

# 동종 뇌하수체 전엽 추출물의 반복주사에 의한 백서 뇌하수체 전엽 병변에 관한 병리조직학적 및 혈청학적 연구

## A serologic and histopathologic study on anterior lobe of pituitary in rats immunized with extracts of isologous rat anterior pituitary in Freund's adjuvant and pertussis vaccine

서울대학교 의과대학 병리학교실

<지도 李 尙 國 教授>

李 賢 淳

### 서 론

금세기 초 밀접하게 연관된 종족간에는 혈청학적으로 유사성이 있고, 서로 무관한 종족간에는 혈청학적 유사성이 없다는 사실은 “종족 특이성”이란 개념을 발전시켰고 여기에 부가하여 “장기 특이성”에 대한 연구도 진행되기에 이르렀다. 장기 특이 항원은 자가 항체 형성을 자극하는 독특한 특징이 있는 반면 종족 특이 항원은 자가항체를 형성 못하는 바, 그것은 장기특이 항원은 세포 내에 존재하지만 종족 특이 항원은 혈장을 포함한 체액 내에 존재한다는 사실에 기인하는 듯하다 (Witebsky, 1965).

장기 특이 항원에 대한 자가면역 반응에 의해 실험적으로 야기된 병변으로는 과민성 뇌척수막염(Freund, 1947, Rivers, 1935), 무정자증(Freund, 1953), 실험적 갑상선염(Rose, 1956, Weigle, 1965, Witebsky, 1956, 1957), 실험적 부신염(Witebsky, 1962) 등이 있는데 이들은 인간에서 발생하는 유사한 질병원인을 구명하려는 훌륭한 실험적 시도로 인정되고 있다(Roitt, 1956). 이들 실험은 대개가 autologous(자가), isologous(동종), heterologous(이종) 조직 항원으로 실험 동물을 면역시킨 후에 그 면역학적 및 병리학적 변화를 보는 것이다.

그러나 실험 동물에서 광범위한 장기 특이 자가항체가 증명되어질 수는 있으나 의미있는 조직학적 손상은 아주 드물게 생기는 바(Beutner, 1961, Kaplan, 1958), Park(1974) 등은 특정한 조직손상을 초래하기 위해선 항원의 화학적 성분이 변경되어야 하고, 면역을 장기 간 반복하여야 하고, 또한 주사하는 항원에 bacterial

adjuvant가 반드시 첨가되어야 할 것을 주장하고 있다. 한 예로 원숭이에서 뇌척수막염을 내는데 있어 대뇌 조직의 근육 주사를 5내지 9개월에 걸쳐 46내지 85번을 반복한 경우도 있다.

뇌하수체는 생체 홀몬 분비선 중에서도 으뜸으로 60년대부터 Hashimoto氏병(Goudie, 1962), 만성 위축성 위염, 초점성 임파구성 갑상선염, 부신 위축(Hume, 1967), 종말 장기 부전(Lack, 1975) 등과 연관된 소위 “뇌하수체염”이 부검환자에서 발견됨에 따라서 그 조직손상의 원인을 자가면역 기전으로 해석하려는 경향이 강해지고 있다.

실제로 뇌하수체에 대한 혈청학적 연구로는 Witebsky 등(1930, 1932)이 소의 뇌하수체 추출물을 토끼에 정맥 주사 하므로써 일어난 토끼의 항원형에서 뇌하수체의 후엽에 특이한 보체결합 항체를 증명하는 것을 필두로 Anigstein 등(1958, 1960)은 백서의 뇌하수체 부유액과 Freund adjuvant 섞은 것을 토끼에 피하 및 복강주사한 후 얻은 항백서 뇌하수체 혈청으로 보체 결합 반응 및 켈화산시험을 했고, 또한 이 항백서 뇌하수체 혈청과 소의 성장홀몬 항원형이 뇌하수체를 제거한 백서의 장기에 미치는 영향을 연구한 바 성장운 억제한다는 결과를 얻었다. 또한 Beutner(1964) 등은 토끼의 뇌하수체 전엽 부유액에 Freund adjuvant를 섞어서 면역시킨 토끼는 토끼 뇌하수체 성분에 대해 특이 항체를 만들며 이 때 시행된 면역 형광 염색에선 항원형이 항체를 내는 토끼의 뇌하수체와 반응하는 현상 즉 그 현상이 뇌하수체의 자가 항체를 가진 사실을 보여주고 있으나 뇌하수체에서의 병리조직학적 변화는 관찰치 못했으며 Milgrom(1965) 등은 소의 뇌하수체 전엽의 내연성 부탄을 추출물로 토끼를 면역시킨 후 혈청학적 제반검사를

<1977年 9月 7日 接受>

시행하므로써 장기 특이 반응에 대한 증거로 삼으려 하였다. 그 후 Levine(1967)은 백서에다 동종의 뇌하수체 조직과 면역 adjuvant를 단 한번 피하주사하므로써 13 내지 20일 후에 뇌하수체염을 일으킨 것을 보고하였으며 그 후 여러가지 이종(異種)의 뇌하수체조직을 가지고 행한 동일 실험에선 해명 뇌하수체만이 뇌하수체염을 일으키는 것을 보고하였다(Levine, 1969). 70년 대로 들어와서 임상적으로 장기-특이성 자가면역 질환이 있는 환자의 혈청이 유방암에 걸린 환자에서 적출된 뇌하수체의 prolactin 세포와 부분적으로 반응함을 면역형광법을 써서 증명한 보고(Botazzo, 1975)도 있으나 그 어느 실험도 자가면역성 뇌하수체염을 완전히 증명하는 못하였다.

이에 저자는 동종의 백서 뇌하수체 전엽의 추출물을 백서에 일정 기간 반복하여 면역시키므로써(즉 isoimmunization) 일어나는 혈청학적 변화 및 병리조직학적 변화를 관찰하므로써 뇌하수체의 장기특이성 항원과 항체반응이 소위 “실험적 자가면역성 뇌하수체염”을 야기할 수 있는지를 구명키 위해 본 실험을 시도 하였다.

