

이식 분야에서 조절 T 세포의 적용

서울대학교 의과대학 미생물학교실¹, 서울대학교병원 바이오 이종장기 개발사업단², 서울대학교 의학연구원 장기이식 연구소³, 서울대학교 암연구소⁴

김용희^{1,2,3,4} · 김현제^{1,2,3,4} · 김정식^{1,2,3,4} · 박정규^{1,2,3,4}

Application of Regulatory T Cells in Transplantation Field

Yong-Hee Kim, M.D.^{1,2,3,4}, Hyun-Je Kim, M.D.^{1,2,3,4}, Jung-Sik Kim, Ph.D.^{1,2,3,4} and Chung-Gyu Park, M.D.^{1,2,3,4}

Department of Microbiology and Immunology¹, Xenotransplantation Research Center², Transplantation Research Institute SNUMRC³, Cancer Research Institute and TIMRC⁴, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

The development of immunosuppressant treatments has enabled remarkable progress in the tissue and organ transplantation field by helping to prevent acute graft rejection. However, complications related to transplantation, such as infection by bacteria and viruses, and the occurrence of cancers resulting from prolonged immune suppression are major obstacles to overcome. Therefore, transplantation immunology research efforts should focus on the induction of donor-specific immune tolerance which preserves patient immune competence which promotes infection and cancer surveillance. Additionally, lifelong administration of immunosuppressants should be forgone in preference to short term therapies. In the 1990s, Dr. Shimon Sakaguchi identified the CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells which develop in the thymus, and demonstrated that these cells play crucial roles in the maintenance of immune self tolerance. Studies which followed proved that these regulatory T cells are important to the control of autoimmune disease and prevention of graft rejection. Regulatory T cells have also been found to induce immune tolerance in rodent models. In this review, we discuss several considerations for the use of regulatory T cell therapy in the clinical transplantation field.

Key Words: Transplantation, Immune tolerance, Regulatory T lymphocytes

중심 단어: 이식, 면역 관용, 조절 T 림프구

서 론

동종간 혹은 이종간 세포 및 고형장기의 이식이 성공하기 위해서는 수용자(recipient)에서 발생하는 다양한 면역거부반응을 어떻게 극복하느냐가 관건이다. 면역세포의 활성화를 억제하고 면역세포가 이식된 장기로 이동하는 것을 억제하는 등 다양한 면역억제제의 개발로 인하여 급성면역거부반응(acute immune rejection)은 상당부분 극복되었지만, 수개월에서 수년 후 발생하는 만성면역거부반응(chronic immune rejection)의 극복은 아직 요원한 상태이다. 지속적인 면역억제제의 사용은 여러 가지

부작용을 초래한다. 면역억제제의 장기(life-long) 사용으로 이식편이 사멸하거나 기능이 저하되는 부작용의 발생은 이식된 세포 및 장기가 오랫동안 생존하기 어렵게 만든다. 또한 면역억제제를 투여 받는 환자에서 감염의 발생과 종양 생성의 빈도가 늘어나는 부작용도 발생한다.

이러한 면역억제제의 다양한 부작용을 해결하는 방법으로 이식편의 수용자에게 면역 관용(immune tolerance)을 유도하는 방법이 있다. 면역 관용을 유도하는 것은 일반적인 면역억제제의 사용으로 인한 사망률과 이환율을 줄여줄 수 있을 뿐만 아니라, 만성면역거부반응도 예방할 수 있다.

면역 관용은 자가항원에 반응하는 T 세포를 가슴샘(thymus)에서 제거하는 중추 관용(central tolerance)과 말초에서 일어나는 말초 관용(peripheral tolerance)으로 나눌 수 있다. 말초 관용은 크게 무반응(anergy), 억제(suppression), 세포자멸사(apoptosis) 등에 의해 유도된다. 무반응은 항원 제시세포(antigen presenting cell)가 보조자극 분자(costimulatory molecule) 없이 T 세포에게

책임저자 : 박정규, 서울시 종로구 대학로 103
서울대학교 의과대학 미생물학교실, 110-799
Tel: 02-740-8308, Fax: 02-743-0881
E-mail: chgpark@snu.ac.kr

접수일 : 2012년 5월 30일, 게재승인일 : 2012년 6월 4일

본 논문은 보건복지부 보건의료기술진흥사업(A040004)으로 이루어짐.

항원을 제시할 때 발생한다. 가슴샘과 말초에서 생성되는 조절 T 세포(regulatory T cell, Treg)는 다른 T 세포 등을 억제(suppression)하여 면역 관용을 유도하게 된다. 또한 지속적인 항원의 자극에 의한 T 세포의 활성화는 활성화유도 세포자멸사(activation induced cell death by apoptosis)를 유발하여 면역 관용에 기여하게 된다. 1995년 Sakaguchi가 처음 보고한 조절 T 세포는 이러한 면역 관용 유도에 주도적인 역할을 하고 있으며 최근 장기이식 분야에서도 이식편에 대한 면역 관용을 유도하고, 이식편의 장기 생존율을 증가시킬 수 있음이 보고되고 있다(1-7).

조절 T 세포 치료를 임상에 적용하기 위해서는 다음과 같은 사항들을 고려해야 한다. 1) 자연조절 T 세포(natural Treg)를 사용할 것인지, 유도조절 T 세포(inducible Treg)를 만들어 사용할 것인지의 여부, 2) 공여자 항원에 특이적인 조절 T 세포를 만들 것인지 여부, 3) 조절 T 세포의 주입시기와 작용위치에 대해 고려, 4) 주입된 조절 T 림프구가 면역억제능력을 안정적으로 유지할 수 있을지, 작동 T 세포(effector T cell)로 바뀌지 않을지를 고려, 5) 조절 T 세포 치료의 효과를 도울 수 있는 보조치료제(adjunct therapies)는 어떻게 할 것인지를 고려해야 한다.

