

소아과 : 제 43 권 제 4 호 2000

□ 원 저 □

## 연령별 정상 말초혈액단핵구의 Apoptosis

연세대학교 의과대학 소아과학교실, 가정의학교실\*

김동수 · 김현영 · 인요한\*

## Apoptosis of Peripheral Blood Mononuclear Cells in Different Ages of Normal Children

Dong Soo Kim, M.D., Hyun Young Kim, M.D. and John A Linton, M.D.\*

*Department of Pediatrics, Family Medicine\*,  
College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea*

**Purpose :** To survive in an ecological environment, an individual must develop immunity to various antigens. Therefore, populations of peripheral blood mononuclear cells(PBMC) in humans change continuously with growth. The object of this study is to evaluate the apoptosis of peripheral blood mononuclear cells(PBMC) in normal children of different ages.

**Methods :** PBMC were isolated from the study groups. Ten cord blood samples of normal babies, 10 blood samples of normal children each from 4 different age groups(0-1, 2-5, 6-10, 11-15 year-old and adult), and 20 from normal adults were included in this study. After 24 and 48 hrs incubation in RPMI1640 media containing 10% fetal calf serum, cells were stained with Annexin V and PI and then analyzed with FACScan flowcytometer.

**Results :** Cord blood mononuclear cells showed the lowest percentage of apoptosis compared to other age groups. PBMC isolated from the 0-1 year-old normal children showed the highest percentage of apoptosis, and the percentage of apoptosis decreased with increase of age. After the age of 10, the percentage of PBMC apoptosis was the same as that of adults.

**Conclusion :** The differences in the percentage of PBMC apoptosis with different age groups might be from immunologically different state of the hosts with different age. This result could be a useful reference data for the study of apoptosis in pediatric disease in the future. (*J Korean Pediatr Soc* 1999;43:463-469)

**Key Words :** Apoptosis, PBMC(peripheral blood mononuclear cells), Normals

## 서론

세포자멸사(apoptosis)란 원래 전자현미경으로 관찰하였을 때 나타나는 특징에 의하여 괴사(necrosis)와는 다른 세포사로 명명된 것이며 세포자멸사라는

말은 고대 그리스어로 꽃잎이 떨어지거나 또는 나뭇잎이 떨어지는 것을 표현한 말이다<sup>1)</sup>. 이러한 세포자멸사를 특징으로하는 세포사는 정상적인 조직의 발생과정이나, 성인에서 조직의 교체(turnover)시 흔히 나타나기 때문에 병적인 세포사와 대비시켜 생리적인 세포사(physiologic cell death)라고 부르기도 하고, 또한 발생과정중에 세포사는 이미 계획(program)되어 있는 것으로 간주하고 예정세포사(programmed cell

\* 본 연구는 1998년도 보건의료기술 연구개발사업연구비(HMP-97-P0017)에 의하여 이루어졌음.

접수 : 1999년 8월 30일, 승인 : 1999년 10월 8일

책임저자 : 김동수, 연세대학교 의과대학 소아과학교실

Tel : (02)361-5524 Fax : (02)393-9118

death)라고 부르기도 한다. 예정세포사는 발생중인 모든 조직에서 관찰되기 때문에, 모든 세포는 인접 세포로부터 특수 신호를 받지 못하면 죽도록 계획 되어있다는 가설이 제시되고 있다<sup>2)</sup>.

이와 같이 세포자멸사는 정상적인 현상으로 우리 몸의 항상성 유지에 중요한 역할을 하고 있지만 경우에 따라서는 이러한 세포자멸사의 증가 내지는 감소로 인하여 우리 몸의 질병을 일으키기도 한다. 즉 우리 몸의 항원과 반응하는 세포가 세포자멸사가 잘 일어나지 않으므로 자가면역성질환이 생기거나, 반대로 HIV감염과 같은 경우는 세포자멸사가 증가되기 때문에 우리 몸의 방어기전에 필요한 면역세포의 결여로 문제가 생긴다<sup>3)</sup>.

