

집먼지진드기에 감작된 천식 환자의 말초혈액 단핵구의 항원 자극에 따른 IL-5와 IL-10 생성

연세대학교 의과대학 부설 알레르기 연구소, 알레르기내과

박중원 · 고시환 · 김철우 · 홍천수

IL-5 and IL-10 production of peripheral blood mononuclear cells by stimulation of *D. farinae* antigen in atopic asthmatics

Jung Won Park, Si Whan Ko, Cheol Woo Kim, and Chein-Soo Hong

Institute of Allergy, Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Korea

Background : IL-5 has been recognized as a potent proeosinophilic cytokine and IL-10 has been reported as an important anti-inflammatory cytokine in allergic inflammation. But the clinical roles of these cytokines in allergic asthma are still unclear.

Objectives : We studied the clinical implications of IL-5 and IL-10 secretions from stimulated peripheral blood mononuclear cells (PBMC) in *Dermatophagoides farinae* (DF) atopic asthmatics (BA).

Methods : Thirty-six DF sensitized BA and 9 non-atopic BA were enrolled for this study. Twenty-seven out of 36 subjects were challenged by inhalation of DF crude allergen. The isolated PBMCs were cultured for 6 days with DF antigen and the stimulatory index (SI) and secretions of IL-5, IFN- γ and IL-10 from PBMC were measured. We analyzed these parameters with clinical parameters.

Results : SI (4.2 ± 1.0 vs. 1.3 ± 0.3 , $p < 0.05$) and secretions of IL-5 (19.9 vs. 1.7 g/L, $p < 0.001$) and IL-10 (185.5 vs. 34.3 g/L, $p < 0.05$) from the atopic BA were significantly higher than those of non-atopic BA, but the secretion of IFN- γ was not different between the two groups (56.6 vs. 47.3 μ g/L). No significant difference in secretions of IL-5, IL-10, IFN- γ and SI of PBMC was found between responder and non-responder of DF inhalation challenge test. Among responders to antigen challenge test ($n=17$), the production of IL-5 correlated with the productions of IL-10 ($r=0.773$, $p < 0.01$) and methacholine PC₂₀ ($r=0.503$, $p < 0.05$). Production of IL-5 from the PBMC of atopic mild intermittent BA ($n=10$) was higher than that of atopic persistent BA ($n=27$) ($p < 0.01$), but no difference in IL-10, IFN- γ and SI was found between the two groups.

Conclusions : Allergen specific productions of IL-5 and IL-10 from the PBMC may be specific for atopic subjects and secretion of IL-5 from the stimulated PBMC may contribute to the pathogenesis of atopic BA. The severity of BA may be more influenced by other factors.

Key words : asthma, IL-5, IL-10, cytokines

본 논문은 1997년도 연세대학교 학술연구비 지원에 의해서 이루어진 것임.

통신저자: 연세의대 내과 홍천수

접수: 99년 1월 26일, 통과: 99년 4월 1일

서 론

IL-5는 호산구의 분화와 활성화에 있어서 필수적인 사이토카인이며, T세포 클론을 이용한 연구, 동물모델 및 기도 점막의 면역화학검사를 통해 알레르기 염증 반응에서 그 역할이 증명된 바 있다¹⁻⁴⁾. IL-10은 이와 반대로 IgE 생성을 억제하며⁵⁾, 동물 천식모델뿐 아니라⁶⁾ 천식 환자 및 정상인의 기관지 폐포세척액 연구⁷⁾를 통해 알레르기 염증 반응을 억제하는 작용이 보고되었다.

최근 들어 항원 자극에 의해 말초혈액 단핵구(PBMC)에서 분비되는 IL-5가 아토피군에서 선택적으로 증가된다는 보고가 있으며, IL-5 분비량은 비특이적 기관지과민반응과 연관성이 있고, 항원 천식유발시험의 결과와의 연관성에 대한 보고도 있어 PBMC에서 분비되는 IL-5가 아토피 환자의 임상 소견을 어느 정도 반영하는 것으로 생각된다^{8,9)}. 최근 천식 및 다른 염증성 질환의 중증도와 IL-10의 세포 발현능과 연관성에 대한 연구 결과가 제시되고 있지만^{10,11)}, 아직까지 아토피성 천식 환자에서 항원 자극에 의해 PBMC에서 분비되는 IL-5와 IL-10의 임상적인 의미는 명확하지 않다.