본 론

1) 조절 T 세포의 발견

면역세포가 다른 면역세포의 반응을 억제할 수 있다는 사실은 오래 전부터 생각해 왔으나 CD4⁺ T 세포가 작동 T 세포로만 작용하는 것이 아니라 면역반응을 억제할 수도 있다는 사실이 실험적으로 증명된 것은 비교적 최근의 일이다(8-10). 이러한 조절 T 세포를 다른 CD4⁺ T 세포와 구별하기 위한 표지자로서 초기에 제시된 것은 IL-2 receptor α -chain인 CD25이다(11). 하지만 활성화된 T 세포에서도 CD25의 발현이 증가하기 때문에 조절 T 세포의 특이적인 표지자로 볼 수 없다. 이후, 사람의 IPEX (immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, x-linked) 증후군이 CD4⁺CD25⁺ 세포를 제거한 생쥐에서 나타나는 증상과 유사하고, Foxp3 유전자의 loss-of-function 돌연변이에 의해 생긴 조절 T 세포의 문제로 인한 것이 알려지면서(12), Foxp3가 조절 T 세포의 특이적인 표지자임이 밝혀졌다(13-16). CD4⁺CD25⁺ FoxP3⁺ 조절 T 세포는 흉선에서 외부항원의 자극 없이 생성되므로 자연조절 T 세포라 불린다. 그 외에 말초에서 외부 항원의 자극에 의해 생성되는 조절 T 세포들이 알려졌다. Tr1 세포는 IL-10 존재 하에 외부항원으로 T 세포를 자극하면 IL-10을 발현하는 세포로 분화되고 이 세포들은 IL-10을 통해 면역억제능력을 보이며 *in vivo*에 주입했을 때 면역반응을 억제할 수 있는 세포이다(17,18). Foxp3⁻ T 림프구가 특정한 환경에서 외부항원 자극에

Table 1. Subsets of natural and induced regulatory T cells^a

Treg subset	Regulatory mechanisms	Transcription factor expressed	Target cells	Fuction
CD4 ⁺ CD25 ⁺ Tregs	Cell contact-dependent, cytokines (IL-10 ^b)	Foxp3	T cells, APCs	Suppression of autoimmunity; inhibition of allograft rejection and of immune responses induced by microbial infection; mediation of UV-induced immunosuppression
CD4 ⁺ CD25 ⁻ Tregs	Mostly mediated by cytokines	Foxp3 (? ^b)	T/B cells, APCs	Suppression of autoimmunity
Tr1 cells	Mediated by IL-10	Foxp3 (? ^b)	T cells	Suppression of autoimmunity
Th3 cells	Mediated by TGF- β	? ^b	T cells	Suppression of autoimmunity
NKTregs	IL-4, IL-10, TGF- β , cytotoxicity	? ^b	T cells, APCs, tumor cells	Elimination of tumors and pathogens suppression of autoimmunity; mediation of UV-induced suppression of protective tumor immunity
CD8 ⁺ Tregs	Cell contact-dependent, cytotoxicity, cytokines (? ^b)	Foxp3 (? ^b)	T cells	Suppression of autoimmunity regulation of peripheral TCR repertoire
CD8 ⁺ CD28 ⁻ Tregs	Induction of ILT3/ILT4 in DCs	Foxp3 (? ^b)	DCs/APCs	Regulation of autoimmunity (? ^b)

^aSubsets have been detected in humans and rodents. ^bIssue uncertain, not yet clear or not yet investigated. Abbreviations: APC, antigen-presenting cell; DC, dendritic cell; ILT, immunoglobulin transcript; NKTreg, regulatory cell of natural killer T cell phenotype; Th3, T helper type 3; Tr1 cell, type 1 regulatory T cell; Treg, regulatory T cell. Reprinted from Table 1 of reference [85].

의해 Foxp3⁺ 조절 T 세포로 분화된다. 이처럼 외부 자극에 의해 말초에서 분화되는 조절 T 세포를 유도조절 T 세포로 분류한다(19)(Table 1).

2) 이식거부반응 억제와 조절 T 세포

개체 내에서 조절 T 세포에 의해 면역 관용이 성립되면 외부에서 공격적인 T 세포를 주입하여도 면역 관용은 그대로 유지된다. 이와 같이 조절 T 세포가 공격적인 T 세포를 억제할 수 있는 현상을 ‘우성 관용(dominant tolerance)’이라고 한다(20). (무반응에 의한 면역 관용은 외부에서 IL-2와 같은 사이토카인을 공급하면 면역 관용이 파괴된다.) 장기이식 후 조절 T 세포를 유도하여 면역 관용이 확립되면 지속적인 이식 항원의 자극이 있음에도 불구하고 CD4⁺ 조절 T 세포가 다른 공격적인 CD4⁺ T 세포를 새로운 조절 T 세포로 만드는 현상이 발견되었고 이를 ‘관용 감염(infectious tolerance)’이라 한다(21,22)(Fig. 1). 이러한 우성 관용과 관용 감염 현상은, 이를 가능케 하는 조절 T 세포가 면역억제제를 대체하는 치료제가 될 수 있다는 가능성을 강하게 시사한다.

관용 감염(infectious tolerance)은 이식모델에서 면역 관용의 기전으로 중요한 역할을 하는 것으로 생각되고 있는데 아직 이러한 관용 감염이 조절 T 세포가 직접적으로 미성숙 T 세포를 또 다른 조절 T 세포로 만드는 것인지, 아니면 다른 매개체를 이용하는 것인가에 대해서는 아직 논란이 있다(23). 하지만 적어도 관용 감염을 유도하기 위해서는 면역 관용을 유도하고자 하는 항원이 하나의 항원 제시세포에 의해 제시되든지, 하나의 조직 안에 있는 항원이어야 하는 점은 분명하며 이를 ‘Linked suppression’이라고 한다.

한편, 조절 T 세포의 종류는 Table 1에 나와있는 것처럼 Foxp3⁺ T 세포 이외에도 IL-10을 분비하는 Tr1 세포(24), TGF-β를 분비하는 Th3 세포(25), IL-35를 분비하는 iTr35 세포(26) 등이 제시되어 왔으나, 현재까지는 Foxp3⁺ 조절 T 세포가 가장 중요한 것으로 의견이 모아지고 있다. 이식면역 영역에서 Foxp3⁺ 조절 T 세포가 중요하다는 증거로는 1) Foxp3⁺ 세포를 주입하였을 때 이식편의 생존율이 증가하며(27,28), 2) 면역 관용을 유도하기 위한 프로토콜을 사용하였을 때 Foxp3⁺ 조절 T 세포가 말초에서 유도되고(29,30), 3) 이식편에서 Foxp3⁺ 조절 T 세포가 발견된다는 점(31,32) 등이 있다. 최근 관용 감염(infectious tolerance)을 유도하는데 있어서 가장 핵심적인 역할을 하는 세포 역시 Foxp3⁺ 조절 T 세포이며 면역 관용이 유도되는 장소는 이식편 그 자체임이 알려졌다(33).

