

## 우유 단백질 유발성 장염 증후군의 병리 기전으로 세포 자멸사와 TNF- $\alpha$ , TRAIL receptor 1 (DR4)의 발현 증가

계명대학교 의과대학 소아과학교실, 병리학교실\*, 의과학연구소†

황진복 · 김상표\* · 강유나\* · 이성룡† · 서성일† · 권택규†

= Abstract =

### Apoptosis and upregulation of TNF- $\alpha$ and TRAIL receptor 1 (DR4) in the pathogenesis of food protein-induced enterocolitis syndrome

Jin-Bok Hwang, M.D., Sang Pyo Kim, M.D.\*, Yu Na Kang, M.D.\*  
Seong-Ryong Lee, M.D.†, Seong-Il Suh, M.D.† and Taeg Kyu Kwon, Ph.D.†

Departments of Pediatrics and Pathology\*, and Institute for Medical Science†  
Keimyung University School of Medicine, Daegu, Korea

**Purpose:** Expression levels of tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  expression on the mucosa of the small intestine is increased in patients with villous atrophy in food protein-induced enterocolitis syndrome (FPIES). TNF- $\alpha$  has been reported to induce apoptotic cell death in the epithelial cells. We studied the TNF family and TNF-receptor family apoptosis on the duodenal mucosa to investigate their roles in the pathogenesis of FPIES.

**Methods:** Fifteen infants diagnosed as having FPIES using standard oral challenge test and 5 controls were included. Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end-labeling (TUNEL) staining was performed to identify the apoptotic cell death bodies. Immunohistochemical staining of TNF- $\alpha$ , Fas ligand (FasL) for TNF family and TNF-related apoptosis-including ligand (TRAIL) receptor 1 (DR4), TRAIL receptor 2 (DR5), and Fas for TNF-receptor family were performed to determine the apoptotic mechanisms.

**Results:** TUNEL<sup>+</sup> was significantly more highly expressed in the duodenal mucosa of FPIES patients than in controls ( $P=0.043$ ). TNF- $\alpha$  ( $P=0.0001$ ) and DR4 ( $P=0.003$ ) were significantly more highly expressed in FPIES patients than in controls. Expression levels of FasL, Fas, and DR5 were low in both groups and were not significantly different between the 2 groups.

**Conclusion:** These results suggest that FPIES pathogenesis is induced by apoptosis, and that TNF- $\alpha$  expression and DR4 pathway may have an important role in apoptosis. (Korean J Pediatr 2010;53:525-531)

**Key Words:** Food protein-induced enterocolitis syndrome, Etiology, Apoptosis, Tumor necrosis factor-alpha, TNF-related apoptosis-including ligand receptor 1

### 서 론

식품 단백질 유발성 장염 증후군(food protein-induced enterocolitis syndrome, FPIES)은 위장관 증상을 보이는 식품 알레르기 중 하나로 비-IgE 매개형 면역 기전에 의해 발생하는

질환이다<sup>1)</sup>. FPIES는 신생아 혹은 어린 영아기에 구토나 설사를 동반한 성장 장애를 보이는 것이 임상적 특징이며<sup>2)</sup>, 대개 2세가 지는 알레르기에서 벗어나는 것으로 보고하고 있다<sup>3)</sup>.

위장관 식품 알레르기는 항원 흡수에 의한 국소적 염증이 장관 내 투과성(permeability)을 증가시키고 수액 이동을 유발하여 발생하는 것으로 병리생리에 관한 초기 연구에서 추정하였다<sup>4)</sup>. 그러나 Powell 등<sup>5)</sup>은 FPIES 환자가 질병이 없을 때 장관내 항원 흡수율은 정상치를 보여 질병 발현의 선행 요인은 아니라고 하였다.

위장관에서 항원에 대한 면역 반응은 tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ 의 발현 증가와 관련이 있다고 밝혀졌다<sup>6-8)</sup>. 순환하는 우유 단백질-특히 림프구에 의하여 TNF- $\alpha$ 의 발현이 높아지고 이는 장내 투과성을 증가시켜 장관내 항원이 점막하층(submu-

Received : 27 December 2009, Revised : 13 January 2010

Accepted : 22 February 2010

Address for correspondence : Jin-Bok Hwang, M.D.

