

# Interleukin-10의 기도 과민반응억제와 항염효과

한양대학교 의과대학 소아과학교실

오 재 원

## Interleukin-10 Reverse Allergen-Induced Airway Hyperreactivity and Inflammation

Jae Won Oh, M.D.

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

### 서 론

현재까지 알레르기 면역반응은 Th1과 Th2의 균형에 의해 그 기전을 설명하고자 하였다. 그러나 최근 Th2 세포에서 IL-4, IL-5 외에도 TGF-β, IL-10 등과 같은 알레르기를 억제하는 사이토카인이 동시에 분비됨으로 해서 Th1과 Th2 균형에 의해 알레르기 기전을 설명되는 것이 어렵게 되었다. 최근 일련의 보고된 연구에서 IL-10의 항염 효과에 대한 역할은 IL-10 결핍 백서 실험에서 정상적인 장내 세균에 의해서도 위장염이 발병된다고 보고된 이후<sup>1)</sup> IL-10과 IL-4를 생성하는 Th2 세포에 의해 myelin basic protein (MBP)이나 단백 지질에 의하여 유발되는 실험적 알레르기 뇌척수염(experimental allergic encephalomyelitis)을 억제한다는 연구가 보고되었고<sup>2)</sup>, 여러 동물 실험에서 Th2 세포에서 분비되는 TGF-β도 기도 과민 반응을 억제하는 효과가 있다고 보고되었다<sup>3)</sup>. 이와 같은 이유로 IL-10이나 TGF-β 등 항염 효과를 나타내는 T 세포를 Th3 또는 Tr-1 세포로 분류하게 되었다 (Table 1).

### IL-10의 항염 및 항알레르기 기전

기본적으로 염증 반응에 관여하는 사이토카인(IL-1, TNF-α, IL-6)을 억제하거나 Th2 세포 분비 사이토카인(IL-4, IL-5) 등의 생산을 억제할 뿐 아니라 chemokine 생성에도 관여하는데 기도 평활근세포에서

IL-8, regulated on activation, normal T cell expressed and secreted(RANTES)의 생성을 억제하고 혈관 평활근 증식을 억제하며<sup>4)</sup>, IL-10은 대식세포에서 inducible nitric oxide synthase(iNOS)와 inducible cyclooxygenase(COX-2) 등 염증과 관계되는 효소의 표현을 억제하기도 한다<sup>5)</sup>(Table 1). 이 IL-10의 T 세포활동을 억제하는 중요한 기전은 대식세포와 같은 antigen presenting cell에서 MHC exocytosis와 recycling을 저지함으로써 MHC II 표현을 억제하고, CD28과 CD80, CD86과의 상호작용을 저지함으로써 T 세포의 활성화를 감소시키며, B7-1, B7-2, IgE 수용체 등의 표현을 억제함으로써 단핵세포나 수지세포에서 효과적으로 알레르겐이 표현되는 것을 저지할 수 있다<sup>6)</sup>. 한편 B세포에 의한 면역글로불린을 IgG4로 switching하여 상대적으로 IgE의 생성을 억제하기도 하며 호산구 생존을 감소시키며 알레르기 염증반응부위로 호산구 이동을 저지시킨다<sup>7)</sup>(Fig. 1, Table 2).

### 기관지 천식과 IL-10

실제 임상적으로 기관지 천식을 앓고 있는 환자에

**Table 1.** Cytokine Secretion Profiles of Different Th cell Populations

Cell population	Cytokine profile
Th1	IL-2, IFN-γ, TNF-α
Th2	IL-4, IL-5, IL-6, IL-10
Th3	IL-4, IL-10, TGF-β 1
Tr-1	IL-5, IL-10

