

면역세포와 Apoptosis

계명대학교 의과대학 면역학교실 및 의과학 연구소

최병길 · 박종욱 · 윤수정

면역계의 생리기능은 self와 nonself의 식별로서, 외부 물질에 대한 자신의 방어 기전으로 정의될 수 있다. 면역계는 풀수 lymphocyte인 B cell과 흥선 lymphocyte인 T cell로 구성되며, 이들은 여러 가지 apoptosis 관련 유전자들에 의해 그 수가 조절된다. 흥선이나 풀수에서의 분화 성숙 과정에서는 Bcl-2계 유전자가, 말초에서 일어나는 autoreactive T cell 및 B cell의 제거에는 Fas/Fas ligand 유전자가 각각 관여하는 것으로 밝혀졌다. 그리고 세포성 면역 반응이 최고에 이를 후 항원 특이 세포들의 수가 점차 사라지는 과정, 즉 activation-induced cell death 역시 Fas/Fas ligand 및 TNF/TNF receptor 등의 유전자에 의해 조절되는 것으로 알려졌다. 본 논문에서는 면역세포들의 생존을 조절하는 apoptosis 관련 유전자들에 대해 최신 연구를 중심으로 요약하고자 한다.

1. 분화 성숙 과정(Clonal selection)

면역계 세포들은 풀수 간세포(stem cell)에서 유래하여 B cell 및 T cell로 분화된다. 이 중에서 T cell은 흥선으로 이주한 후 분화 성숙 과정을 거치면서 95%는 사멸하고 5%만이 생존하게 된다. 풀수에서의 T cell 전구세포는 흥선으로 이주한 후 분화 성숙되면서 T cell receptor(TCR) 및 CD4⁺ CD8⁻ 또는 CD4⁻ CD8⁺를 표현하는 T cell로 성숙한다 (Sprent, 1991; Fig.1). 이러한 T cell 중에서 흥선 상피세포 표면에 표현된 self-MHC(major histocompatibility complex, 사람의 경우에는 HLA 항원)와 결합하는 세포들은 선택되어 살아남고, 전혀 반응하지 않는 세포는 apoptosis에 의해 사멸하게 되는데 이를 positive selection이라고 한다. Positive selection된 T cell 중에는 self antigen과 강하게 결합하는 세포들도 포함되어 있으나, 이들 역시

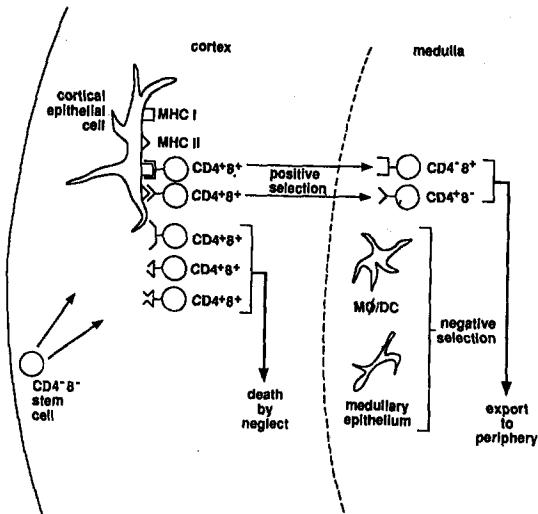


Fig 1. T-cell selection in the thymus. CD4⁺8⁻ stem cells under the capsule of the thymus spawn huge numbers of CD4⁺8⁺ immature T cells expressing a low density of $\alpha\beta$ TcR molecules. A small proportion of these cells have binding specificity for "self"-MHC class I or II molecules displayed on cortical epithelium. These T cells undergo positive selection: The selected cells up-regulate TcR expression, down-regulate expression of the unwanted accessory molecule (CD4 or CD8), and move to the medulla, where they appear as typical CD4⁺ and CD8⁺ mature T cells. Some of these cells have dangerously high affinity for self-MHC molecules and are destroyed when the T cells pass through the dense network of APCs [macrophages (MØs) and dendritic cells (DCs)] and epithelial cells in the medulla; some destruction (negative selection) of T cells can also occur in the cortex through contact with cortical epithelium. Only a very small proportion of total thymocytes (1-2%) are exported from the thymus. The vast majority of thymocytes fail to undergo either positive or negative selection. These "neglected" cells die within a few days. [Figure and legend reproduced from Sprent(1991)]

