

일차 배양된 성인 성상아교 세포에서 인터루킨-2 수용기의 발현

연세대학교 의과대학 신경과학교실, 미생물학교실*

최철희 · 이병인 · 최인홍*

Expression of Interleukin-2 Receptor in Primary Cultured Adult Human Astrocytes

Chul hee Choi, M.D., Byung In Lee, M.D., In-Hong Choi, M.D.*

Department of Neurology & Department of Microbiology* College of Medicine Yonsei University

Background : Astrocytes are the major glial cells involved with the chemical homeostasis and mechanical supports of central nervous system. Recently, astrocytes were found to actively synthesize and secrete many immunologically active cytokines and express receptors for these mediators, which proposed their autocrine and paracrine roles in the pathogenesis of many neurodegenerative or autoimmune diseases, i.e., multiple sclerosis, Alzheimer's disease, etc. The identification of various chemical mediators secreted by astrocytes and receptors expressed on astrocytes seems to be crucial for understanding their pathogenic roles in these diseases. Our investigation was conducted to test the expression of interleukin-2 receptor α subunit (IL-2R α) on primary cultured astrocytes, which has not been studied yet.

Methods : Astrocytes were obtained from the surgical specimen of a patient with intractable temporal lobe epilepsy. Neuropathological examination of the specimen revealed hippocampal sclerosis only with normal lateral temporal neocortex from which cultured astrocytes were obtained. All experiments were performed within 2 months after starting primary culture. Cultured astrocytes were incubated with IL-1, IL-2, IL-6, TGF- β and TNF- α for 24 hours. RT-PCR was performed to investigate the transcription of IL-2R. **Results :** RT-PCRs for the IL-2R α showed constitutional expression on the adult cultured astrocytes, which was increased by IL-1, IL-2, IL-6 and TNF- α but decreased by treatment of TGF- β . **Conclusions :** Adult astrocytes expressed IL-2R α constitutively, which were upregulated by IL-1, IL-2, IL-6 and TNF- α . These findings suggest the immunocompetence of astrocytes, which may be important in the pathogenesis of many neurological diseases.

J Kor Neurol Ass 16(5):672-677, 1998

Key Words : Astrocyte, Interleukin-2 receptor, RT-PCR, Alternative splicing, messenger RNA, Cytokines

서 론

성상아교세포는 소교세포와 희소돌기교세포와 함께 중추 신경계를 구성하는 교세포중 가장 많은 수를 차지한다. 이들은 다른 조직에 비해 상대적으로 결체 조직이 적은 중추 신경계의 물리적인 지지를 담당하고, 혈관의 내피 세포와 함께 뇌-혈 장벽을 형성함으로써 여러 약물과 대사물의 대뇌로의 이동을 조절한다.^{1,2} 또한 신경원 세포에서 활동 전

위서 배출하는 칼륨 이온을 빠르게 유입함으로써 세포외 조직에서의 화학적인 항상성 조절에도 관여한다.^{3,4} 성상아교 세포에는 여러 신경펩타이드와 신경전달물질에 대한 특이 수용기 및 운반체를 표현하고 있어,^{5,6} 성상아교세포도 함께 탈분극되거나 세포외액에서 신경전달물질을 빠르게 유입하는 기능을 담당한다.^{7,8} 특히 신경원의 활성화에서 분비되는 신경전달물질, 특히 흥분성 아미노산에 의해 수용기를 매개하는 이온 통로가 열림으로써 국소적인 이온 농도를 변화시켜 신경원의 활성화에 간접적으로 작용할 수 있다.¹⁰⁻¹² 중추 신경계의 발생 과정에서 대뇌 피질을 형성하는데 있어 성상아교세포가 형성하는 경로를 따라 신경원아세로(neuroblast)를 유입함으로써 정상적인 피질의 층상 구조를 형성할 수 있게 된다.^{13,14} 또한 성상아교세포는 MHC class II 분자를 표현하고 있어¹⁵ 항원제거 세포의 기능을 담당할 수 있는 가능성이 제기되고 있으며, 다양한 자극에

Manuscript received May 4, 1998.

Accepted in final form June 31, 1998.

