

마우스 내장 림프조직에서 우세하게 발현되는 IgA Isotype Switching 관련 전사체의 분석

강원대학교 ¹자연대학 미생물학과, ²혈관연구센터

채병철¹ · 전성기¹ · 서구영¹ · 김현아¹ · 김평현^{1,2}

Preferential Expression of IgA Isotype Switching-associated Transcripts in Mouse Intestinal Lymphoid Tissues

Byung-Chul Chae¹, Sung-Ki Chun¹, Goo-Young Seo¹, Hyun-A Kim¹ and Pyeung-Hyeun Kim^{1,2}

¹Department of Microbiology, College of Natural Sciences, ²Vascular System Research Center, Kangwon National University, Chunchon, S. Korea

ABSTRACT

Background: Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) directs class switch recombination (CSR) to IgA isotype, which is a predominant antibody in mucosal surfaces. Although IgA is preferentially committed in mucosal lymphoid tissues, it is not definitely established whether hallmarks of IgA CSR such as IgA germ-line transcripts (GLT α), post-switch transcripts (PST α) and circle transcripts (CT α) are readily expressed in such tissues. Therefore, we compared the expression of these transcripts among mouse Peyer's patches (PP), mesenteric lymph nodes (MLN), and spleen. **Methods:** Levels of GLTs, PSTs and CTs were measured by RT-PCR in isolated PPs, MLNs and spleen cells. **Results:** GLT α and PST α were well expressed in PP and MLN cells but in spleen cells. Similar patterns were observed in the expression of GLV2b and PSTV2b. On the other hand, these transcripts were only inducible in spleen cells upon stimulated with LPS and TGF- β 1. In addition, CT α and CTV2b were detected in PP cells. **Conclusion:** PP B cells readily express IgA GLT, PST, and CT. Overall expression patterns of these transcripts were similar in MLN cells. Thus, these results suggest that microenvironment of PP and MLN influences spontaneous IgA CSR, which lacks in systemic lymphoid tissues such as spleen. (**Immune Network 2005;5(4):215-220**)

Key Words: TGF- β 1, IgA, CSR, GLT, PST, CT, PPs, MLNs

서 론

B cell의 분화과정에서 중요한 위치를 차지하는 Ig class switch recombination (CSR)은 DNA 수준에서 새로운 downstream heavy chain의 constant region (C_H) 유전자와 variable region gene segment (VDJ)의 재조합에 의해 일어난다. CSR은 C δ 를 제외한 각각의 CH 유전자의 5'쪽에 위치하는 switch region (S region) 사이에서 일어나는

deletional recombination에 의해 이루어진다(1). 이러한 CSR의 선행 단계로서 S region의 5'쪽 인트론 상에 위치하는 프로모터의 활성화에 의해 해당 CH 유전자의 germ-line transcripts (GLT)가 생성된다(2). 이와 같은 GLT의 발현은 CSR의 완성에 필수적인 단계로 알려져 있다(3,4). DNA상에서 CSR이 성공적으로 일어나면 IgM 인트론(I μ) 프로모터의 활성화로 switching된 CH 유전자를 포함하는 전사체가 생성되는데 이를 post-switch transcripts (PST)라 부른다(5). 이 때 DNA 재조합으로 제거된 원형의 DNA가 분리되어 나타나는데 특이하게도 여기에 여전히 남아있는 인트론 프로모터의 활성화에 의해 전사체가 생긴다. 이를 circle transcripts (CT)라 부른다(6). 이와 같이 CSR 과정에서 발현되는 GLT, PST, CT는 특정 CSR을 모니터링할 수 있는 지표로 활용되고 있다(5-7).

책임저자 : 김평현, 강원대학교 자연대학 미생물학과
☎ 200-701, 강원도 춘천시 효자 2동 192-1
Tel: 033-250-8546, Fax: 033-241-4627
E-mail: phkim@kangwon.ac.kr

이 논문은 2004년도 한국학술진흥재단의 지원에 의하여 연구되었음(KRF-2004-015-E00140).

IgA는 내장을 비롯한 점막조직에서 최초의 방어를 담당하는 중요한 항체이다. Peyer's patches (PP)는 gut-associated lymphoid tissue (GALT)의 하나로 IgA CSR이 일어나는 중요한 장소이며, PP에서 활성화된 B cell은 mesenteric lymph nodes (MLN)을 지나 흉관을 통해 혈액으로 유입된다. 이후 B cell은 분비점막조직으로 이동하는데 내장의 경우 lamina propria로 homing한 후 plasma cell로 분화되어 dimeric형의 IgA 항체를 합성한다. 이 항체는 상피세포를 통과하면서 분비형 IgA (secretory IgA)로 되어 장강으로 분비된다(8).

Transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1)은 IgA 항체 합성을 유도하는 강력한 cytokine으로 잘 알려져 있다(9-11). 성숙한 B cell이 항원의 자극과 함께 TGF- β 1의 영향을 받으면 IgA CSR을 유도하며 마우스에서는 IgG2b CSR도 유도한다(12,13). 또한, TGF- β 1은 IgA GLT (GLT α) 발현을 마우스, 사람, 토끼에서 증가시킨다(14-19). 아울러 TGF- β 1은 LPS로 자극된 마우스 비장 B cell에서 IgA PST (PST α)와 IgA CT (CT α)를 유도하고 PST γ 2b와 CT γ 2b의 발현을 증가시킨다(6,7). 마지막으로 마우스 PP의 B220⁺IgA⁺ 세포에서도 GLT α 의 발현이 관찰된 바 있다(20). 그러나 아직까지 내장 림프조직에서 IgA CSR의 지표가 되는 GLT, PST, CT 전사체 발현에 대해 구체적으로 조사된 바 없다.

본 연구에서는 전신면역을 담당하는 비장과 비교하여 내장 점막림프조직에서 IgA CSR이 실제로 우세하게 일어나는지를 관찰하였다. 즉 PP, MLN, 비장 B cell이 발현하는 IgA GLT, PST, CT 전사체 발현을 비교 조사하였다. PP의 B cell은 IgA GLT, PST, CT를 우세하게 발현하였으며, MLN B cell에서도 비슷한 현상이 관찰되었다. 이와 같은 결과는 전신면역조직과는 다르게 점막림프조직에서는 그 미세환경이 IgA CSR을 활발하게 유도함을 시사한다.

재료 및 방법

실험동물. BALB/c 마우스는 대한 바이오링크에서 분양 받아 강원대학교 미생물학과 동물환경조정실에서 사육하였으며, 생후 8~12주 된 마우스를 실험에 사용하였다.

세포 및 세포 배양 조건. 5~6마리 마우스를 경부탈골법을 사용하여 치사시킨 후, 해부관 위에 사지를 고정하여 blunted scissor를 사용하여 복강을 절개하였다. 내장에 있는 PP와 MLN을 적출하여 20 ml의 0.01 M PBS가 담긴 petri dish에 옮긴 다음 cryotube에 담아 액체질소에 넣어 얼렸다(21,22). 실험에 사용할 때 꺼내 분쇄하여 RNA를 분리하였다.

비장을 적출하여 20 ml의 0.01 M PBS가 담긴 petri dish에 옮긴 다음 핀셋을 이용하여 세포를 얻었다. 비장은

핀셋으로 분쇄한 후 세포현탁액을 600 g에서 원심 분리하였다. 획득된 세포에 0.83% ammonium chloride 5 ml을 넣어 적혈구를 파괴한 뒤 HBSS로 3번 세척한 후 10% FBS RPMI-1640에 현탁하였다. 세포배양액으로 10% FBS, penicillin (100 unit/ml) 및 streptomycin (100 μ g/ml) 혼합 용액 (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo. USA), 2 mM L-glutamine (Sigma), 5 mM HEPES (Sigma), 50 μ M의 2-mercaptoethanol (Sigma)을 함유한 RPMI 1640 (Sigma)을 0.22 μ m 크기의 filter로 여과하여 사용하였으며, 5% CO₂, 37°C의 95% 습도가 유지되는 배양기에서 배양하였다. 마우스 재조합 TGF- β 1은 R&D system (Minneapolis, MN, USA)에서 구입하여 1 mg/ml BSA가 포함된 4 mM HCl buffer에 희석하여 사용하였다. LPS (*Escherichia coli* serotype 0111:B4), RPMI-1640과 HBSS는 Sigma로부터 구입하였다.

