

귤응애에 의한 알레르기 질환 (IgE 매개 기관지 수축)의 발생 기전 연구

이근화 | 제주대학교 의학전문대학원
환경보건센터
E-mail : yomust7@cheju.ac.kr

1. 서론

귤응애(학명: *Panonychus citri*, 영문명: citrus red mite)는 거미강(Arachnida), 응애목(Acarina), 응애과(Tetranychidae)에 속하는 해충이다. 귤응애(*P. citri*)는 감귤 잎과 과실을 흡즙 하여 엽록소를 파괴시킴으로써 과실의 착색을 지연시키거나 조기낙엽을 촉진한다. 귤응애는 또한 인체에 감염되어 알레르기 비염 및 천식과 같은 알레르기 질환을 일으키는 제주도 특이적인 알레르겐으로 알려져 있다.

알레르기 질환은 1형 과민반응(type I hypersensitivity reaction)으로서 알레르겐에 의해서 생성된 면역글로불린 E(IgE)가 매개된 T_H2 면역 반응으로 알레르기 염증반응과 기관지 수축을 유발한다.

본 연구에서는 귤응애가 어떠한 분자생물학적 기전으로 T_H2 면역 반응에 중요한 역할을 하는 IgE를 생성하는지 인간 말초혈액 단핵 세포(human Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMCs)와 $CD4^+T$ 세포를 이용하여 연구하였다.

귤응애 추출물(*P. citri* extract)을 PBMCs나 $CD4^+T$ 세포에 넣고 배양 시킨 후 T_H2 면역 반응에 중요한 역할을 하는 가슴샘 버팀질 림프구형성소(Thymic stromal lymphopoietin, TSLP), IL-4, IgE를 측정하였으며 TSLP, IL-4가 귤응애에 의한 IgE생성에 중요하다는 사실을 밝혔다.

TSLP는 IL-17계열의 사이토카인(cytokine)으로 림프구(lymphocyte) 발달과 관련 있는 인터루킨(interleukin)으로 알려져 있다. 최근 연구결과에 의하면 Derp1과 같은 집먼지 진드기 항원에 의한 알레르기질환 유발시 TSLP는 Keratinocytes 혹은 호염기성 세포(basophils)와 같은 상피 세포에서 생성되어 T_H2 면역 반응을 일으키는 것으로 알려져 있다.

IL-4는 T_H2 세포로 분화 될 때나, IgG1, IgE로의 아이소타입 전환(isotype switching)을 유도하는 것으로 알려져 있다.

2. 연구결과

2.1. 귤응애 추출물은 TSLP, IgE의 생성을 유도한다.

PBMCs에 귤응애 추출물을 넣고 배양시 IgE의 농도에 대해서 효소면역측정법(ELISA)으로 확인 하였다. 측정 결과 귤응애 추출물을 PBMCs에 넣고 배양시 총 IgE의 농도는 시간이 지날수록 증가하여 7일째 IgE의 생성이 최대가 되었다(그림 1A). TSLP의 경우도 총 IgE와 마찬가지로 시간이 지날수록 계속 증가하였으며 6일째 농도가 최고가 되었다(그림 1B).

TSLP의 유전자수준의 발현은 실시간 연쇄중합

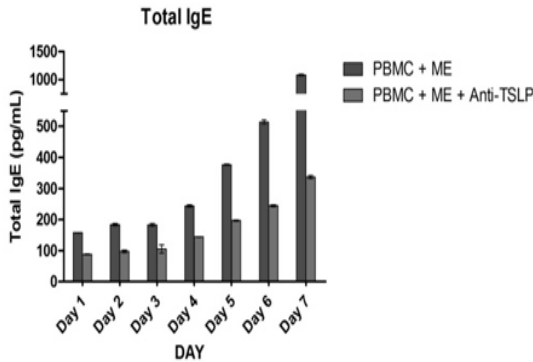


그림 1A.

