

## 만성 바이러스 감염에서 면역조절인자 FoxP3, PD-1 및 CTLA-4의 역할

조효선

덕성여자대학교 약학대학 약학과

### The Roles of Immune Regulatory Factors FoxP3, PD-1, and CTLA-4 in Chronic Viral Infection

Hyosun Cho

Department of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Republic of Korea

(Received July 29, 2013 / Accepted September 25, 2013)

Human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis B virus (HBV), and hepatitis C virus (HCV) cause viral infections that lead to chronic diseases. When they invade human body, virus specific T cells play an important role in antiviral effector functions including killing virus-infected cells and helping B cells to produce specific antibodies against viral proteins. The antiviral activity of T cells is usually affected by immune-regulatory factors that express on surface of T cells. Recently, many researchers have investigated the relationship between effector functions of virus specific T cells and characteristics of immune regulatory factors (e.g., CD28, CD25, CD45RO, FoxP3, PD-1, CTLA-4). In particular, Immune inhibitory molecules such as forkhead box P3 (FoxP3), programmed death-1 (PD-1), and cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) are associated with T-cell dysfunction. They are shown to be up-regulated in chronic viral diseases such as hepatitis B, hepatitis C or human immunodeficiency virus infection. Therefore, the positive correlation between viral persistence and expression of immune regulatory factors (FoxP3, PD-1, and CTLA-4) has been suggested. In this review, the roles of immune regulatory factors FoxP3, PD-1, and CTLA-4 were discussed in chronic viral diseases such as HIV, HBV, or HCV.

**Keywords:** CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4), FoxP3 (forkhead box P3), HBV (hepatitis B virus), HCV (hepatitis C virus), HIV (human immunodeficiency virus), PD-1 (programmed death-1)

바이러스 특이 T림프구는 바이러스에 감염된 세포사멸과 항 바이러스 항체 생성에 핵심적인 역할을 하며 이러한 기능은 T림프구의 다양한 표면항원들에 의해 조절된다. 특히, CD8 T림프구는 perforin과 granzyme B를 이용하여 바이러스 감염 세포를 사멸하며 IFN- $\gamma$ 에 의해 그 활성이 증가된다.

FoxP3 (forkhead box P3)는 조절 T림프구(Treg)의 발현에 필수적인 전사인자로 FoxP3+ Tregs은 활성화된 T림프구의 기능을 직접적으로 억제하거나 IL-10 또는 TGF- $\beta$ 와 같은 항염증(anti-inflammatory) 사이토카인을 분비함으로써 과도한 면역반응을 제어할 수 있다(Wan *et al.*, 2010). Tregs이 결핍된 실험동물의 경우 바이러스 감염시 효과적으로 바이러스의 복제를 억제할 수 있는 반면 Treg이 과도하게 발현된 경우에는 만성적인 바이러스 감염을 초래하는 결과를 보였다(Rouse *et al.*, 2006; Billerbeck *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2008).

일반적으로 T림프구는 증식과 활성을 위해 두가지 신호가 필요하다. T림프구 수용체(T cell receptor; TCR)와 펩타이드를 제시하는 주조직 적합성 복합체(peptide/MHC)의 결합이 첫번째 신호이며, 공동자극분자(costimulatory molecules)인 CD28과 항원제시세포(Antigen presenting cells)의 B7 (B7-1 또는 B7-2) 결합이 두번째 신호이다. PD-1과 CTLA-4는 구조적으로 CD28 family에 속하며 면역조절(immune regulation)에서 중요한 역할을 하는 억제수용체(inhibitory receptor)로 특히 바이러스 감염의 만성화와 PD-1 또는 CTLA-4의 지속적 발현이 깊은 상관관계를 가짐이 보고되었다(Freeman *et al.*, 2006; Golden-Mason *et al.*, 2007). PD-1은 항원제시세포가 발현하는 PD-L1/PD-L2와 결합하며, CTLA-4는 CD28과 경쟁적으로 B7-1 (또는 B7-2)과 결합함으로써 두 수용체 모두 T림프구의 활성을 억제하는 기능을 가진다(Fife and Bluestone, 2008).

급·만성을 포함하는 바이러스 감염에서 초기 T림프구의 표면항원은 앞서 제시한 CD28 발현이 두드러지며, 임상경과상 흔히 급성기라고 표현되는 중기 T림프구에서는 CD28 뿐만 아니라

\*For correspondence. E-mail: hyosun1102@gmail.com; Tel.: +82-2-901-8678; Fax: +82-2-901-8386

FoxP3, PD-1, 그리고 CTLA-4 등이 높게 발현된다. 급성기 후 항바이러스 요법에 의해 회복이 되는 경우에는 높게 발현되었던 FoxP3, PD-1 그리고 CTLA-4의 발현이 점차 낮아지게 되나 만성으로 전환되는 경우, 계속적으로 높게 발현되어 T림프구의 항바이러스 활성에 영향을 끼치는 것으로 보고되고 있으나 구체적인 작용기전에 대해서는 알려진 바가 미미하다. FoxP3, PD-1, 그리고 CTLA-4는 고전적으로 말초 조직에서의 면역내성(immune tolerance)을 담당하는 것으로 알려져 있으나 최근 만성 바이러스 감염에서 T림프구의 기능결핍 또는 바이러스의 면역회피(immune evasion) 기전과 밀접한 관계가 있음이 보고되어 본 총설에서는 대표적인 만성 바이러스 감염질환, 즉 HIV, HBV, 그리고 HCV를 중심으로 임상 조직학적 지표와 각 바이러스 특이 T림프구의 FoxP3, PD-1, 그리고 CTLA-4 발현의 상관관계를 분석하여 이들 면역조절인자들의 역할에 대해 고찰해 보고자 한다.