Department of Pediatrics, Keimyung University School of Medicine, 194, Dongsan-dong, Jung-gu, Daegu, 700-712, Korea

Tel : +82.53-250-7524, Fax : +82.53-250-7783

E-mail : pedgi@kmu.ac.kr

This work was supported by a grant from Kuhnil Pharmaceutical Co. in 2005 (The Academic Award of The Korean Pediatric Society).

cosa)으로 쉽게 유입되어 항원-특이 림프구(antigen-specific lymphocyte)를 활성화 시키는 것으로 알려졌다<sup>6)</sup>. 장관 우유 알레르기 환자에서 말초혈액 단핵구에 의한 TNF- $\alpha$ 의 지속적인 분비와 대변내 TNF- $\alpha$ 의 증가가 관찰되었다<sup>7)</sup>. Chung 등<sup>9)</sup>은 FPIES 환자의 십이지장 점막 생검 조직에서 용모 위축을 보이는 경우 TNF- $\alpha$ 가 증가되어 있으며, transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 는 발현이 낮는데 이는 제 1형 TGF- $\beta$  수용체의 낮은 발현과 관계된다고 보고한 바 있다. 즉 FPIES의 병리기전으로 TGF- $\beta$ 와 TNF- $\alpha$ 의 불균형이 중요하다고 주장하였다.

Augustin 등<sup>10)</sup>은 위장관 식품 알레르기 질환의 하나인 우유 과민성 장병증(cow's milk sensitive enteropathy) 환자의 십이지장 생검 조직에서 상피내 림프구의 세포 자멸사(apoptosis)를 보고한 바 있으며, Ciccocioppo 등<sup>11)</sup>은 celiac 병에서 상피세포의 장 세포 자멸사를 증명하고 이는 Fas-Fas ligand (FasL) 경로를 통하여 이루어진다고 보고한 바 있다. 또한, TNF- $\alpha$ 는 점막 상피에서 세포 자멸사를 유도하는 것으로 알려져 있다<sup>12, 13)</sup>.

저자들은 표준화된 경구 유발 시험을 통하여 진단된 FPIES 환자의 십이지장 점막 생검 조직에서 세포 자멸의 유무와 TNF family와 TNF-수용체 family에서 세포 자멸의 발병 경로를 규명하고자 본 연구를 시행하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대 상

2000년 3월부터 2005년 7월까지 설사 혹은 구토 등을 주소로 계명대학교 의과대학 동산의료원 소아과 병동을 방문하여 표준화된 경구 유발 시험 방식을 거쳐 FPIES로 확진된 15례를 대상으로 상부 위장관 내시경하 십이지장 생검을 시행하여 조직의 병리적 특성을 5례의 대조군과 비교 관찰하였다.

### 2. 표준화 경구 유발 시험<sup>14)</sup>과 FPIES의 진단

분유 수유아나 모유와 분유를 혼합 수유 하는 신생아 혹은 어린 영아가 구토, 설사를 주소로 입원하여 성장 장애, 대사성 산증, 저알부민혈증, 혹은 메트헤모글로빈혈증을 동반할 때 FPIES를 의심하였다. 전신 상태의 안정을 보인 후 표준화된 방식으로 개방식 경구 유발 시험을 시행하였다. 우유는 단백질의 양이 0.15 g/kg로 1회 수유하였다. 유발 시험 후 구토, 처짐, 설사의 3가지 임상 증상과 유발 시험 전과 시험 후 6시간에 확인된 말초혈액검사에서 절대호중구수가 3,500/mm<sup>3</sup> 이상의 증가를 보이는지, 대변 검사에서 잠혈 양성 혹은 고배율시야(high power field, HPF) 당 5개 이상의 백혈구 출현을 보이는 지 검사 소견을 관찰하였다. 저자들은 5가지 소견 중 3가지 이상이 양성 결과를 보일 때 FPIES로 진단하였다.

### 3. 대조군

대조군은 구토 등의 증상으로 십이지장 생검을 실시한 동일 연령대의 환자 중 위장관 우유 알레르기를 포함한 위장관 염증성 질환을 뚜렷이 밝힐 수 없었던 증례의 조직을 대상으로 하였다.

### 4. 십이지장 점막 조직 생검

십이지장 점막 조직 생검은 유발 시험에 따라 FPIES로 진단된 환자에서 유발 시험 후 24시간내에 시행하였다. 내시경은 GIF-N230 (Olympus, Tokyo, Japan)을 이용하여 전례에서 의식 진정(conscious sedation)없이 시행하였다. 내시경하에서 바터씨 팽대부 하부 십이지장에서 3조각의 생검을 실시하여 헤마톡실린과 에오신 염색 후 점막 근육층(muscularis mucosa)을 기준으로 수직으로 절단된 절편만을 연구 대상으로 하였다.

### 5. Terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end-labeling (TUNEL) 염색

자멸 세포의 유무를 확인하기 위하여 조직 화학 염색 키트 (Roche Molecular Biochemicals, Mannheim, Germany)를 이용하여 파라핀 블록으로 보관된 조직에 TUNEL 염색을 시행하였다. 조직 절편을 xylene 세척으로 탈파라핀 후 계열 알코올을 이용해 함수과정을 거치고 phosphate-buffered saline로 세척하였다. 섭씨 37°C에서 proteinase K 효소(20  $\mu$ g/mL in 10 mM Tris/HCl)를 15분간 처리하여 조직 절편의 세포내 핵부분의 단백질을 제거한 후 증류수에 세척하였다. 0.3% 과산화수소수로 내인성 peroxidase 효소를 제거한 다음 50  $\mu$ L of terminal deoxynucleotidyl transferase 반응액을 조직 절편에 처리하고 섭씨 37°C에서 60분간 반응시켰다. Horseradish peroxidase를 접합시킨 항-형광 항체를 처리한 후, 2, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (50 mmol/L Tris-HCl buffer에 0.5 mg/mL 농도, pH 7.4)를 처리하여 genomic DNA의 절편을 탐지하였다. TUNEL 염색 세포의 핵은 진한 갈색을 나타내며 광학현미경으로 관찰하였다.

