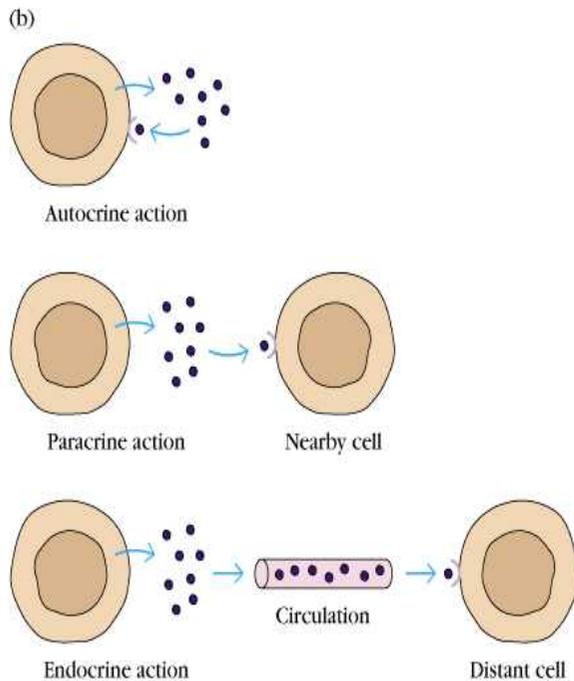


제 12 장: Cytokines

- 면역 반응은 lymphoid cell들, inflammatory cell들과 hematopoietic cell들간의 복잡한 interaction에 의해 일어나는데, 이들의 interaction은 **cytokines**라는 단백질을 매개로 한 cell-to-cell communication이다.
- Low molecular weight regulatory proteins or glycoproteins
- Produced by white blood cells and various other cells
- Messengers of the immune system (endocrine system에서 hormone과 같은 역할)
- Immune effector cell들의 development를 조절하거나 어떤 cytokines는 그 스스로 effector로서 기능을 하기도 한다.

Properties of cytokines

- Cytokines들은 target cell membrane에 존재하는 receptor에 binding하여 signal-transduction pathway를 triggering하여 target cell들의 유전자 발현을 조절한다.
- 작용 형태에 따라 3가지로 분류된다.



- i) autocrine: 어떤 세포가 cytokine을 분비하고 그 cytokine이 같은 세포의 membrane에 있는 receptor에 작용
- ii) paracrine: cytokine을 분비하는 세포 가까이 있는 세포의 receptor에 작용함.
- iii) endocrine: cytokine이 순환계를 따라 순환하다가 원거리의 세포에 작용하는 경우.

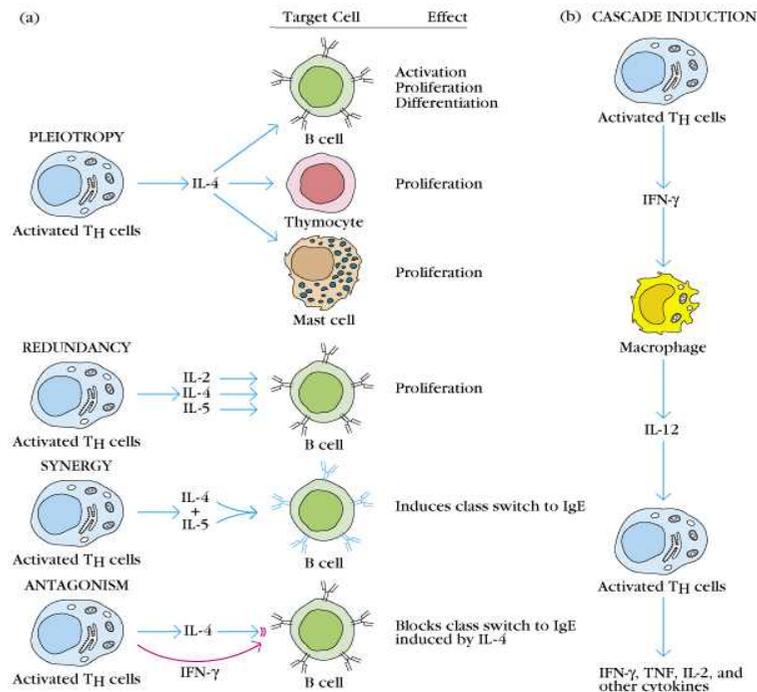
- Cytokines들은

- i) 다양한 세포들의 stimulating and inhibiting of the activation, proliferation, differentiation
- ii) regulating antibody secretion
- iii) 다른 cytokines들이 secretion 등을 조절함으로써 면역 반응의 intensity와 duration을 조절한다.

