

## B 세포 및 T 세포의 개체 발생

박 성 회

서울대학교 의과대학 병리학교실

인체에서 면역기능을 담당하는 세포는 T 세포와 B 세포 이외에도 대식구, 자연살해세포등 다양한 것들이 있으나 T 및 B세포는 유전자의 재조합에 의하여 생기는 clonal distribution을 보이는 수용체를 가지고 각종 병원체에 대해 특이적으로 대처하는 점에서 면역계에서 가장 큰 몫을 하는 세포들이다. 이들 세포는 결국 모두 골수에서 기원하며 각기 다른 장소에서 분화 및 교육을 받는다.

### 1. T세포의 개체 발생

장래에 여러 계통(lincage)의 T 세포가 될 세포는 흉선의 피질에서 발견할 수 있으며 이는 CD4-CD8-CD3-(triple negative)인 세포들인데 이들이 분열 및 분화를 하여 흉선을 채운다. 이들 triple negative cell들은 골수에서 기원한 세포들인데 이들의 이주 과정은 거의 알려져 있지 않으며 여기서는 이들 미성숙세포들이 어떻게 하여 각 계통의 세포들로 분화하며 동시에 어떻게 특정한 T 세포 수용체(이하 TCR)를 갖게 되는지를 기술하고자 한다.

우리가 현미경하에서 림프구를 보면 모두 같은 세포들인 것처럼 보이나 사실은 매우 엄청난 다양성(heterogeneity)을 가진다. 우리는 이들이 T 세포 및 B 세포의 형(sct), 그리고 helper T 세포와 cytotoxic T 세포등의 아형(subset)등으로 구분됨을 알고 있다. 이들을 구분하는 것은 세포막 또는 세포질내 표식자이다(예 : CD4, CD8, CD5 등등). 또한 T 세포는 TCR을 가지고 있는데 이는 T 세포가 가진 표면 단백질 중 가장 중요한 것으로 MHC와 항원을 가진 세포를 인식한다. T 세포를 각 아형들로 나눌 수 있지만 한편으로는 각각 다른 TCR을 가진 세포주(clone)들로도 나눌 수 있으며 이 세포주의 숫자는 매우 크다. 각각의 TCR은 자기 자신의 MHC와 반응하면서도 자신의 항원과는 반응하지

않아야 소기의 기능을 하는데 이를 결정하는 과정이 또한 흉선에서 일어나는 것이다.

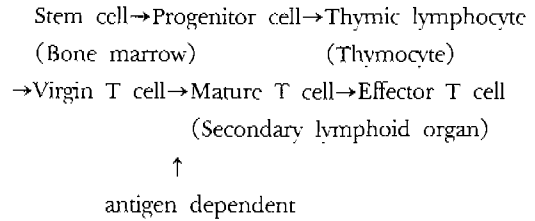


Fig. 1. T 림프구의 일생.

### 1) T 세포 수용체(TCR) repertoire의 형성

95%의 이상의 T 세포는  $\alpha\beta$  TCR를 표현하며, 5% 정도만이  $\gamma\delta$  TCR를 나타내는데, 여기서는  $\alpha\beta$  TCR 양성인 T 세포에 대해서만 언급하겠다.

#### (1) T 세포 수용체(TCR) 유전자의 재배열

골수에서의 thymic progenitor cell은 TCR를 표현하지 않으며, 흉선으로 이주한 후 분화 성숙되면서 TCR를 표현하여 각각의 T cell은 세포 특이성을 보여준다. TCR  $\alpha\beta$  chain은 무작위적 유전자 재배열(random gene rearrangement)를 통해서 다양한 T 세포의 repertoire를 형성한다.  $\alpha$ ,  $\beta$  chain을 만드는 유전자는  $\alpha$ 인 경우 variable(V), joining(J), constant(C) region이,  $\beta$  chain인 경우 V, diversity(D), J, C region으로 구성된다. 그리고 수많은 TCR의 유전자 재배열 기전은 N region diversity, joining site의 nucleotide insertion 그리고  $\alpha$ ,  $\beta$  두 chain의 combinatorial association이다. 결국 이러한 과정을 통해 최소  $10^9$  가지의 T cell repertoire가 존재할 수 있다. 이들 T 세포는 재조합된 TCR 및 비공유결합으로 연합된 CD3 분자와 CD4나 CD8 분자와 같은 보조 물질(accessory molecule)들을 표현한다. CD3 분자는 최소  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ 의 3개 chain으로

구성되며, TCR( $\alpha\beta$  chain)은 이 CD3 분자, 그리고  $\zeta$  혹은  $\eta$  chain의 dimer와 결합된 복합체만이 세포 표면에 표현되게 된다. 그러나, 이 재조합기전에 의하여 만들어진 모든 TCR이 적절하게 기능할 수 있는 것은 아니며 TCR 재조합 자체도 매우 error-prone process이어서 말초에서 제대로 활동할 수 있는 세포를 선택하는 작업이 필요하며 이는 positive 및 negative selection으로 대별된다.

