

조력 T세포 인자에 의한 면역반응의 억제

이 종 길

충북대학교 약학대학

서 론

항원의 유입은 면역반응을 활성화시키며, 면역반응의 활성화란 각종 림프구들의 성장, 분화 및 활성을 증가시키는 것이다. 체내에는 이러한 면역반응을 억제하는 기전이 존재하지 않으면 안된다. 만약 면역반응을 억제하는 기전이 없다면, 하나의 면역반응은 림프구의 지나친 증식에서 오는 각종의 lymphoproliferative disease를 초래할 수도 있을 것이다.

면역계에는 조력 T세포(helper T cell)와는 반대로 면역반응을 억제적으로 조절하는 것이 주 기능인 억제성 T세포(suppressor T cell)가 존재한다는 것이 알려져 있다. 이 억제성 T세포가 존재한다는 개념이 면역학 및 임상의학에 준 영향은 매우 지대하여, 앨러지나 자가 면역질환 같은 질병은 억제성 T세포의 결핍으로, 그리고 면역 결핍증 같은 질병은 T세포가 지나치게 활성화된 것으로 설명되기에 이르렀다. 한마디로 거의 모든 저하된 면역반응은 억제성 T세포와 연관하여 설명되었다. 그러나 억제성 T세포가 발견된지 근 20년이 되고 그에 관한 논문이 5000여편에 달하는 최근까지도 억제성 T세포 및 이들 세포가 만드는 억제성 T세포 인자에 대한 실체는 정확히 규명되지 못하고 있다(1). 오히려 억제성 T세포가 조력 T세포처럼 별개의 세포군으로 존재한다는 것을 부인하는 학자도 최근 나오게 되었다(2)(이 분야의 연구에서 나타난 문제점들이 정리되어 있음). 그러나 억제성 T세포의 존재를 부인하는 학자들도 T세포가 면역 반응의 억제에 관여한다는 사실, 적어도 그 현상 자체를 부인하지는 않았다. 다시말하면, 면역반응이 T세포에 의하여 억제되는 현상은 이미 수 천년의 논문을 통하여 입증되고 있다. 면역반응의 억제에 있어서 억제성 T세포 및 억제성 T세포 인자의 역할은 앞으로의

연구를 통해 명확히 규명될 것이며, 정말 억제성 T세포가 있느냐 없느냐 하는 것은 이 총설의 주제가 아니다. 다만 여기서는 조력 T세포도 경우에 따라서는 면역반응의 억제에 관여한다는 최근의 연구결과를 간단히 소개하고자 한다.

1. 세포성 면역과 체액성 면역의 상호배제

최근까지는 조력 T세포는 생쥐의 경우에는 Lyt-1 및 L3T4라는 표면항원을 갖으나, Lyt-2라는 표면항원은 갖지 않는 세포인 것으로 분류되어 있다. 그러나 최근 연구 결과에 의하면 조력 T세포는 크게 두 종류로 즉 제1형 조력 T세포와 제2형 조력 T세포로 나뉘어진다. 이러한 분류는 여러 종류의 조력 T세포 클론에 대하여 각종 림포카인의 생성을 조사한 결과에 기초를 둔 것으로, 제1형은 인터루킨-2 및 인터페론 감마, 인터루킨-3 등을 생성하는 조력 T세포이고, 제2형은 인터루킨-3, 인터루킨-4, 인터루킨-5 및 인터루킨-6를 생성하는 조력 T세포이다(3). 이와 같은 분류는 조력 T세포의 기능적 차이와도 일치하는 것으로 나타났다. 즉 제1형의 조력 T세포는 지연형 과민반응 및 세포 장애성 T세포 반응(cytotoxic T lymphocyte response)의 조력자로 제2형의 조력 T세포는 체액성 면역의 조력자로 선택적으로 작용함이 밝혀졌다(4). 더군다나, 항원 전달 세포의 선택성이 두 가지 형의 조력 T세포에 서로 다른 것으로 나타났다. 즉 제1형의 조력 T세포에는 마크로파지가 그리고 제2형의 조력 T세포에는 B세포가 선택적인 항원 전달세포로 작용함이 보고되었다(5). 이들 결과를 종합하면, 면역반응은 제1형의 조력 T세포와 마크로파지를 필요로 하는 세포성 면역과 제2형의 조력 T세포와 B세포를 포함하는 체액성 면역으로 설명되어 진다.

