

기관지천식 환자에서 면역치료에 의한 T 림프구 아형과 증식능의 변화

전북대학교 의과대학 내과학교실

이양근 · 김정권 · 이영승 · 최수미 · 이병현 · 이용철

서 론

알레르기 질환에 대한 면역요법은 1911년 고초열 환자를 대상으로 처음 시도된 이후^{1,2)} 현재 널리 시행되어지고 있으며 그 효과 또한 인정되고 있다. 기관지 천식환자에서 면역치료의 효과에 대하여는 이미 받아들여지고 있으나 이에 대한 작용 기전에 관하여는 아직도 명확히 밝혀지지 않고 있는 실정이다. 면역치료의 효과판단은 증상 및 투약 점수, 특이 및 비특이적 기관지 유발검사, 특이 비강 유발검사등 그리고 특이 IgG4의 증가³⁻⁶⁾, 총 IgE, 특이 IgE, 히스타민의 변화, 히스타민 유리인자^{7,8)}, CD3, CD4, CD8아형의 변화⁹⁾ 그리고 피부반응검사등의 면역학적 반응등으로 판정되고 있다. 세포성 면역 반응 또한 알레르기 질환의 발현에 어떠한 형태로든 관여하고 있으리라 여겨지며 이를 뒷받침하는 많은 연구들이 이루어지고 있으나 연구자와 연구방법에 따라 상이한 결과가 보고되고 있다¹¹⁾.

본 연구의 목적은 기관지 천식환자에서 면역치료의 기전을 밝히고 나아가 천식의 병태생리의 규명에 도움을 주고자 한다. 이에 저자는 정상대조군, 면역치료전, 기관지 천식 환자군 및 6개월 이상 면역요법을 시행받은 환자군에서 말초혈액내의 총 T 림프구(CD3), 보조 T 림프구(CD4)와 억

제/세포독성 T 림프구(CD8)의 변화를 관찰하고, 말초혈액에서 분리한 단핵세포군을 비특이성 마이토젠인 phytohaemagglutinin(PHA), concanavalin-A(Con-A) 및 pokeweed mitogen(PWM)을 가지고 자극배양한 후 림프구의 증식능을 관찰하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1) 정상대조군

표 1에서와 같이 병력과 이학적 소견상 알레르기 질환 및 기타 전신 질환에 이환되지 않은 9세에서 56세까지의 건강한 성인 남녀 46명을 정상대조군으로 하였다. T 림프구의 아형의 변화를 보기위한 정상 대조군은 39명이었고, PHA, Con-A 및 PWM으로 자극배양하여 T 림프구의 증식능의 변화를 관찰하기 위한 정상대조군으로 7명으로 하였다.

2) 기관지 천식 환자군

1989년 1월부터 1992년 9월까지 전북대학교 병원 내과 알레르기 클리닉에서 과거병력, 가족력, 이학적 소견, 알레르기 피부반응 검사, 혈청 총 IgE, radioallergosorbent(RAST)검사, 그리고 특이 및 비특이적 기관지 유발검사등의 소견을 종합하여 외

Table 1. Age and sex distribution of normal controls and patients with asthmatics

Patients. Age/Sex	Normal Controls		Patient	
	M	F	M	F
1-10	2	0	5	0
11-20	3	2	16	5
11-30	21	8	8	3
31-40	3	2	4	11
41-50	3	1	9	3
51-60	1	0	3	0
Total	33	13	45	22

인성 기관지 천식으로 진단되어 아직 면역 치료를 시행받지 않고 고식적인 치료를 받고 있던 환자와 6개월이상 면역치료를 받은 환자들을 대상으로 하였는데, 관찰기간은 평균 14.4개월이었다. 표 2에서와 같이 면역치료에 따른 T 림프구 아형의 변화에 포함된 기관지 천식 환자는 47명이었고 2회이상 검사받은 환자는 14명이었으며 PHA, Con-A 및 PWM으로 자극배양하여 T 림프구 증식능의 변화를 관찰한 기관지 천식환자군은 49명이었고 이중 11개월 이상 관찰받은 환자는 7명이었다.

면역치료를 받고 있거나 치료받았던 환자는 증상이 대부분 호전되었거나 증상이 완전히 소실되었으며 T 림프구의 증식능을 조사한 7명의 환자 모두 증상이 호전되었던 환자들이다.

Table 2. T cell subpopulations and immunoproliferative response studies in the control and patients groups

Group	T cell subpopulation	Immunoproliferative response
Controls	39	7
Patients	47(14)	49(7)

2. 면역 치료

면역 치료는 영국의 Bencard사의 house dust mite vaccine(HDM)-Dermatophagoides pteronyssinus,

specific desensitization vaccine(SDV), Alum adsorbed allergen house dust mite-Dermatophagoides pteronyssinus and Dermatophagoides farinae(Alavac-S HDM)을 피부실험 결과에 따라 사용하였다. 방법은 처음 0.1ml를 상박에 피하주사하고 이어 2주, 3주, 4주, 5주 및 6주째에 각각 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0ml로 증량하면서 주사한 다음 그후 유지용량 1ml씩 1~4주에 1회 투여하였다.

