

## 실험적으로 일으킨 생쥐 바이러스성 심근염에서 Interleukin-6의 발현

이화여자대학교 의과대학 병리학교실

조수연 · 진혜경 · 조민선 · 김성숙 · 한운섭

단국대학교 의과대학 내과학교실

한 동 선 · 이 학 중

### Expression of Interleukin-6 in Induced Viral Myocarditis in Mice

Soo Yeon Cho, M.D., Hye Kyung Jin, M.D., Min Sun Cho, M.D.  
Sung Sook Kim, M.D. and Woon Sup Han, M.D.

*Department of Pathology, College of Medicine, Ewha Womans University*

Dong Sun Han, M.D. and Hak Chung Lee, M.D.

*Department of Internal Medicine, School of Medicine, Dan Kuk University*

Viral myocarditis is considered an important cause of dilated cardiomyopathy. At present, two mechanisms are known to be involved in the pathogenesis of viral myocarditis and subsequent cardiomyopathy: viral direct toxicity and immune mediated toxicity. Some authors have reported that IL-6 influences the immunologic mechanism and the virus-induced tissue damage in myocarditis. We injected encephalomyocarditis(EMC) virus to induce viral myocarditis in ICR mice. In order to study the lymphocyte subset and IL-6 expression to clarify the immune mechanism and to demonstrate the role of IL-6 in viral induced myocardial damage.

The following results were obtained:

- 1) In virus inoculated mice, inflammation was severest at 10 days, and some serious complications developed, indicating a possible transition to dilated cardiomyopathy.
- 2) On analysis of the lymphocyte subset, CD4 cells were most prevalent at 5 days and CD8 cells were most prevalent at 10 and 20 days.
- 3) IL-6 was significantly increased and expression of IL-6 was constant, but its intensity was strongest at 5 days.

In conclusion, IL-6, produced by inflammatory cells, fibroblasts, and endothelial cells, might play an important role in myocardial damage in experimentally induced EMC viral myocarditis by its direct cytotoxicity or cytokine mediated activation of cytotoxic cells. (**Korean J Pathol 1995; 29: 212~220**)

**Key Words:** Viral myocarditis, Interleukin-6, Immunohistochemistry

## 서 론

## 연구재료 및 방법

급성 심근염은 각종 미생물, 면역학적 조직 손상, 과민 반응, 물리적 요인에 의한 손상등 다양한 원인에 의하여 발생하는 질환이지만 바이러스에 의한 경우가 과거에 알려졌던 것보다 훨씬 많은 것으로 여겨지고 있다<sup>1)</sup>. 임상적으로 바이러스성 심근염은 증상이 없거나 경미한 한시적 질환으로부터 부정맥이나 급성 심부전으로 사망에 이르는 전격성 질환에 이르기까지 다양한 경과를 보일 수 있고<sup>2)</sup> 그 후유증으로 확장성 심근증등을 일으킬 수 있는 것으로 알려지고 있다<sup>3)</sup>. 인체에서는 많은 바이러스가 심근염을 일으킬 수 있지만 이중에서도 특히 coxsackie 바이러스 A와 B, polio 바이러스 및 Echo 바이러스 등이 가장 중요한 원인 미생물로 보고되고 있다<sup>4)</sup>.

EMC 바이러스(Encephalomyocarditis virus)는 coxsackie 바이러스 등과 같이 Picorna 바이러스 속에 속하는 한 종류로서 여러가지 동물에서 뇌막염이나 심근염 또는 당뇨병등을 일으키는 바이러스로 알려져 있고<sup>5)</sup> 이를 이용한 실험적 모델은 이와 같은 질환들의 경과 관찰과<sup>6)</sup> 그 병리기전의 연구<sup>7)</sup> 및 약물 효과의 관찰<sup>8)</sup>에 매우 유용하게 쓰일 수 있다고 보고되고 있다.

한편 IL-6는 주로 T 세포에서 생산되며 B세포의 분화 인자로서 B세포의 항체 생산을 증가시키는 단백질로 알려져 있었으나 최근 IL-6의 많은 다른 기능이 알려져 다기능을 가지는 cytokine으로 인식되기 시작했다<sup>9)</sup>. 특히 이 IL-6는 B세포의 분화뿐만 아니라, T 세포의 활성화, 조혈작용, 여러 악성 종양의 발생에도 관련하는 것으로 알려졌다<sup>10)</sup>. IL-6와 IL-6 수용체의 결합물이 어떻게 각기 다른 세포반응을 나타내는가에 대해서는 아직도 잘 알려져 있지 않지만 IL-6의 비정상적인 생산은 여러 질병에 직간접적인 원인이 되리라 추측된다<sup>11)</sup>. 염증과 같은 질환 초기에 나타나는 열, 전신 쇠약감, 체중 감소등을 일으키는 역할을 할 것으로 생각되며 CRP(C-reactive protein)등과 같이 질병 급성기에 발견되는 단백질로 여겨지고 있고 면역학적인 조직 손상에도 역할을 하는 것으로 보고되고 있다<sup>12)</sup>. 따라서 아직 발병기전, 병태생리등에 대한 연구 및 이해가 부족한 바이러스성 심근염에서 중요한 역할을 할 것으로 기대되고 있다<sup>13,14)</sup>.

이에 저자들은 EMC 바이러스를 이용하여 생쥐에서 바이러스성 심근염을 발생시킨 후 이 심근염의 발병정도 및 생쥐의 사망율, 그리고 시간 경과에 따른 심근조직의 변화등을 관찰해 보고 그 발병기전에 있어 면역학적 손상 및 IL-6의 역할을 규명하기 위해 이 연구를 시행하였다.

### 1. 연구재료

1) 실험동물: 본 연구에서 실험동물로는 ICR 생쥐를 이용하였는데 성인 숫놈 생쥐 8~10주 짜리를 200마리 사용하였다. 이들 200마리를 두 군으로 나누어 이중 100마리(I군)은 바이러스 주사후 20일 간 추적 관찰하여 생쥐의 생존율을 조사하였고 90마리는(II군) 바이러스성 심근염에서의 조직 병리학적 변화 및 IL-6의 존재를 위한 면역조직화학 변화를 관찰하기 위해 바이러스 복강 주사후 5일 째, 10일 째, 20일 째 각각 30, 30 10마리씩 희생을 시키고 심장을 적출하였다. 10마리는 바이러스를 주사하지 않고 만든 심장 분쇄액을 주사하여 대조군으로 하였다(III군).

