

## Interleukin-6가 배양된 정맥내피세포에서 E-selectin의 표현에 미치는 영향

연세대학교 의과대학 소아과학교실

김동수 · 한부현 · 이기영

### 서 론

세균의 감염이나 또는 면역학적인 손상이나 외상 등에 의하여 우리 체내에서 일어나는 다양한 반응을 염증이라고 한다. 이러한 염증이 체내에서 시작되는 것은 다양한 체액성물질이나 또는 세포 등의 관여로 임상적으로는 열감이나 전신적인 발열, 발적, 동통, 및 부종을 그 특징으로 한다. 염증 반응이 일어나기 위해서는 염증이 일어나기 시작하는 부위의 혈관에 변화가 일어나게 되는데 특히 혈관내피세포 표면에 다양한 유착분자의 표현이다. 이러한 유착분자의 발현은 혈액중의 다양한 염증세포의 유착과 염증부위에서 형성된 사이토킨의 화학주성 효과로 인하여 염증부위로 세포의 이동이 일어나면서 효과적인 반응을 유발하게 된다<sup>1)</sup>.

최근에 들어서 이러한 유착분자에 관한 연구가 활발하게 진행되면서 분류도 새롭게 되었다. 유착분자는 크게 셋으로 나누는데, 첫째가 면역글로불

린의 supergene family, 둘째가 integrin family, 셋째가 selectin family가 있다<sup>2)</sup>. 특히 selectin family중에서 E-selectin은 이전에는 endothelial leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1)로 불리우던 것으로 다른 유착분자들과는 달리 혈관내피세포에서만 표현되는 것으로 알려졌다<sup>3)</sup>. 이러한 유착분자들이 혈관내피세포에 표현되면 혈중으로 가용성 형태로 유리되는데 혈중에서 측정되는 가용성 유착분자는 세포표면에 유착분자의 표현정도와 비례하지만 그 기능은 아직 잘 모르고 있다. Newman 등<sup>4)</sup>에 의하면 속크를 동반한 패혈증의 환자에서 가용성 E-selectin을 측정할 수 있다는 보고를 함으로서 환자의 혈중내 E-selectin을 측정하는 것은 임상적으로 혈관염의 정도를 측정하는데 도움을 줄 것이라고 보고하였다. 저자도 소아에서 급성 전신성 혈관염으로 알려져 있는 가와사키병에서 가용성 E-selectin을 측정할 수 있음을 보고하면서 이러한 가용성 E-selectin의 증가는 혈관염을 일으킨 범위와 비례하는 것으로 추정하였으며 이것이 가와사키병의 사망인자와 매우 유관한 관상동맥류의 발현과 연관 있을 것이라

\* 본 연구는 박상후 연구비에 의하여 이루어졌음.

는 것을 시사한다고 하였다<sup>5)</sup>.

혈관내피세포에서 E-selectin의 표현은 현재 interleukin-1(IL-1)이나 tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )의 자극에 의하여 증가되는 것으로 알려져 있는데, 이들은 염증과 관련되는 inflammatory cytokine으로 잘 알려져 있다<sup>6)</sup>. inflammatory cytokine으로 분류되기는 불완전하나 급성 염증 반응때에 증가하는 것으로 알려진 사이토킨 중에는 IL-6가 있다. IL-6의 기능은 매우 다양해서 B 세포의 분화, T 세포의 증식 및 분화, 골수의 거핵구 성장촉진, 신장의 사구체 간질세포 성장촉진, 표피세포의 성장촉진 등의 역할을 하면서 흥미있는 것은 간장세포를 자극하여 급성기 반응물질을 생성하여 염증과 관련이 있는 사이토킨으로 알려져 있다<sup>7)</sup>. 이처럼 급성기에 증가되는 IL-6가 IL-1이나 TNF- $\alpha$ 처럼 혈관내피세포를 자극하여 E-selectin의 표현을 증가시키는데 대해서는 아직 보고가 없다. 흥미있는 것은 저자의 보고에 의하면 급성기 가와사끼병 환자의 혈중에 증가된 가용성 E-selectin은 혈중의 증가된 IL-6와 비례하는 것으로 나타났다<sup>8)</sup>. 이에 저자들은 증가된 IL-6가 혈관내피세포를 자극하여 E-selectin의 표현을 증가시킬 수 있는지를 알아보기 위하여 본 연구를 시도하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상

세브란스병원 소아과에 입원하여 가와사끼병으로 진단받은 환자 10명을 대상으로하였다. 이들은 가와사끼병 진단기준을 모두 만족시키는 전형적인 환자들이었으며 평균나이는 2.8세(6개월-5세)였고 남녀비는 6:4였다. 환자의 혈청은 -70°C에 보관하였다가 검사직전 실온에 방치하여 녹인 후 사용하였다.

