

Eosinophils Regulate Type 2 Immune Responses Following Infection with the Nematode *Trichinella spiralis*

Jayoung Koo Koo and YunJae Jung*

Department of Microbiology, School of Medicine, Gachon University, Incheon, Korea

Eosinophils are multifunctional leukocytes implicated in protection against helminth infections. Although eosinophils comprise between 1~5% of peripheral blood leukocytes, they primarily reside in the gastrointestinal tract under homeostatic conditions, and rapidly proliferate upon parasitic infection. Intestinal infection with *Trichinella spiralis* (*T. spiralis*) induces eosinophilia when the parasite enters the larval stages and larvae finally migrate to the skeletal muscle. Eosinophils are known to mediate parasite death through antibody-dependent cellular cytotoxicity. In this study, we aimed to address the functional significance of eosinophils in the intestinal phase of *T. spiralis* infection by analysis of immune responses in the Peyer's patch (PP) of infected BALB/c and eosinophil-ablated Δ dblGATA mice. Trafficking of eosinophils to the PP was significantly increased, with upregulation of interleukin-5 at 14 days post infection. Eosinophil deficiency led to a significant augmentation of serum immunoglobulin (Ig) M and IgG1 antibody levels. In accordance with this, IgG1⁺ B cells in the PP were substantially increased in Δ dblGATA mice compared to that in BALB/c mice. Transforming growth factor- β expression in the PP of infected Δ dblGATA mice was significantly decreased compared to that in BALB/c mice, whereas the number of *T. spiralis* larvae in the diaphragm was increased. Taken together, these findings indicate that eosinophils contribute to the regulation of Th2 immune responses, and protect the host from *T. spiralis* attempting to establish larvae in the skeletal muscle.

Key Words: Eosinophils, *Trichinella spiralis*, Intestinal phase, Peyer's patch, Th2 responses

INTRODUCTION

호산구는 알레르기 염증 반응을 매개하고 기생충 감염에 대한 방어 작용을 나타내는 과립구로 혈액 백혈구의 1~5% 정도로 관찰된다 (1, 2). 골수에서 호산구의 생성은 GATA-1, PU.1, C/EBP 등의 전사 인자에 의해 조절되어 GATA-1의 결합 부위를 제거시킨 Δ dblGATA 마우스는 전

신적으로 호산구가 소실되어 있다 (3). 일부 호산구는 골수에서 분화가 완료되어 말초 혈액으로 이동하는데 항상성 상태에서 상당수의 호산구는 위장관 고유층에 분포하며 이는 호산구에 발현된 CCR3가 점막 조직에 높게 발현된 eotaxin에 반응하기 때문이다 (2, 4). 기생충 감염과 알레르기 질환에서 호산구 증식, 분화를 촉진시키는 interleukin-5 (IL-5), IL-3 및 granulocyte-macrophage colony stimulating factor 등의 영향으로 혈중 호산구 수가 급격히

Received: December 2, 2016/ Revised: December 3, 2016/ Accepted: December 6, 2016

*Corresponding author: YunJae Jung, MD, PhD. Department of Microbiology, School of Medicine, Gachon University, 155 Gaetbeol-ro, Yeonsu-gu, Incheon 21999, Korea.

Phone: +82-32-899-6415, Fax: +82-32-899-6039, e-mail: yjjung@gachon.ac.kr

**This work was supported by the Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Education (2016R1D1A1A09916492). The author thanks Dr. So-Youn Woo (Ewha Womans University, Korea) for supporting works with Δ dblGATA mice. *T. spiralis* was kindly provided by Dr. Hee-Jae Cha (Kosin University, Korea). The author thanks to Eun-Hui Lee (Gachon University, Korea) for technical assistance.

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>).

증가하고 관련 조직의 eotaxin 발현이 증가하면서 말초 혈액의 호산구가 조직으로 이동하게 된다 (2, 5). 염증 조직으로 이동한 호산구는 과립 단백질을 세포 바깥으로 방출하는데 주 염기 단백질(major basic protein), 호산구 과산화효소(eosinophil peroxidase), 호산구 양이온 단백질(eosinophil cationic protein), 호산구 유래 신경독소(eosinophil-derived neurotoxin) 등의 세포 과립은 기생충체에 손상을 입히거나 충체 제거에 관여하는 것으로 알려져 있다 (6~8). 또한 호산구는 면역 반응을 조절할 수 있는 다양한 종류의 사이토카인, 화학주성 인자 및 지질 매개 물질을 분비하여 조직의 손상과 기능 부전을 유발하게 된다 (9). 그러나 최근 호산구의 정상 생리 조절 기능에 대한 다양한 연구 성과가 발표되고 있는데 호산구에 의해 조직 재형성과 복구가 촉진되고 (10), IL-4 분비를 통해 근육과 간 재생에 필수적인 역할을 수행하며 (11, 12) 지질대사와 인슐린 반응성을 증가시킨다는 것이 알려지면서 (13) 호산구의 다기능성 및 면역 조절세포로서의 기능 규명이 필요한 상황이다.

