

## Research on Immune Responses Induced by *Salmonella* Typhimurium Infection in CRIP1-Deficient Condition

Dongju Seo<sup>1</sup>, Se-Hui Lee<sup>1</sup>, Sun Park<sup>1</sup>, Hyeyun Kim<sup>1</sup> and Jin-Young Yang<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Integrated Biological Science, Pusan National University, Busan 46241, Korea

<sup>2</sup>Department of Biological Sciences, Pusan National University, Busan 46241, Korea

Received November 17, 2023 /Revised November 23, 2023 /Accepted November 24, 2023

*Salmonella* is a common food-borne intracellular bacterial pathogen that has triggered significant public health concerns. *Salmonella* hosts' genetic factors play a pivotal role in determining their susceptibility to the pathogen. Cysteine-rich intestinal protein 1 (CRIP1), a member of LIM/double zinc finger protein family, is widely expressed in humans, such as in the lungs, spleen, and especially the gut. Recently, CRIP1 has been reported as a key marker of several immune disorders; however, the effect of CRIP1 on bacterial infection remains unknown. We aimed to elucidate the relationship between *Salmonella* infection and CRIP1 gene deficiency, as *Salmonella* spp. is known to invade the Peyer's patches of the small intestine, where CRIP1 is highly expressed. We found that CRIP1-deficient conditions could not alter the characteristics of bone marrow-derived myeloid cells in terms of phagocytosis on macrophages and the activation of costimulatory molecules on dendritic cells using *ex vivo* differentiation. Moreover, flow cytometry data showed comparable levels of MHCII<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup> dendritic cells and MHCII<sup>+</sup>F4/80<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> macrophages between WT and CRIP1 knockout (KO) mice. Interestingly, the basal population of monocytes in the spleen and neutrophils in MLNs is more abundant in a steady state of CRIP1 KO mice than WT mice. Here, we demonstrated that the CRIP1 genetic factor plays dispensable roles in host susceptibility to *Salmonella* Typhimurium infections and the activation of myeloid cells. In addition, differential immune cell populations without antigen exposure in CRIP1 KO mice suggest that the regulation of CRIP1 expression may be a novel immunotherapeutic approach to various infectious diseases.

**Key words :** Bone-marrow derived macrophages, dendritic cells activation, pathogen clearance, phagocytosis, *Salmonella* Typhimurium

### 서 론

살모넬라는 대장균과 더불어 식중독을 유발하는 가장 흔한 세균성 병원균으로 매년 수 천명의 사망자를 초래하는 전 세계적인 공중 보건에 악영향을 미치는 세균이다. 살모넬라는 주로 오염된 물이나 상한 음식물의 섭취를 통해 감염되며, 살모넬라가 가진 지질다당류(lipopolysaccharide, LPS)의 O항원과 플라젤린의 H항원을 기준으로 약 2500개 이상의 혈청형으로 분류된다[3, 4, 17]. 인수공통감염을 일으키는 *Salmonella* (*S.*) *enterica*는 가장 대표적인 살모넬라 혈청형으로 *S. enterica*는 다시 장티푸스성

(typhoidal *Salmonella*)과 비 장티푸스성(non-typhoidal *Salmonella*)으로 분류된다[14]. *S. typhi*와 *S. paratyphi*를 포함하는 장티푸스성 살모넬라는 인간에게만 감염되며, 감염 시 파종성 전신감염을 일으켜 장티푸스성 발열과 복통, 근육통을 유발한다[8]. 비 장티푸스성 살모넬라는 *S. Typhimurium*과 *S. enteritidis*를 포함하며, 위장관 염증을 유발하여 장염과 설사, 복통 등의 증상을 나타낸다[1]. 현재 장티푸스성 살모넬라는 약독화 균주를 활용한 백신(Ty21a)이 개발되어 사용되고 있지만 비 장티푸스성 살모넬라의 경우 아직까지 효과적인 백신이 없다[3, 29]. 비 장티푸스성 살모넬라는 특히 위생이 취약한 사하라 이남 아프리카에서 주로 발생하며, HIV 또는 말라리아에 감염된 면역력 저하 환자에게서 높은 감염률과 사망률을 나타낸다[11].

살모넬라는 체내로 유입되면 장 점막층을 침투하여 소장, 특히 회장의 상피세포를 통해 세포 내로 침입한다[33]. 살모넬라는 주로 회장의 파이어패치(Peyer's patch)와 이를 덮고 있는 특수한 소장 상피세포 아형인 M 세포를 표적하는데[26], *Salmonella* pathogenicity island-1 (SPI-1)에

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-510-2286, Fax : +82-51-581-2962

E-mail : [jyyang99@pusan.ac.kr](mailto:jyyang99@pusan.ac.kr)

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

암호화된 Type-III secretion system (T3SS)를 통해서 이루어진다[31, 47]. T3SS를 통해 살모넬라는 SopB, SopE, SopE2를 포함한 10개 이상의 박테리아 단백질을 세포 내로 주입시킨다[37]. 이러한 박테리아 단백질은 장 상피세포의 Rho GTPases와 상호작용하여 NF- $\kappa$ B 신호 경로를 활성화시키고, IL-1 $\beta$ 와 IL-23와 같은 전염증성 사이토카인의 분비를 유도하여 염증반응과 세포 밀착 접합 단백질의 파괴를 유발한다[5, 15, 20]. 이는 살모넬라의 숙주 세포 내 유입을 더욱 악화시킬 수 있다. M 세포와 파이어패치를 통해 침입한 살모넬라는 그들 표면에 있는 지질다당류와 플라젤린에 의해 톨-유사 수용체(Toll-like receptor)를 활성화시켜 SPI-2의 발현을 유도하여 세포 내 생존과 성장을 도모한다[2, 40]. 또한 살모넬라는 대식세포와 수직상세포의 식세포작용에 의해 흡수되는데, T3SS를 발현하는 살모넬라는 식세포 내부에서 caspase-1에 의해 매개되는 세포 사멸(pyroptosis)이 유도되어 감염 조직의 염증반응을 더욱 악화한다[13, 39]. 또한, 최근에는 대식세포의 식세포 작용으로 흡수된 살모넬라는 대식세포 내부에서 증식하여 숙주의 면역체계를 효과적으로 회피할 수 있다는 사실이 보고되었다[43]. 일단 살모넬라가 장 내부에 성공적으로 정착하고 나면, 살모넬라는 초기 감염 부위에서 혈액이나 원심성 림프관을 통해 장간막 림프절 및 비장과 같은 2차 면역기관과 전신의 모든 조직으로 전파될 수 있는데, 이 또한 대식세포 및 수직상세포와 같은 식세포에 의해 매개된다고 알려져 있다[25, 35, 42, 44].

Cysteine-rich intestinal protein1 (CRIP1)은 LIM/double zinc finger protein family에 속하는 단백질로 세포 내 DNA와 단백질 혹은 단백질과 단백질의 상호작용과 같은 다양한 분자생물학적 신호전달과정에 관여한다고 알려져 있다[12]. CRIP1을 암호화하는 유전자는 폐, 간, 심장, 비장을 포함한 다양한 조직에서 폭넓게 발현하며, 특히 소장과 대장을 포함한 소화관에서 높은 수준으로 발현한다[10]. 이러한 CRIP1의 기능은 주로 장내 아연 이온의 수송에 관여하는 수송 단백질로서 기능하며[21], 최근에는 다양한 질환 특히, 유방암, 골암, 간암, 난소암, 대장암 등 다양한 암종에서 그 발현이 증가한다고 보고되고 있어, 바이오마커로서 연구가 진행되고 있다[15, 19, 30, 32]. 뿐만 아니라, 면역세포의 활성화와 분화에 CRIP1이 필수적인 역할을 한다고 알려지면서, 다양한 면역학적 질환과 CRIP1의 상관관계에 대한 연구가 이루어지고 있다[6, 38, 45]. 그러나, *S. Typhimurium*의 감염에서 CRIP1의 역할에 대해서는 아직까지 연구가 이루어지지 않고 있다. 따라서 본 논문에서는 *S. Typhimurium*의 감염과 전신면역계에 대한 CRIP1역할 규명을 위해 CRIP1 결손 마우스를 이용하여 연구한 결과를 보고하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 실험동물 및 사육 조건

