

TGF-β3는 마우스 IgA, IgG2b 항체의 선택적 유도작용

이은경 · 박석래 · 이세원 · 전계택 · 최의열¹ · 김평현*

강원대학교 자연대학 미생물학과, 한림대학교 자연대학 생명과학부¹

TGF-β1은 LPS로 자극시킨 마우스의 spleen B cell의 IgA와 IgG2b의 항체 합성을 선택적으로 증가시킨다고 알려져 있다. 본 연구에서는 TGF-β1과 80%의 아미노산을 공유하는 TGF-β3가 마우스 spleen B cell과 mesenteric lymph node (MLN) B cell의 항체 합성에 미치는 영향을 IL-5와 함께 조사하였다. LPS로 활성화된 spleen B cell에 TGF-β3만을 처리한 조건에서 IgA 항체합성이 약간 증가하였고, IL-5와 함께 넣어 준 배양 조건에서는 IgA 항체가 현저히 증가하였다. IgG2b 합성의 증가는 TGF-β3 자극만으로도 가능하였고 IgA와는 달리 IL-5의 첨가 효과는 관찰되지 않았다. 한편, TGF-β3는 IgM과 IgG1 항체 합성을 감소시켰고, IL-5와 함께 존재한 경우에도 의미있는 합성 증가는 볼 수 없었다. ELISPOT assay로 IgA 합성 세포수의 변화를 조사해본 결과, TGF-β3 단독으로도 IgA 합성세포수를 증가시켰으며, 이 때 IL-5가 존재하였을 때, 세포수가 조금 더 증가하였다. 이상의 결과는 TGF-β3가 약간의 차이는 있지만 TGF-β1과 유사하게 항체합성 패턴에 영향을 미침을 보여준다. 마지막으로, TGF-β3와 IL-5에 대한 MLN B cell의 IgA와 IgG2b 항체합성 패턴은 spleen B cell과 비슷하였다. 그러나 MLN B cell의 IgG1 항체 합성은 spleen B cell과는 달리 TGF-β3에 의해 증가하였다. 본 실험의 결과는 전반적으로 TGF-β3가 TGF-β1과 비슷한 정도로 마우스 B cell의 항체합성에 영향을 미침을 보여준다. 그렇지만, 생체 내에서의 TGF-β3의 발현 조절이 TGF-β1과 다를 것으로 예상됨으로 과연 TGF-β3가 B cell 분화에서 중요한 조절인자로 작용할지는 좀더 연구되어야 할 것이다.

Key Words □ TGF-β1, TGF-β3, IL-5, B lymphocyte, IgA, IgG2b

Transforming growth factor-β(TGF-β)는 세포의 종류와 분화 정도에 따라 저해와 자극의 효과를 가지고 있는 다기능적 cytokine이며 염증반응과 면역반응에서의 유도와 억제효과가 있는 중요한 조절인자로 잘 알려져 있다(10, 12). TGF-β는 현재 1, 2, 3, 4 그리고 5가 알려져 있다(1). 다섯 종류의 TGF-β는 단백질의 카르복실 말단에 시스테인이 다수 존재하는 부위에서 구조적 유사성을 공유하며, 기능적으로 세포의 분화와 성장을 조절하는 능력에서 유사성을 갖고 있다(1, 15).

TGF-β의 전형적인 분자로 알려진 TGF-β1은 마우스와 사람의 B cell에 작용하여 IgA isotype switching을 증가시켜 IgA 합성을 유도하며, 특히 마우스에서는 TGF-β1이 IL-2나 IL-5와 함께 존재할 때 IgA 항체 합성이 현저히 증가하였고(4, 9). 사람의 B cell의 경우에는 IL-10과 함께 존재할 때 IgA 항체 합성이 증가하였다(6). 또한 마우스 B cell 배양에서는 TGF-β1이 IgG2b 항체의 합성도 증가시키는 바 있다(11).

