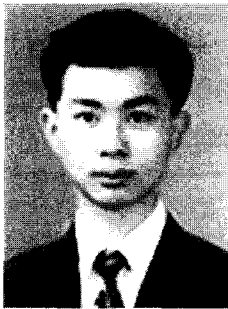


동물학 논문

면역반응과 TLR 단백질 (Immune Responses and Toll-like Receptor Protein)



심 경 용*

1991~1995년 충남대학교 생물학과 (이학사)
1995~현재 충남대학교 생물학과 석사과정

1. 서론

척추동물의 면역계는 크게 자연 면역계 (innate immune system)와 적응 면역계 (adaptive immune system)로 구성되어 있고, 이들은 오랫동안 서로 별개의 기작으로 간주되어 왔다. 자연면역과 적응면역은 수용체가 병원체를 인식하게 되는 기작에서부터 서로 달라, 자연면역계는 선천적으로 germ line에 암호화 (code)된 수용체를 사용하는 반면, 적응면역계는 특정 병원체에 의해 유도되어 림프구상에서 유전자 재조합에 의해 후천적으로 구성되는 수용체를 사용하게 된다. 항체와 T 림프구에 의해 중재되는 적응면역에 대한 연구는 지난 20여년 간 괄목한 성과를 거두었다. 오랫동안 연구되어온 적응면역계는, B 림프구와 T 림프구상에서 나타날 수 있는 다양한 random specificity중 한 가지가 특정 항원이나 병원체에 의해 선택적으로 증폭되고 그 특징의 병원체에 대해서만 그에 적합한 면역반응을 일으킨다는 점에서,

사전에 그 병원체와 그에 해당하는 면역반응에 대한 정보를 제공하는 신호가 요구됨을 알 수 있다 (Medzhitov and Janeway, 1997). 그런 의미에서 최근에는 그러한 기본 정보제공에 대한 매개자로서의 관점으로 자연면역에 대한 관심이 높아지면서, 기존의 관점과는 달리 자연면역과 적응면역을 동일한 연속선상에 있는 기작으로 보는 관점이 대두되었다. 면역반응의 시작은 과립세포 (granulocytes), 대식세포 (macrophages), 자연살상세포 (natural killer cells)를 포함하는 자연면역체계 (innate immune system, natural immunity)에 의해 시작된다. 박테리아에 의한 감염에 대해 1차적으로 자연면역체계가 작동하며, 활성화된 자연 면역계는 사이토카인 (cytokine)과 다른 세포면 물질을 매개로 적응면역체계 (acquired immune system, specific immunity)를 구성하는 T 림프구와 B 림프구를 작동세포 (effector cell)로 활성화시키는데 주요 출발점으로 작용하게 된다 (Romagnani, 1992). 본 논문에서는 이러한 자연면역의 시발점을 이루는 초기 항원의 인식기작에 참여하는 한 pattern recognition receptor (PRR)로 알려진 Toll 유사수용체 (Toll-like receptor, TLR)에 대한 최근에 이루어진 연구의 진전을 요약하고자 한다.

2. 자연면역계의 특징

자연 면역계는 척추동물에서만 발견되는 적응 면역계와는 달리 모든 다세포 생물에서 발견되며, 또한 자연 면역계는 포유동물 이외에도 초파리 (*Drosophila melanogaster*)나 식물체에서도 유사한 형태의 체제를 가진 것이 발견됨을 생각할 때, 계통발생학적으로 진화의 초기단계에 형성된 체제라고 생각된다. 그리고 이러한 자연 면역계는 수많은 병원체에 의한 강한 선택압에 의해 진화되어 온 것이라 생각된다 (Medzhitov and Janeway,

* 본 논문은 백상기 (충남대학교 자연과학대학 생물학과), 김영상 (충남대학교 자연과학대학 생화학과) 교수의 공동지도에 의하여 작성되었음.

