

Anti-IL-1 β 단일클론 항체를 이용해서 발열환자의 노중 IL-1 β inhibitor의 확인

남경수[‡] · 배운수 · 남명수* · 오은숙 · 박순희* · 최인성* · 정태화
한국과학기술연구원 유전공학연구소 면역화학실, 세포생물학실*

(Received June 14, 1993)

Identification of the IL-1 β inhibitor in the febrile patient urine by anti-IL-1 β monoclonal antibody

Kyung Soo Nam[‡] Yoon Soo Bae, Myoung Soo Nam*, Eun Sook Oh, Soon Hee Park*,
In Seong Choe* and Tai Wha Chung

Laboratory of Immunochemistry and Cell Biology*, Genetic Engineering Research Institute, Korea Institute of Science
and Technology, Taejeon 305-606, Korea

Abstract—To effectively purify of IL-1 inhibitor from human febrile urine, we have established monoclonal antibody that reacts with human recombinant interleukin 1 β (IL-1 β). The antibody, designated ON-1, was highly specific to IL-1 β and no cross-reaction with other cytokines(IL-1 α and IL-4) was observed. As the results of ELISA inhibition assay and Western blotting method, it was further identified that ON-1 had high binding specificity with IL-1 β . IL-1 receptor binding material from febrile patient urine was effectively purified with affinity column chromatography which conjugated with ON-1. This urinary material inhibited the thymocyte proliferation in a dose-dependent manner. IL-1 β induced thymocyte proliferation activity was inhibited to 67.3% at 6 μ g of the purified urinary material. The result may suggest that this urinary material the purified urinary material. The result may suggest that this urinary material will have antagonistic effect on IL-1 action mechanism and act IL-1 β inhibitor.

Keywords □ IL-1 β inhibitor, ELISA, monoclonal antibody.

IL-1은 흉선세포 증식을 유도하는 임파구 활성화 인자로 감염, 염증등의 여러종류의 면역반응이 일어날 때 macrophage에서 생성되어지는 단백질로 알려져 정제가 진행되어 왔다. 또한 지금은 면역계 뿐만 아니라 내열성 발열인자로서 또한 급성기 단백질의 유도제등의 다양한 생리활성을 가지는 물질^{1,2)}임이 밝혀지게 되었다. IL-1에는 등전점 5의 α 형과 등전점 7의 β 형 두 종류가 존재하며, 각각의 분자량 17.5 Kd인 것으로 알려졌다. α 형과 β 형에는 아미노산 le-

vel에서의 상동성이 25%밖에 없으나 동일 수용체에 거의 같은 친화력을 가지고 결합하고 있다. 여러 사이토카인중 IL-1은 IL-6, IL-8, TNF(Tumor necrosis factor)등과 더불어 염증반응과 직접관련이 있어 자가면역질환, 특히 SLE(systemic lupus erythmatosus) 및 만성 류마치스 환자의 혈중에서 정상에 비해 상당히 많은 양이 존재한다고 보고^{3,4)}되어졌다.

IL-1 β 의 이러한 염증반응에 대한 작용은 세포막에 존재하는 특이적인 수용체를 통해서만 일어남으로 이 수용체를 선택적으로 차단하는 물질이 발열환자의 뇨, 류마치스환자의 관절액속에 있다고 보고^{5,6)}되어지고 있고, 또한 최근에는 IL-1 β 가 관여하는 여러 종류의

[‡]본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.

현주소: 경북 경주시 석장동 707 동국대학교 의과대학 약리학교실.

염증반응 및 그 신호전달을 차단할 수 있는 IL-1 β 수용체 저해물질을 찾기 위한 많은 노력이 가해지고 있다.^{7, 10)} 그래서 본 실험에서는 IL-1 β 의 수용체 저해제와 IL-1 β 가 모두 IL-1 β 수용체에 결합하여 그 활성을 나타낸다면 이 수용체 저해제는 IL-1 β 가 그 수용체에 결합하는 부위와 같은 부분을 가지고 있을 것이라고 가정하여 먼저 IL-1 β 를 고 친화력으로 인식하는 단일클론 항체를 만들었다. 그 후 이 단일클론 항체를 이용해서 발열환자의 뇌속에서 IL-1 β 수용체를 저해하는 물질을 Western blotting으로 확인하고 마우스 흉선세포의 증식에 미치는 영향으로 그 활성을 측정하였다.