RT-PCR을 통한 GLT, PST, CT의 발현 조사. 준비된 세포(0.5~1 \times 10⁷)는 TRIzol (Invitrogen, Gaithersburg, MD, USA)을 사용하여 RNA를 분리하였다. 준비된 각 RNA 2 μ g를 10 mM의 Tris, 50 mM의 MgCl₂, 각각 1 mM의 dATP, dCTP, dGTP와 dTTP, 20 U의 RNasin (ribonuclease inhibitor; Promega, Wisconsin, USA), 0.1 μ g의 oligo (dT)15 (Boehringer Mannheim, Switzerland)과 50 U M-MLV reverse transcriptase (Invitrogen)를 포함하는 buffer 20 μ l가 담긴 PCR tube에 넣고 37°C에서 1시간 동안 역전사시킨 후 95°C에서 10분 동안 열처리하고 4°C에서 안정화시켰다. GLT를 측정하기 위한 primer는 다음과 같다. GLT_{I α -Ca}: sense, (5-CTACCATAGGGAAGATAGCCT-3); antisense, (5-TAATCGTGAATCAGGCAG-3); product size, 207 bp. GLT_{I γ 2b-C γ 2b}: sense, (5-GGGAGAGCACTGGGCC TT-3); antisense, (5-AGTCACTGACTCAGGGAA-3); product size, 318 bp. GLT_{I γ 1-C γ 1}: sense, (5-CAGCCTGGTGT CAACTAG-3); antisense, (5-CTGTACATATGCAAGGCT-3); product size 523 bp. PST를 측정하기 위한 primer는 다음과 같다. PST_{I α -Ca}: sense, (5-ACCTGGGAATGTATGGT TGTGGCTT-3); antisense, (5-TAATCGTGAATCAGGCAG-3); product size 224 bp. PST_{I α -C γ 2b}: sense, (5-ACCTGGGAATGTATGGTTGTGGCTT-3); antisense, (5-AGTCACTGACTCAGGGAA-3); product size 246 bp. PST_{I α -C γ 1}: sense, (5-ACCTGGGAATGTATGGTTGTGGCTT-3); antisense, (5-CTGTACATATGCAAGGCT-3); product size 532 bp. CT의 측정하기 위한 primer는 다음과 같다. CT_{I α -C α} : sense, (5-CTACCATAGGGAAGATAGCCT-3); antisense, (5-TCTGAACCTTCAAGGATGCTCTTG-3); product size 365 bp. CT_{I γ 2b-C α} : sense, (5-CCTAAGCTCTCTACCATAG G-3); antisense, (5-ACCTGGGAATGTATGGTTGTGGCTT-3); product size 425 bp. CT_{I γ 1-C α} : sense, (5-CTGTACATA TGCAAGGCT-3); antisense, (5-ACCTGGGAATGTATGG

TTGTGGCTT-3); product size 434 bp. β -actin: sense, (5-CATGTTTGGAGACCTTCAACACCCC-3); antisense, (5-GC CATCTCCTGCTCGAAGTCTAG-3); product size, 320 bp. RT가 끝난 cDNA products를 PCR buffer (10 mM Tris, 50 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 각각 200 μ M dATP, dCTP, dGTP 와 dTTP)에 넣고 specific 5' and 3' primer를 각각 25 pmol 의 농도로 넣은 후 PCR을 수행하였고 'Hot start PCR' 방법을 이용하였다. α transcripts, ν 2b transcripts와 β -actin 의 확인을 위한 PCR temperature profile은 94°C에서 30초 간 denaturation, 55°C에서 45초간 annealing, 72°C에서 1분 간 extension하여 35~40 cycle을 수행하였다. ν 1 transcripts의 확인을 위한 annealing temperature는 52°C로 수행하였다. 대조군으로는 cDNA 합성시 RNA를 넣지 않은 시료를 사용하였다. PCR product는 2% agarose gel상에서 확인하였다. PCR product 10 μ l와 load buffer 2 μ l을 혼합하고 Forever 100 bp Ladder Personalizer (see-gene, USA)를 size marker로 사용하였으며 0.5 \times Tris-boric acid-EDTA buffer가 담긴 전기영동 장치에서 10 ml agarose gel 당 0.5 μ l의 ethidium bromide가 포함된 2% agarose gel에 70 V에서 30~60분 동안 전기영동하였다.

결 과

PP, MLN, 비장에서의 GLT의 발현 조사. Ig isotype switching 과정에서 GLT의 발현은 필수적인 단계로 잘 알려져 있다(Fig. 1). 그러나 점막림프조직에서 중요한 위치를 차지하는 IgA 항체의 합성을 예측할 수 있는 IgA GLT의 발현을 비교 분석한 바가 없다. 본 연구에서는 먼저 PP와 MLN의 B cell 에서 IgA GLT (GLT α = GLT_{I α -C α})

