

Lipopolysaccharide 항원에 노출된 발생초기의 림프절내 B 및 T 림프구의 면역학적 변화

안금선^{1*}
¹경북대학 치위생과

Immunological Change of the Lymph Node and Lymph Follicles, Stimulated LPS in the Popliteal Lymph Node of the Early Postnatal Mice

Keum Sun Ahn^{1*}

¹Department of Dental Hygiene Kyungbok College

요 약 가슴샘 비의존성 항원이며 B 림프구의 분열원으로 알려져 있는 lipopolysaccharide(LPS)를 발육초기의 C57BL/6 계 생쥐에 투여한 후 림프조직의 성숙과정에 따른 면역반응의 양상을 발생학적인 측면에서 형태학적으로 규명하고자 본 실험을 시행하였다.

1. 생후 0일과 3일에 LPS를 주사한 군에서는 주사 후 시간경과에 따라서 림프소절의 총수가 대조군에 비하여 증가되지 않았다.
2. 생후 5일과 7일에 LPS를 주사한 후 2-4주가 경과되었을 때 림프소절의 총수는 대조군에 비하여 유의성있게 증가하였다.
3. 생후 0일에서부터 1주 사이에 LPS를 주사한 후 1-4주가 경과된 실험군에서는 모든 림프절과 심층피질의 면적이 대조군에 비하여 약 1.5-3배정도 커졌다.
4. 생후 3일, 5일 및 1주에 LPS를 주사한 후 2-4주가 경과된 실험군에서는 면적이 0.1 mm² 이상인 림프소절들이 대조군에 비하여 증가하였다.
5. 생후 5일과 1주에 LPS를 주사한 후 2-4주가 경과된 실험군에서는 면적이 0.01 mm² 미만인 림프소절들이 대조군에 비하여 증가하였다.

이상의 실험결과로 미루어 볼 때 LPS의 자극에 의한 새로운 림프소절의 형성능력은 생후 5일-1주에 이루어지며, 또한 새로 생성되는 림프소절들은 면적이 0.01 mm² 미만인 작은 림프소절들일 것으로 예측된다.

Abstract This study was designed to clarify the morphometrical change of lymph node, deep cortex and lymph follicles in draining lymph nodes of young mice in response to local injection of lipopolysaccharide(LPS).

1. In the group stimulated with LPS, aged 0 day and 3 days, the number of lymph follicles were not significantly different from those of control group.
2. In the group two to four weeks after injection with LPS, aged five days and one week, the number of lymph follicles were significantly increased from those of control group.
3. In the group one to four weeks after injection with LPS, aged 0 day, three days, five days and one week, the area of lymph node and deep cortex increased about 1.5-3 times more than that of the control group.
4. In the group two to four weeks after injection with LPS, aged three days, five days and one week, the lymph follicles(the area: larger than 0.1 mm²) were increased from those of control group.
5. In the group two to four weeks after injection with LPS, aged five days and one week, the lymph follicles(the area: smaller than 0.01 mm²) were increased from those of control group.

In view of these experimental findings, the formation of lymph follicles were induced by LPS stimulation from 5 days to one week after birth. The newly formed lymph follicles area in response to LPS may be less than 0.01mm².

Key Words : Lymph Node, Lymph Follicles, LPS

*교신저자 : 안금선(kyungbok.ac.kr)

접수일 10년 12월 20일

수정일 11년 02월 09일

게재확정일 11년 02월 10일

1. 서론

림프절(lymph node)은 말초림프기관으로서 림프의 여과, 이물질의 포획등의 기능과 T 및 B 림프구의 재순환의 주요 통로로서 작용한다[1,2]. 또한 세포성 및 체액성 면역반응(cellular and humoral immune response)에 관여하는 T와 B림프구, 큰포식세포 (macrophage) 및 항원진달세포 (antigen presenting cell)등이 림프절내 각각 특정구역에 존재하며 이들이 상호 작용하여 총체적인 면역반응을 일으키고 있다[3]. 림프절의 피질 중 표층피질(peripheral cortex)은 주로 B림프구로 구성되는 B 세포 의존성영역으로서[3-5,7], 여기에는 소림프구(small lymphocyte)의 집단인 림프소절과 림프소절사이영역(interfollicular space)으로 구분된다. 심층피질은 T 세포 의존성영역으로서[6,8,9], T림프구와 모세혈관이후소정맥 및 세망조직으로 구성된다. 또한 심층피질의 상면에 있는 피막밑동(subcapsular sinus)의 중앙부로 수입림프관이 개구하고 있으며, 수입림프관을 통한 림프의 유입이 심층피질의 발생과 유지에 중요한 역할을 담당한다[2,10]. 림프절을 형성하는 비림프구 중에서 수지상세망세포(dendritic reticulum cell)는 T 및 B림프구의 발생, 상호작용 및 안주(homing)에 중요한 역할을 담당하고 있을 뿐만 아니라 항원물질을 포획, 보유하는 능력을 갖고있다[4,17].