조직침습 기생연충(tissue-invasive parasitic helminth)은 조직 이행기(larva migration)를 거쳐 숙주 내 선호 조직에 도착하여 숙주의 시스템을 이용하며 기생하게 된다 (14). 조직침습 기생연충의 하나인 *Trichinella spiralis* (*T. spiralis*) 감염은 감염된 고기를 익히지 않은 상태로 섭취하여 발생하며 유충이 소장 점막에서 성숙하여 성충이 되는 장 침범기(intestinal invasion)로 개시된다 (15). 장점막의 성충에서 배출된 유충은 조직 이행을 거쳐 혀, 횡격막 등의 골격근 세포에 침입하여(muscle invasion) 만성 감염을 일으킨다 (16). *T. spiralis*와 같은 조직침습 기생충의 조직 이행기에 혈중 호산구가 급격히 증가하고 조직 내 이동이 촉진되는데 이는 감염 조직에서 eotaxin 생성이 증가하며 나타나는 현상이다 (17). 이와 같이 조직에 침윤된 호산구는 충체 특이적으로 분비된 항체와 결합하여 antibody-dependent cellular cytotoxicity(ADCC, 항체의존세포매개세포독성) 기전을 통해 충체를 사멸시키는데 이는 기생충 감염 시 호산구의 염증성 방어 작용에 대한 주요 기전으로 제시되어 왔다 (18, 19). 그러나 호산구 세포 과립이 결핍되거나 전신적으로 호산구가 결핍된 마우스에서 *T. spiralis* 감염에 대해 정상 면역 반응이 나타나거나 오히려 충체의 생존이 억제되고 숙주 염증 반응이 증폭된다는 연구 결과는 호산구가 기생충 감염에 대해 방어 면역 기능을 담당하고 있지 않음을 시사하는 결과이다 (20~22). 특히 장 침범기, 조직 이행기, 근육 침범기의 특징적인 생

활사를 통해 감염이 성립되는 *T. spiralis*의 경우 감염 초기의 호산구 반응에 의해 숙주의 면역 반응과 충체의 만성 감염 진행의 방향이 결정될 가능성이 매우 높을 것으로 예상된다.

본 연구에서는 정상 마우스와 Δ dblGATA 마우스에서 *T. spiralis* 감염 2주차에 비장(spleen)과 파이어판(Peyer's patch)의 호산구 분획과 면역글로불린(immunoglobulin, Ig)의 생성 양상을 확인하고 파이어판의 사이토카인 발현을 확인하여 감염 초기에 호산구에 의해 매개될 것으로 예상되는 면역 반응의 양상을 분석하였다. 아울러 감염 마우스의 횡격막 내 충체 분포를 관찰하여 *T. spiralis* 감염에 대한 초기 호산구 반응이 조직 이행기 및 근육 침범기에 미치는 영향을 분석하고 충체와 호산구의 상호 작용 기전을 제시하고자 하였다.

MATERIALS AND METHODS

마우스

6~8주령의 암컷 BALB/c 마우스(Orientbio, Gapyeong, Korea)와 C.129S1(B6)-*Gata1*^{tm6Sho}/J 마우스(Δ dblGATA 마우스; Jackson Laboratory, Bar Harbor, ME, USA)를 표준 실험실 온도 및 습도 조건에서 유지하였다. 마우스를 이용한 동물실험은 가천대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 받아 동물실험윤리 기준에 따라 진행하였다(GIACUC-R 2013006).

T. spiralis 분리와 감염

*T. spiralis*는 암컷 BALB/c 마우스에서 계대 감염하여 유지하였다. 충체를 수거하기 위해 감염된 마우스에서 피부, 지방, 내부기관을 제거한 후 근육과 뼈를 1% 펩신(MP Biomedicals, Santa Ana, CA, USA)과 1% 염산이 첨가된 소화액에 잘라 넣은 후 37°C에서 2시간 처리하였다. 용해된 조직에서 해부 현미경(Olympus, Tokyo, Japan) 관찰하여 *T. spiralis*를 분리하였다. 마우스에 250개의 충체를 경구 투여하여 감염시켰으며 마우스는 2주 후 분석을 위해 희생시켰다.

유세포 분석

마우스에서 비장과 파이어판을 적출하여 조직을 분쇄한 후 cell strainer에 통과시켜 세포를 분리하였으며 비장 세포는 ammonium chloride-potassium lysis buffer로 처리하여

적혈구를 제거하였다. 분리된 세포를 항 마우스 CD16/CD32 (2.4G2, BD Biosciences, San Jose, CA, USA)로 4°C, 15 분 처리하여 Fc 수용체를 차단시킨 후 항 마우스 CCR3 (83101, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA), 항 마우스 SiglecF (E50-2440, BD Biosciences), 항 마우스 CD3 (145-2C11, Biolegend, San Diego, CA, USA) 또는 항 마우스 B220 (RA3-6B2, BD Biosciences)를 첨가하여 4°C에서 30분간 반응시켰다. 세포 내 IgG1과 IgG2a 발현을 확인하기 위해 Cytofix/Cytoperm Kit (BD Biosciences)로 고정, 투과시키고 항 마우스 IgG1 (R6-60.2, BD Biosciences) 또는 항 마우스 IgG2a (R19-15, BD Biosciences)로 반응시켰다. 파이어판의 종자중심(germinal center)을 확인하기 위해 파이어판에서 분리한 세포에 peanut agglutinin (PNA; Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA)을 첨가하여 4°C에서 30분 반응시켰다. 유세포 분석은 FACSCalibur (BD Biosciences)를 이용하여 실시하였고 데이터는 FlowJo software (Tree Star, Ashland, OR, USA)로 분석하였다.