* Address for correspondence

Byung-In Lee, M.D.

Department of Neurology, Yonsei University,
College of Medicine, C. P. O Box 8044,
Seoul, Korea

Tel : +82-2-361-5460 Fax : +82-2-393-0705

E-mail : neuro@yumc.yonsei.ac.kr

의해 전염증성(proinflammatory) 사이토카인 및 성장 인자를 생성, 분비하여 중추 신경계내에서 염증 반응을 유발할 수 있음이 밝혀지면서 소교세포와 함께 중추 신경계에 서 면역에 중요한 역할을 담당하는 것으로 생각되고 있다.¹⁶

사이토카인은 분비하는 부위 근처에서 혈류를 타고 작용하는 일부 인자들을 제외하고는 대부분 paracrine 혹은 autocrine 방식으로 항상성 유지에 관여하는 펩타이드 호르몬으로 정의할 수 있으며, 인터루킨, 종양괴사인자, 인터페론, 성장인자, 신경성장인자 등이 속한다.¹⁷ 이들은 빠른 성장이나 손상이나 종양과 같은 조직의 이상 조절과 같은 조직의 스트레스에 의해 발현과 활성이 증가하며, 특히 신경성장인자(neurotrophic factors) 등은 중추 및 말초 신경계의 손상과 발생에 있어 매우 중요한 역할을 담당하는 것으로 생각된다.¹⁸ 또한 종양괴사인자와 인터페론을 포함하는 전염성 사이토카인은 전신성 염증이나 감염시 나타나는 신경계의 이상에 관여하며, 다발성 경화증이나 신경변성 질환에서 그 발현이 증가한다. 따라서 이들 사이토카인과 그 수용기의 발현은 중추 신경계의 연구에 있어 매우 중요한 비중을 차지하고 있다.¹⁹

중추 신경계에서 전염증성 사이토카인의 작용과 생성에 대해서는 현재까지 많은 연구가 이루어졌으나, 실제로 면역 기능의 조절에 관여하는 Th1이나 Th2 인터루킨의 중추 신경계내에서의 작용에 대해서는 그 연구된 바가 없다. 이에 본 저자들은 중추 신경계에서 면역 기능에 상당한 부분을 차지할 것으로 생각되는 성상아교세포의 면역 기능의 조절에 대한 연구를 진행하기 위해 현재까지는 성상아교세포로 표현되지 않는 것으로 알려진 인터루킨-2 수용기의 표현 여부에 대해 알아보고, 이 인터루킨-2 수용기의 표현이 중추 신경계에 많이 존재하는 전염증성 사이토카인인 인터루킨-1(이하 IL-1), 종양괴사인자(tumor necrosis factor- α 이하 TNF- α) 및 인터루킨-2(이하 IL-2), 인터루킨-6(이하 IL-6)와 transforming growth factor- β (이하 TGF- β)에 의해 조절되는 지에 대해 알아보려고 하였다.

대상 및 방법

1. 성상아교세포의 배양 및 사이토카인의 처리

측두엽 간질로 전내측 측두엽 제거 및 해마제거술을 시행 받은 환자의 측두엽 조직의 일부에서 일차 배양을 실시하였다. 환자의 측두엽에서 제거한 대뇌 피질의 병리학적 검사에서는 정상 소견을 나타내었다. 수술실에서 얻은

Table 1. Concentrations of cytokines

| Cytokines | Concentration |
|---------------|----------------|
| IL-1 | 1 μ g / ml |
| IL-2 | 2 μ g / ml |
| IL-6 | 1 μ g / ml |
| TGF- β | 1 μ g / ml |
| TNF- α | 1,500 U / ml |

(IL-1: interleukin-1, IL-2: interleukin-2, IL-6: interleukin-6, TGF- β : transforming growth factor-beta, TNF- α : tumor necrosis factor-alpha)

대뇌 조직의 일부를 잘게 자른 후 10% fetal calf serum이 포함된 DMEM (Dulbecco's modified enriched media)에서 배양을 시작하였다.²⁰ 배양 후 일 주일 마다 상온에서 3시간 동안 200 rpm으로 흔들어 배양액과 분리된 세포들은 제거하고 배양액을 새로 넣어 주면서 성상아교세포를 선택적으로 배양하였다. 대부분의 실험은 4-5 번의 개대 배양이 끝난 후 실시하였으며, 성상아교세포를 확인하기 위해 GFAP (glial fibrillary acidic protein)²¹에 대한 단클론성 항체(Sigma, St. Louis, MI)에 형광 물질을 부착한 후 flow cytometry와 confocal microscopy로 확인하여 GFAP 양성 세포가 95% 이상인 경우에 실험을 진행하였다.