실험재료 및 방법

실험동물— 항체 제작에 사용한 동물은 6~8주령의 웅성 Balb/c마우스로 한국화학연구소에서 분배 받았다.

항체의 제작— 항체는 crude한 human recombinant IL-1 β (이하 IL-1 β)를 본 연구소 세포 생물학실로부터 제공받아 12% SDS-PAGE 상에서 17.5 Kd에 해당하는 부분을 깨끗한 면도날로 오려내어 PBS로 균질화 하였다. 마우스 한 마리당 20 μ g의 비율로 Freund's complete adjuvant와 잘 섞은 뒤 Balb/c마우스의 복강에 면역하고 1주 간격으로 동량의 항원을 Freund's incomplete adjuvant와 혼합해서 두 번 추가면역을 시행하였다. 마지막 추가면역의 3일 후, Balb/c마우스의 비장과 Balb/c유래의 암 세포(SP2/O-Ag14)를 사용하여 비교적 온화한 방법으로 융합¹¹⁾을 행하였다. Hybridoma cell에서의 스크리닝은 ELISA(enzyme linked immunosorbent assay)법에 의하여 시행하였으며 두 번의 한계 희석법(limiting dilution)을 거쳐 클론으로 확립하였다.

항체의 스크리닝— 항체의 검출은 먼저 ELISA법^{11,12)}으로 행하였다. IL-1 β (2 μ g/ml, coating buffer pH 9.6)를 96 well plate(Nunc, Inter Med.사)에 4 $^{\circ}$ C에서 overnight로 흡착시키고 3% BSA-PBS로 2시간 blocking하였다. Plate를 세척한 뒤 배양상등액을 넣어 2시간 실온에서 배양하고 다시 biotin화된 anti-mouse Igs(G+M+A, ZYMED Lab.)으로 1시간 반응시킨 다음 o-phenyldiamine을 기질로 492 nm에서 흡광

도를 측정하였다. 이때, 세척용으로는 PBS-Tween(0.05%)을 사용하였다.

ELISA저해 실험¹³⁾(Inhibition assay of ELISA)—기본적인 방법은 ELISA와 동일하나 미리 실온에서 항체와 농도별로 조제한 IL-1 β 를 2시간 반응시킨다. 반응후 이 반응액을 IL-1 β (2 μ g/ml)를 흡착시켜 놓은 96 well plate에 넣어서 ELISA법과 동일한 방법으로 행한다. 이때 동일 농도로 희석시킨 항체만을 넣은 well의 흡광도를 0%로 하여 각 well의 흡광도를 % inhibition으로 계산하여 나타내었다.

Affinity column의 제조 및 IL-1 β inhibitor의 정제—먼저 정제한 항체(ON-1, 5 mg/ml)를 0.2 M citrate buffer(pH 6.8)로 overnight로 투석해 놓는다. CNBr-activated Sepharose 4B(Pharmacia, Sweden)1 g을 1 mM HCl로 15분간 팽윤시킨 후, 이를 다시 0.2 M citrate buffer(pH 6.8)로 3번 세척한다. 여기에 투석한 항체를 가한 뒤 실온에서 천천히 섞는다. 이때 간간히 상정액을 280 nm에서 흡광도를 측정하여 항체가 어느정도 Sepharose에 결합되었는지를 확인한다. 충분히 결합되었으면 17M ethanolamine(pH 8.2) 3 ml로 1시간 반응시켜 고정시킨 뒤 0.1 M acetate buffer(pH 4.0) 및 0.1 M phosphate buffer(pH 8.0)로 각각 세번씩 세척한 다음 column에 충전시켜 affinity column을 제조하였다. 발열 환자 뇌속의 IL-1 β inhibitor의 정제는 Affi-Gel Blue column을 통과시킨 뇌를 loading한 뒤 3 M KSCN으로 용출시켜 정제하였다.

