[UCI]I804:24011-200000264611
조선대학교 CHOSUN UNIVERSITY

2015년 2월
석사학위 논문

# 건선환자의 말초혈액 내 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ 조절 T 세포와 $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T 세포 수에 관한 연구

조 선 대 학 교 대 학 원

의 학 과

송 상 현

2015년 2월 석사학위논문
건선환자의 말초혈액 내 CD4+CD25+Foxp3+ 조절 T 세포와 CD4+CD25-Foxp3+ T 세포 수에 관한 연구
송상현

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

# 건선환자의 말초혈액 내 $CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$ 조절 T 세포와 $CD4^{+}CD25^{-}Foxp3^{+}$ T 세포 수에 관한 연구

A study of the number of circulating $CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$ regulatory T cells and $CD4^{+}CD25^{-}Foxp3^{+}$ T cells in psoriasis

2015년 2월 25일

조 선 대 학 교 대 학 원

의 학 과

송 상 현

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

# 건선환자의 말초혈액 내 $CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$ 조절 T 세포와 $CD4^{+}CD25^{-}Foxp3^{+}$ T 세포 수에 관한 연구

지도교수 신 봉 석

이 논문을 의학 석사학위신청 논문으로 제출함

2014년 10월

조 선 대 학 교 대 학 원

의 학 과

송 상 현

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

# 송상현의 석사학위논문을 인준함

위원장 조선대학교 교 수 김 민 성 (인)

위 원 조선대학교 교 수 신 봉 석 (인)

위 원 조선대학교 교 수 나 찬 호 (인)

2014년 11월

조 선 대 학 교 대 학 원

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

# 목 차

ABSTRACT

I. 서론 .....1

II. 연구대상 및 방법 .....3

A. 연구대상

B. 연구방법

C. 자료분석

III. 결과 .....5

IV. 고찰 .....7

V. 결론 .....10

참고문헌 .....11

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

# 표 목 차

Table 1 .....15

Table 2 .....15

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

# 도 목 차

Figure 1 .....16

Figure 2 .....17

Figure 3 .....18

Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

# ABSTRACT

## A study of the number of circulating $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ regulatory T cells and $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T cells in psoriasis

Song Sang-hyun
Advisor : Prof. Shin Bong-seok, Ph.D.
Department of Dermatology
Graduate School of Chosun University

**Background:**

Regulatory T cells (Treg) are able to inhibit the immunological response and to maintain the cutaneous immunological homeostasis, thus preventing autoimmunity against itself. In several studies, the importance of $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg in psoriasis has examined in the peripheral blood of patients. But, limited studies on Treg are available and give conflicting results. Recently, $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T cells have been intrigued as peripheral reservoir of $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg.

**Objective:**

To investigate differences in the $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg and $CD4^+CD25^-Foxp3^+$T cells count between patients with psoriasis and normal controls

**Methods:**

For phenotypic analysis, proportions and absolute cell numbers of $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg and $CD4^+CD25^-Foxp3^+$T cells in peripheral blood were examined by flow cytometry in psoriasis patients(n=19) and age-matched healthy controls(n=14). The correlation between $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg count and the other parameters, such as age of onset, disease duration, BSA, PASI score and clinical stage in psoriasis patients was also analyzed.

Collection @ chosun

조선대학교 CHOSUN UNIVERSITY

Results:

Although $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg count was increased slightly in peripheral blood of psoriasis patients compared with controls, the difference was not statistically significant(5.27±2.60 vs. 4.70±1.35, $p>0.05$). And the number of $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T cells was decreased slightly in psoriasis, but there was also no significant difference(1.56±1.07 vs. 1.93±1.08, $p>0.05$). $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg count was not correlated with any parameter except clinical stage of psoriasis. Mean±numbers of $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Tregin stable phase was higher than in progressive phase(7.26±2.58 vs. 4.35±2.10, $p<0.05$). $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T cell count did not show any significant correlation with all parameters( $p>0.05$).

Conclusion:

These findings suggest that only $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Tregcount is insufficient to explain the pathogenesis and severity of psoriasis. But a decrease of circulating $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg is likely to correlated with aggravation of psoriasis.

Key word: $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ regulatory T cell, $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T cell, psoriasis

Collection @ chosun

조선대학교 CHOSUN UNIVERSITY

# I. 서 론

건선은 만성, 재발성, 염증성 피부질환으로 T 세포 매개 자가면역질환의 많은 특징을 가지고 있고 다발성경화증(multiple sclerosis MS)과 크론병과 같은 말초기관을 침범하는 질환들과 유전자(predisposing gene)를 공유한다[1]. 건선의 발생기전은 아직 완전히 밝혀지지 않았지만 최근 건선의 병인에서 조절 T 세포(Regulatory T cell; Treg)가 관련이 있으며, Treg의 억제 기능 감소가 건선의 발생에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[2].

