

2007년 2월
박사학위논문

자외선에 노출된 멜라닌세포성
모반에서 랑게르한스 세포 수와
사이토카인 발현에 관한 연구

조선대학교 대학원

의 학 과

고 정 훈

자외선에 노출된 멜라닌세포성
모반에서 랑게르한스 세포 수와
사이토카인 발현에 관한 연구

Langerhans Cells and Cytokines
in UV-irradiated Melanocytic Nevi

2007년 2월

조선대학교 대학원

의 학 과

고 정 훈

자외선에 노출된 멜라닌세포성
모반에서 랑게르한스 세포 수와
사이토카인 발현에 관한 연구

지도교수 정 병 수

이 논문을 의학 박사학위신청 논문으로 제출함

2006년 10월

조선대학교 대학원

의 학 과

고 정 훈

고정훈의 박사학위논문을 인준함

위원장 조선 대학교 교수 최 규 철 印

위원 전남 대학교 교수 원 영 호 印

위원 조선 대학교 교수 전 호 종 印

위원 조선 대학교 교수 장 인 엽 印

위원 조선 대학교 교수 정 병 수 印

2006년 12월 일

조선대학교 대학원

목 차

표목차

도목차

ABSTRACT

I. 서 론	1
II. 대상 및 방법	3
A. 대 상	
B. 광 원	
C. 방 법	
III. 결 과	5
A. CD1a 염색 결과	
B. 사이토카인 염색 결과	
IV. 고 찰	8
V. 결 론	13
참고문헌	14
그림설명	18

표 목 차

Table 1. Langerhans cell density per epidermal length in melanocytic nevi	6
Table 2. Cytokine expression after UV exposure	7

도 목 차

Figure 1. CD1a+ Langerhans cells in the epidermis overlying the melanocytic nevus	19
Figure 2. TNF- α expression in nonirradiated and UV exposed part of the melanocytic nevus	19
Figure 3. GM-CSF expression in nonirradiated and UV exposed part of the melanocytic nevus	19
Figure 4. IL-10 expression in nonirradiated and UV exposed part of the melanocytic nevus	20
Figure 5. IL-12 expression in nonirradiated and UV exposed part of the melanocytic nevus	20

ABSTRACT

Langerhans Cells and Cytokines in UV-irradiated Melanocytic Nevi

Ko Jung-hun

Advisor : Prof. Chung Byoung-soo, M.D., Ph.D.

Department of Medicine,

Graduate School of Chosun University

It is well established that UV-induced DNA damage is involved in the mutation of oncogenes and tumor suppressor genes, and subsequent development of skin cancers. More recently, it is also accepted that UV-induced immunosuppression contributes to the UV related carcinogenesis. Langerhans cells(LC) are thought to play an important role in presentation of tumor antigens for the induction of anti-tumor immunity. Cytokines may have a key role in the UV-induced modulation of the skin immune system.

Skin biopsies from 10 melanocytic nevi, taken from partially covered and irradiated part with a defined UV dose, were examined using immunohistological technique for the quantitative distribution of LC and the expression of cytokines which are related to LC migration and maturation(TNF- α and GM-CSF), Th1 response(IL-12), and Th2 response(IL-10).

LC number was increased in non-irradiated neoplastic epithelium compared to control skin. In UV-exposed nevi, LC density decreased significantly but a constant number was still maintained. TNF- α and GM-CSF were predominantly expressed in lesional epithelium and some nevus cells 2 days after irradiation. GM-CSF expression was maintained in nevus cells up to day 7 after exposure.

IL-10 was expressed in epidermis 2 days after exposure. IL-12 was weakly positive in unexposed lesional epidermis and this IL-12 expression was disappeared by 2 days after exposure but it was reappeared by 7 days after exposure. These findings suggests that LC may have a functional role in immune surveillance against UV-induced carcinogenesis.

I. 서 론

세포의 성장을 조절하는 유전자에는 종양유전자(oncogene)와 종양억제유전자가 있으며, 종양유전자는 세포의 성장을 촉진시키고, 종양억제유전자는 세포의 과도한 성장을 억제하는 작용을 한다. 피부에 조사된 자외선은 종양유전자의 돌연변이, 과도한 생산과 활성화를 초래하여 종양 발생에 관여할 수 있으며, 또한 종양억제유전자의 돌연변이를 가져와 세포의 과도한 성장을 조절하지 못해 종양이 발생할 수 있다¹. 최근에는 자외선 조사에 의한 면역억제도 피부암 발생에 관여하는 것으로 알려지고 있다^{2,3}. 피부 면역계에서 항원제시세포로서 중요한 역할을 담당하고 있는 랑게르한스 세포는 표피를 구성하는 세포의 약 3-8%를 차지하고 있으며, 골수에서 기원하여 표피나 편평 상피 조직에 위치한다⁴. 이러한 랑게르한스 세포는 종양 면역에서도 종양 항원을 국소 림프절로 운반하여 특히 T세포에 제시함으로써 면역감시 기능을 수행하는 것으로 생각되고 있다⁵. 자외선 치료^{6, 7}, 12-dimethylbenz anthracene 국소도포⁷, 전신 스테로이드 투여⁸ 등으로 인한 표피 랑게르한스 세포의 억제가 피부 종양의 발생 빈도를 증가시키는 것으로 알려져 있으며, 이는 랑게르한스 세포의 면역감시 기능이 표피 악성종양 발생과 밀접한 관계가 있음을 시사한다.

