

IL-10 deficient mice 동물모델에서  $\beta$ -glucan의 면역조절기능에 미치는 영향  
 건국대학교 생명과학부<sup>1</sup>, 강원대학교 BT특성화 대학<sup>2</sup>  
 안치선<sup>1</sup>, 김해란<sup>1</sup>, 전윤희<sup>1</sup>, 김종대<sup>2</sup>, 임병우<sup>1\*</sup>

### Immunoregulatory effects of $\beta$ -glucan in IL-10 deficient mice

*College of Biomedical & Health Science, Department of Life Science, Konkuk University, Chungju, Korea<sup>1</sup>.*

*School of Bioscience and Biotechnology, Kangwon National University, Chuncheon, Korea<sup>2</sup>.*

*Chi-sun An<sup>1</sup>, Hai-Lan Jin<sup>1</sup>, Yoon-Hee Jeon<sup>1</sup>, Jong-Dai Kim<sup>2</sup>, Beong-Ou Lim<sup>1\*</sup>*

### 실험목적 (Objectives)

염증성 장질환(Inflammatory Bowel Disease, IBD)은 궤양성 대장염과 크론병을 포함하는 만성 장내 염증질환으로서, 특정한 병인없이 소화기계에 반복적으로 재발되는 염증과 관련이 있으며, 장강(腸腔)의 항체에 의한 세포벽의 장애나 대장 상피세포의 병원체 및 장내 세균총의 비정상적인 면역반응 등에 의해 촉진되어 소화기계에 염증이 발생하는 것을 의미한다. 발병 원인 및 치료에 있어 중요한 면역학적 요인으로는 선천적 면역성, 사이토카인(cytokine)의 생성, CD4<sup>+</sup>의 활성화 등이 포함된다. 사이토카인은 염증 및 면역반응 조절에 영향을 주는 중요한 요인으로써, IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-10은 궤양성 대장염 및 크론병에서의 염증 시작, 조절기능에 있어 중요한 요인들이다. IL-10은 대식세포와 Th1세포의 강력한 억제자이다. IL-10유전자 knockout 생쥐는 나이가 들에 따라 빈혈, 만성 염증성 장질환이 발병된다.  $\beta$ -glucan은 면역활성체의 기능, 생체조직 재생과 치유기능, 항바이러스 및 대식세포를 자극하여 돌연변이 세포를 인식하고 공격하는 항종양 효과가 있다고 보고되고 있다. 본 연구에서는  $\beta$ -glucan으로부터 IL-10 deficient mice에서의 면역조절 효과를 검토하였다.

### 재료 및 방법 (Materials and Methods)

#### ○ 실험재료

BALb/c계 20g 내외의 6주령 흰쥐를 오리엔트 바이오사(성남, 한국)에서 구입, C3Bir.129P2 (B6)-I10<sup>tm1cgn</sup>/Lt계 Interleukin-10 deficient mice를 18g 내외의 6주령 쥐를 The Jackson Laboratory(California, USA)에서 구입하여 사료와 물을 충분히 공급하면서 1주일간 SPF (Serological Pathogen Free) 실험환경(온도 20-25 $^{\circ}$ C, 습도 55-65%, 명암주기 12시간으로 자동조절)에서 적응시킨 다음 실험에 착수하였다.  $\beta$ -glucan은 SIGMA, USA에서 구입 후 DW를 이용하여 sample 만든 후 경구투여 하였다.

실험군은 평균체중이 유사하도록 난괴법에 의해 그룹당 5마리씩 3개군으로 나누어, 정상대조군(BALb/c mice, Normal), IL-10 KO 대조군(Interleukin-10 deficient mice,

Control), IL-10 KO에  $\beta$ -glucan을 경구투여로 4주간 투여한 군(Interleukin-10 deficient mice +  $\beta$ -glucan)으로 분류한 다음 4주간 사육하였다.