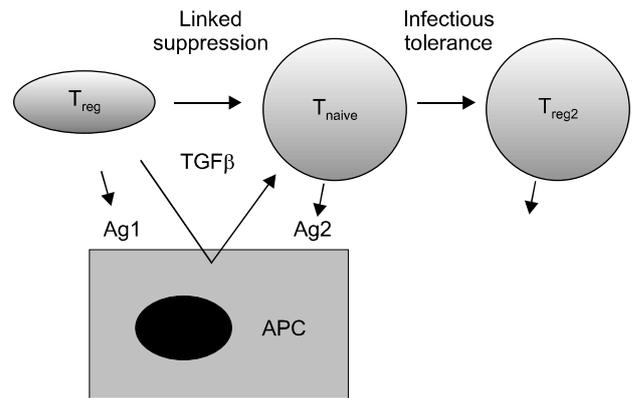


Fig. 1. Linked suppression and infectious tolerance. Linked suppression of naive T cells responding to antigen 2 (Ag2) can occur when the antigen-presenting cell (APC) is simultaneously also presenting a different antigen (Ag1) to regulatory T cells (Tregs). The Treg can then act to inhibit the full activation of the naive T cell, either because the naive T cell is brought within the range of close acting cytokines or cell surface ligands of the Treg or because the Treg can modify the status of the APC. One way in which Treg cells may modulate APC activity towards anti-inflammatory presentation is to produce transforming growth factor β (TGFβ). In some cases, the naive T cell may receive sufficiently tolerogenic signals from the Treg and/or APC that it is itself converted to a Treg cell. This second cohort of Tregs then confers infectious tolerance against Ag2. Reprinted from Fig. 1 of reference [86].

3) 임상에서 조절 T 세포를 이식면역 관용을 위해 사용할 때의 고려 사항들

지금까지의 연구결과를 종합해 볼 때, 조절 T 세포를 이용하여 면역 관용을 유도하면 면역억제제의 부작용과 한계를 극복하여 이식장기의 장기 생존이 충분히 가능할 것으로 보인다. 이를 위해서는 장기이식 수용자의 조절 T 세포 비율을 높여야 하며 그 방법으로는 조절 T 세포를 자극하여 생체 내에서 증식(in situ induction)시키는 방법과 수용자의 조절 T 세포를 분리한 후 시험관 내에서 증식시켜(ex vivo expansion) 재주입(adoptive transfer)하는 방법이 있다. ‘생체 내 증식 방법’은 가장 이상적이지만 아직 연구단계에 있어 여기에서는 주로 ‘시험관 내 증식 후 재주입 방법’에 대해서 리뷰하고자 한다.

(1) 자연조절 T 세포 vs. 유도조절 T 세포와 항원특이성: 환자의 혈액에서 자연 조절 T 세포를 분리한 후 증식이 용이한 조건에서 배양하여 자연 조절 T 세포의 수를 늘려서 주입할 수 있다. 그러나 자연 조절 T 세포는 말초혈액 CD4⁺ T 세포의 5%에 불과하고 분리 시 CD25를 발현하는 활성화된 T 세포와 구분하기 위해서 CD25^{high}CD127^{low} 세포를 사용하면 그 수는 더 줄어들기 때문에 많은 양의

세포를 얻는 것이 쉽지가 않은 한계가 있다(34). 그리고 기억 T 세포나(35) Th17 세포(36)에 대한 억제능력은 유도조절 T 세포에 비해 떨어진다. 그러나 acute GVHD를 제어하는 능력은 자연조절 T 세포가 매우 우수하다는 결과가 있다(37). 자연조절 T 세포와 유도조절 T 세포는 각각 다른 특성을 가지고 있으므로 시험관 내에서 조절 T 세포를 증식시키는 과정에서 CD4⁺CD25^{high}CD127^{low}인 자연조절 T 세포를 분리하고 남은 CD4⁺CD25⁻ T 세포를 TGF-β 등을 이용하여 유도조절 T 세포로 유도시킬 수 있고, 이를 활용하면 주입할 수 있는 조절 T 세포의 양을 크게 늘릴 수도 있다(19). 또한 유도조절 T 세포의 경우 공여자 항원에 특이적인 조절 T 세포로 유도할 수 있는 장점도 있다. 이식 후 유도되는 면역 관용은 공여자-특이적 조절 T 세포의 확장(expansion)과 연관되어 있다고 알려져 있다(38). 조절 T 세포 치료에 공여자-특이적 조절 T 세포를 사용하는 것이 이식편의 생존연장과 면역 관용 유도에 유리하다는 사실들은 여러 이식 실험 모델에서 입증되었다(39-45). 따라서 자연 혹은 유도 조절 T 세포 모두 공여자 세포를 항원으로 이용하여 공여자-특이적 조절 T 세포를 증식시키는 것이 유리하다. 다만 공여자 세포가 미리 필요하기 때문에 생존 공여자의 장기를 사용하는 경우에 국한될 수 밖에 없는 단점이 있다.

(2) 조절 T 세포의 주입시기: 수용자에서 동종 항원에 대한 반응의 크기는 매우 크고, 이식편은 금방 깨지기 쉽기 때문에, 조절 T 세포 치료가 늦어질 경우에는 효과를 보기가 어렵다. 따라서 대부분의 조절 T 세포 치료 연구 결과들은 조절 T 세포를 이식 전(before transplantation) 이나 이식 시점에 공급하는 방법을 사용하였다(38). 공여자-특이적 조절 T 세포를 이용하기 위해서는 조절 T 세포를 증식시키기 위한 기간이 수 주가 필요하므로 조절 T 세포 공급을 이식 시점으로 맞추기에 어려움이 있을 수도 있다(42).

(3) 조절 T 세포의 작용 위치: 이식 상황에서 조절 T 세포가 기능하기 위해서는 조절 T 세포가 림프절(lymph node)로도 이동할 수 있어야 하며, 이식편 위치로도 이동할 수 있어야 한다(29,46,47). 생쥐 체도 이식 모델에서, 치료조절 T 세포(therapeutic Treg)가 처음에는 이식편 위치에서 작용하고, 이후에 림프절로 이동하는 것을 확인하였다(45). 이렇게 조절 T 세포가 이식편 위치로 먼저 이동함으로써 공여자 기원의 수지상 세포(dendritic cell)가 림프절로 이동하는 것을 막을 수 있었으며 동종 면역반응의 유도도 줄일 수 있었다. 이러한 조절 T 세포의 뒤바뀐 이동순서는 이식편에 대한 면역반응을 억제하

는데 효과적이다(38).