3. 검사방법

가. 림프구 분리

1) 헤파린 처리한 전혈 20ml를 정맥에서 채취한 다음 희석액 Hanks' balanced salts solution(HBSS)으로 1:1(전혈:희석액)로 희석하여 Ficoll-Hypaque용액에 중침시킨다.

2) 시험관은 400g(1500rpm)에서 30분간 원심침전시킨다.

3) 원심침전이 끝난후 시험관을 꺼낸다음 파스퇴르피펫을 이용하여 Ficoll-Hypaque용액과 혈장사이 에 집중 부유되어 있는 단핵구 세포층을 채취하여 원추형 시험관에 옮긴다.

4) HBSS 세척액으로 3회 세척한다. 매회 세척액을 10ml 정도를 넣고 1500rpm에서 10분정도 원심침전후 상층액을 버린다.

5) 헤모사이티미터에 세척이 끝난 세포액을 Trypan blue로 동량 희석하여 chamber에 넣고 살아 있는 세포수를 $2 \times 10^6/\text{ml}$ 로 조정한다.

나. T 림프구 아형 검사

1) ethylene diamine tetraacetic acid(EDTA)용기에 말초혈액을 2ml채취한 다음 6시간 이내에 염색을 하였다.

2) T 림프구 아형의 염색은 3가지의 단클론 항체(Becton-Dickinson Mountain View, CA)를 사용하였는데, 이는 T 림프구를 인지하는 CD3(Anti-Leu-4), 보조 T 림프구를 인지하는 CD4(Anti-Leu-3a), 억제/세포 독성 T 림프구를 인지하는 CD8(Anti-Leu-2a)이다.

3) 세가지 시약을 각각의 용기에 넣은 다음, 일광을 차단한 상태에서 혈액 100 μl 씩을 넣는 후 실온에서 약 15분내지 30분간 방치한 다음, 적혈구를

용해시키기 위해 2ml의 용해액(RBC lysing solution)을 첨가한 후 약 10분간 암실 실온에서 방치한 후, 5분동안 300g에서 원심침전시킨다.

4) 원심침전후 50 μ l의 침전물을 얻어 2ml의 phosphate buffered saline(PBS)를 첨가한 후, 다시 200g에서 원심침전시켜 상층액은 버리고 1ml PBS를 부가하였다.

5) T 림프구의 아형분석은 염색후 24시간이내에 플로우 싸이토미터를 이용하였다.

6) 본 실험에서는 fluorescein isothiocyanate (FITC)와 phycoerythrin(PE)의 두종류의 형광물질을 단클론 항체와 혼합하여 이용하는 이색 형광면역법(two color immunofluorescence method)를 사용하였다.

다. 림프구의 증식능 검사

1) 앞서 시행한 방법으로 림프구를 분리한 후 세포수를 2×10^6 /ml로 산정한다.(단 회석액은 10% FBS/RPMI 1640배지를 사용함)

2) Plate 형태의 판에 각 우물구멍의 최종농도가 2 μ g/ml인 PHA와 Con-A를 100 μ l씩 분주하며, PWM은 최종농도가 5 μ g/ml인 것을 100 μ l씩 분주한다. 이때 한 우물구멍에 음성대조를 세우고 마이트젠대신 10% FBS/RPMI배지를 사용한다.

3) Plate형태의 판의 각 우물구멍에 세포부유액 100 μ l씩 첨가한 후 뚜껑을 덮어 37°C에서 CO₂ 배양한다.

4) 50시간후 [³H] 방사선 동위원소를 넣어준 후 16시간후에 세포를 수확한다.

5) 수확한 것에 카테일용액(scintillation solution : Lumagel®)을 2ml씩 첨가하여 워울 용기에 넣어서 beta-count한다.

6) 얻어진 수치를 음성대와 비교하여 반응지수(RI)를 구한다.

$$\text{Response index(RI)} = \frac{\text{mean cpm in prescence of mitogen}}{\text{mean cpm in in control well}}$$

4. 통계분석

PHA, Con-A 및 PWM을 가지고 말초혈액에서 분리한 단핵세포군을 자극배양후 림프구의 증식능을 관찰한 성적의 분석에서 동일한 환자에서 변화는 paired t-test로 통계 분석하였고, 대조군과 면역치료전의 환자군 및 면역치료중 혹은 치료후의 환자군 상호간의 비교는 grouped t-test로 통계분석하였다.