### 2. 혈청 TNF- $\alpha$ 와 IL-6의 측정

R&D Systems(Minneapolis, MN)사의 Quan-

tikine human TNF- $\alpha$  immunoassay kit와 Quantikine human IL-6 immunoassay kit를 가용성 E-selectin은 Bender Med Systems (Vienna, Austria)의 ELISA kit를 이용하여 가와사끼 환자의 혈청내 TNF- $\alpha$ 와 IL-6 그리고 sE-selectin 농도를 측정하였다. 가검물내의 TNF- $\alpha$ 와 IL-6, sE-selectin의 농도는 표준농도에서 얻은 표준 곡선을 이용해서 산정하였다.

### 3. 혈관내피세포의 배양

정상 만삭분만아의 제대를 무균적으로 얻어 RPMI 1640 (Sigma Co., St. Louis, MO)에 넣은 후 운반하였다. 얻어진 제대는 분만후 3시간 이내에 실험을 시작하였다. 먼저 제대정맥내에 배지로 잘 씻은 후, 정맥을 0.5% collagenase (Sigma Co., St. Louis, MO)로 채운 후 20분간 37°C 수조에 방치한 후 얻어진 세포를 3번에 걸쳐서 RPMI 1640 (Sigma Co., St. Louis, MO)로 세척한다. 이 세포를 6 well tissue culture plate (Costar, Cambridge, MA)에 넣는다. 이때 배지는 열처리로 불활성화 시킨 10% AB혈청이 함유된 HF-12 (Sigma Co., St. Louis, MO) 배지를 사용하였다. 처음은 24시간 후 배지를 갈아준 후 그 후부터는 48시간마다 배지를 갈아주었다. 세포가 plate에 부착 후 다시 96 well flat bottom polystyrene plate(Costar, Cambridge, MA)에 계대배양하였다. 혈관내피세포의 확인은 형태학적인 관찰 및 factor VIII staining을 통하여 시행하였다.

### 4. 혈관내피세포의 E-selectin발현

적정농도의 recombinant human TNF- $\alpha$  (R & D Systems, Minneapolis, MN)와 recombinant human IL-6 (R&D Systems, Minneapolis, MN)로 다양한 시간대의 자극을 시행하였다. 자극후 10% normal rabbit serum으로 blocking한 후 배지로 세척하였다. 여기에 mouse anti-human E-selectin antibody (R&D Systems, Minneapolis, MN)를 1:1,000으로 희석하여 30분간 반응시킨 후 다시 배지로 3회 세척하였다. 여기에 peroxidase

conjugated goat anti-mouse Ig G, A, M (R&D Systems, Minneapolis, MN)를 1:1,000으로 희석한 후 30분간 반응시키고 다시 배지로 3회 세척하였다. 여기에 OPD를 넣어 반응시킨후 ELISA reader로 읽었다.

IL-6의 E-selectin 발현에 관한 반응을 차단하기 위하여 mouse anti-human IL-6 monoclonal antibody (R&D Systems, Minneapolis, MN)를 IL-6와 함께 혈관내피세포에 반응시킨 후 위와 같은 ELISA 방법을 통하여 E-selectin 반응을 조사하였다.

### 5. 혈관내피세포의 관찰

IL-6를 혈관내피세포와 반응시키고 16시간 후 inverted microscope으로 혈관내피세포의 형태학적인 변화를 관찰하였다.

### 6. FACS

IL-6로 혈관내피세포를 자극시킨 후, 이 세포를 mouse anti-human E-selectin monoclonal antibody로 반응시킨 후 배지로 3회 세척하고, 다시 FITC-conjugated goat anti-mouse Ig G, A, M antibody로 반응시킨 후 FACStar<sup>plus</sup> (Becton-Dickinson Co., San Jose, CA)로 읽었다.