TGF-β3는 TGF-β1과 구성 아미노산의 80%를 공유하며 (7). TGF-β1과 마찬가지로 type II receptor와 결합하여 신호를 전달한다고 알려져 있다(14). TGF-β3의 역할에 대해 대표적으로 알려진 사실은 상처치유에 탁월한 효과가 있다는 것이다(2, 3). 이 밖에 TGF-β3가 B cell 분화에 미치는 영향에 대해서는 연구된 바 없다.

본 연구에서는 TGF-β3와 IL-5가 spleen과 mesenteric lymph node(MLN) B cell의 항체 합성에 미치는 영향을 세포 수준에서 조사하였다. 본 연구를 통해 TGF-β3가 TGF-β1

과 유사하게 spleen과 MLN B cell의 IgA와 IgG2b 항체를 증가시키는 바를 확인하였다.

재료 및 방법

실험동물

생후 8-12주된 BALB/C 마우스를 사용하였다. 이 마우스는 화학연구소에서 분양받아 강원대학교 미생물학과 동물 환경조절실에서 사육하였다.

시약

LPS(*Escherichia coli* serotype 0111:B4)는 Sigma Chemical Co.(St. Louis, Mo., USA)로부터 구입하였고, murine recombinant IL-5(rIL-5), 순수 정제된 porcine TGF-β1과 TGF-β3는 R & D system(Minneapolis, MN)에서 구입하였다. 각종 goat anti-mouse isotype specific antibody는 Southern Biotech. Associ. USA에서 구입하였다.

세포 배양

세포 증식 및 유지를 위한 기본 배양액으로 10% fetal bovine serum(FBS), penicillin(100 unit/ml) 및 streptomycin(100 μg/ml) 혼합 용액(Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.), 2 mM L-glutamin(Sigma), 5 mM HEPES(Sigma), 50 μM의 2-mercaptoethanol(Sigma)을 함유한 RPMI 1640(Sigma)을 0.22 μm 크기의 filter로 여과하여 사용하였고, 마우스로부터 분리한 림프구를 LPS 12.5 μg/ml로 활성화시킨 후 flat-bottomed 96-well culture plate(Costar)에 1×10⁵ cells/well로 하여 150

*To whom correspondence should be addressed
Tel : 0361-250-8546, Fax : 0361-241-4627
E-mail : phkim@cc.kangwon.ac.kr

μl를 넣고 reagent를 20 μl 넣었다. 5% CO₂, 37 °C의 95% 습도가 유지되게 5일 내지 7일간 배양시켰다.

마우스로부터 spleen을 적출하여 10 ml의 0.01 M PBS가 담긴 petri dish로 옮긴 후 핀셋으로 분쇄한 후 1분간 방치하였다. 상층액의 현탁된 비장 세포를 500×g로 원심 분리하여 얻은 세포에 5 ml의 0.83% ammonium chloride를 가하여 상온에서 5분간 정치시켜 적혈구를 파괴하였고, HBSS로 3회 세척한 후 spleen cell을 얻어 10% FBS RPMI-1640에 현탁시킨 후 사용하였다.

MLN cell의 준비를 위해서 마우스로부터 내장을 꺼내 0.01 M PBS가 담긴 petri dish로 옮겨 MLN의 조직을 지방질과 분리하였다. 이 조직은 두 개의 forcep을 사용하여 파쇄하였다. 세포현탁은 500×g에서 원심 분리하였고 HBSS로 2번 세척한 후 RPMI 1640+10% FBS 배양액에 넣었다.

Isotype specific ELISA

기본적으로 이미 기술된 방법에 따라 수행하였다(13). Goat anti-murine isotype specific antibody를 1.2 μg/ml 농도로 sodium bicarbonate buffer(pH 9.2)를 사용하여 96-well flat bottomed polyvinyl plate에 코팅하였다. 4 °C에서 overnight 시킨 후 0.01 M PBST로 3회 세척하고 0.5% gelatin-0.01 M PBST를 이용하여 37 °C에서 1시간 blocking시켰다. Well 당 50 μl의 세포 배양 상등액과 standard protein을 0.5% gelatin-0.01 M PBST로 희석하여 넣은 후 37 °C에서 1시간 반응시켰다. 다시 plate를 PBST로 3회 세척한 후 peroxidase-conjugated anti-mouse antibody를 1.2 μg/ml 농도로 50 μl를 넣은 후 37 °C에서 1시간 반응시켰다. 반응 후 PBST로 3회 세척하여 substrate인 2,2-azino-bis(3-ethylbenziazolin-6-sulfonic acid) (ABTS)를 citrate buffer에 희석시켜 50 μl를 넣은 후 약 15분간 반응시켰다. ELISA reader를 이용하여 405 nm 파장에서 흡광도를 측정하였다.