(4) 조절 T 세포의 가변성: 조절 T 세포가 환자의 체내에서 작동 T 세포로 바뀔 수 있다는 사실이 최근에 보고되었다(48,49). 이러한 가변성(plasticity)(Fig. 2)은 조절 T 세포 치료의 안전성과 유효성에 있어서 문제가 될 수 있기 때문에 매우 중요하다. Foxp3 유전자의 promoter와 첫 번째 exon 사이에 Treg-specific demethylation region (TSDR)이 존재하고, 이 곳이 조절 T 세포의 경우 demethylation 되어 있으며 이는 조절 T 세포의 Foxp3 발현 유지에 있어서 결정적인 역할을 한다(50). TGF-β를 통해 유도된 유도조절 T 세포의 경우 TSDR이 methylation되어 있고 Foxp3의 발현이 안정적이지 않다(51,52). 조절 T 세포가 환경에 따라 Foxp3의 발현을 잃고 작동 사이토카인(effector cytokine)을 발현할 수 있다는 사실들이 제시되고 있다. 다만 이러한 조절 T 세포의 불안정성은 기능적 특성화와는 구별되어야 한다. 조절 T 세포가 Th1, Th2, Th17의 전사인자와 사이토카인을 발현할 수 있고, 그 경우 Th1, Th2, Th17-매개 염증반응을

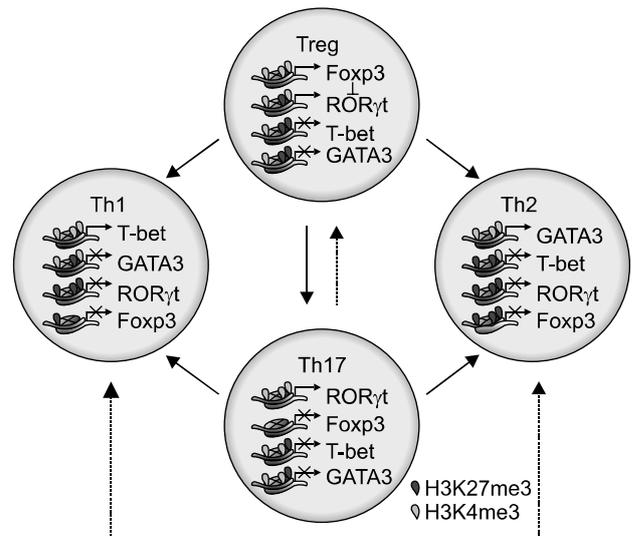


Fig. 2. Plasticity of CD4⁺ T Cells. Recent findings suggest that T helper cell differentiation is more plastic than previously appreciated. Each CD4⁺ T cell subset can adopt alternate cytokine profiles in response to cytokine environmental changes. Among four subsets of T cells, Treg cells and Th17 cells display the highest propensity to switch to other phenotypes. The molecular mechanism underlying this plasticity may be related to poised, bivalent epigenetic states (i.e., permissive H3K4me3 plus repressive H3K27me3 marks) at the transcriptional regulator (e.g., T-bet and Gata3) gene loci. Consistent with permissive epigenetic marks at Foxp3 and RORγt gene loci, coexpression of Foxp3 and RORγt occurs in Treg cells, but RORγt activity is inhibited by Foxp3. Reprinted from Fig. 2 of reference [49].

더 잘 조절할 수 있다는 사실이 알려졌다(53). 따라서 조절 T 세포가 작동 사이토카인을 발현한다는 사실만으로 가변성을 이야기할 수는 없으며, 안정적인 Foxp3 발현의 여부가 그 구별의 기준이 될 것이다(38).

(5) 보조면역억제 치료: 전임상실험 결과들을 보면, 조절 T 세포 치료 단독으로는 동종이식편에 대한 거부반응을 완전히 막을 수는 없다. 따라서 조절 T 세포가 면역 관용을 유지하기 위한 시간을 벌어줄 수 있는 보조면역억제 치료가 필요하다. 특히 공여자-특이적 작동 T 세포를 줄여줄 수 있는 약제가 필수적이라고 생각되는데(54,55), thymoglobulin과 항-CD3 항체가 조절 T 세포 치료의 도입치료(induction therapy)제로써 그 역할을 해줄 수 있을 것으로 기대된다. Thymoglobulin은 T 세포 제거 항체로써 급성 거부반응을 보이는 이식환자에게 흔히 사용되고 있다(56). Thymoglobulin을 도입치료제로 사용했을 때 작동 T 림프구를 주로 제거함으로써 조절 T 림프구의 비율을 높인다는 사실이 확인되었고(57,58), 항-CD3 항체 또한 같은 효과를 보인다(59). 또한 공여자의 전혈을 수혈하는 공여자-특이적 수혈(donor-specific transfusion)을 항-CD40L 항체 등의 보조자극 차단(costimulation blockade)과 함께 제공할 경우 공여자-특이적 T 세포를 선택적으로 제거하거나 무력화시킬 수 있다(60-63). 이러한 T 세포 제거약제 처리 이후에, 어떤 면역억제 치료를 유지하는지에 따라 기억 T 세포(memory T cell) 및 작동 T 세포의 항상성 증식(homeostatic proliferation)에 차이가 있을 수 있어 조절 T 세포와의 비율이 달라질 수 있다(58). 따라서, T 세포 제거 후 면역억제제의 선택이 조절 T 림프구의 효능과 면역관용 유도 여부에 큰 영향을 미친다. 치료용으로 작용하는 조절 T 세포가 관용 감염을 통해 기존의 T 세포들이 면역 관용 특성을 가지게끔 유도할 것으로 생각되므로, 부분적인 T 세포 활성화는 생체 내에서 조절 T 세포 확장에 도움이 될 것이고(64), 과도한 면역억제는 조절 T 세포의 기능 또한 억제할 것으로 생각된다(65). 따라서 이상적인 보조면역억제 치료는 작동 T 세포를 주로 억제하면서 조절 T 세포의 항상성과 기능은 최소한으로 방해해야만 한다. 이식에서 흔히 쓰이는 calcineurin inhibitor인 cyclosporine A와 tacrolimus의 경우 nuclear factor of activated t cells (NFAT)를 억제하는데, 이 전사인자는 조절 T 세포의 기능에도 중요하다(66,67). 몇몇 연구결과에서는 조절 T 세포가 작동 T 세포에 비해서는 calcineurin inhibitor에 저항성이 있다고 하며(68,69), 이는 저용량으로 사용할 경우 calcineurin inhibitor가 조절 T 세포의 기능을 보존할 수 있을 가능성을 시사한다. Mammalian target of rapa-

