

항원성 자극을 받은 임파절세포의 Rough Surfaced Endoplasmic Reticulum의 변화

이창수, 권세훈, 손태중
경북대학교 의과대학 병리학교실

The Changes of Rough Surfaced Endoplasmic Reticulum of Lymph Node Cells Stimulated by Antigen

Chang Soo Lee, Sae Hoon Kwon and Tae Joong Sohn
Department of Pathology Kyungpook National University
School of Medicine

ABSTRACT

The changes of rough surfaced endoplasmic reticulum of plasma cells in the regional lymph node after injection of Bovine Gamma Globulin summarized as follow :

The rough ER of plasma cells before antigenic stimulation shows flattened sac but changed to vesicular at 3rd day and vacuolar at 7th to 10th day. Intradisternal granules are appeared within the lumina or rough ER at 7th to 10th day. The rough ER is changed to distended sac or flattened sac at 20th day.

The results suggest that normally flattened sac of rough ER is changed to vesicular and then to vacuolar after antigenic stimulation. But they are returned to distended sac or flattened sac with disappearance of antigenic stimuli.

I. 서론

1945년 Porter는 세포질에는 mitochondria, Golgi complex 및 분비과립등 광학현미경으로 식별가능한 세포내 소기관들 이외에 전자현미경으로만 관찰되는 여러가지 모양을 한 막으로 된 구조물(fine membranous structure)이 있다고 보고한 이래 많은 연구자들에 의해서 관찰된 결과 그 존재가 확인되어 오늘날 이들은 endoplasmic reticulum(rER)으로 총칭되고 있다.

이들 중 그 막에 ribosome이 부착한 ER 즉 rough-surfaced endoplasmic reticulum(rER)에 관한 지금까지의 연구들을 종합해 보면 이 소기관은 일반적으로 적혈구등 소수의 예외를 제외하고는 모든 동식물세포에 양적 차이는 있을지언정 존재하며 그 형태는 기본적으로 단층의 단위막으로 형성된 막과 이막에 의해서 싸여진 강(lumen)으로 되며 이 강은 세포의 기능상태에 따라 낭상(saccular) 소포상(vesicular) 혹은 관상(tubular)등 다량

한 형태를 취하며 그 막에는 Glucose-6-phosphatase, ATPase, UDPase를 위시한 10여종의 효소가 양적차이는 있으나 다같이 분포하며 그리고 그 주된 기능은 단백 특히 분비물로서 세포외에 방출되는 수출성 단백질(exportable protein)의 합성장소로서 그 합성경로는 먼저 막표면에 붙어있는 ribosome 상에서 합성된 후, 단백질 일단 세포기질에 유리된후 다시 ER의 막을 투과하여 그 강내로 들어가던(indirect transport hypothesis) 혹은 ribosome 상에서 합성된 단백질이 직접 ER의 막을 투과하여 그 강내로 들어가던(direct transport hypothesis) 일단 ER강에 도달한 단백질은 잠시동안 혹은 오랫동안 그 내에 축적 혹은 머물다가 세포 밖으로 분비될 것이라는 등에 대해서는 어느 정도 확실성이 있는것 같다. 특히 이 부위에 있어서의 상기한 단백질합성 경로에 대해서는 Palade 및 Siekevitz 등이 취장의 외분비세포를 가지고 행한 전자현미경적 세포분획적 그리고 자기방 사법적연

