

아토피 환자에서의 IgE항체 생성 조절기전 : 말초혈액 림프구의 IL-4, IFN- γ 생성의 불균형

서울대학교 의과대학 내과학교실

조상현 · 송숙희 · 김윤근 · 지영구 · 최동철** · 윤호주*** · 민경업 · 김유영

서 론

IgE항체는 제1형 과민반응에 의한 아토피 질환의 발생에 중심적인 역할을 담당하며, 아토피 환자의 혈청내에는 IgE항체가 증가되어 있다. 따라서 1966년 Ishizaka 등에 의해 IgE항체가 발견된 이래 아토피 질환의 기전 연구 및 치료에의 응용을 위해 많은 연구들이 진행되어 왔다¹⁻⁶. 최근 IgE항체의 생성은 T림프구에서 분비되는 IL-4에 의해 촉진되며, IFN- γ 에 의해서는 억제된다는 보고가 있었고, 쥐의 T림프구에는 주로 IFN- γ 를 분비하는 TH1아형과 IL-4를 분비하는 TH2 아형이 존재하는 것이 밝혀졌다⁷⁻⁹. 아울러 B림프구로부터 IgE항체가 생성되기 위해서는 T림프구에서 분비된 IL-4의 자극외에도 B림프구와 T림프구 사이의 물리적 접촉 과정이 필요하다고 알려졌으며, 아토피환자에서 IgE항체 자연생성능이 증가해 있다는 보고가 있었다¹⁰⁻¹³. 그러나 현재까지 아토피 환자에서 어떻게 해서 IgE항체 생성이

증가하는지 잘 모르고 있으며, 특히 항원 특이적 IgE항체 생성능의 증가에 관한 연구는 거의 없는 실정이다.

본 연구에서는 말초혈액 림프구를 아무런 자극없이 배양시와 원인 항원으로 자극 배양시 그리고 PMA(phorbol myristate acetate)와 calcium ionophore A23187혼합액으로 자극 배양시 아토피 환자와 건강인의 IL-4와 IFN- γ 분비능 차이를 측정하여 IgE항체가 증가된 아토피 환자에서 IL-4와 IFN- γ 분비능의 불균형이 있는지를 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

대 상

혈청 IgE항체치가 300 IU/ml이상으로 증가해 있으면서 흡입항원에 대한 피부반응시험상 유럽 집먼지진드기(Dermatophagoides pteronyssinus)에 양성 반응을 보인 알레르기성 천식 환자 10명과 건강대조군 8명을 대상으로 하였으며 이들의 특성은 Table 1과 같다.

재합성 IL-4(Genzyme사, 미국)의 특이 활성도(specific activity)는 10^7 IU/ml였으며, 재합성 IFN- γ (Genzyme사, 미국)의 특이 활성도는 10^7 IU/ml였다. 집먼지진드기 추출액은

*이 논문은 1992년도 서울대학교 병원 일반 연구비 지원에 의해 이루어진 것임.

**현재 삼성의료원 내과

***현재 한양대학교 내과학교실

통신연락처: 서울의대 내과 김유영

Table 1. Characteristics of study populations

	Atopic patients (n=10)	Healthy controls (n=8)
Age	17-42 years	25-35 years
Total IgE	430-1230 IU/ml	<100 IU/ml
Skin response /Histamine	2.3-4.7	0
RAST score	2.6-4.3	0

Skin response/Histamine :

Wheal size induced by prick test with D. pternyssinus/ wheal size induced by prick skin test with histamine, 1mg/ml

PBMNCs : peripheral blood mononuclear cells

독일의 Allergopharma사에서 동결건조시킨 500PNU의 집먼지진드기 분말을 5 ml의 IMDM(Iscove's modified Dulveco's media)용액에 녹인후 이를 적절한 농도로 희석하여 사용하였다. Phorbol myristate acetate(PMA)와 calcium ionophore A 23187은 미국의 Sigma사 제품을 사용하였다.

방 법

말초혈액 40 ml를 헤파린이 함유된 주사기로 뽑아 Ficoll hypaque 용액을 이용해 원심분리한 후 단핵세포층만 파스퇴르 피펫으로 뽑아 실험에 이용하였다. 상기방법으로 분리한 말초혈액 단핵세포를 5 % 우혈청(fetal calf serum : FCS)이 첨가된 IMDM으로 1×10^6 /ml로 세포수를 맞추후 6 well microtiter plate에 넣고 원인항원 10 PNU/ml, 100 PNU/ml 혹은 calcium ionophore A 23187(100 ng/ml)과 PMA (1 ng/ml) 혼합물로 자극하여 37 °C, 5 % CO₂ 상태로 48시간동안 배양한 다음 세포배양 부유액을 모아 IL-4와 IFN- γ 측정까지 -70 °C

로 냉동보관하였다.