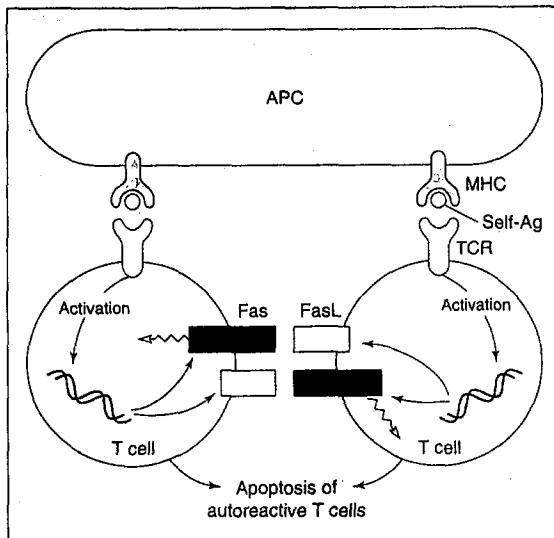


Fig 2. A model for Fas-mediated clonal deletion in the periphery. Antigen presenting cells (APCs) express self-antigen (Ag) as a complex with major histocompatibility complex (MHC). The interaction between the MHC-Ag complex and the T-cell receptor (TCR) on autoreactive T cells results in T-cell activation. This induces the expression of genes encoding Fas and Fas ligand (FasL). Subsequent interaction between T cells expressing Fas and FasL results in mutual Fas-mediated apoptosis (zigzagged arrow) and clonal deletion.

apoptosis에 의해 사멸하게 되는데 이를 negative selection이라고 한다. 이렇게 선택된 T cell 중에서도 self antigen과 반응할 수 있는 것들은 말초에서 항원에 의하여 활성화된 후 결국 apoptosis에 의하여 사멸하게 되는데 이를 peripheral clonal deletion이라 한다(Nagata & Suda, 1995; Fig.2). 흥선은 뇌조직과 함께 anti-apoptosis 유전자인 Bcl-2계 유전자의 발현이 매우 높은 조직으로 T cell의 생존에 관여하지만 negative selection 과정에서의 apoptosis는 억제하지 못하는 것으로 밝혀졌다. 한 예로서 Bcl-2를 강제 발현시킨 transgenic mouse의 흥선에서 clonal deletion이 계속 진행됨이 관찰되었다(Sentman et al., 1991; Strasser et al., 1991). 한편 lpr(Fas mutant) 및 gld(Fas ligand mutant) mouse들의 T cell 분화 성숙을 조사한 결과 positive 또는 negative selection 과정이 관찰되는 것으로 보아 Fas 및 Fas ligand는 이 선택 과정에 결정적 역할을 하지 않음을 알 수 있다(Herron et al., 1993). B cell 역시 골수에서 분화 성숙하는 과정

에서 autoreactive clone들이 제거되는 것으로 생각되고 있다. 생쥐의 경우 매일 약 5×10^7 B cell이 생산되나 75% 이상이 apoptosis로 사멸하여 골수 탐식 세포들에 의하여 처리되고, 약 20% 정도의 virgin B cell이 말초에 나오게 된다. 이 세포들의 apoptosis를 결정하는 것이 Bcl-2계 유전자인 것으로 생각된다.