Treg은 보통 CD25를 높게 발현하고 Forkhead box protein3(Foxp3)에 대한 세포 내 염색을 통해 정의하는데, 많은 연구들에서 말초혈액 내 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ T 세포의 수를 Treg로 평가하고 있다[3]. Treg은 많은 T 세포의 아형(subset) 중 면역반응을 억제하고 피부 면역 항상성을 유지하여, 자기 항원(self antigen)에 대한 자가면역을 방지하는 역할을 한다. 따라서 Treg 수와 기능의 결함은 MS, 제 1형 당뇨병, 전신홍반루푸스(systemic lupus erythematosus; SLE), 류마티스관절염, 염증장질환 등의 자가면역질환을 일으킬 수 있으며, 건선 이외에도 물집유사천포창, 피부근육염, 백반증[4] 등의 다양한 피부질환에서 발병 기전과 관련이 있는 것으로 생각되고 있다[2]. 그러나 다양한 자가면역질환 심지어 같은 질환에 관한 연구에서도 말초 혈액 내 Treg의 수는 대조군과 비교하여 차이가 없거나 감소 또는 증가되어 연구마다 일치하지 않는 결과들을 보여주었으며, 이는 건선을 대상으로 한 연구에서도 마찬가지였다[1,3,5-13].

한편, CD25를 발현하지 않는 $CD4^+Foxp3^+$ T 세포를 확인하였는데 이 같은 $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T 세포는 양이 매우 적었기 때문에 큰 주목을 받지 못하다가 최근 SLE 환자의 말초혈액 내 $CD4^+CD25^-Foxp3^+$T 세포의 비율이 증가되는 것을 관찰되었다. 그리고 이 같은 결과를 통해 $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T 세포가 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ T 세포의 저장소(reservoir)로서 가정하였다[14,15].

이에 저자들은 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ T 세포를 Treg로 정의하고 건선의 발병기전과의 연관성을 알아보고자 건선 환자들과 정상 대조군의 말초혈액 내 T 세포를 유세포분석(flow cytometry)하여 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg와 $CD4^+CD25^-Foxp3^+$T 세포 수의 차이를 비교하였다. 또한 각각의 세포 아형의 말초혈액 내 비율을 발병연령, 유병기간, 체표면적(BSA), psoriasis area severity index(PASI) score, 임상적 단계(clinical stage)와 같은 건선의 여러 임상적인 변수(parameter)들과 분석하여 상



Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

관관계를 알아보고자 하였다.



Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

## II. 연구대상 및 방법

### A. 연구대상

본 연구는 조선대학교병원 임상시험심사위원회(Institutional Review Board; IRB) 승인 후 2013년 11월부터 2014년 5월까지 본원 피부과 외래에 내원하여 임상적 또는 조직검사를 통해 판모양건선으로 진단된 환자 중 본 연구에 동의한 19명과 건강한 정상인 14명을 대상으로 하였다. 최소한 연구 4주 이내 Treg 수에 영향을 줄 수 있는 전신적인 스테로이드, 레티노이드, 면역억제제 및 생물학제제를 사용하거나 광선치료를 받은 환자들은 본 연구에서 제외하였다. 대조군은 신체검진에서 건선 및 다른 피부병변이 없고 문진을 통해 자가면역질환의 과거력 및 가족력이 없는 본원에서 근무하는 의료인과 직원들이 참여하였다.

### B. 연구방법

#### 1. 임상적 변수(parameter) 측정

채혈 전 문진을 통해 건선의 발병연령, 유병기간, 임상적 단계를 평가하였다. 건선의 임상적 단계는 최근 1개월 동안 새로운 피부병변이 발생하였거나 기존 병변이 커지는 경우를 진행기 (progression phase), 새로운 병변이 생기지 않고 변화가 없는 경우를 안정기(stable phase)로 구분하였다. 신체검진을 통해서는 BSA와 PASI를 측정하고 기록하였다(Table 1)

#### 2. 세포 분리 (Cell isolation)

Heparin이 처리된 시험관에 정맥혈 10㎖를 채혈한 후 50㎖의 시험관에 들어있는 10㎖의 Ficoll-Paque™ PLUS (GE Healthcare Bio-Sciences AB, Uppsala, Sweden) 상층에 조심히 부은 후 원심분리 하였다(400×g, 40분, 20℃. 원심분리 후 상층의 약 10㎖ 혈장을 흡인(aspiration)으로 제거하여 peripheral blood mononuclear cells(PBMC) 분획(fraction)을 분리한 다음 15㎖ 시험관에 옮기고 여기에 phosphate-buffered saline(PBS)을 잘 섞은 후 2회 세척(200×g, 10분, 20℃하여 PBMC를 완성하였다.



Collection @ chosun

조선대학교 CHOSUN UNIVERSITY

### 3. 유세포 분석 (Flow cytometric analysis)

$CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg를 분리하기 위해 환자군과 대조군의 PBMC의 세포 표면 항원에 대해 CD4-FITC(fluorescein isothiocyanate), CD25-APC(Allophycocyanin Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) 단클론 항체로 먼저 세포 표면을 염색한 후 Fixation/Permeabilization 과정을 거치고 나서 Anti-Foxp3- PE(phycoerythrin Miltenyi Biotec)로 세포내 염색(intracellular staining)을 하였다. 또한 각각의 항체에 대한 isotype 항체로도 염색을 시행하였다. 염색된 세포는 Navios flow cytometer(Beckman Coulter, Krefeld, Germany)와 Kaluza Analysis Software(Beckman Coulter)를 이용하여 three-color Fluorescence activated cell sorting(FACS)을 하였고 전체 $CD4^+$ 세포에 대한 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg와 $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T 세포의 비율을 각각 백분율로 환산하여 세포의 수를 평가하였다.

## C. 통계학적 분석

건선 환자 및 대조군의 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg와 $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T 세포의 수를 비교하기 위해 Student's *t*-test를 사용하였고 건선의 여러 임상적인 변수(parameter)들과 상관관계는 Pearson의 상관계수를 이용하여 분석하였다. 모든 통계학적 처리는 IBM SPSS statistics 19.0 software(SPSS Inc. Chicago, IL, USA)를 사용하였으며, $p$ value가 0.05 미만일 경우 통계학적으로 유의하다고 판단하였다.