C57BL/6 마우스의 유전적 배경을 가진 CRIP1<sup>+/+</sup> 암컷과 수컷 마우스의 교배를 통해 CRIP1<sup>+/+</sup> (대조군)와 CRIP1<sup>-/-</sup> (실험군) 마우스를 얻었다. 본 연구에서 사용된 마우스는 나이를 맞춘 동배 마우스를 사용하였다. 마우스는 온도 25±1°C와 습도 50±5%, 12시간/12시간의 낮/밤 사이클이 유지된 동물실험실에서 실험용 쥐사료 SAM#31 (Samtako)와 1차 증류수를 공급받았으며, 외부로부터의 공기가 차단된 MSRSII 케이지(Orient bio)에서 사육되었다. 모든 실험동물은 부산대학교 동물실험윤리위원회의 사전승인 하에 동물실험 윤리 기준에 따라 취급하였다(PNU-2021-015-A1C0(0)).

### 박테리아 배양 및 투여용량 설정

본 연구에서 사용한 균주는 *Salmonella Typhimurium*  $\chi$  3339로, 부산대학교 병원미생물학 강호영 교수 연구실로부터 분양받아 사용하였다. 본 연구에서 사용된 균은 LB 배지 2 ml에 살모넬라 단일콜로니를 접종하여 진탕배양기에서 37°C, 200 rpm으로 16시간 동안 전배양한 뒤, 배양액 100  $\mu$ l를 LB배지 10 ml에 접종하여 진탕배양기에서 37°C, 200 rpm으로 본 배양을 실시하였다. 본 배양은 균의 성장곡선을 고려하여 2시간 20분째(O.D. = 0.8~0.9)의 대수증식기 상태의 균을 사용하였으며, 생균수 측정을 통해 측정된 집락형성단위(Colony forming units, CFUs)는 1.12×10<sup>8</sup> CFUs/ml이다. 살모넬라의 적정 투여량을 결정하기 위해 마우스를 세 그룹(PBS, 1.12×10<sup>5</sup> CFUs/ml, 1.12×10<sup>6</sup> CFUs/ml)으로 나누고, 각각 100  $\mu$ l의 균 희석액을 경구투여하였다.

### 마우스 조직에서 살모넬라 집락형성단위 측정

안와채혈을 통해 100  $\mu$ l의 혈액을 마우스로부터 추출하고, 이를 10배 희석하여 LB배지에 도말하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub>의 조건에서 16시간 배양하였다. 소장의 회장만을 분리한 뒤, 파이어패치를 절단하고, 이를 젠타마이신(50 mg/ml, Gibco)을 희석한 PBS 용액에 넣은 후 상온에서 1시간 동안 반응시켜 장의 공생균을 제거하였다. PBS로 세 차례 세척하여 조직에 잔존하는 젠타마이신을 제거한 후 조직의 무게를 측정하여 조직 무게 당 일정한 PBS (1 mg당 1  $\mu$ l 혹은 10 mg당 1  $\mu$ l)를 넣고 homogenizer (DAIHAN Scientific Co, HG-15A)로 1분간 갈아주어 조직 균질현탁액을 얻었다. 100  $\mu$ l의 조직 균질현탁액을 LB 배지에 도말하여 살모넬라의 집락형성단위를 측정하였다. 비장과 간, 장간막 림프절은 젠타마이신을 처리하는 과정 없이 소장과 동일하게 진행하였다[28].

**조직에서의 면역세포 추출법**

소장의 lamina propria 면역세포를 추출하기 위해 마우스로부터 소장을 적출하고 분변, 지방, 그리고 파이어패치를 깨끗이 제거하였다. 약 1 cm의 크기로 조직을 잘라 0.5 mM의 EDTA가 첨가된 RPMI 배지에 넣은 후 37°C, 280 rpm으로 30분간 반응시켰다. 그 후 조직을 37°C의 PBS로 3회 씻어준 뒤 이러한 세척 과정을 한 번 더 진행하여 점막층을 제거하였다. DNase I (0.1 mg/ml, Roche)와 collagenase D (0.5 mg/ml, Sigma)가 첨가된 RPMI에 세척 과정이 끝난 조직을 넣고, 37°C, 850 rpm으로 30분간 반응시키는 효소 처리 과정을 두 번 진행하였다. 위의 과정에서 상층액은 cell strainer (100 µm, Falcon)에 거른 뒤, 4°C, 1,200 rpm으로 5분간 원심분리하여 세포 펠렛을 얻었다. Lamina propria 면역세포를 추출하기 위해 세포 펠렛을 40% percoll (Cytiva) 4 ml에 현탁하여 75% percoll 2 ml 위에 로딩하고 위와 같은 조건으로 원심분리하여 순수한 세포층을 분리하여 수확하였다. 비장의 경우, RPMI 2 ml에서 조직을 충분히 갈아준 후, cell strainer에 걸러 조직 현탁액을 얻었다. 원심분리과정 후, 적혈구의 용해를 위해 ACK buffer (Sigma) 2 ml을 넣고 얼음 위에서 2분간 반응시켜 주었다. 장간막 림프절은 ACK buffer의 처리 과정 없이 비장과 동일하게 진행하였다. 각 조직에서의 세포수 측정은 trypan blue 염색을 통해 hemocytometer를 이용하여 측정하였다.

**유세포 분석**

각 세포는 특정 형광이 부착된 항체를 반응시켜 유세포 분석에 사용하였다. 먼저 조직으로부터 얻은 세포 현탁액을 4°C, 4,000 rpm에서 3분간 원심분리하여 상층액을 제거한 뒤, 유세포 분석에 사용할 형광 항체 cocktail 50 µl와 반응시켰다. 30분 동안 4°C에서 차광한 상태로 반응시켜

준 뒤, 원심분리하여 형광 항체 cocktail을 제거시킨 뒤, RPMI를 1 ml넣고 다시 원심분리하여 세척 과정을 진행하였다. 상층액을 버린 뒤, RPMI에 1% 포르말린이 첨가된 FACS fixation buffer 200 µl로 현탁하여 유세포 분석을 위한 샘플을 준비하였다. 유세포 분석에서 사용한 형광 항체는 Table 1에 제시하였다.

**골수 유래 대식세포와 수지상세포 배양**

7주령 CRIP1<sup>+/+</sup>와 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스의 대퇴골을 적출한 뒤, RPMI 배지에 1 ml 주사기를 이용하여 골수 세포를 분리하였다. 골수 세포 현탁액은 4°C, 4,000 rpm에서 3분간 원심분리하여 세포 펠렛을 얻은 후, ACK buffer를 처리하여 적혈구를 용해시켰다. 원심분리 후, 얻은 골수 세포는 세포수를 측정하여 RPMI에 10% FBS (Gibco), 50 µM 2-mercaptoethanol (Sigma), 1% penicillin-streptomycin (Gibco), 20 ng/ml GM-CSF (Peprotech)를 첨가한 배지 10 ml에 1×10<sup>6</sup> 개의 세포를 넣고 37°C, CO<sub>2</sub> 5% 조건에서 8일간 배양하였다. 배양 배지는 2일차에 10 ml을 추가하였고, 그 이후 2일마다 새로운 신선한 배지로 교체하였다. 완전히 분화된 수지상세포와 대식세포는 배양 8일차에 수확되어 실험에 이용하였다.