mycin (mTOR)를 억제하는 rapamycin을 사용하면 조절 T 세포의 증식과 기능에 도움이 된다는 사실이 *in vitro* 및 생쥐 이식모델에서 밝혀졌다(70-74). T 세포에서 mTOR는 CD28 또는 IL-2 수용체 신호에 의해 활성화되는 phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)의 이하 단계 신호물질이다(75). IL-2 수용체 신호는 PI3K-mTOR와 Janus kinase-STAT 경로를 활성화시키는데, 조절 T 세포에서의 IL-2 수용체 신호의 경우 PI3K-mTOR 경로는 저하되어 있고, Janus kinase-STAT 경로는 활성화되어 있어서, 조절 T 세포가 mTOR inhibition에 저항성이 있다는 사실을 알 수 있다(76). 따라서, 조절 T 세포에 도움을 주는 보조면역억제 치료제로 rapamycin을 유용하게 사용할 수 있다. 항-CD25 항체, CTLA-4Ig, 항-LFA1 항체, 항-CD20 항체 등이 새로운 생물학적 제제로써 이식환자의 면역체계를 조절하는 데에 시험적으로 사용되기 시작하고 있다(77-79). 하지만 이 제제들이 조절 T 세포에 미칠 수 있는 영향에 대해서는 이제 겨우 조사가 시작되고 있는 수준이고, 특히 항-CD25 항체는 조절 T 세포를 제거할 수 있는 가능성, CTLA-4Ig는 조절 T 세포의 생성 및 유지에 중요한 CD28 신호에 영향을 줄 가능성 등이 있으므로 조절 T 세포 치료와 함께 사용하기 위해서는 철저한 사전검증이 필요할 것으로 생각된다.

4) 조절 T 세포를 이용한 최근 임상시험 결과

조절 T 세포를 임상에 적용하고자 하는 노력은 graft-versus-host-disease (GvHD)에서 처음 시작되었다. 선천 면역결핍(congenital immunodeficiency) 환자나 혈액 암(hematological malignancy) 환자에 대한 일반적인 치료법은 골수(bone marrow)나 조혈모세포(hematopoietic cell)를 이식하는 것이다. 혈액암환자에서 골수이식 시 포함되는 공여자(donor) 성숙 T 세포나 자연 살해 세포는 수여자(recipient)의 암세포를 제거하는 graft-versus-leukemia (GvL) 효과를 보이지만, 반대로 수증자의 정상세포를 공격하여 GvHD를 야기한다. 설치류를 이용한 GvHD 연구에서 Cohen 등(80), Tayler 등(37) 및 Edinger 등(81)은 공여자 조절 T 세포를 함께 주입하면 획기적으로 GvHD 문제를 극복할 수 있음을 보여주었다. 이러한 연구 결과를 바탕으로 현재까지 3건의 임상시험결과가 발표되고 있다. Trzonkowski 등(82)에 의해 처음 발표된 치료효과를 보면, 환자는 만성 GvHD를 2년째 앓고 있었는데, 공여자의 혈액에서 분리 후 증식시킨 조절 T 세포를 약 0.1×10^6 /kg 정도 이식 받은 후 별다른 면역 억제제를 사용하지 않아도 될 만큼 상태가 호전되었다. Brunstein 등(83)은 좀 더 많은 환자수의 임상 1상 결과

를 2010년에 발표하였다. 진행형 혈액암(advanced hematological malignancy)을 가진 환자 32명을 대상으로 한 임상시험으로, 제대혈(umbilical cord blood) 이식을 실시한 후 제3자에게서 얻은 조절 T 세포를 증식하여 약 6×10^6 /kg 정도 환자에게 넣어주었는데 1년 후 GvHD의 발병비율을 현저하게 낮추어 주는 효과를 보였다. Di Ianni 등(84)은 악성 혈액암을 대상으로 한 연구결과를 2011년에 발표하였다. 28명을 대상으로 한 이 연구에서, 환자는 공여자 조절 T 세포를 2×10^6 /kg 정도를 이식 받은 4일 후 조절 T 세포와 공여자 T 세포 (1×10^6 /kg)를 이식 받았다. 그 결과 면역억제제를 사용하지 않았음에도 면역세포의 재구성(reconstitution)이 호전되고, 암의 재발 및 GvHD의 발병률이 현저히 저하되는 효과를 보였다. GvHD 환자를 대상으로 하는 이러한 조절 T 세포의 치료효과를 볼 때 향후 고형장기 이식분야에서도 조절 T 세포를 이용한 면역 관용 유도 및 이에 따른 이식편의 장기생존이 가능할 것으로 기대된다.

결론

설치류와 영장류를 대상으로 하는 다년간의 연구에서 조절 T 세포는 이식 분야에서 수용자 면역 관용을 유도하고 면역거부반응을 억제할 수 있음을 보여주었다. 선천적 면역결핍 및 혈액암환자를 대상으로 하는 골수이식에서 조절 T 세포의 acute GvHD 억제 효과는 조절 T 세포가 세포 및 고형장기의 이식 시 면역거부반응을 극복하기 위한 치료제로 이용될 수 있는 가능성을 열어주었다. 하지만 조절 T 세포가 향후 사람을 대상으로 하는 치료제로 이용되기 위해서는 첫째, 임상 면역억제 프로토콜이 철저히 조절 T 세포 기능과 항상성을 유지시킬 수 있는 조합으로 이루어져야 한다. 둘째, 명확한 조절 T 세포 증식 및 제조법이 확립되어야 한다. 마지막으로 조절 T 세포를 투여 받은 환자는 철저한 면역세포 모니터링이 이루어져서 그 기능과 역할이 명확하게 규명되어야 한다. 잘 규명된 면역학적인 지식과 신중한 치료법 개발이 이루어진다면 앞으로 이식분야에서 조절 T 세포를 이용한 치료법 개발은 그 전망이 매우 밝다. 조절 T 세포 요법이 임상에 널리 적용되기 위해서는 어느 정도 양의 조절 T 세포 주입이 가능하고 또 안전한지 등 안전성에 대한 임상시험이 선행되어야 하겠다.

