

B세포의 증식에 있어 B-1 임파구와 B-2 임파구의 차이점에 대한 연구

¹경희대학교 의과대학 이비인후과학교실, ²가톨릭대학교 의과대학 산부인과학교실,
³보스톤대학교 의과대학 면역생물학교실

여승근¹ · 조중생¹ · 박동춘² · Thomas L. Rothstein³

B-1 Cells Differ from Conventional B (B-2) Cells: Difference in Proliferation

Seung Geun Yeo¹, Joong Saeng Cho¹, Dong Choon Park² and Thomas L Rothstein³

¹Department of Otolaryngology, College of Medicine, Kyung Hee University, Seoul, Korea, ²Department of Obstetric and Gynecology, College of Medicine, Catholic University, Samwon, Korea, ³Department of Medicine, School of Medicine and Immunobiology Unit, Evans Memorial Department of Clinical Research, Medical Center, Boston University, USA

ABSTRACT

Background: B-1 cells differ from conventional B-2 cells both phenotypically and functionally. The aim of this study was to investigate the difference between peritoneal B-1 cells and splenic B-2 cells in proliferation. **Methods:** We obtained sorted B-1 cells from peritoneal fluid and B-2 cells from spleens of mice. During the culture of these cells, immunoglobulin secreted into the culture supernatants was evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay. Entering of S phase in response to LPS-stimuli was measured by proliferative assay. **Results:** Spontaneous Immunoglobulin M production occurred in peritoneal B-1 cells but not in splenic B-2 cells. LPS stimulated peritoneal B-1 cells secreted IgM at day 1, but splenic B-2 cells at day 2. In thymidine incorporation, peritoneal B-1 cells entered actively S phase after 24hours LPS-stimulation but splenic B-2 cells entered actively S phase after 48 hours. **Conclusion:** IgM secretion and S phase entering occurred early in peritoneal B-1 cells compared to splenic B-2 cells. (**Immune Network 2004;4(3):155-160**)

Key Words: Peritoneal B-1 cell, splenic B-2 cell, immunoglobulin · proliferation

서 론

항원인식, 항원 표현, 항체생산, 면역조절 등의 몇 가지 중요한 기능을 하는 B세포는 IgM과 IgD 수용체와 CD19, CD20 그리고 CD21 표면 인식자 등을 가지고 있다. 이런 B세포 중 CD5라는 pan-T 세포 표면 당단백질을 표현하는 기존에 알려진 B세포와는 다른 특징을 가진 B-1세포가 존재한다. 즉, B세포는 CD5양성인 B-1세포와 CD5음성인 B-2세포로 나누는데, B-1세포는 B임파구의

한 아형으로 CD5 이외에 sIgM^{high}, sIgD^{high}, B220^{high}, CD23^{high}, CD43^{high}의 표현형을 나타내며 어린 쥐에서 주로 복강 및 흉강에서 많이 존재하는 반면 비장에서는 아주 적은 비율로 존재하고 임파선과 말초혈액에서는 존재하지 않는 것으로 알려져 있다(1-3). 또한 B-1세포는 B-2세포와는 달리 IgM을 자발적으로 분비하여 자연면역에 기여할 뿐 아니라 종종 자가항원과 반응하여 일부 자가면역질환이나 만성임파구성 백혈병에서 의미 있게 증가함으로써 최근 들어 이에 대한 많은 연구가 이루어지고 있는 실정이다. 하지만 국내에서는 정상인의 혈액 내에서 CD5양성 B세포의 존재와 몇 가지 질환에서 CD5양성인 B세포가 증가하였다는 보고 이외에는 B-1과 B-2 세포에 대하여 아직까지 체계적인 연구가 없는 실정이다(4-7).

책임저자 : 박동춘, 가톨릭대학교 의과대학 성빈센트병원 산부인과
☎ 442-060, 수원시 팔달구 지동 93번지
Tel: 031-249-7114, Fax: 031-254-7481
E-mail: dcpark@catholic.ac.kr

이에 저자들은 B-1 세포와 B-2세포의 차이점을 알고 자 복강의 체액과 비장을 채취하여 두 세포를 분리한 후의 증식상에 차이점을 비교·관찰하였다.

