

덱사메타손이 생쥐 B세포의 세포 표면 인식자와 분화에 미치는 영향

¹경희대학교 의과대학 이비인후과학교실, ²가톨릭대학교 의과대학 산부인과학교실

여승근¹ · 박동춘² · 차창일¹

Effect of Dexamethasone on the Surface Expression of Marker Molecules and Differentiation of Murine B Cells

Seung Geun Yeo¹, Dong Choon Park² and Chang Il Cha¹

¹Department of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery, College of Medicine, Kyung Hee University, Seoul, ²Department of Obstetric and Gynecology, College of Medicine, The Catholic University of Korea, Suwon, Korea

ABSTRACT

Background: There are at least two different subsets of B cells, B-1 and B-2. The characteristic features and function of B-2 cells in addition to the effect of steroids on B-2 cells are well-known. Although B-1 cells have different features and functions from B-2 cells, the effect of steroids on B-1 cells is not completely understood. Therefore, this study examined the effects of dexamethasone on peritoneal (or B-1 cells) and splenic B cells (or B-2 cells). **Methods:** Purified B cells were obtained from the peritoneal fluid and the spleens of mice. The isolated B cells were cultured in a medium and after adding different concentrations of dexamethasone. The cell survival rate was measured by flow cytometry using propidium iodide. The expression level of the B cell surface marker was analyzed by flow cytometry. During the culture of these cells, immunoglobulin secreted into the culture supernatants was evaluated by an enzyme-linked immunosorbent assay. **Results:** The survival rate of peritoneal and splenic B cells decreased with increasing dexamethasone concentration. However, the rate of peritoneal B cell apoptosis was lower than that of splenic B cells. CD5 and B7.1 expression in peritoneal B cells and CD23 and sIgM expression in splenic B cells after the dexamethasone treatment were reduced. When B cells were treated with dexamethasone, the spontaneous IgM secretion decreased with increasing dexamethasone concentration. **Conclusion:** Dexamethasone induces apoptosis in peritoneal and splenic B cells. However, peritoneal B cells are less sensitive to dexamethasone. The dexamethasone suppressed expression of the surface markers in peritoneal B cells is different from those in splenic B cells. (*Immune Network* 2006;6(3):138-144)

Key Words: Dexamethasone, peritoneal B cell, splenic B cell

서 론

부신피질 호르몬 중 글루코코르티코이드계에 속하는 덱사메타손은 식세포 작용과 리소좀막을 안정화시킴으

로써 항염증작용을 나타내고, 세포성 면역반응을 차단하거나 억제함으로써 면역억제작용을 한다. 대사작용으로는 단백질을 아미노산으로 분해하여 당원신생 반응을 일으키며 조직말단에서 포도당 이용이 저하되어 혈당치를 증가시키고 간에 글리코겐 저장을 증가시킨다. 지방 분해작용도 있어 과도한 투여 시에는 체내에서 비정상적인 지방 재분포 상태가 초래된다. 이외에 덱사메타손은 항류마티스, 항알레르기 작용이 있는 것으로 알려져 있다(1-4).

책임저자 : 박동춘, 가톨릭대학교 의과대학 성빈센트병원 산부인과
☎ 440-060, 경기도 수원시 팔달구 지동 93번지
Tel: 031-244-9504, Fax: 031-254-8471
E-mail: dcpark@catholic.ac.kr

림프모양 세포들에 대한 글루코코르티코이드의 영향은 매우 커서 세포주기 중 G1주기를 정지시켜 미성숙 가슴샘세포, 전-B 림프종 세포, 성숙된 말초 T림프구와 백혈구 세포 등에 계획된 세포 사멸을 유도하게 된다. 글루코코르티코이드의 생물학적 영향은 글루코코르티코이드 수용체에 의해 유전자의 전사를 조절하게 된다. 글루코코르티코이드 수용체는 스테로이드 호르몬 수용체의 한 종류이며 이외에 광물부신겔질호르몬 수용체, 프로그스테론 수용체, 안드로겐 수용체와 에스트로겐 수용체 등이 존재한다(1).

그러나 이런 여러 연구들은 B세포, 즉 거의 B-2세포로 구성되어 있는 비장, 림프절 및 혈액에 대한 것들이고 아직까지 주로 B-1세포로 구성된 복강의 B세포에서 밝혀진 바는 없다. B-1세포는 대부분 복강과 흉강에 존재하며 B-1 세포는 IgM을 자발적으로 분비할 뿐 아니라 이들의 일부가 휴지기 IgA를 분비하는 형질세포의 전구체로 장을 비롯한 점막면역에 관여하고 있다. 자연 면역 글로블린은 병원균의 전파를 제한시킬 수 있으며 감염된 숙주의 생존에도 큰 역할을 한다고 알려져 있다. B-1 세포가 생성하는 IgM항체는 자가항원과 반응성을 보이는 히스톤에 대한 항체와 같은 자연항체도 생성한다. 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-1세포의 관련이 깊을 것으로 추정되고 있다(5,6).