REFERENCES

- 1) Wood KJ, Sakaguchi S. Regulatory T cells in transplantation tolerance. *Nat Rev Immunol* 2003;3:199-210.
- 2) Bluestone JA, Tang Q. Therapeutic vaccination using CD4+CD25+ antigen-specific regulatory T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101 Suppl 2:14622-6.
- 3) Walsh PT, Taylor DK, Turka LA. Tregs and transplantation tolerance. *J Clin Invest* 2004;114:1398-403.
- 4) Kang SM, Tang Q, Bluestone JA. CD4+CD25+ regulatory T cells in transplantation: progress, challenges and prospects. *Am J Transplant* 2007;7:1457-63.
- 5) Sagoo P, Lombardi G, Lechler RI. Regulatory T cells as therapeutic cells. *Curr Opin Organ Transplant* 2008;13:645-53.
- 6) Waldmann H, Adams E, Fairchild P, Cobbold S. Regulation and privilege in transplantation tolerance. *J Clin Immunol* 2008;28:716-25.
- 7) Long E, Wood KJ. Regulatory T cells in transplantation: transferring mouse studies to the clinic. *Transplantation* 2009;88:1050-6.
- 8) Sakaguchi S, Takahashi T, Nishizuka Y. Study on cellular events in post-thymectomy autoimmune oophoritis in mice. II. Requirement of Lyt-1 cells in normal female mice for the prevention of oophoritis. *J Exp Med* 1982;156:1577-86.
- 9) Sakaguchi S, Takahashi T, Nishizuka Y. Study on cellular events in postthymectomy autoimmune oophoritis in mice. I. Requirement of Lyt-1 effector cells for oocytes damage after adoptive transfer. *J Exp Med* 1982;156:1565-76.
- 10) Powrie F, Mason D. OX-22high CD4+ T cells induce wasting disease with multiple organ pathology: prevention by the OX-22low subset. *J Exp Med* 1990;172:1701-8. Erratum in: *J Exp Med* 1991;173:1037.
- 11) Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995;155:1151-64.
- 12) Bennett CL, Christie J, Ramsdell F, Brunkow ME, Ferguson PJ, Whitesell L, et al. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet* 2001;27:20-1.
- 13) Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003;299:1057-61.
- 14) Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol* 2003;4:330-6.
- 15) Khattry R, Cox T, Yasayko SA, Ramsdell F. An essential role for Scurfin in CD4+CD25+ T regulatory cells. *Nat Immunol* 2003;4:337-42.
- 16) Walker MR, Kaspirowicz DJ, Gersuk VH, Benard A, Van Landeghen M, Buckner JH, et al. Induction of FoxP3 and acquisition of T regulatory activity by stimulated human CD4+CD25- T cells. *J Clin Invest* 2003;112:

- 1437-43.
- 17) Groux H, O'Garra A, Bigler M, Rouleau M, Antonenko S, de Vries JE, et al. A CD4+ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature* 1997;389:737-42.
 - 18) Zelenika D, Adams E, Humm S, Graca L, Thompson S, Cobbold SP, et al. Regulatory T cells overexpress a subset of Th2 gene transcripts. *J Immunol* 2002;168:1069-79.
 - 19) Curotto de Lafaille MA, Lafaille JJ. Natural and adaptive foxp3+ regulatory T cells: more of the same or a division of labor? *Immunity* 2009;30:626-35.
 - 20) Graca L, Le Moine A, Cobbold SP, Waldmann H. Dominant transplantation tolerance. *Opinion. Curr Opin Immunol* 2003;15:499-506.
 - 21) Qin S, Cobbold SP, Pope H, Elliott J, Kioussis D, Davies J, et al. "Infectious" transplantation tolerance. *Science* 1993;259:974-7.
 - 22) Graca L, Honey K, Adams E, Cobbold SP, Waldmann H. Cutting edge: anti-CD154 therapeutic antibodies induce infectious transplantation tolerance. *J Immunol* 2000;165:4783-6.
 - 23) Kendal AR, Waldmann H. Infectious tolerance: therapeutic potential. *Curr Opin Immunol* 2010;22:560-5.
 - 24) Levings MK, Sangregorio R, Sartirana C, Moschin AL, Battaglia M, Orban PC, et al. Human CD25+CD4+ T suppressor cell clones produce transforming growth factor beta, but not interleukin 10, and are distinct from type 1 T regulatory cells. *J Exp Med* 2002;196:1335-46.
 - 25) Weiner HL. Induction and mechanism of action of transforming growth factor-beta-secreting Th3 regulatory cells. *Immunol Rev* 2001;182:207-14.
 - 26) Collison LW, Chaturvedi V, Henderson AL, Giacomini PR, Guy C, Bankoti J, et al. IL-35-mediated induction of a potent regulatory T cell population. *Nat Immunol* 2010;11:1093-101.
 - 27) Graca L, Thompson S, Lin CY, Adams E, Cobbold SP, Waldmann H. Both CD4(+)CD25(+) and CD4(+)CD25(-) regulatory cells mediate dominant transplantation tolerance. *J Immunol* 2002;168:5558-65.
 - 28) Feng G, Wood KJ, Bushell A. Interferon-gamma conditioning ex vivo generates CD25+CD62L+Foxp3+ regulatory T cells that prevent allograft rejection: potential avenues for cellular therapy. *Transplantation* 2008;86:578-89.
 - 29) Cobbold SP, Castejon R, Adams E, Zelenika D, Graca L, Humm S, et al. Induction of foxP3+ regulatory T cells in the periphery of T cell receptor transgenic mice tolerized to transplants. *J Immunol* 2004;172:6003-10.
 - 30) Turnquist HR, Raimondi G, Zahorchak AF, Fischer RT, Wang Z, Thomson AW. Rapamycin-conditioned dendritic cells are poor stimulators of allogeneic CD4+ T cells, but enrich for antigen-specific Foxp3+ T regulatory cells and promote organ transplant tolerance. *J Immunol* 2007;178:7018-31.
 - 31) Lee I, Wang L, Wells AD, Dorf ME, Ozkaynak E, Hancock WW. Recruitment of Foxp3+ T regulatory cells mediating allograft tolerance depends on the CCR4 chemokine receptor. *J Exp Med* 2005;201:1037-44.
 - 32) Fan Z, Spencer JA, Lu Y, Pitsillides CM, Singh G, Kim P, et al. In vivo tracking of 'color-coded' effector, natural and induced regulatory T cells in the allograft response. *Nat Med* 2010;16:718-22.
 - 33) Kendal AR, Chen Y, Regateiro FS, Ma J, Adams E, Cobbold SP, et al. Sustained suppression by Foxp3+ regulatory T cells is vital for infectious transplantation tolerance. *J Exp Med* 2011;208:2043-53.
 - 34) Earle KE, Tang Q, Zhou X, Liu W, Zhu S, Bonyhadi ML, et al. In vitro expanded human CD4+CD25+ regulatory T cells suppress effector T cell proliferation. *Clin Immunol* 2005;115:3-9.
 - 35) Zhou X, Kong N, Wang J, Fan H, Zou H, Horwitz D, et al. Cutting edge: all-trans retinoic acid sustains the stability and function of natural regulatory T cells in an inflammatory milieu. *J Immunol* 2010;185:2675-9.
 - 36) Huter EN, Stummvoll GH, DiPaolo RJ, Glass DD, Shevach EM. Cutting edge: antigen-specific TGF beta-induced regulatory T cells suppress Th17-mediated autoimmune disease. *J Immunol* 2008;181:8209-13.
 - 37) Taylor PA, Lees CJ, Blazar BR. The infusion of ex vivo activated and expanded CD4(+)CD25(+) immune regulatory cells inhibits graft-versus-host disease lethality. *Blood* 2002;99:3493-9.
 - 38) Tang Q, Bluestone JA, Kang SM. CD4(+)Foxp3(+) regulatory T cell therapy in transplantation. *J Mol Cell Biol* 2012;4:11-21.
 - 39) Brennan TV, Tang Q, Liu FC, Hoang V, Bi M, Bluestone JA, et al. Requirements for prolongation of allograft survival with regulatory T cell infusion in lymphosufficient hosts. *J Surg Res* 2011;169:e69-75.
 - 40) Golshayan D, Jiang S, Tsang J, Garin MI, Mottet C, Lechler RI. In vitro-expanded donor alloantigen-specific CD4+CD25+ regulatory T cells promote experimental transplantation tolerance. *Blood* 2007;109:827-35.
 - 41) Nadig SN, Wieckiewicz J, Wu DC, Warnecke G, Zhang W, Luo S, et al. In vivo prevention of transplant arteriosclerosis by ex vivo-expanded human regulatory T cells. *Nat Med* 2010;16:809-13.
 - 42) Sagoo P, Ali N, Garg G, Nestle FO, Lechler RI, Lombardi G. Human regulatory T cells with alloantigen specificity are more potent inhibitors of alloimmune skin graft damage than polyclonal regulatory T cells. *Sci Transl Med* 2011;3:83ra42.
 - 43) Trenado A, Charlotte F, Fisson S, Yagello M, Klatzmann D, Salomon BL, et al. Recipient-type specific CD4+CD25+ regulatory T cells favor immune reconstitution and control graft-versus-host disease while maintaining graft-versus-leukemia. *J Clin Invest* 2003;112:1688-96.
 - 44) Tsang JY, Tanriver Y, Jiang S, Xue SA, Ratnasothy K, Chen D, et al. Conferring indirect allospecificity on CD4+CD25+ Tregs by TCR gene transfer favors transplantation tolerance in mice. *J Clin Invest* 2008;