자외선에 의해 피부 면역계에 변화가 초래되는 주요인자는 사이토카인으로 알려져 있다. 자외선 B는 직접 또는 간접적으로 피부 조직에서 사이토카인의 분비를 유도하여 여러 세포들의 유입과 유출에 관여한다. 각질형성세포에서 분비되는 interleukin(IL)-1 β 와 tumor necrosis factor(TNF)- α 는 랑게르한스 세포가 피부로 부터 이주하는데 관여하며⁹, granulocyte macrophage colony stimulating factor(GM-CSF)는 랑게르한스 세포의 기능적인 성숙과 이주에 관여하고¹⁰, IL-10은 세포의 이주에 관여하지만 이주를 촉진¹¹ 시키는지 또는 억제¹²하는지 확실하지는 않다. 자외선에 노출된 피부는 IL-4와 IL-10 분비로 T helper 2(Th2)세포 발달에 유리한 환경을 조성하여 T helper 1(Th1)세포의 활성을 억제하며^{13,14}, 또한 자외선은 Th1세포의 활성화에 중요한 IL-12 생산을 억제하는 것으로 알려져 있다¹⁵. 따라서 자외선에 노출된 피부에서 발생하는 전체적인 사이토카인 환경은 Th1을 억제하여 랑게르한스 세포를 포함한 세포 매개 면역반응이 억제되는 방향으로 조성된다.

양성과 악성의 피부 종양에서 랑게르한스 세포 수의 변화에 관한 연구는 연구자마다 세포 수를 계산하는 기준이 서로 다르기 때문에 서로 다른 결과를 보고하고 있는 실정이다^{4,16-18}. 저자들은 양성 후천성 멜라닌세포성 모반에서 랑게르한스 세포 수와 자외선에 노출된 후 세포 수의 변화를 조사하고, 또한 랑게르한스 세포의 이주 그리고 Th1세포와 Th2세포 활성화에 관여하는 사이토카인들인 TNF- α , GM-CSF, IL-10, IL-12의 발현에 관하여 알아보려고 하였다.

II. 대상 및 방법

A. 대상

건강한 성인 10명에서 햇빛 노출이 적은 체간과 상지에 발생된 지름 5mm 이상의 멜라닌세포성 모반을 연구 대상으로 하였다. 모든 예에서 임상적으로 최근 1년간 색깔, 크기, 형태의 변화는 없었다. 병리조직학적으로 멜라닌세포성 모반의 소견을 확인하였으며, 정상과의 비교를 위한 대조군으로 염증반응이 없는 체간의 정상 피부 5예를 사용하였다(Table 1).

B. 광원

최소 홍반량 (minimal erythema dose, MED)을 대상자의 등에서 측정하였고, 광원은 295nm-400nm 파장의 자외선 B(FSC20T12-UVB, USA)를 사용하였다. 광원의 노출은 피부에서 30cm 거리에서 시행하였고, 멜라닌세포성 모반의 절반을 검정색 테이프로 가려 자외선에 노출 되지 않게 하였으며, 나머지 절반은 4 MED을 1회 조사하였다. 자외선 조사 후 5예는 2일 뒤 그리고 나머지 5예는 7일 뒤에 절제 생검하였으며, 표본은 포르말린에 고정한 후 통상의 조직처리를 거쳐 파라핀에 포매하였다.