2) EMC바이러스: Encephalomyocarditis 바이러스는 심근에 특이적으로 염증을 일으킨다고 알려진 M variant를 ATCC회사(Maryland, USA)에서 구입하여 사용하였다(ATCC No: VR-1324). 바이러스를 우선 백서의 생체내에서 계대증식(in vivo propagation)을 3회 시킨 후 심장을 분쇄하여 인산염 완충액에 희석된 1% 심장 분쇄 희석액(heart homogenate)을 만들었다.

3) EMC 바이러스의 주사 및 희생, 조직보관: 위에서 준비한 계대증식된 바이러스를 0.1 ml씩 백서의 복강내로 주사하였다.(6ID/0.1 ml, ID: infective dose). II군 90마리중에서 자연적으로 사망한 쥐는 조직병리학적 검사에서 제외하였다. 20일 째에는 그동안 20마리의 생쥐가 죽어 10마리의 심장만 실험에 사용가능하였다.

적출한 심장은 반으로 잘라 반은 통상적인 방법으로 고정 및 파라핀에 포매하였고 hematoxylin & eosin 염색 및 Masson's trichrome 염색을 시행하여 조직병리학적 검사를 통해 염증의 정도와 섬유화의 정도를 평가하였다. 적출한 심장의 반은 T림프구 subset의 면역조직화학 염색을 하기 위해 -70°C로 얼린 후 동결절편기(cryocut)를 이용하여 5 μm 절편으로 만든 후 염색하였다.

### 2. 실험방법

1) 생존율조사: 생존율 조사를 위한 100마리(I군)은 바이러스 주사후 20일 간 추적 관찰하여 생쥐의 생존율을 조사하여 기간에 따라 살아있는 생쥐의 마리수를 백분율(%)로 하였다.

2) 심장의 육안검사: 생존율 조사를 위한 I군에서 사망한 생쥐 그리고 조직검사를 위한 II군의 생쥐에서 계획대로 희생시킨 생쥐 심장을 적출하여 포르말린에 고정하거나 얼리기 전에 먼저 심장의 종양을 절단하여 각 심벽 및 심실강을 관찰하였다.

3) 현미경적 검색: 적출한 심장은 반으로 잘라 반은

통상적인 방법으로 고정 및 파라핀에 포매하였고 hematoxylin & eosin 염색 및 Masson's trichrome 염색을 시행하여 조직병리학적 검사를 통해 염증의 정도와 섬유화의 정도를 평가하였다. 염증의 정도는 저자가 정한 다음의 기준에 의거하여 분류하였다. 즉 심근에 염증세포 침윤이나 세포괴사가 전혀 없는 경우를 0등급(grade 0), 염증세포가 한 곳에 10개 이하로 침윤되어 있고 이런 부위가 전 심벽에 2군데 미만인 경우를 1등급(Grade 1), 염증세포가 한 부위에 10개 이상에서 30개 이하 침윤되어 있거나 국소염증세포 침윤부위가 4곳 이하인 경우를 2등급(grade 2), 염증세포 침윤이 30개 이상이면서 염증부위가 5~10개인 경우를 3등급(grade 3), 좌심실벽, 중격, 우심실벽등의 3 부분중 어느 한쪽벽 전체에서 세포괴사를 동반한 염증세포 침윤등을 보이는 경우를 4등급(grade 4)라고 정의하였으며 심장내 전 심벽에 걸쳐 염증세포침윤을 보이는 경우를 5등급으로(grade 5)이라고 정의하였다.

한편 심근내 섬유화는 Masson's trichrome 염색을 하여 청색을 띠는 교원 섬유가 작은 원섬유로 보이는 경우로 경증 섬유화(mild fibrosis), 굵은 섬유로 나타나는 경우를 중등도 섬유화(moderate fibrosis) 강하고 뭉뭉한 양상을 보이는 경우를 중증 섬유화(severe fibrosis)라고 하였다.

**4) 림프구 아형분석과 IL-6 발현을 위한 면역조직화학 염색:** 염증세포의 종류와(Subset) IL-6의 발현을 보기위해서는 면역조직화학 염색을 사용하였는데 Hsu등이 기술한 방법<sup>13)</sup>을 토대로 약간 변형된 방법을 이용하여 Streptavidin-Biotin complex법으로 하였다. 사용한 일차항체 및 이차항체의 종류와 그 특징, 제조회사들은 별표와 같다(Table 1).

방법을 간단히 설명하면 T 림프구의 아형중 CD4 (C4D3)와 CD 8(Ly 2)는 얼려둔 조직을 이용하였고, IL-6를 비롯한 그 외의 발현은 파라핀에 포매된 조직을 이용하여 염색하였다. 5µm 절편을 만들어 xylene 과 alcohol을 이용하여 탈파라핀과 hydration을 시킨 후 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>로 endogenous peroxidase를 block시켰다. PBS로 수세후 일차항체를 실온에서 2시간 반응시켰

다. 결합이 안된 항체를 PBS로 수세하고 biotin이 결합된 이차항체를 20분간 반응, 다시 PBS로 수세, peroxidase가 결합된 streptavidin 용액을 다시 20분간 반응시킨 후 수세하고 AEC를 이용하여 발색시켰다. Meyer's hematoxylin으로 대조염색후 증류수로 수세한 후 수성 media를 이용하여 mount하였다.

광학현미경으로 검색시 대부분의 표현정도는 강한(intensity) 정도와 분포등을 고려하여 염색이 전혀 안된 경우를 음성(-)으로 하고 강한 양성을 보이면서 대부분의 세포가 양성을 보이는 경우를 grade 3(+++)로 분류한 후 그 사이의 염색상을 보이는 경우를 등급으로 나누어 약한 양성을 trace(+/-), 양성이지만 소수의 세포에서 보이는 경우를 grade 1(+), 강하고 비교적 많은 세포에서 관찰되지만 강양성보다 적은 경우를 grade 2(++)로 분류하여 결과를 분석하여 비교하였다.

