

알레르기 염증 기전에서 호염기구의 역할

가톨릭대학교 의과대학 소아과학교실

김 현 희

The Role of Basophils in the Mechanism of Allergic Inflammation

Hyun Hee Kim, M.D.

Department of Pediatrics, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea

서 론

사람의 호염기구가 알레르기 염증의 병리기전에서 중심적인 역할을 하며 생물학적 활성을 공유하는 두 사이토카인(cytokine), 즉 interleukin(IL)-4¹⁾와 IL-13²⁾의 주된 근원세포라는 사실이 알려지게 되면서 매우 중요하게 인식되기 시작하였다. 최근 많은 연구들이 호염기구가 알레르기 염증에서 특유한 역할을 수행한다는 암시를 주고 있다. 이러한 생각은 호염기구가 비만세포의 기능을 연구하기 위한 대용물로서만 단순히 기여할 것이라는 초기의 개념과는 매우 다르다. 사실 이 두 세포 유형이 서로 현저히 다른 특징을 지닌 것이 현재 확실해졌다. 호염기구는 비만세포와는 다른 다양한 매개체를 분비하고 더욱 다양한 분비촉진물질(secretagogue)들에 대한 다양한 반응을 보이며 신호전달에 있어서도 서로 다른 기전을 이용하며 다른 유형의 약물학적 조절을 통해 반응한다. 이런 소견들은 단지 실험관내 실험연구에서만 아니라 실험적으로 유도된 알레르기 염증과 자연발생적인 질환에서 호염기구의 직접적인 관여를 확인해 준 많은 연구에 의해 확고히 지지를 받고 있다. 호염기구는 또한 발달과정에서도 비만세포와는 다르다. 비록 비만세포의 전구세포가 골수에서 유래되고 조직에서 성숙하기 위해서는 줄기세포인자(stem cell factor, SCF)를 요구하지만 호염기구는 interleukin(IL)-3와 granulocyte-macrophage colony-stimulating factor(GM-CSF)의 효과에 의존하면서 발달한 후 성숙세포로서 골수에서 생산되는 것으로 생각된다.

호염기구는 알레르기 염증 과정의 각 병소에서 발견되며 그 병리 기전에 관여하는 중요한 Th2 사이토카인인 IL-4와 IL-13을 다량 생산할 수 있다³⁾. 이러한 사실은 호염기구가 호산구나 림프구와 같이 알레르기 병소에 선택적으로 침윤한다는 사실과 함께 매우 중요한 의미를 지닌다. 즉 호염기구가 다른 면역세포들의 생물학적 기능을 조절함으로써 알레르기 염증 과정에서 매

우 중요한 역할을 할 수 있음을 암시한다. 그러므로 본문에서는 과거에서 최근까지 알려진 다양한 연구 결과들을 토대로 호염기구의 생물학적 특성, 염증 매개체의 종류와 분비, 활성화의 약리학적 조절, 그리고 IL-4와 IL-13의 분비를 조절하는 기전 및 세포내 신호전달 기전에 대해서 살펴보고자 한다.

호염기구에서 생산되는 사이토카인과 염증 매개체들(chemical mediators)

히스타민과 proteoglycan 등 이미 형성된 매개체들이 사람의 호염기구에서 확인되고 그 매개체가 빠르게 분비된다. 호염기구의 풍부한 과립속에는 약리학적 활성도를 지닌 다양한 물질들을 포함하며 탈과립시 분비된다. 이러한 매개체들은 Table 1에서 보여주는 것처럼 이미 형성된(preformed) 매개체와 새로이 합성되는 매개체로 분류된다. 호염기구는 비만세포와는 다른 다양한 매개체를 분비하고 더욱 여러 가지 분비촉진물질(secretagogue)들에 대한 다양한 반응을 보인다(Table 2).

1. 사이토카인(cytokine); IL-4, IL-13

호염기구의 사이토카인 분비에 관한 연구는 실제적으로 쥐의

Table 1. Classification of Basophil Mediators

Mediators released by basophils

Preformed

Histamine(1 pg per basophil)

Neutrophil chemotactic factor

Kallikrein

Proteoglycans : chondroitin sulfate A

Unidentified proteases

Lysophospholipase(Charcot-Leyden crystals)

Major basic protein(MBP)

Tryptase

Newly generated

LTC₄(60 fg per basophil) and metabolites(LTD₄ and LTE₄)

Platelet activating factor(PAF)

Oxygen radicals, superoxide

Cytokines : IL-4, IL-8, IL-13, and MIP-1 α

접수 : 2003년 4월 19일, 승인 : 2003년 4월 22일

책임저자 : 김현희, 가톨릭의대 성가병원 소아과

Tel : 032)340-7046 Fax : 032)340-2673

E-mail : hhkim@hfh.cuk.ac.kr

Table 2. Comparison of Selected Human Basophil and Mast Cell Mediators and Secretagogue Responses

Parameter	Basophils	Mast cells ^a
Mediators released ^b		
Histamine(g/10 ⁶ cells)	1	2-4
Heparin(g/10 ⁶ cells)	<1	4
Chondroitin sulfate(g/10 ⁶ cells)	10	2
Platelet-activating factor(pg/10 ⁶ cells) ^c	+ ^d	2000
Tryptase(g/10 ⁶ cells)	<0.1	10-35
Chymase(g/10 ⁶ cells)	0	0-5
Leukotriene C4(ng/10 ⁶ cells)	60	3-60
Prostaglandin D2(ng/10 ⁶ cells)	<1	60-150
Charcot-Leyden crystal protein (g/10 ⁶ cells) ^c	3	nt
Major basic protein(ng/10 ⁶ cells)	140	0
TAME esterase activity	+++	+++
Kinin-forming activity	+	+
Secretagogues ^b		
Antigen, anti-IgE	+++	++
FMLP, C3a, C5a	+++	±
Calcium ionophore A23187	+++	+++
Phorbol esters ^e	++	-
Substance P, codeine	-	++ ^f
Polybasic amine, hyperosmolar solutions ^e	++	++
Histamine releasing factors		
IL-8, RANTES, MCP-1, PAF, IL-3, IL-5 ^g	+	-

nt : not tested, + : weak, ++ : moderate, +++ : strong, ± : inconclusive, MCP-1 : monocyte chemoattractant protein-1, PAF : platelet activating factor