실험성적

가. 면역치료에 따른 T세포 아형의 변화 :

표 3에서 보는 바와 같이 39명의 건강한 성인 남녀의 정상대조군에서 CD3, CD4, CD8의 백분율은 각각 68.7 ± 4.2 , 39.6 ± 5.8 , 25.8 ± 6.3 이었고, CD4/CD8비는 1.59 ± 0.3 이었다. 14명의 면역치료전의 환자군의 CD3, CD4, CD8의 백분율은 표 1, 2에서 보는 바와 같이 각각 66.9 ± 5.2 , 42.4 ± 8.8 , 25.9 ± 5.9 이었고, CD4/CD8비는 1.7 ± 0.6 이었으며 면역치료중이거나 혹은 치료후의 성적은 각각 64.1 ± 6.3 , 41.

Table 3. Distribution and changes of T lymphocyte subpopulation in normal control group and asthmatics before and after immunotherapy

	No. of Cases	CD3 (%)	CD4 (%)	CD8 (%)	CD/CD8 (%)
Control	39	68.7 ± 4.2	39.6 ± 5.8	25.8 ± 6.3	1.59 ± 0.3
Pre-IT	14	66.9 ± 5.2	42.4 ± 8.8	25.9 ± 5.9	1.7 ± 0.6
Post-IT	14	64.1 ± 6.3	41.9 ± 17.7	$*32.2 \pm 7.9$	$*1.26 \pm 0.5$

IT : Immunotherapy

Unit : Percentage

*P<0.05

Table 4. Results of T lymphocyte subpopulation by immunotherapy in asthmatic patients

	No. of Cases	CD3 (%)	CD4 (%)	CD8 (%)	CD/CD8 (%)
Non-IT	38	68.7±8.6	44.3±9.6	28.7±6.4	1.6±0.6
Post-IT	22	64.7±5.7	38.5±8.9	*33.2±8.3	*1.26±0.5

IT : Immunotherapy

Unit : Percentage

*P<0.05

9±17.7, 32.2±7.9, 1.26±0.5을 정하여 CD3와 CD4는 변화가 없었으나 CD8은 증가하였으며(P<0.05), CD 4/CD8 비 또한 표 3에서 보는 바와 같이 CD8의 증가로 인하여 감소하였다(P<0.05). 또한 표 4에서 보는 바와 같이 검사를 시행한 60명의 환자중 면역치료전의 38명의 환자군의 CD3, CD4, CD8, CD4/CD8비는 각각 68.7±8.6, 44.3±9.6, 28.7±6.4, 1.6±0.6이었고, 면역치료중이거나 면역치료를 종료한 환자군에서는 각각 64.7±5.7, 38.5±8.9, 33.2±8.3, 1.26±0.5으로 동일환자군의 성적과 유사하게 CD3와 CD4의 유의한 변화는 없었으나, 표 4에서 보는 바와 같이 CD8와 CD4/CD8비가 변화하였다.

나. 면역치료에 따른 림프구의 증식능 검사 :

림프구를 비특이 마이토젠인 PHA, Con-A 및 PWM으로 자극배양한 후 림프구 증식능을 [³H]thymidine incorporation법으로 산정한 반응지수(RI)를 구하여 다음의 결과를 얻었다.

정상 대조군의 반응지수는 PHA 30.2±8.2, Con-A 12.9±5.3, PWM 8.4±3.4이었으며, PHA, Con-A, PWM으로 자극 배양한 후 경우 동일환자에서 추적 검사를 시행한 7명의 기관지 천식환자의 면역치료 전 성적은 표 5에서 보는 바와 같이 각각 PHA 46.9±33.8, Con-A 32.8±32.2, PWM 15.7±15.0이었고, 동일환자에서 11개월이상 면역치료중인 환자군에서의 반응지수는 각각 139.9±90.7, 106.9±82.3, 59.8±79.2로 PWM에서의 변화를 제외하고는 상승하였다(PHA : P<0.01, Con-A : P<0.01, PWM : 증가하였으나 통계학적으로 유의하지 않았다). 또한 표 5에서 보는 바와 같이 PHA, Con-A, PWM으로 각각 자극배양한 35명의 면역치료전의 환자군과 23명의 면역치료중이거나 치료를 종료한 환자군에서도 면역치료에 따른 증가가 있었다(PHA : P<0.01, Con-A : P<0.01, PWM : P<0.05). 또한, 표 6에서 보는 바와 같이 면역치료전의 전체 환자군 35명의 반응지수는 정상 대조군에 비하여 Con-A, PWM에 대한 반응지수에서 증가를 보이고 있었고(Con-A,

Table 5. Changes of immunoproliferative response(response index) to nonspecific mitogen PHA, Con-A and PWM in normal controls and asthmatics before and after immunotherapy

Group	No. of Cases	RIa)		
		PHA	Con-A	PWM
Control	7	30.2±8.2	12.9±5.3	8.4±3.4
Pre-IT	7	46.9±33.8	32.8±32.2	15.7±15.0
Post-IT	7	*139.9±90.7	*106.9±82.3	59.8±79.2

IT : Immunotherapy

*p<0.05

$$a) \text{ Response index(RI)} = \frac{\text{mean cpm in prescence of mitogen}}{\text{mean cpm in control well}}$$

Table 6. Results of immunoproliferative response(response index) to nonspecific mitogens by immunotherapy in asthmatic patients

Group	No. of Cases	RIa)		
		PHA	Con-A	PWM
Non-IT	35	55.3±40.6	35.0±26.5	23.4±18.3
Post-IT	23	*100.2±79.5	*65.8±55.7	40.6±45.6

IT : Immunotherapy

*p<0.05

a) Response index(RI) = $\frac{\text{mean cpm in prescence of mitogen}}{\text{mean cpm in control well}}$

P<0.05, PWM, P<0.05), 면역치료후의 환자군과의 비교에서도 대조군에 비하여 PHA, Con-A에 대한 반응지수가 현저히 증가하는 경향을 보였다(PHA : P<0.05, Con-A : P<0.01).