T. spiralis 단백질 추출

감염 마우스에서 분리한 *T. spiralis*를 1 mM phenylmethanesulfonyl fluoride (PMSF; Sigma-Aldrich, Saint Louis,

MO, USA)와 protease inhibitor cocktail (Sigma-Aldrich)이 첨가된 cell extraction buffer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)에 부유시킨 후 얼음에서 30분간 반응시켰다. 이후 반응액을 20 kHz에서 30초간 초음파 분쇄하였고 *T. spiralis* 총체 용해액은 13,000 rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 수거하였다. 상층액에 포함된 단백질은 BCA Kit (Thermo Fisher Scientific)로 정량하여 사용하였다.

Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

마우스 혈청의 IgM, IgG1, IgG2a 역가를 측정하기 위해 microplate에 항 마우스 IgM (II/41, BD Biosciences), IgG1 (A85-3, BD Biosciences) 또는 IgG2a (R11-89, BD Biosciences)를 부착시켰다. *T. spiralis* 특이 면역글로불린의 역가 측정을 위한 microplate에는 *T. spiralis*의 단백 추출액(10 µg/ml)을 부착시켰다. 면역글로불린 또는 총체 단백질로 처리된 microplate에 계단 희석된 혈청을 첨가한 후 biotin 결합된 항 마우스 IgM (R6-60.2, BD Biosciences), IgG1 (A85-1, BD Biosciences) 또는 IgG2a (R19-15, BD Biosciences)로 반응시켰다. 발색은 streptavidin-horseradish peroxidase (BD Biosciences)와 TMB substrate (KPL, Gaithersburg, MD, USA)를 사용하여 진행하였으며 흡광도 450 nm에서 측정하였다.

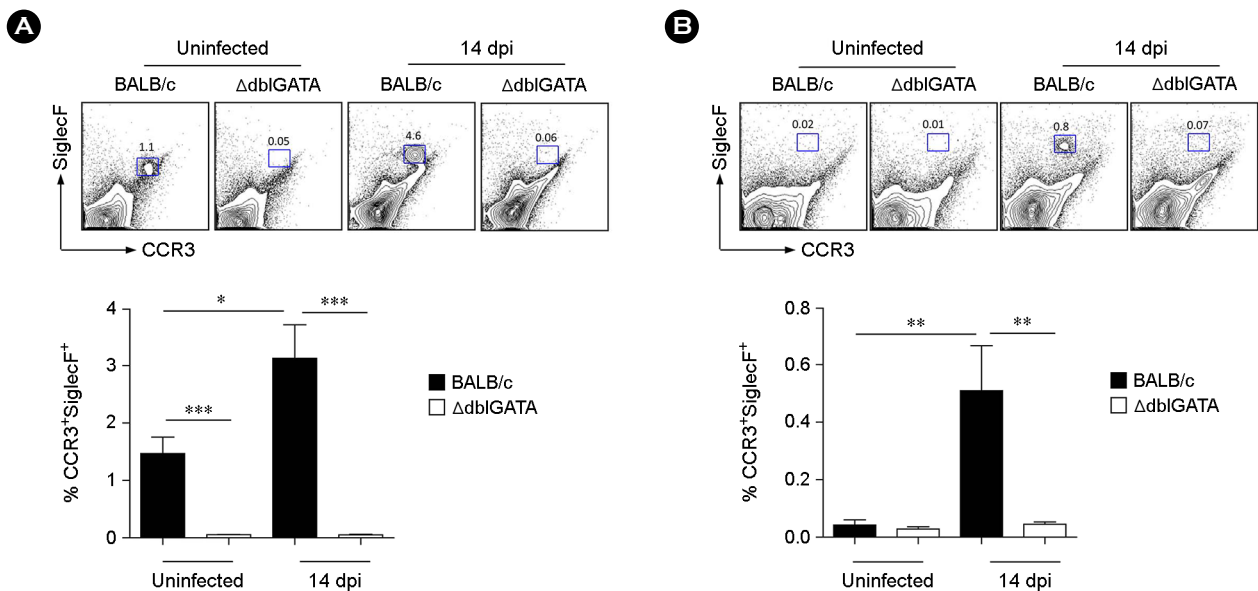


Figure 1. Increased eosinophil frequency in the spleen and Peyer's patch (PP) by *Trichinella spiralis* (*T. spiralis*) infection. (A and B) Frequency of CCR3⁺SiglecF⁺ eosinophils in the spleen (A) and PP (B) of BALB/c and ΔdblGATA mice at 14 days post infection (dpi). Data represent mean ± s.e.m. values. A two-group comparison was performed by a Student's *t*-test. **p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001.

Real-time PCR 분석

파이어판에서 QIAzol lysis reagent (Qiagen, Hilden, Germany)와 RNeasy Mini Kit (Qiagen)를 통해 RNA를 추출하였다. RNA는 DNase I (New England Biolabs, Ipswich, MA, USA)으로 처리한 후 iScript cDNA synthesis kit (Bio-Rad, Hercules, CA, USA)로 cDNA를 합성했다. Real-time PCR은 iQ SYBR Green supermix (Bio-Rad)를 사용하여 CFX Connect real-time System (Bio-Rad)에서 진행되었다. 사용한 primer set는 다음과 같다. *Il5*: forward, 5'-ACAAGCAATG-AGACGATGAG-3'; reverse, 5'-CCAGCGGACAGTTTGAT-TCTT-3'; *Il6*: forward, 5'-GAGGATACCACTCCCAACAG-3'; reverse, 5'-AAGTGCATCATCGTTGTTCA-3'; *Tgfb1*: forward, 5'-CTCCCGTGGCTTCTAGTGC-3'; reverse, 5'-GCCCTAGTT-TGGACAGGATCTG-3'; *Gapdh*: forward, 5'-CTGGTATGAC-AATGAATACGG-3'; reverse, 5'-GCAGCGAACTTTATTGA-TGG-3'.

