

집먼지진드기에 감작된 아토피 및 비아토피 개체에서 *Der p I* 및 면역변환제의 자극에 의한 T 림프구의 interleukin-4와 interferon- γ 생성의 차이

한양대학교 의과대학 소아과학교실, 미생물학교실*

오재원 · 이하백 · 정용훈* · 최용* · 송미경*

The difference of interleukin-4 and interferon- γ production of *Der p I* stimulated T cells and effects of immunomodulator in house dust mite sensitive atopic and non-atopic individuals

Jae-Won Oh, Ha-Baik Lee, Yong-Hoon Chung*, Yong Choi*, and Mi-Kyoung Song*

Department of Pediatrics, Microbiology* Hanyang University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : Allergic diseases are characterized by immediate- and late-phase reactions to various allergens by the selective activation of a subset of CD4+ T cells. In response to allergen, T cells isolated from atopic donors are biased to low levels of IFN- γ and high levels of IL-4, and vice versa by T cells from non-atopic donor.

Objective : The aim of this study was to evaluate the patterns of IL-4 and IFN- γ production after *Der p I* stimulation and the effect on the cytokine production from T cells by budesonide, disodium cromoglycate and cyclosporin A in atopic and non-atopic individuals.

Material and Method : Seven *Der p I* specific atopic and 7 non-atopic individuals were selected. We decided the 50% inhibiting concentration of each immunomodulator by lymphocyte proliferation assay, and measured their effects on the cytokine production in vitro by intracellular IL-4, IFN- γ staining and flow cytometry.

Results and conclusion : There was significant difference on stimulation index(SI) of production of IFN- γ as well as IL-4 after *Der p I* stimulation between atopic and non-atopic individuals (IL-4 ; $1.57 \pm 0.7 : 0.98 \pm 0.2$, $p=0.026$, IFN- γ ; $1.45 \pm 0.5 : 0.95 \pm 0.2$, $p=0.048$). The synthesis of IL-4, and IFN- γ were significantly inhibited after the stimulation of every immunomodulators in atopic individuals, DSCG couldn't inhibit IL-4 and IFN- γ in nonatopic individuals. There was no significant difference in the inhibiting effect of these immunomodulators in both of them.

Key word : interleukin-4, interferon- γ , budesonide, cyclosporin A, disodium cromoglycate, atopy

서 론

전형적인 알레르기는 초기 및 후기 과민 반응

을 특징으로 하며, 이 반응은 T 림프구, 특히 CD4+ T 림프구 즉, T helper (Th) 림프구에의

본 연구는 한국과학재단 핵심전문과제(KOSEF 961-0711-068-2)의 지원에 의해 이루어졌음.

통신저자: 한양의대 소아과 오재원

접수: 99년 1월 21일, 통과: 99년 4월 27일

해 조절되며 특정한 Th아형 림프구의 출현과 활성화에 따라 cytokines의 생산과 B 림프구 및 표적세포들에게 영향을 가져오고 아토피성 질환의 변질된 면역학적인 특징이 나타나게 된다. 이러한 T 림프구는 특정한 알레르기 항원에 대해 면역반응을 나타내는 아토피성 환자와 반응이 없는 비아토피성 환자를 구분 지을 수 있는 T 림프구 아형의 분포나 세포의 특성에 대하여 부분적으로만 이해되고 있을 뿐이다.

최근 10년 동안 murine CD4+ 림프구가 cytokines을 생성하며, 그 분비되는 특성에 따라 CD4+ T 림프구는 Th1 와 Th2 아형으로 분류된다고 보고된 이후 면역체계의 다양하고 중요한 기전과 그 세포의 기능에 대하여 많은 부분이 밝혀지게 되는 촉진제가 되었다¹⁻³⁾. CD4+ T 림프구는 알레르기반응에 밀접한 관계가 있다고 알려져 있으며 이 중 Th1 림프구는 지연형 과민반응에 주로 관여하고, Th2 림프구는 즉시형 과민반응을 일으키는 역할을 하는데, Th1 림프구는 interleukin-2 (IL-2), interferon- γ (IFN- γ), 그리고 tumor necrosis factor- β (TNF- β) 등을 분비하고, Th2 림프구는 IL-4, IL-5, IL-6 등을 분비하며, IL-3, TNF- α 와 granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) 등은 두 세포 모두에서 특징적으로 분비된다⁴⁾.