따라서 본 연구는 글루코코르티코이드제인 텍사메타손이 주로 B-1세포로 구성된 복강B세포의 세포 생존율, 세포 표면 표현형 그리고 자발적인 IgM생산에 미치는 영향을 알아보고, 이 결과로 기존에 알려진 B-2세포가 많은 비장의 B세포와 차이점이 있는지를 비교하고자 하였다.

재료 및 방법

대상. 8~14개월된 감염이 없는 건강한 수컷 BALB/cByJ 쥐(Orientbio, Sungnam, Korea)를 구입하여 실험 1주일 전부터 실험동물 건강 및 연구실 지침서에 의하여 취급하였다.

B세포의 정제. 복강의 체액은 Heparin을 섞은 hanks balanced salt solutions (HBSS)/2% fetal bovine serum (FBS)을 복강 내로 주입한 후 생쥐를 여러 차례 흔든 후 10 cc 주사기로 흡입하여 얻었으며, 채취한 비장은 유리슬라이드를 이용하여 부스러뜨린 후 70 μ m 크기의 나일론 그물에 통과시켜 결체 조직을 제거하였다. 그 후 각각의 표본을 1,500 rpm, 4°C에서 5분간 원심분리하여 상층액을 버린 후 남은 세포 무리에 적혈구 용해액(Sigma, MO,

USA) 3 ml를 첨가하여 50 ml 튜브에 옮긴 후 실온에서 3분간 두어 적혈구를 제거하였다. 그 후 6 ml의 HBSS/2%FBS를 넣어 원심 분리하여 상층액을 버린 후 10 ml의 HBSS/2% FBS에 12.5 μ l의 anti-Thy-1.2를 첨가하고 45분간 얼음통에 방치한 후 다시 원심분리하여 상층액을 버리고 10 ml의 HBSS/2%FBS에 500 μ l의 rabbit complement를 첨가한 후 37°C 온수에 45분간 방치하여 T림프구를 제거하였다. 대식세포를 제거하기 위하여 플라스틱 접시에 평판한 후 5% CO₂ 배양기에 배양하였으며, 적혈구와 죽은 세포 등을 제거하기 위하여 5 ml의 Lympholyte-M (Cedarlane, Ontario, Canada)을 15 ml 튜브에 넣고 정제 중에 있는 세포배지 5 ml를 아주 조심스럽게 Lympholyte-M 위에 점적한 후 1,650 rpm, 4°C에서 20분간 원심분리하여 중간층만을 취한 후 HBSS/2%FBS로 2회 세척하였다. 5% heat-inactivated fetal bovine serum (Sigma)과 10 mM Hepes (pH 7.2) (Calbiochem-Novabiochem, CA, USA), 50 μ M 2-ME (Sigma), 2 mM L-glutamine (Invitrogen Co., Tokyo, Japan), 100 U/ml penicillin, 100 μ g/ml streptomycin (Invitrogen)를 첨가한 RPMI 1,640 medium (BioWhittaker, MD, USA)에 B세포를 배양하였으며 사용된 복막과 비장의 B세포의 순도는 95% 이상을 나타냈다.

복막과 비장 B세포의 정제 후에 단독으로 또는 텍사메타손(Sigma)을 추가하여 배지에 배양하였다. 세포 생존율과 세포 표면 인식자, 효소면역흡착법(ELISA)을 통해 각각의 세포들을 비교하였다.

텍사메타손은 1 ml의 알코올과 49 ml의 phosphate buffer saline (PBS)을 섞어 20 μ g/ml의 원액을 만들었으며, 0 M, 10⁻³ M, 10⁻⁶ M, 10⁻⁹의 4가지 농도의 텍사메타손을 준비하였다.

유세포 분석(flow cytometry): 세포 표면 표현형. 생체 외 실험에서 복막세척액과 비장의 B세포에서 세포 표면 인식자의 표현 정도의 변화를 알기 위하여 유세포 분석기(Becton Dickinson Corp., Sunnyvale, CA)로 분석하였다. 96 well에 약 5만개씩의 세포를 넣고 1,500 rpm, 4°C에서 5분간 원심분리한 후 상층액을 버리고 B 림프구를 염색하기 위해 fluorescein isothiocyanate (FITC)가 결합된 단복제성의 anti-CD220 (BD Pharmingen, San Diego, CA), phycoerythrin (PE)이 결합된 단복제성의 항체인 anti-CD5, anti-Mac 1, anti-CD23, anti-CD43, anti-CD80 (B7.1), anti-CD86 (B7.2), anti-IgM 또는 anti-IgD를 넣고 4°C 냉장고에서 45분간 방치했으며 HBSS 용액을 첨가하여 원심분리한 후 250 μ l의 stain buffer를 넣어 Falcon tube에 옮겨 놓았다. 유세포 분석은 FITC를 전방 산란신호로 삼고 PE를 측면 산란신호로 삼아 점분포를 얻었다. 사용된 단복제성 항체 중 anti-CD220는 B세포, anti-CD5와 anti-Mac 1은 B-1세포, anti-CD23는 활성화된 B세포, anti-CD43은 기억세포, anti-CD80 (B7.1)와 anti-CD86 (B7.2)

는 보조자극인자(co-stimulatory factor), anti-IgM와 IgD는 B cell receptor (BCR)의 인식자로 사용하였다. 하지만 비장의 B세포에서는 대식세포에 대한 단세포군 항체가 없어 anti-Mac 1은 시행하지 않았다.