**골수 유래 대식세포와 수지상세포의 살모넬라 감염 실험**

완전 배양된 골수 유래 대식세포는 세포수 측정을 진행하여 10<sup>6</sup>개의 세포를 100 µl의 RPMI로 희석하여 96-well 플레이트에 접종하였다. *S. Typhimurium* χ3339는 앞서 언급한 조건으로 배양하여 각각 5×10<sup>5</sup> CFUs/ml, 1×10<sup>6</sup> CFUs/ml, 5×10<sup>6</sup> CFUs/ml의 그룹으로 나누어 대식세포에 접종하여 함께 배양하였다. 각 그룹은 (1:0.5), (1:1), (1:5)의 다중 감염도(Multiplicity of infection, MOI)를 나타낸다. 37°C, CO<sub>2</sub> 5% 조건에서 1시간 동안 배양한 뒤, 대식세포 현탁액

Table 1. Antibody lists for flow cytometry

Antibody	Brand	Clone No.
eFlour 450 Rat Anti-Mouse MHC class II	eBioscience	M5/114.15.2
eFlour 450 Rat Anti-Mouse B220	eBioscience	RA3-6B2
PE Rat Anti-Mouse CD86	eBioscience	B7-2
PE Hamster Anti-Mouse CD80	eBioscience	B7-1
APC Rat Anti-Mouse F4/80	eBioscience	BM8
PE-Cy7 Rat Anti-Mouse CD11b	BD Pharmingen™	M1/70
PE-Cy7 Rat Anti-Mouse CD45	BD Pharmingen™	30-F11
FITC Hamster Anti-Mouse CD11c	BD Pharmingen™	HL3
FITC Hamster Anti-Mouse CD3	BD Pharmingen™	145-2C11
FITC Rat Anti-Mouse CD45	BD Pharmingen™	30-F11
PE Rat Anti-Mouse CD8a	BD Pharmingen™	53-6.7
PE Rat Anti-Mouse Ly6G	BD Pharmingen™	1A8
APC Rat Anti-Mouse CD4	BD Pharmingen™	RM4-5
APC Hamster Anti-Mouse CD11c	BD Pharmingen™	HL3
APC-Cy7 Rat Anti-Mouse Ly6C	BioLegend	HK1.4

을 수거하여 50 µg/ml의 gentamycin (Gibco)이 첨가된 RPMI를 1 ml까지 채운 뒤, 4°C, 1,200 rpm에서 5분간 원심 분리하여 상층액을 제거하는 세척 과정을 3번 진행하여 잔존하는 살모넬라를 제거하였다. 대식세포의 세포막을 용해시키기 위해 0.5%의 Triton X-100이 첨가된 PBS 1 ml을 넣어준 뒤 상온에서 10분간 반응시켜 주었다. 그 후, LB 배지에 도달하여 대식세포의 세포 내 살모넬라의 집락형성능을 측정하였다. 완전 배양된 골수 유래 수지상세포는 10<sup>6</sup>개의 세포를 100 µl의 RPMI로 적절히 희석하여 96-well 플레이트에 접종한 뒤, 1 µg/ml의 살모넬라 유래 lipopolysaccharide (LPS)를 처리하고 24시간 동안 배양하였다. 그 후, 수지상세포 현탁액을 수거하여 4°C, 1,200 rpm에서 5분간 원심분리한 뒤, 유세포 분석을 진행하였다.

### 통계분석방법

본 실험의 모든 실험 결과는 평균±표준 오차로 나타내었다. Graph pad prism (Graph Pad Software)를 이용하여 통계분석을 진행하였으며, 마우스 생존율 실험결과는 Log-rank test를 통해 검증하였으며, 마우스 몸무게 감소율 실험 결과는 two-way ANOVA를 실시한 뒤, Sidak test를 이용해 후속검증을 진행하였다. 그 외의 다른 실험결과는 two-tailed unpaired *t* test를 통해 검증하였다.

## 결과 및 고찰

### CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스에서의 *Salmonella* (*S.*) *Typhimurium* 적정 감염농도 측정

먼저 *S. Typhimurium*의 마우스에 대한 적정 감염농도를 알아보기 위해 CRIP1<sup>+/+</sup> 마우스를 두 그룹으로 나누어 1×10<sup>5</sup> CFUs/ml, 1×10<sup>6</sup> CFUs/ml의 *S. Typhimurium* 현탁액을 각각 100 µl씩 경구투여하고, 7일간 생존율과 몸무게 변화를 관찰하였다. 1×10<sup>6</sup> CFUs/ml의 *S. Typhimurium*를 경구투여한 그룹에서는 실험 6일차에 마우스가 죽어 66%의 생존율을 나타내었지만, 1×10<sup>5</sup> CFUs/ml의 *S. Typhimurium*를 경구투여한 그룹에서는 모든 마우스가 생존하였다 (Fig. 1A). 해당 마우스의 몸무게 변화 역시, 1×10<sup>6</sup> CFUs/ml의 *S. Typhimurium*를 경구투여한 그룹에서 실험 5일차까지 약 11%의 감소를 나타내다가 다시 회복하는 양상을 확인했지만, 1×10<sup>5</sup> CFUs/ml 그룹에서는 몸무게 감소 추이가 나타나지 않았다 (Fig. 1B). 따라서, 우리는 *S. Typhimurium*의 적정 감염농도를 1×10<sup>6</sup> CFUs/ml 라 정하고, 이후 실험에 이용하였다. 다음으로, *S. Typhimurium* 감염에 대한 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스의 성별에 따른 감수성 차이가 있는지 확인하기 위해 1×10<sup>6</sup> CFUs/ml의 *S. Typhimurium*를 CRIP1<sup>+/+</sup>와 CRIP1<sup>-/-</sup> 수컷과 암컷 마우스에게 각각 경구투여하여 30일 동안 생존율을 관찰하였다. 수컷 마우스의 경우, 실험

11일차에 모든 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스가 죽었으나 CRIP1<sup>+/+</sup> 마우스는 30일 동안 모두 생존하였다. 암컷 마우스는 다소 다른 양상을 보였는데, 실험 9일차부터 마우스가 죽기 시작하여, 30일이 지나기 전에 CRIP1<sup>+/+</sup>와 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스가 모두 죽었다 (Fig. 1C). 결과적으로 성별에 따른 *S. Typhimurium* 감염 감수성에 대한 유의미한 차이는 확인할 수 없었지만, 암컷 마우스는 수컷 마우스에 비해 상대적으로 *S. Typhimurium*의 감염에 취약한 것처럼 보인다. 이러한 양상은 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스의 경우에도 동일하게 관찰되었는데, 따라서 *S. Typhimurium* 감염에 대한 CRIP1 유전자형에 따른 생존율 차이를 보이는 수컷 마우스를 이후 실험에 사용하였다. 수컷 마우스에게 *S. Typhimurium*를 경구투여한 뒤, 3일 차에 마우스를 해부하여 각 조직에서 *S. Typhimurium*의 CFU를 측정된 결과, 혈액에서는 *S. Typhimurium*이 검출되지 않았으며, CRIP1<sup>+/+</sup>와 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스의 비장 과 간, 소장, 파이어패치, 장간막 림프절, 각각의 조직에서 *S. Typhimurium*의 유의미한 차이가 확인되지 않았다 (Fig. 1D). 본 실험을 통해 CRIP1 유전자형에 따른 *S. Typhimurium*의 감염 감수성을 조사하였고, 암컷 마우스는 수컷 마우스에 비해 *S. Typhimurium*에 상대적으로 취약한 것으로 나타났으며, 이는 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스에서도 동일하게 관찰되었다. 다양한 병원균의 성적 이형성에 대한 연구가 활발히 진행되고 있지만, 아직까지 *S. Typhimurium*의 성별에 따른 감수성 차이의 명확한 메커니즘은 밝혀진 바가 없다 [41]. 우리의 이러한 결과는 *S. Typhimurium*의 성적 이형성에 대한 새로운 단서를 제공할 수 있다. 또한, 각 조직에서 CRIP1<sup>+/+</sup>와 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스 간 *S. Typhimurium*의 CFU가 유의미한 차이가 나타나지 않았는데, 이는 CRIP1이 *S. Typhimurium*의 감염 감수성을 결정하는 필수적인 인자는 아니라는 사실을 시사한다.

