

백혈구 증가증 환자의 혈장내 G-CSF와 GM-CSF의 농도 및 과립구에서의 이들 수용체의 발현

가톨릭대학교 의과대학 소아과학교실

최원석 · 유경환 · 김유정 · 김소영 · 김현희 · 이원배

Plasma G-CSF and GM-CSF Concentrations and Expression of their Receptors on the Granulocyte in Children with Leukocytosis

Won Seok Choi, M.D., Kyung Hwan Ryu, M.D., You Jeong Kim, M.D.
So Young Kim, M.D., Hyun Hee Kim, M.D. and Wonbae Lee, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

Purpose : Granulocyte-colony stimulating factor(G-CSF) and granulocyte macrophage-colony stimulating factor(GM-CSF) are principal cytokines in granulopoiesis and their physiologic effects are mediated through binding to specific cell surface receptors. Although it is known that the level of serum G-CSF and GM-CSF, and presentation of the receptors are increased in infectious diseases, there have been no studies to find the correlation between the granulopoiesis and leukocytosis. This study was designed to measure G-CSF and GM-CSF in leukocytosis and in control and to demonstrate the possible pathogenesis of granulopoiesis in leukocytosis using quantitative analysis of G-CSF, GM-CSF and their CSFr.

Methods : The plasma levels of G-CSF, GM-CSF of 13 children without leukocytosis and 14 children with leukocytosis were measured. Counts of cell surface G-CSFr and GM-CSFr were measured by combining anti G-CSFr and anti GM-CSFr monoclonal antibodies to their respective receptors by using quantitative flow cytometric assay.

Results : There was no significant difference between the plasma concentration of G-CSF and GM-CSF in acute leukocytosis and in the control group. However, levels of G-CSFr in acute leukocytosis decreased significantly compared to the control($P=0.012$) and the levels of GM-CSFr in both groups revealed no significant difference.

Conclusion : Increase in the number of leukocyte in leukocytosis was mediated by increasing the number of neutrophil, and increased plasma concentration of G-CSF may be the cause of neutrophilia. But GM-CSF did not have any influence on leukocytosis. (*J Korean Pediatr Soc* 2003;46: 271-276)

Key Words : Granulocyte-colony stimulating factor(G-CSF), Granulocyte macrophage-colony stimulating factor(GM-CSF), G-CSF receptor, GM-CSF receptor, Leukocytosis

서 론

미생물의 감염은 체내의 세포에 의해 인지되어 초기에 과립구, 대식세포, 자연 살해 세포, 세포독성 임파구 등의 비특이적 면역체계에 의해 파괴되며 이때의 염증 반응은 여러 사이토카인 및 지질 중계물질(lipid mediator)들에 의해 조절된다.

접수 : 2002년 9월 24일, 승인 : 2002년 10월 31일

책임저자 : 이원배, 가톨릭의대 성가병원 소아과

Tel : 032)340-2263 Fax : 032)340-2673

E-mail : lwb@hfh.cuk.ac.kr

Granulocyte colony stimulating factor(G-CSF)와 granulocyte macrophage colony stimulating factor(GM-CSF)는 과립구의 증식과 생성뿐만 아니라 성숙 과립구의 강력한 활성화자로 작용하는 가장 중요한 사이토카인이며¹⁾, 각각에 대한 특이세포 표면수용체에 결합함으로써 생리학적 효과를 나타낸다. G-CSF는 주로 단구(monocyte)나 대식세포에서 만들어져 혈중으로 분비되나 내피세포(endothelial cell)나 T임파구, 섬유모세포에서도 생성되는 것으로 알려졌다. 한편 CSF 수용체는 CD34 양성 미성숙 골수 세포로부터 말초혈액의 성숙 과립구까지 넓게 발현되며²⁾ 내피세포같은 비조혈세포에서도 발현되나 림프구, 적혈구