자멸 세포수는 5개의 고배율시야에서 확인된 TUNEL<sup>+</sup> 발현 세포 수를 평균하여 산출하였다.

### 5. TNF family와 TNF-수용체 family 염색

세포 자멸의 경로를 확인하기 위하여 파라핀 블록의 조직을 이용하였다. 파라핀 블록에서 면역조직화학 검사가 가능한 TNF family인 TNF- $\alpha$ , FasL과 죽음 수용체(death receptor, DR)인 Fas, TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) receptor-1 (DR4) 및 TRAIL receptor-2 (DR5)의 발현을 확인하였다.

파라핀 블록에서 4  $\mu$ m의 조직 절편을 만든 후 실온(20-25°C)에서 xylene에 5분간 3번 부란하여 탈파라핀 시킨 후 에탄올과 증류수를 사용해서 재함수하였다. 이후 절편은 섭씨 95°C로

미리 테워진 epitope retrieval solution (0.01 mol/L citrate buffer, pH 6.0)에 침수시키고, 마이크로웨이브에서 10분간 반응시킨 후 실온에서 다시 20분간 냉각시켰다. 절편은 15 mmol/L sodium azide (NaN<sub>3</sub>)를 함유한 3% 과산화수소로 구성된 peroxidase blocking reagent로 5분간 처리하여 내인성 peroxidase의 활성을 제거하였다. 이후 일차 항체는 TNF- $\alpha$  (1:200, Abcam, Cambridge, USA), FasL (1:300, Santa Cruz, Santa Cruz, USA), Fas (1:300, Santa Cruz, Santa Cruz, USA), TRAIL-receptor 1, 2 (1:300, Abcam, Cambridge, USA)를 사용하였으며, 자동 염색기(NexES IHC, Ventana Medical Systems, Inc., Arizona, USA)로 염색하였다. 이차 항체로는 iView DAB Detection kit (Ventana Medical Systems, Inc., Arizona, USA)를 사용하였고 Hematoxylin II (Ventana Medical Systems, Inc., Arizona, USA)와 Bluing Reagent (Ventana Medical Systems, Inc., Arizona, USA)로 대조 염색 후 봉입하였다. 면역조직화학염색의 양성 대조군으로 림프조직을 사용하고, 음성 대조군은 일차항체 대신 음성 대조 시약을 사용하여 위와 동일한 과정에 의해 염색하였다.

결과의 판독은 염색범위(extent)는 400배 배율 시야에서 상피세포와 점막고유층(lamina propria)의 단핵 세포에서 음성 반응을 나타내는 경우를 0, 25% 미만의 상피세포와 점막고유층의 단핵 세포에서 염색되는 경우를 1+, 25-50%에서 염색되는 경우를 2+, 50% 이상에서 염색되는 경우를 3+로, 염색강도(intensity)는 염색이 되지 않은 경우 0, 약하게 염색된 경우를 1+, 일부가 강하게 염색되거나 전체가 중등도로 염색된 경우를 2+, 전체가 강하게 염색된 경우를 3+으로 판독하여, 염색범위와 강도 합의 평균을 구하여 0.5점 단위로 0-3점으로 점수화한 후 FPIES군과 대조군에 대하여 정량적으로 비교 분석하였다<sup>9)</sup>.

7. 통계

대상군과 대조군의 면역조직화학검사의 결과에 대한 비교는 Mann-Whitney U test를 이용하였으며, P 값이 0.05 미만일 때를 유의하다고 판정하였다. 수치는 평균±표준편차(범위)로 기술하였다.

결 과

1. 세포 자멸 유무 판정을 위한 TUNEL 염색

TUNEL<sup>+</sup> 염색 세포수는 FPIES군이 7.8±1.9 (5-11)/HPF로 대조군 1.4±1.1 (0-3)/HPF에 비하여 의미 있게 높게 발현되었다(P=0.043). 정상 대조군에서는 드물게 장 세포 염색 양성이 용모의 끝이나 음와의 기저부에서 관찰되었으나, FPIES군에서는 점막 표면과 음와에 위치한 장 세포에서 핵 모양으로 다량의 TUNEL 염색 양성 세포가 관찰되었고 점막고유층에서는 단핵세포도 염색되었다(Fig. 1).