재료 및 방법

B-1세포와 B-2세포의 분리. 8~14개월 된 수컷 BALB/cByJ 생쥐 20마리를 잭슨 실험실에서 구입하여 실험 1주일 전부터 실험동물건강 및 연구실 지침서에 의하여 취급하였다.

비장은 유리 슬라이드를 이용하여 조직을 부스러뜨린 후 70 μm 크기의 나일론 그물(mesh)에 통과시켜 결체 조직을 제거하였으며, 복강의 체액은 200 μl heparin sulfate를 첨가한 배지(10 ml Fetal Bovine Serum+5 ml PO4+500 ml HBSS+10 mL Hepes; 이하 HBSS/2%FBS)를 18 G주사기를 이용하여 복강 내 주입한 후 족부를 잡고 여러 차례 흔든 후 조심스레 복부를 들어 올리면서 주사기로 흡입하여 얻었다. 채취한 비장과 복강의 표본을 1500 rpm, 4°C에서 5분간 원심분리하여 상층액을 버린 후 남은 세포무리에 적혈구 용해액(Sigma, R7757) 3 ml를 첨가하여 50 ml 튜브에 옮긴 후 실온에서 3분간 두어 적혈구를 제거하였다. 그 후 6 ml의 HBSS/2%FBS를 넣은 후 다시 원심분리 하여 상층액을 다시 버린 후 Fc-gamma 수용기를 차단할 목적으로 5 μl 의 2.4G2 mAB를 넣은 후 4°C 얼음통에서 20분간 방치하였다. B-1과 B-2의 분리를 위해 표본을 면역염색을 위한 대조군과 표본군, 두 군으로 나누었다. 면역염색을 위해 30 μl 의 표본을 얻어 96well판에 10 μl 씩 각각 넣은 후 첫번째 well에는 음성대조군을 위해 표본만을, 두 번째 well에는 1 : 500의 50 μl B220-Fitc (fluorescein isothiocyanate)를, 세번째 well에는 1 : 500의 50 μl CD5-Cychrome을 넣은 후 4°C에서 45분간 방치 하였다. 다른 한편으로 유세포 분리를 위해 5ml의 B220-FITC와 5 μl 의 CD5-Cychrome을 표본이 있는 튜브에 넣고 4°C 얼음 통에 45분간 방치하였다. 그 후 다시 원심 분리한 후 각각 5 μl 의 용액(dyeless RPMI-1640+5% FBS)을 넣어 세포분리용 튜브(snap cap tube, Falcon 2063)에 옮겨 얼음 통에 방치하였다.

비장과 복강에서 정제하여 얻은 각각의 세포는 Mo-Flo (Cytomation, USA)를 이용하여 유세포분석 및 분리를 하였다. 먼저 유세포분석은 B220-FITC를 전방 산란 신호로 삼고 CD5-Cychrome을 측면산란신호로 삼아 점 분포를 얻었다. 그 후 세포의 분포에 따라 네 가지 구획 B220+ CD5+, B220+ CD5-, B220- CD5+, B220- CD5-을 만든 후 B220양성CD5양성인 구획을 B-1세포, B220양성CD5음성인 구획을 B-2세포로 간주하여 복강 세포에서 B-1세포를 비장세포에서는 B-2세포를 분리하였다. 분리된 B-1세포와 B-2세포는 생존율, 면역글로블린 분비, 그리고 세포주기 중 합성기를 관찰하기 위하여

3개군으로 나누었다

세포생존율. 분리된 1.0×10^6 개의 B-1세포와 B-2세포를 48well판에 각각 나누어 이산화탄소 배양기에 24시간과 48시간 동안 배양한 후 Tryphan blue exclusion assay와 Propidium Iodide 염색하여 FACS를 이용하여 세포의 생존율을 구하였다.