Isotype specific ELISPOT assay

ELISPOT assay는 이미 기술되었던 방법을 이용하여 실험을 수행하였다(5). Goat-anti-mouse isotype antibody(3 μg/ml)로 nitrocellulose-bottomed polystyrene 96-well plate(Costar, Cambridge, MA)를 코팅시키고 4 °C에서 12시간 정치시킨 후 PBST로 3번 씻고 200 μl의 1% BSA-PBST를 넣어 37 °C에서 1시간 동안 반응시켰다. Plate를 PBST로 3번 씻은 후 배양된 세포를 넣고 37 °C에서 3시간 배양시켰다. PBST로 씻은 후 150 μl의 biotin-labeled goat anti-mouse isotype specific antibody(1 μg/ml)를 1:1000으로 희석하여 37 °C에서 1시간 반응시켰다. Plate를 씻은 후 1:2000으로 희석한 avidine-peroxidase를 넣고 상온에서 1시간 30분간 반응시켰다. Plate를 다시 씻은 후 3-amino-9-ethyl carbazole(Sigma)로 10분 동안 발색시켜 나타난 spot의 숫자를 해부 현미경을 사용하여 세었다.

Cell proliferation assay

MV1LU cell을 CMF-PBS 5 ml로 두 번 씻어준 후 0.25 % trypsin 0.5 ml를 37 °C에서 5분간 처리하여 세포를 떨어

뜨렸다. 다시 CMF-PBS 5 ml로 씻어주고 500×g에서 원심분리하였다. 96 well culture plate에 2×10⁵ cell/ml의 세포를 5% FBS-DMEM에 현탁시켜 100 μl/well씩 넣었고, TGF-β1, TGF-β3를 각각 100 μl/well씩 첨가하여 37 °C, CO₂ incubator에서 20시간 배양하였다. 배양 후 ³[H]-thymidine을 well 당 5 μCi/ml씩 첨가하여 다시 6시간 배양하고 CMF-PBS로 2번 씻었다. Trypsin을 처리하여 세포를 떨어뜨린 후 cell harvester(Skatron 7020, Tranby, Norway)를 이용하여 모은 후 liquid scintillation counter(Packard 1500, Packard Instrument Co, Inc., Switwzenand)로 cpm 값을 측정하였다.

결과 및 고찰

마우스 spleen B cell의 항체 합성에 대한 TGF-β1, TGF-β3, IL-5의 영향

본 연구의 첫 단계에서는 spleen B cell의 항체 합성에 미치는 TGF-β3의 영향을 조사하였다. BALB/C mouse의 spleen B cell을 LPS를 처리하고 TGF-β1 또는 TGF-β3를 각각 IL-5를 넣어준 조건과 넣지 않은 조건에서 항체 합성 정도를 조사하였다. 7일간 배양한 후 그 상등액에 존재하는 IgA, IgG2b, IgG1, 그리고 IgM의 총 합성량을 ELISA로 측정하였다(Fig. 1). IgA 합성량은 TGF-β3만 처리한 조건에서 약간 증가하였고, IL-5와 함께 처리한 조건에서는 control(LPS 단독)보다 3배정도 증가하였다. IgG2b의 합성량은 TGF-β3 단독만으로 현격히 증가(약 10배)시켰으며, IL-5를 함께 넣어준 경우에는 IgA와는 달리 더욱 증가하는 현상이 관찰되지 않았고 오히려 TGF-β3에 의한 증가효과를 감소시켰다. 한편, IgG1의 경우에는 TGF-β1이나 TGF-β3로 처리된 경우 대체로 감소하였고, 이 때 IL-5는 특별한 영향을 보이지 않았다. IgM 합성은 어떤 cytokine 처리 조건에서도 LPS 대조군에 비해 감