의 발현을 조사하였다. Fig. 2A-1에서 보듯 PP와 MLN에서는 GLT_{I α -C α} 가 발현되었다. 그러나 비장에서는 전혀 발현되지 않았다. 본인들은 이미 비장 B cell을 LPS와 TGF- β 1을 처리한 경우 GLT_{I α -C α} 가 발현됨을 관찰한 바 있다(23). 따라서 위 결과를 확인하기 위해 조사한 결과, 예상한 대로 비장 B cell에서도 LPS와 TGF- β 1를 처리한 경우 GLT_{I α -C α} 가 발현되었다(Fig. 2A-2). 이상의 결과는 PP와 MLN과 같은 점막관련 림프조직에서는 비장과는 달리 IgA CSR이 상시적으로 일어남을 보여준다. TGF- β 1은 IgG2b의 합성도 증가시키므로(12), GLT ν 2b (GLT_{I ν 2b-C ν 2b})의 발현 양상을 조사하였다. PP에서 GLT_{I ν 2b-C ν 2b}가 뚜렷이 발현되었고 MLN에서도 약하지만 그 발현이 관찰되었다. 그러나 비장에서는 GLT_{I ν 2b-C ν 2b}가 거의 관찰되지 않았다. 그런데 LPS를 처리한 조건에서는 GLT_{I ν 2b-C ν 2b}가 발현되었으며, 이 때 TGF- β 1을 처리하였을 때 더욱 증가되었다(Fig. 2B). 다음으로는 전신면역에서 중요한 위치를 차지하는 IgG1 항체의 GLT인 GLT ν 1 (GLT_{I ν 1-C ν 1})의 발현 양상을 조사하였다. GLT α 나 GLT ν 2b와는 다르게 PP와 MLN에서는 GLT_{I ν 1-C ν 1}이 발현되지 않았고 비장에서도 결과는 비슷하였다. 그러나, 비장 B cell에 LPS를 처리하였을 때 GLT_{I ν 1-C ν 1}가 유도 발현되었다(Fig. 2C). 이상의 결과는 IgA와 IgG2b 항체 합성은 IgG1 항체와는 다르게 점막조직에 국한되어 특이하게 조절됨을 시사한다.

PP, MLN, 비장에서의 PST의 발현 조사. DNA 수준에서 Ig CSR이 일어나면 그 산물로서 해당 heavy chain constant 유전자가 VDJ 유전자 부분과 재조합이 되고 원형 플라스미드 형태의 DNA가 분리된다(Fig. 1). 이와

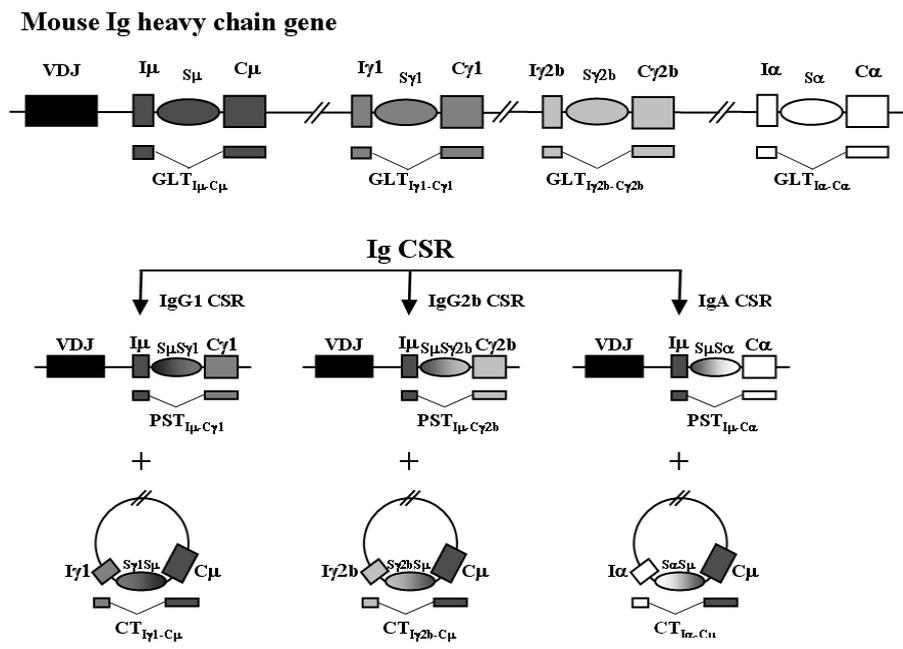


Figure 1. Diagram of DNA recombinations occurring during Ig isotype switching. Rectangles and ovals represent exons and S regions, respectively. RNA transcripts are indicated beneath the DNA diagrams. GLT: germ line transcripts, PST: post switch transcripts, CT: circle transcripts.