- 하나의 lymphocytes가 분비한 cytokine은 여러 세포에 영향을 미친다.

ex) activated TH cell이 secretion한 cytokines는 B cell, Tc cell, NK cell, mφ, granulocytes와 hematoporetic stem cell들에 영향을 미친다.

- Cytokines들은 pleiotropy, redundancy, synergy, antagonism, and cascade induction 등의 기능을 통해 cellular activity를 조절한다.



- Pleiotropy: 하나의 주어진 cytokine은 서로 다른 target cell에 대해 다른 biological effect를 나타낸다.
- Redundancy: 2개 또는 다수의 cytokine이 비슷한 기능을 하는 경우
- Synergy: 2개가 합쳐지면 하나가 있을 때보다 cellular activity를 증가시킨다.
- Antagonism: 다른 cytokine의 작용을 inhibition한다.
- Cascade induction: 하나의 cytokine이 하나의 target cell에 작용하여 다른 cytokine을 생산하게 하고 이것이 조율하게 하는 연쇄반응.
- 많은 cytokines들은 interleukin라고도 한다. 이는

leukocytes들에 의해 생성되어 leukocytes들에 작용을 한다는 데서 유래되었다 (formerly known as lymphokine). 현재 interleukin들은 1에서 18번까지 발견되어 있다. 어떤 cytokine들은 일반적인 이름을 가지고 있다. 예) interferons, tumor necrosis factors

- IL-8을 포함한 low-molecular-weight cytokine들을 **chemokines**이라고 하는데 이들은 leukocytes의 chemotaxis에 영향을 미친다.

A) General structure of cytokines

-구조 분석에 따르면 4개의 families가 존재함

- i) hematopoietin family
- ii) interferon family
- iii) chemokine family
- iv) tumor necrosis factors (TNF)family

B) Function of Cytokines

- Intracellular messenger molecule
- Two principle producers; TH cell and macrophage

TABLE 12-1 SELECTED FUNCTIONS OF SOME CYTOKINES

Cytokine	Source(s) ^a	Major biological function	
		Target cell/tissue	Activity
Interleukin 1 (IL-1)	T _H cells, macrophage	Activated T cells	Stimulates proliferation and differentiation of naive T cells; promotes growth and differentiation
Interleukin 2 (IL-2)	Macrophages, T cells, T _H cells, non-macrophage	Macrophages, T cells	Stimulates proliferation and differentiation of T cells
Interleukin 3 (IL-3)	Bone marrow, thymic stromal cells	Myeloid stem cells	Induces differentiation and proliferation of T cells
Interleukin 4 (IL-4)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Chemically suppresses T cell activity; induces Th2 differentiation
Interleukin 5 (IL-5)	T cells	Granulocytes	Stimulates growth and differentiation of eosinophils
Interleukin 6 (IL-6)	T cells, macrophages	Macrophages, T cells	Stimulates growth and differentiation of T cells
Interleukin 7 (IL-7)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Stimulates growth and differentiation of T cells
Interleukin 8 (IL-8)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Chemically suppresses T cell activity; induces Th1 differentiation
Interleukin 9 (IL-9)	T cells	Macrophages, T cells	Stimulates growth and differentiation of T cells
Interleukin 10 (IL-10)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Chemically suppresses T cell activity; induces Th2 differentiation

TABLE 12-1 SELECTED FUNCTIONS OF SOME CYTOKINES

Cytokine	Source(s) ^a	Major biological function	
		Target cell/tissue	Activity
Interleukin 1 (IL-1)	T _H cells, macrophages	Macrophages, T cells	Stimulates proliferation and differentiation of T cells
Interleukin 2 (IL-2)	Macrophages, T cells, T _H cells, non-macrophage	Macrophages, T cells	Stimulates proliferation and differentiation of T cells
Interleukin 3 (IL-3)	Bone marrow, thymic stromal cells	Myeloid stem cells	Induces differentiation and proliferation of T cells
Interleukin 4 (IL-4)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Chemically suppresses T cell activity; induces Th2 differentiation
Interleukin 5 (IL-5)	T cells	Granulocytes	Stimulates growth and differentiation of eosinophils
Interleukin 6 (IL-6)	T cells, macrophages	Macrophages, T cells	Stimulates growth and differentiation of T cells
Interleukin 7 (IL-7)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Stimulates growth and differentiation of T cells
Interleukin 8 (IL-8)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Chemically suppresses T cell activity; induces Th1 differentiation
Interleukin 9 (IL-9)	T cells	Macrophages, T cells	Stimulates growth and differentiation of T cells
Interleukin 10 (IL-10)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Chemically suppresses T cell activity; induces Th2 differentiation

