

Cytokines로 유방면역 증가

손 봉 환*

글을 쓰게된 배경

유방염 원인 병원균에 저항하는 유방의 방어는 여러가지 세포질과 용해성 방어인자로 조성되어 진다. 세균이 일단 열려진 유두끝으로 침투에 성공되면 이 상태는 유선 신감염에 유방의 저항을 결정하는 방어기전에 따라 효과가 있다. 유방방어력이 방어작용에 실패하고, 소가 유방염에 더욱 감수성이 있을 때에는 비유주기내에 확실한 시기가 있다. 분명하게 이 작전은 “면역 억제 immunosuppression”의 이 기간동안에 유방의 면역계통을 증가시키므로 감염에 저항하는 소의 능력에 커다란 충격을 주는 것이다. cytokines는 소의 면역계통 모든 현상에 조절적으로 주요한 역할을 하는 단백질을 자연적으로 생산한다. 이 글에서는 숙주방어에서 cytokines의 역할을 고찰하여 보고 이들 단백질이 유우 유방염 관리에 어떻게 사용되는가를 알아 보는 것이다.

Cytokines와 면역

Cytokines이라는 용어는 다양한 환경아래서 면역과 비면역 세포 이 양자의 spectrum에 의하여 생산되는 단백질의 군을 설명하는 것이다. 단백질의 이 이질군은 interferon(IFN), Tumor necrosis factor(TNF), interleukin(IL) 성장과 colony stimulating factor(CSF) 그리고 면역과 염증과정에서 세포에 관여되는 세포의 작용에 대한 능력을 가지고 있는 다른 단백질의 변화를 비교한 것이다. cytokines 망상조직의 면역조절 능력은 복합적이다. 개별 cytokines의 세포조절

능력인 합성, 추가 또는 길항작용은 여러가지 세포질을 목표로 다른 cytokines와 상호작용 한다. cytokines는 숙주동물에서 유지, 같은 것의 재구성 그리고 건강하기 위하여 증가 또는 하강의 신호중 하나에 의한 숙주면역반응의 증가는 꾸준하게 조절된다.⁸⁾

Cytokines는 그들이 갖는 생리적 특성의 많은 목적을 가지고 있기 때문에 종종 홀몬과 같이 관련시킨다. 예를 들면 cytokines는 언제나 일시적으로 그리고 국소적으로 생산된다. 이는 autocrine과 paracrine형 중 하나하고 작용할 수 있다. cytokines의 작용은 때때로 생산된 우유에서 확인되고, 이들 단백질의 어느 것은 혈류내로 배출되어 먼곳 장기와 조직에서 작용되기도 한다. cytokines는 극히 낮은 양으로도 생리적 작용 발휘의 잠재적 분자능력이 있다. 그들의 극적인 잠재능력 때문에 cytokines는 생체내에서 감지되지 않을 수도 있다. 그러나 질병의 결과에는 영향을 준다. 확실히 cytokines의 상승수준이 있는 그 위치에서는 숙주에 해를 줄 수 있다.

연구와 더 많은 정보를 얻기 위하여 응용하는 재합성 cytokines의 많은 량은 염증과 숙주의 질병저항력에 있어서 cytokines의 역할에 관여되는 것이 일반적인 현상이다. 요즈음 그들을 조절작용으로 구분하여 확정시키고, 순화시키고, 특성화시킨 것이 20가지 이상 있다.⁸⁾ 몇가지 cytokines의 실험실 작용은 면역치료제로서 사용에 무서운 잠재력을 시사하였다. 이들 단백질은 실험실 상태에서 질병관리에 수익성이 있을 것이라는 견해가 남아있다.

Cytokines로 유방염의 예방과 치료

* 인천가축위생시험소장

Cytokines와 같은 면역조절제는 정상적인 숙주 방어와 비교할 때에 식품생산동물에서 전염병의 예방 또는 치료에 큰 잠재력을 지니고 있다. 젖소 유방염 임상위치의 한 예에서 유방방어능력에 감소가 있으면 질병 병원성 발전의 주요인자가 된다. 예를 들면 세균을 죽이기 위한 유선의 탐식(증성구와 대식구)의 능력과 세균증가 억제는 유선감염 결과에 결정적이 된다.^{14,17)} 유방분비액과 조직내에 많이 있는 증성구와 탐식구 이양자는 이들 세포의 항균작용이 우유내에서 감소되었음을 암시하고, 유선의 생리변동기간과 비교되어 진다.^{14,17)} 유방에서 탐식세포 기능을 증가시키기 위한 재조합 cytokines의 사용은 확실한 세균성 감염의 예방과 치료에 수익성이 있음에 동의된다.