^bRanges for values are given where differences exist among mast cells from different tissues

^bInformation displayed is representative of most cell preparations; variations from no release to extensive release may occur depending on the donor, priming, and specific mediator

^cMost or all may remain cell-associated, even after degranulation

^dDetected but not quantitated

^eMediator release is not calcium-dependent

^fSkin mast cell only

IL-3 의존성 비만세포가 FcεRI 교차결합 시 과거에는 활성화된 Th2 림프구에 의해서만 생산되는 것으로 알려졌던 다양한 사이토카인들을 생산할 수 있다는 연구에서 본격화되었다^{4,5}. 최근에 이르러 여러 연구실에서 호염기구의 IL-4 분비에 대해 보고^{3,6}하였고 더욱 최근에는 IL-13과 케모카인(chemokine), 그리고 macrophage inhibitory protein(MIP)-1α가 호염기구에서 생산 분비된다는 사실⁷⁻¹⁰이 확인되었다. 호염기구는 IgE 의존성 자극에 의해서 활성화 시 IL-4 단백을 상대적으로 다량 분비한다. 그리고 IL-4의 분비는 흥미롭게도 후기 천식반응의 시기와 일치한다. 뿐만 아니라 호염기구는 IgE 의존성 활성화 시 IL-2나 IFN-γ의 분비가 확인되지 않는 사실로 볼 때 “Th2-like” 유형의 사이토카인을 분비하는 것으로 보인다.

2. 히스타민

호염기구와 비만세포는 L-histidine의 탈카르복실화 반응에서 다량의 히스타민을 생산하고 유리한다. 히스타민이 호염기구의 과립 내에서는 proteoglycan과 chondroitin sulfate의 복합물로 존재하나 비만세포에서는 헤파린의 복합체로 과립 내에 저장된다. 호염기구의 과립 내 저장된 히스타민의 양은 대부분의 공혈자에서 놀랍게도 일정하게 관찰된다. 약 1 pg/호염기구 정도이며 IL-3와 GM-CSF는 호염기구의 성숙 후기에 히스타민의 유리를 증가시키는데 있어서 중요한 역할을 한다.

3. 류코트리엔(leukotriene; LTC₄)

히스타민과 달리 LTC₄는 호염기구 내에 저장되지는 않으나 활성화 시 수분 내에 신속히 아라키돈산의 대사 과정에서 합성된다. 호염기구가 생산하는 LTC₄의 양은 10-100 fg 정도로 히스타민 생산량에 비해서 현저히 적으나 한편 평활근을 수축시키는 능력은 6,000배나 강한 것으로 알려졌다. LTC₄이 호흡기계로 분비되면 기관지 수축과 점액 분비를 증가시키며, 피부 조직에서는 팽진과 홍반을 유도한다.

천식의 병리 기전에 이러한 매개체의 역할이 상당히 중요하리라 생각되며 최근 류코트리엔 길항제의 임상적 유용성이 확인되는 것과 일치한다.

호염기구의 활성화 기전과 IL-4 분비의 약리학적 조절

비만세포와는 달리 호염기구의 활성화 기전은 훨씬 다양하다. 특히 사람의 호염기구는 다량의 IL-4를 생산할 수 있다. 세포를 기준으로 혼합 백혈구 배양에 의한 생산량보다 약 10배 이상의 IL-4 단백을 생산한다. IgE 의존성 활성화시 호염기구는 10⁶개 당 700 pg까지 생산한다. 사실, FcεRI에 대한 항체가 역시 IL-4 분비를 유도하고 칼슘 ionophore에 의한 생산량에 육박한다. 호염기구가 말초혈액에서 얻은 혼합 백혈구 배양에서 IL-4의 일차적 근원으로 보여지는 것이 가장 중요한 사실이다. 이것은 anti-IgE 항체로 활성화된 배양에서 뿐만 아니라 항원으로 직접 자극하였을 때도 동일하다. 이러한 소견은 혈액 내 항원 특이 T 세포가 수적으로 너무 적어서 상당량의 단백을 생산할 수 없다는 것을 암시한다. 더욱이 ionomycin으로 활성화시킨 후 첫 4시간 동안 혼합 백혈구 배양에서 생산된 IL-4 단백질은 호염기구의 존재와 상관관계를 보인다. 이러한 많은 지표들이 사람의 호염기구의 IL-13 단백질의 생산에 대해서도 유사한 것으로 확인되었다.

호염기구에서 IL-4 mRNA 양의 변화는 활성화된 후 약 30분에 확인된다. 그리고 그 단백질은 배양상층액에서 활성화 후 1시간에 확인되고 4 내지 6시간에 최대치에 이른다. 호염기구에 의한 IL-13의 생산은 IL-4의 경우보다 느리고 약 24시간에 최대치에 이른다^{7,9,10}. 호염기구에서 히스타민의 탈과립에 의한 분비나 활성화 후 수분경에 분비되는 LTC₄와는 달리 이 시기에

IL-4나 IL-13 단백을 많이 분비하지 않는 이유는 이런 사이토카인의 생산이 활성화 후 새로이 시작되기 때문이다. 이런 사실이 처음으로 확인된 계기는 자극제와 cyclohexamide를 동시에 반응시킬 경우 히스타민의 분비는 차단되지 않으나 IL-4의 분비는 완전히 차단된다는 연구 결과가 보고된 시점으로 생각된다.

구배원심법(density gradient centrifugation)을 이용해서 신속히 만들 수 있는 호염기구 농축 현탁액(basophil-enriched cell suspension, BEC)이 호염기구에 의한 사이토카인 생산의 여러 지표들을 연구하기 위한 유용한 방법으로 각광을 받게 되었다¹¹⁾. BEC을 이용한 연구에서 IL-4 단백 생산량과 히스타민 분비사이에는 상관성이 높았으며 히스타민 분비능이 높을수록 IL-4 단백질의 생산이 최대치에 이르는 사실을 알 수 있었다.

