

전신 방사선 조사 후 흑서에서 나이에 따른 수지상 세포의 변화

아주대학교 의과대학 중앙혈액내과학교실

김동훈 · 김무정 · 조진희 · 임남규 · 박정일 · 정성현
이현우 · 강석윤 · 최진혁 · 김효철 · 박준성

Aging Effects on Dendritic Cells after Total Body Irradiation in Mice

Dong Hoon Kim, Moo Jung Kim, Jin Hee Cho, Nam Kyu Lim, Jung Il Park, Seong Hyun Jeong,
Hyun Woo Lee, Seok Yun Kang, Jin Hyuk Choi, Hugh Chul Kim, Joon Seong Park

Department of Hematology-Oncology, Ajou University School of Medicine, Suwon, Korea

Background: It is still obscure how dendritic cells (DCs) can orchestrate whole immune reactions according to the host age. We studied changes of murine splenic DCs after total body irradiation (TBI), with regards to age.

Methods: Young (8~14 wk) and old (12~16 mo) C57Bl/6 mice were irradiated with a dose of 1,100 cGy and were assessed 6 h later for phenotypic and functional changes of the DCs. The mean fluorescence intensities and cytokine producing cell proportions were analyzed with the student's t-test.

Results: Interleukin-12 (IL-12), interferon (IFN γ) and tumor necrosis factor (TNF α) producing classical DCs (cDCs) were more numerous in the young untreated mice than in the old mice. However, the number of these cells decreased in the young mice and increased in the old mice after TBI. IL-12, IFN γ and TNF α producing plasmacytoid DCs (pDCs) were more frequent in the old mice than in the young mice before TBI both mice showed an increased frequency of cells producing these cytokines after TBI. Overall, the highest numbers of cDCs and pDCs producing IL-12, IFN γ and TNF α were present in the old mice after TBI. In both the cDC and pDC populations, the old mice had a higher frequency of IL-10+ cells prior to TBI. After irradiation, the young mice had a higher frequency of IL-10+ cells.

Conclusion: With TBI, the DCs showed dramatic differences between young and old mice. Young mice turned to an immuno-suppressive response whereas the old mice changed to an immuno-stimulation of DCs after TBI. From these dramatic aging effects, we hope to explain the different frequencies and severities of acute GvHD after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation according to host age. (Korean J Hematol 2007;42:224-232.)

Key Words: Dendritic cells, Age, Total body irradiation

서 론

동종 조혈모세포이식술은 다양한 악성 질환 및 유전

질환의 궁극적인 치료법으로 소개되었으나, 면역체계의 불균형으로 인한 이식편대숙주질환, 생착 실패 및 원질환의 재발 등의 위험이 있어 제한점이 있다.^{1,2)} 그 중 2도 이상의 급성이식편대 숙주질환의 유병률은 수

접수 : 2007년 6월 26일, 수정 : 2007년 8월 27일
승인 : 2007년 8월 30일
교신저자 : 박준성, 경기도 수원시 영통구 원천동 산 5번지
☎ 443-749, 아주대학교병원 중앙혈액내과
Tel: 031-219-5989, Fax: 031-219-5983
E-mail: jspark65@ajou.ac.kr

Correspondence to : Joon Seong Park, M.D.
Department of Hematology-Oncology, Ajou University School of Medicine
5 San, Woncheon-dong, Yeongtong-gu, Suwon 443-749, Korea
Tel: +82-31-219-5989, Fax: +82-31-219-5983
E-mail: jspark65@ajou.ac.kr

혜자의 나이가 20세일 경우 20% 미만이지만, 50세 이상이 되면 약 80%까지 상승하는 것으로 알려져 있으며,³⁾ 이는 쥐에서도 비슷하다.⁴⁾ 나이가 많은 수혜자에서 이 같은 유병률이 증가하는 이유는 아마도 이식 후 면역관용을 유도하는 데에 실패한 결과로 이해되며,⁵⁾ 동시에 고령의 수혜자일수록 수혜자 유래 수지상 세포가 이식편대숙주질환의 정도를 심화시키기 때문에,⁶⁾ 동종 조혈모세포이식 또는 직전에 시행하는 전신 방사선 조사와 관련하여 수혜자의 수지상 세포가 어떻게 변화하는지를 나이에 따라 관찰하는 것은 향후 이를 통한 이식생존율 향상과 밀접한 관련이 있어 주목된다.

수혜자의 수지상 세포가 CD8 양성 T 림프구뿐 아니라 CD4 양성 T 림프구의 매개에 의해 급성이식편대숙주질환을 개시하는 것으로 알려져 있으며,⁷⁻⁹⁾ 비단 동종 조혈모세포 이식뿐 아니라 전신 방사선 조사 이후에도 나이에 따라서 수지상 세포의 변화가 일어날 것이라는 예상에서 본 연구를 시작하였다. 저자들은 흑서에서 전신 방사선 조사를 시행하고 비장을 적출하여 수지상 세포의 양상을 나이에 따라, 그리고 방사선 전 또는 후의 같은 시각대에서 표면항원 발현 및 사이토카인 분비(세포 내 염색을 통한) 등을 비교해 보았다.

대상 및 방법

1. 대상

C57Bl/6 마우스를 연소군(8~14주령)과 고령군(12~16월령)으로 나누었고, 이들에게 각각 총 1,100 (600+500) cGy의 감마선을 4시간 간격으로 나누어 조사하였다.

