

# CSHL Gene Expression & Signaling in the Immune System 2020 참석 후기

박 은 총

Duke University

E-mail: eunchong.park@duke.edu

## 요약문

미국의 Cold Spring Harbor Laboratory (CSHL)에서는 해마다 다양한 생물학 관련 주제의 학회들을 개최하며, 2020년 10월 13일부터 16일까지 면역학을 주제로 학회가 개최되었다. 해당 학회는 2년에 한 번씩 열리기 때문에 2022년에도 개최될 예정이다. 규모가 큰 학회의 경우 여러 세션들이 동시에 진행되어 선택적으로 발표를 들어야하는 경우도 있지만, CSHL 학회의 경우 순차적으로 세션들이 진행되기 때문에 모든 발표를 다 들을 수 있다는 장점이 있다. COVID-19로 인해 물리적 모임이 제한되어 ZOOM을 통해 세미나가 진행되었고, 8개의 세션 동안 총 56개의 구두발표가 있었다. 포스터의 경우 온라인으로 포스터를 열람한 후 Slack을 통해 각 포스터에 대한 개별적 질의응답이 이루어지는 방법으로 진행되었다. 포스터의 경우 148개의 초록이 Abstract book에 실려 있으나, 실제로는 127개의 포스터만 열람이 가능했다. 열람되지 않은 21개의 경우 기한 내에 포스터를 제출하지 못해 게재가 되지 않은 것으로 추측된다. Abstract book에 따르면 총 490명이 이번 학회를 참석하였다. 56개의 구두발표 중에서 개인적으로 흥미롭게 들었던 발표 몇 가지를 간략히 소개함으로써 참석 후기를 작성하였다.

**Key Words:** 면역학

## 목 차

1. 주된 내용 소개
  - 1.1. 10월 13일
    - 1.1.1. Session 1: Regulation of Gene Expression
  - 1.2. 10월 14일
    - 1.2.1. Session 3: Signaling at the Membrane
    - 1.2.2. Session 4: Intracellular Signaling
  - 1.3. 10월 15일
    - 1.3.1. Session 5: Intercellular Communication
    - 1.3.2. Session 6: Host - Microbe Interactions
  - 1.4. 10월 16일
    - 1.4.1. Session 7: Cell Differentiation
2. 총평
  - 2.1. 면역한 분야 연구 동향
  - 2.2. 온라인으로 진행된 학회의 장단점
3. 참고문헌

## 1. 주된 내용 소개

표 1. 학회 일정.

일시	오전/오후	Session title
10월 13일	오전	Regulation of Gene Expression (7개 발표)
	오후	Higher Order Chromatin Structure (8개 발표)
10월 14일	오전	Signaling in the Membrane (7개 발표)
	오후	Intracellular Signaling (7개 발표)
10월 15일	오전	Intercellular Communication (6개 발표)
	오후	Host - Microbe Interactions (7개 발표)
10월 16일	오전	Cell Differentiation (7개 발표)
	오후	Cell Movement and Tissue Organization (7개 발표)
상시	-	온라인을 통한 포스터 발표 (127개 포스터)

학회가 개최된 4일 동안 8개의 세션이 진행되었고, 56개의 구두발표가 있었다. 학회에서 진행된 발표를 모두 소개할 수는 없기 때문에 개인적으로 관심 있게 듣고 흥미가 있었던 발표들을 선정하여 요약하는 방식으로 참석 후기를 작성하였다.

## 1.1. 10월 13일

### 1.1.1. Session 1: Regulation of Gene Expression

#### A genome-wide CRISPR screen reveals a role for the BRD9-containing non-canonical BAF complex in regulatory T cells - Diana C. Hargreaves (Salk Institute for Biological Studies)

2020년 노벨 화학상 수상자로 CRISPR/Cas9을 연구한 두 명의 과학자들이 선정된 만큼, CRISPR/Cas9 시스템을 이용한 연구는 현재 진행형이며, 앞으로도 더 활발해질 것으로 예상된다. CRISPR/Cas9이 생물학을 연구하는 사람들에게 만큼은 더이상 생소한 개념은 아니지만, 이를 활용한 연구가 보편화 되었다고 말하기에는 한편으로는 아직 이르기엔 낯선 것도 사실이다. 최근 CRISPR/Cas9 시스템을 이용해 동시에 여러 유전자를 스크린하는 연구가 계속 발전하고 있으며, 이러한 연구는 흔히 말하는 좋은 저널에 등장하는 단골손님이다.

Session 1에서 발표된 이 연구는 CRISPR/Cas9 시스템을 활용한 연구의 좋은 예시이며, CRISPR/Cas9 시스템을 통해 Regulatory T cell (Treg cell)에서 중요한 역할을 수행하는 유전자를 스크린한 것이 주된 내용이다. 해당 연구에서 CRISPR/Cas9 시스템을 어떤 방식으로 활용해 유전자를 스크린했는지를 중점적으로 소개하겠다.

