

同種甲狀腺抽出物과 Adjuvant의 反復注射에 依한 家兔의 血液像 및 淋巴球母細胞化에 關한 研究

An Experimental Study on the Blood Picture and the Lymphocyte Transformation in Autoimmune Thyroiditis

서울대학교 醫科大學 外科學 敎室* 및 臨床病理學敎室**

蔣 舜 明* · 金 相 仁** · 朴 吉 秀*

I. 緒 論

1900年 Ehrlich와 Mogenroth에 의하여 自家抗體의 概念이 紹介된 以來 現今에 至선 所謂 自家免疫疾患에 對한 關心이 높아지고, 이 範疇에 속하는 疾患이 增加하는 傾向이 顯著하다. 이러한 疾患의 概念을 一元의으로 論하려는 傾向이 있으나 그 本態 卽 病因 乃至 發病機轉은 明確히 알려지지 못하고 있다. 여러 學者들의 많은 動物實驗과 臨床의 觀察을 通하여 考察된 바에 依하던 自家免疫疾患의 發生은 個體 自身の 어떤 組織 成分에 對한 免疫學的 耐性(tolerance)의 消失로 因하여 自身の 組織 或은 그 生成 物質에 感作되어 抗體를 만들 수 있다는 見解 卽, 抗原-抗體 結合反應에 基盤을 두려고 하는데 對해서 大部分의 學者들이 意見을 같이하고 있다.¹⁾ 特히 最近 數年間 免疫學分野의 골목할만한 方法論의 發展과 自家免疫에 對한 基礎醫學의 發展은 臨床의 考察과 함께 同種 혹은 異種의 特定組織이나 臟器를 抗原으로 使用하여 自家免疫反應을 誘發케할 수 있었고, 이것을 基礎로하여 이러한 疾病의 本態와 發病機轉을 究明하고 이들 實驗의 研究에 該當하는 各種 人體 疾患의 內容을 究明코자하는 企圖가 많이 이루어졌다. Freund등²⁾은 海獺에 同種 腺丸組織을 反復注射함으로써 精虫缺如症을 일으키는데 成功하였고, Hurst³⁾는 사람의 腦組織食鹽水浮游液을 家兔의 皮下 및 筋肉內에

反復注射함으로써 家兔에 癱痺를 惹起케 하였다. 反面 Lewis등⁴⁾은 結核에 罹患된 海獺의 血清內에서 結核菌과 는 關係없는 抗體 卽 抗羊血球溶血素가 正常海獺에서 보다 훨씬 많음을 發見하였으며 Diens등⁵⁾은 卵白이나 馬血清을 結核菌巢內에 注射하던 抗原物質에 依한 感作이 더욱 激甚하여지고 皮膚反應의 消褪現象이 遲延된 뿐만 아니라 더로는 壞死를 招來한다는 事實을 發見하였다. Freund⁶⁾에 依하면 同種 或은 異種動物에서 抽出된 抗原으로 動物을 免疫할때 Adjuvant를 使用하는 方法이 普及되었으며, 이들은 殺菌된 結核菌과 paraffin-oil等을 adjuvant로 使用함으로써 抗原에 對하여 持續的인 더로는 壞死가 惹起되는 甚한 皮膚反應을 觀察하였다. Freund의 adjuvant를 利用하여 어느 特定 臟器나 組織에 實驗的 「알러지」性疾患 및 自家免疫反應을 比較的 短時日內에 그리고 比較的 一律的으로 發生시킬 수 있게됨에 따라 猿, 海獺, 家兔 및 犬等에 adjuvant를 添加한 同種 或은 異種動物의 組織을 單1回 或은 數回 注射하여 各部位의 病變을 觀察하는 研究業績이 많이 報告되기에 이르렀다.

上述된 것과 같은 方法으로 Kabat등⁷⁾은 同種 及 異種抗原을 使用하여 猿에게 腦脊髓炎을 短時日內에 發生시킬 수 있었던바, 이와같이 形成된 實驗的 脊髓炎은 人體에서 經驗되는 急性出血性 腦脊髓炎과 病理組織의 類似하며 神經髓質素의 變性을 同伴하는 點에서 큰 意味를 가지게 되었고, 現今까지 原因이 分明치 않은 多

본 논문은 75년도 서울의대 부속병원 임상연구비의 보조를 받은 것임.

發性硬化症(multiple sclerosis) 등 神經髓質素의 變性이 原發性으로 招來되는 各種疾患群에 對한 病因究明에 커다란 도움이 되었다. 그리하여 지금까지 많은 業績과 論文이 實驗的 「알러지」性 腦脊髓炎에 對하여 報告되었 으며⁹⁾ 따라서 이 疾患은 여러 種類의 動物을 使用하여 比較的 確實性있게 再現시킬 수 있는 疾患으로 認定받 게 되었다¹⁰⁾.

Frick¹¹⁾는 白鼠에게 腎臟組織浮游液과 adjuvant를 數回 注射함으로써 腎臟炎이 생김을 觀察하였으며, Colover와 Glynn¹²⁾, Steiner들¹³⁾은 同種의 副腎組織을 Freund의 adjuvant와 함께 海狼의 皮內에 注射함으로써 組織學的으로 副腎炎을 惹起시킬 수 있었으며 副腎皮質의 靜脈洞周邊에 細胞增殖을 包含하는 廣範圍한 病變이 일어남을 觀察하였는데 이런 病變은 人體에서 觀察 되는 副腎炎과 같은 樣相이라고 報告하였다. Witebsky들¹⁴⁾은 脾臟組織浮游液과 Adjuvant를 數回 注射함으로써 家兎에게 臟器特異的 抗體가 生成됨을 觀察하였으며 Heymann들¹⁵⁾도 恰似한 方法으로 腎臟組織의 食鹽水浮游液을 白鼠의 腹腔內에 注射함으로써 腎症이 생김을 觀察하였고, 金¹⁶⁾은 前立腺組織食鹽水浮游液에 adjuvant를 混合한 後 白鼠의 腹部筋內에 注射하여 病變이 確實한 前立腺炎을 觀察報告하였다. 또 金¹⁷⁾은 同種 및 異種胃粘膜組織과 adjuvant를 使用하여 免疫한 白鼠의 胃에서 抗原-抗體反應을 觀察하였다. 그外 Pearson¹⁷⁾은 白鼠에서 關節炎, 骨膜炎, 動脈周圍炎等을, Behar와 Tal¹⁸⁾은 海狼과 Hamster等에서 肝壞死等의 臟器特異的 및 種特異的 「알러지」性疾患을 發生시킨바 있는데 이런 型의 病變들이 所謂 自家免疫疾患의 病因 또는 發病 機轉을 理解하는데 크게 注目받고 있는 것이다.

한편 抗原-抗體反應으로 惹起되는 細胞損傷의 機轉에 對하여서는 現今 充分히 把握되지 않고 있다. 그러나 細胞損傷의 原因이 Histamine, Heparin, Serotonin及 다른 H樣物質 내지는 이들 物質과 關係가 깊은 組織肥胖細胞와 아주 密接한 關係가 있으리라고 推測되며 特히 胃腸管에 있어서는 이들 物質의 分布와 關聯하여 肥胖細胞의 胃腸管에 對한 作用이 理論的으로 暗示되어 왔다²⁰⁾. 이 外에도 細胞損傷의 機轉을 알기 위하여 免疫學的 實驗들이 施行되었다. 卽 Mills²¹⁾는 過去에 어떤 抗原으로 感作된 海狼에서 採取된 淋巴球를 in vitro에서 同一한 抗原과 함께 混合培養하던 末梢血液의 小淋巴球가 大型未成熟淋巴球로 變形되는 率이 對照群보다 增加함을 觀察하였다. Permin과 Lycette²²⁾에 依하면 Tuberculin에 露된 機會가 없었던 個體에서는 淋巴球培養에서 細胞分裂를 觀察할 수 없었으나 過去에 B. C. G. 接種 또는 結核性疾患에 感染되었던 個體로

부터 얻은 循環淋巴球는 同一한 抗原에 依하여 in vitro에서 細胞分裂이 顯著히 增加함을 觀察하였으며, 이 경우 抗原은 抗體를 生成하는 細胞가 增殖하도록 誘導하는 刺戟임이 明確하다고 하였으며 또한 毒素에 依하여 白血球가 變化하고 增殖한다는 一般概念에서 볼 때 어떤 경우에 觀察되는 粟粒性結核에서의 非典型的의 淋巴球增殖이 理解되며, 結核에 罹患된 家兎에서 Tuberculin을 注入하면 역시 白血病樣血液像이 생김은 同一한 理由라고 하였다. Lawrence²³⁾에 依하면 tuberculin으로 感作된 人體淋巴球를 tuberculin과 함께 培養한 後 感作되지 않은 淋巴球와 混合하면 非感作淋巴球들이 母細胞樣變形을 일으키며 同時に 數的增加를 보였다. 淋巴球變形의 機轉은 아직 明確히 밝혀지지 않는 現狀이나 이 現象이 淋巴球와 抗原間의 相互反應에 있어서 一次的 段階이며 이때 變型된 細胞內에는 DNA, RNA 및 蛋白質合成이 顯著히 增加함을 알 수 있다.