스테로이드는 아토피성 질환의 치료에 있어서 가장 효과적인 항염제로 이용되고 있는데, 세포 내에서 염증관련 효소들과 아라키돈산 대사물의 합성과 분비를 억제하고, 호산구와 중성구의 priming과 cytokines 및 기타 매개체 분비를 억제하며, T 림프구의 증식과 활동에 지대한 영향을 미치는 것으로 알려져 있다⁵⁾. Disodium cromoglycate (DSCG)는 비만세포의 증식을 억제하고, 세포막을 안정시킴으로써 매개체분비를 억제하며, 정상 말초혈액세포에서 자발적 IgE와 IL-4 induced IgE 합성을 억제하는 것으로 밝혀져 있다^{6,7)}. Cyclosporin A (CsA)는 강력한 면역억제제로서 호염기구와 비만세포에서의 leukotriene

C4, prostaglandin D₂의 분비를 억제하며, IL-2 gene transcription을 방해하여 T 림프구 활성을 억제하는 것으로 알려져 있다^{8,9)}.

한편, 유럽형 집먼지진드기 (*Dermatophagoides pteronyssinus*)는 가장 흔한 공중 알레르겐으로 알레르기 피부단자시험 약 80%에서 양성 반응을 나타내고 있으며 이중 Der p I 이 가장 중요한 알레르겐으로 밝혀지고 있다.

본 연구에서는 집먼지진드기에 과민한 아토피성 환자와 과민 반응이 없는 비아토피성 대조군 간의 CD4+ T 림프구의 특성과 역할을 밝히고자 하였다. 또한 알레르기질환 치료에 사용하는 항염증성 약물이나 면역기전에 영향을 미치는 제제 (budesonide, disodium cromoglycate, cyclosporin A)에 대한 아토피군과 비아토피군간의 CD4+ 림프구 아형들의 역할에 대한 차이를 Th1 (IL-4)과 Th2 (IFN- γ) 림프구의 cytokines 분비를 측정하여 분석하고자 하였다.

방 법

1. 대상

52종의 알레르기피부단자시험이나 RAST 검사상 유럽형 집먼지진드기 (*Dermatophagoides pteronyssinus*)에 양성을 보인 알레르기질환을 앓고 있는 환자 7명 (11-21세)을 집먼지진드기 특이 아토피군으로 정하였고, 알레르기질환의 과거력이나 개인력이 없고, 알레르기피부단자시험 및 총 면역글로불린 E 검사상 정상인 7명을 비아토피군 (11-30세)으로 선정하였다 (Table 1).

2. 말초혈액 단핵구 추출 및 증식

각 환자에서 40cc의 말초혈액을 heparin 0.05cc에 섞어 cone tube에 채혈한 후 말초혈액 단핵구 (peripheral blood mononuclear cell; PBMC)와 동량의 RPMI-1640을 섞고, Ficoll-paque를 20cc를 조심스럽게 첨가하고 상온에서 2,000g로 30분간 원심 분리하여 말초혈액 단핵구를 분리 추출했다.

Table 1. The demographic features of atopic individuals.

Patient	Age	Sex	Diagnosis	Serum IgE (IU/mL)	positive skin prick test	
A	21	F	AD, AR, AC	675	Dp+++	Df++
B	14	F	AS	481	Dp++	Df+++
C	15	M	AS	308	Dp++	Df++
D	11	M	AS, AD	472	Dp++	Df+++
E	13	M	AS, AR, AC	436	Dp+++	Df+
F	14	M	AS, AR	599	Dp++	Df++
G	15	M	AS	4500	Dp+++	Df++

AD: atopic dermatitis, AR: allergic rhinitis, AC: allergic conjunctivitis, AS: asthma.

Dp: *Dermatophagoides pterynissinus*, Df: *Dermatophagoides farinae* M: male, F: female

이를 상온에서 10분간 3회 500g로 원심 분리하여 세척하고 trypan blue로 생존한 세포수를 측정하였다. 각 대상환자의 말초혈액 단핵구의 증식과 활성도를 판정하기 위하여 XTT kit (Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Germany)을 이용하여 단핵구 증식법을 하였다. well 당 세포수가 1×10^3 가 되게 하고, XTT (sodium 3'-[1-(phenylaminocarbonyl)-3,4-tetrazolium]-bis (4-methoxy-6-nitro) benzene sulfonic acid hydrate in RPMI) labeling reagent 1mg/ml, electorn-coupling reagent (N-methyl dibensopyrazine methyl sulfate in PBS) 0.38 mg/ml을 각각 50 μ l, 1 μ l씩 첨가하여 5% 이산화탄소 배양기에 72시간 배양한 후 ELISA reader를 이용하여 450-500 nm로 흡수스펙트럼을 측정하였다.

