

단기 배양 각질형성세포의 세포간 표면접착분자 ICAM-1의 발현

- 감마 인터페론, 자외선 B 및 레티노인산의 영향 -

고신대학교 의학부 병리학교실

허 방 · 김 덕 하 · 허 만 하

Expression of ICAM-1 on Short-Term Cultured Human Keratinocytes

- Modulation by IFN- γ , UVB and retinoic acid -

Bang Hur, M.D., Duck Ha Kim, M.D. and Man-Ha Huh, M.D.

Department of Pathology, Kosin University Medical College

Intercellular adhesion molecule 1(ICAM-1; CD 54), a 90 kD glycoprotein, counter-receptor for lymphocyte function-associated antigen-1(LFA-1) on T-cells, is critically important to a wide variety of adhesion-dependent leukocyte functions, including antigen presentation and target cell lysis. Induction of ICAM-1 on the keratinocytes(KCs) is an important regulator in initiation, maintenance, and resolution of cutaneous inflammation, which is modulated with cytokines produced by activated T-lymphocytes. This study was designed to further our understanding on modulation effects of ultraviolet B(UVB), gamma interferon(IFN- γ), and retinoic acid(all *trans*) upon expression of ICAM-1 on cultured human KCs, with emphasis on their correlation. Cell surface expression of ICAM-1 in cultured human KCs was analyzed with the use of indirect immunofluorescence and fluorescence activating cell sorting(FACS) by flow cytometry.

The results of this study were as follows:

- 1) Expression of ICAM-1 was significantly induced with IFN- γ (20 U/ml)($p < 0.005$).
- 2) UVB irradiation of 30 mJ/cm² significantly suppressed ICAM-1 expression of KCs 24 hours after irradiation($p < 0.05$). However, at 72 hours after irradiation, ICAM-1 expression of KCs was considerably increased in comparison to that of initial phase(24 hours after irradiation).
- 3) High concentrations(10^{-5} M) of retinoic acid reduced UVB-induced expression of ICAM-1 in late phase(72 hours after irradiation), although retinoic acid showed induction effect of ICAM-1 expression of KCs.

In summary, these results indicate that ICAM-1 may contribute to the biphasic effect of UVB on delayed hypersensitivity in vivo. Also, retinoic acid, a vitamin A derivative, may have a cutaneous photoprotective effect through a regulation of UVB-induced ICAM-1 expression on the KCs. (Korean J Pathol 1995; 29: 746~755)

Key Words: Intercellular adhesion molecule-1, Keratinocytes, Ultraviolet B, Gamma interferon, Retinoic acid

접 수 : 1995년 2월 11일, 게재승인 : 1995년 6월 19일

주 소 : 부산시 서구 암남동 34, 우편번호 602-702

고신대학교 의학부 병리학교실, 허 방

*본 연구는 고신대학교 의학부 기초의학 연구소의 연구비 일부를 지원받아 수행되었음.

서 론

림프구의 표피내 침윤은 염증성 피부 병변에서 비교적 흔히 관찰되나 그 기전과 병리학적인 의미에 대해서는 비교적 등한시 되어 왔다. 그러나 세포와 기질 또는 세포와 세포의 접착에는 이들 상호간에 작용하는 세포표면의 접착 분자(adhesion molecules)의 종류와 역할이 점차 밝혀지기 시작하면서¹⁻⁵, 염증성 병변은 물론 일부의 종양성 병변에서 이들의 발현과 의의에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다⁶⁻⁹. 이중 intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1)은 90kd의 분자량을 가지는 면역글로블린 supergene family에 속하는 일종의 세포표면 당단백으로서, HLA-DR항원과 같이 대부분의 유핵세포에 분포하고, 림프구 표면접착분자인 lymphocyte function associated antigen-1(LFA-1)과 리간드를 형성하여 세포와 세포 사이의 상호작용에 관여하는 것으로 알려져 있다^{4,6,10-16}.

피부의 염증 병변에서 각질형성세포의 손상 정도는 표피층내에 침윤한 염증세포와 각질형성세포간의 상호작용, 즉 면역세포에 의한 표적세포의 손상 정도에 의존한다고 볼 수 있으며, 여기에서 각질형성세포의 표면 접착분자 ICAM-1 발현은 면역학적 손상을 조절할 수 있는 중요한 요소가 된다^{4-6,10-13,15-19}. 따라서 각질형성세포의 ICAM-1 발현 조절 기전 및 여기에 관련된 인자를 밝히는 것은 피부 염증 반응의 일면을 이해하는데 매우 중요할 것으로 생각된다.

자외선은 광과민반응을 통한 피부손상을 유발하는 인자로서 중요하게 다루어지고 있으나, 면역기능의 변조등의 손상기전은 정확하게 밝혀져 있지 않다²⁰⁻²⁵. 각질형성세포의 ICAM-1 발현이 면역세포에 의한 표적세포의 손상과 연관되어 있기 때문에 자외선 조사와 각질형성세포의 ICAM-1 발현과의 상관성은 피부의 광생물학적 측면에서 관심의 대상이 될 수 있으나, Norris등²⁶에 의한 검색이후 이에 관한 추가적인 문헌보고는 접할 수 없었다.

또한 각질형성세포의 ICAM-1 발현은 이 세포의 증식과 분화에도 관계되는 것으로도 보고되고 있으며²⁷⁻²⁹, 비타민 A가 피부 항염효과와 함께 각질형성세포의 분화단백의 억제 작용이 있는 것으로 알려져 있다³⁰⁻³³. 따라서 비타민 A의 투여에 의한 각질형성세포의 증식 및 분화와 관련한 ICAM-1 발현의 변조가 예상되며, 비타민 A는 각질형성세포의 ICAM-1 발현과 관련하여 피부 염증 반응, 즉 자외선 조사

와 같은 물리적 인자에 의한 손상으로 유발되는 염증반응에 관계할 수 있을 것으로 추정된다.

이에 저자들은 피부 염증 반응에서의 표피내 lymphocytic trafficking에 의한 피부의 각질형성세포의 손상에 관련된 기전의 일면을 이해하고자 배양 인체 각질형성세포를 대상으로 자외선 B(ultraviolet B, UVB), 감마 인터페론(interferon- γ , IFN- γ), 및 비타민 A 유도체인 레티노인산(retinoic acid)등이 각질형성세포의 ICAM-1 발현에 미치는 영향과 이들 상호간의 관련성을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

1) **피부조직**: 각질형성세포의 배양에 필요한 피부조직은 신생아 포피 절개술에서 얻어진 표피를 이용하였다.

