

A Factor Stimulating DNA Synthesis Derived from the Medium of Leukocyte Cultures

S Kasakura, L LowensteinC · Nature · 1965

림프구 배양에서 나온 물질이 DNA 합성을 촉진한다는 것을 보여준 논문, 이것은 최초의 림포카인 혹은 사이토카인의 발견으로 인정됩니다.

1960년대 중반은 오늘날 면역학의 핵심 개념 가운데 하나인 **림포카인**(lymphokine), 더 나아가 **사이토카인**(cytokine) 개념이 태동하던 시기였습니다.

특히 1965년에 발표된 두 편의 논문은 “면역계는 어떻게 조절되는가”라는 질문에 처음으로 실험적 실마리를 제공했다는 점에서 역사적 의미를 갖습니다.

이 시기의 연구자들은 더 이상 면역 반응을 항체 하나로만 설명할 수 없다는 사실을 직감하고 있었습니다.

외부 항원이 들어왔을 때 면역 반응은 어떻게 시작되고, 얼마나 강해지며, 언제 멈추는가.

이 질문에 답하기 위해서는 **림프구가 분비하는 어떤 ‘신호 물질’**을 상정하지 않고는 설명이 불가능했기 때문입니다.

1965년 Nature에 실린 첫 번째 논문

첫 번째 논문의 저자는 **Shinpei Kasakura**와 **Louis Lowenstein**입니다.

두 사람은 캐나다 몬트리올의 **McGill University** 의과대학 혈액내과 소속이었으며, 논문은 1965년 **Nature**에 게재되었습니다.

논문 제목은 “A Factor Stimulating DNA Synthesis Derived from the Medium of Leukocyte Cultures” 이었는데, 당시만 해도 이 물질을 만들어내는 세포가 무엇인지 알 수가 없었으므로 그냥 백혈구라고만 표현한 것이었습니다.

이 연구가 나오기까지의 배경

이 논문은 1960년대 초반의 일련의 발견 위에 세워졌습니다. 1960년 **Peter Nowell**은 림프구가 특정 자극 하에서 DNA 합성과 세포 분열을 할 수 있음을 보여주었습니다.

그 이전까지 림프구는 '거의 분열하지 않는 세포'로 여겨졌기에, 이는 상당한 전환점이었습니다.

이어 1963년, 뉴욕대학의 **Kurt Hirschhorn**은 특정 항원(specific antigen)이 이미 면역 기억을 가진 사람의 림프구를 선택적으로 분열시킬 수 있음을 보고했습니다. 이는 **면역 기억**(immunologic memory)이 세포 수준에서도 관찰 가능하다는 사실을 보여준 중요한 연구였습니다.

1964년에는 혈액학자 **Barbara Bain**이 서로 다른 두 사람의 림프구를 한 배양에서 섞으면 세포들이 활성화되어 분열한다는 사실을 발견합니다. **혼합 림프구 배양**(mixed lymphocyte culture, MLC)으로 불리는 현상입니다.

이 세 가지 발견이 모이면서, 이식 면역학자들 사이에서는 "이 반응을 이용해 장기 이식의 성공 가능성을 미리 예측할 수 있지 않을까?" 라는 질문이 자연스럽게 제기되기 시작했습니다.

DLC (mixed lymphocyte culture)

DLC는 "혼합림프구 배양"이라고 번역되며, 서로 다른 사람의 림프구를 섞어서 함께 배양하는 것을 말합니다. 이것은 장기이식의 적합성을 연구하는 데 매우 중요한 자료가 됩니다. 이것을 동종림프구 배양이라고도 하는데, 여기서 동종이라는 것은 같은 species 라는 의미입니다.

배양 상층액에 주목하다

Kasakura와 Lowenstein은 한 걸음 더 나아갑니다. 당시 보고에 따르면, 개나 토끼의 림프구 배양에 서는 **조직적합성 항원**(histocompatibility antigen)이 수용성(soluble) 성분으로 배양액에 나타날 수 있었습니다.

그렇다면 혼합 림프구 배양에서 얻은 **상층액**(supernatant)에도 다른 세포의 분열을 자극하는 무언가가 존재하지 않을까? 이 질문이 바로, 훗날 림포카인으로 불리게 되는 개념의 출발점이었습니다.

실험 설계와 핵심 결과

이들은 말초혈에서 분리한 백혈구 전체를 배양한 뒤, 배양 상층액을 여러 단계의 원심분리로 처리하여 상층액과 침전물로 나누어 시험했습니다.