IL-4측정은 Genzyme사의 Human IL-4 ELISA test kit 를 이용하여 측정하였다. 인체 IL-4에 대한 단클론 항체를 부착액(coating buffer)에 녹여 100 ul씩 각 well에 분주한후 4 °C에서 밤새 반응시켜 각 well에 부착시킨다. 여기에 측정할 세포부유액을 100 ul씩 넣거나, 표준 IL-4용액 3 ng/ml, 1.5 ng/ml, 0.75 ng/ml, 0.38 ng/ml, 0.19 ng/ml, 0.09 ng/ml, 0.045 ng/ml을 100 ul씩 넣고 상온에서 2시간 반응시킨 후 세척액으로 4회 세척해내고 말린다. 2차 항체인 다가의 토끼 항IL-4항체를 각 well에 100 ul씩 넣고 다시 상온에서 2시간 동안 반응시킨후 세척해서 말리고, 3차 항체로 토끼의 면역항체에 대한 염소의 항체(goat anti-rabbit immunoglobulin, biotin conjugated)로 바이오틴이 결합되어 있는 것을 100 ul씩 각 well에 넣고 45분간 상온에서 반응시킨다. 이를 다시 세척해 내고 streptavidin-peroxidase 용액을 100 ul씩 각 well에 넣고 40분간 상온에서 반응시킨후 기체로 peroxide를 첨가해 발색 반응을 유도한후 3 ng/ml의 표준 IL-4가 노랑게 변할때에 1M H₂SO₄ 100 ul를 넣어 반응을 중지시킨후 ELISA reader로 492 nm에서 흡광도를 측정하였다. 이를 semi-log paper에 표준 IL-4로 그린 표준곡선으로부터 검체의 IL-4 농도를 계산하였다. 상기 실험은 모두 중복 측정하였다.

한편 IFN- γ 의 농도도 Genzyme사의 Human IFN- γ ELISA test kit 를 이용하여 측정하였는데, 표준 곡선은 6400 pg/ml, 3200 pg/ml, 1600 pg/ml, 800 pg/ml, 400 pg/ml, 200 pg/ml, 100 pg/ml농도의 표준 IFN- γ 로 구하였으며 실험과정은 상기한 IL-4의 측정 방법과 동일하게 시행하였다.

통계분석

메킨토시용 통계 프로그램인 Statview II 를 이용하여 아토피 환자와 정상인간의 IL-4와 IFN- γ 분비능의 차이는 Mann Whitney U test 로 통계처리하였으며, 이들이 비특이적인 자극이나 원인항원 자극후 변화되는 양상은 Wilkoxon signed rank sum test로 통계처리하여 95 % 신뢰도로 유의성을 판정하였다. 그리고 혈청 IgE나 피부반응도와의 상관관계는 상관 및 회귀 모델을 적용하였다.

결 과

아토피 환자와 건강 대조군의 말초혈액 단핵세포를 아무런 자극없이 배양하거나, PMA

(1 ng/ml)와 calcium ionophore A23187 (100 ng/ml) 혼합물로 자극하거나, 원인 항원인 집먼지진드기 추출액과 함께 37 °C, 5 % CO₂ 세포 배양기에서 2시간 배양한 후 세포부유액에서 측정된 IL-4와 IFN- γ 의 농도는 다음과 같았다.

자극없이 2일간 배양한 세포부유액의 IL-4 농도는 아토피환자 10명중 3명에서 150 pg/ml, 45 pg/ml, 90 pg/ml로 측정되었으나 대조군에서는 8명중 1명만 45 pg/ml가 측정되었다. PMA(1 ng/ml)와 calcium ionophore A23187 (100 ng/ml) 혼합액으로 자극했을때 아토피 환자군의 세포배양 부유액에서 IL-4농도가 대조군에 비해 유의하게 높았다($p < 0.05$). 또한 아

Table 2. IL-4 levels in the supernatant of PBMCs culture of atopic patients and healthy controls

	Disease	Spont	PMA + Ca ionophore	D. pteronyssinus	
				100 PNU/ml	10 PNU/ml
1	BA	150	270	220	320
2	BA	<45	360	120	250
3	BA	<45	370	210	320
4	BA	<45	80	<45	<45
5	BA	<45	320	45	400
6	BA	45	170	100	230
7	BA	<45	290	375	290
8	BA	<45	270	130	190
9	BA	<45	220	220	320
10	BA	90	1210	370	370
11	Control	<45	80	90	45
12	Control	<45	<45	<45	<45
13	Control	<45	50	70	120
14	Control	<45	110	<45	<45
15	Control	45	120	120	90
16	Control	<45	180	180	250
17	Control	<45	<45	<45	<45
18	Control	<45	220	120	110

Spont. : IL-4 level in culture supernatant of PBMCs without stimulation

PMA + Ca ionophore : Mixture of PMA(1ng/ml) and calcium ionophore A23187(100 ng/ml)

Detection level of IL-4 by ELISA (Human IL-4 ELISA kit, Genzyme, USA) method was 45 pg/ml.