고 찰

기관지 천식등 알레르기 질환의 병인에 있어서 세포성 면역반응의 역할에 대한 관심이 증대되면서 많은 연구가 이루어지고 있다. 그러나 연구자와 검사방법에 따라 그 결과도 다양하게 보고되었는데 면양적혈구를 이용하여 E rosette 형성 세포(T cell)를 측정한 초기의 여러 연구^{11,12)}에서는 외인성 천식이나 알레르기성 비염 환자에서 정상 대조군에 비하여 T 림프구가 유의있게 낮다고 보고되었다. 이어서 단클론 항체(MoAb)를 이용하여 측정한 여러보고^{13,14)}에서는 OKT3 총 T세포 표면 표식자를 이용하여 측정한 총 T 림프구의 수가 알레르기 환자와 정상 대조군사이에 별 차이가 없다고 보고하였으나 Matsumoto등¹⁵⁾은 외인성 천식 환자에서 IgE의 Fc부위에 대한 수용체를 가지고 있는 림프구(FcE⁺ T cell)가 특히 증가되어 있음을 보고하고 FcE⁺ T 세포와 혈청내 IgE와 밀접한 관계가 있다고 하였다. 그러나 Canonica등¹⁶⁾은 IgG의 Fc부위에 대한 수용체를 가지고 있는 T 림프구가 천식 환자에서 낮고 면역요법후에는 정상까지 높아진다고 하였다.

알레르기 질환이 있는 환자들의 말초 혈액내 T 림프구 아형의 변화에서 CD4/CD8비가 증가되어

있다고 하는데^{14,17-20)}, CD4/CD8비율의 증가는 연구자마다 달라 CD8세포의 감소가 주요 원인이라는 보고와¹⁷⁻¹⁹⁾ CD4세포의 증가가^{14,20)} 원인이라는 보고가 있다. 또한 심한 병변이 있는 경우에만 관찰된다는 보고가 있는가 하면 임상증세가 나타나기 도전에 이미 변화가 있다는 보고도 있는데¹⁶⁾ 이러한 CD4/CD8비의 증가는 여러 알레르기 질환 특히 아토피성 피부염에서 저명하게 나타나고 외인성 천식이나 알레르기성 비염에서는 잘 관찰되지 않는다고 한다^{13,17)}. 저자들의 실험에서는 외인성 천식환자들을 대상으로 하였는데 CD4/CD8비가 건강한 성인 대조군과 차이가 없었으며 면역치료를 함에 따라 환자들의 증상은 호전되는 반면 오히려 감소되었는데 이는 CD8의 증가로 인한 T세포성 면역억제와 연관이 있으리라 사료된다.

Tsai등²¹⁾은 면역치료후 CD8생성이 감소된다고 하였으며 Bruijnzeel²²⁾은 특히 내인성 기관지 천식 환자들에서 억제/세포독성 T림프구가 유의있게 낮다고 하였고, Lokar등²³⁾ 소아에서 억제/세포독성 T 림프구가 면역치료전의 환자군에서 낮았고(p<0.01) 면역치료후 증가한다고 하였고(p<0.01) 마이토텐으로 자극한 반응지수는 천식환자군에서 높았다고 하였다. 저자들의 실험에서는 면역치료전의 환자군과 정상 대조군과 차이는 없었으며, 면역치료를 따라 Lokar등²³⁾의 실험과 유사한 결과를 보였다. 반응지수 또한 정상 대조군에 비하여 천식환자군에서 높았으며 면역치료를 따라 더욱 증가되었다. Corrigan등²⁴⁾은 혈중 T 림프구의 호라성도를 나타내는 클래스 II MHC 항원(Ia), interleu-