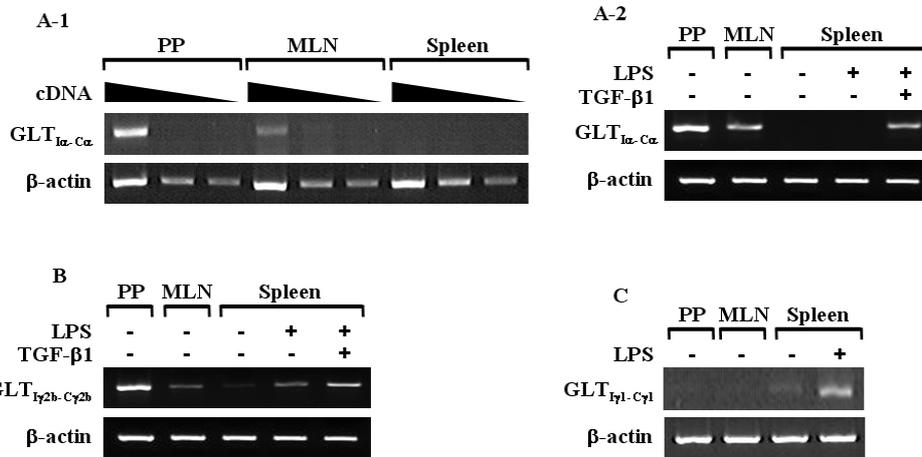


Figure 2. Detection of GLTs in PP, MLN and spleen cells. PP, MLN, spleen cells were directly used for the detection of GLTs. In some experiments, spleen cells were stimulated with LPS (12.5μg/ml) and TGF-β1 (0.2 ng/ml) for 48 h. Levels of GLTs were measured by RT-PCR with specific primers of GLT_{Iα-Cα}, GLT_{Iγ2b-Cγ2b} and GLT_{Iγ1-Cγ1} as described in Materials and Methods. Serial 5-fold dilutions of cDNA templates were prepared in panel A-1.

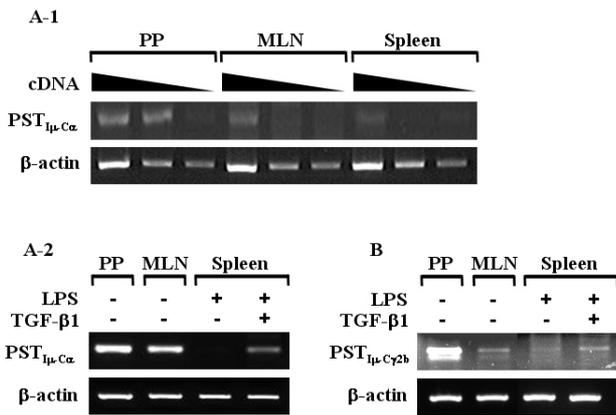


Figure 3. Detection of PSTs in PP, MLN and spleen cells. Cells were prepared as described in Fig. 2. Levels of PSTs were measured by RT-PCR with specific primers of PST_{Iα-Cα} and PST_{Iγ-Cγ2b} as described in Materials and Methods. Serial 5-fold dilutions of cDNA templates were prepared in panel A-1.

같은 과정이 일어나면 곧바로 양쪽 DNA에서 그 이유를 아직까지 잘 모르지만 PST와 CT가 발현된다. 따라서 PST의 발현은 후에 일어나는 해당 항체 합성을 예측할 수 있는 중요한 지표로 활용되고 있다(5). 이와 같은 이유로 PP, MLN, 그리고 비장의 B cell에서 PST의 발현을 조사하였다. Fig. 3A-1에서 보듯, GLT와 유사하게 PP와 MLN B cell에서 PSTα가 발현되었다. 그러나 분리된 비장 B cell에서는 PSTα의 발현이 뚜렷하지 않았다. 한편, 대조군으로 준비된 비장 B cell에 LPS와 TGF-β1을 처리한 경우 PSTα의 발현이 유도되었다(Fig. 3A-2). 한편, 약간의 비특이적 밴드가 보이지만 PSTα와 함께 조사된 PSTγ2b의 발현 양상도 비슷하였다(Fig. 3B). 이상의

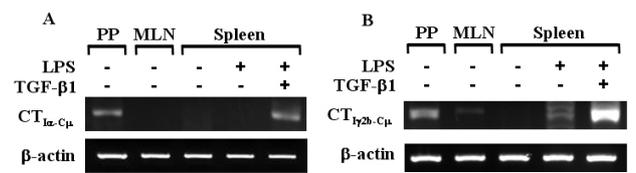


Figure 4. Detection of PSTs in PP, MLN and spleen cells. Cells were prepared as described in Fig. 2. Levels of CTs were measured by RT-PCR with specific primers of CT_{Iα-Cα} and CT_{Iγ2b-Cγ} as described in Materials and Methods.

결과는 점막림프조직에는 비장 B cell의 경우 LPS와 TGF-β1으로 자극된 효과를 주는 미세환경이 이미 조성되어 있음을 보여준다.

PP, MLN, 비장에서의 CT의 발현 조사. Isotype switching을 예측할 수 있는 지표로서 CT는 특이한 위치에 있다. 왜냐하면 앞으로 일어날 productive Ig transcript의 발현과 외견상 전혀 관련성 없이 일어나는 전사체의 발현이기 때문이다. 따라서 CT를 관찰할 수 있다면 이는 선택적으로 isotype switching이 일어난다는 좋은 증거로 채택될 수 있다. 이러한 배경에서 PP, MLN, 그리고 비장 B cell에서의 CT 발현을 비교 조사하였다. 예상했던 대로 PP B cell에서는 CTα의 발현이 뚜렷하였다(Fig. 4A). 그러나 GLTα와 PSTα의 경우와는 다르게 MLN에서 CTα의 발현은 뚜렷하지 않았다. 그러나 MLN B cell에서는 PP B cell과 유사하게 CTγ2b의 발현이 관찰되었다(Fig. 4B). 한편, 비장 B cell에서는 LPS에 의해 CTγ2b가 유도되었고, 이 때 TGF-β1이 처리되었을 때 전사는 더욱 증가하였다. 이상의 결과는 MLN에서는 CTα의 발현이 일면 불분명하지만 전반적으로 점막림프조직에서의 CT 발현

양상이 PST의 경우와 비슷함을 보여준다.