### FoxP3+ Tregs

조절 T림프구(Regulatory T cells)는 자가면역(autoimmunity) 반응을 억제하는 IL-2Ra (CD25)를 표면에 발현하는 CD4 T림프구의 존재에 의해 처음으로 알려졌다(Sakaguchi *et al.*, 1995). 이후 조절 T림프구의 기능과 종류에 관한 많은 연구들이 진행되었고 현재 자연적으로 존재하는 CD4+ CD25+ 조절 T림프구, 특정면역반응에 의해 유도되는 조절 T림프구, IL-10에 의해 유도되는 Tr1, 점막면역에 관계하는 Th3 림프구, 그리고 말초에서 CD4+ CD25- T림프구에 의해 전환되는 CD4+ CD25+ 조절 T림프구 등 여러 아집단들이 있으며 각기 다양한 면역반응에서 억제 기능을 하는 것으로 알려져 있다(Mill and McGuirk, 2004; Vigouroux *et al.*, 2004; Sakaguchi, 2005). CD4+ CD25+가 조절 T림프구의 안정적인 표면항원으로 정체됨으로써 전체 CD4 T림프구에서 조절 T림프구의 상대적인 빈도가 5-10%인 것으로 밝혀졌고, 특히 CD25를 특이적으로 높게 발현하는 CD4+ CD25 high 조절 T림프구가 CD4+ CD25- 반응 T림프구, CD8 T림프구, 수지상세포(dendritic cells), 자연살해세포(natural killer), 그리고 B세포의 증식과 싸이토카인 분비를 억제하는 기능을 보임으로써 새로운 조절 T림프구의 아집단으로 분류되었다(Azuma *et al.*, 2003; Trzonkowski *et al.*, 2004; Lim *et al.*, 2005; Romagnani *et al.*, 2005).

마우스 Scurfy종에서 FoxP3 (the forkhead family transcription factor 3) 유전자의 결함에 의해 CD4+ T림프구의 지나친 활성화로 싸이토카인의 과잉생성이 관찰됨으로써 처음 FoxP3의 존재가 알려지게 되었으며, 실제 FoxP3는 CD4(+)CD25(hi) 조절 T림프구의 발달과 기능에 필수적인 역할을 한다(Brunkow *et al.*, 2001). 미감작 T림프구에 FoxP3를 형질 도입시 T림프구 표면에 CD25, CTLA-4, GITR (Glucocorticoid-induced TNFR-related gene)의 발현이 증가되고, 또한 기능적으로 IL-2, IFN- $\gamma$  등의 분비를 억제하여 가장 합리적인 조절 T림프구의 기능적 지표로 여겨지고 있다.

조절 T림프구의 면역억제 기전에는 여러가설이 알려져 왔지만 대표적으로 반응 T림프구에 대한 세포접촉설(cell contact)과 IL-10, TGF- $\beta$ 와 같은 면역억제 싸이토카인의 분비설 등이 있다

(Ohkura and Sakaguchi, 2010). T림프구에서 FoxP3의 발현유도에는 TCR, IL-2, STAT (Signal transducers and activators of transcription), Smad, TGF- $\beta$ , PI3K (Phosphatidylinositol 3-kinase) /Akt/mTOR, 그리고 Notch 등의 신호전달체계가 관련되어 있다 (Tone *et al.*, 2008). 최근 GARP (Glycoprotein A repetitions predominant or LRRC32)가 조절 T림프구 특이 수용체로 발견되어 FoxP3 발현을 조절하는 분자적 기전에 대한 실마리를 풀게 되었다(Probst-Kepper *et al.*, 2010).

항바이러스 면역반응을 억제하는 조절 T림프구의 발현양상은 HIV, HCV 등에 의한 바이러스 감염 환자의 임상경과에 큰 영향을 미치는 것으로 보고되었다(Rouse *et al.*, 2006; Card *et al.*, 2009). 즉, 조절 T림프구에 의한 바이러스 항원 특이 T림프구의 기능결핍이 바이러스 감염의 만성화와 밀접한 상관관계가 있음을 암시한다.

### PD-1/CTLA-4

서론에서 언급했듯이 T림프구의 활성정도는 공동자극신호(costimulatory signal)와 공동억제신호(coinhibitory signal)의 균형에 의해 결정된다. 즉, 이러한 공동신호체계는 T림프구의 활성조절에 중요한 역할을 한다. 공동자극분자인 CD28과 억제 수용체로 작용하는 PD-1, CTLA-4는 기능적으로 중요한 CD28 family의 요소이다. CD28 family에 속하는 분자들은 다양한 구조적 특징으로 좀더 상세히 분류되어 CD28, CTLA-4, ICOS, PD-1, 그리고 BTLA 등이 있으며 각기 항원제시세포에서 발현되는 특이 리간드(CD28:B7-1 or B7-2, CTLA-4:B7-1 or B7-2, PD-1:B7-H1 or B7-DC, ICOS:B7-H2, and BTLA:B7-H4)에 결합한다. 특히, CD28과 CTLA-4는 리간드 즉 B7-1 (CD80) 또는 B7-2 (CD86)를 공유하는 반면 PD-1은 고유의 특이 PD-1 리간드(PD-L1)를 가진다(Chen and Shi, 2006)(Table 1).

T림프구 표면에 PD-1 또는 CTLA-4의 발현이 유도되면 세포의 증식이 정지되며 T림프구 활성이 종료된다. PD-1과 CTLA-4 신호체계의 중요성은 PD-1 또는 CTLA-4 결핍 마우스에서 보이는 자가면역반응으로 알 수 있다(Chen, 2004). PD-1 수용체는 CD28 family로 활성화된 T 또는 B 림프구에 발현되지만 리간드인 PD-L1과 PD-L2는 여러 다양한 종류의 세포에서 발현된다(Muhlbauer *et al.*, 2006). 리간드-수용체 결합에 의해 PD-1과 PD-L1이 결합하면 SHP-2 Phosphatase에 의해 PI3K와 Akt의 활성이 억제되어 T림프구 수용체 신호전달에 막대한 지장을 초래하게 되어 결국 T림프구의 활성이 억제된다(Sheppard *et al.*, 2004).