이에 연구자 등은 집먼지진드기에 감염된 아토피성 천식환자에서 분리한 PBMC를 *Dermatophagoides farinae* (DF) 조항원으로 자극후 분비되는 IL-5 및 IL-10 양과 항원 천식유발시험 결과 및 천식의 중증도를 반영하는 여러 소견과의 연관성을 조사하여, 항원 자극후 PBMC에서 분비되는 사이토카인의 임상적 의의를 찾아보았다.

연구방법

1. 연구 대상

총 36예의 집먼지진드기에 감염된 천식 환자(평균연령 - 26.8 ± 8.9 세, 남:여 비 - 25:11)를 대상으로 본 연구를 시행하였다. 이들 모두 발작적인 호흡곤란 혹은 기침을 호소하였으며, 메타콜린 기관지유발시험상 양성이었다(PC_{20} 기하평균값 - 2.09 mg/ml). 천식의 중증도는 미국

NIH/NHLBI 기준에 따라 구분하였다¹²⁾. 대조군으로 비아토피성 천식 환자 9예(평균연령은 40.0 ± 19.9 세, 남:여 비 - 3:6)를 선정하였으며, 이들의 메타콜린 PC_{20} 기하평균값은 1.35 mg/ml 이었다. 대상 환자군은 채혈 전 4주 동안 경구용 스테로이드제 및 항히스타민제는 복용하지 않았으며, budesonide는 1일 최고 $800 \mu\text{g}$ 까지 사용하였다. DF 조항원 자극에 의한 PBMC의 증식능은 38예(아토피 33예, 대조군 5예), IL-5 및 IL-10 분비능은 39예(아토피 30예, 대조군 9예), INF- γ 분비능은 19예(아토피 12예, 대조군 7예)에서 측정하였다. DF 조항원 천식유발시험은 아토피군 36예중 27예(평균연령 - 29.9 ± 9.7 세, 남:여 비 - 20:7)에서 시행하였으며, 이들의 메타콜린 PC_{20} 기하평균값은 0.99 mg/ml 이었다.

2. DF 항원 천식유발시험

유발시험용 항원은 본 연구자 등이 배양하고 있는 DF를 이용하여 직접 제조하여 사용하였다^{13,14)}. 항원 천식유발시험은 다음과 같은 방법으로 시행하였다. 먼저 1:10,000 (w/v), 1:2,500 (w/v), 1:1,000 (w/v)의 순서로 DF 전충체 조항원을 일호흡용적으로 2분간 Devilbis 646 (Devilbis Health care Inc., PA, UK) 분무기를 이용하여 흡입하고 10분후 spirometry로 FEV₁ 변화를 측정하였다. FEV₁치가 20%이상 감소하면 항원의 추가 흡입 없이 FEV₁ 을 각각 10분, 20분, 30분, 1시간, 4시간, 5시간, 6시간, 그리고 7시간후에 측정하여 그 변화를 관찰하였다. 항원흡입 후 1시간 내에 FEV₁이 20% 이상 감소한 경우, 조기 천식반응, 4시간 이후에 20% 이상 감소한 경우에는 후기 천식반응으로, 그리고 조기 및 후기 천식반응이 모두 관찰되는 경우에는 이중 천식반응으로 판정하였다.

3. PBMC의 분리

대상환자로부터 혈액 10 ml를 EDTA 시험관

으로 채혈한 후 이를 RPMI-1640 배지 (Gibco, BRL, Gaithersburg, MD, USA)와 동량을 혼합시킨 후 Ficoll-Paque® (Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden)를 이용한 density gradient 원심분리 방법으로 PBMC를 분리하였으며 동일 RPMI-1640 배지로 3회 세척한 후 10% fetal calf serum, streptomycin 100 µg/ml, penicillin 100U/ml, 50 µg/ml glutamine, 5 µg/ml sodium bicarbonate 및 25mM HEPES buffer가 첨가된 RPMI-1640 배양액에 부유하였다.

4. DF 항원 자극에 의한 PBMC의 증식지수, IL-5, IL-10 및 IFN-γ 분비능

DF 아토피 환자의 PBMC에서 DF 항원자극에 의한 IL-5, IL-10 및 IFN-γ 생성능을 측정하기 위해서 먼저 분리한 PBMC 10⁶개/ml를 24 well plate (Costar, USA)에 well당 1ml씩 분주한 후 DF 조항원을 12.5 µg 첨가하여 6일간 5% CO₂ 배양기에서 배양하였다. 배양 후 각각의 well에 있는 세포와 배양액을 원심분리하고 그 상층액을 사이토카인 측정 때까지 -70°C에 보관하였다. IFN-γ 는 Intertest™- IFN-γ ELISA kit (Genzyme, Cambridge, MA, USA)를 사용하여 측정하였고 IL-5 및 IL-10은 Endogen사 (Woburn, MA, USA)의 ELISA 측정 kit을 이용하였다. 증식지수를 측정하기 위해서 세포배양용 96 well microplate (Becton Dickinson, USA)에 0.1ml의 PBMC 세포부유액 (10⁶개/ml)을 분주한 후 12.5 µg/ml의 DF 항원으로 자극하고 배양 6일째 1 µCi [³H]-TdR를 첨가하여 6시간 배양한 후 세포를 수확한 후 β counter로 측정하였다. PBMC의 증식지수는 아래와 같