抗原代身 Phytohemagglutinin (PHA)과 같은 植物의 抽出物에 依하여서도 非特異的이나 淋巴球에 對하여 母細胞化를 招來한다. 그外 DNP-BGG나 DNP-EA等과 같은 Hapten-protein conjugate를 Freund의 Adjuvant와 함께 使用하여도 抗原이나 PHA에 의한 경우와 마찬가지로 類似한 變化가 일어난다.²¹⁾ 이런 變形된 淋巴球는 거의 確實히 小淋巴球에서 由來한다고 하였으며, Mc Farland와 Heilman²⁴⁾은 人體에서 이 事實을 直接 觀察하였다. 小淋巴球와 遲延性過敏反應과 어떤 關係가 있는가에 對하여서도 많은 研究들이 이루어 졌으며 非感作個體에 過敏性을 傳達하는데도 小淋巴球가 아주 密接한 關係를 가지고 있다.²¹⁾ 卽 한 個體가 어떤 特異 抗原으로 感作되었을 경우에는 그 個體의 淋巴球는 組織培養에서 同一한 抗原이 있을 때는 그 抗原과 特異的으로 反應을 하여 淋巴球母細胞化를 일으키며 이것이 遲延性過敏性反應의 基本이 되는 現象이라고 理解된다.

同種 Lewis系 白鼠는 高率에서 腦脊髓炎이 自家免疫的으로 誘發되며 特히 感作된 淋巴球를 利用할 때 잘 생긴다.²⁵⁾ 卽 腦脊髓細胞와 adjuvant로 感作된 動物에서 採取된 生存淋巴節細胞를 靜注하면 적어도 recipient의 約半數에서 腦脊髓膜炎이 誘發되나 donor immune serum이나 globulin을 注入하는 경우에는 생기지 않는다. in vitro에서 標的細胞破壞의 研究는 in vivo에서 생기는 類似한 反應을 理解하는데에 많은 도움이 된다. 特異的으로 免疫된 動物에서 얻어진 淋巴球는 in vitro에서 標的細胞에 對하여 cytotoxic effect를 나타낸다. 卽 同種의 皮膚組織으로 免疫된 家兎에서 얻어진 淋巴球는 donor target cell과 培養하면 cytotoxic 또는

cytostatic activity가 있음을 알 수 있다²⁵⁾.

한편 人體에서 觀察되는 甲狀腺疾患中 慢性으로 發生하는 甲狀腺炎에 關하여도 許多한 研究가 이루어지고 있다. 慢性甲狀腺炎이란 細胞侵潤과 纖維化가 特히 顯著한 一種의 goiter라고 생각된다. 最近 報告들에 依하던 甲狀腺炎中 淋巴球型甲狀腺炎 (lymphocytic type)의 頻度가 점차 增加하는 듯하며 이 疾患은 甲狀腺機能抗進症과 가끔 混在하며 密接한 關聯을 가지고 있다²⁷⁾. 이 疾患이 自家免疫疾患의 範圍에 속하는 證據들은 많이 있으나²⁸⁻³⁰⁾ 어떻게 誘發되는지, 正確한 病因은 무엇인지 아직 明確치 않다. 한편 實驗의 自家免疫性甲狀腺炎은 thyroglobulin에 對하여 循環性抗體와 遲延性過敏性反應이 생김으로 因하여 免疫動物의 甲狀腺內에 病變이 생기는 疾患이라는 見解가 있다³¹⁾.

thyroglobulin은 濾胞內에서 觀察되고 주위의 上皮細胞에서도 볼 수 있으며 이 物質에 對한 抗體는 여러動物을 利用한 甲狀腺炎들에서 觀察 報告되었다³¹⁾.

著者は 上述된 여러 事實에 비추어 同種의 甲狀腺紅絨抽出物을 Adjuvant와 함께 反復注射함으로써 實驗的 甲狀腺炎을 誘發시켜 이들 動物의 血液像의 變化와 末梢血液淋巴球의 PHA에 依한 母細胞化率을 觀察함으로써 實驗的 甲狀腺炎에서의 淋巴球 特히 過敏性疾患 乃至는 自家免疫性疾患과 關聯이 깊은 T-淋巴球의 反應을 追究하고 自家免疫性疾患의 病因을 究明하는데 도움이 되고자 本實驗을 試圖하였다.

II. 實驗材料 및 方法

A. 實驗動物

體重 2.0kg內外의 健康한 雜種白色雄性 家兔를 使用하였으며 食餌로써는 비지와 新鮮한 野菜를 供與하였고 一週日동안 飼育하여 健康한 것을 確認한 後에 實驗에 着手하였다.

B. 抗原

健康한 家兔의 頸部에서 無菌의 操作에 依하여 甲狀腺을 採取한 後 結締組織을 除去하면서 3~4回 無菌生理食鹽水로 洗滌하였다. 甲狀腺浮游液은 每週 體重이 2.0 kg되는 2匹의 家兔에서 얻은 全甲狀腺組織을 磨碎하면서 生理食鹽水를 加하여 總量이 1.2ml이 되도록 製造하였다. 使用된 Freund's adjuvant는 Difco會社의 製品으로 8.5ml의 Bayol F. (Liquid petrolatum U. S. P), 1.5ml의 Arlacel 및 5mg의 殺菌된 Mycobacterium butyrium으로 組成되어 있다.

C. 免疫方法

實驗動物을 四群으로 나누어 第1群은 正常對照群으로 아무런 抗原의 注射없이 餘他群과 같이 同一期間, 同一條件下에서 飼育하였다. 第2群은 adjuvant 添加없이 甲狀腺抽出物만을 0.1ml씩 注射하였고 第3群은 adjuvant 만을 0.1ml씩 注射하였으며 第4群은 甲狀腺抽出物 0.1ml와 Freund's adjuvant 0.1ml와의 混合을 注射하였다.

各實驗動物은 每週 二匹의 家兔로부터 採取된 甲狀腺組織으로 使用직전에 製造한 新鮮한 抗原을 後肢皮下部에 隔週交代로 週一回씩 接種하였으며 每週 同量의 抗原을 連七回 注射하였다.

D. 血液檢査 및 淋巴球分離培養

血液像檢査를 위한 採血은 抗原注射前 一回를 包含週一回 0.5ml씩 總八回 施行하여 血色素量, 白血球總數 및 白血球百分率을 算定하였으며 淋巴球母細胞化檢査에 對한 採血은 第4週와 第8週末에 心穿刺에 依하여 總二回 實施하였다. 淋巴球의 分離 및 培養은 實驗動物全例에서 早期空腹時 100單位의 Heparin을 添加한 注射器로 心臟을 左側 第三肋間에서 穿刺하여 8ml의 血液을 採血한 後 血液과 Dextran溶液 (分子量 27,000)을 1:5의 比率로 混合한 後 45°傾斜로 37°C부란기속에서 30분간 세워둔다. 上層液 (white cell-rich plasma)을 分離하여 500rpm으로 遠心沈澱한 後 白血球를 TC-199 (Wellcome Labs.) 組織培養液으로 一回 洗滌한 다음 白血球數가 $3.0 \times 10^5/0.2\text{ml}$ 가량이 되도록 TC-199浮游液을 만든다. 培養試驗管 (Falcon plastics)에 TC-199 2ml, Fetal calf serum 0.2ml, PHA-M (Difco) 0.1ml, Penicillin 10 units/ml, Streptomycin 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 白血球 30×10^6 을 添加하여 最終培養液이 3ml가 되게한 後 37°C, 5% CO₂ in air 下에서 72時間 培養하였다. 全群에서 同種甲狀腺抽出物 0.1ml을 添加한 培養과 PHA 0.1ml를 添加한 培養을 하여 이 兩者를 相互比較하였고 모든 細胞培養을 二個의 試驗管에 duplicate하여 結果로 그 平均値를 求하였으며 淋巴球의 母細胞化에 影響을 미칠 수 있는 外的條件을 可能한 限 排除하였다. 培養을 終結한 後는 培養試驗管을 遠沈하여 塗抹標本 三枚를 作成하고 Wright染色을 한 다음 各標本마다 500個씩 淋巴球를 算定하면서 Blastoid transformation을 일으킨 淋巴球母細胞의 百分率을 算出하였다. 觀察部位에 따르는 差異를 없애기 위하여 塗抹의 中央部에서부터 끝까지 最少限 三回 檢査하면서 20視野以上을 油浸 lens로 觀察하여 算定하고 各枚의 平均値를 算出하였다.