토피환자의 원인 항원인 유럽 집먼지진드기 추출액 10 PNU/ml, 100 PNU/ml로 자극시 아토피 환자군에서 대조군보다 IL-4 농도가 높았다($p < 0.05$). 그리고 비자극시의 IL-4 자연 생성량에 비해서 PMA(1 ng/ml)와 calcium ionophore A23187(100 ng/ml)혼합액 또는 유럽 집먼지진드기 추출액으로 자극시 IL-4의 농도는 양군에서 모두 유의하게 증가하였는데 그 증가 정도는 아토피 환자군에서 더 큰 것을 볼 수 있었다(Table 2). 그리고 PMA(1 ng/ml)와 calcium ionophore A23187(100 ng/ml) 혼합액으로 자극시 측정 한 IL-4농도와 혈청 총 IgE항체치와 비교시 유의한 정상관 관계를 보였다($r=0.57$, $p < 0.05$, Fig. 1).

자극없이 2일간 배양한 세포부유액에서 측정 한 IFN- γ 는 아토피 환자군에서는 2명에서만 100 pg/ml, 150 pg/ml로 측정된 반면, 대조군

에서는 2명에서 400 pg/ml, 180 pg/ml로 측정되었다. PMA(1 ng/ml)와 calcium ionophore A23187(100 ng/ml) 혼합액으로 자극시 아토피 환자군의 IFN- γ 농도는 대조군보다 유의하게 낮았으며($p < 0.05$), 유럽 집먼지진드기 추출액으로 자극시는 서로 차이가 없었다($p > 0.05$). PMA(1 ng/ml)와 calcium ionophore A23187(100 ng/ml) 혼합액으로 자극했을때 아토피 환자군의 IFN- γ 농도는 비자극시의 자연 생성량에 비해 증가하였으나, 대조군에서의 증가정보보다는 미약하였다($p < 0.05$). 그리고 유럽 집먼지진드기 추출액으로 자극시 아토피 환자의 IFN- γ 는 비자극시의 자연 생성량에 비해 유의하게 증가하였으나 대조군에서는 유의한 증가를 볼 수 없었다(Table 3). 그리고 PMA(1 ng/ml)와 calcium ionophore A23187 (100 ng/ml) 혼합액으로 자극했을때 세포부유

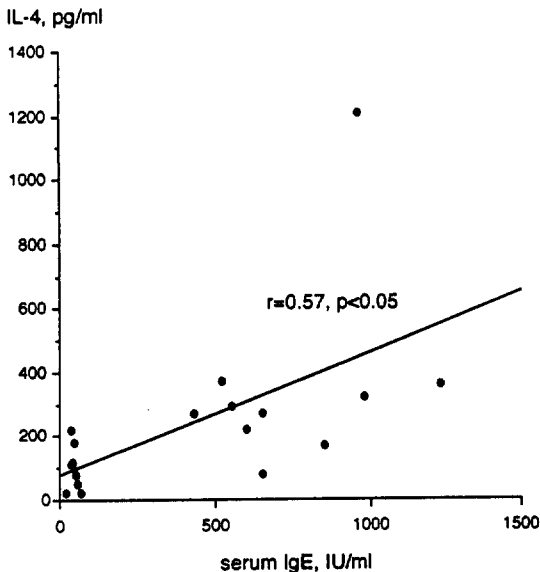


Fig. 1. Correlation between IL-4 level in the supernatant of PBMCs culture stimulated by mixture of PMA and calcium ionophore A23187 and serum total IgE. $r=0.57$, $p < 0.05$

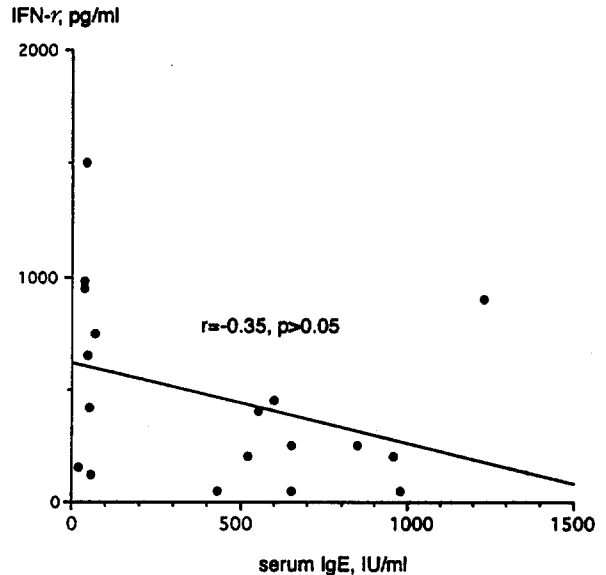


Fig. 2. Correlation between IFN- γ level in the supernatant of PBMCs culture stimulated by mixture of PMA and calcium ionophore A23187 and serum total IgE. $r=-0.35$, $p > 0.05$

Table 3. IFN- γ levels in the supernatant of PBMCs culture of atopic patients and healthy controls