2. 수지상 세포의 분리

감마선 조사 종료 6시간 후 마우스를 할로탄 흡입으로 죽였으며, 개복하여 비장을 적출하여 965uL의 1×BSS용액과 10uL의 DNase I 및 25uL의 Liberase가 섞인 Petri dish에 담아 37°C 온수조에 20분간 효소반응을 유지하였다. 이후에 비장을 갈아서 단세포 부유액을 만들었고, 1,500rpm에서 7분간 원심분리하여 상층액을 버렸다. 이렇게 얻은 세포층에 4mL의 15% OptiPrep (Axis-Shield Co., UK)용액을 섞고, 그 위에 5mL의 11.5% OptiPrep 용액을, 그리고 그 위에 3mL의 1×HBSS용액을 조심스럽게 경계면이 흐트러지지 않도록 얹어 삼층액을 만든 후 2,500rpm에서 15분간 원심분리하였다. 최상층액과 차상층액 사이에 물려있는 수지상 세포를

뽑아내어 1×BSS용액으로 한차례 세척 후 세포 수를 측정하였다. 세포 수 측정 시 희석비수는 1 : 500이었다.

3. 단클론항체-형광체(Fluorochrome)의 중합

1) 중합: CD11c (N418), MHC Class II (I-A/I-E) 및 CD45RB에 대한 단클론 항체와 Cynine 5.5-PE (Phycocerythrin), FITC (Fluorescein isothiocyanate) 및 biotin이 각각 중합된 단클론항체-형광체를 이용하였다. Anti-CD80, -CD86, 그리고 -CD40항체 및 anti-IL-10, anti-IL-12, anti-IFN와 anti-TNF항체는 PE와 중합하였고, Streptavidin은 biotin 발색을 위해서 다시 중합하였다 (이상 Ebioscience, San Diego, CA, USA). 쥐(rat) 면역 글로블린을 음성 대조군으로 사용하였다.

2) 세포의 반응: 최소 0.6×10^6 의 세포를 anti-CD11c, -MHC Class II, -CD45RB 및 항 표면항원 항체 (anti-CD80, -CD86, and -CD40) 각각 10uL와 4°C에서 20분간 반응시켰고, 염색완충액으로 두 차례 세척하였다. Streptavidin과 중합된 형광체는 이후에 다시 4°C에서 20분간 반응시켜 biotin의 발색을 도왔다.

3) 사이토카인의 세포내 염색: 세포 표면 염색이 종료된 후에 세포에 100uL의 FACS 용해 용액을 넣고 4°C에서 20분간 방치하였다. 세포완충액으로 한 차례 세척한 후 10uL의 saponin buffer를 추가로 넣어 다시 30분간 얼음 위에 방치하여 세포막 투과를 용이하게 하였고, 이후에 세척 없이 직접 단클론 항체(IL-10, IL-12, IFN γ , 및 TNF α)를 각 튜브에 첨가하여 새로 30분 동안 얼음 위에서 반응시켰다. 세 차례의 세척 (10,000rpm, 1 min) 후 세포가 담긴 튜브에 200uL의 0.1% 포름알데히드를 넣어 고정하였다.

4. 유세포 분석

유세포 분석을 위해 FACS Calibur (Beckton Dickinson, San Diego, CA, USA) 및 Cell Quest software (Beckton Dickinson Immunochemistry systems, San Jose, CA, USA)를 이용하였고 FlowJo program (Tree Star Inc., San Carlos, CA, USA)으로 분석하였다.

5. 평균 형광 강도(Mean Fluorescence Intensities, MFI)와 양성 세포의 수

표면 분자와 사이토카인의 MFI 및 양성(표현 또는 분비) 세포의 수를 방사선 조사 전과 후에 비교하였고, 동시에 연소군과 고령군을 비교하여 측정하였다. 통계적 의의는 student *t*-test (two-tailed)로 검정하였다.

결 과

1. 수지상 세포의 아형확인

검출된 모든 수지상 세포는 CD11c⁺, MHC Class II⁺인 세포들로 구별하였다. 각 아형으로 CD11c^{hi}, MHC Class II^{hi} 세포군을 고전형 (classical DCs, cDCs), CD11c^{lo}, MHC Class II^{lo} 세포군을 형질세포형 (plasmacytoid

DCs, pDCs), 그리고 CD11c^{lo}, CD45RB^{hi} 세포군을 억제형 (regulatory DCs, rDCs)으로 분류하였다.¹⁰⁾ 이렇게 분류한 아형들은 B220 (CD45RO)의 발현정도로 확인하였다(Fig. 1).

2. 표면 항원 발현의 변화(형광 강도 및 세포의 수)

연소군(8~14주령)은 방사선 전과 후에 CD80, CD86 또는 CD40의 형광 강도에 차이를 보이지 않았지만, 고

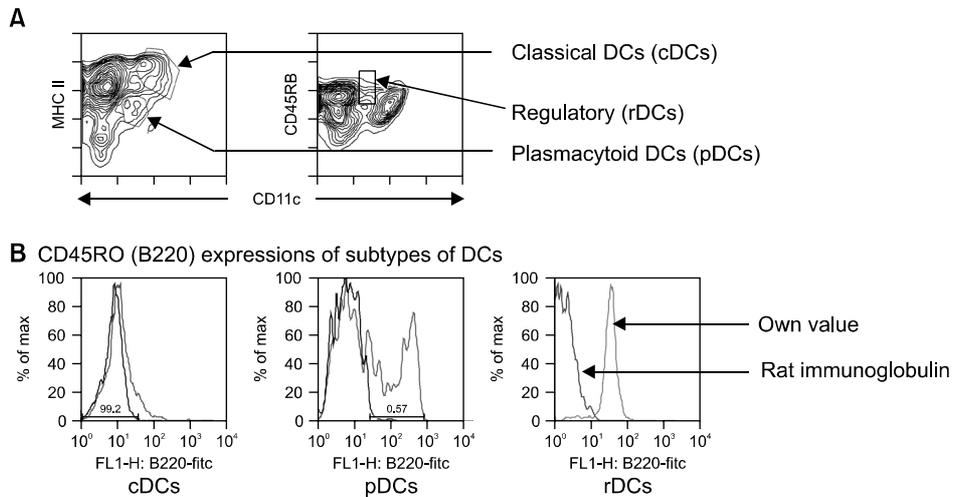


Fig. 1. Discrimination of subtypes of dendritic cells. (A) CD11c^{hi}, MHC class II^{hi} populations represented classical DCs (cDCs), CD11c^{lo}, MHC class II^{lo} populations were plasmacytoid DCs (pDCs), and CD11c^{lo}, CD45RB^{hi} were regulatory DCs (rDCs). (B) Whereas cDCs failed to express B220, pDCs expressed B220. rDCs showed B220 positive unlike other study (10). The hamster monoclonal antibody N418 reacts with an epitope of the $\beta 2$ integrin family heterodimer p150/95 (CD11c).