Table 1. Material and Method

Exp. group	Animal number	Amount of inj.	Times of inj.	Test No. Performed	
				C. B. C.	Blastogenesis
Normal group (NG)	6	—	—	6×8	6×2
Thyroid extract inj. group (TEG)	8	0.1ml	7	8×8	8×2
Adjuvant inj. group (AdjG)	8	0.1ml	7	8×8	8×2
Thyroid extract with Adjuvant inj. group (TE-AdjG)	11	{0.1ml 0.1ml	7	11×8	11×2

Ⅲ. 實驗成績

A. 血色素量の變動

正常對照群에서는 全實驗期間을 통하여 血色素量の變動이 거의 없는 反面 甲狀腺抽出物注射群과 adjuvant

注射群에서는 各各 最高 1.0g%와 1.1g%의 減少를 보인데 比하여 甲狀腺抽出物과 adjuvant의 混合液注射群에서는 1.7g%의 減少를 나타내어 他群에 比하여 약간 강한 貧血傾向을 보이고 있기는 하나 有意性이 있는 듯하지 않다. (Table 2)

Table 2. Mean Values of Hemoglobin following Administration of Antigen (g%)

Exp. group	Times of inj.								
	0	1	2	3	4	5	6	7	
NG.	14.2	14.0	14.2	13.9	13.8	14.0	13.8	14.1	
TEG.	13.6	13.7	13.3	12.7	13.0	12.8	12.6	12.6	
AdjG.	14.0	13.5	13.1	12.1	13.0	13.5	13.3	12.9	
TE-AdjG.	13.7	13.3	13.6	13.0	12.8	12.0	12.3	12.0	

B. 白血球 總數의變動

正常對照群을 除外한 各實驗動物群에서는 動物個體間의 差異는 있으나 全般的으로 輕微한 白血球增多傾向을 보이고 있다. 即 adjuvant 注射群에서는 實驗終結期에

抗原注射前과 比較하여 約 4%의 增加를 보이고 있고 甲狀腺抽出物과 adjuvant 混合液注射群에서는 抗原注射前에 比하여 約 4~10%의 增加傾向을 觀察할 수 있다. (Table 3) 그러나 個體間의 變動差를 考慮하면 有意한 差가 있다고는 하기 어렵다. (Table 3)

Table 3. Mean Values of Total Leucocytes following Administration of Antigens ($10^3/mm^3$)

Exp. group	Times of inj.								
	0	1	2	3	4	5	6	7	
NG.	7.03	7.21	6.75	7.58	6.80	7.34	7.23	6.98	
TEG.	6.81	6.53	6.92	7.01	6.54	7.12	7.21	7.10	
AdjG.	7.08	6.96	7.33	7.05	7.27	7.04	7.31	7.46	
TE-AdjG.	6.57	6.59	7.31	6.88	7.54	6.89	69.7	7.58	

C. 多核白血球百分率의變動

實驗期間을 통하여 白血球增多症의 傾向은 輕微하였으나 白血球百分率에 있어서는 相當한 差異를 觀察할 수 있었다. 甲狀腺抽出物만을 注射한 家兎群에서의 多核白血球百分率은 注射前과 比較하여 約 3~5%의 輕微한 增加傾向을 보였으며 이 傾向은 正常對照群과 比較

할때 有意한 差異라고 하기는 어려우며 adjuvant 注射群에서는 實驗後半期에서 正常對照群보다 約 8~10%의 增加傾向을 보였다. 甲狀腺抽出物과 adjuvant 混合液의 注射群에서는 注射前보다 約 13~21%의 增加를 보였고 正常對照群에 比하여 實驗期間동안 約 7~22%의 增加傾向을 보였으며 注射回數가 反復될수록 比較的 뚜렷한 差異를 나타내었다. (Table 4)

Table 4. Mean Values of Polymorphonuclear Leucocytes following Administration of Antigens (%)

Exp. animal group	Times of inj.								
	0	1	2	3	4	5	6	7	
NG.	38	36	39	37	40	36	38	41	
TEG.	40	41	39	40	42	45	44	43	
AdjG.	39	40	43	42	50	46	48	49	
TE-AdjG.	41	43	46	48	54	58	60	62	

D. 淋巴球百分率의變動

正常對照群을 除外한 全實驗群에서 實驗期間中 淋巴球의 減少傾向이 觀察되었다. 卽 甲狀腺抽出物注射群에서 實驗終結의 淋巴球百分率은 抗原投與前에 比하여 約 4~6%의 減少를 보였고 正常對照群의 그것과 比較할때 그 減少傾向이 輕微하다. adjuvant 注射群에서 注射前에 比하여 約 8~9%의 減少를 보이고 正常對照群에

比하여 相當한 差異가 있는 셈이고 甲狀腺抽出物注射群보다 오히려 甚한 減少傾向을 보이는 것이다. 甲狀腺抽出物과 adjuvant의 混合液注射群에서는 實驗動物 11마리중 8마리에서 더욱 顯著한 減少를 보였고 抗原注射前에 比하던 12~20%의 減少를 나타내며 實驗期間동안 正常對照群에 比較하여 平均 約 16%의 減少를 示하는 것이며 實驗 第四,五週부터 이 減少傾向이 뚜렷하였다. (Table 5)

Table 5. Mean Values of Lymphocytes following Administration of Antigens (%)

Exp. animal group	Times of inj.								
	0	1	2	3	4	5	6	7	
NG.	58	61	58	59	57	60	59	57	
TEG.	57	56	57	57	55	52	51	53	
AdjG.	55	56	53	51	46	46	47	46	
TE-AdjG.	55	53	51	47	43	36	37	35	

E. 淋巴球母細胞化率의變動

正常對照群에서 아무런 處置를 加하지 않은 家兎血液 淋巴球를 同種甲狀腺抽出物과 72時間 培養한 경우에는 人體에서의 對照實驗結果³²⁾와 같이 平均 3~5%의 母細胞化率을 나타내었으며 同群의 PHA에 依한 末梢血液 淋巴球의 母細胞化率은 34~35% (26~39%) 였으며 人體 淋巴球培養時의 約 60% (36~92%)³²⁾에 比하여 낮은 母細胞化率을 보인다.

甲狀腺抽出物로 感作된 第2群家兎의 末梢血液 淋巴球의 母細胞化率은 甲狀腺抽出物을 添加하여 培養한 경우에는 免疫第4週에서는 平均 10% (6~14%)이고 第8週에서는 16% (14~20%)로써 無處置正常對照群의 對照 培養에서 보다는 높은 母細胞化率을 보이고 長期間 甲狀腺抽出物로 免疫한 第8週에서는 若干 더 높은 母細胞化率을 보였다. 第2群家兎 淋巴球의 PHA 存在下에서의 母細胞化率은 第4週에서는 32% (26~38%)이고 第8週에서는 38% (30~41%)였으며 無處置正常家兎 淋巴球를 PHA로 刺戟한 第一群과 大同小異하였으나 adjuvant만

을 注射한 第3群家兎의 淋巴球母細胞化率은 甲狀腺抽出物을 添加하여 培養한 경우 第4週에서는 12% (8~16%), 第8週에는 14% (10~23%)로 甲狀腺抽出物로 免疫한 第2群의 同一處理群과 比較하여 大同小異한 結果이다. 이 實驗群의 PHA 刺戟 淋巴球의 母細胞化率은 各各 38% (32~42%) 및 42% (34~48%)로써 第2群의 同一處理群과 比較할 때 減少하기는 하나 若干 더 높은 結果이다.