2) **각질형성세포 성장 배지의 제조**: MCDB 153 배양액에 5 ng/ml의 상피 성장인자, 30 μ g/ml의 bovine pituitary extract(이상 CRI, Lexington, Massachusetts, USA), 10 μ g/ml의 인슐린, 0.1 mM의 에탄올라민, 0.1mM의 phosphoethanolamine, 5×10^{-7} M의 hydrocortisone(이상 Sigma, St Louis, Missouri, USA)을 첨가하여 만들었다.

3) **광원**: 290~320 nm의 파장을 주로 방출하는 Philips TL 20W/12UVB 등을 사용하고, UVB 조사량은 integrating UVB meter(Centra, Osram, Germany)로 측정하였다.

4) **시약 및 약제**: ICAM-1 단클론항체(Monosan, Netherlands)를 일차항체로, 비타민 A 유도체로는 레티노인산(all trans, 10^{-5} 및 10^{-7} M, Sigma)을, IFN- γ (20 U/ml, Genetech)를 사용하였다.

2. 방 법

1) **정상 인체 각질형성세포의 분리 및 배양**: 각질형성세포의 배양은 칼슘(0.1 mM)이 포함된 배지를 사용한 Boyce와 Ham³³의 방법으로 하였고 이를 간단히 설명하면 다음과 같다. 신생아 포피절개술로 얻어진 피부에서 진피층을 제거하고 1 cm³ 크기절편으로 자르고 이를 5 ml, 0.05% trypsin/EDTA로 처리(37 $^{\circ}$ C, 2시간) 후 0.5 ml, 20% fetal bovine serum (FBS)으로 중화한다. 1~2분간 진탕하여 수분방치후 단세포 상층 부유액을 취한다. 이를 각질형성세포 배지에 부유시켜 75 cm² 배지 플라스크에 분주한 후 37 $^{\circ}$ C의 5% CO₂ 배양기에서 8~10일간 배양한다 (Fig. 1). 인산 완충액(phosphate buffer solution; PBS)

으로 세척한후 0.05% trypsin/EDTA로 처리(3~5분, 37°C)한 후 20% FBS-PBS로 중화하고 다시 부유시켜 6 well plate에 분주하여 2세대 배양하였다.

2) ICAM-1의 발현과 측정: 단클론 항체의 직접 회색 배수 1:20은 labtek 슬라이드에 1세대 배양된 각질 형성세포의 예비 염색으로 정하였다. ICAM-1 단클론 항체를 이용한 간접 면역형광 검사와 FACS 분석에서의 ICAM-1 발현의 양성을 낮 강도 측정은 Furukawa등²³이 시행한 방법을 준용하였으며, 그 과정은 다음과 같다. 5×10^4 세포/ml을 6 well plate에 붙여 2세대 배양된 세포를 분리하여 배양판에 옮겨 원심분리한다. PBS로 세척하고 다시 부유하여 ICAM-1 단클론항체(1:20)를 처리한후 4°C에서 30~60분 동안 방치한다. 1% bovine serum albumin이 포함된 PBS로 세척한후 2차항체 goat anti-mouse IgG (1:50)으로 처리한후 부유시킨다. 부유액의 1/2을 원심 분리후 침전물을 30% 글리세롤과 혼합한후, 슬라이드에 도포하여 형광현미경으로 ICAM-1 발현율과 강도를 계측한다.

ICAM-1 발현율은 형광현미경의 증배율 시야($\times 200$)에서 양성 반응의 각질형성세포 수를 계산하여 전체 200개의 각질 형성세포의 수에 대한 양성율을 구하였다. 양성 반응의 강도는 3등급으로 나누고 그 점수를 달리하였다. 즉, 세포의 표면을 따라 선상의 현저한 반응을 보일 경우를 강양성(5점), 표면을 따라 중등도의 양성 반응을 보이거나 과립상의 반응을 보일 때를 중등도 양성(3점), 표면을 따라 미약한

반응을 보이면서 세포질 전체에 비특이적 반응을 같이 보일 경우를 약양성(1점)으로 계산하였다(Table 1).

부유액의 나머지 1/2은 FACS star plus(Becton & Dickinson)를 이용하여 ICAM-1 발현을 조사하였다. FACS 성적은 평균형광의 log값(평균 channel값)과 형광반응을 보이는 각질형성세포의 백분율(positive percent)로서 구하였으며, 면역형광염색 결과와 비교하였다.

3) 실험군의 분류: 실험군은 UVB 조사군과 비조사군(대조군)으로 나누며, UVB 조사군은 다시 24시간 경과군과 72시간 경과군으로 나누어 ICAM-1 발현에 대한 UVB의 영향을 IFN- γ 로 유도하여 비교하였다. 또한 모든 군에서 레티노민산에 대한 영향을 보고자 ICAM-1 발현 조사 24시간 전까지 1일 1회씩 투여하였으며, UVB와의 상호 관련성을 보고자 UVB 조사전 2일간 투여와, UVB 조사후 2일 투여로

Table 1. Immunofluorescent scoring system of ICAM-1 expression

Intensity	Pattern	Score
Marked	Linear on the cell surface	(+)5
Moderate	Granular or weak linear on the cell surface	(+)3
Mild	Diffuse in cytoplasm	(+)1