세포 생존율(survival rate). 이틀째 자극을 하거나 자극을 하지 않은 10만개씩의 복막과 비장의 B세포를 15 ml의 튜브에 각각 옮긴 후 1,500 rpm, 4°C에서 5분간 원심분리한 후 상층액을 버리고 1 ml의 PBS를 섞었다. 1,500 rpm, 4°C에서 5분간 다시 원심분리한 후 상층액을 버리고 150 μ l의 1×PBS (pH 8), 375 μ l의 FACS 완충제, 250 μ l의 RNase와 100 μ l의 0.2% Triton-X 100을 각각의 튜브에 넣어 잘 섞은 후 37°C, 5% CO₂에서 30분간 배양하였다. 100 μ l의 propidium iodide를 각각의 튜브에 넣은 후 알루미늄 박으로 잘 씌워 실온에서 30분간 방치하여 Falcon 튜브에 옮긴 후 유세포 분석기(Becton Dickinson)로 분석하였다.

효소면역흡착법(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA). 분비된 총 IgM은 효소면역측정법으로 측정하였다. 배지의 B세포와 다른 농도의 dexamethasone으로 처리한 B세포들은 배양 4일째 원심분리한 후 상층액을 모아 실험에 사용되기 전까지 -80°C에서 냉동 보관하였다. 편평한 96 well에 각각 coating buffer (1.59 g Na₂CO₃+2.93 g NaHCO₃+5% NaN₃, pH 9.6)에 goat anti-mouse Ig (H+L) (Southern Biotechnology Associates, Inc., Birmingham, AL)를 1 : 400으로 혼합하여 50 μ l씩 분주하여 4°C 방에서 하룻밤 방치하였다. 96 well을 HBSS/ 2%FBS로 6차례 세척한 후 저지항체용매를 사용하였다. 표준 곡선표를 위해 양성 대조군과 음성 대조군을 만든 후 채취한 상층액 표본을 50 μ l씩 넣고 실온에서 3시간 배양하였다. 다시 6차례 세척한 후 PBS/Tween/BSA 용매에 horseradish peroxidase가 붙은 정제된 goat anti-mouse IgM 또는 IgA를 넣고 실온에서 배양하였다. 6차례 세척 후 기질용액

2,2-azino-bis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)(ABTS) (Sigma)를 넣은 후 414 nm (Dynex Technologies, Chantilly, VA)에서 흡광도를 측정하였다.

통계처리. 실험측정치는 paired Student's *t*-test로 통계학적 분석을 시행하고 p<0.01를 유의한 수준으로 채택하였다.

결 과

복강의 B (B-1)세포가 비장의 B (B-2)세포에 비해 텍사메타손에 생존율이 높았다. 배양 2일째 텍사메타손의 농도가 0 M에서 10⁻⁹ M, 10⁻⁶ M, 10⁻³ M로 증가하면서 B-1세포의 생존율은 91±2%, 93±4%, 85±4%, 48±6%을 B-2세포의 경우는 61±3%, 58±5%, 44±4%, 13±3%를 보여 비장의 B세포보다 복강의 B세포에서 텍사메타손에 의한 세포 생존율이 높았다(Fig. 1). 그러나 텍사메타손의 농도가 0 M, 10⁻⁹ M, 10⁻⁶ M에서 10⁻³ M로 높아질 때 복강의 B세포와 비장의 B세포 모두에서 의미 있게 세포 생존율이 감소함을 알 수 있었다(p<0.01). 그러나 텍사메타손의 농도 0 M에 대한 10⁻⁹ M과 10⁻⁶ M, 10⁻⁹ M에 대한 10⁻⁶ M의 세포 생존율은 통계학적인 의미는 없었다(p>0.01).

텍사메타손에 의한 B-1세포와 B-2의 세포표면 표현형의 발현정도(expression level)가 감소하였다. 생체의 실험상 복강의 B세포에서는 텍사메타손의 농도가 0 M에서 10⁻⁹ M, 10⁻⁶ M, 10⁻³ M로 증가하면서 B220⁺CD5⁺ 세포는 56.1±5.8%, 52.8±4.2%, 45.8±2.9%, 44.3±3.2%로, B220⁺CD23⁺ 세포는 25.5±4.3%, 23.1±3.4%, 18.2±2.8%, 17.2±7.5%로, B220⁺CD80⁺ 세포는 74.0±3.1%, 72.0±3.0%, 71.4±3.6%, 60.3±2.1%로 감소하였다(Fig. 2A). 이 중 CD5⁺ 세포(0 M vs 10⁻⁶ M, p=0.003; 0 M vs 10⁻³ M, p=0.002; 10⁻⁹ M vs 10⁻⁶ M, p=0.009; 10⁻⁹ M vs 10⁻³ M, p=0.007)와 CD80⁺ 세포(0 M vs 10⁻³ M, p=0.001; 10⁻⁹

