

포유류 면역계 발달과 항상성에 *Bacteroides fragilis* zwitterionic polysaccharides charge motifs가 끼치는 영향

이 근 화

제주대학교 의학전문대학원 미생물학교실

Abstract

Polysaccharides with zwitterionic charge motifs of *Bacteroides fragili* can affect both the development and homeostasis of the mammalian immune system

Keun-Hwa Lee

Department of Microbiology, Jeju National University School of Medicine, Jeju, Korea

Bacterial colonization of the intestine is critical for the normal function of the mammalian immune system. Polysaccharides are characterized as T-cell-independent antigens that are not typically recognized by the full array of immune cells—specifically T cells. However, *Bacteroides fragilis* zwitterionic polysaccharides charge motifs are processed and presented by the MHC class II pathway and activate T cells. Namely, Polysaccharide A (PSA) is capable of activating T cell-dependent immune responses that can affect both the development and homeostasis of the host immune system. This molecule also stimulates the innate immune system as a ligand for Toll-like receptor 2 and as such promotes interactions with the adaptive immune system that are required for T cell activation. The study of PSA reveal that polysaccharides of the bacterial microbiota can affect both the development and homeostasis of the mammalian immune system. (J Med Life Sci 2010;7:51-54)

Key Words : *Bacteroides fragili* zwitterionic polysaccharides charge motifs, T cell-dependent immune responses, Toll-like receptor 2

서 론

그람음성이며 절대 무산소균(Gram-negative obligate anaerobe)인 *Bacteroides fragilis*는 인간을 포함한 대부분의 포유류 장내에 상재균(normal gastrointestinal tract flora)으로 존재한다^{7, 13}. *B. fragilis*는 구조적으로 특이한 8개의 헵막 다당체(capsular polysaccharide complex)를 가지고 있으며, 이 중 특징적인 헵막이 capsular polysaccharide A (PSA)이다^{2, 8, 9}. PSA는 보통의 헵막과 달리 양전하(positive)와 음전하(negative charge motif)가 반복되어 있는 다당류(polysaccharide)로 이러한 다당류를 zwitterionic polysaccharide (ZPS)라고 부르며 이러한 특징적인 구조로 인하여 숙주에서 면역반응을 일으킨다¹¹. 즉, 대부분의 다당류는 T 세포 비 의존 항원(T cell independent antigen)인데 비하여, PSA는 T 세포 의존 항원(T cell dependent antigen)으로 CD4⁺T세포를 활성화(activation) 할 수 있다. PSA는 항원제공세포(APC; antigenic presenting cell)의

MHC class II 분자 경로를 통해 naive CD4⁺T세포에 항원을 제공(presentation)하고, PSA를 제공받은 naive CD4⁺T세포는 TCR (T cell receptor)을 통하여 활성화 된다^{3, 4}. PSA에 의해서 활성화된 CD4⁺T세포는 Th1 cytokine인 interferon- γ (IFN- γ) 생성하여 Th2로 기울어져있는 숙주의 면역시스템 (immune system)에 균형 및 성숙(maturation)을 유도한다¹².

따라서, 본 종설에서는 대표적인 ZPS인 *B. fragilis*의 PSA의 구조와 생물학적 특징을 살펴보고, PSA에 의한 CD4⁺T세포의 활성화 기전 및 활성화된 CD4⁺T세포의 생물학적 효과에 대하여 알아보려고 한다.

본 론

1. *Bacteroides fragilis*의 PSA (Capsular Polysaccharide A)

세균의 헵막(capsule)은 세포벽의 바깥쪽에 존재하는 구성성분으로, 대부분의 capsule은 전하(charge)를 가지고 있지 않은 다당류(polysaccharide)로 구성되어있으며, T 세포 비의존 항원(T-cell-independent antigen)이다. T-cell-independent immune response의 가장 큰 특징은 Th2 면역 반응에 의한 항체(Antibody) 생성 시 IgM에서의 IgG(IgG3제외)로의 immunoglobulin

Address for correspondence : Keun-Hwa Lee
Department of Microbiology, Jeju National University School of Medicine, 66 Jejudaehakno, 690-756, Jeju, Korea
E-mail : yomust7@jejunu.ac.kr

class switching을 유도하지 않으며, 항원(antigen)의 재주입시 (rechallenge)시 antibody를 생성하지 못 한다^{10, 15)}. 그러나 capsule 중 positive와 negative charge motif를 모두 가지고 있는 PSA는 T 세포에 의존적인 면역반응(T-cell-dependent immune response) 즉, APC의 MHC class II 분자를 통해서 항원이 제공되어 CD4⁺ T세포를 활성화 시킬 수 있다^{3, 4)}.

