

(S8-B)

B 임파구의 분화와 관련 조절인자

정 가 진

서울대학교 자연과학대학 미생물학과
서울대학교 분자미생물학 연구센터

B임파구의 분화에 대한 연구는 일찌기 1950년대에 닭의 Bursa가 B 임파구의 분화에 필요불가결의 기관임이 밝혀지면서 시작되었으며 T 임파구의 발견과 함께 이들이 항체의 형성에 있어 상호 보완적인 작용을 하고 있다는 것이 알려지고, 이들 상호작용이 세포와 세포 사이의 직접적인 접촉으로 이루어지는 것이 아니라 T 임파구가 항원자극을 받아 만들어 내는 수용성 물질에 의하여 이루어지고 있다는 것이 밝혀지면서 연구는 급진전을 하게 되었다.

B 임파구의 분화는 골수세포로부터 항체를 생산하는 세포로까지의 분화를 의미하여야 하지만 흔히들 일컫는 B 임파구의 분화는 일차적인 분화를 마친 B 임파구가 항원자극을 받아 항체를 만들어 내는 형질세포로 분화되는 과정을 의미하게 되는데, 이제 까지 알려진 다른 세포의 분화연구에서도 마찬가지로 혈류에 합류되기 직전 상태로 부터 그 뒤의 면역반응에 의한 세포들의 후기 분화만을 생각할 수 밖에 없었으며, 이는 골수 내의 조혈 모세포의 발견과 이에 관련되는 많은 종류의 분화 인자들이 발견되면서 한층 앞 단계의 분화에 대한 연구가 이루어지기 시작하게 되었다.

B 임파구의 분화는 1980년대 후반에 들어서면서 부터 다른 종류의 분화 조절인자들의 연구에 힘입어 골수 내의 조혈모세포로부터의 분화가 연구되기 시작하였으나, 아직도 일반적으로 혈류에 존재하는 B 임파구로부터 형질세포로까지의 분화만을 의미하고 있으며 이는 크게 세 단계로 나누어 생각하고 있다. 즉, 항원 자극을 받아 B 임파구가 활성화 되어 분열 증식하게 되고 T 임파구로부터 만들어진 성장자극인자에 의하여 그 증식이 촉진되면서 마침내 항체를 만들어 내는 형질세포로의 전환되는 세 단계가 그것이다.

활성화 단계 그 자체만으로도 휴지기의 세포 주기에서 어떻게 정상적인 세포 주기로 들어설 수 있게 되는가에 대한 연구가 많이 이루어져 왔고, 대체로 항원자극의 강약에 따라 또는 외부로부터의 조절인자의 작용에 의하여 휴지기 상태로 부터 합성단계로 전환되는 정도에 커다란 차이를 보이고 있음을 알수 있게 되었다. 성장인자와 분화촉진인자는 생쥐와 사람의 경우에서 모두 적지않은 연구

논문들이 발표된 바 있는데 이들 분야에 대해서는 일반적으로 이야기하는 IL-4, IL-5, 그리고 IL-6와 같은 이름으로 정리되기 전까지 서로 다른 이름의 인자들이 존재하여 복잡하기 이룰데 없는 분화과정으로 이해되어 왔었다.

어느 정도 그 분화의 단계가 정리되기 시작하면서 부터 B 임파구의 분화는 조혈모세포로부터의 분화 과정과 항체 유전자의 발현 조절에 관한 구체적인 연구 혹은 다른 세포 분화에 관여하는 조절인자들과의 연관관계 등 비교적 넓은 의미에서의 면역반응 조절의 관점에서 연구가 진행되기 시작하였다고 볼 수 있다.

1. 휴지기 상태의 B 임파구

골수로 부터 여러가지 다른 종류의 세포들과 함께 분화된 B 임파구는 혈류에 존재할 때에는 항원에 대한 특이성을 가지고 있으나 이들은 세포 주기 상으로는 휴지기에 해당하는 상태라고 볼 수 있다. 다시 말하면 항원자극이 없이는 아무런 분열도 하지 않으며, 그러한 상태로 수명이 다하면 새로운 세포로 대체되고 있다. 초기의 많은 연구는 이들 세포가 항원 자극에 의하여 비로소 분열 증식을 하게 되고 여러가지 수용성 면역 조절 물질과 반응하면서 항체를 만들어 낼 수 있는 세포로 변해 간다고 하였으나, 이들 세포의 활성화 자체에도 몇가지 논란이 정리되어 있지 않다. 즉, 항원자극 대신에 분열증식을 자극할 수 있는 인자(1)에 의하여 휴지기로 부터 정상적인 세포 주기로 진입할 수 있다는 사실에 대하여 그럴 수 있다는 주장(2, 3)과 함께 그렇지 않다는 주장(4 - 5)이 맞서 있다. 이를 뒷받침할 수 있다고 생각되는 B 임파구 자극인자가 일찌기 BSF-1이라고 불리우던 인자(IL-4)로 알려지게 되었고, 이들 인자에 의하여 휴지기의 B 임파구는 분열 증식으로만 반응하는 것이 아니라 그러한 과정을 거치지 않고도 항체를 내는 세포로 분화하여 나아갈 수 있다고 하였다 (1, 6 - 8).

휴지기에 있는 이들 세포들이 어떻게 이러한 인자들과 반응할 수 있는지에 대해서 수용체의 발현에 관한 연구들은 이들의 표면에는 존재하지 않던 새로운 분자들이 활성화와 함께 나타나고 있음을 관찰하고 있다. 이들 분자들에 대한 단일 클론 항체는 B 임파구의 분열을 억제하고 있어 더욱 이들의 기능을 확실하게 하여 주고 있다 (9).