이렇게 4-5회의 개대 배양이 끝난 성상아교세포를 trypsin 처리하여 세포의 수를 센 후 각 배양 플라스크에 10^6 당 10^6 정도의 세포로 재분주하였다. 여기에 IL-1(Genzyme), IL-2, IL-6, TGF- β , TNF- α 를 각기 Table 1에 나타난 농도로 24시간 동안 처리하였다.

2. 총 RNA의 분리과 역전사 증합효소 연쇄반응

24시간 동안 여러 사이토카인을 첨가하고 배양한 성상아교세포를 trypsin 처리하여 얻은 후, modified acid guanidium thiocyanate-phenol-chloroform 추출 방법을 이용한 Rneasy Mini kit (Qiagen, Santa Claris, CA)를 이용하여 총 RNA를 분리하였다. First-strand complementary DNA는 0.2 μ g의 random hexanucleotide primers(Pharmacia, Uppsala, Sweden), 20units의 Molony murine leukemia virus 역전사 효소(Gibco BRL, Grand Island, NY)를 이용하여 100ng total RNA μ l⁻¹의 농도가 되도록 합성한다. 이렇게 합성된 cDNA를 이용하여 Table 2에서 나타낸 것과 같은 일기 서열의 인터루킨-2 수용기 알파 아단위에 대한 forward primer와 reverse primer를 각각 10pg μ l⁻¹의 농도로 첨가하여 GeneAmp PCR system 9600 (Perkin Elmer)에서 35회 증합효소 연쇄반응을 수행하였다. 또한 각 검체의 cDNA양이 같은 지를 보기 위하여 β -actin에 대한 특이 primer를 가지고 증합효소 연쇄반응을 수행한 후 각 검체의 양을 비교하였다.

Table 2. Sequences of primers

| | | Sequences |
|----------------|-------------------|------------------------------|
| IL-2R | Forward | 5'-TCAAGAGTTCCTACTACTCT-3' |
| | Reverse | 5'-ATGGACGCTCCATGGTTCG-3' |
| | Reverse for probe | 5'-CTGTTCTTCAGGTGAGGTG-3' |
| β -actin | Forward | 5'-CGTGGCCGCCCTAGGCAACA-3' |
| | Reverse | 5'-TTGGCCTTAGGGTTCAGGGGGG-5' |

Forward and reverse primers for amplification of IL2R- α and β -actin. Reverse probe primer is designed for shorter PCR product of IL2R- α (250bp) compared to original IL2R- α product(650bp). The PCR for IL2R- α probe was performed with same forward primer with original forward IL2R- α PCR primer and reverse probe primer.

3. Probe 제작

인터루킨-2 수용기 알파 아단위에 대한 특이 probe를 제작하기 위해 반은 산물의 크기가 250bp가 되도록 primer를 합성한다 (Table 2). 합성된 probe의 염기서열을 확인하기 위해 이를 TA vector를 이용하여 cloning 한 후 chemical termination 방법을 이용하여 염기서열을 분석하였다. 또한 probe를 제작한 후 불순물을 제거하기 위해 nucleotide clean Kit (Qiagen, Germany)을 이용하여 순수한 probe를 얻은 후 분광분석기에서 정량한 다음 $1\text{ng } \mu\text{l}^{-1}$ 이 되도록 희석하여 Southern blot에 사용하였다.