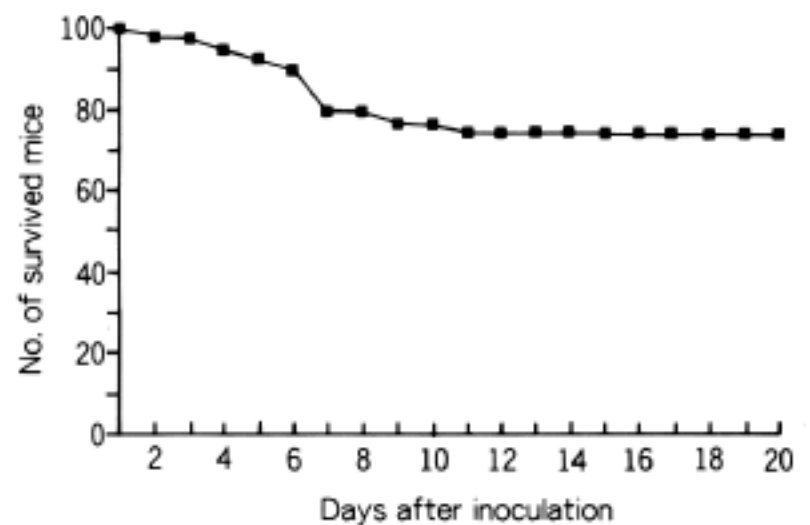
## 연구 결과

### 1. 생존율

I군 ICR 생쥐 100마리를 대상으로한 생존율 실험에서 복강내에 EMC 바이러스를 주사한 날부터 2일에 두마리, 4일에 두마리, 5일에 세마리, 6일째 세마리의 생쥐가 죽었고, 7일 째 10마리, 그리고 10일 째와 11일 째 두마리씩, 세마리의 쥐가 죽었다. 전체 100마리중 모두 25마리의 쥐가 죽어 25%의 사망율(mortality)을 보였다. 주사후 4일 내지 7일 째 가장 높은 사망율을 나타내었다(Fig. 1).

### 2. 병리조직학적 소견

**1) 염증소견의 관찰:** II군에서는 바이러스 주사후 경과시간대에 따라 희생시킨 생쥐 심근에서의 심근염의 정도를 기술한 기준에 따라 평가한 바 바이러스 주

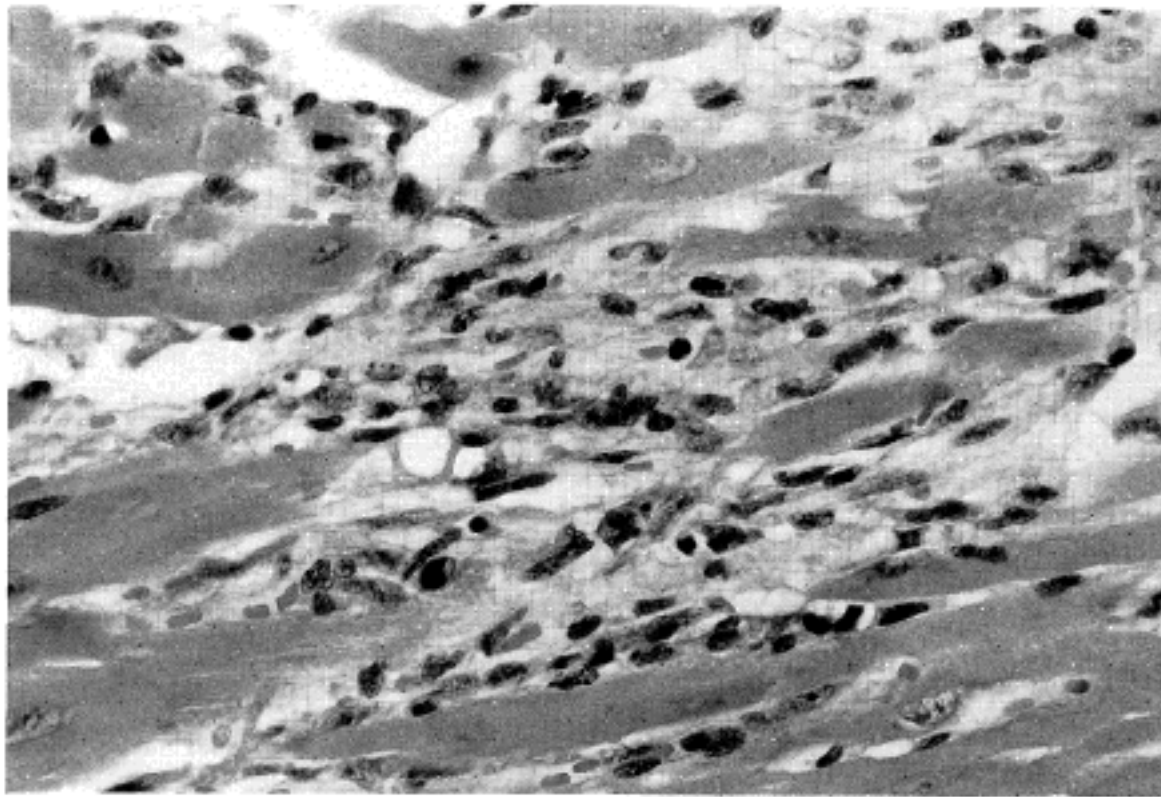


**Fig. 1.** Survival rate curve of Group I mice; Note the maximal death rate of 4~7 days after virus inoculation.

**Table 1.** Antibodies used in staining

Antibody	Source	Specificity
Anti-mouse Ig ab	Dako(CA, USA)	B lymphocyte
Thy1.2	BD(CA, USA)	pan T lymphocyte
Lyl	BD	precursor T
L3T4	BD	helper T
Ly2	BD	cytotoxic T
IL-6	RIGE	IL-6
LSAB kit	Dako	streptavin-biotin

RIGE: Research institute of genetic engineering



**Fig. 2.** marked inflammation of mice of Group III; Heavy infiltration of mononuclear cells and accompanied myocyte necrosis is noticed(H&E stain,  $\times 100$ ).

**Table 2.** Number of specimen showing each grade of inflammation in groups of myocarditis after EMC virus injection

Days after injection	Grade of inflammation						Ave. gr.
	0	1	2	3	4	5	
0 days(n=5)	10						0
5 days(n=30)	5	7	11	7			1.7
10 days(n=30)	2	4	4	6	7	7	3.1
20 days(n=10)	1	1	4	4			2.1

사후 5일째 생쥐 심근에는 평균 1.7등급(grade ave. 1.7)의 심근내 염증정도를 10일째 생쥐 심근에는 평균 3.1등급(grade ave. 3.1)의 염증정도를 20일째에는 평균 2.1등급(grade ave. 2.1)의 심근내 염증소견을 보여 주었다(Table 2).