만성 바이러스 감염에서 PD-1/PD-L1 결합의 영향은 LCMV (Lymphocytic choriomeningitis)를 이용한 마우스 모델에서 처음으로 소개되었다. 만성감염 모델로 알려진 LCMV clone 13이 마우스 체내 LCMV 특이 CD8 T림프구의 결핍과 함께 높은 PD-1 발현을 초래하였고 또한 PD-L1을 이용하여 PD-1 발현을 억제함으로써 T림프구의 증식, 싸이토카인 분비, 세포독성 등의 기능이 회복됨을 확인하였다(Barber *et al.*, 2006).

CTLA-4는 B7-1이나 B7-2에 친화력을 보여 CD28과 경쟁적으로 길항하며 일반적으로 휴지기 T림프구에서는 발현되지 않

**Table 1.** Costimulatory molecules and their ligands. Table was modified from (Chen, 2006).

Costimulatory molecules	Ligands	Expression patterns of costimulatory molecules and ligands
CD28	CD80 (B7-1) CD86 (B7-2)	CD28: mouse T cells, human CD4+ T cells (90%), human CD8+ T cells (50%) CD80, CD86: dendritic cells, macrophages, B cells
CTLA-4	CD80,CD86	CTLA-4: activated T cells
PD-1	B7-H1 (PDL1) B7-DC (PDL2)	PD1: T cells, B cells, myeloid cells B7-H1: dendritic cells, macrophages, T cells, B cells, endothelial cells, epithelial cells, muscle cells, trophoblast cells. B7-DC: dendritic cells, macrophages
ICOS	B7RP-1(B7-H2)	ICOS: activated T cells, memory T cells B7RP-1: B cells, macrophages
BTLA	B7-H4	BTLA: Th1 cells, B cells B7-H4: dendritic cells, macrophages, B cells, T cells

BTLA, B and T lymphocyte attenuator; CTLA-4, cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4; PD1, programmed cell death 1; ICOS, inducible costimulatory molecule; Th1, T helper 1.

고 충분히 활성화된 T림프구에서 발견되어 T림프구의 활성화종료에 관여한다(Linsley *et al.*, 1992). CTLA-4의 B7-1이나 B7-2에 대한 친화력은 CD28에 비해 10-20배 정도 더 강하며 CTLA-4의 결합은 TCR 신호체계가 일어나는 지질뗏목(lipid raft)을 파괴하여 T림프구의 증식을 억제한다(Stamper *et al.*, 2001).

**HIV 감염**

대표적인 만성 바이러스성 감염인 HIV (Human Immunodeficiency Virus) 감염은 HIV가 인체내에 감염되어 세포성 면역에서 중심적인 존재인 CD4 림프구를 공격, 파괴시켜 T림프구의 현저한 감소로 면역체계가 붕괴되는 현상이다. 1985년 국내 첫 감염자가 발견된 이래 꾸준히 증가하고 있는 추세이며 HIV 치료제로는 1996년 HIV를 지속적으로 억제할 수 있는 3제 병합요법이 도입되어 현재까지 사용되고 있다(Oh and Choe, 1999). “3제 병합요법”이란 HIV-1 reverse transcriptase와 protease inhibitor를 3개 이상 함께 투여하는 방법으로 “HAART (highly active anti-retroviral therapy)”로도 알려져 있으며 바이러스 복제를 효과적으로 억제함으로써 CD4 T림프구의 숫자를 증가시키고 AIDS (Acquired Immunodeficiency Syndrome)가 일어나는 빈도를 크게 줄일 수 있다(Palella *et al.*, 1998).

만성적인 HIV 감염으로 인한 AIDS는 자연경과의 임상조건에 따라 3단계로 나눌 수 있다. 제 1단계는 급성 HIV 증후군으로 HIV 감염 환자의 50-70%에서 일차 감염 후 독감과 유사한 급성 임상 증후군을 보이며 일반적으로 혈중 바이러스 농도의 급속한 증가를 나타낸다. 하지만 이후 체내의 면역 기전이 작동하면서 혈중 바이러스 농도가 감소하고 급성 임상 증상도 점차 사라진다. 제 2단계는 증상이 없는 시기로 급성 HIV 증후군 이후 8-10 년간이며 별다른 임상 증상을 보이지 않는다. 그러나 체내의 HIV 증식은 계속 진행되며 동시에 CD4 T림프구는 감소한다. 제 3단계는 새롭게 증상이 나타나는 시기로 혈중 CD4 T 세포가 200/μl 미만일 경우 면역력이 떨어지면서 폐렴, 결핵, 구강 칸디다증, 대상포진 등의 기회 감염과 악성종양을 앓게 된다(Kahn and Wakler, 1998).

FoxP3 발현은 HIV 감염에서 HIV의 체내 지속성과 임상적

진행의 심화척도로 알려져 왔으며, 그 이유는 FoxP3+ Treg의 면역억제 기능에 기인한다(Suchard *et al.*, 2010). 이러한 영향은 HIV/HCV 중복감염에도 반영되어 중복감염의 경우 HCV 또는 HIV 단독감염에 비해 훨씬 증가된 FoxP3+ Tregs의 발현을 볼 수 있으며(미발표 자료), HIV/HCV 중복감염에서 비정상적으로 증가된 FoxP3+ Tregs의 발현이 HCV로 인한 간질환의 심화에 보다 치명적인 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(Alvarez, 2004; Operskalski and Kovacs, 2011).

초기 HIV 연구에서 높은 PD-1 발현을 보이는 HIV 특이 독성 T림프구(CTL; cytotoxicity T cells)가 세포의 배양에서 동일종류 항원에 의한 증식이 결핍되어 있음이 보고되었다. 또한 PD-1 발현은 혈중 HIV 바이러스 입자농도, 그리고 AIDS의 임상적 심화도와 밀접한 상관관계를 보였다(Day *et al.*, 2006; Trautmann *et al.*, 2006). HIV 감염환자의 항바이러스 치료 동안의 종단적 분석은 혈중 바이러스 입자가 줄어듬과 동시에 HIV 특이 독성 T림프구의 PD-1 발현도 감소하였고, 또한 항 PD-L1 항체를 이용한 PD-1 신호경로의 차단은 HIV 특이 독성 T림프구의 기능향상을 획득하였다.