B 임파구의 활성화는 두 가지 다른 길을 통하여 이루어질 수 있는데, T 임파구 의존형 반응에서 비자기에 작용하는 T 임파구는 B 임파구 표면에 존재하는 비자기형의 조직적합성 항원을 인지하는 반면 (10, 11), 조직적합성항원이 맞을때 특이항원에 반응하는 T 임파구는 B임파구의 표면에서도 자기형의 조직적합성 항원과 특이항원을 인지하게 된다(1, 11, 12).

B 임파구는 조직적합성항원과 무관하게 활성화될 수 있기도 한데, 세포 표면에 존재하는 항원수용체인 IgM수용체에 반응할 수 있는 항체나 그 밖의 불특정 분열 촉진 물질들에 의하여 세포표면의 분자들이 자극받게되면 활성화 된다.

2. 휴지기로 부터 정상세포주기로의 진입

사람과 생쥐의 경우 휴지기 상태의 B 임파구가 항원자극을 받아 다시금 정상적인 세포주기를 들게 되는 기작에는 커다란 차이가 있을 것으로 생각되지는 않으나 B 임파구의 활성화에 관한 연구에 이용되는 분열촉진물질에 의한 자극에 대한 반응에는 약간의 차이를 보인다. 세포 표면에 존재하는 항원수용체나 혹은 다른 종류의 분자가 자극을 받게되면 일차적으로 세포의 크기가 커지게 되는 것이

관찰되는데 (13-16), 이에 수반한 칼슘이온의 유입과 세포막의 탈분극화현상(17), 또는 포스포이노시톨 대사의 변화(15,18) 등이 관찰되며, 세포표면에는 Ia분자들 (9)과 그 밖의 여러가지 분자들(9,19,20)이 다량으로 나타나며 RNA의 합성이 현저하게 증가한다(16). T 임파구로부터의 분화조절인자를 얻어 휴지기의 B 임파구를 자극하면 Ia분자의 다량 발현과 함께 RNA합성이 왕성하게 일어나면서 DNA의 합성 단계인 S기로 전입하는 과정이 관찰되는 등 1980년대의 중반까지의 세포 주기와 관련된 연구들은 대체로 세포표면에 나타나는 여러가지 분자들의 분석기술 (Cytoflowmetry)에 크게 힘입었고 세포들의 상태를 말해줄 수 있는 여러 종류의 세포표면의 분자들이 알려지게 되었다.

B임파구의 휴지기로 부터 활성화되는 과정의 연구는 몇가지 새로운 사실들을 보여주고 있는데, 대부분의 B 임파구가 반응하고 있다는 종래의 관찰과는 달리 얼마되지 않는 세포들만이 이와 같은 자극에 반응하며 이 반응은 휴지기의 세포들에서 대체로 동시에 일어나고 있고 대단히 신속하게 진행된다는 사실은 종래의 이해와는 다른 사실들이었다(21). 이와 같은 관점에서 항원자극 또는 분열촉진 물질에 의한 자극에 대하여 휴지기로 부터 합성기로의 진입 정도에 차이를 보이는 것은 B임파구 내에 생성되는 RNA의 양과 세포표면에 나타나는 표면분자의 발현에 따라 구분될 수 있다(16). 이러한 상태와 후에 관찰되는 분열이나 분화과정과의 연결에 대해서는 명확히 연결시킬 수는 없으나 알려져 있는 IL-4의 처리에 의해서 B 임파구는 항원자극 이전에 세포 주기상의 G1기로의 전입을 유발하는 것으로 이해된다(22).

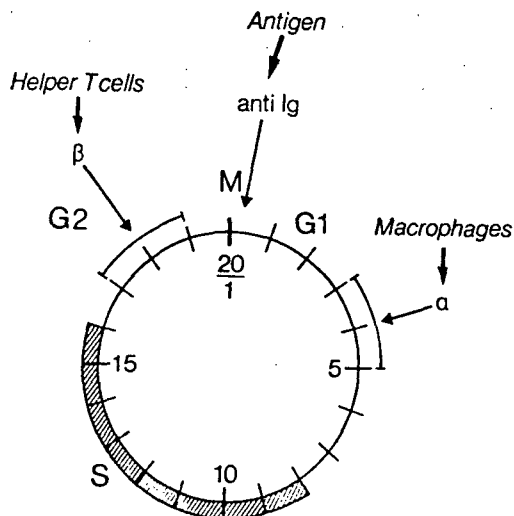
3. 활성화된 세포의 세포주기 조절

세포주기에 의한 B 임파구의 활성화는 기실 오래전에 연구가 되어 있었던 사실로 분열을 시작한 활성화된 B 임파구는 대략 18 - 20 시간만에 한 바퀴의 세포환을 돌게 되며 정도의 차이는 있지만 약 다섯 차례의 반복이 관찰되나 최고 7 - 10회의 세포환을 돌게되기도 한다((21). 그 후로 계속된 이제까지의 연구는 세포의 동조배양에 기초하여 이루어지게 되었고, 세포 주기를 돌게되는 세포와 그렇지 아니한 세포는 침강속도의 차이에 의하여 구분할 수 있기도 하였다. 이러한 관찰에 의하여 세포환을 돌고 있는 B 임파아세포는 지속적인 세포환을 유지하기 위하여 탐식세포로부터 유래하는 성장조절인자(α factor)와 도움 T임파구에서 유래하는 인자(β factor)를 필요로 하고 있으며, 세포 표면을 자극할 수 있는 물질의 공존이 필요하다고 알려졌다. 탐식세포로부터 얻어지는 인자는 시험관 내의 실험에서 고품격자에 부착된 C3b와 C3d에 의하여 그 기능이 대체될 수 있음(23)이 보고된 바 있다. 아울러 단계마다 특이하게 작용하는 이들 인자간에 독특한 상승효과가 존재하는 것(24)도 관찰되었다.