Western blotting¹⁴⁾—Crude항원을 12.5 % 젤에 전기영동한 뒤 nitrocellulose(Hoefer Scientific Instruments, U.S.A.)막에 단백질을 이행시켰다. 이때 200 mA에서 2시간 전개시켰으며 이상 모든 조작의 온도는 4 $^{\circ}$ C에서 시행하였다. 이행이 끝난 nitrocellulose 막을 조심스럽게 떼어내어 3% BSA-PBS에 2시간 이상 blocking시킨 후 세척액인 0.05% Tween 20이 들어있는 PBS로 세척하고 anti-IL-1 β 단일클론 항체를 1% BSA가 포함된 PBS solution에 1 : 100으로 희석한 후 2시간 동안 반응시켰다. 그리고 2차 항체는 biotinylated anti-mouse Igs로 다시 2시간 반응시켰으며 HRP-streptavidin과 다시 1시간 반응시킨 뒤, 4-chloro-1-naphthol을 포함한 발색용액(4-chloro-1-naphthol 10 mg, cold-MeOH 3 ml, PBS 17 ml, 30% H₂O 2) 12 μ l을 가하여 발색을 시키고 건조시켰다.

IL-1 β 수용체 저해물질의 흉선세포 증식억제 효과¹⁵⁾
 - 생후 4~6주된 C₃H/HeJ 쥐의 흉선을 채취하고 이 흉선을 cell homogenizer를 이용하여 흉선세포가 단일 세포집합이 되도록 하였다. 단일흉선세포들을 RPMI 1640배지로 2번 씻은 후 세포수가 약 1.2×10^7 cells/ml 되도록 하였다. 96 well에 흉선 세포(1×10^6 cells/well)를 넣고 PHA를 1.5 μ g/ml을 넣은 후 IL-1 β 의 농도를 23.5 ng로 고정시키고 노에서 정제한 시료의 농도를 각각 6 μ g, 3 μ g, 1.5 μ g, 0.75 μ g으로 농도의존적으로 가한 다음 배양시킨 뒤, 일정량의 배양액을 넣어서 IL-1 β 가 유도하는 흉선세포 증식에 본 시료가 어느정도 억제하는가를 알아보았다. 한 well당 최종 배양부피는 200 μ l가 되도록 하며 FBS농도는 10%로 하였다. 96 well plate를 CO₂배양기에서 48시간 배양한 다음 well당 0.5 μ Ci의 ³H-thymidine을 첨가하여 12시간 더 배양한 후 cell harvester(Skatron, U.S.A.)을 이용하여 cell을 glass fiber filter에 모으고 각 시료의 cpm값은 β -counter(United Technologies, Packard)을 이용하여 측정하였다.

결 과

ELISA에 의해 스크리닝한 결과 IL-1 β 와 친화력을 가지는 2클론, ON-1(IgG_{2b})과 ON-2(IgG_{2b})을 확립했다. 본 실험에서는 이들 2클론중 ON-1을 선택하여 이하의 실험을 행하였다.

ON-1의 cross reactivity—ON-1은 IL-1 β 와는 높은 친화력을 나타내나, subtype인 IL-1 α 및 다른 종류의 사이토카인인 IL-4와는 거의 반응하지 않음을 알 수 있었다.(Fig. 1) 이와같은 사실로 미루어 볼때 anti-IL-1 β 단일클론 항체(ON-1)는 IL-1 β 만을 고 친화력으로 인식하는 항체로 사려되어지며, 또한 crude한 IL-1 β 를 전기영동한 후 ON-1을 사용하여 Western blotting한 결과 ON-1은 여러 단백질이 혼합된 시료 중 17.5 Kd의 IL-1 β 에만 특이적으로 결합함을 알 수 있었다 (Fig. 2).

ELISA억제 실험—ON-1의 IL-1 β 에 대한 반응성을 다시 한번 확인할 목적으로 ELISA억제 실험을 행하였다. 그 결과 soluble IL-1 β 의 농도가 증가할 수록 ON-1과의 반응성이 커져 ON-1이 well에 흡착되어 있는 IL-1 β 와의 결합을 농도 의존적으로 억제시킴을

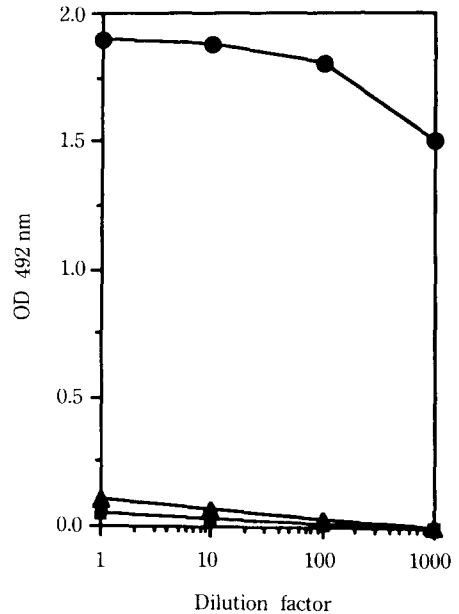


Fig. 1—Reactivity of ON-1 with IL-1 β and its cross-reactivity with IL-1 α and IL-4.