CTLA-4의 경우, HIV 감염이 임상적으로 심화됨에 따라 CD4 T림프구에 과발현됨을 관찰하였고 이러한 CTLA-4의 발현증가가 CD4 count와 반비례하였다(Leng *et al.*, 2002). 급성 HIV 감염에서도 CTLA-4는 HIV 특이 CD4 T림프구에 과발현되는 반면 PD-1과 다르게 HIV 특이 CD8 T림프구에는 높게 발현되지 않으나 병의 임상적 심화, 혈중 바이러스 입자 농도와는 직접적인 상관성을 보였다. CTLA-4 신호경로의 차단은 HIV 특이 CD4 T림프구의 증식의 기능회복과 관련 있었으나 CTLA-4 과 PD-1을 동시에 발현하는 T림프구의 경우 PD-1 경로의 단독 차단, CTLA-4 경로의 단독차단, 또는 동시차단에 의한 T림프구 기능회복에 있어 상승효과 등 반응주체에 따라 다양한 결과를 초래하였다(Zaunders *et al.*, 2006).

**B형 간염**

만성 B형 간염은 Hepatitis B virus에 의해 유발되며 간경변과 간암을 포함한 만성 간질환의 원인으로 국내 유병률은 5-8%로

보고 되어 있다(Lee and Kim, 2012). B형 간염의 주요 감염경로는 비경구적 감염으로 모체의 혈액이나 분비물에 존재하는 바이러스가 출산시 혹은 출산 직후 자녀에게 전염되는 수직감염이 가장 중요한 감염경로이며, 수혈, 성관계, 오염된 주사바늘을 통해서도 감염될 수 있다(Chae *et al.*, 2009).

B형 간염의 초기에는 자각증상이 거의 없으며 만성으로 진행되었을 경우, 간손상에 의해 황달, 피로, 메스꺼움, 식욕상실, 체중감소, 피부의 거미 혈관종 증세 등이 나타난다. B형 간염은 자연경과의 임상소견에 따라 4단계로 나눌 수 있으며, 간염바이러스의 증식은 활발하지만, 활동성 간염(active)이 나타나지 않는 면역관용기(immune tolerance), 면역체계가 바이러스를 제거하려 하고 동시에 간세포 파괴와 함께 간염이 심해지는 면역제거기(immune clearance), 간염 바이러스는 현저히 감소하고 임상적으로 양호한 상태를 보이는 무증상보유자(inactive carrier), 그리고 간염 바이러스의 증식이 재기되는 재활성화기(reactivation)로 구분된다(Yim and Lok, 2006).

만성 B형 간염의 치료제로 인터페론 알파(interferon  $\alpha$ )가 과거 30여 년간 사용되어 왔으며 HBV 증식 억제효과 및 면역조절 작용이 있다(Bertoletti and Naoumov, 2003). 최근 항바이러스 억제제로 라미부딘(lamivudine)이 도입되어 임상에 사용되고 있으며 라미부딘에 내성을 발현한 HBV에 대해서는 아데포비어(adeфовir)로 대체 또는 추가하여 투여하고 있다(Lee *et al.*, 2005).

급성 B형 간염의 회복단계에서 IFN- $\gamma$ 를 분비하는 HBV 특이 T림프구가 중요한 역할을 하고 있는 반면 만성 B형 간염의 경우 이러한 HBV 특이 T림프구 반응이 아주 약하게 나타나고 있음이 밝혀졌다(Bertoletti and Naoumov, 2003). 특히, 만성 B형 간염의 경우 CD4+CD25+Tregs의 발현이 증가됨이 보고 되었고, 이러한 Tregs은 HBV 특이 면역반응을 억제하며, 또한 Tregs을 제거함으로써 IFN- $\gamma$ 와 HBV 특이 면역반응이 회복되었다(Stoop *et al.*, 2005).

PD-1의 경우 체내 HBV level과 강한 상관관계가 있음이 최근 밝혀졌으며, PD-1 뿐만 아니라 PD-L1 또한 B형 간염의 임상적 조직학적 지표인 혈청 ALT (alanine aminotransferase)도 함께 증가하는 것을 보였으며, 염증의 정도가 약해지면서 혈중 HBV DNA 농도와 함께 혈청 ALT는 정상으로 회복되나 간에서의 PD-1, PD-L1의 발현은 상대적으로 계속 높은 수치를 보이는 흥미로운 결과가 보고되어 PD-1 발현이 B형 간염의 만성화와 밀접한 상관성이 있음을 제시하였다. 또한 동일한 연구에서 PD-1의 발현 증가가 HBV 특이 CD8 T림프구의 기능결핍과도 직접적인 관련이 있음이 관찰되었으며, 제 기능을 하지 못하는 CD8 T림프구에 PD-L1을 가했을 경우 PD-1 신호경로 차단을 통한 T림프구의 기능 향상을 관찰하였다(Evans *et al.*, 2008; Peng *et al.*, 2008; Wenjin *et al.*, 2012).

HBV 감염에서 CTLA-4의 기능이나 임상 조직학적 지표와의 관계는 알려진 바가 적다. 수용성 CTLA-4와 CD28 농도가 건강한 성인에 비해 만성 B형 간염 환자에서 유의적으로 높았다는 보고가 있으며, 이러한 현상은 ALT의 농도와도 상관관계를 보였다(Cao *et al.*, 2011). 효과적인 만성 B형 간염의 치료를 위해

간염의 임상 진행 경과에 따른 복잡한 면역조절 또는 억제 물질들의 발현변화에 대해서 보다 확실한 규명이 요구된다.

## C형 간염

C형 간염 바이러스(hepatitis C virus; HCV) 감염자는 전세계적으로 약 1억 7천만 명으로 추정되며 국내는 약 1% 내외로 해안지방에서 높은 유병률을 보이고 있다(Kim *et al.*, 1992; Liang *et al.*, 2000). 주로 혈액을 통해 전염되며 임상적으로 급성과 만성으로 나누며 급성의 경우 증상은 A형 또는 B형 간염과 비슷하나 대부분 초기 증상없이 만성으로 이행된다(McHutchson *et al.*, 1998). 약 50-80%의 환자에서 만성간염으로 지속되며 이중 5-20%의 환자는 간경변증 또는 간암으로 진행된다(Teoh and Farrell, 2004).