근자에 들어서 세포자멸사에 대한 연구는 광범위하면서도 활발하게 이루어지고 있는 실정이다. 소아 질환의 영역에서도 이와 같은 현상은 마찬가지이다. 그러나 신생아에서부터 성인까지 성장해 가는 영유아기에서 소아기에 이르는 상태는 생리적으로 성인과 많은 부분에 있어서 차이를 가지고 있으며 더욱이 면역학적으로는 다양한 변화가 있다. 말하자면 신생아기에는 주로 모체에서 이행된 면역성 물질에 의존되어 있으며 이들의 면역반응은 주로가 비특이적인 면역반응이 주종을 이룬다. 또한 면역세포들은 아직 항원에 노출되지 않은 상태여서 특이적인 면역반응세포가 되어 가는 시작단계라 볼 수 있다. 그리하여 memory 세포보다는 virgin 세포들이 주축을 이루고 있다<sup>4)</sup>. 그러나 영유아기를 거치면서 다양한 항원에 노출되며 이들에 대한 특이면역반응의 발전이 일어나면서 점차 성인형으로 면역반응은 발전해 나간다. 이와 같은 생리적인 현상을 고려해 볼 때 소아에서 말초혈액단핵구는 성인과 다른 세포자멸사를 보일 것으로 추정할 수 있다. 이러한 점을 고려하여 소아연령층에서 말초혈액을 이용하여 세포자멸사를 연구할 경우를 대비하여 정상적인 말초혈액단핵구의 연령별 세포자멸사의 차이를 규명하고 참고자료로 제시하기 위하여 본 연구를 시도하는 바이다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상 및 환아 및 대조군

연령군은 모두 6군(제대혈, 0-1, 2-5, 6-10, 11-15세, 성인)으로 나누었다. 먼저 제대혈군은 총 10명으

로 본원 산부인과 분만실에서 만삭으로 정상 분만된 신생아의 제대혈을 대상으로 하였다. 소아연령군은 본원 외과에 선택적으로 수술을 위하여 내원한 소아로 감염성 질환이나 면역질환 등이 없는 정상 아동을 각 군마다 10명씩으로 하였다. 성인군은 의과대학생과 전공의의 지원자 20명을 대상으로 하였다. 모든 검사는 보호자 및 본인의 승낙을 얻은 후에 채혈하여 실시하였다.

### 2. 말초혈액구의 분리 및 배양

헤파린 처리한 말초 혈액을 정맥에서 채취하여 동량의 RPMI1640 배지와 잘 혼합한 후 Ficoll을 이용하여 분리하였다. 분리된 단핵구는 우태아 혈청이 10% 함유된 RPMI1640 배지 1mL당  $5 \times 10^5$  정도의 세포를 넣어 5% CO<sub>2</sub>, 37°C에서 배양하였다.