2. Lymphocyte Recirculation and Secondary Lymphoid Tissues

이차 임파 조직(secondary lymphoid tissues)의 기능은 lymphocyte들과 항원을 한 곳에서 만나도록 하고, 이 미세환경에서 cytokine 및 growth factor 등의 도움을 받은 lymphocyte들이 분화 과정을 거쳐 effector/memory cell로 변환하고 증식해 나가도록 해주는 것이다. Lymphocyte들은 생체에 널리 분포하고 있는 이를 이차 임파조직, 즉 lymph node, spleen, Peyer's patch 등을 하나하나 찾아 다니며 순환하여 생존을 보장받고 있다. 흥선에서 선택받은 신생 T cell 및 골수에서 선택받은 virgin B cell들은 세포 주기상 G0/G1에 있는 quiescent cell들이며 Bcl-2는 이들의 출발점에서 생존을 위해 필요한 anti-apoptosis gene이다. 그러나 임파계에서 살아가는데는 Bcl-2계 유전자 표현 이외의 각종 cytokine receptor를 통한 신호전달계의 활용이 필요하다. 가장 잘 알려진 cytokine receptor로는 IL-2 receptor와 IL-2 receptor γ chain을 공통으로 사용하는 IL-4 및 IL-7 receptor 등이 있다. Cytokine/cytokine receptor 계를 통한 신호전달계는 Bcl-2나 세포주기 관련 유전자들의 발현과는 독립적인 quiescent lymphocyte survival pathway이며 항원을 만나서 clonal stimulation/proliferation의 기회가 올 때까지 이용된다. 이들의 생존에 필요한 또 하나의 신호전달계는 cell surface adhesion molecule을 통한 것들이다. 대표적인 예를 들면 G0/G1 상태의 B 및 T cell의 생존을 조정하는 cell surface molecule의 하나는 integrin이다. 임파조직과 그 맥관계를 이루는 내피 세포들이나 모세혈관 내피세포들의 표면에는 무수한 adhesion receptor ligand가 분포하고 있다. 이들은 cytokine과 더불어 lymphocyte의 장기 생존 조정인자 역할을 담당하고 있다. 만약 lymphocyte들이 lymph node, spleen, Peyer's patch 및 intestine에 분포한 임파계 등을 거쳐 순환하지 않는다면

이들은 apoptosis에 의해 clonal deletion의 운명을 맞게된다(Cyster et al., 1994).

3. Lymphocyte Activation and Apoptosis

항원들을 만나 활성화되는 lymphocyte의 생존은 quiescent lymphocyte와는 다른 조절 기전을 통하여 이루어지고 있다. 먼저 T cell 활성화를 소개한다면, G0/G1 상태의 T cell은 antigen presenting cell(APC)이 제공하는 항원을 만날 때 반드시 두 개 이상의 signal을 동시에 받아야 하는데 하나는 T cell receptor(TCR)을 거쳐 일어나는 신호계이고, 또 다른 하나는 소위 co-stimulatory signal로서 여러 종류(CD40L, CTLA-4 등)가 있으나 대표적인 것은 CD28/B7계이다. Antigenic stimulation과 co-stimulatory signal을 같이 받은 T cell은 immediate early gene들(c-jun, c-fos, AP-1, IL-2R α chain

등)을 표현하게 되고, 드디어 high affinity IL-2 receptor(IL-2R)와 IL-2를 표현하여 IL-2/IL-2R의 결합으로 G1/S transition이 가능해짐으로써 T cell 증식이 시작된다(Schwartz, 1990; Weiss & Littman, 1994; Fig.3). 반면에 thymocyte, T cell hybridoma, antigen-specific T cell strain 등을 사용하여 APC 없이 anti-CD3 항체 또는 anti-TCR(subunit) 항체로서 TCR/CD3을 자극하면 anergy(immune unresponsive state) 상태에 들어가든지 apoptosis를 일으키게 된다(Russell et al., 1991; Janssen et al., 1991; Wesselborg et al., 1993; Radvanyi et al., 1993; Kabelitz et al., 1993). 최근의 연구에 의하면 이 apoptotic cell death의 주요 경로는 Fas/Fas ligand임이 밝혀졌다(Alderson et al., 1995).