C. 방법

1. 면역조직화학적 염색

사용된 일차 항체는 mouse anti-human CD1a(Immunotech, France), mouse anti-human TNF- α (Abcam, UK), mouse anti-human GM-CSF(Abcam, UK), rat anti-human IL-10(Biolegend, USA), mouse anti-human IL-12(Biolegend, USA)이었다. 면역조직화학적 염색은 ABC(avidin-biotin complex)염색법을 이용하였다. 5 μ m 두께의 파파핀 절편을 탈파라핀과 함수 과정을 거친 다음, 조직 중의 항원을 노출(unmasking)시키기 위하여 95 $^{\circ}$ C의 항원복구용액 (Dako A/S, Denmark)에 5분 동안 처리하였으며, 3% 과산화수소에 30분 동안 전처리하였다. 일차 항체인 CD1a, TNF- α , GM-CSF, IL-10, IL-12은 각각 실온에서 3시간 반응시켰으며, biotinylated

horse anti-mouse IgG와 biotinylated goat anti-rat IgG (1:200 in PBS, Vector, CA, USA)에 30분간, 그리고 avidin-biotin-peroxidase complex (1:200 in PBS, Vector, CA, USA)에 30분간 반응시킨 후 3-3-diaminobenzidine으로 발색시키고, hematoxylin으로 대조염색하였다.

2. 염색 평가 방법

멜라닌세포성 모반의 상부 표피에서 CD1a에 양성인 세포 수를 조사하였으며, 주로 기저층 상층부에서 양성으로 염색된 수지상세포 수를 세었다. 표본은 각각 3 부위를 선정하여 표피의 단위 길이(1mm)당 양성인 세포 수를 평균하였다.

TNF- α , GM-CSF, IL-10, IL-12는 일차 항체에 피부 조직내 양성으로 염색되는 염증세포 등을 내부양성 대조군으로 정하고 광학현미경 하에 염색 결과를 판독하였다. 내부양성 대조군과 비슷한 정도를 양성, 그보다 약하게 염색된 경우 약양성으로 하였다.

3. 통계

정상 피부와 멜라닌세포성 모반에서 CD1a에 양성인 세포 수의 비교와 자외선에 노출된 모반과 노출되지 않은 모반의 CD1a 양성 세포 수의 비교는 Mann-Whitney test를 이용하였다.

III. 결 과

A. CD1a 염색 결과

정상 피부에서 표피 내 랑게르한스 세포 수는 3.6/mm였다. 2일 뒤에 생검한 군에서 자외선 조사를 받지 않은 부위의 랑게르한스 세포 수 평균은 13.4/mm 그리고 자외선 조사한 경우는 3.8/mm이었다. 7일 뒤에 생검한 군에서는 자외선에 조사하지 않은 부위와 자외선 조사한 부위는 각각 7.8/mm와 3.2/mm이었다. 자외선 조사를 받지 않은 부위의 랑게르한스 세포에서는 잘 발달된 수지상 돌기가 관찰되었으나 자외선이 조사된 부위에서는 세포의 감소와 함께 수지상 돌기의 현저한 위축이나 감소를 보였다(Table 1, Fig. 1).

B. 사이토카인 염색 결과

TNF- α 는 2일 뒤에 생검한 5예에서 자외선 조사 부위의 모반 표피에서 양성으로 발현되었고, 이들 중 4예에서는 모반세포에서도 양성으로 발현되었다. 7일 뒤의 경우 1예에서만 표피와 모반세포가 약양성으로 염색되었고, 나머지는 발현되지 않았다(Fig. 2). GM-CSF는 자외선 조사 2일 뒤에 5예 모두에서 표피와 모반세포에서 양성으로 염색되었고, 7일 뒤에 생검한 경우 4예에서 자외선 조사 부위의 표피에서 약양성 그리고 모반세포에서 양성으로 발현이 지속되었으며, 자외선이 조사되지 않은 부위에서도 2예에서 약양성으로 염색되었다(Fig. 3)(Table 2).

IL-10은 자외선 조사 2일 뒤의 표피에서 5예 모두 양성으로 발현되었으며, 자외선 조사 7일 뒤 표피에서 약양성으로 염색된 2예를 제외하고 발현되지 않았다(Fig. 4). IL-12는 자외선이 차단된 부위의 표피에서 약양성으로 발현되었으나 자외선 조사 2일 뒤 발현이 소실되었고, 7일 뒤 4예의 표피에서 다시 약양성으로 발현되는 양상을 보였다(Fig. 5)(Table 2).

Table 1. Langerhans cell number per epidermal length in the overlying epidermis of melanocytic nevi

	Mean LC number per mm	Number in each group
Control skin	3.6	5
2 days after UVR		
NIRN	13.4 ^{(a)(b)}	5
IRN	3.8	5
7 days after UVR		
NIRN	7.8 ^(b)	5
IRN	3.2	5