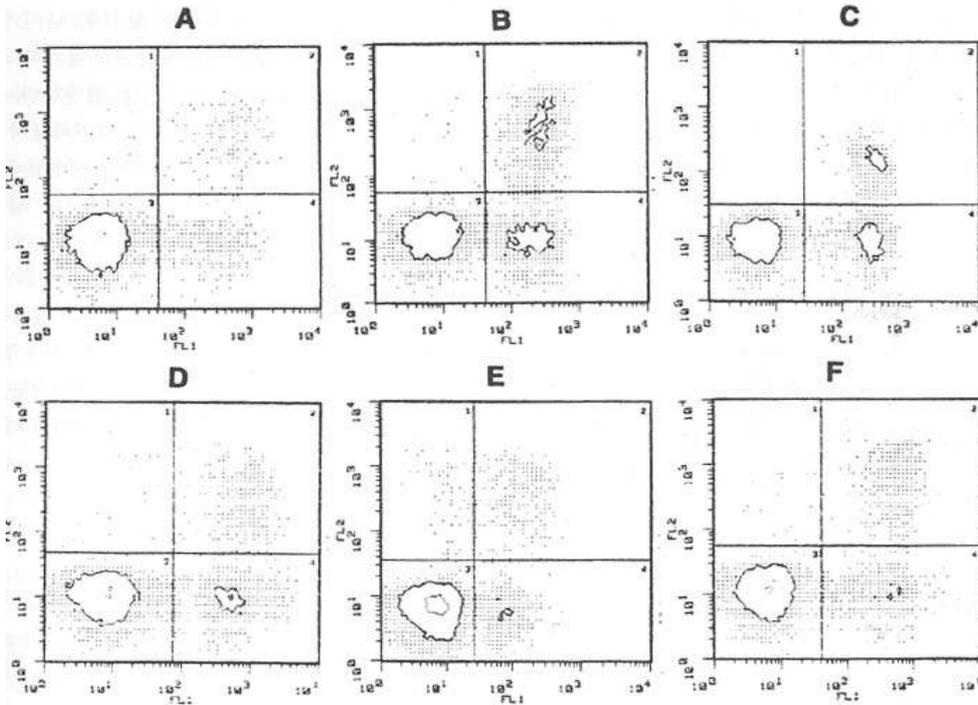
### 3. 세포자멸사의 평가

#### 1) Annexin V와 Propidium Iodide 염색

단핵구를 배양하면서 24시간 및 48시간에 세포들을 얻어서 FITC가 부착된 Annexin V와 PE(phycoerythrin)가 부착된 Propidium Iodide(PI)로 염색한 후 15분간 배양 후 FACSscan flow cytometry로 분석하였다. 각각 10,000개의 세포를 읽은 후, Annexin V만 염색되어진 세포는 초기 세포자멸사로 Annexin V와 PI가 동시에 염색되어진 세포는 말기 세포자멸사로 판독하여 초기 세포자멸사 및 초기와 말기를 합한 총 세포자멸사율을 구하였고(Fig. 1), 세포 크기와 펄스 상태에 따라 포함된 적혈구는 제외시켜 판독하였다.

#### 2) DNA fragmentation

24시간째  $4 \times 10^6$ 개의 세포를 분리하여 PBS로 2회 세척후 세포층을 분리하여 lysis buffer(5mM Tris-HCl, 20mM EDTA, 0.5% Triton X-100, pH8) 250  $\mu$ L와 TE(10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0) 250 $\mu$ L를 넣어 세포를 용해시킨 후 13,000rpm에 15분간 원심 분리하여 상층액을 새 microfuge tube에 담은 후 5M NaCl 30 $\mu$ L와 100% 에탄올 1mL를 넣어 -20°C에 하룻밤 동안 냉동시켰다. 그 후 13,000rpm, 15분간 원심 분리후 상층액을 버리고 침전물을 20-25분간 말린 후 TE(10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0) 20 $\mu$ L에 녹여 1.8% agarose gel에 60mA, 70 volt로 running 시킨 후 ethidium bromide에 염



**Fig. 1.** Typical FACS feures of apoptosis of PBMC after 48 hours incubation in each age groups. FL1(x axis): Stained with Annexin V, FL2(y axis): Stained with PI, A : cord blood mononuclear cells, B : 6 month-old, C : 2 year-old, D : 7 year-old, E : 13 year-old, F : adult.

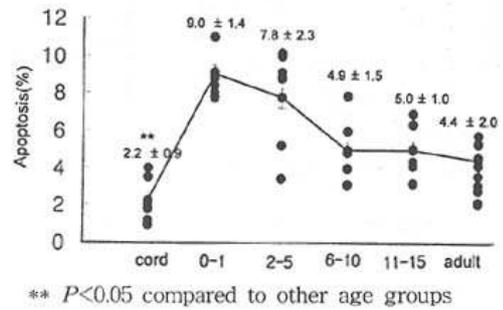
색시커 세포자멸사시에 나타나는 사다리모양의 띠들이 관찰되는 지를 살펴보았다.

**4. 통계적 처리**

세포자멸사율의 비교는 ANOVA를 사용하였으며  $P < 0.05$ 를 의미있는 것으로 간주하였다.

**결 과**

분리한 단핵구를 배양하면서 24시간에 측정 한 조기 세포자멸사는 제대혈이  $2.2 \pm 0.9$  %로 다른 군에 비하여 의미있게 ( $P < 0.05$ ) 감소되어 있는 양상을 보였다. 즉 제대혈의 단핵구는 다른 연령군의 말초 단핵구에 비하여 세포자멸사가 잘 안일어나는 소견을 보여주었다. 그리고 이러한 제대혈 단핵구의 특징은 변하여 생후 1세 미만에서는 다른 연령군에 비하여 가장 높은 세포자멸사율( $9.0 \pm 1.4$ %)을 보이고 있었다. 이러한 현상은 1세 이후 나이가 증가하면서 점차 감소하는 경향을 보이거나 통계학적인 의미는 없었다(Fig. 2).



