

胸腺摘出이 免疫機能에 미치는 影響

Effect of Thymectomy on Immunological Function in Adult Mice

서울大學校 醫科大學 病理學教室
安 亘 煥

緒 論

胸腺은 前縱隔洞에 位置한 淋巴器官으로서 細胞性 免疫反應에 中樞的 機能을 한다. 과거 한동안 胸腺이 幼小兒期에 현저히 크고 思春期이후 萎縮되는 事實에 根據해서 胸腺이 發育過程에 關여한다고 알려져 있었다. 그러나 新生期에 胸腺을 摘出한 후 胸腺을 再移植하여 주는 등의 동물실험을 통하여 胸腺이 細胞性 免疫에 필수적 역할을 함이 밝혀졌다(Hess, M.W., 1968).

한편 Levey(1963) 및 Osoba等(1964)은 millipore diffusion chamber 에 同種 新生 마우스 胸腺組織을 넣어서 新生期에 胸腺을 摘出한 마우스에 前記한 millipore chamber를 이식한 바 면역기능, 말초혈액임파구수 및 체중의 회복을 관찰하였다. 이러한 관찰조건은 胸腺에 면역기능 및 淋巴球形成等에 關여하는 소위 "humoral thymic factor"가 있음을 암시하였고 그 이후 이에 關한 연구결과 thymosin, thymopoinetin I 및 II 등 각종 humoral thymic factor가 알려졌다.

周知하는 바 실제 임상적으로 胸腺의 發育不全時 관찰되는 소견과 理論的 期待值와의 사이에는 다소 거리가 있다. 이러한 관점에서 본다면 人體에서 胸腺 및 "bursa-equivalent" 免疫細胞系統(thymus-and "bursa-equivalent"-dependent cell lines)으로 淋巴系細胞를 분류하는 점은 아직까지는 단순한 추정적인 가설이라 보겠으며 따라서 胸腺의 主機能은 아직 不明하다 하겠다.

신생 或은 태생기의 胸腺의 기능은 많이 밝혀졌으나 成熟된 후의 胸腺의 기능에 關한 知見은 미흡하다고 하겠다.

이에 저자는 成熟마우스에서의 免疫學的 機能을 구명하고자 다음과 같은 실험을 하였다.

본 연구는 1977년도 문교부 정책연구비의 보조를 받았음.

實驗材料 및 方法

1. 實驗動物

본 실험에 사용된 동물은 체중 18~20gm내외의 생후 4~8週된 건강한 C₃H系 雄性마우스이며 一定飼料로 1주일간 실험조건을 조정한 후 격리사육하였다.

2. 移植腫瘍

移植腫瘍으로는 C₃H系마우스에 자연발생한 脂肪肉腫을 使用하였다. 腫塊는 切除後 박절하여 Rock's solution에 3번 세척한 후 trocar needle을 사용하여 마우스 左側前膊에 皮下移植하였다.

3. 胸腺摘出

生後 4~8週에 ether麻醉下에 胸骨柄을 部分切除한 후 진공펌프(vacuum pump)를 사용하여 흡인식(suction method)으로 胸腺을 摘出하였다. 잔여 胸腺組織有無는 도살때 종격조직을 절취 현미경적으로 검사하여 확인하였다. Sham thymectomy는 ether麻醉下에 피부절개 및 胸骨柄 部分切除後 피부봉합을 시행하였다.

4. 放射線照射

胸腺摘出後 4週에 X-線 500r을 全身 照射하였다.

5. 實驗群

1) 第 I 群(對照群): 생후 4~8주에 Sham thymectomy를 실시하고 Sham thymectomy시행후 4주후 Sham irradiation, 12주후 腫瘍을 移植하였으며 그 이후 第3, 7 및 10일에 도살하여 左側 腋窩部 淋巴節 및 脾臟을 剔出하였다.

2) 第 2 群: 생후 4~8주에 胸腺摘出, 이어서 4週後 Sham irradiation, 12주후 종양을 이식한 후 第 3, 7, 10일에 각각 도살하였다.

3) 第 3 群: 생후 第4~8週에 Sham thymectomy를 시행하였으며, Sham thymectomy시행후 4주후 X-선照射 12週後 종양을 이식하였으며 그 이후 第3, 7, 10일에 각각 도살하였다.

