21) Sullivan TJ: Antigen-specific desensitization of patients allergic to penicillin. *J Allergy Clin Immunol* 69: 500-8, 1982
- 22) Papakonstantinou G, Bogner JR, Hofmeister F, Hehlmann R: Cefotaxime desensitization. *Clin Investig* 71: 165-7, 1993
- 23) Matz J, Borish LC, Routes JM, Rosenwasser LJ: Oral desensitization to rifampin and ethambutol in mycobacterial disease. *Am J Respir Crit Care Med* 149: 815-7, 1994
- 24) La Rosa M, Romeo MA, Di Gregorio F, Russo G: Desensitization treatment for anaphylactoid reactions to desferrioxamine in a pediatric patient with thalassemia. *J Allergy Clin Immunol* 97: 127-8, 1996
- 25) Shahar E, Krivoy N, Pollack S: Effective acute desensitization for immediate-type hypersensitivity to human granulocyte-monocyte colony stimulating factor. *Ann Allergy Asthma Immunol* 83: 543-6, 1999