효소면역흡착법(Enzyme-linked immunosorbent assay). B세포를 단지 media만 넣은 군(이하 media군)과 25 $\mu\text{g/ml}$ 의 지질다당류(이하 LPS)로 자극 시킨 군(이하 LPS군)으로 나누어 배양한 후 상층액을 배양 1일째와 2일째에 회수하여 실험에 사용되기 전까지 -80°C에서 냉동 보관하였다. 면역 글로블린 M항체의 양을 효소면역흡착법에 의해 다음과 같이 측정하였다. 평평한 96 well에 각각 coating buffer ($\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{NaHCO}_3 + \text{NaN}_3$)에 goat anti-mouse Ig (H+L) (Southern Biotechnology Associates, Inc., Birmingham, AL)를 1 : 400으로 혼합하여 50 μl 씩 분주하여 4°C방에서 하룻밤 방치하였다. 96well판을 6차례 세척한 후 저지항체용매를 사용하였다. 표준 곡선표를 위해 양성 대조군과 음성 대조군을 만든 후 채취한 상층액 표본을 50 μl 씩 넣고 실온에서 3시간 배양하였다. 다시 6차례 세척한 후 PBS/Tween/BSA용매에 horseradish peroxidase가 붙은 purified goat anti-mouse IgM를 넣고 실온에서 배양하였다. 6차례 세척 후 기질용액 2,2'-AZINO-Bis (Sigma-Aldrich Inc., Saint Louis, Missouri) 넣은 후 414 nm (Dyex Technologies, Chantilly, VA)에서 흡광도를 측정하였다.

B세포의 증식(Proliferative assay). 평평한 96well판 (Costar, Cambridge, MA) 에 media군과 LPS군으로 나누어 각각 3.0×10^4 개의 B세포를 군마다 4개씩 만들어 37°C, CO₂ 배양기에 24시간과 48시간 배양하였다. Tritium incorporation은 배양이 끝나기 6시간 전, 즉 18시간째와 42시간째에 0.5 μCi of [³H]thymidine (Dupont Co, NEN Research Products, Boston, MA)을 첨가하여 6시간 동안 다시 CO₂ 배양기에 배양한 후 세포주기 중 합성기로 들어가는 세포의 수를 MicroBeta Windows Workstation (1450 Microbeta; Liquid scintillation & Luminescence counter)으로 측정하였다. 결과치는 평균 분당 세포수 (cpm) 값으로 나타냈고, 4배수로 만든 각군의 값은 10% 미만의 평균값을 보였다.

통 계

통계는Mann-Whitney U test를 사용하여 비교·분석하였으며 $p < 0.05$ 에서 유의수준을 정하였다.

결 과

B-1세포가 B-2세포에 비해 생존율이 높았다. 배양 1일째 B-1세포의 생존율은 95.4% (세포apoptosis $4.6 \pm 0.8\%$,

G1 78.5±4.9%, S 1.7±0.1, G2/M 4.8±0.4) B-2세포는 82.5% (apoptosis 17.5±4.9%, G1 70.0±4.2%, S 1.8±0.2, G2/M 4.4±0.3), 배양 2일째 B-1세포의 생존율은 91.5% (apoptosis 8.5±1.5%, G1 70.0±4.2%, S 1.8±0.2, G2/M 4.4±0.3) B-2세포의 생존율은 61.5% (apoptosis 38.5±0.7%, G1 52.5±0.7%, S 1.6±0.1, G2/M 1.9±0.3)를 나타내어 B-2세포에 비해 B-1세포의 생존율이 높음을 알 수 있었다($p < 0.05$)(Fig. 1).

면역글로블린 M 생산. 복강의 B-1세포에서는 배양 2일째부터 자극 없이도 자발적인 면역 글로블린 M이 분비되었지만, 비장의 B-2세포에서는 자발적인 면역 글로블린의 분비는 없었다(Fig. 2). B-1세포에서 생산되는 면역

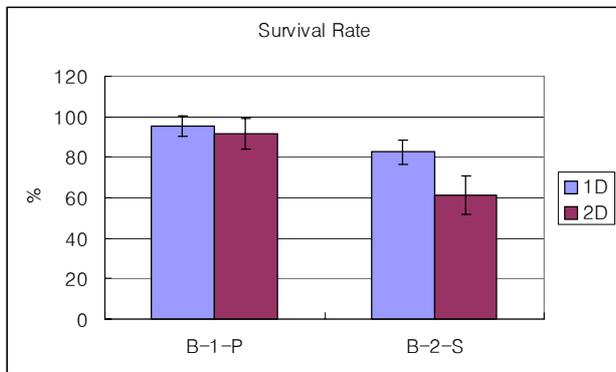


Figure 1. Survival rate of peritoneal B-1(B-1-P) and splenic B-2 (B-2-S) Cells. Survival rate of B-1 cells was 95.4%±5.1 at day 1, 91.5%±6.2 at day 2. Survival rate of B-2 cells was 82.5%±7.5, 61.5%±9.4.