## 결 과

가와사키 병에서 sE-selectin치와 혈중 IL-6치와는 의미있는 상관 관계를 보여주고 있었다(Fig. 1). 물론  $r^2=0.54$ 로 상관 관계가 매우 높지는 않았지만  $p<0.05$ 로 의미있는 상관 관계를 보여주었다. 이전의 연구에서 sE-selectin농도와 혈청 TNF- $\alpha$ 의 농도는  $r^2=0.64$  ( $p<0.001$ )로 매우 의미있는 상관관계를 보여주었다<sup>8)</sup>. 이에 저자들은 sE-selectin과 IL-6의 증가가 상관관계를 갖는 것이, 증가된 TNF- $\alpha$ 가 혈관내피세포를 자극하여 IL-6의 생성도 증가시키고 아울러 E-selectin의 표현도 증가시킨 것으로 사료될 수도 있지만 증가된

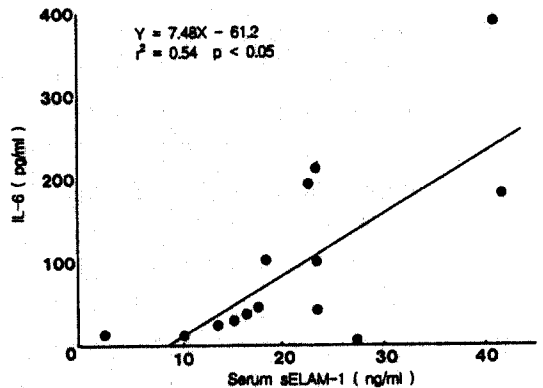


Fig. 1. Correlation between sELAM-1 and serum interleukin-6 (IL-6) level.

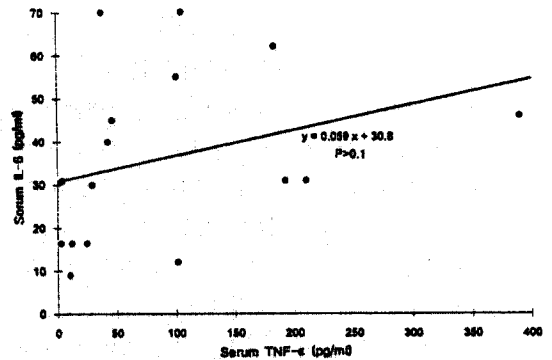


Fig. 2. Correlation between serum IL-6 levels and serum TNF- $\alpha$  levels.

IL-6 자체가 혈관 내피세포를 직접적으로 자극하여 E-selectin의 표현도 아울러 증가시킨 것을 배제할 수 없다. 그리하여 TNF- $\alpha$ 와 IL-6와 상관관계를 관찰하여 보았다.

Fig. 2에서 보는 것과 같이 TNF- $\alpha$ 와 IL-6는 상관관계가 없는 것으로 나타났다. 결국 증가된 sE-selectin은 TNF- $\alpha$ 의 자극을 받은 혈관내피세포에서 표현된 E-selectin에서 유래된 것도 있지만 IL-6의 자극에 의해서도 E-selectin의 표현은 증가될 수 있음을 추정할 수 있었다.

그리하여 각각의 TNF- $\alpha$ 의 농도로 배양된 혈관내피세포를 자극하였고 동시에 다양한 농도의

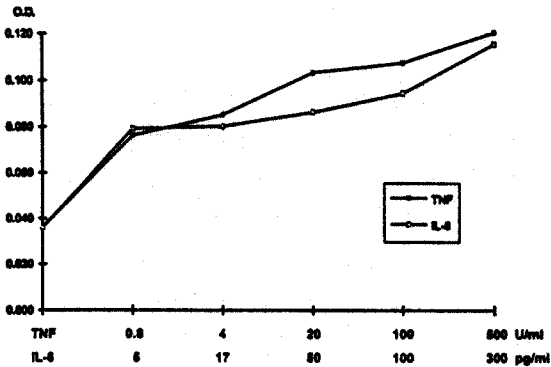


Fig. 3. E-selectin expression on HUVEC stimulated by different concentrations of IL-6 and TNF- $\alpha$  for 16 hours.

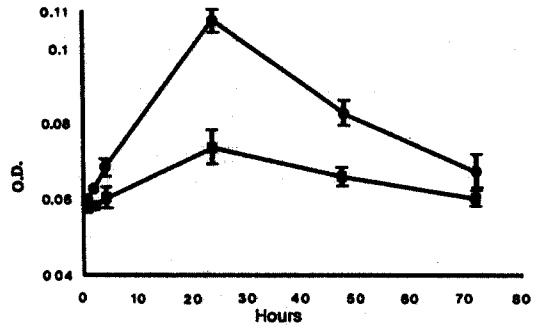


Fig. 5. Anti-IL-6 antibody inhibit E-selectin expression on HUVEC stimulated by IL-6.