은 공식에 의해서 결정하였다.

$$\text{증식지수} = \frac{\text{DF 항원자극에 의한 cpm 값}}{\text{배양액에 의한 cpm 값}}$$

5. 통계처리

모든 통계는 SPSS 7.5 통계 프로그램을 이용하여 실행하였다. 결과의 모든 값은 평균 ±표준 오차로 표현하였으며, 메타콜린 PC₂₀, IL-15, IL-10 그리고 IFN-γ 분비량은 기하평균값과 괄호 안에 기하평균±SEM 값을 각각 표시하였다. 두 군간의 사이토카인 측정치의 평균값은 Student's t 검정으로, PBMC의 증식지수는 Mann-whitney U 검정으로 비교하였다. 두 변수간의 상관관계는 Pearson's correlation test로 분석하였다. P 검정치가 0.05 이하인 경우에 통계학적 의미를 두었다.

연구결과

1. DF 항원 천식유발시험 결과

총 27예중 18예에서 DF 항원 천식유발시험에서 양성반응이 관찰되었으며, 6예는 조기천식반응, 3예는 후기천식반응 그리고 9예에서는 이중천식반응이 관찰되었다 (Table 1).

2. PBMC에서 DF 조항원 자극에 따른 PBMC 증식지수의 차이

DF 항원 자극에 의한 PBMC의 증식지수는 아토피군 (n=33) 에서 비아토피군 (n=5) 에 비해 높았다 (4.2±1.0 vs. 1.3±0.3, p<0.05). 그러나 항원 천식유발시험 양성군 (n=18)과 음성군 (n=9)간에는 증식지수에 차이가 없었다 (3.4±

Table 1. Results of *D. farinae* inhalation bronchial challenge test in atopic asthmatics

	Negative responder	Early responder	Late responder	Dual responder	Total
Number of patients	9 (33.3%)	6 (22.2%)	3 (11.1%)	9 (33.3%)	27 (100%)

0.9 vs. 3.1 ± 1.4) (Fig. 1).

3. DF 항원 자극에 따른 사이토카인 분비량

아토피 천식군 ($n=30$)에서 비아토피 천식군 ($n=9$)에 비해 DF 항원 자극에 의한 PBMC의 IL-5와 [$19.9 \mu\text{g/L}$ ($15.1 \sim 26.3 \mu\text{g/L}$) vs. $1.7 \mu\text{g/L}$ ($1.2 \sim 2.4 \mu\text{g/L}$), $p < 0.001$]과 IL-10 분비량 [$185.5 \mu\text{g/L}$ ($129.4 \sim 265.8 \mu\text{g/L}$) vs. $34.3 \mu\text{g/L}$ ($16.5 \sim 71.5 \mu\text{g/L}$), $p < 0.05$] 이 높았다 (Fig 2, 3). 그러나 아토피군을 항원 천식유발시험 양성군 ($n=17$) 과 음성군 ($n=9$)으로 구분할 경우, 두 군간에 IL-5 [$11.9 \mu\text{g/L}$ ($7.5 \sim 18.8 \mu\text{g/L}$) vs. $33.7 \mu\text{g/L}$ ($17.9 \sim 63.5 \mu\text{g/L}$)] 와 IL-10 분비량 [$115.3 \mu\text{g/L}$ ($63.7 \sim 208.5 \mu\text{g/L}$) vs. $158.7 \mu\text{g/L}$ ($73.9 \sim 340.5 \mu\text{g/L}$)]에 유의한 차이가 없었다 (Fig 2, 3). IFN- γ 분비량은 아토피 유무 ($63.4 \pm 13.4 \mu\text{g/L}$ vs. $47.4 \pm 1.1 \mu\text{g/L}$) 혹은 항원 천식유발시험 결과 ($50.7 \pm 5.2 \mu\text{g/L}$ vs. $47.5 \pm 0.8 \mu\text{g/L}$)에 따라 차이가 없었다. DF 항원 천식유발시험 양성군 ($n=17$)에서는 PBMC에서 분비된 IL-5와 IL-10간에 유의한 상관관계를 관찰할 수 있었다 ($r=0.773$, $p < 0.01$) (Fig. 4). 그러나 PBMC의 증식지수는 IL-5 ($r=0.256$, $p=0.368$) 및 IL-10 ($r=0.186$, $p=0.474$)의 분비량과 상관관계가 없었다.