심근내 염증은 림프구가 침윤하는 만성 바이러스 염증의 일반적인 소견을 보였고 대식구 및 중성구의 출현도 광학현미경상 관찰되었으나 이 변화들은 미만성으로 오지 않고 다발성 병소를 보이는 경우가 대부분이었다(Fig. 2). 이와 함께 각 근섬유의 괴사 및 변성 소견도 동반되어 관찰되었다. 이들 변화는 물론 심근층에 중점적으로 나타났으나 일부 심내막과 심외막에서도 간혹 관찰되었다.

**2) 섬유화의 정도:** 또한 같은 심장 조직에서의 심근내 섬유화의 진행정도를 Masson's trichrome 염색으로 확인한 바 5일, 10일째보다 20일째에서 섬유화가 더 진행된 양상을 보여 주었고(Table 3) 이의 분포는 염증의 분포와 비교적 일치하였으나 염증의 정도

**Table 3.** number of specimen showing each grade of fibrosis in groups of myocarditis after EMC virus injection

Days after injection	Grade of fibrosis			
	No change	Mild change	Mod. change	Severe change
0 days(n=10)	5			
5 days(n=30)	17	13		
10 days(n=30)	12	12	6	
20 days(n=5)	2	3	2	3

와는 꼭 일치하지 않았다.

**3) 합병증을 보이는 병리소견:** 소수의 예에서는 특히 죽은 쥐의 부검 소견에서 관찰된 소견중에서는 석회화(Fig. 3)와 심방 및 심실의 확장(Fig. 4)등의 합병증등을 보이는 경우가 있었다.

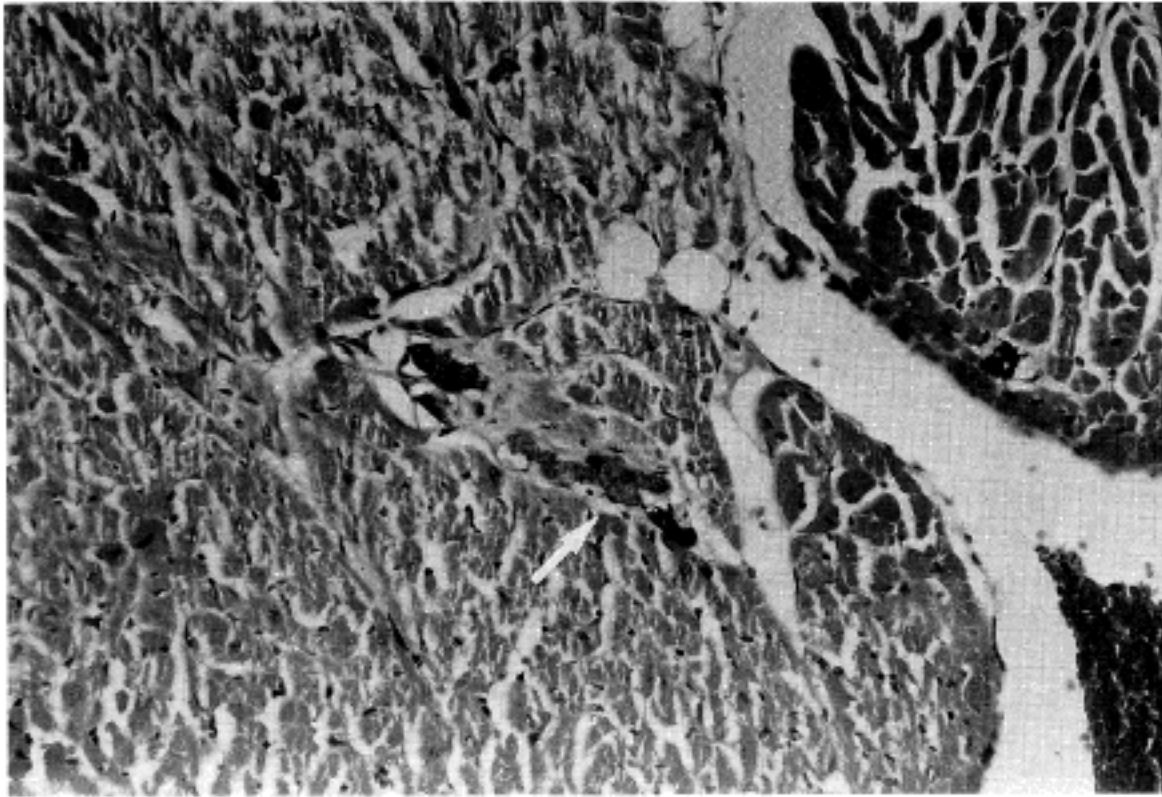


Fig. 3. Some case show multi-focal dystrophic calcifications in myocardium(H&E stain, × 200).