조직학적 관찰

마우스에서 분리한 횡격막을 10% 포르말린에 고정하여 파라핀에 포매하고 4 μ m 두께로 잘라 슬라이드에 부착시켰다. 조직 내 충체를 확인하기 위해 헤마톡실린-에오신 염색을 실시한 후 광학 현미경(Olympus)으로 관찰하였다.

RESULTS AND DISCUSSION

호산구 증가 양상

T. spiralis 구강 감염시 약 2주간의 장 침범기가 개시되어 충체가 증식하며 성충에서 배출된 유충이 혈행성으로 골격근에 전파되며 장관 내 충체가 사라지게 된다 (23). 따라서 감염 2주 이내에 장관 내 호산구 매개 반응이 매우 강력하게 나타날 것으로 예상되며 전신과 장관 특이적 반응을 분석하기 위해 각각 비장과 파이어판의 호산구 분석을 확인하였다. *T. spiralis* 감염 2주 후 BALB/c 마우스

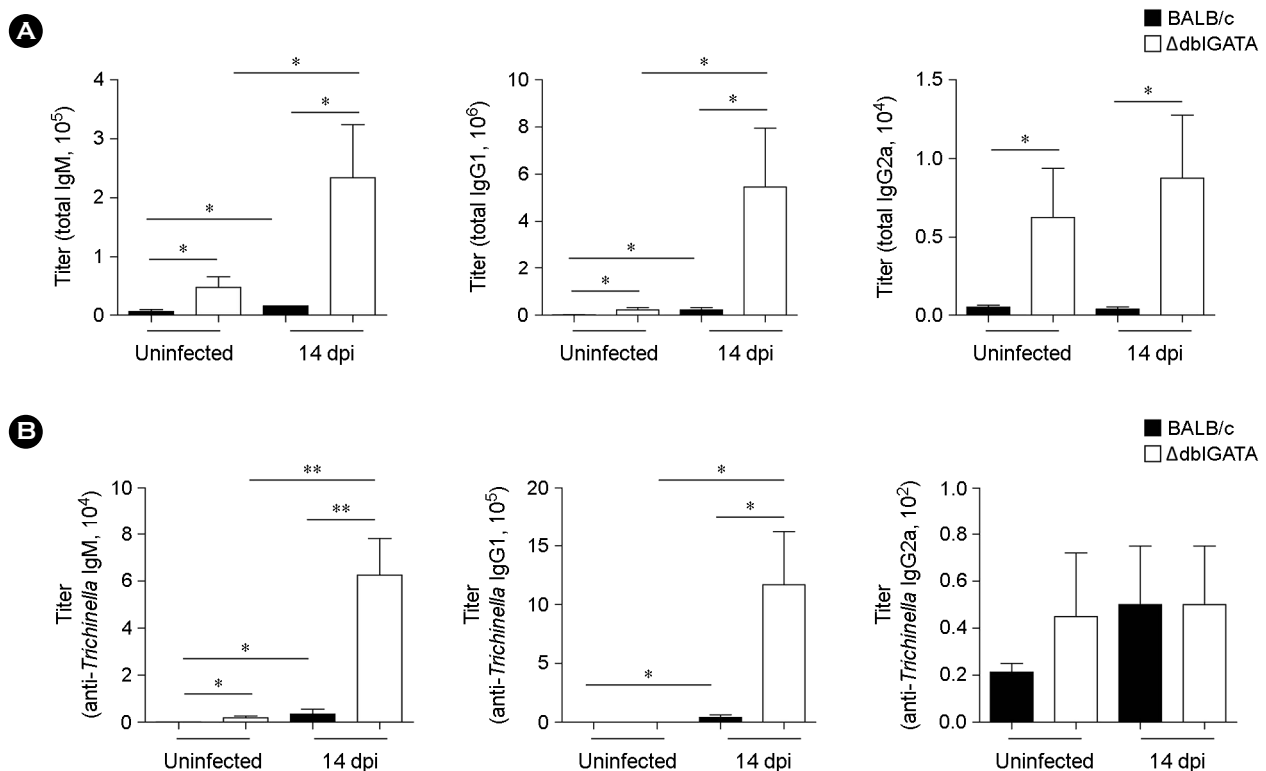


Figure 2. Increased total and *Trichinella*-specific immunoglobulin (Ig) levels after *T. spiralis* infection. (A and B) Total (A) and *Trichinella*-specific (B) IgM, IgG1, and IgG2a titers in sera of BALB/c and Δ dblGATA mice at 14 dpi. Data represent mean \pm s.e.m. values. A two-group comparison was performed by a Student's *t*-test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

비장에서 CCR3와 SiglecF를 발현하는 호산구 분획은 $1.5 \pm 0.3\%$ 에서 $3.2 \pm 0.6\%$ 로 유의하게 증가하여 장내 기생충 감염에서 전형적으로 나타나는 호산구 증가가 확인되었다(Fig. 1A). 파이어판은 소장 점막 고유층에 존재하는 림프 소절로 장관으로 유입되는 항원에 대한 면역 반응이 개시되고 항체의 동형 전환(isotype switching)이 활발하게 발생하여 특이 항체의 생성이 촉진되는 조직이다 (24). 파이어판에 호산구는 정상적으로 거의 존재하지 않으며 Th2형 면역 반응 항진 시 증가하는 것으로 알려져 있다 (25). *T. spiralis* 감염 2주 동안 파이어판의 CCR3⁺SiglecF⁺ 분획이 $0.04 \pm 0.02\%$ 에서 $0.5 \pm 0.2\%$ 로 10배 이상 증가하는 것이 관찰되었다(Fig. 1B). 따라서 *T. spiralis* 감염 2주 후 장관 특이적, 전신적으로 호산구 증가가 유발됨을 확인할 수 있었다.