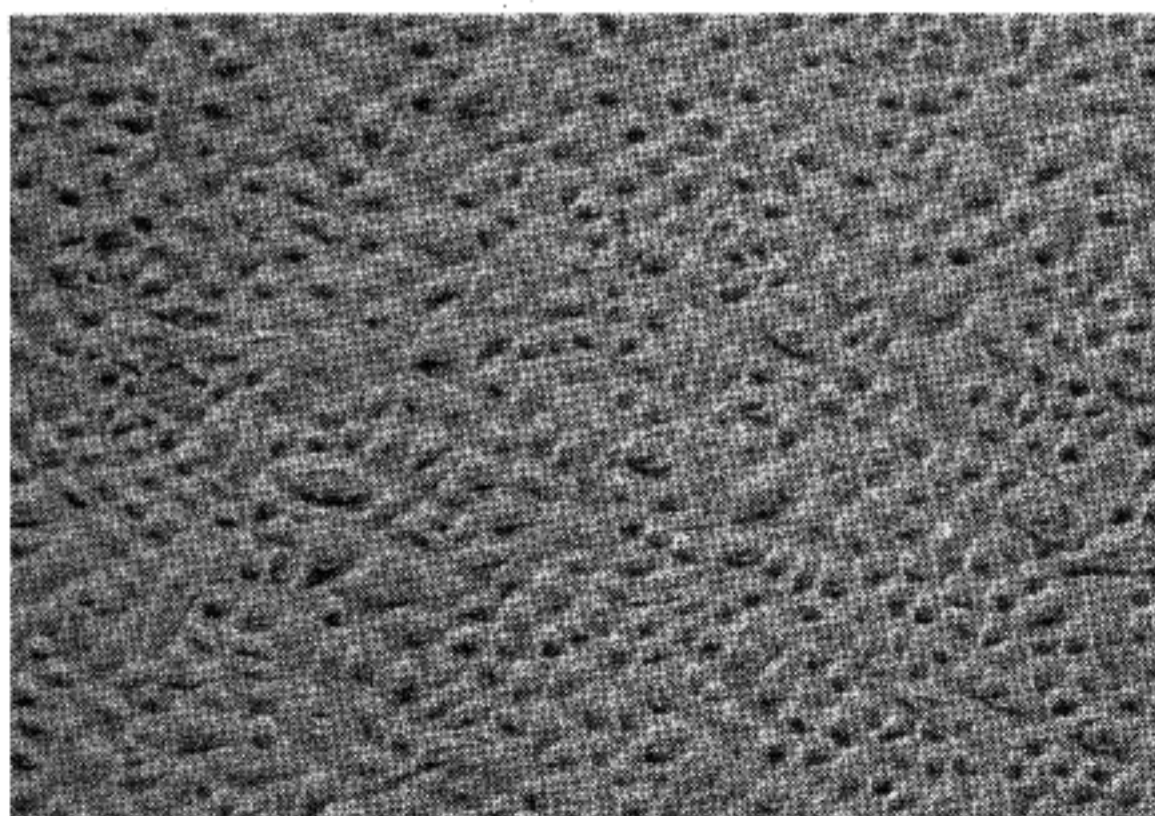


Fig. 1. Inverted microscopic finding of human keratinocytes: Confluent monolayer composed of round to polygonal shaped cells is noted in the primary culture (Invert microscopy, $\times 100$)

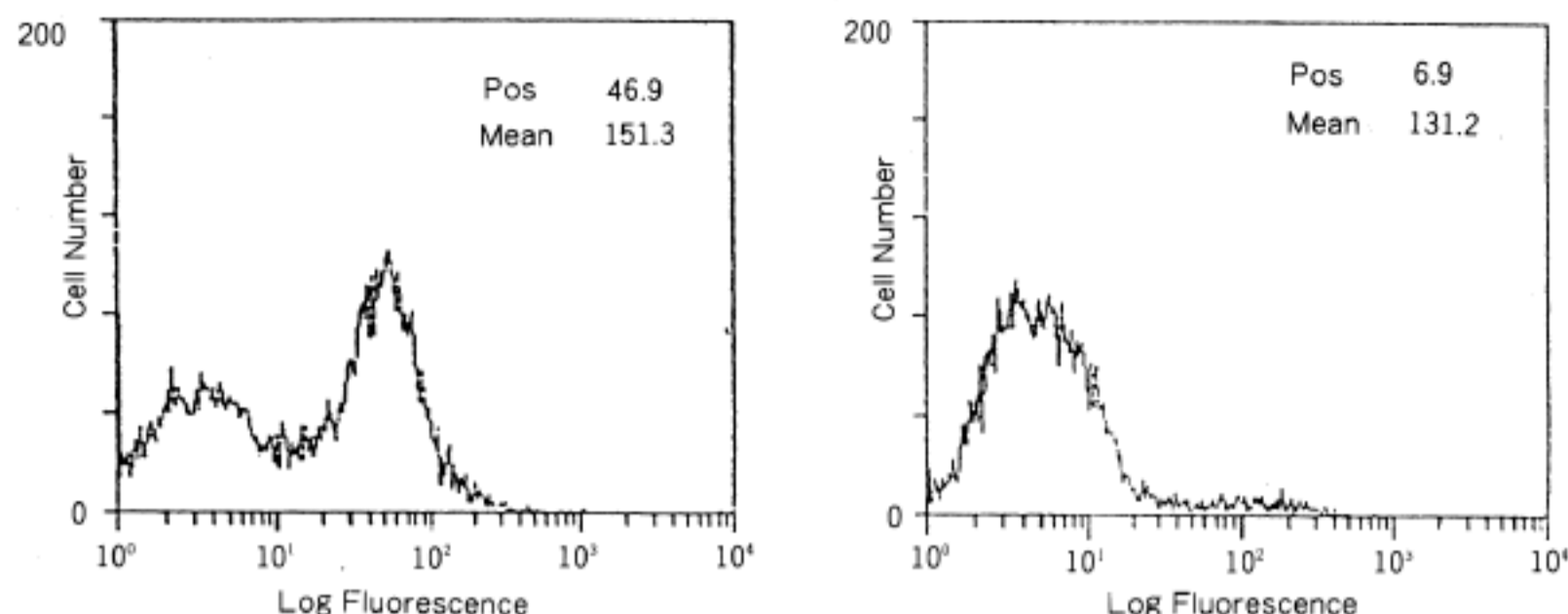


Fig 3. A representative FACS analysis of KC ICAM-1 expression with(left) or without(right) IFN- γ induction. Cell number is shown on the ordinate and the fluorescent intensity(log scale) on the abscissa. Numerical data for the ICAM-1 positive cells is indicated in the upper right hand corner of each panel showing the percentage of ICAM-1 positive cells with fluorescence(Pos), and the mean channel fluorescence(Mean).