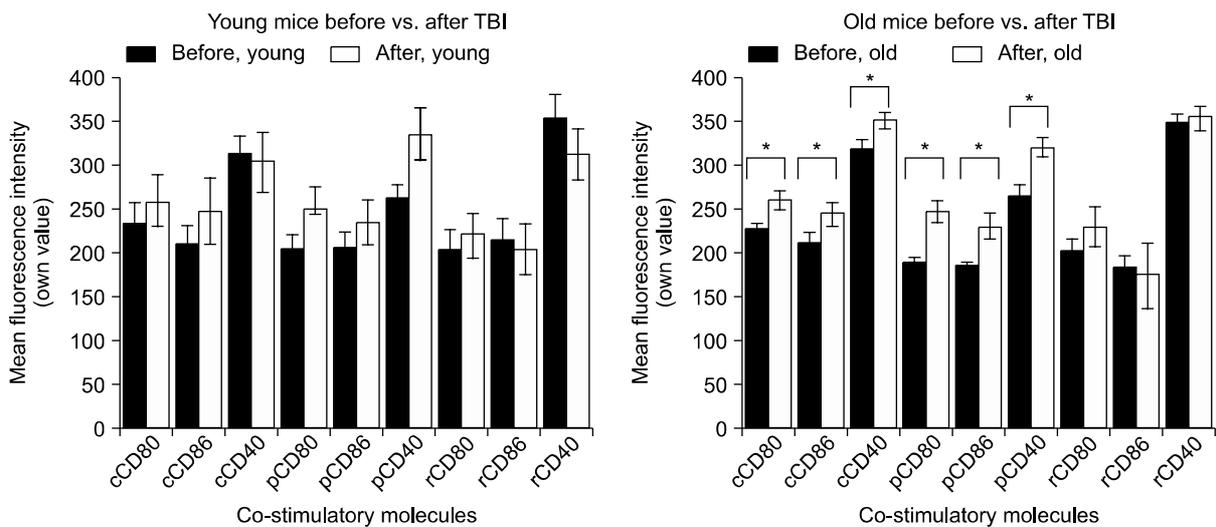


Fig. 2. Changes of MFI of co-stimulatory molecules on DCs before versus after TBI or young versus old mice. While young mice did not show any change of co-stimulatory molecules on DCs after TBI, old mice were observed up-regulations of CD80, CD86, and CD40 of cDCs and pDCs. But resting levels of co-stimulatory molecules between young and old mice were not different each other, as was after TBI (data not shown). *represents P value < 0.05 by two-tailed student t -test.

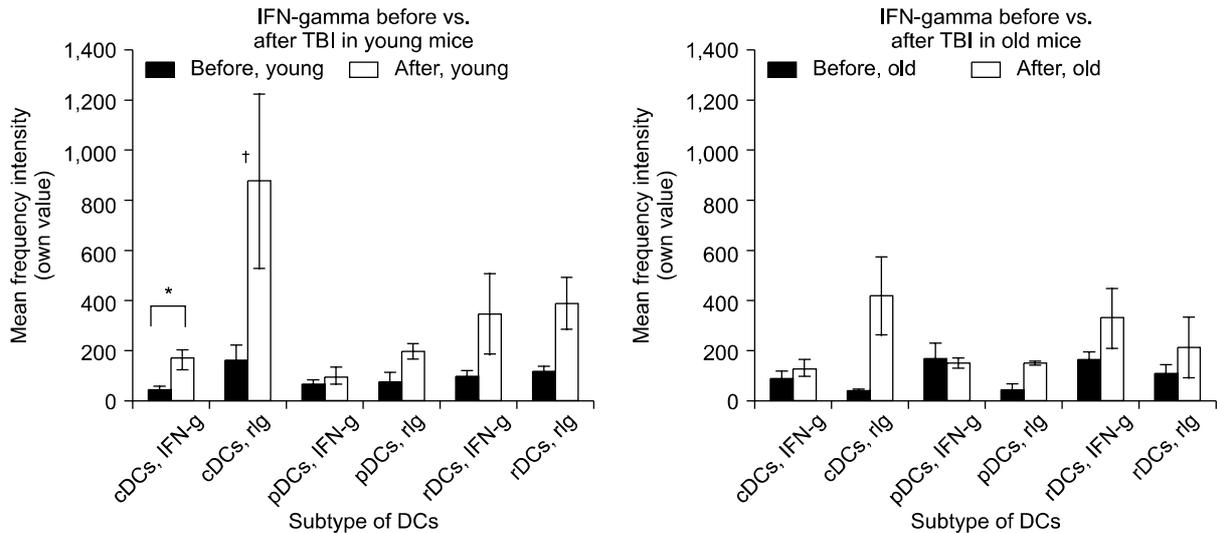


Fig. 3. MFI of IFN- γ before versus after TBI, young versus old mice. MFI of IFN- γ in young cDCs increased TBI ($P=0.0201$) but the values of rat immunoglobulin (negative control, †) was so high that the measured values could be distorted. Therefore, the MFI of IFN- γ did not show significant change sequentially (before vs. after TBI) or cross sectionally (young vs. old mice). *represents P value < 0.05 by two-tailed student t -test.