그 결과는 명확했습니다.

- 혼합 림프구 배양에서 얻은 상층액은 **다른 사람(allogeneic)의 세포에 강한 증식 반응**을 유도했습니다.
- 한 사람의 세포만 배양한 상층액은 같은 사람(autologous)의 세포에는 거의 반응을 일으키지 않았습니다.
- 가장 강한 활성은 언제나 **두 사람의 세포를 섞은 조건**에서 나타났습니다.

이 물질이 단순히 죽은 세포에서 흘러나온 잔해인지, 아니면 살아 있는 세포가 새로 합성해 분비한 것인지는 당시로서는 완전히 규명되지 않았습니다. 또한 저자들은 조심스럽게 이것이 조직적합성 항원의 가능성을 언급하며 결론을 맺습니다.

같은 해, 같은 학교에서 나온 두 번째 논문

A Lymphocyte-stimulating Factor produced in vitro

J.GordonS, Lloyd MacLean · Nature · 1965

림프구에서 림포카인이 나온다는 것을 보고한 논문.

앞의 논문 바로 뒤를 이어 **Julius Gordon**과 **Lloyd MacLean**의 논문이 같은 저널(Nature)에 실립니다.

이들은 혼합 림프구 배양에서 분열을 유도하는 **유사분열 유도 인자**(mitogenic factor)의 존재를 보다 직접적으로 검증하려 했습니다.

이 논문에서는 세포를 인위적으로 파괴해 얻은 파쇄물보다, **살아 있는 세포가 대사 활동을 통해 만들어 낸 상층액**에서만 강한 활성이 나타난다는 점이 분명히 드러났습니다.

즉, 이 실험으로 세포의 손상 등으로 우연히 나온 것이 아니라, **세포가 의도적으로 분비한 물질**이라는 해석이 가능해졌습니다.

실험 요약

실험방법 요약

1. 사람 말초혈에서 백혈구 분리

- 림프구와 단핵구가 섞인 백혈구 집단을 사용함
- 초기에는 세포 아형을 구분하지 않음

2. 두 가지 배양 조건 설정

- **단일 배양**(single culture): 한 사람의 백혈구만 배양
- **혼합 배양**(mixed lymphocyte culture, MLC): 서로 다른 두 사람의 백혈구를 함께 배양

3. 배양 후 물질 분리

- 일정 기간(1-5일) 배양 후 원심분리하여
 - 살아 있는 정상 세포
 - 파쇄된 세포
 - **세포가 제거된 상층액**(cell-free supernatant) 등을 각각 준비함

4. 새로운 세포 배양에 이식

- 위에서 얻은 세포 또는 상층액을
 - 다른 사람(allogeneic) 또는
 - 자기 자신(autologous)의 백혈구 배양에 첨가함

5. 반응 측정

- DNA 합성 및 유사분열 여부를 지표로
- 세포 증식(분열)이 일어나는지 평가함

6. 대조 실험

- 세포 파쇄물, 가열 처리 세포, 대사 억제제 처리 등을 통해
 - 단순한 세포 잔해인지
 - 살아 있는 세포가 새로 합성·분비한 물질인지를 구분함

실험결과 Table 1. 서로 다른 배양 조건에서 얻은 분획에 의한 단일 배양 세포의 자극 효과

Mitogenic factor의 출처	이식 전 배양 기간 (일)	이식한 물질	유사분열 활성 (양성/전체)
단일 배양 (Single cultures)	Nil	2×10^6 개의 정상 세포 (intact cells)	61 / 63
단일 및 혼합 배양 (Single and mixed cultures)	Nil	$2-40 \times 10^6$ 개의 파쇄 세포 (disrupted cells)	0 / 6
단일 배양 (Single culture)	Nil	가열 세포 (50°C, 5분)	0 / 2
혼합 배양 (Mixed cultures)	1	파쇄 세포 + 배지 (disrupted cells and medium)	3 / 3
혼합 배양 (Mixed cultures)	1-5	세포 제거 배지 (cell-free medium)	16 / 16
단일 배양 (Single cultures)	4-5	세포 제거 배지 (cell-free medium)	3 / 3 †
단일 배양 (Single cultures)	4-5	세포 제거 배지 (cell-free medium)	0 / 3 ‡