Table 3. Effects of KC ICAM-1 Expression with UVB(30 mJ/cm²)

Experimental groups	Immunofluorescent score		
	Control	UVB (24 hrs)*	UVB (72 hrs)*
IFN- γ (-)	0.1 \pm 1.2	1.2 \pm 1.8	7.8 \pm 1.5
IFN- γ (+)	20.6 \pm 2.5	6.9 \pm 2.2	14.2 \pm 2.8
RA(H)	12.7 \pm 1.6	8.9 \pm 2.3	13.0 \pm 3.5
RA(L)	11.1 \pm 0.7	3.4 \pm 1.4	10.5 \pm 3.3
IFN- γ +RA(H)	15.6 \pm 4.2	12.2 \pm 3.7	12.9 \pm 3.2
IFN- γ +RA(L)	19.3 \pm 2.7	3.5 \pm 3.3	17.5 \pm 2.5

RA(H); 10⁻⁵ M retinoic acid

RA(L); 10⁻⁷ M retinoic acid

*P<0.05 in comparison to control groups

*P<0.05 in comparison to 24 hrs groups

Table 4. Effects of KC ICAM-1 Expression with Retinoic Acid(high; 10⁻⁵M, low; 10⁻⁷M)

Experimental groups	Immunofluorescent score		
	Control	RA (High)*	RA (Low)*
IFN- γ (-)	0.1 \pm 0.5	12.7 \pm 3.8	11.1 \pm 3.5
IFN- γ (+)	20.6 \pm 2.6	15.6 \pm 1.7	19.3 \pm 4.5
24 hrs UVB+IFN- γ	6.9 \pm 3.6	9.2 \pm 4.2	3.7 \pm 2.5
72 hrs UVB+IFN- γ	14.2 \pm 2.2	2.5 \pm 2.6	19.4 \pm 2.7

*P>0.05 in comparison to control groups

*P>0.05 in comparison to control groups

2. ICAM-1 발현에 관한 UVB의 영향

UVB에 노출된 세포들은 약간 커져 있으며, 일부의 세포에서 세포질이 탈락된 세포손상을 보였다. UVB 조사 초기(24 시간 경과)에는 IFN- γ 발현유도 효과를 억제하나, 조사 후기(72 시간 경과)에는 억제 작용은 없어지고 오히려 ICAM-1 발현이 증가하였다(Table 3). 특히 이 경우 ICAM-1은 세포의 표면뿐만 아니라 세포질내에서도 과립성 양성 반응을 나타내었다(Fig. 4). UVB는 레티노인산으로 처리된 배양각 질형성세포에서도 ICAM-1 발현을 조사 초기에는 현저히 억제하나, 조사 후기에는 억제하지 못하였다. 이와 같은 UVB의 ICAM-1 발현에 대한 이상성 효

는 증가를 보였다(Table 2). 특히 UVB의 ICAM-1 발현 효과의 증폭과 레티노인산 자체에 의한 발현을 의미있게 유도하였다. ICAM-1은 면역형광 염색에서 세포표면을 따라 강하게 선상 또는 과립성 위선상으로 발현하였다. FACS 분석에서 IFN- γ 으로 처리한 군은 각 대조군에 비해 ICAM-1 발현의 양성율과 형광 log 평균치의 뚜렷한 증가가 관찰되어 면역형광법에 의한 결과와 비슷하였다(Fig. 3).

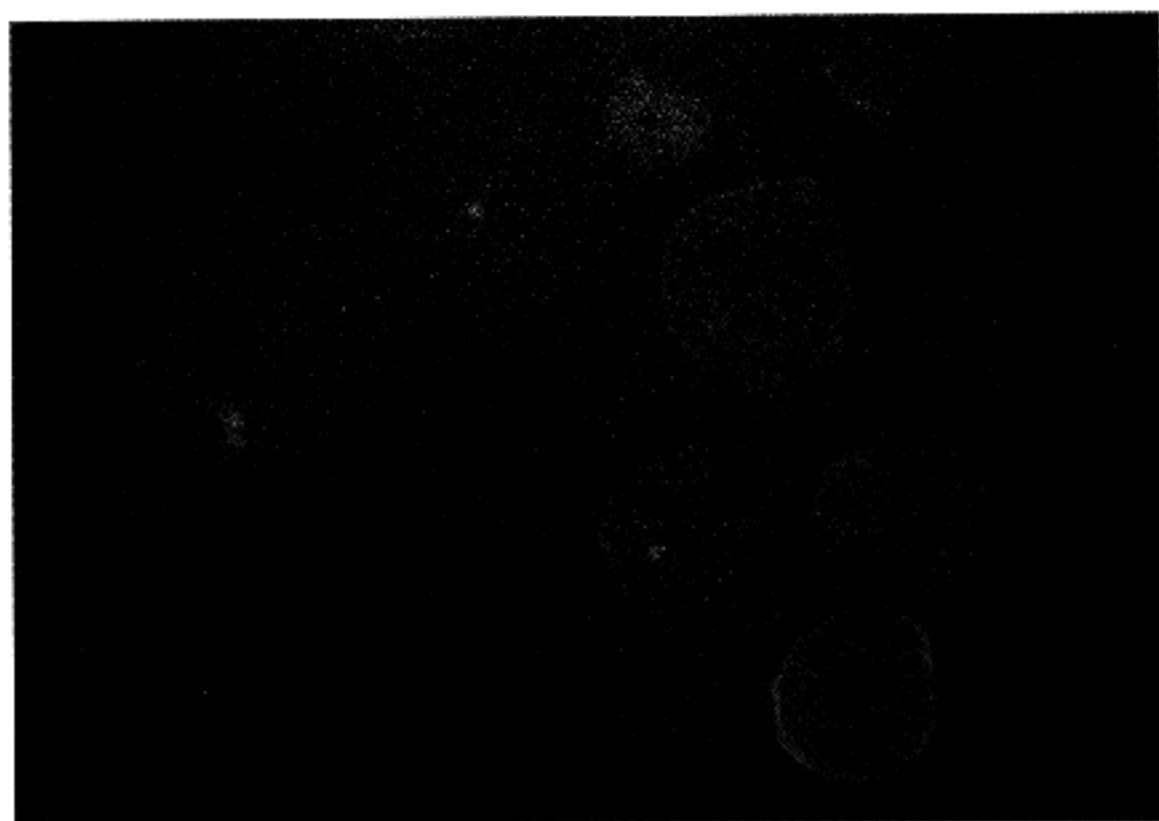


Fig. 4. UVB effects on ICAM-1 expression; ICAM-1 is induced at 72 hours after irradiation, showing linear or granular staining pattern on the surface of keratinocytes. In addition, cytoplasmic granular reaction is also noted (IF, $\times 1,000$).