Microtiter plates were coated with 2 μ g/ml of IL-1 β (●), IL-1 α (▲) and IL-4(■) respectively. The mAb bound was detected with biotinylated anti-mouse Igs and streptavidin-conjugated peroxidase.

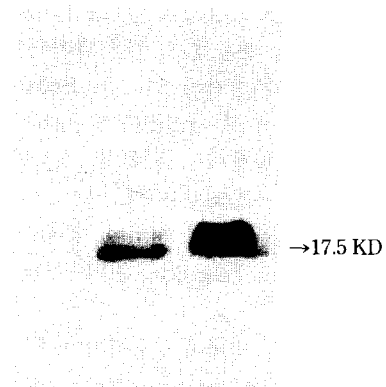


Fig. 2—Detection of IL-1 β by immunoblotting.

50 μ g of partial purified IL-1 β (lane 1) and crude IL-1 β (lane 2) were electrophoresed in SDS-polyacrylamide gel in the presence of 2-mercaptoethanol, transferred to the nitrocellulose membrane and blotted with ON-1.

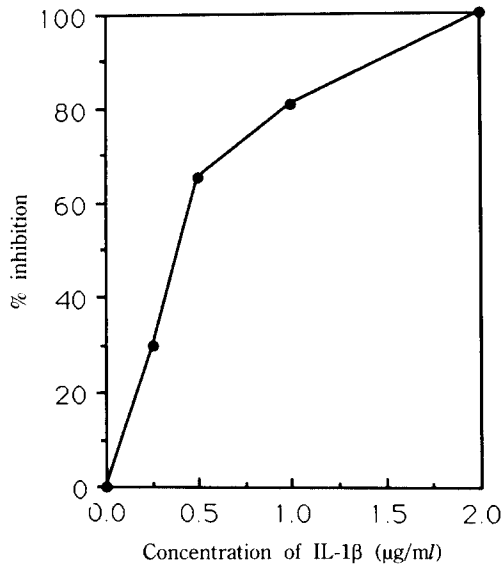


Fig. 3—ELISA inhibition assay of ON-1 by IL-1 β . ON-1 was preincubated with water soluble IL-1 β and the mixtures were transferred to the microtiter wells coated with IL-1 β . After incubation, the mAb bound was detected as described in Fig. 1.

알 수 있었다(Fig. 3). 또한 반응의 50%를 저해하는 IL-1 β 의 양이 약 0.4 μ g인 것으로 봐서 ON-1은 높은 친화력으로 IL-1 β 와 결합한다고 생각된다.

발열환자의 뇌속에서 ON-1과 결합하는 새로운 물질의 확인—발열환자의 뇌를 고농축 시키고 충분히 투석시킨 뒤 여러농도로 나누어 ammonium sulfate 침전을 행한 결과 40~80%의 농도에서 IL-1 β 가 유도하는 흥선세포의 증식을 가장 많이 억제시킴을 알 수 있었다. 뇌의 (NH₄)₂SO₄ 침전분획(40~80%)과 이 분획을 다시 Affi-Gel Blue column에 통과시켜 나온 분획을 12% 겔을 사용하여 전기영동한 뒤 Western blotting법으로 ON-1과 반응하는 물질이 존재하는가를 확인했다. Fig. 4은 Western blotting결과 양쪽분획에서 ON-1과 결합하는 약 26 Kd의 물질이 검출됨을 보여주고 있다. 이러한 결과로 부터 IL-1 β 항체인 ON-1에 의해 검출되는 물질을 IL-1 β agonist(IL-1 β like material)와 IL-1 β antagonist로 생각해 볼때 이 물질을 CNBr로 활성화 시킨 Sepharose 4B에 ON-1을 결합시켜 만든 antibody affinity column으로 정제해

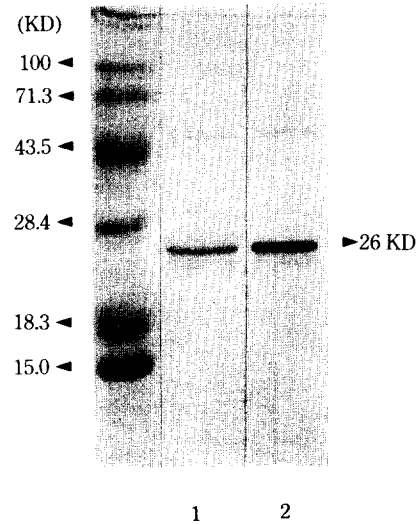


Fig. 4—Detection of ON-1 binding protein by immunoblotting.