2. TNF family와 TNF-수용체 family의 발현

FPIES군에서 TNF- $\alpha$ 는 의미 있게 높게 발현하였으며(P=0.0001) (Fig. 2), 대조군에서는 용모 끝의 상피 표면을 따라 약하게 발현하였으나 FPIES군에서는 상피 전체와 점막고유층의 단핵세포에도 강하게 발현하였다(Fig. 3). FPIES군에서 DR4도 의미 있게 높게 발현하였으며(P=0.003) (Fig. 4), FPIES군에서 상피 전체와 점막고유층의 단핵세포에도 대조군에 비하여 강하게 발현하였다(Fig. 5).

FasL, Fas, DR5는 두 군 모두에서 발현이 미약하였으며, 의미 있는 차이를 보이지도 않았다.

고 찰

본 연구의 결과인 TUNEL의 증가를 근거로 FPIES의 병리 기전으로 세포 자멸사가 관여함을 증명하였고, TNF- $\alpha$ 의 발현 증가와 함께 TNF-family의 세포 수용체인 TRAIL receptor 1 즉 DR4가 증가한다는 사실을 확인하였다. 그러나 TUNEL은 장 상피 세포뿐만 아니라 모든 세포의 자멸사를 반영해 주기 때문에, 향후 단클론 항체인 M30를 이용하여<sup>10)</sup> 장 상피 세포 특유의 자멸사인지 아니면 상피 세포내 림프구(intraepithelial lymphocyte)

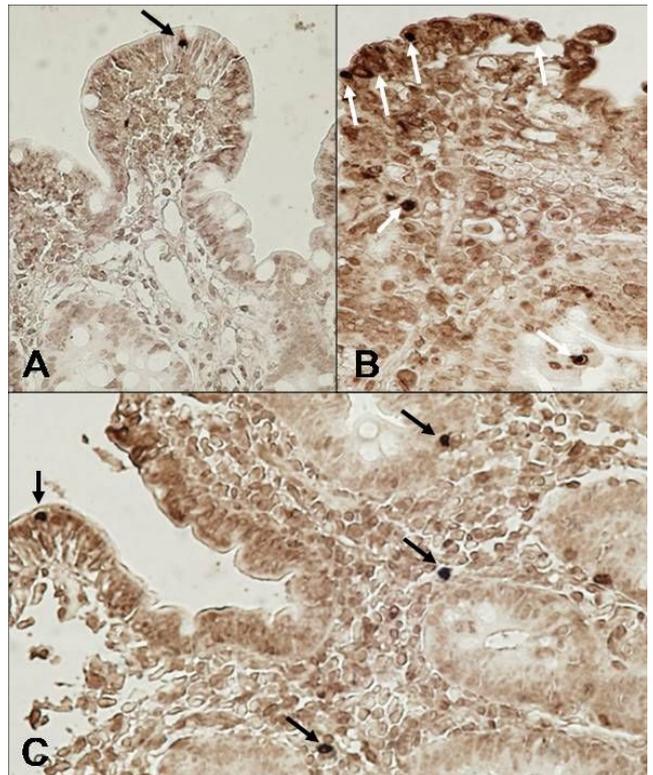


Fig. 1. TUNEL staining of duodenal mucosa of (A) controls (×200) and (B, C) patients with food protein-induced enterocolitis syndrome (×400). Black and white arrows are TUNEL<sup>+</sup> cells.



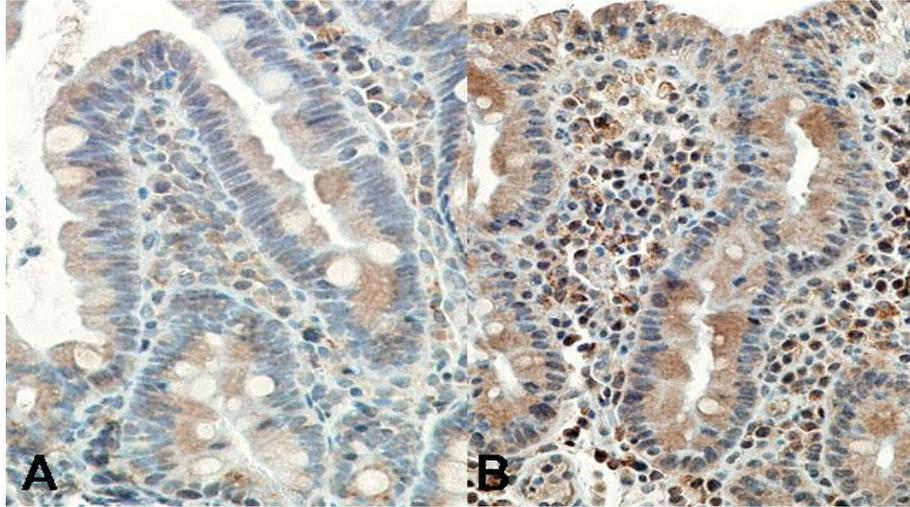


Fig. 5. DR4 staining of the duodenal mucosa of (A) controls and (B) patients with food protein-induced enterocolitis syndrome ( $\times 200$ ).