4) 第4群：생후 第4~8週에 胸腺摘出, 이어서 4주 후 X-선조사, 12주후 종양이식을 시행한 후 제 3, 7, 10일에 각각 도살하였다.

6. 血液學的 檢査

실험동물을 도살할 때 頸動脈을 절단하여 채혈한 후 血色素, 赤血球容積, 白血球數 및 鑑別血球計算을 시행하였다. 단 1군은 12주, 2군은 11, 12, 13, 15, 17주, 3군은 12, 13주, 4군은 12, 13주에 각각 혈액학적 검사를 실시하였다.

7. 淋巴器官의 무게

剔出한 脾臟의 周圍에 附着된 脂肪組織을 除去하고 測定하여 平均무게를 算出하였다.

8. 組織標本製作

屠殺直後 淋巴節 및 脾臟組織을 6% formalin in 60% alcohol溶液에 24時間 固定하고 paraffin包埋하였으며, 4~5마이크론 두께의 連續切片을 만든후 hematoxylin-eosin염색 및 Kurnick氏 方法을 改良한 methyl-green-pyronin Y염색을 시행하여 檢鏡하였다.

實驗成績

1. 死亡率

各實驗群別 死亡率은 <第1表>와 같다.

Table 1. Mortality in C₃H mice.

Group	No. Animal	No. dead(%)
Control	20	1(5%)
Thymectomized; Sham irradiated	32	3(9.4%)
Thymectomized; irradiated	34	9(27.6%)
Sham thymectomized; irradiated	30	6(20.0%)

홍선적출 군에서 홍선적출후 24時間以內에 死亡한 例는 觀察對象에서 除外하였다. 死亡率은 대조군에 비해 홍선적출군에 다소 높으며 방사선조사군에서는 홍선적출후 방사선조사군이 Sham thymectomy시행후 방사선조사군보다 다소 높은 死亡率을 나타내었다. 實驗群 死亡例는 모두 심히 衰弱한 상태(wasting)였으며 뚜렷한 化농성 병소는 1예도 없었다.

2. 體重의 變化

各實驗群別 體重의 變化는 第2表와 같다. 대조군에 비해 홍선적출군 및 방사선조사군에서 다소 감소되었으며 특히 홍선적출후 放射線照射群에서 좀 더 심한 體重減少를 볼 수 있었다.

3. 淋巴器官의 무게

脾臟의 各군別 平均무게는 제 1군 138mg, 제 2군 162mg, 제 3군 112mg, 제 4군 146mg으로 일정한 反應樣相을 볼 수 없었다.

Table 2. Effect of Adult Thymectomy on Body Weight of C₃H Mice

Group	Weeks after operation	Weight in gm and standard deviation
Control(Sham thymectomized; Sham irradiated)	12	24.2±0.4
Thymectomized; Sham irradiated	11	21 ±0.7
	12	22.5±1.5
	13	23.0±2.7
	15	22.9±3.3
	17	23.2±1.3
Thymectomized; irradiated	12	20.3±1.2
Sham thymectomized; irradiated	12	21.5±2.6

한편 종양이식에 수반해서 經時的으로 대조군(제 1조)에서 제 3일 177mg, 제 7일 190mg, 제 10일 217mg으로 점차 증가하였으며 제 2, 3, 4군에서도 비슷한 무게 變化 양상을 볼 수 있었으나 各 實驗群間에 특기할 차이점을 볼 수 없었다.

4. 末梢血液所見

各實驗群別 主要 末梢血液所見은 第3表와 같다. 白血球數는 各군別 차이점이 없으며 임파구수는 대조군에 비해 방사선조사군에서 전반적으로 낮으며 홍선적출군에서는 홍선적출후 11~13주에는 다소 낮으나, 15~17주에는 대조군과 유사하였다. 한편 임파구수/顆粒白血球數 比率을 보면 대조군에 비해 방사선조사군 특히 홍선적출후 방사선조사군에 현저히 감소되었다.

血色素 및 赤血球容積値는 대조군 및 各 實驗群間에 的의 있는 차이점을 볼 수 없었다. 그리고 종양이식후 各 實驗群別 및 經時的으로 各중 末梢血液檢査 所見에 特記할 所見은 없다.