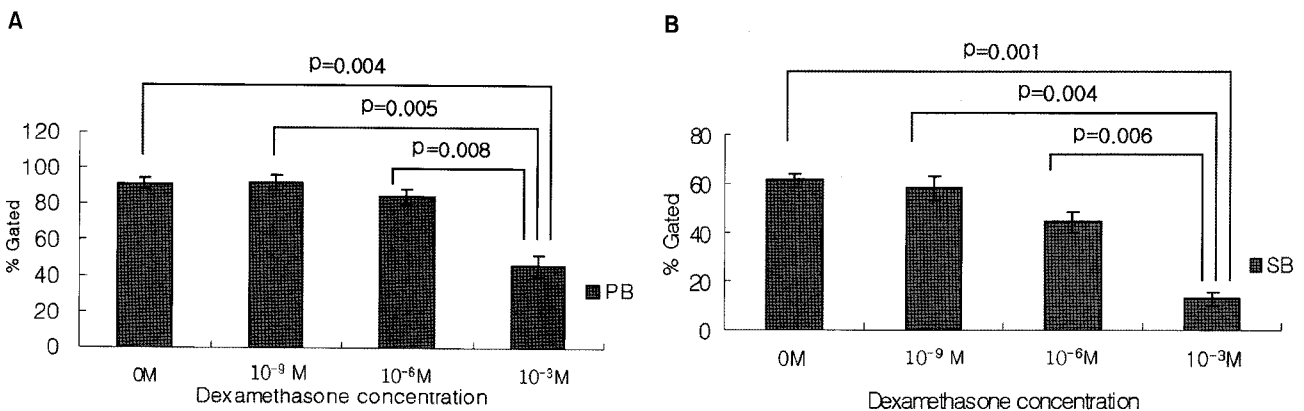


Figure 1. Survival rate of peritoneal (A) and splenic B cells (B) in the different concentration of dexamethasone. High dose dexamethasone decreased the survival rate of peritoneal and splenic B cells. They were cultured 48 hours and analysed on the FACS. Results are expressed as mean±S.E.M. PB: peritoneal B cells, SB: splenic B cells.

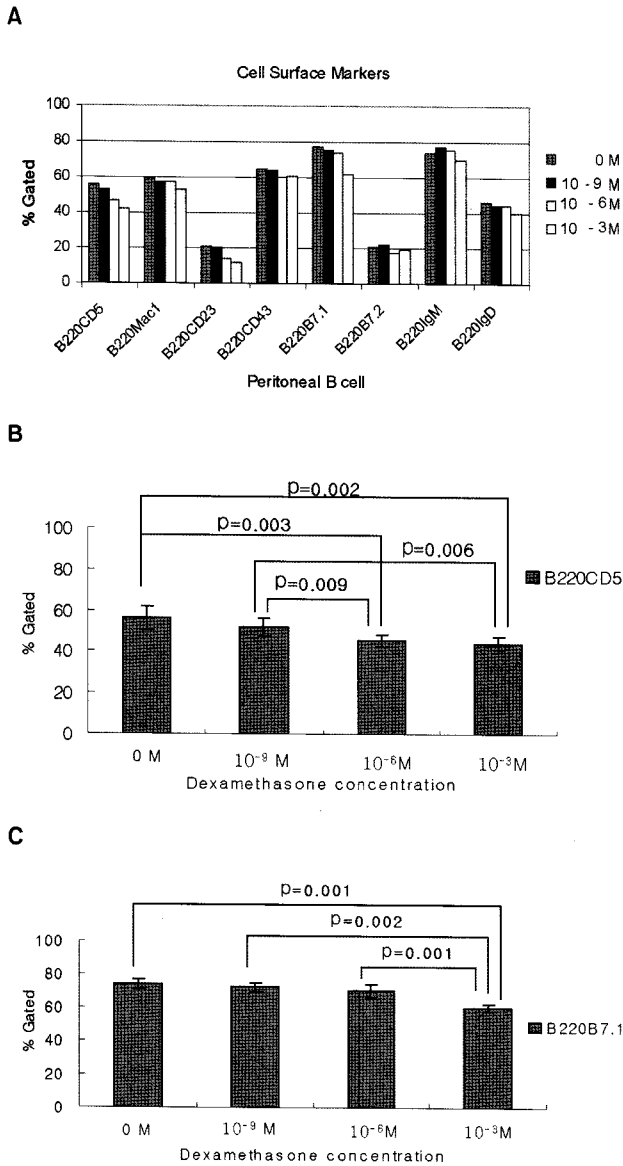


Figure 2. (A) Analysis of peritoneal B cell surface markers by flow cytometry. Cells were incubated 48 hours in the different concentration of dexamethasone. They were analysed on the FACS. High dose of dexamethasone down-regulates (B) B220⁺CD5⁺ and (C) B220⁺B7.1⁺ B cells. Results are expressed as mean ± S.E.M. % Gated: percentile of positive cell surface marker.