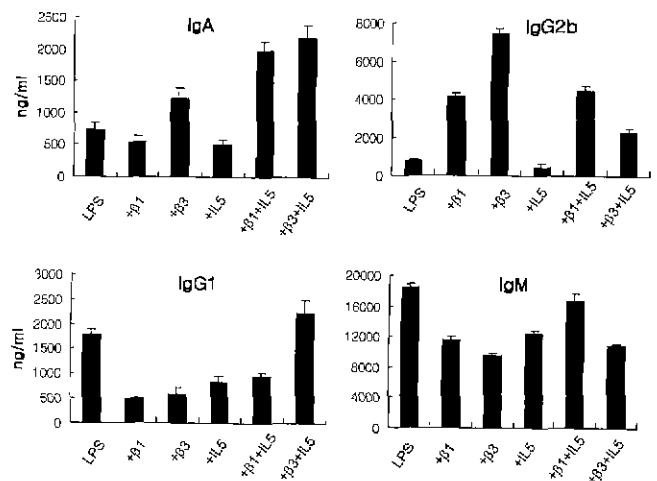


Fig. 1. Effect of TGF-β1, TGF-β3 and IL-5 on Igs synthesis by mouse spleen B cells. Whole spleen cells (1 × 10⁵) were stimulated with LPS (12.5 μg/ml) and IL-5 (0.5 ng/ml). Supernatants were harvested after 7 days of culture and IgA, IgG2b, IgG1 and IgM levels were determined by ELISA. Data are the means of duplicate sample. Each sample contains 2-fold diluted wells. Vertical bars represent SEM. β1, TGF-β1; β3, TGF-β3.

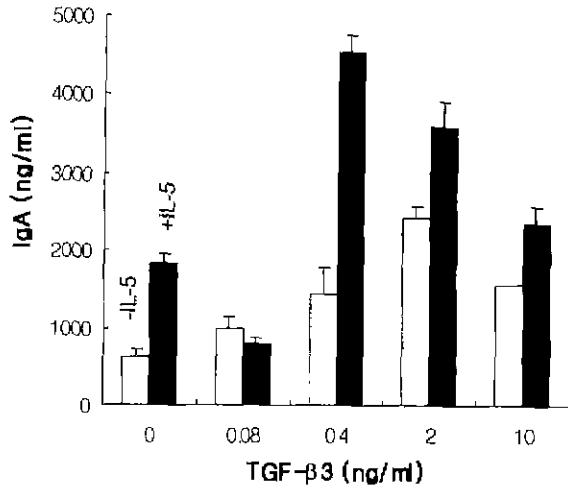


Fig. 2. Dose effect of TGF-β3 on IgA synthesis by LPS-activated spleen B cells. Whole spleen cells (1×10^7) were stimulated with LPS (12.5 μg/ml) and TGF-β3 as indicated. Supernatants were harvested after 7 days of culture and IgA levels were determined by ELISA. Data are the means of duplicate sample. Each sample contains 2-fold diluted wells. Vertical bars represent SEM.

소하였다. 이상의 결과로 LPS로 자극시킨 spleen B cell 배양에서 TGF-β3는 TGF-β1과 유사하게 IgA와 IgG2b의 합성량을 증가시키는 반면 IgM과 IgG1 합성을 억제함을 알 수 있었다.

LPS로 활성화시킨 spleen B cell에서의 TGF-β3의 농도에 따른 IgA 항체합성 양상을 알아보았다(Fig. 2). TGF-β3 단독의 효과만 보았을 때는 TGF-β3 농도가 2 ng/ml일 때, IL-5와 함께 처리한 조건에서는 TGF-β3 농도가 0.4 ng/ml일 때 가장 높은 항체합성을 나타내었다. 본 실험에서 제시하지는 않았지만 이와 같은 TGF-β3 효과는 대체로 TGF-β1 효과와 유사하였다.