세포성 면역 및 체액성 면역에 관여하는 조력 T세포가 서로 다르다는 것이 밝혀지면서 여러 연구자들은 잘 알려진 림포카인들이 제1형 및 제2형의

조력 T세포에 미치는 영향을 조사한 바 세포성 면역과 체액성 면역을 경우에 따라서는 상호 억제성으로 작용할 수 있다는 것을 보여주었다. 예를 들면, 인터페론 감마는 제 1형의 조력 T세포에서 생성되는데 자극된 제 2형의 조력 T세포의 증식을 강력히 억제할 뿐만 아니라, B세포로 하여금 조직 적합 항원 중 class II 항원의 발현을 억제하여 B세포의 항원 전달 능력을 차단함이 밝혀졌다(5-7). 인터페론 감마의 항체생성에 미치는 영향은 조금 복잡하게 나타나는데, 인터페론 감마는 IgG1 및 IgE의 생성을 억제하나 IgG2a의 생성은 촉진한다(8). 인터루킨-4는 제 2형의 조력 T세포에서 생성되는데, 제 1형 조력 T세포에 의한 인터페론 감마의 생성을 억제하여 세포 장해성 T세포 및 NK 세포 등에 의한 세포성 면역을 억제할 뿐만 아니라, 제 1형 조력 T세포의 항원전달 세포인 마크로파지의 활성을 억제함이 밝혀졌다(9-12). 이뿐만이 아니라 인터루킨-4를 생성하는 세포들이 갖 태어난 쥐에 실험적으로 유도된 이종 항원에 대한 관용(self-tolerance)의 유지에 필요한 면역반응의 억제자로 작용한다는 보고도 나왔다(13). 이러한 결과는 제 1형 조력 T세포에 의한 인터페론 감마의 생성이 유도된 조건하에서는 제 2형 조력 T세포의 조력에 의한 체액성 면역을 상대적으로 심한 억제를 받고, 역으로 인터루킨-4의 생성이 유도된 조건하에서는 세포성 면역을 억제받을 수 있다는 것을 보여준다. 이외에도 아직 확인되지 않았지만 제 1형 조력 T세포에 의해 만들어지는 가용성 물질이 제 2형 조력 T세포를 억제한다는 보고 및 역으로 제 2형 조력 T세포가 생성하는 가용성 물질이 제 1형 조력 T세포를 억제한다는 보고 등이 나오고 있다(14, 15).

둘이켜보면, 세포성 면역와 체액성 면역을 상호간에 배제적으로 작용한다는 사실이 알려진 것은 오래전의 일이었다. 예를 들면, 1960년대 중반에 Mitchison 등이 보고한 바에 따르면 아주 소량의 항원을 세포에 1차적으로 주사하고, 정상적으로 항원으로 작용할 수 있는 양의 동일 항원을 다시 주사하여 그 항원에 대한 항체의 생성여부를 조사해본 결과, 그 항원에 대한 항체의 생성이 억제되는 것이 발견되었고 이런 현상을 저용량 관용(Low dose tolerance)이라 불렀다(16). 이러한 현상은 1970년대 초반에 억제성 T세포가 발견되면서, 일차로 준 아주

소량의 항원에 의한 억제성 T세포의 유도로 설명되었다. 그러나, Parish 등의 실험결과는 다르게 나타났다(17). 그들은 아주 소량의 항원을 일차로 주사한 얼마 후 정상적으로 항원으로 작용할 수 있는 양의 동일 항원을 주사한 경우에는 그 항원에 대한 항체의 생성은 억제되나 지연형 과민반응은 아주 증가한다는 것을 보고한 바 있다. Parish는 이것을 분리관용(split tolerance)이라 불렀다. 이외에도 Asherson과 Stone 및 Katsura 등에 의하여 항원의 준비 또는 주사방법에 따라서 그 항원에 대한 이차반응에서 세포성 또는 체액성 면역반응 중 한 반응이 선택적으로 억제된다는 것을 보고한 바 있다(18, 19). 이와 같은 연구결과는 제 1형 조력 T세포와 제 2형 조력 T세포간의 상호 배제가 하나의 면역억제기전임을 보여준다.