이들 인자들 사이의 상호 연관의 연구에서 α 인자가 없게된다면, 세포들은 모두 G1기를 벗어나지 못하게 되며, DNA의 합성은 일어나지 못한다. α 인자의 기능은 요즈음 알려져 있는 인슐린형 성장인자(Insulin-like growth factor)와 비슷하며, 진핵세포계의 DNA합성기를 조절하는 인자, 즉 Progression factor로 알려져 있다. 또한 C3와 생쥐의 상피세포 성장인자와 신경성장인자 사이에는 약간의 동일한 핵산서열이 관찰되는데 이는 인슐린형 성장인자와의 계통발생학적 원근관계를 설명하여 주는 것(23)으로 생각된다.

β 인자가 없어지게 되면 B 임파구는 이번에는 G2기에서 더이상 세포환을 돌지 못하고 마는데, 두 별의 유전자를 가지고 있는 독특한 단계는 T 임파구에 의하여 조절된다고 믿어진다. 이때 B 임파구에서 생성되는 항체의 클래스가 바뀌는

Figure 1. The 20-hr cell cycle of activated murine B lymphocytes, divided into 8 hr of G1-phase, followed by 8hr of S-phase, then by 4 hr of G2-phase and finally by mitosis (M). In this cycle are placed the three restriction points controlled by Ig-specific antibodies (anti-Ig); α factors (α); and β factors (β). α indicates the point of influence of macrophages, β that of helper T lymphocytes, and anti-Ig that of antigen in immune responses of B cells. (Nordin and schreier, 1982. J. Immunol. 129:557-562)



이른 바 class switching이 일어날 수 있는 기회이며(25), 만일 이것이 사실이라면, 항체의 클래스가 바뀌는데 T 임파구가 관련이 있다는 것을 설명하여 줄 수 있는 단계가 된다고 본다(26, 27).

세포표면을 자극하고 있는 항원수용체에 대한 항체를 넣어 주지 않게 되면, 세포들은 세포 분열이 끝나는대로 G1기에 머물게 된다. 엄밀한 의미에서 이들 세포에는 휴지기의 세포를 정상적인 세포주기로 끌어들이는 것과 같은 모든 종류의 자극이 주어져야만 다시 세포환을 들수 있게 된다. 세포들의 종류에 따른 자극에 대한 반응의 차이로 부터 이들 세포들의 세포환으로의 재진입이 조절될 수 있으며, 이는 다양한 항원자극에 대한 B 임파구의 반응, T 임파구와의 상호작용, 탐식세포와의 상호작용, 그리고 나아가 자가면역질환이라든가 면역결핍증, 또는 악성 종양에 대한 면역반응의 조절에 어떤 실마리를 던져준다고 볼 수 있다.

4. B 임파구의 성장

B 임파구의 활성화에 수반하여 이들의 성장 및 분열 증식에는 T임파구로부터 유래하는 성장인자의 존재가 필수 불가결이라는 사실은 이미 초기의 연구에서 알려진 바 있으나 그 성장인자의 존재는 1982년(28)에 이르러서야 비로소 관찰되기 시작하였다. 성장인자가 존재하고 있다는 사실은 이미 1970년대 중반부터 관찰되기 시작하였는데, 생쥐의 T 임파구에서 유래한 EL-4 thymoma세포를 PMA와 같은 물질로 자극하여 그 배양상등액을 활성화된 B 임파구에 첨가하여 주므로써 그 기능이 확인되었었다. 초기의 연구과정에서 T 임파구에서 만들어지는 T 임파구 성장인자인 IL-2가 그러한 기능을 하고 있을 가능성도 배제할 수 없어 IL-2와의 기능을 분리하여 분석하는 실험들이 오랫동안 계속된 바 있다. 결과적으로 초창기의 연구만으로도 IL-2와 B 임파구에 특이적으로 작용하는 성장조절인자는 서로 다른 분자임이 확인되었고(29), 이들 인자들이 B 임파구의 성장과 항체생산의 형질세포로의 전환을 조절하는 기능에서 서로 차이가 있음을 알게되어, 처음에 성장인자라고 알려진 물질이 한 가지 기능을 가진 한 종류의 분자라기 보다는 성장과 조절에 관여하는 두 가지 이상의 인자들이 섞여 있었다고 생각하게 되었다.

생쥐의 경우와 동일한 시각에서 사람의 B 임파구의 성장 분화에 관여하는 인자들도 보고되기 시작하여, 한 동안 성장과 분화에 함께 작용한다고 믿어지는 인자에 대한 보고도 있기는 하였으나(29), 여기에도 각각의 단계에 특이적으로 작용하는 인자들이 따로 존재하고 있다는 사실을 확인하였다(30-32). 이러한 일련의 연구들로부터 B 임파구의 성장과 분화라고 하는 독특한 단계에 관여하는 인자들도 한 가지가 아니라 적어도 두 가지 이상의 인자가 존재하는 것이 알려지게 되고 서로 다른 분자량과 물리화학적 특성을 가지고 있는 것으로 보고되기 시작하였다. 이들은 각각 BCGF I, BCGF II와 같은 이름으로 알려졌었으나 (33-35), 후일 IL-4나 IL-5와 같은 확실한 인자들의 이름으로 정리되게 되었다.

5. B 임파구의 분화

항원자극에 대한 항체의 생산을 주로 연구하였던 1960년대의 연구는 임파구에 적어도 두 가지 서로 다른 기능을 가지고 있는 세포들이 존재하고 있음을 확인하였으며, 항체의 생산에는 이들 두 가지 서로 다른 세포들 사이의 상호 협력이 있어야 원활한 항체의 형성이 일어난다는 것을 알게 되었다. 서로 기능이 다른 세포 사이의 상호작용의 연구로부터는 이들 세포들이 서로 접촉하여야 할 필요는 없으며, 1970년대에 들어서면서 T임파구에서 만들어지는 어떤 물질이 B 임파구로 하여금 정상적인 항체의 생산을 유도할 수 있도록 자극한다는 사실을 알게 되었고 (36-38), 이후 이들의 존재를 보다 손쉽게 확인할 수 있는 연구 방법이 절실하게 요구되었다.