령군(12~16월령)에서는 cDCs와 pDCs의 CD80, CD86, CD40이 방사선 조사 후에 의미 있게 증가하였다(cDCs는 각각 $P=0.047, 0.025, 0.025$, pDCs는 각각 $P=0.001, 0.023, 0.006$) (Fig. 2). 하지만 같은 시각대의 연소군과 고령군을 비교하였을 때에는 방사선 전 또는 후에 차이를 보이지 않았다. 예상했던 대로 방사선을 조사한 후 모든 수지상 세포는 수적 감소를 보였지만, 각 아형의 비율은 차이를 보이지 않았으며, 동 시각대의 비교에서도 연소군과 고령군간에 수적 차이를 보이지 않았다(data not shown).

3. 싸이토카인의 MFI 변화

IL-10의 MFI는 연소군과 고령군 모두에서 방사선 전과 후에 큰 변화를 보이지 않았으며, 동 시각대의 비교에서도 두 군이 다르지 않았다. 방사선 조사는 연소군에서 IFN- γ 의 MFI를 증가 시켰다($P=0.0201$) (Fig. 3). 또한, 방사선 조사전 cDCs의 IFN- γ MFI는 연소군에서 높았다($P=0.0313$). 고령군은 방사선 전과 후에 IFN- γ 의 MFI 값이 변하지 않았다. 한편, TNF나 IL-12의 MFI는 방사선 전과 후, 또는 각 동 시각대의 연소군과 고령군간에 의미 있는 차이를 보이지 않았다.

4. 싸이토카인 분비 세포 수의 변화

연소군에서 IL-10을 분비하는 수지상 세포는 모든 아형에서 방사선 조사 후에 의미있게 증가하였다(cDCs, pDCs, rDCs 각각 $P=0.0375, 0.0061, 0.0019$). 하지만, 고

령군에서는 변화가 없거나 조사 후 감소하였다(pDCs, $P=0.0149$) (Fig. 4). 흥미로운 것은, 방사선 조사 전의 상태에서는 연소군에 비해 고령군에서 더 많은 수지상 세포들이 IL-10을 분비하였으나(cDCs, pDCs, rDCs 각각 $P=0.0357, 0.0027, 0.0011$) 방사선 조사 후에는 이러한 현상이 소실되거나 아니면 역전되었다는 것이다(rDCs, $P=0.0382$).

IFN- γ 를 분비하는 수지상 세포의 수는 IL-10과는 정반대로 나타났다. 방사선 조사 후에 연소군에서는 감소하거나(pDCs, $P=0.0087$) 변화를 보이지 않은 반면, 고령군에서는 IFN- γ 분비 세포의 수가 의미 있게 증가하였다(cDCs, rDCs 각각 $P=0.0068, 0.0077$). 방사선 조사 전의 상태에서 연소군과 고령군간에 IFN- γ 를 분비하는 수지상 세포의 수는 차이가 없었으나, 조사 후 고령군은 연소군의 모든 아형에서 보다 의미 있게 증가하였다(cDCs, pDCs, rDCs 각각 $P=0.0041, 0.0132, 0.0057$) (Fig. 5).

TNF- α 를 분비하는 수지상 세포의 수는 방사선 조사 후에 나이에 상관없이 공히 증가하였으며 특히 고령군의 cDCs와 rDCs에서 의미 있게 증가하였다(cDCs, rDCs 각각 $P=0.008, 0.0187$). 동 시각대의 비교에서는 방사선 조사 후 고령군의 cDCs가 연소군보다 TNF- α 를 더 많이 분비한 것($P=0.0167$) 이외에는 특이 소견이 없었다. IL-12를 분비하는 수지상 세포의 수는 방사선 조사로 인하여 고령군에서 의미 있게 증가하였다(cDC, rDC 각각 $P=0.0094, 0.0218$). 동 시각대의 비교