(2) Positive selection

성숙된 T 세포는 자연 항원(native antigen)을 그대로 인지하는 B 세포와는 달리 antigen presenting cell에 의해 processing되어 MHC(Major Histocompatibility Complex) 분자에 결합한 항원만을 인식하는데, 이를 MHC-제한이라 하며 MHC-Ag 복합체의 인식은 T 세포 표면의 TCR이 담당하게 된다. Fig. 2에서와 같이 antigen presenting cell에 의해 processing된 항원은 MHC 분자의 groove에 결합된다. 재조합에 의하여 형성된 수많은 TCR들은

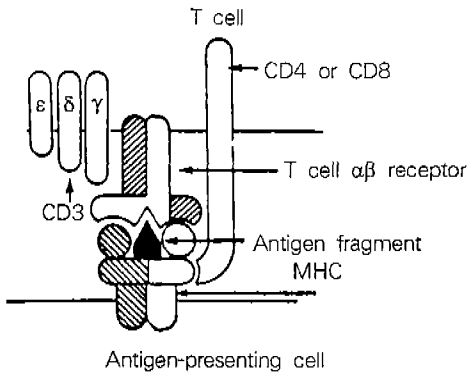


Fig. 2. Diagrammatic structure of the  $\alpha\beta$  TCR complexed to antigen plus MHC. The T cell  $\alpha\beta$  receptor has a combining site for antigen-MHC. The antigenic peptide (represented by the black pentagon) is bound by an MHC molecule on the surface of an antigen-presenting cell in a groove created by two  $\alpha$  helices (circles) and a  $\beta$ -pleated sheet (platform). Other molecules involved in T cell recognition and activation, the  $\gamma$ ,  $\delta$ , and  $\epsilon$  chains of CD3, and the "accessory" or "costimulatory" molecules, CD4 and CD8, are shown.

자신의 MHC를 인식할 수 없는 것이 많아 자신의 MHC와 반응할 수 있는 세포의 선택하는 과정이 흉선피질에서 일어나는데 이것이 positive selection이다. 그리하여 T 세포는 반드시 자기자신의 MHC와 결합된 항원을 인식한다. 이러한 현상은 유전되는 성질이 아니라 T 세포 성숙 과정중에 "습득"됨을 알게 되었다. 즉, 수많은 T 세포들은 그들이 접하는 흉선내의 MHC에 의해 교육받게 되는데, 흉선 상피세포의 MHC와 반응하는 T cell은 선택(positive selection)되며, 그 외 T 세포는 programmed cell death(apoptosis)에 이르게 된다. 이 positive selection 과정은 CD4+ CD8+ 미성숙 피질 흉선세포(immature cortical thymocyte) 시기에 이루어진다. 말초혈액으로 이동했을 때 bacteria나 virus와 같은 외계 항원에 대응, 면역반응을 수행하여 개체의 생명을 보존하기 위해서는 이 positive selection시기에 수많은 항원과 접해 봄으로써 많은 T 세포가 선택되는 것이 중요할 것이다. 따라서 positive selection은 뒤에 논의될 negative selection보다 중요한 과정으로 생각된다. Positive selection기전에 대한 이해는 affinity 가설로 많이 설명되는데, 이는 자기자신의 MHC에 low affinity로 반응하는 thymocyte는 선택되고, 전혀 반응하지 않는 세포는 programmed cell death가 일어나며, self MHC와 high affinity로 반응하는 세포는 제거된다는 가설이다.

(3) Negative selection

Self tolerance를 유지하는 것은 면역체계가 수행하는 주요 기능으로, 자가 성분에 대한 비반응성(unresponsiveness)을 이르는 말이다. 흉선피질 상피세포에 의해 positive selection된 thymocytes에는 자가반응성 T 세포가 포함되어 있으므로 이를 제거 혹은 불활성화시키는 또다른 교육과정이 필요한데, negative selection이 그것이다.