M vs 10⁻³ M, p=0.002; 10⁻⁶ M vs 10⁻³ M, p=0.008)는 덱사메타손의 농도가 증가함에 따라 의미 있게 감소하였다(Fig. 2B, C). 비장에서는(Fig. 3A) B220⁺CD23⁺ 세포가 55.5 ± 2.8%, 39.0 ± 1.9%, 20.3 ± 2.5%, 5.4 ± 1.1 (0 M vs 10⁻⁹ M, p=0.0003; 0 M vs 10⁻⁶ M, p=0.00004; 0 M vs 10⁻³ M, p=0.000004; 10⁻⁹ M vs 10⁻⁶ M, p=0.0001; 10⁻⁹ M vs 10⁻³ M, p=0.0000003; 10⁻⁹ M vs 10⁻³ M, p= 0.0002)(Fig. 3B), B220⁺IgM⁺ 세포가 33.0 ± 2.1%, 35.2 ± 3.6%, 26.8 ± 1.8%, 25.8 ± 2.4% (0 M vs 10⁻⁶ M, p=0.008; 0 M vs 10⁻³ M, p=0.008)로 의미 있게 감소하였다(Fig. 3C).

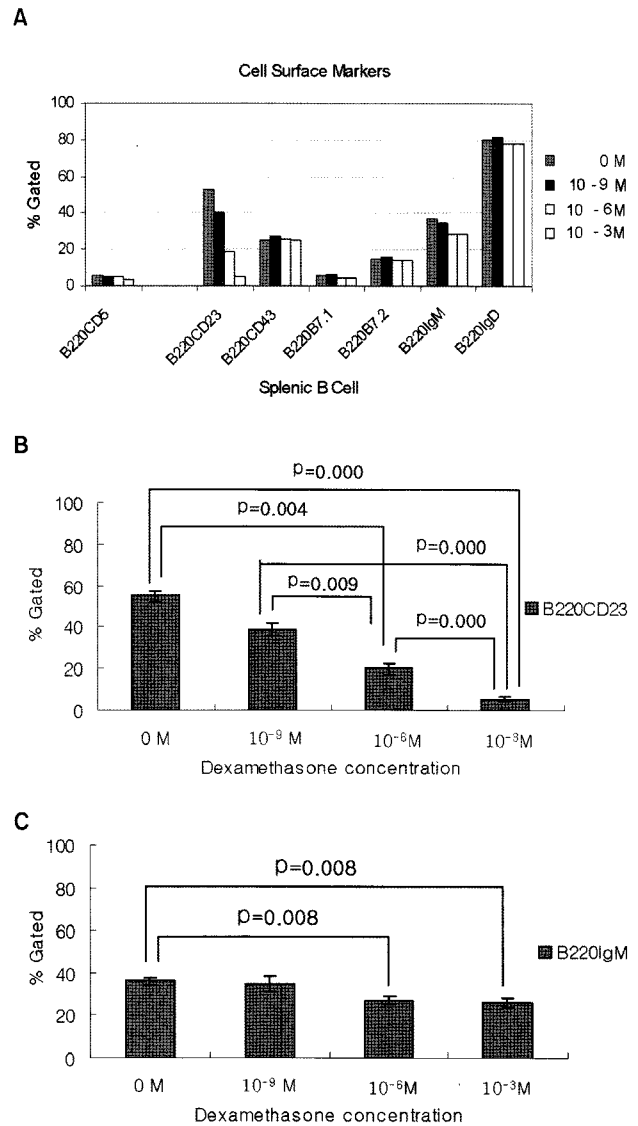


Figure 3. (A) Analysis of splenic B cell surface markers by flow cytometry. Cells were incubated 48 hours in the different concentration of dexamethasone. They were analysed on the FACS. High dose of dexamethasone down-regulates (B) B220⁺CD23⁺ and (C) B220⁺sIgM⁺ cells. Cells were incubated 48 hours in the different concentration of dexamethasone. They were analysed on the FACS. Results are expressed as mean ± S.E.M. % Gated: percentile of positive cell surface marker.

복강B세포의 자발적인 IgM 생산은 덱사메타손에 의해 감소하였다. 복강의 B세포에서는 배양 4일째 자극 없이도 2,567 ± 425 ng/ml의 IgM이 생산되었지만 비장의 B세포에서는 IgM 생산을 관찰할 수 없었으며 IgA는 모두에서 관찰할 수 없었다. Dexamethasone의 농도가 0 M에서 10⁻⁹ M, 10⁻⁶ M, 10⁻³ M로 증가하면서 자발적인 IgM 생산은 2,567 ± 518 ng/ml, 2,306 ± 424 ng/ml, 1,562 ± 339 ng/ml, 1,323 ± 282 ng/ml로 감소하였다(Fig. 4). 이런 결과는 세포 생존율의 감소에 따른 IgM 생산량 감소와 비례