TGF-β3와 IL-5가 IgA 항체합성 세포수에 미치는 영향

지금까지의 결과를 통해 TGF-β3가 특히 IL-5와 함께 존재할 때 IgA 항체 총합성량을 증가시킨다는 것을 알 수 있었다. 이러한 IgA 총합성량의 증가는 적어도 두 가지 가능한 이유로 증가되었을 것으로 추정된다. 즉, 세포 당 IgA 합성율의 증가, 또는 IgA를 합성하는 세포수가 증가한 경우이다. 이와 같은 두 가능성을 구분하기 위해 ELISPOT assay를 통해 확인하였다. Fig. 3의 결과를 보면, LPS로만 자극시킨 조건과 비교해 볼 때 TGF-β3를 함께 처리해 준 경우에서 IgA 합성 세포수가 약 2.5배 증가하였으며 TGF-β3와 IL-5를 함께 넣어준 경우에는 조금 더 증가한 양상을 보였다. TGF-β3와 병행하여 실시한 TGF-β1도 비슷한 양상을 보였다. TGF-β3와 IL-5가 IgA 항체 합성 세포수를 증가시킨 결과는 TGF-β3와 IL-5에 의한 IgA 총합성량의 증가 양상과 부합한다. 이와 같은 결과는 두 cytokine이 B cell에 작용하여 IgA 항체 합성 세포수를 증가시키어 궁극적으로 총합성량의 증가를 가능하게 하였음을 시사한다.

MV1LU cell의 성장에 대한 TGF-β3의 영향

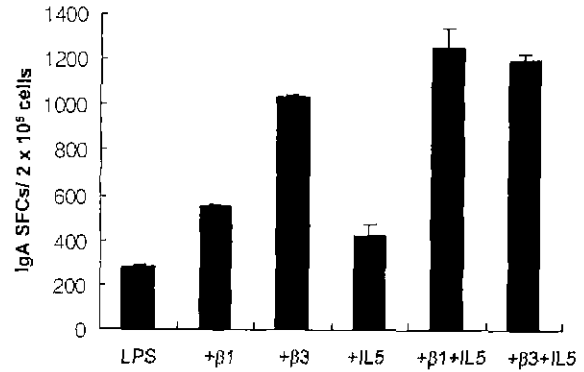


Fig. 3. Effect of TGF-β1, TGF-β3 and IL-5 on number of IgA secreting cells. Spleen whole cells (2×10^5) were stimulated with LPS (12.5 μg/ml), TGF-β1 or TGF-β3 (0.4 ng/ml) and IL-5 (0.5 ng/ml) on day 1. Cells were harvested on day 5 of culture. IgA spot forming cells (SFC) were enumerated by ELISPOT assay. Data are the means of duplicate sample. Each sample contains 2-fold diluted wells. Vertical bars represent SEM. β1, TGF-β1; β3, TGF-β3.

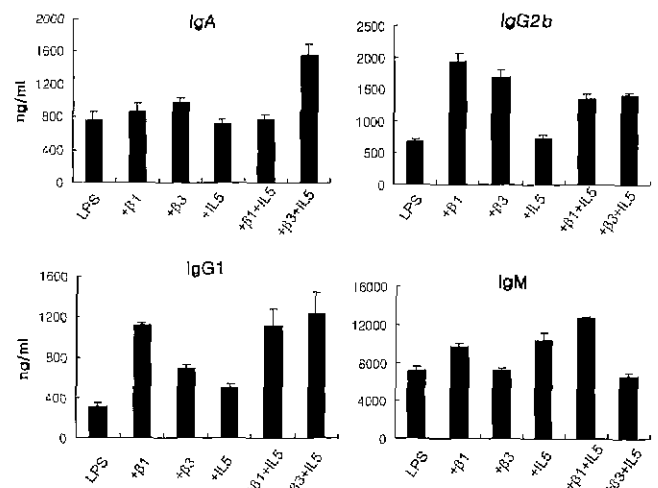


Fig. 4. TGF-β3 inhibits proliferation of MV1LU cells as potent as TGF-β1. Various concentrations of TGF-β1 or TGF-β3 were added to 96-well plate with MV1LU in 5% FBS-DMEM. After incubation for 20 h, ³[H]-thymidine (5 μCi/ml) was added to each well and waited for 6 h. Cells were harvested using 0.05% trypsin. One ml of liquid scintillation cocktail was added to each vial. Radioactivity was measured using a liquid scintillation counter.