호염기구 IL-13 분비의 약리학적 기전과 후기 반응에서의 역할

호염기구는 IL-4 뿐 아니라 IL-13도 생산하고 IL-4와 IL-13이 알레르기 염증에 몇 가지 공통적인 중요한 생물학적 활성도를 지닌다. 그러나 다른 한편, 호염기구로부터 이들 사이토카인들의 분비 기전은 서로 상이한 것 같다(Table 3). 이러한 생물학적 기능의 다양성은 어느 하나의 사이토카인 분비를 억제하는 과정이 또 다른 사이토카인에 대해서도 동일하게 영향을 미치지 않는다는 사실에 부합되는 것 같다. IL-4 mRNA는 본질적으로 호염기구 내에 존재하며 단시간 동안의 IgE 교차결합에 의해서 증가된다. 이와 같이 IL-4의 분비는 빠른 반면 IL-13는 보다 느려서 4시간 이후에야 관찰되며 IL-13의 농도는 24시간 이후에도 증가된다(Fig. 1).

IL-4와 IL-13의 생산에 있어서 또 다른 뚜렷한 차이는 히스타민의 분비와의 관계이다. IL-4의 생산량과 분비된 히스타민의 백분율과의 연관성은 매우 높다. 그러나, IL-13에 대해서는 IgE

교차결합과 덜 연관되는 것으로 보이며 그 생산과 히스타민 분비는 유의한 상관성이 없다. 이것은 IL-13가 알레르기 염증의 초기보다는 후기 반응에서 더 활동적임을 암시한다. 더욱이 IL-4와 IL-13의 분비 사이에는 연관성이 없고 결국 호염기구가 이들 중 한가지 사이토카인을 많이 생산하더라도 다른 것의 생산은 적을 수 있다. IL-3 그 자체는 IL-4 분비를 잘 유도하지 않으나, IL-13에 대해서는 강력한 분비자극물질이다. 사실상 IL-3 만으로도 anti-IgE와 IL-3의 동시 자극시와 마찬가지로 강력하다. 이러한 관찰들은 상당히 의미 있는 것으로 IL-13의 분비는 IL-4의 분비에서처럼 IgE 의존성 활성화와 긴밀하게 연관되지 않는다. IL-3가 IL-13의 생산에 대해 강력한 자극제라는 사실은 또 다른 중요한 의미를 부여한다. 호염기구가 IL-13의 근원을 제공함으로써 비특이 IgE의 농도를 유지하는데 하나의 역할을 할 수도 있다. IL-3는 많은 종류의 세포 특히 호염기구의 발달에 중요한 성장 요소이기 때문에 진행 중인 염증반응이 없을 때라도 IL-13의 분비를 가능하게 할 수 있다. B세포가 IgE를 생산하는데 필요한 세포표면단백(cell surface protein)인 CD40 리간드를 호염기구가 표현한다는 사실이 이러한 개념을 뒷받침한다.

호염기구의 조직내 이동과 활성화에 대한 새로운 관점은 역시 IL-3, IL-5, 그리고 granulocyte-macrophage colony-stimulating factor(GM-CSF)와 같은 조혈 사이토카인의 작용이 역시 중요하다는 것이다. 이러한 Th2세포 유래 사이토카인의 표현이 아토피 개체의 항원유도 시 피부 후기반응에서 증가된다는 것이 Kay등에 의해서 확인되었다. 그리고 이러한 사이토카인이 호염기구의 이주를 촉진하는 것으로 생각된다. IL-3, IL-5 그리고 GM-CSF는 또한 IgE 의존성 활성화 혹은 platelet activating factor(PAF), C5a, 그리고 C3a에 의한 활성화 후에도 매개체

Table 3. The Relationship Between IL-4, IL-13 and Histamine Secretion by Human Basophils Activated with Various Stimuli

Stimulus	IL-4	IL-13	HR
Anti-IgE/Ag (100 ng/mL)	+	+	++
(10 ng/mL)	++	++	+
co-stimulation with			
IL-3	+++	+++	+++
HrHRF	+++	+++	+++
IL-3	-/+	+++	-/+
HrHRF	++	NT	++
FMLP	-/+	-/+	++
C5a	-/+	-/+	+
Ca ionophore	++++	++++	++
PMA	-	+++	+++

+ : represent relative response, NT : not tested

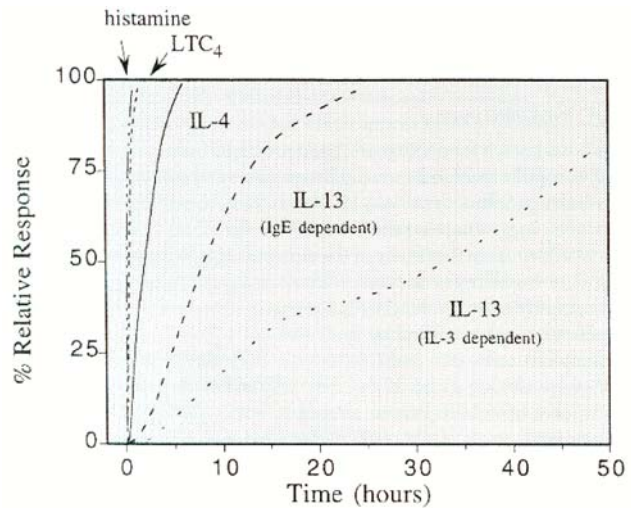


Fig. 1. Relative time course for mediator release and cytokine secretion by human basophils in response to immunoglobulin E(IgE)-dependent activation; comparison with the interleukin 13(IL-13) secreted following IL-3 stimulation. LTC₄, leukotriene C₄.

분비의 증가를 유도한다. 비슷한 특성이 신경성 사이토카인인 nerve growth factor(NGF)에도 있음이 추가로 확인되었다. 또한 최근에 알레르기 비염과 천식 환자에서 NGF치가 증가함을 관찰되었다.