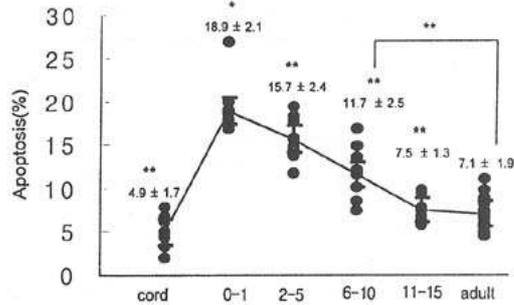
\*\*  $P < 0.05$  compared to other age groups

**Fig. 2.** Early Apoptosis(%) at 24 Hr.

말초단핵구를 24시간 배양하면서 측정 한 총 세포자멸사율은 조기세포자멸사에서 보이는 양상이 그대로 보여지고 있으며 이 양상이 더욱 뚜렷하게 나타나 제대혈 단핵구의 세포자멸사율은  $4.9 \pm 1.7$  %로 다른 연령군에 비하여 가장 낮은 ( $P < 0.05$ ) 세포자멸사율을 보이고 있으며 이후 1세 미만의 소아에서는  $18.9 \pm 2.1$ 로 모든 연령군에 비하여 가장 높은 ( $P < 0.01$ ) 세포자멸사율을

보이다가 이후 점차 감소하여 10세 이후부터는 성인 과 차이가 없었다(Fig. 3).

48시간 말초 단핵구를 배양하면서 측정된 세포자멸사율은 24시간에 측정된 세포자멸사율과 비슷한 양상을 보여주고 있었다. 즉 48시간 배양한 말초 단핵구의 조기세포자멸사는 제대혈이 2.9±1.1%로 다른 연령군들에 비하



\*\*  $P < 0.05$  compared to other age groups with cord blood, \*  $P < 0.01$  compared to cord blood.

Fig. 3. Total Apoptosis(%) at 24 Hr.

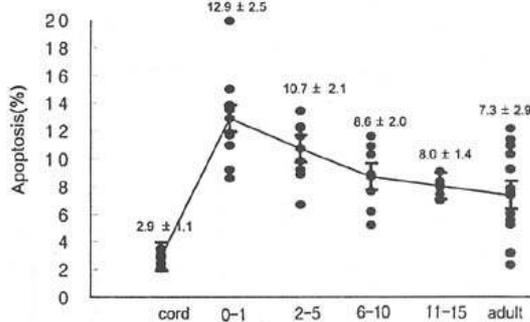
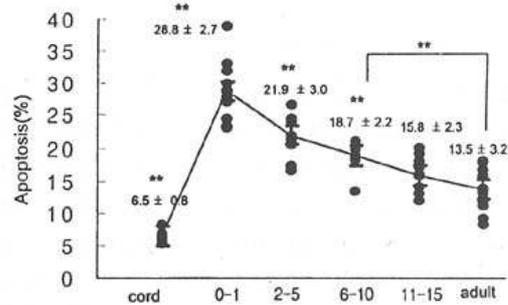


Fig. 4. Early Apoptosis(%) at 48 Hr.



\*\*  $P < 0.05$  compared to other age groups with cord blood.

Fig. 5. Total Apoptosis(%) at 48 Hr.

여 의미있게 감소( $P < 0.01$ )되어 있으며, 1세 미만의 소아에서는 12.9±2.5%로 다른 연령군에 비하여 가장 높은 세포자멸사율을 보인후 나이가 증가하면서 점차 감소하는 경향을 보이나 통계학적인 의미는 없었다(Fig. 4). 또한 48시간을 배양하면서 측정된 말초 단핵구의 총 세포자멸사는 조기세포자멸사에서 보인 경향이 더 뚜렷하게 관찰되어 제대혈에서 6.5±0.8%로 다른 연령군에 비하여 가장 낮은 세포자멸사율을 보이다가( $P < 0.05$ ) 1세 미만에서는 28.8±2.7%로 다른 연령군에 비하여 가장 높은 세포자멸사율을 보였고( $P < 0.05$ ), 이후 성인에 이르기까지 지속적으로 감소하는 경향을 보였다. 그러나 10세 이후부터는 세포자멸사율이 성인에서와 차이가 없었다(Fig. 5). 이들의 세포자멸사는 FACS 이외에 DNA laddering으로도 확인하였다(data not shown).