### 골수 유래 수지상세포와 대식세포의 활성화 및 분화에 대한 CRIP1의 효과 조사

*S. Typhimurium* 감염 시 수지상세포와 대식세포와 같은 식세포가 숙주의 방어 작용에 중요한 역할을 수행하며 [36], CRIP1이 면역세포의 분화와 발달에 영향을 미친다 [9]는 사실을 기반으로 우리는 CRIP1<sup>+/+</sup>와 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스의 골수로부터 유래한 수지상세포와 대식세포를 이용하여 *S. Typhimurium*에 대한 활성화와 분화 정도를 조사하였다. CRIP1<sup>+/+</sup>와 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스의 골수에서 각각 골수 유래 대식세포를 분화시킨 뒤, 1×10<sup>6</sup>개의 골수 유래 대식세포에 각각 5×10<sup>5</sup> CFUs/ml, 1×10<sup>6</sup> CFUs/ml, 5×10<sup>6</sup> CFUs/ml (각각 1:0.5, 1:1, 1:5 다중감염도)의 *S. Typhimurium*를 감염시키고, 한 시간 뒤 대식세포의 세포 내 *S. Typhimurium*의 CFU를 측정하였다. 그 결과, 식세포작용으로 인해 대식세포 내로 흡수된 *S. Typhimurium*는 CRIP1<sup>+/+</sup>와 CRIP1<sup>-/-</sup> 그룹간 큰 차이를 보이지 않았다 (Fig. 2A). 다음은 CRIP1<sup>+/+</sup>

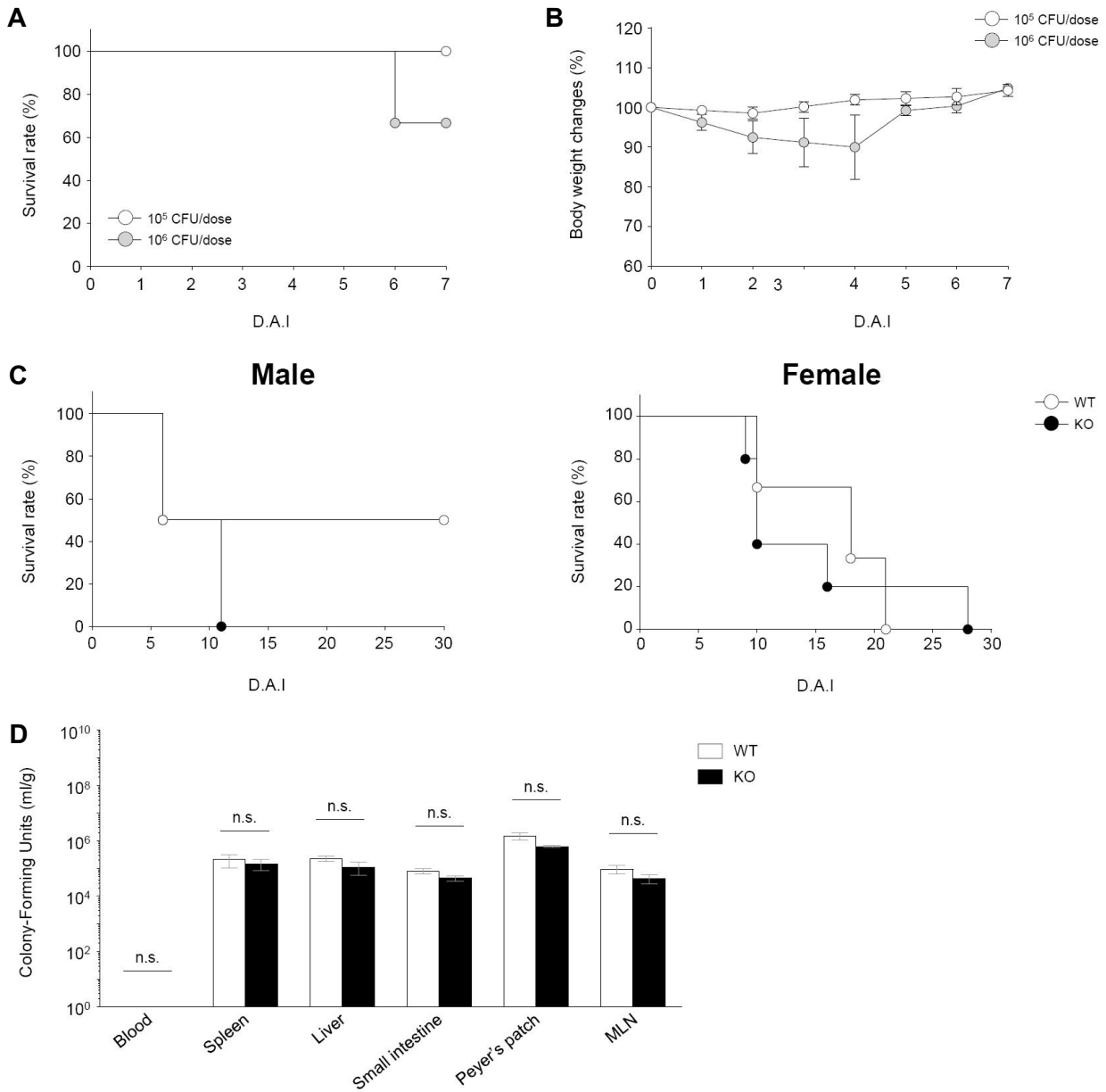


Fig 1. General *in vivo* experiments for optimal infection dose of *S. Typhimurium*  $\chi$ 3339. (A-B). Lethal dose for mouse experiment was measured by daily monitoring survival rates (A) and body weight changes (B) of mice orally infected with *S. Typhimurium*  $\chi$ 3339 ( $1 \times 10^5$  or  $1 \times 10^6$  CFUs/ml). (C) Survival rates of male and female mice orally infected with *S. Typhimurium*  $\chi$ 3339 were monitored to investigate sexual differences against *Salmonella* infection in CRIP1<sup>-/-</sup> mice. (D) Colony-Forming Units (CFUs) of *S. Typhimurium*  $\chi$ 3339 were measured from the indicated organs 3 days after infection. Data were presented as mean  $\pm$  SEM. Statistical analysis was performed with Log-rank test (A, C), two-way ANOVA with Sidak's multiple comparisons test (B), and two-tailed paired *t* tests with Holm-Sidak method (D). n.s.; not significant.

와 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스의 골수 유래 수지상세포에 *S. Typhimurium*의 지질다당류 1  $\mu$ g/ml를 처리하고 24시간 뒤, CD45<sup>+</sup> CD11c<sup>+</sup>MHC II<sup>+</sup> 수지상세포에서 보조자극인자인 CD80와 CD86의 발현 정도를 유세포분석을 통해 비교하였다 (Fig. 2B). *S. Typhimurium*의 지질다당류로 세포 자극을 주기 전과 후 모두 Nil그룹과 대비해 CRIP1<sup>+/+</sup>와 CRIP1<sup>-/-</sup> 그룹의 CD80와 CD86의 발현이 유의미한 차이를 나타내

지 않았으며(Fig. 2C), 평균형광광도(mean fluorescence intensity, MFI) 역시 유의미한 차이를 보이지 않았다(Fig. 2D). 선행연구에서는 급성 골수성 백혈병 환자에서 CRIP1이 환자의 예후와 밀접한 연관성이 존재하며, 바이오마커로서 기능할 수 있다는 가능성을 보고하고 있지만[34, 46], *S. Typhimurium* 감염 상황에서 CRIP1이 골수성 세포의 활성화와 분화에 미치는 영향은 아직 알려진 바가 없다. 우