Muraguchi 등(39)에 의하여 사람의 B 임파아구계열의 암세포인 CESS라고 하는 세포를 B임파구 분화인자를 시험할 수 있는 일종의 표준 세포주로 확립시킨 뒤로 사람의 B임파구 분화인자의 연구가 활기를 띠게 되었었고, 항체의 클래스에 특이적인 분화인자의 존재유무를 찾기 위하여 여러 실험실에서 그 존재확인 방법의 확립을 위하여 애를쓰던 나머지 Saiki와 Ralph(40)에 의하여 IgM을 내고 있는 SKW6.4라고 하는 클론이 분화인자에 민감하게 반응하는 세포주로 보고되어 보다 빠르고 확실한 분화인자의 검색방법이 확립되었다.

B 임파구의 분화인자들도 여러 실험실의 연구 결과로부터 한 가지가 아닌, 적어도 두 가지 이상의 인자들이 존재하고 있다고 알려졌고, 이들의 분자에 대한 물리화학적 특성에 따라 사람과 생쥐의 경우에서 모두 BCDF I과 BCDF II와 같은 이름으로 불리웠으나 이들도 역시 후에 IL-6의 기능으로 정리되었다. IL-6는 B임파구의 분화만이 아니라 T임파구의 분화에는 물론, 인터페론으로서의 기능과 과립세포계의 호산성구의 분화에도 관여하고 있을 뿐만 아니라, 최근에는 골수세포의 초기 분화에도 관여하고 있는 것으로 알려지고 있다.

6. B 임파구의 분화와 IL-6

대단히 많은 인자들이 나름대로 주목을 받으며 연구되어왔으나 이름이 다른 이들 인자들이 동일한 물질이 아닌가 하는 결과를 가져오고, 마침내 하나의 이름으로 통일된 것은 아마도 IL-6가 처음이 아닌가 생각된다.

이에 관련된 일화를 잠깐 살펴보면, 베타인터페론의 cDNA를 연구하는 과정에서 Weissenbach 등(41)은 두 가지의 cDNA클론을 얻게 되었다. 이를 발톱개구

리의 난자에서 발현시켜 얻은 26kd의 단백질이 항바이러스 활성을 가지고 있고 베타인터페론의 항체에 의하여 그 활성이 없어지는 것을 확인한 뒤 이를 β_2 인터페론이라고 이름지었다.

한편 같은 주제로 연구하던 Content 등(42)은 같은 방법으로 얻은 단백질을 단지 26K Factor라고 이름하였는데 이 단백질에서 인터페론의 활성은 전혀 인지되지 아니하였다. 이들 두 그룹에 의한 염기서열의 비교(43, 44)로 부터 이들이 베타인터페론과 아무런 동일 서열을 가지고 있지 않다는 것을 확인하였으며, 결국 양자간에 인터페론의 활성에 관하여 일치되지 않은 결론만 남게되었다.

또 한편 T임파구에서 활성화된 B 임파구의 분화를 연구하던 실험실들에서는 독자적으로 B임파구를 분화할 수 있도록 하는 인자를 찾아내고 그 유전자를 클로닝하여 염기서열을 조사하여 본 결과(45, 46), 아무런 관련이 없던 26Kd 단백질인 β_2 인터페론의 염기서열과 동일한 것임을 알게 되었다. 또한 B 계열의 융합세포나 plasmacytoma 등의 성장인자로 연구되던 인자가 결국 동일한 염기서열을 가지고 있는 사실이 독자적으로 알려지게 되었다(47-53).

따라서 이들 인자들 서로간에 어떤 종류의 연관성을 부여할 수 있을까 또는 사람과 생쥐의 경우에는 어떠한 공통점을 발견할 수 있을까 하는 문제점을 생각하게 되었고, 결국 사람과 생쥐의 인자에서도 상당한 염기서열의 공통부분이 확인되었고(54), 새로운 이름으로 IL-6라고 불리우게 되었다. 유전자를 클로닝하여 발현시킨 IL-6가 조혈작용에도 깊이 관여하고 있다는 사실도 곧 이어 알려지게 되었다(55, 56). 하나의 인자가 이렇게 많은 활성을 한꺼번에 가지고 있다는 사실은 대단히 드문 일로서, IL-6 자체의 중요성을 말해준다고 볼수 있다. 이때까지 불리워 오던 IL-6의 이름을 정리하여 보면, $IFN\beta_2$, 26K Factor, B-cell stimulatory factor 2(BSF-2), Plasmacytoma growth factor (PCT-GF), Hybridoma/plasmacytoma growth factor (HPGF), Hepatocyte stimulating factor (HSF), 그리고 cytotoxic T cell differentiation factor (CDF) 등의 이름으로 불리우던 인자가 IL-6로 통일되어 불리우게 되었다.

IL-6의 많은 활성 가운데 B임파구의 분화와 관련하여 그 활성(review: ref. 57)을 간략히 살펴 보자면, 알려진 바와 같이 *Staphylococcus aureus* Cowan I으로 자극하여 활성화된 B 세포나 EBV로 형질 전환된 B 세포 계열의 세포주로부터 항체의 형성을 유도하는 능력을 가지고 있다. 이때 IL-6의 활성은 대단히 늦게 작용하는 것으로 나타나 있으며, 대개 활성화 시킨 B 임파구의 배양 시작 후 4일 이내에만 첨가하여 주면 그 효과를 볼 수 있다(58).