### 고 찰

세포자멸사가 처음으로 보고되는 1842년 Vogt가 울쟁이의 척삭에서 자연적으로 일어나는 세포사를 보고한 것으로 시작되었다<sup>5)</sup>. 그 후 양서류나 변태 등을 주제로 여러 연구가 있어왔으나 당대의 학자들은 이러한 자연적인 세포사에 큰 의미를 부여하지는 않았다. 20세기에 들어서면서 이러한 세포사에 관심을 갖기 시작하였으나 발생학자들은 주로 세포의 성장 및 분화에 중점을 두고 여러 구조들의 발생을 연구하였다.

이러한 세포고사의 형태학적 특징은 세포막과 핵내에 특이한 변화가 나타난다. 세포막 상에서 일어나는 대표적인 변화로는 세포 크기의 축소, 세포막으로부터 용기가 돌출하는 현상(membrane blebbing), 및 여러 형태의 세포내용물이 세포막으로 쌓여져 세포로부터 떨어져 나온 아포토시스소포체(apoptotic body)라는 특수한 구조를 형성한다<sup>6)</sup>. 또한, 미토콘드리아 등과 같은 대개의 세포내 소기관(internal organelle)들은 자신의 원형 구조를 대체적으로 유지하는데 비해, 핵내에서는 염색사 응축(chromatin condensation), 핵 분절(nuclea fragmentation)이나 DNA 분절 등과 같은 특이한 변화가 동반된다<sup>7)</sup>. 이와 같은 과정을 통하여 필요가 없거나, 노화 되었거나, 병든 세포를 제거해 나가게 된다<sup>3)</sup>. 생체의 경우 아포토시스의 과정을 거치는 세포들은 주위에 존재하는 특이세포들에 의해 제거되기 때문에 염증 반응(inflammatory response)

이 일어나지 않는 특성이 있다<sup>6)</sup>.

이와 같은 능동적 세포사멸 현상은 상기한 바와 같이 발생과정에서 뿐만 아니라, 분화, 성장 및 노화의 전과정을 통하여 일어나고 있다. 소화계의 내피를 구성하는 상피조직이나, 피부를 구성하는 상피조직은 끊임없이 기저에서 발생된 세포들이 상층으로 이동하면서 일정 시간동안 기능을 수행하다가 죽어 나가게 되는 대표적인 예이다<sup>8)</sup>. 즉, 개체는 자신을 구성하는 세포의 생존과 사멸의 균형(balance)을 통하여 비로서 건강한 상태를 유지하게 된다. 따라서, 이와같은 균형이 여러가지 원인에 의해 붕괴되거나 한쪽으로 치우치게 될 경우에는 개체는 필연적으로 질병의 상태로 전이가 된다. 암, 자가면역 질환 등은 제거되어야 할 세포들이 살아남게 되어 발생하는 대표적인 질병의 예이며, 후천성 면역 결핍증이나 중추 신경계 퇴행성 질환 예를 들어 Alzheimer병, Parkinson병, Huntington병, amyotrophic lateral sclerosis 등은 비정상적인 세포의 사멸이 원인이 되어 발생하는 질병들의 예라고 할 수가 있다<sup>3)</sup>.

세포사멸사는 이와 같은 형태학적인 변화 이외에도 여러 가지 생화학적 변화도 동반하게 된다. 앞에서 언급하였듯이 세포사멸사는 세포자신이 선택한 능동적인 과정으로서 에너지가 필요하며, 상당히 많은 경우에 있어서 세포사멸을 조절하는 데에 직, 간접적으로 관여하는 단백질의 합성이 필요하다. 이와는 별도로 새로운 단백질의 합성이 없이도 세포사멸사로 진행될 수 있는 예들이 많이 밝혀지고 있으며, 이 경우에는 세포질 내에 이미 존재하고 있는 세포사멸 관련 단백질이나 기구의 활성화에 의한다. 이때에 중요한 역할을 하고 있는 단백질로서 여러 형태의 단백질 분해효소, 예를 들어 caspases와 calpain 등과 같은 non-caspases 류가 주목을 받고 있다<sup>9)</sup>. 이외에도 마이트콘드리아로부터 분비되는 세포사멸사 유도 물질들, 예를 들어 cytochrome c, apoptosis-inducing factor 등도 이와같은 부류에 속하며<sup>10)</sup>, 최근 들어 많은 연구가 이루어지고 있는 핵심 분야이다.