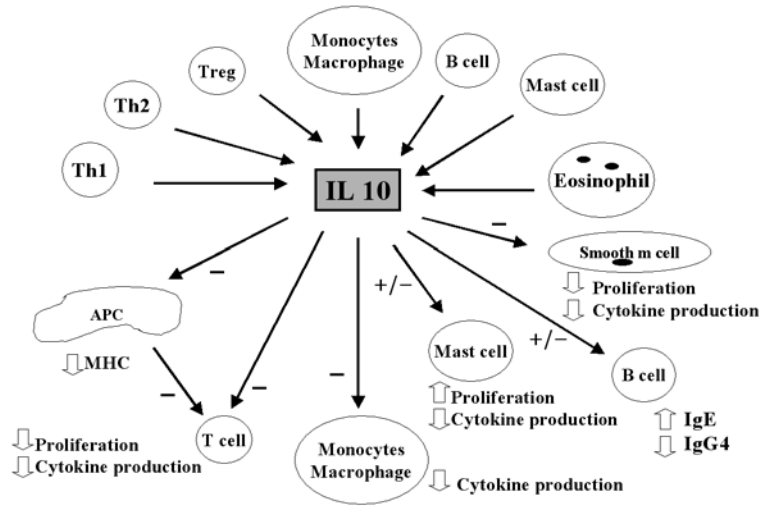


Fig 1. Potential actions of IL-10 in allergic inflammation.

서 IL-10의 분비가 감소되어 있다고 보고되고 있다. 기관지 천식 환자의 기도폐포액에서 IL-10의 농도가 정상인에 비해 의미있게 감소되어 있으며, 유도 객담에서도 IL-10을 나타내는 대식세포의 수가 현격히 감소되어 있음이 보고되었다<sup>8)</sup>. 한편 이러한 IL-10 생성의 결손은 천식환자의 기도에 염증을 악화시키고 연장하는 결과를 초래할 수 있다. 한편 인플루엔자 A 바이러스 감염 후 정상인에 비해 알레르기 천식환자의 말초혈액에서 IL-10 생성이 감소되었다는 보고되어<sup>9)</sup>, 이는 알레르기 환자가 항염 반응에 대한 능력에 결손이 있음을 시사하고 있다(Table 3).

**IL-10의 기도 과민반응과 염증반응 억제 효과 증명**

Regulatory cytokine인 IL-10이 기도 과민반응과 염증 반응을 과연 억제할 것인가? 이 질문을 밝히기 위하여 여러 실험적 연구가 진행되어 왔는데, 알레르기 환자에서 IL-10 유전자의 전사과정의 결함과 연관이 있는 것으로 보고함으로써 알레르기 환자에서 IL-10 생성의 결함이 알레르기 과민반응에 절대적인 영향을 미치는 것으로 보고되었다.

그러나 알레르기 치료에 응용하기 위한 동물실험을 통하여 IL-10을 체내에 투여한 연구들에서는 기도 과민반응에 관하여 서로 상반된 결과를 보이고 있어 아직 논란의 여지가 많이 남아있다. 백서실험에서 IL-10이 부착된 adenovirus를 주입하거나 제조합된 IL-

Table 2. Multiple Anti-inflammatory and Immunosuppressive Effects of IL-10

Reduced expression of inflammatory genes
Proinflammatory cytokines : TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, GM-CSF
Chemokines : RANTES, MIP-1 $\alpha$ , IL-8
Inflammatory enzymes : iNOS, COX-2
Inhibition of allergen-induced responses
Decreased MHC Class II expression
Decreased expression of costimulatory molecules B7-1, B7-2
Decreased CD23 expression
Other effects
Decreased eosinophil survival
Increased expression of IL-1 receptor antagonist
Increased expression of tissue inhibitors of metalloproteinases
Decreased expression of IL-1 receptor

10을 정맥 주사하거나 IL-10 knock out 백서를 이용하여 제조합 IL-10을 투여한 연구에서 폐기능 검사와 기도 폐포액과 조직검사 결과 기도 과민반응과 염증반응이 동시에 억제됨을 보고한 반면<sup>10)</sup>, 일부 연구에서는 IL-10(-/-) 백서를 이용하거나 제조합된 IL-10을 비강 내로 투여하면 염증반응의 감소는 보이나 기도 과민반응은 증가된다고 상반된 결과를 보고하면서 IL-10이 만성 호흡기질환에서 감소되는 경향이 있으나, IL-10이 직접 기도 과민반응을 억제하는 데는 직접 관여하지 않는다고 보고하였다<sup>11)</sup>. 이와 같이 상반된 결과는 IL-10을 체내에 전달하는 방법과 농도에