셀 수 없을 만큼 다양한 Transgenic mouse들이 있는데 Cas9을 발현하는 Transgenic mouse도 존재한다. 이 Mouse의 장점은 Cas9 유전자를 세포가 이미 발현하고 있기 때문에 Single-guide RNA (sgRNA)만 세포에 넣어주어 과발현시키면 특정 유전자를 억제할 수 있다는 것이다. 해당 연구에서는 Cas9 mouse를  $Foxp3^{Thy1.1}$  mouse와 교배하여 얻은 Cas9/ $Foxp3^{Thy1.1}$  mouse를 사용했다.  $Foxp3$ 는 Treg cell이 발현하는 Transcription factor이며, Thy1.1 (CD90.1)은 세포막에 발현되는 Congenic marker로서  $Foxp3$ 를 발현하는 Treg cell을 구분할 수 있는 Reporter로 사용된다. Thy1.1을 인식하는 형광항체를 사용함으로써  $Foxp3$ 를 발현하는 Treg cell을 구분하여 분리해낼 수 있다.

연구팀은 우선 Cas9을 발현하는 Transgenic mouse에 존재하는 Treg cell을 Thy1.1 발현을 기반으로 분리하여 얻어내고, 미리 준비한 sgRNA library를 Treg cell로 Transduction 시켰다. 이후 일정 시간이 지난 후 Treg cell이 발현하는  $Foxp3$ 의 양을 Flow cytometry를 통해 확인하였다. sgRNA transduction 이후  $Foxp3$ 를 높게 발현하는 세포들과 낮게 발현하는 세포들을 분리해낸 뒤 세포들이 발현하는 sgRNA가 어떤 것인지 재분석하였고, 이런 과정을 통해  $Foxp3$  발현 조절에 어떤 유전자가 관련이 있는지를 알아내는 것이 이 연구에 사용된 방법이다. 연구팀은 여러 후보 유전자들 중에서 BRD9-containing non-canonical BAF complex가  $Foxp3$  발현을 촉진한다는 것을 해당 연구에서 밝혀냈다. BRD9은  $Foxp3$  유전자의 CNS0과 CNS2 부분에 자리 잡음으로써  $Foxp3$ 의 발현을 촉진할 뿐 아니라  $Foxp3$ 의 타겟이 되는 유전자들에  $Foxp3$ 가 붙는 것을 도움으로써  $Foxp3$  타겟 유전자들의 발현도 촉진하였다. 게다가 Treg cell에서 Brd9이 제거된 경우에는 Colitis 모델에서 병증이 더 악화되고 종양모델에서는 종양의 성장이 느리게 되는 등 Treg cell의 기능에 문제가 생기는 것이 확인되었다.

이 연구는 CRISPR/Cas9을 이용해 유전자를 스크리닝하고 후보유전자를 찾아 연구한 좋은 예이며 주제에도 관심이 있어서 흥미롭게 들은 발표다.

## Genetic variation in congenic mouse models - Amy Weinmann (University of Alabama)

면역학 연구에서 자주 등장하는 CD45.1 congenic mouse(B6.SJL-*Ptprc<sup>a</sup>Pepc<sup>b</sup>*/Boy)는 C57BL6 mouse (CD45.2 발현)와 SJL mouse (CD45.1 발현)를 교배하여 얻은 실험쥐를 C57BL6 mouse와 다시 여러 번 교배시킴으로써 C57BL6 mouse의 CD45.2 유전자를 SJL mouse에서 유래한 CD45.1 유전자로 치환시킨 동물이다 (CD45.2와 CD45.1을 발현시키는 유전자의 이름은 *Ptprc<sup>b</sup>*와 *Ptprc<sup>a</sup>*이지만 편의상 CD45.2와 CD45.1로 표기하였음). 연구목적으로 해당 Congenic mouse를 사용하는 논리에는 CD45.2 유전자만 SJL mouse로부터 유래되었고 그 외 다른 유전자들은 C57BL6 mouse로부터 유래되었다는 전제조건이 바탕이 되어있다. 하지만, 실제로는 해당 Congenic mouse의 염색체에는 CD45.2 유전자 말고도 SJL mouse로부터 유래한 다른 유전자들도 제거되지 않고 일부 존재하게 된다. 이미 이런 사실은 이전부터 알려져 있었다. 문제는 이러한 Genetic variation이 단순히 CD45.1 congenic mouse에만 존재하는 것이 아니라 다양한 Transgenic mouse와 Knockout mouse에도 존재한다는 것이고, 서로 다른 Strain 간의 교배 과정에서 생기는 Genetic variation으로 인해 때때로 의도치 않은 실험결과가 나오기도 한다는 것이다. 따라서 이러한 Genetic variation을 분석할 방법이 필요하며, 해당 발표는 Genetic variation을 분석하기 위한 방법을 제시한다. 간략히 소개하자면 그 방법은 다음과 같다.

RNA-seq을 통해 얻은 Sequence data를 분석하기 위해서는 Reference gene이 필요하고, 이 Reference gene sequence는 C57BL6로부터 유래한다. 그리고 분석 프로그램을 이용해 Sequence alignment를 할 때 실제 Sequence와 Reference sequence간에 Mismatch가 발생하는데, 기본적으로 이러한 Mismatch를 허용하여 분석을 하게 된다. 하지만, Mismatch를 전혀 허용하지 않도록 설정값을 바꾸고 분석을 하게 될 경우 C57BL6 mouse가 아닌 다른 Strain에서 유래한 유전자의 경우 Alignment에서 제외된다. 이러한 설정값 변화를 통해 CD45.1 congenic mouse의 경우 SJL strain에서 유래한 유전자를 파악할 수 있다는 것이 발표자가 소개한 Genetic variation을 파악할 수 있는 분석 방법이며, 이러한 방법을 통해 다른 Transgenic mouse나 Knockout mouse에도 존재할 Genetic variation을 분석할 수 있다고 한다. 물론 발표는 해당 분석 방법을 통해 CD45.1 congenic mouse에 존재하는 SJL mouse 유래 유전자를 찾아내는 것에 초점을 두었다.