정상적으로 말초혈액의 T 세포와 관련된 세포사멸사의 기전도 많은 연구가 되고 있다. 특히 Fas-FasL계가 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있는데<sup>11, 12)</sup> FasL는 CD8+ T 세포와 Th0<sup>13, 14)</sup>, 그리고 CD4+ T 세포에서 TCR 이 특이항원에 의하여 자극받으면 표현된다<sup>15)</sup>. 이 과정은 src family나 다른 tyrosine kinase의 활성화가

필요하고 RNA와 단백질합성이 필요한 과정이다. 말초 T 세포는 항원자극을 준 후에만 Fas 매개 세포사멸사에 대하여 예민하여 지며<sup>16, 17)</sup>, 항원에 의하여 유도된 세포사멸은 FasL 표현 유도에 의하여 일어난다<sup>18)</sup>. FasL에 의한 세포사멸사는 세포막에 결합된 FasL에 의한 것과 수용성 FasL분자에 의한 경우의 두가지로 나누어진다. 즉 T 세포 자신의 FasL 표현이 증가하여 사멸하는 경우나 주변의 T 세포가 표현하는 FasL에 의하여 일어날 수 있고, FasL가 metalloproteinase에 의하여 수용성 형태로 분비되어 전신적인 효과를 가져오는 경우가 있다. 결국 Fas에 의하여 매개되는 사멸은 항원 자극 후에 활성화된 T 세포의 수를 줄이고<sup>19)</sup>, self tolerance를 유지하는 중요한 기전이다<sup>20)</sup>. 그러나 Fas-FasL를 통한 세포사멸사 경로 외에 성장 촉진인자인 cytokine의 결핍이 세포죽음의 주된 원인이 되기도 한다<sup>21)</sup>.

B 세포와 Fas-FasL 계와의 상관관계에 관한 연구도 활발하게 이루어지고 있는데 lpr나 gld 돌연 변이 마우스에서 B 세포는 hyperactive한데, 이는 B 세포 자체의 장애 때문에 일어나거나 T 세포가 B 세포를 부적절하게 돕기 때문이다<sup>22)</sup>. Severe combined immunodeficiency (SCID) 마우스는 스스로의 T세포나 B 세포를 생성하지 못하는 마우스인데 SCID 마우스에 사람의 말초 림프구를 전달한 후 특이항원과 agonistic 항 Fas 항체를 투여하면 항원특이적인 면역저하가 일어난다. 이 면역저하에서 관찰되는 특이항체의 감소는 항원특이 항체를 생성하는 세포의 수와 비례한다. 이 결과를 통하여 항원특이적으로 활성화된 B 세포의 세포사멸사가 체액성면역을 조절함을 알 수 있다<sup>23)</sup>.

CD40 동시자극과는 무관하게 B 세포 표면 항원수용체인 IgM을 자극하면 Th1 세포에 의한 CD95L 매개 세포사멸사가 일어나지 않는다. 반면에 IgM 자극없이 CD40로 B 세포를 자극하면 Th1 세포에 의한 CD95L 매개 세포사멸사가 일어난다<sup>24)</sup>. 이 결과는 활성화된 T 세포가 B 세포 expansion을 조절함을 말한다. 즉 B 세포 항원수용체를 통한 신호가 없는 상태에서 활성화된 T 세포가 B 세포의 CD40을 통한 신호를 주면 B 세포가 세포사멸사로 들어간다. 이와 같이 CD4+ T 세포가 매개하는 B 세포 죽음은 B 세포가 표현하는 Fas와 T 세포가 표현하는 FasL에 달려있으며<sup>25)</sup> Fas-FasL system은 self reactive B 세포를 제거하며 B 세포의 self tolerance를 조절하는 기전이다<sup>26)</sup>.

본 연구에서 이와 같은 말초혈액 단핵구에 대한 세포자멸사의 연령별 차이를 관찰하여 보았다. 사실 본 연구는 연령별 말초혈액의 세포자멸사의 차이를 관찰하기 위하여 연구를 시도한 것이기 보다는 정상인의 말초혈액을 가지고 바이러스 감염에 의한 세포자멸사를 연구하다가 우연하게 발견된 것이다. 본 연구에서 연령별로 말초혈액 단핵구의 세포자멸사의 차이는 단핵구에 포함된 T 세포, B 세포, monocyte, natural killer cell 등을 나누어서 연구하는 것이 원칙이었지만 각각의 세포를 분리하는 과정에서 올 수 있는 세포자멸사에 미칠 영향을 고려하고, 또 소아 영역에서 연구에 합당한 만큼의 각각의 세포를 얻기 위하여 필요한 채혈량을 고려할 때 어려움이 따르기 때문에 불가능하였다. 이러한 이유로 소아 질환에서 말초혈액의 세포자멸사를 연구할 때 전체적인 말초혈액 단핵구를 그대로 사용하기 때문에, 본 연구에서처럼 말초혈액 단핵구를 한꺼번에 사용하여 연구하는 것도 의미가 있으리라 생각된다.