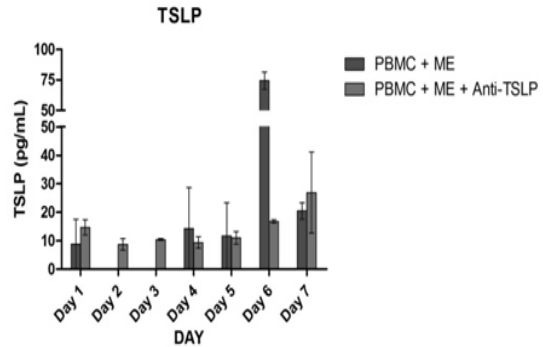


그림 1B.

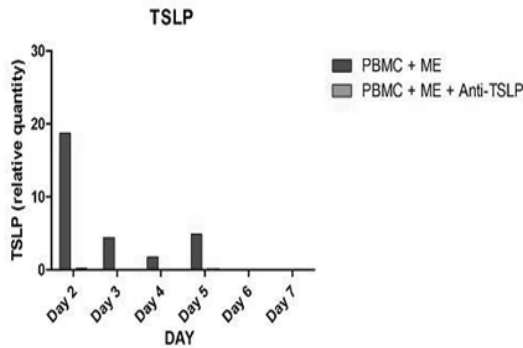


그림 1C.

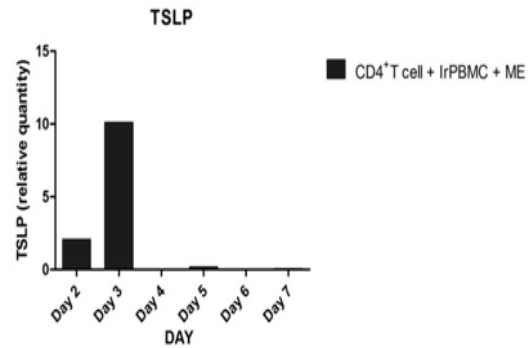


그림 2A.

* PBMC: peripheral blood mononuclear cells,
* Anti-TSLP: anti-human TSLP antibody,

* ME: *Panoychus citri* (citrus red mite)'s extract,
* IrPBMC Irradiated human peripheral blood mononuclear cells

반응(real-time PCR)을 이용하여 확인하였다. 확인 결과 그림 1C에서 보는바와 같이 배양 2일째부터 증가하여 5일째 유전자 발현이 최고가 되었으며 CD4⁺T 세포연구에서는 2일째부터 증가하여 3일째 발현량이 최고가 되었다(그림 2A).

2.2. 귤응애 추출물에 의해서 생성된 TSLP는 IL-4를 생성한다.

IL-4는 naive CD4⁺T 세포를 T_H2 세포로 분화시키거나 IgG1, IgE로의 아이소타입 전환에 중요한

역할을 하는 사이토카인이다.

IL-4의 유전자 발현과 생성은 귤응애 추출물로 배양한 PBMCs, CD4⁺T 세포에서 ELISA 및 real-time PCR을 이용하여 확인하였다. 확인 결과 IL-4 농도는 귤응애 추출물을 넣고 배양시 계속 증가하여 배양 6일째 최고 농도가 되었으며(그림 1D), IL-4의 유전자 발현은 TSLP 유전자가 발현된 후 4일에서 5일까지 발현량이 증가가 하다가 6일부터는 감소되었다(그림 2B). 이러한 연구결과는 귤응애에 감염시 TSLP가 먼저 생성되고 그 후에 IL-4가 생성된다고 볼 수 있는 결과이다.

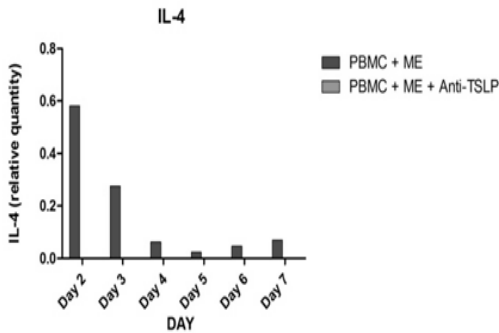


그림 1D.