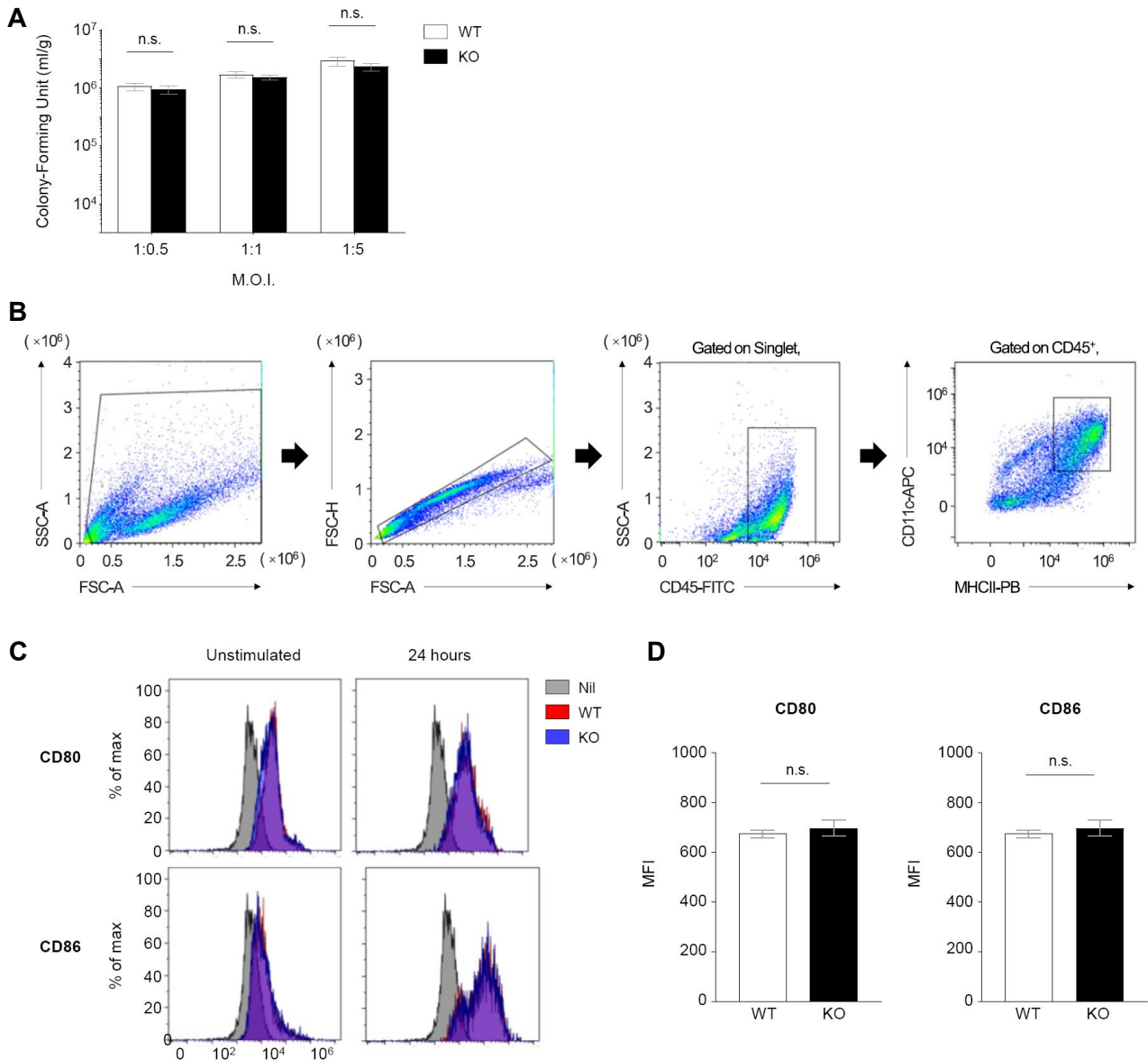


Fig 2. The influence of CRIP1 gene deficiency on activation of bone marrow-derived myeloid cells. (A). Invaded *Salmonella spp.* was measured in bone marrow-derived macrophages (BM-DMs) of WT and CRIP1<sup>-/-</sup> mice co-cultured with *S. Typhimurium*  $\chi$ 3339 for 1 hr. (B). Gating strategy of bone marrow-derived dendritic cells (BM-DCs). Representative images (C) of histograms and quantification bar graphs (D) of MFI values in CD80 and CD86 expression on BM-DCs of CRIP1<sup>+/+</sup> and CRIP1<sup>-/-</sup> mice after LPS stimulation for 24 hr. Data were presented as mean  $\pm$  SEM. Statistical analysis was two-tailed paired *t* tests with Holm-Sidak method. n.s.; not significant.

리는 세포분화 실험을 통해 *S. Typhimurium* 감염 상황에서 CRIP1<sup>+/+</sup>와 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스의 골수 유래 수지상세포와 대식세포의 활성화와 분화에 유의미한 차이가 없다는 사실을 밝혔다. 이는 CRIP1이 감염상황에서 골수성 세포의 활성화와 분화를 조절하는데 관여하는 필수적인 인자는 아니라는 점을 시사한다.

**CRIP1 유전자형에 따른 소장 면역세포 비율 조사**  
정상상태의 마우스에서 CRIP1 유전자형에 따른 소장의

면역세포의 비율의 변화를 조사하기 위해 6주령 CRIP1<sup>+/+</sup>와 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스에서 소장을 적출하고 lamina propria 내의 면역세포를 추출하였다. 유세포분석을 통해 추출한 면역세포를 각각의 형광 항체로 표지하여 *in vivo*상의 골수성 세포의 비율을 분석하였다. CRIP1<sup>+/+</sup> 마우스와 비교하여 MHC II<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>Ly6C<sup>hi</sup>Ly6G<sup>-</sup> 단핵구와 MHC II<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>Ly6C<sup>int</sup>Ly6G<sup>+</sup> 호중구는 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스에서 경미하게 증가하였다(Fig. 3A, 3B). MHC II<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup> 수지상세포는 CRIP1<sup>+/+</sup>와 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스에서 큰 차이가 없었으며