연령별 세포자멸사의 차이는 매우 흥미로운 결과를 보여주고 있었다. 전체적으로 보면 제대혈로 표현되는 출생시 말초혈액의 단핵구는 거의 세포자멸사가 일어나지 않는 것을 알 수 있었고 이러한 성질은 출생후 1세에 이르기까지 정 반대로 다른 연령군에 비하여 세포자멸사가 가장 잘 일어나는 세포로 변해 있음을 알 수 있었다. 이러한 현상은 점차로 감소하기 시작하여 10세가 넘어서 부터는 정상 성인과 다를 바 없는 결과를 보이고 있었다. 이와같은 결과는 여러가지로 생각할 수 있겠지만 가장 가능한 추측으로는 출생 직후 말초혈액 단핵구는 거의가 virgin cell로 구성되어 있기 때문으로 생각된다. 앞서 기술한대로 말초혈액 T 세포나 B 세포의 세포자멸사는 주로 항원자극에 의하여 유도되는 세포사멸이 주종을 이루고 있다는 사실이다. 즉 출생 직후 말초혈액은 항원자극이 전혀 없는 상태이기 때문에, 다시 말해서 세포자멸사 유도 자극을 전혀 받지 않은 상태이기 때문에 다른 연령군에 비하여 가장 낮은 세포자멸사율을 보이고 있는 것으로 생각할 수 있다.

출생후가 되면 태내에서 접하지 못하던 항원에 무수히 노출되기 시작하면서 한 개체가 생태계에서 살아남기 위하여 면역학적인 기억(immunological memory)을 다양하게 만들어 가기 시작하여야 한다. 이 시기는 출생 후부터 시작하여 계속되는 현상이지만

특히 생후 1세까지는 예방접종을 포함하여 가장 다양한 항원과 접하는 시기이다. 그러므로 이 시기에 단핵구는 계속해서 항원에 자극을 받아 활성화되면서 세포자멸사가 활발하게 일어나게 되는데 이러한 이유로 이시기의 말초단핵구의 세포자멸사가 가장 높게 일어나고 있는 것이 아닌가 생각된다. 이러한 항원접촉은 그 후에도 계속되지만 10세가 넘어서는 새로운 항원과의 접촉은 사실상 미미하다고 해도 과언이 아닐 것이다. 그렇기 때문에 이 나이부터는 감염성질환을 위시로 한 질환이 거의 없어 병원을 찾는 일은 별로 없게 된다. 그러므로 10세 이후부터는 성인과 비교하여 말초단핵구의 세포자멸사는 큰 차이가 없다는 것이 설명될 수 있을 것이다.

물론 이러한 연령별 세포자멸사의 차이가 어떠한 이유에서 오는 지는 더 많은 연구가 이루어져야 할 것이지만, 소아 연령에서 말초혈액단핵구를 이용한 세포자멸사를 연구하려면 이러한 서로 다른 차이를 이해하고 연구해야 할 것으로 생각되며, 본 연구의 결과는 앞으로 소아질환에서 세포자멸사의 증감 여부를 연구하는데 있어서 기초자료가 될 수 있을 것으로 생각된다.

#### 참 고 문 헌

- 1) Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: A basis of biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972;26:239-57.
- 2) Raff MC. Social controls on cell survival and cell death. *Nature(London)* 1992;356:397-400.
- 3) Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995; 267:1456-62.
- 4) Tedder TF, Clement LT, Cooper MD. Human lymphocyte differentiation antigens HB-10 and HB-11. I. Ontogeny of antigen expression. *J Immunol* 1985;134:2983-8.
- 5) Clarke PGH, Clarke S. Nineteenth century research on naturally occurring cell death and related phenomenon. *Anat Embryol* 1996;193:81-99.
- 6) Webb SJ, Harrison DJ, Wyllie AH. Apoptosis: An overview of the process and its relevance in disease. *Adv Pharmacol* 1997;41:1-34.
- 7) Vaux DL. Toward an understanding of the molecular mechanisms of physiological cell death.