	Disease	Spont	PMA +Ca ionophore	D. pteronyssinus	
				100 PNU/ml	10 PNU/ml
1	BA	<100	250	150	<100
2	BA	<100	900	400	350
3	BA	<100	200	700	550
4	BA	<100	<100	<100	<100
5	BA	<100	<100	<100	150
6	BA	<100	250	200	150
7	BA	<100	400	<100	<100
8	BA	100	<100	100	<100
9	BA	<100	450	150	200
10	BA	150	200	200	180
11	Control	<100	420	240	200
12	Control	180	750	380	180
13	Control	<100	120	<100	<100
14	Control	<100	980	150	180
15	Control	400	1500	320	250
16	Control	<100	650	200	300
17	Control	<100	150	110	<100
18	Control	<100	950	<100	<100

Spont. : IFN- γ level in culture supernatant of PBMCs without stimulation

PMA+Ca ionophore : Mixture of PMA(1ng/ml) and calcium ionophore A23187(100ng/ml)

Detection level of IFN- γ by ELISA(Human IFN- γ ELISA kit, Genzyme, USA) method was 100pg/ml.

액의 IFN- γ 농도와 혈청 총IgE 항체치를 비교시 유의한 상관관계는 없었다($r = -0.35$, $p > 0.05$, Fig. 2).

그러나 혈청 총IgE 항체치와 PMA(1ng/ml)와 calcium ionophore A23187 (100ng/ml) 혼합액 자극배양시 세포부유액의 IL-4/IFN- γ 비 사이에는 유의한 상관 관계가 있었다($r = 0.48$, $p < 0.05$, Fig. 3)

한편, PMA(1ng/ml)와 calcium ionophore (100ng/ml)혼합액으로 자극시 세포부유액의 IL-4와 IFN- γ 농도를 비교해 보았을때 양자간에 유의한 상관 관계는 없었으며($r = -0.19$, $P > 0.05$, Fig. 4) 비자극시 IL-4 자연생성능과 IFN- γ 자연생성능 사이에도 역시 유의한 관계는 없었다($r = 0.003$, $p > 0.05$).

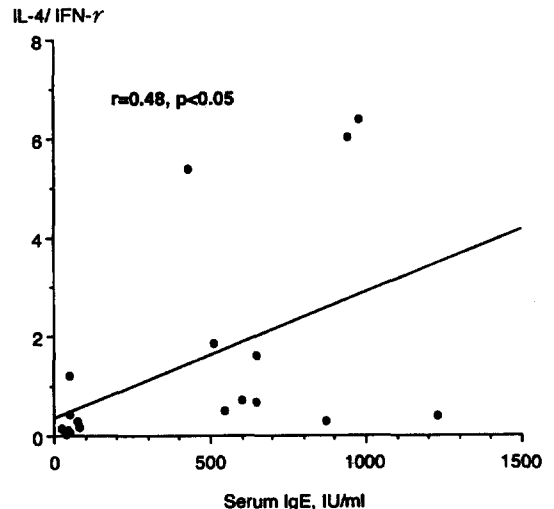


Fig. 3. Correlation between IL-4/IFN- γ ratio in the supernatant of PBMCs culture stimulated by mixture of PMA and calcium ionophore A23187 and serum total IgE. $r = 0.48$, $p < 0.05$

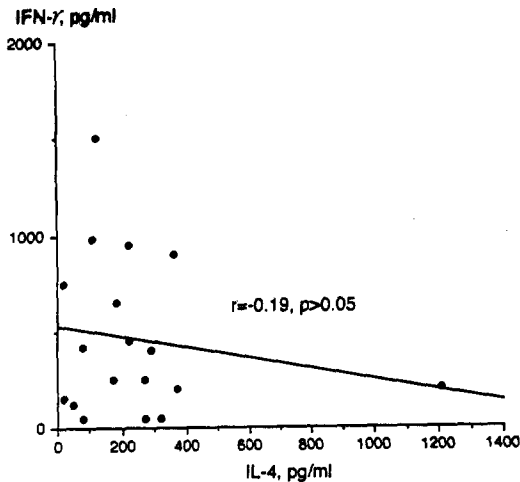


Fig. 4. Correlation between IL-4 and IFN- γ in the supernatant of PBMNCs culture stimulated by mixture of PMA and calcium ionophore A23187, $r = -0.19$, $p > 0.05$

고 찰

B림프구에 의한 IgE항체의 생성에는 항원제시세포에 의한 항원제시 및 조력 T림프구의 도움이 필요하다. 항원에 노출된 국소부위에서 먼저 IgE항체가 형성되어 항원 노출 부위의 비만세포 표면에 결합한 후 일부는 혈액 순환내로 나와 호염기구 및 조직 내의 비만세포 표면에 결합하게 된다. 이때 원인 항원에 재노출하게 되면 비만세포 및 호염구의 표면에 결합된 IgE항체와 원인 항원이 결합하여 비만세포로부터 여러 화학매체들을 분비하는 제1형 과민반응을 일으키는데 혈청 IgE항체치는 알레르기성 천식, 비염 환자, 아토피성 피부염 환자 및 기생충 감염자에서 증가해 있으며 상기 질환의 발현에 IgE항체가 주요한 역할을 하는 것은 널리 알려져 있다¹⁴⁾.