TNF- $\alpha$ 의 발현 증가가 용모 위축과 관련된다고 보고한 바 있다.

본 연구에서는 파라핀 절편 조직에서 면역조직화학적 검사가 가능하였던 TUNEL과 TNF family인 TNF- $\alpha$  및 FasL, 죽음수용체로 알려진 Fas, DR4 및 DR5의 발현을 확인하여 TNF- $\alpha$ 와 DR4의 발현 증가를 확인하였다. TUNEL을 확인하여 FPIES에서 세포 자멸사가 중요한 병리 기전이라는 사실을 확인하여 TNF- $\alpha$ 의 발현 증가가 세포자멸사의 경로로 작동할 수 있음을 확인하였고, 특히 유사한 장병증 질환의 하나인 celiac병처럼 Fas-FasL 경로를 통하지 않고 DR4 경로를 이용할 수 있다는 사실을 처음으로 확인한 연구로서 의의가 크다.

TNF family에는 TNF- $\alpha$ , lymphotoxin (TNF- $\beta$ ), FasL, CD40 ligand, OX-40 ligand, Receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand (RANK-L), TRAIL 등이 있다. TNF family에 대한 세포 수용체는 type I transmembrane protein으로 TNF-RI, TNF-RII, lymphotoxin- $\beta$  receptor, Fas, CD40, OX-40, RANK 등이 있다. TNF family의 단백질이 각자의 수용체와 결합하면 다양한 세포반응이 초래되는데 대부분의 경우 염증 유발 반응을 유도하고, TNF-RI, Fas, TRAIL 수용체의 경우는 자멸사 관련 신호와 관련 있음이 알려져 있다<sup>18)</sup>.

세포 자멸사는 면역 염증 반응의 생성과 조절에 필수적인 역할을 한다<sup>19)</sup>. 정상적인 새로운 상피의 재생 과정일 뿐 아니라, 상피에서 과다한 세포 자멸은 습진성 피부염이나 천식의 병리 기전에서 중요한 역할을 한다<sup>20)</sup>. 질병 상황에서 상피와 T 세포의 상호작용은 상피를 활성화시켜 염증성 사이토카인이나 케모카인을 방출하며, 조직에 침범한 활성화된 T세포는 조직의 세포 자멸사를 유발하는데, IFN- $\gamma$ 와 FasL, TRAIL, TNF- $\alpha$ 가 결합하여 이루어진다. TRAIL은 TNF family의 하나로 다양한 종양 세포계의 세포 자멸에 관여하여 종양 감시, 바이러스 감염 세포의 사멸, 자가 면역 T 세포의 조절에 중요한 역할을 한다<sup>19)</sup>.

TRAIL은 TNF- $\alpha$ 나 FasL와 상동성(homology)를 가지는 단백질이므로, TNF- $\alpha$ 나 FasL 처럼 장내 염증 질환의 병리생리의 해석에 중요한 역할을 할 것으로 판단된다<sup>21)</sup>. TRAIL ligand에 대한 TRAIL 수용체는 5가지가 알려져 있는데, TRAIL receptor (TRAILR) 1 (DR4), TRAILR 2 (DR5)는 세포 자멸을 유도하며, TRAILR 3 (decoy receptor, DcR 1)와 TRAILR 4 (DcR 2)는 유인 수용체(decoy receptor)로서 외부로부터 세포 자멸 유발 신호를 세포막으로 전달하는 도메인에 결손이 되어 DR4, DR5에 의한 TRAIL 매개의 자멸로부터 세포를 보호한다. Osteoprotegerin은 파골 세포(osteoclast)의 대사에 관여하는 수용체로 알려져 있다<sup>19)</sup>. TRAIL과 TRAIL 수용체의 역할은 종양 세포에서 작용하는 것으로 잘 알려져 있으나, 최근 TRAIL이 종양이 아닌 세포계에서도 세포 자멸을 유발하는 것으로 밝혀지고 있다<sup>22)</sup>. TRAIL은 T세포나 자연 살세포(natural killer cell) 등에서도 뚜렷하게 발현하는 것으로 알려져 있다<sup>23)</sup>.