생체내에서 항원을 투여한 후 림프기관에서 일어나는 면역반응을 조직수준에서 연구하는 조직면역학 분야의 연구동향은 여러 종류의 항원, 즉 가슴샘 의존성 및 비의존성 항원 등을 이용한 면역학적 연구, 나아가 항원에 보강제 (adjuvant) 및 부착제(hapten)등을 첨가시켜 항원-항체반응의 복잡성에 대한 연구가 각 분야에 걸쳐서 활발히 진행되고 있음은 주지의 사실이다. 즉 항원-항체를 이용한 세포면역학적 연구, 림프절의 연속절편을 만들어 삼차원적 해석방법으로 림프절내 면역반응의 양상을 형태학적으로 연구하거나[11,12] 혹은 항원자극에 의한 면역반응의 기원을 밝히기 위하여 림프절의 구성세포인 림프구 및 비림프구의 미세구조의 변화 등에 대해서도 연구가 진행되고 있다. 또한 항원자극에 의한 림프절의 변화에 대해서 임상의학적으로[14-16]연구가 추구되고 있다. 따라서 본 연구는 외래성 항원자극이 발육초기의 림프절내에서 림프소절과 종자중심의 발생에 어떠한 영향을 미치는가를 형태학적으로 규명함으로써 체액성면역 반응의 유발시기에 있어서 림프절의 면역학적 역할을 규명하는데 그 목적이 있다. 즉 B 림프구 의존성 항원이며 B림프구의 분열원(mitogen)인 lipopolysaccharide(이하 LPS로 약함)를 항원으로 투여한 후 림프절내 림프소절과 종자

중심이 변화하는 과정을 조직학적으로 연구하고자 한다. 또한 이와 같은 외래성 항원자극에 대한 면역반응이 생후 어느 시기에 유발되는가를 명확히 밝히기 위하여 림프절을 삼차원적 분석방법으로 재구성하여 관찰하고자 본 실험을 실시하였다.

2. 재료 및 방법

2.1 실험동물

일본대학 동물사육장에서 분양받은 생후 0일에서 부터 1주까지의 C57BL/6계 생쥐를 암,수 구별없이 사용하였다. C57BL/6계 생쥐는 다른 계통에 비하여 오금림프절의 수가 1개뿐이며, 또한 림프절내 림프소절의 수가 비교적 일정하게 나타나기 때문에[26] 본 실험에 사용하게 되었다. LPS를 생후 0일, 3일, 5일 및 1주령의 실험동물의 좌측 발바닥에 1회 피하주사한 후 시간경과에 따라서 실험군을 설정하였다. 이때 항원을 직접 주사하지 않은 우측의 오금림프절은 대조군으로 배정하였다.

2.2 항원의 성질

본 실험에 사용한 항원은 가슴샘 비의존성 항원이며 B 림프구의 분열원으로 알려져 있는 lipopolysaccharide(E. Coli lipopolysaccharide B, lot 0111, B4, Difco사제)를 사용하였다. 주사용량은 LPS를 생리식염수에 용해한 후 체중 20g당 30ug을 실험동물의 좌측 발바닥에 1회 피하주사 하였다.

2.3 조직표본의 제작

LPS를 각 실험군의 실험동물에 주사한 후 1-4주가 경과 후 각각 희생시켰으며, 최소한 각 실험군에 실험동물을 3마리 이상씩 배정하였다. 절취된 양측의 오금림프절은 Zenker-formol액에 3-5시간 고정한 후 JB-4 resin으로 대조군과 실험군의 오금림프절을 함께 포매(embedding)하였다. 그 후 초박절편기를 이용하여 3 μ m의 연속절편을 만든 후, 연속 2장의 절편중 1장씩을 선택하여 슬라이드에 연속으로 붙인후 May-Grunwald & Giemsa염색하였다.

2.4 림프절의 재구성 및 형태계측학적 측정

오금림프절과 림프절내의 표층피질에 분포되어 있는 림프소절들, 또한 T 림프구로 구성되어 있는 심층피질의 분포양상을 입체적으로 정확히 파악하기 위하여 다음과 같은 방법을 이용하였다. 현미경에 묘사기 (drawing

apparatus, Olympus사제)를 부착시킨 후, 연속 절편된 림프절을 40배의 저배율로 확대시켜 연속적으로 림프절의 그림을 그렸다. 즉 B 림프구의 집단인 림프소절, T 림프구로 구성되어 있는 심층피질 및 수질의 구조물을 포함하는 림프절을 연속으로 그린후 3차원적 방법(Ahn et al.,1990)으로 해석하여 림프절을 재구축한 후 표층피질에 분포되어 있는 림프소절을 포함하여 심층피질의 위치를 확인하였다. 그 후 림프절, 심층피질 및 림프소절들의 변화를 형태계측학적으로 측정하기 위하여 영상분석기(Multiscan, AAB, USA)를 이용하였다. 측정하기 위한 방법으로는 림프절, 심층피질 및 림프소절만을 영상분석기에 인식시켜 림프절과 심층피질의 면적(mm²) 및 림프소절의 총수와 면적(mm²)을 측정하여 비교 관찰하였다.

관찰을 통한 구체적인 비교의 대상은 첫째 LPS를 주사하였을때 시간경과에 따라서 림프절내 림프소절들이 어떠한 숫적 변화를 일으키며, 둘째는 이러한 LPS의 자극에 의하여 림프절과 심층피질의 면적이 어떠한 변화를 초래하는지를 관찰하였다. 셋째는 림프절내 이미 존재하고 있는 림프소절들과 또한 LPS 자극에 의하여 새로이 형성될 수 있는 림프소절들의 면적을 형태계측학적으로 측정하였다.

