

ENHANCED PRODUCTION OF TH1 AND INFLAMMATORY CYTOKINES BY TYPE II COLLAGEN REACTIVE T CELLS AND SYNOVIAL FIBROBLASTS INTERACTION.

The Catholic University of Korea, Center for Rheumatic Diseases; Mi-La Cho*, So-Youn Min, Hyo-Jong Kang, Do-June Min, Wan-Uk Kim, Jun-Ki Min, Sung-Hwan Park, Chul-Soo Cho, and Ho-Youn Kim.

We previously demonstrated a shift toward T helper 1 cytokines by type II collagen (CII)-reactive T cells in patients with rheumatoid arthritis (RA) (Kim et al, Arthritis Rheum, 2001). In this study, we investigated the effect of CII-reactive T cell and synovial fibroblasts interaction on the production of cytokines. CII-reactive T cell lines were generated and maintained by consecutive stimulation with CII and IL-2. Fibroblast-like synoviocytes (FLS) were prepared from the synovial tissues of RA patient. The expression of IFN- γ , IL-17, IL-15, and TNF- α was determined in the supernatants by ELISA and in cells by RT-PCR analysis. CII-reactive cell line had surface markers of CD4 (+) and CD28 (+) in more than 80% and 60% of cells, respectively, as determined by flow cytometry. Stimulation of FLS with CII-reactive cells resulted in the increased production of IL-15 and TNF- α . Moreover, this stimulatory effect correlated with culture periods for CII-reactive T cells (IL-15 and TNF- α production; 2.2 and 3.3 fold for 5 day-culture, 4.8 and 11.1 fold for 260 day-culture, respectively, compared to FLS alone). The production of IFN- γ and IL-17, T cell-derived cytokines, was also enhanced by the co-incubation of T cells with FLS. RT-PCR analysis revealed that mRNA expression of these cytokines was strongly up-regulated by the addition of CII-reactive T cell line to FLS. Collectively, direct contact of CII-reactive T cells and FLS enhanced the production of IFN- γ , IL-17, IL-15, and TNF- α . Our data suggest that the interaction of CII-reactive T cell and synovial fibroblasts may play a role in the perpetuation of inflammatory response in rheumatoid synovium, which in turn, further activate T cells responding CII.

관절 활막 세포에서 TRAIL에 의한 세포사멸에 대한 연구

한양대학교 내과, 류마티스병원 박용욱*, 나경선, 김태환, 진재범, 정성수, 배상철, 김성윤, 유내현

목적: TRAIL(TNF-related apoptosis-inducing ligand)은 TNF 계열의 ligand로서 여러가지 종양세포주에서 선택적으로 세포사멸을 일으키는 것으로 알려져 있다. 본 연구자들은 관절 활막 세포의 TRAIL 수용체 발현과 세포사멸 여부를 조사하였다. 방법: 류마티스 관절염 환자와 골관절염 환자의 활막조직과 배양된 활막세포에서 TRAIL 수용체 발현은 RT-PCR, western blot, immunohistochemistry를 이용하여 검사하였으며, TRAIL에 의한 세포생존능(cell viability)과 세포사멸은 각각 XTT 분석법과 유세포분석법으로 관찰하였다. 성적: RT-PCR에 의해 DR4와 DcR2의 발현이 관찰되었고, western blot과 immunohistochemistry에 의해 DR4가 발현되었다. 그러나, DR5와 DcR1의 발현은 관찰할 수 없었다. 활막 세포를 TRAIL (10-200ng/ml)과 24시간 동안 함께 배양한 경우 세포생존능에 유의한 변화를 보이지 않아 세포사멸에 저항성을 나타냈다. 또한, ActD (200ng/ml), CHX (1 μ g/ml) 및 MG132 (NF- κ B inhibitor: 20 μ M)를 단독처리한 경우도 세포사멸이 미약하였다. 그러나, TRAIL을 ActD, CHX 및 MG132와 함께 배양한 경우 세포사멸이 유도되었다. TRAIL (200ng/ml)을 ActD (200ng/ml)와 함께 배양한 경우 세포사멸은 0시간, 12시간, 24시간, 36시간, 48시간, 60시간에 각각 0.4%, 3%, 19%, 43%, 47%, 66%로써 시간에 따라 점차적으로 증가하였고, TRAIL-R3:Fc (1 μ g/ml)에 의해 세포사멸이 일부 억제(50%)되었다. TRAIL에 의해 유도된 세포사멸은 z-VAD-fmk (pancaspase inhibitor: 50 μ M)에 의해 효과적으로 억제(120%)되었고, z-LEHD-fmk (caspase-9 inhibitor: 50 μ M), z-DEVD-fmk (caspase-3 inhibitor: 50 μ M), z-VEID-fmk (caspase-6 inhibitor: 50 μ M)와 z-IETD-fmk (caspase-8 inhibitor: 50 μ M)에 의해 각각 91%, 77%, 73%, 65%로써 부분적으로 억제되었다. 그러나, TRAIL을 SB203580 (p38 MAPK inhibitor), PD98059 (ERK inhibitor), SB202190 (p38/JNK MAPK inhibitor) 및 wortmanin (PI3K inhibitor)과 함께 배양한 경우는 세포생존능에 의미있는 변화를 나타내지 않았다. 결론: 관절 활막 세포에서 TRAIL은 DR4를 통해 caspase cascade를 활성화시켜 세포사멸을 유도하는 경로와 NF- κ B를 통해 세포생존 경로를 활성화시키는 두가지 경로가 존재할 것으로 생각된다. 또한, ActD나 CHX에 의해 억제되는 세포사멸 억제인자가 활막 세포의 TRAIL에 저항성을 나타내는 기전에 관여할 것으로 사료된다.