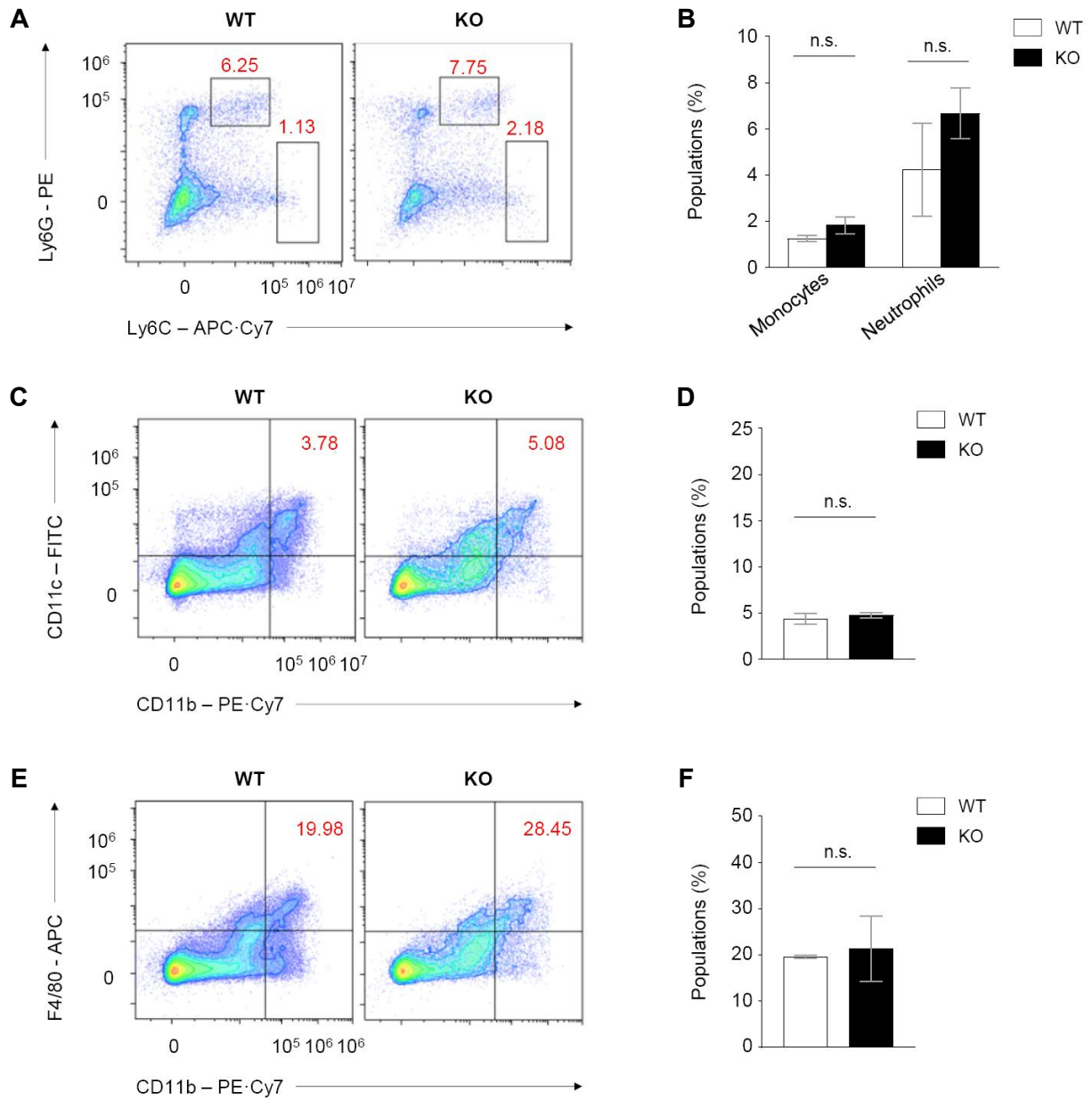


Fig 3. Comparison of myeloid cell population taken from small intestine of CRIP1<sup>+/+</sup> and CRIP1<sup>-/-</sup> mice. Lamina propria (LP) immune cells of the small intestine were analyzed by flow cytometry in CRIP1<sup>+/+</sup> and CRIP1<sup>-/-</sup> mice. Representative flow cytometry images (A) and summary bar graph (B) indicated cell frequency of monocytes and neutrophils population. Other LP-immune cells (C-D; dendritic cells, E-F; macrophages) were analyzed as mentioned above. Data were presented as mean ± SEM. Statistical analysis was two-tailed paired *t* tests with Holm-Sidak method. n.s.; not significant.

(Fig. 3C, 3D), MHCII<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>F4/80<sup>+</sup> 대식세포 역시 그룹 간 큰 차이를 보이지 않았다(Fig. 3E, 3F). *In vivo* 마우스의 장 내에는 공생미생물이 서식하며, 이러한 공생미생물은 골수성 세포의 분화와 항상성 유지에 매우 중요한 역할을 담당한다[16]. 또한, 숙주의 유전적 변이는 체내 전반적인 생리학적 반응에 영향을 미치며, 활발한 면역반응이 끊임 없이 일어나는 장 내 면역세포는 특히 큰 영향을 받을 수 있다[18]. 그러나, CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스의 장내 단핵구, 호중

구, 대식세포와 수지상세포의 비율은 CRIP1<sup>+/+</sup> 마우스와 비교하여 유의적인 변화가 없다는 것을 확인하였다.

**CRIP1 유전자형에 따른 비장과 장간막 림프절의 면역세포 비율 분석**

지질다당류를 활용한 패혈증 유도 마우스모델에서 CRIP1의 과발현 마우스 그룹이 더욱 심각한 병리학적 증상을 나타내고, 비장세포의 부조절을 유발한다는 선행연

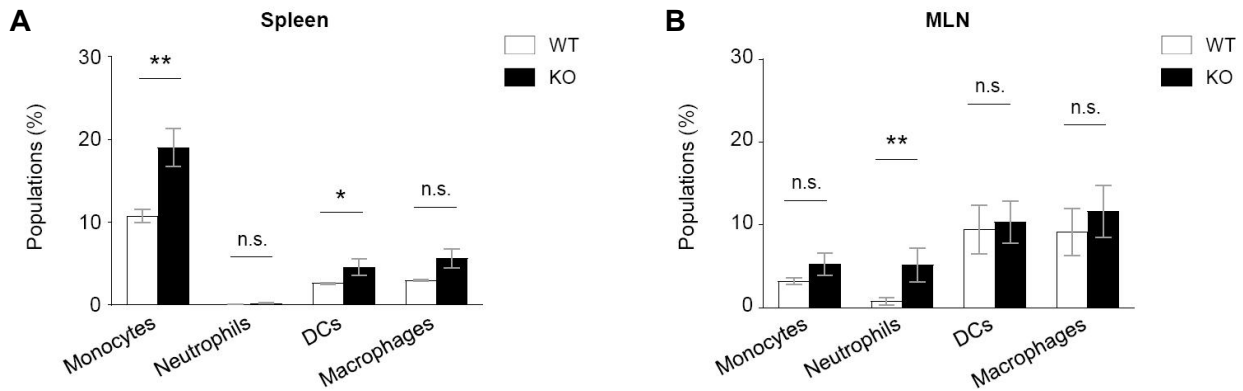


Fig 4. Altered myeloid cell population in secondary lymphoid organ of CRIP1<sup>-/-</sup> mice. Representative myeloid lineage populations (monocytes, neutrophils, dendritic cells, and macrophages) were analyzed in the spleen (A) and mesenteric lymph node (B) of CRIP1<sup>+/+</sup> and CRIP1<sup>-/-</sup> mice by flow cytometry. Data were presented as mean ± SEM. Statistical analysis was two-tailed paired *t* tests with Holm-Sidak method. n.s.; not significant. \**p*<0.05, \*\**p*<0.01.

구를 바탕으로[27], 정상상태의 CRIP1<sup>+/+</sup>와 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스에서 비장과 장간막 림프절의 면역세포 비율을 유세포 분석을 통해 분석하였다. 흥미롭게도, 비장의 MHC II<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>Ly6C<sup>hi</sup>Ly6G<sup>-</sup> 단핵구와 MHC II<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup> 수지상세포가 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스에서 유의적으로 증가한다는 것을 확인하였다(Fig. 4A). 또한, 장간막 림프절의 MHC II<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup>Ly6C<sup>int</sup>Ly6G<sup>+</sup> 호중구가 CRIP1<sup>+/+</sup>마우스와 비교하여 CRIP1<sup>-/-</sup>마우스에서 유의적으로 증가하였다(Fig. 4B). 비장과 장간막 림프절과 같은 2차 면역기관의 골수성 세포는 병원체에 대한 전신면역반응에 필수적인 역할을 수행한다[24]. 호중구는 급성감염상황에서 유입된 병원체를 인식하고, 호중구 세포 밖 덫(neutrophil extracellular trap, NET)을 형성하여 병원체를 효과적으로 제거한다[7]. 단핵구는 염증이 일어난 조직을 제거하고 빠르게 수복하는데 기여하며 대식세포의 전구체로서 기능하고, 수지상세포는 효율적인 항원제시세포로 T세포를 활성화시키는데 중요한 역할을 한다[22, 23]. 우리는 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스에서 비장의 단핵구와 수지상세포, 그리고 장간막 림프절의 호중구가 CRIP1<sup>+/+</sup> 마우스에 비해 상당히 유의적으로 증가한다는 사실을 밝혔다. 이는 CRIP1이 2차 면역기관의 골수성 세포 형성에 관여할 수 있다는 가능성을 제시하고, CRIP1 발현의 조절이 다양한 감염질환을 치료하는 새로운 접근법이 될 수 있다는 것을 시사한다. 추후에는 CRIP1<sup>-/-</sup> 마우스에서 나타난 골수성 세포의 변화가 *S. Typhimurium* 감염 상황에서 발생하는 면역반응에 어떻게 기여할 수 있는지, 또한 골수성 세포로부터 시작된 염증반응이 T세포와 B세포의 기능에 어떠한 영향을 미치는지를 밝히기 위한 추가적인 연구가 필요하다.