모세포, 호염구에는 표현되지 않는다^{3,4}). 감염시 염증세포 및 사이토카인 등의 상호 상관관계에 대한 정확한 이해는 아직 부족한 실정이나 급성기 중 interleukin(IL)-1, tumor necrosis factor(TNF)- α , IL-2, interferon- γ , IL-6, IL-8, soluble IL-2 receptor등의 증가, T-세포, B-세포 활성화 등이 염증반응에 관여하는 것은 잘 알려져 있다⁵). 백혈구 증가증 초기에 락타아제나 후골수구 등의 미숙 중성구를 비롯한 백혈구가 증가하며, 백혈구 증가증의 이환시에 여러 가지 세포로부터 산소기의 생성의 증가가 직접적으로 혈관 손상을 일으키고⁶) 특히 Niwa와 Sohmiya⁷)에 따르면 중성구에서 생성된 산소가 혈관 내피세포 손상을 준다고 하였다. 백혈구 증가증에서 혈중 백혈구를 증가시키고 활성화시키는 사이토카인인 G-CSF의 혈청내 농도가 증가되어 있다고 알려졌으나⁸⁻¹⁰), GM-CSF에 대한 연구는 없었으며 백혈구 증가증 환자의 과립구가 정상아와 동일하게 G-CSF 수용체(G-CSFr)와 GM-CSF 수용체(GM-CSFr)를 발현하고 있는지 여부는 아직 연구된 바 없었다. 본 연구에서는 백혈구 증가증 환자에서 G-CSF, GM-CSF의 증감이 과립구 수의 증가와 관련되어 있는지 여부와 이들 수용체에 변화가 있는지 여부를 알아보고 수용체를 포화시키기에 충분한 과량의 해당 CSF와 결합시킨 후 결합하지 않고 남은 수용체의 발현양 즉, 활동성 수용체의 발현양에는 어떤 변화가 있는지를 분석하여 백혈구 증가증의 과립구 수 증가에 G-CSF, GM-CSF, G-CSFr, GM-CSFr이 어떤 역할을 하는지 규명하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 및 재료

2000년 9월부터 2001년 12월까지 가톨릭대학교 성가병원과 강남성모병원에서 백혈구 증가증으로 진단받은 환자 14명에서 치료 시작 전의 급성기 말초혈액을 채혈하여 ethylenediamine tetraacetic acid(EDTA)로 항응고를 시킨 후 이용하였다. 대조군은 알레르기성 자반증, 혈소판 감소성 자반증, 장중첩증 등 비감염성 질환으로 입원한 환자로 말초혈액 백혈구 수가 정상이었던 아동 13명을 하였다. 백혈구 증가증 군의 남녀비는 8:6이었고 평균연령은 3.2 ± 2.5 세이었고 대조군의 남녀비는 5:8이고 평균연령은 4.6 ± 3.4 세이었다. G-CSF와 GM-CSF의 혈장 농도 측정을 위한 검체는 정맥혈로부터 혈장을 즉시 분리하여 -70°C 냉동고에 보관하였다가 해동 후 분석하였고, G-CSFr와 GM-CSFr의 분석은 검체 채취 후 즉시 자동혈구 분석기(Coulter Electronics, USA)로 말초혈액 분석을 시행한 후 실온($18-20^{\circ}\text{C}$)에 보관하였다가 최대 4시간 이내에 시행하였다.

2. 혈중 G-CSF와 GM-CSF의 정량분석

혈장은 37°C 수조에서 해동 후 즉시 분석에 이용하였다. 환자군 및 대조군의 혈장의 G-CSF와 GM-CSF 농도는 enzyme linked immunosorbant immunoassay(ELISA) 원리를 이용한

면역측정 키트(R & D Systems, MN, USA)로 시행하였다. 방법은 제조사의 지시에 따랐으며 최종산물의 발색 정도는 microplate spectrophotometer(Behring Co., Germany)를 이용하였다. 모든 검체와 표준물질은 정확성을 위하여 이중 검사 후 평균을 이용하였고, 표준물질들을 이용한 표준 곡선으로 각 검체의 농도를 환산하였다.