흥미롭게도 해당 연구에서는 실험동물 공급사에 따라서도 CD45.1 congenic mouse에 Genetic variation이 존재함을 이야기한다. 그럴 것이라고 사실 예상은 하고 있었지만 얼마나 차이가 나는지를 데이터를 통해 보게 되니 꽤나 놀랍고 흥미로운 내용이었다.

Chisolm, Danielle A. 등이 작성한 "Defining genetic variation in widely used congenic and backcrossed mouse models reveals varied regulation of genes important for immune responses." (*Immunity* 51.1 (2019): 155-168.)에서 이와 관련된 더 자세한 내용을 확인할 수 있다.

## 1.2. 10월 14일

### 1.2.1. Session 3: Signaling at the Membrane

## A molecular phosphorylation timer is a basis for T cell receptor ligand discrimination - Wan-Lin Lo (University of California San Francisco)

$\alpha\beta$  T cell은 T cell receptor (TCR)를 통해 외부에서 유래된 항원(정확히는 항원 유래 Peptide)을 인식함으로써 활성화 되고 기능을 수행하게 된다. 하지만, 눈이 없는 세포가 자가항원에 대해서는 반응하지 않고 외부에서 유래된 항원에만 반응하는 것이 말처럼 쉬운 것은 아니다. 외부 항원에만 특이적으로 반응하는 조절 메커니즘을 설명하는 방법 중 하나가 Kinetic proofreading model이다. 쉽게 말해 처음 TCR이 활성화되고 이로 인한 반응이 나오기까지 여러 단계의 신호전달이 시차를 두고 발생함으로써 TCR과 항원 간의 결합이 일정 수준 이상 지속되지 못하면 신호 전달이 마무리 되지 않는 모델이다. 해당 연구에서는 TCR 하위 신호 전달 과정에서 시간차를 줄 수 있는 신호전달 과정을 규명하였다.

TCR이 활성화되면 신호전달에 관여하는 다양한 단백질들의 인산화가 이루어진다. 그 중에서 LAT 단백질은 인산화의 타겟이 되는 여러 개의 Tyrosine residue를 가지고 있으며, LAT 단백질의 인산화된 Tyrosine residue를 매개로 SH2-domain을 갖는 다양한 Adaptor protein이 모여 TCR 신호가 전달되기 때문에 LAT 단백질은 TCR 신호 전달과정에서 매우 중요한 역할을 담당한다. 본 연구에서는 흥미롭게도 ZAP70에 의해 인산화되는 LAT 단백질의 다섯 Tyrosine residue중에서 Y132 (Mouse의 경우 Y136) 위치의 인산화가 다른 위치에 비해 느리게 일어나는 것을 발견했다. 그리고 이 위치는 PLC $\gamma$ 1이 붙는 자리이며, PLC $\gamma$ 1은 이후에 칼슘 신호와 Ras 및 PKC 활성화를 일으킴으로 T cell 활성화에 있어서 중요한 기능을 담당한다. ZAP70이 인산화시키는 Tyrosine residue들의 대부분은 Aspartate나 Glutamate와 같은 산성 Amino acid로 둘러싸여 있고, 이와 같은 구조적 특징은 ZAP70의 기질결합 부위와 Tyrosine 간의 결합에 도움을 준다. 이러한 상호작용에서의 이점 때문에 ZAP70에 의해 인산화되는 LAT의 Tyrosine residue 다섯 곳 중에서 Y132를 제외한 네 곳에는 Tyrosine 바로 앞에 Aspartate 또는 Glutamate가 위치하지만, 유독 Y132 앞에는 중성 Amino acid인 Glycine이 자리를 잡고 있다. 이러한 이유로 Y132는 ZAP70에 의한 인산화과정에서 다른 Tyrosine residue들과의 경쟁에서 뒤쳐지고 인산화되는 속도가 느리게 된다. 연구팀은 Y132앞에 위치한 Glycine 131을 Aspartate로 치환할 경우 T cell의 활성화가 훨씬 더 강하게 일어나고 결과적으로 low-affinity antigen과 Self-peptide에 대해서도 T cell이 반응하는 것을 확인했다. 이로써 본 연구는 LAT Y132의 느린 인산화가 T cell이 자가항원과 외부 유래 항원을 구분하는 메커니즘에서 중요한 기능을 함을 밝혀냈다.