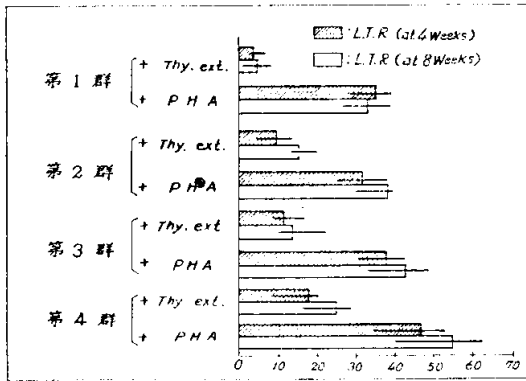
甲狀腺抽出物과 adjuvant 混合液으로 免疫한 第4群家兎의 末梢血液 淋巴球의 母細胞化率은 甲狀腺抽出物을 添加한 培養에서는 第4週에서 18% (9~21%), 第8週에서는 24% (16~28%)였고 同群의 PHA刺戟下, 淋巴球母細胞化率은 第4週에서는 47% (36~53%), 第8週에서는 54% (40~62%)로써 이 實驗群에서의 結果는 全實驗群中에서 甲狀腺抽出物添加培養이나 PHA 刺戟下의 培養이 다같이 가장 높은 母細胞化率을 나타내는 成績이다. (Table 6. Fig. 1)

本實驗成績의 共通된 所見을 綜合하건대 甲狀腺抽出物注射群, adjuvant 注射群 또는 이들의 混合液을 注射

Table 6. Lymphocyte Transformation Rate(LTR)

Exp. group	substance added in culture	LTR% (range)	
		4th week	8th week
Normal group	Thyroid extract	3(2 - 6)	5(1 - 8)
	PHA	35(28-38)	34(26-39)
Thyroid extract inj.	Thyroid extract	10(6-14)	16(14-20)
	PHA	32(26-38)	38(30-41)
Adjuvant inj.	Thyroid extract	12(18-16)	14(10-23)
	PHA	38(32-42)	42(34-48)
Thyroid ext. with Adjuvant inj	Thyroid extract	18(9-21)	24(16-28)
	PHA	47(36-53)	54(40-62)

Fig. 1. Lymphocyte Transformation Rate



한 家兔群을 莫論하고 비록 家兔個體間의 差異는 相當히 크고 一律의 說로 말하기는 어려우나 적어도 그 平均値에 있어서는 甲狀腺抽出物添加와 PHA刺戟이 同같이 4週間免疫에서보다 8週間免疫에서 더 高率의 淋巴球母細胞化率을 보였다. 또 各實驗群에 있어서 甲狀腺抽出物을 添加하여 培養한 경우보다도 PHA 刺戟에 依하여 最少限 二倍以上의 高率의 淋巴球母細胞化率을 觀察할 수 있었다.

各 實驗群間의 母細胞化率을 正常對照群과 比較할 때 PHA刺戟下에서는 二倍以上의 母細胞化率이 觀察되는 家兔는 대단히 드물었던 반면 甲狀腺抽出物을 添加하여 培養한 경우에서는 各免疫群이 平均値에 있어서는 勿論이고 個體間을 比較하여도 거의 모든 家兔에서 正常對照群의 三倍以上의 높은 母細胞化率을 示하였다.

또 甲狀腺抽出物 또는 adjuvant를 注射한 家兔의 末

梢血液淋巴球에 甲狀腺抽出物을 加하여 培養한 경우 兩者가 거의 같은 程度의 淋巴球母細胞率을 보인다.

塗抹上에서 母細胞化된 淋巴球의 形態의 特徵은 대체로 成熟된 小淋巴球의 2~3倍 가량의 크기를 가졌으며 細胞質은 比較的 豐富하고 진한 鹽基性을 띄우며 많은 細胞膜의 外緣이 不規則하고 顆粒은 없으나 核은 섬세한 染色質을 가진 것 또는 相當히 強한 染色質의 clumping을 가진 것들이 混在하여 形態는 대체로 圓形 또는 卵圓形이고 한개 내지 數個의 分明한 核小體를 가지고 있었다. 이들 細胞中의 어떤것은 未成熟單核球와의 鑑別이 어려운 것도 있었다.

IV. 考 按

緒論에서도 記述된 바 있거니와 腦組織을 비롯하여 舉丸, 筋肉, 副腎, 腎臟等 諸臟器를 對象으로 本實驗에 있어서와 그 原則이 一致되는 實驗의 方法으로 야기시킨 病變들이 免疫學的機轉에 기인함은 數次 證明된 바 있다.¹⁰⁾ 即 이와같이 形成되는 實驗의 疾患은 一定한 同種 或은 異種 組織 또는 臟器를 抗原으로 免疫을 야기할 경우 一定期間의 潛伏期를 거쳐 自家免疫疾患이 發生하며 그 病變은 抗原으로 使用한 組織에 局限하여 顯著하게 發生한다는 特異性이 있는 것이다.

一般的으로 免疫學的으로 發現되는 反應은 대개 두가지 方向으로 表現되는데 그 하나는 血清學的反應이고 또 하나는 細胞學的反應이다.³³⁾ 即 血清學的反應은 免疫學的反應의 特徵이 molecular level에서 檢出되나 細胞學的反應은 血清學的反應이 뚜렷하지 않거나 또는 抗體의 檢出이 不可能한 때에 個體에 發生하는 細胞學내지는 生物學의 特性을 土臺로 抗原의 存在를 間接적으로 決定할 수 있어 免疫學的反應을 基盤으로 한 疾患의 病因追究에 많이 利用되고 있는 것이다.

實驗的甲狀腺炎이 試圖된 以來 慢性甲狀腺炎 患者의 血清內에 thyroglobulin에 對한 抗體가 있음이 알려졌다.^{34, 35)} Witebsky等³⁶⁾은 「탄닌」산으로 처리된 赤血球와 thyroglobulin을 접촉시킴으로써 抗體의 存在를 證明하였다. 이런 抗體들은 r-globulin이고 주로 IgG에 屬하나 少數의 경우 IgM이나 IgA가 나타나기도 한다.^{37, 38)} 慢性甲狀腺炎患者에서 r-globulin이 增加되어 있음은 아마 이런 抗體들이 많기 때문이라고 해석된다.³⁹⁾ 또 fluorescent antibody technique로 抗原은 thyroglobulin이 많은 colloid內에 있음을 알 수 있으며 역시 患者의 濾胞에도 있음을 알 수 있다.⁴⁰⁾ 그러나 實驗的甲狀腺炎에서 볼 때 thyroglobulin의 單純한 流出이 自家免疫過程의 誘因은 되지 못한다.⁴¹⁾ thyroglobulin에 對

한 自家免疫抗體는 慢性甲狀腺炎에서뿐만 아니라 Sjögren's disease, S. L. E., rheumatoid arthritis, 및 惡性貧血患者에서도 흔히 볼 수 있다.⁴²⁾ 한편 Hall 등^{43, 44)}은 抗甲狀腺抗體가 家族의 發見됨을 報告하였으며, Irvine과 Muir⁴⁵⁾에 依하면 thyroglobulin 代謝의 異常 등이 可能性으로 暗示된다고 하였다.

Balfour 등⁴⁶⁾은 thyroglobulin 과는 다른 第2의 colloid antigen의 存在를 暗示하고 있으며, 또 microsomal vesicle의 지주막을 形成하는 lipoprotein이 第3의 抗原으로 甲狀腺上皮細胞質에 있으며 이 抗原에 對한 抗體는 培養中인 甲狀腺細胞에 對하여 cytotoxic 하다고 한다.⁴⁷⁾ Schulman 등⁴⁸⁾에 依하면 thyroglobulin은 臟器特異的 抗原의 決定因子를 가지고 있으며 따라서 다른 種의 甲狀腺組織으로 生成된 抗血清과도 反應을 하나 循環性抗體 形成, 遲延性「알러지」 그리고 病變出現間의 關係는 明確치 않다.

thyroxine은 pituitary dwarf mice에서 淋巴球增殖을 促進시킬이 觀察되었고⁴⁹⁾ 體成長促進「호르몬」에 比하면 特히 thyroxine 淋巴球系統의 細胞增殖을 刺戟한다고 한다.⁵⁰⁾

Bogusz 등⁵¹⁾에 依하면 甲狀腺機能抗進症患者에서 淋巴球生成이 促進됨이 觀察된다. 即 大部分患者의 末梢血液에서 淋巴球의 比率이 增加하는 것이다. 動物實驗에서도 甲狀腺「호르몬」投與時 淋巴球系의 增殖을 觀察하게되며 淋巴球系와 腦下髓體 및 甲狀腺이 相當히 密接한 關係를 가지고 있음⁵²⁾을 알 수 있다. 著者의 實驗에서 甲狀腺抽出比의 注射回數가 反復되어 實驗의 自家免疫性甲狀腺患이 成立될수록 末梢血液의 淋巴球比率이 減少傾向을 보이는 結果는 上記事實을 뒷받침하는 것으로 思料되며 이러한 淋巴球減少가 自家免疫疾患의 發生과 關係되고 있음을 짐작할 수 있다.