TRAIL과 TRAIL 수용체의 역할은 건강한 사람이나 질병 상황에서는 많이 알려져 있지 않다. 알레르기 질환에서 TRAIL과 TRAIL 수용체의 역할에 관하여 최근 연구되고 있다. 아토피성 피부염을 가진 환자에서 호산구는 DR4, DcR1, DcR2의 발현을 유도하며<sup>24)</sup>, 기관지 천식 환자에서 항원 자극 후 TRAIL, DcR2 발현은 상승하며 DR4, DR5는 감소하는데, 이러한 TRAIL과 TRAIL 수용체의 상호작용이 호산구 생존을 촉진하여 천식의 병리기전에서 중요한 역할을 한다<sup>25)</sup>. 호산구성 질환인 Churg-Strauss 증후군에서도 DcR2 발현이 증가되어 병리기전으로 주목받고 있다<sup>26)</sup>. 점막하층에 T세포가 침입하여 염증성 사이토카인을 방출하여 상피를 활성화하고 염증을 지속시키는 만성 비부비동염에서도 TRAIL의 역할이 보고되었다<sup>19)</sup>. 부비동의 상피에서 TRAIL은 높게 발현되었으며, DcR2는 저하되었다고 하였다.

한편 위장관내의 종양이 아닌 질환에서 TRAIL과 TRAIL 수

용체에 대한 연구는 드문데, Begue 등<sup>21)</sup>은 염증성 장 질환에서 TRAIL의 역할을 알아 보았다. 정상 성숙 장 상피는 TRAIL이 낮게 발현하였으나, 염증 병변의 장 상피와 점막고유층 림프구에서는 TRAIL 발현이 항진되어 있었다. IFN- $\gamma$ 와 TNF- $\alpha$ 는 장 상피에서 TRAIL의 발현을 유도하였으며, TNF- $\alpha$ 는 DR5의 발현을 증가시켰다. 따라서 TRAIL은 장 상피 방어 기능을 유지하는데 관계되는 새로운 염증 매개체라고 보고하였다.

장내 알레르기 질환의 하나인 FPIES에서 TRAIL의 역할에 관하여 보고된 바는 없으며, 저자들은 파라핀 블록의 조직을 이용하였던 제약성 때문에 TRAIL의 발현을 확인할 수는 없었다. 그러나 DR4가 정상 조직에 비하여 높게 발현하는 현상을 발견하였다. 본 연구에서 밝힌 TUNEL에 의한 세포 자멸의 확인과 함께 TNF- $\alpha$ 의 항진, 그리고 DR4의 높은 발현에는 어떤 연관성이 있는 지 밝히는 것은 추후 중요한 연구 과제가 되리라 판단된다.

TRAIL은 정상 세포에는 영향을 주지 않고 종양 세포의 세포 자멸을 선택적으로 유도하는 항-종양 효과에 대하여는 잘 알려져 있다<sup>23)</sup>. TRAIL은 TNF- $\alpha$ 나 FasL 처럼, 상피 막에서 수용체와 결합하여, death-inducing signaling complex (DISC)를 경유하여 caspase cascade를 활성화시켜 세포 사멸의 유도하게 된다. DR4, DR5는 죽음 도메인으로서 Fas associated death domain (FADD)와 caspase-8을 경유하여 직접 caspase cascade를 활성화시켜 최종적으로 세포 사멸을 유발하게 된다<sup>21)</sup>. Celiac 병에서 Fas-FasL가 관여 된다고 보고하였으나<sup>11)</sup>, 본 연구에 의하면 FPIES에서는 Fas-FasL가 정상 대조군에 비하여 높게 발현되지 않아 흥미로운 결과를 보였다.

최근의 보고에 의하면 TRAIL은 세포 기능 조절에 광범위하게 작용하며 면역 매개체로서의 역할이 알려지고 있다<sup>23)</sup>. Strater 등<sup>27)</sup>은 정상 장 상피에서는 TRAIL, DR4, DR5, DcR2가 낮게 발현한다고 보고하였다. 이는 본 연구의 정상 대조군에서 DR4, DR5가 낮게 발현하는 것이 확인되어 결과가 일치하였다.

TRAIL은 종양이 아닌 세포에서 염증 유발 매개체로서의 작용과 세포 자멸의 전구물로서 작용 즉 이중 역할을 하는 것으로 생각하고 있다. 정상적이거나 염증이 없는 상황에서는 염증 유발이나 면역 조절 역할이 주로 작동하며, TRAIL에 의한 세포 자멸은 이루어지지 않는다. 그러나 염증 상황에서는 TRAIL은 강력한 세포 자멸 유도체가 된다. TNF- $\alpha$ 가 DR의 발현을 유도하여 세포 사멸을 유도하는 것으로 추정하고 있다<sup>23)</sup>. 본 연구에서 증가된 TNF- $\alpha$ 가 DR4의 증가에 관여하였는지, 이렇게 생성된 DR4가 세포 자멸의 결과를 유발하는 경로로 이용되었는지 추후 보완적 연구가 필요할 것으로 판단된다.

종양이 아니면서 TRAIL 수용체의 발현이 높게 관찰되는 질환이 보고되었는데, Ichikawa 등<sup>28)</sup>은 류마치스성 관절염에서 DR5의 발현이 높게 관찰된다고 보고하였다. 최근 DR4의 유전자 변이가 발견되고 이것이 종양 유발 요인이 될 수 있을 것이라는 흥미로운 보고도 있다<sup>29)</sup>.