**Table 3.** Biological Functions of IL-10 Compatible with its Anti-allergic Activity

*In vitro*

1. Inhibition of IL-5 productin by resting T cells and by Th0 and Th2 clones
2. Downregulation of the expression of co-stimulatory molecules on APC
3. Inhibition of IL-3 and GM-CSF synthesisi and release from inflammatory cells
4. Inhibition of IgE-dependent stimulation of mast cells and keratinocytes
5. Decrease in LPS-and CD40-mediated eosinophil survival

*In vivo*(Animal models)

1. Suppression of antigen-induced eosinophilia and IL-5 release in the lung and the peritoneal cavity of immunized mice
2. Enhancement of allergic lung eosinophilia after IL-10 neutralization
3. Intensification of airway inflammation and local IL-5 release during allergic bronchopulmonary aspergillosis in IL-10 gene knock out mice

*In vivo*(humans)

1. Decrease in the levels of proinflammatory cytokines in the plasma and inhibition of theri release from activated monocytes after systemic IL-10
2. Improvement of clinical parameters and local inflammation by subcutaneously injected IL-10 during psoriasis

따라 변할 수 있고 또한 연구대상의 동물의 상태에 따라 다르게 나타날 수 있다고 사료된다.

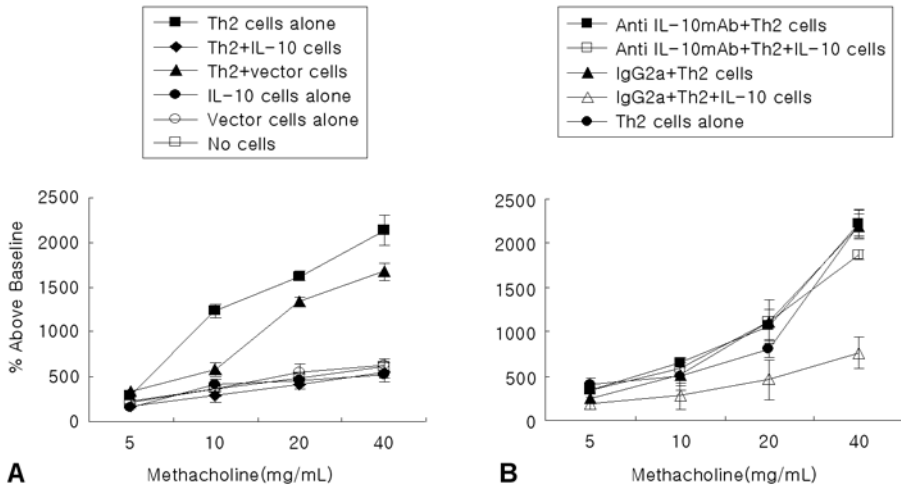
항원 특이 T 세포는 알레르기면역 질환의 병인에 매우 밀접한 관계가 있으며 특히 항원 특이 CD4+ 세포가 아토피성 개체의 폐나 피부 등 특정 조직에 homing한다는 것이 보고되어 왔는데, 이는 역으로 retrovirus 등의 전달체를 이용하여 특정 단백을 특정 조직에 전달하는데 좋은 방법으로 이용될 수 있다는 것을 의미한다. 이에 근거하여 특정 사이토카인을 체내에 투여하여 자가면역질환을 억제하는 긍정적인 결과를 보여왔으나 이들 사이토카인이 체내에 비특이적인 부작용을 유발함으로써 치료제로서의 전신적 사이토카인의 투여는 제한되어 왔다. 그 후 자가면역질환, 종양, 알레르기 등 여러 면역질환의 분야에서 치료 역할을 하는 단백질을 체내에 필요한 조직에 전달하는 방법에 대해 여러 연구가 진행되어 왔다. 이중 조절 유전자를 표현하기 위하여 retrovirus를 이용하여 T 세포에 전이시키는 방법이 이들 단백질을 필요한 체내 조직에 전달하는데 적절한 방법으로 보고되었다<sup>12)</sup>.

