

염증부위의 백혈구유주

정 운 익

세균 바이러스 원충 등의 병원체가 생체내에 침입하면 그 부위에 inflammation이 생긴다. 동시에 혈관속에서 흐르고 있는 백혈구가 inflammation site에 집결하는 생체방어반응이 나타난다. 백혈구에는 lymphocyte, monocyte, neutrophil, basophil, eosinophil 그리고 macrophage 등의 세포들이 있는데 염증부위에 이들 모든 세포들이 집결하는 것은 아니다. 또 염증의 종류에 따라 모이는 백혈구의 종류도 다르고 또 염증부위의 시간경과에 따라 침윤되는 백혈구 종류도 다르다. 이런 차이점이 어떠한 mechanism으로 나타나는 것일까? 그리고 혈관내를 맹렬한 속도로 흐르고 있는 백혈구가 어떻게 해서 inflammation site를 인지하고 또 급속하게 정지하고 혈관벽에 부착되어 내피세포를 통과한 후 inflammation site에 모이게 되는가? 이런 의문은 최근의 molecular pathology 연구발전으로 거의 해명하게 되었다.

여기 Kyoa Hakko Institute의 Nishi가 J. Bioscience and Biotechnology, 33, 1995에 발표한 Leukocyte Move into Inflamed Tissues 논문을 간추려서 알기쉽게 해설하고자 한다.

1. 백혈구 혈관외유주의 4 stage

백혈구가 inflammation site에 있는 소동맥과 모세혈관에서 혈관 밖으로 나가는 것이 아니고 모세혈관에 이어지는 세정맥(endothelial venule)에서 빠져나간다는 것이 확실해졌다. 백혈구가 이 venule를 빠져나가는 process는 그림 1에서 보는 바와 같이 1) rolling, 2) leukocyte activation, 3) firm adhesion, 4) transendothelial migration의 네가지 stage로 구분할 수 있다.

1) Rolling

백혈구는 혈관내를 빠른 속도로 흘러가면서 모세혈관을 지나간 다음, 세정맥(endothelial venule)의 내벽을 굴러가다가 종말에는 정지한다. 이런 현상을 백

혈구의 rolling 현상이라고 부르며 혈관내를 맹렬한 속도로 흘러가는 백혈구에 brake를 거는 process를 말한다.

이 rolling은 selectin이라는 당결합성 단백질과 특수한 sugar chain의 결합으로 이루어지는 것이다. 맹렬한 속도로 이동하는 백혈구가 inflammation site에서 급히 정지하는 기전은 이 selectin과 sugar chain의 결합에 있는 것이다. 실제로 백혈구는 혈관내피세포에 붙어있기도 하고 또한 떨어져 나가는 것을(접착과 이탈) 자유자재로 하면서 혈관내벽을 굴러간다. 이 접착의 on-off에는 selectin과 sugar chain과의 가벼운 결합이라는 현상때문에 일어나는 것이다. 이 selectin에는 현재까지 E-, P-, L-, 각 selectin의 3종이 발견되었으며 E-는 혈관내피세포(endothelial cell), P-는 혈소판(platelet), L-는 백혈구에서 생성하고 있는 selectin이다. P-selectin은 혈소판 뿐만아니라 혈관내피세포에서도 생성되는 것이다.

※미원축산과학연구소

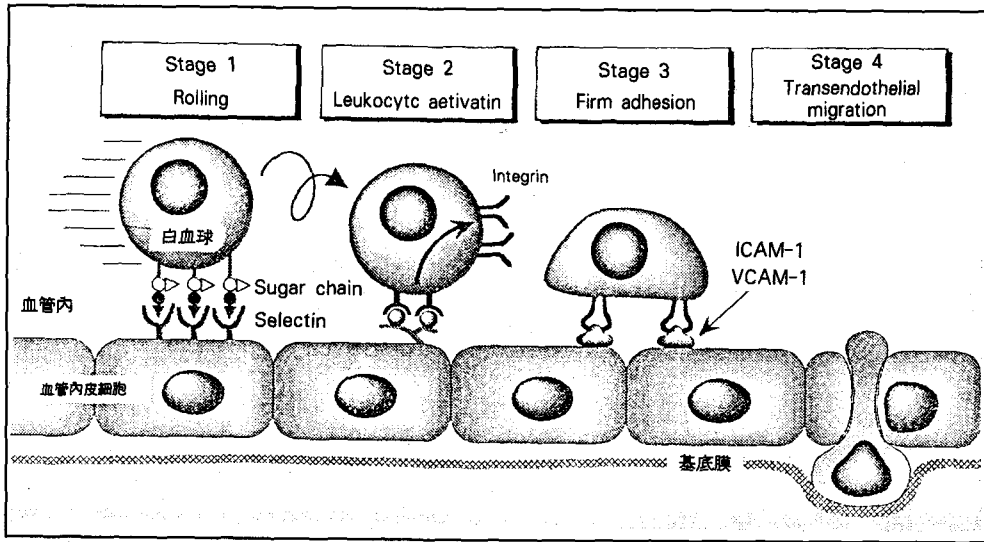


그림 1. 백혈구 혈관의 유주의 4 stage.