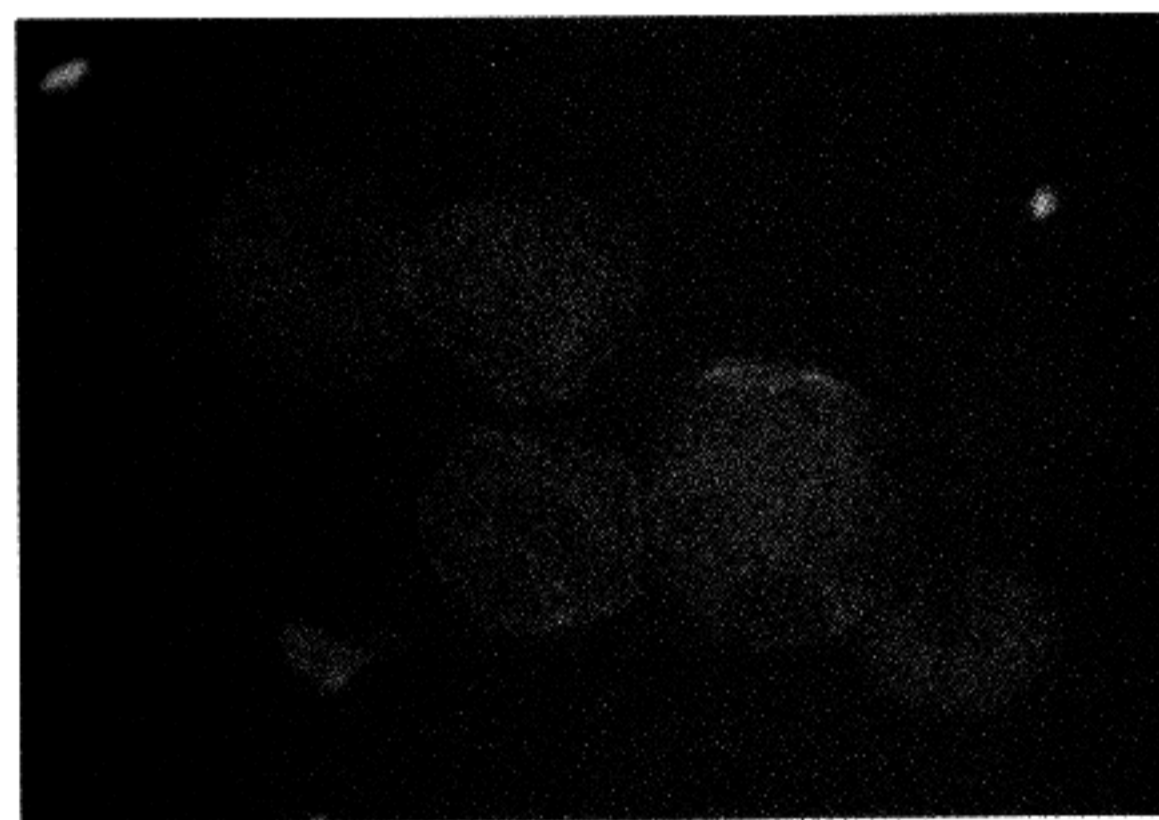


Fig. 5. Effects of retinoic acid (10^{-5} M) on ICAM-1 expression; Intensity of UVB-induced ICAM-1 expression is considerably reduced, being compared with intense reactivity in the Fig 4 (IF, $\times 1,000$).

과(biphasic effect)는 IFN- γ 으로 유도했을 경우에 현저하였다.

3. ICAM-1 발현에 대한 레티노인산의 영향

비타민 A의 합성제제인 레티노인산의 농도를 고농도(10^{-6} M)과 저농도(10^{-7} M)로 달리 투여한 각 실험군에서, 이들이 ICAM-1 발현에 미치는 영향은 아래의 표와 같다(Table 4). 정상 대조군에 비해 레티노인산은 IFN- γ 의 처치없이도 ICAM-1 발현을 의미있

게 유도하였으며, 이러한 효과는 고농도에 비해 저농도 레티노인산에서 현저하였다. 또한 UVB에 의한 ICAM-1 발현에 대한 레티노인산의 역할은 UVB 조사 기간과 레티노인산의 농도에 따라 다르게 나타났다. 즉, 저농도의 레티노인산은 UVB 조사 초기(24 시간 경과)의 발현 억제에, 고농도 레티노인산은 조사 후기(72 시간 경과)의 발현을 억제하는 효과가 있었다(Fig. 5).

고 찰

세포와 세포의 접착은 세포의 분화와 조직의 구조적 구축에 있어 기본적인 과정이며, 여기에는 접착 구성원간의 상호작용을 조절하는 표면 접착분자(surface adhesion molecule) 및 기질 접착분자(matrix adhesion molecule)등이 중요한 작용을 하는 것으로 알려져 있다^{1,3,4,34,35}. 이들 표면 접착분자 중, ICAM-1은 면역글로불린 supergene family에 속하는 접착분자로서, 대부분의 림프구 특히 T-림프구등에 존재하는 integrin계의 당단백인 LFA-1과 배위 결합을 하는 90kd의 당단백이며, HLA-DR항원과 같이 대부분의 유핵세포에 분포하는 것으로 알려져 있다^{4,6,10-16}. 각질형성세포에서의 ICAM-1의 발현은 HLA-DR 항원의 발현과 함께 면역학적 기전이 개재된 염증 반응에서 중요한 역할을 하는 것으로 인식되고 있다^{7,16}. 따라서 면역 반응의 표적세포에서 ICAM-1 발현이 증가하면 면역세포의 부착의 증가, 면역세포 독성의 증가가 초래된다^{4,14-19}.

정상 인체 피부의 각질형성세포는 ICAM-1을 발현하지 않으나, 피부 병변에서의 ICAM-1 발현은 여러 종류의 염증 매개체에 의해 유도되거나 증폭되는 것으로 알려져 있다^{6,7,28}. Barker등은 IFN- γ 의 유도를 통해 ICAM-1과 LFA-1의 발현 분포를 면역조직화학적 방법으로 조사한 결과 두 항원의 발현 부위가 일치하며³, Nickoloff등은 활성 T-림프구에서 분비되는 IFN- γ 를 피하에 주사한 경우 각질형성세포의 ICAM-1 발현이 증폭된다고 하였다¹⁷. 이러한 점은 IFN- γ 나 TNF- α 를 투여한 in vitro 연구에서도 확인되고 있다^{27,28}. 본 실험에서 20 U/ml의 IFN- γ 를 각질형성세포 배양액에 24시간 동안 처리한 결과 모든 실험군에서 ICAM-1의 현저한 발현효과가 있음을 관찰하였다(Table 2).