4. 전기 영동 및 Southern blotting

인터루킨-2 수용기에 대한 중합효소 연쇄 반응이 끝난 후 10 μl 의 반응 산물을 1.5% agarose gel에서 전기 영동을 한다. 이를 ethidium bromide로 염색한 후 U.V. 하에서 각 band를 확인한 후, neutral buffer transfer 방법을 이용하여 nylon membrane에 blotting을 한다. Blotting된 membrane에 위의 방법으로 만든 probe를 10ng을 첨가한 후 42°C에서 12시간동안 hybridization시킨다. Hybridization이 끝나면 chemoluminescence 방법을 이용한 ECL Kit을 이용하여 암실에서 5분간 film에 감광한 후 현상한다. 이렇게 현상된 필름을 gel document system을 이용하여 각 band의 비를 구한다.

5. Cloning과 염기 서열 분석

중합효소 연쇄반응이 끝난 후 agarose 전기영동으로 관찰되는 각 band를 잘게 썬 후 다시 DNA만을 분리한 후 TA vector (Clontech)를 이용하여 ligation시켰다. 이

렇게 ligation된 vector를 competent cell에 transformation 시킨 후 37°C에서 12시간동안 배양한다. 배양된 대장균에서 plasmid만을 miniprep하여 chemical termination method를 이용하여 염기서열을 분석하였다. 이러한 염기서열은 genebank에서 homology를 검색하였다.

연구결과

난치성 측두엽 간질 환자의 간질 수술시 얻은 검체에서 순수하게 성장아교세포를 일차 배양할 수 있었다. 환자의 병리 소견은 내측 해마의 경화로서 본 연구에서 사용된 측두엽 신피질에는 이상 소견이 관찰되지 않았다. 총 5건의 개대배양이 끝나고 성장아교세포를 확인하기 위해 GFAP에 대한 단클론성 항체를 이용하여 형광 면역염색을 실시한 결과 95% 이상에서 GFAP를 표현하는 성장아교세포임을 확인할 수 있었다.

성장아교세포에서 분리한 총 RNA에서 실시한 역전사 중합효소 연쇄반응 산물을 Southern blotting한 결과 인터루킨-2 수용기 알파 아단위가 표현됨을 관찰하였다 (Fig. 1A). 각 band중 가장 상단의 650bp정도의 band는 염기서열상 정상적인 인터루킨-2 수용기 알파 아단위의 전사 RNA와 일치하였다. 이 band 아래에 70bp, 200bp와 270bp정도의 차이가 있는 두 개 및 세 개의 band가 관찰되는데, 이들의 염기서열을 분석한 결과 인터루킨-2 수용기 알파 아단위 mRNA에서 exon 4 및 exon 5 혹은 exon 4와 exon 5 모두가 alternative splicing 형태로 절손된 것으로 나머지 염기서열은 100% 동일한 것으로 확인되었다 (Fig. 1B).

사이토키닌을 처리한 후 인터루킨-2 수용기의 발현 정도를 비교한 결과, IL-1, IL-2, IL-6 및 TNF- α 에 의해서는 인터루킨-2 수용기 알파 아단위의 발현이 아무 것도 처리하지 않은 상태와 비교하여 2-4배정도 증가하는 양상을 보였다 (Fig. 2). 그러나 TGF- β 를 처리한 경우에는 오히려 그 발현이 감소하는 양상을 보였으며, 650bp의 band는

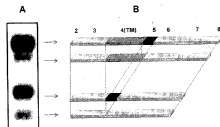


Figure 1. RT-PCR for IL2R- α in unstimulated astrocytes. (A) Southern blotting of PCR shows 4 discrete bands. The most upper band is 650bp-sized and sequencing of this band revealed IL2R- α cDNA previously reported.^{25,33,34} The second band is exon 5(72bp)-deleted form.¹⁸ The third band is exon 4(216bp)-deleted form and this is supposed to be translated into soluble form of IL2R- α .²⁵ The last band is exon 4 & 5(288bp) deleted form. This band has never been reported before. (B) Schematic diagram shows the alternative spliced cDNA of IL2R- α . Exon 4 is thought to be translated into transmembrane(TM) domain of IL2R- α .