감사의 글

이 과제는 부산대학교 기본연구지원사업(2년)에 의하

여 연구되었음.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

- Acheson, D. and Hohmann, E. L. 2001. Nontyphoidal salmonellosis. *Clin. Infect. Dis.* **32**, 263-269.
- Arpaia, N., Godec, J., Lau, L., Sivick, K. E., McLaughlin, L. M., Jones, M. B., Dracheva, T., Peterson, S. N., Monack, D. M. and Barton, G. M. 2011. Tlr signaling is required for salmonella typhimurium virulence. *Cell* **144**, 675-688.
- Black, R. E., Levine, M. M., Ferreccio, C., Clements, M. L., Lanata, C., Rooney, J. and Germanier, R. 1990. Efficacy of one or two doses of ty21a salmonella typhi vaccine in enteric-coated capsules in a controlled field trial. Chilean typhoid committee. *Vaccine* **8**, 81-84.
- Brenner, F. W., Villar, R. G., Angulo, F. J., Tauxe, R. and Swaminathan, B. 2000. salmonella nomenclature. *J. Clin. Microbiol.* **38**, 2465-2467.
- Bruno, V. M., Hannemann, S., Lara-Tejero, M., Flavell, R. A., Kleinstein, S. H. and Galan, J. E. 2009. Salmonella typhimurium type iii secretion effectors stimulate innate immune responses in cultured epithelial cells. *PLoS Pathog.* **5**, e1000538.
- Cai, H., Chen, J., Liu, J., Zeng, M., Ming, F., Lu, Z., Cheng, Q., Yang, J. and Zhang, L. 2017. Crip1, a novel immune-related protein, activated by enterococcus faecalis in porcine gastrointestinal epithelial cells. *Gene* **598**, 84-96.
- Delgado-Rizo, V., Martínez-Guzmán, M. A., Iñiguez-Gutierrez, L., García-Orozco, A., Alvarado-Navarro, A.



- and Fafutis-Morris, M. 2017. Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation: An overview. *Front Immunol.* **8**, 81.
8. Dougan, G. and Baker, S. 2014. Salmonella enterica serovar typhi and the pathogenesis of typhoid fever. *Annu. Rev. Microbiol.* **68**, 317-336.
  9. Escobar, J. D., Tong, T., Schweigert, O., Rahimi, D., Reimers, D. and Mittrücker, H. W. 2022. Crip1: A novel link between immune response and hypertension. *J. Mol. Cell. Cardiol.* **173**, S77-S77.
  10. Fagerberg, L., Hallström, B. M., Oksvold, P., Kampf, C., Djureinovic, D., Odeberg, J., Habuka, M., Tahmasebpour, S., Danielsson, A., Edlund, K., Asplund, A., Sjostedt, E., Lundberg, E., Szgyarto, C. A., Skogs, M., Takanen, J. O., Berling, H., Tegel, H., Mulder, J., Nilsson, P., Schwenk, J. M., Lindskog, C., Danielsson, F., Mardinoglu, A., Sivertsson, A., von Feilitzen, K., Forsberg, M., Zwaalen, M., Olsson, I., Navani, S., Huss, M., Nielsen, J., Ponten, F. and Uhlen, M. 2014. Analysis of the human tissue-specific expression by genome-wide integration of transcriptomics and antibody-based proteomics. *Mol. Cell. Proteomics.* **13**, 397-406.
  11. Feasey, N. A., Dougan, G., Kingsley, R. A., Heyderman, R. S. and Gordon, M. A. 2012. Invasive non-typhoidal salmonella disease: An emerging and neglected tropical disease in africa. *The Lancet* **379**, 2489-2499.
  12. Feuerstein, R., Wang, X., Song, D., Cooke, N. E. and Liebhaber, S. A. 1994. The lim/double zinc-finger motif functions as a protein dimerization domain. *PROC. NATL. ACAD. SCI. U.S.A.* **91**, 10655-10659.
  13. Fink, S. L. and Cookson, B. T. 2007. Pyroptosis and host cell death responses during salmonella infection. *Cell. Microbiol.* **9**, 2562-2570.
  14. Gal-Mor, O., Boyle, E. C. and Grassl, G. A. 2014. Same species, different diseases: How and why typhoidal and non-typhoidal salmonella enterica serovars differ. *Front. Microbiol.* **5**, 391.
  15. Gao, Y., Li, J. Y., Mao, J. Y., Zhou, J. F., Jiang, L. and Li, X. P. 2022. Comprehensive analysis of crip1 expression in acute myeloid leukemia. *Front. Genet.* **13**, 923568.
  16. Gorjifard, S. and Goldszmid, R. S. 2016. Microbiota – myeloid cell crosstalk beyond the gut. *J. Leukoc. Biol.* **100**, 865-879.
  17. Grimont, P. and Weill, F.-X. 2007. Antigenic formulae of the salmonella serovars, (9th ed.) paris: Who collaborating centre for reference and research on salmonella. *Institute Pasteur.*, 1-166.
  18. Hansen, J., Gulati, A. and Sartor, R. B. 2010. The role of mucosal immunity and host genetics in defining intestinal commensal bacteria. *Curr. Opin. Gastroen.* **26**, 564-571.
  19. Hao, J., Serohijos, A. W., Newton, G., Tassone, G., Wang, Z., Sgroi, D. C., Dokholyan, N. V. and Basilion, J. P. 2008. Identification and rational redesign of peptide ligands to crip1, a novel biomarker for cancers. *PLoS. Comput. Biol.* **4**, e1000138.
  20. Hapfelmeier, S., Ehrbar, K., Stecher, B., Barthel, M., Kremer, M. and Hardt, W. D. 2004. Role of the salmonella pathogenicity island 1 effector proteins sipa, sobp, sope, and sope2 in salmonella enterica subspecies 1 serovar typhimurium colitis in streptomycin-pretreated mice. *Infect. Immun.* **72**, 795-809.
  21. Hempe, J. M. and Cousins, R. J. 1991. Cysteine-rich intestinal protein binds zinc during transmucosal zinc transport. *PROC. NATL. ACAD. SCI. U.S.A.* **88**, 9671-9674.
  22. Hey, Y. Y. and O'Neill, H. C. 2012. Murine spleen contains a diversity of myeloid and dendritic cells distinct in antigen presenting function. *J. Cell. Mol. Med.* **16**, 2611-2619.
  23. Hey, Y. Y., Quah, B. and O'Neill, H. C. 2017. Antigen presenting capacity of murine splenic myeloid cells. *BMC Immunol.* **18**, 4.
  24. Hey, Y. Y., Tan, J. K. H. and O'Neill, H. C. 2016. Redefining myeloid cell subsets in murine spleen. *Eur. J. Immunol.* **46**, 249-249.
  25. Jepson, M. A. and Clark, M. A. 2001. The role of m cells in salmonella infection. *Microb. Infect.* **3**, 1183-1190.
  26. Jones, B. D., Ghori, N. and Falkow, S. 1994. Salmonella typhimurium initiates murine infection by penetrating and destroying the specialized epithelial m cells of the peyer's patches. *J. Exp. Med.* **180**, 15-23.
  27. Lanningham-Foster, L., Green, C. L., Langkamp-Henken, B., Davis, B. A., Nguyen, K. T., Bender, B. S. and Cousins, R. J. 2002. Overexpression of crip in transgenic mice alters cytokine patterns and the immune response. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **282**, E1197-E1203.
  28. Kang-Hee Lee., Se-Hui. Lee., Jin-Young Yang. 2022. Research for intestinal mucosal immunity induced by salmonella enteritidis infection. *J. Life Sci.* **32**, 36-43.
  29. Levine, M. M., Ferreccio, C., Abrego, P., Martin, O. S., Ortiz, E. and Cryz, S. 1999. Duration of efficacy of ty21a, attenuated salmonella typhi live oral vaccine. *Vaccine* **17**, S22-27.
  30. Li, H. G., Zhao, L. H., Zhang, Z. H., Liu, J. Z., Ren, K., Li, S. Y. and Su, Z. J. 2017. The impact of cysteine-rich intestinal protein 1 (crip1) on thyroid carcinoma. *Cell. Physiol. Biochem.* **43**, 2037-2046.
  31. Lou, L., Zhang, P., Piao, R. and Wang, Y. 2019. Salmonella pathogenicity island 1 (spi-1) and its complex regulatory network. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **9**, 270.
  32. Ludyga, N., Englert, S., Pflieger, K., Rauser, S., Braselmann, H., Walch, A., Auer, G., Höfler, H. and Aubele, M. 2013. The impact of cysteine-rich intestinal protein 1 (crip1) in human breast cancer. *Molecular Cancer.* **12**, 28.
  33. Ly, K. T. and Casanova, J. E. 2007. Mechanisms of salmonella entry into host cells. *Cell. Microbiol.* **9**, 2103-2111.
  34. Ma, B. B., Zhang, T. J., Wang, C. Z., Xu, Z. J., Zhou, J. D., Gu, Y., Ma, J. C., Deng, Z. Q., Lin, J. and Qian, J. 2020. Methylation-independent expression is a potential biomarker affecting prognosis in cytogenetically normal acute myeloid leukemia. *Am. J. Transl. Res.* **12**, 4840-4852.
  35. Mastroeni, P., Grant, A., Restif, O. and Maskell, D. 2009.