3. 결과

3.1 림프절내 림프소절들의 숫적 변화

<그림 1, 2, 3 참조>

3.1.1 대조군

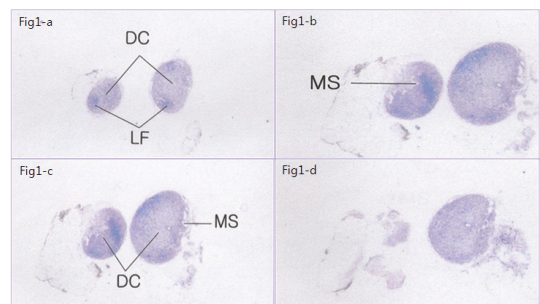
생후 0일, 즉 갓 태어난 생쥐의 림프절내에서는 림프소절들이 전혀 관찰되지 않았다. 그러나 생후 1주가 경과된 대조군의 림프절, 즉 LPS를 직접 주사하지 않은 반대측의 림프절내에서 관찰되는 림프소절의 총수는 2.0개였다. 그러나 생후 2주가 경과된 대조군의 림프절, 즉 생후 0일에 LPS 주사한 후 2주가 경과된 림프절내에서 관찰되는 림프소절의 총수는 각각 10.6개로서 생후 1주가 경과된 대조군에 비하여 7.4개나 증가하였다. 또한 생후 3주에서 부터 8주가 경과된 각각의 대조군들의 대부분에서 림프소절들의 총수는 9개-11개로서 각각의 대조군들 사이에 있어서 림프소절들의 총수는 서로 큰 차이가 없었으며, 이러한 양상은 생후 2주가 경과된 대조군의 림프소절들의 총수와 비슷한 수준을 나타내었다.

3.1.2 실험군

생후 0일에 LPS를 주사한 후 1주가 경과된 동측의 림프절, 즉 실험군의 림프절내에서 관찰되는 림프소절의 총수는 2.6개로서 대조군(2.0개)과 비슷한 수준을 나타내었다. 또한 2주가 경과된 실험군의 림프소절의 총수는 11.0개 개로서 1주군의 실험군에 비하여 무려 약 8.4개 증가하였으나 2주군의 대조군(10.6개)에 비해서는 유의성있는 증가를 나타내지 않았다. 또한 주사 후 3주 및 4주가 경과된 실험군의 림프절내 림프소절의 총수는 각각 11.5개 및 10.0개로서 대조군(각각 9.5개 및 9.2개)과 비슷한 수준을 나타내었다.

생후 3일에 LPS를 주사한 후 1주가 경과된 실험군의 림프절내에서 림프소절의 총수는 7.7개로서 대조군(6.2개)과 비슷한 수준을 나타내었다. 또한 주사 후 2주 및 3주가 경과된 실험군의 림프소절들의 총수는 각각 12.3개 및 13.3개로서 대조군(각각 10.3개 및 10.7개)에 비하여 2개정도 증가하였으나 유의성은 인정되지 않았다. 그러나 주사 후 4주가 경과된 실험군의 림프절내 림프소절의 총수는 14.6개로서 대조군(11.0개)에 비하여 3.6개 정도 유의성 있게 증가하였다.

생후 5일과 1주에 LPS를 주사한 후 1주가 경과된 실험군의 림프절 내에서 림프소절의 총수는 각각 11.5개 및 10.3개로서 대조군(각각 9.3개 및 9.0개)과 비슷한 수준을 나타내었다. 그러나 생후 5일과 1주에 주사한 후 2주가 경과된 실험군의 림프절내 림프소절의 총수는 각각 12.0개 및 13.5개로서 대조군(각각 10.4개 및 10.7개)에 비하여 2-3개 정도 증가하였으나 유의성은 인정되었다. 또한 생후 5일과 1주에 주사한 후 3주 및 4주가 경과된 실험군의 림프절내 림프소절의 총수는 각각 13.5개, 19.6개 및 18.0개, 23.0개로서 대조군(각각 9.5개, 10.3개 및 11.0개, 10.8개)에 비하여 유의성있게 4-12개 정도 많이 증가하였다.



[그림 1] D,C:심층피질, M,S: 수질동, LF: 림프소절

[표 1] LPS의 주사 후 오금 림프절에서 림프의 모공의 개수

Age of mice when LPS was injected	Intervals after injection of LPS(wks)	Number of lymph follicles Contralateral node	Ipsilateral node
0 day	1	2.0±0.5	2.6±0.4
	2	10.6±0.8	11.0±1.7
	3	9.5±0.9	11.5±0.6
	4	9.2±1.5	10.0±1.5
3 days	1	6.2±0.8	7.7±0.9
	2	10.3±0.8	12.3±2.1
	3	10.7±0.7	13.3±2.4
	4	11.0±0.7	14.6±2.6
5 days	1	9.3±1.2	11.5±1.9
	2	10.4±0.8	12.0±1.6*
	3	9.5±0.8	13.5±1.9*
	4	10.3±1.0	19.6±0.9*
1 week	1	9.0±0.7	10.3±0.7
	2	10.7±0.7	13.5±1.0*
	3	11.0±0.9	18.0±0.7*
	4	10.8±0.5	23.0±1.2*

1) Values are mean ± S.E.