이러한 관찰에 기초한 생쥐에서의 IL-6활성의 연구는 그다지 성공적인 결과를 제공하고 있지 못하는데 이는 B 임파구의 활성화 자극이 사람의 경우에서와 같이 IL-6에 대한 반응을 나타낼 수 있는 단계에 까지 자극하지 못한 때문으로 생각이 되나 아직 확실하게 알려져 있지는 않다(59, 60). 생쥐의 경우에서 IL-6에 대하여 예민한 반응을 보인다고 생각되는 세포들을 생쥐의 Peyer's Patch에서 발견하였다는 보고(61)도 있었으나 IgA의 생성과 관련하여 이루어진 이들 세포에 대한 특성이 일반적인 B임파구의 특성을 대변하여 준다고 말하기는 어렵다고 생각이 들며, 비장의 focus형성에 의한 IL-6의 활성을 연구한 보고도 있으나 이 경우 IL-6는 활성화 되지 아니한 B 임파구에 작용하였을 뿐, 활성화된 B임파구는 오히려 IL-6에 대하여 전혀 반응을 보이지 아니하여, 생쥐에서의 B임파구에 대한 IL-6의 기능은 아직 분명하게 말하기는 어렵다고 생각된다.

이제 IL-6의 기능에 대하여 다른 인자들과의 상호관련이 깊은 생체 내의 반응들에 대한 연구결과가 많이 알려지기 시작하였는데, 특히 B 임파구의 분화에 대한 IL-1과의 상승효과는 IL-1과 IL-6 두 인자가 가지는 독자적인 효과가 미미한 데 비하여 IL-1과 IL-6의 공동처리에 의한 IgM의 생성은 무려 50배 이상의 증가

(59)를 보여주고 있다. 두 인자에 의하여 나타나는 이러한 상승효과는 B임파구에서 보다는 T 임파구의 활성화 과정에서 그 효과가 훨씬 두드러지게 나타난다.

IL-6의 또 다른 특성의 하나로는, 제1차 면역 반응을 보일때 보다 제2차 면역반응을 보일때 이를 촉진하는 효과(62)를 보이고 있다. 이와 같은 반응이 생체 내에서 구체적으로 어떻게 일어나는지는 분명하지 않으나 이것이 IL-6의 직접적인 작용에 의한 것이라고는 생각되지 않는다.

7. Human B cell Inducing Factor (BIF)

본 연구실에서의 B임파구 분화에 대한 연구는 그 접근 방식에 있어서 IL-6의 연구에서와 크게 다른 점은 없다. 다시말하여 *Staphylococcus aureus*로 자극시킨 B 임파구에 T 임파구를 자극하여 얻은 배양상등액을 처리하여주고 B임파구의 분화 정도를 Jerne의 reversed hemolytic plaque assay에 의하여 측정하고 있다. T 임파구의 자극에는 일반적으로 쓰이는 Concanavalin A (Con A)와 같은 여러 가지 분열촉진 물질들을 사용하였고, 다른 형태의 T임파구의 기능을 억제하기 위하여 Dexamethasone과 같은 합성 호르몬을 사용하기도 하였다.

B lymphocytes + Sac (<i>Staphylococcus aureus</i> Cowan I)	-----▶ Proliferation only
B Lymphocytes + Sac + T lymphocytes + Con A	-----▶ Differentiation into Ab secreting cells
T lymphocytes + (mitogens/glucocorticoids)	-----▶ BIF production

이와 같은 방법으로 관찰된 몇 가지 결과를 설명하여 보면, Sac에 의한 정상 B임파구의 자극은 그 어떠한 자극보다도 강하게 휴지기의 B임파구를 활성화시켜 세포 주기상의 후기 G1기에 이르도록 세포를 자극한다. 다른 종류의 자극에 대하여 B임파구는 몇 차례의 세포환으로 돌고 마는 정도의 반응을 보이게 되며 이때 외부로 부터의 또다른 자극이 주어질 때에만 세포환의 반복이 계속될 수 있다. 그리고 T임파구로 부터 얻어지는 B임파구 분화인자는 항체의 클래스에 대하여 특이성을 가지지 아니하며, 이들 인자의 분리과정에서 그 활성을 조사하여 보아도 특정한 형태의 항체 생성만을 자극하는 것은 아니라는 결론을 얻을 수 있었다.

T임파구에서 만들어지는 IL-2가 B임파구의 분화에도 영향을 미친다는 보고가 있어 IL-2에 대한 수용체 조사와 IL-2에 의한 B임파구의 분화 정도를 측정하여 보았는데, 적어도 Sac으로 처리된 B임파구에서 Tac (high affinity IL-2 receptor)분자는 인지되지 아니하였으나, 많은 실험실에서 얻은 결과로는 상당한 정도로 IL-2의 수용체가 활성화된 B임파구의 표면에 존재한다고 하였다. 그러나 1991년에는 M. Hoffman등에 의하여 IL-2에 의한 B임파구의 분화가 부정되기도 하였는데, 본 실험실에서의 IL-2에 의한 B임파구의 분화연구 결과로는 오직 IL-2가 고농도(1000 - 10000 U/ml)로 존재할 때에만 비로소 약간의 분화가 유도된다는 사실을 밝힌 바 있다.