항체 생성 양상

기생충 감염 시 증가하는 호산구는 충체에 대한 방어 항체와 결합하여 ADCC 기전을 통해 충체를 사멸시킨다 (18, 19). 또한 *T. spiralis* 충체에 대한 방어 항체는 체내에 존재하는 충체의 수에 의존적으로 생성되어 항체의 역가가 높으면 감염 충체의 수가 감소하여 감염의 조절 및 재감염 예방에 도움이 된다 (26). 호산구에 의한 감염 초기의 방어 항체 생성 조절 능력을 확인하기 위해 혈청에서 IgM, IgG1, IgG2a 역가를 분석한 결과 BALB/c 마우스에서 감염 2주 후에 total IgM과 IgG1 뿐만 아니라 anti-*Trichinella* IgM과 anti-*Trichinella* IgG1이 유의하게 증가하여 항체 생성 및 항원 특이적 Th2 항체의 동형 전환 증가를 확인할 수 있었다(Fig. 2). 특이한 것은 이들 항체 역가

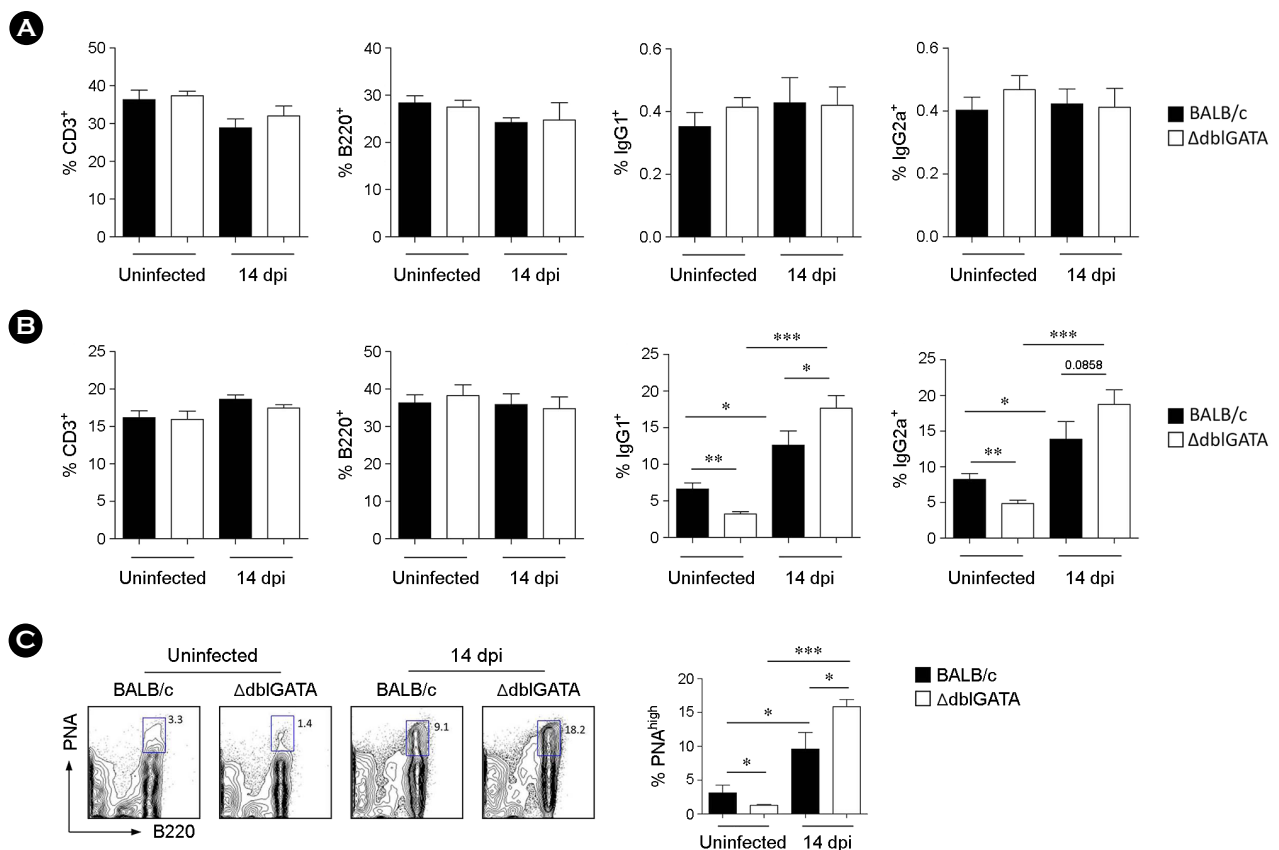


Figure 3. Increased isotype responses in the PP after *T. spiralis* infection. (A and B) Frequency of CD3⁺, B220⁺, IgG1⁺, and IgG2a⁺ cells in the spleen (A) and PP (B) of BALB/c and ΔdblGATA mice at 14 dpi. The frequency of IgG1⁺ and IgG2a⁺ cells was analyzed with B220-gated cells. (C) Frequency of PNA^{high} cells in the PP of BALB/c and ΔdblGATA mice at 14 dpi. Data are mean \pm s.e.m. values. A two-group comparison was performed by a Student's *t*-test. **p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001.