Interferon(INF)

30년전에 INF가 발견되었고, 실험실에서 항바이러스 상태를 유발하는 그들의 능력에 기초를 두고 명명되었다.⁷⁾ 그후 면역조직의 많은 현상에서 면역조절성질의 여러가지를 표시하는 hat INF로 알려졌다. 연구자들은 종양세포에 저항하는 INF강화 탐식조절 세포성질을 보여 주었다. 그리고 대식구 위에 있는 IgG에 FC(fragment crystalline) 수용체에 부착시키는 막, 합성의 자극 그리고 탐식세포와 증성구 이양자에서 재작용 산소 이화작용의 분비를 유도시켰다.^{1,25)} 식세포 위의 INF 강화 영향은 유방염과 같은 전염성 세균성 질병의 예방에 임상적 응용 가능성 을 제시하였다. 실제로 최근의 연구는 재조합 소의 INF를 가지고 있는 유선 증성구의 실험실 치료는 이들 세포의 기능적 능력으로 분만전·후 유선 분비물의 억제 영향을 반전시키는 현상을 발견하였다. INF 처리 세포는 더욱 탐식능력이 더 있고, 대조구에 대하여 *Sta. aureus*균을 세포내에서 더 죽이는 것을 표시하였다.²²⁾

또한 INF으로 세균내부독소에 대한 조절되는 숙주반응을 가설로 시험하였다. 내부독소 공격 전에 부분적으로 INF를 투여하면 INF는 숙주에 심한 작용을 하는 국소적 임상반응을 억제시키는 것을 보여 주었다. 대조적으로 INF의 국소응용은 염증부위내 반응을 강화시켰다.⁴⁾ 복부상처

후 세균성 감염에 자극된 다른 모델에서는 IFN 처리 동물이 *E. coli*와 *Klebsiella pneumonia* 감염으로 유발되는 발병율과 사망율이 유의하게 감소되었다.⁵⁾ 작용의 정확한 기전은 아직 불분명 하지만 IFN은 급성기 반응의 통제와 숙주에 병원성을 변화시키는 관리되지 않은 염증반응에 있어서 주요한 역할을 가지고 있음이 나타났다.

이 cytokines의 생물학적, 작용에 기초를 둔 연구는 급성대장균성 유방염에 저항하는 IFN의 효과를 분석한 것이다. 대장균과 관련된 대부분의 급성증상은 종종 빠르게 진행되고 균이 제한없이 자라며, 균이 내부독소를 분비하고 계속하여 무한대로 염증반응을 발전시킨다. 이들 G-균에서 독소방출은 감염부위에서 합성과 cytokines 와 eicosanoids 분비 증가로 비특이성 급성반응이 시작된다.^{19,26,27)} 대장균 유방염의 급성증상 어느 경우에는 발열, 침울, 호흡부정, 위운동 감소가 포함되는데 이들은 cytokines에 의하여 직·간접으로 유도되기도 한다. 그리고 폐사한다.^{9,10)}

면역조절제가 임상질환의 결과를 조절하는 효과가 있는 대장균 유방염의 병 진행동안에는 두 가지 주요한 점이 있다. 하나의 접근은 감염초기 동안에 세균집락형성을 조절하는 것이고, 두 번째 접근은 조절되지 않은 세균성장 동안에 급성염증반응의 보장을 나누는 것이다. IFN과 같은 cytokines는 이들 평가중 양자에서 영향을 주고 있는 숙주반응이 있으며 대장균 유방염의 임상증상을 개선시키는 최선의 효과가 있다. 한 연구에서는 분만 후 소에게 실험적으로 대장균을 감염시키기 전 24시간에 INF으로 유선을 처리하였다. INF 처리우는 분방감염이 거의 없고, 기간도 더 짧고, 대조구 소에 비하여 임상증상도 낮았다. 더우기 INF 처리우는 시험접종 3일 내에 살아남고 대조구 소는 42%가 죽었다.²¹⁾

대장균 유방염의 결과는 INF이 조절하는 기전을 파악하는 것이 주제이다. 분만전·후 기간 동안에 증성구 기능에 대한 유선분비물의 면역억제작용을 이겨내는 것은 대장균 유방염의 성립과 심도에 대하여 강한 영향력을 갖는 것이다.²²⁾ INF을 예방적으로 투여하면 실험감염시 국소 증성구수의 살균적 효과가 증가된다. 이 가능성은 처리된 분방이 신감염이 낮으며 대