지금까지 관찰된 TGF-β3가 항체 합성에 미치는 효과를 보면 TGF-β1과 유사함을 보인다. 본 연구에서는 TGF-β1에 대해 잘 알려진 MV1LU cell의 성장 저해 효과를 TGF-β3에 대해서 조사하였다. TGF-β3의 경우에서도 TGF-β1과 유사한 양상으로 세포 성장을 억제시켰다(Fig. 4). TGF-β3의 농도가 증가하면서 세포의 증식이 감소하였으며 600 pg/ml에서 세포의 성장을 완전히 억제하였다. 이 때 세포의 성장을 반감시키는 effective dose(ED₅₀)는 300 pg/ml이었으며, TGF-β1의 경우에는 600 pg/ml이었다. 이와 같은 결과는 절대량으로 볼 때 TGF-β3가 TGF-β1보다 2배 정도 강하게 세포성장을 억제시킬 수 있음을 보여준다.

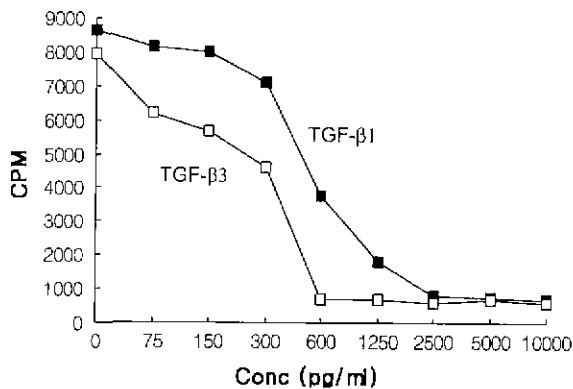


Fig. 5. Effect of TGF- β 1, TGF- β 3 and IL-5 on Igs secretion by mesenteric lymph node cells. Mesenteric lymph node cells (1×10^5) were stimulated with LPS (12.5 μ g/ml), TGF- β 3 (0.4 ng/ml) and IL-5* (0.5 ng/ml) on day 1. Supernatants were harvested after 7 days of culture and IgA, IgG2b, IgG1 and IgM levels were measured by ELISA. Data are the means of duplicate sample. Each sample contains 2-fold diluted wells. Vertical bars represent SEM. β 1, TGF- β 1; β 3, TGF- β 3.

마우스 MLN B cell의 항체 합성에 대한 TGF- β 1, TGF- β 3, IL-5의 영향

MLN은 내장의 방어를 담당하는 점막 림프조직의 하나로 이곳에 존재하는 IgA-committed B cell이 후에 장내의 lamina propria로 유입된다고 알려져 있다. 만약 TGF- β 1이나 TGF- β 3가 장내의 IgA 항체 합성 조절에 생리적으로 중요한 역할을 한다면 MLN B cell의 항체 합성에 대해서도 그 조절 기능이 확인되어야 할 것이다. 이러한 배경으로 MLN B cell의 항체 합성에 대한 TGF- β 1, TGF- β 3, IL-5의 영향을 조사하였다. TGF- β 3 단독으로는 MLN의 IgA 항체 합성을 유의하게 증가시키지 않았다(Fig. 5). 그러나 IL-5와 함께 처리시 2배 정도 증가하였다. 반면에 TGF- β 1은 IL-5가 함께 존재한 경우에도 IgA 합성이 증가하지 않았다. 한편, spleen B cell에서와 비슷하게 TGF- β 1이나 TGF- β 3는 단독으로 IgG2b 합성을 증가시켰다. 흥미롭게도 TGF- β 1이나 TGF- β 3는 IgG1 합성을 증가시켰다. 이런 결과는 spleen B cell과 대조되는 현상이다. IgM 항체의 경우는 TGF- β 1의 경우 약간의 증가를 보였고, TGF- β 3의 경우는 별다른 효과를 보이지 않았다.