일단 면역반응이 성공적으로 일어났을 때에도 면역반응이 끝없이 계속되지는 않는다는 것은 잘

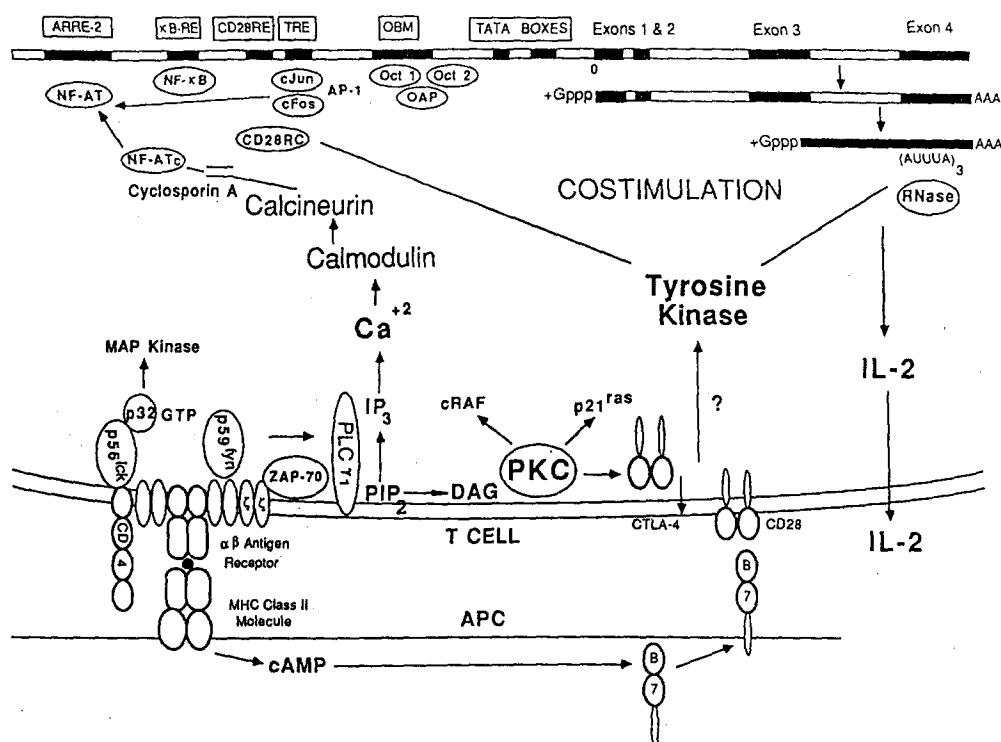


Fig 3. Molecular Basis of Costimulation for IL-2 Production
APC, antigen-presenting cell; IL-2, interleukin-2; PLC γ 1, phospholipase C- γ 1; PIP₂, phosphatidylinositol bisphosphate; IP₃, inositol 1, 4, 5-triphosphate; DAG, diacylglycerol; PKC, protein kinase C; NF-AT_C, cytoplasmic component of nuclear factor of activated T cells.

알려진 사실이다. 앞에서 언급한 바와 같이 활성화된 T cell의 증식 역시 apoptosis에 의해서 조절되고 있다(Russell et al., 1991; Janssen et al., 1991; Wesselborg et al., 1993; Radvanyi et al., 1993; Kabelitz et al., 1993). 활성화된 T cell은 세포 표면에 TNFR1, Fas 및 Fas ligand 등을 표현하며, 면역 반응의 어느 시기에 이르러서는 이를 세포간의 표면 분자에 의해 apoptosis를 일으키게 된다. 이러한 apoptosis에 대해서 최근 연구가 집중되고 있다. 첫째로 주목받고 있는 분자들은 활성화 T cell 표면에 발현되는 CD28과 CD40L 및 B cell 표면에 발현되는 B7과 CD40 분자들이다. 이들은 CD28/B7 및 CD40L/CD40 들은 TCR-epitope interaction이 있을 때 동시에 결합함으로써 Bcl-xL 표현을 강하게 유도한다(Kehry, 1996; Radavanyi et al., 1996; Lagresle et al., 1996). 따라서 Fas 또는 TNF에 의한 apoptosis를 모면하는 것 같다. 또한 Fas ligand 표현도 잠시동안(약 1시간)만 나타나고 곧 사라진다는 사실(Alderson et al., 1995)도 여기 관련되어 있을 것이다. 둘째 주목할 점은 IL-2의 역할이다. IL-2 생산과 IL-2R 표현은 T cell 활성화의 지표이며 T cell 증식에 불가결하지만, IL-2는 강력한 CTLA-4 inducer로 알려져 있다. CTLA-4는 CD28과는 경쟁적인 분자로서 B7과 결합하며, CD28/B7의 결합과는 반대로 Bcl-xL 유도를 억제

한다. IL-2를 과잉 표현하거나 CTLA-4가 결여된 transgenic mouse (Waterhouse et al., 1996; Sadlack et al., 1993)가 lymphoproliferative disease를 일으키는 것으로 보아 IL-2나 CTLA-4가 apoptosis 유도에 관련되어 있는 것으로 생각된다. 면역반응이 지속되다가 어느 시기에 혈중 항원농도가 낮아져 없어지고 co-stimulatory signal을 제공할 APC의 수도 감소하면 Fas(Lenardo, 1991) 또는 TNF- α (Zheng et al., 1995)에 의한 apoptosis가 유도되며 이것이 activation-induced cell death(AICD)의 기전이다.