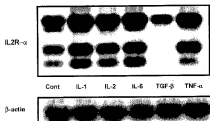


Figure 2. Southern blotting of PCR for IL2R- α and β -actin. Upper panel shows the result of southern blot of IL2R- α PCR performed with cDNA from astrocytes. Lower panel shows the β -actin PCR, the β -actin amount of each sample is approximately equal. The expression IL2R- α is increased after IL-1, IL-2, IL-6 and TNF- α treatment. TGF- β decreased the IL2R- α transcription.

잘 관찰되나 아래의 band들은 관찰되지 않았다.

고 찰

중추신경계에서 발견되는 사이토카인으로 가장 잘 알려진 것들은 IL-1, IL-6, TNF- α , 인터페론- γ 로서 이들은 전신적인 염증 반응이나 다발성 경화증과 같은 중추내의 국소적인 염증성 직접 염증을 유발하지는 않지만 면역세포의 활성을 촉진함으로써 염증 반응을 촉진할 수 있기 때문에 전염증성 사이토카인으로 불리기도 한다.¹⁴ 이러한 사이토카인이 말초에서 생성된 후 중추 신경계에 작용하는 기전은 손상된 혈-뇌 장벽을 통해 중추로 유입되거나 혹은 특수한 운반체를 통해 중추로 들어와 작용을 나타내거나, 혹은 미주신경과 같은 말초 신경을 따라 그 작용을 나타내는 것으로 생각되고 있다.²² 말초에서 생성되는 사이토카인의 경우 같은 효과를 내기 위해 중추에 직접 사이토카인을 주입할 때보다 훨씬 더 많은 양을 필요로 한다. 중추에서 생성되는 사이토카인은 말초에서보다 더 낮은 농도에서 발현, 에너지 대사의 이상, 수면의 시작, 행동의 이상과 같은 전신 감염에 동반되어 나타나는 신경계 이상 반응을 유발한다.²³ 이전에는 중추 신경계에서 생성되는 전염증성 사이토카인은 대부분 활성화된 소교세포와 대식세포에서 기원하는 것으로 생각되었다. 또한 이들의 작용 목표도 대부분 소교세포의 활성화나 혈액-뇌장벽을 넘어서고의 세포와 같은 것으로 생각되었다. 그러나 최근 들어 성장아교세포에서 일정한 자극을 받으면 이와 같은 전염증성 사이토카인을 대량 생성하여 분비할 수 있으며, 또한, 이들 사이토카인에 의해 자신이 다시 활성화되는 것들이 보고되면서 이러한 성장아교세포도 소교세포만큼이나 면역학적으로 활성이 있는 세포로 인식되고 있다.

이러한 전염증성 사이토카인 이외에도 Th1 및 Th2 사이토카인이 중추내에서 생성되며, 여러 질병 상태에서 이들의 수용체가 발견되는 하였지만 이들의 세포 단위에서의 발현에 대해서는 아직 잘 모르는 상태이다.^{24,25} 또한 이들 사이토카인의 작용이 말초에서와 같은 염증성 반응일지 혹은 중추 신경계에서는 독특한 작용을 나타낼 지에 대해서도 아직 모르고 있다.²⁶

인터루킨-2는 현재까지는 대뇌 손상, 알츠하이머나 다발성 경화증 환자의 대뇌에서 검출되었으며, 정상 뇌조직에서의 존재 여부는 밝혀지지 않았다.¹⁷ 이러한 인터루킨-2의 중추 신경계내에서의 기원은 대부분 소교세포나 침윤되어 있는 대식세포인 것으로 보고되었다. 그러나 이의 mRNA의 발현을 *in situ* hybridization을 이용하여 조사한 결과 쥐의 대뇌에 있어 신경원의 세포체와 성장아교세포에서 전사(transcription)됨을 알 수 있었다.²⁸ 따라서 소교세포에서도 인터루킨-2가 생성되어 분비될 수 있지만, 성장아교세포에서도 전염증 사이토카인의 영향에 의해 인터루킨-2를 생성하여 중추 신경계의 염증 반응을 촉진시킬 수 있다. 그러나 이러한 사이토카인이 중추에서 실제로 어떠한 작용을 나타내는 지에 대해서는 아직 잘 알려져 있지 않다. 현재까지의 추론으로는 혈중에 존재하는 면역세포의 중추