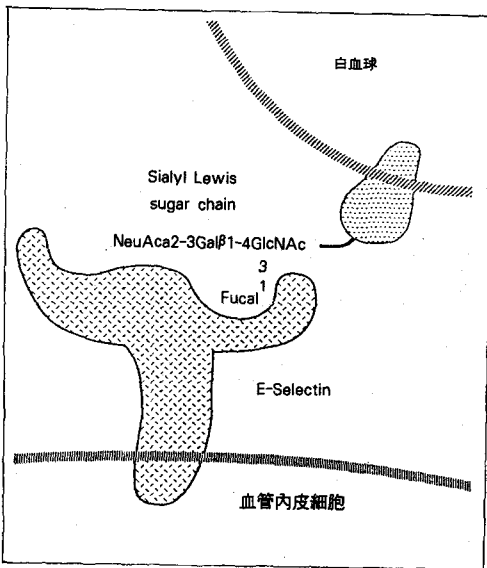


그림 2. Sialyl Lex sugar chain과 E-selectin 결합으로 인한 백혈구와 혈관내피세포의 접촉.

그림 2는 혈관내피세포에 생성하는 E-selectin과 백혈구 표면에 있는 ligand인 sialyl-Lex(Lewis X) sugar chain과의 결합을 나타낸 것이다.

Rolling은 이 결합이외에 혈관내피세포 표면의 P-selectin과 백혈구 sugar chain ligand(sialyl LeX)의 결합으로서도 일어날 수 있다. L-selectin의 sugar chain ligand는 E-selectin의 ligand와는 다른 것으로 생각되며,

이 구조물은 sialy Lex에 유사한 황산화된 sugar chain으로 추정하고 있다. 그리고 lymphocyte에 관해서는 inflammation site 이외에 lymphnode 등의 임파계 조직에서도 혈관으로 migration하는데 여기서도 L-selectin과 Phosphorylation된 sugar chain과의 결합된 rolling 현상이 일어나고 있음이 확인되었다(lymphocyte homing mechanism).

2) Leukocyte activation

Selectin과 sugar chain의 결합으로 인해 혈관내벽에 붙어있는 백혈구는 혈관내피세포 표면에 존재하는 chemokine인 cytokine의 일종인 IL-1, gro, MCP-1(monocyte chemoattractant protein), MIP-1β (Macrophage inflammatory protein) 등에 의해 활성화된다.

이 stage를 leukocyte activation이라고 부르며 백혈구와 혈관내피세포와 견고한 접촉이 일어나게 하는데 있어 필수적인 process이다. 백혈구가 selectin과 sugar chain의 결합으로 혈관내벽에 부착되었어도 이 활성화 자극을 받지 않으면 혈관내벽에 밀착되지 못하고 혈류속으로 떨어져 나간다.

실제로 rolling한 백혈구가 일시적으로 혈관내벽에 부착하였다가 다시 떨어져 나가는 현상이 자주 관찰된다. 그러므로 백혈구와 혈관내피세포가 서로 견고하게 밀착되어 있으려면 이 leukocyte이 activation이

필요한 것이다. 이 견고한 *attachement*는 백혈구 표면에 있는 *integrin*이라는 접착인자가 활성화 자극을 받고 접착기능을 발휘하여야만 된다.

이 *integrin* 분자의 *activation*은 혈관벽에 부착한 백혈구가 *platelet activation factor*, *leukotrien*, 보체성분 *C5a* 등의 자극을 받았을 때에도 일어날 수 있다.

