

## Lactoferrin이 T cell의 Cytokine 분비에 미치는 영향

이승환\*, 신영하, 황경아, 황보식, 이수원  
성균관대학교 식품·생명자원학과

Lactoferrin(Lf)은 우유 중에 함유되어 있는 transferrin family 단백질 중의 한 종류로서, 특히 초유에 다량으로 함유되어 있으며, 항균작용, 면역증강 및 조절작용 등의 생리적 기능을 갖고 있는 중요한 생리활성 물질로 그 가치가 크게 주목받고 있는 성분이다. 이러한 초유 중의 생리활성 물질에 대한 연구는 기능성 식품의 개발 등을 위해서도 매우 중요하리라 생각된다. 따라서, 본 연구에서는 Lf이 면역증강 및 조절작용에 미치는 영향을 알아보기 위하여 한우로부터 분리·정제한 Lf(K-Lf), Sigma社의 사람 Lf(S-H-Lf)과 젖소 Lf(S-B-Lf), 그리고 Morinaga社의 젖소 Lf(M-B-Lf)을 이용하여 T Cell에 의해 분비되는 cytokine 중 interleukin 2 (IL-2), interleukin 4(IL-4), interleukin 6(IL-6)에 대한 유도능력을 검증하였다. Mouse T cell인 EL-4 (KCLB40039)를 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건하에서 1% Penicillin-Streptomycin (v/v), 10% Horse Serum (v/v)을 함유한 DMEM 배지에서 배양하였다. 배양한 EL-4는 6-well plate에 3 × 10<sup>6</sup> cells/well의 농도로 분주한 후, 10mg/ml농도의 Lf를 150 μl 첨가하여 24시간동안 배양한 후, 유도된 cytokines의 양을 분석하였다. 동일한 수의 세포만을 배양한 것을 음성대조구로 사용하였으며, 양성대조구는 1 μg/ml 농도의 PMA(phorbol-12-myristate-13-acetate)를 150 μl 분주한 것으로 하였다.

Cytokines의 유도 유무는 RT-PCR로 확인하였다. 즉, Cytokines를 유도한 EL-4 세포로부터 AGPC법을 이용하여 total RNA를 추출하였으며, 추출한 total RNA 15 μg을 역전사 효소를 이용하여 cDNA를 합성한 후, Lf에 의해 유도된 각각의 cytokines의 특이적 primer를 이용하여 PCR을 실시하였다. PCR의 조건은 94°C/3분간 열변성시킨 후, 94°C/30초, 58°C/1분, 72°C/2분씩 25회 실시한 후, 72°C/5분간 증폭시켰다. PCR에 의해 생성된 최종 PCR 산물 10 μl를 1.5% agarose를 이용하여 분석하였다.

Lf의 IL-2 유도 능력을 분석한 결과, 4종의 Lf(K-Lf, S-H-Lf, S-B-Lf, M-B-Lf)는 IL-2를 유도하고 있는 것이 확인되었다. 이러한 유도능력은 양성대조군인 PMA 자극 EL-4와 거의 동일한 양이었으며, 그 중에서 K-Lf, S-H-Lf은 S-B-Lf, M-B-Lf보다 IL-2 유도 능력이 강한 것으로 나타났다. 이는 동일한 Lf라고 하더라도 그 기원에 따라 상이하거나, Lf의 유전적 변이에 의한 것이라 생각된다. IL-4 유도 능력의 경우, K-Lf, S-B-Lf, M-B-Lf가 거의 같은 농도의 IL-4 유도 능력을 나타내고 있는 것이 확인되었다. 또한, 양성대조구인 PMA에 의해 자극된 EL-4세포의 IL-4 유도 능력과 비교할 경우, S-H-Lf, M-B-Lf는 많이, K-Lf는 비교적 유도된 양이 적은 것으로 나타났다. IL-6의 경우도, IL-2 및 IL-4의 결과와 거의 유사한 것으로 나타났다.