신경계내로의 유입 및 활성화에 관여하는 것으로 생각되고 있으나, 실제로 이러한 사이토카인들이 중추 신경계내에서 말초에서와 같은 작용만을 나타내지 않고 다른 작용을 나타낼 수도 있다는 의견들이 제기되고 있다.²⁹ 현재까지 알려진 인터루킨-2의 중추 신경계에 대한 작용을 알아보면, 인터루킨-2를 직접 쥐의 대뇌 실질에 주입하였을 때 정반 부위의 세포에서 수용기를 매개하는 작용에 의해 수면을 유발하는 기능이 있는 것이 보고되었으며, 인간의 제초화된 인터루킨-2는 교세포 특히 희소돌기교세포의 증식을 촉진하는 것으로 보고되었다.²⁷ 이러한 사이토카인의 중추내에서의 작용이 어떤 세포에 작용하여 일어나는 지에 대해서는 아직 보고된 바가 없었다.

인터루킨-2 수용기는 알파, 베타, 감마의 세 아단위로 구성되어, 알파와 베타 아단위는 인터루킨-2 분자와의 결합에 관여하며, 세포내 신호 전달은 감마 아단위가 담당한다. 자극을 받지 않은 기저상태에서는 베타와 감마 아단위로 구성되는 중간-친화성(intermediate-affinity) 수용기를 형성하다가 일단 자극을 받으면 알파 아단위가 발현되어 중간-친화성 수용기와 복합체를 형성하여 고-친화성 수용기를 형성하여 인터루킨-2에 대한 반응성을 향상시킨다.³⁰ 이러한 알파 아단위는 자극을 받은 후 8시간이내 RNA가 발현되어 24시간이내에 최고치를 이룬다.^{30,31} 이들의 반감기는 비교적 짧은 인터루킨-2에 대한 동적인 반응도를 결정하게 된다. 즉 인터루킨-2에 대한 세포의 반응도는 알파 수용기의 발현에 의해 결정되게 된다. 이러한 알파 수용기는 세 그룹에 의해 1984년 그 염색체의 염기 서열이 밝혀졌으며,^{32,34} 그 후로 2가지 형태의 서로 다른 alternative splicing이 보고되었다.³³ 이중 exon 4가 결손된 것은 이 exon 4가 세포막을 통과하는 부분의 유전 인자이기 때문에 아마도 가용성 인터루킨-2 수용기의 형성에 관여하는 것으로 생각되고 있다.³⁵ 최근에 저자에 의해 exon 4와 exon 5가 동시에 결손된 형태의 mRNA가 말초 임파구에서 검출되었으며, 이러한 splicing된 형태의 mRNA가 성장아교세포에서도 검출됨을 이변 연구 결과에서 알 수 있었다. 그러나 아직 이러한 mRNA가 인터루킨-2 수용기로 발현되는 지는 계속 연구중이다.

이변 연구에서 인자 배양된 성인의 성장아교세포에서 완전한 형태의 인터루킨-2 수용기가 발현되고 있으며, 또한 다른 세포에서 관찰되는 alternative splicing을 관찰할 수 있었다. 이러한 인터루킨-2 수용기의 발현은 전염증성 사이토카인인 IL-1, IL-6, TNF- α 에 의해 자극되며, 인터루킨-2 자신에 의해서도 그 발현이 증가함을 알 수 있었다. TGF- β 의 경우에는 수용기 발현의 양도 감소하였으며, 또한 alternative splicing된 형태도 관찰되지 않으나, 이것이 선택적으로 그러한 형태들을 억제하였다고 보다는 전반적인 발현의 양을 감소시켜 본 연구에서 사용한 RT-PCR 방법으로 시 검출되지 않은 것으로 사료된다. TGF- β 는 정상적인 성장아교세포에서는 거의 생성되지 않으나 성장아교세포종의 경우 생성이 증가하여 종양에서 관찰되는 면역억제 상태를 유도하는 중요한 인자로 생각되고 있다.³⁶ 이러한 TGF- β

의 작용을 고려하면 이번 결과에서 관찰한 인터루킨-2 수용기 발현의 감소도 유사한 결과라 생각할 수 있다.