- A dynamic view of the spread and intracellular distribution of salmonella enterica. *Nat. Rev. Microbiol.* **7**, 73-80.
36. Masud, S., Prajsnar, T. K., Torraca, V., Lamers, G. E. M., Benning, M., Van Der Vaart, M. and Meijer, A. H. 2019. Macrophages target salmonella by lc3-associated phagocytosis in a systemic infection model. *Autophagy* **15**, 796-812.
  37. Raffatellu, M., Wilson, R. P., Chessa, D., Andrews-Polymeris, H., Tran, Q. T., Lawhon, S., Khare, S., Adams, L. G. and Baumler, A. J. 2005. Sipa, sopa, sopb, sopd, and sope2 contribute to salmonella enterica serotype typhimurium invasion of epithelial cells. *Infect. Immun.* **73**, 146-154.
  38. Streef, T. J., Groeneveld, E. J., van Herwaarden, T., Hjortnaes, J., Goumans, M. J. and Smits, A. M. 2023. Single-cell analysis of human fetal epicardium reveals its cellular composition and identifies cripl as a modulator of emt. *Stem Cell Rep.* **18**, 1421-1435.
  39. Suzuki, T., Franchi, L., Toma, C., Ashida, H., Ogawa, M., Yoshikawa, Y., Mimuro, H., Inohara, N., Sasakawa, C. and Nunez, G. 2007. Differential regulation of caspase-1 activation, pyroptosis, and autophagy via ipaf and asc in shigella-infected macrophages. *PLoS Pathog.* **3**, e111.
  40. Talbot, S., Töttemeyer, S., Yamamoto, M., Akira, S., Hughes, K., Gray, D., Barr, T., Mastroeni, P., Maskell, D. J. and Bryant, C. E. 2009. Toll-like receptor 4 signalling through myd88 is essential to control serovar typhimurium infection, but not for the initiation of bacterial clearance. *Immunology* **128**, 472-483.
  41. Vázquez-Martínez, E. R., García-Gómez, E., Camacho-Arroyo, I. and González-Pedrajo, B. 2018. Sexual dimorphism in bacterial infections. *Biol. Sex Differ.* **9**, 27
  42. Vazquez-Torres, A., Jones-Carson, J., Bäumlner, A. J., Falkow, S., Valdivia, R., Brown, W., Le, M., Berggren, R., Parks, W. T. and Fang, F. C. 1999. Extraintestinal dissemination of salmonella by cd18-expressing phagocytes. *Nature* **401**, 804-808.
  43. Watson, K. G. and Holden, D. W. 2010. Dynamics of growth and dissemination of salmonella in vivo. *Cell. Microbiol.* **12**, 1389-1397.
  44. Worley, M. J., Nieman, G. S., Geddes, K. and Heffron, F. 2006. Salmonella typhimurium disseminates within its host by manipulating the motility of infected cells. *PROC. NATL. ACAD. SCI. U.S.A.* **103**, 17915-17920.
  45. Wu, Z., Qu, B., Yuan, M., Liu, J., Zhou, C., Sun, M., Guo, Z., Zhang, Y., Song, Y. and Wang, Z. 2023. Cripl reshapes the gastric cancer microenvironment to facilitate development of lymphatic metastasis. *Adv. Sci. (Weinh).* **10**, e2303246.
  46. Ye, C. Y., Ma, S. L., Xia, B. and Zheng, C. P. 2019. Weighted gene coexpression network analysis identifies cysteine-rich intestinal protein 1 (cripl) as a prognostic gene associated with relapse in patients with acute myeloid leukemia. *Med. Sci. Monitor.* **25**, 7396-7406.
  47. Zhang, K., Riba, A., Nietschke, M., Torow, N., Repnik, U., Pütz, A., Fulde, M., Dupont, A., Hensel, M. and Hornef, M. 2018. Minimal spi1-t3ss effector requirement for salmonella enterocyte invasion and intracellular proliferation in vivo. *PLoS Path.* **14**, e1006925.

## 초록 : CRIP1결손조건 하에서 *Salmonella* Typhimurium 감염에 의해 유도되는 면역반응에 관한 연구

서동주<sup>1</sup> · 이세희<sup>1</sup> · 박 선<sup>1</sup> · 김혜윤<sup>1</sup> · 양진영<sup>1,2\*</sup>

(<sup>1</sup>부산대학교 생명시스템학과, <sup>2</sup>부산대학교 생명과학과)

살모넬라는 일반적으로 식품에 의해 전파되고 심각한 공중보건 문제를 야기하는 병원성 미생물로, 살모넬라에 대한 숙주의 감수성을 결정하는데 숙주의 유전적 요소가 중요한 역할을 담당한다. Cysteine-rich intestinal protein1 (CRIP1)은 LIM/double zinc finger protein family에 속하는 단백질로, 인간의 소화관과 폐, 비장을 포함한 인체 전반적인 부위에서 폭넓게 발현된다. 최근 CRIP1은 여러 면역 질환의 핵심적인 마커로서 보고되고 있지만, 숙주의 세균 감염에 대한 CRIP1의 영향은 아직 알려진 바가 없다. 살모넬라는 CRIP1 유전자를 굉장히 높은 수준으로 발현하는 소장의 파이엘반 내로 침입한다고 잘 알려져 있기 때문에, 본 연구에서는 살모넬라 감염과 CRIP1 결핍 간의 상관관계를 규명하는 것을 목표로 하였다. 우리는 *ex vivo* 분화 실험을 통해서 CRIP1 결핍은 골수-유래 대식세포의 식세포작용과 골수-유래 수지상세포의 보조자극 인자의 활성을 변화시키지 않는다는 것을 발견하였다. 게다가, 유세포 분석 데이터를 통해 야생형 마우스와 CRIP1 유전자 결핍 마우스 간의 MHCII<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> CD11c<sup>+</sup> 수지상세포 및 MHCII<sup>+</sup>F4/80<sup>+</sup>CD11b<sup>+</sup> 대식세포가 비슷한 수준을 나타낸다는 것을 보여주었다. 흥미롭게도, 비장의 단핵구와 장간막 림프절의 호중구의 기저 수준은 야생형 마우스보다 CRIP1 유전자 결핍 마우스에서 더욱 풍부하게 나타났다. 요약하자면, 우리는 CRIP1이 *Salmonella* Typhimurium 감염에 대한 숙주의 감수성과 골수성 세포의 활성화에 불필요한 유전자임을 명확하게 증명하였다. 또한, 항원에 노출되지 않은 CRIP1 유전자 결핍 마우스에서 나타난 면역세포의 각기 다른 비율은 CRIP1 유전자의 발현 조절이 다양한 감염성 질환에 대한 새로운 면역치료 접근법일 수 있음을 시사한다.