3. 세포표면 G-CSFr과 GM-CSFr의 정량

EDTA로 항응고된 전혈 검체 $50 \mu\text{L}$ 를 phycoerythrin(PE)이 부착된 항 G-CSF 수용체 단클론항체(PE conjugated mouse anti-human CD114, Pharmingen International, San Diego, CA)와 항 GM-CSF 수용체 단클론항체(PE conjugated mouse anti-human CD 116, Serotec, Oxford, UK) $5 \mu\text{L}$ 와 각각 혼합한 다음, 암실에서 30분간 방치한 후 적혈구 용혈 용액(Becton Dickinson, NJ, USA) 2 mL 를 첨가하여 용혈시켰다. 원심 분리된 침전물은 phosphate buffered saline(PBS)로 3회 세척한 후, 유세포 분석기(FACSCalibur, Becton Dickinson, NJ, USA)로 CELLQuest 소프트웨어를 이용하여 분석하였다. 결과는 게이트된 각 세포군의 형광 강도의 기하 평균(geometric mean)으로 기록하였고, 세포당 결합된 PE 분자 수로 환산하는 것은 PE 보합형광키트(QuantiBRITE, Becton Dickinson, San Diego, CA)와 QuantiQuest 프로그램을 이용하였다. QuantiBRITE는 매번 환자의 검체와 같이 측정하였다.

4. 과량의 CSF 처리 후 CSF와 결합하지 않은 수용체의 정량분석

수용체를 포화시키기에 충분한 과량의 해당 CSF와 결합시킨 후 결합하지 않고 남은 수용체의 발현양 즉, 활동성 수용체의 발현양에는 어떤 변화가 있는지를 분석하기 위하여 말초혈액 검체의 1×10^6 개당 $0.5 \mu\text{g}$ 의 G-CSF(Neutrogen, Choong Wae Pharm, Korea), $2 \mu\text{g}$ 의 GM-CSF(Leukogen, LG Pham, Korea)를 혼합한 후 각각 37°C 에서 1시간 동안 배양하여 PBS로 3회 세척하고 각각의 G-CSFr과 GM-CSFr를 유세포 분석기를 이용하여 정량적으로 분석하였다. 채혈의 부족으로 인하여 정상 대조군은 12명, 백혈구 증가증 환자군은 11명을 대상으로 하였다.

5. 통계

환자군과 대조군의 결과 분석은 SPSS 소프트웨어를 이용한 Mann-Whitney U test를 이용하였고 유의성 검정은 Wilcoxon Signed Ranks test를 이용하였다. CSF 처리 전과 후의 비교는 paired sample t-test를 이용하였고, 백혈구 수, 혈장의 각 CSF 농도, 백혈구의 CSFr 발현양과의 상관관계는 Pearson의 상관분석을 통하여 상관계수와 유의도를 구하였다.

결 과

1. 말초 혈액 분석 결과

총 백혈구 수는 백혈구 증가증 환자에서 $24,100 \pm 6,960 / \mu\text{L}$ 로 정상아의 $8,680 \pm 3,780 / \mu\text{L}$ 에 비해 통계적으로는 유의하게 증가되어 있었으며($P=0.016$), 중성구는 정상아 $3,360 \pm 2,120 / \mu\text{L}$, 백혈구 증가증 환자 $20,800 \pm 6,690 / \mu\text{L}$ 으로 유의한 증가를 보였고($P=0.000$), 단구는 정상아 $560 \pm 330 / \mu\text{L}$, 백혈구 증가증 환자 $760 \pm 630 / \mu\text{L}$ 으로 유의한 차이가 없었다($P=0.203$). 백혈구 증가증 환자의 경우 총 백혈구 수는 중성구수 증가에 따라 증가하였다($r=0.944, P=0.000$).

2. 혈중 G-CSF와 GM-CSF 농도

혈중 G-CSF 농도는 백혈구 증가증 환자에서 $164.0 \pm 187.5 \text{ pg/mL}$ 로 정상아의 $71.9 \pm 94.1 \text{ pg/mL}$ 보다 증가된 경향을 보이고 있었으나 통계적으로 유의한 차이가 없었고($P=0.217$), 혈중의 GM-CSF 농도는 백혈구 증가증 환자에서 $4.7 \pm 1.0 \text{ pg/mL}$ 로 정상아의 $4.0 \pm 3.5 \text{ pg/mL}$ 보다 유의한 차이가 없었다($P=0.968, \text{ Table 1}$).