따라서 이번 연구 결과로서 상상아교세포에서는 전염증성 사이토카인 뿐 아니라 대표적인 Th2 인터루킨인 인터루킨-2 수용기를 발현함으로써 이들 세포가 중추 신경계의 면역 기능에 중요한 역할을 담당하리라는 간접적인 증거를 제시한다고 생각된다. 물론 이번 연구가 단순히 mRNA의 발현만을 보았기 때문에 이들의 발현이 실제로 기능을 하는 수용기로 발현되는 지에 대한 연구와 이들의 기능에 대한 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

특수된 간질 환경의 대뇌 신피질에서 삼중적으로 상상아교세포를 손수하게 분리하여 배양할 수 있었다. 이러한 상상아교세포 배양을 이용하여 인터루킨-2 수용기의 발현을 역전사 증폭효소 연쇄반응을 이용하여 확인하였다. 이러한 인터루킨-2 수용기의 발현은 인터루킨-2 자체와 전염증성 사이토카인인 인터루킨-1, 인터루킨-6과 종양괴사인자(TNF- α)에 의해 증가함을 관찰하였으며, TGF- β 는 감소시켰다. 상상아교세포에서 인터루킨-2 수용기가 발현되고 이들이 여러 질병에서 상승하는 사이토카인에 의해 발현이 증가하는 소견은 상상아교세포가 중추 신경계의 면역 활성화에 관여할 수 있다는 가능성을 제시하며, 앞으로 중추 신경계에서의 사이토카인의 신호 변환에 관한 연구가 진행되어야 할 근거를 제시한다고 생각된다.

REFERENCES

1. Janzer RC, Raff MC. Astrocytes induce blood-brain barrier properties in endothelial cells. *Nature* 1987;325:253-257.
2. Arthur FE, Shivers RR, Bowman PD. Astrocyte-mediated induction of tight junctions in brain capillary endothelium: an efficient in vitro model. *Dev Brain Res* 1987;36:155-159.
3. Henn FA, Halijamae H, Hamberger A. Glial cell function: active control of extracellular K⁺ concentration. *Brain Res* 1972;43:437-443.
4. Barres BA, Chun LLY, Corey DP. Ion channels in vertebrate glia. *Annu Rev Neurosci* 1990;13:441-474.
5. Shain WG, Martin DL. Activation of beta-adrenergic receptors stimulates taurine release from glial cells. *Cell Mol Neurobiol* 1984;4:191-196.
6. Kimelberg HK, Katz DM. High-affinity uptake of serotonin into immuno cytochemically identified astrocytes. *Science* 1985;228:889-891.
7. Kettenmann H, Backus KH, Schachner M. Aspartate, glutamate and gamma-amino butyric acid depolarize cultured astrocytes. *Neurosci Lett* 1984;52:25-29.
8. Kettenmann H, Backus KH, Schachner. Gamma-aminobutyric acid opens Cl⁻channels in cultured astrocytes. *Brain Res* 1987;404:1-9.