3) Firm adhesion

Activation 자극을 받은 백혈구는 혈관내벽에 있는 내피세포에 견고하게 밀착한다. 이 *stage*를 점착 (*firm adhesion*)이라고 부른다. 이 *adhesion*은 백혈구 표면의 *integrin* 분자와 혈관내피세포 표면의 *ICAM-1* (*intercellular adhesion molecule*) 또는 *VCAM-1* (*vascular cell adhesion molecule*)라는 접착인자와의 결합으로 이루어지는 것이다(그림 1). 앞서 기술한 바와 같이 *leukocyte activation*에 의해 *integrin*이 접착기능을 발휘하여야만 *firm adhesion*이 일어난다. 이 *integrin*은 20종류 이상의 분자가 발견되었는데 이중 백혈구의 혈관의 *migration*에 관계되는 것으로 *LFA-1* (*lymphocyte function-associated antigen*), *Mac-1*, *VAL-4* (*very late activation antigen*) 등의 분자가 있다. *LFA-1*와 *Mac-1* 결합상대자는 *ICAM-1*이고 *VLA-4*의 결합상대자는 *VACM-1*인 것이다.

4) Transendothelial migration

혈관내피세포에 견고하게 밀착되어 있는 백혈구는 그 형태를 *hand mirror* 모양으로 변형하면서 내피세포를 통과하여 혈관 밖으로 빠져나간다(그림 1). 이 *stage*를 혈관내피세포 통과(*transendothelial migration*)라고 부른다.

과거에는 백혈구가 일시적으로 열려있는 혈관내피세포 사이를 통과하고 있다고 생각하였다. 그러나 전자현미경 관찰에서 백혈구는 혈관내피세포 자체 한 가운데를 뚫고 나가는 사실을 발견하였다.

백혈구가 혈관내피세포를 관통하는 방식은 백혈구가 내피세포의 원형질의 일부를 밀어제쳐 내피세포막이 기저막(*base membrane*)의 세포막과 접촉되었을 때 일시적으로 구멍이 생겨 백혈구가 혈관밖으로 빠져나가는 것이다. 이 네번째 *stage*인 *transendothelial migration*의 *molecular mechanism*은 아직 명확하지

않다. 현재까지 알려진 바로는 백혈구의 *CD31*이라는 접착분자가 내피세포의 *CD31*과 접착함으로써 이루어지는 것이라는 보고가 있다.

혈관 밖으로 빠져나간 백혈구는 혈관내피세포와 기저막의 사이에서 잠시 머물게 된다. 이곳에 머무는 동안 백혈구는 *collagenase* 등의 *protease*를 분비하여 기저막을 분해하고 혈관 밖으로 나가 종말을 *inflammation site*에 도달하게 된다.

2. 백혈구의 *inflammation site* 인지

기본적으로 백혈구는 림프계조직 이외의 정상조직에서는 혈관 밖으로 빠져나가는 일은 없다. 예외로 *eosinophil*이나 *macrophage*계 백혈구는 정상조직의 혈관에서도 유주하여 나가는 것이 증명되었지만 그 *mechanism*은 아직 모르고 있다. 그러면 정상조직과 염증조직 사이에는 어떠한 다른점이 있는가?

*Inflammation*이 생기면 *TNF- α* (*tumor necrotic factor*), *IL-1*, 같은 염증성 *cytokine*이 생성된다. 이와같은 *cytokine*은 앞서 기술한 백혈구의 혈관의 유주할 때의 제 1, 2, 3 *stage* 때에 중요한 역할을 하는 각종의 *molecule*의 백혈구에서 생성되게끔 유도하는 것이다. 즉, 염증조직에는 백혈구를 혈관의 유주시키는 *chemokine molecule*이 있는데 정상조직에서는 없는 것이다. 따라서 백혈구는 *inflammation* 부위의 혈관 내피세포에 선택적으로 생성되어 나온 *molecule*과 상호작용함으로써 비로서 염증부위를 인지할 수 있게 되는 것이다.

구체적으로 각 *stage*별로 분석하여 보면 제 1 *stage*에서는 *selectin* 또는 *selectin ligand*가 염증자극에 의해서 나타난다. *E-selectin*은 *TNF- α* , *IL-1*의 자극으로 또 *P-selectin*은 염증 *mediator*인 *histamin*과 *thrombin* 등의 자극으로 혈관내피세포 표면에 나타난다. 또한 *L-selectin*의 *ligand*는 *TNF- α* , *IL-4*의 자극으로 혈관내피세포 표면에 생성되는 것이 증명되었다.

제 2 *stage*에서는 *TNF- α* , *IL-1* 자극으로 *IL-8*, *MCP-1* 등의 *chemokine*이 혈관내피세포에서 생성되고 있다. 또 백혈구를 *activation*시키는 *platelet activation factor*도 염증반응에 의해 생긴 *histamin*과 *thrombin*의 자

극에 의해서 혈관내피세포에서 생성되고 있다. 이 인자도 혈관내피세포에 있으므로 염증부위 특이분자라고 할 수 있다.