조구와 비교하여 대장균 감염에 따르는 감염기간이 짧다는 것으로 지지를 받는다.²¹⁾

대장균 유방염의 폐사율과 발병율에 대하여 IFN 처리의 실제적 효과는 다른 내부적 조절제의 생산조절에 이 cytokines의 능력을 통합하는 가능성이 있다. 이 질문에 대한 대답을 위하여는 IFN의 국소와 전신농도, 주요 조절제에 포함된 내부독소 속크가 포함되는데 대장균으로 시험감염 전·후에 결정된다.²³⁾ 대장균으로 실험감염을 하기 위하여 전에 IFN의 예방적 투여는 대조구와 비교하여 국소와 순환의 IFN 농도 양자 수준은 낮아진다. IFN의 증가된 혈청농도는 이를 동물에서 특히 확실하여지고 내부독소 중독으로 죽는다. 이 결과는 우유와 혈청이 양자의 IFN수준이 대장균 유방염의 심급성 증상의 증가와 밀접한 관계가 있음을 나타낸다. IFN으로 사전 처리한 소는 감염분방에서 이 잠재적인 내인성 염증조절제의 표시가되는 가능성이 있다. 이 현상은 대조구와 비교하여 cytokine처리우에서 임상증상이 낮음과 낮은 폐사율로 설명이 가능하다. 근래에는 이미 앞에서 관찰한 바와 같이²⁴⁾ IFN처리의 예방적 이점은 국소적 유선 식세포에서 cytokine의 직접적 영향은 없은 것 같다. 그러나 유선의 미세환경내 다른 내부숙주인자와 이 cytokine의 상호작용은 대단히 비슷한 것 같다. 심한 염증관리는 분만 전·후 급성대장균 유방염이 동반될 경우 유선실질의 병리변화와 심한 우유생산량 감소는 적어진다는 것이다.

Interleukin

Interleukin이라는 용어는 백혈구 사이를 통과하는 인자와 같은 기능이 있는 세포없는 용해성 인자(cell-free soluble factor)라는 설명으로 처음 소개되었다.⁸⁾ 이 기초적 성질을 가지고 있는 모든 cytokine 중에 특성이 잘 알려진 많은 cytokine은 interleukin(IL-1에서 IL-13)이라고 이름하였다. 오늘에는 IL-1과 IL-2 복제, 분리 그리고 표출되어지는 것은 다만 소의 interleukin이 된다.¹²⁾

단핵구와 대식세포는 IL-1의 주요 세포질 근원으로 알려져 있다. 실제로 모든 핵세포는 IL-1

작용을 할 수 있다.⁸⁾ IL-1은 염증과 상처치료의 주요 조절인자이다. 그리고 숙주방어계통의 제1차와 제2차 이 양자를 조절할 수 있다. 이 cytokine은 중성구에서 과립성 백혈구의 자극, 식세포의 走化性, prostaglandin 분비 그리고 간세포로부터 급성기 반응물 분비를 포함하는 생리적 작용의 넓은 범위를 가지고 있다.

Interleukin-2는 T세포 성장인자와 같이 처음 기술되었다. 이것은 helper표현형의 T세포에 의하여 최초 생산된 것이다. 이는 최초 T세포 면역반응의 복제증가에 대한 반응이다. 면역기억에 따르는 유사분열성 또는 항원성 자극이 성립된다. IL-2는 또한 B세포 성장과 분열, 흥선세포의 강화, NK세포의 작용 그리고 세포중독성 T세포 작용도 유도하는 역할을 한다.¹¹⁾

조직화 되고 있는 면역반응에서 IL-1과 IL-2의 여러가지 기능은 이들 cytokines가 강화되는 조절 또는 억제된 면역계통에서 주요인자가 된다. 이를 cytokine으로 소 유방방어의 가능성은 연구에서 주의를 끌만하게 수용된다. 생체내와 실험실내 연구는 IL-1과 IL-2는 소 유방백혈구의 살균능력을 강화시키며 비특이적인 방법으로 세균감염에 대하여 유방의 저항을 증가시킨다. Nickerson과 공동연구자들은 IL-2의 유전내 처리가 유선조직과 분비물 이 양자에 림프구를 증가시킬 수 있고, 국소에 항체의 생산을 강화시킬 수 있음을 보여 주었다.¹⁶⁾ 또한 그들은 IL-2가 건유과정을 강화시킴을 보여 주었다. 건유과정 동안에 유방염에 대한 저항의 증가는 앞으로 더 있을 것이다.¹⁶⁾