고 찰

본 연구에서는 PP와 MLN과 같은 점막림프조직에서 IgA 항체합성을 예측할 수 있는 특이한 전사체의 발현을 조사하였다. 전신 항체면역을 주로 담당하는 비장과는 다르게 순수 분리된 PP와 MLN에서 GLT α , PST α 가 높은 수준으로 발현되었다. 이미 많은 연구를 통해 PP와 같은 GALT에서는 IgA 항체 합성이 선택적으로 이루어진다고 보고되어 왔으나(24), 어떤 기작으로 IgA CSR 현상이 우세하게 일어나는지 모르고 있는 실정이다. 지금까지 IgA CSR에 대한 대부분의 연구는 마우스에서는 비장 B cell에 대해, 그리고 사람의 경우에는 말초혈액이나 편도선에 존재하는 B cell에 대해 연구되어 왔다. 그 결과를 보면 TGF- β 1이 선택적으로 IgA CSR을 유도한다고 알려져 있고(10,11,25,26) 특히 TGF- β 1 수용체 knock-down 실험을 통해 TGF- β 1이 IgA CSR을 주도하는 생리적인 매개자로 확인되었다(27,28). 따라서, 점막림프조직의 환경이 IgA CSR을 선택적으로 유도할 것이며 아마도 TGF- β 1이 그 역할을 주도적으로 담당할 것으로 추정되어 왔다. 그러나 이와 같은 현상을 이해하기 위해 본 연구와 같이 전사체 발현이란 지표를 통해 구체적으로 비장과 상호 비교하여 조사된 적이 없었다. 본 연구 결과를 보면, 비장의 B cell에서 IgA CSR이 일어나기 위해서는 반드시 LPS와 같은 polyclonal activator가 필요하고 아울러 TGF- β 1의 자극이 있어야만 IgA CSR에 관련된 전사체가 발현됨을 알 수 있다. 그러나 PP와 MLN에서는 이와 같은 자극을 받지 않은 순수 분리된 B cell에서 전사체가 발현되었다. 즉, IgA CSR이 일어나기 직전에 나타나는 GLT α 와 IgA CSR이 일어난 후 나타나는 PST α 가 발현되었다. 이상의 관찰은 IgA CSR이 PP와 MLN에서 실시간으로 일어나고 있다는 좋은 증거를 제공한다. 즉, PP에서는 상시적으로 IgA CSR을 자극하는 항원이 존재하며 TGF- β 1이 공급되고 있음을 시사한다.

본 연구에서 특기할 사실은 MLN에서도 GLT α 의 발현이 뚜렷이 관찰된 사실이다. 이 결과에 대해서는 특별히 언급할 필요성이 있다. 일반적으로, 장 내로 유입된 항원은 M cell을 통해 PP로 전달되며, 여기에서 항원 특이적 IgA를 발현하는 B cell이 만들어지게 되고, 계속하여 B cell은 MLN으로 이동된다고 알려져 있다(8). 즉, MLN은 주로 수동적으로 PP에서 림프구가 이동되는 draining 림프절로 알려져 있다. 그런데, 본 연구에서 보듯 MLN에서 GLT α 가 발현된다는 결과는 여기에서도 IgA CSR이 실제로 일어나고 있다는 증거를 제시한다. 비록 본 연구에서는 CT α 가 MLN에서 확연히 관찰되지 않았지만 PST α 가 발현되는 것으로 보아 MLN에서도 PP와 유사하게 직접 IgA CSR이 활발하게 일어나는 것으

로 추정된다. 이 결과는 본 연구에서 관찰한 중요한 현상이며 그 면역 생리학적 의의에 대해서는 좀더 구체적으로 연구할 필요가 있다.