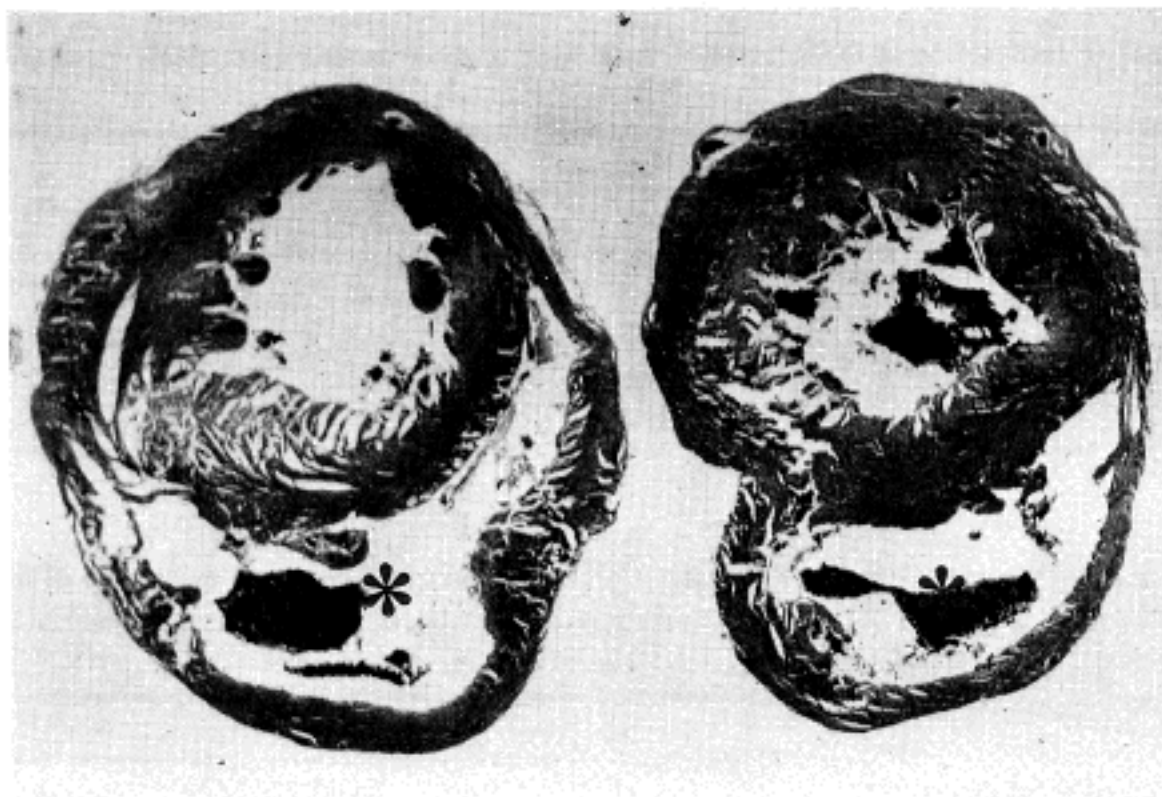


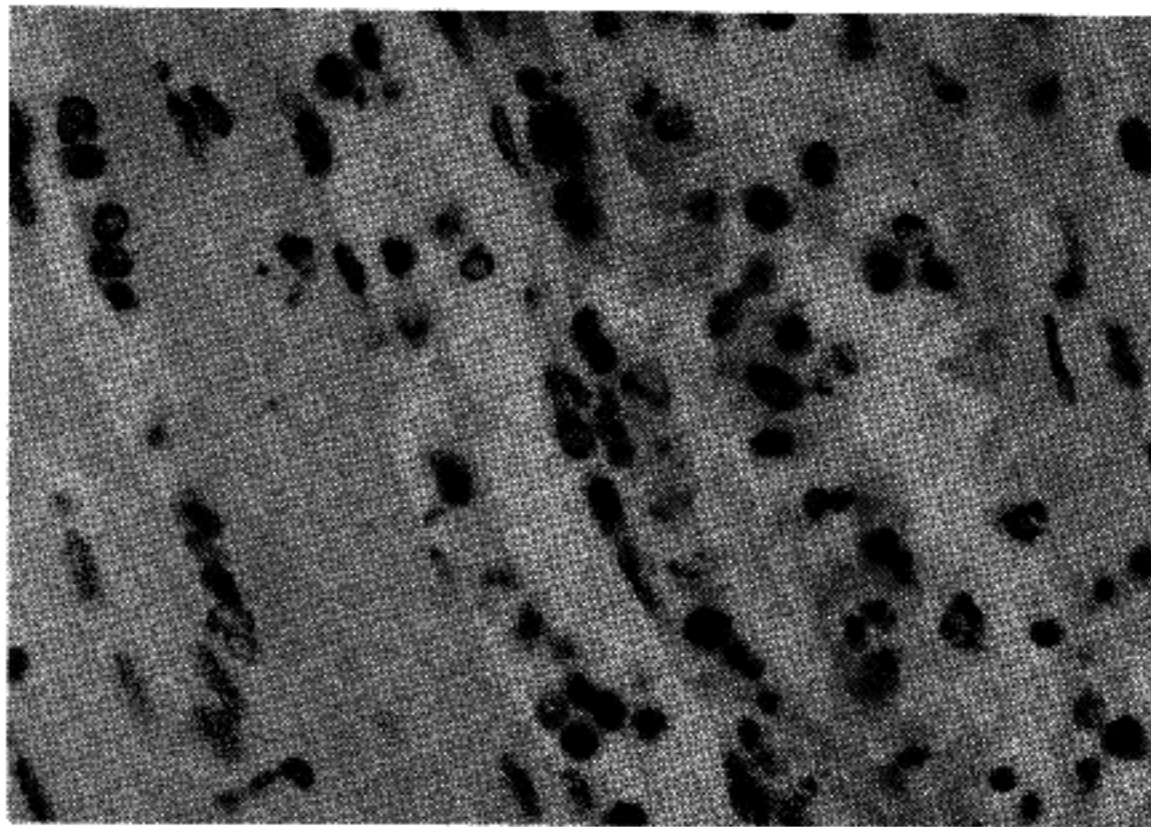
Fig. 4. Many cases reveal dilatation of chambers, as a complication, indicating progression to dilated cardiomyopathy (H&E stain, ×200).

### 3. 면역조직화학적 소견

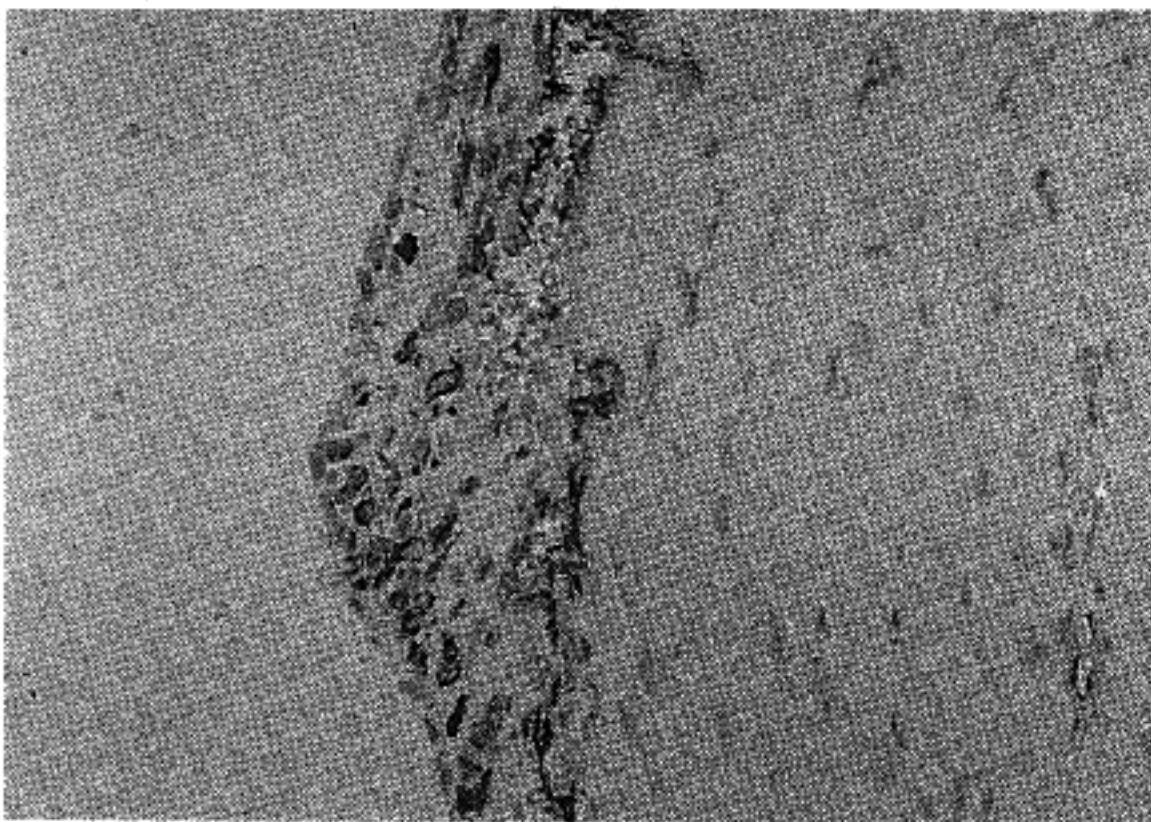
1) 림프구의 아형분석; 림프구의 아형은 방법에 기술한 대로 각 아형에 대한 항체를 이용하여 면역조직화학 염색을 시행하여 관찰하였다. 우선 전반적인 염증에 침윤된 세포중 대체적으로 B세포로 표현된 세포는 T 세포보다 빈도가 적었고 주로 초기에는 30%정도, 후기로 갈수록 그 수가 감소하는 소견을 보였다. 반면 T세포는 그 빈도에 있어 더 많이 관찰되어 주로 심근염에 관여하는 세포로 판명되었는데(Fig. 5) T