### 1.2.2. Session 4: Intracellular Signaling

#### Impaired mitochondrial oxidative phosphorylation limits the self-renewal capacity of chronically stimulated T cells - Santosha A. Vardhana (Memorial Sloan Kettering Cancer Center)

종양으로 침투하는 T cell의 상당수는 세포증식능력이 감소하는 탈진 상태(Exhausted phenotype)를 보이는 것이 특징이다. Immune checkpoint blockade에 반응하는 T cell들은 열심히 증식할 수 있는 T cell들이기 때문에 이러한 탈진 상태의 T cell들은 면역학적 항암치료에 있어서 큰 문제로 거론되어왔다. 따라서 지속적으로 항원에 노출되는 T cell들이 어떤 기전으로 탈진 상태에 빠지게 되는지에 대한 원인을 규명하기 위해 다양한 연구들이 진행되고 있다. 해당 연구는 이러한 원인을 세포의 대사(Metabolism)가 변하는 것에서 찾고 있다.

연구팀은 항원에 지속적으로 노출된 T cell의 경우 세포 대사가 Mitochondria를 통한 에너지 생산이 아닌 Glycolysis를 이용한 에너지 생산으로 편향된 것을 확인했다. 이런 결과는 Mitochondria 내 ROS 증가로 인한 Mitochondria 기능 저하에 기인했다. 이러한 세포 대사의 변화는 결과적으로 세포 증식에 필요한 NTP 생산을 저해함으로써 세포로 하여금 탈진 상태에 이르도록 유도하였고, ROS 제거를 개선시키는 것만으로도 T cell의 탈진을 막고 결과적으로 T cell에 의한 항암효과를 향상시키는 것이 가능했다.

면역세포의 대사가 면역세포의 기능 및 분화에 밀접하게 연관이 있다는 것은 이미 잘 알려져 있고, 그 상호작용에 대한 연구가 다양한 관점에서 진행되고 있다. 이와 유사하게, 비록 세포 종류는 다르지만, 자가면역질환의 경우 면역반응 억제에 관여하는 Regulatory T cell의 Mitochondria 내 ROS 증가가 세포의 기능손상으로 이어진다는 연구도 최근 보고되었다(Alissafi et al., 2020). 다양한 상황에서 세포의 대사가 어떻게 변하고 이러한 변화가 세포의 기능에 어떠한 영향을 주는지에 대해 더 깊은 이해가 가능해지면 면역관련 질환 및 종양의 치료에 있어서 더 폭넓은 치료 방법들이 개발될 수 있을 것이라 기대가 된다.

### 1.3. 10월 15일

#### 1.3.1. Session 5: Intercellular Communication

##### **The bone marrow protects and optimizes immunological memory during dietary restriction - Nicholas Collins (National Institutes of Health)**

이번 연구는 세포 하나의 대사(Metabolism)가 아니라 개체의 대사가 면역에 어떤 영향을 주는지에 대한 흥미로운 연구다. 일반적으로 영양결핍은 면역기능을 떨어뜨리고 영양과다로 인한 비만은 염증 및 자가면역을 증가시키거나 인플루엔자와 같은 몇 가지 감염에 취약하게 만드는 것으로 알려져 있다 (Alwarawrah et al., 2018). 그런데 이번 연구에서는 식이제한(Dietary restriction)이 오히려 Memory T cell 기능 향상에 도움을 준다는 다소 역설적인 내용을 다룬다.

연구팀은 우선 Mouse에게 하루에 섭취하는 음식의 50%를 제한하고 일어나는 변화들을 관찰했다. 1주일의 식이제한 후 Mouse의 Adipose tissue, Spleen, Lymph node 등의 기관에서는 Memory T cell이 현저히 감소했지만, Bone marrow에서는 오히려 Memory T cell의 수가 증가하는 것이 발견됐다. 이러한 Memory T cell의 재배치는 식이제한기간 동안 증가하는 혈중 Glucocorticoids로 인한 것으로서, 고농도의 Glucocorticoids를 피해 상대적으로 일정한 수준의 Glucocorticoids 농도가 유지되는 Bone marrow로 Memory T cell이 축적된 것이다.

식이제한으로 인한 Memory T cell의 변화가 과연 재감염에 제대로 반응할 수 있는지 확인하기 위해 연구팀은 Mouse에 *Yersinia pseudotuberculosis*를 감염시킨 후 4주 간 식이제한을 주고 다시 동일한 박테리아를 재감염시킨 뒤 이에 저항하는 정도를 확인하였다. 놀랍게도 면역기억이 형성되는 기간 동안 식이제한을 한 결과 오히려 더 강한 면역기억이 형성되었고 박테리아를 훨씬 더 잘 제거하는 것이 확인되었다. 하지만, 첫 감염부터 식이제한을 준 경우에는 이런 효과가 나타나지 않았다. 식이제한을 주는 시기에 따라 결과가 달라지는 부분이 상당히 흥미로운 부분이다.



식이제한이 어떻게 더 향상된 면역기억을 만들 수 있는지에 대한 기전 연구는 현재 진행 중인데 식이제한으로 인해 생긴 장내 세균의 변화가 크게 기여하는 것으로 보인다고 한다. 식이제한을 준 경우 장내 Bifidobacteria가 증가하고, 이로 인해 혈중 Acetate 농도가 증가하였으며, 이러한 변화가 Memory T cell의 기능이 향상되는 데 기여했을 것으로 보인다고 한다.