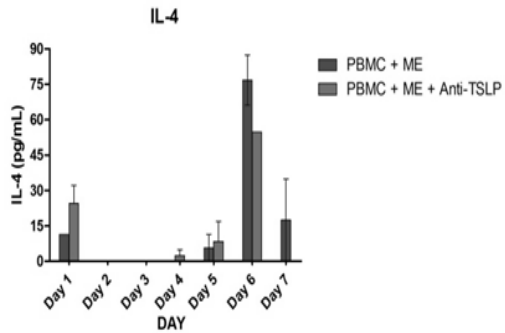


그림 2B.

2.3. 굴응에 추출물에 의한 IL-4, IgE 생성시 TSLP의 역할.

IL-4, IgE 생성시 TSLP의 역할을 확인하기 위하여 PBMCs에 굴응에 추출물 및 TSLP의 기능을 무력화시킬 수 있는 anti-human-TSLP antibody를 넣고 배양 하였다.

배양 후 IgE와 IL-4의 농도를 측정하였다. 측정 결과 IgE의 농도가 급격히 감소되었으며(그림 1A), IL-4 농도 또한 감소되었으며(그림 1D), IL-4의 유전자는 발현이 되지 않았다(그림 1E).

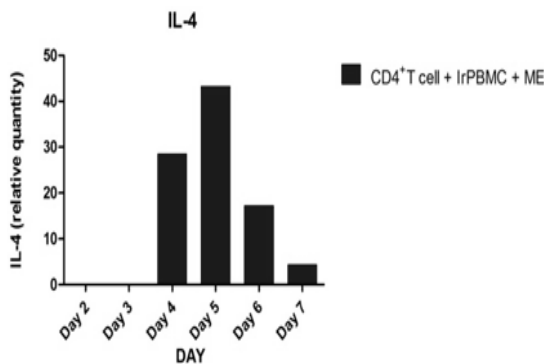


그림 1E.

- * PBMC: peripheral blood mononuclear cells,
- * ME: Panoychus citri (citrus red mite)s extract,
- * Anti-TSLP: anti-human TSLP antibody,
- * IrPBMC Irradiated human peripheral blood mononuclear cells

따라서 굴응에에 의해서 생성된 TSLP는 IL-4, IgE 생성에 중요한 역할을 한다고 볼 수 있다.

3. 고찰

굴응에는 감귤 잎에 감염될 수 있으며 인체에 감염시 알레르기비염과 천식과 같은 T_H2 면역 반응을 일으키는 제주도 특이적인 알레르겐으로 알려져 있다. 그러나 굴응에에 의한 T_H2 면역 반응기전 연구는 아직까지 되어있지 않다.

본 연구에서는 굴응에 의해서 생성되는 IgE가 TSLP, IL-4에 의해서 생성된다는 사실을 PBMCs, CD4⁺T 세포 연구를 통하여 확인하였다.

굴응에 추출물을 PBMCs에 넣고 배양시 TSLP, IL-4유전자의 발현 및 생성이 증가되었으며 IgE의 생성도 증가 되었다. 그러나 TSLP 기능을 중화시킬 수 있는 anti-human TSLP antibody를 넣고 배양시 IL-4 및 IgE의 생성이 급격히 감소되었다. 이는 TSLP에 의해서 IL-4와 IgE가 생성된다는 사실을 보여주는 결과로 TSLP가 굴응에에 의한 T_H2 면역 반응에 중요한 역할을 함을 보여주는 결과이다.

결론적으로 본 연구에서는 굴응에에 의한 T_H2 면역반응(IgE 매개 기관지 수축; IgE-mediated broncho-constriction)에서 TSLP가 중요한 역할을 하고 있음을 보여준다.