IL-3, IL-5, GM-CSF 그리고 NGF는 IgE 매개에 의한 호염기구 히스타민 유리과 LTC₄의 분비를 증가시키는 측면에서 유사한 효력을 갖고, 동일한 아계(subfamily)의 수용체에 작용한다. 그러나 이들 중에서 IL-3가 가장 강력하다. IL-3로 전처치하거나 동시 배양할 경우 anti-IgE, C5a, C3a, major basic protein(MBP), 그리고 PAF와 같은 여러 면역학적 또는 비면역학적인 자극제에 의한 히스타민과 LTC₄의 분비가 유의하게 증가된다. 더욱이 Ochensberger에 의한 연구에서 IL-3로 전처치한 호염기구를 C5a로 자극을 하면 LTC₄의 합성이 수 시간 이상 계속적으로 유지되었다. 이것은 분명히 이전에 예측했던 것보다 더 오랜 기간동안 호염기구가 활성화 상태를 유지할 수 있다는 것을 나타낸다. 추가로 동일한 조건에서 즉 IL-3 전처치 후 C5a의 자극시 호염기구는 IL-4와 IL-13을 더 많이 생산할 수 있다고 보고되었다. 그러므로 이런 사이토카인이 염증세포의 유입을 촉진하는 VCAM-1에 대해 상향 조절 효과가 있기 때문에 후기반응을 호염기구가 증폭시킬 수 있다는 결론이 나온다.

호염기구의 히스타민 유리능과 사이토카인 분비와의 관계

IgE 매개성 자극에 대한 히스타민의 분비능이 호염기구의 IL-4 분비능에 가장 중요한 요소임은 이미 잘 알려져 있다. IgE 비의존성 분비촉진물질인 f-met 펩타이드(fMLP)와 C5a를 단독으로 처치 시 호염기구의 히스타민 분비를 강력히 유도하나 IL-4 분비는 거의 유도할 수 없다⁶⁾. 호염기구를 IgE 의존성 자극제로 활성화 시 알레르기성 개체와 비알레르기성 개체사이에 IL-4 단백질 생산량에는 별 차이가 없다. 최근 연구 결과에 따르면 인체 재조합 히스타민유리인자(human recombinant histamine-releasing factor, HrHRF)에 반응해서 정상적으로 히스타민을 유리시키는 소위 "IgE+"로 표현되는 호염기구가 역시 IL-4를 생산하고 그 동력학과 단백질의 농도가 anti-IgE 항체에 의해 유도된 것과 동일하다. 대조적으로 IgE 표현과 무관한 기전으로 호염기구 히스타민 유리를 유도하는 monocyte chemoattractant protein(MCP)-1은 IL-4 단백질 생산의 강력한 자극제가 되지 못한다¹²⁾. IgE 의존성 매개체 분비를 상향 조절하는 사이토카인, 케모카인, 그리고 성장 인자들이 있으며 이들 중 일부는 호염기구의 사이토카인 생산 분비를 조절할 수 있다는 가설을 생각할 수 있다. 그러나 최근까지는 단지 두 종류의 사이토카인 즉 IL-3와 HrHRF만이 호염기구의 사이토카인 분비를 유의하게 조절하는 것으로 확인되었다.

호염기구의 priming 효과와 IL-3

호염기구를 15분간 IL-3로 전처치(priming)하면 anti-IgE 항체나 항원에 의해 유도되는 IL-4 생산 분비를 약 30%에서 150%까지 증가시킬 수 있다. 또한 IgE 비의존성 분비촉진물질인 C5a로 자극한 배양액을 IL-3로 동시 자극해도 IL-4 생산이 증가된다. 그러나 그 속도에 있어서는 IgE 의존성 자극으로 활성화시킨 경우보다 훨씬 느리다¹³⁾. IL-3와는 대조적으로 IL-5, GM-CSF, 그리고 NGF와 같은 다른 사이토카인들은 호염기구의 priming시 히스타민과 LTC₄ 유리에 대한 증강효과는 있으나 IgE 의존성 IL-4 분비 증가는 유도하지 못한다.

호염기구의 IL-13 분비는 역시 IL-3에 의해 영향을 받고 대개 IgE 의존성 자극이 없이도 이런 사이토카인의 분비를 유도한다. IL-3와 같이 HrHRF도 FcεRI 교차결합에 의한 IL-4 및 IL-13 분비를 증가시킨다. 무엇보다 중요한 것은 소위 "IgE+"를 표현하는 호염기구의 반응에만 영향을 미치는 것으로 생각되던 HrHRF가 "IgE-"로 표현되는 호염기구에 의한 사이토카인의 분비도 조절한다는 것이다. 이런 사실은 HrHRF가 호염기구 표면의 특정 수용체를 통해서 작용을 하며 그 수용체는 알레르기 병소에 참여하는 많은 염증세포들에서도 표현된다¹⁴⁾.

호염기구의 분리와 약리학적 조절에 관한 연구

인체 호염기구의 생물학적 연구를 위해서 분리와 순도를 높이는 기법이 발달되었다. 호염기구는 단구나 림프구와 유사한 밀도(specific gravity; 1.070-1.080/mL)를 갖기 때문에 더 높은 밀도를 갖는 대부분의 과립구 및 적혈구와 분리하는데 이용될 수 있다(Fig. 2). 이런 방법들을 이용하여 1-20%의 호염기구 prep-

