

장관면역에 있어서 레티노인산의 역할

Role of Retinoic Acid in the Gut Mucosal Immunity

손동화 | 기능성연구단

Dong-Hwa Shon | Functional Food Technology Research Group

요 약

장관은 우리 몸에서 가장 넓은 표면적을 가지고 있으며, 외부로부터 침입하는 이물에 대항하여 면역세포의 배치가 필수적이다. 항원과 만난 적이 없는 naive lymphocyte는 임파절 등 2차 임파기관의 수지세포(dendritic cell)가 임파구에 항원을 제시할 때 레티노인산(retinoic acid)을 생산하여 제공함으로써, 소장 조직에 특이적으로 임파구가 호밍(homing)하는 능력을 부여한다. 한편, 장에 있어서는 식품항원에 대한 면역반응을 억제할 필요가 있는데, RA는 T세포의 기능분화를 억제하여 면역관용의 성립에도 관여함이 밝혀졌다.

서 론

FAO는 세계의 기아인구가 2009년도에 10억을 돌파했다고 발표하였다. 기아에 의한 사망자는 연간 약 1,000만 명에 이른다. 그 반수 이상은 5세 이

하의 영유아이고, 6초에 1명씩 죽어가고 있다. 영양 부족은 감염증에 대한 저항성을 현저하게 저하시킨다. 사망에 이르게 하는 감염증으로는 '지속성 설사'가 첫째이고 다음으로 말라리아, 폐렴, 홍역 등이다. 1986년에 Sommer 등은 비타민 A 보급이 설사증상을 완화하여 어린이의 사망률을 저하시킨다고 보고하였다. 이것은 다음 여러 연구자들에 의하여 확인되었으며, 특히 5세 이하의 영유아에 대하여 효과가 현저함이 밝혀졌다. 1990년대 후반에 이르러 UNICEF도 비타민 A 보급 프로그램을 추진하기 시작하였다. 비타민 A 보급은 홍역의 감염 저하에도 유의한 효과를 나타내지만, 폐를 포함한 하부 호흡기의 급성감염증 등에 대해서는 거의 효과가 없다. 즉, 비타민 A 보급에 의한 사망률의 저하는 주로 소화기계에서의 효과에 의한 것으로 생각되었다. 그러나 이런 효과가 어떤 기전에 의한 것인가는 근년까지 명확한 답을 얻을 수 없었다. 저자들은 이 의문에 대하여 비타민 A 대사산물인 레티노인산(retinoic acid, RA)이 소장조직에 T세포를 배치하는데 필수적인 인자임을 발견하였다. 그리고 점막면

역에 중요한 IgA 항체생산 세포를 장에 배치하는 데에도 RA가 결정적인 역할을 담당함이 분명해졌다. 게다가 최근 RA가 면역반응의 억제와 면역관용에도 중요한 역할을 담당하고 있음이 밝혀졌다.

비타민 A의 생리적 역할- 종래의 지식

비타민 A의 다양한 생리적 역할 가운데 광감수성 분자로써의 역할이 대사산물 '11-cis-레티날'이 담당하고 있는데, 그 외에 많은 역할은 RA가 담당하고 있다. 면역계에서 RA는 흉선세포나 T세포의 활성화 유도사의 억제, 조력T세포 1형(Th1)의 분화 억제, 동 2형(Th2)의 분화촉진 등의 효과를 나타낸다. Th2 기능의 촉진에 의하여 Th2 cytokine인 IL-5나 IL-6에 의존하는 IgA 항체생산을 증가하여 장관 면역에 기여한다. 한편, 비타민 A 결핍상태에서는 Th1 cytokine인 IFN- γ 의 생산이 항진되고 Th2 기능은 역으로 약화되어 IgA 항체생산이 저하하는 경향이 보고되었다. 또한 RA는 장관점막상피를 포함한 상피의 대사회전을 촉진함으로써 외부에 대한 barrier 기능의 보전에도 기여하고 있다. 단지 비타민 A 결손 생쥐일지라도 SPF 조건하에서 사육하는 한에서는 설사나 체중감소 등의 증상이 생후 2~3개월 내에는 조금밖에 발견되지 않는다.