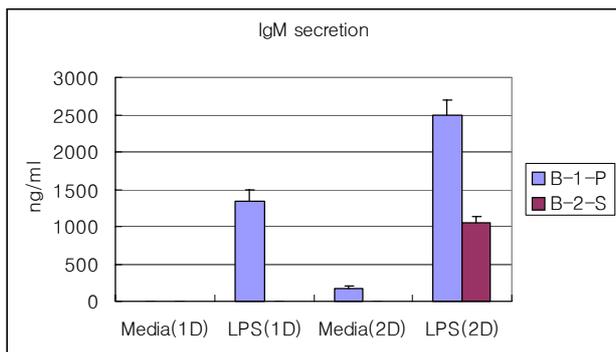


Figure 2. Immunoglobulin production by B cells. The cells (0.5×10^6 cells per each group) were cultured in fetal bovine serum-containing culture medium for 1 and 2 days. After the culture period, supernatants were collected and tested for secretion of immunoglobulin M by using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technique. Data are expressed in nanograms per milliliter of Ig produced and represent the mean±SEM of experiment. B-1 cells secreted IgM without stimulation. A significant increase in secretion of total IgM was observed at stimulated with LPS. 1D; 1 day, 2D; 2 days, LPS: lipopolysaccharide, B-1-P; peritoneal B-1 cells, B-2-S; splenic B-2 cells.

글로블린M은 1일째 media군 0 ng/ml, LPS군 1335±151 ng/ml, 2일째 media군 175±25 ng/ml, LPS군 2498±198 ng/ml, B-2세포의 경우는 2일째 LPS군 1045±95 ng/ml를 나타내어 B-2세포보다는 B-1세포에서 LPS 자극에 의한 면역글로블린 생산이 조기에 나타나고 생산량도 많음을 알 수 있었다(Fig. 2)($p < 0.05$).

B-1세포와 B-2세포의 증식률 차이. [³H]Thymidine incorporation에 의한 B세포의 분열증식은 B-1세포의 경우 자극 24시간째부터 활발하게 합성기로의 세포증식이 관찰되었지만, B-2세포의 경우는 자극 24시간째에는 별다른 변화가 없었지만 자극 48시간째에는 증식이 다소 증가함을 보여 주었다. 하지만 B-1세포보다는 합성기로의 세포 증식이 많이 떨어진 편이었다. Media군과 LPS군에서 B-1세포는 24시간째 609±59 cpm, 14643±1054 cpm, 48시간째 824±79 cpm, 13453±1054 cpm이었으며 B-2세포의 경우는 24시간째 13±5 cpm, 204±24 cpm, 48시간째는 76±8 cpm, 3185±214 cpm 값을 나타내어 B-2세포 보다는 B-1세포가 LPS 자극 시 합성기로의 세포주기