3. *Der p* I 과 면역변환제의 최적 농도 결정

세포 자극에 대한 최적 농도를 정하기 위하여 각 면역변환제를 각 10배씩 희석하여 다른 농도로 petri dish에 5% 이산화탄소 배양기에 37°C 배양을 48시간 실시하여 trypan blue로 생존한 세포의 수를 측정하여 대조군과 비교하여 50%의 억제할 수 있는 농도 (IC_{50} : 50% inhibition concentration)를 최적 농도로 정하였다. 평균

budesonide의 IC_{50} 은 2.3×10^{-7} M, DSCG의 IC_{50} 은 5.4×10^{-3} M, CsA의 IC_{50} 은 8.3×10^{-6} M이었다. 집먼지진드기 추출물 (*Der p* I; # 70720, Allergopharma Hoachim Ganzer, Germany)은 이전 실험에서 적용된 농도를 참고하여 10배씩 농도를 올려 실험하여 세포의 생존율을 비교한 결과 최적 농도를 10 μ g/ml로 결정하였다^(10,11).

4. *Der p* I 과 면역변환제들에 의한 T 림프구 자극 및 배양

Streptomycin과 gentamicin이 함유된 10% FBS의 RPMI에 세포수 1×10^6 /ml 농도로 5 ml 씩 Petri dish에 넣어 37°C, 5% 이산화탄소 배양기에 48시간 배양하였다. Recombinant IL-2 을 10 μ g/ml 농도로 첨가한 후 각 dish별로 *Der p* I (10 μ g/ml), Budesonide (2.3×10^{-7} M), DMCG (5.4×10^{-3} M), CsA (8.3×10^{-6} M)을 넣고, 비교군으로 변환제를 넣지 않은 무자극군을 만들었다.

T 림프구의 활성화를 위하여 PMA (Sigma, St Louis, MO, USA) 50 ng/ml, Ca inophore (Sigma, St Louis, MO, USA) 500 μ g/ml을 넣어서 3시간 배양한 후 1시간 상온에 놓고 Brefeldin A (Sigma, St Louis, MO, USA) 10 μ g/

ml을 첨가하여 2시간 배양하였다. 세포를 수거한 후 300g로 10분간 2회 원심분리하여 세포를 세척한 후 세포수를 세어 각 well당 1×10^6 개의 세포를 넣었다.

5. 세포내 염색 및 유세포분석

1) 완충액

염색완충액: Dulbecco's PBS without Mg or Ca, 1% heat-inactivated FCS (Sigma, St Louis, MO, USA), 0.1% (w/v) sodium azide (Sigma, St Louis, MO, USA)을 섞어 pH 7.4로 교정한 후 $0.2 \mu\text{m}$ 공막으로 여과한 후 4°C에 보관하였다.

고정완충액: 4% (w/v) paraformaldehyde에 Dulbecco's PBS를 넣고 50°C water bath에 넣고 녹인 후 pH 7.4로 교정하고 4°C에 보관하였다.

투과완충액: Dulbecco's PBS, 1% heat-inactivated FCS, 0.1% (w/v) sodium azide, 0.1% (w/v) saponin 을 섞어 pH 7.4로 교정하고 4°C에 보관하였다.

2) 세포 표면과 세포내 항원 염색

1×10^6 세포 당 $100 \mu\text{l}$ 의 염색완충액을 넣고, fluorochrome-conjugated monoclonal antibody CD4 (Pharmingen, San Diego, CA, USA) $0.5 \mu\text{g}$ 와 IL-4 또는 IFN- γ 의 mouse anti-human monoclonal antibody $0.25 \mu\text{g}$ (Pharmingen, San Diego, CA, USA)을 섞어 염색완충액으로 250g 원심분리 세척을 2회 실시한 후 $100 \mu\text{l}$ 의 고정완충액을 넣어 4°C에서 20분간 vortex와 pipetting으로 철저히 섞어 4°C에서 14시간 보관한 후, 투과완충액으로 2회 세척하고 pellet을 만들어 saponin이 없는 PBS으로 혼합하여 유세포 분석기 (Beckton & Dickinson, CellQuest™, San Jose, USA)로 분석했다.