비타민 A의 섭취와 결손 생쥐의 제작

비타민 A는 retinyl ester나 provitamin A 등의 형

태로 섭취되어 주로 간장에서 retinyl ester의 형태로 저장된다. 간장으로부터 필요에 의하여 기본형 레티놀로 혈중에 방출되어 혈중 레티놀의 농도는 거의 일정하게 유지된다(사람의 경우 1~3 μ M). 대부분은 레티놀 결합 단백질(RBP)에 결합하고 혈액순환에 의하여 몸의 각 조직에 운반된다. 레티놀은 세포 내에 들어가면 세포 내 레티놀 결합 단백질(CRBP)에 결합하여 세포 내에서 RA 등으로 변환되어 그 생리활성을 발휘한다(그림 1).

비타민 A 결손 생쥐의 제작에는 통상 태령 2주째부터 어미 생쥐에 비타민 A 불포함 사료를 계속 공급하고 이유 후에도 새끼 생쥐를 같은 사료로 약 2~3개월간 사육한다. 이 생쥐들에서는 소장점막 고유층의 T세포와 IgA 생산세포의 수가 현저하게 감소되어 있다. 그러나 폐의 점막조직에서 T세포의 분포에는 거의 영향이 없다. 이것은 영양불량 아동에게 비타민 A를 제공하면 설사증상은 완화하지만 폐 등의 급성감염증에는 효과가 없다는 조사결과와 잘 부합한다. 즉 T, B세포가 소장 조직에 이입되기 위해서는 비타민 A가 필요하다고 생각된다.

임파구의 조직으로의 이입과 호밍

일반적으로 임파구는 혈액과 함께 전신을 순환하여 때로는 임파절 등의 2차 임파기관으로 이입하여, 수지세포(dendritic cell, DC) 등의 항원제시세포가 제시하는 항원을 점검한다. Naive T세포의 경우, 거기서 항원수용체에 결합하는 항원이 발견되면 수출 임파관을 거쳐서 혈액순환계로 다시 돌아오는데, 이 과정을 반복할 뿐이어서 비 임파계 조직에는 이입되지 않는다. 하지만 2차 임파기관에

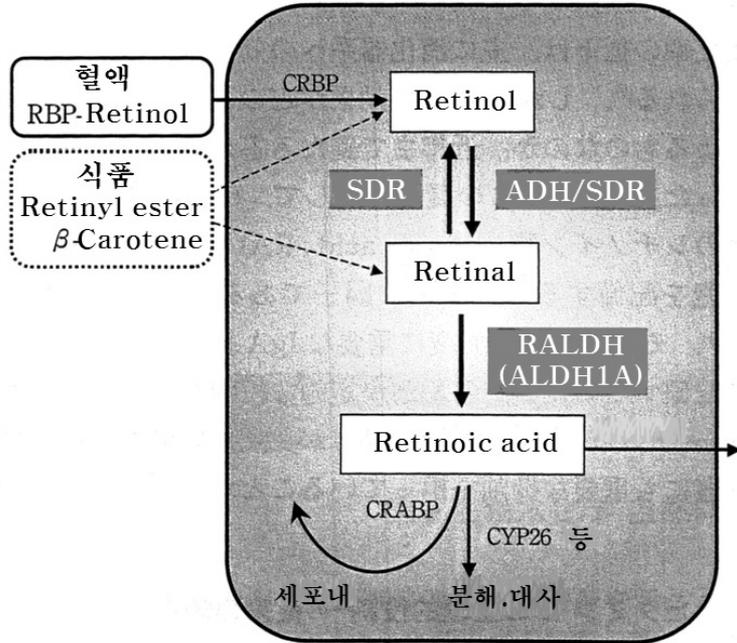


그림 1. 레티노인산(RA) 생성의 주요경로

비타민 A(레티놀)는 혈액 중에서 RBP에 결합하여 운반되어 표적세포 내에서 CRBP로 전달되고 ADH 또는 SDR에 의하여 레티날로 변환된다. 레티날은 RALDH에 의하여 RA로 변환되고 생산세포 자신 혹은 근방의 세포에 작용한다. RA는 CYP26 등에 의하여 분해된다.