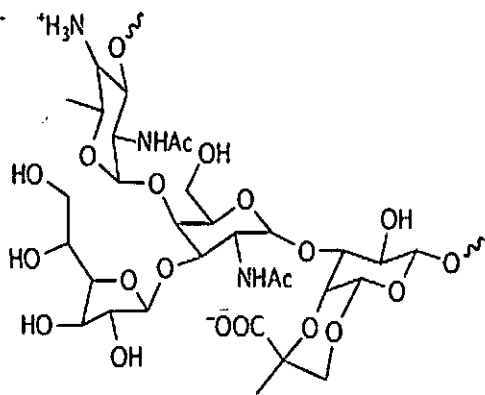
2. PSA의 구조

PSA는 Fig. 1에서 보는 것과 같이 positive와 negative charge motif 가 수백 개씩 반복되어있는 zwitterionic 구조로, 이는 neutral charge나 negative charge만을 가지고 있는 세균의 헤파(polysaccharide)와는 확연히 구분되며 분자량은 약 110 kDa이다¹⁾. PSA만이 가지는 이 독특한 구조에 의해서 CD4⁺ T세포가 활성화되며, PSA의 positive charge motif를 중화(neutralization)시켰을 때 CD4⁺ T세포 활성화에 의해서 나타나는 생물학적인 효과가 없어진다^{16, 17)}. 따라서 PSA의 고유한 zwitterionic 구조 때문에 APC에 의한 항원제공이 일어나 숙주의 면역계의 성숙시킨다고 할 수 있다^{3, 4)}.

3. PSA의 항원 제공(Antigen presentation)

PSA는 intact polymer형태로 APC의 endosome안으로 들어가며, APC안으로 들어간 PSA는 endosome안의 protease에 의해서 분해가 되는 단백질과는 달리 산화적 반응(oxidation reaction)에 의해서 분해가 된다. 이러한 산화적 반응은 nitric oxide synthase 2 (NOS2; iNOS)과 관여하며 NOS2에 의해서 생성된 nitric oxide (NO)가 PSA를 올리고(oligo)형태로 산화적으로 분해한다. HLA-DM에 의해서 CLIP (MHC-class-II-associated invariant-chain peptide)의 제거가 일어난 후, oligo형태의 PSA가 endosome안에 존재하는 MHC class II molecule HLA-DR에 전달된 후 endosome fusion및 acidifications을 거쳐서 PSA가 MHC class II 분자로 이동한다. 이동한 PSA는 naive CD4⁺ T세포의 TCR쪽으로 presentation이 되어 naive CD4⁺ T세포를 활성화

Figure 1. Structure of polysaccharide A of *Bacteroides fragilis* (Sakisetal, 2006, Nature Reviews Immunology).

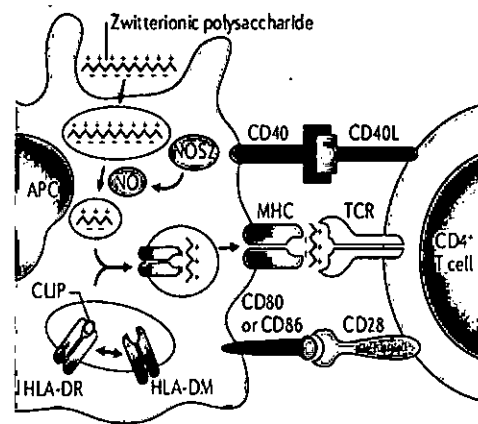


한다. 또한 PSA는 APC의 MHC class II molecule 및 CD40, CD80 그리고 CD86과 같은 co-stimulatory 분자의 발현을 유도하며, 발현된 이들 분자는 CD4⁺ T세포의 활성화에 중요한 CD40L (CD40과 결합), CD28 (CD80 또는 CD86과 결합)과 결합하여 CD4⁺ T세포가 활성화할 때 도움을 준다(Fig. 2)⁴⁾. PSA는 CD4⁺ T세포의 증식 (proliferation)만을 유도하며, CD8⁺ T세포의 proliferation에는 영향을 미치지 않는다⁶⁾.