TGF- β 1이 마우스에서 IgG2b CSR을 증가시킨다고 보고된 바 있다(12). 또한 최근에 본인 그룹에서는 마우스 비장 B cell에서 TGF- β 1이 IgG2b CSR을 일차 유도하고 IgA CSR을 일으키는 일명 sequential switching 현상을 보고한 바 있다(29). 이러한 sequential switching 현상은 IgE 항체 합성에서도 관찰되었는데, IL-4가 IgG CSR을 통해 IgE CSR을 일으킨다고 보고된 바 있다(30). 이와 같은 선행 연구 결과로부터 본 그룹에서는 PP와 MLN B cell에서의 IgG2b 전사체의 발현에 관심이 있었다. 흥미롭게도 PP에서 GLT γ 2b와 PST γ 2b의 발현이 뚜렷이 관찰되었고, 그 정도는 약하지만 MLN에서도 두 전사체가 발현됨을 확인할 수 있었다. 이상의 결과는 PP와 MLN에서도 IgA CSR이 IgG2b CSR을 통해 이루어질 수 있음을 시사한다. 그런데, 현재까지는 IgG2b 항체는 전신면역에서 기능을 보이는 IgG class로 알려져 있음으로 PP와 MLN에서 실제로 IgG2b 항체가 합성되는지 여부를 조사할 필요가 있고, 만약 그렇다면 그 기능은 무엇인지 그리고 지금까지 알려져 있지 않은 다른 기능은 존재하는지 앞으로 연구할 대상으로 남는다.

내장과 같은 점막분비 조직에 흔히 복강에 존재하는 B-1 (CD5⁺) cell이 상당량의 IgA 항체를 공급한다고 알려져 있다(31). 이 B-1은 이동 경로는 불분명하지만 MLN을 통해 궁극적으로 lamina propria로 이동된다고 알려져 있다(32,33). 그러나 본 연구에서는 실험에 사용한 세포군에서 B-1 cell을 따로 분리하지 않았다. 따라서 MLN의 전사체 중 B-1 cell이 기여한 정도를 본 연구에서는 구별할 수가 없다. 아울러 lamina propria에서도 B-1 cell과 B-2 cell을 구별한 후 IgA CSR관련 전사체 발현을 분석한다면 내장 점막조직에서 선택적으로 발현되는 IgA 항체 합성의 조절기작을 규명하는데 크게 기여할 수 있을 것이다.

감사의 글

일부 실험은 강원대학교 공동실험실습관 장비를 사용하여 수행하였음.

참 고 문 헌

1. Iwasato T, Shimizu A, Honjo T, Yamagishi H: Circular DNA is excised by immunoglobulin class switch recombination. *Cell* 62;143-149, 1990
2. Stavnezer J: Immunoglobulin class switching. *Curr Opin Immunol* 8;199-205, 1996
3. Stavnezer J: Molecular processes that regulate class switching. *Curr Top Microbiol Immunol* 245;127-168, 2000
4. Jung S, Rajewsky K, Radbruch A: Shutdown of class switch recombination by deletion of a switch region control element. *Science* 259;984-987, 1993
5. Li SC, Rothman PB, Zhang J, Chan C, Hirsh D, Alt FW:

- Expression of I mu-C gamma hybrid germline transcripts subsequent to immunoglobulin heavy chain class switching. *Int Immunol* 6;491-497, 1994
6. Kinoshita K, Harigai M, Fagarasan S, Muramatsu M, Honjo T: A hallmark of active class switch recombination: transcripts directed by I promoters on looped-out circular DNAs. *Proc Natl Acad Sci USA* 98;12620-12623, 2001
 7. Muramatsu M, Kinoshita K, Fagarasan S, Yamada S, Shinkai Y, Honjo T: Class switch recombination and hypermutation require activation-induced cytidine deaminase (AID), a potential RNA editing enzyme. *Cell* 102;553-563, 2000
 8. Biewenga J, van Rees EP, Sminia T: Induction and regulation of IgA responses in the microenvironment of the gut. *Clin Immunol Immunopathol* 67;1-7, 1993
 9. Kim PH, Kagnoff MF: Transforming growth factor beta 1 increases IgA isotype switching at the clonal level. *J Immunol* 145;3773-3778, 1990
 10. Sonoda E, Matsumoto R, Hitoshi Y, Ishii T, Sugimoto M, Araki S, Tominaga A, Yamaguchi N, Takatsu K: Transforming growth factor beta induces IgA production and acts additively with interleukin 5 for IgA production. *J Exp Med* 170;1415-1420, 1989
 11. Coffman RL, Lebman DA, Shrader B: Transforming growth factor beta specifically enhances IgA production by lipopolysaccharide-stimulated murine B lymphocytes. *J Exp Med* 170;1039-1044, 1989
 12. McIntyre TM, Klinman DR, Rothman P, Lugo M, Dasch JR, Mond JJ, Snapper CM: Transforming growth factor beta 1 selectivity stimulates immunoglobulin G2b secretion by lipopolysaccharide-activated murine B cells. *J Exp Med* 177;1031-1037, 1993
 13. Sonoda E, Hitoshi Y, Yamaguchi N, Ishii T, Tominaga A, Araki S, Takatsu K: Differential regulation of IgA production by TGF-beta and IL-5: TGF-beta induces surface IgA-positive cells bearing IL-5 receptor, whereas IL-5 promotes their survival and maturation into IgA-secreting cells. *Cell Immunol* 140;158-172, 1992
 14. Spieker-Polet H, Yam PC, Arbieva Z, Zhai SK, Knight KL: In vitro induction of the expression of multiple IgA isotype genes in rabbit B cells by TGF-beta and IL-2. *J Immunol* 162;5380-5388, 1999
 15. Wakatsuki Y, Strober W: Effect of downregulation of germline transcripts on immunoglobulin A isotype differentiation. *J Exp Med* 178;129-138, 1993
 16. Lin YC, Stavnezer J: Regulation of transcription of the germ-line Ig alpha constant region gene by an ATF element and by novel transforming growth factor-beta 1-responsive elements. *J Immunol* 149;2914-2925, 1992
 17. Shockett P, Stavnezer J: Effect of cytokines on switching to IgA and alpha germline transcripts in the B lymphoma I.29 mu. Transforming growth factor-beta activates transcription of the unrearranged C alpha gene. *J Immunol* 147;4374-4383, 1991
 18. Islam KB, Nilsson L, Sideras P, Hammarstrom L, Smith CI: TGF-beta 1 induces germ-line transcripts of both IgA subclasses in human B lymphocytes. *Int Immunol* 3;1099-1106, 1991
 19. Lebman DA, Nomura DY, Coffman RL, Lee FD: Molecular characterization of germ-line immunoglobulin A transcripts produced during transforming growth factor type beta-induced isotype switching. *Proc Natl Acad Sci USA* 87;3962-3966, 1990
 20. Fagarasan S, Kinoshita K, Muramatsu M, Ikuta K, Honjo T: In situ class switching and differentiation to IgA-producing cells in the gut lamina propria. *Nature* 413;639-643, 2001
 21. Chun SK, Nam MS, Goh JS, Kim WS, Han YH, Kim PH: Kinetics and biological function of transforming growth factor-beta isoforms in bovine and human colostrum. *J Microbiol Biotechnol* 14;1267-1274, 2004
 22. Park JH, Um JI, Lee BJ, Goh JS, Park SY, Kim WS, Kim PH: Encapsulated bifidobacterium bifidum potentiates intestinal IgA production. *Cell Immunol* 219;22-27, 2002
 23. Park SR, Lee JH, Kim PH: Smad3 and Smad4 mediate transforming growth factor-beta1-induced IgA expression in murine B lymphocytes. *Eur J Immunol* 31;1706-1715, 2001
 24. Kawanishi H, Saltzman LE, Strober W: Mechanisms regulating IgA class-specific immunoglobulin production in murine gut-associated lymphoid tissues. I. T cells derived from Peyer's patches that switch sIgM B cells to sIgA B cells in vitro. *J Exp Med* 157;433-450, 1983
 25. van den Wall Bake AW, Black KP, Kulhavy R, Mestecky J, Jackson S: Transforming growth factor-beta inhibits the production of IgG, IgM, and IgA in human lymphocyte cultures. *Cell Immunol* 144;417-428, 1992
 26. Kim PH, Kagnoff MF: Transforming growth factor-beta 1 is a costimulator for IgA production. *J Immunol* 144;3411-3416, 1990
 27. Cazac BB, Roes J: TGF-beta receptor controls B cell responsiveness and induction of IgA in vivo. *Immunity* 13;443-451, 2000
 28. van Ginkel FW, Wahl SM, Kearney JF, Kweon MN, Fujihashi K, Burrows PD, Kiyono H, McGhee JR: Partial IgA-deficiency with increased Th2-type cytokines in TGF-beta 1 knockout mice. *J Immunol* 163;1951-1957, 1999
 29. Park SR, Seo GY, Choi AJ, Stavnezer J, Kim PH: Analysis of transforming growth factor-beta1-induced Ig germ-line gamma2b transcription and its implication for IgA isotype switching. *Eur J Immunol* 35;946-956, 2005
 30. Mandler R, Finkelman FD, Levine AD, Snapper CM: IL-4 induction of IgE class switching by lipopolysaccharide-activated murine B cells occurs predominantly through sequential switching. *J Immunol* 150;407-418, 1993
 31. Kroese FG, Butcher EC, Stall AM, Lalor PA, Adams S, Herzenberg LA: Many of the IgA producing plasma cells in murine gut are derived from self-replenishing precursors in the peritoneal cavity. *Int Immunol* 1;75-84, 1989
 32. Tseng J: A population of resting IgM-IgD double-bearing lymphocytes in Peyer's patches: the major precursor cells for IgA plasma cells in the gut lamina propria. *J Immunol* 132;2730-2735, 1984
 33. Kroese FG, Ammerlaan WA, Deenen GJ: Location and function of B-cell lineages. *Ann N Y Acad Sci* 651;44-58, 1992