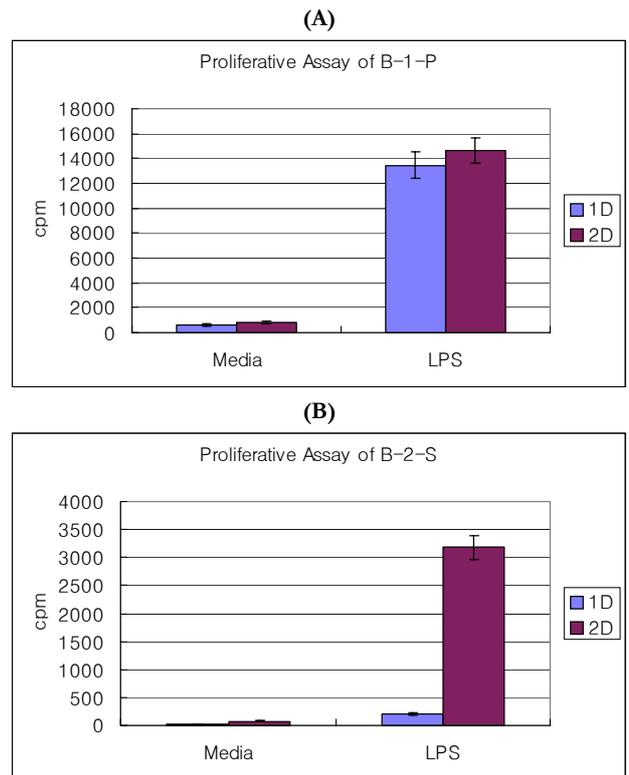


Figure 3. Stimulation of B cell S phase entry. B-1 and B-2 cells were cultured for 24 hours (A) and 48 hours(B) with either medium alone or LPS at 25µg/ml. Incorporation of label was assessed after exposure to [³H]thymidine during the last 6 hours of culture. Mean values of quadruplicate cultures are shown along with lines indicating the standard errors of the means. 1D; day 1, 2D; day 2, LPS:lipopolysaccharide, B-1-P; peritoneal B-1 cells, B-2-S; splenic B-2 cells.

변화가 활발히 일어남을 알 수 있었다(Fig. 3)($p < 0.05$).

고 찰

B세포는 B-1세포와 B-2세포로 나누어지는데 형태학적으로 B-1세포는 B-2세포에 비해 밀도는 적은 반면 크기는 다소 큰 차이점을 가지고 있다(3). B-1세포는 태아 비장 림프구의 90% 이상을 차지하지만 자라나면서 점차 감소하여 성인의 경우에는 B세포의 25~35%를 차지하고 성인 림프구의 0~6%를 차지한다(4). 동물의 경우 복강의 관류로 얻은 B세포에서 차지하는 B-1세포는 50~80% 정도이고 비장의 경우는 신생 쥐의 경우 20%, 성인 쥐의 경우 5%를 차지하고 임파선에는 거의 없는 것으로 알려져 있다(3). 자체 재생성, 자연면역, 원시면역체계 및 자가면역질환과 관련이 있다고 알려진 B-1세포는 최근 들어 많은 연구가 이루어지고 있지만, 국내에서는 혈액내 CD5 양성세포가 소아에서 $21.1 \pm 9.6\%$, 성인에서 $19.3 \pm 10.6\%$, 아테노이드와 구개편도에서 20% 내외가 존재하고, 신생아 감염, 알레르기 질환, 전신성 홍반성 낭창 환자의 혈액내에서 CD5 양성인 B세포가 증가하였다는 보고 이외에는 B-1와 B-2세포에 대하여 아직까지 체계적인 연구가 없는 실정이다(4-7).

B-1 세포는 CD5라는 범T 세포 표면당단백질이 발현되어 있는 특징을 가지고 있어 기존에 알려진 B세포, 즉 B-2 세포와는 엄연히 다른 아형이다. 따라서 본 연구에서도 B220양성이면서 CD5양성인 세포를 B-1세포로, CD5음성인 세포를 B-2세포로 간주하여 세포 분리를 시도 하였다. B-1세포의 경우 세포표면에 CD5 이외에 Ig(sIg)M^{high}, sIgD^{low}, B220^{low}, CD23^{low}, and CD43^{high}를 나타내는 반면 B-2세포는 (sIg)M^{low}, sIgD^{high}, B220^{high}, CD23^{high}, and CD43^{low}를 나타내어 세포 표현상 B-1세포와 B-2세포 사이에는 다른 표현형을 가지고 있다(1). 이런 표현형 이외에 CD5+B(B-1)세포는 B-2세포와는 다른 기능을 가지고 있다. 만성 림프구성 백혈병의 경우 그 표현형이 CD5+B(B-1) 세포형인 경우가 많으며 B-1세포가 혈액 내에 증가할 경우 저감마글로블린증을 보이고, 반대로 B-1 세포가 증가하는 가와사기병의 경우에는 B 림프구의 다클론 활성화 및 혈중 감마글로블린의 생성이 증가한다. 또한 골수이식후의 면역체계가 재구성되는 단계에서 B-1세포가 먼저 증식하며, 면역결핍 상태에서 증가하는 것으로 보아 B-1세포는 원시적인 면역체계로서 역할을 할 것으로 추정되고 있다. B-1세포가 신생아에 특히 많은 것은 면역체계의 발달 초기 단계에 생성되고 특히 신생아 감염 시 증가하는 것으로 보아 면역성이 발달하는 초기의 자연면역 상태로서 1차적인 면역기전의 하나로 생각되고 있다(1,4).