3) 자극 지수(stimulation index)에 의한 비교

면역변환제 자극에 의한 유세포 분석기상 세포 표면 항원 CD4 (x축)와 세포내 cytokines (y

축)이 모두 양성으로 나타나는 % gated 값을 구한다. 이 값을 무자극에 의한 % gated 값으로 나누어 자극지수를 구하여 각 군을 비교한다.

Stimulation Index = % gated value of immunomodulator / % gated value of non-stimulator

6. 통계 처리

모든 값의 통계처리는 SPSS version 7.5 for windows를 이용하였고, p값이 0.05미만인 경우 통계적으로 유의성이 있는 것으로 간주하였다. 아토피성과 비아토피성군간의 비교는 Levene's test for Equality of Variances, t test for Equality of Means를 이용하였다. 변환제에 의한 cytokines분비의 각 군 비교는 ANOVA (analysis of variance)를 이용하였으며, 모든 값은 평균 $\pm$ 표준편차로 명기하였다.

결 과

1. 집먼지진드기에 감작된 아토피군과 비아토피군간의 Der p I 자극에 의한 IL-4, IFN- γ 생산의 비교

Der p I을 $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ 농도로 48시간 자극한 후 아토피군과 비아토피군간의 cytokines 생산을 비교하여 보면, IL-4의 분비는 아토피군과 비아토피군의 자극지수는 각각 1.57 ± 0.7 과 0.98 ± 0.2 로 양군간에 유의한 차이가 있었으며 ($p=0.026$), IFN- γ 의 분비는 아토피군과 비아토피군의 자극지수는 각각 1.45 ± 0.5 과 0.95 ± 0.2 로 양군간에 의미있는 차이가 있었다 ($p=0.048$; Fig. 1).

2. 면역변환제 자극에 의한 IL-4 분비

각 면역변환제를 정해진 농도로 넣어 48시간 배양후 각 군의 IL-4 분비량을 비교하면, 각 군의 SI값은 아토피군에서 budesonide 0.65 ± 0.3 , DSCG 0.88 ± 0.3 , CsA 0.64 ± 0.1 , 비아토피군에서 budesonide 0.58 ± 0.3 , DSCG 0.71 ± 0.4 ,

CsA 0.58 ± 0.2 로 *Der p* I 자극에 의한 값(아토피군 1.57 ± 0.7 , 비아토피군 0.98 ± 0.2)과 비교

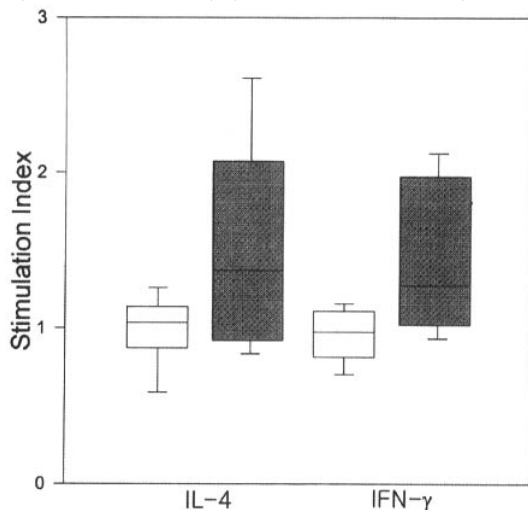


Fig. 1. The difference between house dust mite-sensitive atopics and non-atopics in cytokine productions of T cell after *Der p* I stimulation. There were significant differences of IL-4 and interferon- γ productions between them (* $p < 0.05$). gray square: atopics, white square: non-atopics.

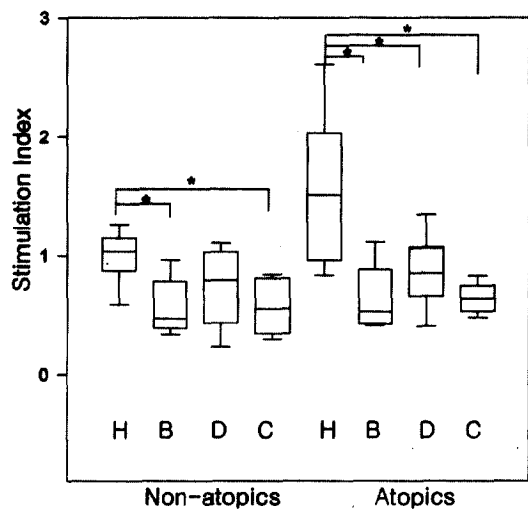


Fig. 2. The effect of immunomodulators on IL-4 production in house dust mite-sensitive atopics and non-atopics. IL-4 synthesis was significantly inhibited after the stimulation of budesonide, disodium cromoglycate, and cyclosporin A in atopics, but there is no inhibiting effect by disodium cromoglycate in nonatopics (* $p < 0.05$). H: *Der p* I extract, B: budesonide and *Der p* I, D: disodium cromoglycate and *Der p* I, C: cyclosporin A and *Der p* I.