따라서 아토피 질환의 기전연구 및 치료에의 응용을 위해 IgE항체의 생성과 조절에 관한 많

은 연구들이 있어 왔다. 1966년 Ishizaka등에 의해 IgE항체가 발견된 이래 1970년대 초에 Gershon등¹⁾은 억제 T-림프구 감소가 IgE항체 생성을 증가시킨다는 T-림프구에 의한 IgE항체 조절 기전을 제시하였으며, 1980년대에 이르러 Ishizaka등은 IgE binding factor에 의한 조절을 주장하였다²⁻⁵⁾. 즉 FcR(+)인 조력 T-림프구가 IgE항체 생성조절에 가장 중심적인 역할을 한다는 것으로 posttranslational glycosylation 여부에 따라서 IgE항체 생성증강인자(IgE potentiation factor, IgE-PF)를 분비하여 B세포로부터 IgE항체의 형성을 증가시키기도 하며, IgE항체 생성억제인자(IgE suppressor factor, IgE-SF)를 분비하여 B세포로부터의 IgE 항체 생성을 억제하게도 되는데, FcR(+) 조력 T-림프구는 항원 특이적 조력 T-림프구와 억제 T림프구에서 각각 분비되는 glycosylation enhancing factor와 glycosylation inhibiting factor에 의해 IgE-PF 혹은 IgE-SF의 분비를 결정하게 된다는 것이다.

최근에 이르러서 T-림프구에도 서로 역할이 다른 TH1과 TH2의 아형이 존재하고, IgE항체 생성이 TH2에서 분비되는 IL-4에 의해서는 증가하며 IFN- γ 에 의해서는 감소한다는 것이 밝혀졌다. Del Prete등¹⁵⁾은 T세포클론으로부터 IL-4의 생성이 많을수록 IgE항체의 생성이 증가하며, IFN- γ 에 의해 억제된다고 보고하였는데, 이는 재합성 IL-4에 의해서도 같은 결과가 확인되었고 항IL-4 항체에 의해 IgE항체 형성이 억제됨이 확인되었으며 비슷한 결과들이 쥐에서도 관찰됨으로써 더욱 확실해졌다¹⁶⁻¹⁹⁾. 그런데 Parronichi 등²⁰⁾에 의해 순수분리한 B세포에 IL-4만을 첨가한 경우는 IgE항체 생성이 일어나지 않으며, 여기에 T세포를 첨가하면 IgE항체 생성이 일어나는 것이 밝혀져서, IgE항체를 생성하기 위해서는 T세포와 B세포간의 물리적인 접촉과정(physical interaction)과 함

게 T세포에서 분비된 IL-4의 자극이 필요하다고 알려졌다¹⁰⁻¹¹⁾. 그리고 Vercelli 등²¹⁾은 T세포와 B세포의 접촉과정이 T세포의 T cell receptor/CD3 (TCR/CD3) 복합체와 B세포의 MHC(Major histocompatibility antigen) class II 항원 사이에 서로 인지한 상태에서 물리적 접촉이 일어나는 cognate interaction이 절대적으로 필요하다고 주장하였으나, Parronichi 등²⁰⁾과 Lundgren 등¹⁰⁾은 MHC class II 항원과 TCR/CD3 복합체간의 인식과정을 통하지 않는 noncognate interaction에 의해서도 IgE 생성이 일어난다고 주장하였으며 noncognate interaction에 관여하는 물질을 구명하고 있다고 보고하였다. 이상을 요약하면 항원을 인지한 T세포로부터 분비된 IL-4에 의해 B세포는 일차로 자극을 받은 후에 B세포의 MHC class II 항원 인지를 통한 물리적 접촉과정이 수반되면 항원 특이적 IgE항체가 형성되는 한편 B세포의 MHC class II 항원 인지를 통하지 않은 물리적 접촉과정이 수반되면 항원 비특이적인 다가의 IgE항체가 생성된다는 것이다.

그런데 꽃가루 과민성 비염 환자에서 원인 꽃가루가 날리지 않는 계절에도 지속적으로 IgE항체가 증가해 있고²²⁾ 쥐에서 항원을 보강제(adjuvant)와 함께 일회 주사함으로써 계속적인 항체 생산을 유발하는 것이 알려졌다²³⁾ 이것의 기전으로 Okudaira 등²⁴⁾은 기억 B세포의 동원 이외에 방사선 조사로 파괴되지 않는 방사능저항성 항체생성세포(radioresistant antibody forming cell, AFC)이 아토피 환자에 존재하며 아토피 환자에서는 정상인과 달리 IgE항체의 생성능이 증가해 있다고 하였다. Okudaira 등¹²⁾과 Vercelli 등¹³⁾은 IgE가 높은 환자에서 IgE항체 자연생성능이 증가해 있다고 보고한 바 있으며, Rousset 등¹⁹⁾은 아토피 환자의 IgE항체 자연생성능이 IL-4에 의해

증가되고 항 IL-4 혈청에 의해 부분적으로 억제되는 것을 관찰하고 IgE항체 자연생성능의 증가는 아토피 환자의 말초혈액 림프구로부터 자연 유리되는 소량의 IL-4에 의한 것일 것으로 추정하였다. 그러나 현재까지 아토피 환자에서 어떻게 해서 IgE항체 생성이 증가하는지 확실히 구명되지 못한 상태에 있고 특히 원인 항원에 의한 IgE항체 생성능의 변화를 측정하는 연구는 거의 없었다.