Collection @ chosun

조선대학교 CHOSUN UNIVERSITY

# III. 결 과

## A. 성별 및 연령분포

건선 환자들의 연령 분포는 15세에서 80세(평균연령 40.0±17.9세)였으며, 남자가 15명(78.9%), 여자가 4명(21.1%)이었다. 대조군은 19세부터 69세(평균연령 38.4±13.4세)까지의 분포를 보였으며, 남자가 7명(50%), 여자가 7명(50%)으로 남녀비가 1:1이었다.

## B. 건선 환자군과 정상 대조군의 말초혈액 내 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg와 $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T 세포 수에 대한 비교

건선 환자들과 대조군의 말초혈액 내 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg와 $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T 세포의수를 유세포 분석으로 측정한 결과 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg의 수는 정상 대조군보다 건선 환자군에서 조금 더 높은 결과를 보였으나 통계학적으로 유의한 차이는 보이지 않았다. $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T 세포는반대로 정상 대조군에서 건선환자보다 약간 더 많았으나 통계학적으로 유의한 차이가 관찰되지 않았다(Table 1, Fig. 1A, 1B)

## C. $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg 수와 임상적인 변수들 사이의 상관성 분석

환자군의 평균 발병연령은 30.2±19.1세, 평균유병기간은 62개월이었으며, 평균 BSA 및 PASI score는 각각11.3±15.2, 8.1±7.0이었다. 임상적 단계를 구분한 결과 진행기에 해당하는 환자는 13명, 안정기는 6명이었다.

$CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg의 말초혈액 내 비율을 각각의 변수들과 상관성을 분석을 했을 때 발병연령, 유병기간, BSA, PASI score와 통계학적으로 유의한 결과를 보여주지 않았다(Fig.2A,2B,2C,2D). 그러나 진행기와 안정기 환자의 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg 수를 비교 했을 때 안정기 환자(7.26±2.58%)가 진행기 환자(4.35±2.10%) 보다 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg 비율이 통계학적으로 유의하게 증가해 있다는 것을 보여주어 건선의 진행기 때 말초혈액 내 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg 수가 감소해 있다는 것을 알 수 있었다($p$=0.018, Fig.3).



Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

### D. $CD4^{+}CD25^{-}Foxp3^{+}$ T 세포 수와 임상적인 변수들 사이의 상관성 분석

$CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$ Treg의 결과와 유사하게 발병연령, 유병기간, BSA, PASI score와는 통계학적으로 유의한 상관 관계를 보여주지 않았으며, 안정기 환자의 $CD4^{+}CD25^{-}Foxp3^{+}$ T 세포 비율이 1.90±1.60% 로 진행기 환자의 1.41±0.75% 보다약간 높았으나 $CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$ Treg와 달리 큰 차이가 없었다($p$>0.05).



Collection @ chosun

조선대학교 CHOSUN UNIVERSITY

# Ⅳ. 고 찰

순환하는 Treg는 기원에 따라 2종류로 나눌 수 있는데, 흉선으로부터 발생하는 natural Treg(nTreg)와 말초 조직에서 외부 항원과 $Foxp3^-$ T 세포군에서 Foxp3의 발현을 상향조절 할 수 있는 흉선외 신호에 의해 유도된 Induced Treg(iTreg)로 크게 구분할 수 있다. 하지만 nTreg와 iTreg는 유사한 표현형을 가지고 있고 몇몇의 기전들을 통해 염증을 조절한다[2,16]. Treg는 보다 세부적으로 여러 표지자들에 의해 또한 구분할 수 있으며 CD4, CD25, Foxp3, GITR, CTLA-4, OX40 등의 여러 표지자들이 Treg에 동시에 발현될 수 있지만, 많은 연구들에서 Treg에 가장 특이적인 표지자를 확인할 수는 없었다[16-21]. 이 중 CD25는 Interleukin 2 수용체의 α-subunit일 뿐만 아니라 활성화된 T 세포의 표지자로써 자기 항원에 대한 면역 관용(tolerance)을 유지하고 동종 항원(alloantigen)에 불응을 유도하는 기능을 하며 생체 외(ex vivo)에서 Treg를 분리하는데 아직까지 쉬운 표면 표지자로 남아있다[10,14,22]. 전사인자(transcription factor)인 foxp3는 여러 연구에서 CD4와 CD25와 같은 세포 표면 표지자보다 Treg에 더 특이적인 표지자로 간주되고 있고 Treg 발달 및 기능에도 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다[10,16-21]. 또한, 몇몇의 동물 모델 연구는 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ T 세포의 결함이 자가면역질환을 유발하고 이와 같은 세포들을 다시 입양전달(adoptive transfer) 했을 경우 다양한 질환들의 회복을 보여주었다[2,23]. 따라서 본 연구에서도 Treg 수를 평가하기 위해 가장 흔하고 중요한 표지자인 CD4, CD25, Foxp3를 사용하여 Treg를 구분하였다.