Negative selection에는 크게 2가지 기전이 존재하는데, 자가반응성 T 세포를 제거하는 clonal deletion과 자가 반응성 T 세포를 비활성화시키는 clonal anergy이다. 흉선에서 대식세포와 수지상세포(dendritic cell)등에 의해 이루어지는 clonal deletion은 tolerance induction의 중요 기전으로 알려져 있다. 이 과정이 일어나는 시기는, positive selection된

직후 TCR의 표현이 약간 증가하고 CD4+ CD8+인 double positive thymocyte라고 알려져 있으나, 한쪽 lineage가 어느정도 결정된 뒤에 clonal deletion이 일어난다는 보고도 있다.

Clonal deletion을 피해 빠져나간 T 세포도 있을 수 있는데, 이들 세포는 수질 상피에 의해 다시 한번 교육을 받는데 이때는 clone anergy의 형태로 tolerance를 유도하게 된다. 그러나 현재, 많은 연구를 통해 말초에서도 clonal anergy가 유도됨이 밝혀져, thymic education에 있어서 negative selection의 중요성이 감소되어 있다.

#### (4) 요약

이상과 같은 과정을 통한 thymocyte는 TCR density가 증가되며, CD4+ 혹은 CD8+의 성숙 T 세포로 되어 말초혈액으로 나가 증식되고, 각각 면역 반응에서 제 기능을 수행한다. MHC 분자는 TCR repertoire의 형성에 있어 중추역할을 담당하며, 특히 MHC class II를 표현하고 있는 세포 즉, 상피 세포, 수지상세포, 대식세포 등이 교육을 담당하는 "교육자(teacher)"로 이해되고 있다. 즉 미성숙 흉선세포가 수많은 종류의 TCR αβ를 만들어 낼 수 있지만 성숙 T 세포에서 모두 발현되는 것은 아니다. 이는 T cell repertoire가 흉선에서 일어나는 상반된 두 과정 즉, positive selection과 negative selection의 결과로 이해할 수 있다. 그러나, 어떻게 같은 TCR들을 한 번은 선택하고 한 번은 배제하는 과정이 이루어지는가를 설명하기 매우 어려우나 어떤 저자는 두 과정이 일어나는 시기의 흉선세포의 발달단계의 차이로 설명하기도 한다.

### 2) T 림프구의 분화

#### (1) T 세포 수용체의 개체 발생

흉선으로 stem cell이 이주한 후 γδ T 세포 수용체를 표현하는 세포가 먼저 나타난다. 흉선세포가 TCRδ의 재조합에 실패하면 TCRβ의 재조합이 일어나고 결국 αβ T 세포 수용체가 표면에 나타난다. Mouse에서 α chain 유전자의 재조합이 있으면 δ region이 모두 상실되기 때문에 결코 TCR-δ transcript를 가질 수 없다. 즉, αβ TCR과 γδ TCR을 동시에 표현하지 않으며 αβ T 세포 및 γδ T 세포의 계통

으로 나누어진다. γδ T 세포는 진화적으로 더 오래된 것으로 보이며 αβ T 세포보다 다양성이 떨어지고 전체 T 세포종 불과 3%이내를 차지한다.

#### (2) 전흉선 T 세포 및 흉선세포의 분화(prethymic and thymic phase)

흉선으로 이주하는 세포는 모두 골수나 간에서 기원하는데 어떻게 pluripotent stem cell에서 committed intrathymic T cell precursor가 되는지는 거의 알려져 있지 않다. Precursor T 세포는 흉선의 post-capillary venule의 내피세포 사이를 통해 흉선내로 유입된다(selective, unidirectional, dynamic). 임신 1기중에 태아의 흉선에 세포이주(colonization)가 이루어지고 초기 발달 과정이 일어난다. CD7은 가장 초기의 marker로서 흉선에 도달하기 전에 표현된다. 그 후 세포질내에 CD3 γ 및 ε분자가 나타나고 CD2가 표면에 표현된다. 이후 T 세포 수용체의 재조합과정이 이루어지며 αβ T 세포 및 γδ T 세포의 두 lineage로 나뉜다. Pro-T cell은 TCR 유전자의 재조합이 일어나지 않는 세포를 말하고 pre-T cell은 재조합은 일어났으나 TCR이 세포질내에만 존재하고 세포 표면에는 표현되지 않은 상태의 세포를 말한다. 흉선세포는 성숙과정에 따라 subcapsular→cortex→medulla로 이동한다.