구에서 또 Ackerman, Bainton 과 Farguhar 그리고 언 및 손이 호중구의 peroxidase 반응을 중심으로 한 전자현미경적 연구에서 또 Petris 와 Karlsbad 가 항체생산세포인 형질세포를 가지고 행한 ferritin 항체법적 연구등에서 각각 자세히 검토되어지고있다. 그러나 이와같은 다채로운 형태와 기능을 가진 소기관을 ER 탄 하나의 Category 로 일괄해도 되는가. 또 ribosome 상에서 합성된 단백이 세포기질을 거쳐서 ER 강내로 투과 혹은 세포기질을 거쳐지 않고 ribosome 상에서 직접 ER 막을 투과하여 그 강내로 들어가는가, 또 세포의 기능 상태에 따라 여러가지 모양을 취하는데 그 모양이 단백질성의 양과 어떠한 관계가 있는가, 그리고 rER 는 수출단백의 합성을 그리고 free ribosome 은 구조단백(structural protein)의 합성을 전담한다고 하나 실제에 있어서 rER 의 발달은 극히 빈약하고 free ribosome 이 풍부한 large pyronophilic cell 이 다량의 항체 특히 IgM 을 합성하여 혈류로 방출하고 있는 것으로 보아 ER 과 free ribosome 의 분업이 반드시 언제나 구분되어 행해지고 있는가등 아직도 흥미로운 문제들이 많이 있다. 그래서 저자는 위에서 언급한 문헌적지견들을 기반으로 하여 Bovine Gamma Globulin(B. G. G.)과 Incomplete Freud's Adjuvant (IFA)를 가토의 족서부 피하에 주입한후 소속 임파질 내의 항체 생산 세포들중 특히 형질세포내의 rER 이 항원자극에 대해서 그 형태가 경시적으로 어떻게 달라져 가는가를 관찰하기 위해서 본 실험을 기도했다.

II. 실험재료 및 방법

실험동물: 체중 2~2.5kg사이의 숫놈 흰 토끼를 1~3주간 사육한 후 그중 건강이 확인된 것만을 실험에 제공하였다. 특히 사지에 염증이 없음을 확인하였으며 또 실험도중에 체중변동이 심한 것은 제외하였다. 실험동물은 모두 30필로서 대조군(무처치)에 5필 실험군 즉 BGG와 IFA를 주입한 군에 25필을 할당하였다.

자극물질: 실험에 사용한 자극물질의 종류와 그 투여량은 다음과 같다.

1. BGG (Nutritional Biochemical Corporation, Fraction II, New York, U. S. A.) 10mg를 1.5ml의 생리적 식염수에 혼합한 다음 IFA (Iakon Laboratory, Tokyo, Japan) 0.5ml를 첨가하여 Water-in-emulsion의 상태로 만들어 주입하였다.

대조물질: 자극물질과 동량의 생리적 식염수를 주입하였다.

실험방법: 실험동물의 양측 족서부의 털을 깎고

소독한 후 실험군에는 상기한 자극물질을 대조군에서 동량의 생리적 식염수를 각각 우측 족서부 피하에 주입하였다. 또 감염을 방지하기 위하여 Streptomycin 0.1gm을 둔부근육에 주사하였다. 이렇게하여 각 실험 물질의 주입이 끝난후 3, 7, 10, 13 및 20일째가 되면 각 실험군에서 5필씩을 택하여 양측 슬와임파절을 적출하였다. 적출된 임파절은 즉시 1% OsO₄용액(온도 0°~4°C, buffer; 0.1M phosphate buffer, pH:7.4)에 고정후 탈수는 ethanol의 graded solution으로, penetration은 QY-1으로써 포매는 Luft방법에 의한 epoxyresin으로 박절은 Porter-Blum Ultramicrotome MT-2 type로 glass knife를 사용하여 400~600Å으로 끊어 염색은 Reynold's electron double stain을 하여 HU-IIIE 전자현미경으로 관찰하였다.

III. 실험성적

대조군: 생리적 식염수만을 주입한 가토 슬와 임파절 세포내의 rER의 형태는 대체로 다음과 같다. 즉 형질세포의 rER은 대개 편평낭상(flattened sac)을 정하고 이들 사이에는 곳곳에 교합(anastomosis)을 볼 수 있고 그 표면에는 150~250Å크기의 ribosome이 약간의 간격을 두고 균등하게 monosome 상태로 혹은 수개~수10개가 연쇄상을 이루어 polysome 상태로 부착해 있기도 하였다. 강(lumen) 내에는 대개 전자밀도가 낮은 균질성인 물질이 들어 있는것도 있고 또 곳에 따라서는 이들 물질이 약간 과립상을 나타내는 경우도 있었다. 이상과 같은 형태를 지니는 rER들은 세포질의 거의 대부분을 차지하고 또 이들이 층판상(lammellae)을 형성하는 경향이였다. 그밖에 이들 rER사이에는 소수의 mitochondria가 있고 Golgi complex는 핵주위에 위치하였다. 핵은 둥글고 핵 윤곽은 윤활하며 chromatin은 대개가 euchromatin의 양상이였다. 소입파구의 rER은 숫적으로 극히 적고, 그 모양은 소포상이였다. 대입파구의 rER도 소포상을 정하며 수도 매우 적다. (참고사진 1 참조) 이상과 같은 rER의 소견은 Moe 및 그밖에 연구자들에게 해서 보고된 성적과 본질적으로 큰 차가 없다.