활성화 B cell의 운명에 관한 연구들은 임파질 germinal center의 분석에서 찾아 볼 수 있다. Germinal Center에는 follicular dendritic cell(FDC)로 알려진 가장 효율높은 APC들을 중심으로 항원 축적이 일어나며, B cell의 분화 성숙이 진행된다. Germinal center의 첫째 기능은 germ-line Ig gene sequence보다 훨씬 높은 항원 친화성을 가진 B cell repertoire를 구축하는데 있다고 생각된다. 여기서 B blast들은 매우 짧은 cycling time(6~7시간)으로 증식하고 이들의 Ig gene의 mutation rate는 3~10 base/generation 정도의 높은 빈도로서 high affinity antibody를 생산하는 것으로 추정된다. 반면 germinal center centrocyte는 탐식세포에 의하여 제시되는 적절한 항원을 만나지 못하거나, 결합

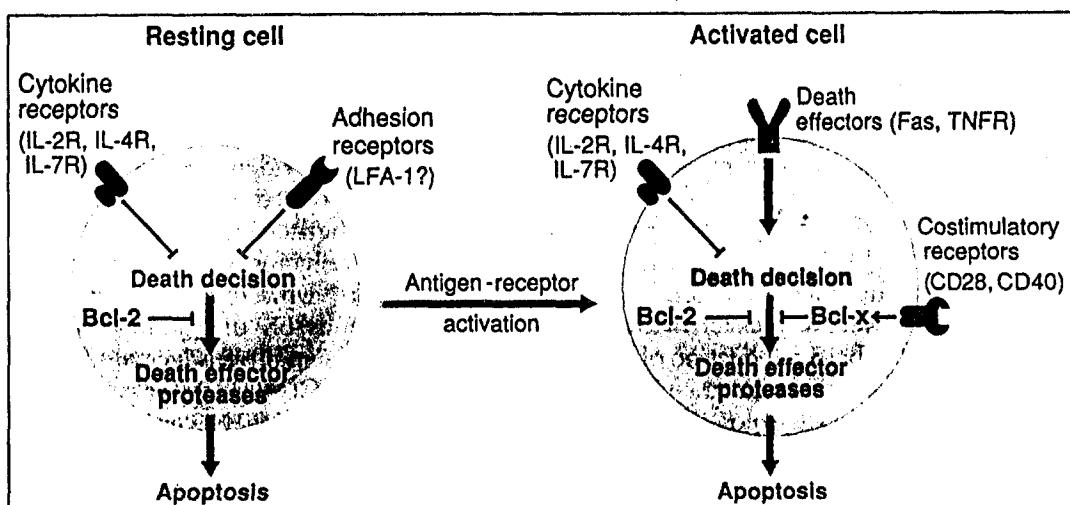


Fig 4. The factors that regulate the survival of resting and activated lymphocytes. In this model the survival information provided by cell surface receptors is hypothesized to prevent the cell from activating the proteolytic function of the effector proteases that mediate apoptosis. The factors that determine the conversion of ICE/Ced3 proteases from pro-enzymes to active enzymes have not been fully elucidated. ICE/Ced-3 proteases may be activated sequentially in a proteolytic cascade.

능력이 낮은 항체를 생산할 경우에는 제거되는 것으로 생각된다. 그 이유는 centrocyte 대부분이 Bcl-2 표현이 매우 낮고 Fas 표현이 높다는 점에서 찾아볼 수 있다. 특히 autoreactive B cell clone들의 제거에는 B cell에 의한 Fas의 표현과 이에 대응하는 CD4⁺ T cell에 의한 Fas ligand 표현이 관련되어 있다고 한다(Rathmell et al., 1996). Fig.4에서 요약한 것처럼 T cell 및 B cell들의 분화 성숙 과정을 조절하는 key step들이 일부 해명되기는 했으나 아직도 apoptosis에 이르는 많은 과정들이 해명되어야 할 것이다.