흔히 흉선내 분화의 3단계를 다음과 같이 나눈다.

- Stage I : early thymocyte, CD2+, CD4-, CD8- (double negative)
- Stage II : Common thymocyte, CD2+, CD1+, CD4+, CD8+ (double negative)
- Stage III : mature thymocyte, CD2+, CD3+, CD4+ or CD2+, CD3+, CD8+ (single positive)

이렇게 해서 성숙된 T 세포는 비로소 외부 항원에 반응할 수 있게 되고 CD4+ T 세포는 주로 helper-inducer로서 CD8+ T 세포는 인식함으로써 class II-제한을 부여하고 CD8은 class I 제한을 결정한다.

말초에 나간 T 세포는 반복적인 자극을 받음에 따라 naive T cell에서 memory T cell로 전환된다. Memory T cell은 naive T cell보다 CD2나 CD3에 의한 활성화가 쉽게 일어나며 표면 marker에도

## B 세포 및 T 세포의 개체 발생

차이가 있다. 대표적인 차이는 leukocyte common antigen(CD45) 표현의 차이인데 naive T cell이 CD45RA를 표현하는 반면, memory T cell은 CD45RO isoform을 표현한다.

### 2. B 세포의 개체 발생

B 세포는 각종 병원체에 대한 항체를 만드는 형질세포(plasma cell)까지 분화하게 된다. B 세포 분화상의 중요점은 ① 다양한 범위의 항원반응세포를 만드는 것, ② 그러면서도 각 B 세포는 하나의 수용체 만을 가지는 것, ③ 자기항원에 반응하는 세포를 제거하는 것이다.

B 세포의 분화는 일반적으로 3단계로 나누어 보는데 i) pre-B cell ii) B cell iii) plasma cell stage가 그것이다. 각 단계별로 나누어 뒤에 기술하고자 하는데 이에 앞서 B 세포 수용체에 대해 알아보자. B 세포에서 면역글로부린을 두가지 점에서 생각

해야 한다. 첫째는 분비된 면역 글로부린인데 이것이 우리가 흔히 아는 항체이다. 이는 우리가 알다시피 항원과 결합하여 보체계를 활성화 하는지 NK 세포나 대식 세포의 Target가 된다. 둘째는 B 세포 표면에 표현된 면역 글로부린인데 마치 T 세포 수용체 처럼 ligation시 세포의 분열 및 활성화를 유도하는 B 세포 수용체로서 기능한다.

B 세포 수용체는 Fig. 3에 보인 바와 같이 V, D, J segment들의 재조합에 의해 형성되는 variable portion과 이어서 각종 isotype을 결정하는 constant portion의 유전자가 있다. 전반부의 재조합뿐만 아니라 후반부도 어떤 분화상의 단계에서 유전자의 재조합이 일어나 특정 isotype의 면역 글로부린의 분비 또는 표현을 결정한다. 유의할 점은 이들 모든 isotype이 alternate splicing에 의하여 membrane form과 secretory form을 만들 수 있다.

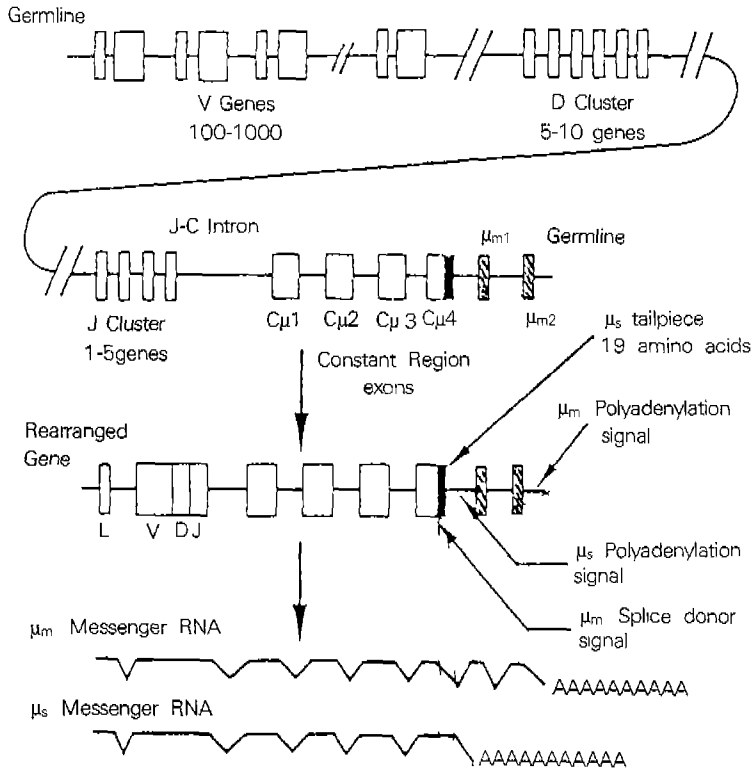


Fig. 3. A schematic view of the  $\mu$  heavy-chain locus and its products after rearrangement and splicing. V, Variable region ; D, diversity region ; J, joining region ; L, leader exon.