제 3 stage의 firm adhesion에 관여하는 LFA-1와 VLA-4 등의 integrin 분자는 백혈구에 항상 발현되고 있다. 한편 LFA-1의 결합상대자인 ICAM-1은 염증 자극이 없을 때라도 어느 정도의 양은 혈관내피세포에 있으나 TNF- α 와 IL-1 자극으로 그 양이 증가한다. 또 VFA-1의 상대인 VCAM-1도 TNF- α , IL-1, IL-4 자극으로 유도합성된다. 이와같이 백혈구의 혈관의 유주에 관계하는 molecule 대부분이 염증부위의 혈관내피세포에서 선택적으로 생성되고 있다.

3. 특성의 백혈구가 집결하는 이유

세균감염이 일어나는 급성염증에는 neutrophil이 많이 나타난다. Atopic asthma 환자의 respiratory tissue에는 eosinophil이 많이 모인다. Inflammation site에 모인 lymphocyte를 검사하여 보면 특성의 T lymphocyte가 선택적으로 모여있다. 이와같이 염증의 종류에 따라서 모이는 백혈구의 종류도 다르다. 이런 선택성은 무엇에 의해 결정되는 것인가?

이 선택성의 결정에 관계하는 것이 백혈구 혈관의 유주의 네가지 stage중 제 1, 2, 3 stage의 세가지 stage에 있다. 이제까지 설명한 바와 같이 각 stage별 반응에 관여하는 molecule은 여러가지가 있다.

예를들어 stage 1에 관여한 selectin은 3종류이고, stage 3에 관여하는 integrin은 적어도 4종류 이상 존재하고 있음이 증명되었다. 또한 leukocyte activation

을 지닌 chemokine이 12종 있음도 알게 되었으며 이것들 대부분이 stage 2에 관여하는 것이다. 편의상 각 stage를 A, B, C라고 부르고 혈관내피세포에 발현하는 selectin molecule 종류에 번호를 붙여서 구별하도록 한다면 stage 1에 관여하는 분자에는 A1, A2, A3이 되고, 백혈구에 발현하는 결합상대분자는 각각 a1, a2, a3이 된다(그림 3).

그림 3에서는 혈관내피세포 표면에 A2, B1, C3가 발현한 예를 표시하였는데 이런 염증부위의 혈관내피세포에 firm adhesion 될 수 있는 백혈구는 그림 3에서 보는 바와 같이 a2, b1, c3가 발현되고 있는 백혈구 X이다. a2, b2, c1을 발현하고 있는 백혈구 Y는 혈관내벽을 굴러다닐 수 있으나 leukocyte activation이 일어나지 않았기 때문에 혈관내벽에 붙어있지 못하고 떨어져 나가 다시 혈류속에서 순환하게 된다. 즉, 이 세가지 stage중 어느 한가지 stage가 없어도 백혈구는 혈관 밖으로 나갈 수가 없다. Stage 1, 2, 3에 관계되는 molecule의 번호는 순번대로 정리해놓고 보면 진화번호의 국번과 같이 됨으로 area code model라고 부른다. 그림 3의 염증부위의 area code는 213이며 여기에는 a2, b1, c3 molecule을 지니고 있는 백혈구만이 모이게 되는 것이다. 그러나 접착분자 결합의 특이성과 chemokine 응답의 특이성은 A1 : a1이라는 1 : 1 방식의 엄밀한 대응관계만 있는 것은 아니다. 실제로 더 복잡하게 나타나는 경우도 있다. 예를 들어 integrin LFA-1는 ICAM-1과 ICAM-2에 결합될 수 있으며 한편 ICAM-1에 있어서는 LFA-1에도 Mac-1에도 결합이 가능한 것이다. 또 어느 특성의 한 chemokine receptor에는 여러가지 chemokine과 동시에 반응하고 있기도 한다. 따라서 엄밀히 말해서 어느 염증부위는 특성의 area code를 지니고 있어, 이 code에 대응되는 백혈구만 집결한다는 해석은 더욱 연구할 과제인 것이다.