하여 아토피군에서 모두 통계적으로 의미있게 억제 효과가 있는 것으로 나타났으나($p < 0.05$), 비아토피군에서는 DSCG에 자극하였을 때는 의미 있는 차이가 없었다. 각 면역변환제간의 억제효과에 대한 차이는 없었다($p > 0.05$, Fig. 2).

3. 면역변환제 자극에 의한 IFN- γ 분비

각 면역변환제 자극에 의한 IFN- γ 분비량을 비교하면, 각 군의 SI값은 아토피군에서 budesonide 0.77 ± 0.3 , DSCG 0.95 ± 0.3 , CsA 0.68 ± 0.3 으로 *Der p* I 자극에 의한 값(1.45 ± 0.5)과 비교하면 모두 통계적으로 의미있게 감소되었고, 비아토피군에서는 *Der p* I 자극 값(0.95 ± 0.2)과 비교하면 budesonide 0.74 ± 0.2 , DSCG 0.78 ± 0.2 , CsA 0.47 ± 0.2 로 CsA로 자극하였을 경우만 의미있게 억제효과가 있는 것으로 나타났다 (Fig. 3).

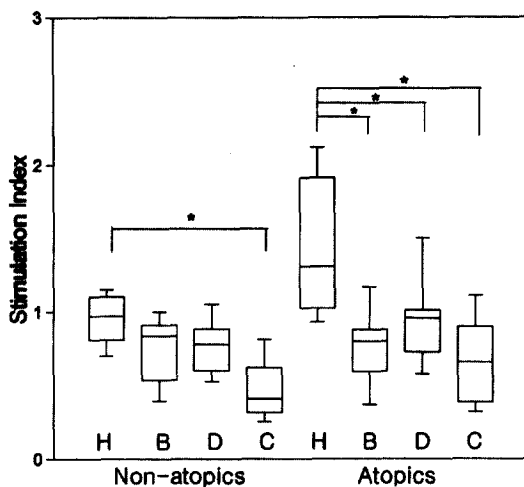


Fig. 3. The effect of immunomodulators on IFN- γ production in house dust mite-sensitive atopics and non-atopics. There is significantly inhibiting effects after stimulation of budesonide, disodium cromoglycate, cyclosporin A in atopics, but there is only inhibiting effect after the stimulation of cyclosporin A (* $p < 0.05$). H: *Der p* I extract, B: budesonide and *Der p* I, D: disodium cromoglycate and *Der p* I, C: cyclosporin A and *Der p* I.

고 찰

본 연구에서는 집먼지진드기 특이 아토피군과 비아토피군간의 T 림프구의 특성을 cytokine 측정을 통해 비교하고 현재 많이 상용되고 있는 면역변환제들에 의한 각 군의 T 림프구의 억제정도를 cytokine의 분비를 측정하여 비교하였다. 각 면역변환제간의 비교를 위하여 림프구 증식 억제력이 평균 50%되는 농도 (IC_{50})를 적정농도로 정하고, 그 농도에서 IL-4, IFN- γ 분비 정도를 비교하여 각 면역변환제간의 T 림프구에 대한 억제력을 판정하였다. 집먼지진드기의 자극에 의한 IL-4, IFN- γ 분비는 아토피군에서 모두 증가되는 양상을 보였으며 비아토피군에 비해 의미있게 차이가 있었다. 이는 아토피군의 T 림프구에서의 표현형이 Th0 림프구가 우세한 Th1, Th2, Th0 림프구 모두 혼합된 세포양상을 보일 수 있다는 보고와는 일치하나¹²⁾, 일반적으로 알려진 바와 달리 비아토피군에서 IFN- γ 도 아토피군에 비해 적은 양이 분비되는 결과는 본 연구에서 적용된 자극지수(stimulation index)에 의한 현상으로 비아토피군에서 Der p I 자극에 의한 절대값은 아토피군에 비해 유의하게 높으나 (평균 % gated 절대값; 비아토피군 : 아토피군; $31.04 \pm 17.3\%$: $19.75 \pm 10.4\%$) 동시에 무자극군의 절대값 역시 의미있게 높아 (평균 % gated 절대값; 비아토피군 : 아토피군 $33.10 \pm 10.7\%$: $14.19 \pm 10.6\%$) 그 비율이 아토피군보다 높게 나타난 것으로 사료된다.