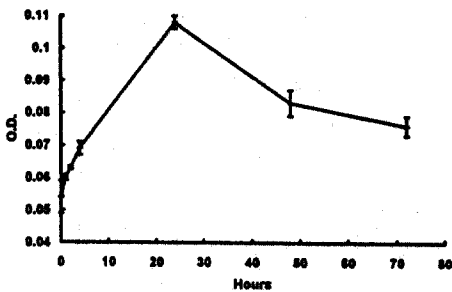


Fig. 4. Time course of E-selectin exsion on HUVEC stimulated by IL-6 (150 pg/ml)

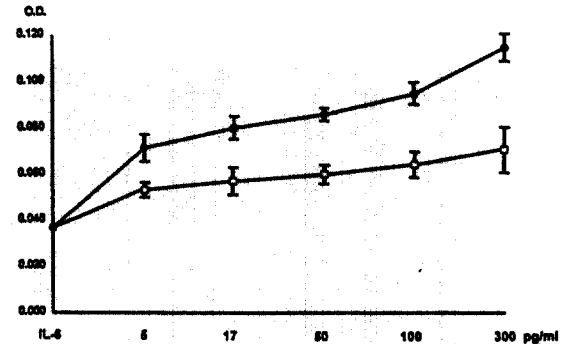


Fig. 6. Anti-IL-6 antibody inhibit E-selectin expression on HUVEC stimulated by IL-6.

IL-6를 가지고 같은 방법으로 자극하여 혈관내피 세포에서의 E-selectin 발현을 측정하여 보았다. Fig. 3에서 보는 것과 같이 TNF- $\alpha$ 의 농도가 증가함에 따라 E-selectin의 발현은 증가하는 양상, 말하자면 dose-dependent 양상을 보여주었다. 뿐만아니라 IL-6의 자극효과도 TNF- $\alpha$ 의 자극효과와 같은 양상을 보여주었다. 그러나 IL-6의 자극효과는 TNF- $\alpha$ 의 자극효과보다는 약한 것으로 나타났다.

이러한 IL-6의 자극효과를 시간 별로 측정해본 결과 자극 후 24시간에 최고치를 보여주었으며 그 후는 점차 감소하는 양상을 보여주었다(Fig. 4).

자극후 16시간을 조사했으면 더 효과적인 자극효과를 관찰할 수 있었으리라 생각되는 이유는 증가 곡선이 자극후 3시간까지는 급격하게 증가하는 양상을 보였고 그후 완만한 증가를 보이는 것이다.

IL-6의 E-selectin 자극효과가 특이한 반응인지를 알아보기 위하여 anti IL-6 monoclonal antibody로 IL-6의 작용을 차단한 결과 IL-6의 농도별 및 시간별 자극효과를 억제하는 양상을 보여주었다(Fig. 5, 6).

이러한 IL-6의 E-selectin 자극효과를 FACS를 통해서 조사해본 결과 Fig. 7에서처럼 뚜렷하게

## 고 찰

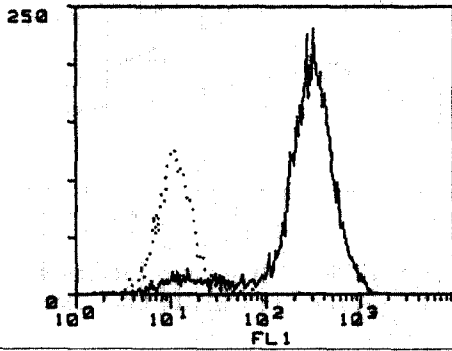


Fig. 7. FACS analysis of E-selectin expression on HUVEC stimulated by IL-6.

Fig. 8. Morphological changes of HUVEC after stimulating with (A) and without rhIL-6 for 16 hours.

혈관내피세포표면에 IL-6에 의하여 E-selectin의 표현이 증가하는 양상을 볼 수가 있었다.

실제적으로 IL-6에 의하여 혈관내피세포의 형태적인 변화를 관찰하여 본 결과 IL-6를 16시간 자극하였을 때 혈관내피세포의 전형적인 형태학적 양상은 변화하여 세포들이 쭈그러 들어있으며 핵들은 진해지고 세포질 내에 공포를 함유하고 있는 세포들이 증가했으며 어떤 세포들은 괴사를 일으키고 있는 양상도 관찰하여 심한 염증반응과 유사한 양상을 보여주고 있었다(Fig. 8).

조직내 손상, 외상, 또는 미생물에 의한 감염 등이 있게 되면, 이들의 자극에 의해서 계속되는 조직의 손상을 막고 감염된 미생물을 파괴하며, 아울러 조직의 회복과정을 활성화하여 정상적인 조직의 기능을 되찾게하려는 일련의 과정들이 다양하게 그리고 서로가 조화를 이루어 몸안에서 일어나게 되는데, 이러한 일련의 복합적인 항상성 과정을 염증이라고 하며 이 염증의 초기 반응을 급성기 반응(acute phase reaction)이라고 한다.