이러한 유전자 조작법을 이용하여 IL-10을 체내에 전달하는 방법으로 IL-10 유전자가 붙은 plasmid에 retroviral producer package cell을 감염시킨 후 이를 CD4+ T 세포에 전이시켜 사용함으로써 cytokine의 전달체로서 T 세포를 이용하여 폐 조직에서 인식할 수 있도록 하였다. 일반적인 CD4+ T 세포에 retrovirus를 감염시키는 것은 매우 어렵고, retrovirus

전이를 시행하기는 더욱 어려우나 pGCIREs vector를 이용하여 TCR Tg 백서(TCR transgenic mice)로부터 얻어진 항원 특이 CD4 T 세포에 좀 더 강력하고 효과적인 retrovirus를 전이시킬 수 있다. Retrovirus에 의해 전이된 T 세포를 골라내기 위해서 이전에는 drug-resistance, antibiotic-resistance 방법을 이용하여 전이된 T 세포를 선택하였으나, 이 방법으로는 다양한 치료 단백질의 최적의 용량을 얻기가 불가능하였다. 이 문제점을 해결하기 위해 marker protein인 녹색 형광 단백질(GFP)이나 황색 형광 단백질(YFP)을 이용하여 retrovirus 전이된 T 세포를 안정적으로 구별하게 된다<sup>13)</sup>.

본 저자는 이번 연수에서 ovalbumin(OVA) 특이 Th2 세포를 갖은 중증면역결핍 백서모델에 IL-10 전이된 CD4+ T 세포를 정주하여 IL-10의 기도 과민 반응을 억제하고 항염 작용을 나타내는가를 관찰하였다. 이 연구에서는 IL-10은 T세포뿐만 아니라 여러 세포에서 생성되고 세포에 따라 기능이 다양하므로 다른 세포를 제외한 Th 세포에서의 IL-10의 역할에 대해서만 초점을 맞췄다. Th2 세포 자체에서도 IL-10을 분비하므로 백서에 IL-10세포를 주사하기 전에 Th2 세포의 IL-10 농도를 측정하여 IL-10 전이 세포의 기능에 영향을 미치는 지를 관찰하였다.

연구 대상으로 모든 세포가 배제된 중증면역결핍 백서를 채택하여 아토피성 기도 과민반응을 형성하기 위하여 Th2 세포를 정주하고 난 후 IL-10 전이 Th



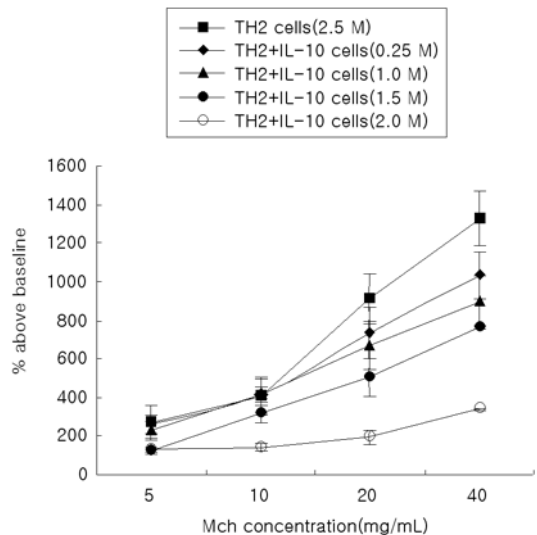
**Fig. 2. A)** IL-10 transduced cells inhibit Th2-induced airway hyperreactivity in SCID mice. SCID mice received OVA specific Th2( $2.5 \times 10^6$  cells/mouse), IL-10 transduced cells ( $2.0 \times 10^6$  cells/mouse), or vector cells intravenously plus intranasal OVA 950) 18 hours before cell transfer. **B)** Anti IL-10 mAb abolishes the inhibitory effect of IL-10 transduced cells on Th2 cell-induced airway hyperreactivity. Neutralizing mAb specific for active IL-10 was given intraperitoneally to SCID mice that received either a mixture of IL-10 transduced cells and Th2 cells intravenously or Th2 cells alone intravenously plus intranasal OVA on the day of cell transfer. Results are provided as mean percent above baseline( $\pm$ SD).

세포만을 투여하였다.