About 30 μ g ammonium sulfate precipitated (lane 1) and Affi-Gel Blue eluted(lane 2)fractions were electrophoresed in SDS-polyacrylamide gel in the presence of 2-mercaptoethanol, transferred to the nitrocellulose membrane and blotted with ON-1.

서 마우스 흥선세포에 어떠한 영향을 미치는가를 관찰했다.

ON-1에 의해 검출된 물질이 IL-1 β 가 유도하는 마우스 흥선세포증식에 미치는 영향—IL-1 β 가 유도하는 마우스(C₃H/HeJ) 흥선세포 증식에 이 물질이 어떠한 영향을 미치는가를 알아보았다. Fig. 5에 나타난 바와 같이 물질의 농도가 증가함에 따라 농도의 존적으로 IL-1 β 가 유도하는 흥선세포의 증식을 억제시켰으며, 또한 6 μ g에서는 거의 67.3%까지 억제시킴을 알 수 있었다.

고 찰

IL-1은 체내에서 대식세포를 비롯한 여러종류의 세포에서 분비되는 면역조절물질들 중의 하나로 생체내 여러 면역기능의 조절에 관여하고 있으며 매우 다양한 기능을 가지고 있는 것으로 보고^{16,17)}되어지고 있다. 특히 근래에는 IL-1이 염증, 발열, 관절염 등에

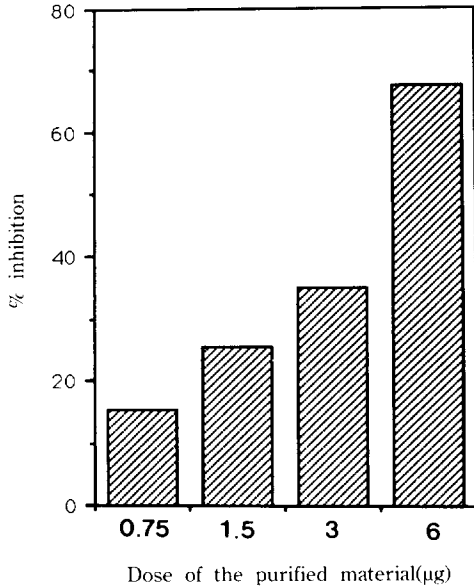


Fig. 5—Inhibitory effect of IL-1 β induced thymocyte proliferation by urinary 26 Kd material. Proliferation of murine thymocytes to PHA(1.5 μ g/ml) and 23.5 ng of IL-1 β was assayed in the presence of increasing concentration of the urinary 26 Kd material. The detailed method was described in the materials and methods. Results represent the arithmetic means of triplicate experiments.

관여하는 것으로 연구결과가 발표되자 이 IL-1의 활성을 억제하는 저해제를 찾아 그 성질을 규명하고 임상적 응용 가능성에 관한 연구에 많은 관심이 집중되고 있다.

본 연구진에서는 발열환자의 뇨속에서 IL-1의 활성을 저해하는 물질이 존재하는 것을 bio-assay법으로 확인하고 정제를 수행해 왔다. 본초강목에서도 “심한 두통, 목이 아픈 열병, 뺨속이 쭈시는 열병, 타박상이나 멍든데, 뱀이나 개에 물렸을 때 10세 이하의 어린 남자 아이의 중간뇨를 마시면 잘 듣는다”는 이른 바 뇨로 법에 관해 언급되어 있으며 염증성 발열 및 염증반응시 임상적 적용한 예를 쉽게 찾아볼 수 있다. 이미 Muchmore 등은 입산부의 뇨속에서 IL-1이 유도하는 흉선세포의 증식을 억제하는 85 Kd 가량의 강한 IL-1 β inhibitor(uromoduline)를 정제^{18,19)}하였으며, 또한 최

근에 Seckinger 등은 28 Kd 가량의 새로운 IL-1 β inhibitor가 발열 환자의 뇨속에서 존재하고 있다는 것을 확인하고 부분 정제한 결과를 보고^{20,21)} 하였다.