본 연구에서는 혈청 IgE가 높고 유럽 집먼지 진드기에 과민한 아토피 환자에서 IgE항체 자연생성능의 증가가 T-림프구에서 형성되는 IL-4와 IFN- γ 생성의 불균형 때문인지를 알아보고자 하였다.

Pene 등¹⁶⁾은 CD4(+) CD8(+) T세포 클론을 항 IFN- γ 항체와 함께 배양하면 IgE항체를 비롯한 IgG, IgM, IgA 항체들이 만들어지고, 배양시 항 IL-4항체를 함께 넣은 경우는 IgE항체생성만이 억제되고 IgG, IgM, IgA 항체는 그대로 생성되므로 IL-4가 IgE항체 생성 촉진에 주요한 물질임을 확인하였으며, 쥐에서 조력 T세포중 주로 IFN- γ 를 분비하는 TH1 세포와 IL-4, IL-3, IL-5, GM-CSF, IL-10등을 주로 분비하는 TH2세포가 확인되었고 이들 사이의 불균형이 아토피 질환의 고IgE혈증에 관계한다고 주장하였다. Rousset 등은 아토피 환자와 건강인에서 혈중 IL-4는 모두 측정되지 않았으나, 아무런 자극없이 48시간 배양한 세포부유액에서는 21명중 4명에서 IL-4가 검출되어 10명의 아토피 환자중 3명에서 양성으로 측정된 본 연구결과와 비슷하였다. 또한 Rousset 등¹⁹⁾은 항 IL-4항체로써 아토피환자 7명중 3명에서만 IgE항체 자연 생성능이 일부 감소되는 것을 확인하고 소량의 IL-4가 IgE항체 자연생성능에 관여할 것이라고 제시하였으나 이를 확실히 밝혀 내기 위해서는 향후 유전자 수준에서의 연구가 필요할 것이다.

그리고 본 연구 결과 PMA (1ng/ml)와 calcium ionophore A23187 혼합액으로 자극 배양시 아토피 환자군의 배양액 IL-4농도는 대조군에 비해 뚜렷하게 증가된 것을 볼 수 있었다. 이는 아토피 환자에서 IL-4를 생성하는 세포비율이 대조군보다 많거나, 세포당 IL-4 생성능이 증가해 있음을 시사한다. 또한 IFN- γ 농도는 PMA와 calcium ionophore A23187로 자극 배양시 대조군에서 아토피 환자군에 비해 유의하게 증가되어 있었다. 이상에서 아토피 환자에서 IL-4분비능이 크고, 대조군에서는 IFN- γ 분비능이 큰 것을 알 수 있었다. 그리고 일부 대조군에서는 항원 자극에 IFN- γ 의 분비가 증가하였는데 이는 집먼지진드기의 비특이적 자극 효과에 기인한 것으로 생각된다.

그런데 집먼지진드기 항원에 의해서는 IFN- γ 분비가 아토피 환자군과 대조군 모두 증가하였는데 아토피 환자군에서 원인 항원에 자극을 받으면 IFN- γ 도 증가하지만 IL-4의 증가가 더욱 뚜렷하였다. 그리고 혈청 총IgE항체치와 PMA(1ng/ml)와 calcium ionophore A23187(100 ng/ml) 혼합액 자극배양시 세포부유액의 IL-4/IFN- γ 비 사이에도 유의한 상관 관계가 있었다. 즉 IL-4 분비와 IFN- γ 분비능의 불균형이 아토피 환자의 고 IgE혈중에 관계함을 알 수 있었다. 한편 PMA와 calcium ionophore A23187혼합액으로 자극시 세포배양부유액의 IL-4와 IFN- γ 사이에도 유의한 관계는 없었는데 이는 실제 아토피 환자에서 IL-4 분비세포만 존재하는 것이 아니라 여러 세포군들이 혼합되어 있기 때문으로 생각된다.

결 론

아토피 질환의 발생에 중심적인 역할을 담당하는 IgE항체의 생성은 T림프구중에서 TH2

아형에서 분비되는 IL-4에 의해 촉진되며 TH1아형에서 분비되는 IFN- γ 에 의해서는 억제된다고 알려져 있다. 본 연구에서는 아토피 환자에서 IgE생성능의 증가가 TH1아형과 TH2아형의 불균형에 기인한 것인지를 구명하고자 IgE항체치가 높은 D. pteronyssinus 과민성 천식환자 10명과 건강대조군 8명을 대상으로 말초혈액의 단핵 세포층을 분리하여 원인항원 혹은 PMA와 Ca ionophore A23187혼합액 혹은 세포배양 부유액을 첨가하여 37 °C, 5 % CO₂ 상태로 48시간동안 배양한 후 세포배양 부유액에서 IL-4와 IFN- γ 의 농도를 ELISA kit (Genzyme사)로 측정하여 다음의 결과를 얻었다.