서 항원과 만나 활성화를 거치면 effector/memory T세포로 되어 비 임파계 조직으로도 이입이 가능하게 된다. 다만 모든 조직으로 이행되는 것은 아니고 활성화의 장이었던 2차 임파기관이 소속하는 조직에 선택적으로 이입하는 경향이 있다. 장의 2차 임파기관인 장간막 임파절(mesentric lymph node, MLN)과 пей어관(Peyer's patch, PP)에서 항원자극을 받은 경우에는 소장조직에 선택적으로 이입하는 경향이 강하다. 한편, 피부를 담당하는 말초 임파절(peripheral lymph node, PLN, 턱밑,

겨드랑, 사타구니)에서 항원자극을 받은 T세포는 피부조직에 이입되는 경향이 있다. 이것은 항원침입부위에 그 항원에 특이적으로 반응하는 임파구를 보내주기 위한 합목적적인 기구라고 말할 수 있다. 임파구가 2차 임파계 조직으로 이입하는 현상 또는 항원자극을 받은 원래의 조직에 이입하는 현상을 호밍(homing)이라고 한다.

임파구의 호밍은 후모세혈관 세정맥에서 일어난다. 2차 임파기관에서는 고내피성 세정맥이라고 불리는 특별히 발달된 부위에서 일어난다. 임파구

는 이러한 내피세포상에 존재하는 세포접착분자와 chemokine에 의하여 자극을 받으면 내피세포의 사이를 빠져나가서 조직 내로 이입해 간다. 소장 조직으로 이입하는 경우 혈관내피세포 상에 발달한 접착분자 MAdCAM-1(mucosal addressin cell adhesion molecule-1)과 소장상피세포가 생산하여 주위로 확산하는 CCL25(TECK)가 관여한다. 이것들에 각각 특이적으로 결합하는 인테그린 $\alpha 4\beta 7$ 과 chemokine receptor CCR9의 세트가 임파구상에 발현하고 있는 것이 소장 조직에의 호밍에 필요하다. 이 세트를 소장특이적 호밍수용체라고 부르고, 장의 2차 임파기관에서 활성화된 T세포는 이 세트를 발현함으로써 소장으로의 호밍 특이성을 획득한다. 여기에는 DC가 중요한 역할을 수행하고 있으며 그 분자기구에 비타민 A가 관여하고 있다.

RA는 임파구가 소장으로 호밍하는 특이성을 부여한다

T세포 항원수용체(TCR) 등에 대한 항체를 이용하여 naive T세포를 활성화시키면, 피부로의 호밍에 관여하는 분자의 일부가 발현된다. 그러나 주요한 생리적 RA인 *all-trans*-RA를 nM 수준으로 첨가해두면, 그 발현이 억제되는 대신에 소장특이적 호밍 수용체의 발현이 유도된다. 레티놀과 레티날은 비생리적인 농도에서만 활성을 나타낸다. 또 비타민 A 결손 생쥐는 임파기관 내 $\alpha 4\beta 7$ effector/memory T세포도, 소장조직 내 T세포도 거의 보이지 않는다. 따라서 RA가 T세포에 소장으로의 호밍 특이성을 부여하는 생리적 인자로 생각되었다.

이 RA의 작용은 핵 내 수용체 RA receptor(RAR)

와 레티노이드 X receptor(RXR)의 heterodimer를 매개로 하고 있다. *All-trans*-RA는 생리적인 농도에서 RAR에 결합하는데 RXR에는 결합하지 않는다. RAR과 RXR의 양자에 결합하는 9-*cis*-RA는 *all-trans*-RA보다 약하나 같은 활성을 나타낸다. 다만, RXR의 리간드 결합은 $\alpha 4\beta 7$ 발현의 유도에는 반드시 필요하지는 않다. 더욱이 9-*cis*-RA는 생리적인 RXR 리간드라고 생각해 왔으나, 생체 내에서의 존재 유무는 불명확하다.

DC에 의한 RA의 생산

DC는 각 조직에서 항원을 포획하면 그 단편을 제시함과 동시에 임파절로 이동하여 임파구와의 만남을 유지한다. 장의 2차 임파기관에 존재하는 DC 중에는 RA 생산능력을 가진 것이 있으며, T세포에게 항원제시를 할 때 RA를 T세포에 제공함으로써 소장 호밍 특이성을 각인함을 Iwata 등이 발견하였다(그림 2). 그리고 이러한 DC가 B세포에 대하여도 같은 역할을 하며, 나아가 T세포 비의존성 IgA 항체생산을 촉진한다는 것이 Mora 등에 의하여 밝혀졌다. RA 생산의 주요 경로는 레티놀로부터 레티날을 거쳐서 RA까지 도달하는 것이다(그림 1). 레티놀로부터 레티날까지의 단계는 알콜디하이드로게나제(ADH)의 subfamily 혹은 short chain dehydrogenase/reductase(SDR) family의 효소가 촉매 한다. 거의 대부분의 세포가 이들 중에 적어도 하나를 발현하고 있으며 DC의 경우도 예외는 아니다. 한편, 레티날로부터 RA의 생산을 촉매하는 레티날 dehydrogenase(RALDH 혹은 ALDH1A)의 발현은 부위별로 한정되어 있