Garcia 등(8)은 spleen B cell과는 달리 MLN B cell의 경우, TGF- β 1이 IgG2b 합성을 증가시키지 않고 오히려 현격히 감소시켰다고 보고하였다. 본 실험의 결과와는 상반된 결과이다. 이런 상반된 결과는 현 단계로는 이해할 수 없지만 아마도 한 가지 이유는 endogenous TGF- β 의 영향인 것으로 판단된다. MLN B cell은 spleen B cell에 비해 TGF- β 에 덜 감하며, 만약에 anti-TGF- β 항체를 MLN B cell 배양액에 넣어 주면 기본적인 IgG2b 항체 분비가 감소되는 것이 관찰되었기 때문이다(8). 또한 Snapper 등(16)은 endogenous TGF- β 가 모든 IgG subclass의 합성에 요구된다고 보고한 바 있다. 이러한 현상으로 아마도 MLN B cell의 경우 TGF- β 1이나 TGF- β 3에 의해 IgG1 합성이 증가되었을 가능성이 있다.

Cytokine의 일반적인 특징 중 하나는 기능의 중복성(redun-

dancy)이다. 본 연구에서도 TGF- β 3가 TGF- β 1과 유사하게 항체 합성을 조절하는 중복성을 관찰할 수 있었다. 그러나, TGF- β 3의 발현은 TGF- β 1과는 다르게 조절될 것으로 추정되므로 TGF- β 3가 B cell 분화에 생리적인 조절인자로 작용할지에 대해서는 좀더 연구가 진행되어야 할 것이다. 그럼에도 불구하고 TGF- β 3가 특히 IL-5가 존재할 때 mesenteric lymph node B cell의 IgA 항체 합성을 증진시킬 수 있다는 결과는 장내 방어면역 기작을 이해하는데 있어 중요한 의미가 있다고 평가된다.

감사의 말

본 연구는 교육부 기초과학육성연구비 (BSRI-97-4401) 지원에 의한 것입니다.

참고문헌

1. Archer, S.J., A. Bax, A.B. Roberts, M.B. Sporn, Y. Ogawa, K.A. Piez, J.A. Weatherbee, M.L.-S. Tsang, R. Lucas, B.-L. Zheng, J. Wenker, and D.A. Torchia. 1993 Transforming growth factor β 1: secondary structure as determined by heteronuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biochemistry*. **32**: 1164-1171.
2. Chegini, N. 1997. The role of growth factors in peritoneal healing: transforming growth factor β (TGF- β). *Eur. J. Surg.* **577**: 17-23.
3. Coerper, S., E. Sigloch, D. Cox, M. Starlinger, G. Koveker, and H.-D. Becker. 1997. Recombinant human transforming growth factor beta 3 accelerates gastric ulcer healing in rats. *Scand. J. Gastroenterol.* **32**: 985-900.
4. Coffman, R.L., D.A. Leberman, and B. Shrader. 1989. Transforming growth factor- β specifically enhances IgA production by lipopolysaccharide stimulated murine B lymphocytes. *J. Exp. Med.* **170**: 1039-1044.
5. Czerkinsky, C.C., L.A. Nilsson, H. Nygren, O. Oucherlony, and A. Tarkowski. 1983. A solid-phase enzyme-linked immunospot (ELISPOT) assay for enumeration of specific antibody secreting cell. *J. Immunol. Methods* **65**: 109-121.
6. Defrance, T., B. Vanbervliet, F. Briere, L. Durand, F. Rousset, and J. Banchereau. 1992. Interleukin-10 and transforming growth factor cooperate to induce anti-CD40-activated naive human B cells to secrete immunoglobulin A. *J. Exp. Med.* **175**: 671-682.
7. Derynck, R., P.B. Lindquist, A. Lee, D. Wen, J. Tamm, J.L. Graycar, L. Rhee, A.J. Mason, D.A. Miller, R.J. Coffey, H.L. Moses, and E.Y. Chen. 1988. A new type of transforming growth factor-beta, TGF- β 3. *The EMBO J.* **7**: 3737-3743.
8. Garcia, B., R. Rodriguez, I. Anglo, A.W. Heath, M.C. Howard, and J.L. Subiza. 1996. Differential effects of transforming growth factor- β 1 on IgA vs. IgG2b production by lipopolysaccharide-stimulated lymph node B cells: a comparative study with spleen B cells. *Eur. J. Immunol.* **26**: 2364-2370.
9. Kim, P.-H. and M.F. Kagnoff. 1990. Transforming growth factor-beta 1 increases IgA isotype switching at the clonal level. *J. Immunol.* **145**: 3773-3778.
10. McCartney-Francis, N.L. and S. M. Wahl. 1994. Transforming growth factor beta: a matter of life and death. *J. Leuko. Biol*