4. 포유류 면역계 발달 및 항상성에서 PSA의 역할

PSA가 직접적으로 숙주의 면역시스템(immune system)을 성숙시키는 것을 증명하기 위한 실험의 예로, germ free mouse 실험이 있다. Germ free mouse는 conventionally colonized mouse에 비해서 lymphoid organ및 CD4⁺ T세포의 비율이 낮다^{5, 12)}. 이 마우스에 야생주의 *B. fragilis*나 정제한 PSA를 주입하게 되면 비장(spleen)안의 CD4⁺ T세포의 수가 증가하는데 반하여, PSA를 만들지 못하는 돌연변이주(mutant) *B. fragilis* 주입 시에는 CD4⁺ T세포의 수가 증가하지 않았다¹²⁾. 한편, germ free mouse는 conventionally colonized mouse와는 달리 Th2 immune response가 우세하며, PSA를 germ free mouse에 주입하면 CD4⁺ T세포가 활성화되어 그 결과로 CD4⁺ T세포는 cytokine IL-2과 Th1cytokine인 interferon- γ (IFN- γ)를 생성한다¹²⁾. 이러한 현상은 In vitro실험에서도 PSA가 Th1 cell lineage determining cytokine IL-12와 STAT4 (signal transducer and activator of transcription4)를 통해 IFN- γ 를 생성함으로써 확인되었다¹¹⁾. 대표적인 Th1 cytokine인 IFN- γ 의 생성은 Th2 immune response가 우세한 germ free mouse에서 IFN- γ 을 생성하여 평형(balance)을 유지한다고 볼 수 있다. 따라서 *B. fragilis*의 PSA는 사람을 포함한 포유류에서 Th1과 Th2의 균형을 유지하여 면역계의 성숙에 중요한 역할을 한다고 볼 수 있다 (Fig. 3)¹²⁾.

Figure 2. Antigen presentation of polysaccharide A of *Bacteroides fragilis* (Sakisetal, 2006, Nature Reviews Immunology).



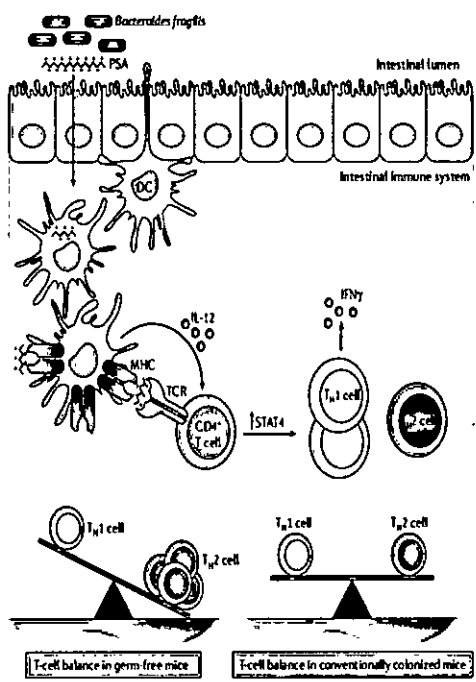
5. 선천면역계 (innate immune system)에서의 PSA의 역할

PSA는 Toll-like receptor 2 (TLR2)의 리간드 (ligand)로서 선천 면역계 (innate immune system)를 자극하여 T 세포 활성화에 필수적인 적응면역계 (adaptive immune system)와의 상호작용을 촉진 한다¹⁸⁾.

결론

B. fragilis PSA가 T 세포 의존 항원으로 naive CD4⁺T세포 활성화 및 TLR 2 신호를 통해서 포유류의 면역계의 발달과 성숙에 중요한 역할을 한다는 사실은 *B. fragilis* PSA 및 우리 몸 속에 존재하는 상재균 (commensal bacteria)에 대한 보다 많은 연구를 통하여 commensal bacteria가 숙주의 면역계의 균형, 발달, 항상성 유지 및 외부의 침입자 (pathogen)에 어떠한 역할을 하는 지에 대해서 이해하는데 많은 도움이 될 것으로 생각한다.