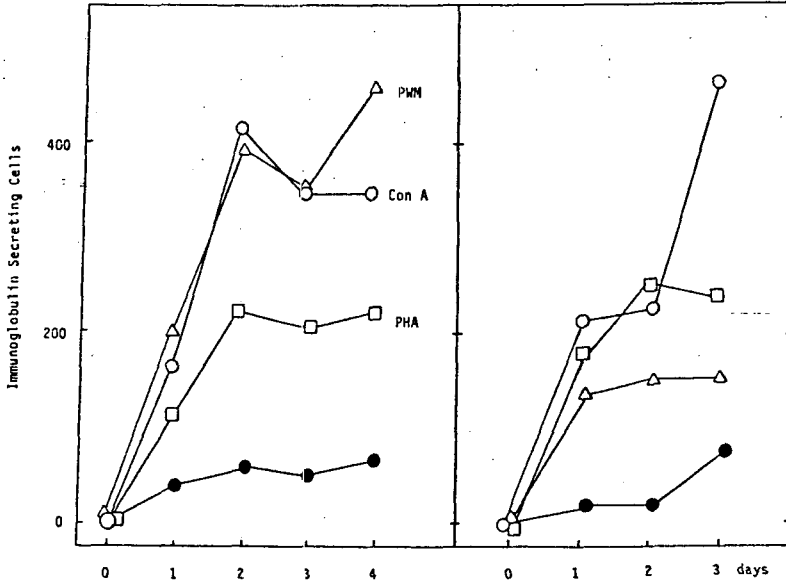


Figure 2. Kinetics of mitogen stimulated BIF production. Peripheral blood T cells were incubated with 40 μ g/ml Con A, 40 μ g/mlPHA, 1% PEM or without mitogen for 1 hr or 1, 2, 3, or 4 days. The supernatant was assayed on peripheral blood B cells. Two donor T cell preparations are shown. A background of 53 \pm 4 Ab secreting cells for Sac stimulated B cells alone was subtracted.

정상인에 의한 BIF생산과 그 수용체의 발현 정도를 상대적으로 연구하기 위하여 일련의 선천적 면역결핍증(Common Varied Immunodeficiency; CVI) 환자를 조사하여 본 결과, 거의 모든 환자들이 그 증상의 정도에 관계없이 정상적인 수준의 BIF생성이 관찰되었으며, 다만 B림파구의 표면에 이를 받아들일 수 있는 수용체가 정상 상태를 유지하지 못하고 있어 T림파구의 도움을 받아 항체를 생성하는 면역반응에 장애를 일으키고 있음을 알 수 있었고, 비교적 건강한 상태의 환자들로부터 EBV등의 자극에 의한 T림파구와 무관한 면역반응은 거의 정상적으로 작용하고 있음을 확인하였다.

여기에서 우선 몇가지 IL-6와 다른 특성을 살펴 보면, 분자량에서 IL-6가 26Kd인데 비하여 BIF는 이보다 훨씬 작은 분자로 탄수화물부분을 감안하여 대략 16Kd(14-20Kd on SDS-PAGE)정도의 크기를 가지고 있으며, 가장 중요한 특성의 비교로 IL-6에 대한 항체(일본 오오사카 대학의 Hirano박사)를 가지고 BIF의 활성을 억제하여 본 결과 부분적인 억제가 관찰되었을 뿐 완전한 억제가 일어나지 않은 것으로 보아 IL-6와 BIF는 최소한의 구조적 동질성을 가지고 있을지는 모르지만 같은 분자는 아니라는 것을 말해주고 있다.

또한 IL-6의 작용시간이 Sac에 의하여 활성화된 B 림파구에 4일 이내에만 첨가하여 주면 되는 비교적 늦게 작용하는 인자라고 한다면, BIF의 경우에는 활성화와 동시에 처리하여 줄 때에 가장 강한 반응을 유도하였으며, 활성화 이후 하루가 지난 다음에 BIF가 첨가되면, 그 분화의 정도가 대단히 미미하였다.

Sac의 처리에 의하여 유도되는 수용체에 대한 관점에서, BIF에 반응할 수 있는 세포 표면의 수용체는 Sac의 처리시간이 길면 길수록 많이 발현되는데 최저 3시간 정도의 지속적인 자극을 필요로 하고 있다. BIF의 존재 유무에 따라 발현된 수용체의 지속적인 발현이나 소멸이 관찰되는데, 동일한 조건으로 활성화 시킨 B 임파구에 시간 차이를 두어 BIF를 첨가하여 주면, 늦게 첨가하여준 세포일수록 항체 생성세포로의 분화가 떨어지고 있다.

내열성의 경우 IL-6의 특성을 비교하여 보지는 않았으나, IL-2와 비교하였을때 BIF는 비교적 열에 대하여 안정한 것으로 나타나, 56°C에서는 거의 활성을 잃지 않으며, 70°C에서는 시간이 흐름에 따라 약간의 활성을 잃고는 있으나 적어도 두 시간 동안에는 70% 이상의 활성을 유지하고 있었다. 끓는물에 담가보았을 때, IL-2는 30초 이내에 활성이 전부 없어졌으나, BIF의 경우에는 5분 정도에도 그 활성이 모두 없어지지는 아니하였다.

세포막에 표현되는 분자들을 ^{125}I 로 표지한 다음 세포를 계면활성제로 파괴한 뒤 항혈청으로 침전시켜 이를 전기영동한 결과, 80 Kd의 분자와 66Kd의 분자가 새롭게 나타나는 분자로 BIF의 수용체일 가능성이 높은 분자로 판명되었다. IL-6에 대한 수용체의 경우 80Kd의 분자가 IL-6와 결합하는 분자로 알려져 있다. 그리고 130kd의 분자와 결합이 이루어져야만 IL-6의 자극이 세포 내로 전달될 수