물론 사람에게 이러한 장기간의 식이제한을 주기에는 큰 어려움이 있기 때문에 같은 방법으로 면역기억을 향상시키기는 어려울 것이다. 또한 식이제한으로 인한 면역기억 향상이 특정 감염에 제한적일 수도 있기 때문에 전반적인 적용도 어려울 수 있다. 그러나, 연구에서 발견된 현상에 대한 구체적인 기전이 연구되면 면역기억을 향상시키는 새로운 패러다임의 방법이 제시될 수도 있을 것으로 기대된다.

### 1.3.2. Session 6: Host - Microbe Interactions

#### Early life immune-microbe crosstalk in skin - Tiffany C. Scharschmidt (University of California San Francisco)

피부는 외부에서 침입하는 병원균에 노출이 잦은 곳이며, 장에 다양한 세균들이 늘상 있듯이, 피부에도 늘상 존재하는 공생균들이 존재한다. 면역시스템은 이러한 공생균들을 인식하긴 하지만, 이로 인해 면역반응을 일으키지는 않는다. 오히려 면역반응이 억제되지 않아 염증이 일어난다면 이로 인해 피부가 손상되고 염증이 악화되어 피부질환을 유도하게 된다. 장에서 Immune tolerance가 유지되는 것만큼이나 피부에서도 Immune tolerance가 유지되는 것이 중요하며, 건강한 피부에서 어떤 원리로 Immune tolerance가 유도되는지는 다양한 관점에서 연구되고 있다. 이번에 소개하는 연구는 신생아 때 피부 공생균들에 대한 Immune tolerance가 어떻게 유도되는지에 초점을 맞추어 피부에서의 Immune tolerance 기전을 연구한 내용이다.

연구팀은 신생아 때 생기는 Immune tolerance를 연구하기 위해 1~2주령의 Mouse의 피부에 사람의 피부공생균 중 하나인 *S. epidermidis*를 노출시킨 후 4주 후 *S. epidermidis*를 피부에 재차 노출시켰고(피부에 상처를 내주는 과정이 추가된다), 다른 그룹의 Mouse의 경우 *S. epidermidis*에 대한 최초 노출 없이 성장한 이후에 박테리아를 피부에 노출시켰다. 최초 노출 없이 성체가 되어 피부에 *S. epidermidis*가 처음 노출될 경우 피부에서 심한 염증이 일어났지만, 1~2주령의 시기에 *S. epidermidis*에 노출이 된 경우 같은 박테리아에 재차 노출되어도 염증반응이 나타나지 않았다. 이러한 차이는 태어난 지 얼마 안 된 시기에 *S. epidermidis*에 노출될 경우 해당 박테리아에 특이적인 Treg cell이 생성되는 것에 기인했다. 이로써 피부에 노출되는 박테리아에 대한 Immune tolerance가 생기는 것에는 최초 노출되는 시기가 중요함을 볼 수 있다. 또한 박테리아에 대한 Immune tolerance가 생기는 과정에서는 피부에 있는 Dendritic cell (DC)이 박테리아의 항원을 Lymph node로 갖고 가는 과정이 필요했으며, Myd88 signal이 일부 기여했지만 Myd88 signal 없이도 박테리아 특이적인 Treg cell이 만들어졌다.

연구팀은 이후 '피부공생균이 아닌 병원균에 대해서도 Immune tolerance가 생길 수 있을까?'라는 질문을 갖게 되었고, 이를 연구하고자 피부공생균인 *S. epidermidis* 대신 병원균인 *S. aureus*를 가지고 앞서 했던 실험을 반복했다. 앞선 실험에서 어린 시기에 피부공생균에 노출될 경우 이에 대

한 Immune tolerance가 유도되었던 것과는 반대로 병원균인 *S. aureus*에 대해서는 어린 시기에 노출이 되었어도 Immune tolerance가 생기지 않고 심한 피부 염증이 유도되었다. 최초로 각각의 박테리아에 노출될 경우 피부공생균에 의해서는 Treg cell이 유도되었지만, 병원균에 의해서는 Treg cell이 유도되지 않았기 때문이다. 흥미롭게도 두 Bacteria 모두 같은 종류의 DC에 의해 인식되고 항원이 Lymph node로 전달되었으나, 두 박테리아에 대한 DC의 반응은 달랐다. *S. aureus*를 인식한 DC에서는 IL-1 $\beta$  발현이 증가했고, 이로 인해 Treg cell 분화가 제한되었다. 이런 차이는 *S. aureus*가 갖는  $\alpha$ -toxin으로 인해 생긴 결과였다.

피부공생균에 대한 Immune tolerance가 생기는 것에 타이밍이 중요하다는 것도 흥미롭지만, 무분별하게 Immune tolerance가 유도되는 것이 아니라 병원균에 대해서는 Immune tolerance가 유도되지 않는 기전이 매우 흥미롭다.