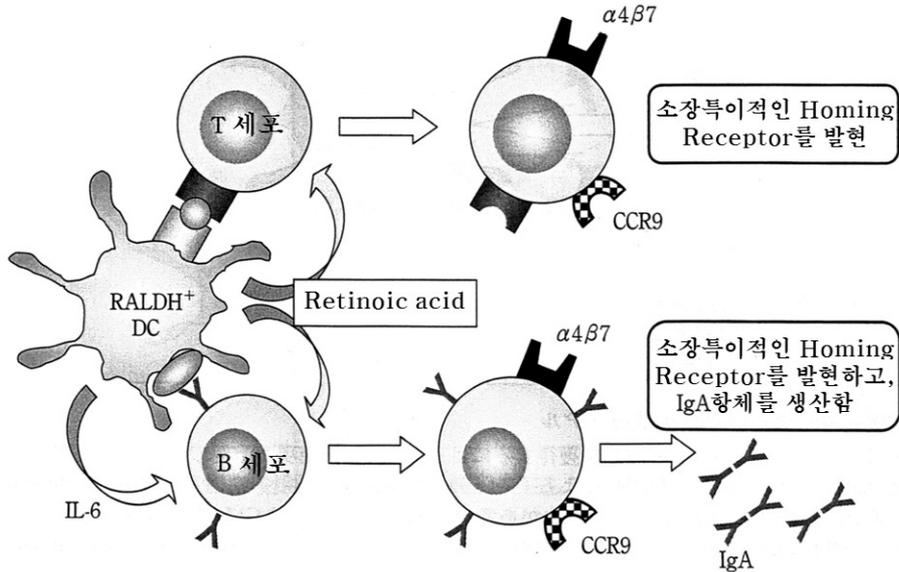


그림 2. RALDH⁺ 수지세포는 레티노인산(RA)을 생산하여 T, B세포에 소장특이적인 호밍 수용체의 발현을 유도하며, B세포의 IgA 항체생산을 유도한다.

RALDH를 발현하고 RA 생산능을 가진 DC는 항원 제시를 할 때 naive T, B 세포에 RA를 제공함에 의하여 α4β7과 CCR9를 특이적으로 발현시킨다. 이들 DC가 생산하는 IL-6 등의 cytokine은 RA와 함께 T세포 비의존성 IgA 항체 생산을 촉진한다. 또한 DC는 B세포에 intact 항원을 제시할 수 있다.

다. 피부를 담당하는 PLN이나 비장의 DC는 RALDH를 거의 발현하고 있지 않으나, MLN-DC와 PP-DC는 RALDH2(ALDH1A2) isoform을 발현하여 RA를 생성할 수 있다. 최근 Yokota 등이 확립한 ALDH 활성에 의존하여 형광색소로 변화하는 시약을 이용하여 개개의 DC에서 RALDH 활성을 검정하는 방법으로 조사한 결과, DC의 ALDH 활성의 대부분은 RALDH2에 의한 것이었다. 정상 MLN-DC의 약 30%, PP-DC의 약 10%가 ALDH 활성을 가지고 그 중에서도 높은 활성을 가지는 DC는 CD11c^{high}CD4^{-/low}CD8 α^{intermediate}CD11b⁻

^{/low}F4/80^{low/intermediate}CD45RB^{low}CD86^{high}MHCclass II^{high}B220⁺CD103⁺ 성숙형 DC임을 동정하였다. 의외의 사실은 피부를 담당하는 PLN의 DC 중에도 높은 ALDH 활성을 가진 RALDH2⁺ DC가 소수 존재하고 있었다. 여기에 덧붙여서 최근 RA 생산 DC가 피부에도 소수 존재함이 보고되었다. 더욱이 소장점막고유층의 세포에서는 그 활성이 해석되어 있지 않으나, RALDH2 mRNA를 발현하는 CD11c^{high}CD11b^{high}F4/80^{moderate}CD103⁺ DC가 존재하고 그 외 RALDH1과 RALDH2 mRNA를 발현하는 CD11b⁺CD11c⁻ 마크로파지의 존재도 보고되어 있다.