그러면, 이러한 B 세포 수용체가 어떻게 하여 표현되고 기능하게 되는데 B 세포의 각 stage 별로 기술하고자 한다.

1) pro-B 세포

이 단계의 세포는 B 세포가 되기로 결정된 세포이다(committment). 이 세포는  $\lambda 5$ ,  $\nu$ PreB, RAG-1, RAG-2, mb-1등의 B 또는 림프구 특이 단백을 표현한다.

2) pre-B 세포

이 단계의 특징은 B 세포 수용체 유전자의 재조합이다. 이때 pre-B 세포는 활발히 유전자 재조합 과정을 진행한다. Heavy chain 유전자의 재조합이 먼저 이루어지고 그 산물의 signal에 의해 light chain 유전자의 재조합이 일어난다. 이때 중요한 현상은 allelic exclusin이다. 즉, 한쪽 염색체의 유전자의 재조합이 성공적으로 일어나면 반대쪽 염색체의 유전자의 재조합이 억제된다. 이때 이 시기의 특징적인 중요한 단백질이 표현되는데  $\omega$  및  $\nu$  chain이 그것이다. 이는 일명 surrogate light chain으로서 heavy chain과 결합할 수 있는 특성을 가진다. pre-B세포에서 B 세포로 이행하기 위해서는 몇가지 전제조건이 충족되어야 하는데 ① membrane immunoglobulin을 세포 표면에 표현하고, ② light chain 유전자의 활발한 transcription을 이루고, ③ surrogate light chain 유전자의 transcription을 없애야 한다.

3) 성숙 IgM/IgD 표현 B 세포

위에서 언급한 사건들을 다 이루면 비로소 성숙\* B 세포가 되는데 이때까지 실제로 B 세포는 한번도 항원을 만난적이 없다(virgin B 세포). 말초에 나가 항원을 만나면 앞에서 세포표면에 표현된 B 세포 수용체가 항원과 결합하여 이를 흡수, B 세포내에서 생산되는 MHC class II 항원과 함께 세포표면에 표현하며 이때 T 세포의 도움이 있으면 분열할

능력을 갖게 된다.

4) 활성화된 B 세포

일단 활성화가 일어나면, 두가지 중요한 사건이 일어나는데, ① somatic hypermutation : B 세포 수용체 유전자의 돌연변이가 빈번히 일어나면서 항원에 보다 큰 affinity를 가진 B 세포의 출현을 유도한다.

② isotype switching : 서론에 언급한 바와 같은 B 세포유전자 후반부의 유전자 재조합이 일어나 만드는 면역글로부린의 isotype을 바꿀 수 있다.

이때의 B 세포는 항체를 소량 생산·분비하여 memory B 세포나 형질세포로 분화할 수 있다. Memory B 세포는 오래 살 수 있는 능력을 가진 활성화된 B 세포를 말한다.

5) 형질세포

이때는 세포 표면 수용체의 표현은 없어지고 오직 분비형의 면역글로부린만을 만든다. 수명이 수일 밖에 되지 않는 가장 말단으로 분화된 세포이다.

Literature cited

- 1) Klein J : *Immunology*, Blackwell Scientific publication. Boston, 1990
- 2) Knapp W, Dorken B, Gilks WR, Ricder EP, Schmidt RE, Stein H and von dem Borne AEG Kr : *Leukocyte typing IV. White cell differentiatio* Oxford University Press, Oxford, 1989
- 3) Haoyne BF, Denning SM, Singer KH and Kurtzberg J : "Ontogeny of T cell precursors". *Immunology Today*, 10 : 87-91, 1989
- 4) Blackman M, Kappler J and Marrack P : "The role of the T cell receptor in positive and negative selection of developing T cell". *Science*, 248 : 1335-1341, 1990
- 5) Pillai S : Immunoglobulin transport in B cell development. *Int. Rev. Cytology* 130 : 1-36, 1992