염증반응은 조직내에 존재하는 거식세포와 혈중에 존재하는 단핵구에서 시작되는데 이들 거식세포와 단핵구의 활성화 이전에 비만세포의 탈과립과정과 응집된 혈소판의 활성화로 인해서 유리되는 화학적 매개물로 인해 거식세포와 단핵구를 유도하여 시작되기도한다. 물론 세균의 산물이나 흡소닌의 부산물질로 인해 거식세포와 단핵구를 직접 활성화 시켜서 염증이 시작되기도 한다. 이들 어떤 경우라도 결국 염증반응의 시작을 유발하는 세포는 거식세포나 단핵구이다<sup>1)</sup>.

활성화된 단핵구는 IL-1과 TNF 또는 IL-6를 유리하여 이웃하고 있는 또는 떨어져 있는 조직의 간질세포, 예를들어 섬유아세포와 혈관내피세포에 작용하여 이차적으로 다양한 사이토킨을 유리하게 한다. 이 간질세포에서 유리된 사이토킨은 IL-1, IL-8, monocyte chemoattractant protein (MCP)등에 의해서 혈관내피세포에 다양한 유착분자(intercellular adhesion molecules; ICAM)의 발현이 시작되고 이들 유착분자의 발현으로 혈액내에 존재하고 있던 중성백혈구, 단핵구 등이 혈관내피세포에 유착되고 난 후 조직내로 누출되어 조직손상이 유발된 곳으로 이동하며 이에 염증세포의 축적이 일어나게 된다<sup>9)</sup>.

단핵구나 거식세포 또는 간질세포에서 유리된 IL-1, TNF, IL-6등은 endogenous pyrogen으로 기능을 하여 숙주로 하여금 열이 발생하게 하며,

아울러 adrenal-pituitary axis를 활성화하여 ACTH의 분비를 유도, 결국 cortisol의 분비가 유발되게 되어 지나친 염증 일변도의 반응을 억제하여 항상성을 유지하도록 한다. 아울러 이들 사이토킨은 간장세포에 작용하여 C 반응단백을 위시로한 여러가지 급성기 반응 물질들을 합성하여 혈중에 유리하도록 하는 작용이 있다. 이처럼 이들 사이토킨은 염증반응에 중요한 역할을 하는 것으로 inflammatory cytokines의 범주에 두고있다<sup>1)</sup>.

근자에 들어와서 혈중의 백혈구가 혈관 밖으로 유출되는 기전이 많이 연구되기 시작하면서 특히 혈중백혈구와 혈관 내피세포 사이에 유착분자의 발현이 필수적임이 밝혀졌다. 이들 유착분자는 현재까지 다양하게 밝혀지고 있는데 이들을 다시 immunoglobulin supergene family, integrin family, selectin family 등 세 그룹으로 나누고 있다. Immunoglobulin supergene family에는 CD3, LFA-2(CD2), LFA-3, ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, VCAM-1, CD4, CD8 등이 있으며, integrin family에는  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$  의 세 그룹으로 나누어  $\beta 1$ 에는 VLA-1에서 VLA-6까지 있고,  $\beta 2$ 에는 LFA-1, Mac-1, p150,95가 있으며,  $\beta 3$ 에는 VNR, platelet gly IIB/IIIa가 있다. Selectin family에는 E-selectin, L-selectin, P-selectin이 있으며 이들은 서로 결합하는 상대가 특별히 있어 특이한 ligand와 결합하는 것으로 되어 있다<sup>2)</sup>.

현재까지 유착분자의 표현을 증가시키는 것으로는 히스타민<sup>10)</sup>, platelet activating factor<sup>11)</sup>, leukotriene B<sub>4</sub>, C<sub>4</sub>, D<sub>4</sub><sup>12)</sup>, 과산화수소<sup>13)</sup> 등이 있으며, 사이토킨 종류로는 IL-1<sup>14)</sup>, TNF- $\alpha$ <sup>14)</sup>, IL-2<sup>15)</sup>, IL-3<sup>16)</sup>, IL-4<sup>17)</sup>, IL-5<sup>18)</sup>, IL-6<sup>19)</sup>, IL-8<sup>20)</sup>, interferon- $\gamma$ <sup>21)</sup>, granulocyte macrophage colony stimulating factor<sup>22)</sup> 등이 있다. 이들 중에서 IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-8 등과 같은 inflammatory cytokines은 유착분자를 증가시키는 대표적인 사이토킨으로 잘 알려져 있다.