kin-2 receptor(IL-2R) 및 very late activation antigen (VLA-1)의 표현에 대한 단클론 항체와 유식세포 분석을 이용한 검사에서 천식환자가 입원시에 상술한 3 표지자가 유의하게 높았고 임상증세의 호전과 함께 점차 낮아지는 것을 관찰하였으며 이러한 3표지자를 나타내는 세포가 주로 CD4 세포임을 확인하여 주로 보조 T 세포가 증가된다고 하였다. 저자들의 실험에서는 면역치료를 함에 따라 CD4/CD8비가 감소되었고 이는 억제/세포독성 T 림프구의 증가에 기인함을 암시하고 있다. Berbligh등²⁵⁾은 천식환자에서 부신피질 호르몬의 투여에 의해 CD4 세포가 감소하고 CD8 세포가 증가하며 CD4/CD8 비가 감소하는 것이 천식환자에서 관찰되고 정상인에서는 관찰되지 않았는데 이는 근본적으로 T 림프구 아형의 이상이 아니라 부신피질 호르몬에 대한 비정상적인 반응과 관계된다고 하였다. Gonzalez등²⁶⁾과 Gerbligh등²⁷⁾은 기관지 천식 환자를 대상으로 기관지 유발 시험을 시행한 다음 말초 혈액과 기관지 세척액에서 T 림프구 아형검사를 하였는데, Gonzalez등²⁶⁾은 특히 조기 기관지 수축 반응에서 말초혈액내의 CD4 세포가 유의있게 높았고 기관지 세척액에서는 CD4 세포가 낮아지고 CD8세포가 높아져있음을 관찰하였는데 이는 조기 기관지 수축반응에서 억제/세포독성 T 림프구가 폐로 이동하여 뒤이어 일어나는 후기 기관지 수축을 억제한다고 하였다. Gerbligh등²⁷⁾도 기관지 유발 시험시 말초혈액내의 CD4 세포가 오히려 낮아지고 Ia양성인 활성화된 T 림프구가 높아지는데 이러한 소견은 CD4 세포가 혈중 밖으로 이동하기 때문이라고 설명하였고 이는 알레르겐 노출후 세포성 면역 반응이 관여한다는 근거가 된다고 하였다.

아토피성 알레르기 질환에서 T 림프구와 아형의 변화와 함께 CD4 세포와 CD8 세포와의 기능변화도 관찰되고 있다. Rawle등²⁸⁾은 Dermatophagoides pteronyssinus를 이요하여 말초혈액 단핵구를 자극 배양시 T 림프구 증식능과 IL-2 생성능이 현저하게 증대되며 이때 T 림프구의 표면 표현성 검사에서 대부분이 CD4세포임을 관찰하였고, Phillips등²⁹⁾은 두드러기췌에 과민성을 보이는 환자에서 두드러기췌 항원 E(AgE)로 반복자극하여 T 림프구를 배

양한 다음 림프구 표면 표현형 검사를 하여 CD4 세포와 CD8 세포가 주로 증식하였음을 관찰하였다. 면역요법을 시행한 후 림프구의 기능을 관찰한 연구에서 Hsieh³⁹⁾는 집먼지 항원과 PHA를 이용하여 IL-2 생성능을 관찰하였는데, 면역치료전의 기관지 천식 환자들에서 IL-4 생성능이 정상 대조군과 비슷한데 반하여 집먼지 항원에 대한 IL-2 생성능은 증가되었으며, 면역요법을 시행한 환자에서는 IL-2생성능이 집먼지 항원에 의해서는 정상 대조군과 비슷하였고 PHA로 자극시는 정상 대조군보다 높게 측정되었다.

T 림프구 아형의 증식능에 관한 연구에서 Hsieh³¹⁾는 PHA 자극에 대한 CD4 세포의 증식능이 면역요법전의 환자군에서는 낮았고 면역요법후에 높아졌으며 집먼지 항원에 대한 CD4 세포반응은 면역요법후에 감소되었다. 이와 비교하여 CD8 세포의 반응은 면역요법후 PHA 자극과 집먼지 항원에 대하여 증식능이 증가되었다. 또한 억제/세포독성 T 림프구가 기능장애가 있다는 여러 실험보고가 있는데 Con-A 유도 억제/세포독성 T 림프구 기능장애가^{32,33)} 히스타민 유도 억제/세포독성 T 림프구 활성화의 장애가 천식 환자에서 관찰되고 항원 특이 또는 항원 비특이 억제 세포 활성화도가 저하되어 있으며 IgE 항체 형성이 과도하게 일어난다³³⁾. 이러한 억제세포가 저하되어 있으며 IgE 항체 형성이 과도하게 일어난다³³⁾. 이러한 억제세포의 장애는 면역요법에 의하여 항원 특이 억제/세포독성 T 림프구가 증가되고 기능이 강화되어 특이 IgE 항체 생성을 억제함으로써 알레르기 증상을 호전시킨다고 한다^{34,35)}.