TABLE 12-1 SELECTED FUNCTIONS OF SOME CYTOKINES

Cytokine	Source(s) ^a	Major biological function	
		Target cell/tissue	Activity
Interleukin 1 (IL-1)	T _H cells, macrophages	Macrophages, T cells	Stimulates proliferation and differentiation of T cells
Interleukin 2 (IL-2)	Macrophages, T cells, T _H cells, non-macrophage	Macrophages, T cells	Stimulates proliferation and differentiation of T cells
Interleukin 3 (IL-3)	Bone marrow, thymic stromal cells	Myeloid stem cells	Induces differentiation and proliferation of T cells
Interleukin 4 (IL-4)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Chemically suppresses T cell activity; induces Th2 differentiation
Interleukin 5 (IL-5)	T cells	Granulocytes	Stimulates growth and differentiation of eosinophils
Interleukin 6 (IL-6)	T cells, macrophages	Macrophages, T cells	Stimulates growth and differentiation of T cells
Interleukin 7 (IL-7)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Stimulates growth and differentiation of T cells
Interleukin 8 (IL-8)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Chemically suppresses T cell activity; induces Th1 differentiation
Interleukin 9 (IL-9)	T cells	Macrophages, T cells	Stimulates growth and differentiation of T cells
Interleukin 10 (IL-10)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Chemically suppresses T cell activity; induces Th2 differentiation

TABLE 12-1 SELECTED FUNCTIONS OF SOME CYTOKINES

Cytokine	Source(s) ^a	Major biological function	
		Target cell/tissue	Activity
Interleukin 1 (IL-1)	T _H cells, macrophages	Macrophages, T cells	Stimulates proliferation and differentiation of T cells
Interleukin 2 (IL-2)	Macrophages, T cells, T _H cells, non-macrophage	Macrophages, T cells	Stimulates proliferation and differentiation of T cells
Interleukin 3 (IL-3)	Bone marrow, thymic stromal cells	Myeloid stem cells	Induces differentiation and proliferation of T cells
Interleukin 4 (IL-4)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Chemically suppresses T cell activity; induces Th2 differentiation
Interleukin 5 (IL-5)	T cells	Granulocytes	Stimulates growth and differentiation of eosinophils
Interleukin 6 (IL-6)	T cells, macrophages	Macrophages, T cells	Stimulates growth and differentiation of T cells
Interleukin 7 (IL-7)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Stimulates growth and differentiation of T cells
Interleukin 8 (IL-8)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Chemically suppresses T cell activity; induces Th1 differentiation
Interleukin 9 (IL-9)	T cells	Macrophages, T cells	Stimulates growth and differentiation of T cells
Interleukin 10 (IL-10)	Macrophages, T cells	Macrophages, T cells	Chemically suppresses T cell activity; induces Th2 differentiation

^aSource(s) of cytokine in vivo; source(s) of cytokine in vitro; source(s) of cytokine in culture.

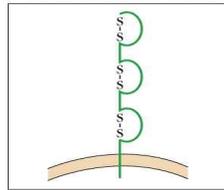
^bIL-10: suppresses T cell activity.