### 1. IL-10 전이 CD4+ 세포의 기도 과민반응 억제

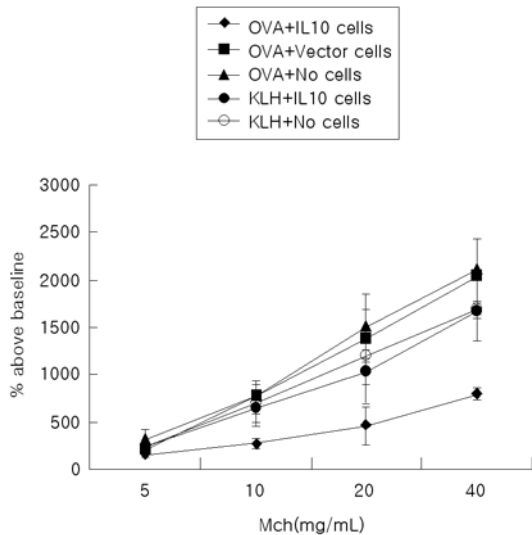
기도 과민반응과 염증반응을 유도하기 위해 배양된 OVA 특이 Th2 세포를 중증면역결핍(SCID) 백서에 정주하여 기도 과민반응을 유도하였으며, 이 기도 과민반응이 IL-10 전이 Th 세포에 의해 억제되는 지를 관찰하였고, 대상 백서 수는 각 대상군당 12마리였다. Fig. 2A에서 보는 바와 같이 배양된 OVA 특이 Th2 세포를 전이 받은 백서군과 YFP+ CD4 세포와 배양된 OVA 특이 Th2 세포를 동시에 전이 받은 백서군에서는 정상 대조군에 비해 의미있게 증가되었다. 반면 IL-10 전이 Th세포와 배양된 OVA특이 Th2 세포를 동시에 전이 받은 백서군이 정상 대조군과 유사하게 감소되었다. Fig. 3에서 보는 바와 같이 OVA 특이 Th2 세포에 의해 유발된 기도과민반응의 억제는 IL-10 전이 Th 세포의 농도에 비례하였으며, 마리당 세포수가  $2.0 \times 10^6$ 개에서 의미있게 기도 과민반응을 억제하였다.

한편 IL-10에 의해 억제된 기도과민반응의 억제가 IL-10에 특이성이 있는 지를 밝히기 위하여 항 IL-10 단클론항체를 주입한 결과 억제된 기도과민반응이 복



**Fig. 3.** Dose-dependent inhibition of Th2 induced airway hyperreactivity by IL-10 transduced cells. The optimal concentration of IL-10 transduced cells is  $2.0 \times 10^6$  cells/mouse. Results are expressed as mean percent above baseline( $\pm$ SD)(Th2 n=9;  $0.25 \times 10^6$  IL-10 cells n=4,  $1.0 \times 10^6$  IL-10 cells n=5,  $1.5 \times 10^6$  IL-10 cells n=6,  $2.0 \times 10^6$  IL-10 cells n=8).

원됨을 증명하였다. 이는 호흡기에서의 IL-10의 효과가 IL-10 분비에 의존하는 것을 증명하였고, Th2 세



**Fig. 4.** To examine the specificity of the effect, some mice were immunized with KLH or OVA. One and 2 days after the adoptive cell transfer, OVA or KLH was again administered Intranasally. Three days after adoptive cell transfer, airway hyperreactivity in response to increasing concentrations of inhaled methacholine was measured in a whole-body plethysmograph. Data are expressed as mean percent above baseline(± SD).

포의 기능을 약화시킨다는 것을 입증한다(Fig. 2B).

## 2. OVA에 면역된 Bal b/c 백서에서 IL-10 전이 Th 세포의 기도 과민반응 억제효과

중증 면역결핍백서를 이용하여 OVA 특이 Th2 세포를 전이 받은 중증면역결핍 백서에서 IL-10 전이 Th 세포의 역할은 증명되었으나, 정상 백서군에서도 OVA 특이 IL-10 전이 Th 세포가 기도 과민반응을 억제하는 지가 의문이었다. 다음 단계로 정상 Balb/c 백서를 OVA이나 비특이 단백질 keyhole limpet hemocyanin(KLH)로 자극하여 기도 과민반응을 유도한 다음 이들에 OVA 특이 IL-10 전이 Th 세포를 정주하여 기도 과민반응을 측정하였으며 각 대상군의 수는 10마리였다. 그 결과 ovalbumin에 자극된 정상 BAL B/c 백서와 KLH에 자극된 BAL B/c 백서에 IL-10 전이 Th 세포를 주입한 결과 OVA에 자극된 백서의 기도과민반응을 억제시키는 반면, KLH에 자극된 백서에서는 기도과민반응을 억제시키지 않았다. 이는 IL-10 전이 Th 세포가 항원 특이(antigen specific) Th2 세포의 기능을 억제할 뿐 아니라 기도과민반응의 유발을 억제할 수 있음을 시사하고 있다

(Fig. 4)<sup>14)</sup>.