## 실험 재료 및 방법

### 1. 장기의 출처 및 준비

1977년 3월 부터 서울대학교 본부에서 본 의대 학생을 위해 순종의 albino Holzman rats (Sprague-Dawley strain)의 분양이 있었던 바, 본 실험에 사용된 백서의 뇌하수체 전엽은 4개월에 걸쳐서 학생실험 후 도살된 Sprague-Dawley strain의 백서 300여 수와 서울대학교 본부에서 직접 분양받은 동원통의 백서 300수의 것으로써 이들은 사용시까지  $-20^{\circ}\text{C}$ 에서 보관되었다. 뇌하수체 전엽 추출물을 만들기 위해 그 후임은 절제하여 제거시켰으나 그 과정은 완전치 못하여 일부는 건입에 섞이게 되었다.

### 2. 항원의 준비

동결하여 저장시켰던 백서 600여수에서 제거된 뇌하수체 전엽 총 5gm 가량을 녹여서 생리식염수로 몇번에 걸쳐 씻은 후 다시 0.9%생리식염수(대한 제약)를 25ml 넣은 후 초음파 진동에 노출시켜 20,000cycles/sec의 속도로 7분간 연마한 후 이를 refrigerated angle 원심침전기에서 25,000rpm으로 1시간 원심침전 시켰다. 이상 두 과정은 모두  $0^{\circ}\text{C}$ 에 가까운 온도에서 행해졌다. 원심침전 후 얻어진 상등액을 “추출물”이라 칭하고 그 농도를 %로 표시한 즉 분 추출물은 원래 25ml 생리 식염수에 5gm의 장기를 혼합한 데서 얻어진 것이므로 “20%

추출물”이라 할 수 있겠다. 이들 20% 추출물은 1ml씩 소분하여  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 보관한 후 백서의 면역항원 및 혈청학적 검사의 항원으로 그때그때 사용하였다.

### 3. 면역과정

150내지 200gm의 Sprague-Dawley strain 쥐 30마리(정상대조군 10마리 포함)를 동원통의 20% 뇌하수체 전엽 추출물로 면역시켰다. 한 번 면역 시킬 때 사용한 항원 양은 0.1ml이었고 이것은 동량의 Freund complete adjuvant(Difco Laboratories, Detroit, Mich.)와 혼합하여 사용하였다. Adjuvant의 성분 및 조성은 8.5ml의 Bayol F (liquid petrolatum, U.S.P.), 1.5ml의 Arlacel A (emulsified agent) 및 5mg의 killed Mycobacterium butyricum으로 되어 있었다.

또한 면역 제 9주째 부터는 이상의 조성에 부가하여 국립보건원에서 배급받은 백일해 백신(200억 killed bacteria/ml)을 0.1ml씩 사용하므로써 총 주사량은 0.3 ml가 되게 하였으며 면역 제 14주째 부터는 동 백신양을 0.3ml로 늘이므로써 총 주사량은 0.5ml가 되게 하였다.

매번 쥐의 등을 삭모하고 알콜로 소독한 후 주사 부위를 바꿔가며 피하 내지 피내주사 하였다.

전체 18주에 걸쳐 실험이 진행되었는데 처음 다섯 번의 주사는 1주 간격으로 규칙적으로 시행되었고 제6주째 혈청학적 검사로 고역가의 항체를 증명한 뒤에는 실험동물을 2군으로 나눠서 피하주사물질의 흡수가 완전한 1군은 3주 간격으로 흡수가 불완전하여 피부에 경결이 만져지는 2군은 2주 간격으로 각각 booster하였다.

### 4. 혈청학적 검사

#### Double diffusion gel precipitation test

이 검사는 Campall(1970)등이 기술한 Ouchterlony 식 방법에 따라 petri dish에서 행해졌다. 즉 Special agar-Noble(Difco) 0.5gm을 borate-saline 50ml에 녹인 후 방부제로 merthiolate를 넣고 pH를 7.8내지 8.0으로 맞춘 후 petri dish에 뜨거운 agar액 8ml을 빨리 피펫팅 하여 넣고 어느정도 굳어진 후 8mm 직경의 penicylinder를 적당히 배치후 다시 8ml의 뜨거운 agar액을 부었다.

흡 중앙부에 희석 안된 뇌하수체 전엽추출물(항원)을 놓고 이 항원에서 각각 1.5cm 및 0.4cm의 거리가 되도록 세쌍의 흡을 방사상으로 뺀 후 세쌍의 희석안된 항원 뇌하수체 전엽 혈청이 각각 놓여지도록 하였다.

이들은 즉시 부란기에 넣어졌고 편독은 1내지 7일에 걸쳐 이루어졌다.

### 5. 갑상선 기능 검사

면역 제 13주째 심천자하여 얻은 혈청으로 Triiodothyronine( $T_3$ ) 치를 Radio-Chemical Centre의  $T_3$  RIA

Kit로 측정하였다.

6. 병리조직학적 검색

도살직후 부검을 실시하여 뇌하수체를 포함한 체내 각 장기를 육안적으로 검색한 후 각 장기의 일정 부위에 서 대표적 조직편을 절치하여 10% 포르말린 용액에 고정하였다. 이들은 파라핀 포매한 후 5 $\mu$  내외로 박절하고 hematoxylin-eosin 중부 염색을 시행하였으며 뇌하수체는 acid fuchsin anilin blue 염색 및 Masson-trichrome 염색을 동시에 시행하였다.

실험 성적

1. 면역에 받은 백서에서 뇌하수체 전엽 항체가 출현하는 빈도 및 시기

백서 뇌하수체 전엽 추출물로 다섯번 주사받은 20마리의 백서 중 주사물질의 흡수가 좋았던 제1군 10마리는 전부가 양성의 혈청학적 반응을 보였고(100%) 흡수가 완전치 못한 제2군 10마리는 8마리에서 양성의 반응을 보였다(80%). 이러한 뇌하수체 항체는 항상 면역결과로 나타나는 것 같았는데 면역을 시키지 않은 대조군의 혈청에선 이러한 항체는 발견되지 않았다. 대개 세번 내지 다섯번 면역시킨 후에 얻어지는 항체가 가장 고역가이고 다섯번 주사하여 항체를 생산치 못한 동물은 부가적인 면역으로도 항체 생산을 못한다는 보고도 있지만 본 실험에선 항체출현과 주사 횟수와와의 정확한 관계를 확립할 만큼 충분한 혈청 검사는 행하지

못하였다.