Cytokine receptors

- Diverse structures (5 families)
 - Immunoglobulin super family
 - Class I cytokine receptor family
 - Class II cytokine receptor family
 - TNF receptor family
 - Chemokine receptor family

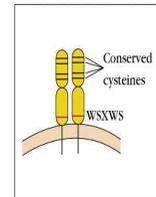
RECEPTOR FAMILY

(a) Immunoglobulin superfamily receptors



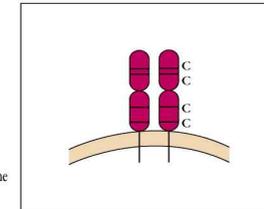
LIGANDS (b) Class I cytokine receptors (hematopoietin)

IL-1
M-CSF
C-Kit



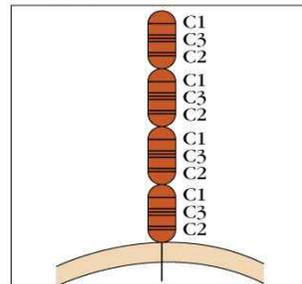
IL-2 IL-13
IL-3 IL-15
IL-4 GM-CSF
IL-5 G-CSF
IL-6 OSM
IL-7 LIF
IL-9 CNTF
IL-11 Growth hormone
IL-12 Prolactin

(c) Class II cytokine receptors (interferon)



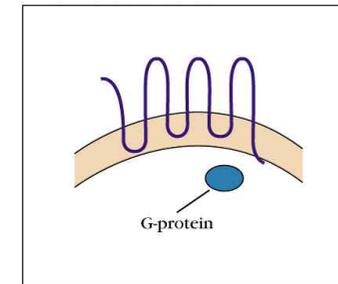
IFN- α
IFN- β
IFN- γ
IL-10

(d) TNF receptors



TNF- α
TNF- β
CD40
Nerve growth factor (NGF)
FAS

(e) Chemokine receptors



IL-8
RANTES
MIP-1
PF4
MCAF
NAP-2

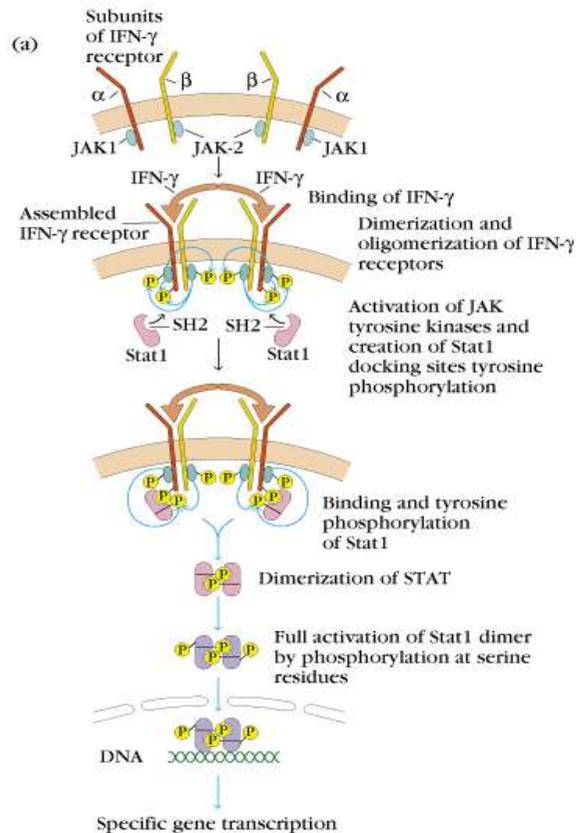
Signal transduction mediated by cytokine receptors

- Cytokine이 그 receptors에 binding 하여 어떻게 signal을 transduction하는 지는 interferon gamma (INF- γ)와 그 receptors와의 interaction으로 잘 알려져 있다. INF- γ 는 세포가 virus의 replication을 inhibition시키는 것을 유도하는 것으로 잘 알려져 있는데 이는 INF- γ 의 많은 immunoregulatory 기능 때문이다.
 - i) regulation of mononuclear phagocytes
 - ii) B-cell switching to certain IgG Classes
 - iii) TH cell subsets의 development의 조절 등
- 이들의 signal transduction은 cytokine이 receptor에 결합하면 receptor들이 dimerization이 일어나서 signal transduction 과정을 거쳐 궁극적으로 active transcription factor complex를 만들어 특별한 유전자들의 transcription을 시작하게 된다.

ⓐ *The cytokine receptor is composed of separate subunits*

- INF- γ receptor는 α 와 β 의 polypeptide chain으로 구성되어 있다.
- α -chain; cytokine binding and signal transduction
- β -chain; signaling

ⓑ *Different inactive protein tyrosine kinase are associated with different subunits of the*



receptor.