2. 조력 T세포 클론에 의한 면역 억제성 물질의 생성

그동안 여러 연구자들은 조력 T세포 클론(helper T cell clone)이 경우에 따라서는 면역 억제성 물질 또는 억제성 T세포를 활성화시키는 물질을 생성한다고 보고하였다. Cohen은 자가 면역반응에서 활발히 작용하고 있는 조력 T세포 클론이 그러한 반응을 완화할 수 있는 억제성 T세포를 유도할 수 있다고 보고하였으며(20), Crispe와 Owens 및 Jenkins와 Millen 등도 특정항원과 조직 적합항원을 동시에 인식해서 림포카인을 생성할 수 있는 조력 T세포 클론들이 억제성 T세포를 활성화시키는 인자(suppressor inducer factor)를 생성한다고 보고하였다(21, 22). Zheng 등은 항원의 자극에 의해 인터루킨-2를 생성하는 조력 T세포 hybridoma가 계속적으로 면역반응의 억제를 유도할 수 있는 물질을 생성 분비한다고 보고하였다(23). 역으로, Koyasu 등은 Keyhole limpet Hemocyanin이라는 항원에 특이하게 면역반응을 억제하는 것으로 연구된 억제성 T세포 클론(suppresssor T cell clone)이 항원의 자극에 의해 인터루킨-3 및 인터페론 감마를 생성한다고 보고하였다(24). 그러나, 이들 조력 T세포 클론에 의하여 생성되는 면역 억제성 물질의 생화학 특성, 표면세포, 작용기전 등 그 본체는 정확히 규명되지 못하고 있으며, 대부분의 경우 억제성 T세포만을 조력하는 것이 주 임무인 억제성 조력 T세포(suppressor inducer T cell)에 의한다는 억

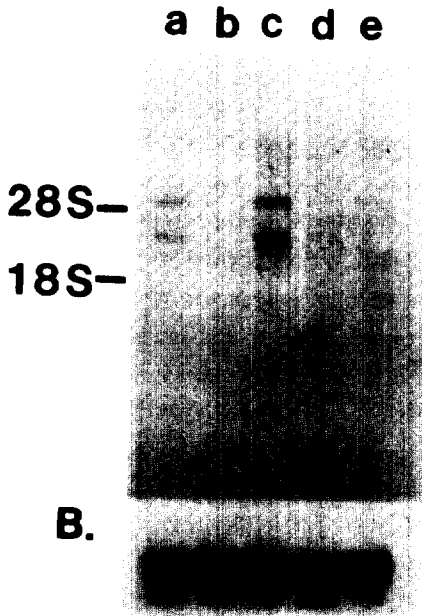


Fig. 1. Northern blot analysis of J6B7. A : Ten micromograms of the total RNA isolated from A.1.1 cells (lane a), BW5147 cells (lane b), thymus (lane c), spleen (lane d), and liver (lane e) of BALB/c mice were electrophoresed through a denaturing 1.2% agarose gel, and then transferred to a nitrocellulose filter. The filter was probed with oligolabeled J6B7 probe. The positions of the ribosomal RNAs are indicated at the left. B : The same blot was reprobed with the oligolabeled 28S rRNA gene.

제성 T세포 네트워크(network)의 개념으로 볼 때 조력 T세포가 경우에 따라서는 억제성 T세포를 활성화시키는 물질을 생성한다는 것은 아주 새로운 개념이 아닐 수 없다.

T세포에 의한 면역반응의 억제를 연구하는데 하나의 큰 문제점으로 남아있는 것은 T세포에 의해 생성되는 면역 억제성 물질에 대한 유전자가 클로닝되지 못하고 있는 것이다. 저자 등은 면역반응 억제성 물질을 계속적으로 방출되는 것으로 확인된 A.1.1이라는 조력 T세포 hybridoma로부터 다클론성 항체를 이용하여 그 면역 억제성 물질의 유전자를 클로닝하였다(25). 클로닝된 면역 억제성 물질에 대한 유전자(이하 J6B7이라 칭함)는 Fig. 1에 보인 바와 같이 조력 T세포 hybridoma인 A.1.1 및 흉선에서 비교적 높게 발현되나 hybridoma를 만드는데 사용