세포의 고정 유무에 따라 발현의 양상이 달라질 수 있는 것으로 보고되고 있다²⁸. 즉 Griffiths등에 의하면 labtek 슬라이드에 배양된 세포를 아세톤등으로 고정한 경우 ICAM-1은 비교적 세포표면보다는 세포질에서 양성 반응을 보이거나 고정을 하지 않은 경우에는 오히려 세포표면을 따라서 표현된다고 하였다. 본 실험은 고정을 하지 않은 시험관내에서 일차항체를 반응시켰으며, 대부분의 양성반응은 세포표면을 따라 나타났다.

Griffiths에 의하면 0.1 U/ml의 IFN- γ 으로도 ICAM-1 발현을 볼 수 있으나, 100 U/ml의 IFN- γ 으로 가장 강력한 유도효과를, 또한 IFN- γ 처리 4시간 후부터

나타나기 시작하여 2일째에 가장 분명하고 6일째에 이르면 점차 소멸한다고 하였다²⁸. 그러나 저자들의 labtek 슬라이드에 배양된 세포를 대상으로 한 예비 실험에서 IFN- γ 의 농도(10 U/ml, 20 U/ml, 100 U/ml) 및 처리 시간(24 시간 및 48 시간)에 따라 형광 발현의 현저한 차이는 없었다. 본 실험에서의 IFN- γ 의 투여 농도 및 시간은 20 U/ml, 24시간으로 하는 Kashiwara-Sawami의 모델을 따랐으며²⁷, IFN- γ 의 처리 시간 및 농도에 따른 ICAM-1 발현의 차이는 추후 재검색되어야 할 여지가 있는 것으로 생각된다.

자외선은 면역학적인 기능이상과 관련하여 피부 종양 및 광과민성 반응등의 여러 가지 피부 손상을 초래하는 것으로 알려져 있으나 그 정확한 기전은 완전히 밝혀져 있지 않다^{20-13,25,36-38}. 자외선에 의한 면역학적 손상 기전은 김등³⁷을 포함한 많은 연구자들에 의해 피부 랑겔한스세포의 수적인 이상 또는 표면항원의 기능적 이상과 관련된 것으로 보고되고 있으며, Norris등과 Oxholm등은 자외선에 의한 면역학적 손상정도는 각질형성세포의 ICAM-1 발현에 의해서 조절될 수 있다고 하였다^{26,39,40}. 자외선 조사가 각질형성세포의 인터루킨-1 또는 종양괴사인자등과 같은 cytokine의 분비를 증가시켜 ICAM-1 발현을 증가시키는 것으로 추정되나⁴¹, 자외선이 ICAM-1 발현 효과에 대해서는 아직도 논란이 계속되고 있다. Aberer등은 자외선의 면역억제작용을 이용한 건선 및 접촉성 피부염의 자외선 치료후에 ICAM-1의 소실이 있다²²고 한 반면에, Norris등에 의하면 자외선 조사는 ICAM-1 발현의 증폭을 초래한다고 하였다²⁶.

본 실험에서 290~320 nm 파장의 자외선을 배양 각질형성세포에 직접 작용시켜 시간적 경과에 따른 ICAM-1 발현의 차이를 본 결과, 적어도 자외선 조사 초기에는 ICAM-1 발현이 현저히 억제되나 시간이 경과함에 따라 다시 발현되는 이상성 효과(biphasic effect)를 보였다(Table 3). Norris등은 자외선에 의한 ICAM-1 발현의 후기 증폭효과는 IFN- γ 유도효과 보다 현저하다고 하였으나²⁶, 본 실험에서 IFN- γ 의 효과에는 미치지 못하였다. IFN- γ 으로 유도되는 ICAM-1 발현의 차이는 시간이 지남에 따라 ICAM-1 단백질의 탈락 또는 세포질내로 함입을 통해 점차 감소하며²⁸, 자외선 노출량에 따라서도 ICAM-1 발현강도가 다른 것으로 기술되어 있다²⁶. ICAM-1 발현에 대한 자외선의 초기 억제효과는 랑겔한스 세포의 감소²², 세망내피계 세포의 기능이상⁴², 면역억제세포의 감소²³ 및 림프구 자극억제물질의 유리⁴³ 등이 관여하며, 후기 증폭효과는 세망내피계 세포의 표피내 유입과 관련된 것으로 해석되고 있다³⁸. 따라

서 자외선 조사에 의한 손상 정도는 여러 인자의 작용에 의한 ICAM-1과 LFA-1 사이의 결합이 얼마나 안정되어 있는가에 따라 좌우될 수 있으며, 따라서 접착 분자 ICAM-1의 발현 정도로서 각질형성세포의 손상도를 가늠할 수 있을 것으로 생각된다.

Griffiths 등은 세포의 분화 및 증식이 ICAM-1 발현과 관계가 있는 것으로 보고하였다²⁸. 즉 phorbol ester는 세포막 protein kinase를 통한 세포 증식의 신호전달을 초래하며, 아울러 림프구의 신호전달의 활성화로서 IFN- γ 가 분비되고, 이 IFN- γ 에 의해 각질형성세포의 ICAM-1 발현이 조절되는 것이다. protein kinase 억제제를 국소 처치할 경우 각질형성세포의 증식과 분화를 억제할뿐만 아니라, 피부의 ICAM-1 발현 조절을 통한 표피내로의 lymphocytic trafficking을 조절함으로써 염증 반응을 억제할 수 있다는 것이다^{19,28,38}. 아울러 표피 기저층에 림프구 침윤을 보이는 염증성 피부 병변에는 기저층의 각질형성세포 증식이 있으며, 이 증식 병변의 생검조직에서 ICAM-1이 과발현되는 것으로 보고되어 있다³⁶. 그러나 Singer 등은 각질형성세포의 증식성 병변이라 하더라도 염증세포의 침윤이 없는 경우에는 ICAM-1이 발현되지 않는다고 하였다⁴⁴. 비타민 A 유도체인 레티노인산은 항염효과³⁰ 외에, 각질형성세포의 keratin 등 분화단백과 transglutaminase 효소단백의 발현을 차단하여 편평상피세포로의 분화를 억제하는 것으로 알려져 있어^{31,32}, 건선등의 피부 질환과 일광 노화의 예방 및 치료와 암치료등에 응용되고 있다. 따라서 건선등의 염증성 피부 질환의 치료효과가 단지 레티노인산의 세포 증식 억제 작용 때문인지 또는 ICAM-1 발현을 억제함으로써 염증 반응을 조절하는지에 대하여는 명확하게 알려진 바는 없다. Kashihara-Sawami 등은 etretinate을 투여했을 경우 미분화된 각질형성세포에서 ICAM-1 발현이 현저하며, 그 정도는 etretinate의 농도에 비례한다고 하였다²⁷. 본 실험에서 사용된 레티노인산은 그 자체만으로 IFN- γ 에 의한 유도효과를 증폭시켰으며(Table 4), 이는 Kashihara-Sawami의 결과와 일치하였다. 또한 저농도 레티노인산은 자외선조사 초기에, 고농도 레티노인산은 조사 후기의 ICAM-1 발현을 현저하게 억제하였다. 레티노인산의 ICAM-1 발현 조절기능에 비추어 자외선에 의한 피부손상의 경우, 적절한 시기에 적정 농도의 레티노인산의 처치는 피부의 국소적 염증반응을 조절할 수 있을 것으로 추정되었다.