3. 중성구의 G-CSFr과 GM-CSFr 발현양

중성구의 G-CSFr의 발현양은 백혈구 증가증 환자에서 963.6 ± 575.7 로 정상아의 1711.1 ± 452.6 에 비해 유의한 감소를 보였으며($P=0.012$), GM-CSFr의 발현양은 백혈구 증가증 환자에서 471.7 ± 217.0 로 정상아의 854.8 ± 383.0 과 유의한 차이가 없었다($P=0.220$)(Table 1).

4. 과량의 CSF 처리 후 G-CSFr과 GM-CSFr 발현양의 변화

본 실험에 사용한 항 G-CSFr 항체가 결합하는 epitope은 수용체가 G-CSF와 결합하는 부위와 가까워서 G-CSF와 결합한 수용체에는 다시 결합하지 못하는 것으로 판단되었다. 따라서 과량의 CSF를 처리한 후 항체에 결합하는 수용체의 양을 측정하여 CSF처리 이전에 비해 감소한 수용체 수는 CSF와 결합 가능한 활성 수용체의 양을 의미하는데 정상아에서는 $1,012.2 \pm 488.5$, 백혈구 증가증 환자에서는 407.8 ± 405.1 로 백혈구 증가증 환자에서 유의하게 감소되어 있었다($P=0.050, \text{ Table 2}$). 백혈구 증가증 환자에서 활성 G-CSFr의 양은 혈중 G-CSF 및 GM-CSF 농도와 무관하였고($P=0.735, P=0.087$), 정상아의 경우에서도 혈중 G-CSF나 GM-CSF 농도 모두와 무관하였다($P>0.05$). 수용체가 포화되기에 충분한 과량의 GM-CSF 처리 후에 중성구의 GM-CSFr의 발현양을 배양 전과 비교한 결과는 항상 증가되는 양상을 보였는데, 이는 본 실험에서 사용한 항 GM-CSFr 항체 epitope가 항 G-CSFr 항체 epitope와 달리 GM-CSF와 GM-CSFr의 결합여부에 영향을 받지 않으며 결국 총 GM-CSFr양을 나타낸다고 생각된다. 증가된 GM-CSFr의 발현양은 정상아 576.0 ± 529.6 , 백혈구 증가증 환자 566.0 ± 317.1 로 유의한 차이를 보이지 않았다($P=0.828, \text{ Table 2}$).

고 찰

백혈구 증가증은 병원체 감염에 의해서 단구 등 면역적격세포(immunocompetent cell)의 수나 기능이 변화됨에 이어 체액 및

Table 1. The Plasma Concentration of Colony Stimulating Factor Quantities of Receptor Molecules for Colony Stimulating Factors in Neutrophils in Normal Children and Patients with Leukocytosis(mean \pm S.D)

Group	G-CSF	GM-CSF	G-CSFr	GM-CSFr
Normal(n=13)	71.9 \pm 94.1	4.0 \pm 3.5	1,711.1 \pm 452.6	854.8 \pm 383.0
Leukocytosis(n=14)	164.0 \pm 187.5	4.7 \pm 1.0	963.6 \pm 575.7*	471.7 \pm 217.0

* $P=0.012$ compared with normal control

Unit of G-CSF and GM-CSF is pg/mL, Unit of G-CSFr and GM-CSFr is number of bound PE molecules per cell

Table 2. Quantities of Receptor Molecules for Colony Stimulating Factors(CSFr) after CSF Binding on the Surface of Neutrophils in Normal Children and Patients with Leukocytosis

Receptor	Group	CSF binding	Counts of PE molecules	Changed molecules
G-CSFr	Normal(n=12)	Before	1,729.2 \pm 449.6	-1,012.2 \pm 488.5
		After	724.1 \pm 142.3	
	Leukocytosis(n=11)	Before	963.6 \pm 575.7	-407.8 \pm 405.1*
		After	555.8 \pm 263.3	
GM-CSFr	Normal(n=12)	Before	857.1 \pm 365.4	576.0 \pm 529.6
		After	1,434.1 \pm 825.8	
	Leukocytosis(n=11)	Before	471.7 \pm 217.0	566.0 \pm 317.1
		After	1,037.7 \pm 155.2	

number of bound PE molecule per cell \pm S.D. of mean, * $P=0.050$ compared with normal control