Figure 3. Impact of polysaccharide A of *Bacteroides fragilis* on development of a mature mammalian immune system (Sakiset al. 2006. Nature Reviews Immunology).



참고 문헌

1) Baumann H, Tzianabos AO, Brisson JR, Kasper DL, Jennings, HJ. Structure elucidation of two capsular polysaccharides from one strain of *Bacteroides fragilis* using high-resolution NMR spectroscopy. *Biochemistry* 1992;31:4081-9.

2) Cerdeño-Tárraga AM, Patrick S, Crossman LC, Blakely G, Abratt V, Lennard N, et al. Extensive DNA inversion in the *Bacteroides fragilis* genome control variable gene expression. *Science* 2005;307:1463-5.

3) Cobb BA, Kasper DL. Zwitterionic capsular polysaccharides: the new MHC II-dependent antigens. *Cell Microbiol* 2005;7:1398-403.

4) Cobb BA, Wang O, Tzianabos AO, Kasper DL. Polysaccharide processing and presentation by the MHCII pathway. *Cell* 2004;117:677-87.

5) Dobber R, Hertogh-Huijbregts A, Rozing J, Bottomly K, Nagelkerken L. The involvement of the intestinal microflora in the expansion of CD4⁺ T cells with a naive phenotype in the periphery. *Dev Immunol* 1992;2:141-50.

6) Kalka-Moll WM, Tzianabos AO, Bryant PW, Niemeyer M, Ploegh HL, Kasper DL. Zwitterionic polysaccharides stimulate T cells by MHC II-dependent interactions. *J Immunol* 2002;169:6149-53.

7) Kasper DL, Hayes ME, Reinap BG, Craft FO, Onderdonk AB, Polk BF. Isolation and identification of encapsulated strains of *Bacteroides fragilis*. *J Infect Dis* 1977;136:75-81.

8) Krinos CM, Coyne MJ, Weinacht KG, Tzianabos AO, Kasper DL, Comstock LE. Extensive surface diversity of a commensal microorganism by multiple DNA inversions. *Nature* 2001;414:555-8.

9) Kuwahara T, Yamashita A, Hirakawa H, Nakayama H, Toh H, Okada N, et al. Genomic analysis of *Bacteroides fragilis* reveals extensive DNA inversions regulating cell surface adaptation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:14919-24.

10) Lee CJ, Lee LH, Lu CS, Wu A. Bacterial polysaccharides as vaccines-immunity and chemical characterization. *Adv Exp Med Biol* 2001;491:453-71.

11) Macatonia SE, Hosken NA, Litton M, Vieira P, Hsieh CS, Culpepper JA, et al. Dendritic cells produces IL-12 and direct the development of T_H1 cells from naive CD4⁺ T cells. *J Immunol* 1995;154:5071-9.

12) Mazmanian SK, Liu CH, Tzianabos AO, Kasper DL. An immunomodulatory molecule of symbiotic bacteria directs maturation of the host immune system. *Cell* 2005;122:107-18.

13) Polk BF, Kasper DL. *Bacteroides fragilis* subspecies in clinical isolates. *Ann Intern Med* 1977;86:569-71.

14) Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance

- causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995;155:1151-64.
- 15) Sood RK, Fattom A. Capsular polysaccharide-protein conjugate vaccines and intravenous immunoglobulines. *Expert Opin Investi Drugs* 1998;7:333-47.
- 16) Tzianabos AO, Finberg RW, Wang Y, Chan M, Onderdonk AB, Jennings HJ, et al. T cells activated by zwitterionic molecules prevent abscess induced by pathogenic bacteria. *J Biol Chem* 2000;275:6733-40.
- 17) Tzianabos AO, Onderdonk AB, Kasper DL. Bacterial structure and functional relation to abscess formation. 1994. *Infect Agents Dis* 1994;3:256-65.
- 18) Wang Q, McLoughlin RM, Cobb BA, Charrel-Dennis M, Zaleski KJ, Golenbock D, et al. A bacterial carbohydrate links innate and adaptive responses through Toll-like receptor 2. *J Exp Med* 2006;25:203:2853-63.