2005년 Sugiyama 등[1]은 처음으로 건선 환자의 말초 혈액 및 병변에서 $CD4^+CD25^+$ Treg의 수와 기능을 평가하였고, 그 결과 말초 혈액 내 Treg의 수는 건선환자와 대조군 사이 통계학적 차이가 없었으나 기능의 결함을 확인하고 이를 보고하였다. 2010년 국내 문헌에서도 건선 환자에서 말초 혈액 내 $CD4^+CD25^{high+}Foxp3^+$ Treg 수를 조사하였지만 유의한 차이는 관찰되지 않았다[10]. 반면에 Chen 등[11]은 중증 건선 환자의 혈액과 진행하는 건선 병변에서 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg 수가 감소됨을 확인하고 이것이 건선의 중증도가 심해지고 병변이 진행하는 것과 관련 있다고 설명하였다. 반대로 Zhang 등[12]의 연구에서는 54명의 건선 환자와 18명의 건강한 대조군 말초 혈액을 유세포 분석 했을 때 통계학적으로 유의하지는 않았으나 $CD3^+CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg의 비율이 대조군보다 건선 환자에서 약간 높았고, PASI score를 기준으로 건선 환자를 3개의 집단으로 나누어 평가했을 때는 각각의 집단



Collection @ chosun

조선대학교 CHOSUN UNIVERSITY

이 대조군보다 Treg의 수가 증가되어 있었으며, PASI score가 높은 환자일수록 Treg의 비율이 높아 양의 상관관계를 나타냄을 보고하기도 하였다. 이와 같은 Treg의 증가는 건선 병변에서 IL-17에 의해 유도된 염증부위의 과면역반응을 억제하기 위한 피드백(feedback)으로 설명하기도 하였다[12]. Furuhashi 등[13]도 말초 혈액내 $CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$ Treg의 수를 건선 환자와 대조군을 비교했으나 비슷한 결과를 얻었으며, PASI score, 나이, 유병기간, 치료방법의 수, 말초 혈액 내 Th17 및 Th22 수와 같은 임상적 변수들과 Treg의 수의 상관관계를 평가 했지만 어떤 변수들도 유의한 상관성을 보여주지 못했다. 그리고 오직 Treg의 수로만 건선의 활성도와 발병 기전을 설명하는 것은 충분하지 못하며 Treg의 억제 기능에 대한 결함이 관련 있지만 기능의 감소와 수의 감소는 서로 연관이 없다고 설명 하였다[3,13].

본 연구에서는 통계학적으로 유의하지는 않았지만 건선환자에서 대조군 보다 Treg의 수가 약간 증가되어 있었고 이는 Treg의 억제 기능의 결함에 대한 보상(compensation) 또는 건선에서의 면역 반응의 활성화에 대한 보상 작용의 결과일 가능성이 있다. 또한, 발병연령, 유병기간, BSA, PASI score와 같은 임상 변수들과는 유의한 상관성을 보여주지는 않았지만, 안정기 환자가 진행기 환자보다 Treg 수가 통계학적으로 유의하게 증가한 것으로 볼 때 Treg 수의 증가로 발생한 면역 억제 작용은 건선의 경과 중 면역 균형에 기여를 하는 것으로 추측이 된다[10]. 역으로 말초혈액 내 Treg 수의 감소는 건선의 경과 중 건선의 급성 악화와 연관 있는 것으로 보이며, 이 때 말초혈액 내 Treg가 건선 피부 병변으로 이동하여 Treg 수가 더욱 감소했을 가능성이 있다. Yan 등[24]은 판모양 건선과 물방울 건선 환자의 $CD4^{+}Foxp3^{+}$ Treg와 $CD4^{+}IL17^{+}$ 세포의 말초 혈액 내 비율을 비교하였는데, $CD4^{+}Foxp3^{+}$ Treg는 물방울 건선보다 판모양 건선 환자에서 높고 $CD4^{+}IL17^{+}$ 세포는 반대로 물방울 건선 환자에서 더 높은 결과를 얻었다. 이 연구에서 물방울 건선은 건선이 활발히 발생하는 시기를 가정하며, 이 때 감염 등의 외부 유발 요인이 발생하면 Th17 세포는 빠르게 증가하고 Foxp3+ Treg는 감소하게 된다. 반대로 판모양 건선은 건선의 만성기를 대표하며 반복되는 염증 때문에 피드백 작용으로 Treg 수가 증가되지만 국소 염증 반응을 일으키는 cytokine들에 의해 Foxp3+ Treg의 억제 기능이 손상된다고 설명하였고[24] 이는 본 연구에서 진행기 보다 안정기에 Treg 수가 더 증가되어 있는 것과 관련 있는 것으로 생각된다.

최근 연구에서는 CD25를 표면에발현하지 않은 $CD4^{+}Foxp3^{+}$ Treg의 새로운아형인 $CD4^{+}CD25^{-}Foxp3^{+}$ T 세포를 확인하였는데, 이 세포는비록 INF-γ를 생산하지는



Collection @ chosun

조선대학교 CHOSUN UNIVERSITY

않지만 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg의 표현형 특징을 공유하고 T 세포 증식을 억제하는 기능을 가지고 있는 것을 알려져 있다[15,25]. Foxp3의 유전자는 retroviral transduction을 통해 미접촉(naïve) $CD4^+CD25^-$ T 세포에서 표현형적 및 기능적인 Treg로 변하므로 $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T 세포가 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg의 말초 저장소로 여겨진다[14]. 그러나본 연구에서 추가적으로 확인한 말초혈액 내 $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T 세포의 수는 Bonelli 등[15]의 SLE 환자 연구와 달리 건선 환자보다 대조군에서 더 증가된 결과를 보여 일치되지 않은 결과를 보여 주었다. 이는 Treg의 저장소로 가정한 $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T 세포가$CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg로 많이 전환(conversion)되어 오히려 감소했을 경우로 생각해 볼 수 있었다.