C형 간염 바이러스는 인체의 간세포 표면에 발현되는 CD81, SR-B1, claudin-1, occludin 등의 수용체를 통해 간세포로 침투하여 간염, 간경화 그리고 간암을 일으킨다(Lauer and Walker, 2001). C형 간염 바이러스 치료제로는 IFN- $\alpha$ , 리바비린(ribavirin) 등이 알려져 있으나 바이러스 종(strain)마다 치료효과가 다양하며 HCV 예방백신은 연구개발 중에 있다(Pagliaro *et al.*, 1994).

비감염자와 비교하여 만성 C형 간염 환자의 혈액, 간에서 분리된 T림프구의 FoxP3 (or CD4+CD25+Tregs)의 발현증가가 보고 되었고(Ebinuma *et al.*, 2008), 본 연구자는 FoxP3+ Tregs의 발현이 HIV 또는 HCV 단독 감염에 비해 HIV/HCV 중복감염에서 더욱 심화되어 있음을 확인하였다(미발표 자료). 하지만 중복감염에서 보여지는 FoxP3+ Tregs의 특징, 기능 그리고 다른 면역억제 수용체(PD-1, CTLA-4)와의 상관성에 대해서는 알려진 바가 거의 없다.

만성 C형 간염 환자의 혈액에서 분리되는 HCV 특이 CD8 T림프구는 기능적으로 결핍되어 IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ 와 같은 항바이러스 사이토카인을 제대로 분비하지 못하는 반면 두드러진 PD-1의 발현이 보인다(Nakamoto *et al.*, 2008). HCV의 표적기관인 간의 HCV 특이 CD8 T림프구의 기능결핍은 혈액에서 분리되는 T림프구에 비해 훨씬 더 심화되어 있으며 PD-1 발현도 더 높게 나타난다. 또한 CTLA-4의 두드러진 발현 또한 HCV 특이 CD8 T림프구의 기능억제와 상관성이 있음이 밝혀졌다(Nakamoto *et al.*, 2009). 흥미롭게도 만성 C형 간염에서 PD-1 또는 CTLA-4의 높은 발현을 보이는 HCV 특이 T림프구의 기능결핍이 PD-L1 또는 Anti-CTLA4를 이용한 PD-1/CTLA-4 차단 실험에서 T림프구의 기능회복이 보고됨에 따라 항바이러스 치료제에 대한 새로운 방향을 제시하기도 하였다(Nakamoto *et al.*, 2008, 2009). 또한 HIV 또는 HCV 단독 감염에 비해 HIV/HCV 중복감염에서 T림프구 표면의 PD-1과 CTLA-4가 높게 발현되어 HIV/HCV 중복감염 환자의 치명적인 간손상 기전 또한 면역억제인과 밀접한 관련이 있음을 시사하였다(미발표 자료).

## 결론

FoxP3+ Tregs, PD-1 그리고 CTLA-4와 같은 면역조절 또는 억제 수용체들은 본 총설에서 소개한 만성 바이러스성 감염에서

**Table 2.** FoxP3, PD-1 and CTLA-4 expression in HIV, HBV, and HCV infection

Infection	Immune regulatory factors	Characteristics of FoxP3+Tregs, PD-1, and CTLA-4 expression in chronic viral diseases	References
HIV	FoxP3+Tregs	Correlation between the inhibitory function of FoxP3+Treg and viral persistence	Suchard <i>et al.</i> (2010)
	PD-1	Correlation between PD-1 expression and HIV-specific CD8 T cells dysfunction	Day <i>et al.</i> (2006)
	CTLA-4	Correlation between PD-1 expression and HIV viral load	Trautmann <i>et al.</i> (2006)
HBV	CD4+CD25+Tregs	Inhibition of HBV specific immune response by CD4+CD25+Tregs	Leng <i>et al.</i> (2002)
	PD-1	Correlation between PD-1 expression and HBV level	Stoop <i>et al.</i> (2005)
	CTLA-4	Correlation between CTLA-4 expression and ALT level	Evans <i>et al.</i> (2008)
HCV	FoxP3+Tregs	Upregulation of FoxP3+Tregs expression in blood and liver from chronic HCV patients	Cao <i>et al.</i> (2011)
	PD-1	HCV-specific CD8 T cells dysfunction by PD-1 expression	Ebinuma <i>et al.</i> (2008)
	CTLA-4	HCV-specific CD8 T cells dysfunction by CTLA-4 expression	Nakamoto <i>et al.</i> (2008)
			Nakamoto <i>et al.</i> (2009)

ALT, alanine aminotransferase

T림프구의 기능결핍과 밀접한 상관성을 가진다. 이들 수용체에 의한 T림프구 기능 결핍의 자세한 분자적 기전에 대한 연구는 명확히 규명되지 않았다. 하지만 제안된 가설 중 하나는 FoxP3+Tregs이 특이적으로 분비하는 싸이토카인인 TGF-β와 IL-10에 의한 면역환경억제가 T림프구의 기능결핍 및 PD-1 그리고 CTLA-4의 지속적인 발현과 관련이 있는 것으로 보고되었다. 급성 바이러스 감염의 경우, FoxP3+ Tregs, PD-1 그리고 CTLA-4에 대해 국내외 연구된 바가 거의 없으나, 저자의 최근 연구결과에 따르면 hepatitis A virus (HAV)에 의한 급성 A형 간염의 경우 급성기에 PD-1과 CTLA-4가 만성 B, C형 간염에서와 같이 높은 발현을 보였으나 흥미롭게도 FoxP3의 발현은 증가되지 않음을 관찰하였다(미발표 자료).