DC에 있어서 RA 생산능의 유도

소장 관련 조직의 DC는 어떻게 하여 RALDH를 발현할까? DC는 가역성이 높은 세포이고 소장조직의 환경인자가 RALDH 발현을 유도하였다고 생각된다. 몇몇 조직 및 단구유래의 DC에서 각각 핵 내 수용체 liver X 수용체(LXR) 자극 및 peroxisome proliferator-activated receptor(PPAR) γ 자극이 RALDH 발현의 유도에 관여하고 있음이 보고되었다. 그러나 이러한 자극은 정제된 생쥐 DC에서 RALDH2 mRNA의 발현을 수배 이상 증가시키지만 단백질 레벨에서는 현저한 RALDH 발현증강을 가져오지 않는다.

저자들은 소장조직에 존재하는 cytokine, eicosanoid 등 가운데에서 RALDH2 mRNA 발현유도인자를 탐색하여 ALDH 활성유도능을 검정하였다. 유의적인 mRNA 발현을 유도하는 인자라고 하더라도 그 레벨이 낮은 경우에는 유의적인 활성유도에는 이르지 못한다. 그리고 SPF 환경 하에서의 소장 관련 DC에서 보이는 정상적인 RALDH2 발현에 granulocyte-macrophage colony-stimulating factor(GM-CSF)가 주요한 역할을 담당하고 있음을 발견하였다(그림 3). IL-4와 IL-13도 같은 효과를 나타내었으며 GM-CSF와 상승작용을 나타내었는데, RALDH2의 발현에 필수적이 아님이 밝혀졌다. GM-CSF는 골수세포와 말초혈단구로부터 DC로의 분화유도에 널리 사용되고 있다. GM-CSF를 이용하여 생쥐 골수세포로부터 분화된 DC(BM-DC)는 RALDH2를 발현하고 있었다. 한편, fms-like tyrosine kinase 3 ligand (Flt3L)를 이용하여 분화를 유도한 BM-DC에는 발현되지 않았지만, GM-CSF, IL-4, TLR(toll-like receptor) 리간드로 자극하면 MLN-DC에서 발

견되는 것과 같이 높은 RALDH2 활성이 유도되었다. 간장 DC의 경우에는 TLR 자극을 제거하여도 높은 활성이 유도되었다. TLR 자극의 필요성은 DC의 성숙도와 상관이 있었다. TLR 리간드는 장내 미생물이 제공한다. 소장점막고유층의 DC를 TLR5 리간드인 편모 단백질 플라젤라로 자극하면 RALDH2 발현이 증강되었다. 또한 미숙 DC에 GM-CSF로 RALDH2 발현을 유도할 때 RA 자체 혹은 RAR 자극이 필수 보조요인으로써 관여한다. 실제 비타민 A 결손 생쥐는 MLN-DC의 RALDH2 발현이 저하하고 있다. 또 MLN에서는 RALDH1, RALDH2, RALDH3를 발현하는 stroma 세포가 DC의 RALDH2 발현을 보조하고 있음이 시사되었다. 점막상피도 RALDH1을 발현하고 있고 PP 등에서 최초의 RA를 제공하는 가능성이 있다. 이들 RA가 장 관련 조직에 독특한 RALDH2⁺ DC 유도 환경형성의 한 원인이 된다고 생각한다. 더욱이 MLN과 점막 고유층에는 정상적인 GM-CSF⁺ 세포의 존재가 확인되었다. 또한 DC와는 별도로 사람 호흡기구에서는 비만세포 유래 IL-3이 RALDH2 발현을 유도함이 보고되었다.