앞서 지적한대로 염증반응에 관여하는 사이토킨들 중에서 IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-8 등은 이러한 유

착분자의 증가로 인해서 손상받은 조직내로 많은 염증세포들과 염증에 관여되는 물질들의 유입을 촉진시킬 수 있는 것으로 알려져 있지만, 염증반응 중에서도 초기 염증에 관여하고 있는 IL-6는 유착분자의 표현에 어떠한 영향을 주는지에 관하여 별로 연구가 없는 실정이다. 현재까지 IL-6는 사람의 promonocytic cell계통인 U937세포에서 CD18, CD11c, ICAM-1의 표현을 증가시키는 작용이 있는 것으로 알려져 있는 정도이다<sup>19)</sup>.

IL-6는 단핵구를 위시로해서 신체의 여러 세포에서 합성되어 분비되는 것으로 알려져 있으며 면역반응, 조혈작용, 신체방어기전 등 그 기능도 매우 다양한 것으로 보고되어 있다. IL-6는 과거에 interferon- $\beta 2$ , B cell stimulatory factor, 26 kDa protein, hybridoma/plasmacytoma growth factor, hepatocyte stimulatory factor<sup>23)</sup>, monocyte granulocyte inducer type-2 등으로 불리웠으며 그 기능은 B세포의 분화, IL-2를 통한 T세포의 증식과 분화, 간장세포에서 C반응단백과 같은 급성기반응물질의 생성<sup>24)</sup>, 골수에서 거핵구의 성장 촉진<sup>25)</sup>, 표피세포의 성장을 촉진하는 것으로 알려져 있다<sup>26)</sup>.

IL-6는 심한 화상, 후천성면역결핍증, 건선, 사구체간질증식성 사구체신염 등과 골수종, 임파종, 백혈병과 같은 악성종양에서 증가되어 있으며, 흥미로운 사실은 류마치스 관절염과 같은 자가면역성질환에서 증가되어 있는 것으로 보고되면서 다양한 체내 염증질환에는 증가되는 양상을 보여 주어 inflammatory cytokine의 일종으로 생각되는 사이토킨이다<sup>7)</sup>.

그러므로 IL-6가 IL-1이나 TNF- $\alpha$ 와같은 일종의 inflammatory cytokine 이라면 IL-6도 혈관내피세포에서 E-selectin의 발현을 촉진할 수 있을 것으로 추정될 수 있다. 이에 Kim등은 이미 가와사기병에서 가용성 E-selectin이 증가된 혈중의 IL-6와 상관관계가 있음을 보고 하였다<sup>8)</sup>. 이번 연구에서 이 현상을 다시 관찰할 수 있었으며 이러한 상관관계를 두가지로 해석할 수 있다. 첫

제는 가와사키병때에 증가된 TNF- $\alpha$ 가 혈관내피세포를 자극하여 IL-6를 생성하게 하고 아울러 E-selectin의 표현도 증가시키기 때문에 이런 현상을 관찰할 수 있지 않은가 하는 것이다. 만일 이 가설이 옳다면 가와사키 환아에서 혈중 TNF- $\alpha$ 와 IL-6와는 비례해야한다는 결론이 나오는데 이번 실험에서 이 둘은 상관관계가 전혀 없음이 밝혀져 이 가설은 옳지 않은 것으로 생각되었다. 두 번째 가설은 가와사키병 때에 증가된 IL-6에 의해서 E-selectin의 표현이 자극을 받아 증가하여 혈중에 가용성 형태로 많이 유리되어 이러한 결과가 나왔다는 것이다.

그리하여 저자들은 혈관내피세포를 배양하면서 IL-6로 자극을 하였을 때 E-selectin의 표현이 증가하는 것을 관찰 할 수가 있었다는 것은 흥미있는 점이다. 물론 이러한 IL-6의 자극효과는 TNF- $\alpha$ 의 자극효과보다는 다소 약한 것으로 나타났다. 일반적으로 E-selectin의 표현은 자극 후 초기에 증가하는 것으로 알려져 있는데<sup>27)</sup> 저자들의 결과에서도 같은 결과를 보여주고 있었다. 또한 이러한 IL-6의 자극효과가 비특이적인 자극효과가 아닐까하는 우려에서 IL-6에 대한 특이항체로 IL-6의 작용을 차단하였을 때 이러한 자극효과가 감소되는 것으로 보아서 이것은 IL-6의 특이적인 자극효과였음을 알 수 있었다.