* The number of lymph follicles per node on the injected side was significantly different from that on the contralateral side (p<0.05).

3.2 림프절과 심층피질의 면적 변화

<그림 1, 2, 3 참조>

3.2.1 대조군

생후 0일 즉 갓 태어난 생쥐의 오금림프절과 심층피질의 면적은 각각 0.04 mm² 및 0.02 mm²이었으나 생후 0일에 LPS를 주사한 후 1주가 경과된 반대측의 림프절인 대조군의 림프절과 심층피질의 면적은 각각 0.15 mm² 및 0.09 mm²로서 생후 0일군에 비하여 4배정도 증가하였다. 그러나 2주가 경과된 대조군, 즉 생후 0일에 주사한 후 2주가 경과된 대조군의 림프절과 심층피질 및 생후 1주에 주사한 후 1주가 경과된 대조군의 림프절의 면적은 각각 0.34 mm² 및 0.49 mm², 심층피질의 면적은 각각 0.23mm² 및 0.28mm²로서 생후 1주가 경과된 대조군의 면적보다 거의 2-3배 정도 커졌다. 또한 생후 0일에 주사한 후 3주 및 4주가 경과된 대조군의 림프절의 면적은 각각 0.65 mm², 및 0.74 mm², 심층피질의 면적은 각각 0.33 mm² 및 0.42 mm²로서 주사 후 1주가 경과된 대조군에 비하여 약 4-5배 정도의 증가를 나타내었다. 생후 3일, 5일 및 1주에 주사한 후 2-4 주가 경과된 모든 대조군들에서 림프절의 면적은 0.42 mm²

- 0.84 mm² 였으며, 심층피질의 면적은 0.29 mm² - 0.48 mm²로서 각각의 대조군들 사이에 약간의 차이를 나타내었다.

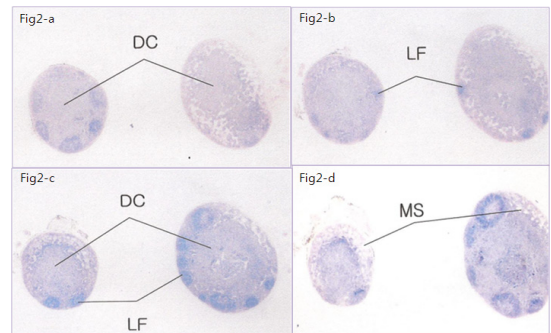
3.2.2 실험군

생후 0일에 LPS를 주사한 후 1주가 경과된 실험군의 림프절과 심층피질의 면적은 각각 0.21mm² 및 0.13 mm²로서 대조군(각각 0.15 mm² 및 0.09 mm²)에 비하여 약간 증대되어 약 1.4배 정도 증가하였다. 주사후 2주가 경과된 실험군의 림프절과 심층피질의 면적은 각각 0.51 mm² 및 0.35 mm²로서 대조군(각각 0.34 mm² 및 0.23mm²)에 비하여 약 1.5배 정도 증가하였음은 물론 주사후 1주군의 실험군에 비해서는 약 2.5배 정도 증가하였다. 주사후 3주 및 4주가 경과된 실험군에서는 림프절의 면적이 각각 0.82 mm² 및 1.02 mm², 심층피질의 면적은 각각 0.51 mm² 및 0.68 mm²로서 대조군의 림프절의 면적(각각 0.65 mm² 및 0.74 mm²)과 심층피질의 면적(각각 0.33 mm² 및 0.42 mm²)에 비하여 약 1.3-1.4배 정도 커진 양상을 나타내었다.

생후 3일에 LPS를 주사한 후 1주가 경과된 실험군의 림프절과 심층피질의 면적은 각각 0.53 mm² 및 0.34 mm²로서 대조군(각각 0.33 mm² 및 0.24 mm²)에 비하여 약 1.4-1.6 배 정도 커졌다. 이와 같은 양상은 각 실험군마다 약간의 차이는 있으나 주사 후 2-4주군까지 대조군에 비하여 1.6-1.7배 정도 커진 양상을 나타내었다.

생후 5일에 주사한 후 1주가 경과된 실험군의 림프절과 심층피질의 면적은 각각 0.85 mm² 및 0.43 mm²로서 대조군(각각 0.42 mm² 및 0.21 mm²)에 비하여 약 2배 정도 커졌다. 또한 주사 후 2-4주가 경과된 실험군에서의 림프절과 심층피질의 면적 역시 대조군에 비하여 약간의 차이는 있으나 약 2배 정도 증가된 양상을 나타내었다.

생후 1주에 주사한 후 1-4주가 경과된 실험군에 있어서 림프절의 면적과 심층피질의 면적 역시 각 실험군마다 다소 차이는 있으나 대조군에 비하여 약 2-3배 정도 증가하였다.