本家驗에 있어서와같이 諸臟器나 組織을 使用하여 發生시킨 實驗的疾患이 delayed type의 過敏現象에 起因함은 여러學者들에 依해서 證明되었다. 即 이때 出現되는 病變은 血液中에서 檢出될 수 있는 抗體와는 無關하며 이들 動物은 tuberculin 型의 皮膚反應을 나타내는 것도 證明되었다.⁵³⁾ 이런 反應은 allograft rejection이나 移植組織 對 宿主間反應처럼 細胞性免疫과 密接한 個體保存反應에 屬하며 이 反應의 誘發 및 유지에 淋巴球가 主導的 役割을 한다는 것은 周知의 事實이다.^{54, 55)}

自家免疫抗原-抗體反應에서 抗體의 起原에 對하여 여러學說이 있으나 모두 滿足스러운 說明은 되지 못하며 Paterson⁵⁶⁾의 實驗的腦脊髓膜炎, Rose와 Witebsky⁵⁷⁾의 實驗的甲狀腺炎 등에서 推定할 때 淋巴球 및 淋巴球內의

lysosomal enzyme의 役割이 큰 部分을 點有할 것이며 自家免疫反應에 있어서 淋巴球系가 全般的으로 關與할 것이라고 理解된다.

淋巴球는 여러種類의 水溶性酵素들을 많이 含有하며 遲延性過敏性反應, 血栓溶解, 移植組織 對 宿主間反應 등이 있을때 淋巴球에서 排出된 이런 酵素로 인해 다른 細胞의 構造 및 組成에 變化를 일으키는 即 細胞溶解性 樣狀이 나타난다.

이러한 作用에는 補體 (complement)나 循環性抗體를 不要로 한다는 點에서 볼 때 細胞에 附着된 抗體가 重要한 役割을 할 것으로 推測된다. 上記觀察은 感作된 淋巴球의 allogenic target cell 破壞反應이 免疫抑制性 劑製로 防止된다는 事實로서도 뒷받침된다.⁵⁸⁾

自家免疫性組織破壞의 病因을 究明하기 爲하여 Felix-Davies와 Witebsky 등⁵⁹⁾은 海狸에서 淋巴節細胞를 利用하여 實驗的甲狀腺炎을 被動性으로 移行시킬 수 있었다. Rose 등은^{60, 61)} 培養中인 家兔의 甲狀腺細胞가 自家免疫家兔의 血清에선 아무런 變化가 없었으나 感作된 淋巴球에 依해서 損傷 및 破壞됨을 觀察하였다.

血液中의 循環性抗甲狀腺抗體는 細胞破壞性은 없는 것으로 알려져 있다.⁶²⁾ 即 甲狀腺組織의 食鹽水抽出物로 惹起되는 自家免疫에서 생기는 甲狀腺損傷은 循環性抗體보다는 細胞性抗體와 密接한 關係를 가짐이 알려져다 即 細胞性免疫으로 인한 甲狀腺損傷이 母家兔에서 觀察되었으나 이 細胞가 胎盤을 通過할 수 없으므로 子家兔에선 同一한 變化가 觀察되지 않았다.

Freund's adjuvant를 注射함으로써 惹起되는 여러 變化에 關하여는 Rupp⁶³⁾와 Steiner⁶⁴⁾들이 報告한바 있다. 대체로 이들의 報告內容을 보면 adjuvant를 注射한 局所에 炎症性變化와 壞死가 發生하고 全身적으로 網狀內被細胞系統의 增殖을 招來하여 때로는 內芽腫이 發見되는 수도 있다고 하였다.

自家免疫疾患의 病因의 機轉은 細胞培養 등의 特殊한 條件下에서는 가끔 循環性抗體에 依하여 cytotoxic reaction이 나타나는 수도 있으나 대개는 이 抗體가 아니라 淋巴球가 重要한 役割을 하는 것으로 알려져 있으며 더우기 淋巴球가 標的細胞 주위에 雲集하여 細胞를 破壞함은 自家免疫性細胞破壞라는 特異性은 없지만 組織培養에서 흔히 觀察된다.⁴²⁾

慢性甲狀腺炎患者의 血清에서는 前述된바와같이 thyroglobulin外 다른 抗原에 對한 抗體가 發見되며 이 抗體는 猿에 誘發시킨 實驗的甲狀腺炎에서도 發見되는 것으로 이 抗體에 對한 抗原은 濾胞를 이루는 上皮細胞의 細胞質, microsomal fraction 및 甲狀腺細胞表面에서 檢出된다. 따라서 甲狀腺細胞의 細胞成分에 對한 抗體

는 in vitro에서 細胞表面에 附着함을 暗示한다. 그러므로 分明치 않으나 이 抗體는 血清을 通하여 in vitro에서 標的細胞에 到達하여 組織破壞에 關與하지 않을가 생각된다.³¹⁾

家兎實驗에서 보면 感作된 淋巴球과 甲狀腺細胞를 混合培養하던 前者가 後者에 密接히 附着하여 後者の 增殖抑制 및 細胞損傷을 觀察할 수 있으며 萬一 前者가 損傷을 입었거나 破壞되었으면 이런 現象이 減少함이 알려졌다.³¹⁾ 即 淋巴球의 細胞溶解는 淋巴球의 機能的 integrity가 꼭 必要하다. 그 證據⁶⁵⁾ 들로서는 ① 細胞溶解性 血清에 放射線을 照射하여도 細胞溶解機能이 消失되지 않으나 淋巴球에 同一한 處治를 하면 그 機能 이 消失되는 點. ② in vitro에서 感作淋巴球과 非感作 淋巴球의 蛋白質合成能力에 差異가 있는 點. ③ 感作 淋巴球의 特異反應性은 ribosomal preparation으로 非感作 淋巴球에 傳達될 수 있는 點等이다. 即 淋巴球에 依하여 媒介되는 溶解機能은 細胞에 附着된 抗體에 依한 免疫學的反應이며 이것은 標的細胞와 接觸되거나 近接해야 生길 수 있으며 淋巴球의 機能的 完全성과 關係를 가진다.

淋巴球의 機能을 研究하는데 抗原 代身 많이 利用되는 phytohemagglutinin (PHA)는 Phaseolus Vulgaris에서 抽出된 物質으로써 免疫學的으로 活性이 있는 二個의 fraction을 가지고 있으며 淋巴球에 對하여 抗原的으로 作用함으로써 이 細胞의 變形을 誘發하며 이중에 蛋白質合成을 誘導하는 部分과 mitogenic factor를 含有하며 electrophoretic mobility는 血清 r-globulin과 恰似한 性格을 띠고 있으며⁶⁶⁾ 이 PHA를 人體皮膚에 接種한 後의 組織學的 變化는 遲延性過敏性變化的 것과 同一하였으므로⁶⁷⁾ 이로부터 推定해볼때 PHA는 非特異的인긴하나 免疫學的 活性이 있으며 mitogenic factor를 가지고 있음이 더욱 뒷받침 된다.

Cooper⁶⁸⁾의 Lysosomal theory에 依하면 PHA로 因하여 淋巴球內에는 lysosomal activity가 增加되어 全體의 變形過程이 생긴다고 하였으며 lysosome의 透過性이 抗進되거나 hydrolase가 豊富한 顆粒이 出現한다든가 또는 acid phosphatase를 含有하는 顆粒數가 增加하는 等의 事實이 觀察되었다.

標的細胞破壞는 抗原으로 感作된 淋巴球와의 反應으로 생기며 이 現象은 感作淋巴球와의 接觸에 依하여 야기되거나 抗原과 함께 培養되었던 細胞에서 排出되어 上浮游層에 含有된 未詳의 物質에 依하여 發生된다고 보여진다.²⁹⁾

Lawrence와 Pappenheimer⁶⁹⁾에 依하면 tuberculin으로

로 感作된 人體 白血球를 同一한 抗原과 培養시키던 無細胞上層에 transfer factor가 排出되며 이것을 다른 人體에 注入하는 경우 심한 全身的反應이 생김이 觀察되었다. 또한 tuberculin으로 感作된 淋巴球과 PPD를 培養한 後 採取된 上層液에 感作되지 않은 正常淋巴球를 添加하면 後者에서 thymidine 吸收增加를 觀察할 수 있는데 이 機轉으로는 mitogenic factor가 抗原과 感作 淋巴球培養中에 生成되었음을 意味하며 이 因子의 量的變動은 淋巴球에 對한 刺戟程度와 比例한다.⁷⁰⁾ 한편 感作動物의 淋巴球培養에 抗原이 添加되지 않으면 變形된 淋巴球의 出現 및 數의 增加가 顯著하지 못하다. 反面에 非感作動物의 淋巴球培養에선 抗原이 添加되어도 淋巴球母細胞化의 增加는 觀察되지 않는다.