- Receptor들은 JAK (Janus Kinase라 불리는)이라는 protein tyrosine kinase와 associate되어있다.
- Receptor의 α -chain은 JAK1과 associated 되어있고 β -chain은 JAK2 protein tyrosine kinase와 associate 되어있다. 이들 JAK들은 INF- γ 가 그 receptor에 결합하지 않는 상태에서는 inactive하다.

© Cytokine binding induces the association of the two separate cytokine receptor subunits and activation of the receptor-associated JAKs.

- Cytokine이 receptor에 결합하면 receptor의 α 와 β chain이 association하여 dimerization이 일어나고 따라서 JAK1과 JAK2가 association되면서 서로의 interaction으로 인해 active form으로 되고 이 active JAK1이 β -chain을 JAK2가 α -chain을

phosphorylation 시킨다.

④ Activated JAKs create docking sites for the STAT transcription factors by phosphorylation of specific tyrosine residues on cytokine receptor subunits.

- Transcription factors 중의 하나인 STATs (signal transduction and activators of transcription)가 phosphorylated된 tyrosine residues에 결합하게 된다. STAT에 있는 SH2 domain이 phosphorylated된 tyrosine 잔기에 결합한다.
- ⓐ *After undergoing JAK-mediated phosphorylation, STAT transcription factors translocate from receptor docking sites at the membrane to the nucleus, where they initiate the transcription of specific genes.*
- Active form의 JAK이 STAT의 tyrosine residues에 phosphorylation시키고 인산화된 STAT은 receptor로부터 분리되어 그들끼리 dimerize된다. 이 dimerized된 형태의 STAT은 핵으로 이동하여 특정 promoter를 인지하여 그 유전자의 expression을 유도한다.

Cytokine antagonist

- Cytokine의 생물학적 activity를 저해하는 protein들이 알려져 있다.
 - i) 어떤 protein이 특정 Cytokine receptor에 binding 하는 경우 (특정 activity를 나타내지 않음). ex) IL-1Ra binds IL-1 receptor
 - ii) Cytokine에 직접 binding하여 activity를 저해.
 - iii) 어떤 virus들은 cytokine binding protein이나 immune 반응을 혼돈시켜 cytokine과 유사한 물질을 만든다.
 - virus가 잘 survival할 수 있는 mechanism.

TABLE 12-3 VIRAL MIMICS OF CYTOKINES AND CYTOKINE RECEPTORS

Virus	Product
Leporipoxvirus (a myxoma virus)	Soluble IFN- γ receptor
Several poxviruses	Soluble IFN- γ receptor
Vaccinia, smallpox virus	Soluble IL-1 β receptor
Epstein-Barr	IL-10 homolog
Human herpesvirus-8	IL-6 homolog; also homologs of the chemokines MIP-1 and MIP II
Cytomegalovirus	Three different chemokine receptor homologs, one of which binds three different soluble chemokines (RANTES, MCP-1, and MIP-1 α)

Cytokine secretion by TH1 and TH2 subsets

- 특정 병원 인자에 대한 면역 반응은 그 인자의 특성에 맞게 유도되어야 한다. 세균의 독소를 제거하려면 항체를 많이 생성하게 하여 그 독소를 중화시켜야 하며 intracellular virus나 intracellular 세균의 경우는 cell-mediated cytotoxicity나 delayed-type hypersensitivity에 의해 제거되어야 한다.
- CD4⁺ TH cell이 주로 cytokine들을 분비하며, 앞에서 다루었듯이 CD4⁺ TH cell들은 TH1 과 TH2의 subset으로 나누어지며 이들 각각의 subset은 서로 다른 cytokine들을 분비한다. (이들 다 IL-3와 GM-CSF를 분비한다.)
- **TH1 subset**
 - CMI function (DTH and activation of Tc cells)
 - production of opsonization-promotic IgG antibodies; IgG2a(phagocytes의 membrane에 존재하는 high-affinity Fc receptor에 binding하는 antibodies. 이 antibodies들이 complement system을 인지한다.)
 - promotion of excessive inflammation and tissue injury
- **TH2 subset**
 - stimulates eosinophil activation and differentiation
 - help to B cells, promotes production of IgM, IgE, and noncomplement-activating IgG types (IgG1)