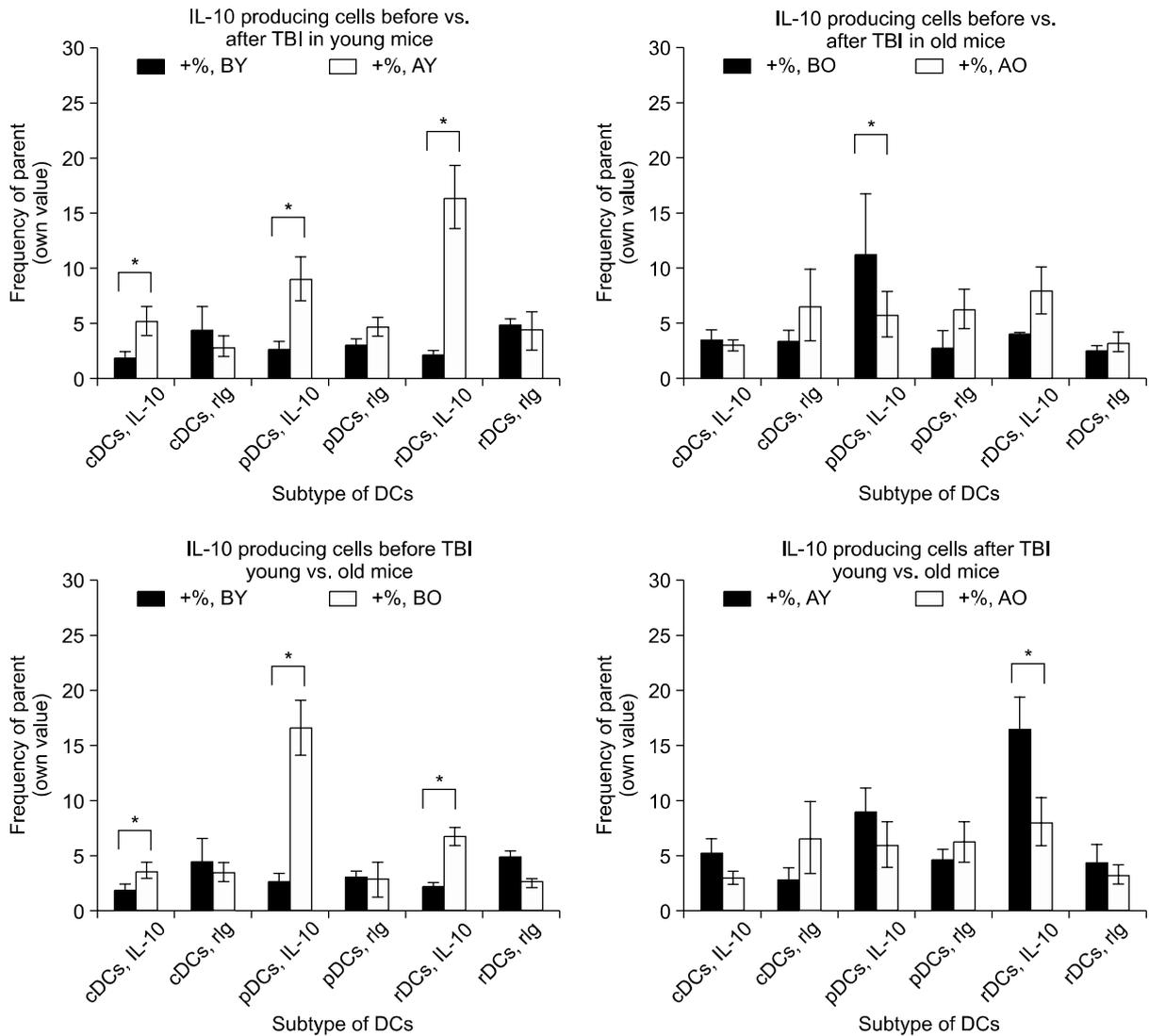


Fig. 4. Changes of IL-10 producing cells, before versus after TBI, young versus old mice. IL-10 producing cells in young mice significantly increased after TBI in all three subgroups of DCs ($P=0.0375$, 0.0051 , and 0.0019 for cDCs, pDCs, and rDCs, respectively). However in old mice, TBI increased only pDCs of IL-10 producing cells ($P=0.0149$). Interestingly, at resting state, old mice had IL-10 producing cells much more than young mice ($P=0.0357$, 0.0027 , and 0.0011 for cDCs, pDCs, and rDCs) but after TBI, the differences disappeared or reversed ($P=0.0382$ for rDCs). *represents P value < 0.05 by two-tailed student t -test.

에서는 두 군 간에 의미 있는 차이를 보이지 않았다 (Fig. 6).

고 찰

본 연구에서는 수지상 세포의 대표적인 표면분자인 CD80, CD86 및 CD40에 대하여 연구하였고, 면역증강 또는 면역관용의 방향을 제시할 만한 사이토카인으로 IL-10, IL-12, IFN- γ , 및 TNF- α 에 대하여 연구하였다.

전신 방사선 조사와 같은 매우 강한 자극을 받았을 때 마우스 체내에서는 마땅히 수지상 세포가 면역 증강의 방향으로 체내 미세환경을 바꿀 것이라고 기대하였으나, 실제 본 연구에서는 대체로 수지상 세포표면 항원의 형광강도(Mean Fluorescence Intensity, MFI)는 방사선 조사로부터 크게 영향을 받지 않았으며, 나이에 따른 변화도 결론짓기 애매모호한 양상을 보였다. 이는 사이토카인의 형광강도 역시 비슷하였다.