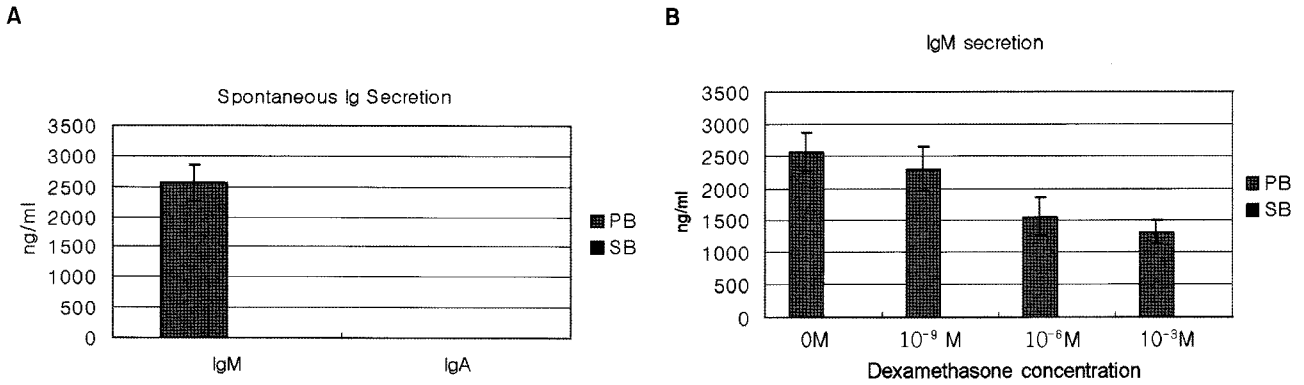


Figure 4. (A) Immunoglobulin production by B cells. The cells were cultured in fetal bovine serum containing culture medium. After the culture period, supernatants were collected and tested for secretion of immunoglobulin M by using an ELISA techniques. Data are expressed in nanograms per milliliter of Ig produced and represent the mean \pm S.E.M. (B) Spontaneous IgM secretion decreased by increasing concentration of dexamethasone. PB: peritoneal B cells, SB: splenic B cells.

하는 경향을 보였다.

고찰

겔질스테로이드는 면역계 세포들에 최소한 3가지, 즉 파괴, 기능저지, 재분배의 작용을 하게 되며, 겔질스테로이드의 영향에 대한 감수성은 동물의 종, 세포형태, 장소, 생리학적 성숙도와 활성상태에 따라 좌우된다(7). 또한 스테로이드에 의한 전사인자의 영향도 다양하게 나타나 cytokines (IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-11, IL-12, IL-13, TNF- α , GM-CSF, stem cell factor), chemokines (IL-8, RANTES, MIP-1a, MCP-1, MCP-3, MCP-4, eotaxin), COX-2, Cytoplasmic PLA2, Endothelin-I, NK1-receptors, NK2-receptors, adhesion molecules (ICAM-1, E-selectin) 등의 전사인자들은 감소하는 반면에, lipocortin-I, β 2-Adrenoceptor, secretory leucocyte inhibitory protein, clara cell protein (CC10), IL-1 receptor antagonist, IL-IR2 (decoy receptor) 등은 증가한다(8). 최근까지 스테로이드에 대한 다양한 연구가 진행되어 왔지만 면역반응에서 림프모양(lymphoid)세포와 비림프모양(non-lymphoid)세포의 다양한 아형 사이에 일어나는 다양하고 복잡한 상호작용으로 인하여 면역반응에서 겔질스테로이드의 영향에 대한 생체 내 실험은 그 결과를 해석하는 데 매우 어려운 점이 있다(7).

B-1세포는 CD5라는 범T세포 표면당단백질이 발현되어 있는 특징을 가지고 있어 기존에 알려진 B세포, 즉 B-2 세포와는 엄연히 다른 아형이다. B-1세포의 경우 세포표면에 CD5⁺ 이외에 Ig(sIg)M^{high}, sIgD^{low}, B220^{low}, CD23^{low} or ⁻, and CD43^{high}를 나타내는 반면 B-2세포는 (sIg)M^{low}, sIgD^{high}, B220^{high}, CD23^{high}, and CD43^{low} or ⁻를 나타내어 세포 표현상 B-1세포와 B-2세포 사이에는 다른 표현형을 가지고 있다(5,9,10). 복강의 B세포는 대부분 B-1세포로 비장의 B세포는 B-2세포로 본 연구에서도

기준에 밝혀진 대로 복강의 B세포는 CD5^{high}, CD43^{high}, Ig(sIg)M^{high}를 나타내었고, 비장의 B세포는 CD23^{high}, sIgD^{high}를 나타내었다.