본 연구상에서 B-1세포의 생존율은 B-2세포보다 30% 정도 높은 생존율을 보였는데, 이는 두 세포간의 형태학

적 차이, 세포표면의 수용체 차이, 서로 다른 수용체로 인한 서로 다른 신호전달체계, 세포분화와 증식이 B-2세포보다는 B-1세포가 더 활발한 점 등이 생존율에 영향을 미쳤으리라 생각된다.

B세포가 T세포(8), T세포에서 생산되는 싸이토카인(9-10), 혹은 T세포 비의존성 항원에 자극을 받게 되면 증식과 분화과정을 겪고 그 과정 중 대부분의 세포는 apoptosis되고, 분화과정 뒤 최종적인 효과세포인 형질세포(plasma cell) 혹은 기억세포(memory cell)가 된다. B세포가 면역글로블린을 생산하는 혈장세포로 분화하게 되면 처음에는 면역글로블린 M과 D를 생산하며 DNA 재배치 후에 'class-switching'과정을 거쳐 면역글로블린 G, A, 혹은 E를 생산한다. 자발적인 면역글로블린 생산과 관련하여 B-1세포와 B-2세포 사이에는 서로 다른 점이 몇 가지 존재한다. 비장의 B-2세포에서는 자발적인 면역글로블린 생산은 없었던 반면 복강의 B-1세포에서는 자극없이도 Ig M생산을 관찰할 수 있었는데(Fig. 2) 이는 자연면역에 관여하는 B-1세포가 자발적으로 면역글로블린을 분비하기 때문일 것으로 생각된다. B-1세포는 IgM을 자발적으로 분비할 뿐 아니라 이들의 일부가 휴지기IgA를 분비하는 형질세포의 전구체로 장을 비롯한 점막면역에 관여하고 있다. B-1세포에서 유도된 면역글로블린은 일반적으로 B-2세포의 면역글로블린보다 germline state에 가깝기 때문에 돌연변이가 적고 nontemplated N-insertions의 길이도 짧아 종류도 제한되어 있다. B-1의 면역글로블린은 종종 특정 미생물의 세포벽 구성인자를 식별하는 것으로 알려져 있다. 이는 B-1세포가 특정한 germline에 내재되어 있거나 미생물에 의한 발병 시 발생하는 면역현상에 앞서 미생물에 대한 혈청학적 방어 단계를 제공하는 자연 항체를 생산할 수 있음을 시사한다(1). 자연 면역글로블린은 병원균의 전파를 제한시킬 수 있으며 감염된 숙주의 생존에도 큰 역할을 한다고 알려져 있다(11-13). 하지만 이런 자연 면역글로블린 생산이 복강의 B-1세포에서만 생산되고 복강 내에서만 머무는 것이 아니라 복강의 B-1세포가 세포표면의 Mac-1 표현형이 없어지면서 비장으로 이동하여 비장에서서 자연 면역글로블린M을 생산할 수도 있다. 또한 비장에서 항원에 의해 자극된 B-2세포는 B-1세포의 표현형을 갖게 되면서 복강 내로 이동할 수 있어 비장은 복강의 B-1a과 IgM 생산을 알맞게 유지시킬 수 있는 중요한 역할을 하게 된다(14).

B-1 세포가 생성하는 IgM항체는 자가항원과 반응성을 보이는 histone에 대한 항체와 같은 자연항체도 생성한다. B세포에 특이한 IgM자가항체는 자연항체로서 항체면역반응의 조절에 관여하여 여러 가지 기능을 한다. 태어나 신생아의 항체 반응은 성인과 달리 IgA, IgG 및 IgE 항체생성은 적고 주로 IgM항체를 생성한다는 것은