IL-1과 IL-2의 예방처리는 *Sta. aureus*로 계속유선에 감염시켰을 때도 유방방어가 있음을 보였다. *Sta. aureus* 감염 분방에 이들 cytokine의 치료적 처리는 이미 감염된 경우 효과는 적었다.³⁾ 그러나 현대 항생제 처방과 순수한 cytokine혼합은 이들 치료제의 모든 효과를 증가시킬 수 있음을 제시하는 증거였다.³⁾

집락자극인자 (CSF ; Colony Stimulating factor)

CSF는 cytokine군으로 미성숙 백혈구의 변화 중 증식과 분열이 요구된다. 이를 성장인자는

분명한 glycoprotein으로 일반적 수용체에 의하여 세포에 붙는다. 그리고 섬유아세포, 상피세포, 대식세포와 T세포가 포함된 세포의 여러 종류에 의하여 생산된다. 그리고 그들은 그들에게 영향을 주는 세포의 라인에 따라서 이름을 본인이다. (i.e. macrophages and granulocytes). 과립성백혈구-대식구(granulocytes-macrophages(GM))-CSF는 중성구와 식세포선구 세포가 골수에서 분열과 증식으로 과립백혈구와 대식구로 유도되는 자체능력에 의하여 최초로 확인된 것이다.¹³⁾ 여러가지 근래 연구는 사람에서 GM-CSF는 말초 혈관내 과립백혈구와 대식구의 기능변화에 영향을 줄 수 있다고 하였다.

최초의 자료에서 GM-CSF 처리는 대조구에 비하여 유선 중성구의 주화성과 살균력이 유의하게 증가하였다.²⁰⁾ 다른 연구는 GM-CSF로 유방염우 중성구 치료는 대조구에 비하여 luminal-dependent chemiluminescence가 증가하였다.¹⁸⁰ 제한된 생체시험자료에서 G-CSF와 GM-CSF 양자 처리는 시험공격전 유방에 재치료 중성구에 의하여 면역약속된 우유에 시험한 *Sta. aureus* 유방염에 저항하는 방어역할이 있었다.^{3, 15, 20)}

요 약

소 유방염에서 cytokine의 역할연구는 이제 시작단계이다. 근래 시험에서는 재결합 cytokine은 실세포 증가와 염증반응의 조절에 의하여 강화된 세균의 정화능력을 유방에 준다. 그리고 효과인자 세포의 보충결합 효과를 통하여 유방염의 결과를 조절하는 능력이 있다는 것을 제시한다. 현재 앞서가는 연구자들의 도전은 세균의 병원성 증가, 숙주반응이 유선에서 병원균 제거 요구 그리고 cytokine이 이들 반응을 조절할 수 있는 기전, 이들 사이의 상호기전을 더 이해하기 위한 것이다. 이 분야에서 앞으로의 발전은 시험보다 야외상태에서 전달되어지는 것이다. 그리고 효과적인 정보의 증가를 위하여 우리의 관심이 더 많아야 하는 것이고, 유선면역기능 조절이 소 유방염 관리를 위하여 앞으로 cytokine의 치료응용에 큰 잠재력을 제시하는 것이다.

글을 마치면서

면역학은 근래에 눈부시게 발전하고 있다. 원유등급의 향상은 유방염과의 싸움이라고 말하는 사람도 있다. 유방염을 예방할 수 있는 예방약이 있다면 얼마나 효과적일 것인가라는 생각이 듦다. 아직 완전하게 발전하지는 못하였으나 정보를 알고 응용함은 옳은 태도가 될 것이다. 이 내용은 Sondillo, L.M.(Pennsylvania 주립대) 교수 가 NMC INC '93 Regional meeting(July, 5 1993)에서 발표한 것이다.

참 고 문 헌

1. Bielefeldt Ohmann H, and L.A. Babiuk, 1986. Alteration of some leukocyte functions following *in vivo* and *in vitro* exposure to recombinant α and γ interferon. Interferon Res. 6:123.
2. Billiau, A. 1987. Interferons and inflammation. Interferon Res. 7:559.
3. Daley, M.J., T. Williams, R. Dougherty, P. Coyle, G. Furda, and P. Hayes. 1991. *Staphylococcus aureus* mastitis : pathogenesis and treatment with bovine interleukin and interleukin-2. J. Dairy Sci. 74 : 4413.
4. Heremans, H., R. Dijkmans, H. Sobis, F. Vandekerkhove, and A. Billiau. 1987. Regulation by interferons of the local inflammatory response to bacterial lipopolysaccharide. J Immunol 138 : 4175.
5. Herszman, M.J. 1988. Modulation of infection by gamma interferon treatment following trauma. Infect Immunity 56 : 2412.
6. Hill, A.W. 1981. Factors influencing the outcome of *Escherichia coli* mastitis in the dairy cow. Res Vet Sci 31 : 107.
7. Isaacs, A., and J. Kindermann. 1957. Viral interference. I. the Interferon. Proc R Soc London Ser B 147 : 258.
8. Lawman, J.J.P., M. Campos, and H. Bielefeldt Ohmann. 1989. Recombinant Cytokines and their therapeutic value in veterinary medicine. in : Animal Biotechnology Comprehensive Biotechnology New York, Pergamon Press, pp 63~106.