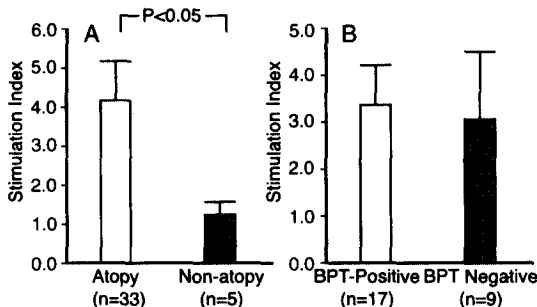


Fig. 1. Stimulation index of PBMC by co-culture of DF antigen. Panel A compared the stimulation index of PBMC of atopic and non-atopic asthmatics. Panel B compared the stimulation index of positive and negative responders of bronchial antigen challenge test. Values are expressed as mean $\pm$ SEM.

4. 항원 천식유발시험 양성군에서 메타콜린 PC₂₀ 값과 IL-5 분비량간의 연관성

항원 천식유발시험 양성군 ($n=17$)의 메타콜린 PC₂₀ 값은 PBMC에서 분비된 IL-5의 양과 상관관계가 있었으나 ($r=0.503$, $p < 0.05$), IL-10 분비량과는 연관성이 없었다 (Fig. 5).

5. 아토피 천식환자의 천식의 중증도에 따른 PBMC 면역반응

NHLBI/WHO 기준에 따른 중증도에 따라 대 상환자를 경증간헐형 ($n=10$), 경증지속형 ($n=14$), 중등증지속형 ($n=13$)으로 구분하였으며,

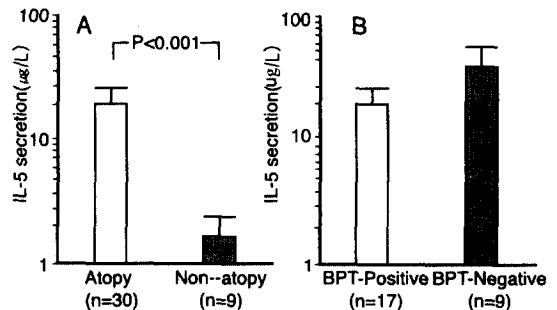


Fig. 2. IL-5 production from PBMC by stimulation of DF antigen. Panel A compared the IL-5 production of atopic and non-atopic asthmatics. Panel B compared the IL-5 production of positive and negative responders of bronchial antigen challenge test. Values are expressed as geometric mean $\pm$ SEM.

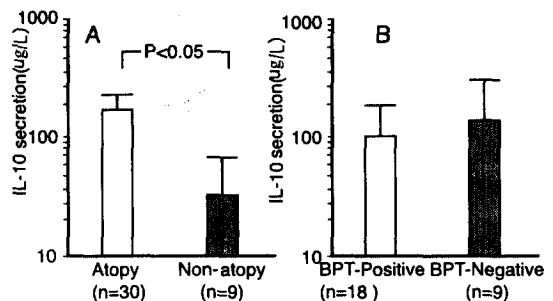


Fig. 3. IL-10 production from PBMC by stimulation of DF antigen. Panel A compared the IL-10 production of atopic and non-atopic asthmatics. Panel B compared the IL-10 production of positive and negative responders of bronchial challenge test. Values are expressed as geometric mean $\pm$ SEM.

이들간에 DF 항원자극에 대한 PBMC의 면역반응을 비교하였다. 세 군간의 FAST 법 (Biowhiter Inc., Walkersville, MD, USA)으로 판정한 DF 특이 IgE의 농도는 유의한 차이가 없었으나 지속형 천식인 경우 경증간헐형 천식에 비해 유의하게 연령이 높았다 ($p<0.05$). DF 항원자극 후 분비된 IL-5는 경증간헐형 천식 [$67.4 (39.4 \sim 115.3) \mu\text{g/L}$]에서 오히려 경증지속형 [17.0

($12.9 \sim 22.4$) $\mu\text{g/L}$] 및 중증지속형 [$8.7 (5.6 \sim 13.6) \mu\text{g/L}$]에 비해 유의하게 높은 값이 관찰되었으며 ($p<0.01$), DF 항원자극에 의한 PBMC의 증식지수, IL-10 그리고 IFN- γ 분비능에서는 차이가 없었다 (Table 2).