[그림 2] D,C:심층피질, M,S: 수질동, LF: 림프소절

[표 2] LPS의 주사 후 림프절과 깊은 피질 면적

Age of mice when LPS was injected	Intervals after injection of LPS(wks)	Area (mm ²) of lymph node and deep cortex	
		Contralateral node	Ipsilateral node
0 day	1	0.15 (0.09)	0.21 (0.13)
	2	0.34 (0.23)	0.51 (0.35)
	3	0.65 (0.33)	0.82 (0.51)
	4	0.74 (0.42)	1.02 (0.68)
3 days	1	0.33 (0.24)	0.53 (0.34)
	2	0.42 (0.29)	0.68 (0.44)
	3	0.66 (0.39)	1.15 (0.79)
	4	0.84 (0.53)	1.43 (0.95)
5 days	1	0.42 (0.21)	0.85 (0.43)
	2	0.53 (0.32)	1.13 (0.66)
	3	0.77 (0.38)	1.44 (0.75)
	4	0.78 (0.34)	1.62 (0.87)
1 week	1	0.49 (0.28)	1.28 (0.67)
	2	0.59 (0.30)	1.81 (0.95)
	3	0.66 (0.39)	1.94 (1.07)
	4	0.77 (0.48)	1.74 (0.94)

1) The number in parenthesis indicates the area of deep cortex

3.3 림프절 내 림프소절들의 면적 변화

<그림 1, 2, 3 참조>

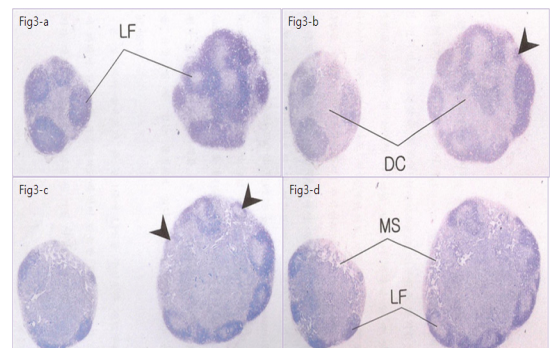
3.3.1 대조군

생후 0일에 LPS를 주사한 후 1주가 경과된 반대측의 림프절, 즉 대조군의 림프절내에서 관찰되는 모든 림프소절들의 면적은 0.01 mm² 미만이었다. 그러나 주사후 2주-4주가 경과된 대조군의 림프절내에 분포되어 있는 모든 림프소절들의 면적은 0.01mm²-0.05mm² 미만의 림프소절들이었다. 생후 3일, 5일 및 1주에 주사한 후 1-3주가 경과된 대조군에서의 모든 림프소절들의 면적은 0.01mm²-0.05 mm² 미만이었다. 그러나 4주가 경과된 대조군에서는 대부분의 림프소절들의 면적이 0.01mm²-0.05mm² 미만의 작은 림프소절들이었으나, 일부의 림프소절들은 면적이 비교적 큰 0.05mm²-0.1mm² 미만의 림프소절들도 소수 관찰되었다.

3.3.2 실험군

생후 0일에 LPS를 주사한 후 1주가 경과된 동측의 림프절인 실험군에서는 모든 림프소절들의 면적이 0.01 mm² 미만으로서 대조군과 비슷한 양상을 나타내었다. 그러나 주사후 2주가 경과된 실험군에서는 모든 림프소절들의 면적이 0.01-0.05 mm² 사이로서 대조군과 같은 수준을 나타내었으나, 주사후 1주가 경과된 실험군에 비하여 림프소절들의 면적이 증가되었다. 또한 주사후 3주와 4주가 경과된 실험군에서는 각각의 대조군에 비하여 림프소절들의 면적이 커졌을 뿐만 아니라, 주사 후 1주가 경과된 실험군에서도 관찰되지 않았던 면적이 0.05-0.1 mm² 미만의 림프소절들이 전체의 림프소절 중 16.9 % 및 25.9 %에서 관찰되었다. 이와 같은 양상은 생후 3일에 LPS를 주사한 후 1주가 경과된 실험군의 림프절내에 분포되어 있는 림프소절들의 면적과 비슷한 수준을 나타내었다. 그러나 생후 3일에 LPS를 주사한 후 3주 및 4주가 경과된 실험군에서는 다양한 크기의 면적을 가지고 있는 림프소절들이 관찰되었다. 즉, 대조군에서 전혀 관찰되지 않았던 면적이 비교적 큰 0.05 mm²-0.1 mm² 미만의 림프소절들은 물론 면적이 아주 큰 0.1 mm² 이상의 림프소절들도 관찰되었다.

생후 5일과 1주에 주사한 후 1주가 경과된 실험군에는 대조군에서 관찰되지 않았던 면적이 비교적 큰 0.05 mm²-0.1 mm² 미만의 림프소절들이 전체의 림프소절들 중 1/3 이상을 차지하고 있었다. 그러나 주사 후 2주-4주가 경과된 실험군에서는 대조군에서 관찰되지 않았던 면적이 비교적 큰 0.05 mm²-0.1 mm² 미만의 림프소절들은 물론 면적이 아주 큰 0.1 mm² 이상의 림프소절들도 관찰되었다. 특히 2주-4주가 경과된 실험군의 림프절내에서는 대조군에서 전혀 관찰되지 않았던 면적이 아주 작은 0.01mm² 미만의 림프소절들도 관찰되었다.