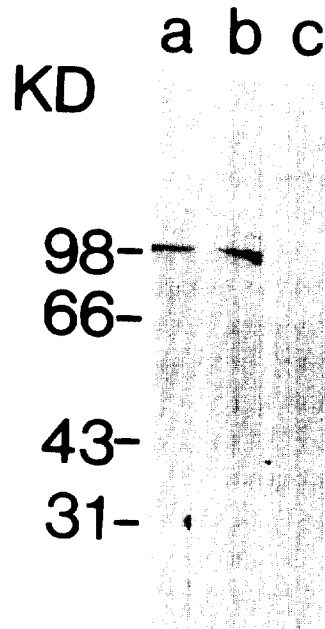


Fig. 2. Immunoprecipitation of the in vitro translation products with mAb 14-30. The mRNA hybrid selected from A.1.1 (lane a), thymus (lane b), and liver (lane c) by J6B7 probe was translated in vitro in a rabbit reticulocyte translation system in the presence of ^3H -leucine. The in vitro translation products were affinity purified on a mAb 14-30 column. The eluate was separated by SDS-PAGE and then fluorographed.

한 융합 상대자인 thymoma BW5147 및 간에서는 발현되지 않았으며, 비장에서는 흉선에서 보다는 매우 약하나마 발현이 인정되었다. 즉 T세포에 특이적으로 발현된다는 것을 보여준다. J6B7에 해당하는 mRNA의 크기는 3.4 및 5.2 kb이었다. J6B7이 면역 억제성 물질의 유전자임을 증명하기 위해서는 J6B7을 이용하여 해당하는 mRNA를 hybrid selection한 후 ^3H -leucine의 존재하에 rabbit reticulocyte translation system을 이용하여 해독시켜 펩타이드를 얻었고, 얻어진 펩타이드에 대하여 면역 억제성 물질에 대한 단일항체(mAb 14-30, 26)와의 반응성 및 림파구 혼합 배양 시험(mixed lymphocyte culture)을 억제하는가를 조사하였다. mAb 14-30와의 반응성은 면역 침강반응을 이용하여 조사하였는데, Fig. 2에 보인 바와 같이 A.1.1 및 thymus로부터 hybrid selection한 mRNA를 해독시켜 얻은 펩타이드는

Table 1. Effect of the *in vitro* translated products on an MLC

Source of RNA	Vol added*/200 μ l	CPM \pm SD [†]	Stimulation Index	% Suppression
A.1.1 cells	30.0	3440 \pm 266	0.29	71
A.1.1 cells	15.0	5440 \pm 1172	0.46	54
A.1.1 cells	7.5	9688 \pm 1010	0.81	19
A.1.1 cells	3.8	11808 \pm 322	1.00	0
Thymus [‡]	30.0	1207 \pm 105	0.10	89
Thymus	15.0	1718 \pm 210	0.14	86
Thymus	7.5	1718 \pm 50	0.14	86
Thymus	3.8	3014 \pm 882	0.36	74
Liver [‡]	30.0	11022 \pm 458	0.92	8
BMV [§]	30.0	10878 \pm 978	0.91	9
IVT only	30.0	10595 \pm 753	0.88	12
None	None	11909 \pm 420	1.00	0

Spleen cells of BALB/c mice (1.7×10^5 /well) were used as effector cells and irradiated spleen cells of CBA mice (1.2×10^5 /well) were used as stimulator cells.

* The *in vitro* translation products were diluted to 500 μ l with PBS, dialyzed extensively against PBS and subsequently RPMI-1640 media, and added to MLC as indicated.

[†] The data are the mean of 3 independent experiments. For the proliferative assay, cells were cultured for 4 days, added 1 μ Ci of ³H-thymidine per well, and then incubated for another 16 hours. The cells were harvested and the incorporation of ³H-thymidine was measured.