참 고 문 헌

- Alderson MR, Tough TW, Davis-ST, Braddy S, Falk B, Schooley KA, Goodwin RG, Smith CA, Ramsdell F, Lynch DH: Fas ligand mediates activation-induced cell death in human lymphocytes. *J Exp Med* 1995;181:71-77.
- Cyster JG, Hartley SB, Goodnow CC: Competition for follicular niches excludes self-reactive cells from the recirculating B-cell repertoire. *Nature* 1994;371:389-395.
- Herron LR, Eisenberg RA, Roper E, Kakkanaish VN, Cohen PL, Kotzin BL: Selection of the T cell Receptor Repertoire in Lpr Mice. *J Immunol* 1993;151:3450-3459.
- Janssen O, Wesselborg S, Heckl-Ostreicher B, Pechhold K, Bender A, Schondelmaier S, Molderhauer G, Kabelitz D: T cell receptor/CD3 signaling induces death by apoptosis in human T cell receptor $\gamma\delta^+$ T cells. *J Immunol* 1991; 146:35-39.
- Kabelitz D, Pohl T, Pechhold K: Activation-induced cell death(apoptosis) of mature peripheral T lymphocytes. *Immunology Today* 1993;14:338-339.
- Kehry MR: CD40-Mediated signaling in B cells Balancing Cell Survival, Growth, and Death. *J Immunol* 1996;156:2345-2348.
- Lagresle C, Mondiere P, Bella C, Krammer PH, Defrance T: Concurrent Engagement of CD40 and the Antigen Receptor Protects Naive and Memory Human B Cells from APO-1/Fas-mediated Apoptosis. *J Exp Med* 1996;183:1377-1388.
- Lenardo MJ: Interleukin-2 programs mouse $\alpha\beta$ T lymphocytes for apoptosis. *Nature* 1991 ; 353:858-861.
- Nagata S, Suda T: Fas and Fas ligand: lpr and gld mutations. *Immunology Today* 1995;16:39-43.
- Radvanyi LG, Mills GB, Miller RG: Religation of the T cell receptor after primary activation of mature T cells inhibits proliferation and induces apoptotic death. *J Immunol* 1993;150:5704-5715.
- Radvanyi LG, Shi Y, Vaziri H, Sharma A, Dhala R, Mills GB, Miller RG: CD28 Costimulation Inhibits TCR-Induced Apoptosis During a Primary T Cell Response. *J Immunol* 1996; 156:1788-1798.
- Rathmell JC, Townsend SE, Xu JC, Flavell RA, Goodnow CC: Expansion or elimination of B cells in vivo: dual roles for CD40-and Fas (CD95)-ligands modulated by the B cell antigen receptor. *Cell* 1996; 87: 319-29.
- Russell DM, Dembic Z, Morahan G, Miller JFAP, Burki K, Nemazee D: Peripheral deletion of self-reactive B cells. *Nature* 1991;354:308-311.
- Russell JH, Rush B, Weaver C, Wang R. Mature T cells of autoimmune lpr/lpr mice have a defect in antigen-stimulated suicide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:4409-4413.
- Russell JH, White CL, Loh DY, Meleedy-RP: Receptor-stimulated death pathway is opened by antigen in mature T cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:2151-2155.
- Sadlack B, Merz H, Schorle H, Schimpl A, Feller AC, Horak I: Ulcerative Colitis-like Disease in Mice with a Disrupted Interleukin-2 Gene. *Cell* 1993;75:253-261.
- Schwartz RH: A cell culture model for T lymphocyte clonal anergy. *Science* 1990; 248:1349-1356.
- Sentman CL, Shutter JR, Hockenberg D, Kanagawa O, Korsmeyer SJ: Bcl-2 inhibits multiple forms of apoptosis but not negative selection in thymocytes. *Cell* 1991;67:879-888.
- Sprent J: The thymus and T cell tolerance. *Today's Life Sci* 1991;3:14-20.
- Strasser A, Harris AW, Corey S: Bcl-2 transgene

- inhibits T cell death and perturbs thymic self-censorship. *Cell* 1991;67:889-899.
- Waterhouse P, Penninger JM, Timms E, Wakeham A, Shahinian A, Lee Kelvin P, Thompson CB, Griesser H, Mak Tak W: Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in Ctla-4. *Science-Wash* 1995; 270(5238):985-988.
- Weiss A, Littman DR: Signal transduction by lymphocyte antigen receptors. *Cell* 1994; 76:263-274.
- Wesselborg S, Janssen O, Kabelitz D: Induction of activation-driven death(apoptosis) in activated but not resting peripheral blood T cells. *J Immunol* 1993;150:4338-4345.
- Zheng L, Fisher G, Miller RE, Pechon J, Lynch DH, Lenardo MJ: Induction of apoptosis in mature T cells by tumor necrosis factor. *Nature* 1995;377:348-351.