○ 실험방법

6주령 IL-10 deficient mice에게  $\beta$ -glucan을 체중(kg)당 50mg으로 4주간 경구투여하였다. 실험 사육이 끝난 후에는 실험쥐를 12시간 절식시키고, 안와동맥에서 전혈을 채취한 후 원심분리기를 이용하여 상등액으로부터 혈청을 분리하였다. 장은 소장, 대장으로 나누어 길이를 측정하였고, FACS staining 또한 하였다. 떼어낸 조직 spleen(비장)과 liver(간)는 액체 질소로 급냉하여 실험 전까지 -70℃에 보관하면서 사용하였다.

ELISA assay으로 Immunoglobulin A, E의 농도를 측정하였다. 조직은 Bio protein assay로 단백질 정량 후 Western blotting 방법으로 분석하였다.

**실험결과 (Results)**

염증성 장질환에서 면역기능을 조절하는데 있어 T cell의 균형을 유지하는 것은 매우 중요하다. 염증 반응에 중요한 역할을 하는 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  그리고 IL-6의 발현이 대조군에서 증가를 하였고,  $\beta$ -glucan군에서 유의적으로 감소하였다. Th1 cell의 경우 IFN- $\gamma$ 와 IL-2를 분비한다. IFN- $\gamma$ , STAT1, pSTAT1 그리고 T-bet의 발현을 확인한 결과 대조군에서 높은 발현을  $\beta$ -glucan군에서 낮은 발현을 나타내었고, Th2 cell 분화와 면역억제 반응에 관여하는 IL-4, STAT6, pSTAT6 그리고 GATA-3의 발현을 본 결과  $\beta$ -glucan군에서 대조군에 비해 낮은 발현을 보였다. 혈청 중 IgA와 IgE농도가  $\beta$ -glucan군에서 감소를 시킴으로서 장조직 손상의 회복과 항염증 기전에 작용한 것으로 사료된다. 이상의 결과를 통해  $\beta$ -glucan이 IL-10 deficient mice의 Th1/Th2 면역반응을 통하여 면역조절기능에 효과적인 도움을 줄 것으로 사료된다.

\* 시험성적

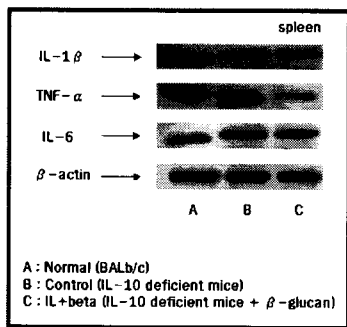


Fig. 1 Expression of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  and IL-6 protein was determined by western blotting.

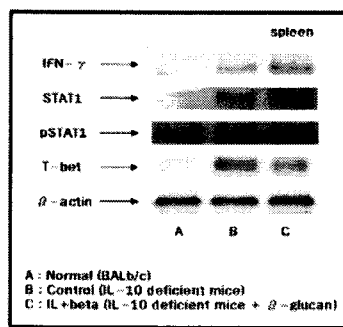


Fig. 2 Expression of IFN- $\gamma$ , STAT1, pSTAT1 and T-bet protein was determined by western blotting.

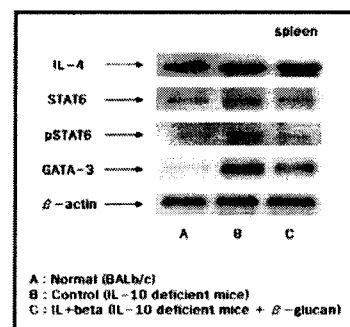


Fig. 3 Expression of IL-4, STAT6, pSTAT6 and GATA-3 protein was determined by western blotting.

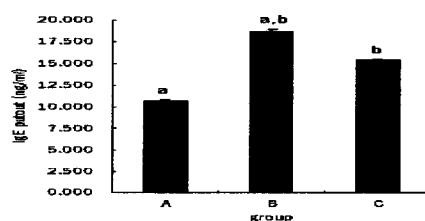
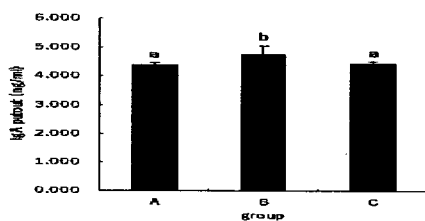


Fig. 4 Effect of  $\beta$ -glucan on the immunoglobulin A and E production in serum.