Rocklin³⁶⁾은 면역치료의 면역학적 기전을 알러젠 특이 IgE의 계절적 증가의 완화와 기저 IgE의 감소, 알러젠 특이 IgG의 생성, auto-anti-idiotypic 항체의 대두, 히스타민 유리의 감소, 알러젠에 대한 림프구 증식능과 lymphokine의 감소와 항원 특이 억제/세포독성 T 림프구가 풀현하여 림프구의 증식능과 IgE 생성을 조절한다고 하였다. Hsieh³¹⁾는 천식 환아에서 면역치료후 특이 알러젠에 대한 T 림프구의 증식능이 감소된다고 하였다. O'Brien등³⁷⁾은 HDM Dermatophagoides pteronyssinus에 대한 T

림프구의 반응을 연구하였는데 HDM에 민감한 환자들에서 평균 자극지수(stimulation index)가 높았으며($p < 0.01$), 알레르기 환자들에서 총 IgE는 상승되어 있었고 이는 평균 자극지수와 밀접한 상관관계를 나타냈다고 보고하였다. 외인성 기관지 천식을 대상으로 한 저자들의 실험에서도 정상대조군에 비하여 환자군에서 림프구 증식능이 증가되었다. 하지만 저자들의 실험성적은 Rocklin³⁶⁾과 Hsieh³¹⁾의 결과와는 상이하게 면역치료후 림프구의 증식능이 더욱 증가되었다.

Liao 등³⁸⁾은 처음 진단받은 천식환자에서 히스타민 유리인자의 활성도가 높았고 면역치료를 좋은 반응을 보이는 환자들은 히스타민 유리인자(HRF)의 활성도가 감소하였고 알러젠과 마이토젠(PHA)으로 자극시도 좋은 반응을 보인 환자들에서는 HRF의 활성도가 감소하였고 반응을 보이지 않았던 환자들은 변화가 없었다고 하여 면역치료는 HRF 활성도를 억제시킨다고 하였다.

천식환자에 대한 면역치료법시 그 효과는 연령이 젊은 층이고^{23,39)}, 천식증상의 기간이 짧을수록, 그리고 증상이 심하지 않을수록 치료효과가 좋은 경향이 있으며, 이는 면역치료의 표지자로 이용되는 IgG4 항체의 출현과도 일치하는 소견을 보이는데 저자들의 실험에 있어서 천식환자군의 전체적인 결과에서 면역치료전후에 T 림프구 아형과 비특이 마이토젠에 대한 면역증식능에 있어서 유의한 변화를 보였고 이들이 천식증상의 개선과 유관하게 나타난 점을 감안할 때 실험결과로 평가하는 데는 어려움이 없을 것으로 생각된다.

저자들의 실험에서 정상대조군, 면역치료전 환자군 및 11개월이상 면역치료를 받은 천식환자군을 대상으로 T 림프구 아형을 비교하였는데, 총 T 림프구와 보조 T 림프구는 건강한 성인 대조군과 면역치료를 따른 천식 환자군간에 차이는 없었다. 억제/세포독성 T 림프구는 면역치료를 시행함에 따라 천식환자군에서 증가되었고, CD4/CD8비 역시 억제/세포독성 T 림프구의 증가와 더불어 감소되었다. PHA, Con-A 및 PWM으로 림프구의 자극 배양을 시행했을 때 면역치료중이거나 혹은 종료한 환자군이 면역치료전의 천식환자군에 비하여 림프

구 증식능이 증가되었다. CD8 세포가 면역요법후에 증가하고, 비특이 마이토젠에 대하여 림프구 증식능이 증가된 것은 주로 CD8 세포의 기능강화와 연관 있으리라고 생각된다.

앞으로 천식환자에 있어서 이러한 세포 면역능에 관여하는 cytokine에 대한 연구가 함께 이루어져야 할 것으로 사료된다.

요 약

연구배경: 기관지 천식환자에서 면역치료의 효과에 대하여는 이미 받아 들여지고 있으나 이에 대한 작용 기전에 관하여는 아직도 명확히 밝혀지지 않고 있는 실정이다. 본 연구의 목적은 기관지 천식환자에서 면역치료의 기전을 밝히고 나아가 천식의 병태생리의 규명에 도움을 주고자 한다.

방 법: 본 연구는 1990년 1월부터 1992년 9월까지 전북대학병원 내과 알레르기 클리닉에서 외인성 기관지 천식으로 진단받고 면역치료 예정이거나 면역치료중 혹은 면역치료를 종료한 환자중 총 87명을 실험군으로 하였으며 건강한 성인 남녀(9~56세)총 46명을 대조군으로 하여 면역치료에 따른 T세포 아형과 비특이 마이토젠인 PHA, Con-A 및 PWM으로 자극배양하여 T 림프구의 증식능의 변화 및 차이를 연구하였다.

결 과: 1. 총 T 림프구(CD3) 및 보조 T 림프구(CD4)는 면역치료를 따른 유의한 변화가 없었다. 억제/세포독성 T 림프구(CD8)는 면역치료후에 유의하게 증가되었으며, CD4/CD8비는 면역치료후에 유의하게 감소되었다. 2. PHA, Con-A 및 PWM에 의한 림프구의 증식능은 면역치료전의 천식환자군에 비하여 치료후의 환자군에서 현저히 증가되었다.

결 론: 이사의 성적으로 면역요법에 의한 천식의 임상증상 개선효과는 억제/세포독성 T 림프구의 증가와 활성화와 림프구 증식능의 증가에 기인할 가능성을 암시한다고 생각된다.