1998). 이러한 방식으로 다세포생물은 침입하는 미생물에 대한 인식, 제거 능력을 보유하게 되었으리라 추측된다. 그러나, 자연 면역계가 대처해야 할 병원체의 종류는 실제로 너무나 다양하고 또한 수없이 많은 분자형태가 있으리라 생각되기 때문에, 적응 면역계가 성립하기 이전에 이들 모두에 대한 방어기작을 갖는 것은 어려운 일이었음을 짐작할 수 있다. 그런 이유로 자연 면역계가 인식해야 할 병원체의 종류는 가장 일반적인 병원체나 항원에 대해서로 제한될 수 밖에 없다. 그러므로 자연 면역계는 특정 병원체보다는 보다 넓은 범위의 병원체를 상대하는 방향으로 진화될 수밖에 없었으리라고 생각된다. 그래서 자연 면역계가 인지하는 대상은 여러 병원체에 의해 보편적으로 공유되는 분자형태를 가질 것이고, 또한 이 분자는 미생물 스스로 변이를 일으키기 어려운 대사나 생존에 관련된 필수적이고 보존적인 형태라고 생각되며, 또한 그 생물에게 존재하는 물질과는 완전히 다른 자기항원 (self-antigen)으로 인식되지 않는 형태의 분자가 될 것이다 (Medzhitov and Janeway, 1997). 이러한 분자형태를 PAMP (pathogen-associated molecular pattern)이라 하며, LPS (lipopolysaccharide), LTA (lipoteichoic acid), LAM (lipoarabinomannan) 등이 그 보기가 될 수 있다. 그리고 이러한 PAMP를 인지하는 수용체를 PRR이라 하며 자연면역계를 구성하는 가장 핵심적인 요소라 할 수 있으며, Toll이나 TLR는 이런 PRR의 후보로 추정되고 있다.

3. 포유동물과 초파리간의 신호전달 기작의 유사성

적응면역체계를 가지고 있지 못한 하등한 생물체에서의 면역반응은 고등생물에서의 자연면역을 이해하는데 있어 실마리를 제공하고 있다. 하등한 동물은 적응면역 반응이 없이 미생물 감염원에 대해 그들 자신을 어느 정도 성공적으로 보호하고 있다. 생물체 종간의 자연 면역계는 유사성으로 인해 그 동안 서로 비교의 대상이 되어왔고, 특히 포유동물과 초파리의 자연 면역계는 서로 오랫동안 비교의 대상이 되어왔다 (Fig. 1). 초파리에서 anti-fungal effect를 나타내는 drosomycin의

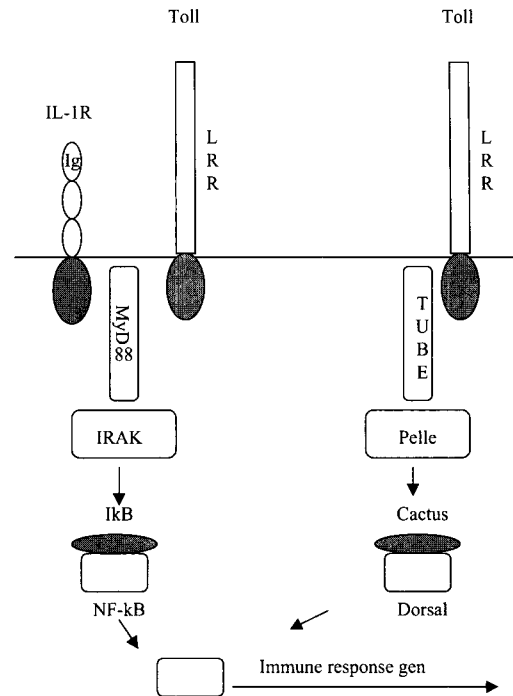


Fig. 1. 포유동물과 초파리의 자연 면역계.

생산경로는, PRR에 해당하는 Toll을 통해 전달된 신호가 Tube와 Pelle를 거쳐 Dorsal을 Cactus와 분리시켜 Dorsal을 통해 drosomycin 발현을 유도하게 되는데 (Lemaitre et al., 1996), 포유동물 IL-1R 경로에서도 MyD88, IRAK, I-κB, NF-κB로 이어지는 유사한 신호전달 기작 및 구조와 기능을 가진 단백질이 발견되었으며 (Medzhitov et al, 1997), 이를 바탕으로 이와 유사한 방식의 자연 면역계가 포유동물에서도 존재하리라 추측되었고, 그 결과 LPS에서 NF-κB까지 전달되는 자연면역 신호전달 체계가 밝혀졌다.