- 55: 401-409.
11. **McIntyre, T.M., D.R. Klinman, P. Rothman, M. Lugo, J.R. Dasch, J.J. Mond, and C.M. Snapper.** 1993. Transforming growth factor beta 1 selectively stimulates immunoglobulin G2b secretion by lipopolysaccharide -activated murine B cells. *J. Exp. Med.* **177**: 1031-1037.
 12. **Moses, H.L., E.Y. Yang, and J.A. Pietenpol.** 1990. TGF-beta stimulation and inhibition of cell proliferation: new mechanistic insights. *Cell.* **63**: 245
 13. **Murray, P.D., D.T. McKenzie, S.L. Swain, and M.F. Kagnoff.** 1987. Interleukin 5 and interleukin 4 produced by Peyer's patch T cells selectively enhance immunoglobulin A expression. *J. Immunol.* **139**: 2669-2674.
 14. **Qian, S.W., J.K. Burmester, M.L.-S. Tasng, J.A. Weatherbee, A.P. Hinck, D.J. Ohlsen, M.B. Sporn, and A.B. Roberts.** 1996. Binding affinity of transforming growth factor- β for its type II receptor is determined by the C-terminal region of the molecule. *J. Biol. Chem.* **271**: 30656-30662.
 15. **Roberts, A.B. and M.B. Sporn** : The transforming growth factor- β In: Sporn, M.B., A.B. Roberts (eds.). 1990, *Handbook of Experimental Pharmacology. Peptide Growth Factors and Their receptors.* Springer-Verlag, New York, vol **95**. 419-472.
 16. **Snapper, C.M., W. Waegell, H. Beernink, J.R. Dasch.** 1993. Transforming growth factor-beta1 is required for secretion of IgG of all subclasses by LPS-activated murine B cells in vitro. *J. Immunol.* **151**: 4625-4636.

(Received May 10, 1999/Accepted June 7, 1999)

ABSTRACT : TGF- β 3 Selectively Induces Mouse IgA and IgG2b isotype

Eun-Kyoung Lee, Suk-Rae Park, Se Won Yie, Gie-Taek Chun, Eui Yul Choi¹, and Pyeung-Hyeun Kim* (Department of Microbiology, College of Natural Sciences, Kangwon National University, Chunchon 200-701; ¹Division of Life Sciences, College of Natural Sciences, Hallym University, Chunchon 200-702, Korea)

TGF- β 3 is among five TGF- β isoforms and shows 80% sequence identity to TGF- β 1, a prototype of TGF- β . It has been reported that TGF- β 1, particularly in the presence of IL-2 or IL-5, increases the production of IgA and IgG2b isotypes by LPS-activated murine B cells. We examined the effect of TGF- β 3 on Ig synthesis by B cells from different lymphoid origins. IgA induction by TGF- β 3 was marginal in LPS-activated spleen B cell culture, while IgA production was markedly enhanced in the culture stimulated with TGF- β 3 and IL-5. In addition, number of IgA secreting cells was increased by TGF- β 3. Under the same conditions, TGF- β 3 alone was enough to increase IgG2b production but IgM and IgG1. Similar pattern of IgA and IgG2b enhancement by TGF- β 3 and IL-5 was observed in the cultures of mesenteric lymph node B cells. Thus, overall effect of TGF- β 3 on Ig synthesis was quite similar to that of TGF- β 1. Nonetheless, it remains to be understood whether TGF- β 3 is an important modulator in B cell differentiation since regulation of TGF- β 3 expression is considered to differ from that of TGF- β 1.