본 실험의 생체 외 실험에서는 복강의 B세포에서는 CD5⁺와 CD80⁺가, 비장에서는 CD23⁺와 IgM⁺세포가 감소하는 현상을 관찰할 수 있었다. CD5는 B-1세포의 표현형으로 CD5⁺세포의 감소는 덱사메타손의 농도가 증가함에 따라 B-1세포의 세포자멸사가 증가하였기 때문으로 생각되었다. CD80 (B7.1)은 가지돌기세포와 대식세포와 같은 항원인식세포에서 낮은 값을 보이지만 싸이토카인과 같은 용해성 인자나 MHC class II 혹은, CD40와 같은 세포표면분자가 결합할 때는 증가하게 된다(11). 따라서 B-1세포에서 덱사메타손에 의해 세포자멸사, 항원인식이나 싸이토카인, MHC class II, 혹은 CD40와 관련된 결합에 영향을 미칠 수 있음을 시사하였다. CD23은 B 세포 만성림프구성 백혈병 환자에서 매우 높게 표현되어 이 질환의 유지와 진행에 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 또한 겔질스테로이드에 의해 CD23의 표현과 방출이 조절된다는 것이 증명됨으로써 이 수용체의 약물학적 조절이 B세포 만성림프구성백혈병 치료에 유용하게 이용될 수 있을 것이라는 보고도 있다(12). 또한 CD23은 저친화성 IgE 수용체, IgE 생성 조절, 모노카인 방출유발, 만성림프구성 백혈병의 중요한 예후 인식자뿐만 아니라 소포 B세포 인식자로 알려져 있다(13-15). 본 연구의 생쥐 생체 외 실험에서 덱사메타손에 의해 CD23이 감소됨은 기존에 밝혀진 대로 IgE에 의한 과민반응이 스테로이드에 의해 조절될 수 있음을 간접적으로 유추할 수 있었다. 또한 sIgD와 더불어 B세포 수용체로 알려진 sIgM도 스테로이드에 의해 영향을 받을 수 있었다. 하지만 본 연구의 결과로는 복강의 B세포와 비장의 B세포가 덱사메타손에 의해 영향을 받는 세포표면 인식자의 종류가 다른 이유와 세포표면 인식

자의 종류에 따라 영향을 받는 정도가 차이가 나는지는 알 수 없어 향후 이에 대한 연구가 더 필요하리라 생각 되었다.

본 연구에서 비장의 B (B-2)세포에서는 자발적인 항체 생산은 관찰할 수는 없었지만 복강의 B (B-1)세포에서는 자발적인 항체생산을 관찰할 수 있었다. 자발적인 면역글로블린 생산과 관련하여 B-1세포와 B-2세포 사이에는 서로 다른 점이 몇 가지 존재한다. B-1세포는 IgM을 자발적으로 분비할 뿐 아니라 일부가 휴지기 상태의 IgA를 분비하는 형질세포 전구체로 장을 비롯한 점막면역에도 관여하고 있다. B-1 세포에서 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 미생물에 의한 발병 시 발생하는 면역현상에 앞서 미생물에 대한 혈청학적 방어 단계를 제공하는 자연 항체를 생산할 수 있음을 시사한다. 자연 면역글로블린은 병원균의 전파를 제한시킬 수 있으며 감염된 숙주의 생존에도 큰 역할을 한다고 알려져 있다(5,10). 본 연구에서 자극이 없는 상태에서 복강의 B (B-1)세포의 생존율은 비장의 B (B-2)세포보다 높았고 복강B세포의 경우 덱사메타손 10^{-9} M을 기점으로 덱사메타손 농도가 증가함에 따라 세포자멸사가 증가하였고, 비장B세포의 경우는 덱사메타손의 농도에 따라 세포자멸사가 증가하여 복강의 B세포가 덱사메타손에 저항성이 있었다. 이런 결과는 두 세포 간의 형태학적 차이, 세포표면의 수용체 차이, 서로 다른 수용체로 인한 서로 다른 신호전달체계, 그리고 이미 본 교실에서 보고한대로 세포분화와 증식이 B-2세포보다는 B-1세포가 더 활발한 점 등이 덱사메타손에 의한 생존율에 영향을 미쳤으리라 생각한다(9).

덱사메타손투여 시 고농도의 덱사메타손은 독성효과(toxic effect)와 이로 인한 세포자멸사증가로 항체생산이 감소하게 된다(7,16). 본 연구에서도 덱사메타손의 농도가 증가함에 따라 B세포의 세포자멸사와 함께 자발적인 항체 생산의 감소가 나타났는데 특히 10^{-3} M의 농도에서 감소가 심하였다.

생쥐, 쥐, 햄스터 그리고 토끼 등의 종에서는 스테로이드에 매우 민감하여 부신겔질호르몬투여 시 흥선, 비장 그리고 림프선에서 특히 흥선에서 생육가능 핵세포들의 수가 매우 감소함을 보여주고 있다. 하지만 골수에서는 전체 세포수는 거의 영향을 받지 않는다. 비록 골수가 겔질스테로이드에 영향이 적다 해도 과립세포, 단핵세포, 그리고 림프구의 생산은 겔질스테로이드를 투여하면 생산이 감소하게 된다. 따라서 명백한 저항성은 골수로부터 새로이 생산되는 세포들이 밖으로 나오는 것을

감소시키거나 말초 림프모양 장기에서 골수로 향하는 T 세포들 중에서 성숙세포들의 재분배 때문에 발생하게 된다. 즉, 골수에서 단기생명세포들의 비율은 감소하고 장기생명세포들의 비율이 증가하기 때문이다(17-19). 생쥐에서 겔질스테로이드 투여 후 말초림프모양 장기에서 B세포들의 수는 T세포 수에 비해 많이 감소한다. Naive 생쥐의 비장 B세포는 지질다당류에 의한 Ig생산세포가 10^{-8} M 농도의 덱사메타손에서 심하게 감소된 반면 골수의 B세포에서는 이보다 1,000배 높은 농도에서 유사한 감소가 나타난다. 이런 사실은 골수의 B세포들은 비장의 B세포 보다 겔질스테로이드에 의한 면역억제 반응에 더 내재적으로 저항성이 있음을 보여 준다(20).