NIRN: nonirradiated part, IRN: irradiated part

Mann-Whitney test: NIRN vs control skin^(a) and NIRN vs IRN^(b): $p < 0.05$

Table 2. Cytokine expression after UV exposure

		positive locus (positive cases)			
Number in each group		TNF- α	GM-CSF	IL-10	IL-12
2 days after UVR					
NIRN	5	0	0	0	EK(\pm 5)
IRN	5	EK(+5),MN(+4)	EK(+5),MN(+5)	EK(+5)	0
7 days after UVR					
NIRN	5	0	EK(\pm 2),MN(\pm 2)	0	EK(\pm 5)
IRN	5	EK(\pm 1),MN(\pm 1)	EK(\pm 4),MN(+4)	EK(\pm 2)	EK(\pm 4)

+: positive, \pm : weakly positive, NIRN: nonirradiated part, IRN: irradiated part
 EK: epidermal keratinocyte, MN: melanocytic nevus cell

IV. 고 찰

랑게르한스 세포는 종양에 대해 방어적인 면역 기능을 활성화 시키는 것으로 알려져 있다. 항원제시세포로서 종양 항원을 국소 림프절로 운반하여 T세포에 제시하고, 종양항원 특이성을 갖는 림프구의 증식을 자극하여 면역감시 기능을 수행할 수 있을 것으로 생각되고 있다⁴. 양성과 악성 피부종양에서 랑게르한스 세포의 수와 분포는 연구자들에 따라 서로 다른 결과를 보고하고 있다. Lisi¹⁶는 기저세포암에서 랑게르한스 세포 수는 의의 있는 정도는 아니지만 약간 증가하였고, 편평세포암에서는 감소, 각화극세포종은 특히 병변의 주변에서 증가되었다고 보고하였다. Fernandez-Bussy 등¹⁷은 양성과 악성 피부종양의 경우 종양 내에서는 그 수가 감소되었으나 종양의 위쪽 표피에서는 증가되었다고 하였다. Gatter 등¹⁸은 편평세포암에서 랑게르한스세포 수의 변화가 없었고, 기저세포암은 종양 내에서는 감소되었으나 표피에서 증가하였으며, 각화극세포종은 감소를 보였다고 하였다.

편평세포암^{16,17}, 기저세포암^{17,18}, 각화극세포종¹⁸에서 랑게르한스 세포의 수가 감소된 것으로 보고한 연구들은 대부분 단위 면적을 기준으로 조사한 것으로 이런 경우에는 표피 두께의 증가를 보이는 병변에서는 랑게르한스 세포 수가 상대적으로 감소된 것으로 예측될 수 있다. Halliday 등¹⁹은 실제 랑게르한스 세포의 수의 큰 변화가 없음에도 불구하고 표피 두께의 증가로 인해 표피 면적이 증가된 경우 단위 면적 당 랑게르한스 세포의 수가 감소된 것으로 나타날 수 있다고 하였다. 따라서 단위 면적 보다는 표피의 단위 길이를 기준으로 한 조사 방법을 사용하면 표피의 다양한 두께에 관계 없이 보다 정확한 랑게르한스 세포의 실제 증감을 나타낸다고 주장하였다.

McArdle 등⁴은 표피의 단위 길이를 기준으로 조사한 연구에서 편평세포암(11.98/mm), 기저세포암(9.97/mm), 각화극세포종(13.09/mm), 보웬병(8.97/mm), 광선각화증(5.65)의 피부 암전구증과 악성종양의 종양 상피에서는 정상 피부(1.61-2.65/mm)에 비하여 랑게르한스 세포의 수가 증가된 것으로 보고하였다. 저

자들도 표피의 단위 길이를 기준으로 조사한 결과 멜라닌세포성 모반의 2일과 7일 뒤 생검한 자외선 차단 부위의 랑게르한스 세포 수는 각각 13.4/mm와 7.8/mm로 정상 피부 3.6/mm에 비하여 증가하였으며, 자외선 조사 부위에서는 각각 3.8/mm와 3.2/mm로 자외선 차단 부위에 비해 현저히 감소된 결과를 보였지만 정상 대조군과 비슷한 세포 수를 유지하였다. 같은 자외선 차단 부위지만 2일 뒤에 비하여 7일 뒤 랑게르한스 세포 수가 감소된 것은 바로 인접한 자외선 노출 부위에서 발생한 면역억제를 초래하는 복잡한 미세환경의 변화에 영향을 받았을 가능성이 있는 것으로 생각하였다. Gatter 등¹⁸도 악성 종양들과 함께 양성의 멜라닌세포성 모반에서 랑게르한스 세포 분포를 조사하였으며, 모반의 표피에서 랑게르한스 세포가 증가되었다고 보고하여 저자들의 실험 결과와 일치하였다.