2. 혈청학적 반응

Double diffusion gel precipitation 시험 반응 양상은 그림 1과 같다. 뇌하수체 전엽 추출물(항원)과의 거리가 0.4cm인 항혈청은 전부 단일한 침전선을 형성하였지만 1.5cm 거리에 항혈청을 배치한 것은 모두 침전선을 형성치 못하였다.

3. 정상대조군과 면역받은 군의 T<sub>3</sub> RIA치의 비교 이들의 결과는 제 1표와 같다.

<Table 1> T<sub>3</sub> RIA value (ng/dl)

Normal control>	C <sub>1</sub> : 43.0
	C <sub>2</sub> : 21.0
	C <sub>3</sub> : 19.0
	C <sub>4</sub> : 25.0
	C <sub>5</sub> : 31.0
Immunized rats>	1-2: 52.0
	2-2: 45.0
	3-2: 13.0
	4-2: 25.0
	3-1: 27.0

이상 표의 결과로 미루어 알 수 있는 것과 같이 정상 대조군과 실험군 모두에서 최고치와 최저치의 격차가 심하였고 두 군을 비교하여 특별히 유의한 결과는 얻지 못하였다.

Table 2. Pathologic findings of anterior lobe of pituitary (Group I)

Findings	Animal No.	2-3	1-2	2-2	3-2	4-2	1-3	1-4	2-4	3-3	4-3
Body weight when killed (gm)		240	263	263	266	256	250	255	240	270	257
Frequency of injection		5	9	9	9	9	10	10	8	10	10
Survival duration (days)		35	118	118	118	118	127	127	127	127	127
Pituitary weight (mg)		15	22	14	13	9.5	16	19.5	20.5	12	12
Histopathology of anterior lobe of pituitary											
1) Architectural disconfiguration		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2) Degranulation of parenchymal cells		—	—	—	±	+	—	±	—	—	—
3) Cytolysis of parenchymal cells		—	—	—	±	±	—	—	—	—	—
4) Inflammatory cell infiltration											
Lymphocytes		—	—	—	±	+	—	±	—	—	—
Plasma cells		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

—;no change    ±;minimal    +;slight

Table 3. Pathologic findings of anterior lobe of pituitary (Group II)

Findings	Animal No.										
	1-1	1-5	2-1	2-5	3-1	3-4	3-5	4-1	4-4	4-5	
Body weight when killed (gm)	230	245	220	280	337	290	284	270	290	310	
Frequency of injection	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
Survival duration (days)	127	127	127	127	127	127	127	127	127	127	
Pituitary weight (mg)	16	16	24	21	13	13.5	10	9	12	10.2	
Histopathology of anterior lobe of pituitary											
1) Architectural disconfiguration	—	—	±	—	‡	‡	—	‡	—	—	
2) Degranulation of parenchymal cells	±	—	+	±	‡	‡	—	‡	—	—	
3) Cytolysis of parenchymal cells	±	—	+	±	‡	‡	—	‡	—	—	
4) Inflammatory cell infiltration											
Lymphocytes	±	—	+	±	+~‡	+	—	‡	—	—	
Plasma cells	—	—	—	—	±	±	—	±	—	—	

—; no change    ±; minimal    +; slight    ‡; moderate    ‡; severe

4. 뇌하수체 전엽의 병리조직학적 소견

각 실험동물에서 관찰된 뇌하수체 전엽의 병리조직학적 소견을 비교하면 제 2표 및 제 3표와 같은 마 주 사물결의 흡수가 좋았던 제 1군에 비해 흡수가 썩 좋지 않아 피부 경결이 만저지나 항원 주사 횟수는 약간 더 많았던 제 2군에서 병변의 출현 빈도 및 정도가 더 높았 으며 이 때 뇌하수체 전엽은 국소성 또는 미만성의 구 조 파괴가 있었고 그 자리엔 여러 정도의 임파구를 주 로 한 단핵구 침윤이 있었다. 임파구는 뇌하수체 실질 세포에 비해 훨씬 작고 세포질이 거의 없으며 핵이 아 주 진하게 염색되는 특색이 있어 실질세포와 감별되었 다. 이러한 염증세포 침윤이 있는 주변의 실질세포는 세포질의 과립이 없어지고 세포질 분해를 주로한 변성 을 보이고 있었으며, 이상의 소견들은 뇌하수체 피막 직하부에서 비교적 더 뚜렷하게 관찰되었다.

또한 이들의 체중 증가, 뇌하수체 전엽의 무게 및 조 직병변의 정도와는 서로 상관 관계가 없는 듯하였다.

5. 뇌하수체 전엽을 제외한 전신 각장기의 병리조 직학적 소견

심, 폐, 뇌, 간, 비, 신, 위장관, 흉선, 부신, 갑상 신, 부갑상선, 성기 등에서의 대표적인 조직 절편을 검 색 결과 정상 대조군과 비교해 특기 소견 없었다.

총괄 및 고안

본 실험은 동종 뇌하수체 전엽 조직의 추출물을 Fre-

und complete adjuvant 및 백일해 백신과 함께 반복하 여 백서에 피하주사를 하여 유의한 in vitro 뇌하수체 전엽 항체를 증명함과 더불어 뇌하수체에서는 그 실질 세포의 분해와 임파구를 중심한 단핵구 침윤이 주로 보 이는 “뇌하수체염”을 관찰하므로써 이 병변이 백서 뇌 하수체 전엽 항원에 의한 비감염성 자가면역 질환임을 제시하고 있다. 정상적으로도 뇌하수체 중엽에는 약간 의 임파구가 존재할 수 있다는 보고가 있지만 (Shank- lin, 1951) 전엽에서는 이러한 염증세포 침윤은 전혀 관찰할 수가 없는 것으로써 극소수의 임파구가 실질에 침윤 했다는 것도 꽤 의의있는 것으로 인정될 수 있는 바, 본 실험에서 분명한 실질세포 변성과 더불어 여러 정도의 단핵구 침윤이 관찰됐다는 사실은 본 병변을 “실험적 자가면역성 뇌하수체염”이라고 지칭할 수 있 는 객관성을 부여 한다고 사료된다.