그러나 사이토카인을 분비하는 세포의 수적 변화는 연소군과 고령군 간에 극명한 차이를 보였다. 방사선

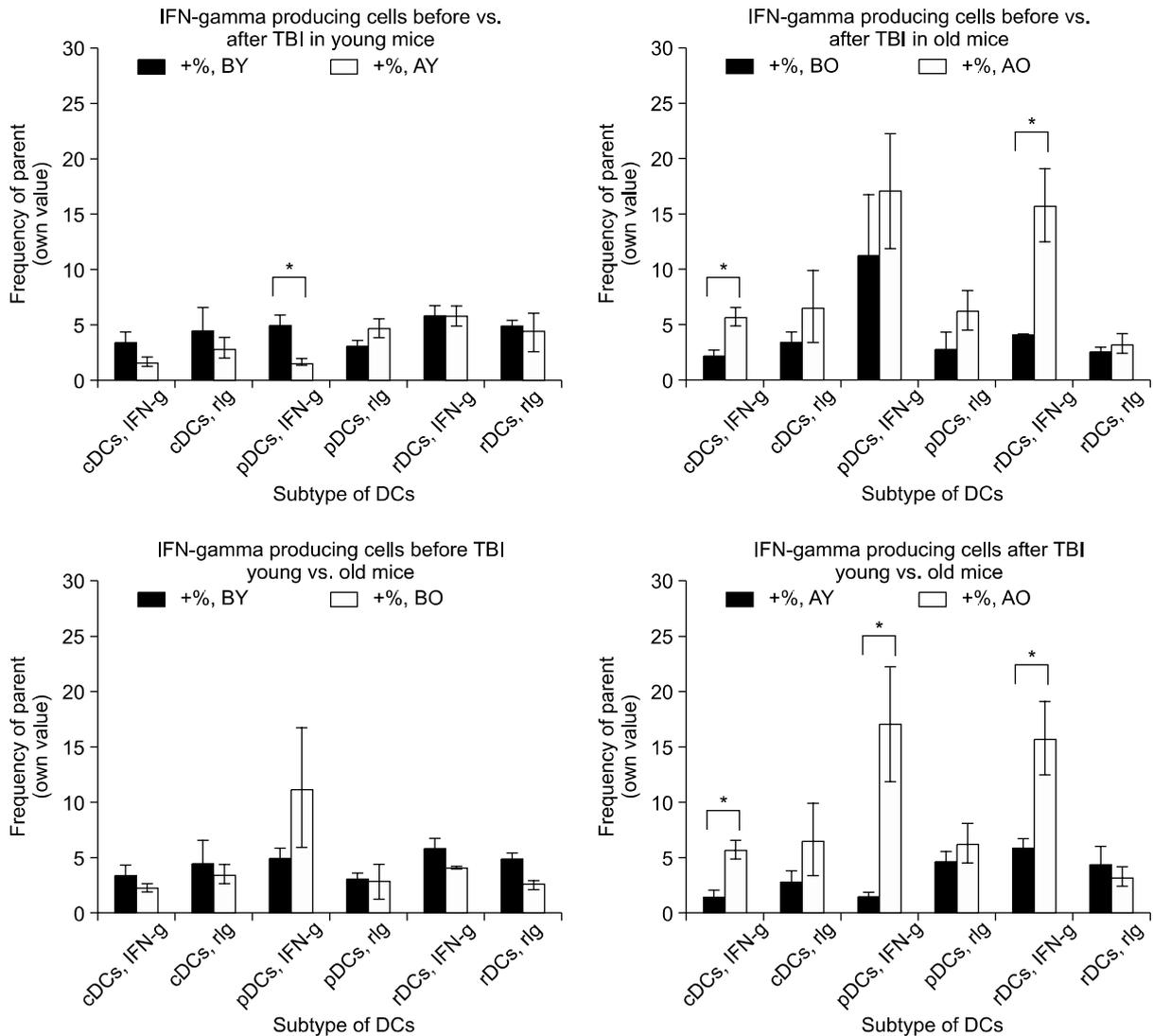


Fig. 5. Changes of IFN- γ producing cells, before versus after TBI, young versus old mice. Count of IFN- γ producing cells showed reversed phenomenon over IL-10. Young mice decreased ($P=0.0087$ for pDCs) or no change but old mice generally increased IFN- γ producing cells after TBI ($P=0.0068$, 0.0077 for cDCs, rDCs, respectively). Before TBI, young and old mice did not show difference of IFN- γ producing cell number however after TBI, IFN- γ producing cell number of all three subtypes of DCs were higher in old mice than in young mice ($P=0.0041$, 0.00132 , and 0.0057 for cDCs, pDCs). *represents P value < 0.05 by two-tailed student t -test.

조사 이전에 면역 관용의 형태(높은 IL-10 분비세포의 수, 낮은 IFN- γ 분비세포의 수)를 보이던 고령군에서는 조사 후 면역 증강의 형태(IL-10 분비세포의 감소 및 IFN- γ 분비세포의 증가)로 변화하였고, 반대로 면역 증강의 형태를 보이던 연소군에서는 방사선 조사 후 면역 관용상태를 보임으로써 나이에 따른 면역 상태의 변화가 의미 있게 관찰되었다.

한편, 수지상 세포의 아형에는 고전형, 형질세포형이 밝혀져 있으며, 최근에 억제형 T 림프구(Treg)를 자극하고 면역관용을 유도하는 억제형도 보고되고 있

다.¹¹⁾ 마우스의 체내에 존재하는 억제형 DC에는 두 가지 표현형을 보이는데 CD11c^{lo}, CD45RB^{hi}, MHC Class II^{lo}를 표현하며 체외에서 GM-CSF, TNF- α , 및 IL-10을 처리하여 분화를 유도할 수도 있고 정상적으로 마우스의 체내에도 존재하는 것이 있으며,^{10,12)} 또 다른 하나는 최근에 인간형 수지상 세포의 전구세포 또는 마우스의 전구세포로부터 실험실에서 분화가 가능하지만, 이 수지상 세포가 체내로 들어가면 MHC Class II^{hi}, CD40^{lo}, CD80^{lo}, CD86^{lo} 형태로 바뀌게 되어 후자는 쥐의 골수이식에서 이식편대 종양효과는 유지하면서