[그림 3] D.C:심층피질, M,S: 수질동, LF: 림프소절
→:새로 형성된 림프소절

[표 3] LPS의 주사 후 림프의 모공 면적

Age of mice when LPS was injected (weeks)	Intervals after injection of LPS (weeks)	Percentage of number of LF / Total number of LF							
		0.01mm ² or smaller		0.01 ~ 0.05mm ²		0.05 ~ 0.1 mm ²		0.1mm ² or larger	
		C	I	C	I	C	I	C	I
0 day	1	100	100	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	100	100	0	0	0	0
	3	0	0	100	83.1	0	16.9	0	0
	4	0	0	100	74.1	0	25.9	0	0
3 days	1	0	0	100	100	0	0	0	0
	2	0	0	100	68.1	0	31.9	0	0
	3	0	0	100	46.6	0	36.7	0	16.7
	4	0	0	85.5	36.1	14.5	30.6	0	33.3
5 days	1	0	0	100	63.8	0	36.2	0	0
	2	0	0	100	66.7	0	22.2	0	11.1
	3	0	18.6	74.9	24.3	25.1	42.8	0	14.3
	4	0	25.1	87.7	11.9	12.3	37.5	0	25.5
1 week	1	0	0	100	57.2	0	42.8	0	0
	2	0	15.3	100	25.8	0	31.0	0	27.9
	3	0	25.0	100	13.1	0	28.6	0	33.3
	4	0	37.5	85.2	32.5	14.8	17.5	0	12.5

LF = lymph follicle
 C = contralateral node
 I = Ipsilateral node

4. 고찰

근래에 들어 외래성 항원자극에 의한 면역반응의 기전을 규명하기 위한 연구가 각 분야에 걸쳐서 활발히 진행되고 있다. 특히 항원자극에 의한 면역반응의 양상을 림프절내에서 형태학적으로 연구함은 면역반응의 기전을 규명하는데 있어서 가장 기본적인 첫단계의 과제라 할 수 있다. 따라서 본 연구는 B 세포 의존성 항원중에서도 대표적이라 할 수 있는 LPS를 발육초기의 C57BL/6계 생쥐에 주사한 후 림프절의 성숙과정에 따른 면역반응의 양상을 발생학적인 측면에서 형태학적으로 규명하는데 그 목적이 있다. 일반적으로 면역학적 연구를 위하여 널리 사용되고 있는 대표적인 B 세포 의존성 항원인 LPS는 gram negative bacteria인 E.coli에서 추출한 물질로서 polyclonal B cell activator로서 항원성(antigenicity)을 가

지고 있을 뿐만 아니라 면역증강 보강제로서 다른 항원과 함께 투여하면 면역계를 지속적으로 자극시켜 결국 강한 면역반응을 유발시킬 수 있는 물질로 알려져 있다 [11,18]. 본 실험에서 발육초기, 즉 생후 0일-1주에 LPS를 주사한 후 시간경과에 따라서 림프절을 삼차원적으로 재구축하여 관찰한 결과 림프절의 크기가 대조군에 비하여 2-3배정도 크기가 커진 양상을 나타내었다. 이와 같이 LPS 자극에 의하여 림프절의 크기가 커진 결과는 같이 LPS는 B 림프구의 분열원질로 작용한다는 보고[11]와 같이 림프절내 B 림프구의 분열과 축적이 계속되어 림프절의 크기가 커진 것으로 생각된다. 성숙 생쥐에 LPS를 주사했을 때 주사후 5일부터 림프절의 크기가 커짐은 물론 림프절내 B 림프구의 집단으로 형성되는 림프소절의 장경(maximal length)이 증가되었다는 보고[18]에서 본 실험의 결과를 간접적으로 증명할 수 있겠다. 정상적으로 발육 중에 있는 생쥐의 오금림프절에 있어서 림프소절은 생후 1주령에 이르러 1-2개가 처음으로 관찰되었고, 생후 2-3주령에서는 림프소절의 수가 많이 증가되어 9-11개나 관찰되었다. 본 실험에서 림프절내 림프소절들이 형성되는 시기를 고찰해 보면, 흰쥐의 오금림프절의 생후발육에 관한 실험에서 생후 7-9일에 소림프구가 소집단을 형성하면서 림프소절을 형성한다고 하였다[19], 생후 15-18일 경에 이르러 림프소절내 대림프구와 큰 포식세포, 기질(stroma)로서는 세망섬유와 포상수지상세포로 구성되어 있는 종자중심이 관찰된다고 하였다. 또한 생후 3주령에 림프소절이 처음 출현되고 생후 5주령에 종자중심의 형성이 관찰된다고 보고하였다[21-23]. 이와 같이 림프절내 림프소절 및 종자중심의 형성시기가 각 연구자의 실험결과에 따라서 약간의 차이가 나는 결과는 각 실험동물의 종(species) 및 계(strain)와 각 개체에 분포되어 있는 림프절의 종류에 따라서 그 양상이 달라진 결과로 해석되어진다.

본 실험에서 생후 0일 및 3일에 LPS를 주사한 경우 일정 기간이 경과해도 림프절내 새로운 림프소절의 형성이 전혀 유발되지 않았다. 이와 같이 생후 0일에 서부터 3일 사이에 항원자극에 의하여 새로운 림프소절의 형성이 초래되지 않은 원인은 갓 태어났을 때부터 생후 첫 주의 위에서는 항원자극에 대한 항원처리기능(antigen processing system)과 면역반응의 능력이 미숙하고 또한 제한되어 있으며, 이와 같은 원인은 면역적격세포 (immunocompetent cell)의 수와 형태의 결핍에 기인된다는 보고[3,24,25]에서 그 근거를 찾을 수 있겠다.