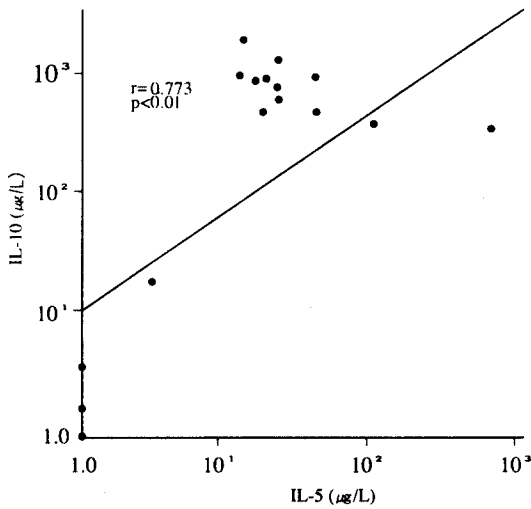


Fig. 4. Correlation of IL-5 and IL-10 secretion from PBMC by stimulation of DF antigen.

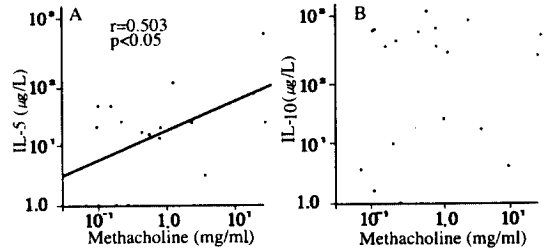


Fig. 5. Correlation of methacholine PC_{20} with IL-5 (panel A, $n=17$) and IL-10 (panel B, $n=18$) secretion from PBMC by stimulation of DF antigen.

고 찰

본 연구에서는 비아토피 천식 대조군에 비해 아토피 천식군에서 항원자극에 의해서 PBMC에서 분비되는 IL-5 및 IL-10 양이 현저하게 높아 PBMC에서의 이들 사이토카인의 분비가 알레르기 염증반응의 기전에 관여할 수 있음을 알 수 있었다. 또한 PBMC의 증식농도 아토피군에서

Table 2. Clinical features and secreted IL-5, IL-10 and IFN- γ profiles of PBMC after stimulation of DF crude antigen in DF sensitized asthmatics

	Age $\ddagger$	SI	$PC_{20}M^*$ (mg/ml)	IL-5 $\uparrow^*$ ($\mu\text{g/L}$)	IL-10 * ($\mu\text{g/L}$)	IFN- γ ($\mu\text{g/L}$)	DF IgE (FAST)
Mild	21.1 ± 0.8	6.37 ± 3.08	1.86	67.4	121	95.3 ± 42.2	3.4 ± 0.3
Intermittent ($n=10$)			(1.02~3.60)	(39.4~115.3)	(65~226)	($n=4$) $\#$	
Mild	31.1 ± 2.9	4.09 ± 1.14	0.58	17.0	427	47.4 ± 1.3	3.6 ± 0.2
Persistent ($n=13$)			(0.44~0.75)	(12.9~22.4)	(288~632)	($n=2$) $\#$	
Moderate	29.8 ± 2.8	2.57 ± 0.50	1.16	8.7	117	50.8 ± 5.2	3.4 ± 0.3
Persistent ($n=12$)			(0.52~1.92)	(5.6~13.6)	(55~247)	($n=6$) $\#$	

All values are expressed as mean $\pm$ SEM. * ;geometric mean and () express the range of geometric mean $\pm$ SEM, $\#$; () express number of patients, $\ddagger$; $p<0.05$ between groups, $\uparrow$; $p<0.01$ between groups