이상의 결과로 덱사메타손의 농도가 높아지면 복강 B 세포의 생존율, 자발적인 IgM 생산량 그리고 세포표면 인식자 중 $CD5^{+}$ 세포와 $CD80^{+}$ (B7.1⁺)세포가 의미있게 감소함을 알 수 있었다. 비장의 B세포에서는 자발적인 항체생산이 없어 덱사메타손에 의한 항체생산 감소를 복강의 B세포와 비교할 수는 없었지만, 복강의 B세포는 세포표면인자와 세포생존율에 있어서는 비장의 B세포와는 다른 차이점을 나타냈다. 향후 이런 결과를 토대로 생체 내에서의 스테로이드의 영향을 알아보는 자료로 이용할 수 있고, 또한 자연면역과 관련된 면역체계와 복강 B (B-1)세포의 특성을 이해하는 기초자료가 되리라 생각된다.

참 고 문 헌

1. Barnes PJ: Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clinical Science* 94;557-572, 1998
2. Bach JF, Strom TB: Corticosteroids. In: Turked JL ed.: The mode of action of immunosuppressive agents (research monographs in immunology), p21-104, Amsterdam Elsevier, 1985
3. Claman HN: Corticosteroids and lymphoid cells. *N Engl J Med* 287;388-397, 1972
4. Adcock IM, Caramori G, Ito K: New insights into the molecular mechanisms of corticosteroids actions. *Curr Drug Targets* 7;649-660, 2006
5. Rothstein TL: Cutting edge commentary: two B-1 or not to be one. *J Immunol* 168;4257-4261, 2002
6. Andreau K, Lemaire C, Souvannavong V, Adam A: Induction of apoptosis by dexamethasone in the B cell lineage. *Immunopharmacol* 40;67-76, 1998
7. Sabbele NR, Oudenaren AV, Hooijkaas H, Benner R: The effect of corticosteroids upon murine B cells in vivo and in vitro as determined in the LPS-culture system. *Immunol* 62;285-290, 1987
8. Barnes PJ: Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clin Sci* 94;557-572, 1998
9. Yeo SG, Cho JS, Park DC, Rothstein TL: B-1 cells differ from conventional B (B-2) cells: difference in proliferation. *Immune Network* 4;155-160, 2004
10. Kim JB, Yeo SG, Kim SW, Cho JS, Cha CI: Characteristic features of immune B cells in murine cervical lymph node. *Korean J Otolaryngol* 48;241-246, 2005
11. Jirapongsananuruk O, Leung DYM: The modulation of B7.2 and B7.1 on B cells by immunosuppressive agents. *Clin Exp*

- Immunol 118;1-8, 1999
12. Pozzato G, de Paoli P, Franzin F, Tulissi P, Moretti M, Basaglia G: Effects of alpha-interferon and steroids on CD23 expression and release in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 79;205-212, 1994
 13. Barnes PJ: Corticosteroids, IgE, and atopy. *J Clin Invest* 107;265-266, 2001
 14. Fischer A, Konig W: Regulation of CD23 expression, soluble CD23 release and immunoglobulin synthesis of peripheral blood lymphocytes by glucocorticoids. *Immunol* 71;473-479, 1990
 15. Pene J, Rousset F, Briere F, Chretien I, Wideman J, Bonnefoy JY: Interleukin 5 enhances interleukin 4-induced IgE production by normal human B cells. The role of soluble CD23 antigen. *Eur J Immunol* 18;929-935, 1998
 16. Roess DA, Bellone CJ, Ruh MF, Nadel EM, Ruh TS: The effect of glucocorticoids on mitogen-stimulated B lymphocytes: thymidine incorporation and antibody secretion. *Endocrinology* 110;169-175, 1982
 17. Metcalf D: Cortisone action on serum colony-stimulating factor and bone marrow in vitro colony-forming cells. *Proc Soc Exp Biol Med* 132;391-394, 1969
 18. Brahim F: Marrow lymphocyte production during chronic hydrocortisone administration. *J Reticuloendothel Soc* 23; 111-118, 1978
 19. Thompson J, Van Furth R: The effect of glucocorticosteroids on the proliferation and kinetics of promonocytes and monocytes of the bone marrow. *J Exp Med* 137;10-21, 1973
 20. Andersson J, Moller G, Sjoberg O: Induction of immunoglobulin and antibody synthesis in vitro by lipopolysaccharide. *Eur J Immunol* 2;349-353, 1972
-