전술한 바와 같이 사람에서 뇌하수체 기능저하증과 유관한 뇌하수체염의 부검례가 보고되고 아울러 장기- 특이 자가면역성 내분비선 장애로 이해되는 갑상선염, 부신염, 난소염이 복합된 임상례(Edmonds, 1973)가 발 표됨에 따라 아마도 자가면역성 뇌하수체염이 인간에 서 존재할지도 모른다는 추측하에 이것을 실험적으로 구명하려는 시도가 이루어졌다.

뇌하수체에 대한 면역학적 연구에 있어선 두가지 유 형의 항원이 사용된 바 그 하나는 조직 추출물의 사용 이고 또 하나는 순수한 뇌하수체 홀몬의 이용이다. 뇌 하수체 추출물을 항원으로 사용시는 거의 항상 항혈청

을 얻는다는 것은 본실험에서도 입증되었으나 고순도의 혼몬을 항원으로 이용시는 만족스런 항체 생산이 항상 얻어지지 않는다고(Hayashida, 1958).

장기특이성에 관한 여러가지 실험의 표시라 할 수 있는 Beutner 및 Witbsky(1964)들에 의해 행해진 토끼 뇌하수체 전엽 추출물과 Freund adjuvant의 반복 면역은 토끼뇌하수체 전엽에 대해 특이항체를 형성함이 여러가지 in vitro test로 증명되고 또한 뇌하수체 자가항체의 혈청학적 반응에 포함되는 항원의 환성성분은 주로 글로블린인 것 같다는 사실까지도 암시했으나 뇌하수체의 병리조직학적 변화는 전혀 관찰치 못했던 바 그들은 그 이유를 첫째 자가 항체가 생체내서 세포내 항원과 반응치 못한 점과 둘째 시험 방법의 감도가 낮은 점과 셋째 생체내서 자가항체가 반응하는 적당한 조직전편을 얻지 못한 점, 즉 표본오차 때문이라고 생각하였다. 그러나 본 실험이 항원 준비 등의 과정은 Beutner 및 Witbsky(1964)등의 방법을 이용했음에도 결과적으로 뇌하수체의 병변을 일으키는데 성공한 것은 면역기간이 그들 보다도 훨씬 긴 만 4개월 반으로써 병변을 일으키기 위해선 될 수 있는대로 면역기간이 길어야 한다는 Park(1974)등의 조건을 만족시켰고 또한 병변을 좀더 악화시킬 수 있는 full adjuvant인 백인해 백신을 쓰므로써 전환이 생기는 기간이 단축되었을 가능성이 중요한 이유라고 생각된다.

또한 Levine(1967, 1969)도 백서에 동종의 뇌하수체 조직과 adjuvant 혼합물을 주사해 과민성 뇌하수체임은 유발시켰으나 헤밍 뇌하수체를 제외한 그밖의 동물의 뇌하수체는 백서에서 뇌하수체임을 내지 못했다고 보고 했고 아울러 full adjuvant로써 백인해 백신을 쓰던 동종 조직에 의한 뇌하수체임의 빈도는 중정도로 증가된 반면 이종 조직에 의한 뇌하수체임에는 별 효과가 없다고 하였다. 그러나 그의 실험으로 야기된 뇌하수체임이 면역학적 반응에 의한 것임을 증명할 혈청학적 검사가 완전히 결여되어 있고 또한 이러한 특정조직 손상이 단시일에 그것도 단 한번의 주사로 일어났다는 것은 진술한 Park(1974)등의 조건을 상기하더라도 이것이 진정한 의미의 “실험적 과민성 뇌하수체임”이라고 주장하기엔 너무나 미흡한 점이 많은 것 같으며 실제로 저자의 실험에선 제 6주째 죽은 백서의 뇌하수체에서는 어떠한 병리조직학적 변화도 관찰할 수 없어서 면역기간이 짧으면 병변을 일으킬 수 없다는 사실을 더욱 보강해 주고 있다.

자가면역 질환이 어떻게 생기는가에 대해서는 몇개의 가능성이 있는 바 그것은 첫째 혈행내엔 정상적으

로 없는 thyroglobulin등의 체내 항원이 병적 상태에서 면역 계통에 들어가게 된다는 sequestered antigen theory와 둘째 자가항원이 화학적, 물리적 또는 생물학적 과정에 의해 변화된 항원 또는 새로운 항원으로 되어 면역원으로 된다는 설과 셋째 이물질의 항원이 경상의 자가 항원과 교차반응 일으켜 면역 반응을 낸다는 설과 넷째 면역반응을 내는 세포(immunocompetent cell)의 돌연변이로 self tolerance가 파괴되므로써 자가 항원에 대해 효과적인 면역반응을 내게 된다는 “forbidden clone theory”등이며 최근에는 어떤 장기에 특정한 “slow” virus에 의한다는 가설(Williams, 1968)도 대두되고 있다. 여하튼 본 실험에서는 동종의 뇌하수체 전엽조직을 백서에 주사하므로써 뇌하수체에 장기 특이성 항원이 생기고 이 장기 특이 항원에 의해 만들어진 자가항체에 의해 백서 뇌하수체에서 항원-항체 반응을 일으키고 여기에 보체까지 결합되어 염증반응 및 뇌하수체 전엽 실질세포의 변성을 초래했을 가능성을 생각할 수 있겠으며 그것은 Beutner 및 Witbsky(1964) 등이 행한 면역형광항체법에 의해서도 부분적으로 증명된 바 있다. 또한 항원의 주사 횟수가 좀더 많았던 실험 동물에서 주사부위의 피부경과는 무관하게 조직반응이 더 뚜렷하게 관찰된 점은 적어도 본 실험동물에서는 주사된 항원량과 조직반응이 비례했을 가능성도 생각할 수 있겠으나 이런 종류의 과민성 염증반응을 내는데 있어 종래 사용해 오던 피하주사보다는 피내주사가 더 유리하다는 보고(Lipton, 1953)와는 본 실험 결과가 반드시 일치되지는 않았다.