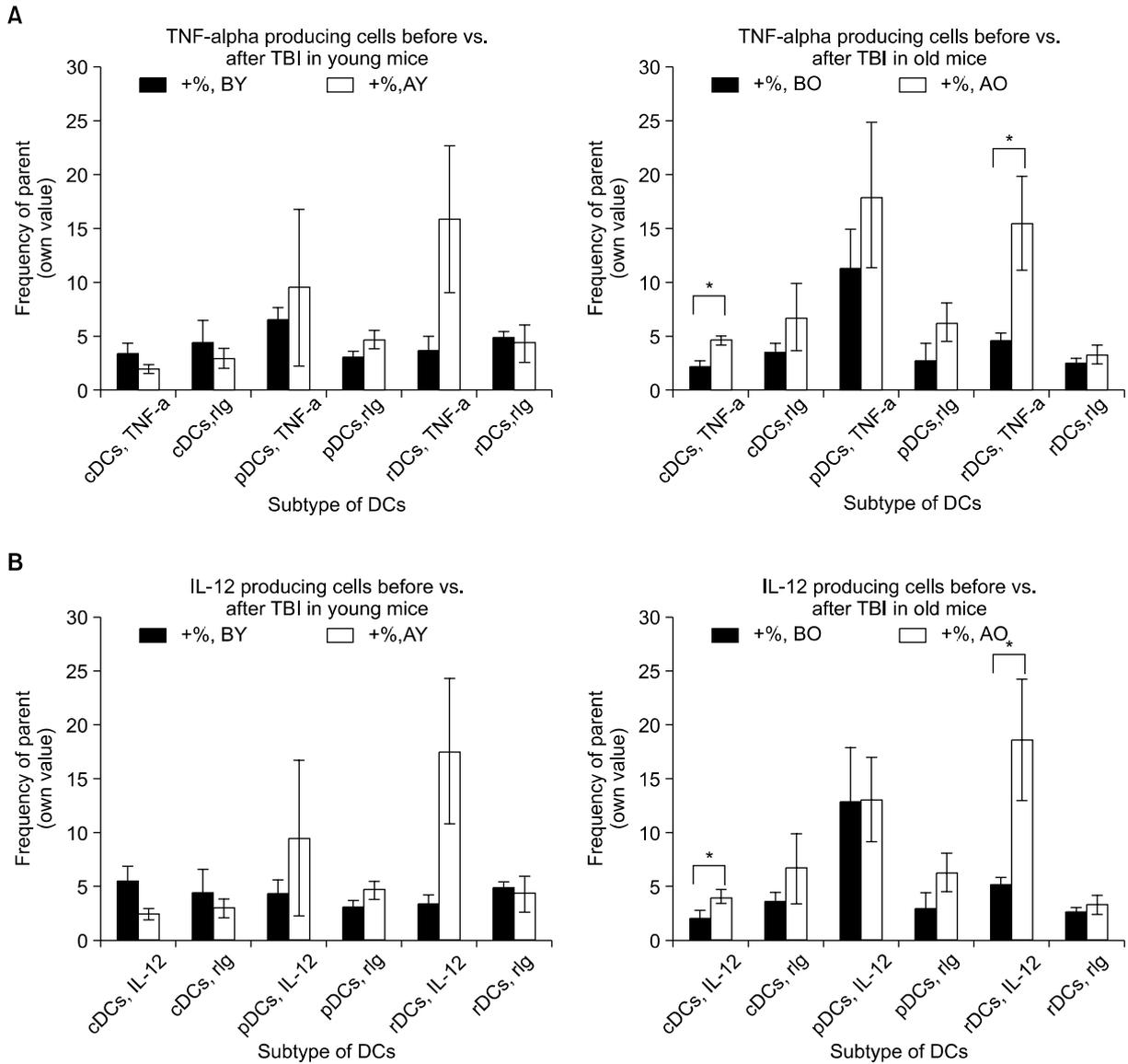


Fig. 6. Changes of TNF- α & IL-12 producing cells, before versus after TBI, young versus old mice. (A) TNF- α producing cells commonly increased in young and old mice after TBI, cDCs of old mice showed significant increment of the cell counts ($P=0.008$ and 0.0187 for cDCs and rDCs, respectively). Except for higher numbers of TNF- α producing cells in old cDCs ($P=0.0167$), cross-sectional analysis failed to show any difference between young old mice. (B) IL-12 producing cells increased significantly in old mice after TBI, not in young mice ($P=0.0094$ and 0.0218 for cDCs and rDCs). Before TBI or after TBI there was no difference of IL-12 producing cell count between young and old mice. *represents P value < 0.05 by two-tailed student t -test.

도 이식편대 숙주질환을 예방할 수 있는 것으로 알려져 있다.¹²⁾ 따라서 고령의 환자에서 이식편대숙주질환의 유병률이 높아지는 것은 억제형 DC의 숫적 혹은 기능적 감소가 하나의 원인이 될 수 있으며, 이 억제형 DC를 증폭하고 극대화하는 것이 이식편대숙주질환을 조절할만한 또 하나의 의미 있는 방법이라 할 수 있겠다. 따라서 전신 방사선 조사나 조직적합항원 불일치 조절세포이식 시에 나이에 따라 면역관용 효과에 어

떤 차이가 있는지 알아보기 위하여서는 억제형 DC에 관한 연구도 의미가 있을 것으로 생각한다.

본 연구에서도 상기 세 가지의 아형(고전형, 형질세포형, 및 억제형)에 따른 변화를 분리하여 관찰하였다. B220 표현의 차이로 각 아형을 구별하였는데, 처음 억제형 아형을 분리하였던 연구결과¹⁰⁾와는 달리 억제형 DC에서도 B220의 표현이 증가하여 본 연구에서는 형질세포형 아형과 크게 다르지 않았음을 확인하였다.

하지만, 형질세포형과 억제형 아형간에는 CD45RB의 표현이 상이한 특징을 가지고 있었으며, 방사선 조사 전후에 나타나는 표면 분자의 변화나 싸이토카인 분비 세포의 변화를 고려할 때에 억제형 DC는 형질세포형의 또 다른 아형으로 생각되는 바 이에 대한 연구는 보강되어야 할 것이다. 참고로 저자들은 체외에서 분화된 마우스의 억제형 DC를 불일치 동종 조혈모세포 이식술에 추가하여 보았는데, 극적으로 이식편대숙주 질환을 감소시키고 치유하는 효과를 보았으며, 이는 또 다시 연소군과 고령군 간에 차이를 보였다(data not shown).

이상의 결과를 종합해볼 때 수지상 세포 표면에 보이는 부자극 분자의 형광 강도의 변화는 저명하지 않았으나, 분자를 표현하는 세포의 숫자에서는 나이에 따른 확실한 변화를 보였다. 즉, 연소군 마우스에서는 평소 스트레스가 없는 상태에서 면역이 강화되어 있으며(IL-10 분비 세포의 저하 및 INF- γ 분비 세포의 증가) 전신 방사선 조사와 같은 스트레스 직후에는 면역 관용 상태(IL-10 분비 세포의 증가 및 INF- γ 분비 세포의 감소)를 보였고, 고령군에서는 정반대의 양상을 보였다.

본 연구에서는 수지상 세포의 표면 부자극 분자의 발현율(형광 강도)과 발현하는 세포의 수, 그리고 몇몇 싸이토카인 역시 발현율과 발현하는 세포의 수자만으로 면역반응의 증강 또는 관용을 살펴보려 하였다. 물론, 그 외에도 T 림프구 증식검사(T cell proliferation assay)나 림프구 혼합배양 반응(Mixed Lymphocyte Reaction) 또는 체내 반응의 유도 등을 병행하였다면 보다 확실한 결론을 얻을 수 있었을 것이라고 생각한다. 그러나 저자들이 알기로 흑서에서 나이에 따른 수지상 세포의 변화를 추적한 논문은 아직까지 존재하지 않으며, 이 결과를 토대로 더 많고 다양한 연구가 진행될 수 있을 것으로 기대한다.