RA에 의한 유도형 Foxp3⁺ 억제형 T세포의 분화촉진

소장은 피부의 100~200배에 달하는 표면적으로 외부와 접하고 있고 병원체에 대응하는 면역계 세포가 배치되어 있다. 한편, 소장에서는 음식물로부터 영양을 흡수할 필요가 있다. 또한 소장하부와 대장의 내강에는 대량의 세균이 서식하고 있고 일부는 숙주의 정상적인 면역계 유지에 기여하고 있다. 즉, 장에서는 병원체에 대한 면역반응의 발동

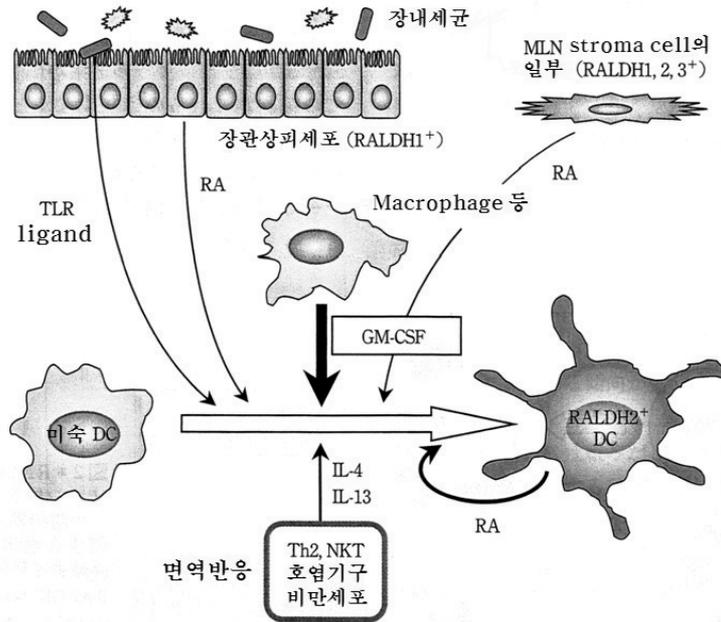


그림 3. 소장관련조직에서 레티노인산(RA) 생산 수지세포의 분화유도 모델

소장조직 또는 그와 관련되는 2차 림파기관에서 DC가 RA 생산능을 획득하는 데는 RALDH2의 발현이 중요하다. 그 발현에는 GM-CSF가 중요한 역할을 수행한다. 미숙 DC에서는 RA 자체가 GM-CSF에 의한 RALDH2 발현유도의 필수보조인자로 된다. 초기의 RA는 장상피세포 또는 MLN stroma 세포의 일부로부터 공급될 가능성이 있다. 이들 조직에는 GM-CSF 생산세포(마크로파지상 세포 등)가 존재한다. 소장에서의 면역반응에 동반하여 IL-4, IL-13이 생산되면 GM-CSF와 협조적으로 RALDH2 발현을 증강한다. 장내 세균 유래의 TLR 리간드는 GM-CSF에 의한 RALDH2 발현을 촉진한다.

준비를 하면서 동시에 음식물과 공생세균 등에 대한 면역반응의 제어가 필요하다. 실제 경구적으로 항원을 투여하면 정맥과 피부에 주사하는 경우와 다르게 면역관용이 유도되는 경우가 있다. 여기에는 조절성 T세포(regulatory T cell, Treg)가 관여한다고 생각된다. Treg에는 적어도 흉선세포로부터 직접 분화하는 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ naturally occurring Treg(nTreg)와 말초에서 naive CD4⁺ T세포로부터 항원자극에 의하여 분화 유도되는 inducible Treg(iTreg)가 있다. RA는 TGF-β의존성

의 Foxp3⁺ iTreg 분화를 촉진한다. RA는 T세포에 직접 작용할 뿐만 아니라 공존하는 memory T 세포가 생산하는 Foxp3 발현 억제성 cytokine IL-4, IL-21, IFN-γ 등의 생산을 억제함으로써 간접적으로 작용한다. 또한 RA는 TGF-β와 IL-6가 유도하는 염증성 helper T세포 Th17의 분화를 억제한다. 즉 장의 DC는 RA를 생산함으로써 Foxp3⁺ iTreg 분화유도를 촉진하고 Th17 분화유도를 억제하여 경구면역관용에 관여한다고 생각한다(그림 4).