FPIES는 신생아 혹은 어린 영아기에 설사, 구토 등 위장관 증

상과 성장 장애로 발현하는 질환이다. 초기 증상이 신생아 패혈증과 유사하여 감별이 쉽지 않으며, 조기에 의심하여 단백질수분해물 등 적절한 치료적 접근이 이루어 지지 않으면 쉽게 위험에 빠지는 질환으로 알려져 있다<sup>1-3, 14)</sup>. 향후 식품 알레르기 질환 중 비-IgE 매개형으로 발병하는 FPIES의 예방과 치료를 위하여 병리적 특성에 관한 세포 자멸사의 구체적인 경로 등 추가적인 연구가 필요할 것으로 판단된다.

**요 약**

**목적:** 용모 위축을 보이는 FPIES 환자의 소장 점막에는 TNF- $\alpha$ 의 발현이 증가한다. TNF- $\alpha$ 는 상피 세포의 세포 자멸사를 유발하는 것으로 알려져 있다. 저자들은 FPIES 병리생리의 특성을 알아 보고자 십이지장 점막 조직에서 TNF family와 TNF-수용체 family의 세포 자멸사를 연구하였다.

**방법:** 표준화된 경구 유발 시험을 통하여 FPIES로 진단된 15례의 환자와 5례의 대조군을 대상으로 연구하였다. 세포 자멸사를 확인하기 위하여 terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end-labeling (TUNEL) 염색을 시행하였다. 세포 자멸의 기전을 알아 보기 위해 TNF family의 TNF- $\alpha$ , Fas ligand (FasL)와 TNF-수용체 family의 TNF-related apoptosis-including ligand (TRAIL) receptor 1 (DR4), TRAIL receptor 2 (DR5), Fas를 면역조직화학으로 염색하였다.

**결과:** TUNEL<sup>+</sup> 세포는 대조군에 비하여 FPIES 환자군의 십이지장 점막에서 의미 있게 높게 발현하였다( $P=0.043$ ). TNF- $\alpha$  ( $P=0.0001$ )와 DR4 ( $P=0.003$ )도 대조군에 비하여 FPIES 군에서 의미 있게 높게 발현하였다. FasL, Fas, DR5의 발현은 두 군 모두에서 낮았으며, 두 군간에 의미 있는 차이를 보이지도 않았다.

**결론:** FPIES의 병리생리는 세포 자멸사에 의하여 발생하며, TNF- $\alpha$ 의 발현과 DR4 경로가 세포 자멸사에서 중요한 역할을 하는 것으로 추정된다.

**References**

- 1) Nowak-Wegrzyn A, Muraro A. Food protein-induced enterocolitis syndrome. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009;9:371-7.
- 2) Hwang JB, Lee SH, Kang YN, Kim SP, Suh SI, Kam S. Indexes of suspicion of typical cow's milk protein-induced enterocolitis. *J Korean Med Sci* 2007;22:993-7.
- 3) Hwang JB, Sohn SM, Kim AS. Prospective follow-up oral food challenge in food protein-induced enterocolitis syndrome. *Arch Dis Child* 2009;94:425-8.
- 4) Walker WA. Absorption of protein and protein fragments in the developing intestine: role in immunologic/allergic reactions. *Pediatrics* 1985;75:167-71.
- 5) Powell GK, McDonald PJ, VanSickle GJ, Goldblum RM. Absorption of food protein antigen in infants with food protein-