4. Human TLR의 발견

인간의 Toll (hToll)과 hTLR의 발견은 고등생물에서의 자연면역반응에 대한 새로운 지평을 열었다. 이러한 이들 자연면역체제간의 유사성을 바탕으로 초파리 자연면역체제의 PRR인 Toll과 동일한 기능을 하는 포유동물의 수용체를 찾으려는 노력이 계속되었고, 그 결과 초파리의 Toll과 동일한 motif를 지닌 수용체들이 발견되었는데, 이

를 TLR이라 하며 현재 인간에서 5가지가 발견되었다(Rock et al., 1998). 초파리에서 발견된 Toll 수용체는 초파리의 배 발생 과정에서 dorsoventral 발생을 조절하는 유전자로 발견되었다. Toll 수용체는 leucine이 풍부한 type I 막관통형 단백질(transmembrane protein)로서 세포질부의(cytoplasmic region)는 interleukin-1 수용체와 유사성이 있어 유사한 신호전달에 관여할 것으로 추정되고 있다. Human Toll은 21 개의 tandem repeated leucine-rich repeat를 포함한 31 아미노산을 가지는 세포외 부위(extracellular domain)를 아미노기 말단으로 하며, human IL-1R와 homology를 가지는 cysteine-rich 부위를 가진 세포질부위를 카르복실기 말단으로 하고 있다. 세포질부위는 IL-1R와 마찬가지로 NF- κ B 경로로 신호를 전달하는 것으로 알려져 있고, 그 결과 IL-1, IL-6, IL-18과 같은 T림프구 활성화에 필요한 cytokine을 유도하는 것으로 추정되고 있다. Human TLR로는 TLR1(786 a.a.), TLR2(784 a.a.), TLR3(904 a.a.), TLR4(879 a.a.), TLR5(370 a.a.)의 5가지가 발견되었다(Wright, 1999).

5. Human Toll의 기능 및 신호전달

Human Toll의 기능은 현재 LPS 신호전달의 개시가 되는 수용체로 추정되고 있다. LPS의 전달 경로는 LPS-binding protein인 LBP가 결합하여 LPS를 single form으로 CD14에 전달하고, 이렇게 전달된 LPS는 미지의 수용체를 통해, 아직 밝혀지지 않은 vesicular pathway를 통해 골지체까지 전달된다고 추정된다(Detmers et al., 1996). 또한 LPS 방어에 대한 신호도 미지의 수용체를 통해 IL-1R와 유사한 경로를 거쳐 NF- κ B의 활성화로 이어진다고 생각되는데, 이때 관여하는 수용체로 작용하리라 생각되고 있다. 이러한 관점에서 최근의 연구는 NF- κ B와 AP-1 활성화와 관련해, 특정 병원체에 대한 TLR의 효과를 중심으로 이루어지고 있으며, 그 결과로 LPS의 수용체로서는 TLR4가 유력해지고 있지만 LTA, peptidoglycan과 같은 다른 병원체에 대해서는 아직 뚜렷한 특이성이 보이지 않는다. 또한 이들 TLR family들도 병원체에 대해 특별한 특이성이 나타나지 않고 있으며, TLR4와 TLR2처럼 서로 대체가 가능한 양

상도 나타나고 있다(Takeuchi et al., 1999). Medzhitov 그룹은 미생물 감염원에 의한 감염에 의해 특이적인 표현형을 나타내는 hToll 단백질의 우성적 활성화형을 인간의 monocyte 세포주인 THP-1세포에서 발현시킴으로써 hToll은 PRR로서 작용할 뿐만 아니라 면역반응의 시작에 작용한다는 것을 제안하였다. Toll에 의해 활성화된 세포의 표현형의 변화는 inflammatory cytokine인 IL-1과 IL-6의 생성, chemokine IL-8의 발현, T림프구의 활성화에 있어 signal 2로 작용하는 costimulatory 분자인 B7.1의 발현유도 등이 있다. hTLR4에 의한 신호전달경로의 연구결과 hTLR4는 ligand와 결합한 후 전사인자 NF- κ B를 활성화시키며, IL-1 수용체(IL-1R)에 의한 신호전달과정에 참여하는 중간매개물질을 공유한다고 밝혀졌다(Chow et al., 1999). 이에 IL-1R-associated kinase (IRAK)를 수용체에 유인하는 MyD88가 포함되며, IRAK는 TNFR-associated factor 6(TNFR6)과 작용하며, 이들은 다시 protein kinase NF- κ B-inducing kinase (NIK)와 작용한다. 최종적으로 NIK는 I- κ B kinase complex(including IKK α and IKK β)를 활성화시키며, I- κ B를 인산화시켜 NF- κ B를 활성화시킨다.