연구자 마다 건선환자에서 Treg 수의 결과에 대한 불일치는 Treg 측정 방법, 채혈 당시 환자의질병 상태, 연구에 참여한 환자의 수, 환자들이 받는 치료 등의 여러 가지 차이로 인해 나타난 결과일 가능성이 있다[12]. 본 연구에서도 참여한 환자의 수가 비교적 적고 채혈 당시 환자의 경과가 달랐으며, 안정기 환자 수가 진행기 환자 수보다 적어 적절한 비교가 되지 않은 점, Treg의 기능 평가에 대한 연구를 하지 않은 점 등이 제한점으로 생각된다.

건선에 취약한 사람에서 몇몇의 염증 반응들은 Treg에 의해 충분하게 하향 조절되지 못하여 염증을 일으키고 결과적으로 건선의 판을 발생시키게 된다[2]. 또한 최근 연구들에서 확인된 결과 염증 반응은 조절 기능을 가진 Treg의 손상을 일으켜 Treg-작동(effector) T 세포 균형을 변화시키는 것을 보여주었다[24,26,27]. 그리고 현재 자가면역질환의 치료 중 일부는 Treg의 수와 기능의 변화를 유도하는 방법을 사용한다[3]. SLE 치료에 스테로이드 사용, MS에서 INF-β 및 glutamine acetate 치료 등이 Treg의 수를 증가시키는 것과 관련이 있으며, 이 같은 방법들이 직접적으로 Treg에 작용하는지 또는 간접적으로 염증 환경 또는 병원성 세포(pathogenic cell)를 변화시키는 지는 아직 정확히 알려져 있지 않다[3,6,12,28,29]. 따라서 본 연구와 같은 Treg 관련 연구를 통해 건선에서 조절-억제 기능을 가진 바람직한 Treg의 상향 조절을 유도하는 것이 미래의 치료법 측면에서 시행할 만한 가치가 있을 것으로 생각된다.



Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

# V. 결 론

저자들은 2013년 11월부터2014년 5월까지 조선대학교병원 피부과에 내원하여 임상적 또는 조직검사를 통해 판모양건선으로 진단된 환자 19명과 건강한 정상인 14명에서 채혈한 말초혈액으로 유세포 분석을 시행하여 말초혈액 내 전체 $CD4^+$ 세포에 대한 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg와 $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T 세포의 비율을 백분율로 환산하여 각각의 세포 수를 평가하였다. $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg의 수는 정상 대조군보다 건선 환자군에서 조금 더 높은 결과를 보였고 $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T 세포는반대로 정상 대조군에서 건선환자보다 약간 더 높았으나 모두 통계학적으로 유의한 결과는 보이지 않았다. 또한 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg의 수를 건선의 각각의 임상 변수들과 상관 분석을 했을 때 발병연령, 유병기간, BSA, PASI score와는 유의한 결과를 보여주지 않았지만 안정기 환자의 $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg 수가 진행기 환자보다 통계학적으로 유의하게 증가하여 건선의 진행기 기간에 Treg 수가 감소해 있다는 것을 알 수 있었다. 그러나 $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T 세포 수와 임상적인 변수들 사이의 상관성 분석에서는 어떤 변수도 통계학적으로 유의한 상관 관계를 보여주지 않았다.

건선은 아직까지 정확한 발생 원인이 알려져 있지 않으나 각질형성세포, 진피의 T 세포, 가지돌기세포와 다양한 염증세포들 사이에서 분비되는 여러 cytokine들을 통한 상호작용에 의해 건선이 발생된다는 가설이 가장 주목 받고 있으며, 이에 관한 활발한 연구가 진행 중이다. 그러나 본 연구에서 다룬 Treg에 대해 많은 환자들을 대상으로 좀 더 잘 디자인된 연구를 시행한다면 Treg 아형의 다양성에 대한 더 나은 이해와 인식을 바탕으로 수와 기능이 건선 환자의 발병 및 경과에 어떤 중요한 역할을 하는지 추측해 볼 수 있는 기회가 될 것이다.



Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

# 참 고 문 헌

1. Sugiyama H, Gyulai R, Toichi E, Garaczi E, Shimada S, Stevens SR, et al. Dys functional blood and target tissue CD4+CD25high regulatory T cells in psoriasis: mechanism underlying unrestrained pathogenic effector T cell proliferation. J Imm unol 2005;174:164-173

2. Mattozzi C, Salvi M, D'Epiro S, Giancristoforo S, Macaluso L, Luci C, et al. Im portance of regulatory T cells in the pathogenesis of psoriasis: review of the liter ature.Dermatology 2013;227:134-145

3. Long SA, Buckner JH. CD4+FOXP3+ T regulatory cells in human autoimmunity: more than a numbers game. J Immunol 2011;187:2061-2066

4. Moftah NH, El-Barbary RA, Ismail MA, Ali NA. Effect of narrow band-ultraviolet B on CD4+CD25highFoxP3+T-lymphocytes in the peripheral blood of vitiligo. Phot odermatol Photoimmunol Photomed. 2014;30:254-261