정상 피부에서 표피의 랑게르한스 세포는 비교적 미성숙된 상태이며, T세포를 활성화 시키기 위한 보조신호를 제공하기 어려운 상태이다. 면역반응을 일으키기 위해서는 특정 항원에 노출되어 성숙되어야 하고 국소 림프절로 이동하여야 한다. 이러한 랑게르한스 세포의 성숙과 이주는 동시에 일어나는 반응인지 또는 서로 독립된 것인지는 명확하지 않지만 피부에서 생산되는 다양한 사이토카인이 랑게르한스 세포의 성숙과 이주에 관여하는 것으로 알려져 있다. 면역조직화학적 염색법은 생체 내 특정 사이토카인을 표현하는 세포를 찾아내고, 세포질 내에 사이토카인의 존재를 증명하는 좋은 방법의 하나로 알려져 있다²⁰.

TNF- α 와 GM-CSF는 랑게르한스 세포의 성숙과 이주에 관여하는 대표적인 사이토카인이다. TNF- α 는 대식세포를 포함한 다양한 세포에서 분비되며, 내독소나 자외선과 같은 자극에 의해 각질형성세포에서도 생성되고²¹, 자외선에 조사된 표피에서 일광화상세포 형성에 중요한 역할을 한다²². TNF- α 는 랑게르한스 세포가 피부로부터 국소 림프절로 이주를 유도하지만 세포의 MHC class II 발현의 소실을 가져와 기능적인 세포의 성숙을 억제하여 항원제시 기능을 방해한다²³. GM-CSF는 각질형성세포에서 분비되고, 특히 항원, 자외선과 같은 자극이나 염증성 피부질환에서 생성이 증가되며, 랑게르한스 세포의 생존을 돕고, 랑게르한스 세포의 기능에 변

화를 초래하여 세포의 성숙에 관여한다¹⁰.

피부 종양에 침윤된 랑게르한스 세포는 종양에 의해 생성된 다양한 사이토카인에 의한 것으로 알려져 있으나 실제 종양 조직 내에서 사이토카인의 생산과 랑게르한스 세포의 침윤에 관한 보고는 드문 실정이다. GM-CSF와 TNF- α 는 랑게르한스 세포의 종양면역 기능에 중요한 역할을 담당하며, 종양에서 생성되는 이러한 사이토카인들이 항종양면역에 관여하는 랑게르한스 세포의 기능에 큰 영향을 미칠 것으로 생각되고 있다. 종양항원에 대한 효과적인 감각이 GM-CSF에 의해 크게 증가되고, GM-CSF에 의한 종양내 랑게르한스 세포 침윤이 증가되는 것으로 미루어 GM-CSF가 종양의 면역감시기능에 관여하는 것으로 생각되고 있다²⁴. 그리고 이러한 GM-CSF의 종양 면역에 대한 기능은 TNF- α 에 의하여 소실되는 것으로 알려져 있다²⁵. 그러나 Rubel 등²⁶은 퇴행하는 종양 보다는 증식하는 종양에서 많은 랑게르한스 세포의 침윤이 관찰되는 이유를 다음과 같이 설명하였다. 이는 퇴행하는 종양에서 생산된 TNF- α 가 종양으로 부터 랑게르한스 세포의 이주를 도와 종양에서의 세포 침윤을 감소시키고, 림프절로 이주된 랑게르한스 세포에 의한 항종양면역이 활성화되기 때문이며, GM-CSF는 랑게르한스 세포 수의 변화나 종양의 증식과는 상관관계가 없다고 보고하였다. 많은 랑게르한스 세포의 침윤은 좋은 예후와 관련이 있으나 종양의 퇴행에는 큰 역할을 못한다는 보고²⁷도 있으며, 랑게르한스 세포는 주로 항종양면역의 발생 시작에 관여할 수 있으나 보다 진행된 종양에서는 그 기능에 대해 논란이 되고 있다²⁸.

본 연구에서 TNF- α 는 자외선 조사 부위의 표피와 모반세포에서도 양성으로 발현되었으며, 이러한 TNF- α 가 랑게르한스 세포의 이주를 돕고, 자외선 조사로 인한 랑게르한스 세포 수의 감소와 관련이 있는 것으로 생각되었다. GM-CSF도 자외선에 노출된 2일 뒤의 표피와 모반세포에서 양성으로 염색되었으나 TNF- α 와 달리 7일 뒤에도 특히 모반세포에서 발현이 지속되었다. 랑게르한스 세포 수가 자외선 조사 7일 뒤 현저히 감소된 결과를 보였지만 정상 피부 3.6/mm과 비교하여 3.2/mm로 비교적 높은 세포 수를 유지한 것이 이러한 GM-CSF 발현의 지속과 관련이 있는

것으로 생각되었다. 따라서 기능적인 성숙을 유도하는 GM-CSF는 랑게르한스 세포의 화학주성으로 작용할 수 있는 사이토카인으로 생각되었다.