1) 자극없이 2일간 배양한 세포부유액에서 IL-4 농도는 아토피 환자 10명중 3명에서 검출되었으나 대조군에서는 8명중 1명만 검출되었다. PMA(1ng/ml)와 Ca ionophore A23187 혼합액으로 자극시 또는 원인항원인 집먼지진드기 추출액으로 자극시에 세포배양부유액에서 측정된 IL-4 농도는 아토피 환자군에서 대조군에 비해 유의하게 높았다.

2) 자극없이 2일간 배양한 세포부유액에서 측정된 IFN- γ 는 양군간에 차이가 없었다. PMA와 Ca ionophore A23187 혼합액으로 자극시 IFN- γ 농도는 아토피 환자군에서 대조군보다 유의하게 낮았으며 집먼지진드기 자극시는 서로 차이가 없었다.

3) 혈청 총 IgE항체치는 PMA와 Ca ionophore A23187혼합액으로 자극시 측정된 세포배양부유액내의 IL-4농도는 유의한 상관관계를 보였으며, IL-4/IFN- γ 비와도 유의한 상관 관계가 있었으나, IFN- γ 농도와는 무관하였다.

4) 세포배양 부유액의 IL-4농도와 IFN- γ 농도사이에는 유의한 상관관계가 없었다.

따라서 아토피 환자에서 TH2세포와 TH1세포로부터 각각 분비되는 IL-4와 IFN- γ 의 불

균형이 존재하며 이것이 IgE항체치의 증가에 기여할 것으로 사료된다.

- Abstract -

**Regulation of IgE production in
patients with atopic disease :
Imbalance of IL-4 and IFN- γ production**

Sang Heon Cho, M.D., Sook Hee Song, M.D.,
Yun Keun Kim, M.D., Young Koo Jee, M.D.,
Dong Chull Choi, M.D., Ho Joo Yoon, M.D.,
Kyung Up Min, M.D., and You Young Kim, M.D.

*Department of Internal Medicine
Seoul National University College of Medicine
Seoul, Korea*

IgE antibodies play a major role in the development of atopic disease because they bind to high affinity receptors on mast cells and basophils and when cross-linked by allergen cause cellular degranulation with the release of vasoactive amines. After discovery of IgE molecule by

Ishizaka in 1966, there has been many studies about IgE synthesis and its regulation. Recently, it has been demonstrated that IL-4 induce IgE synthesis in vitro from mononuclear cells isolated from peripheral blood, tonsils and spleens of healthy persons and IL-4-induced IgE synthesis is blocked by IFN- γ . Spontaneous IgE synthesis in vitro from mononuclear cells of atopic patients is also higher than that from healthy persons.

There is evidence that IL-4 and IFN- γ are produced by different subsets of helper T cell, TH1 and TH2 cell. IL-4 is produced by TH2, while IFN- γ is produced by TH1. The differences of IL-4 and IFN- γ secretion by allergen and mitogen between atopic patients and healthy persons are not clear until now.

To investigate the differences of IL-4 and IFN- γ secretion by allergen and mitogen between atopic patients and healthy subjects, concentrations of IL-4 and IFN- γ in the culture supernatants stimulated with and without mitogens and allergens were measured by ELISA method.

The results are as follows :

1) IL-4 levels in culture supernatants of PBMNCs were increased by stimulation with PMA and calcium ionophore A 23187 and allergen in both group. In atopic patients activation of PBMNCs resulted in higher levels of IL-4 than those of healthy controls.

2) There was a significant correlation between IL-4 level in culture supernatant of PBMNCs stimulated with PMA and calcium ionophore A 23187 and serum total IgE ($r=0.57$, $p<0.05$). And there was a significant correlation between IL-4/IFN- γ ratio and serum

total IgE($r=0.48$, $P<0.05$).

3) In atopic patients, activation of PBMNCs resulted in lower levels of IFN- γ than those of healthy controls. There was no significant correlation between the levels of IFN- γ in cultures supernatant stimulated with PMA and calcium ionophore and serum total IgE($r=0.35$, $p>0.05$).

These results suggest that high levels of IgE antibody in serum of atopic patients may be due to imbalance of IL-4 and IFN- γ secreting capacities of atopic patients.