이러한 태아와 신생아의 항체반응과 관련이 있는지에 대하여 밝혀진 것은 없지만, 태아의 경우는 B세포의 대부분을 B-1세포가 차지하고 있다는 점에서 IgM항체반응과 B-1세포와 관련이 깊을 것으로 추정되고 있다(4). 본 연구에서 사용한 LPS는 B세포의 자극 시 주로 사용되고 있는 유사분열물질(mitogen)로 Toll-like receptor 4 신호전달체계를 통해 MyD88 (myeloid differentiation primary-response protein 88), TIRAP (Toll/interleukin-1 receptor-domain-containing adaptor protein), TRIF (TIR-domain-containing adaptor molecule inducing interferon- β), TRAM (TRIF-related adaptor molecule) 등과 같은 물질과 상호 결합한 후 nuclear factor- κ B를 활성화시켜 분자단위에서 표적인자(target genes)발현을 조절하게 된다(15,16). LPS 자극 시 B-1세포에서 면역항체 생산이 B-2세포보다 먼저 생산된 것은 생체내에서 낮은 농도이지만 LPS 자극 없이도 이미 IgM을 분비하고 있어 B-1세포에 비해 많은 자극이 필요하지 않고도 비교적 짧은 시간에 IgM생산을 시작할 수 있었다고 생각되었다.

일차 B세포는 정상적으로 세포주기 중 G0기에 머물러 있다가 B세포의 표면의 면역글로블린 수용기의 교차항원에 의해 대사변화를 일으켜 세포주기를 자극하여 S기로 들어가게 한다. 본 연구에서 비장의 B-2세포는 자극 1일째는 증식반응이 안 일어나고 48시간째 증식이 활발하게 증가함을 보였다. 하지만 복강의 B-1세포는 자극 1일째부터 활발한 세포증식을 관찰할 수 있었는데, 이는 B-1세포와 B-2세포사이에는 세포 표현형 이외에도 세포주기의 진행을 위해 명백한 다른 신호전달체계의 차이가 있음을 시사하였다. Rothsteine 등(17)의 보고에 의하면 항Ig자극시 B-1세포는 별다른 반응의 차이가 없었지만 B-2세포는 활발하게 세포주기가 진행됨을 알 수 있었는데 이는 B-2세포는 충분한 phospholipase C의 활성이 일어나는 반면 B-1세포의 경우는 충분한 phospholipase C의 활성이 안 일어나고 CD5-associated SHP-1 phosphatase에 의한 신호전달(transduction) 조절에 문제가 있기 때문이라 보았다. 하지만 phorbol ester만의 자극시 B-1세포는 thymidine incorporation에 의한 최고점은 24~30시간 후에 일어났지만 B-2 세포에서는 phorbol ester만으로는 세포증식반응이 일어나지 않았고 phorbol ester에 calcium ionophore를 같이 첨가한 상태에서 24~30시간이 아닌 54~60시간 후에 thymidine incorporation이 최고점에 다다랐다. 이러한 B-2세포의 phorbol ester자극에 반응이 미약하거나 없는 것은 cyclin D2가 생산이 안 되고, 이로 인해 cyclin D2과 cyclin D3가 cyclin dependent kinase 4/6와 복합체를 이루지 못하기 때문이라 보고하였다. 또한 Phorbol ester가 비록 B-2세포에서 cyclin D3-cdk 복합체를 만들 수 있지만 이런 복합체가 phosphorylate pRb 를 일으킬 수는 없는 것도 한 이유로 보았다(17-20).

이러한 차이점으로 인하여 다양한 물질이 B세포의 표면수용기에 자극되었을 때, 비장의 B-2세포는 phospholipase C와 CD5-associated SHP-1는 활성화되고 cyclin D2 이 생산이 안 되는 차이점으로 복강의 B-1세포와는 다른 세포증식반응을 보이게 된다. 본 연구에서 LPS자극에 의해 B-1세포가 자극 1일째부터 점차 세포증식이 활발히 일어난 반면 B-2세포에서는 자극 2일째 세포증식이 일어났다(Fig. 3). 이런 현상은 thymidine incorporation에 의한 최고점이 B-1세포에서 자극 1일째가 아니라는 점 이외에는 phorbol estere 단독 혹은 calcium ionophore 혼합 자극 시와 유사한 양상을 나타내어 비슷한 세포내 기전을 사용하리라 생각되지만 LPS자극에 의한 B-1세포와 B-2세포내 신호전달체계의 차이점은 좀 더 연구가 필요하리라 판단된다.