- 118:3619-28.
- 45) Zhang N, Schröppel B, Lal G, Jakubzick C, Mao X, Chen D, et al. Regulatory T cells sequentially migrate from inflamed tissues to draining lymph nodes to suppress the alloimmune response. *Immunity* 2009;30:458-69.
 - 46) Lin CY, Graca L, Cobbold SP, Waldmann H. Dominant transplantation tolerance impairs CD8+ T cell function but not expansion. *Nat Immunol* 2002;3:1208-13.
 - 47) Ochando JC, Yopp AC, Yang Y, Garin A, Li Y, Boros P, et al. Lymph node occupancy is required for the peripheral development of alloantigen-specific Foxp3+ regulatory T cells. *J Immunol* 2005;174:6993-7005.
 - 48) Zhou X, Bailey-Bucktrout S, Jeker LT, Bluestone JA. Plasticity of CD4(+) FoxP3(+) T cells. *Curr Opin Immunol* 2009;21:281-5.
 - 49) Zhou L, Chong MM, Littman DR. Plasticity of CD4+ T cell lineage differentiation. *Immunity* 2009;30:646-55.
 - 50) Zheng Y, Josefowicz S, Chaudhry A, Peng XP, Forbush K, Rudensky AY. Role of conserved non-coding DNA elements in the Foxp3 gene in regulatory T-cell fate. *Nature* 2010;463:808-12.
 - 51) Floess S, Freyer J, Siewert C, Baron U, Olek S, Polansky J, et al. Epigenetic control of the foxp3 locus in regulatory T cells. *PLoS Biol* 2007;5:e38.
 - 52) Wieczorek G, Asemussen A, Model F, Turbachova I, Floess S, Liebenberg V, et al. Quantitative DNA methylation analysis of FOXP3 as a new method for counting regulatory T cells in peripheral blood and solid tissue. *Cancer Res* 2009;69:599-608.
 - 53) Campbell DJ, Koch MA. Phenotypical and functional specialization of FOXP3+ regulatory T cells. *Nat Rev Immunol* 2011;11:119-30.
 - 54) Wells AD, Li XC, Li Y, Walsh MC, Zheng XX, Wu Z, et al. Requirement for T-cell apoptosis in the induction of peripheral transplantation tolerance. *Nat Med* 1999;5:1303-7.
 - 55) Xia G, He J, Leventhal JR. Ex vivo-expanded natural CD4+CD25+ regulatory T cells synergize with host T-cell depletion to promote long-term survival of allografts. *Am J Transplant* 2008;8:298-306.
 - 56) Deeks ED, Keating GM. Rabbit antithymocyte globulin (thymoglobulin): a review of its use in the prevention and treatment of acute renal allograft rejection. *Drugs* 2009;69:1483-512.
 - 57) Lopez M, Clarkson MR, Albin M, Sayegh MH, Najafian N. A novel mechanism of action for anti-thymocyte globulin: induction of CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:2844-53.
 - 58) Morelon E, Lefrançois N, Besson C, Prévautel J, Brunet M, Touraine JL, et al. Preferential increase in memory and regulatory subsets during T-lymphocyte immune reconstitution after Thymoglobulin induction therapy with maintenance sirolimus vs cyclosporine. *Transpl Immunol* 2010;23:53-8.
 - 59) Penaranda C, Tang Q, Bluestone JA. Anti-CD3 therapy promotes tolerance by selectively depleting pathogenic cells while preserving regulatory T cells. *J Immunol* 2011;187:2015-22.
 - 60) Quezada SA, Fuller B, Jarvinen LZ, Gonzalez M, Blazar BR, Rudensky AY, et al. Mechanisms of donor-specific transfusion tolerance: preemptive induction of clonal T-cell exhaustion via indirect presentation. *Blood* 2003;102:1920-6.
 - 61) van Maurik A, Fazekas de St Groth B, Wood KJ, Jones ND. Dependency of direct pathway CD4+ T cells on CD40-CD154 costimulation is determined by nature and microenvironment of primary contact with alloantigen. *J Immunol* 2004;172:2163-70.
 - 62) Luo X, Pothoven KL, McCarthy D, DeGutes M, Martin A, Getts DR, et al. ECDI-fixed allogeneic splenocytes induce donor-specific tolerance for long-term survival of islet transplants via two distinct mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:14527-32.
 - 63) Chen TC, Waldmann H, Fairchild PJ. Induction of dominant transplantation tolerance by an altered peptide ligand of the male antigen DbY. *J Clin Invest* 2004;113:1754-62.
 - 64) Sho M, Kishimoto K, Harada H, Livak M, Sanchez-Fueyo A, Yamada A, et al. Requirements for induction and maintenance of peripheral tolerance in stringent allograft models. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:13230-5.
 - 65) Li Y, Li XC, Zheng XX, Wells AD, Turka LA, Strom TB. Blocking both signal 1 and signal 2 of T-cell activation prevents apoptosis of alloreactive T cells and induction of peripheral allograft tolerance. *Nat Med* 1999;5:1298-302.
 - 66) Rudensky AY, Gavin M, Zheng Y. FOXP3 and NFAT: partners in tolerance. *Cell* 2006;126:253-6.
 - 67) Tone Y, Furuuchi K, Kojima Y, Tykocinski ML, Greene MI, Tone M. Smad3 and NFAT cooperate to induce Foxp3 expression through its enhancer. *Nat Immunol* 2008;9:194-202.
 - 68) Brandt C, Pavlovic V, Radbruch A, Worm M, Baumgrass R. Low-dose cyclosporine A therapy increases the regulatory T cell population in patients with atopic dermatitis. *Allergy* 2009;64:1588-96.
 - 69) Calvo-Turrubiarres M, Romano-Moreno S, García-Hernández M, Chevaile-Ramos JA, Layseca-Espinosa E, González-Amaro R, et al. Quantitative analysis of regulatory T cells in kidney graft recipients: a relationship with calcineurin inhibitor level. *Transpl Immunol* 2009;21:43-9.
 - 70) Battaglia M, Stabilini A, Roncarolo MG. Rapamycin selectively expands CD4+CD25+FoxP3+ regulatory T cells. *Blood* 2005;105:4743-8.
 - 71) Delgoffe GM, Kole TP, Zheng Y, Zarek PE, Matthews KL, Xiao B, et al. The mTOR kinase differentially regulates effector and regulatory T cell lineage commitment. *Immunity* 2009;30:832-44.
 - 72) Coenen JJ, Koenen HJ, van Rijssen E, Kasran A, Boon L, Hilbrands LB, et al. Rapamycin, not cyclosporine, per-