Key words : Atopy, IL-4, IFN- γ , IgE

참 고 문 헌

- 1) Gershon RK, Kondo K : Cell interactions in the induction of tolerance : the role of thymic lymphocytes. *Immunology* 18 : 723-37, 1970
- 2) Takatsu K, Ishizaka K : Reaginic antibody formation in the mouse. VI. Suppression of IgE and IgE antibody responses to ovalbumin following the administration of high dose urea-denatured antigen. *Cell Immunol* 20 : 276-89, 1975
- 3) Suemura M, Yodoi J, Hirashima M, Ishizaka K : Regulatory role of IgE-binding factors from rat T lymphocytes. I. Mechanism of enhancement of IgE response by IgE-potentiating factor. *J Immunol* 125 : 148-54, 1980
- 4) Hirashima M, Yodoi J, Ishizaka K : Regulatory role of IgE-binding factors from rat T lymphocytes. III. IgE-specific suppressive factor with IgE-binding activity. *J Immunol* 125 : 1442-48, 1980
- 5) Ishizaka K, Sandberg K : Formation of IgE-binding factors by human T lymphocytes. *J Immunol*, 126 : 1692-96, 1981
- 6) Martens CL, Jardieu P, Trounstein ML : Potentiating and suppressive IgE-binding factors are expressed by a single cloned gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 84 : 809, 1987
- 7) Mossmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL : Two types of murine helper T cell clones. I. Differentiation according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 136 : 2348-57, 1986
- 8) Bass H, Mossmann T, Strober S : Evidence for mouse Th1- and Th2-like helper T cells in vivo. Selective reduction of Th1-like cells after total lymphoid irradiation. *J Exp Med* 170 : 1495-511, 1989
- 9) Sandor M, Gajewski T, Thorson J, Kemp JD, Fitch FW, Lynch RG : CD4+ murine T cell clones that express high levels of immunoglobulin binding belong to the interleukin 4-producing T helper cell type 2 subset. *J Exp Med* 171 : 2171-76, 1990
- 10) Lundgren M, Persson U, Larsson P : Interleukin-4 induces synthesis of IgE and IgG4 in human B cells. *Eur J Immunol* 19 : 1311-5, 1989
- 11) Romagnani S : Regulation and deregulation of human IgE synthesis. *Immunology Today* 11 : 316-21, 1990

- 12) Okudaira, H, Ohta, K., Ogita, T : Human IgE antibody - forming cells. Radioresistant and radiosensitive subpopulations. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 65 : 162-7, 1981
- 13) Vercelli D, Geha RS : Regulation of IgE synthesis in humans; A tale of two signals. *J Allergy Clin Immunol* 88 : 285-95, 1991
- 14) Ivan R, Jonathan B, David M : Immunology, 2nd Ed., Gower, London, PP 19.1-19.20, 1989
- 15) Del Prete GF., Maggi E, Parronichi P, Chretien I, Tiri A, Macchia D, Ricci M, Banchemreau J, de Vries J, Romagnani S : IL-4 is an essential factor for the IgE synthesis induced in vitro by human T cell clones and their supernatants. *J Immunol* 140 : 4193-98, 1988
- 16) Pene J. Rousset F, Briere F, Chretien I. Paliard X, Banchemreau J, Spits H, de Vries J : IgE production by normal human B cells induced by alloreactive T cell clones is mediated by IL-4 and suppressed by IFN- γ . *J Immunol* 141 : 1281-24, 1988
- 17) Sarfati M, Delespesse G : Possible role of human lymphocyte receptor for IgE (CD23) or its soluble fragments in the in vitro synthesis of human IgE. *J Immunol* 141 : 2195-9, 1988
- 18) Coffman RL, Carty JA : T cell activity that enhances polyclonal IgE production and its inhibition by interferon- γ . *J Immunol* 136 : 949-54, 1986.
- 19) Rousset F, Robert J. Andary M, Bonnin JP, Souillet G, Chretien I, Briere F, Pene J, de Vries J : Modulation of spontaneous IgE production by lymphokines. *J Allergy Clin Immunol* 87 : 58-69, 1991
- 20) Parronichi P, Tiri A, Macchia D, Carli MD, Biswas P, Simonelli C, Maggi E, Del Prete G, Ricci M, Romagnani S : Noncognate contact-dependent B cell activation can promote IL-4-dependent in vitro human IgE synthesis. *J Immunol* 144 : 2102-08, 1990
- 21) Vercelli D, Jabara HH, Arai KI, Geha RS : Induction of human IgE synthesis requires interleukin-4 and T/B cell interactions involving the T cell receptor/CD3 complex and MHC class II antigens. *J Exp Med* 169 : 1295-307, 1989
- 22) Lichtenstein LM, Ishizaka, K, Norman, PS, Sobotka AK, Hill BM : IgE antibody measurement in ragweed hay fever. *J Clin Invest* 52 : 472-82, 1973
- 23) Peters SH, Carter BG : Regulation of the IgE antibody response in mice. *J Immunol* 121 : 1596-602, 1978
- 24) Okudaira H, Suko M, Yamamoto K, Mori A, Matzuzaki G, Akiyoshi K, Ito K, Miyamoto T : Regulation of human spontaneous IgE synthesis in vitro and in vivo. *Pharmacia research foundation award book* pp23-8, 1991