### Suppression of inflammasome activation by IRF8 and IRF4 in cDCs is critical for T cell priming - Margaret M. McDaniel (University of Texas Southwestern Medical Center)

Inflammasome은 Macrophage와 같은 Innate immune cell에 의해 활성화되고, IL-1 $\beta$ 와 IL-18 같은 Cytokine을 만들어 Innate immunity에서 즉각적인 반응을 일으키는 중요한 기능을 하는 것으로 알려져 있다. 또한 Inflammasome 활성화는 세포로 하여금 Pyroptosis를 유도하도록 하여 세포에 감염된 병원체가 확산되는 것을 사전에 방지하는데 일조하기도 한다. 하지만, Inflammasome이 Adoptive immunity에서 중요한 기능을 담당하는 T cell의 활성화에 어떤 영향을 주는지에 대해서는 깊게 연구되지 않았다. 본 연구는 Antigen presenting cell로 잘 알려진 Dendritic cell과 Macrophage에서 Inflammasome을 사용하는 양상이 다르고 이로 인해 결과적으로 T cell 활성을 유도하는 효율이 달라진다는 것을 밝혀냈다.

Conventional dendritic cell (cDC)는 cDC1과 cDC2로 나누어지고, 각각은 CD8 T cell과 CD4 T cell에게 항원의 Peptide를 제시하는 기능을 한다. Spleen에서 분리한 cDC는 Macrophage나 Bone marrow-derived DC와는 다르게 Inflammasome의 활성이 매우 낮고, 결과적으로 Pyroptosis가 적게 일어나 T cell의 활성을 더 강하게 유도하는 것으로 확인됐다. 그리고 cDC1과 cDC2에서 Inflammasome의 활성이 억제되는 것은 각각 Transcription factor인 IRF8과 IRF4에 의해 Inflammasome 관련 유전자 발현이 억제됨으로써 이루어졌다. cDC1에서 IRF8 발현을 감소시킬 경우 Inflammasome 활성이 증가하고 결과적으로 CD8 T cell 활성이 감소하는 것도 확인됐다. 결과적으로 APC에서 Inflammasome의 활성은 T cell의 활성 관점에서는 좋지 않으며, 이런 이유로 cDC에서는 Inflammasome의 활성이 억제된다는 것이 해당 연구의 결론이다.

Macrophage와 DC는 모두 APC로서의 기능을 하지만, T cell 활성화 및 분화에 대한 둘의 기여도 차이가 있다. 이러한 차이는 다양한 변수들에 기인하지만, Inflammasome의 활성화도 차이가 하나의 원인이 됨을 해당 연구에서 밝혔다. cDC의 경우 APC로서의 기능을 더 효율적으로 하기 위해 Inflammasome 활성을 억제하는 기전을 가지고 있다는 사실이 흥미롭다.



## 1.4. 10월 16일

### 1.4.1. Session 7: Cell Differentiation

#### *In vivo* CRISPR screening identifies Fli1 as a novel transcriptional safeguard that restrains of effector CD8 T cells differentiation during infection and cancer - Zeyu Chen (University of Pennsylvania)

앞서 Session 1에서 CRISPR/Cas9을 활용해 여러 유전자를 스크리닝함으로써 Regulatory T cell에서 Foxp3 발현에 관여하는 유전자를 찾아낸 연구를 소개했다. 이와 유사한 방법을 활용한 해당 연구팀은 감염 및 종양에서 CD8 T cell의 탈진에 관여하는 유전자를 찾아 그 기능을 연구했다. 앞서 소개한 연구에서 *Ex vivo* culture를 통해 세포 분화에 관여하는 유전자를 찾아냈다면, 이번에 소개하는 연구에서는 *In vivo* 상황에서 세포 분화에 관여하는 유전자를 찾아내었다는 부분이 실험전략에서 보이는 차이점이다.

연구팀은 LCMV antigen인 gp<sup>33-41</sup>을 인식하는 CD8 T cell을 만드는 TCR transgenic mouse에 Cas9이 발현되도록 Transgenic mouse를 만들어 이로부터 CD8 T cell을 얻어내었다. 그리고 여러 가지 Transcription factor를 타겟하는 sgRNA library를 CD8 T cell에 Transduction한 후 Transduction된 CD8 T cell만을 재차 골라서 LCMV 감염된 Recipient mouse에 Adoptive transfer 하였다. 1주일이 지난 후 Recipient mouse로부터 다시 CD8 T cell을 분리하고, 많이 증식된 CD8 T cell과 적게 증식된 CD8 T cell에 어떤 sgRNA가 Transduction되었는지를 재분석함으로써 LCMV 감염 상황에서 CD8 T cell의 증식에 어떤 Transcription factor가 관여하는지를 찾아내었다.

*In vivo* CRISPR screening을 통해 연구팀은 Transcription factor인 Fli1이 없을 때 CD8 T cell의 증식이 증가한다는 것을 발견했다. 게다가 Chronic infection 상황에서는 CD8 T cell에서 Fli1을 제거할 경우 Effector CD8 T cell로의 분화가 증가하고 exhausted CD8 T cell은 감소하였다. Fli1이 없을 경우 Effector CD8 T cell 분화에 관련된 유전자들 중 Runx3에 의해 조절되는 부분들에서 Chromatin accessibility가 증가되는 것을 확인했다. 연구팀은 Fli1을 제거할 경우 바이러스 감염에 대한 면역기능이 향상될 뿐만 아니라 종양을 억제하는 면역기능도 향상되는 것을 실험을 통해 보임으로써 Fli1이 Effector CD8 T cell 분화를 저해한다는 사실을 밝혔다. CRISPR/Cas9 시스템을 활용해 CD8 T cell의 분화에 관여하는 여러 유전자들을 빠르게 스크리닝해 낸 것이 이 연구의 강점이다.