[‡] BALB/c mouse

[§] Brome Mosaic Viral RNA

^{||} *In vitro* translation mixture

mAb 14-30에 인식되며, 그 크기는 98 kd이었으나, 간으로부터는 얻어지지 않음을 확인할 수 있었다. 얻어진 펩타이드가 면역반응을 억제하는지의 여부를 림파구 혼합 배양 시험을 이용하여 조사해본 결과, Table 1에 보인 바와 같이 A.1.1 및 thymus로부터 hybrid selection한 mRNA를 해독시켜 얻은 펩타이드는 용량비례로 림파구 혼합 배양 시험을 억제함을 확인할 수 있었다. 면역반응의 억제도 조력과 마찬가지로 항원에 대하여 특이적인 것으로 보고되고 있으므로, 항원 특이성이 가용성 인자에 의한 것인지 아니면 세포와 세포의 상호작용에 의한 것인지를 밝히기 위해 여러 종류의 T세포 클론 및 장기(organ)에서 얻은 DNA에 대하여 Southern blot을 실시한 결과, Fig. 3에 한결과를 보인 바와 같이 J6B7은 유전자의 재조합(rearrangement)에 의하여 생성되지 않은 것을 알 수 있었다. 바꿔말하면 J6B7에 의하여 생성되는 펩타이드 그 자체는 항원에 대한 특이성이 없는 것으로 나타났다. J6B7의 유전자 배열을 해독한 결과를 Fig. 4에 보인 바와 같이 98 kd에 해당하는

하나의 open reading frame을 확인할 수 있었고, 분비되는(secretory) 펩타이드의 특징인 N-말단의 수소성 부분(signal peptide) 및 3곳의 가능한 N-linked glycosylation 부위를 확인 할 수 있었다. 핵산 배열 및 추정되는 아미노산의 배열을 GeneBank에 연결하여 컴퓨터를 이용하여 이미 알려진 것인지를 조사한 결과 아직 보고되지 않은 새로운 유전자임을 알 수 있었다. 이상에서 간단히 소개한 결과를 종합하면, J6B7은 조력 T세포가 만드는 면역 억제성 물질의 유전자임을 보여주며, 이것은 조력 T세포도 면역 억제성 물질을 생성한다는 또하나의 분명한 증거이다.

결론

면역반응의 억제에 T세포가 관여한다는 사실은 분명하다. 이러한 현상은 억제성 T세포(suppressor T cell)라는 개념을 도입하게 만들었고, 거의 모든 저하된 면역반응은 억제성 T세포와 관련하여 설명

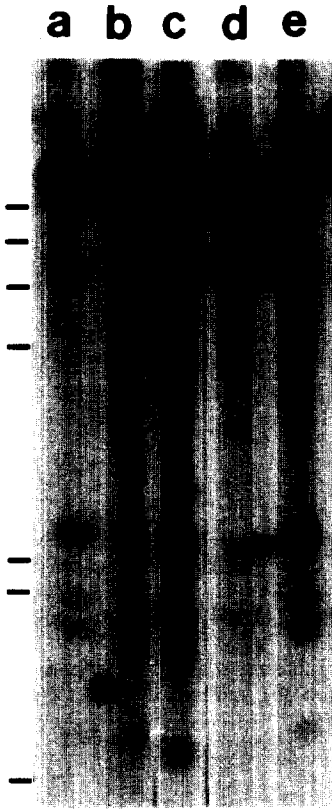


Fig. 3. Southern blot analysis. DNAs isolated from the T cell hybridomas of D10(lane a), A.1.1 (lane b), H51(lane c), thymoma BW5147(lane d), and liver of CBA strain of mice(lane e) were digested with Hind III, and hybridized with oligolabeled J6B7. The position of the molecular weight marks, lambda DNA digested with Hind III, are indicated at the left.

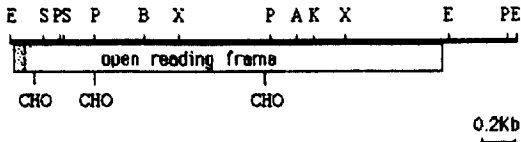


Fig. 4. Restriction map of J6B7. An open reading is shown by a bar. The dotted portion of the open reading frame denotes a putative signal peptide. Three possible N-linked glycosylation sites are shown as CHO. Abbreviations are A : AccI, B : BamHI, E : EcoRI, K : KpnI, P : PstI, and X : XmaI.

되기에 이르렀다. 그러나 최근의 연구결과에 의하면 조력 T세포(helper T cell)도 경우에 따라서는 면역반응의 억제에 관여한다는 것을 보여준다. 즉 제 1