Holm들⁷¹⁾에 依하던 非感作動物에서 採取된 淋巴球는 PHA存在下에서는 allogenic target cell을 파괴함을 觀察 報告하였으며 그 以後로 이를 뒷받침하는 研究報告가 많았다.^{26) 72)} 이런 現象은 PHA存在下에서 非感作 淋巴球가 標的細胞에 依하여 感作된다는 點 或은 細胞破壞는 免疫學的 現象이라기보다는 異物의 構造를 가지는 淋巴球의 PHA-induced agglutination과 有關하지 않을가 하는 示唆를 한다. 非感作 淋巴球는 標的細胞에 對하여 PHA가 없으면 거의 영향이 없으나 PHA存在下에서는 標的細胞數가 激減하였다.⁶⁵⁾

PHA는 赤血球 및 白血球凝集, DNA, RNA 및 蛋白質合成을 促進시키며 그리고 淋巴球가 標的細胞에 附着할 수 있게하는 作用을 가졌으며 Paterson과 Flad⁷³⁾들에 依하면 PHA는 感作 淋巴球의 細胞增殖, 抗體形成 및 組織에의 毒性誘發 등의 能力이 있는 것으로 推則된다고 하였다.

Hirschhorn⁷⁴⁾에 依하면 PHA와 淋巴球를 混合培養하던 細胞內에 acid phosphatase를 含有하는 顆粒의 無數한 增加를 觀察할 수 있으며 이 顆粒內의 酵素가 PHA에 依한 淋巴球分裂에 큰 役割을 할 것으로 생각된다.

自家免疫性 甲狀腺炎은 過放疾患이며 T-cell line의 淋巴球가 發病機轉과 깊은 關係를 가지고 있음은 여러 研究報告⁷⁵⁾에서 再論의 餘지가 없다. 그러나 Hashimoto氏 甲狀腺炎과 같은 사람의 自家免疫性 甲狀腺炎에서 antithyroid antibody titer가 增加된 例들에서 淋巴球母細胞化가 高率로 陽性을 나타내는 것으로 보아 B-cell line과 關係되는 humoral antibody도 密接한 關聯이 있으리라고 豫想된다.

한편 PHA와 같은 非特異的刺戟物質은 주로 T-cell에 作用하여 淋巴球母細胞化를 誘發하는 것으로 알려져 있으나 이 경우의 母細胞化에는 巨大細胞 내지는 B-cell

의 關與도 完全히 否定할 수는 없다고 생각된다.

實驗의 自家免疫性甲狀腺炎에서 PHA와 甲狀腺抽出物에 依한 淋巴球母細胞化程度를 比較觀察한다는 것은 매우 흥미있는 일이라고 믿어지기에 本實驗을 試圖하였던 것이다. 本研究에서 甲狀腺抽出物에 特異하게 感作된 淋巴球가 in vitro에서 PHA에 依하여 더 高率로 母細胞化를 招來한다. 그러나 이 경우에는 甲狀腺抽出物만에 依한 것보다 振幅이 더 넓다. 이러한 결과는 甲狀腺抽出物에 依한 感作의 程度가 實驗動物에 따라 差異가 있음을 나타낸다고 생각된다. 適切한 感作과 PHA에의 反應사이에는 感作된 細胞數感作의 強度 또는 試料採取의 最適期 등이 關係될 것으로 보인다. in vitro에서 甲狀腺抽出物로 感作한 家兔의 末梢血液淋巴球를 in vitro에서 甲狀腺抽出物을 添加하여 培養한 경우의 淋巴球母細胞化率이 PHA 刺戟에 依한 것보다는 훨씬 낮은 母細胞化(blastogenesis)를 나타내는 그 個體가 原來 가지고 있는 T-cell 系列群 或은 PHA에 反應하는 程度보다는 甲狀腺抽出物에 依하여 感作된 家兔의 淋巴球系列群이 훨씬 적거나 或은 感作程度가 輕微하였음을 의미하는 것이라고 하겠고 自家免疫性甲狀腺炎이 일어나는 機轉이 비록 感作된 淋巴球에 起因하기는 하나 그 感作程度는 全體 T-cell 系列群의 極히 적은 一部에 지나지 않음을 暗示한다. 甲狀腺抽出物이나 Adjuvant를 注射한 第二群과 第三群의 家兔淋巴球에 各各 甲狀腺抽出物을 添加하여 培養한 경우의 淋巴球母細胞化率이 거의 差異를 나타내지 않음은 마치 藥物에 依한 過敏性反應 등에서 cross reactivity가 나타나는 類似한 現象이라고 하겠다. 이러한 것의 추궁을 위하여서는 더욱 正確하고 細密한 實驗方法의 利用 내지는 開發이 必要할 것으로 思料된다.

V. 結 論

最近에 急速히 發展된 免疫學的 知識은 從來에 原因不明으로 생각되었던 많은 疾病들을 理解하는데 커다란 도움을 주고있으며 自家免疫性疾患도 그중의 하나라고 할 수 있다.

著者は 同種組織抗原에 依한 實驗的 自家免疫性甲狀腺炎에서 淋巴球의 性狀을 追求하여 그 發病機轉 研究에 도움이 되고자 正常家兔에게 同種甲狀腺抽出物, Adjuvant 및 이들의 混合液을 一定期間 皮下에 注射하고, 血液像의 變動과 同種甲狀腺抽出物과 Phytohemagglutinin (P. H. A) 存在下에서의 末梢血液淋巴球의 母細胞化率을 in vitro에서 觀察하고 分析檢討하여 다음과

같은 結論을 얻었다.

1. 各實驗群에서 末梢血液의 色素量과 淋巴球總數의 變動은 輕微하나 同種甲狀腺抽出物과 Adjuvant 混合液으로 感作된 家兔群에서는 比較的인 多核白血球의 增加와 淋巴球의 減少 傾向이 觀察되었다.
2. 正常家兔의 末梢血液淋巴球는 in vitro에서 甲狀腺抽出物에 依하여 거의 淋巴球母細胞化를 일으키지 않으며 P. H. A에 依해서 平均 35(26-39)%의 母細胞化를 나타낸다.
3. 同種甲狀腺抽出物을 注射한 家兔의 淋巴球는 in vitro에서 甲狀腺抽出物의 存在下에서 正常對照群보다는 뚜렷이 높은 淋巴球母細胞化를 招來하나 P. H. A에 依한 母細胞化는 正常家兔群과 거의 同率을 나타낸다.
4. Adjuvant를 注射한 家兔의 淋巴球는 in vitro에서 甲狀腺抽出物 또는 P. H. A에 依하여 甲狀腺抽出物로 感作된 家兔의 淋巴球와 거의 同率의 淋巴球母細胞化를 나타낸다.
5. 同種甲狀腺抽出物 및 Adjuvant 混合液을 注射한 家兔의 淋巴球는 in vitro에서 甲狀腺抽出物 또는 P. H. A에 依하여 他實驗群의 그것보다 높은 母細胞化率을 보인다.
6. 同種甲狀腺抽出物에 依하여 感作된 家兔의 淋巴球는 in vitro에서 同一抗原 또는 P. H. A存在下에서 動物의 個體에 따라 相當한 母細胞化率의 差異를 나타내며, 이는 그 動物의 抗原에 依한 感受性 或은 感作程度에 左右되는 것으로 思料된다.

以上の 結果를 綜合하면 同種甲狀腺抽出物과 Adjuvant는 家兔의 末梢血液 淋巴球를 거의 같은 程度로 感作하며 上記 兩物質을 同時에 投與한 家兔의 淋巴球가 特히 높은 母細胞化率을 나타내는 것으로 미루어 自家免疫性甲狀腺炎의 發病機轉에는 T-細胞에 該當하는 淋巴球의 特異的 또는 非特異的 感作이 깊은 關係를 가지며 또 先行要件이라고 해석된다.

ABSTRACT

An Experimental Study on the Blood Picture and the Lymphocyte Transformation in Autoimmune Thyroiditis.

Cnang, Soon Myung, M. D. Kim, Sang In, M. D. Park, Kil Soo, M. D.

Dept. of General Surgery and Laboratory Medicine,
Coll. of Medicine, Seoul National University,
Seoul, Korea

Recent interests in autoimmune diseases with investigations on its immunological character elucidated the nature of various human disorders such as Sjörger's disease, S. L. E. pernicious anemia, rheumatoid arthritis, chronic thyroiditis, especially of Hashimoto's lymphocytic type and other diseases, yet the pathogenesis is not fully clarified.