스테로이드에 의해 T 림프구의 cytokines분비에 미치는 영향과 각 스테로이드간의 효과에 대해서는 지금까지 많은 연구가 있어 왔으나, 상용되고 있는 다른 면역변환제들과의 비교는 흔치 않았다. 스테로이드는 T 림프구 증식을 억제할 뿐만 아니라 IL-2, IL-4, IL-5, IFN- γ 등 여러 cytokines의 분비를 억제하며, 그 기전은 세포질의 특이 수용체와 반응하여 핵내로 전달되어 표적유전자에 유착되어 작용하는 것으로 알려져 있다¹²⁻¹⁵⁾. 그러나 일부 연구에서 스테로이드는 T

림프구의 cytokines분비에 있어 초회항원자극(priming)과 밀접한 관계가 있는 것으로 보고되고 있다¹⁶⁾. 즉, 초회항원자극기(priming phase)에 스테로이드로 자극하면 T 림프구에서 IL-10이 증가되고, IL-4, IL-5, IFN- γ 는 감소되는 양상을 보이지만, 오직 재자극기 (restimulating phase)에 스테로이드로 자극하였을 경우 IL-10, IL-4는 증가되는 양상을 보이고 IL-5, IFN- γ 는 감소되는 양상을 보인다. 이는 스테로이드 효과가 세포의 자극시기에 따라 다르게 나타난다는 것을 시사하고 있다. 본 연구에서는 아토피군에서 스테로이드 자극에 의해 IL-4, IFN- γ 모두 억제되는 양상을 보였다. 한편 일부 연구에서는 아토피군의 림프구 기능은 비아토피군의 림프구 기능에 비해 스테로이드에 덜 민감한 것으로 발표하고 있는데, 이는 스테로이드 수용체의 친화력 감소에 의한 것으로 해석하고 있다^{17,18)}. 그러나 이는 알레르기 염증 정도와 시기에 따라 다르며, 지금까지 대부분의 연구에서는 스테로이드에 의해 IL-4가 감소되는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서도 아토피군과 비아토피군 모두에서 스테로이드에 의해 IL-4가 감소되는 양상을 보이고 있다.

DSCG는 알레르기 환자의 여러 다양한 세포에서 세포막을 안정시켜 탈과립과 세포증식을 억제하는 기전이 있고, 정상 말초혈액 단핵구에서 IL-4에 의한 IgE 생성을 선택적으로 억제하는 효과가 있다¹⁹⁾. 일부 연구에서는 아토피환자와 정상인의 말초혈액 단핵구의 배양액에서 DSCG로 자극하는 경우 cell fraction과 별개로 세포반응이 억제되었으나 배양액을 제거하고 cell line만을 측정하였을 경우 세포가 증폭되는 것을 관찰하였으며²⁰⁾, 동일한 저자의 다른 보고에서는 DSCG의 자극에 의해 CD4 T 임파구 증식이 억제되고 모든 알레르겐으로 인한 반응이 농도에 비례하여 억제된다고 하였다²¹⁾. 결과적으로 DSCG는 아토피 환자나 정상인에서 mitogen 자극에 의한 말초혈액 단핵구나 아토피 환자에서 알레르겐이나

CD23에 의한 말초혈액 단핵구에 전달되는 신호를 억제하는 효과를 나타내는데 이는 수용성 IgE binding factor의 유무와 수량에 따라 DSCG의 효과가 변화될 수 있음을 시사하고 있다. 본 연구에서는 T 림프구를 50% 억제 농도에서 cytokines의 분비를 측정하였으나, 아토피군에서는 IL-4, IFN- γ 모두 의미있게 감소되는 반면, 비아토피군에서는 IL-4, IFN- γ 는 통계적으로 의미있게 감소되지는 않았다. 이는 Holen²⁰⁾의 연구에서와 같이 세포중식 억제효과는 아토피군과 비아토피군에서 동등하나, 비아토피군에서 세포활성에 대한 DSCG의 억제효과가 적었음을 시사하며, 이는 수용성 IgE binding factors가 아토피군에 비해 상대적으로 감소되어 나타나는 현상으로 사료된다²¹⁾.