만성바이러스감염에서 특이적으로 발현이 증가되는 관련 수용체들 즉, FoxP3+ Tregs, PD-1 그리고 CTLA-4의 신호전달 체계를 차단하는 방법은 바이러스 특이 T림프구의 기능을 회복시키는 새로운 치료전략이 될 수 있다. 최근 HCV 만성 간염 환자들을 대상으로 한 PD-1차단항체 임상실험에서 환자 대부분의 경우 HCV RNA의 지속적인 억제가 보고되었다. 하지만 몇몇 환자들에게서 나타난 심각한 간기능 저하나 자가면역반응과 관련된 부작용은 면역조절인자들의 차단에 의한 정상면역기능의 불균형이 초래될 수 있음을 시사하고 있다(Gardiner *et al.*, 2013).

본 총설에서는 최근 연구물을 바탕으로 대표적인 만성 바이러스성 감염인 HIV 감염, B형 또는 C형 간염에서 나타나는 T림프구의 표면항원 발현양상에 대하여 살펴 보았다(Table 2). 인체 내 감염시 HBV와 HCV는 만성 간염 및 간경화와 간암을 일으킨다. B형 또는 C형 간염이 만성적으로 진행된 환자의 T림프구는 면역억제인자들, 즉 FoxP3, PD1, CTLA-4 등의 발현이 두드러지며, 동시에 T림프구 고유의 기능(싸이토카인 분비, 바이러스 감염세포 제거 등)이 결핍되어 있다. 이러한 T림프구의 기능결핍은 바이러스가 복제되는 장소인 간(liver)에서 더욱 심각하게 보인다.

바이러스성 간염에서 보다 구체적인 FoxP3+ Tregs, PD1, CTLA-4의 기능적 역할규명, 그리고 CD28 family에 속하는 다른 면역조절인자들[e.g., ICOS(Inducible T-cell CoStimulator),

BTLA (B and T lymphocyte attenuator)]의 발현양상에 대한 분석도 시급히 연구되어야 할 것이다.

### 적 요

인간면역결핍바이러스(Human immunodeficiency virus; HIV), B형 간염 바이러스(Hepatitis B virus; HBV), 그리고 C형 간염 바이러스(Hepatitis C virus; HCV)는 만성 감염질환을 일으키는 대표적인 바이러스들이다. 인체내 감염시 임상적 진행경과에 따른 바이러스 특이 T림프구의 항바이러스 기능변화 및 바이러스의 체내 지속성과 T림프구에 발현되는 다양한 면역인자(e.g., CD28, CD25, FoxP3, PD-1, CTLA-4)들과의 구체적인 상관관계는 최근 많은 국내외 연구진들을 통해 연구되고 있다. 그 중 FoxP3 (forkhead box P3), PD-1 (programmed death-1) 그리고 CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4)는 T림프구에서 발현되는 면역조절인자로 만성 바이러스성 감염시 그 발현이 증가되는 것으로 관찰되었으며, 항바이러스 작용을 가지는 T림프구의 기능결핍과 밀접한 상관관계가 있는 것으로 알려져 있다. 본 총설에서는 만성적인 HIV, HBV, 그리고 HCV 감염에서 바이러스 특이 T림프구에서 발현되는 FoxP3, PD1, 그리고 CTLA-4의 발현변화와 각 질환의 임상적 진행경과와의 상관성, 그리고 이들 발현이 T림프구의 항바이러스 기능에 미치는 영향 등을 중심으로 기술하였다.

### 감사의 말

본 연구는 덕성여자대학교 2012년도 교내연구비(3000001710) 지원에 의해 수행되었음.

### 참고문헌

Alvarez, D. 2004. Clinical perspective: Battling hepatitis C in our HIV-infected patients. *Res. Initiat. Treat. Action* 10, 26–27.  
 Azuma, T., Takahashi, T., Kunisato, A., Kitamura, T., and Hirai, H. 2003. Human CD4+ CD25+ regulatory T cells suppress NKT cell