The authors attempted an experimental study for further elucidation of the pathogenesis of autoimmune thyroiditis. The lymphocytes from rabbits sensitized with homologous thyroid extract and/or adjuvant was cultured in the presence of homologous thyroid and the peripheral blood pictures during the sensitization antigen and non-specific stimulant PHA. The rates of lymphocyte transformation in 72-hour cultures were analyzed. The results are summarized as follows:

1. Changes of hemoglobin values and peripheral leucocytosis of each experimental group were slight, however the leucocytosis and relative lymphocytopenia were observed in the group sensitized with a mixture of homologous thyroid extract and Freund's adjuvant.

2. The transformation of peripheral blood lymphocytes of normal rabbits in the presence of homologous thyroid extract was very few and almost negligible.

3. Lymphocytes of rabbits sensitized with thyroid extract showed evidently higher transformation rate than that of unsensitized normal rabbits in the presence of homologous thyroid extract, however these lymphocytes showed almost same degree of transformation rates in the presence of PHA as in unsensitized normal groups of rabbits.

4. Transformation rates of lymphocytes of either group sensitized with Freund's adjuvant or homologous thyroid extract showed similar results when cultured with either the thyroid extract or PHA in vitro.

5. Lymphocytes from the rabbits sensitized with a mixture of homologous thyroid extract and Freund's adjuvant gave higher transformation rates than that of any other groups.

6. Lymphocytes sensitized with homologous thyroid extract showed variable rates of transformation according to the individuality of the rabbits. It is thought that these variabilities are due probably to the degree of sensitization or susceptibility of individual rabbit to the PHA or the antigens.

It is summarized that the rate of blastogenesis of rabbit lymphocytes stimulated by thyroid extract

and cultured with thyroid extract or PHA is similar to that of adjuvant stimulated, while that of thyroid extract with adjuvant is remarkably higher than the above two experimental groups. This results suggest that the specific and non-specific stimulation of T-lymphocytes may be closely related to the pathogenesis of autoimmune thyroiditis.

參考文獻

- 1) 李尙國：可溶性 抗原—抗體複合體의 注射에 依한 骨格筋, 皮膚 皮下組織病理組織學的 變化. 서울大學校 論文集, 醫藥系 第19輯, 57, 1968.
- 2) 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.
- 3) Hurst, E.W.: *The effect of injection of normal brain emulsion into rabbits, with special reference to the etiology of the paralytic accidents of anti-rabic treatment.* *J. Hyg.*, 32:33, 1932.
- 4) Lewis, P.A., and Looms, D.: *Allergic irritability. Influence of chronic infections and of trypan Blue on formation of specific antibodies.* *J. Exp. Med.*, 43:263, 1926.
- 5) Dienes, L., and Schoenheit, W.H.: *Local hypersensitiveness in tuberculous guinea pig.* *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 24:32, 1926.
- 6) Freund, J., & McDermott, K.: *Sensitization to horse serum by means of adjuvant.* *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.* 49:548, 1942.
- 7) Freund, J.: *Effect of paraffin oil and mycobacteria on antibody formation and sensitization.* *Review. Ann. J. Clin. Path.*, 21:645, 1951.
- 8) Kabat, E.A., and Bezer, A.E.: *The rapid production of acute disseminated encephalomyelitis in rhesus monkeys by injection of heterologous and homologous brain tissue with adjuvants.* *J. Exp. Med.*, 85:117, 1947.
- 9) Astrom, K.E., and Waksman, B.H.: *The passive transfer of experimental allergic encephalomyelitis and neuritis with living lymphoid cells.* *J. Path. & Bact.*, 83:89, 1962.
- 10) Waksman, B.H., and Adams, R.D.: *A histologic study of the early lesions in experimental allergic encephalomyelitis and neuritis with living lymphoid cells.* *J. Path. & Bact.*, 83:89, 1962.
- 11) Frick, E. Von.: *Nephritis durch Nierenautoantikörper.* *Ztschr. Immunitätsforsch.* 107:411, 1950.

- 12) Colover, J., and Glynn, L.E.: *Experimental iso-immune adrenalitis. Immunology*, 1:172, 1958.
- 13) Steiner, J.W., Langer, B., Schatz, D.L., and Volpe, R.: *Experimental iso-immune adrenalitis. Immunology*, 1:172, 1958.
- 14) Steiner, J.W., Langer, B., Schatz, D.L., and Volpe, R.: *Experimental immunologic adrenal injury. A response to injection of autologous and homologous adrenal antigens in adjuvant. J. Exp. Med.*, 112:187, 1960.
- 15) Witebsky, E., Rose, N.R., and Nadel, H.: *Studies on organ specificity. X. The serologic specificity of pancreas extracts. J. Imm.*, 85:568, 1968.
- 16) Heymann, W., Hackel, D.B., Harwood, S., Wilson, S.G.F., and Hunter, J.L.P.: *Production of nephrotic syndrome in rats by Freund's adjuvants and rat kidney suspensions. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 100:660, 1959.
- 17) 金泰珍: 同種 및 異種前立腺組織反復注射에 의한 實驗的 前立腺炎에 關한 研究
大韓泌尿器科學會雜誌, 7:61, 1966.
- 18) 金勇一: 同種 및 異種 胃粘膜組織의 反復注射에 의한 白鼠胃病變에 關한 實驗的 研究.
서울醫大雜誌, 8:21, 1967.
- 19) Pearson, C.M.: *Development of arthritis, peri-arthritis and periostitis in rats given adjuvants. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 91:95, 1956.
- 20) Behar, A.J., & Tal, C.: *Experimental liver necrosis produced by the injection of homologous whole liver with adjuvant. J. Path. Bact.*, 77:591, 1959.
- 21) Kelsall, M.A., and Crabb, E.D.: *Lymphocytes and mast cells. The Williams & Wilkins Co., Baltimore*, 1959.
- 22) Mills, J.A.: *The immunologic significance of antigen-induced lymphocytes transformation in vitro. J. Imm.*, 97:239, 1966.
- 23) Pearmain, C., and Lycette, R.R.: *Tuberculin-induced mitosis in peripheral blood leucocytes. Lancet*, 1:637, 1963.
- 24) Spiliter, L.E., and Lawrence, H.S.: *Studies of lymphocyte culture: Products of sensitive lymphocyte-antigen interaction. J. Imm.*, 103:1072, 1969.
- 25) McFarland, W., and Heilman, D.H.: *Lymphocyte foot appendage: Its role in lymphocyte function and immunological reactions. Nature*, 205:887, 1965.
- 26) Paterson, P.Y., Jacobs, A.F., and Caine, J.: *Abstract. Fed. Proc.*, 1966 (2767).
- 27) Wilson, D.B.: *Quantitative studies on the behavior of sensitized lymphocytes in vitro. J. Exp. Med.*, 122:143, 1965.
- 28) Robert, V.: *Chronic thyroiditis. In: Werner, S.C. and Ingbar, S.H. (3rd eds) The Thyroid. a fundamental and clinical Text, New York, Evanston, San Francisco, London, 1971, p. 862.*
- 29) Doniach, D., Hudson, R.V., and Roitt, I.M.: *Human autoimmune thyroiditis: Clinical studies. Brit. Med. J.*, 1:365, 1960.
- 30) Rose, N.R., Skelton, F.R., Kite, J.H., and Witebsky, E.: *Experimental thyroiditis in the rhesus monkey. III. Course of the disease. Clin. Exp. Imm.*, 1:171, 1966.
- 31) Michie, W., and Gunn, A.: *The thyroid, the thymus and autoimmunity. Brit. J. Clin. Pract.*, 20:9, 1966.
- 32) Kite, J.H., Jr: *Discussion. Fed. Proc.*, 27:42, 1968.
- 33) 金路經: 各種惡性腫瘍患者에서의 *Phytohemagglutinin* 刺戟에 의한 *Lymphocyte Transformation*에 關한 研究. 大韓內科學會雜誌, 17:1, 1974.
- 34) Waktman, B.H., and Morrison, L.R.: *Tuberculin type sensitivity to spinal cord antigen in rabbits with isoallergy encephalomyelitis. J. Imm.*, 66:421, 1951.
- 35) Roitt, I.M., Doniach, D., Campbell, P.N., and V. Hudson, R.: *Autoantibodies in Hashimoto's disease (Lymphadenoid goiter). Lancet*, 2:820, 1956.
- 36) Witebsky, E., Rose, N.R., Terplan, K., Paine, J.R., and Egan, R.W.: *Chronic thyroiditis and autoimmunization. J.A.M.* 164:1439, 1957.
- 37) Paine, J.R., Terplan, K.A., Rose, N.R., Witebsky, E., and Egan, R.W.: *A clinical study of chronic non-infectious thyroiditis and autoimmunization. Surgery*, 42:799, 1957.
- 38) Goodman, H.G., Exum, D., and Robbins, J.: *Radioimmuno-electrophoresis of thyroid antigens and anti-thyroid antibodies in clinical and experimental thyroiditis and autoimmunization. Surgery*, 42:799, 1957.
- 39) Goodman, H.C., Exum, D., and Robbins, J.: *Radioimmuno-electrophoresis of thyroid antigens and anti-thyroid antibodies in clinical and experimental thyroiditis. J. Imm.*, 92:843, 1964.
- 40) Rose, N.R., Kite, J.H., Jr., Doebbler, T.K.,