의 증가가 Δ dblGATA 마우스에서 BALB/c에 비해 더욱 증폭되어 나타난 것으로 *T. spiralis* 감염 초기 호산구에 의해 Th2 면역 반응이 억제되며 이는 항원 특이적으로 발생한다는 것을 시사하는 결과이다(Fig. 2). Total IgG2a의 경우 감염에 관계없이 BALB/c에 비해 Δ dblGATA 마우스에서 높게 관찰되었지만 anti-*Trichinella* IgG2a는 실험 그룹 간 유의한 차이가 나타나지 않았다(Fig. 2). 따라서 *T. spiralis* 장침범기와 근육침범기 전환기에 전신적으로 Th2 반응이 증폭되며 해당 시기에 발생하는 호산구 증가가 과다한 Th2 반응의 조절에 관여할 가능성이 매우 높은 것으로 사료된다.

항체 생성 세포 분획의 변화 양상

전신과 장관 특이적 항체 생성 세포의 변화를 분석하기 위해 비장과 파이어판의 세포를 분리하여 유세포 분석을 진행하였다. BALB/c와 Δ dblGATA 마우스 모두 감염 전후 비장과 파이어판의 CD3 및 B220 양성 세포의 분획은 차이가 없어 T 세포와 B 세포의 양적 차이는 발생하지 않

는 것으로 확인되었다(Fig. 3). 그러나 파이어판의 B220 발현 세포 분획 내에 존재하는 IgG1과 IgG2a 양성 세포의 수는 감염 2주 후 유의하게 증가하였으며 이는 BALB/c에 비해 Δ dblGATA 마우스에서 더욱 현저하게 관찰되었다(Fig. 3B). IgG1과 IgG2a 양성 세포의 증가가 비장에서는 관찰되지 않아 감염 2주차의 항체 생성 반응은 장관 면역계에서 더욱 강력하게 나타나는 현상임을 시사하였다. 파이어판에서 항체의 동형 전환이 가장 활발하게 발생하는 부위는 종자중심으로 glycan 발현이 높기 때문에 PNA의 결합이 높게 나타난다 (27). 파이어판에서 분리한 세포를 B220와 PNA로 염색하고 분석한 결과 감염 2주 후 B220⁺PNA⁺ 분획이 유의하게 증가하였으며 Δ dblGATA에서 증가의 정도가 더욱 높아 항체 생성을 위한 종자중심 반응이 BALB/c 마우스에 비해 증가한 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3C).