## 2. 총평

### 2.1. 면역학 분야 연구 동향

관심이 있는 곳에 눈이 더 갈 수 밖에 없기에 개인이 보는 연구 동향을 객관적이라고 말할 수는 없을 것이다. 따라서 객관적인 연구 동향이라고 하기보다는 개인적으로 관심을 갖고 본 연구내용에 대한 언급이라고 하는 것이 더 적절하다고 여겨진다.

우선 위에서 CRISPR/Cas9을 활용한 두 건의 연구를 소개하였듯이 해당 기술이 면역학 기반 연구에 활발히 쓰이고 있는 부분들을 볼 수 있었다. 물론 이미 지금도 해당 기술이 활발히 사용되고 있지만, CRISPR/Cas9을 이용한 스크리닝은 계속해서 발전하고 더 높은 빈도로 사용될 것으로 보인다. 이러한 방식을 통해 효율적으로 면역세포의 분화, 가소성(Plasticity), 활성화 등에 관여하는 후보유전자를 찾아내고 연구한다면 연구 속도 및 연구의 질적인 부분에서 상당한 우위를 차지할 수 있을 것이다.

개인적으로는 자가면역질환 쪽을 연구하고 있기 때문에 종양면역 분야에 대해서는 상대적으로 많은 것을 알지는 못한다. 그러나, 학회의 구두발표 및 포스터발표에서 종양면역 분야에 대한 다양한 관점의 연구들이 소개되는 것들을 흥미롭게 보았다. 소개된 종양면역학 분야의 연구들 중 대부분은 궁극적으로 Immune checkpoint blockade의 효율을 증가시키기 위한 것이지만, 접근하는 방법은 다양했다. 2018년 노벨생리의학상의 주제가 종양면역이었던 만큼, 해당 분야에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있는 것 같다.

## 2.2. 온라인으로 진행된 학회의 장단점

온라인으로 학회를 참석한 것은 신선한 경험이었고 분명한 장단점이 존재함을 느낄 수 있었다.

1) 우선 몸이 편하다는 장점이 있다. 컴퓨터 앞에 앉아서 편하게 강의를 들으니 몸이 편한 것은 당연하다.

2) 질문을 하고 대답을 듣는 부분에서도 큰 이점이 존재하였다. 이번 학회가 Zoom으로 진행되었기 때문에 Zoom의 Q&A 기능을 활용해 질문을 할 수 있었다. 현장에서 세미나가 진행되면 동시에 여러 명이 질문을 할 테고 때때로 질문을 할 기회가 내게 주어지지 않기도 한다. 또한 질문하는 사람의 말이 길어지는 경우도 생긴다. 그런데 글로 질문을 하다 보니 다들 간결하게 질문을 하였고, 이런 부분에서 시간이 절약돼 많은 질의응답이 가능했다. 게다가 학생들에게 보다 더 많은 질문의 기회를 주기 위해 질문을 할 때 자신의 신분을 적어달라고 주최 측에서 요청하였고, 이런 배려 덕분에 학생들의 질문은 거의 다 채택되어 답을 들을 수 있었다. 질의응답 참여도가 올라갈 수 있었던 부분이 큰 장점으로 여겨진다.

3) 세미나 내용이 녹화되어 별도의 웹사이트를 통해 공유가 되어 이후에 내용을 다시 들을 수 있는 부분도 큰 장점이다.

4) 포스터 발표가 온라인으로 대체된 것도 개인적으로는 만족스러웠다. 보통 학회에 참석해서 포스터를 꼼꼼히 보기가 쉽지 않다. 세미나와 다른 프로그램들로 인해 따로 시간을 내서 포스터를 보러 가기에는 시간이 넉넉하지 않기 때문이고, 포스터를 위한 시간이 준비된 때는 발표자가 있는 상황에 포스터를 훑어져라 보고 있는 것도 민망하기 때문이다. 하지만, 온라인으로 진행된 만큼 포스터를 더 자세히 볼 수 있었고, 키워드 검색을 할 수도 있었기 때문에 관심있는 분야를 더 집중적으로 찾아볼 수 있었다 (그림 1). Slack을 통해 각 포스터별로 개별적인 질의응답이 가능했기 때문에 더 많이 질문을 할 수 있었고, 질문에 대해서도 더 구체적으로 자세히 답변을 줄 수 있었다 (그림 2).

하지만, 온라인학회는 큰 단점이 존재한다. 연구자들 간의 친목활동이 없는 부분이 크게 아쉬웠다. 다양한 분야의 연구자들을 만나 소통하는 것이 학회의 큰 부분인데 그런 부분이 불가능했던 점이 크게 아쉽다. Zoom을 이용해서 나름 교류의 기회가 주어졌으나, 참여도도 높지 않았고, 시간도 조금 애매해서 오프라인에서 만나 소통하는 것을 대체하기에는 역부족이었다.