- TH1: IL-2, INF- γ , TNF- β , GM-CSF, IL-3를 생산한다.
- TH2: IL-4, IL-5, IL-10, IL-13를 생산한다.
- IFN- γ (secreted by T_H1 subset)
 - IFN- γ 가 M ϕ 를 activation 시키므로 인해 microbicidal activity를 증가시키고 Class II MHC molecule과 IL-12의 발현과 secretion을 증가시킨다.
 - IL-12가 TH cell이 TH1 subset로 differentiation되게 한다.
 - IgG class switching to IgG2a (support phagocytosis and fixation of complement)
 - Induction of DTH
 - promotes differentiation of fully cytotoxic T cells from CD8 precursor
 - inhibits the expansion of TH2 population
- IL-4 and IL-5 (secreted by TH2 subset)
 - IgE production을 induction한다.
 - eosinophil-mediated 기생충 감염에 대한 공격을 활성화시킨다.
 - Class switching to IgG1 (complement를 fix 못한다, in mice) 전형적으로 기생충에 감염되면 TH2 response가 유도되어 anti-roundworm IgE antibody가 유도된다. 이 IgE가 eosinophil의

Fc binding sites에 결합함으로써 기생충과 eosinophil 간에 cross-bridge를 형성함으로써 eosinophil이 기생충을 공격하게 한다.

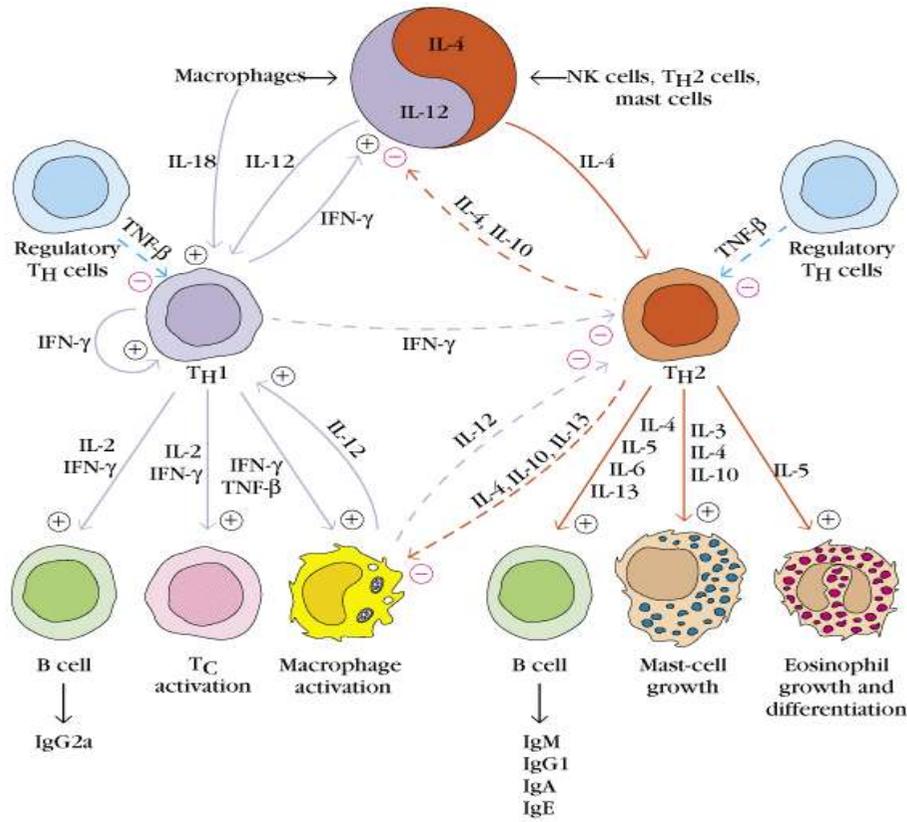
- TH2 subset은 기생충을 공격하기 위한 반응을 유도하고 또한 allergy reaction을 유도한다.

☆ 많은 TH cell들은 TH1 s, TH2 s도 아닌 TH cell이다. 이들은 TH1 과 TH2 cell들이 secrete하는 대부분의 cytokine들을 분비한다. 대표적인 것이 TH 0 subset이라는 것인데 이는 IL-2, IL-4, IL-5, TNF- γ , IL-10, IL-3, GM-CSF를 분비한다. 많은 연구가들이 TH 0 로부터 TH1 과 TH2 도 differentiate한다고 가설을 설명한다. 이는 현재까지 증명된 것이 아니다.

A) Development of TH1 and TH2 subsets

그림: The regulation of T_H subsets by cytokines.