비아토피 대조군에 비해 증식지수가 유의하게 높았다. 그러나 PBMC의 증식능은 알레르기 면역 반응 이외에도 Th1 세포로 대표되는 비알레르기 면역반응에 의해서도 현저하게 증가될 수 있으며, 아토피 환자의 PBMC에 있어서 항원자극에 의한 IL-5 분비량과 증식능과는 연관성이 없음이 증명된 바가 있어⁹⁾ 알레르기 면역반응에 대한 특이도는 IL-5 및 IL-10에 비해 떨어지는 것으로 생각된다. 아토피질환에서 IL-5, IL-10의 역할은 T 세포 클론, 기관지 생검조직의 면역화학 검사법, 기관지 세척액을 통한 연구, 그리고 마우스 동물시험을 통해서 증명된 바 있다¹⁻⁷⁾. 그러나 항원자극후 PBMC에서 분비되는 이들 사이토카인의 역할에 대해서는 명확하지 않다. 최근 들어 항원자극후 PBMC에서 분비되는 IL-5의 양이 알레르기질환의 증상 발현 유무에 따른 차이 뿐만 아니라⁹⁾, DF 항원 천식유발시험 양성 및 음성군간에도 유의한 차이가 보고되고 있다⁸⁾. 본 연구에서는 IL-5의 분비량과 천식의 핵심적인 소견인 기도과민반응을 반영하는 메타콜린 PC₂₀ 값간에 유의한 연관성이 관찰되어 아토피성 천식 환자의 PBMC에서 분비되는 IL-5의 양이 기관지천식의 기도 병변을 어느 정도 반영함을 시사한다고 생각되며, 이는 Till 등⁹⁾의 보고와도 일치한다. 그러나 DF 항원 천식유발시험의 반응군과 음성 반응군간에 IL-5 분비량에 유의한 차이가 관찰되지 않았고, 기관지천식의 중증도에 따라 항원자극 후 PBMC에서 분비되는 IL-10의 양에 유의한 차이가 관찰되지 않았으며, 경증 간헐성 천식 환자의 IL-5의 분비량이 지속형 천식환자에서보다 더 높은 값이 관찰되었다. 이러한 사실은 기관지천식의 중증도를 결정하는데 있어서 PBMC에서 분비되는 이들 사이토카인의 양보다는 다른 여러 가지 요인이 더 핵심적으로 관여함을 시사하는 것으로 생각되며, 기관지천식의 경우 병변의 국소 환경이 알레르기 면역반응의 발현에 많은 영향을 미치는 것으로 생각된다. 이러한 관점에서 볼 때 기관지천식 환자의 PBMC에

서 분비되는 사이토카인이 과연 천식환자에 있어서 기관지의 염증성 병변을 잘 반영할 수 있을지에 대해서는 논란이 있다. 그러나 최근 연구결과에 따르면, IL-5 mRNA를 발현하고 있는 말초혈액의 CD4+ 세포의 숫자가 기관지천식의 중증도를 어느 정도 반영하고¹⁵⁾, 마우스 천식모델에서 항원 천식유발시험을 실시할 경우 골수세포에서의 IL-5 발현이 증가한다는 보고가 있으며¹⁶⁾, 이러한 연구결과들은 활성화된 PBMC도 알레르기 질환의 국소 병변에 크게 관여함을 시사하는 것으로 생각된다. 그러나 PBMC와 기관지폐포세척액의 염증세포를 각각 집먼지진드기 항원으로 자극할 경우 PBMC 보다 기관지폐포세척액의 염증 세포의 면역반응이 더 현저한 반응을 보이는 것으로 보고되고 있어, PBMC에 의한 면역 반응만으로 천식의 병인을 연구하는데 제한점이 있을 수 있는 것으로 생각된다¹⁷⁾.

연구자 등은 PBMC에서 분비되는 IL-5와 IL-10간에 유의한 연관성을 관찰할 수 있었으며, 아토피군에서 비아토피군에 비해 IL-10값이 더 높았고, 아토피 천식 환자에서 항원유발시험 후의 폐포세척액의 세포에서 IL-10의 mRNA 발현이 대조군에 비해 유의하게 높다는 보고가 있다¹⁸⁾. 이러한 결과는 IL-10이 알레르기 염증 반응을 조장하는 것으로 해석하기보다는, 지금까지의 연구결과를 고려해볼 때, 항원자극에 의해서 염증성 매개체의 분비가 증가함에 따라 이를 완화시키는 방어기전으로 분비가 증가되었을 것으로 생각되며, 염증성 사이토카인은 IL-10 분비의 중요 자극원으로 알려져 있다¹⁹⁾.

IL-10의 항염증 효과는 여러 연구자들이 보고하고 있다. 실제로 천식 환자의 폐포의 대식세포와 PBMC에서 IL-10의 발현이 감소되어 있으며²⁰⁾, 중증의 천식환자인 경우 PBMC의 IL-10 생성능이 낮다는 보고가 있고¹⁰⁾, 알레르기 질환이외에도 류마치스 관절염 환자에서도 IL-10 발현이 낮을 경우 관절염도 심한 것으로 보고하고 있다¹¹⁾. IL-10의 생체내 기능은 매우 다양하다. 알레르기

염증 반응과 관련해 볼 때 IgE 생성 억제⁵⁾, 비만 세포, 호산구 그리고 호중구의 사이토카인 생성 억제, T 세포에서의 IL-5 분비 억제²¹⁾ 그리고 항원전달세포와 T 세포간의 항원전달과정의 억제 기능이 있는 것으로 보고되고 있으며²²⁾, 이러한 알레르기 염증을 억제하는 효과는 마우스 천식 모델에서 증명되었다⁶⁾. 그러나 일부에서는 IL-10이 특이 IgE 생성을 조장한다는 보고도 있어 알레르기 환자에서 IL-10의 생체내 효과에 대해서는 아직 명확히 밝혀져 있지 않다²³⁾.