5. 淋巴器官의 病理組織學的 變化

종양을 移植하지 않은 마우스의 淋巴節은 Oort 및 Turk(1965)가 기술한 휴식기 임파절("resting" node)의 소견과 유사하였다. 즉 베이중심은 드물게 觀察되었으며 深層皮質部는 皮質深部, 수질에 연한 부위에 위치하여 postcapillary venule을 중심으로 密集되어 있었다. 극소수의 large pyroninophilic cell(이하 LPC로 표기)이 深層 皮質部에서 觀察되었으며 수질에는 小

Table 3. Effect of adult thymectomy on peripheral leukocytes*

Group	weeks after operation	No. of leukocytes/cu mm			L/G ratio
		Total	Lymphocytes	Granulocytes	
Sham thymectomized: Sham irradiated	12	9870± 368	5429± 133	4441± 150	1.22
Thymectomized: Sham irradiated	11	8200± 910	4182± 836	4018±1607	1.04
	12	7050± 150	3525± 705	3525±1410	1.0
	13	9300± 520	4743±1422	4559±1498	1.04
	15	10050± 620	5628± 635	4422± 495	1.27
	17	11300±1200	6248± 500	5052± 440	1.24
Thymectomized: irradiated	12	10533±3767	3444± 431	7089± 291	0.486
	13	9200±1400	3036± 167	6164± 650	0.493
Sham thymectomized: irradiated	12	10950±938	4544±1136	6406±1601	0.709
	13	11000±2919	3916± 830	7084±1527	0.553

L, Lymphocytes; G, Granulocytes

*Mean of 3~6 mice

數의 形質細胞가 觀察되었다.

흉선적출시 淋巴節 深層皮質部의 經微한 萎縮이 인지되었다.

放射線照射時 輕度 내지 中等度の 淋巴節 皮質의 萎縮이 나타났으며 특히 흉선적출후 방사선조사군에서 현저하였고 동시에 深層皮質部의 크기 및 淋巴球密度가 中等度로 감소되어 있었다.

脾臟의 淋巴조직 즉 백수는 中心細靜脈을 둘러싸고 있는 periarterial lymphatic sheath와 그 주위의 배아 중심 그리고 최외층인 周緣帶(marginal zone)로 구성된다.

일반적으로 배아중심은 뚜렷하고 크며 주로 小淋巴球로 구성된 被覆層(mantle layer)으로 둘러싸여 있다. 대조군에서는 극소수의 LPC가 periarterial lymphatic sheath에서 觀察되었다.

대조군에 비해 흉선적출군에서 현저한 淋巴조직위축은 없었고 방사선조사군에서 경도의 백수위축이 觀察되었다.

한편 면역학적 측면에서 淋巴節 및 脾臟의 機能을 평가할 수 있는 여러가지 형태학적 基準中에서 세포성 면역와 관련하여 淋巴節 深層皮質部와 脾臟의 periarterial lymphatic sheath에 나타나는 LPC가 객관성 및 再現性(reproducibility)이 가장 높다. 이러한 LPC의 수는 Fjeld 및 Turk(1965)의 방법을 사용하여 고배율 시야에 나타나는 LPC의 수를 계산하여 LPC가 가장 많이 나타나는 每4視野의 LPC의 총수로 산출하였다.

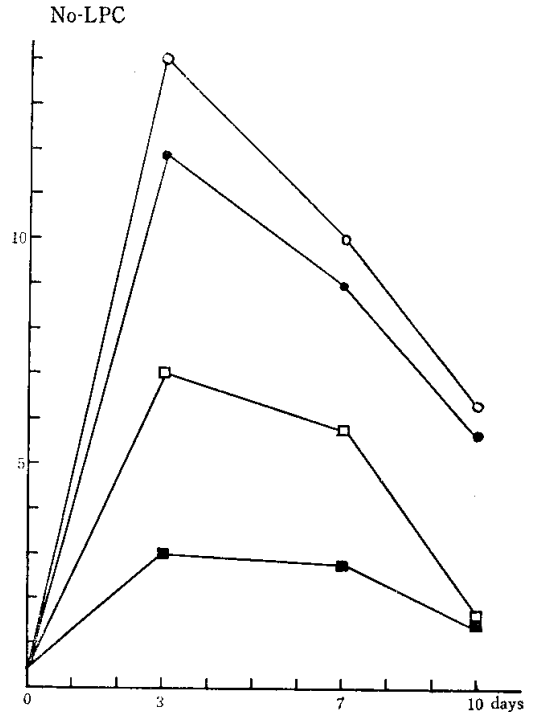


Fig. 1. Lymph node response after transplantation of liposarcoma

- Sham thymectomized; Sham irradiated
- Thymectomized; Sham irradiated
- Sham thymectomized; irradiated
- Thymectomized; irradiated