많은 형태의 자가면역 질환은 면역 혈청이 아닌 임파구에 의해서만 전달되는 것으로 알려졌기 때문에 사람 및 동물에서의 자가면역 질환의 원인으로 세포면역이 주 역할을 담당할 것으로 추측되었고 자가면역 갑상선염, 부신염, 난소염 등을 가진 환자의 백혈구에서 이동지인자 (migration inhibition factor, MIF)가 유리됨이 보고된 사실도 있고(Edmonds, 1973), 또 Brostoff(1970)등이 말초혈액 백혈구를 가지고 세포 이동 방법을 써서 원발성 부신기능저하증에선 부신항원에 대해, Hashimoto씨병에선 갑상선 항원에 대한 세포면역이 존재한다는 증거를 제시함과 동시에 이들 질환의 정도는 자가항체의 역가나 존재유무와는 무관하고 조직학적으로는 세포 침윤등이 뚜렷한 점 등을 들어 세포면역 기전이 아주 중요한 것이라고 했고 본 실험에서 관찰된 뚜렷한 임파구 침윤도 이들 주장을 더욱 뒷받침하는 듯 하나 최근에는 체액면역 및 세포면역이 서로 보완하여 함께 관여될 것으로 생각하고 있어(Feldmann, 1973) 여

기에 관한 계속적인 추구가 필요하다고 생각된다.

실제 임상환자에서 자가항체를 증명하였다하여 자가면역성 질환이라고 규정지을 수는 없는 바 자가항체만 자가 면역을 조절하는 정상적 상태를 부분적으로 나타낼 수도 있기 때문이고 또한 면역결핍상태로 인해 자가 항체가 없다는 사실이 오히려 자가면역성 질환을 유발할 수도 있기 때문이다(Stiller, 1975). 따라서 전기한 일련의 동물 뇌하수체 면역실험에서 자가 면역 항체만이 증명되고 특기할 병리조직학적 변화를 관찰치 못했다는 사실은 주사 항원에 대한 정상적인 면역반응일 수도 있다는 가능성을 배제할 수는 없다 하겠다.

그의 비록 표본 숫자가 적어서 그 유의성을 논할 수는 없지만 Triiodothyronine ( $T_3$ )치가 정상대조군과 비교하여 별 차가 없다는 것은 시상하부의 thyrotrophine releasing hormone(TRH)에 의해 조절되는 뇌하수체 전엽의 갑상선 항진 호르몬(TSH, thyrotrophine) 분비가 면역과정에 의해 큰 변화를 일으키지 않았음을 암시하는 것이라 하겠으며 이것은 갑상선에 병리조직학적 변화가 별로 없다는 소견과 일치한다 하겠다. 또한 비록 뇌하수체 호르몬치는 측정하지 못했지만 뇌하수체 종말 장기인 부신, 성기 등에서 특기할 형태학적 변화를 관찰치 못한 것은 현재 관찰되는 실험적인 뇌하수체 병변으로는 종말 장기의 구조적 변화까지는 초래하지 못했음을 암시한다 하겠다.

한편 뇌하수체 추출물이나 순도의 호르몬 두어는 항혈청을 낼 뿐 아니라 호르몬의 자극을 야기시키며 또한 이들 항혈청이 항호르몬으로 작용하는 특이항체를 가진다면 그에 따라 뇌하수체 호르몬은 중화되거나 억제되어야 한다는 가설 하에 많은 실험이 이루어졌는데 Anigstein (1960) 등은 백서 뇌하수체 조직에 대한 항혈청은 고순도의 소 성장호르몬(bovine STH Li)을 중화할 수 있음을 증명했고 Pierpaoli(1967) 등은 항-뇌하수체 혈청은 주사받은 young adult mice는 아마도 흉선 및 임파조직의 비대를 일으키는 성장호르몬의 억제 때문에 출생적 후 흉선절제를 받은 것과 같은 소모성결핍 및 흉선 위축을 일으킨 것을 보고했고 Pineda(1972) 등은 말의 뇌하수체 결편에 대한 항혈청으로 처리된 암말에선 여포자극호르몬(follicle stimulating hormone) 및 황체화호르몬(luteinizing hormone)활성에 대한 항체 생산으로 말미암아 성욕 및 배란이 억제되고 황체의 무게는 꽤 감소되거나 잘게 다진 난소, 부신, 뇌하수체 갑상선 및 자궁의 무게에는 별 영향이 없었다고 밝혔다.

또한 면역형광법으로 사람과 소의 성장호르몬에 대한 특이 항혈청이 뇌하수체 호산세포의 세포질과 반응한다

는 관찰이나(Lecznoff, 1960) 자가면역성 내분비질환을 가진환자의 혈청이 유방암 때문에 뇌하수체를 침출한 환자 뇌하수체의 prolactin세포와 특별하게 반응한다는 관찰(Botazzo, 1975)은 뇌하수체 항혈청이 성장호르몬 및 prolactin과 연관되었음을 암시하는 것 외에도 이 방법을 이용해 그밖의 다른 뇌하수체 전엽호르몬과 반응할 새로운 자가 항체를 발견할 소지를 암시하고 있다 하겠다. 이상에서 특히 뇌하수체 항혈청이 항성장호르몬의 효과를 나타낸다는 점은 이 항혈청이 악성종양에서의 무절제한 세포분열의 방해물질로도 사용될 수 있음을 암시하는 것으로써 뇌하수체 항혈청을 실제적인 면역응용키 위해선 앞으로 많은 연구를 진행해야 할 것으로 사료되는 바이다.

## 결 론

인간에게 자가면역성 뇌하수체염이 과연 존재하는지 또한 실험적으로 과민성 뇌하수체염을 야기할 수 있는지에 대한 의문이 오랫동안 제기되어 왔던 바 저자는 이를 실험적으로 구명키 위해 건강한 백서 30마리(정상대조군 10마리 포함)에 동혈통의 백서 뇌하수체 전엽 추출물과 Freund complete adjuvant 및 백일해 백신을 써서 반복하여 면역시켰던 바 다음과 같은 성적을 얻었다.

1. Ouchterlony double diffusion gel precipitation test 에서 주사물질의 흡수가 좋았던 제1군 10마리는 전부가 양성의 혈청학적 반응을 보였고 흡수가 완전치 못한 제2군 10마리중에선 8마리가 양성의 반응을 보였다.

2. Triiodothyronine ( $T_3$ )의 방사성 동위원소검사는 비록 그 표본 숫자가 적었지만 별 유의한 결과는 얻지 못하였다.

3. 뇌하수체 전엽의 병리조직학적 검사에서 뇌하수체 전엽구조의 파괴, 실질세포 변성, 임파구를 비롯한 염증세포침윤 등이 관찰된바 이는 제1군에 비해 제2군에서 그 빈도 및 정도가 더 뚜렷하였다.