본 실험에서도 시내 모 종합병원에서 수집한 발열 환자의 뇨에서 IL-1 β inhibitor를 찾고 이를 정제하기 위한 연구를 계속하고 있다. 그러나 이 과정에서 26 Kd의 IL-1 β inhibitor를 정제하는데 많은 노력과 시간이 소요 되었으며 여러 column chromatography 및 bio-assay 실험을 거치는 과정에 있어서 활성이 약화 또는 소실됨을 경험하게 되었다. 그래서 손쉽게 이 물질을 정제하기 위하여 IL-1 β 에 대한 단일클론항체(ON-1)를 만들어 그 특성을 확인하고 이를 CNBr로 활성화 시킨 Sepharose 4B에 부착시킨 antibody affinity column을 만들었다. 이는 뇨속에서 ON-1과 결합하는 새로운 물질을 항원-항체 반응을 이용해서 분리 정제하려는 계획에서 시도되었다.

IL-1 수용체가 IL-1 β 와 IL-1 β 수용체 저해물질과의 어느 공통된 구조를 인식할 것이라는 추측하에 실행한 본 실험에서 약 26 Kd의 단백질이 affinity column 및 Western blotting 결과 확인되었다. 이 물질은 IL-1 β 가 유도하는 흉선세포의 증식을 농도 의존적으로 억제함이 밝혀졌다. 이 물질이 IL-1 β 와 직접 결합해서 IL-1 β 의 흉선세포의 증식을 억제하는지, 아니면 흉선세포의 IL-1 수용체에 결합해서 IL-1 β 의 작용을 억제시키는지에 관해서는 아직 연구가 진행중이나 IL-1 β 에 fluorescein isothiocyanate(FITC)를 결합시켜 행한 fluorescence activated cell sorter(FACS) 실험에서 IL-1 β -FITC의 흉선세포와의 결합을 본 물질이 농도 의존적으로 억제시킴을 관찰²²⁾할 수 있었다. 이 물질에 대한 1차 구조 및 염증반응에 관여하는 phospholipase A₂에 미치는 영향 등 아직 알려지지 않은 다양한 생리활성에 관한 연구가 검토중이며, 또한 Seckinger 등이 발표한 부분정제된 28 Kd의 IL-1 β inhibitor와의 차이점에 관해서도 연구가 진행중이다.

결 론

발열환자의 뇨속에서 IL-1의 활성을 저해하는 물질을 효과적으로 찾기 위해 IL-1 β 에 대한 단일클론항체를 만들었다. 이를 ON-1(IgG_{2b})이라 하고, ON-1의 교차반응성을 ELISA로 검색한 결과 ON-1은 IL-1 α

및 IL-4와는 반응하지 않았으며 ELISA inhibition assay와 Western blotting결과 ON-1은 IL-1 β 만을 고감도로 인식하는 항체임을 알 수 있었다. 이 항체를 CNBr로 활성화 시킨 Sepharose 4B에 결합시켜 antibody affinity column을 만들고 발열환자의 고농축 뇨를 통과시킨 결과 ON-1과 결합하는 분자량 약 26 Kd의 물질을 분리할 수 있었다. 이 물질을 IL-1 β 가 유도하는 흉선세포 증식에 미치는 영향을 알아본 결과 농도 의존적으로 IL-1 β 의 흉선세포 증식을 억제시켰으며, 이 물질의 농도 6 μ g에서는 흉선세포의 증식을 67.3%까지 억제 시킬 수 있었다. 이러한 결과로 미루어 볼때, 본 물질은 IL-1 β inhibitor로 작용할 가능성을 강하게 시사하고 있다.