5. Kumar M, Putzki N, Limmroth V, Remus R, Lindemann M, Knop D, et al. CD4+ CD25+FoxP3+ T lymphocytes fail to suppress myelin basic protein-induced prolife ration in patients with multiple sclerosis. J Neuroimmunol 2006;180:178-184

6. Venken K, Hellings N, Broekmans T, Hensen K, Rummens JL, Stinissen P. Nat ural naive CD4+CD25+CD127low regulatory T cell(Treg) development and function are disturbed in multiple sclerosis patients: recovery of memory Treg homeostasis during disease progression. J Immunol 2008;180:6411-6420

7. Han GM, O'Neil-Andersen NJ, Zurier RB, Lawrence DA. CD4+CD25high T cell numbers are enriched in the peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis. Cell Immunol 2008253:92-101

8. Marwaha AK, Crome SQ, Panagiotopoulos C, Berg KB, Qin H, Ouyang Q, et a l. Cutting edge: Increased IL-17-secreting T cells in children with new-onset typ e 1 diabetes. J Immunol 2010;185:3814-3818



Collection @ chosun

조선대학교 CHOSUN UNIVERSITY

9. Gerli R, Nocentini G, Alunno A, Bocci EB, Bianchini R, Bistoni O, et al. Identification of regulatory T cells in systemic lupus erythematosus. Autoimmun Rev 2009;8:426-430

10. Yun WJ, Lee DW, Chang SE, Yoon GS, Huh JR, Won CH, et al. Role of CD4+CD25high+Foxp3+ regulatory T cells in psoriasis. Ann Dermatol 2010;22:397-403

11. Chen L, Shen Z, Wang G, Fan P, Liu Y. Dynamic frequency of CD4+CD25+Foxp3+ Treg cells in psoriasis vulgaris. J Dermatol Sci 2008;51:200-203

12. Zhang L, Yang XQ, Cheng J, Hui RS, Gao TW. Increased Th17 cells are accompanied by FoxP3+ Treg cell accumulation and correlated with psoriasis disease severity. Clin Immunol. 2010;135:108-117

13. Furuhashi T, Saito C, Torii K, Nishida E, Yamazaki S, Morita A. Photo(chemo)therapy reduces circulating Th17 cells and restores circulating regulatory T cells in psoriasis. PLoS One. 2013;8:e54895

14. Yan B, Liu Y. The Nature of Increased Circulating CD4CD25Foxp3 T Cells in Patients with Systemic Lupus Erythematosus: A Novel Hypothesis.Open Rheumatol J 2009;3:22-24

15. Bonelli M, Göschl L, Blüml S, Karonitsch T, Steiner CW, Steiner G, Smolen JS, Scheinecker C. $CD4^{+}CD25^{-}Foxp3^{+}$ T cells: a marker for lupus nephritis?. Arthritis Res Ther 2014;16:R104

16. Bovenschen HJ, van Vlijmen-Willems IM, van de Kerkhof PC, van Erp PE. Identification of lesional CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells in psoriasis. Dermatology 2006;213:111-117

17. Bach JF. Regulatory T cells under scrutiny. Nat Rev Immunol 2003;3:189-198

18. Schwartz RH. Natural regulatory T cells and self-tolerance. Nat Immunol 2005;6:327-330



Collection @ chosun

조선대학교 CHOSUN UNIVERSITY

19. Fontenot JD, Rudensky AY. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3. Nat Immunol 2005;6:331-337

20. Sakaguchi S. Naturally arising Foxp3-expressing CD25+CD4+ regulatory T cells in immunological tolerance to self and none-self. Nat Immunol 2005;6:345-352

21. Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. Science 2003;299:1057-1061

22. LiuH, Leung BP. CD4+CD25+ regulatory T cells in health and disease. Clin Exp Pharmacol Physiol 2006;33:519-524

23. Sakaguchi S, Ono M, Setoguchi R, Yagi H, Hori S, Fehervari Z, et al. Foxp3+ CD25+CD4+ natural regulatory T cells in dominant self-tolerance and autoimmune disease. Immuno Rev 2006;212:8-27

24. Yan KX, Fang X, Han L, Zhang ZH, Kang KF, Zheng ZZ, et al. Foxp3+ regulatory T cells and related cytokines differentially expressed in plaque vs. guttate psoriasis vulgaris. Br J Dermatol 2010163:48-56

25. Bonelli M, Savitskaya A, Steiner CW, Rath E, Smolen JS, Scheinecker C. Phenotypic and functional analysis of CD4+ CD25- Foxp3+ T cells in patients with systemic lupus erythematosus. J Immunol 2009182:1689-1695

26. Korn T, Reddy J, Gao W, Bettelli E, Awasthi A, Petersen TR, et al. Myelin-specific regulatory T cells accumulatein the CNS but fail to control autoimmune inflammation. Nat Med 2007;13:423-431

27. Miyara M, Amoura Z, Parizot C, Badoual C, Dorgham K, Trad S, et al. The immune paradox of sarcoidosis and regulatory T cells. J Exp Med 2006;203:359-370

28. Suárez A, López P, Gómez J, Gutiérrez C. Enrichment of CD4+ CD25high T cell population in patients with systemic lupus erythematosus treated with glucocorticoids. Ann Rheum Dis 200665:1512-1517



Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

29. Venken K, Hellings N, Thewissen M, Somers V, Hensen K, Rummens JL, et al. Compromised CD4+ CD25(high) regulatory T-cell function in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis is correlated with a reduced frequency of FOXP3-positive cells and reduced FOXP3 expression at the single-cell level. Immunology 2008;123:79-89