연구자 등은 측정된 IL-5, IL-10 그리고 IFN- γ 가 PBMC중 어느 세포에서 분비하고 있는지에 대해 밝히지 않았다. 그러나 PBMC를 대상으로 시행한 다른 연구자들의 결과를 보면, IL-5의 경우 CD4+ T세포에서 분비되는 것으로 보고하고 있으며⁹⁾, IL-10의 경우에는 단핵구, B 세포 및 T세포 모두가 주분비 세포로²⁴⁾ 그리고 기관지에서는 대식세포가 주분비 세포로 보고되고 있다^{7, 18, 20)}.

항원 자극에 의해 PBMC에서 분비되는 사이토카인의 시기는 각 사이토카인에 따라 많은 차이가 있다. 본 연구에서 측정된 IL-5 및 IL-10은 다른 사이토카인에 비해 비교적 늦게 분비되는 것으로 보고되고 있으며²⁵⁾, 이러한 점을 감안하여 연구자 등은 PBMC를 6일간 배양한 후 배양액내의 IL-5 및 IL-10의 농도를 측정하였다. IL-4의 경우에는 항원자극 후 24~48시간에 최고치에 도달하고 그 후 감소하는 것으로 보고되고 있다²⁵⁾. 연구자 등은 본 연구에서 IL-4의 분비량도 같이 측정할 바 있으나 전 예에서 검출할 수 없었으며, 이는 PBMC 배양기간과도 연관이 있을 것으로 생각되었다. PBMC의 면역반응은 세포 배양 조건에 따라 면역반응에 많은 차이가 있을 수 있으며, 본 연구에서는 비록 PBMC의 면역반응이 천식의 임상소견을 반영하는데 부족하였지만, 추후 적정 배양조건에 따라 결과에 차이가 있을 수 있을 것으로 생각된다.

이상의 결과로 보아 연구자 등은 PBMC에서

IL-5 및 IL-10의 분비가 아토피 환자에서 선택적으로 분비됨을 알 수 있었으며, 이는 기관지천식의 병인에 말초혈액 단핵구의 면역반응이 관여할 수 있음을 시사하는 것으로 생각되었다. 그러나 천식의 여러 임상소견은 PBMC의 면역반응이 외에 다른 많은 요인에도 영향을 받을 것으로 생각된다.

결론

항원자극에 의한 말초혈액 단핵구에서의 IL-5 및 IL-10의 분비는 아토피 질환에 특이적이며, 천식의 병인에 관여할 것으로 생각되었다. 그러나 천식의 중증도는 말초혈액 단핵구에서의 IL-5 및 IL-10의 분비량 이외에도 다른 여러 요인에 의해 더 많이 좌우될 것으로 생각된다.

참고문헌

- 1) Lopez AF, Sanderson CJ, Gamble JR, Campbell HD, Young IG, Vadas MA: Recombinant human interleukin 5 is a selective activator of human eosinophil function. *J Exp Med* 167:219-24, 1988
- 2) Rothenberg ME, Peterson J, Stevens RL, Silberstein DS, McKenzie DT, Austen KF et al. IL-5-dependent conversion of normodense human eosinophils to the hypodense phenotype uses 3T3 fibroblasts for enhanced viability, accelerated hypodensity and sustained antibody-dependent cytotoxicity. *J Immunol* 143:2311-6, 1989
- 3) Hamid Q, Azzawi M, Ying S, Moqbel R, Wardlaw AJ, Corrigan CJ et al. : Expression of mRNA for interleukin-5 in mucosal bronchial biopsies from asthma. *J Clin Invest* 87:1541-6, 1991
- 4) Foster P, Hogan S, Ramsay A, Matthaei K, Young I: Interleukin-5 deficiency abolished eosinophilia, airway hyperreactivity, and lung damage in a mouse animal model. *J*

