

### 마우스 동종 피부이식 거부반응시 말초 혈액 T 세포의 표면항원 발현양상

서울대학교 의과대학 내과학교실

양재석, 안규리, 정희경, 오지은, 오국환, 한진석, 김성권, 이정삼

**연구배경** : 이식 거부반응의 진단은 현재 조직검사와 같은 침습적인 방법에 의존하고 있다. 그러나, 이식면역학의 발달로 이식 거부반응의 기전이 알려짐에 따라서 이식 거부반응을 초기에 비침습적으로 진단하려는 시도가 여러 분야에서 이루어지고 있다. 연구자들은 이식 거부반응의 핵심적인 역할을 담당하는 T림프구의 활성화와 표면항원의 발현양상을 동종 피부이식을 시행한 마우스의 말초혈액에서 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

**연구방법** : C57BL/6 마우스에 Balb/c 마우스의 꼬리 피부를 동종이식하였다. 대조군으로는 C57BL/6마우스의 꼬리 피부를 이용하였다. 이식 후 3일, 5일, 7일, 9일, 11일, 13일, 15일에 말초혈액을 채취하여 림프구의 수를 측정 한 후, CD3, CD4, CD8 표면항원 및 CD25, CD69, CD44의 발현양상을 FACStar plus(Becton and Dickinson)를 이용하여 2-color 또는 3-color로 분석하였다.

**연구결과** : 동종이식 마우스는 이식 후 10일로부터 13일에 걸쳐 거부반응이 일어났지만, 대조군 마우스에서는 거부반응이 관찰되지 않았다. T림프구 표면항원중 CD3과 CD4는 동종이식 마우스와 대조군 사이에 뚜렷한 차이가 없었으며 특정한 경향도 보이지 않았다. CD8은 7일 이후 지속적인 증가를 보였고 11일 이후에는 현저히 상승하였다(13일-동종이식:21% vs 대조군:12%). CD4/CD8 비는 7일까지 상승하다가(7일-1.44), 이후에는 감소하였다(13일-0.57 vs 0.92). CD25의 발현빈도, CD4 양성림프구 중 CD25 양성세포의 빈도, CD8 양성림프구 중 CD25 양성세포의 빈도는 5일에 상승하였다가 7일에 감소하였고, 이 중 CD4 양성림프구와 CD8 양성림프구에서의 CD25의 빈도는 다시 9일째 상승하였다(9일-29% vs 9.5%, 16% vs 10%). CD44는 CD4 양성 림프구 중 그 빈도가 9일에 증가되고(9일-22% vs 9.3%), 11일 이후에는 감소되었다. CD69는 7일에 동종이식에서 대조군에 비해 CD69의 빈도(5.2% vs 1.1%), CD4 양성림프구 중 CD69 양성 세포의 빈도(4.4% vs 1.3%)와 CD8 양성림프구 중에서 CD69 양성세포의 빈도(5.5%/0.97%)가 높았고, 11일경에는 대조군이 동종이식보다 높은 발현 양상을 보였다.

**연구결론** : T림프구 표면항원 중 CD25(+)/CD4(+)/CD4(+), CD25(+)/CD8(+)/CD8(+), CD44(+)/CD4(+)/CD4(+)는 거부반응이 보이기 전, 즉 조직 손상의 초기에 일시적으로 상승되었다. 한편 T림프구 표면항원 검사는 비침습적이고, 조작이 간단하며, 반복 실험이 용이하였다. 따라서 규칙적인 표면항원 검사를 통해 피부이식을 비롯한 장기 이식 거부반응을 비침습적으로 조기 진단할 수 있겠다.

### 실험적 수신증(Hydronephrosis) 모델에서 신장조직내 TGF- $\beta$ , Endothelin MCP-1 및 TNF- $\alpha$ mRNA 변화

충남의대 내과학교실, 병리학교실\*

이감욱, 황평주, 나기량, 서광선\*, 신영태

요로폐쇄에 의한 신장조직손상 기전에 대하여 최근 Klahr 등(Am J Kidney Dis 1992)은 분자생물학적인 측면에서 설명하고자 하였다. 그러나 지금까지 이 분야에 대한 연구는 매우 미흡하고 특히 신조직내 TGF- $\beta$ , MCP-1, endothelin 및 TNF- $\alpha$  유전자발현 변화에 대하여는 잘 알려져 있지 않다. 현재까지의 연구들에 의하면 수신증에 의한 신장조직 손상에는 단백질분해효소의 침윤, 신혈류변화, 신장조직내에 matrix 증가 등이 중요 기전들 중의 하나로 작용할 것으로 추정된다. 이에 연구자들은 실험적인 수신증 모델에서 신장 조직 내에서 이러한 기전들과 밀접한 관계가 있는 TGF- $\beta$ , MCP-1, endothelin 및 TNF- $\alpha$  가 유전자 발현 단계에서 어떠한 변화가 일어나는지 알아보기 위하여 본 연구를 수행하였다. 실험 대상으로 Sprague Dawley 웅성 백서(220-230g)를 이용했으며 수술적인 방법으로 좌측 요관을 결찰하고 3일째와 7일째 희생시켜 같은 쪽 신장을 적출하였다. 신장조직내 TGF- $\beta$ , MCP-1, endothelin 및 TNF-alpha 등의 mRNA 레벨 측정 방법으로는 상경적 RT-PCR (competitive RT-PCR) 방법을 이용하였다. 정상대조군(정상 SD 백서) 및 각 실험군간의 비교는 상기한 유전자 및  $\beta$ -actin mRNA 레벨의 비율 서로 비교하였다. 실험군의 신장조직은 육안으로 확인가능할 정도로 분명한 수신증을 관찰할 수 있었으며 7일째는 신피질 부위의 위축 소견을 관찰할 수 있었다. Endothelin 은 요관 결찰 후 3일째 신장 조직 내에서 정상 대조군(정상 SD 백서)에 비하여 1.8 배, 7일째 2.4 배 의미 있게 증가하였다( $p < 0.001$ ,  $p < 0.001$ ). TGF- $\beta$  도 3일째 1.3 배, 7일째 1.6 배 정상 SD 백서에 비하여 의미 있는 증가를 보였다( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ). TNF- $\alpha$  및 MCP-1 유전자 발현도 각각 정상 대조군에 비하여 3일째 각각 1.7, 9.0 배, 7일째 2.0 배 및 10.2 배 유의한 증가를 보였다( $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ ). 이상에서 연구자들은 수신증 3일 이내부터 TGF- $\beta$ , MCP-1, endothelin 및 TNF- $\alpha$  유전자 발현 증가가 나타나며 최소 일주일까지 이들 유전자 발현은 점차 증가하고 이러한 변화가 초기 신장조직 손상 기전에 중요한 작용을 담당할 것으로 생각하였다.