Collection @ chosun

조선대학교 CHOSUN UNIVERSITY

Table 1. Summary of clinical characteristics of patients with psoriasis

| Case No. | Age/ Sex | Onset of age | Duration (mo) | Clinical stage (phase) | BSA | PASI |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 30/M | 27 | 36 | Stable | 10 | 5.5 |
| 2 | 54/M | 49 | 60 | Stable | 1 | 3.4 |
| 3 | 31/F | 25 | 72 | Progressive | 28 | 15.9 |
| 4 | 21/M | 16 | 60 | Stable | 1 | 2.6 |
| 5 | 64/M | 63 | 7 | Progressive | 67 | 28.4 |
| 6 | 35/M | 20 | 180 | Progressive | 12 | 12.7 |
| 7 | 26/M | 25 | 6 | Stable | 3 | 5.5 |
| 8 | 54/M | 49 | 60 | Stable | 4 | 5.0 |
| 9 | 18/M | 18 | 1 | Progressive | 3 | 3.0 |
| 10 | 53/M | 23 | 360 | Progressive | 3 | 5.3 |
| 11 | 45/M | 40 | 60 | Progressive | 5 | 3.6 |
| 12 | 25/M | 25 | 2 | Progressive | 6 | 3.6 |
| 13 | 35/M | 30 | 60 | Progressive | 8 | 10.2 |
| 14 | 40/F | 30 | 120 | Progressive | 16 | 9.8 |
| 15 | 52/M | 50 | 24 | Progressive | 5 | 3.5 |
| 16 | 60/F | 60 | 5 | Progressive | 10 | 3.7 |
| 17 | 15/M | 15 | 2 | Stable | 2 | 3.9 |
| 18 | 80/F | 74 | 72 | Progressive | 19 | 20.9 |
| 19 | 22/M | 22 | 1 | Progressive | 11 | 6.4 |

BSA: body surface area, PASI: psoriasis area severity index

Table 2. Comparison between psoriasis patients and control as regards $CD4^+$ $CD25^+Foxp3^+$ Treg and $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T cells

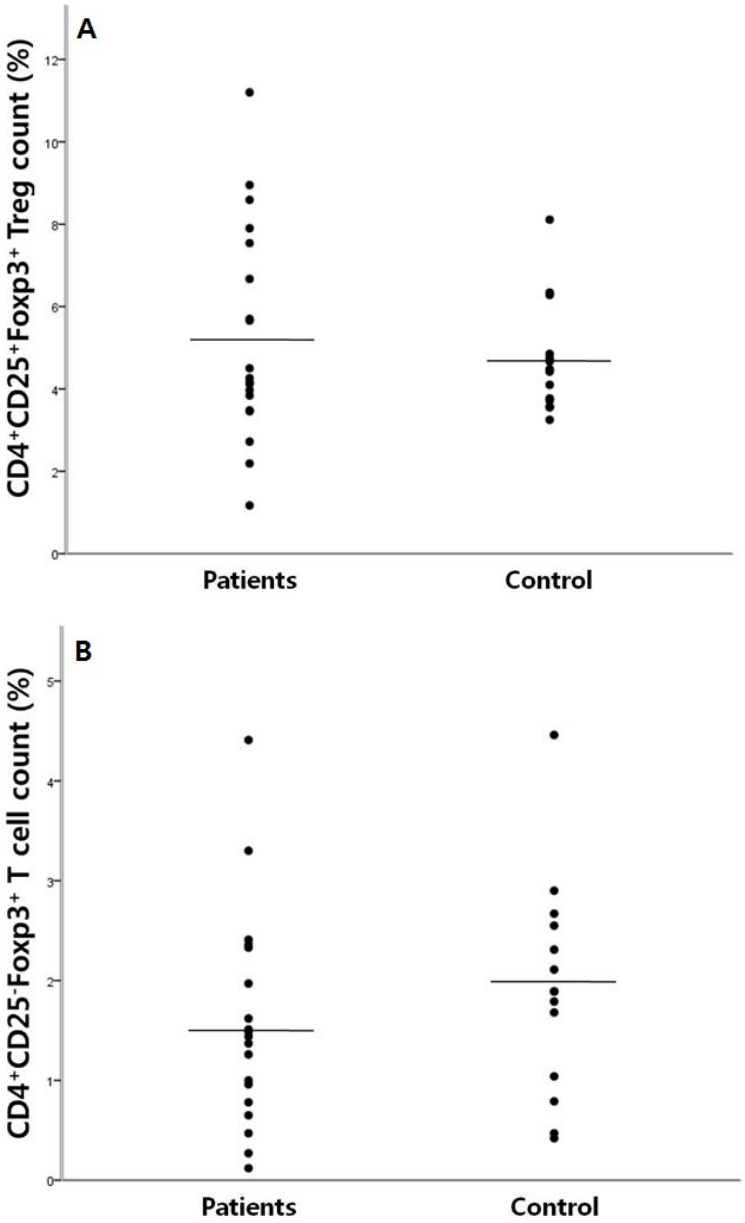
| | Patients (n=19) | Controls (n=14) | *p* value |
|---|---|---|---|
| $CD4^+CD25^+Foxp3^+$ Treg | 5.27±2.60% | 4.70±1.35% | 0.465 |
| $CD4^+CD25^-Foxp3^+$ T cells | 1.56±1.07% | 1.93±1.08% | 0.344 |



Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Fig.1 Dot plots show percentages of circulating $CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$ Treg(A) and $CD4^{+}CD25^{-}Foxp3^{+}$ T cell(B) in patients with psoriasis and healthy controls. Horizontal bar indicates mean value.