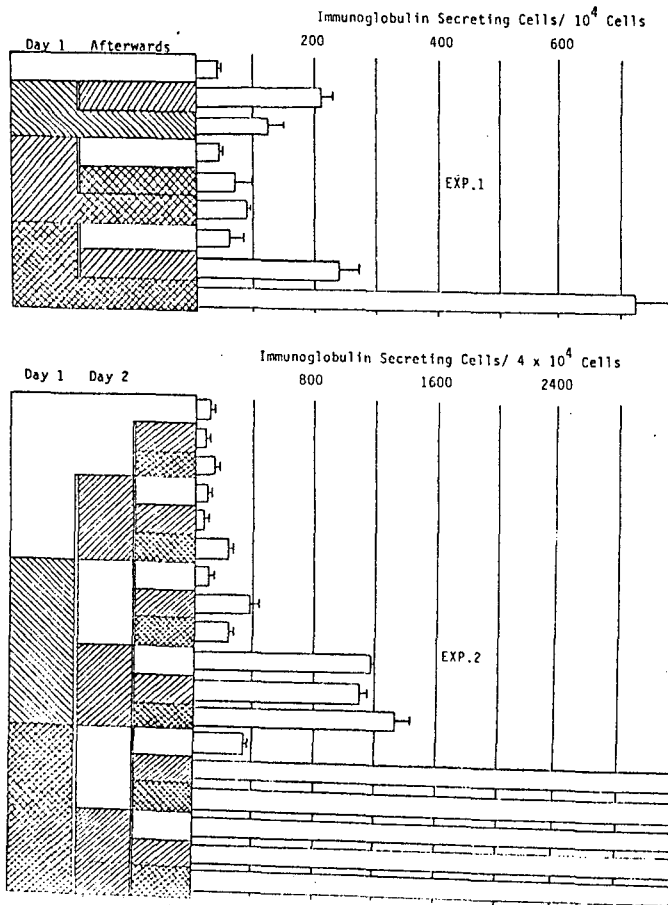


Figure 3. Effect of Sac and BIF exposure on Ab secreting cell induction. Normal peripheral blood B cells at 1×10^6 /ml were stimulated differently with Sac(▨), BIF(▩), or both(▧), with or without extensive washing(□), on the first day and the second day. After washing additional stimulatory signals were given for the remaining 4 - 7 days until Ab secreting cell evaluation. Ab secreting cells for Exp.1 and Exp.2 were scored on day 6 and day 7, respectively, after initiation of experiments.

있다. 나중에 결합하는 130kd의 단백질 분자가 신호전달의 역할을 맡아보고 있으며, 최근까지 알려진 바에 의하면, 이 130kd의 단백질 분자는 여러 종류의 세포 표면에서 관찰되고 있으며 다른 세포에서의 기능은 확실하지 아니한 것으로 알려져 있다. BIF의 수용체에 대한 항혈청에서 130kd에 해당하는 단백질은 관찰되지 아니하였으며, BIF와 IL-6가 동일하거나 유사한 수용체를 이용할 수 있는지는 아직 조사되지 아니하였다.

참 고 문 헌

1. Anderson, J., Scherier, M.H., Melchers, F. 1980. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:1612-1616
2. Melchers, F., Anderson, J. 1984. *Cell* 37:715-720
3. Howard, M., Farrar, J., Hilfiker, M., Johnson, B., Takatsu, K., Hamaoka, T., Paul, W.E. 1982. *J. Exp. Med.* 155:914-923
4. Leclercq, L., Bismuth, G., Theze, J. 1984. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:6491-6494
5. DeFranco, A.L., Ashwell, J.D., Schwartz, R.H., Paul, W.E. 1984. *J. Exp. Med.* 159:861-880
6. Melchers, F., Anderson, J., Lernhardt, W., Schreier, M.H. 1980. *Eur. J. Immunol.* 10:669-685
7. Oliver, K., Noelle, R.J., Uhr, J.W., Krammer, P.H., Vitetta, E.S. 1985. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:2465-2467
8. Thomson, C.B., Schaefer, M.E., Finkelman, F.D., Scher, I., Farrar, J., Mond, J.J. 1985. *J. Immunol.* 134:369-374
9. Tedder, T.F., Boyd, A.W., freedman, A.S. 1985. *J. Immunol.* 135:973-979
10. Lanzavecchia, A., Parodi, B., Celada, F. 1983. *Eur. J. Immunol.* 13:733-738
11. Lanzavecchia, A., Parodi, B. 1984. *Clin. Exp. Immunol.* 55:197-203
12. Lanzavecchia, A. 1985 *Nature* 314:537-539
13. Rabin, E.M., Lahet, S., Inmann, J., Paul, W.E. 1985. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:1-5
14. Oliver, K., Noelle, R.J., Uhr, J.W., Krammer, P.H., Vitetta, E.S. 1985. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:2465-2467
15. Grupp, S.A., Harmony, J.A.K., 1985. *J. Immunol.* 134:4087-4094
16. Wetzell, F.D., Swain, S.L., Dutton, R.W., Kettman, J.R. 1984. *J. Immunol.* 133:2327-2323
17. Monroe, J.G., Cambier, J.C. 1983. *J. Exp. Med.* 158:1589-1599
18. Coggeshall, K.M., Cambier, J.C. 1985. *J. Immunol.* 134:101-107
19. Freedman, A.S., Boyd, A.W., Anderson, K.C., Fischer, D.C., Schlossman, S.F., Nadler, L.M. 1984. *J. Immunol.* 134:2228-2235
20. Kehrl, J.H., Muraguchi, A., Fauci, A.S. 1984. *J. Immunol.* 132:2857-2861