세포매개성 면역학적 이상으로 발생한다는 가설이 있고¹¹⁻¹⁴, 이러한 면역질환의 증거로는 백혈구 증가증 급성기에 대식세포/단핵구의 증가, 다클론성(polyclonal) B림프구의 활성화, 활성화된 helper T림프구의 증가¹⁵⁻¹⁷ 및 사이토카인 IL-1, IL-2, TNF- α , IFN- γ , IL-6, IL-8의 증가¹⁸⁻²⁴)를 들 수 있다. 그중 G-CSF는 다핵구의 분화에 중심 역할을 하여 감염에 대한 숙주 방어 및 염증반응의 중심되는 사이토카인으로 알려졌다.

최근 들어서는 백혈구 증가증 급성기에 과립구가 증가되어 있으며 이 과립구를 증진시키고 활성화시키는 사이토카인인 G-CSF, M-CSF의 혈장내 농도가 증가되어 있음이 보고된 바 있으나^{8, 10, 25} 단순한 혈청농도 증가가 보고된 것 외에 수용체와의 결합여부 및 정상아와의 비교에 관한 연구는 없었다.

본 연구 결과 백혈구 증가증에서 총 백혈구 수의 증가는 주로 중성구의 증가와 동반되었으며, 정상아에서는 총 백혈구 수 증가와 중성구 수 증가는 상관관계가 없었으나 백혈구 증가증 환자의 경우에는 중성구 수 증가에 따라 총 백혈구 수 증가를 보였다. 이것으로 백혈구 증가증 환자의 백혈구 수의 증가는 중성구 수의 증가에 의한 것임을 알 수 있었고 이 결과는 Leung 등¹⁵)의 보고와 일치하였다.

Igarashi 등⁸)과 Suzuki 등¹⁰)은 백혈구 증가증 급성기에 혈중 G-CSF의 농도는 정상에 비해 증가되었다가 회복기에 감소하여 정상치로 회복된다 하였으며, Inoue 등⁹)은 질병 초기 혈중 G-CSF 농도는 증가되나 혈중 M-CSF 농도는 정상아와 차이가 없다고 하였고, 그러나 Suzuki 등¹⁰)은 G-CSF 농도가 현저히 감소한다고 하였다.

그러나 본 연구에서는 혈중 G-CSF와 GM-CSF 농도가 모두 정상아와 백혈구 증가증 환자에서 유의한 차이를 보이지 않았다. 그러나 혈중 G-CSF 농도는 백혈구 증가증 환자에서 통계적으로 유의하지는 않으나 높은 경향을 보였다. G-CSF 투여 후 1 시간에는 과립구의 일시적인 감소를 일으키며 이후 골수에서 과립구를 동원하여 정상보다 증가하여 G-CSF 중단후 3일 까지 높은 상태를 유지한다²⁶). 특히 과립구 중 주로 호중구의 증가를 일으킨다²⁷). G-CSF의 투여는 호중구의 수를 증가시켜 일반적인 감염의 치료나 백혈구 감소증의 감염 치료에 도움을 준다²⁸). 그러나 감염이 혈중 G-CSF의 증가를 일으키는지에 대해서는 아직 정설이 없다. 본 연구에서 G-CSF 농도는 백혈구 증가증 환자에서 증가되는 경향을 보이나 통계학적 의미가 없었던 것은 실험의 대상의 수가 적었던 것이 원인으로 사료되며 이에 대한 것은 추후에 더 연구되어야 할 것이다. 한편 GM-CSF 농도에 대한 연구결과는 저자들의 조사로는 최초의 연구결과로 생각된다.

백혈구 증가증 환자에서 중성구의 G-CSFr와 GM-CSFr의 발현양에 대한 연구는 아직 없었으며 저자들은 백혈구 증가증 환자에서 중성구의 G-CSFr의 발현양은 정상아에 비해 감소하였으며 GM-CSFr의 발현양은 정상아와 유의한 차이가 없음을 알 수 있었다. 백혈구 증가증 환자에서 중성구의 G-CSFr의 발

현양은 정상아에 비해 감소한 것은 백혈구 표면의 G-CSFr이 이미 G-CSF에 의해 채워져 있음을 의미한다.