결론적으로 저자들은 효소 면역흡착법과 [3 H] Thymidine incorporation법으로 B-1세포와 B-2세포의 분화와 증식상의 차이점에 대해 연구한 바 B-1세포의 경우는 자발적인 면역글로블린 생산을 관찰할 수 있었고, LPS 자극 시 조기에 많은 양의 IgM을 생산하면서 활발한 세포증식이 일어남을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Rothstein TL: Cutting Edge: Commentary:Two B-1 or Not To Be One. *J of Immunology* 168;4257-4261, 2002
2. Hamilton AM, Lehuen A, Kearney JF: Immunofluorescence analysis of B-1 cell ontogeny in the mouse. *Int Immunol* 6; 355-361, 1994
3. Morris DL, Rothstein TL: Analysis of B-1 cell activation: METHODS:A Companion to Methods in Enzymology 8;11-25, 1995
4. 이우길: 신생아 감염에서 CD5+ B세포의 증가. *대한면역학회지* 19;399-406, 1997
5. 노종열, 성원진, 성명훈, 이동욱, 박범정, 박석우, 김광현: 구 개편도와 아테노이드에서 자연면역 림프구의 빈도와 분포. *한이인지* 44;1073-1079, 2001
6. 노건웅, 강영순, 문인걸, 이우길: 알레르기 질환의 말초혈액 림프구에서 CD5 mRNA 발현의 증가. *대한 면역학회지* 19;347-353, 1997
7. 박정수, 배수연, 신규태, 김도현, 남동호, 마경애, 윤정구, 장영주: 전신성 홍반성 낭창 환자의 혈액내 CD5+ B세포의 증가: 자가항체 농도와 의 비연관성. *대한 면역학회지* 22; 23-30, 2000
8. Lalmanach-Girard AC, Chiles TC, Parker DC, Rothstein TL: T cell-dependent induction of NF- κ B in B cells. *J Exp Med* 177;1215-1219, 1993
9. Ferlin WG, Severinson E, Strom L, Heath AW, Coffman RL, Ferrick DA, Howard MC: CD40 signaling induces interleukin-4 independent IgE switching in vivo. *Eur J Immunol* 26;2911-2915, 1996
10. Davey EJ, Thyberg J, Conrad D, Severinson E: Regulation of cell morphology in B lymphocytes by interleukin 4: Evidence for induced cytoskeletal changes. *J Immunol* 160; 5366-5373, 1998
11. Morris DL, Rothstein TL: Decreased surface IgM receptor mediated activation of phospholipase Cr2 in B-1 lymphocytes. *Int Immunol* 6;1011-1016, 1994
12. Sidman CL, Shultz RR, Hardy K, Hayakawa K, Herzenberg

- LA: Production of immunoglobulin isotypes by Ly-1+ B cells in viable motheaten and normal mice *Science*. 232; 1423-1425, 1986
13. Arita M, Kodama S, Suzuki M, Mogi G: Single cell analysis of adenoid CD5+B cells and their protective contributions to nasopharyngeal immunity. *Laryngoscope* 113;484-491, 2003
 14. Kawahara T, Ohdan H, Zhao G, Yang YG, Sykes M: Peritoneal cavity B cells are precursors of splenic IgM natural antibody-producing cells. *J Immunol* 171:5406-5414, 2003
 15. Richard JU: Therapeutics targeting the innate immune system. *Immunol* 4: 512-520, 2004
 16. Calame KL, Lin KI, Tunyaplin C: Regulatory mechanisms that determine the development and function of plasma cells. *Annu Rev Immunol* 21;205-230, 2003
 17. Piatelli MJ, Tanguay D, Rothstein TL, Chiles TC: Cell cycle control mechanisms in B-1 and B-2 lymphoid subsets. *Immunol Res* 27;31-52, 2003
 18. Tanguay DA, Colarusso TP, Doughty C, Pavlovic-Ewers S, Rothstein TL, Chiles TC: Cutting edge: differential signaling requirements for activation of assembled cyclin D3-cdk4 complexes in B-1 and B-2 lymphocyte subsets. *J Immunol* 166;4273-4277, 2001
 19. Tanguay DA, Colarusso TP, Pavlovic S, irigoyen M, Howard RG, Bartek J, Chiles TC, Rothstein TL: Early induction of cyclin D2 expression in phorbol ester-responsive B-1 lymphocytes. *J Exp Med*. 189;1685-1690, 1999
 20. Rothstein, TL and Kolber DL: Anti-Ig Ab inhibits the phorbol ester-induced stimulation of peritoneal B cells. *J Immunol* 141;4089-4093, 1988
-