결 론

배양 각질형성세포에서 표면 접착분자 ICAM-1의 발현 조절에 대한 IFN- γ , UVB, 및 레티노인산등의 영향을 간접 면역형광법과 FACS 분석을 통하여 조사한 결과 다음과 같은 지견을 얻었다.

1) IFN- γ (20 U/ml, 24시간)는 UVB 및 레티노인산에 의한 ICAM-1 발현을 의미있게 증폭시켰다(P<0.005).

2) UVB(30 mJ/cm², 1분)조사 초기(24시간)에는 ICAM-1의 발현은 현저히 억제되었으나 조사 후 기(72시간)에는 다시 발현되었다(P<0.05).

3) 레티노인산은 IFN- γ 의 유도 없이도 ICAM-1 발현을 초래하며, 농도의 차이에 따라 ICAM-1 발현의 차이가 있으며, 특히 고농도 레티노인산은 UVB에 의한 후기 증폭효과를 감소시켰다.

이상의 성적으로 자외선조사에 의한 피부의 지연성 과민 반응을 포함한 염증성 반응의 조절에 ICAM-1 발현이 관계할 것으로 추정되며, 아울러 비타민 A 유도체인 레티노인산에 의해서 ICAM-1의 발현이 조절될 수 있으며, 특히 레티노인산은 자외선에 의한 후기 증폭효과를 억제함으로써 비타민 A에 의한 피부의 광보호 작용이 있을 것으로 추정되었다.

감사의 글

본 연구를 수행하는데 있어 가르침을 주신 본 대학 피부과교실의 김 상태 교수님과 채 영수 교수님께 깊은 감사의 말씀을 드립니다.

참 고 문 헌

1. Hynes RO. Integrins; A family of cell surface receptors. Cell 1987; 48: 549-554.
2. Sanchez-Madrid F, Krensky AM, Ware CF, Robbins E, Strominger JL, Burakoff SJ, Springer TA. A human leukocyte differentiation antigen family with distinct subunits and a common subunits; the lymphocyte function associated antigen(LFA-1), the C3bi complement receptor(OKM1/Mac-1) and the p150.95 molecule. J Exp Med 1983; 158: 1785-1803.
3. Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. Nature 1990; 346: 425-435.
4. Boyd AW, Wawryk SO, Burns GF, Fecondo JV. Intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) has a central role in cell-cell contact mediated immune mecha-

- nisms. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 3095-3099.
5. Springer TA, Dustin AI, Kishimoto TK, Marlin SD. The lymphocyte function associated LFA-1, CD2, and LFA-3 molecule; cell adhesion receptors of the immune system. *Ann Rev Immunol* 1987; 5: 223-29.
 6. Lisby S, Ralfkaier E, Rothlein R, Vejlsgaard GL. Intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) expression correlated to inflammation. *Br J Dermatol* 1989; 120: 479-84.
 7. Griffiths CEM, Voorhees JJ, Nikoloff BJ. Characterization of intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) and HLA-DR expression in normal and inflamed skin; modulation by recombinant interferon-gamma and tumor necrosis factor. *J Am Acad Dermatol* 1989; 20: 617-29.
 8. Vejlsgaard GL, Ralfkaier E, Aunstorp C, et al. Kinetics and characterization of intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) expression on keratinocytes in various inflammatory skin lesions and malignant cutaneous lymphoma. *J Am Acad Dermatol* 1989; 20: 782-90.
 9. Ruco LP, Stopacciaro A, Uccinhi S, Brevirio F, Dejana E, Gallo A, Vincentiis M, Peliri S, Nicholls JM, Baroni CD. Expression of ICAM-1 and VCAM-1 in undifferentiated nasopharyngeal carcinoma (lymphoepithelioma) and in malignant epithelial tumors. *Human Pathol* 1994; 25: 924-8.
 10. Dustin ML, Rothlein R, Bhan AK et al. Induction by IL-1 and interferon gamma; tissue distribution, biochemistry, and function of a natural adherence molecule(ICAM-1). *J Immunol* 1996; 137: 245-254.
 11. Dustin ML, Springer TA. Lymphocyte function associated antigen-1(LFA-1) interaction with intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) is one of at least three mechanisms for lymphocyte adhesion to cultured endothelial cells. *J Cell Biol* 1988; 107: 321-331.
 12. Marlin SD, Springer TA. Purified intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) is a ligand for lymphocyte function associated antigen-1(LFA-1). *Cell* 1987; 51: 813-819.
 13. Rothlein R, Dustin ML, Marlin SD, Springer TA. A human intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) distinct from LFA-1. *J Immunol* 1986; 137: 1270-1274.
 14. Stauton DE, Marlin SD, Stratowa C, Dustin ML, Springer TA. Primary structure of ICAM-1 demonstrates interaction between members of the immunoglobulin and integrin supergene family. *Cell* 1988; 52: 925-931.
 15. Griffiths CEM, Nikoloff BJ. Keratinocytes intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) expression precedes dermal T lymphocyte infiltration in allergic contact dermatitis. *Am J Pathol* 1989; 135: 1045-53.
 16. Griffiths CEM, Voorhees JJ, Nikoloff BJ. Gamma interferon induces different keratinocyte cellular patterns of expression of HLA-DR and DQ and intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) antigens. *Br J Dermatol* 1989; 120: 1-7.
 17. Nikoloff BJ. The role of gamma interferon in cutaneous trafficking of lymphocytes with emphasis on molecular and cellular adhesion events. *Arch Dermatol* 1988; 124: 1835-43.
 18. Nikoloff BJ, Basham TY, Merigan TC, Torseth JW, Morhenn VB. Human keratinocyte-lymphocyte reactions in vitro. *J Invest Dermatol* 1986; 87: 11-18.
 19. Norris DA. Cytokine modulation of adhesion molecule in the regulation of immunologic cytotoxicity of epidermal targets. *J Invest Dermatol* 1990; 95: 111S-120S.
 20. Ansel JC, Luger TA, Green IA. The effects of in vitro and in vivo UV irradiation on the production of ETFA by human and murine keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1983; 81: 519-523.
 21. Kupper TS, Chua AU, Flood P, McGuire J, Grubler U. Interleukin gene expression in cultured human keratinocytes is augmented by ultraviolet irradiation. *J Clin Invest* 1987; 80: 430-437.
 22. Aberer W, Schuler G, Stingl G, Honigsmann H, Wolff K. Ultraviolet light depletes surface markers of Langerhans cell. *J Invest Dermatol* 1981; 76: 202-210.
 23. Spellman CW, Dayners RA. Modification of immunologic potential by ultraviolet radiation. II. Generation of suppressor cells in short term UV irradiated mice. *Transplantation* 1977; 24: 120-126.
 24. Furukawa F, Kashihara-Sawami M, Lyons MB, Norris DA. Bindings of antibodies to the extractable nuclear antigen SS-A/Ro and SS-B/La is induced on the surface of human keratinocytes by ultraviolet light (UVL): Implication for the pathogenesis of photosensitive cutaneous lupus. *J Invest Dermatol* 1990; 94: 77-85.
 25. Fisher MS, Kropke ML. Systemic alteration in mice induced by ultraviolet irradiation and its relationship to ultraviolet carcinogenesis. *Proc. Natl Acad Sci USA* 1977; 74: 1688-1692.
 26. Norris DA, Lyons MB, Middleton MH, Yohn JJ, Kashihara-Sawami M. Ultraviolet radiation can either suppress or induce expression of intercellular adhesion