4. 뇌하수체 전엽을 제외한 전신 각 장기의 병리조직학적 검사에선 특기할 소견을 관찰할 수 없었다.

이상의 소견을 종합하여 볼 때 본 실험은 실험적 자가면역성 뇌하수체염을 일으키는데 성공한 것으로 사료되며 아울러 이것은 인간에서도 자가면역성 뇌하수체염이 존재할 수 있다는 간접적인 증거가 될 수 있다고 생각되었다.

(\*본 논문을 맺음에 있어 시종 간곡한 지도와 교언을 하여 주신 은사 李尙國 교수님께 깊은 감사를 드리며 바쁘신 중에도 협조를 아끼지 않으신 강우현, 신희섭, 정홍근 선생님들과 병리학교실 선생님께 감사의 뜻을 표합니다.)

## ABSTRACT

**A serologic and histopathologic study on anterior lobe of pituitary in rats immunized with extracts of isologous rat anterior pituitary in Freund's adjuvant and pertussis vaccine**

Hyun Soon Lee

*Department of Pathology, College of Medicine,  
Seoul National University*

(Director; Sang Kook Lee, M.D.)

An experimental study was made to develop an animal model of autoimmune hypophysitis. Thirty rats were used. They were immunized with extracts of isologous rat anterior pituitary in Freund's complete adjuvant together with pertussis vaccine. The following results were obtained.

Almost all of the pituitary antisera of the animals tested disclosed single precipitation line with pituitary extracts with Ouchterlony double diffusion gel technique.

Triiodothyronine (T3) radioimmunoassay of five immunized rat sera failed to reveal any significant value compared with that of normal control sera.

In group I animal group, architectures of the anterior lobe of the pituitary were relatively well preserved only focally showing minimal lymphocyte infiltration in three cases, but in group II, conspicuous lesion could be identified in six cases demonstrating architectural disconfiguration, cytolysis and degranulation of pituitary parenchymal cells as well as inflammatory cell (lymphocytes) infiltration.

No specific lesions were noted in other organs and tissues examined.

The results of this experiment suggest that human hypophysitis might be understood along the line of autoimmunity.

## REFERENCES

Anigstein, L., Whitney, D.M., and Rennels, E. G.:

*Effect of rat pituitary antibodies on the injected rat. Texas Rep. Biol. Med.*, 16:303, 1958.

Anigstein, L., Rennels, E.G., and Anigstein, D. M.: *Inhibitory effects of antirat pituitary serum on hypophysectomized rats injected with pituitary hormones. Acta endocrinol.* 35:139, 1960.

Beutner, E.H., Djanian, A.Y., Geckler, R.C., and Witebsky, E.: *Serologic studies of rabbit antibodies to rabbit submaxillary glands. Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)*, 107:486, 1961.

Beutner, E.H., Djanian, A., and Witebsky, E.: *Serological studies on rabbit antibodies to the rabbit anterior pituitary. Immunology*, 7:172, 1964.

Bottazzo, G.F., Poulard, A., Florin-Christensen, A., and Doniach, D.: *Autoantibodies to prolactin secreting cells of human pituitary. Lancet*, 2(7925): 97, 1975.

Brostoff, J.: *Migration inhibition studies in human disease. Proc. R. Soc., Med.*, 63:905, 1970.

Campbell, D.H. Garvey, F.S., Cremer, N.E., and Sussdorf, D.H.: *Methods in immunology. P.250-260. W.A. Benjamin, Inc.*, 1970.

Edmonds, M., Lamki, L., Killinger, D.W., and Volpé, R.: *Automimmune thyroiditis, adrenalitis and oophoritis. Amer. J. Med.*, 54:782, 1973.

Evered, D.C.: *Diseases of the thyroid gland in "Investigations of endocrine disorders". Clinics in Endocrinology and Metabolism. Vol.3, No.3, W.B. Saunders and Co. Ltd., November 1974.*

Feldmann, M.: *Cellular components of the immune system and their cooperation (T and B cells). Transplant. Proc.*, 5:43, 1973.

Freund, J., Stern, E.R., and Pisani, T.M.: *Isoallergic encephalomyelitis and radiculitis in guinea pigs after one injection of brain and mycobacteria in water-in-oil emulsion, J. Immunol.*, 57:179, 1947.

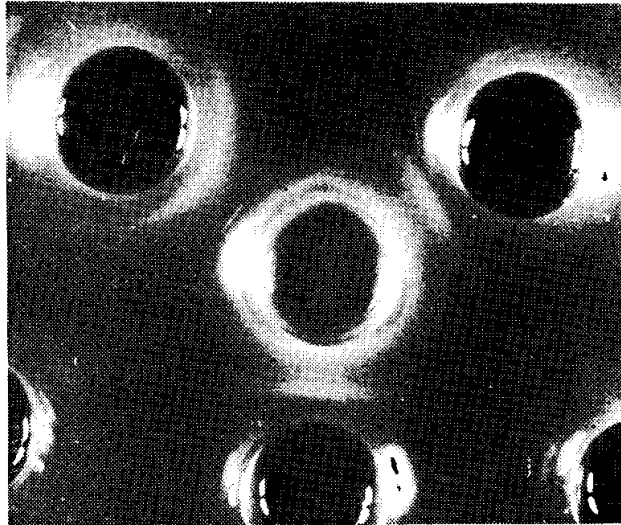
Freund, J., Lipton, M.M., and Thompson, G.E.: *Aspermatogenesis in the guinea pig induced by testicular tissue and adjuvants. J. Exp. Med.*, 97: 711, 1953.

Fruhman, G.J.: *Hematopoietic changes in mice following Bordetella pertussis vaccine. Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 124:728, 1967.