본 실험에서 생후 5일 및 1주에 LPS를 주사한 다음 2-3주가 경과되었을 때, 림프소절내에 분포되어 있는 림프소절의 수가 대조군에 비하여 림프소절의 수가 2-4개

정도 증가되었고, 주사후 3-4주후에 대조군에 비하여 림프소절의 수가 급격히 증가함은 물론 대조군에서 전혀 관찰되지 않았던 면적이 0.01 mm^2 이하인 작은 림프소절들도 관찰되었다. 이와 같이 생후 0일과 3일에 LPS를 투여한 경우에 새로운 림프소절들의 생성이 생후 5일 및 7일에 주사한 군에 비하여 형성이 안되거나 늦게 생성되는 결과는 생후 3일 이하의 오금림프절은 형태학적이거나 기능학적으로 성체에 비하여 세포성분의 발달이 미숙하여 면역반응의 양상도 활발하지 못한 결과로 추론된다. 또한 흰쥐의 림프절내에서 발생학적으로 림프소절을 구성하고 있는 B 림프구가 심층피질을 형성하고 있는 T 림프구보다 늦게 출현하여 생후 2일 이후에 관찰된다는 보고[20]에서 간접적으로 본 실험의 결과를 증명할 수 있겠다. 이는 생후 1-4주령의 생쥐의 림프절에서 갓 태어났을 때에는 림프구 등의 세포성분이 아주 적고, 1주 말까지는 서서히 증가하다가, 1주령 이후에서부터는 급속히 증가하여, 2-3주령에 최고치에 도달하였다는 보고[26]와, 생후 1주후의 림프절의 림프소절내에서 항원자극에 대한 항체반응이 극심하게 증가되었다는 보고[3]와 연관 지어 생각할 수 있겠다. 성숙 생쥐에 LPS를 주사했을 때 주사후 5일부터 림프절의 크기가 커짐은 물론 림프절내 B 림프구의 집단으로 형성되는 림프소절의 직경이 증가되었다는 보고[18]와 LPS에 노출된 생쥐의 림프절에서 림프소절들의 두께가 커졌다는 보고[28]에서 그 근거를 찾을 수 있겠다. LPS의 자극에 의하여 림프소절들의 면적이 증가되는 기전은 확실하지 않으나 체액성 면역반응에 있어서 T 세포 의존성 면역반응은 항원이 항원제시세포들에 의해 T 세포에 노출되어 T 세포가 활성화 되듯이, alum-PHA에 의하여 선택적으로 T 세포가 활성화되어, 결국 활성화된 T 세포에 의하여 B 세포가 활성화되기 때문에 본 실험에서와 같이 림프소절들의 면적이 증대되었을 가능성을 추측할 수 있겠다. 이와 같이 LPS 자극에 의한 림프소절들의 크기를 형태계측학적으로 관찰한 본 실험 결과로 미루어 볼 때 LPS 자극에 의하여 이미 림프절내에 존재하고 있던 림프소절들의 크기가 증대됨을 알 수 있었으며, 또한 LPS 자극에 의하여 새로이 형성되는 림프소절들의 면적은 0.01 mm^2 이하인 작은 림프소절들이라는 사실을 확인할 수 있었다.(그림1,2,3) 또한 항원자극에 의한 림프절의 면역반응에 관해서 이미 최근에까지 보고된 형태학적인 결과들은 림프절내에서 B 및 T 림프구의 동적인 변화인 면역조직화학적 변화, 혹은 림프절과 림프소절들의 크기 증가 혹은 감소되었다는 막연한 결과들만을 제시하고 있는 실정이다. 따라서 외래성 항원자극에 의한 면역반응의 결과를 면역조직학적 방법과 함께 형태계측학적으로 관찰하는 연구가 꼭 필요할 것으로

생각된다.

이상과 같이 발육초기에 외래성 항원자극에 의한 림프소절과 종자중심의 변화를 3차원적 분석방법으로 재구축하여 관찰한 결과는 다음과 같다. B 림프구 의존성 항원인 LPS를 투여할 경우 림프소절내 종자중심의 형성은 갓 태어났을 때, 즉 0일에서 부터 유발되나 림프절내 새로운 림프소절들의 형성능력은 생후 5일-1주 이후에서 부터 유발됨을 관찰할 수 있었다. 따라서 B 림프구 의존성 항원자극에 의한 림프절내에서 림프소절의 생성과 종자중심의 형성변화를 3차원적으로 관찰한 본 연구결과는 면역반응의 발생기전을 규명하는데 기초적인 자료를 제공할 것으로 기대되며, 각종 항원자극에 의한 림프절의 형태학적인 변화는 T 및 B 림프구의 변화에 관한 연구 즉, 면역조직화학적인 측면에서 뒷받침 되어야 할 것으로 생각되어진다.