IL-10은 Th2세포에서 생산되며, Th1세포의 사이토카인 분비를 억제한다. 이처럼 Th1세포의 기능을 억제하여 특정 항원에 대한 세포매개 면역반응을 억제한다²⁹. 정상 각질형성세포에서 IL-10이 생산되는지에 대해서는 명확하지 않지만 접촉알레르기항원과 같은 자극으로 활성화된 각질형성세포에서 합성되고 분비된다. 또한 자외선B 조사에 의해 사람의 각질형성세포에서 IL-10이 생산되고, 자외선B 매개 전신 면역억제에 관여하는 것으로 알려져 있다³⁰. IL-10은 랑게르한스 세포가 종양관련 항원이나 동종항원을 Th1세포에 제시하는 기능을 억제하여 종양 면역의 저하를 가져올 수 있다³¹. 그러나 아직 종양 병리학에서 IL-10의 정확한 역할에 대해서는 명확히 밝혀져 있지 않은 실정이다. Halliday 등¹¹은 세포주를 이용한 연구에서 증식성 종양의 TGF- β 는 랑게르한스 세포 이주를 억제하고, 퇴행하는 종양에서 IL-10은 랑게르한스 세포 이주를 돕지만 TGF- β 와 IL-10 모두 랑게르한스 세포의 성숙을 억제시킨다고 보고하였다. 본 연구에서도 자외선 조사에 의해 IL-10이 모반의 상부 표피에서 발현되었으며, 이러한 소견은 이주에 의한 랑게르한스 세포 수 감소와 관련이 있는 것으로 생각되었다.

IL-12는 B세포, 대식세포 외에도 각질형성세포와 랑게르한스 세포에서도 생산되며, T림프구, NK세포, LAK세포, 대식세포의 세포독성을 활성화 시키고, Th1 림프구의 발달을 도와 Th1형의 면역반응을 통한 접촉과민반응의 감작과 시작에 중요한 역할을 한다³². IL-12는 IL-10에 대해 길항작용이 있기 때문에 자외선에 의해 발생된 IL-10에 의한 면역억제를 회복시킬 수 있으며, 또한 자외선에 의한 면역관용을 차단할 수 있는 것으로도 알려져 있다³³. 또한 종양을 억제하는 기능도 보고된 바 있다³⁴. 본 연구에서 IL-12는 자외선이 차단된 부위의 표피에서 약양성으로 발현되었으나 자외선 조사 2일 뒤 바로 발현이 소실되었고, 7일 뒤 표피에서 다시 약양성으로 발현이 회복되는 양상을 보여 IL-10의 발현과 상반되는 결과를 보였다. 이러한 IL-12가 다시 발현되는 것은 자외선에 노출된 피부에서 생산된 TNF- α 나

IL-10에 의한 랑게르한스 세포 이주와 Th1세포 기능 억제로 인한 세포매개 면역반응 억제를 회복하기 위한 반응으로 생각되었다.

V. 결 론

멜라닌세포성 모반의 상부 표피에서 표피의 단위 길이(1mm)당 랑게르한스 세포 수는 평균 10.8로 정상 표피 3.6에 비해 증가하였으며, 자외선B를 조사한 결과 현저히 감소되었으나 정상 피부와 비슷한 일정 수를 유지하였다. 자외선 B 조사 2일 뒤 TNF- α 와 IL-10의 발현 그리고 IL-12의 소실이 랑게르한스 세포 감소와 관련이 있을 것으로 생각되며, 자외선 B 조사 7일 뒤 GM-CSF의 발현 지속과 IL-12의 발현 회복이 자외선에 의한 감소된 랑게르한스 세포 수 유지와 면역감시 기능 회복에 관련이 있을 것으로 생각되었다.

참 고 문 헌

1. Kripke ML, Ananthaswamy HN. Carcinogenesis: ultraviolet radiation, in: Freedberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, editors. *Dermatology in General Medicine*. 6th ed. New York: McGraw-Hill, 2003:371-377
2. Kripke ML. Immunology and photocarcinogenesis. *J Am Acad Dermatol* 1986;14:149-155
3. Cooper KD. Cell-mediated immunosuppressive mechanisms induced by UV radiation. *Photochem Photobiol* 1996;63:400-406
4. Katz SI. The role of Langerhans' cells in immunity. *Arch Dermatol* 1980;116:1361-1362
5. McArdle JP, Knight BA, Halliday GM, Muller HK, Rowden G. Quantitative assessment of Langerhans cells in actinic keratosis, Bowen's disease, keratoacanthoma, squamous cell carcinoma and basal cell carcinoma. *Pathol* 1986;18:212-216
6. Friedmann PS. Disappearance of epidermal Langerhans' cells during PUVA Therapy. *Br J Dermatol* 1981;105:219-221
7. Muller HK, Halliday GM, Knight BA. Carcinogen-induced depletion of cutaneous Langerhans' cells. *Br J Cancer* 1985;52:81-85
8. Belsito DV, Flotte TJ, Lim HW. Effect of glucocorticoids on epidermal Langerhans' cells *J Exp Med* 1982;155:291-302
9. Cumberbatch M, Dearman RJ, Kimber I. Interleukin 1 beta and the stimulation of Langerhans cell migration: comparison with tumour necrosis factor alpha. *Arch Dermatol Res* 1977;289:277-284
10. Witmer-Pack MD, Olivier W, Valinsky J, Schuler G, Steinman RM.

Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor(GM-CSF) is essential for the viability and function of cultured murine epidermal Langerhans cells. *J Exp Med* 1988;166:1484-1498

11. Halliday GM, Le S. Transforming growth factor- β produced by progressor tumors inhibits, while IL-10 produced by regressor tumors enhances, Langerhans cell migration from skin. *Int Immunol* 2001;13:1147-1154

12. Wang B, Zhuang LH, Fujisawa, Shinder GA, Feliciani C, Shivji GM, Suzuki H, Amerio E, Toto P, Sauder DN. Enhanced epidermal Langerhans cell migration in IL-10 knockout mice. *J Immunol* 1999;162:277-283

13. Teunissen MB, Piskin G, Nuzzo S. Ultraviolet B radiation induces a transient appearance of IL-4⁺ neutrophils, which support the development of Th2 responses. *J Immunol* 2002;168:3732-3739

14. Kang K, Gilliam AC, Chen G, Tootell E, Cooper KD. In human skin, UVB initiates early induction of IL-10 over IL-12 preferentially in the expanding dermal monocytic/macrophagic population. *J Invest Dermatol*;1998;111:31-38

15. Kremer IB, Hikens CM, Sylva Steenland RM. Reduced IL-12 production by monocyte upon ultraviolet-B irradiation selectively limits activation of T helper-1 cells. *J Immunol* 1996;157:1913-1918

16. Lisi P. Investigation of Langerhans' cells in pathological human epidermis. *Acta Derm (Stockholm)* 1973;53:425-428 cited from ref. 4

17. Fernandez-Bussy R, Cambazard F, Mauduit G, Schmitt D, Thivolet J. T cell subsets and Langerhans cells in skin tumors. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1983;19:907-913

18. Gatter KC, Morris HB, Oach B, Mortimer P, Fleming KA, Mason DY. Langerhans' cells and T cells in human skin tumors: an immunohistochemical study. *Hiatopathol* 1984;8:229-244

19. Halliday GM, McArdle JP, Knight BA, Muller HK. New methodology for assessment of the Langerhans' cell network J Pathol 1986;148:127-134
20. Hoefakker S, Boersma WJ, Classen E. Detection of human cytokines in situ using antibody and probe based methods. J Immunol Methods 1995;185:149-175
21. Kóck A, Schwarz T, Kirnbauer R, Urbanski A, Perry P, Ansel JC, Luger TA. Human keratinocytes are a source for tumor necrosis factor α : evidence for synthesis and release upon stimulation with endotoxin or ultraviolet light. J Exp med 1990;172:1609-1614
22. Schwartz A, Bhardwaj RS, Aragane Y, Mahnke K, Riemann H, Metze D, Luger TA, Schwarz T. UVB induced apoptosis of keratinocytes. Evidence for partial involvement of tumor necrosis factor alpha in the formation of sunburn cells. J Invest Dermatol 1995;104:922-927
23. Koch F, Kampgen E, Trockenbacher B, Schyler G, Romani N. TNF alpha interrupts antigen presenting function of Langerhans cells by two mechanisms: loss of immunogenic peptides and impairment of antigen-independent clustering. Adv Exp Med Biol 1995;378:207-209
24. Grabbe S, Granstein RD. Mechanisms of ultraviolet radiation carcinogenesis, in: Mechanisms of Immune Regulation, Granstein RD, Eds., Karger, Basel. 1994, p.291
25. Grabbe S, Bruvers S, Lindgrn AM, Hosoi J, Tan KC, Granstein RD. Tumor antigen presentation by epidermal antigen-presenting cells in the mouse: modulation by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, tumor necrosis factor alpha, and ultraviolet radiation. J Leukoc Biol 1992;52:209-217
26. Rubel DM, Barnetson RStC, Halliday GM. Bioactive tumor necrosis factor alpha but not granulocyte-macrophage colony-stimulating factor aorrelates inversely with Langerhans' cell numbers in skin tumors. Int J Cancer