21. Andersson, J., Coutinho, A., Lernhardt, W., Melchers, F. 1977. *Cell* 10:27-34
22. Rabin, E.M., Ohara, J. Paul, W.E. 1985. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:1-5
23. Melchers, F., Erdei, A., Schulz, T., Dierich, M. 1985. *Nature* 317:264-267
24. Zubler, R.H. 1984. *Eur. J. Immunol.* 14:357-363
25. Tonegawa, S. 1983. *Nature* 302:575-581
26. Taylor, R.B., Wortis, H.H. 1968. *Nature* 220:927-928
27. Kishimoto, T., Ishizaka, K. 1973. *J. Immunol.* 111:720-732
28. Howard, M., Farrar, J., Jilfiker, M., Johnson, B., Takatsu, K., Hamaoka T., Paul, W.E. 1982. *J. Exp. Med.* 155:914
29. Pike, B.L., Vaux, D.L., Clark-Lewis, I., Schrader, J.W., Nossal, G.J.V. 1982. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79:6350
30. Yoshizaki, K., Nakagawa, T., Kaieda, T., Muraguchi, A., Yamamura, Y., Kishimoto, T. 1982. *J. Immunol.* 128:1296
31. Okada, M., Sakaguchi, N., Yoshimura, N. Hara, H., Shimizu, K., Yoshida, N., Yoshizaki, K., Kishimoto, S., Yamamura, Y., Kishimoto, T. 1983. *J. Exp. Med.* 157:583
32. Muraguchi, A., Fauci, A.S. 1982. *J. Immunol.* 129:1104
33. Takatsu, K., Tanaka, K., Tominaga, A., Kumahara, Y., Hamaoka, T. 1980. *J. Immunol.* 125:2646
34. Nakanishi, K., Howard, M., Muraguchi, A., Farrar, J., Takatsu, K., Hamaoka, T., Paul, W.E. 1983. *J. Immunol.* 130:2219
35. Dutton, R.W., Wetzell, G.D. 1984. *J. Immunol.* 132:2451
36. Schimpl, A., Wecker, E. 1972. *Natur. New Biol.* 237:15
37. Schimpl, A., Wecker, E. 1975. *Transplant. Rev.* 23:176
38. Hunig, T., Schimpl, A., Wecker, E. 1974. *J. Exp. Med.* 139:754
39. Muraguchi, A., Kishimoto, T., Miki, Y., Kuritani, T., Kaieda, T., Yoshizaki, K., Yamamura, Y. 1981. *J. Immunol.* 127:412
40. Saiki, O., Ralph, P. 1983. *Eur. J. Immunol.* 13:31
41. Weissenback, J., Chernajovsky, Y., Zeevi, M., Shylman, L., Sorecq, H., Nir, U., Wallach, D., Perricaudet, M., Tiollais, P., Revel, M. 1980. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:7152-7156
42. Content, J., De Wit, L., Pierard, D., Derynck, R., De Clercq, E., Fiers W. 1982. *Proc. Natl., Acad. Sci. USA* 79:2768-2772
43. Zilberstein, A., Ruggieri, R., Korn, J.H., Revel, M. 1986. *EMBO J.* 5:2529-2537
44. Haegeman, G., Content, J., Volckaert, G., Derynck, R., Tavernier, J., Fiers, W. 1986. *Eur. J. Biochem.* 159:625-632
45. Hirano, T., Taga, T., Nakano, N., Yasukawa, K., Kashiwamura, S., Shimizu, K., Nakajima, K., Pyun, K.H., Kishimoto, T. 1985. *Proc. Natl., Acad. Sci. USA* 85:5490-5494
46. Hirano, T., Yasukawa, K., Harada, H., Taga, T., Watanabe, Y., Matsuda, T., Kashiwamura, S.-I., Nakajima, K., Koyama, K., Iwamatsu, A., Tsunasawa, S., Sakiyama, F., Matsui, H., Takahara, Y., Taniguchi, T., Kishimoto, T. 1986. *Nature* 324:73-76

47. Metcalf, D. 1984. *J. Immunol.* 109:1193-1200
48. Astaldi, G., Janssen, M., Lansdorp, P., Willems, C., Zeijlemaker, W., Costerhof, F. 1980. *J. Immunol.* 125:1411-1414
49. Corbel, C., Melchers, F. 1984. *Immunol. Rev.* 78:51-74
50. Aarden, L., Lansdorp, P., De Groot, E., 1985. *Lymphokines* 10:175-185
51. Nordan, R., Potter, M. 1986. *Science* 233:566-569
52. Van Snick, J., Cayphas, S., Vink, A., Uyttenhove, C., Coulie, P., Simpson, R. 1986. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:9679-9683
53. Van Snick, J., Vink, A., Cayphas, S., Uyttenhove, C. 1987. *J. Exp. Med.* 165:641-649
54. Van Snick, J., Cayphas, S., Szikora, J.-P. Renauld, J.-C. Van Roost, E. Boon, T., Simpson, R.J. 1988. *Eur. J. Immunol.* 18:193-198
55. Ikebuchi, K., Wong, G.G., Clark, S.C., Ihle, J.N., Hirai, Y., Ogawa, M. 1987. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:9035-9039
56. Wong, G.G., Witek-Giannotti, J., Temple, P., Kriz, R., Ferenz, C., Hewick, R., Clark, S.C., Ikebuchi, K., Ogawa, M. 1988. *J. Immunol.* 140:3040-3044
57. Kishimoto, T., Hirano, T. 1988. *Ann. Rev. Immunol.* 6:485-512
58. Muraguchi, A., Hirano, Tang, B., Matsuda, T., Horii, Y., Nakajima, K., Kishimoto, T. 1988. *J. Exp. Med.* 167:332-344
59. Vink, A., Coulie, P.G., Wauters, P., Nordan, R.P. Van Snick, J. 1986. *Eur. J. Immunol.* 18:607-612
60. Simpson, L., McNiece, I., Newberg, M., Schetz, J., Lynch, K., Quesenberry, P., Isakson, P. 1989. *J. Immunol.* 142:1-7
61. Beagley, L.W., Eldridge, J.H., Lee, F., Kiyono, H., Everson, M.P., Koopman, W.J., Hirano, T., Kishimoto, T., McGhee, J.R. 1989. *J. Exp. Med.* 169:2133-2148
62. Emilie, D., Crevon, M.C., Auffredou, M.T., Galanaud, P. 1988. *Eur. J. Immunol.* 18:2043-2047