- and Witebsky, E.: *Chronic thyroiditis as an autoimmune disease. In Injury, Inflammation and Immunity* (L. Thomas, Eds.) chap. 8, Baltimore, Med. Williams & Wilkins, 1964, p. 234.
- 39) Idem: *The antibody molecule in chronic nonspecific thyroiditis: Electrophoretic patterns of serum. J. Lab. & Clin. Med.*, 55:733, 1960.
- 40) Beuther, E., Witebsky, E., Rose, N.R., and Gerbasi, J.R.: *Localization of thyroid and spinal cord autoantibodies by means of the fluorescent antibody technic. Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 97:712, 1958.
- 41) McConahey, W.M.: *Hashimoto's thyroiditis. Med. Clin. Nor. Am.*, 55:885, 1972.
- 42) Rose, N.R., and Taylor, K.B.: *The Autoimmune Disease. Med. Clin. Nor. Am.* 49:1675, 1965.
- 43) Hall, R., Owen, S.G., and Smart, G.A.: *Evidence for genetic predisposition to formation of thyroid autoantibodies. Lancet*, 2:187, 1960.
- 44) Idem: *Paternal transmission of thyroid autoimmunity. Lancet*, 2:115, 1964.
- 45) Irvine, W.J., and Muir, A.R.: *An electron microscopic study of Hashimoto's thyroiditis. Quart. J. Exp. Physiol.*, 48:13, 1963.
- 46) Balfour, B.M., Doniach, D., Roitt, I.M., and Couchman, K.G.: *Fluorescent antibody studies in human thyroiditis: Autoantibody to an antigen of the thyroid colloid distinct from thyroglobulin. Brit. J. Exp. Path.*, 42:307, 1961.
- 47) Roitt, I.M., Ling, N.R., Doniach, D., and Couchman, K.G.: *The Cytoplasmic autoantigen of the human thyroid. I. Immunological and biochemical characteristics. Immunology*, 7:375, 1964.
- 48) Rose, N.R., Schulman, S., and Witebsky, E.: *Studies on organ specificity. XIII. Immunological analysis of thyroglobulin and thyroalcanin. J. Immn.*, 88:229, 1962.
- 49) Baroni, C., Fabris, N., and Bertoli, G.: *Hormonal control of lymphoreticular tissues in snell-bag pituitary dwarfism. Proceedings of the Second International Conference on Germinal Centers of Lymphatic Tissue, Padua, Italy, 1969, p. 403.*
- 50) Pierpaloi, W., and Sorkin, E.: *Relationship between developmental hormones, the thymus, and immunologic capacity. In: Lymphatic tissue and germinal centers in immune response. Proceedings of the Second International Conference on Germinal Centers of Lymphatic Tissue, Padua, Italy, 1968 eds., 1968 eds.: L. Fiori-Donati, M.G., Hann, H., Plenum Press, New York, 1969, p. 397.*
- 51) Bogusz, J., and Lisiewicz, J.: *Blood and blood forming organs in hyperthyroidism. Hematologia*, 2:393, 1968.
- 52) Pierpaloi, W. and Sorkin, E.: *Hormones and immunologic capacity, I. Effect of heterologous anti-growth hormone (ASTH) antiserum on thymus and peripheral lymphatic tissue in mice. Induction of a wasting syndrome. J. Immn.*, 101:1036, 1968.
- 53) 崔丙昊: 同種 및 異種 筋肉 組織 對 Adjuvant 의 反應 注射 로 因한 家兔 筋肉 組織 變化 에 關한 研究. 中央醫學, 4:495, 1963.
- 54) Micu, D.: *New data on the cellular substrate of the lymphoproliferative syndrome. Rev. Roum, Med. Int.*, 1970, p. 249.
- 55) Perey, S., Irvine, G.L., and Whang, J.: *Studies on lymphocytic kinetics in man. Blood*, 29:22, 1957.
- 56) Paterson, P.Y.: *Experimental autoimmune (allergic) encephalomyelitis. In: Miescher, P.A., and Muller-Eberhard, H.J. (eds.). Textbook of Immunopathology, Grune Stratton, New York and London, 1968, p. 132.*
- 57) Rose, N.R., and Witebsky, E.: *Experimental autoimmune thyroiditis. In: Miescher, P.A., and Muller-Eberhard, H.J. (eds.). Textbook of Immunopathology, Grune Stratton, New York and London, 1968, p. 150.*
- 58) Wilson, D.B.: *Quantitative studies on the behavior of sensitized lymphocytes in vitro. II. Inhibitory influence of the immune suppressor. Imuran on the destructive reaction of sensitized lymphoid cells against homologous target cells. J. Exp. Med.*, 122:167, 1965.
- 59) Felix-Davies, D., and Waksman, B.H.: *Passive transfer of experimental immune thyroiditis in the guinea pig. Arthritis & Rheumat.*, 4:416, 1961.
- 60) Rose, N.R., Kite, J.H., Jr., and Doebbler, T.K.: *Experimental autoimmune thyroiditis. In Mechanism of cell and tissue damage produced by immune reactions. (P. Miescher and P. Grabar, Eds.) p. 161, Basel, Bemoschwabe & Co., 1962.*
- 61) Rose, N.R., Kite, J.H., Jr., Doebbler, T.K., and Brown, R.C.: *In vitro reactions of lymphoid cells with thyroid tissue. In cell-bound antibodies (B. Anos and H. Koprowski, Eds.) Philadel-*

- phia*, Wistitute Press, 1963, p. 19.
- 62) Chandler, R.W. : *Experimentally induced autoimmunization. In: Disease of the Thyroid. Pediatrics*, 29:961, 1962.
 - 63) Rupp, J.C., Moore, R.D., and Schoenberg, M.D. : *Stimulation of the reticuloendothelial system in the rabbit by Freund's adjuvant. Arch. Path.*, 10-43, 1960.
 - 64) Steiner, J.W., Langer, B., and Schatz, D.L. : *The local and systematic effects of Freund's adjuvants and its fractions. Arch. Path.*, 70: 424, 1960.
 - 65) Rosenau, W. : *Target cell destruction. Fed. Proc.*, 27:34, 1968.
 - 66) Holland, N.H., and Holland, P. : *Hemagglutinin Precipitating and lymphocyte-stimulating factors of phytohemagglutinin. Nature*, 207:1307, 1965.
 - 67) Astaldi, G., Burgo, G.R., Genova, R., Curtoni, E., and Giraudo, L.C. : *Histological skin reaction to intradermal inoculation of Pokeweed tohumans. RESJ., Reticuloendothelial Soc.*, 7:126, 1970.
 - 68) Cooper, H.L. : *Studies on early biochemical changes in phytohemagglutinin-stimulated lymphocytes. In: W.O. Rieke(eds.) Proceedings of the Third Annual Leucocyte Culture Conference, New York, 1969, p. 623.*
 - 69) Lawrence, H.S., and Pappenheimer, A.M., Jr. : *Transfer of delayed hypersensitivity to diphtheria toxin in man. J. Exp. Med.*, 104:321, 1956.
 - 70) Dumonde, D.C., Howson, W.J., and Wolstencroft, R.A. : *In Immunopathologie, 5th International Symposium, 1968. p. 263.*
 - 71) Holm, G., Perlmann, P., and Werner, B. : *Phytohaemagglutinin-induced cytotoxic action of normal lymphoid cells on cells in tissue culture. Nature*, 203:841, 1964.
 - 72) Möller, G., Beckman, V., and Lundgren, G. : *In vitro destruction of human fibroblasts by non-immune lymphoid cells. Nature*, 212:1203, 1966.
 - 73) Flad, H.D., Paterson, P.Y. and Niescher, P.A. : *In vitro effects of PHA and brain antigen on cell transfer of experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats. J. Imm.*, 100: 647, 1968.
 - 74) Hirschhorn, R., Kaplan, J.M., Hirschhorn, K., and Weissmann, G. : *Acid phosphatase-rich granules in human lymphocytes induced by phytohemagglutinin. Science*, 147:55, 1965.
 - 75) Humphrey, J.H., and White, R.G. : *Hypersensitivity mediated by antibodies. In: Immunology for Students of Medicine, 3rd eds., Blackwell, 1970, p. 428.*