## 결론

IL-10은 알레르기 반응에 관련된 대부분 세포에서 항원 특이 활성을 억제시키며, 전식의 실험적 연구에서 폐와 같은 염증부위에서 호산구 등의 염증세포의 이동을 저지하는 역할을 하며, 외부에서 실험적으로 IL-10을 체내에 주입하였을 경우 기도 과민 반응과 알레르기 염증반응을 억제하는 효과가 있어 미래에 알레르기 치료에 중요한 역할을 할 수 있음을 제시하고 있다.

## 참고 문헌

- 1) Groux H, O'Garra A, Bigler M, Rouleau S, Antonenko J, de Vries E, et al. A CD4+ T cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature* 1997;389:737-42.
- 2) Lafaille JJ, Keere FV, Hsu AL, Baron JL, Haas W, Raine CS, et al. Myelin basic protein-specific T helper 2(Th2) cells hosts rather than protect them from the diseases. *J Exp Med* 1997;186:307-12.
- 3) Hansen G, McIntire JJ, Yeung VP, Berry GG, Thorbecke J, Chen L, et al. D4+ T helper cells engineered to produce latent TGF-β1 reverse allergen induced airway hyperreactivity and inflammation. *J Clin Invest* 2000;105:61-70.
- 4) Berkman N, John M, Roesens G, Jose PJ, Barnes PJ, Chung KF. Inhibition of induced expression of macrophage inflammatory protein-1α in human blood monocytes and alveolar macrophages by interleukin-10: differential sensitivities in human blood monocytes and alveolar macrophages. *J Immunol* 1995;155:4412-8.
- 5) Niiro H, Otsuka T, Tanabe. Inhibition by interleukin-10 of inducible cyclooxygenase expression in lipopolysaccharide stimulated monocytes: its underlying mechanism in comparison with interleukin-4. *Blood* 1995;85:3736-45.
- 6) Borish L. IL-10: Evolving concepts. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:293-7.
- 7) Takanashi S, Nonaka R, Xing Z, O'Byrne P, Dolovich J, Jordana M. Interleukin-10 inhibits lipopolysaccharide-induced survival and cytokine production by human peripheral blood eosinophils. *J Exp Med* 1994;180:711-5.
- 8) Takanashi S, Hasegawa Y, Kanehira Y. Interleu-

- kin-10 level in sputum is reduced in bronchial asthma, COPD and in smokers. *Eur Respir J* 1999;14:309-14.
- 9) Gentile DA, Patel A, Olliala A, Fireman P, Zeevi A, Doyle WJ, et al. Diminished IL-10 production in subjects with allergy after infection with influenza A virus. *J Allergy Clin Immunol* 1999; 103:1045-8.
  - 10) Stampfli MR, Cwiartka M, Gajewska BU, Alvarez D, Ritz SA, Inman MD, et al. Interleukin-10 gene transfer to the airway regulates allergic mucosal sensitization in mice. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999;21:586-96.
  - 11) Makela MJ, Kanehiro A, Borish L, Dakhama A, Loader J, Joetham A, et al. IL-10 is necessary for the expression of airway hyperresponsiveness but not pulmonary inflammation after allergic sensitization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97: 6007-12.
  - 12) Chen LZ, Hochwald GM, Huang C, Dakin G, Tao H, et al. Gene therapy in allergic encephalomyelitis using myelin basic protein-specific T cells engineered to express latent transforming growth factor- $\beta$ 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:12516-22.
  - 13) Costa GL, Benson JM, Seroogy CM, Achacoso P, Fathman CG, Nolan GP. Targeting rare populations of murine antigen-specific T lymphocytes by retroviral transduction for potential application in gene therapy for autoimmune disease. *J Immunol* 2000;164:3581-90.
  - 14) Oh JW, Seroogy CM, EH Meyer, G Berry, Costa G, CG Fathman, Dekruyff RH, Umetsu DT. CD4+ T helper cells engineered to produce IL-10 reverse allergen-induced airway hyperreactivity and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2002(in press).
-