- IL-4가 TH2 response에 아주 중요하며 IL-12가 TH2 response에 아주 중요하다.
- T cell의 activation과 NK cell의 activation으로 INF- γ 가 많이 만들어지며 이들이 M ϕ 나 dendritic cell에 작용하여 이들이 IL-12를 많이 secretion 하게 하고 동시에 T cell에 IL-12 receptors를 많이 발현하게 한다. 이 IL-12 의 도움으로 T cell 이 TH1 subset으로 differentiate 하게 된다 (하나의 positive feedback loop을 형성한다. TH1 cell에 대해 INF- γ 가 만들어지고 그 결과로 M ϕ 에 의해 IL-12를 많이 분비하게 되고 그로 인해 더욱 많은 TH1 subset으로 differentiate되고 이로 인해 더욱 더 많은 INF- γ 를 분비하게 된다).



- TH2 cell과 mast cell, NK 등이 IL-4를 분비하고 IL-4가 TH2 subset으로 differentiate하게 한다.

B) Cytokine cross-regulation

- 각각 스스로의 subset를 증가시키기 위한 방향으로 pathway가 activate 된다.
- 각 subset은 반대의 subset population 증가를 inhibition한다.

- ex) $\text{INF-}\gamma$ inhibits TH2 subset, IL-4 and IL-10은 IL-12 생성을 down-regulation 시킴으로 TH1 subset의 differentiate을 저지한다.
- $\text{INF-}\gamma$ 나 IL-4들의 opposing effect는 TH1 subset 뿐만 아니라 Target cell 에서도 일어난다.
- ex) TH1 cell이 분비한 $\text{INF-}\gamma$ 는 B cell의 IgG2a 생성을 촉진시키고 IgG1이나 IgE의 생성을 막는다.
반대로 IL-4는 IgG1이나 IgE의 생성을 촉진시키고 IgG2a의 생성을 저해한다.

Cytokine-related diseases

A) Bacterial septic shock

- by overproduction of cytokines
- G(-) bacteria; *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *N. meningitidis*
- 치명적임
- by LPS endotoxin
- LPS가 IL-1과 $\text{TNF-}\alpha$ 의 생성을 stimulate함으로서 IL-1과 $\text{TNF-}\alpha$ 가 septic shock을 유도한다.

B) Bacterial toxic shock and similar diseases

- by superantigens (enterotoxin, exfoliating toxin, TSST-1)
- activate T cells nonspecifically

C) Lymphoid and Myeloid cancers

- 비정상적인 cytokine 생성

Therapeutic uses of cytokine and their receptors

- Interferon과 GM-CSF등은 치료제로 사용된다.
- Interferon
 - induction of expression of Class I and Class II MHC molecules
 - augmentation of NK-cell activity
 - activation of M ϕ
- IFN- α
 - hepatitis B와 C의 치료제로 사용
 - Cancer therapy에 사용 (B-cell leukemia)
 - Kaposi's sarcoma(미국 AIDS 감염자에서 많이 보임)의 치료에 사용
 - non-Hodgkin's lymphoma의 치료에 사용
- IFN- β
 - multiple sclerosis (MS)의 치료에 사용
 - * MS- 청년기의 사람에게 일어나고 autoimmune neurologic disease로 CNS 신경세포들의 demyelination으로 인해 neurologic dysfunction을 초래함으로써 불구를 유도함.
- IFN- γ
 - chronic granulomatous disease (CGD)치료에 사용. 이 병은 유전성이며 아주 드물게 발견된

다. 이 병을 가진 환자는 병원균에 감염 되었을 때 phagocytes들이 균을 효과적으로 제거하지 못한다.

** 상대적으로 Interferon 치료에서는 side-effect가 mild하다. 전형적인 side-effect로서는 감기 몸살과 같은 headache, fever, chills, fatigue 등이 있으나 이는 acetaminophen (Tylenol)로서 control이 가능하다.

** 문제점

i) effective dose 문제

ii) 필요한 기간 동안 일정량을 어떻게 유지시켜 주느냐 하는 문제

iii) 어떻게 필요한 tissue에 일정량을 delivery 시키는가 하는 문제

iv) cytokine들은 half-life가 짧은데 어떻게 일정량을 유지시키는가 하는 문제

v) 어떻게 부작용을 줄이는가 하는 문제