- Abstract -

Changes of T lymphocyte Subpopulation and Cell-Mediated Immunity after Immunotherapy in Bronchial Asthma

Y.K. Rhee, M.D., J.K. Kim, M.D., Y.S. Lee, M.D.,
S.M. Choi, M.D., B.H. Lee, M.D., Y.C. Lee, M.D.

Department of Medical Science, Chonbuk National University Hospital

Background : To delineate the working mechanisms of immunotherapy (IT), the changes of subpopulation of T lymphocyte and immunoproliferative responses of lymphocyte to nonspecific mitogens, such as PHA, Con-A and PWM before and during or after immunotherapy were studied in bronchial asthmatics and healthy persons.

Methods : Fourty-nine patients with bronchial asthma underwent immunotherapy(hyposenstization) with house dust mite vaccine (HDM)-Dermatophagoides pteronyssinus, specific desensitization vaccine(SDV), Alum adsorbed allergen house dust mite-Dermatophagoides pteronyssinus and Dermatophagoides(Alavac-S HDM) of Bencard company for variable period(8-52 months).

Results : 1. The CD3 and CD4 were not affected after immunotherapy but CD4/CD8 ratio was significantly decreased probably due to elevation but CD4/CD8 ratio was significantly decreased probably due to elevation of CD8 subpopulation. 2. The immunoproliferative responses of lymphocyte to non specific mitogens were significantly increased after immunotherapy.

Conclusion : This results suggested that activated immunoproliferative responses to non-

specific mitogens and increased CD8 positive T cell subpopulation may play a role in improving of clinical symptoms after immunotherapy in the asthmatic patients.

REFERENCES

- 1) Noon L, Contab BC : Prophylactic inoculation against hay fever : Lancet 1 : 1572, 1991
- 2) Freeman J : Further observation on the treatment of hay fever by hypodermic inoculation of pollen vaccine. Lancet 1 : 814, 1991
- 3) Hedlin G, Graff-Lonnevig V, Heilborn H, Lilja G, Norrlind K, Pegelow K, Sundin B, Lowenstein H : Immunotherapy with cat-and dog-dander extracts. V. Effects of 3 years of treatment. J. Allergy Clin. Immunol. 87 : 955 : 1991
- 4) Leynadier F, Lambin P, Makmuri MS : Blocking antibodies to inhalant allergens and asthma. Allergy Immunology 23(8) : 347, 1991
- 5) Mancini S, Greco M, Wietrzykowska R, Campagnano P, Misirocchi E, Koch PL : Blocking antibodies during specific hyposenstization immunotherapy in respiratory allergies in children. Minerva Pediatr. 43 : 311 : 1991
- 6) Tsai LC, Tang RB, Hung MW, Chang ZN : Changes in the levels of house dust mite specific Ig4 during immunotherapy in asthmatic children. Clin Exp Allergy. 21 : 367 : 1991
- 7) Brunet C, Bedard PM, Lavoie A, Jobin M, Hebert J : Allergic rhinitis to ragweed pollen. II. Modulation of histamine-releasing factor production by specific immunotherapy. J Allergy Clin Immunol. 89 : 87 : 1992
- 8) Liao TN, Hsieh KH : Altered production of