CsA는 강력한 면역억제제로 이식반응을 억제할 뿐 아니라 아토피피부염 등 알레르기질환에서도 최근 많이 사용되고 있는 면역변환제이다. 이 약물의 기전은 T 림프구 수용체로부터 칼슘 의존형 신호 전달체계를 차단하여 Th 림프구의 활성을 억제함으로써 IL-2 유전자의 전사를 억제하는 것으로 보고되고 있다. 일부 연구에서는 CsA가 지연성 과민반응을 악화시키는 역설적인 반응을 나타낸다고도 하며²⁰⁾, 일부에서는 IgE 생성을 억제한다고 보고하는 한편^{23, 24)}, 일부 연구에서는 촉진한다고^{25, 26)} 상반된 보고를 하고 있다. 이는 CsA의 농도에 따라 다른 효과를 나타낼 것으로 추정되는데, 이를 뒷받침하는 연구로서 1×10^{-7} M의 적은 농도에서는 IL-4, IL-13에 자극된 말초혈액 단핵구에서 IgE 합성 뿐 아니라 IgG4의 생성도 촉진시키고, 매우 높은 농도에서는 IgE 합성을 억제한다는 것이다²⁷⁾. CsA의 IgE 합성에서의 T 림프구에 대한 CsA의 효과는 Th1 (IFN- γ)은 억제하고, Th2 (IL-4)는 자극에 의한 것으로 해석하고 있다²⁸⁾. 본 연구에서는 CsA의 IC₅₀ 농도인 8.3×10^{-6} M로 자극하였는데, IL-4, IFN- γ 모두 감소되는 양상을 보이고 있어 기존의 보고와 차이가 있는데 이 결과는 적용된 농도

의 차이에 기인된다고 사료된다.

T 림프구에 대한 면역변환제간의 효과에 대해서는 별로 밝혀진 바가 없었다. 본 연구에서 T 림프구중식의 50% 억제 농도 (IC₅₀)를 기준으로 IL-4와 IFN- γ 의 분비량을 측정하여 그 효과를 비교하였으나, 각 면역변환제간의 유의한 차이는 관찰되지 않았다.

결론

집먼지진드기의 자극에 의한 IL-4, IFN- γ 생성은 아토피군에서 모두 증가되는 양상을 보였으며 이는 비아토피군에 비해 유의한 차이가 있었다. 아토피군에서 스테로이드, DSCG, CsA 모두가 IL-4, IFN- γ 의 분비를 억제하였으나, 비아토피군에서는 DSCG에 의해서는 IL-4, IFN- γ 의 분비가 억제되지 못하였다. 이는 DSCG의 세포중식 억제효과는 아토피군과 비아토피군에서 동등하나, 비아토피군에서 세포활성에 대한 DSCG의 억제효과가 적음을 시사한다.

참고문헌

- 1) Mosmann TR, Cherwinski HM, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL: Two types of murine helper T cell clone J Immunol 136:2348-57, 1986
- 2) Anne Kelso: Th1 and Th2 subsets: paradigms lost? Immunol Today 16:374-9, 1995
- 3) Mosmann TR, Sad S: The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. Immunology Today 17:138-46, 1996
- 4) Maggi E, Parronchi P, Manetti R, Simonelli C, Piccinini MP, Rugiu FS et al. : Reciprocal regulatory effects of IFN-gamma and IL-4 on the in vitro development of human Th1 and Th2 clones. J Immunol 148:2142-7, 1992
- 5) Toogood JH, White FA: Corticosteroid: mechanisms of action and treatment of allergic disease. In: Townley RG, Agrawal DK (eds.): Immunopharmacology of allergic dis-