- 참고문헌 -

1. Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne RA. 2007, Kuby Immunology 6th edition. Freeman, pp 307, 3845.
2. Sokol CL, Barton GM, Farr AG, Medzhitov R. 2008, A mechanism for the initiation of allergen-induced T helper type 2 responses. *Nat Immunol.* 9(3):3108.
3. Min B, Paul WE. 2008, Basophils: in the spotlight at last. *Nat Immunol.* 9(3):2235.
4. Kim YK, Son JW, Kim HY, Park HS, Lee MH, Cho SH, Min KU, Kim YY. 1999, New occupational allergen in citrus farmers: citrus red mite (*Panonychus citri*). *Ann Allergy Asthma Immunol.* 82(2): 2238.
5. Liu YJ. 2006, Thymic stromal lymphopoietin: master switch for allergic inflammation. *J Exp Med.* 203(2):26973.
6. Omori M, Ziegler S. 2007, Induction of IL-4 expression in CD4(+) T cells by thymic stromal lymphopoietin. *J Immunol.* 178(3):1396404.
7. Livak KH, Schmittgen TD. 2001, Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ Ct method. *Methods.* 25(4):4028.
8. Swain SL, Weinberg AD, English M, Huston G. 1990, IL-4 directs the development of Th2-like helper effectors. *J Immunol.* 145(11):3796806.
9. Ghaemmaghami AM, Gough L, Sewell HF, Shakib F. 2002, The proteolytic activity of the major dust mite allergen Der p 1 conditions dendritic cells to produce less interleukin-12: allergen-induced Th2 bias determined at the dendritic cell level. *Clin Exp Allergy.* 32(10): 146875.
10. Finkelman FD, Urban JF Jr. 1992, Cytokines: making the right choice. *Parasitol Today.* 8(9): 3114.
11. Liu YJ, Soumelis V, Watanabe N, Ito T, Wang YH, Malefyt Rde W, Omori M, Zhou B, Ziegler SF. 2007, TSLP: an epithelial cell cytokine that regulates T cell differentiation by conditioning dendritic cell maturation. *Annu Rev Immunol.* 25:193219.
12. Hong J, Li N, Zhang X, Zheng B, Zhang JZ. 2005, Induction of CD4+CD25+regulatory T cells by copolymer-I through activation of transcription factor Foxp3. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102(18): 644954.
13. Le Gros G, Ben-Sasson SZ, Seder R, Finkelman FD, Paul WE. 1990, Generation of interleukin 4 (IL-4)-producing cells in vivo and in vitro: IL-2 and IL-4 are required for in vitro generation of IL-4-producing cells. *J Exp Med.* 172(3): 9219.
14. Swain SL, Weinberg AD, English M, Huston G. 1990, IL-4 directs the development of Th2-like helper effectors. *J Immunol.* 145(11): 3796806.
15. Soumelis V, Reche PA, Kanzler H, Yuan W, Edward G, Homey B, Gilliet M, Ho S, Antonenko S, Lauerma A, Smith K, Gorman D, Zurawski S, Abrams J, Menon S, McClanahan T, de Waal-Malefyt Rd R, Bazan F, Kastelein RA, Liu YJ. 2002, Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP. *Nat Immunol.* 3(7): 67380.
16. Gilliet M, Soumelis V, Watanabe N, Hanabuchi S, Antonenko S, de Waal-Malefyt R, Liu YJ. 2003, Human dendritic cells activated by TSLP and CD40L induce proallergic cytotoxic T cells. *J Exp Med.* 197(8): 105963.
17. Seder RA, Paul WE, Dvorak AM, Sharkis SJ, Kagey-Sobotka A, Niv Y, Finkelman FD, Barbieri SA, Galli SJ, Plaut M. 1991, Mouse splenic and bone marrow cell populations that express high-affinity Fc epsilon receptors and produce interleukin 4 are highly enriched in basophils. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 88(7): 28359.