4. 염증의 시간경과에 따른 백혈구 종류의 출현차이

일반적으로 염증이 일어나면 neutrophil이 초기에 나타나고 monocyte나 lymphocyte는 후기에 나타나고 있다. 기니피크의 respiratory tract에 allergy성 염증이 생기면 eosinophil이 6시간과 24시간째를 peak로 하는

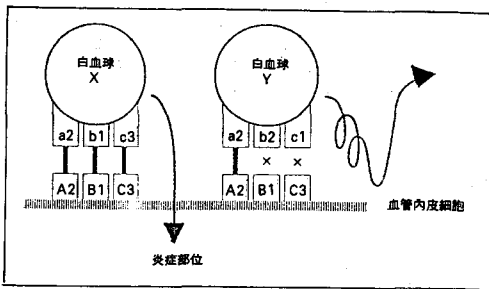


그림 3. 특정백혈구가 염증부위에 집결하는 기전을 설명하는 area code model.

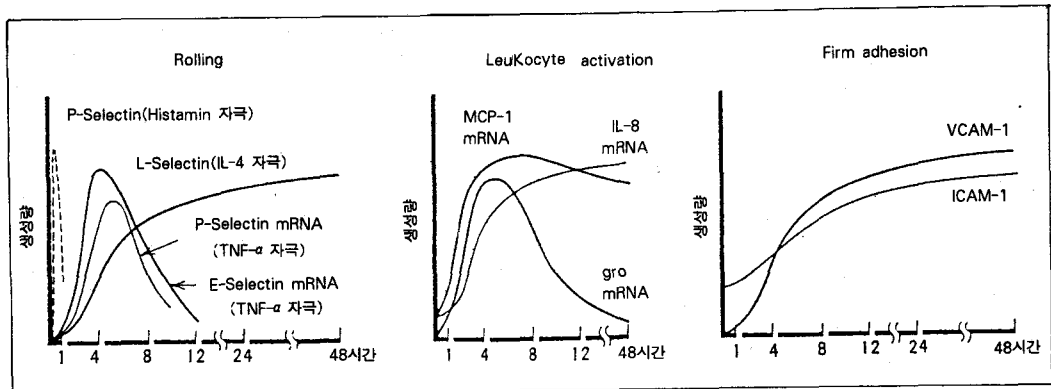


그림 4. 백혈구의 염증부위 침윤을 유도하는 molecule 생성의 시간적 변동.

Two phase pattern으로 염증부위에 모인다. 특성의 백혈구가 염증부위에 모이는 기전을 앞서 설명한 대로 이지만 염증의 시간경과에 따라 집결하는 백혈구의 종류가 다르게 나타나는 기전은 무엇인가?

이 이유는 그림 4에서 보는 바와 같이 염증자극에 따라 생성유도되는 각종의 접착인자(adhesion molecule) 또는 chemokine의 출현이 시간적 변화를 일으키기 때문이다. 그림 4에서 나타낸 molecule를 생성 pattern별로 분류하여 보면 1시간 이내에 생성하는 molecule, 6시간 전후에 나타나는 molecule 그리고 day 시간단위로 생성 peak로 나타내는 molecule 등이 있다.

Neutrophil은 1시간 이내로 혈관 밖으로 나온다. 이때 stage 1의 rolling에서는 P-selectin이, stage 2의 leukocyte activation에서는 platelet activation factor 또는 leukotrien이 그리고 stage 3의 firm adhesion에서는 염증이 일어나지 않을 때에도 발현하고 있는 접착분자인 ICAM-1, ICAM-2가 neutrophil이 혈관의 유주를 촉진하고 있다. Platelet activation factor나 leukotrien의 생성은 염증자극에 의해 조기에 혈관내피 세포에서 만들어지고 있다. 그림 4에서 표시된

molecule의 생성변화에는 thrombin과 histamin의 자극에 의한 P-selectin의 생성이 minute 시간단위로 세포표면에서 생긴다. 6시간 전후를 Peak로 하는 E-selectin 분자는 neutrophil과 eosinophil의 침윤을 관계하는 것 같다.

L-selectin의 ligand나 VCAM-1 등은 day 시간단위로 생성 peak로 나타내는 분자이며 주로 lymphocyte나 monocyte 침윤에 관여하고 있다.

맺 은 말

백혈구의 혈관의 유주는 여러가지 질병의 병태형성에 관련되었으므로 그 mechanism을 분석하면 염증 발현기전을 분자병리학적으로 해석하고 질병의 병리 발생을 정확하게 파악할 수 있을 것이다.

본고에서 소개한 여러종류의 molecule이 백혈구의 혈관의 유주현상에 관여하고 있으므로 target 분자를 선택하여 질병치료 예방에 응용할 수 있는 연구가 더욱 진행될 것이다.