참고문헌

- 1) Auron, P.E., Warner, S.J.C., Webb, A.C., Cannon, J.C., Bernheim, H.A., Mcadam, K.J.P.W., Rosenwasser, L.J., Lopreste, G., Mucci, S.F. and Dinarello, C.A. : Studies on the molecular nature of human interleukin 1. *J. Biol. Chem.* **138**, 1447 (1987).
- 2) Giovine, F.S. and Duff, G.W. : Interleukin : the first interleukin. *Immunology Today* **11**, 13 (1990).
- 3) Rosenstreich, D.L. and Yost, S.L. : Human urine-derived inhibitors of interleukin 1. *Reviews of infectious disease* **9**, S594 (1987).
- 4) Dayer, J.M. : Chronic inflammatory joint diseases : natural inhibitors of interleukin 1 and tumor necrosis factor α . *J. Rheumatology* **18**, 71 (1991).
- 5) Dinarello, C.A. and Thompson, R.C. : Blocking IL-1 : interleukin 1 receptor antagonist *in vivo* and *in vitro*. *Immunology Today* **12**, 404 (1991).
- 6) Arend, W.P. and Coll, B.P. : Interaction of recombinant monocyte-derived interleukin 1 receptor antagonist with rheumatoid synovial cells. *Cytokine* **3**, 407 (1991).
- 7) Berman, M.A., Sandborg, C.I., Calabria, B.S., Andrews, B.S. and Friou, G.J. : Studies of an interleukin 1 inhibitor : characterization and clinical significance. *Clin. Exp. Immunol.*, **64**, 136 (1986).
- 8) Tiku, K., Tiku, M.L., Liu, S. and Skosey, J.L. : Normal human neutrophils are a source of a specific interleukin 1 inhibitor. *J. Immunol.*, **136**, 3686 (1986).
- 9) Svenson, M. and Bendtzen, K. : Inhibitor of interleukin 1 in normal human urine. *Scand. J. Immunol.*, **27**, 593 (1988).
- 10) Faherty, D.A., Claudy, V., Plocinski, J.M., Kaffka, K., Kilian, P., Thompson, R.C. and Benjamin, W.R. : Failure of IL-1 receptor antagonist and monoclonal anti-IL-1 receptor antibody to inhibit antigen-specific immune responses *in vivo*. *J. Immunol.*, **766** (1992).
- 11) Umeda, M., Igarashi, K., Nam, K.S. and Inoue, K. : Effective production of monoclonal antibodies against phosphatidylserine : stereo-specific recognition of phosphatidylserine by monoclonal antibody. *J. Immunol.*, **143**, 2273 (1989).
- 12) Nam, K.S., Igarashi, K., Umeda, M. and Inoue, K. : Production and characterization of monoclonal antibodies that specifically bind to phosphatidylcholine. *Biochim. Biophys. Acta* **1046**, 89 (1990).
- 13) 남경수, 김재화, 오은숙, 최명자, 최인성, 정태화 : 코카인 주대사물인 벤조일에코닌에 대한 단일클론 항체의 제작. *약학회지* **36**, 188 (1992).
- 14) Liao, Z., Haimovitz, A., Chen, Y., Chan, J. and Rosenstreich, D.L. : Characterization of a human interleukin 1 inhibitor. *J. Immunol.* **134**, 3882 (1985).
- 15) Burntte, W.H. : Western Blotting. *Anal. Biochem.*, **112**, 195 (1981).
- 16) Oppenheim, J.J., Kovacs, E.J., Matsushima, K. and Durum, S.K. : There is more than one interleukin 1. *Immunol. Today* **7**, 45 (1986).
- 17) Dinarello, C.A. : Interleukin-1 and its biologically related cytokines. *Adv. Immunol.* **44**, 153 (1989).
- 18) Muchmore, A.V. and Decker, J.M. : Uromodulin. An immunosuppressive 85-kilodalton glycoprotein isolated from human pregnancy urine is a high affinity ligand for recombinant interleukin 1 α . *J. Biol. Chem.*, **13404** (1986).
- 19) Muchmore, A.V. and Decker, J.M. : Uromodulin : a unique 85-kilodalton immunosuppressive glycoprotein isolated from urine of pregnant women, *Science* **229**, 479 (1985).
- 20) Mazzei, G.J., Seckinger, P., Dayer, J.M. and Shaw, A.R. : Purification and characterization of a 26-KDa competitive inhibitor of interleukin 1. *Eur.*

- J. Immunol.*, **20**, 683 (1990).
- 21) Seckinger, P., Lowenthal, J.W., Williamson, K., Dayer, J.M. and Macdonald, H.R. : A urinary inhibitor of interleukin 1 activity that blocks ligand binding. *J. Immunol.*, **139**, 1546 (1987).
- 22) 최인성, 김길현, 배윤수, 남경수, 윤도영, 김재화, 남명수 : 인터루킨-1 활성저해 인자에 관한 연구(III). 과학기술처 연구보고서 (BSN 80320-353-1), (1992).