- functions. *Cancer Res.* **63**, 4516–4520.
- Barber, D.L., Wherry, E.J., Masopust, D., Zhu, B., Allison, J.P., Sharpe, A.H., Freeman, G.J., and Ahmed, R.** 2006. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature* **439**, 682–687.
- Bertoletti, A. and Naoumov, N.V.** 2003. Translation of immunological knowledge into better treatments of chronic hepatitis B. *J. Hepatol.* **39**, 115–124.
- Billerbeck, E., Bottler, T., and Thimme, R.** 2007. Regulatory T cells in viral hepatitis. *World J. Gastroenterol.* **13**, 4858–4864.
- Boulassel, M.R., Delwart, M.R., and Sepulveda, H.** 2006. Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8+ T cells leads to reversible immune dysfunction. *Nat. Med.* **12**, 1198–1202.
- Brunkow, M.E., Jeffery, E.W., Hjernild, K.A., Paepfer, B., Clark, L.B., Yasayko, S.A., Wilkinson, J.E., Galas, D., Ziegler, S.F., and Ramsdell, F.** 2001. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurfy, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. *Nat. Genet.* **27**, 68–73.
- Cao, J., Zhang, L., Huang, S., Chen, P., Zou, L., Chen, H., Xiang, Y., Lai, X., and Ren, G.** 2011. Aberrant production of soluble co-stimulatory molecules CTLA-4 and CD28 in patients with chronic hepatitis B. *Microb. Pathog.* **51**, 262–267.
- Card, C.M., McLaren, P.J., Wachih, C., Kimani, J., Plummer, F.A., and Fowke, K.R.** 2009. Decreased immune activation in resistance to HIV-1 infection is associated with an elevated frequency of CD4(+)/CD25(+)/FOXP3(+) regulatory T cells. *J. Infect. Dis.* **199**, 1318–1322.
- Chae, H.B., Kim, J.H., Kim, J.K., and Yim, H.J.** 2009. Current status of liver diseases in Korea: hepatitis B. *Korean J. Hepatol.* **15**, S13–24.
- Chen, L.** 2004. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity. *Nat. Rev. Immunol.* **4**, 336–347.
- Chen, Y.Q. and Shi, H.Z.** 2006. CD28/CTLA-4–CD80/CD86 and ICOS–B7RP-1 costimulatory pathway in bronchial asthma. *Allergy* **61**, 15–26.
- Day, C.L., Kaufmann, D.E., Kiepiela, P., Brown, J.A., Moodley, E.S., Reddy, S., Mackey, E.W., Miller, J.D., Leslie, A.J., and DePierres, C.** 2006. PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature* **443**, 350–354.
- Ebinuma, H., Nakamoto, N., Li, Y., Price, D.A., Gostick, E., Levine, B.L., Tobias, J., Kwok, W.W., and Chang, K.M.** 2008. Identification and *in vitro* expansion of functional antigen-specific CD25+ FoxP3+ regulatory T cells in hepatitis C virus infection. *J. Virol.* **82**, 5043–5053.
- Evans, A., Riva, A., Cooksley, H., Phillips, S., Puranik, S., Nathwani, A., Brett, S., Chokshi, S., and Naoumov, N.V.** 2008. Programmed death 1 expression during antiviral treatment of chronic hepatitis B: Impact of hepatitis B e-antigen seroconversion. *Hepatology* **48**, 759–769.
- Fife, B.T. and Bluestone, J.A.** 2008. Control of peripheral T-cell tolerance and autoimmunity via the CTLA-4 and PD-1 pathways. *Immunol. Rev.* **224**, 166–182.
- Freeman, G.J., Wherry, E.J., Ahmed, R., and Sharpe, A.H.** 2006. Reinvigorating exhausted HIV-specific T cells via PD-1-PD-1 ligand blockade. *J. Exp. Med.* **203**, 2223–2227.
- Gardiner, D., Lalezari, J., Lawitz, E., DiMicco, M., Ghalib, R., Reddy, K.R., Chang, K.M., Sulkowski, M., Marro, S.O., Anderson, J., and *et al.*** 2013. A randomized, double-blind, placebo-controlled assessment of BMS-936558, a fully human monoclonal antibody to programmed death-1 (PD-1), in patients with chronic hepatitis C virus infection. *PLoS One* **22**, 8(5):e63818.
- Golden-Mason, L., Palmer, B., Klarquist, J., Mengshol, J.A., and Castellanico, N.** 2007. Upregulation of PD-1 expression on circulating and intrahepatic hepatitis C virus-specific CD8+ T cells associated with reversible immune dysfunction. *J. Virol.* **81**, 9249–9258.
- Kahn, J.O. and Walker, B.D.** 1998. Acute human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Engl. J. Med.* **331**, 33–39.
- Kim, Y.S., Pai, C.H., Chi, H.S., Kim, D.W., Min, Y.L., and Ahn, Y.O.** 1992. Prevalence of hepatitis C virus antibody among Korean adults. *J. Korean Med. Sci.* **7**, 333–336.
- Lauer, G.M. and Walker, B.D.** 2001. Hepatitis C virus infection. *New Engl. J. Med.* **345**, 41–52.
- Lee, C.K., Han, K.H., Suh, J.H., Cho, Y.S., Won, S.Y., Chon, C.Y., Moon, Y.M., and Park, I.S.** 2005. HBV-specific CD8+ T cells for sustained HBeAg seroconversion after lamivudine therapy. *Korean J. Hepatol.* **11**, 34–42.
- Lee, K.S. and Kim, D.J.** 2012. Korean association for the study of the liver. *Clin. Mol. Hepatol.* **2**, 109–162.
- Liang, T.J., Rehermann, B., Seeff, L.B., and Hoofnagle, J.H.** 2000. Pathogenesis, natural history, treatment and prevention of hepatitis C. *Ann. Intern. Med.* **32**, 296–305.
- Li, S., Gowans, E.J., Chougnat, C., Plebanski, M., and Dittmer, U.** 2008. Natural regulatory T cells and persistent viral infection. *J. Virol.* **82**, 21–30.
- Linsley, P.S., Greene, J.L., Tan, P., Bradshaw, J., Ledbetter, J.A., Anasetti, C., and Damle, N.K.** 1992. Coexpression and functional cooperation of CTLA-4 and CD28 on activated T lymphocytes. *J. Exp. Med.* **176**, 1595–1604.
- Lim, H.W., Hillsamer, P., Banham, A.H., and Kim, C.H.** 2005. Cutting edge: direct suppression of B cells by CD4+CD25+ regulatory T cells. *J. Immunol.* **175**, 4180–4183.
- McHutchison, J.G., Gordon, S.C., Schiff, E.R., Shiffman, M.L., Lee, W.M., Rustigi, V.K., Goodman, Z.D., Ling, M.H., Cort, S., and Albrecht, J.K.** 1998. Interferon alpha-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N. Eng. J. Med.* **339**, 1485–1492.
- Mills, K.H. and McGuirk, P.** 2004. Antigen-specific regulatory T cells – their induction and role in infection. *Semin. Immunol.* **16**, 107–117.
- Muhlbauer, M., Fleck, M., Schutz, C., Weiss, T., Froh, M., Blank, C., Schölmerich, J., and Hellerbrand, C.** 2006. PD-L1 is induced in hepatocytes by viral infection and by interferon-alpha and -gamma and mediates T cell apoptosis. *J. Hepatol.* **45**, 520–528.
- Nakamoto, N., Cho, H., Shaked, A., Olthoff, K., Valiga, M.E., Kaminski, M., Gostick, E., Price, D.A., Freeman, G.J., Wherry, E.J., and *et al.*** 2009. Synergistic reversal of intrahepatic HCV-specific CD8 T cell exhaustion by combined PD-1/CTLA-4 blockade. *PLoS Pathog.* **5**, e1000313.
- Nakamoto, N., Kaplan, D.E., Coleclough, J., Li, Y., Valiga, M.E., Kaminski, M., Shaked, A., Olthoff, K., Gostick, E., Price, D.A., and *et al.*** 2008. Functional restoration of HCV-specific CD8 T cells by PD-1 blockade is defined by PD-1 expression and compartmentalization. *Gastroenterology* **134**, 1927–1937.
- Ohkura, N. and Sakaguchi, S.** 2010. Regulatory T cells: roles of T cell receptor for their development and function. *Semin Immunopathol.* **32**, 95–106.
- Oh, M.D. and Choe, K.W.** 1999. Epidemiology of HIV infection in the republic of Korea. *J. Korean Med. Sci.* **14**, 469–474.
- Operskalski, E.A. and Kovacs, A.** 2011. HIV/HCV co-infection: Pathogenesis, clinical complications, treatment, and new