9. Kimelberg HK, Katz DM. High affinity uptake of serotonin. *Science* 1985;228:889-891.
10. Henn FA, Hamberger A. Glial cell function: uptake of transmitter substances. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971;68:2686-2690.
11. Barres BA. Neuronal-glia interactions: a new form of transmission. *Nature* 1989;339:343-344.
12. Bowman CL, Kimelberg HK. Excitatory amino acids directly depolarize rat brain astrocytes in primary culture. *Nature* 1984;311:656-659.
13. Rakic P. Neuron-glia relationship during granule cell migration in developing cerebellar cortex: a Golgi and electron microscopic study in Macacus rhesus. *J Comp Neurol* 1971;141:282-312.
14. Monard D, Solomon F, Rentsch M, Gysin R. Glial-induced morphologic differentiation in neuroblastoma cells(glia-neuronal interactions). *Proc Natl Acad Sci USA* 1973;70:1894-1897.
15. Fontana A, Fierz W, Wkerle H. Astrocytes present myelin basic protein to encephalitogenic T-cell lines. *Nature* 1984;307:273-276.
16. Benveniste EN. Inflammatory cytokines within the central nervous system: sources, function, and mechanism of action. *Am J Physiol*. 1992;32:C1-C16.
17. Hopkins SJ, Rothwell NJ. Cytokines and the nervous system I: expression and recognition. *Trends Neurosci* 1995; 18:83-88.
18. Rothwell NJ, Hopkins SJ. Cytokines and the nervous system II: actions and mechanisms of action. *Trends Neurosci* 1995;18:130-136.
19. Fabry Z, Raine CS, Hart MN. Nervous tissue as an immune compartment: the dialect of the immune response in the CNS. *Immunol Today* 1994;15:218-224.
20. McCarthy KD, DeVellis J. Preparation of separate astroglial and oligodendroglial cultures from rat cerebral tissue. *J Cell Biol* 1980;85:890-902.
21. Eng LF. Glial fibrillary acidic protein(GFAP): the major protein of glial intermediate filaments in differentiated astrocytes. *J Neuroimmunol* 1985;8:203-214.
22. Watkins LR, Maier SF, Goehler LE. Cytokine-to-brain communication: a review & analysis of alternative mechanisms. *Life Sci* 1995;57:1011-1026.
23. Kent S, Bluthe R, Dantzer R, Hardwick A, Kelley KW, Rothwell NJ, Vannice JL. Different receptor mechanisms mediate the pyrogenic and behavioral effects of interleukin-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:9117-9120.
24. Hofman FM, von Hanwehr RI, Dinarello CA, Mizel SB, Hinton D, Merrill JE. Immunoregulatory molecules and IL2 receptors identified in multiple sclerosis brain. *J Immunol* 1986;136:3239-3245.
25. Eizenberg O, Faber-Elman A, Lotan M, Schwartz M. Interleukin-2 transcripts in human and rodent brains: possible expression by astrocytes. *J Neurochem* 1995;64: 1928-1936.

26. Petitto JM. Molecular cloning of the cDNA coding sequence of IL-2 receptor-gamma from human and murine forebrain: expression in the hippocampus in situ and by brain cells in vitro. *Brain Res Mol Brain Res* 1998; 53:152-162.
27. Benveniste EN, Merrill J. Stimulation of oligodendroglial proliferation and maturation by interleukin-2. *Nature* 1986 ;321:610-613.
28. Nistico G, DeSarro G. Is interleukin-2 a neuromodulator in the brain? *Trends Neurosci* 1991;14:146-150.
29. Austyn JM, Wood KI. *Principles of cellular and molecular immunology*. 1st ed. Oxford: Oxford University Press, 1993;181-248.
30. Kronke M, Leonard J, Depper M, Greene W. Structure and function of the human interleukin-2 receptor gene. *Behring Inst Mitt* 1987;81:60-72.
31. Leonard WJ, Kronke M, Peffer NJ, Depper M, Greene WC. Interleukin-2 receptor gene expression in normal human T lymphocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82: 6281-6285.
32. Leonard WJ, Depper JM, Crabtree GR, Rudikoff S, Pumphrey J, Robb RJ, et al. Molecular cloning and expression of cDNAs for the human interleukin-2 receptor. *Nature* 1984;311:626-631.
33. Mikaido T, Shimizu A, Ikhida N, Sabe H, Teshigawara K, Maeda M, et al. Molecular cloning of cDNA encoding human interleukin-2 receptor. *Nature* 1984;311:631-635.
34. Cosman D, Cerretti DP, Larsen A, Park L, March C, Dower S, et al. Cloning, sequence and expression of human interleukin-2 receptor. *Nature* 1984;312:768-771.
35. Mercken L, Moras V, Hemon L, Lionne B, Bousseau A, Dautry-Varsat A, et al. An exon 5-deleted mRNA encodes a functional interleukin 2 receptor alpha-subunit. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;180:1390-1395.
36. Weller M, Fontana A. The failure of current immunotherapy for malignant glioma. Tumor-derived TGF- β , T-cell apoptosis, and the immune privilege of the brain. *Brain Res Rev* 1995;21:128-151.