비록 동종의 골수를 이식하기 전이라 하더라도 전신 방사선 조사만으로 나이에 따른 극명한 차이가 마우스의 비장 내 수지상 세포에서 나타났으며, 이로 인해 다양한 면역 반응의 방향이 이식 이전부터 이미 어느 정도 결정되어 있다고 예상할 수 있다. 본 연구팀은 흑서(공여자, C57Bl/6)와 백서(수혜자, BALB/c)의 조직적합성항원 불일치 이식을 시행하면서 수혜자와 같은 종의 백서 골수를 채취하여 체외에서 억제형 DC를 배양하였고, 이식편대숙주질환이 발생하기 직전에 주입한 결과 급성이식편대숙주질환이 성공적으로 치료되는 것을 경험하였다(data not shown). 따라서 동종 이식

후 나이별로 급성이식편대숙주질환이 발생함에 따른 수지상 세포의 변화를 연구한다면 이식 후 발생하는 많은 면역반응의 방향을 유도하거나 변화시킬 수 있다고 생각한다.

요 약

배경: 비록 수지상 세포(dendritic cells, DCs)가 체내의 다양한 면역 반응을 개시, 전파하는 중추적 역할을 하는 것은 알려진 사실이나 개체의 나이에 따라 어떻게 전반적인 면역반응을 조절하는지에 대해서는 알려진 바가 거의 없다. 저자들은 마우스에서 방사선 조사 후에 나이에 따라 어떻게 다른 양상을 보이는지에 대하여 연구하였다.

방법: C57Bl/6 마우스를 연소군(8~14주령)과 고령군(12~16월령)으로 나누었고 양 군에게 1100 cGy의 감마선을 조사하였다. 조사 6시간 후 DCs의 표현형적, 기능적 변화를 확인하였다. 평균 형광 강도(Mean Fluorescence intensity, MFI)와 싸이토카인 분비 세포의 비율을 계산하였고, 통계분석은 student *t*-test로 하였다.

결과: IL-12, IFN γ , 및 TNF α 를 분비하는 cDCs는 방사선 조사 전에 연소군에서 많았다. 하지만 이러한 세포들은 방사선 조사 후에 감소하였고, 고령군에서는 증가하여 결국 방사선 조사 후에는 역전되었다. IL-12, IFN γ 및 TNF α 를 분비하는 pDCs는 방사선 조사 전에 고령군에서 더 많았으며, 두 군 모두 방사선 조사 후에는 이들 세포가 증가하였다. 결국 IL-12, IFN γ , TNF α 을 생산하는 cDCs 및 pDCs의 가장 많은 수는 조사 후 고령군에서 관찰되었다. 방사선 조사 전에는 cDCs 와 pDCs 모두 고령군에서 IL-10⁺세포가 더 많았으나 방사선 조사 후 연소군에서 IL-10⁺세포가 더 많아졌다.

결론: 전신 방사선 조사 후에 연소군과 고령군에서 수지상 세포의 극적인 차이를 보였다. 연소군에서는 면역 관용의 변화가, 그리고 고령군에서는 면역 증강의 변화가 일어났다. 이와 같이 나이에 따라 방사선 조사 후 일어나는 수지상 세포의 차이 나는 변화를 토대로 수혜자의 나이에 따른 동종 골수 이식후의 급성이식편대숙주질환의 빈도와 정도의 차이를 설명할 수 있는 근거가 될 수 있기를 바란다.

참 고 문 헌

1) Maraninchi D, Gluckman E, Blaise D, et al. Impact

- of T-cell depletion on outcome of allogeneic bone-marrow transplantation for standard-risk leukemias. *Lancet* 1987;2:175-8.
- 2) Marmont AM, Horowitz MM, Gale RP, et al. T-cell depletion of HLA-identical transplants in leukemia. *Blood* 1991;78:2120-30.
 - 3) Sullivan K, Storb R, Buckner CD, et al. Graft-versus-host disease as adoptive immunotherapy in patients with advanced hematologic neoplasms. *N Engl J Med* 1989;320:828-34.
 - 4) Bryson JS, Jennings CD, Caywood BE, Dix AR, Lowery DM, Kaplan AM. Enhanced graft-versus-host disease in older recipient mice following allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1997;19:721-8.
 - 5) Storb R. Graft rejection and graft-versus-host disease in marrow transplantation. *Transplant Proc* 1989;21:2915-8.
 - 6) Shlomchik WD, Couzens MS, Tang CB, et al. Prevention of graft versus host disease by inactivation of host antigen-presenting cells. *Science* 1999;285:412-5.
 - 7) Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med* 1973;137:1142-62.
 - 8) Steinman RM, Lusting DS, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. III. Functional properties in vivo. *J Exp Med* 1974;139:1431-45.
 - 9) Steinman RM. The dendritic cell system and its role in immunogenicity. *Annu Rev Immunol* 1991;9:271-96.
 - 10) Wakkach A, Fournier N, Brun V, Breittmayer JP, Cottrez F, Groux H. Characterization of dendritic cells that induce tolerance and T regulatory 1 cell differentiation in vivo. *Immunity* 2003;18:605-17.
 - 11) Sato K, Yamashita N, Baba M, Matsuyama T. Modified myeloid dendritic cells act as regulatory dendritic cells to induce anergic and regulatory T cells. *Blood* 2003;101:3581-9.
 - 12) Sato K, Yamashita N, Yamashita N, Baba M, Matsuyama T. Regulatory dendritic cells protect mice from murine acute graft-versus-host disease and leukemia relapse. *Immunity* 2003;18:367-79.
-