파이어판 면역 반응 정도와 근육 내 총체 분포

파이어판의 면역 반응 양상을 분석하기 위해 사이트

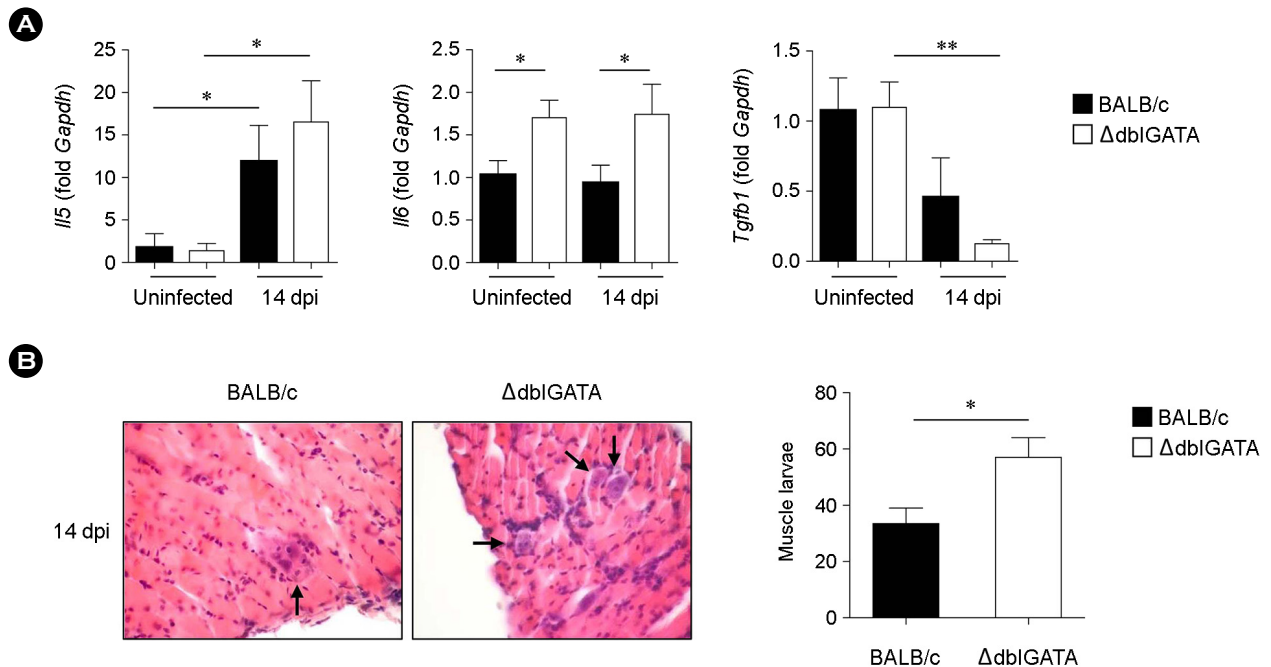


Figure 4. Immune responses in the PP and muscle larvae after *T. spiralis* infection. (A) mRNA expression of cytokine in the PP of BALB/c and Δ dblGATA mice at 14 dpi. (B) Hematoxylin and eosin stained sections of diaphragm collected from BALB/c and Δ dblGATA mice at 14 dpi. Arrows indicate representative *T. spiralis* larvae in the diaphragm. Numbers of larvae per five fields were counted with three sections of each group of mice. Original magnification $\times 40$. Data are mean \pm s.e.m. values. A two-group comparison was performed by a Student's *t*-test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

카인의 발현을 분석한 결과 감염 2주 후 BALB/c와 Δ dblGATA 모두 IL-5 발현이 증가하여 Th2 반응이 증폭되고 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 4A). Δ dblGATA에서 BALB/c 대비 IL-5 발현이 증가한 경향성이 나타났지만 통계적 유의성은 없었다($p = 0.2533$). IL-6의 경우 *T. spiralis* 감염에 의해 변화가 발생하지는 않았지만 감염에 관계없이 Δ dblGATA에서 BALB/c보다 높게 발현되어 호산구에 의해 IL-6 생성에 관여하는 염증 세포의 활성이 조절될 가능성이 높을 것으로 사료된다(Fig. 4A). 호산구 결핍 마우스의 장관에 염증을 유발하였을 때 대조군에 비해 호중구의 침윤이 현저하며 IL-6 등 염증성 사이토카인의 발현이 증가하는 것으로 알려져 있다 (28). 또한 호산구에 의해 증폭되는 IL-4/IL-13 신호전달에 의해 염증 반응이 억제되어 대식 세포와 호중구의 침윤 및 염증성 사이토카인 발현이 억제된다는 연구 결과가 최근에 발표된 바 있다 (29). 따라서 호산구 결핍 마우스에서 관찰되는 IL-6의 증가 기전을 확인하기 위해 *T. spiralis* 감염 시 호산구와 면역 세포의 상호작용을 분석하는 추가 연구가 필요할 것으로 사료된다.

T. spiralis 근육 침범기에서 transforming growth factor (TGF)- β 발현은 염증 반응과 근육 내의 유충 수를 조절하는 것으로 알려져 있다 (30). 즉 유충 분포와 TGF- β 발현은 역의 상관 관계가 있을 것으로 예상되는데 감염 2주 후 BALB/c 마우스 파이어판에서 TGF- β 발현은 감소하는 경향이 관찰되었고 Δ dblGATA 마우스의 경우 유의한 수준의 발현 감소가 확인되었다(Fig. 4A). 감염 2주차는 *T. spiralis* 감염의 장 침범기에서 근육 침범기로의 전환이 일어나는 시기이므로 파이어판의 면역 반응 양상과 근육 내 유충의 분포 정도를 확인하기 위해 유충의 침범이 쉽게 발생하는 횡격막의 층체 분포를 분석하였다. 근육 내의 *T. spiralis* 유충은 염색체의 구조가 치밀해지며 주변에 투명대가 형성되어 근육과 쉽게 구분이 되며 현미경 관찰을 통해 유충의 수를 관찰한 결과 Δ dblGATA에서 유의한 수준의 유충 수 증가를 확인할 수 있었다(Fig. 4B). 즉 호산구가 존재하지 않을 경우 *T. spiralis* 장 침범기에서 파이어판의 Th2 면역 반응이 증폭되고 혈청의 Th2형 방어 항체의 역가가 증가함에도 불구하고 근육 침범기의 층체 수가 적절히 조절되지 않는 것으로 사료된다. 이는 호산구가 단순히 Th2 염증 반응을 증폭시키기 보다는 조직침습 기생충의 효율적인 제거와 이 과정에서 발성하는 과도한 Th2 반응을 조절시키는 다양한 기능을 발휘하고 있음을

시사하는 결과이다.

숙주의 면역 반응과 기생충의 면역 회피 기전에 의해 숙주 조직의 염증성 손상이 최소화하는 만성 감염이 성립된다 (14). 따라서 BALB/c와 Δ dblGATA를 이용하여 감염 초기 면역 반응을 분석한 본 연구 결과는 감염 시기에 따라 조직 내 분포가 특징적으로 변화하는 *T. spiralis* 감염증에서 기생충과 숙주 상호 작용을 구체적으로 분석하는 후속 연구에 활용될 수 있을 것이다.