- molecule-1(ICAM-1) on the surface of cultured human keratinocytes. *J Invest Dermatol* 1990; 95: 132-138.
27. Kashiwara-Sawami M, Norris DA. The state of differentiation of cultured human keratinocytes determines the level of intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1) expression induced by gamma interferon. *J Invest Dermatol* 1992; 98: 741-747.
 28. Griffiths CEM, Esmann J, Fisher GJ, Voorhees JJ, Nikoloff BJ. Differential modulation of keratinocyte intercellular adhesion molecule-1 expression by gamma interferon and phorbol ester: evidence for involvement of protein kinase C signal transduction. *Br J Dermatol* 1990; 122: 333-342.
 29. Nishizuka Y. Studies and perspectives of protein kinase C. *Science* 1988; 236: 13786-90.
 30. Saurat JH. New Trends in Research and Therapy. In: Further studies on the anti-inflammatory effect of retinoids. Karger 1985; 205-218.
 31. Jetten AM. Multi-stage program of differentiation in human epidermal keratinocytes; regulation by retinoids. *J Invest Dermatol* 1990; 95: 44S-46S.
 32. Kopan R, Trask G, Fuchs E. Retinoids as important regulators of terminal differentiation; examining keratin expression in individual epidermal cells at various stages of keratinization. *J Cell Biol* 1987; 105: 427-435.
 33. Boyce ST, Ham RG. Calcium-regulated differentiation of normal human epidermal keratinocytes in chemically defined clonal culture and serum free serial culture. *J Invest Dermatol(suppl)*1983; 81: 35S-49S.
 34. Chen LB, Burrige K, Murnay A, Walsh ML, Copple CD, Bushnell A. Modulation of cell surface glycoalyx; studies on large, external transformation-sensitive protein. *Ann NY Acad Sci* 1978; 312: 381-92.
 35. Calin B, Jaffe R, Bender B, Chung AE. Entactin; A novel basal lamina-associated sulfated glycoprotein. *Biol Chem* 1981; 256: 5209-18.
 36. Barker JNWN, Allen MH, MacDonald DM. The effects of in vivo interferon gamma on the distribution of LFA-1 and ICAM-1 in normal human skin. *J Invest Dermatol* 1989; 93: 439-442.
 37. 전성진, 서기석, 김상태. 유리산소기 청소제가 자외선 B에 의한 생쥐 표피 Langerhans 세포의 ATPase 표현에 미치는 영향. *대한피부과학회지* 1991; 29: 574-82.
 38. Cooper KD, Neises GR, Katz SI. Antigen presenting OKM5+ melanophages appear in human epidermis after UV radiation. *J Invest Dermatol* 1986; 86: 363-370.
 39. Norris P, Poston RN, Thomas DS, Thornhiull M, Hawk J, Haskard DO. The expression of endothelial leukocyte adhesion molecule-1(ELAM-1), and intercellular adhesion molecule-1(ICAM-1), and vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1) in experimental cutaneous inflammation: a comparison of ultraviolet B erythema and delayed hypersensitivity. *J Invest Dermatol* 1991; 96: 763-770.
 40. Oxholm A, Oxholm P, Starberg B, Bendtzen K. Immunohistological detection of interleukin-1 like molecules and tumor necrosis factor in human epidermis before and after UVB irradiation in vivo. *Br J Dermtol* 1988; 118: 369-377.
 41. Kupper TS; Production of cytokine of epithelial cells: A new model for cutaneous inflammation. *Am J Dermatopath* 1989; 11: 69-73.
 42. Sy MS, Kripke M, Benacerraf FB. Impairment of antigen presenting cell function by ultraviolet irradiation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 6591-5.
 43. Chung HT, Burnham DK, Robertson B, Roberts LK, Daynes RA. Involvement of prostaglandins in the immune alteration caused by exposure of mice to ultraviolet light. *J Immunol* 1986; 137: 2478-2484.
 44. Singler KH, Tuck DT, Sampson HA, Hall RP. Epidermal keratinocytes express the adhesion molecule intercellular adhesion molecule-1 in inflammatory dermatoses. *J Invest Dermatol* 1989; 92: 46-50