각주

- 유사분열 활성: 분자 = 양성 반응 수, 분모 = 전체 실험 횟수
- † homologous cells(동종 세포)에 이식
- ‡ autologous cells(자가 세포)에 이식

Table 2. 동일한 배양에서 유래한 세포 제거 배지 및 파쇄 세포에 의한 단일 배양 세포 자극

배양된 세포 (Cells incubated)	이식 전 배양 기간 (일)	시험한 분획 (Fractions tested)*	반응 A	반응 B
A + B	4	세포 제거 배지 (cell-free medium)	+++	+++
A + B	4	세척한 파쇄 세포 (washed disrupted cells)	0	0
A	4	정상 세포 (intact cells)	0	+++

- 세포 제거 배지와 파쇄 세포는 **같은 배양**(same cultures)에서 유래함.

표 해석을 위한 핵심 포인트

- **A + B 혼합 배양에서 나온 세포 제거 배지**는 A 세포와 B 세포 모두에 강한 증식 반응(+++)을 유도함
- **같은 배양에서 나온 파쇄 세포**는 어떤 경우에도 반응을 유도하지 못함(0)
- **A 세포를 그대로 옮긴 경우에는 B 세포에서만 강한 반응(+++)이 나타남** → allo 반응

이 표는 **분열 유도 효과의 본체가 '깨진 세포'가 아니라, 혼합 배양 중 살아 있는 세포가 분비한 '세포 없는 상층액'에 존재한다**는 점을 매우 선명하게 보여주는 데이터입니다.

즉, 위의 실험 Table1은 세포분열을 유도하는 활성은 세포 잔해가 아니라, 혼합 배양 중 살아 있는 세포가 새로 만들어 분비한 물질에 있음을 명확하게 했으며, Table 2는 이것이 세포를 제거한 배지에 있는 성분이라는 것을 명백히 보여준 실험입니다.

림포카인 개념의 탄생과 그 의미

이 두 편의 1965년 논문은 함께 “림프구는 서로를 자극하며, 분열을 유도하는 물질을 분비한다”는 개념을 처음으로 강하게 제시했습니다.

처음에는 이 물질을 림프구에서 나온다는 의미로 **림포카인**(lymphokine)이라 불렀습니다. 이후 다른 세포들도 유사한 물질을 만든다는 사실이 밝혀지며 개념은 **사이토카인**(cytokine)으로 확장됩니다.

이 개념은 면역학계에 큰 논쟁을 불러왔습니다.

항체 중심의 전통적 면역학자들은 정체가 불분명한 ‘팩터’를 쫓는 연구에 회의적이었습니다.

반면, 세포 간 신호 전달 물질이야말로 면역 반응의 시작과 조절을 설명하는 핵심이라고 보는 흐름도 커져갔습니다.

결국 이 논쟁은 1980년대에 들어 인터루킨, 인터페론, TNF 같은 분자들이 실제로 정제·동정되며 마무리되게 됩니다.

그 출발점에는 바로, 1965년의 이 두 편의 논문이 있었습니다.

정리하며

Kasakura & Lowenstein, 그리고 Gordon & MacLean의 연구는 면역계를 시험관 안에서 조작하고 분석할 수 있는 길을 열었습니다.

이 이야기는 별것 아닌 것으로 보이지만, 이 후의 연구를 발견된 것이 이것이 IL-2로 밝혀지고, 이것은 3개의 subunit으로 구성되어 있으며, 그중 하나가 2025년 노벨상을 받은 Treg의 가장 중요한 표지자인 CD25입니다. 즉 면역학에서 보기 드물게 하나의 이야기로 면역학 전반을 이야기 할 수 IL-2 saga의 시작이라고 할 수 있습니다.

오늘날 우리가 사이토카인을 통해 면역을 이해하는 방식은, 바로 이 시기의 조심스럽지만 대담한 실험들 위에 서 있다고 해도 과언이 아닙니다.

관련 글

PHA와 림프구 증식: 세포면역학의 출발점

항원이 림프구를 깨우는 순간: 히르슈혼의 항원 특이적 림프구 실험

감마 인터페론의 발견: 면역 인터페론과 림포카인 시대의 개막

대식세포 상등액에서 시작된 사이토카인 개념의 탄생

참고문헌

1. Kasakura S, Lowenstein L. Nature, 1965. 논문 링크
2. Gordon J, MacLean L. Nature, 1965. 논문 링크