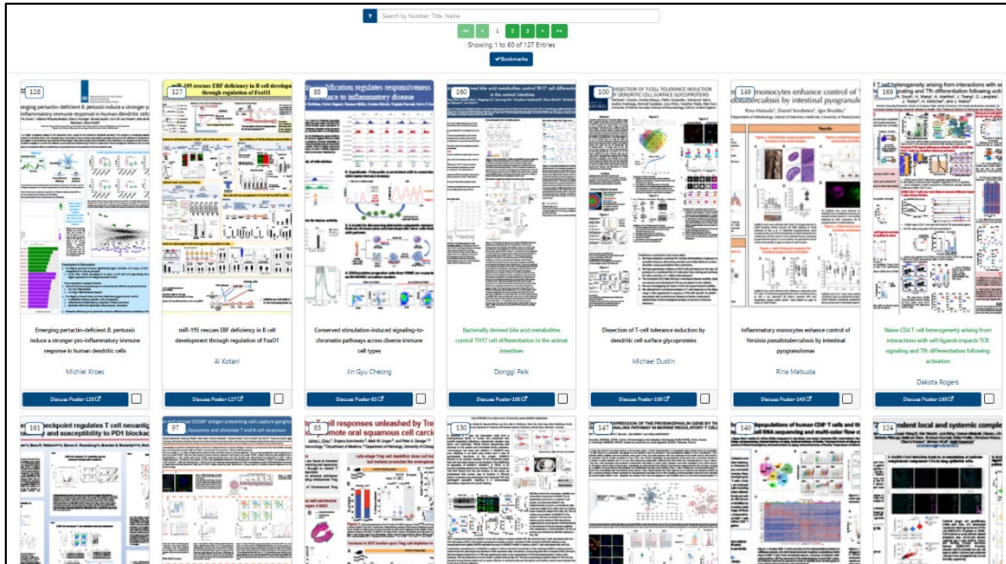


그림 1. 온라인으로 진행되는 포스터 세션 화면.

이번 학회에 투고된 포스터들이 온라인으로 게시되었다. 하나씩 눌러보면 개별적으로 포스터 열람이 가능하고, 개별적으로 개설되는 Slack 채널을 통해 포스터에 대한 질의응답이 가능하다. 상단에 있는 검색창을 통해 원하는 포스터를 찾아볼 수 있는 기능이 있다.

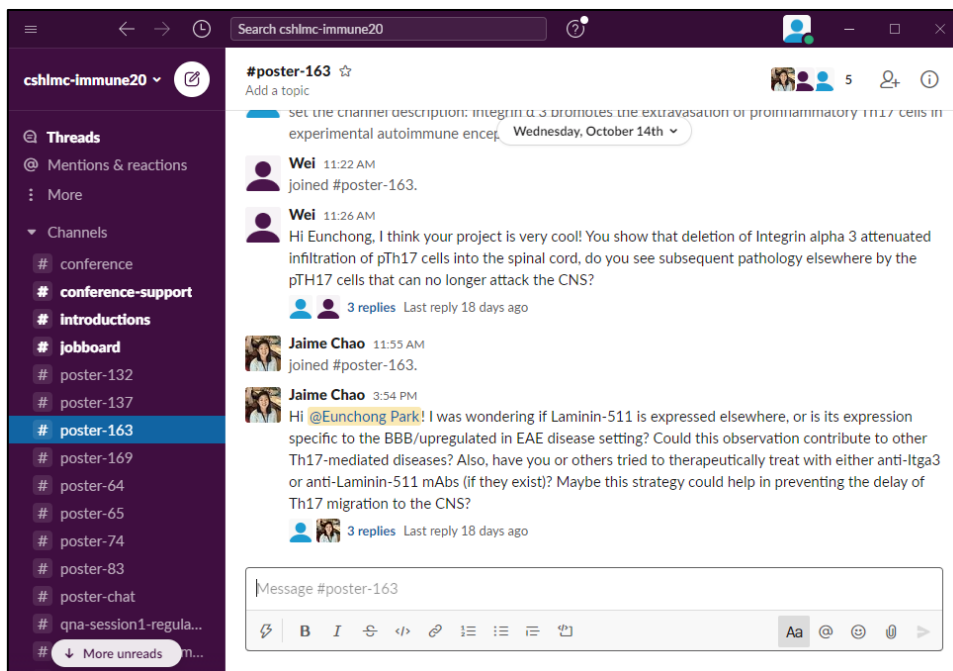


그림 2. Slack으로 진행되는 포스터별 질의응답.

각 포스터마다 개별적인 Slack 채널이 있고, 해당 채널에서 포스터에 대한 질의응답이 이루어졌다.

### 3. 참고문헌

Alissafi, Themis, et al. "Mitochondrial Oxidative Damage Underlies Regulatory T Cell Defects in Autoimmunity." *Cell Metabolism* 32.4 (2020): 591-604.

Alwarawrah, Yazan, Kaitlin Kiernan, and Nancie J. MacIver. "Changes in nutritional status impact immune cell metabolism and function." *Frontiers in immunology* 9 (2018): 1055.

The views and opinions expressed by its writers do not necessarily reflect those of the Biological Research Information

박은총(2020). CSHL Gene Expression & Signaling in the Immune System 2020 참석 후기. BRIC View 2020-C07.  
Available from <https://www.ibric.org/myboard/read.php?Board=report&id=3636> (Nov. 26, 2020)

Email: member@ibric.org