1998;75:210-216

27. Tefany FJ, Barnetson RS, Halliday GM, McCarthy SW, McCarthy WH. Immunohistochemical analysis of the cellular infiltrate in primary regressing and non-regressing malignant melanoma. *J Invest Dermatol* 1991;97:197-202
28. Halliday GM, Reeve VE, Barnetson RS. Langerhans cell migration into ultraviolet light -induced squamous tumors is unrelated to anti-tumor immunity. *J Invest Dermatol* 1991;97:830-834
29. Mosmann TR, Moore KW. The role of IL-10 in crossregulation of TH1 and TH2 responses. *Immunol Today* 1993;12:A49-53
30. Enk CD, Sredni D, Blauvelt A, Katz SI. Induction of IL-10 gene expression in human keratinocytes by UVB exposure in vivo and in vitro. *J Immunol* 1995;154:4851-4856
31. Beissert S, Hosoi J, Grabbe S, Asahina A, Granstein RD. IL-10 inhibits tumor antigen presentation by epidermal antigen presenting cells. *J Immunol* 1995;154:1280-1286
32. Trinchieri G. Interleukin-12 and its role in the generation of Th1 cells. *Immunol Today* 1993;14:335-338
33. Schmitt DA, Owen-Schaub L, Ullrich SE. Effect of IL-12 on immune suppression and suppressor cell induction by ultraviolet radiation. *J Immunol* 1995;154:5114-5120
34. Brunda MJ. Interleukin-12. *J Leukoc Biol* 1994;55:280-288

LEGENDS OF FIGURES

Fig. 1. CD1a⁺ Langerhans cells in the epidermis overlying the melanocytic nevus: increase in number in unexposed part(A), and cellular depletion and alteration in shape with a reduction of branching dendrites in UV-irradiated part(B)(X 200).

Fig. 2 TNF- α expression: no labeling in unexposed skin(A) and positive labeling of lesional epithelium and intradermal nevus cells 2 days after UV-exposure(B)(X 100).

Fig. 3 GM-CSF expression: no labeling in unexposed skin(A), intense labeling of lesional epithelium and intradermal nevus cells 2 days after exposure(B) and moderate labeling maintained in nevus cells up to day 7 after exposure(C)(X 100).

Fig. 4 IL-10 expression: no labeling in unexposed skin(A) and positive expression by lesional epithelium 2 days after exposure(B)

Fig. 5 IL-12 is weakly positive in unexposed lesional epidermis(A) and this IL-12 expression is disappeared by 2 days after exposure(B) but it is reappeared by 7 days after exposure(C). No counterstain(X 100).

(별 지) 저작물 이용 허락서

학 과	의학과	학 번	20047390	과 정	박사
성 명	한글: 고정훈 한문: 高正勳 영문: Ko, Jung-hun				
주 소	서울 서초구 서초동 13/5 진흥 APT 2동 1404호				
연락처	E-MAIL : guitarguy@hanmail.net				
논문제목	한글 : 자외선에 노출된 멜라닌세포성 모반에서 랑게르한스 세포 수와 사이토카인 발현에 관한 연구 영문 : Langerhans Cells and Cytokines in UN-irradiated Melanocytic Nevi				

본인이 저작한 위의 저작물에 대하여 다음과 같은 조건아래 조선대학교가 저작물을 이용할 수 있도록 허락하고 동의합니다.

- 다 음 -

1. 저작물의 DB구축 및 인터넷을 포함한 정보통신망에의 공개를 위한 저작물의 복제, 기억장치에의 저장, 전송 등을 허락함
2. 위의 목적을 위하여 필요한 범위 내에서의 편집·형식상의 변경을 허락함. 다만, 저작물의 내용변경은 금지함.
3. 배포·전송된 저작물의 영리적 목적을 위한 복제, 저장, 전송 등은 금지함.
4. 저작물에 대한 이용기간은 5년으로 하고, 기간종료 3개월 이내에 별도의 의사표시가 없을 경우에는 저작물의 이용기간을 계속 연장함.
5. 해당 저작물의 저작권을 타인에게 양도하거나 또는 출판을 허락을 하였을 경우에는 1개월 이내에 대학에 이를 통보함.
6. 조선대학교는 저작물의 이용허락 이후 해당 저작물로 인하여 발생하는 타인에 의한 권리 침해에 대하여 일체의 법적 책임을 지지 않음
7. 소속대학의 협정기관에 저작물의 제공 및 인터넷 등 정보통신망을 이용한 저작물의 전송·출력을 허락함.

2007 년 2 월 일

저작자: 고 정 훈 (서명 또는 인)

조선대학교 총장 귀하