그러나 ELISA값이 낮은 연유로 다른 방법으로 IL-6의 자극효과를 증명하기 위해서 FACS를 이용하였다. Fig. 7의 결과에서처럼 FACS에 의해서도 IL-6의 E-selectin 발현자극효과는 뚜렷하게 확인할 수 있었다. 이러한 IL-6의 효과는 형태학적인 변동을 통해서 간접적으로도 증명할 수 있었다. 앞으로 Northern blot를 통해서 E-selectin에 대한 RNA의 표현이 증가될 수 있는지를 더 증명해 볼 필요가 있을 것으로 사료된다.

## 결 론

정상 만삭아에서 채대정맥내피세포를 분리 배

양하면서 IL-6를 자극하여 E-selectin의 표현을 관찰한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. IL-6의 농도가 증가할수록 E-selectin의 표현은 증가되었다.
2. IL-6로 자극 후 24시간에 최고의 E-selectin 표현을 보이다가 그 후 점차 감소하였다.
3. 이러한 IL-6의 효과는 anti-IL-6 monoclonal antibody에 의하여 감소되었다.
4. FACS에 의해서도 IL-6의 E-selectin 자극효과를 관찰 할 수 있었다.
5. 혈관내피세포를 IL-6와함께 배양하였을 때 염증성변화를 관찰 할 수 있었다.

## References

- 1) Baumann H, Gauldie J : The acute phase response. *Immunol Today* 15:74-80, 1994
- 2) 고영률 : 유착분자. *알레르기* 13:441-459, 1993
- 3) Osbon L : Leukocyte adhesion to endothelium in inflammation. *Cell* 62:3-6, 1990
- 4) Newman W, Beall LD, Carson CW, Hunder GG, Graben N, Randhawa ZI, Gopal TV, Wiener-Kronish J, Matthay MA : Soluble E-selectin is found in supernatants of activated endothelial cells and is elevated in the serum of patients with septic shock. *J Immunol* 150:664-654, 1993
- 5) 이완규, 김동수, 이기영 : 가와사키병에서 가용성 ELAM-1에 관한 연구. *소아알레르기 및 호흡기* 4:19-29, 1994
- 6) Pober JS, Bevilacqua MP, Mendrick DL, Lapierre LA, Fiers W, Gimbrone MA Jr : Two distinct monokines, interleukin

- 1 and tumor necrosis factor, each independently induce biosynthesis and transient expression of the same antigen on the surface of cultured human vascular endothelial cells. *J Immunol* 136:1680-1687, 1986
- 7) Hirano T, Kishimoto T : Interleukin-6 in Handbook of Experimental Pharmacology (Vol. 95/1 Peptide Growth Factors and Their Receptors)(Sporn MB, Roberts AB eds) p633-665, Springer-Verlag, 1990
- 8) Kim DS, Lee KY : Serum soluble E-selectin levels in Kawasaki disease. *Scand J Rheumatol* 23:283-286, 1994
- 9) Rot A : Chemokines link the two steps of leukocyte adhesion to endothelium. *The Immunologists* 1:145-149, 1993
- 10) Geng JG, Bevilacqua MP, Moore KL, McIntyre TM, Prescott SM, Kim JM, Bliss GA, Zimmerman GA, McEver RP : Rapid neutrophil adhesion to activated endothelium mediated by GMP-140. *Nature* 343:757-760, 1990
- 11) Zimmermann GA, McIntyre TM, Mehra M, Prescott SM : Endothelial cell-associated platelet-activating factor : a novel mechanism for signalling intercellular adhesion. *J Cell Biol* 110:529-540, 1990
- 12) McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM : Leukotrienes C4 and D4 stimulate human endothelial cells to synthesize platelet-activating factor and bind neutrophils. *Proc Natl Acad Sci USA* 83:2204-2208, 1986
- 13) Patel KD, Zimmerman GA, Prescott SM, McEver RP, McIntyre TM : Oxygen radicals induce human endothelial cells to express GMP-140 and bind neutrophils. *J Cell Biol* 112:749-759, 1991
- 14) Smith CW, Kishimoto TK, Abbass O, Hughes B, Rothlein R, McIntyre LV, Butcher E, Anderson DC : Chemotactic factors regulate lectin adhesion molecules-1(LECAM-1)-dependent neutrophil adhesion to cytokine-stimulated endothelial cells in vitro. *J Clin Invest* 87:609-718, 1991
- 15) Buckle AM, Hong N : Human memory T cell express intercellular adhesion molecule-1 which can be increased by interleukin 2 and interferon  $\gamma$ . *Eur J Immunol* 20:337-341, 1990
- 16) Bochner BS, McKelvey AA, Sterbinsky SA, Hildreth JK, Derse CP, Klunk DA, Lichenstein LM, Schleimer RP : IL-3 augments adhesiveness for endothelium and CD11b expression in human basophils but not for neutrophils. *J Immunol* 145:1832-1837, 1990
- 17) Schleimer RP, Sterbinsky SA, Kaiser J, Bickel CA, Klunk DA, Tomioka K, Newman W, Luscinskas FW, Gimbrone MA Jr, McIntyre BW, Bochner BS : IL-4 induces adherence of human eosinophils and basophils but not neutrophils to endothelium, association with expression of VCAM-1. *J Immunol* 148:1086-1092, 1992
- 18) Walsh GM, Hartnell A, Wardlaw AJ, Kukihara K, Sanderson CJ : IL-5 enhances the in vitro adhesion of human eosinophils, but not neutrophils, in a leukocyte integrin (CD11/18)-dependent manner. *Immunology* 71:258-265, 1990