- eases. p 675-706, Marcel Dekker, New York, 1997
- 6) Okayama Y, Benyon RC, Lowman MA, Hillier K, Church MK: Inhibition profiles of sodium cromoglycate and nedocromil sodium on mediator release from mast cells of human skin, lung, tonsils, adenoid and intestine. *Clin Exp Allergy* 22:401-9, 1992
- 7) Tsicopoulos A, Lassalle P, Joseph M, Tonnel AB, Thorel T, Dessaint JP et al. : Effect of disodium cromoglycate on inflammatory cells bearing the Fc epsilon receptor type II (Fc ϵ RII). *Int J Immunopharmacol* 10:227-36, 1988
- 8) Schreiber SL, Crabtree GR: The mechanism of action of cyclosporin A and FK 506. *Immunol Today* 13:136-42, 1992
- 9) Alexander AG, Barnes NC, Kay AB: Trail of cyclosporin in corticosteroid-dependent chronic severe asthma. *Lancet* 339:324-8, 1992
- 10) Yamashita N, Takeno M, Kaneko S, Mizushima Y, Sakane T: Therapeutic effects of preferential induction of mite-specific T helper clones. *Clin Exp Immunol* 109:332-41, 1997
- 11) 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: 1021-31, 1992
- 12) Essayan DM, Han WF, Li XM, Xiao UQ, Kleine-Tebbe J, Huang SK: Clonal diversity of IL-4 and IL-13 expression in human allergen-specific T lymphocytes. *J Allergy Clin Immunol* 98:1035-44, 1996
- 13) Snijdwint FGM, Kapsenberg ML, Wauben-Penris PJJ, Bos JD: Corticosteroid class-dependently inhibit in vitro Th1-and Th2-type cytokine production. *Immunopharmacology* 29:93-101, 1995
- 14) Guyre PM, Girard MT, Morganelli PM, Manganiello PD: Glucocorticoid effects on the production and actions of immune cytokines. *J Steroid Biochem* 30:89-93, 1988
- 15) Crocker IC, Church MK, Newton S, Townley RG: Glucocorticoids inhibit proliferation and interleukin-4 and interleukin-5 secretion by aeroallergen-specific T-helper type 2 cell lines. *Ann Allergy Asthma Immunol* 80:509-16, 1998
- 16) Brinkmann V, Kristofic C: Regulation by corticosteroids of Th1 and Th2 cytokine production in human CD4 effector T cells generated from CD45RO-and CD45RO+ subsets. *J Immunol* 155:3322-8, 1995
- 17) Sher ER, Leung DY, Surs W, Kam JC, Zieg G, Kamada AK, Szefer SJ: Steroid-resistant asthma. Cellular mechanisms contributing to inadequate response to glucocorticoid therapy. *J Clin Invest* 93:33-9, 1994
- 18) Clayton MH, Leung DY, Surs W, Szefer SJ: Altered glucocorticoid receptor binding in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 96:421-3, 1995
- 19) Kimata H, Yoshida A, Ishioka C, Mikawa H: Disodium cromoglycate (DSCG) selectively inhibits IgE production and enhanced IgG4 production by human B cells in vitro. *Clin Exp Immunol* 84:395-9, 1991
- 20) Holen E, Bruserud, Elsayed S: The effect of disodium cromoglycate on in vitro proliferation of peripheral blood mononuclear cells from allergic and healthy donors. *Scand J Immunol* 36:721-31, 1992
- 21) Holen E, Elsayed S: The effect of disodium cromoglycate (DSCG) on in vitro proliferation of CD4+, CD8+, and CD19+ cell population derived from allergic and healthy donors. *Allergy* 50:249-56, 1995
- 22) Webster LM, Thomson AW: Augmentation of delayed type hypersensitivity to high dose

- sheep erythrocytes by cyclosporin A in the mouse: influence of drug dosage and route of administration and analysis of spleen cell population. *Clin Exp Immunol* 71:149-54, 1988
- 23) Okudaira H, Sakurai Y, Terada E, Ogita T, Miyamoto T: Cyclosporin A induced suppression of ongoing IgE antibody formation. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 79:164-8, 1986
- 24) Luo H, Chen H, Daloze P, Chang J, St-Louis G, Wu J: In Vitro IgE production by interleukin-4 stimulated human peripheral blood mononuclear cells is suppressed by rapamycin. *Clin Immunol Immunopathol* 61: 410-20, 1991
- 25) Chen SS, Stanescu G, Magalski AE, Quin YY: Cyclosporin A is an adjuvant in IgE antibody responses. *J Immunol* 142:4225-32, 1989
- 26) Chen SS, Li Q, Pearlman E, Chen WH: Dual mechanisms of potentiation of murine antigen-specific IgE production by cyclosporin A in vitro. *J Immunol* 149:762-7, 1992
- 27) Chang CC, Aversa G, Punnonen J, Yssel H, De Vries J: Brequinar sodium, mycophenolic acid, and cyclosporin A inhibit different stages of IL-4 or IL-13 induced human IgE and IgG4 production in vitro. *Ann New York Acad Sci* 696:108-22, 1993
- 28) Wheeler DJ, Robins A, Pritchard DI, Bundick RV, Shakib F: Potentiation of in vitro synthesis of human IgE by cyclosporin A. *Clin Exp Immunol* 102:85-90, 1995