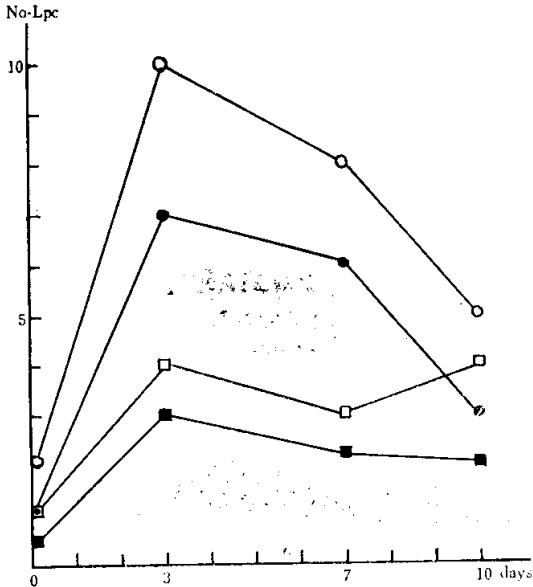


Fig. 2. Splenic response after transplantation of liposarcoma

- Sham thymectomized; Sham irradiated
- Thymectomized; Sham irradiated
- Sham thymectomized; irradiated
- Thymectomized; irradiated

이에 淋巴節 深層皮質部와 脾臟의 periarterial lymphatic sheath의 LPC의 종양이식에 따른 經時的 및 各群別 數的 變化를 살펴 보면 제 1 및 2도와 같다.

淋巴節의 LPC의 動態를 살펴보면 대체로 종양이식 후 제 3일에 최고치에 도달한후 점차 감소하는 경향을 보이고 있다. 대조군(제 1군) 및 胸腺摘출후(제 2군) 사이에 현저한 차이는 없고 제 3, 4군에서는 제 1군에 비해 현저히 저하된 反應이 觀察되고 특히 제 4군(胸腺摘출후 방사선조사군)에서 현저하였다.

脾臟의 LPC의 수적 變化 역시 종양이식후 經時的으로 淋巴節과 유사한 양상이나 淋巴節의 LPC의 數보다 훨씬 적다. 即 제 1군(대조군)에 비해 제 2군에 다소 감소된 反應을 볼 수 있으며 제 3, 4군 특히 제 4군(胸腺摘출후 방사선조사군)에서 현저한 LPC의 수적 감소 및 제 1군(대조군)에서 관찰된 종양이식후 제 3일에 보이는 현저한 LPC의 수적 증가추세의 둔화가 관찰되었다.

總括 및 考按

以上の 實驗所見으로 보아 成熟動物에서 胸腺摘출은 輕한 體重減少 及 “wasting”을 유발하며 이로 인한 死

亡率은 비교적 낮다. 한편 放射線照射群은 현저한 체중감소 및 높은 死亡率을 나타내었고 이는 胸腺摘출후 放射線照射群에서 더욱 현저하였다.

한편 胸腺摘출후 末梢血液內 淋巴球數의 현저한 감소를 볼 수 없었고 放射線照射群에서 다소 甚한 淋巴球數의 감소가 관찰되며 특히 胸腺摘출후 放射線照射群에서 현저하였다. 이 소견은 末梢血液內 淋巴球의 增加 즉 immunocompetent cell의 수적증가에 胸腺이 關係하고 있음을 나타내고 있다.