세포의 아형을 보면 초기에는 일반 성숙 T 세포가 관찰되었으며 후반에는 점차 미성숙 T세포가 주로 침윤된 것으로 나타났다. 한편 T세포의 표면항원을 보이는 세포를 다시 아형을 동결조직으로 보았을 때 주사 후 5일 째는 cytotoxic T cell보다는 helper T세포가 주로 관찰되었고 cytotoxic cell은 그 후에 주로 나타났는데 이들의 출현은 20일 째 가장 많이 관찰되었다(Table 4).

2) IL-6의 발현; 한편 IL-6의 표현은 주로 T세포나 조직구 그리고 기질에 존재하는 섬유모세포들에서



**Fig. 5.** Immunohistochemical stain for lymphocyte subset revealed the infiltrated cells were mostly T cell subtype in mice of 10 days after inoculation(Immunostain for Thy 1.2 with ABC method,  $\times 200$ ).



**Fig. 6.** IL-6 is expressed at a higher level in fibroblasts and inflammatory cells of mice after virus inoculation(Immunostain for IL-6 with ABC method,  $\times 100$ ).

**Table 4.** Results of immunohistochemistry of lymphocyte subset & IL-6

Days after inoculation	IG	Thy1. 2	Lyl	L3T4	Ly2	IL-6
0 days(n=5)	-	-	-	-	-	-
5 days(n=10)	+	+	+/-	+-	-	+++
10 days(n=10)	++	+++	++	+	-	++
20 days(n=5)	+	+-	++	+/-	++	+

관찰되었는데 5일 째의 생쥐의 심근에서 가장 많이 발견되었고(Fig. 6) 10일 째와 20일 째는 표현은 있었으나 감소하는 것이 관찰되었다(Table 4). 간혹 B세포와 중성구에서도 표현이 관찰되었고 분포로 볼 때 심내막보다는 심외막에 침윤된 염증세포에서 강하게 보였고 섬유모세포나 기질에서는 심내막에서 강하게 나타났다. 주사후 시간에 따라서는 전술한 바와 같이 초기에 비교적 강하게 표현되었다.

### 고 안

바이러스성 심근염은 많은 경우 증상이 없거나 경미하여 일정기간 경과후 호전되는 경우가 대부분이나 일부 심한 때에는 급성 심부전, 부정맥, 전도 장애등을 일으켜 사망에 이를 수 있고 경우에 따라서는 지속적으로 심근에 병변을 일으켜 만성 심근증의 원인이 되기도 하는 것으로 알려져 있다. 심내막 생검에 의해 심근증환자의 일부는 조직학적으로 심근염으로 진단되고<sup>16)</sup> 반대로 심근증 환자의 관련성에 대한 연구가 진행되어 왔다. 이제까지 많은 종류의 바이러스들이 감염후 특징적인 심근염을 유발하는 것으로 알려져 있으나 그 중에서도 Coxsackie 바이러스가 인체에서 심근염을 가장 빈번히 일으키는 것으로 밝혀져 있기 때문에 여러 과학자들은 이 Coxsackie바이러스를 이용하여 동물실험 모델을 많이 만들어 연구에 이용하고 있다<sup>18)</sup>. Encephalomyocarditis(EMC) 바이러스는 생물학적으로 Coxsackie바이러스와 유사한 Picorna 바이러스에 속하는 종류로서 1945년 영장류에서 최초로 분리되었고 동물에서 뇌막염과 심근염등을 일으키는 바이러스로 알려져 있으며<sup>6)</sup>, 인체에서는 감염증이 아직 확실히 밝혀진 바가 없기 때문에 비교적 안전하게 실험실에서 이용할 수 있다는 장점이 있다. 이 EMC 바이러스에는 E variant와 M variant의 두가지 종류가 있는데 E variant는 주로 뇌 신경계를 침범하여 뇌염 및 뇌척수염을 일으킬 수 있는데 반하여 M variant는 주로 심장에서 염증을 일으킨다고 알려져 있다<sup>19)</sup>.

저자들은 이 EMC 바이러스 M variant를 생쥐에 주사하였을 때 심한 심근염이 발생함을 확인하였고 시간 경과에 따른 심근조직의 변화를 보았을 때 주사후 10일 경에 심근염이 가장 심한 양상을 보였음을 알 수 있었으며 섬유화는 처음에는 별로 없었으나 시간이 갈수록 심하여 20일 째 가장 심하였던 것을 관찰할 수 있었다.

한편 Kawai와 Matsumori등은 이 실험모델에서의 심근염시 림프구 침윤은 주로 Cytotoxic T 림프구가 중요한 역할을 한다고 보고한 바 있다<sup>20,21)</sup>. 본 실험에서는 주로 T세포가 침윤되지만 단계별로 침윤되는 세포의 구성이 틀려 처음에는 성숙 T 세포가, 조금 지나면 미성숙 T세포가 주로 침윤되고 T아형도

주로 helper T세포지만 20일 째 생쥐에서는 cytotoxic T세포가 침윤되는 사실을 관찰하였다. 이는 바이러스에 의한 심근염시 주로 면역학적 손상이라는 가설을 이해하는데 도움을 주는 소견이라고 사료된다.