TLR의 생체내 중요성은 Tlr4 유전자를 결핍한 생쥐의 연구에서 알려졌다. 생쥐의 inbred strains 중 C3H/HeJ와 C57BL/10ScCr은 Lps allele(Lpsd/d)에 대해 homozygous recessive하다. Lps null mice는 LPS에 대해 hyporesponsiveness하여 LPS에 의한 치사현상이 나타나지 않는다. 최근의 연구결과는 Lpsd의 돌연변이는 TLR4의 일부를 포함하고 있다고 보고하고 있다(Poltorac et al., 1998). Lpsd는 mTLR4 유전자의 세포질부위의 한 염기인 712번째 아미노산인 proline이 histidine으로 변한 missense mutation이다(Poltorac et al., 1998). 유전자를 인위적으로 파괴시켜 TLR4를 결핍시킨 생쥐로부터의 대식세포와 B 림프구는 LPS에 반응하지 않으며(Takeuchi et al., 1999), 이는 TLR4가 LPS의 신호를 전달하는 물질임을 시사하고 있다. 생쥐의 유전분석은 C3H/HeJ생쥐의 Lpsd 결핍은 TLR4 유전자에 있어서의 돌연변이에 의해 LPS 민감성에 대한 우성적 음성(dominant negative) 효과를 나타낸다는 가설을 입증한다. 이는 다른 TLR를 발현하는 F1 생쥐는 Lpsd allele의 존재하

에서 LPS에 대한 중간정도의 반응을 보여주기 때문이다 (Vogel et al., 1999).

여러 연구는 TLR의 가능한 ligand에 대한 정보를 제공하고 있다 (Means et al., 1999). 최근의 연구결과는 hTLR-2를 발현하는 세포주는 그람(-) 박테리아의 세포벽 구성요소인 endotoxin LPS에 반응한다고 보고하였다 (Yang et al., 1998). LPS를 처리하면 hTLR-2는 cytokine과 세포면의 세포부착 분자를 포함한 많은 면역조절 물질의 전사요소인 NF- κ B의 활성화를 위한 신호를 전달한다는 것을 보고하였다. 유사한 결과가 hTLR-4와 hamster TLR-2에 대해 보고되었다 (Means et al., 1999).

6. 문제점과 연구방향

그러나 위와 같은 관점에도 불구하고, 여전히 LPS가 TLR4와 상호작용 한다는 직접적인 증거는 없다. 현재 가장 잘 알려진 LPS의 결합체인 CD14은 10 copy의 LRR motif를 가지고 있으며, TLR4는 22 copy의 LRR motif를 가지고 있어 이들간의 구조적 유사성으로 추정할 뿐이다 (Juan, 1995). 또한 LPS 분자의 특성은 양매성 (amphiphilic)을 나타내므로, 쉽게 lipid bilayer에 합류할 수 있는 특성을 가지고 있어, 그런 이유로 CD14는 쉽게 LPS를 liposome이나 lipoprotein particle 또는 반응세포의 세포막에 전달할 수 있다고 생각된다 (Wurfel et al, 1997). 그리고 또한 LPS가 protease cascade를 활성화시켜 그 cascade의 결과로 TLR이 활성화되리라는 추정도 제안되고 있다. 이와 유사한 기작은 초파리에서도 발견되는데, 초파리의 Toll을 활성화시키는 spatzle은 easter라는 protease에 의해 절단되고, 또한 easter는 snake라는 protease에 의해 활성화되는 기작을 보여준다 (Anderson, 1998). 결론적으로 TLR에 대한 연구는 LPS 등의 여러 병원체와 그에 반응하는 세포의 자연면역반응간에 연결고리를 제공하리라 기대되며, 더 나아가 세포가 자기 (self)와 비자기 (non-self) 물질을, 또는 다른 비자기 물질간에도 서로 구별하여 각각 그에 해당하는 방식으로 어떻게 반응하는지, 그리고 이들 병원을 어떻게 제거하는지에 대한 실마리를 제공하리라 기대한다.