- mits thymic generation and peripheral preservation of CD4+ CD25+ FoxP3+ T cells. *Bone Marrow Transplant* 2007;39:537-45.
- 73) Gao W, Lu Y, El Essawy B, Oukka M, Kuchroo VK, Strom TB. Contrasting effects of cyclosporine and rapamycin in de novo generation of alloantigen-specific regulatory T cells. *Am J Transplant* 2007;7:1722-32.
- 74) Kopf H, de la Rosa GM, Howard OM, Chen X. Rapamycin inhibits differentiation of Th17 cells and promotes generation of FoxP3+ T regulatory cells. *Int Immunopharmacol* 2007;7:1819-24.
- 75) Thomson AW, Turnquist HR, Raimondi G. Immunoregulatory functions of mTOR inhibition. *Nat Rev Immunol* 2009;9:324-37.
- 76) Zeiser R, Leveson-Gower DB, Zambricki EA, Kambham N, Beilhack A, Loh J, et al. Differential impact of mammalian target of rapamycin inhibition on CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells compared with conventional CD4+ T cells. *Blood* 2008;111:453-62.
- 77) Vincenti F, Kirk AD. What's next in the pipeline. *Am J Transplant* 2008;8:1972-81.
- 78) Snanoudj R, Zuber J, Legendre C. Co-stimulation blockade as a new strategy in kidney transplantation: benefits and limits. *Drugs* 2010;70:2121-31.
- 79) Węclawiak H, Kamar N, Ould-Mohamed A, Cardeau-Desangles I, Rostaing L. Biological agents in kidney transplantation: belatacept is entering the field. *Expert Opin Biol Ther* 2010;10:1501-8.
- 80) Cohen JL, Trenado A, Vasey D, Klatzmann D, Salomon BL. CD4(+)CD25(+) immunoregulatory T Cells: new therapeutics for graft-versus-host disease. *J Exp Med* 2002;196:401-6.
- 81) Edinger M, Hoffmann P, Ermann J, Drago K, Fathman CG, Strober S, et al. CD4+CD25+ regulatory T cells preserve graft-versus-tumor activity while inhibiting graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *Nat Med* 2003;9:1144-50.
- 82) Trzonkowski P, Bieniaszewska M, Juścińska J, Dobyszek A, Krzystyniak A, Marek N, et al. First-in-man clinical results of the treatment of patients with graft versus host disease with human ex vivo expanded CD4+CD25+CD127-T regulatory cells. *Clin Immunol* 2009;133:22-6.
- 83) Brunstein CG, Miller JS, Cao Q, McKenna DH, Hippen KL, Curtsinger J, et al. Infusion of ex vivo expanded T regulatory cells in adults transplanted with umbilical cord blood: safety profile and detection kinetics. *Blood* 2011;117:1061-70.
- 84) Di Ianni M, Falzetti F, Carotti A, Terenzi A, Castellino F, Bonifacio E, et al. Tregs prevent GVHD and promote immune reconstitution in HLA-haploidentical transplantation. *Blood* 2011;117:3921-8.
- 85) Beissert S, Schwarz A, Schwarz T. Regulatory T cells. *J Invest Dermatol* 2006;126:15-24.
- 86) Cobbold SP, Adams E, Nolan KF, Regateiro FS, Waldmann H. Connecting the mechanisms of T-cell regulation: dendritic cells as the missing link. *Immunol Rev* 2010;236:203-18.