종양이식후 淋巴節 深層皮質部 및 脾臟의 periarterial lymphatic sheath의 LPC의 수적동태는 일반적으로 安(1975) 및 安等(1977)의 보고와 유사하다. 安等(1977)의 胸腺摘출후 4주의 소견과 비교하면 현저한 차이점을 인정키 어려우며 이는 胸腺摘출시 가지고 있던 면역적합세포(immunologically competent cell)가 계속 存在하는 시기가 胸腺摘출후 12週까지도 지속됨에 기인하며 이는 다른 학자들의 보고와 일치된다(Jeejeebhoy, 1965; Metcalf 1965; Miller, 1962).

그러나 Sham thymectomy후 放射線照射群 보다 胸腺摘출후 放射線照射群에 더 현저한 LPC의 감소가 있음은 末梢血液內 淋巴球의 數가 胸腺摘출후 放射線照射群에서 Sham thymectomy후 방사선조사군보다 다소 적은 소견과 연관시켜 본다면 末梢血液內 淋巴球의 수 내지 임파구수/顆粒白血球數 比率의 감소와 임파절 深層皮質部 및 脾臟의 periarterial lymphatic sheath의 LPC수의 減少는 일정한 상호 비례하는 함수 관계가 있다고 보겠다.

이러한 일련의 관찰소견은 방사선조사와 같은 면역기능이 저하된 상태에서 胸腺은 末梢血液內 淋巴球數 增加 즉 immunocompetent cell의 수적 증가를 통하여 淋巴器官의 反應性 恢復에 關係함을 시사하고 있다.

일반적으로 胸腺은 세포성 면역反應의 발달 및 유지에 필요한 器官이다. 이러한 기능은 지연성 過敏反應과 이식거부 反應(rejection of graft)에 關係하는 T-cell을 생성하므로써 이루어진다. (Yunis, 1971).

한편 T-cell은 B-cell과 상호작용하므로써 humoral antibody형성에 중요한 보조작용을 한다(Claman, 1969).

胸腺임파구의 기원은 여러 동물에서 연구한 바로는 extrathymic origin 즉 배자(embryo)의 yolk sac 및 成人에서는 골수임이 밝혀졌다. 이러한 사실은 chromosome marker 및 자가방사법으로 증명되었다 (Moore, 1967; Davis, 1969). 나아가서 karyotypic marker를 사용하여 골수에서 胸腺으로 계속적인 세포의 이행이 있음이 입증되었다. 전기한 세포는 胸腺에 들어가서

—ABSTRACT—

Effect of Thymectomy on Immunological Function in Adult Mice

Geung Hwan Ahn, M.D.

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

Adult thymectomy in combination with or without whole body irradiation was performed in C₃H mice and attempts were made to test the hypothesis that presence of the thymus is necessary for recovery of immune reactivity in adult life.

Adult thymectomy didn't induce significant increase in incidence of wasting and mortality rate as well as significant decrease in immune reactivity to transplanted liposarcoma.

Whole-body irradiation in combination with thymectomy induced apparently more increase in incidence of wasting and mortality rate as well as much more decrease in peripheral lymphocytes/granulocyte ratio and numbers of LPC in deep cortical area of regional lymph node and periarterial lymphatic sheath of spleen in relation to transplantation of liposarcoma than non-operated group.

These observations indicate that thymus is necessary in recovery of immune reactivity in adult life by means of increase in adequate pool of immunologically competent cells.

REFERENCES

Ahn, G.H.: *Histopathological Changes in Lymphoid Organs during Growth of Ehrlich Carcinoma*. *New Med. J.* 18:879, 1975.

Ahn, G.H., T.K. Yun, and S.K. Lee.: *Histopathological Changes of Lymphoid Organs during Growth of Transplanted Liposarcoma in Mice Thymectomized and Irradiated in Adult Life*. *Seoul J. Med.* 18: 71, 1977.

Claman, H.N.: *Immunologic complementation between thymus and marrow cells; a model for the two-cell theory of immunocompetence*. *Transplant. Rev.* 1:92,

거기서 증식하고 수일후 T-cell의 양상을 띠고 나타난다. 흉선림파구형성(Thymic lymphopoiesis)의 주된 부위는 흉선의 皮膜下部位이다.

흉선이 淋巴球에 면역학적 적합성을 부여하는 정확한 기전은 알려지지 않았으나 humoral factor형성을 통하여 이루어 진다는 강력한 시사기가 있다. 이러한 분비기능에 관한 형태학적 증과는 Clark(1968)에 의해 論議된 바 있다.