말초혈액을 수용체가 포화되기에 충분한 과량의 G-CSF와 처리 후에 감소된 중성구의 G-CSFr의 양, 즉 활성화된 G-CSFr의 양은 백혈구 증가증 환자에서 유의하게 감소되어 있었다. 이는 정상군에 비해 백혈구 감소증 환자의 백혈구 표면의 G-CSFr이 많이 이용되었음을 의미하는 것으로 생각된다. 활성화된 G-CSFr의 양은 정상아와 백혈구 증가증 환자 모두에서 혈중 G-CSF 및 GM-CSF 농도와는 무관하였다.

말초혈액을 수용체가 포화되기에 충분한 과량의 GM-CSF와 처리한 후에 중성구 GM-CSFr의 발현양을 배양 전과 비교한 결과, 증가된 GM-CSFr의 발현양을 보였으며 이는 정상아와 백혈구 증가증 환자에서 유의한 차이를 보이지 않았다.

이상을 종합하면 백혈구 증가증에서는 중성구 수 증가에 의하여 총 백혈구 수가 증가되고 혈중 G-CSF의 농도는 중성구 증가의 원인으로 생각되며 G-CSFr과 결합하여 백혈구 증가증을 일으키는 것으로 보인다. GM-CSF 농도 및 GM-CSFr은 백혈구 증가에 영향을 주지 않음을 알 수 있었다.

요 약

목적 : G-CSF와 GM-CSF는 과립구생성에 중요한 사이토카인으로서, 각각의 수용체 G-CSFr과 GM-CSFr에 결합하여 기능을 하게 되며, 이들 수용체들은 미성숙 골수 세포로부터 성숙된 말초 과립구까지 발현된다. 일반적으로 혈중 G-CSF와 GM-CSF의 농도 및 이들 수용체의 발현은 과립구가 증가하는 감염 질환에서 변화한다고 알려져 있으나, 백혈구 증가증에서 과립구 수 증가와 관련된 변화에 대해서는 아직 연구된 바가 없다. 본 연구에서는 백혈구 증가증 환자와 정상아의 혈중 G-CSF와 GM-CSF의 농도를 측정하고 말초혈액의 과립구 표면에 존재하는 이들의 수용체를 정량분석하였으며, 활동성이 있는 수용체 발현 양에는 어떤 변화가 있는지를 분석하여 백혈구 증가증 환자의 과립구 수 증가와 G-CSF와 GM-CSF 및 이들 수용체 변화의 관련성을 규명하고자 하였다.

방법 : 정상 대조군으로서 비감염성 질환으로 입원한 같은 연령대의 아동 중 말초혈액 백혈구 수 및 중성구 수가 정상인 아동 13명과 급성기 초기의 백혈구 증가증 환자 14명, 총 27명의 혈중 G-CSF와 GM-CSF의 농도를 측정하였고 세포표면 G-CSFr와 GM-CSFr의 발현양은 각각 항 G-CSF 수용체 단클론항체, 항 GM-CSF 수용체 단클론항체와 혼합 후 유세포 분석기를 이용하여 정량적으로 분석하였으며, 활동성 G-CSFr, GM-CSFr의 양적변화를 유세포 분석기를 이용하여 측정하였다.

결과 : 백혈구 증가증 환자의 총 백혈구 수는 $24,100 \pm 6960 / \mu\text{L}$ 로 정상 대조군 $8,680 \pm 378 / \mu\text{L}$ 에 비해 유의하게 증가되었으며 중성구 수는 백혈구 증가증 환자에서 유의하게 증가되어 있었으나($20,800 \pm 2120 / \mu\text{L}$ vs $3,360 \pm 2,120 / \mu\text{L}$) 단구수는 차이가