참 고 문 헌

- Anderson, K. V. 1998 Pinning down positional information : Dorsal-ventral polarity in the drosophila embryo. *Cell* **95**: 439-442.
- Chow, J. C., D. W. Young, D. T. Golenbock, W. J. Christ, F. Gusovsky. 1999 Toll-like Receptor-4 Mediates Lipopolysaccharide-induced Signal Transduction. *J. Biol. Chem.* **274**: 10689-10692.
- Detmers, P. A., N. Thieblemont, T. Vasselon, R. Pironkova, E. Miller, S. D. Wright. 1996 Potential role of membrane internalization and vesicle fusion in adhesion of neutrophils response to lipopolysaccharide and TNF. *J. Immunol.* **157**: 5589-5596.
- Juan, T. S., E. Hailman, M. J. Kelley, L. A. Busse, E. Dary, C. J. Empig, L. O. Narhi, S. D. Wright, H. S. Lichenstein. 1995 Identification of a lipopolysaccharide(LPS)-binding domain in CD14 between amino acid 57 and 64. *J. Biol. Chem.* **270**: 5219-5224.
- Lemaitre, B., E. Nicolas, L. M. Chant, J. M. Reichhart, J. A. Hoffman. 1996 The Dorsoventral regulatory gene cassette spatzle/Toll/cactus controls the potent antifungal response in drosophila adult. *Cell* **86**: 973-983.
- Means, T. K., E. Lien, A. Yoshimura, S., Wang, D. T. Golenbock, M. J. Fenton. 1999 The CD14 Ligands Lipoarabinomannan and Lipopolysaccharide Differ in Their Requirement for Toll-like Receptor. *J. Immunol.* **163**: 6748-6755.
- Means, T. K., S. Wang, E. Lien, A. Yoshimura, D. T. Golenbock, M. J. Fenton. 1999 Human Toll-Like Receptors Mediate Cellular Activation by Mycobacterium tuberculosis. *J. Immunol.* **163**: 3920-3927.
- Medzhitov, R., Janeway, Jr. C. A. 1997 Innate Immunity : The virtues of a nonclonal system of Recognition. *Cell.* **91**: 295-298.
- Medzhitov, R., Janeway, Jr. C. A. 1997 Innate Immunity : Impact on the adaptive immune response. *Curr. Opin. Immunol.* **9**: 4-9.

- Medzhitov, R., Janeway, Jr. C. A. 1998 An ancient system of host defense. *Curr. Opin. Immunol.* **10**: 12-15.
- Medzhitov, R., Preston-Hurlburt, Janeway, Jr. C. A. 1997 A human homologue of the *Drosophila* Toll protein signals activation of adaptive immunity.
- Poltorak, A., X. He, I. Smirnova, M. Liu, C.V. Huffel, N. Du, D. Birdwell, E. Alejos, M. Silva, C. Galanos, M. Freudenberg, P. Ricciardi-Castragnoli, B. Layton, B. Beutler. 1998 Defective LPS Signaling in C3H/HeJ and C57BL/10ScSr Mice : Mutations in Tlr4 Gene. *Science* **282**: 2085-2088.
- Rock, F. L., G. Hardiman, J. C. Timans, R. A. Kastelein, J. F. Bazan. 1998 A family of human receptors structurally related to *Drosophila* Toll. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **95**: 588-593.
- Romagnani, S. 1992 Induction of TH1 and TH2 response : a key role for the 'natural' immune response? *Immunol. Today* **13**: 379-381.
- Takeuchi, O., Hoshino, K., Kawai, T., Sanjo, H., Takada, H., Ogawa, T., Takeda, K., Akira, S. 1999 Differential Roles of TLR2 and TLR4 in Recognition of Gram-Negative and Gram-positive Bacterial Cell wall Components. *Immunity* **11**: 443-451.
- Vogel, S. N., E. Johnson, P. Derera, A. Medvedev, L. Lariviere, S. T. Qureshi, D. Malo. 1999 Cutting Edge : Functional Characterization of the effect of the C3H/HeJ Defect in Mice that Lack an LPSⁿ Gene : In vivo Evidence for a Dominant Negative Mutation. *J. Immunol.* **162**: 5666-5670.
- Wurfel, M. M., S. D. Wright 1997 Lipopolysaccharide-binding protein and soluble CD14 transfer lipopolysaccharide to phospholipid bilayers. *J. Immunol.* **158**: 3925-2934.
- Wright, S. D. 1999 Toll, A New Piece in the Puzzle of Innate Immunity. *J. Exp. Med.* **189**: 605-609.
- Yang, R. B., M. R. Mark, A. Gray, A. Huang, M. H. Xie, M. Zhang, A. Goddard, W. I. Wood, A. L. Gurney, P. J. Godowski. 1998 Toll-like receptor-2 mediates lipopolysaccharide-induced cellular signalling. *Nature* **395**: 284-288.