- therapeutic technologies. *Curr. HIV/AIDS Rep.* **8**, 12–22.
- Pagliaro, L., Craxi, A., Cammaa, C., Tine, F., Di Marco, V., and Almasio, P.** 1994. Interferon-alpha for chronic hepatitis C: an analysis of pretreatment clinical predictors of response. *Hepatology* **19**, 820–828.
- Palella, F.J., Delaney, K.M., Moorman, A.C., Loveless, M.O., Fuhrer, J., Satten, G.A., Aschman, D.J., and Holmberg, S.D.** 1998. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N. Engl. J. Med.* **338**, 853–860.
- Peng, G., Li, S., Wu, W., Tan, X., Chen, Y., and Chen, Z.** 2008. PD-1 upregulation is associated with HBV-specific T cell dysfunction in chronic hepatitis B patients. *Mol. Immunol.* **45**, 963–970.
- Probst-Keppler, M., Balling, R., and Buer, J.** 2010. FOXP3: required but not sufficient. the role of GARP (LRRC32) as a safeguard of the regulatory phenotype. *Curr. Mol. Med.* **10**, 533–539.
- Romagnani, C., Della Chiesa, M., Kohler, S., Moewes, B., Radbruch, A., Moretta, L., Moretta, A., and Thiel, A.** 2005. Activation of human NK cells by plasmacytoid dendritic cells and its modulation by CD4+ T helper cells and CD4+CD25hi T regulatory cells. *Eur. J. Immunol.* **35**, 2452–2458.
- Rouse, B.T., Sarangi, P.P., and Suvas, S.** 2006. Regulatory T cells in virus infections. *Immunol. Rev.* **212**, 272–286.
- Sakaguchi, S.** 2005. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and nonself. *Nat. Immunol.* **6**, 345–352.
- Sheppard, K.A., Fitz, L.J., Lee, J.M., Benander, C., George, J.A., Wooters, J., Qiu, Y., Jussif, J.M., Carter, L.L., Wood, C.R., and Chaudhary, D.** 2004. PD-1 inhibits T-cell receptor induced phosphorylation of the ZAP70/CD3zeta signalosome and downstream signaling to PKCtheta. *FEBS Lett.* **3**, 37–41.
- Stamper, C.C., Zhang, Y., Tobin, J.F., Erbe, D.V., Ikemizu, S., Davis, S.J., Stahl, M.L., Seehra, J., Somers, W.S., and Mosyak, L.** 2001. Crystal structure of the B7-1/CTLA-4 complex that inhibits human immune responses. *Nature*, **410**, 608–611.
- Stoop, J.N., Baan, C.C., van der Laan, L.J., Kuipers, E.J., Kusters, J.G., and Janssen, H.L.** 2005. Regulatory T cells contribute to the impaired immune response in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* **41**, 771–777.
- Suchard, M.S., Mayne, E., Green, V.A., Shalekoff, S., Donninger, S.L., Stevens, W.S., Gray, C.M., and Tiemessen, C.T.** 2010. FOXP3 expression is upregulated in CD4T cells in progressive HIV-1 infection and is a marker of disease severity. *PLoS One* **5**, e11762.
- Teoh, N.C. and Farrell, G.C.** 2004. Management of chronic hepatitis C virus infection: a new era of disease control. *Intern. Med. J.* **34**, 324–337.
- Tone, Y., Furuuchi, K., Kojima, Y., Tykocinski, M.L., Greene, M.I., and Tone, M.** 2008. Smad3 and NFAT cooperate to induce Foxp3 expression through its enhancer. *Nat. Immunol.* **9**, 194–202.
- Trautmann, L., Janbazian, L., Chomont, N., Said, E.A., Wang, G., Gimmig, S., Bessette, B., Boulassel, M.R., Delwart, E., Sepulveda, H., and et al.** 2006. Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8+ T cells leads to reversible immune dysfunction. *Nat. Med.* **12**, 1198–1202.
- Leng, Q., Bentwich, Z., Magen, E., Kalinkovich, A., and Borkow, G.** 2002. CTLA-4 upregulation during HIV infection: association with anergy and possible target for therapeutic intervention. *AIDS* **16**, 519–529.
- Trzonkowski, P., Szmit, E., Mysliwska, J., Dobyszek, A., and Mysliwski, A.** 2004. CD4+CD25+ T regulatory cells inhibit cytotoxic activity of T CD8+ and NK lymphocytes in the direct cell-to-cell interaction. *Clin. Immunol.* **112**, 258–267.
- Vigouroux, S., Yvon, E., Biagi, E., and Brenner, M.K.** 2004. Antigen-induced regulatory T cells. *Blood* **104**, 26–33.
- Wan, Y.Y.** 2010. Regulatory T cells: immune suppression and beyond. *Cell Mol. Immunol.* **7**, 204–210.
- Wenjin, Z., Chuanhui, P., Yunle, W., Lateef, S.A., and Shusen, Z.** 2012. Longitudinal fluctuations in PD1 and PD-L1 expression in association with changes in anti-viral immune response in chronic hepatitis B. *BMC Gastroenterol.* **12**, 109–115.
- Yim, H.J. and Lok, A.S.** 2006. Natural history of chronic hepatitis B virus infection: what we knew in 1981 and what we know in 2005. *Hepatology* **43**, S173–181.
- Zaunders, J.J., Munier, M.L., Kaufmann, D.E., Suzuki, K., Brereton, C., Sasson, S.C., Seddiki, N., Koelsch, K., and Landay, A.** 2006. Infection of CD127\_(interleukin-7 receptor\_) CD4\_ cells and overexpression of CTLA-4 are linked to loss of antigen-specific CD4 T cells during primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Virol.* **80**, 10162–10172.