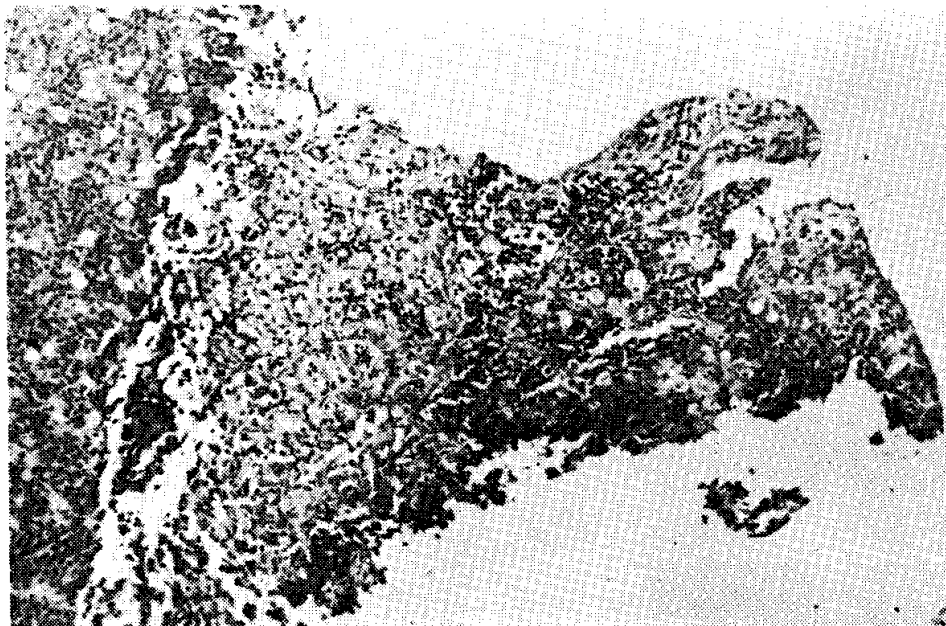
- Goudie, R.B., and Pinkerton, P.H.: *Anterior hypophysitis and Hashimoto's disease in a young woman. J. Path. Bact.*, 83:584, 1962.
- Hayashida, T., and Li, C.H.: *An immunological investigation of human pituitary growth hormone. Science*, 128:1276, 1958.
- Heijkenskjöld, F., and Gemzell, C.A.: *Attempts to demonstrate antigenic properties of human pituitary growth hormone in rabbits, guinea pig and rats. Acta Endocr. (Kbh.)*, 27:499, 1958.
- Hume, R., and Roberts, G.H.: *Hypophysitis and hypopituitarism. Brit. Med. J.*, 2:548, 1967.
- Kaplan, M.H.: *Immunologic studies of heart tissue. Production in rabbits of antibodies reactive with an autologous myocardial antigen following immunization with heterologous heart tissue. J. Immunol.*, 80:254, 1958.
- Lack, E.E.: *Lymphoid "hypophysitis" with end organ insufficiency. Arch. Pathol.*, 99:215, 1975.
- Levine, S.: *Allergic adrenalitis and hypophysitis; Further observations on production and passive transfer. Endocrinology*, 84:469, 1969.
- Levine, S.: *Allergic adenohypophysitis; New experimental disease of the pituitary gland. Science*, 158:1190, 1967.
- Leznoff, A., Fishman, J., Goodfriend, L., Mc-Garry, F., Beck, J., and Rose, B.: *Localization of fluorescent antibodies to human growth hormone in human anterior pituitary glands. Proc. Soc. Exp. Biol. (N.Y.)*, 104:232, 1960.
- Lipton, M.M., and Freund, J.: *The efficacy of the intracutaneous route of injection and the susceptibility of the Hartley strain of guinea pigs in experimental allergic encephalitis. J. Immunol.*, 70:326, 1953.
- Mapping approach to thyroid function diagnosis using thyopac\* -3 and thyopac\* -4, Amersham, The radiochemical Centre, 1972.
- McManus, J.F.A., and Mowry, R.W.: *Masson's Acid Fuchsin Aniline Blue Trichrome in "Staining methods." p.61-62, 1963. Hoeber Medical Division. Harper & Row, Publishers, New York, Evanston, and London.*
- Milgrom, F., and Witebsky, E.: *Immunological studies on adrenal glands. I. Immunization with adrenals of foreign species. Immunology*, 5:46, 1962.
- Milgrom, F., Tuggac, Z.M., and Witebsky, E.: *Organ-specific antigens of liver, testicle and pituitary. J. Immunol.*, 94:157, 1965.
- Morse, S.I.: *Studies on the lymphocytosis induced in mice by Bordetella pertussis. J. Exp. Med.*, 121:49, 1965.
- Park, B.H., and Good, R.A.: *Autoimmune disease and cancer in "Principles of modern immunobiology," p.204, Lea and Febiger, 1974, Philadelphia.*
- Pierpaoli, W., and Sorkin, E.: *Relationship between thymus and hypophysis. Nature*, 215:834, 1967.
- Pineda, M.H., Ginther, O.J., and McShan, W.H.: *Regression of corpus luteum in mares treated with an antiserum against an equine pituitary fraction. Am. J. Vet. Res.*, 33:1767, 1972.
- Pineda, M.H., and Ginther, O.J.: *Inhibition of estrus and ovulation in mares treated with an antiserum against an equine pituitary fraction. Am. J. Vet. Res.*, 33:1775, 1972.
- Rivers, T.M., and Schwentker, R.F.: *Encephalitis accompanied by myelin destruction experimentally produced in monkeys. J. Exp. Med.*, 61:689, 1935.
- Roitt, I.M., Doniach, D., Campbell, P.M., and Hudson, R.V.: *Autoantibodies in Hashimoto's disease (Lymphadenoid goiter). Lancet*, ii, 820, 1956.
- Rose, N.R., and Witebsky, E.: *Studies on organ specificity V. Changes in the thyroid glands of rabbits following active immunization with rabbit thyroid extracts, J. Immunol.*, 76:417, 1956.
- Shanklin, W.M.: *Lymphocytes & lymphoid tissue in the human pituitary. Anat Rec.*, 111:177, 1951.
- Stillier, C.R., Russell, A.S., and Dossetor, J.B.: *Autoimmunity; present concepts. Ann. Int. Med.*, 82:405, 1975.
- Uhlenhuth.: *Zur Lehre von der Unterscheidung verschiedener Eiweissarten mit Hilfe spezifischer Sera. In Festschrift zum sechzigsten Geburtstag von Robert Koch. 49:74. Fisher, Jena, Germany, cited from reference of Witebsky, 1965.*
- Weigle, W.O.: *The induction of autoimmunity in rabbits following injection of heterologous or altered homologous thyroglobulin. J. Exp. Med.*, 121;