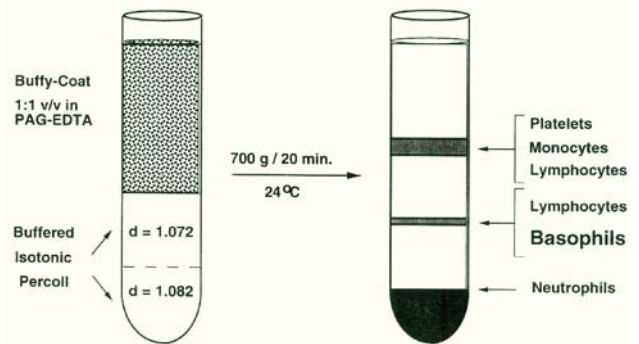


Fig. 2. Diagrammatic representation for preparing peripheral blood basophils by discontinuous Percoll density centrifugation. Leukocyte interface cells(buffy-coat) are prepared from whole blood by centrifugation. Diluted buffy-coat cell suspensions are layered onto buffered isotonic gradients consisting of two Percoll densities of 1.072 and 1.082 g/mL. Following centrifugation(700×g, 20 min, at 24°C), basophils band on the 1.082 g/mL Percoll interface and range from 5-50% purity.

aration을 만들게 된다. 더 높은 순도를 확보하려면 elutriation, affinity purification, negative selection after labeling antibody, 혹은 cell sorting등을 포함하는 추가적 단계가 요구된다. 순환 호염기구의 수가 많으면 그 만큼 호염기구의 분리 능력도 좋다.

호염기구의 형태학적 특성은 전형적으로 직경이 5내지 7 μm 이고 현저한 chromatin 침착을 나타내는 분절 핵을 갖고 있다 (Fig. 3). 다양하고 불규칙하며, 짧고 두꺼운 돌기가 세포 표면에 보인다. 호염기구는 세포질 내에 비반세포보다 수는 더 적으나 크기는 더 큰 electron dense granule을 갖고 비반세포에서 보이는 scroll(소용돌이)모양은 없다. 호염기구의 주된 proteoglycan인 히스타민과 chondroitin sulfate가 그 과립 안에 저장되어 있다. 세포 내에는 major basic protein(MBP), Charcot Leyden crystal protein(lysophospholipase), glycogen, 그리고 lipid body등이 확인되었다. 탈과립 시 호염기구는 그 과립을 표면에 돌출시키며 이 때 세포 표면의 모양이 변하게 된다.

호염기구의 기능에 대한 약리학적 조절 기전을 연구함으로써 알레르기 질환에서 중요한 약물을 개발하거나 매개체 분비와 사이토카인 생산에 중요한 신호전달 기전을 확인할 수 있다. 호염기구의 IL-4 분비에서나 히스타민의 유리에서 모두 스테로이드 약물이 억제 효과를 보이는데 IL-4의 분비는 단시간 내에 억제되지만 히스타민의 유리 억제를 위해서는 24시간의 장시간 전처치가 필요하다¹⁵⁾. 이러한 결과로 스테로이드가 매개체나 사이토카인 생산 분비과정에 관여하는 다양한 여러 경로에서 작용함을 알 수 있다. 스테로이드는 아주 다양하게 호염기구의 반응에 영

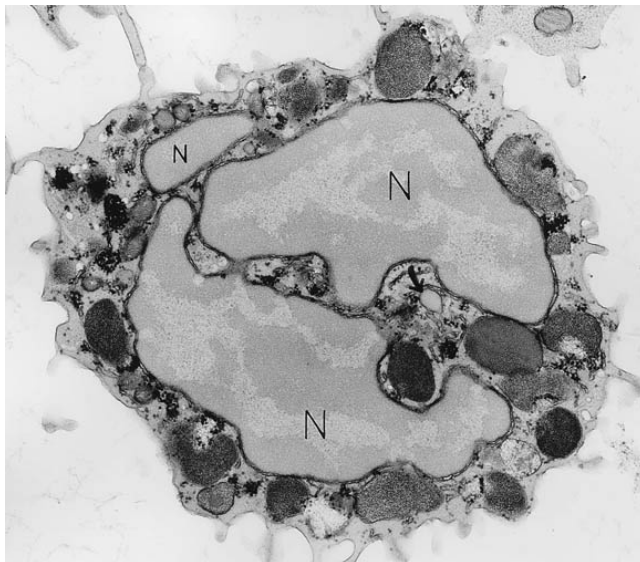


Fig. 3. Control human basophil shows a polylobed nucleus(N) and numerous large secretory granules filled with electron-dense particles. Another granule type is small, rests near the nucleus, and contains homogeneous, poorly electron-dense particles(arrow). Focal electron-dense particles and aggregates of glycogen are present in the cytoplasm(Original magnification 26,500).

향을 미치는데 그 이유는 IL-4의 생산은 활성화와 동시에 새로이 시작되는 반면 히스타민은 이미 만들어져 있다가 탈과립 과정에서 분비되기 때문이다. 스테로이드는 IgE 의존성 활성화 후 초래되는 IL-4 mRNA의 축적을 억제함으로써 호염기구의 IL-4 단백질 분비를 억제한다. 스테로이드는 또한 히스타민의 유리에 관여하는 단백질 mRNA 전사에도 작용한다. 그러나 이 단백질이 본질적으로 표현되기 때문에 히스타민이 활성화된 호염기구에서 빠르게 유리될 수 있다. 뿐만 아니라 이 히스타민의 분비 억제에 장시간이 필요한 것도 스테로이드 전처치 후 세포내 존재하는 그런 단백질의 파괴가 요구되기 때문으로 생각된다.

호염기구의 활성화와 세포내 신호전달 기전

치료적인 측면에서 흥미로운 것은 교차결합 자극만으로 활성화 시 호염기구에서 매개체와 사이토카인 분비를 조절하는 세포내 기전은 서로 매우 다르다. Anti-IgE 항체가 히스타민의 분비에 필요한 농도 이하에서도 호염기구의 IL-4 분비에는 강력한 자극제로 작용할 수 있다. 호염기구에서 활성화 후 일어나는 세포질 내 칼슘 변화를 연구한 결과 이런 자극으로 유도되는 IL-4 생산 기전의 차이를 부분적으로 설명할 수 있다. 하나는 칼슘 ionophore(즉 ionomycin 혹은 A23187)는 호염기구의 IL-4 생산을 유도하는 가장 강력한 자극제이다. 따라서 칼슘 이온은 호염기구에서 IL-4를 생산함에 있어 매우 중요한 역할을 할 것으로 보인다. 둘째는 C5a나 f-met 펩타이드에 의해 유도된 세포질 내 칼슘 반응은 호염기구에서 매우 짧은 기간에 일어난다. 사실, anti-IgE 항체의 칼슘 반응이 적정농도 이상에서는 적정농도 이하에서보다 더 짧게 일어난다¹⁶⁾. 매개체 유리와 사이토카인 분비 모두가 세포질내 칼슘의 변화를 요구하지만 후자가 칼슘의 증가를 유도하는 자극에 훨씬 더 의존적이다.