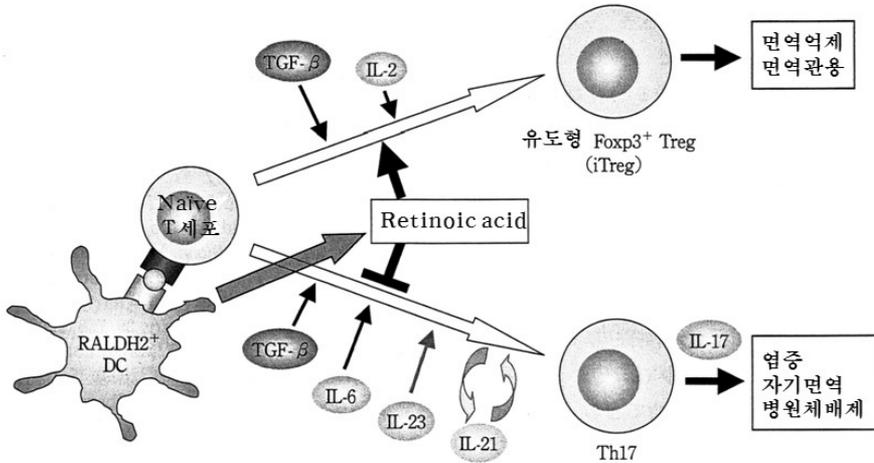


그림 4. RALDH2⁺ 수지세포는 레티노 인산(RA)을 생산하여 유도형 Foxp3⁺ Treg의 분화유도를 촉진하며, 염증촉진성 Th17의 분화유도를 억제한다.
RALDH2 발현 DC는 RA 생산을 매개로 하여 TGF-β 의존성 Foxp3⁺ iTreg 분화를 촉진하고, TGF-β 및 IL-6 의존성의 염증촉진성 TH17의 분화를 억제한다.

비타민 A 결핍하에서의 Treg

출생 직후부터 비타민 A 결손식으로 사육한 ‘비타민 A 결손 생쥐’에서는 CCR9⁺Foxp3⁺ T세포가 소실되어 있는데, 그 대신 Foxp3⁺CD103⁺CCR7⁺라는 특수한 항염증성 T세포가 흉선과 말초에서 발견되어 있다. 또한 비타민 A 결손 생쥐의 MLN의 크기는 대조구에 비하여 훨씬 큰데, 여기에는 표피 Langerhans cell과는 다른 langerin⁺ DC가 많이 존재하고 있으며, 비타민 A 결손하에서의 면역관용 유도에 관여하는 가능성이 있다. 비타민 A 결손하에서는 면역제어에 기여하는 세포가 그 수와 성질이 변하기는 했지만 존재한다. Foxp3⁺ T세포 중에서 nTreg로의 분화는 비타민 A 비의존성으로 생각된다. 또한 비타민 A 결손식으로 사육을 개시하는

시기가 태령 2주째의 경우와 출생 직후의 경우에서 혈중 레티놀 농도의 경시적 저하에 뒤늦게 나타남을 고려하였을 때, Foxp3⁺ T세포수와 비타민 A 결핍과의 상관성이 해석되지 않았다. 하지만 총체적으로는 비타민 A 결손상태에서는 염증반응이 촉진되는 경향이 있다고 생각된다.

맺는 말

임파구의 동태와 면역반응의 제어라는 생체유지에 필수적인 기능을 조절하는 RA의 역할이 명백하게 밝혀짐으로써 RA에 관한 면역학 연구는 최근 수년간 매우 폭넓게 전개되고 있다. RA 생성효소 RALDH2를 DC에 발현유도하는 GM-CSF는 면역반

응과 관련하여 흔히 나타나는 cytokine으로써 이것이 생산되고 RA의 보조 등이 있으면 몸의 각 부위에서 RALDH2 발현이 유도될 수 있다. 다이나믹한 실제의 생체에서 일어나는 복잡한 세포 간 상호작용 속에서 비타민 A 레벨과 cytokine의 변화가 신체 부위에서 어떻게 RA 생산을 제어하며 어떻게 면역학적 변화를 가져오는 것일까에 대한 해명은 금후의 과제이다. 더욱이 RA가 $\alpha 4\beta 7$ 과 CCR9 등의 발현을 유도하는 분자구조도 남은 과제이다. 이런 문제를 해결해 감에 따라서 알레르기, 자기면역 등 다양한 면역학적 질환에 대하여 새로운 예방법·치료법이 열릴 것으로 기대된다.

● 자료출처 ●

岩田 誠, 腸管免疫におけるレチノイン酸の役割, 化學と生物, 48(6), 389-394, 2010

손 동 화 농학박사

소 속 : 한국식품연구원 기능성연구단

전문분야 : 식품알레르기, 면역분석법, 기능성식품

E-mail : dhs95@kfri.re.kr

T E L : 031-780-9133