형 조력 T세포와 조력 T세포가 상호 억제적으로 작용할 수 있으며, 인터루킨 등의 조력 인자를 생성 분비하는 조력 T세포가 면역반응의 억제를 유도하는 가용성 인자를 생성 분비한다는 보고들이 나오고 있고, 조력 T세포가 만드는 면역의 억제가 주 기능으로 보이는 한 가용성 인자의 유전자가 클로닝 되었다. 앞으로의 연구를 통해, 체내에서는 어떤 상황에서 제 1형 및 제 2형 조력 T세포가 상호 억제적으로 작용하며, 조력 T세포가 만드는 면역 억제성 물질은 어떻게 생성이 유도되고 몇 종류나 되는지 그리고 그 표면 세포 등 작용 양식은 어떤 것인지 더 규명되어야 할 것이지만, 이들 최근의 연구결과는 면역반응의 억제를 설명하는데 억제성 T세포의 활성화 뿐만 아니라 제 1형 및 제 2형 조력 T세포의 상호 작용 억제 등 다각적인 측면에서 분석해볼 필요가 있다는 것을 보여준다.

REFERENCES

1. Hubbard, R.A., Speidel, M.T., Machalonis, J.J., and Cone, R.E.(1989) *Molecular Immunology* **26**(1) : 447-456.
2. Moller, G.(1988) *Scan. J. Immunol.* **27** : 247-250.
3. Mosmann, T.R., Cherwinsky, H., Bond, M. W., Giedlin, M.A., and Coffman, R.L.(1986) *J. Immunol.* **136** : 2348-2357.
4. Cher, D. and Mosmann, T.R.(1987) *J. Immunol.* **138** : 3688-3694.
5. Gajewski, T.R., Schell, S.R., Nau, G., and Fitch, F.W.(1989) *Immunol. Rev.* **111** : 79-108.
6. Gajewski, T.R. and Fitch, F.W.(1988) *J. Immunol.* **140** : 4245-4252.
7. Mond, J.J., Carman, J., Sarma, C., Ohara, J., and Filkelman, F.D.(1986) *J. Immunol.* **137** : 3534-3537.
8. Filkelman, F.D., Holmes, J., Katona, I.M., Urban, J.F., Bechman, M.P., Park, L.S., Schooley, K.A., Coffman, R.L., Mosman, T.R., and Paul, W.E.(1990) *Annu. Rev. Immunol.* **8** : 303-334.
9. Vercelli, D., Jabara, H.H., Lauener, R.P., and Geha, R.S.(1990) *J. Immunol.* **144** : 570-573.
10. Lohoff, M., Marsig, E., and Rollinghoff, M. (1990) *J. Immunol.* **144** : 960-963.
11. Abrahamson, S.L. and Gallin, J.I.(1990) *J. Im-*

- munol.* **144** : 625-630.
12. Esser, R., Rhoades, K., Mcbridge, W.H., Moton, D.L., and Economou, J.S.(1989) *J. Immunol.* **142** : 3857-3861.
 13. Powell, T.J. and Stereilin, J.W.(1990) *J. Immunol.* **144** : 845-859.
 14. Horowitz, J.B., Kaye, J., Konarada, P.J., Kartz, M.E., and Janeway, C.A.(1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **83** : 1886-1890.
 15. Fiorentino, D.F., Bond, M.W., and Mosmann, T.R.(1989) *J. Exp. Med.* **179** : 2081-2280.
 16. Mitchison, N.A.(1964) *Proc. Roy. Soc.(Lond)* **161** : 275-292.
 17. Parish, C.R. and Liew, F.Y.(1972) *J. Exp. Med.* **135** : 198-311.
 18. Asherson, G.L. and Stone, S.H.(1965) *Immunology* **9** : 205-217.
 19. Katsura, Y.(1979) *Immunology* **32** : 227-235.
 20. Cohen, I.R.(1984) *Prog. Immunol.* **5** : 1129-1134.
 21. Crispe, I.N. and Owena, T.(1985) *Eur. J. Immunol.* **15** : 407-412.
 22. Jenkins, M.K. and Miller, S.D.(1985) *J. Mol. Cell. Immunol.* **2** : 1-7.
 23. Zheng, H., Boyer, M., Fotedar, A., Singh, B., and Green, D.R.(1988) *J. Immunol.* **140** : 1351-1358.
 24. Koyasu, S.H., Nakauchi, H., Kitamura, K. Yonehara, S., Okumura, K., Tada, T., and Yahara, I.(1985) *J. Immunol.* **134** : 3131-3137.
 25. Lee, C.K., Goshal, K., and Beaman, K.D.(1990) *Molecular Immunology*, In Press.
 26. Ferguson, T.A. and Iverson, G.M.(1986) *J. Immunol.* **138** : 2898-2901.