Protein kinase C(PKC) 활성화는 역시 호염기구의 IL-4 생산을 조절할 수 있다. 그러나 지금까지 연구 결과를 종합하면 이 효소의 활성화는 호염기구의 IL-4 생산을 저해하는 것으로 보인다. 예를 들면, PKC 활성도를 증가시키는 phorbol myristate acetate(PMA)가 호염기구의 탈과립 및 히스타민 분비를 완벽하게 유도하지만 IL-4 생산은 유도하지 못한다. 결국 호염기구는 매개체의 유리와 사이토카인의 생산에 있어서 서로 다른 신호전달 기전을 이용한다고 볼 수 있다.

가장 놀라운 사실은 PMA가 칼슘 유입을 차단하지 않고서도 칼슘 ionophore에 의해 유도되는 호염기구의 IL-4 생산을 하향적으로 조절할 수 있다는 것이다. 이런 효과는 staurosporin이나 bisindolylmaleimide같은 PKC 억제제의 처리로 완벽히 차단할 수 있으며 칼슘의 유입과 PKC 활성화가 여러 매개체의 분비 기전에 서로 복잡하게 얽혀 상호작용을 한다고 생각된다. 비록 림프구에서의 연구 결과이긴 하지만 IL-4 생산 기전에 전사인자 NF κ B와 nuclear factor of activated T cell(NFAT)이 경쟁적으로 작용한다¹⁷⁾. PMA에 의한 활성화시 초래된 NF κ B 결합이

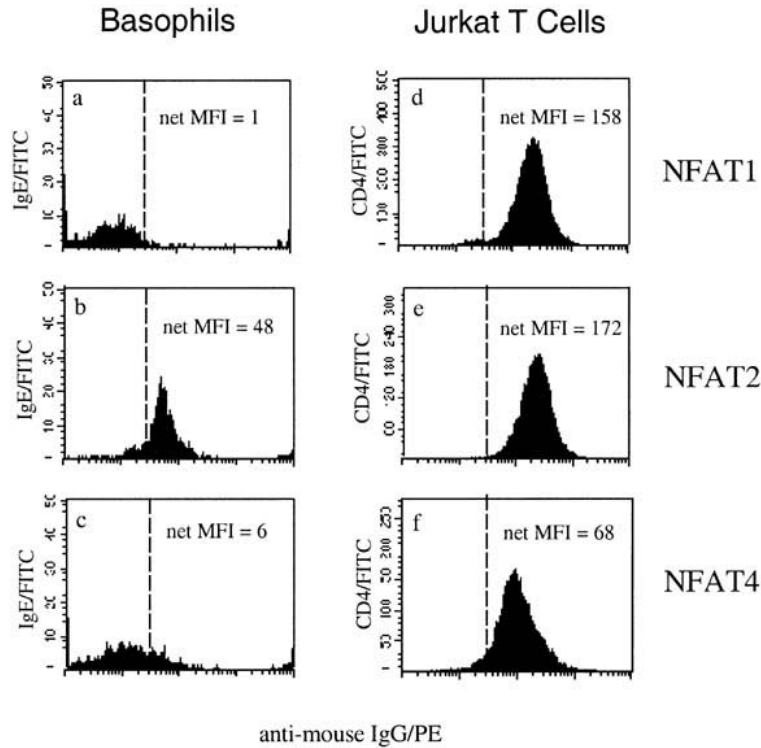


Fig. 4. Two-color flow cytometry for intracellular staining of NFAT in human basophils and Jurkat T cells(representative histograms). (a) through (c) show staining for NFAT1, NFAT2, and NFAT4, respectively, in basophils gated with anti-IgE/FITC. The net mean fluorescence intensity(netMFI) values are shown for each histogram. PE : phycoerythrin.

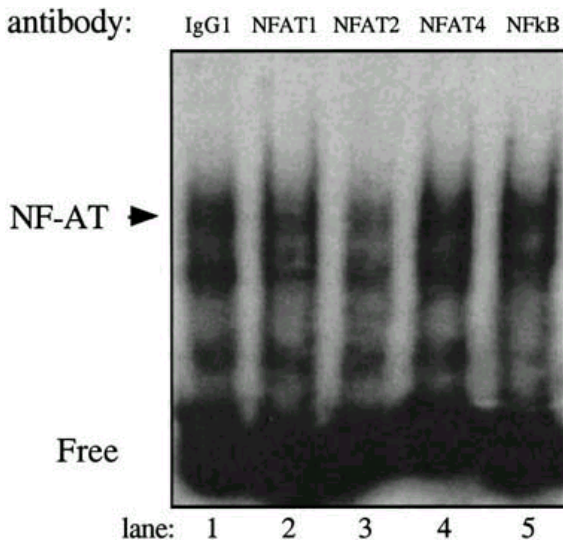


Fig. 5. IgE-mediated IL-4 promoter binding is inhibited by monoclonal anti-NFAT2. Pooled nuclear lysates from activated basophils(>98% purity) were incubated with IL-4 probe. Isotype control and mAbs to NFAT1, NFAT2, NFAT4, and NF κ B were then added to lysate-probe aliquots and incubated for an additional 20 minutes. Electrophoretic mobility shift assay results indicate a qualitative reduction in the formation of the DNA-probe complexes with the anti-NFAT2 antibody.