- Proc Natl Acad Sci USA 1993;90:786-9.
- 8) 김원호. 세포사멸과 질병. 녹십자의보 1996;24:275-88.
  - 9) Cryns V, Yuan J. Proteases to die for. *Gene Devel* 1998;12:1551-70.
  - 10) Kroemer G, Dallaporta B, Resche-Rigon M. The mitochondrial death/life regulator in apoptosis and necrosis. *Ann Rev Physiol* 1998;60:619-42.
  - 11) Suda T, Okazaki T, Naito Y, Yokota T, Arai N, Ozaki S, et al. Expression of the Fas ligand in cells of T cell lineage. *J Immunol* 1995;154:3806-13.
  - 12) Bossi G, Griffiths GM. Degranulation plays an essential part in regulating cell surface expression of Fas ligand in T cells and natural killer cells. *Nat Med* 1999;5:90-6.
  - 13) Carter LL, Dutton RW. Relative perforin- and Fas-mediated lysis in T1 and T2 CD8 effector populations. *J Immunol* 1995;155:1028-31.
  - 14) Li JH, Rosen D, Ronen D, Behrens CK, Kramer PH, Clark WR, et al. The regulation of CD95 ligand expression and function in CTL. *J Immunol* 1998;161:3943-9.
  - 15) Wang JKM, Zhu B, Ju ST, Tschopp J, Marshak-Rothstein A. CD+ T cells reactivated with superantigen are both more sensitive to FasL-mediated killing and express a higher level of FasL. *Cell Immunol* 1997;179:153-64.
  - 16) Park CG, Lee SY, Kandala G, Lee SY, Choi Y. A novel gene product that couples TCR signalling to Fas(CD95) expression in activation-induced cell death. *Immunity* 1996;4:583-91.
  - 17) Alderson MR, Tough TW, Davis-Smith T, Braddy S, Falk B, Schooley KA, Goodwin RG, et al. Fas ligand mediated activation-induced cell death in human T lymphocytes. *J Exp Med* 1995;181:71-7.
  - 18) Leonardo MJ, Boehme S, Chen L, Combadiere B, Fisher G, Freedman M, et al. Autocrine feedback death and the regulation of mature T lymphocyte antigen responses. *Int Rev Immunol* 1995;13:115-34.
  - 19) Ju ST, Panka DJ, Cui H, Ettinger R, el-Khatid M, Sherr DH, et al. Fas(CD95)/FasL interactions required for programmed cell death after T-cell activation. *Nature* 1995;73:444-8.
  - 20) Brunner T, Mogil RJ, LaFace D, Yoo NJ, Mahboubi A, Echeverri F, et al. Cell-autonomous Fas(CD95)/Fas-ligand interaction mediates activation-induced apoptosis in T-cell hybridomas. *Nature* 1995;373:441-4.
  - 21) Kung JT, Beller D, Ju ST. Lymphokine regulation of activation-induced apoptosis in T cells of IL-2 and IL-2R beta knockout mice. *Cell Immunol* 1998;185:158-63.
  - 22) Chien MM, Zahradka KE, Newell MK, Freed JH. Fas-induced B cell apoptosis requires an increase in free cytosolic magnesium as an early event. *J Biol Chem* 1999;274:7059-66.
  - 23) Akagi T, Yoshino T, Kondo E. The Fas antigen and Fas-mediated apoptosis in B cell differentiation. *Leuk Lymphoma* 1998;28:483-9.
  - 24) Altmeyer A, Simmons RC, Krajewski S, Reed JC, Bornkamm GW, Chen-Kiang S. Reversal of EBV immortalization precedes apoptosis in IL-6-induced human B cell terminal differentiation. *Immunity* 1997;7:667-77.
  - 25) Sater RA, Sandel PC, Monroe JG. B cell receptor-induced apoptosis in primary transitional murine B cells: Signalling requirements and modulation by T cell help. *Int Immunol* 1998;10:1673-82.
  - 26) Lopez-Hoyos M, Carrio R, Merino J, Merino R. Regulation of B cell apoptosis by Bcl-2 and Bcl-XL and its role in the development of autoimmune disease. *Bioorg Med Chem* 1998;1:475-83.