- histamine-releasing factor(HRF) activity and responsiveness to HRF after immunotherapy in children with asthma *J Allergy Clin Immunol.* 86 : 894 : 1990
- 9) Ruiz de Leon Loriga J, Lluch Perez M, Valero Santiago A, Zamorano Calderon M, Huguet Casals J, Malet Casajuana A, Garcia Calderon PA : Evaluation of immune parameters, (including specific Ig4) during immunotherapy *Allergol Immunopathol.* 17 : 119 : 1989
- 10) Sustiel A, and Rocklin R : T cell responses in allergic rhinitis, asthma and atopic dermatitis. *Clinical and Exper. Allergy* 19 : 11, 1989
- 11) Gupta S, Frenkel R, Rosenstein M, Grieco MH : Lymphocyte subpopulations, serum IgE and total eosinophil counts in patients with bronchial asthma : *Clin. Exp. Immunol.* 22 : 438, 1975
- 12) Strannegard O, strannegard IL : T lymphocyte numbers and function in human IgE mediated allergy. *Immunol. Reviews* 41 : 149, 1978
- 13) Schugler M, Gerblich A, urda G : Atopic asthma T lymphocyte subpopulations *Clin. Allergy* 14 : 131, 1985
- 14) Valverde E, Huguet J, Engel P, Garcia-calderon A : Cell mediated immunity in perennial allergic rhinitis, *Ann. Allergy* 52 : 187, 1984
- 15) Matsumoto T, Takahashi H, Miike T : Increase of T cells bearing Fc epsilon R-associated antigen in patient with atopic asthma. *Ann. Allergy* 58 : 261, 1987
- 16) Canonica GW, Mingari MC, Milioli G, Colombatti M, Moretta L : Imbalances of T cell subpopulations in patients with atopic diseases and effect of specific immunotherapy. *J Immunol* 123 : 2669, 1979
- 17) Leung DYM, Rhodes AR, Geha RS : Enumeration of T cell subsets in atopic dermatitis using monoclonal antibodies. *J Allergy Clin Exp Immunol.* 67 : 450, 1981
- 18) Butler M, Atherton D. Levinsky RT : Quantitative and functional deficit of suppressor T cells in children with atopic eczema. *Clin Exp Immunol.* 59 : 92, 1982
- 19) Zachary CB, MacDonald DM : Quantitative analysis of T lymphocyte subsets in atopic eczema, using monoclonal antibodies and flow cytometry. *Br. J Dermatol* 108 : 411, 1983
- 20) Braathen LR : T cell subsets in patients with mild and severe atopic dermatitis. *Acta. Dermatol Venereol.* 114 : 133, 1985
- 21) Tsai LC, Tang RB, Hung MW, Chen HM, Tsai SJ : Expression of serum IL-2, IL-2R, and CD 8 levels during hyposensitization in house-dust-sensitive asthmatics. *J. Asthma* 27 : 307, 1990
- 22) Bruijnzeel PLB, Hamelink ML, Prins K, Remmert G, Meyling FHJG : Blood lymphocyte subpopulations in extrinsic and intrinsic asthmatics. *Ann. Allergy* 58 : 179, 1987
- 23) Lokar R, Kolbas V, Sabioncello A, Rabatic S : T lymphocyte subpopulations in children's atopic asthma. *Allergy. Immunol.* 36 : 87 : 1990
- 24) Corrigan CJ, Kay AB : CD4 T-lymphocyte activation in acute severe asthma : relationship to disease severity and atopic status. *Am. Rev. Respir Dis.* 141 : 970, 1990
- 25) Gerblich A, Hrda G, Schugler MR : Atopic asthma : T-cell response to corticosteroid. *Chest* 87 : 44, 1985
- 26) Gonzalez MC, Diaz P, Galleguillos FR, Ancic P, Cromwell O, Kay AB : Allergen-induced recruitment of bronchoalveolar helper(OKT4) and suppressor(OKT8) T-cells in single early responders. *Am Rev Respir Dis.* 136 : 600, 1987
- 27) Gerblich A, Campbell AE, Schuyler MR :

- Changes in T lymphocyte subpopulations after antigenic bronchial provocation in asthmatics. N Engl J Med 310 : 1349, 1984
- 28) Rawle FC, Mitchell EB, Platts-Mills AE : T-cell responses to the major allergen from the house dust mite *D. Pteronyssinus* antigen P1 : comparison of patients with asthma, atopic dermatitis, and perennial rhinitis. J Immunol. 133 : 195, 1984
 - 29) Phillips L, Chambers C, Underdown BJ, Aimerman B : Lymphocyte proliferation to antigen E : demonstration of the restriction of antigen E-specific T cells to ragweed allergic donors. J Allergy Clin Immunol. 79 : 933, 1987
 - 30) Hsieh KH : Altered interleukin-2 production and responsiveness after hyposensitization to house dust. J Allergy Clin Immunol. 76 : 188, 1985
 - 31) Hsieh KH : Change of lymphoproliferative responses of T cell subsets to allergen and mitogen after hyposensitization in asthmatic children. J Allergy Clin. Immunol. 74 : 34, 1984
 - 32) Harper TB, Gaumer HR, Waring W, Brannon RB, Salvaggio JE : A comparison of cell-mediated immunity and suppressor T-cell function in asthmatic and normal children. Clin Allergy 10 : 555, 1980
 - 33) Hwang KC, Fikrig SM, Griedman HM, Gupta S : Deficient concanavalin-A-induced suppressor cell activity in patients with bronchial asthma, allergic rhinitis, and atopic dermatitis. Clin Allergy. 15 : 67, 1985
 - 34) Rocklin RE : Modulation of cellular-immune responses in vitro and in vivo by histamine receptor-bearing lymphocytes. J. Clin. Invest 57 : 1051, 1976
 - 35) Beer DJ, Osband ME, McCaffrey RP, Soter NA, Rocklin RE : Non-specific suppressor cell function in atopic individuals. N. Engl J Med —. 306 : 454, 1982
 - 36) Rocklin RE : Immune mechanisms in allergen-specific immunotherapy. Clin Immunol. Immunopathol. 53 : 119, 1989
 - 37) O'Brien RM, Thomas WR, Wootton AM : T cell responses to the purified major allergens from the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*. J Allergy Clin Immunol. 89 : 1021, 1992
 - 38) Liao TN, Hsieh KH : Altered production of histamine-releasing factor(HRF) activity and responsiveness to HRF after immunotherapy in children with asthma. J Allergy Clin Immunol. 86 : 894, 1990
 - 39) Rocklin RE, Sheffer AL, Greineder DR, Melmon KL : Generation of antigen-specific suppressor cells during allergy desensitization. N. Engl J Med. 302 : 1213, 1980