- 19) Duits AJ, Jainandunsing SM, Van de Winkel GJ, Capel PJA : Selective enhancement of Leu-CAM expression by interleukin 6 during differentiation of human promonocytic U937 cells. *Scand J Immunol* 33:151-159, 1991
- 20) Detmers PA, Lo SK, Olsen-Egbert E, Walz A, Baggiolini M, Cohn ZA : Neutrophil activating protein 1/interleukin 8 stimulates the binding activity of the leukocyte adhesion receptor CD11b/CDD18 on human neutrophils. *J Exp Med* 171:1155-1162, 1990
- 21) Leewenberg JF, von Asmuth EJ, Jeunhomme TM, Buurman WA : IFN-gamma regulates the expression of the adhesion molecule ELAM-1 and IL-6 production by human endothelial cells in vitro. *J Immunol* 145:2110-2114, 1990
- 22) Griffin JD, Spertini O, Ernst TJ, Belvin MP, Levine HB, Kanakura Y, Teddler TF : Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and other cytokines regulate surface expression of the leukocyte adhesion molecule-1 on human neutrophils, monocytes, and their precursors. *J Immunol* 145:576-586, 1990
- 23) Geiger T, Andus T, Klapproth J, Hirano T, Kishimoto T, Heinrich PC : Induction of rat acute phase protein by interleukin-6 in vivo. *Eur J Immunol* 18:717-721, 1988
- 24) Castell JV, Gomez-Lechon MJ, David M, Hirano T, Kishimoto T, Heinrich PC : Recombinant human interleukin-6 (IL-6/BCF-2/HSF) regulates the synthesis of acute phase proteins in human hepatocytes. *FASEB Letters* 232:347-350, 1988
- 25) Nagasawa T, Orita T, Matsushita J, Tsuchiya M, Neichi T, Imazeki I, Imai N, Ochi N, Kanma H, Abbe T : Thrombopoietic activity of human interleukin-6 *FASEB Letters* 260:176-178, 1987
- 26) Hirano T, Akira S, Taga T, Kishimoto T : Biological and clinical aspects of interleukin 6. *Immunol Today* 11:443-449, 1990
- 27) Osbon L, Hession C, Tizard R et al : Direct expression cloning of vascular cell adhesion molecule, a cytokine-induced endothelial protein that binds to lymphocytes. *Cell* 59:1203-1211, 1989

**-Abstract-**

**Effect of Interleukin-6 on the Expression of  
E-selectin on Cultured HUVEC**

Dong Soo Kim, M.D., Boo Hyun Han, M.D., Ki Young Lee, M.D.,

*Department of Pediatrics, Yonsei University  
College of Medicine*

Interleukin-6(IL-6) is a pleomorphic cytokine, which has a variety of functions including stimulatory effect of hepatocytes to produce acute phase reactants. With interleukin-1(IL-1) and tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ), IL-6 has a function in acute inflammation. We conducted this study to clarified that IL-6 also has a function to stimulate the expression of E-selectin on cultured HUVEC like IL-1 and TNF- $\alpha$ . The results were as follows:

1. IL-6 had a stimulatory effect to express E-selectin on HUVEC with dose-dependent pattern.
2. A peak stimulatory effect of IL-6 on expression of E-selectin was 24 hours after incubation and then decreased gradually.
3. This stimulatory effect of IL-6 on expression of E-selectin was blocked by mouse anti-IL-6 monoclonal antibody.
4. A stimulatory effect of IL-6 on E-selectin expression could be also observed on FACS analysis.
5. When incubated with IL-6 for 16 hours, the morphology of HUVEC showed shrunken cells, vacuoles in cytoplasm, and some necrosis which looked like a inflammatory response.

---

*Key Words* : IL-6, E-selectin, TNF, HUVEC, Kawasaki disease