REFERENCES

- 1) Jung Y. Eosinophils are required for immune responses induced by oral immunization. *J Bacteriol Virol* 2015;45: 354-63.
- 2) Rothenberg ME, Hogan SP. The eosinophil. *Annu Rev Immunol* 2006;24:147-74.
- 3) Yu C, Cantor AB, Yang H, Browne C, Wells RA, Fujiwara Y, *et al.* Targeted deletion of a high-affinity GATA-binding site in the GATA-1 promoter leads to selective loss of the eosinophil lineage *in vivo*. *J Exp Med* 2002;195:1387-95.
- 4) Jung Y, Rothenberg ME. Roles and regulation of gastrointestinal eosinophils in immunity and disease. *J Immunol* 2014;193:999-1005.
- 5) Rosenberg HF, Phipps S, Foster PS. Eosinophil trafficking in allergy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119: 1303-10.
- 6) Lee TD. Helminthotoxic responses of intestinal eosinophils to *Trichinella spiralis* newborn larvae. *Infect Immun* 1991; 59:4405-11.
- 7) Kazura JW, Aikawa M. Host defense mechanisms against *Trichinella spiralis* infection in the mouse: eosinophil-mediated destruction of newborn larvae *in vitro*. *J Immunol* 1980;124:355-61.
- 8) Specht S, Saeftel M, Arndt M, Endl E, Dubben B, Lee NA, *et al.* Lack of eosinophil peroxidase or major basic protein impairs defense against murine filarial infection. *Infect Immun* 2006;74:5236-43.
- 9) Kita H. The eosinophil: a cytokine-producing cell? *J Allergy Clin Immunol* 1996;97:889-92.
- 10) Jacobsen EA, Helmers RA, Lee JJ, Lee NA. The expanding role(s) of eosinophils in health and disease. *Blood* 2012; 120:3882-90.
- 11) Goh YP, Henderson NC, Heredia JE, Red Eagle A,

- Odegaard JI, Lehwald N, *et al.* Eosinophils secrete IL-4 to facilitate liver regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110:9914-9.
- 12) Heredia JE, Mukundan L, Chen FM, Mueller AA, Deo RC, Locksley RM, *et al.* Type 2 innate signals stimulate fibro/adipogenic progenitors to facilitate muscle regeneration. *Cell* 2013;153:376-88.
 - 13) Wu D, Molofsky AB, Liang HE, Ricardo-Gonzalez RR, Jouihan HA, Bando JK, *et al.* Eosinophils sustain adipose alternatively activated macrophages associated with glucose homeostasis. *Science* 2011;332:243-7.
 - 14) Shin MH. Eosinophil and tissue-invasive parasitic helminth. *Hanyang Med Rev* 2010;30:238-45.
 - 15) Harley JP, Gallicchio V. *Trichinella spiralis*: migration of larvae in the rat. *Exp Parasitol* 1971;30:11-21.
 - 16) Despommier D. Adaptive changes in muscle fibers infected with *Trichinella spiralis*. *Am J Pathol* 1975;78:477-96.
 - 17) Bruschi F, Korenaga M, Watanabe N. Eosinophils and *Trichinella* infection: toxic for the parasite and the host? *Trends Parasitol* 2008;24:462-7.
 - 18) Venturiello SM, Giambartolomei GH, Costantino SN. Immune cytotoxic activity of human eosinophils against *Trichinella spiralis* newborn larvae. *Parasite Immunol* 1995; 17:555-9.
 - 19) Kazura JW, Grove DI. Stage-specific antibody-dependent eosinophil-mediated destruction of *Trichinella spiralis*. *Nature* 1978;274:588-9.
 - 20) Gebreselassie NG, Moorhead AR, Fabre V, Gagliardo LF, Lee NA, Lee JJ, *et al.* Eosinophils preserve parasitic nematode larvae by regulating local immunity. *J Immunol* 2012; 188:417-25.
 - 21) Fabre V, Beiting DP, Bliss SK, Gebreselassie NG, Gagliardo LF, Lee NA, *et al.* Eosinophil deficiency compromises parasite survival in chronic nematode infection. *J Immunol* 2009;182:1577-83.
 - 22) Huang L, Appleton JA. Eosinophils in Helminth Infection: Defenders and Dupes. *Trends Parasitol* 2016;32:798-807.
 - 23) Grove DI, Mahmoud AA, Warren KS. Eosinophils and resistance to *Trichinella spiralis*. *J Exp Med* 1977;145:755-9.
 - 24) Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol* 2003;3:331-41.
 - 25) Mishra A, Hogan SP, Brandt EB, Rothenberg ME. Peyer's patch eosinophils: identification, characterization, and regulation by mucosal allergen exposure, interleukin-5, and eotaxin. *Blood* 2000;96:1538-44.
 - 26) Franssen FF, Fonville M, Takumi K, Vallée I, Grasset A, Koedam MA, *et al.* Antibody response against *Trichinella spiralis* in experimentally infected rats is dose dependent. *Vet Res* 2011;42:113.
 - 27) Coico RF, Bhogal BS, Thorbecke GJ. Relationship of germinal centers in lymphoid tissue to immunologic memory. VI. Transfer of B cell memory with lymph node cells fractionated according to their receptors for peanut agglutinin. *J Immunol* 1983;131:2254-7.
 - 28) Masterson JC, McNamee EN, Fillon SA, Hosford L, Harris R, Fernando SD, *et al.* Eosinophil-mediated signalling attenuates inflammatory responses in experimental colitis. *Gut* 2015;64:1236-47.
 - 29) Chen Z, Andreev D, Oeser K, Krljanac B, Hueber A, Kleyer A, *et al.* Th2 and eosinophil responses suppress inflammatory arthritis. *Nat Commun* 2016;7:11596.
 - 30) Beiting DP, Gagliardo LF, Hesse M, Bliss SK, Meskill D, Appleton JA. Coordinated control of immunity to muscle stage *Trichinella spiralis* by IL-10, regulatory T cells, and TGF-beta. *J Immunol* 2007;178:1039-47.