- 289, 1965.
- Williams, R.C., Kenyon, A.J. and Huntley, C.C.: *Immunoglobulins, viruses, and speculation on their interrelationship in certain human and animal disease states. Blood*, 31;522, 1968.
- Witebsky, E.: *Organ-specific autoantibodies. Annals of the New York Academy of Sciences*, 124;29, 1965.
- Witebsky, E., Rose, N.R., Terplan, K., Paine, J.R., and Egan, R.W.: *Chronic thyroiditis and autoimmunization. J. Amer. Med. Ass.*, 164; 1439, 1957.
- Witebsky, E., and Rose, N.R.: *Studies on organ specificity. IV. Production of rabbit thyroid antibodies in the rabbit. J. Immunol.*, 76;408, 1956.
- Witebsky, E., and Milgrom, F.: *Immunological studies on adrenal gland. II. Immunization with adrenals of the same species. Immunology*, 5;67, 1962.
- Witebsky, E., and Behrens, O.: *Gewebsspezifische lipoidantigens. Extrait du 1 Congress International de Microbiologie, Paris, 1930, cited from reference of Beutner, 1964.*
- Witebsky, E., and Behrens, H.O.: *Die serologische Differenzierung zwischen Vorderlappen und Hinterlappen der Hypophyse. Z. Immun-Forsch.*, 73;415, 1932, cited from reference of Beutner, 1964.
- Witebsky, E., Rose, N.R., and Nadel, H.: *Studies on organ specificity. The serologic specificity of pancreas extracts. J. Immunol.*, 85;568, 1960.



**Fig. 1.** In Ouchterlony double diffusion gel precipitation test, are noted well-formed single precipitation lines between central anterior pituitary extract (antigen) and antisera.



**Fig. 2.** Anterior hypophysis, group II 127 days, showing marked architectural disconfiguration, cytolysis of parenchymal cells and heavy infiltration of inflammatory cells. The left corner, however, consists of relatively intact parenchymal cells. (hematoxylin and eosin,  $\times 100$ )

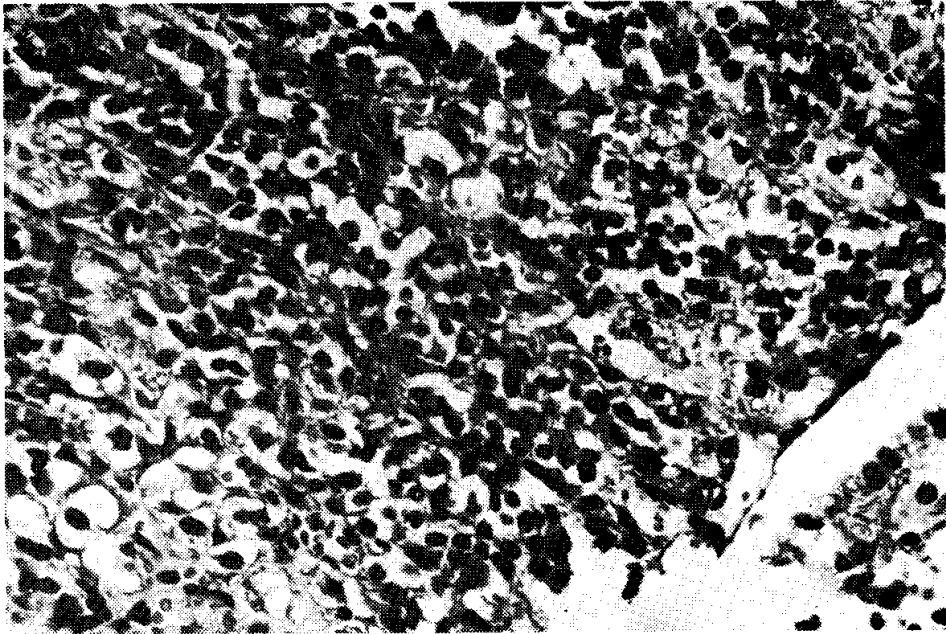


Fig. 3. High power view of fig. 2, showing dense infiltration of lymphocytes with darkly stained nuclei and little visible cytoplasm. Pituitary parenchymal cells are undergoing lysis. (hematoxylin and eosin,  $\times 400$ )

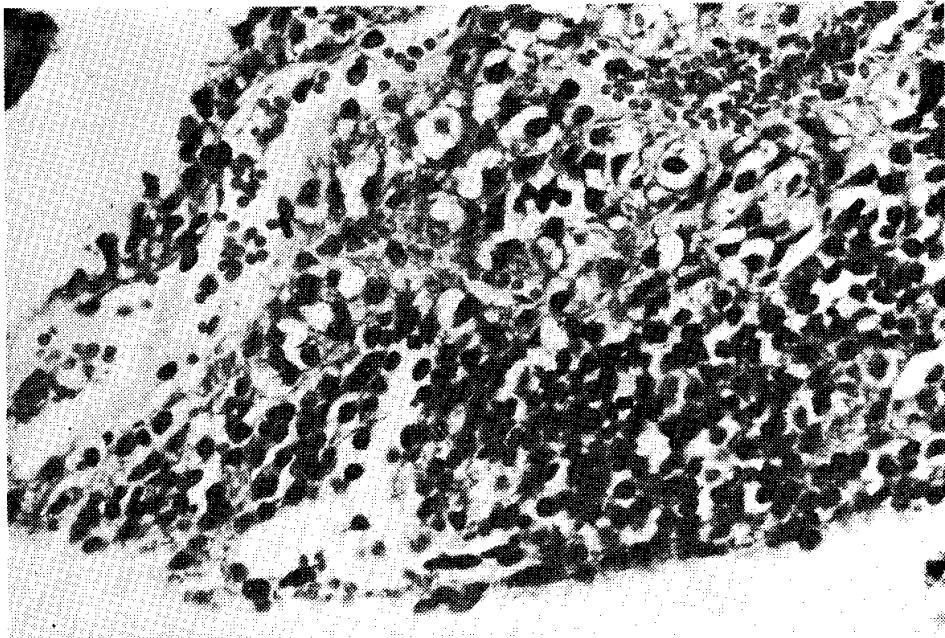


Fig. 4. Another anterior hypophysis, group II 127 days, revealing basically identical features as those of Fig. 3. (hematoxylin and eosin,  $\times 400$ )