참고문헌

- [1] Fahy VA, Gerber HA, Morris B et al, "The function of lymph nodes in the formulation of lymph", Monogr Allergy, 16:82-99,1980.
- [2] Sainte-Marie G, Peng FS, Belisle C, "Overall architecture and pattern of lymph flow in the rat lymph node", Am J Anat, 164:275-309, 1982.
- [3] Weissman IL, "In developmental aspects of antibody formation and structure" Academia Plague, 1:55, 1970.
- [4] Markgraf R, von Gaudecker B, Müller-Hermelink K, "The development of the human lymph node", Cell Tissue Res, 225:387-413,1982.
- [5] Gutman GA, Weissman IL, "Lymphoid tissue architecture. Experimental analysis of the origin and distribution of T-cells and B-cells", Immunol, 23:465-479, 1972.
- [6] Ham W, Cormak DH, "Histology. 8th ed, Philadelphia and Toronto", Lippincott, pp. 345,1979.
- [7] Goldschneider I, McGregor DD, "Anatomical distribution of T and B lymphocytes in the rat. Development of lymphocyte-specific antisera", J Exp Med 138:1443-1465,1973.
- [8] Bèlisle C, Saint-Marie G, "Tridimensional study of the deep cortex of the rat lymph node. II : Relation of deep cortex units to afferent lymphatic vessels", Anat Rec, 199:61-72,1981.
- [9] Hoshi H, Kamiya K, Takemoto R, Aijima H, "Formation of lymph follicles and germinal centers in

- draining lymph nodes after local injection of phytohemagglutinin and lipopolysaccharide in mice", Arch Histol Jap,47:505-518, 1984.
- [10] Klaus GGB, Humphrey JH, Kunkl A, Dongworth DW, "The follicular dendritic cell : Its role in antigen presentation in the generation of immunological memory" Immunol Rev, 53:3-18,1980.
- [11] Nossal GJV, Ada GL, Austini CM, "Antigens in immunity. IV.: Cellular localization of 125I-and 131I-labelled flagella in lymph nodes", Aust J Exp Bio Med Sci, 42:311-330, 1964.
- [12] Kim Chang Hee, "Bacto adjuvant 면역보강제 자극 후 오금림프절내 림프소절의 변화에 관한 형태계측학적 연구" Kyung Hee University dissertation, 2006.
- [13] Na Jong Du다, "Concanavalin A의 자극에 의한 생쥐오금림프절내 림프소절과 속결질의 변화에 관한 형태계측학적 연구" Kyung Hee University dissertation, 2000
- [14] Lee Jun beom, "Alteration of the clusterin expression in the spleen and the lymph node in the mouse", Korea university dissertation 2008.
- [15] Kang Hyung Jeong, "Analysis of lymph node metastasis in early gastric cancer" Pusan National University, 2010.
- [16] Park Jun Seok, "Comparison between in vivo and ex vivo injection fo blue dye in sentinel lymph node mapping for colon cancer"Chung-ang university dissertation, 2008.
- [17] Villena A, Zapata A, Rivera-Pomar JM, Barrutia MG, Fonfua J, "Structure of the non-lymphoid cells during the postnatal development of the rat lymph nodes" Cell Tissue Res, 229:219-232, 1983.
- [18] Clark SI, Schneider GB, "Role of the adrenal cortex in maturation of the lymphoid system and immunological competence; the effects of aminoglutethimide in sucking mice", Am J Anat, 137:231-256, 1973.
- [19] Schwander R, Hess MW, Keller HU, Cottier H, "The Postnatal development of lymph nodes in mice, "Immunobiol, 157:425-436,1980.
- [20] Eikelenboom P, Levenbach MGE, van der Brink HR, Streefkerk JG, "Development of T and B cell areas in peripheral lymphoid organs of the rat", Anat Rec, 194:523-538, 1979.
- [21] Imai Y, Dobashi M, Terashima K, "Postnatal development of dendritic reticulum cells and their immune complex trapping ability", Histol Histopath, 1:19-26,1986.
- [22] Friedberg SH, Weissman IL, "Lymphoid tissue architecture. II. Ontogeny of peripheral T and B cell in mice. Evidence against Peyer's patches as the site of generation of B cells", J Immunol, 113:1477-1492, 1974.
- [23] Joel DD, Hess MW, Cottier H, "Magnitude and pattern of thymic lymphocyte migration in neonatal mice", J Exp Med, 135:907-923, 1972.
- [24] Van Rees EP, Dijkstra CD, van Rooijen N, "The early postnatal development of the primary immune response in rat popliteal lymph node, stimulated with thymus-independent type-1 and type-2 antigens" ,Cell Tissue Res,250:695-699, 1987.
- [25] Horie K, Hoshi H, "Induction of lymph follicle formation with several mitogens and adjuvants in the mouse popliteal lymph node", Histology & Histopathology, 4:17-25, 1989.
- [26] Ahn HK, Hoshi H, Horie K, Nagata H, "Sites of lymph follicle formation in the draining popliteal lymph nodes of mice locally injected with antigenic and mitogenic substances" Histology & Histopathology, 5:493-504, 1990.
- [27] Parrott DMV, De Sausa MAB, East J, "Thymus-dependent areas in the lymphoid organs of neonatally thymectomized mice", J Exp Med, 123:191-203, 1966.
- [28] Yang UK, Ahn HK, "Lipopolysaccharide activation by antigenic stimulation changes and the formation of lymph follicles on the immunohistochemical study", Journal of Anatomy, 23 : 50- 61,1990.

안금선(Ahn Geum Sun)

[정회원]



- 1996년 2월 : 단국대학교 보건행정학 (보건행정석사)
- 2008년 2월 : 경희대학교 의학과 (의학박사)
- 1997년 3월 ~ 현재 : 경북대학교 치위생과 부교수

<관심분야>
치위생학, 해부생리학