IL-4 촉진자(promotor) 활성도의 감소를 초래하며 호염기구도 NFAT 단백을 보유하며(Fig. 4), 그것이 IL-4 생산 기전에 주된 역할을 하며 특히 NFAT2가 관여함(Fig. 5)이 최근 저자들에게 의해서 보고되었다¹⁸⁾. 이처럼 PKC 활성화가 NF κ B를 활성화시키고 IL-4 촉진자 부위에서 NFAT과 경쟁함으로써 호염기구의 IL-4 생산을 감소시킨다고 가정할 수 있다(Fig. 6).

림프구 연구에서는 cyclosporine(CsA)과 FK506가 칼슘 calcineurin 의존성 인자와 NFAT의 활성화와 핵내 전위를 차단하여 IL-2, IL-4, 그리고 TNF- α 를 포함하는 여러 사이토카인 유전자의 전사를 억제한다¹⁹⁾. 이미 기술한 것과 같이 칼슘은 호염기구에 의한 IL-4 단백질의 생산에 중요한 역할을 한다. FK506와 CsA는 호염기구의 IL-4 생산을 억제함에 있어서 히스타민 유리의 억제보다 약 100배 정도 강력하다.

결론

사람의 호염기구는 성장과 발달 등 여러 특징이 호산구와 가장 연관성이 높다. 두 세포 유형은 현저히 유사한 표면 표식자를 갖으며 알레르기 염증을 동반하는 다양한 질환의 경과 동안에 나란히 침윤되고 그 반응에 직접 참여한다. 그럼에도 불구하고 호염기구는 그 형태학적 측면과 매개체 분비 유형, 그리고

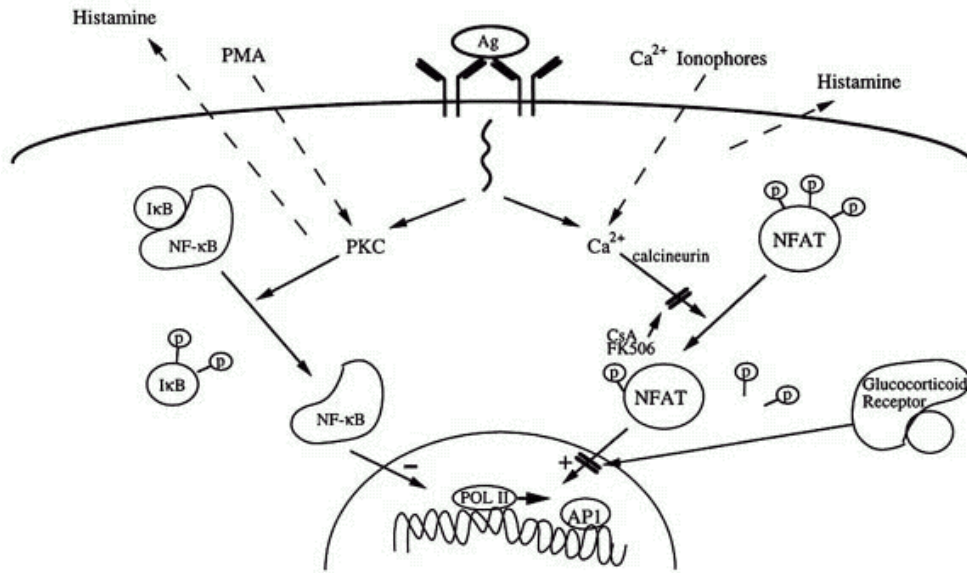


Fig. 6. Oversimplified scheme of intracellular signals regulating IgE-dependent generation of IL-4 in human basophils. Antigen binds specific IgE on the cell membrane, resulting in Fc ϵ RI cross-linking. Low-level cross-linking causes a prolonged calcium response that is likely important in activating calcium-dependent calcineurin, resulting in dephosphorylation and activation of cytosolic NFAT. Calcium ionophores, such as ionomycin, also activate NFAT independent of receptor signaling. Cyclosporine and FK-506 prevent this activation by blocking activation of calcineurin. Translocation of dephosphorylated NFAT to the nucleus has a positive effect on transcription of IL-4. Rapid inhibitory effects of glucocorticoids on generation of IL-4 may occur by affecting this pathway. In contrast, high-level cross-linking causes a short-lived calcium response but results in activation of PKC, which is associated with histamine release. PKC is also important in activation of cytosolic NF κ B by promoting dissociation of its inhibitory component, I κ B. Phorbol esters, such as PMA, bypass membrane signaling to directly activate PKC. Activated NF κ B translocates to the nucleus and has an inhibitory role in generation of IL-4.

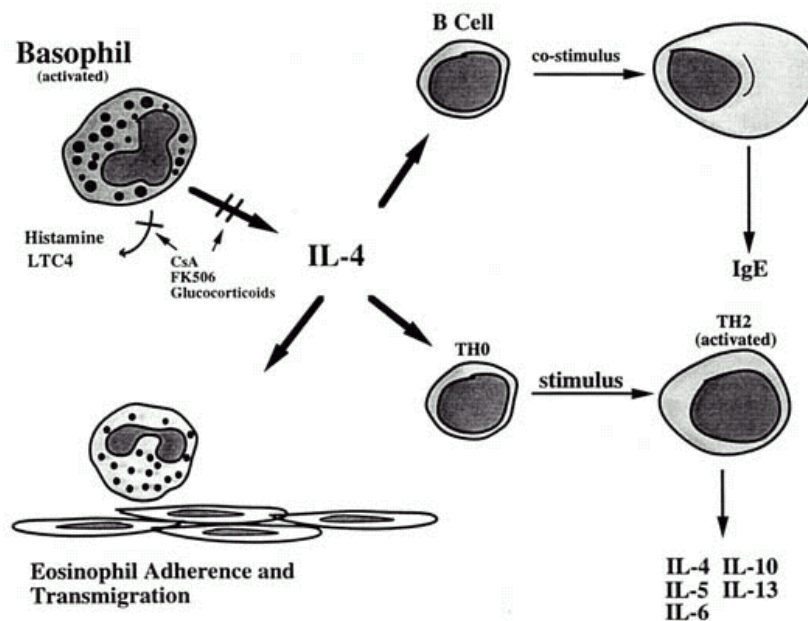


Fig. 7. Diagrammatic representation of how basophil-derived IL-4 could potentially influence immune responses of other cell types that participate in allergic inflammation. Isotype switching to IgE in B cells is mediated by effects of IL-4. Development of Th2-like lymphocytes from Th0-like cells is also influenced by IL-4 activity. Finally, IL-4 has an important role in upregulating expression of adhesion molecules, such as vascular cell adhesion molecule-1, which help facilitate selective transendothelial migration of several cell types, particularly eosinophils. Glucocorticoids, cyclosporine, and FK506 are all potent inhibitors of IL-4 secretion by basophils, although they have modest inhibitory activity against histamine release and leukotriene formation.