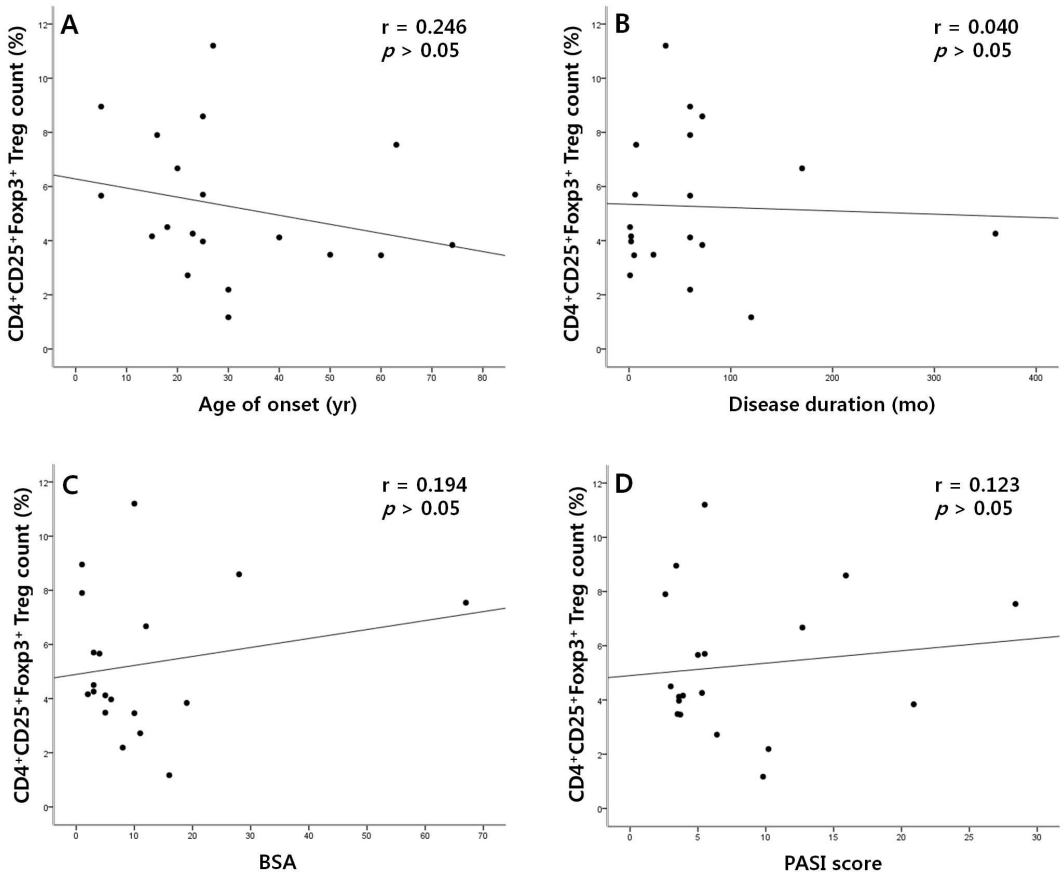





Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Fig.2 The correlations between $CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$ Tregin peripheral blood of patients and the other parameters, such as age of onset(A), disease duration (B), BSA(C), PASI score(D).

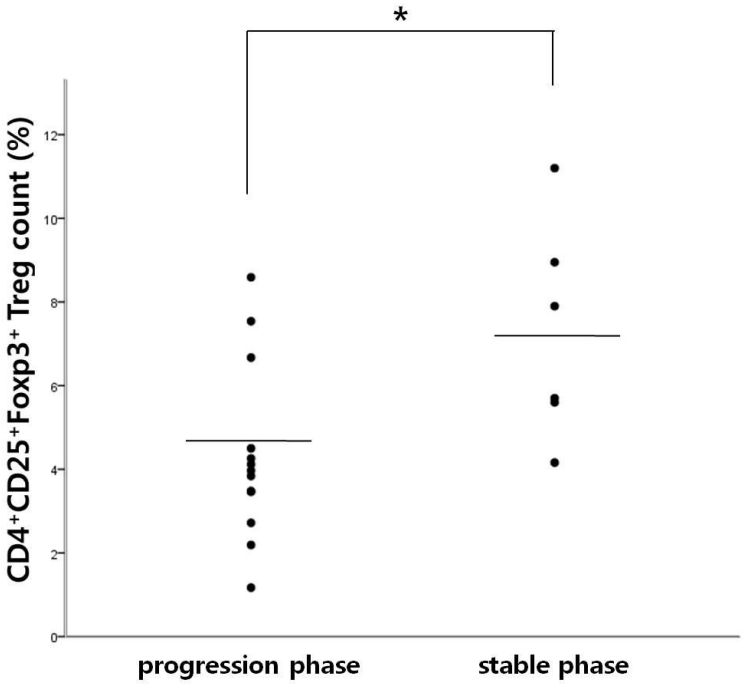





Collection @ chosun

조선대학교
CHOSUN UNIVERSITY

Fig.3 A The statistically significant increase in proportions of $CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$ Treg was observed in psoriasis patients as compared to healthy controls(* $p<0.05$). Horizontal bar indicates mean value.






Collection @ chosun