많은 흉선림파구는 흉선에서 죽어 버리지만 대부분은 이동하여 末梢淋巴器官을 집락(colonization)시킨다. 이들 흉선림파구는 Raviola와 Karnovsky에 의하면 원심성 血管을 연결하는 血管주위결체직을 경유하는 듯하다.

結 論

著者は 成熟된 C₃H系마우스에서 흉선적출 및 放射線照射를 시행하고 종양이식과 관련하여 면역학적 側面에서 觀察한 바 다음과 같은 結論을 얻었다.

1. 흉선적출후 12주후 흉선적출만으로는 Sham thymectomy시행 대조군에 비해 경도의 체중감소 및 경미한 死亡率增加가 있었으며 放射線照射時 體重減少 및 死亡率增加는 다소 현저하고 특히 흉선적출후 放射線照射群에서 더욱 현저하였다.

2. 흉선적출후 末梢血液中 淋巴球數의 뚜렷한 감소는 인정기어려우나 放射線照射後 淋巴球數는 현저히 감소되며 특히 흉선적출후 放射線照射群에서 훨씬 현저히 감소되었다.

3. 종양이식과 관련하여 淋巴節 및 脾臟의 LPC의 수적變化는 대조군과 흉선적출군 사이에 현저한 차이점은 없으나 放射線照射時 LPC의 수는 현저히 감소되고 특히 흉선적출후 放射線照射群에서 더욱 현저히 감소되었다.

以上の 所見으로 미루어 보아 成熟動物에서 흉선이 放射線照射로 인한 감소된 末梢血液內淋巴球數의 증가 및 저하된 淋巴器官의 反應性 恢復에 關與함을 시사하였다.

- 1969.
- Clark, S.L. Jr.: *Incorporation of sulfate by the mouse thymus in its relation to secretion by medullary epithelial cells and to thymic lymphopoiesis. J. Exp. Med.* 128:927, 1968.
- Davies, A.J.S.: *The Thymus and the cellular basis of immunity. Transplant. Rev.* 1:43, 1969.
- Fjelde, A. and J.L. Turk.: *Induction of an immunological response in local lymph nodes by chemical carcinogens. Nature(London)*, 205:813, 1965.
- Hess, M.W.: *Experimental Thymectomy-Possibilities and Limitations. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. New York*, 1968.
- Jeejeebhoy, H.F.: *Immunological studies on the Rat Thymectomized in Adult Life, Immunol.*, 9:417, 1965.
- Levey, R.H., W., Trainin, and L.W. Law.: *Evidence for Function of Thymic tissue in Diffusion Chambers Implanted in Neonatally Thymectomized Mice. J. Natl. Cancer. Inst.* 31: 199, 1963.
- Metcalf, D.: *Delayed effect of thymectomy in adult or immunological competence. Nature(London)*, 208: 1336, 1965.
- Miller, J.F.A.P.: *Immunological significance of the thymus of the adult mouse. Nature (London)*, 195: 1318, 1962.
- Moore, M.A.S., and J.J.T. Owen.: *Stem-cell migration in developing myeloid and lymphoid systems. Lancet* 2:658, 1967.
- Oort, J. and J.L. Turk.: *A histological and autoradiographic study of lymph nodes during the development of contact sensitivity in the guinea pig. Brit. J. Exp. Path.*, 46:147, 1965.
- Osoba, D., and J.F.A.P. Miller.: *The Lymphoid Tissues and Immune Responses of Neonatally Thymectomized Mice Bearing Thymus Tissue in Millipore Diffusion Chambers. J. Exp. Med.*, 119:177, 1964.
- Raviola, E. and M.J. Karnovsky.: *Evidence for a blood thymus barrier using electron-opaque tracers. J Exp. Med.* 136:466-498, 1972.
- Yun. T.K.: *A New Transplantable Mouse Liposarcoma 7311(Yun Liposarcoma) of Spontaneous Origin. J. Korean Cancer Res. Ass.*, 10:13., 1975.
- Yunis, E.J., O., Stutman, and R.A. Good, *Thymus, immunity and autoimmunity. Ann. N.Y. Acad. Sc.* 183:205, 1971.