심근증이나 심근염에서 바이러스에 의해 유발된 면역기전이나 자가면역반응에 의해 감염된 심근세포와 정상적인 심근세포가 파괴된다는 주장은 염증세포들이 심근괴사가 있는 부분에만 모여있는 병리형태학적 소견에 의해 뒷받침되고 있다. 또한 심장에 대한 auto-antibody가 실험적 또는 임상적으로 증명이 되기도 하고<sup>22-24)</sup> 본 실험에서도 면역글로블린을 생성하는 B세포의 표현을 지속적으로 관찰한 바 있다.

Woodfuff<sup>25)</sup>는 흉선을 제거하거나 방사선 조사, antithymocyte serum을 주사하여 T세포를 제거한 생쥐는 coxsackie바이러스의 감염후에도 심근염이나 심근의 괴사가 발생하지 않음을 관찰하였고 Kishimoto등은 athymic nude mice에서 바이러스 감염후 심근염의 발생이 적어짐을 관찰하고 실험동물에 T세포단일 항체를 투여하여 심근염의 예방이 가능하다고 보고하여 T세포에 의한 세포성 면역기전이 심근염의 주된 병인임을 주장하였다<sup>7)</sup>. 그러나 Chow등은 세포내의 바이러스를 제거하는 대식세포, NK cell의 기능은 정상이나 B세포 T세포의 기능이 선천적으로 존재하지 않는 severe combined immunodeficiency(SCID) 생쥐를 이용한 실험에서 감염 2주까지도 바이러스는 심근내에서 계속 증식하며 이때 발견되는 염증세포는 주로 대식세포나 NK세포이고 침윤세포중 antigen specific T세포는 관찰되지 않아 바이러스 감염후의 심근괴사는 바이러스에 의해 유발된 면역기전 보다는 바이러스가 심근에서 증식하여 심근을 파괴하는 cytotoxic effect에 기인한다고 보고한 바 있다<sup>26)</sup>. 그러나 본 실험에서 관찰한 바에 의하면 광학현미경상 대식구로 보이는 세포들도 면역조직화학염색을 이용한 표면항원 검사에서 조직구보다는 T림프구 특히 미성숙 T림프구임이 판명되어 Chow의 가설은 신빙성이 적다고 하겠다.

심근염에 있어서 cytokine의 연구는 단지 몇편이 보고되어 있을 뿐<sup>27-29)</sup> 아직 심근염의 발병기전, 병태생리 및 치료등에 대한 연구 및 이해가 부족한 실정임에도 면역학적 기전에 의해 주로 병변을 일으키는 것으로 알려진 바이러스성 심근염에서 중요한 역할을 할 것으로 기대되어 본 실험에서 그 표현을 관찰한바 초기의 병변에서 염증세포들에 의해 분비되고 있음이 확인되었고 나중의 병변에서도 초기보다는 표현이 감소하지만 기질에 존재하는 섬유아세포등에서 표현이 증가되어 이 cytokin이 심근염의 발생에 영향을 미칠 것으로 추측되었다. 따라서 초기와 후기 병변에서 그 손상의 기전이 다르다는 학설의<sup>30)</sup> 뒷받침하는 결과가 될 수 있을 것이다. 뿐만 아니라 사망율이 가장 높은 시기에 IL-6가 가장 표현이 많이 되는 것으로 보아

이에 의한 조직 손상이 중요한 것으로 사료되며 심근염의 치료에 여러가지 기전에 기초를 둔 면역치료들이 제시된 바 있는데<sup>2)</sup> 본 실험에서의 결과로 IL-6의 길항제나 항체를 미리 투여함으로써 바이러스에 대한 심근손상을 줄일 수 있을 것으로 생각된다. 앞으로의 더 많은 실험에 의해서 이를 증명하여야 하겠다.

### 결 론

심근염에서의 조직손상에 대한 IL-6의 역할을 연구하기 위해 생쥐의 심장에 EMC바이러스를 이용하여 실험적으로 심근염을 유도하여 생존율을 조사하고 면역조직화학 염색 및 광학현미경 검색을 하여 다음과 같은 결과를 얻을 수 있었다.

1) 생존율 조사군중 주사후 4일에서 7일째 가장 높은 사망율을 나타내었다.

2) 심근내 염증은 근섬유의 괴사 및 림프구 및 조직구가 침윤된 만성 바이러스성 염증의 일반적인 소견을 보였고 10일째 생쥐에서 가장 심하였다.

3) 섬유화, 혈전, 심실의 확장 및 석회화의 합병증을 동반하여 확장성 심근증으로 이행할 가능성을 시사해 보였다.

4) 림프구의 아형분석상 B세포, T세포가 30:70의 비율로 나타났고 T세포는 10일째 가장 표현이 많이 되었다. T세포중에서도 CD4아형은 5일째 CD8아형은 10일째 가장 많이 관찰되었다.

5) 면역조직화학염색에서 T 림프구 및 섬유아세포에서 IL-6의 표현이 의미있게 증가된 것으로 관찰되었다.

이상의 결과로 미루어 보아 EMC바이러스에 의해 유도된 심근염에서 림프구 및 섬유아세포등에서 생성된 IL-6가 그 자신의 세포독성이나 혹은 세포 독성 임파구의 활성화에 의해 조직 손상을 일으킨다고 사료되었다.