- Exp Med. 183:195-201, 1996
- 5) Jeannin P, Lecoanet S, Delneste Y, Gauchat JF, Bonnefoy JY: IgE versus IgG4 production can be differentially regulated by IL-10. *J Immunol* 160:3555-61, 1998
 - 6) Zuany-Amorim C, Haile S, Leduc D, Dumarey C, Huerre M, Vargaftig BB et al. : Interleukin-10 inhibits antigen-induced cellular recruitment into the airways of sensitized mice. *J Clin Invest* 95:2644-51, 1995
 - 7) Borish L, Aarons A, Ruymbyrt J, Cvietusa P, Negri J, Wenzel S: Interleukin-10 regulation in normal subjects and patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 97:1288-96, 1996
 - 8) Chang JH, Chan H, Quirce S, Green T, Noertjojo K, Lam S et al. : In vitro T-lymphocyte response and house dust mite-induced bronchoconstriction. *J Allergy Clin Immunol* 98:922-31, 1996
 - 9) Till S, Dickason R, Huston D, Humbert M, Robinson D, Larche M et al. : IL-5 secretion by allergen-stimulated CD4+ T cells in primary culture: Relationship to expression of allergic disease. *J Allergy Clin Immunol* 99: 563-9, 1997
 - 10) Lim S, Crawley E, Woo P, Barnes PJ: Haplotype associated with low interleukin-10 production in patients with severe asthma. *Lancet* 352:113, 1998
 - 11) Hajeer AH, Lazarus M, Tuner D, Mageed RA, Vencovsky J, Sinnott P et al. : IL-10 gene promotes polymorphisms in rheumatoid arthritis. *Scan J Rheumatol* 27:142-5, 1998
 - 12) NIH: Expert panel report II: Guidelines for the diagnosis and management of asthma. NIH publication No 97-4501 p83, 1997
 - 13) 김철우, 박중원, 홍천수. 한국산 집먼지진드기 전충체 항원 알레르겐의 표준화: In vitro 방법에 의한 표준화. *천식 및 알레르기* 18:28-39, 1998
 - 14) 김철우, 박중원, 홍천수. 한국산 집먼지진드기 전충체 항원 알레르겐의 표준화: In vivo 방법에 의한 표준화. *천식 및 알레르기* 18:232-42, 1998
 - 15) Corrigan CJ, Hamid Q, North J, Barkans J, Moqbel R, Durham S et al. : Peripheral blood CD4 but not CD8 T-lymphocytes in patients with exacerbation of asthma transcribe and translate messenger RNA encoding cytokines which prolong eosinophil survival in the context of a Th2-type pattern: effect of glucocorticoid therapy. *Am J Respir Cell Mol Biol* 12:567-78, 1995
 - 16) Minshall EM, Schleimer R, Cameron L, Minnicozzi M, Guitierrez-Ramos JC, Eidelman DH et al. : Interleukin-5 expression in the bone marrow of sensitized Balb/c mice after allergen challenge. *Am J Respir Crit Care Med* 158:951-7, 1998
 - 17) Tang C, Rolland JM, Ward C, Quan B, Walters EH: IL-5 production by bronchoalveolar lavage and peripheral blood mononuclear cells in asthma and atopy. *Eur Respir J* 10: 624-32, 1997
 - 18) Robinson D, Tsicopoulos A, Meng Q, Durham S, Kay AB, Hamid Q: Increased interleukin-10 messenger RNA expression in atopic allergy and asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 14:113-7, 1996
 - 19) Borish L: IL-10: evolving concepts. *J Allergy Clin Immunol*. 101:293-7, 1998
 - 20) John M, Lim S, Seybold J, Jose P, Robich A, O'Conner B, et al. : Inhaled corticosteroids increase interleukin-10 but reduce macrophage inflammatory protein-1 α , granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, and interferon- γ release from alveolar macrophages in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 157:256-62, 1998
 - 21) Grunig G, Corry DB, Leach MW, Seymour BWP, Kurup VP, Rennick DM: Interleukin-

- 10 is a natural suppressor of cytokine production and inflammation in a murine model of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *J Exp Med* 185:1089-99, 1997
- 22) Ding L, Linsley PS, Huang LY, Germain RN, Shevach IEM: IL-10 inhibits macrophage costimulatory activity by selectively inhibiting the up-regulation of B7 expression. *J Immunol* 151:1224-34, 1993
- 23) Kawano Y, Noma T. Dual action of IL-4 on mite antigen-induced IgE synthesis in lymphocytes from individuals with bronchial asthma. *Clin Exp Immunol* 102:389-94, 1995
- 24) Wanidworanun C, Strober W: Predominant role of tumor necrosis factor- α in human monocyte IL-10 synthesis. *J Immunol* 151: 6853-61, 1993
- 25) McHugh S, Deighton J, Rifkin I, Ewan P: Kinetics and functional implications of Th1 and Th2 cytokine production following activation of peripheral blood mononuclear cells in primary culture. *Eur J Immunol* 20:1260-5, 1996