FcεRI-IgE 매개성 반응에의 관여 등 비만세포와도 닮은 점이 있다. 미래의 연구는 호염기구, 비만세포 그리고 호산구 사이의 알레르기 염증에서의 상호작용과 상대적 역할에 초점을 맞추어 야할 것으로 생각된다.

결론적으로 호염기구는 조직 병소에 침윤하며 IL-4나 IL-13 과 같은 염증전구 사이토카인을 분비함으로써 알레르기 질환의 병리 기전에 기여하며 진행되는 알레르기 반응에서 중요한 역할을 한다. 호염기구가 항원에 노출 후 수 시간 내에 생산되는 IL-4 단백질의 확실한 원천일 수 있다는 연구 결과들이 많다. 이처럼 호염기구가 생산하는 사이토카인은 VCAM-1과 같은 유착 분자들을 상향조절하고 이어서 호산구나 림프구의 침윤을 유발 하여 염증 반응에서 Th2 세포의 발달을 유도할 수 있다(Fig. 7). 호염기구의 사이토카인 분비를 조절하는 기전을 이해함으로써 중요한 치료적 발전에 기여할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) Brunner T, Heusser CH, Dahinden CA. Human peripheral blood basophils primed by interleukin 3(IL-3) produce IL-4 in response to immunoglobulin E receptor stimulation. *J Exp Med* 1993;177:605-11.
- 2) Schroeder JT, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. The role of the basophil in allergic inflammation. *Allergy* 1995; 50:463-52.
- 3) Gibbs BF, Haas H, Wolff HH, Grabbe J. Early IgE-dependent release of IL-4 and IL-13 from leukocytes is restricted to basophils: a comparison with other granulocytes and mononuclear cells. *Inflamm Res* 2000;49:S9-10.
- 4) Plaut M, Pierce JH, Watson CJ, Hanley HJ, Nordan RP, Paul WE. Mast cell lines produce lymphokines in response to cross-linkage of Fc epsilon RI or to calcium ionophores. *Nature* 1989;339:64-7.
- 5) Wodnar-Filipowicz A, Heusser CH, Moroni C. Production of the haemopoietic growth factors GM-CSF and interleukin-3 by mast cells in response to IgE receptor-mediated activation. *Nature* 1989;339:150-2.
- 6) Schroeder JT, MacGlashan DW Jr, Kagey-Sobotka A, White JM, Lichtenstein LM. Cytokine generation by human basophils. *J Allergy Clin Immunol* 1994;94:1189-95.
- 7) Li H, Sim T, Alam R. IL-13 released by and localized in human basophils. *J Immunol* 1996;156:4833-8.
- 8) Li H, Sim T, Grant J, Alam R. The production of macrophage inflammatory protein-1α by human basophils. *J Immunol* 1996;157:1207-12.
- 9) Ochensberger B, Daepf G-C, Rihs S, Dahinden CA. Human blood basophils produce interleukin-13 in response to IgE-receptor-dependent and independent activation. *Blood* 1996; 88:3028-37.
- 10) Gibbs BF, Haas H, Falcone FH, Albrecht C, Vollrath IB, Noll T, et al. Purified human peripheral blood basophils release interleukin-13 and preformed interleukin-4 following immunological activation. *Eur J Immunol* 1996;26:2493-8.
- 11) Schroeder JT, MacGlashan DW Jr, Kagey-Sobotka A, White JM, Lichtenstein LM. The IgE-dependent IL-4 secretion by human basophils: the relationship between cytokine production and histamine release in mixed leukocyte cultures. *J Immunol* 1994;153:1808-18.
- 12) Schroeder J, Lichtenstein L, MacDonald S. An IgE-dependent recombinant histamine-releasing factor induces IL-4 secretion from human basophils. *J Exp Med* 1996;183:1265-70.
- 13) Ochensberger B, Rihs S, Brunner T, Dahinden C. IgE-independent interleukin-4 expression and induction of a late phase of leukotriene C4 formation in human blood basophils. *Blood* 1995;86:4039-49.
- 14) Schroeder JT, Lichtenstein LM, MacDonald SM. Recombinant histamine-releasing factor enhances IgE-dependent IL-4 and IL-13 secretion by human basophils. *J Immunol* 1997;159:447-52.
- 15) Schroeder JT, MacGlashan DW Jr, MacDonald SM, Kagey-Sobotka A, Lichtenstein LM. Regulation of IgE-dependent IL-4 generation by human basophils treated with glucocorticoids. *J Immunol* 1997;158:5448-54.
- 16) MacGlashan DW Jr, Guo CB. Oscillations in free cytosolic calcium during IgE-mediated stimulation distinguish human basophils from human mast cells. *J Immunol* 1991;147:2259-69.
- 17) Casolaro V, Georas S, Song Z, Zubkoff I, Abdulkadir S, Thanos D, et al. Inhibition of NF-κB-dependent transcription by NF-κB: implications for differential gene expression in T helper cell subsets. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:11623-7.
- 18) Schroeder JT, Miura K, Kim HH, Sin A, Cianferoni A, Casolaro V. Selective expression of nuclear factor of activated T cells 2/c1 in human basophils: Evidence for involvement in IgE-mediated IL-4 generation. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:507-13.
- 19) Rao A. A transcription factor required for the co-ordinate induction of several cytokine genes. *Immunol Today* 1994; 15:274-81.