- induced enterocolitis. *Dig Dis Sci* 1989;34:781-8.
- 6) Heyman M, Darmon N, Dupon C, Dugas B, Hirribaren A, Blaton MA, et al. Mononuclear cells from infants allergic to cow's milk secrete tumor necrosis factor  $\alpha$ , altering intestinal function. *Gastroenterology* 1994;106:1514-23.
  - 7) Benlounes N, Candalh C, Matarazzo P, Dupont C, Heyman M. The time-course of milk antigen-induced TNF- $\alpha$  secretion differs according to the clinical symptoms in children with cow's milk allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:863-9.
  - 8) Rodriguez P, Heyman M, Candalh C, Blaton MA, Bouchaud C. Tumor necrosis factor- $\alpha$  induces morphological and functional alterations of intestinal HT29 cl.19A cell monolayers. *Cytokine* 1995;7:441-8.
  - 9) Chung HL, Hwang JB, Park JJ, Kim SG. Expression of transforming growth factor  $\beta$ 1, transforming growth factor type I and II receptors, and TNF- $\alpha$  in the mucosa of the small intestine in infants with food protein-induced enterocolitis syndrome. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:150-4.
  - 10) Augustin MT, Kokkonen J, Karttunen TJ. Evidence for increased apoptosis of duodenal intraepithelial lymphocytes in cow's milk sensitive enteropathy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2005;40:352-8.
  - 11) Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Parroni R, Muzi P, D'Alo S, Ventura T, et al. Increased enterocyte apoptosis and Fas-Fas ligand system in celiac disease. *Am J Clin Pathol* 2001;115:494-503.
  - 12) Zeissig S, Bojarski C, Buerger N, Mankertz J, Zeitz M, Fromm M, et al. Downregulation of epithelial apoptosis and barrier repair in active Crohn's disease by tumour necrosis factor alpha antibody treatment. *Gut* 2004;53:1295-302.
  - 13) Hanada S, Harada M, Koga H, Kawaguchi T, Taniguchi E, Kumashiro R, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  and interferon- $\gamma$  directly impair epithelial barrier function in cultured mouse cholangiocytes. *Liver Int* 2003;23:3-11.
  - 14) Hwang JB, Song JY, Kang YN, Kim SP, Suh SI, Kam S, et al. The significance of gastric juice analysis for a positive challenge by a standard oral challenge test in typical cow's milk protein-induced enterocolitis. *J Korean Med Sci* 2008;23:251-5.
  - 15) Solarewicz-Madejek K, Basinski TM, Cramer R, Akdis M, Akkaya A, Blaser K, et al. T cells and eosinophils in bronchial smooth muscle cell death in asthma. *Clin Exp Allergy* 2009;39:845-55.
  - 16) Moss SF, Attia L, Scholes JV, Walters JR, Holt PR. Increased small intestinal apoptosis in coeliac disease. *Gut* 1996;39:811-7.
  - 17) Ciccocioppo R, D'Alo S, Di Sabatino A, Parroni R, Rossi M, Doglioni C, et al. Mechanisms of villous atrophy in autoimmune enteropathy and coeliac disease. *Clin Exp Immunol* 2002;128:88-93.
  - 18) Wang J, Fu YX. Tumor necrosis factor family members and inflammatory bowel disease. *Immunol Rev* 2005;204:144-55.
  - 19) Basinski TM, Holzmann D, Eiwegger T, Zimmermann M, Klunker S, Meyer N, et al. Dual nature of T cell-epithelium interaction in chronic rhinosinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:74-80.
  - 20) Trautmann A, Akdis M, Kleemann D, Altnauer F, Simon HU, Graeve T, et al. T cell-mediated Fas-induced keratinocyte apoptosis plays a key pathogenetic role in eczematous dermatitis. *J Clin Invest* 2000;106:25-35.
  - 21) Begue B, Wajant H, Bambou JC, Dubuquoy L, Siegmund D, Beaulieu JF, et al. Implication of TNF-related apoptosis-inducing ligand in inflammatory intestinal epithelial lesions. *Gastroenterology* 2006;130:1962-74.
  - 22) Janssen EM, Droin NM, Lemmens EE, Pinkoski MJ, Bensinger SJ, Ehst BD, et al. CD4+ T-cell help controls CD8+ T-cell memory via TRAIL-mediated activation-induced cell death. *Nature* 2005;434:88-93.
  - 23) Schaefer U, Voloshanenko O, Willen D, Walczak H. TRAIL: a multifunctional cytokine. *Front Biosci* 2007;12:3813-24.
  - 24) Daigle I, Simon HU. Alternative functions for TRAIL receptors in eosinophils and neutrophils. *Swiss Med Wkly* 2001;131:231-7.
  - 25) Robertson NM, Zangrilli JG, Steplewski A, Hastie A, Lindemeyer RG, Planeta MA, et al. Differential expression of TRAIL and TRAIL receptors in allergic asthmatics following segmental antigen challenge: evidence for a role of TRAIL in eosinophil survival. *J Immunol* 2002;169:5986-96.
  - 26) Mitsuyama H, Matsuyama W, Watanabe M, Shirahama Y, Higashimoto I, Wada T, et al. Increased expression of TRAIL receptor 3 on eosinophils in Churg-Strauss syndrome. *Arthritis Rheum* 2007;56:662-73.
  - 27) Sträter J, Walczak H, Pukrop T, Von Müller L, Hasel C, Kornmann M, et al. TRAIL and its receptors in the colonic epithelium: a putative role in the defense of viral infections. *Gastroenterology* 2002;122:659-66.
  - 28) Ichikawa K, Liu W, Fleck M, Zhang H, Zhao L, Ohtsuka T, et al. TRAIL-R2 (DR5) mediates apoptosis of synovial fibroblasts in rheumatoid arthritis. *J Immunol* 2003;171:1061-9.
  - 29) Chen B, Liu S, Wang XL, Xu W, Li Y, Zhao WH, et al. TRAIL-R1 polymorphisms and cancer susceptibility: an evidence-based meta-analysis. *Eur J Cancer* 2009;45:2598-605.