9. Lohuis, J.A.C.M., J.H.M. Verheijden, C. Burvenich, and A.S.J.P.A.M. Van Miert. 1988. Pathophysiological effects of endotoxins in ruminants. 1 metabolic aspects. *Vet O* 10 : 117.
10. Lohuis, J.A.C.M., Y.H. Schukken, J.H.M. Verheijden, A. Brand, and A.S.J.P.A.M. Van Miert. 1990. Effect of severity of systemic signs during the acute phase of experimentally induced *Escherichia coli* mastitis on milk production losses. *J Dairy Sci* 73 : 333.
11. Magnuson, N.S., A.G. Spies, M.S. Nissen, C.D. Buck, A.D. Weinburg, P.J. Barr, J.A. magnuson, and R. Reeves. 1987. Bovine interleukin-2 : regulatory mechanisms. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 32 : 351.
12. Maliszewski, G., B. Gallis, and P.E. Baker. 1990. The molecular biology of large animal cytokines. *Advances Vet. Sci. Campar. Med.* 35 : 181.
13. Metcalf, D. 1985. The granulocyte-macrophage colony stimulating factors. *Science*. 229 : 16.
14. Nagahata, H., S. Makino, S. Takeda, H. Takahashi, and N. Noda. 1988. Assessment of neutrophil function in the dairy cow during the perinatal period. *J Vet Med* 35 : 747.
15. Nickerson, S.C., W.E. Owens, and J.L. Watts. 1989. Effects of recombinant granulocyte colon-stimulating factor on *Staphylococcus aureus* mastitis in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 72 : 3286.
16. Nickerson, S.C., P.E. Baker, and P. Trinidad. 1989. Local immunostimulation of bovine mammary glands with interleukin-2. *J. Dairy Sci.* 72 : 1764.
17. Paape, M.J., W.P. Wergin, and A.J. Guidry. 1981. Phagocytic defense of the ruminant mammary gland. *Adv Exp Med Biol* 137 : 555.
18. Reddy, G.P., D.S. McVey, M.M. Chengappa, F. Blecha, H.C. Minocha, and P.E. Baker. 1990. Bovine recombinant granulocyte-macrophage colony stimulating factor enhancement of bovine neutrophil functions *in vitro*. *Am. J. Vet. Res.* 51 : 1395.
19. Shuster, D.E., M.E. Kehrl, M.G. Stevens. 1993. Cytokine production during endotoxin-induced mastitis in lactating dairy cows. *Am J Vet Res* 54 : 80.
20. Sordillo, L.M. 1992. Cytokines at drying off : potential role in mastitis control. *Proc. 31st Annual Meeting of the National Mastitis Council*, pp 160~ 164.
21. Sordillo, L.M., and L.A. Babiuk. 1991. Controlling acute *Escherichia coli* mastitis during the periparturient period with recombinant bovine interferon gamma. *Vet Microbiol* 28 : 128.
22. Sordillo, L.M., and L.A. Babiuk. 1991. Modulation of mammary neutrophil function following *in vitro* exposure to recombinant bovine interferon-gamma. *Vet Immunol Immunopathol* 27 : 393.
23. Sordillo, L.M., and J. Peel. 1992. Effects of interferon-gamma on the production of tumor necrosis factor during acute *Escherichia coli* mastitis. *J Dairy Sci* 75 : 2119.
24. Sordillo, L.M., and G.M. Pighetti. 1993. Production of tumor necrosis factor by mammary gland macrophages following *in vitro* exposure to interferon-gamma. in the Proceedings of the National Mastitis Council, pp 215.
25. Trinchieri, G., and B. Perussia. 1985. Immune interferon : a pleiotropic lymphokine with multiple effects. *Immunol Today* 6. 131.
26. Van Miert, A.S.J.P.A.M. 1991. Acute phase response and non cellular defense mechanisms. *Flemish Vet J* 62(Supplement 1) : 69.
27. Zia, S., S.N. Giril, J. Cullor, P. Emau, B.I. Osburn, and R.B. Bushnell. 1987. Role of eicosanoids, histamines, and serotonin in the pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*-induced bovine mastitis. *Am J Vet Res* 48 : 1617.