없었다. 혈중 G-CSF의 농도 164.0 ± 187.5 pg/mL는 정상 대조군 71.9 ± 94.1 pg/mL과 감소된 경향을 보였으나 통계적으로 유의한 차이가 없었고($P=0.217$) 혈중 GM-CSF의 농도도 유의한 차이가 없었다($P=0.968$). 백혈구 증가증 환자의 중성구의 G-CSFr 발현양 963.6 ± 575.7 은 정상대조군 1711.1 ± 452.6 에 비해 유의한 감소를 보였으며($P=0.012$), 백혈구 증가증 환자의 중성구의 GM-CSFr의 발현양 471.7 ± 217.0 은 정상대조군의 854.8 ± 383.0 과 통계적으로 유의한 차이가 없었다($P=0.220$). 항 G-CSFr항체는 수용체가 G-CSF와 결합하고 나면 수용체에 결합하지 못하는 epitope에 대한 항체로 보여지며, 수용체를 포화시키기에 충분한 과량의 CSF와 배양시킨 후 포화농도에도 결합하지 않은 수용체의 양을 측정하면 남은 수용체 즉, 활동성 수용체 수는 감소하게 되는데, 백혈구 증가증 환자에서 과량의 G-CSF에 배양한 후 감소된 중성구 G-CSFr의 발현양은 407.8 ± 405.1 로 정상 대조군의 $1,012.2 \pm 488.5$ 에 비해 유의한 감소를 보였고($P=0.050$), 혈중 G-CSF 농도 및 혈중 GM-CSF 농도와 무관하였다($P=0.735$, $P=0.087$). 백혈구 증가증 환자와 정상대조군에서 수용체를 포화시키기에 충분한 과량의 GM-CSF에 배양한 후 중성구의 GM-CSFr의 발현양을 분석한 결과는 발현이 증가된 소견을 보였다. 증가된 중성구의 GM-CSFr의 발현 양은 정상아 및 백혈구 증가증 환자에서 유의한 차이가 없었다($P=0.828$).

결론 : 백혈구 증가증에서는 중성구 수 증가에 의하여 총 백혈구 수가 증가되고 혈중 G-CSF의 농도는 중성구 증가의 원인으로 생각되며 G-CSFr과 결합하여 백혈구 증가증을 일으키는 것으로 보인다. GM-CSF 농도 및 GM-CSFr은 백혈구 증가에 영향을 주지 않음을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