### 참 고 문 헌

- 1) Kawai C, Matsumori A, Kitaura Y, Takatsu T. *Viruses and the heart: Viral myocarditis and cardiomyopathy. Prog Cardiol* 1978; 7: 141-50.
- 2) Braunwald E. *Heart Disease; A textbook of Cardiovascular Medicine. 3rd ed., p1442, WB Saunders Co., 1988.*
- 3) Kawai C. *Idiopathic cardiomyopathy. A study of the infections immune theory as a cause of the disease. Jpn Circ J* 1971; 35: 765-9.
- 4) Matsumori A, Kawai C. *An animal model for congestive heart failure after encephalomyocarditis virus myocarditis in mice. circulation* 1982; 65: 1230-6.
- 5) Matsumori A, Kawai C. *An animal model of con-*

- gestive(dilated) cardiomyopathy; Dilation and hypertrophy of the heart in the chronic stage in DBA/2 mice with myocarditis caused by encephalomyocarditis virus. Circulation* 1982; 66: 355-63.
- 6) Kisimoto C, Matsumori A, Ohmae M, Tomioka N, Kawai C. *Electrocardiographic findings in experimental myocarditis in DBA/2 mice: Complete atrioventricular block in the acute stage, low voltage of the QRS complex in the subacute stage and arrhythmia in the chronic stage. Jpn Coll Cardiol* 1984; 3: 1461-70.
- 7) Kishimoto C, Kuribayashi K, Fukuma K, Masuda T, Tomioka N, Abelmann WH, Kawai C. *Immunologic identification of lymphocyte subsets in experimental murine myocarditis with EMC virus. Different kinetics of lymphocyte subsets between the heart and the peripheral blood, and significance of Thy2+(pan T) and Lyt 2+, 23+(immature T) subsets in the development of myocarditis Circ. Res* 1987; 61: 715-25.
- 8) Matsumori A, Wang H, Abelmann WH, Crumpacker CS. *Treatment of viral myocarditis with riboflavin in an animal preparation. circulation* 1985; 71: 834-42.
- 9) Kishimoto T. *The biology of interleukin-6. Blood* 1989; 74: 1-10.
- 10) Wolvekamp MCJ, Marquet RL. *Interleukin-6: Historical background, genetics and biological significance. Immunol Lett* 1990; 24: 1-10.
- 11) Kishimoto T. *Interleukin-6 and its receptor in autoimmunity. Journal of autoimmunity* 1992; 5 (suppl): 123-32.
- 12) Helle M, Boeijs L, Arden LA. *Functional discrimination between interleukin-6 and interleukin-1. Eur J Immunol* 1988; 18: 1535-40.
- 13) Henke A, Mohr C, Sprenger H, Graebner C, Stelzner A, Nain M, Gemsa D. *Coxsackievirus B-3-induced production of TNF-alpha, IL-1beta and IL-6 in human monocytes. J Immunol* 1992; 148(7): 2270-7.
- 14) Henke A, Spengler HP, Stelzner A, Nain M, Gemsa D. *Lipopolysaccharide suppresses cytokine release from coxsackie virus infected human monocytes Res. Immunol* 1992; 143(1): 65-70.
- 15) Hsu S-M, Raine I. *The use of the avidin-biotin-peroxidase complex(ABC) in diagnostic and research pathology. In Delellis RA, ed. Advances in immunohistochemistry. New York: Masson, p31, 1984.*
- 16) Nippoldt TB, Edwards WD, Holmes DRjr, Reeder GS, Hartler GO, Smith HC. *Right ventricular endomyocardial biopsy, clinicopathological corre-*



- lates in 100 consecutive patients *Mayo Clin Proc* 1982; 57: 407-18.
- 17) Zee- Cheng C, Tasi CC, Palmer DC, Palmer DC, Codd JE, Pennington DG, Williams GA. High incidences of myocarditis by endomyocardial biopsy in patients with idiopathic congestive cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 1984; 3: 63-70.
  - 18) Muir P. The association of enteroviruses with chronic heart disease. *Med Virol* 1992; 2: 9-18.
  - 19) Craighed JE. Pathogenecity of the E and M variants of encephalomyocarditis virus. *Am J Pathol* 1985; 48: 333-43.
  - 20) Estrin M, Huber SA. Coxsackievirus B3-induced myocarditis: Autoimmunity is L3T4+T helper cell and Il-2 independant in Balb/c mice. *Am J Pathol* 1987; 127: 335-41.
  - 21) Wong CY, Woodruff JJ, Woodruff JF. Generation of cytotoxic T lymphocytes during coxsackievirus B3 infection: II. Characteristics of effector cells and demonstration of cytotoxicity against viral-infected myofibers. *J Immunol* 1977; 118: 1165-9.
  - 22) Wolfgram LJ, Beisel KW, Rose NR. Heart-specific autoantibodies following murine coxsackievirus B3 myocarditis. *J Exp Med* 1985; 161: 1112-21.
  - 23) Neu N, Beisel KW, Traystman MD, Rose NR, Craig SW. Autoantibodies specific for the cardiac myosin isoform are found in mice susceptible to coxsackievirus B3 induced myocarditis. *J Immunol* 1987; 138: 2488-92.
  - 24) Neumann DA, Burek CL, Baughman KL, Rose NR, Herskowitz A. Circulating heart-reactive antibodies in pateints with myocarditis or cardiomyopathy. *J Am coll Cardiol* 1990; 16: 839-46.
  - 25) Woodruff JF. Lack of correlation between neutralizing antibody production and suppression of coxsackievirus B3 replication in target organs: evidence for involvement of mononuclear inflammatory cells in defence. *J Immunol* 1979; 123: 32-6.
  - 26) Chow LH, Beisel KW, McManus BM. Enteroviral infection of mice severe combined immunodeficiency: Evidence for direct viral pathogenesis of myocardial injury. *Lab Invest* 1992; 66: 24-31.
  - 27) Smith SC, Allen PM. Neutralization of endogenous Tumor Necrosis Factor ameliorates the severity of Myosin- induced myocarditis *circ. Res* 1992; 70: 856-63.
  - 28) yokoyama T, Kanda T, Suzuki T, Murata K. Enhancement of myocardial damage and alteration of lymphocyte subsets in murine model of postpartum myocarditis. *Am J Cardiovasc Pathol* 1993; 4: 343-50.
  - 29) Pelletier RP, Morgan CJ, Sedmak DD, Miyake K, Kincade PW, Ferguson RM, Orosz CG. Analysis of inflammatory endothelial changes, including VCAM-1 expression in murine cardiac grafts *Transplantation* 1993; 55(2): 315-20.
  - 30) Lane JR, Neumann DA, Lafond-Walker A, Herskowitz A, Rose NR. LPs promotes CB3- induced myocarditis in resistant B10 A mice *cell Immunol* 1991; 136(1): 219-33.
  - 31) Lodge PA., Herzum M, Olszewski J, Huber SA. Coxsackievirus B-3 Myocarditis. Acute and chronic sforms od the disease caused by different immunopathogenic mechanisms. *Am J Pathol* 1987; 2: 455-63.
  - 32) Kishimoto C, Abelmann WH. Monoclonal antibody therapy for prevention of acute coxsackievirus B3 myocarditis in mice. *Circulation* 1989; 79: 1300-8.