- 1) Anderlini P, Przepiora D, Champlin R, Korbling M. Biologic and clinical effects of granulocyte colony-stimulating factor in normal individuals. *Blood* 1996;88:2819-25.
- 2) Shinjo K, Takeshita A, Ohnishi K, Ohno R. Granulocyte colony-stimulating factor receptor at various differentiation stages of normal and leukemic hematopoietic cells. *Leuk Lymphoma* 1997;25:37-46.
- 3) Lee KY, Suh BG, Kim JW, Lee W, Kim SY, Kim YY, et al. Varying expression levels of colony stimulating factor receptors in disease states and different leukocytes. *Exp Mol Med* 2000;32:210-5.
- 4) Bussolino F, Colotta F, Bocchietto E, Guglielmetti A, Mantovani A. Recent developments in the cell biology of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and granulocyte colony-stimulating factor: activities on endothelial cells. *Int J Clin Lab Res* 1993;23:8-12.
- 5) Pober JS. Warner-Lambert/Parke-Davis award lecture. Cytokine-mediated activation of vascular endothelium. *Physiology and pathology*. *Am J Pathol* 1988;133:426-33.
- 6) Uchida N, Asayama K, Dobashi K, Hayashide H, Kata K. Antioxidant enzymes and lipoperoxide in blood in patients with Kawasaki disease. Comparison with the changes in acute infections. *Acta Pediatr Jpn* 1990;32:242-8.
- 7) Niwa Y, Sohmiya K. Enhanced neutrophilic functions in mucocutaneous lymph node syndrome, with specific reference to the possible role of increased oxygen intermediate generation in the pathogenesis of thromboarteritis. *J Pediatr* 1984;104:56-60.
- 8) Igarashi H, Hatake K, Tomizuka H, Yamada M, Gunji Y, Momoi MY. High serum levels of M-CSF and G-CSF in Kawasaki disease. *Br J Haematol* 1999;105:613-5.
- 9) Inoue Y, Kato M, Kobayashi T, Shinohara M, Sone K, Morikawa A. Increased circulating granulocyte colony-stimulating factor in acute Kawasaki disease. *Pediatr Int* 1999;41:330-3.
- 10) Suzuki H, Noda E, Miyawaki M, Takeuchi T, Uemura S, Koike M. Serum levels of neutrophil activation cytokines in Kawasaki disease. *Pediatr Int* 2001;43:115-9.
- 11) Shulman ST, Rowley AH. Does Kawasaki disease have a retroviral aetiology? *Lancet* 1986;2:545-6.
- 12) Akiyama T, Yashiro K. Probable role of Streptococcus pyogenes in Kawasaki disease. *Eur J Pediatr* 1993;152:82-92.
- 13) Cox F, Foshee W, Miller J Jr, Moore S. Simultaneous Kawasaki disease and group A streptococcal pharyngitis. *Clin Pediatr(Phila)* 1993;32:48-52.
- 14) Arav-Boger R, Assia A, Jurgenson U, Spierer Z. The immunology of Kawasaki disease. *Adv Pediatr* 1994;41:359-67.
- 15) Leung DY, Siegel RL, Grady S, Krensky A, Meade R, Reinherz EL, Geha RS. Immunoregulatory abnormalities in mucocutaneous lymph node syndrome. *Clin Immunol Immunopathol* 1982;23:100-12.
- 16) Leung DY, Chu ET, Wood N, Grady S, Meade R, Geha RS. Immunoregulatory T cell abnormalities in mucocutaneous lymph node syndrome. *J Immunol* 1983;130:2002-4.
- 17) de Inocencio J, Hirsch R. The role of T cells in Kawasaki disease. *Crit Rev Immunol* 1995;15:349-57.
- 18) Maury CP, Salo E, Pelkonen P. Circulating interleukin-1 beta in patients with Kawasaki disease. *N Engl J Med* 1988;319:1670-1.
- 19) Leung DY, Cotran RS, Kurt-Jones E, Burns JC, Newburger JW, Pober JS. Endothelial cell activation and high interleukin-1 secretion in the pathogenesis of acute Kawasaki disease. *Lancet* 1989;2:1298-302.
- 20) Lang BA, Silverman ED, Laxer RM, Rose V, Nelson DL, Rubin LA. Serum-soluble interleukin-2 receptor levels in Kawasaki disease. *J Pediatr* 1990;116:592-6.
- 21) Furukawa S, Matsubara T, Jujoh K, Yone K, Sugawara T, Sasai K, et al. Peripheral blood monocyte/macrophages and serum tumor necrosis factor in Kawasaki disease. *Clin Immunol Immunopathol* 1988;48:247-51.
- 22) Rowley AH, Shulman ST, Preble OT, Poiesz BJ, Ehrlich GD, Sullivan JR. Serum interferon concentrations and retroviral serology in Kawasaki syndrome. *Pediatr Infect Dis J* 1988;7:663-6.
- 23) Ueno Y, Takano N, Kanegane H, Yokoi T, Yachie A, Miyawaki T, et al. The acute phase nature of interleukin 6: studies in Kawasaki disease and other febrile illnesses. *Clin Exp Immunol* 1989;76:337-42.
- 24) Asano T, Ogawa S. Expression of monocyte chemoattractant

- tant protein-1 in Kawasaki disease: the anti-inflammatory effect of gamma globulin therapy. *Scand J Immunol* 2000; 51:98-103.
- 25) Igarashi H, Hatake K, Shiraishi H, Samada K, Tomizuka H, Momoi Y. Elevated serum levels of macrophage colony-stimulating factor in patients with Kawasaki disease complicated by cardiac lesions. *Clin Exp Rheumatol* 2001;19: 751-6.
- 26) Katoh M, Shirai T, Shikoshi K, Ishii M, Saito M, Kitagawa S. Neutrophil kinetics shortly after initial administration of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor: neutrophil alkaline phosphatase activity as an endogenous marker. *Eur J Haematol* 1992;49:19-24.
- 27) Hartung T, Wendel A. Immunomodulatory properties of Filgrastim(r-metHuG-CSF) in preclinical practice. In: Morstyn G, Dexter G, editors. *Filgrasim(r-metHuG-CSF) in clinical practice*. New York: Dekker Co, 1998:397-427.
- 28) Matsumoto M, Matsubara S, Matsuno T, Tamura M, Hattori K, Nomura H, et al. Productive effect of human granulocyte colony-stimulating factor on microbial infection in neutropenic mice. *Infect Immun* 1987;55:2715-20.
-