실험군: 항원 투여후 3일째의 형질세포의 rER은 숫적으로 상당히 증가하고 모양은 대체로 소포상을 정하였다. 이들 소포상을 정하는 rER들의 사이에는 교합들이 많았다. 강내에는 전자밀도가 비교적 낮은 무구조내지는 과립상을 정하는 물질이 소량 들어있다. 그러나 어떤것은 이들 물질이 다량 저류되어 형성된 intracisternal granule도 보인다. 또 이들의 막표면에는 대부분 ribosome 이

고루 부착해 있으나 어떤 곳에는 ribosome 부착이 전혀 없는 것도 있다. 소 및 대임파구의 rER도 그 수가 약간 증가되고 소포상을 정하며 그 강내에는 투명한 양상을 나타내었다. 항원투여후 7 일째의 형질세포의 rER은 3 일째의 그것에 비하여 숫적으로 증가해있고, 또 모양도 대부분 소포상 및 공포상인 것이 흔해하고 이들사이의 교합상도 더욱 많이 볼 수 있었다. 이들의 어떤것은 교합이 많아진 결과 서로 엉켜서 벌집모양(alveolar structure)을 하며, 그 강내에는 다수의 intracisternal granule이 모여 있었다. 이 표면에는 ribosome이 좀 거리를 두고 어떤곳은 monosome상태로 어떤곳은 polysome상태로 부착해 있었다(참고사진 2 참조). 소 및 대임파구의 rER은 대부분 소포상이며 숫적으로도 약간 증가한 것 같았다. 항원 투여후 10 일째의 형질세포의 rER은 7 일째의 그것과 큰 차이가 없으나 다만 intracisternal granule의 출현이 적고 그 강내에는 대부분 부정형한 물질들의 출현이 많았다. 소 및 대임파구의 rER의 성장도 7 일째의 그것과 큰 차이가 없었다. 항원투여후 13 일째의 형질세포의 rER은 숫적으로 약간 감소하고 모양은 대부분 공포상이며 이들의 강내에는 intracisternal granule이 거의 보이지 않았다. 소 및 대임파구의 rER은 대부분 낭상이고 숫적으로도 변동이 없는 것 같다. 항원투여후 20 일째의 형질세포의 rER은 숫적으로는 항원투여전과 거의 같고 모양은 대부분 확장낭상내지 편평낭상을 정하였다. 그 강내에는 소량의 과립성내지 부정형한 물질이 있을 뿐이었다. 소 및 대임파구의 rER에도 별 변화가 없다.

IV. 총괄 및 고안

일반적으로 항원을 피하로 주입하면 항원은 주입 부위에 있던 임파관내로 들어가 소속 임파절로 간다. 소속 임파절에 도달한 항원은 대부분 임파동맥에 있는 탐식세포에 의하여 억류되거나 일부분은 소속 임파절을 거쳐 다음 임파절로 또는 임파관을 따라 순환혈류내로 들어간다. 따라서 항원을 피하에 주입하면 소속 임파절에 있는 세포들 특히 항체단백의 합성과 관계가 있는 세포내 소기관에 어떤 반응이 일어나리라고 기대된다.

그리하여 저자는 가용성 항원인 BGG와 IFA와의 emulsion을 토끼의 족저부 피하에 주입한 후 소속 임파절인 슬와임파절 기질에 있는 세포들 중 특히 항체생산세포의 하나인 형질세포의 rER변화를 경시적으로 관찰하였던바

1. 항원투여후 3 일째에는 rER은 숫적으로 증가하고 그 모양은 대부분 소포상을 정하고 이들

사이에 소수의 교합을 볼 수 있고, 그 강내에는 소량의 단백질성 물질이 저류하고,

2. 7 일째에는 rER의 수가 더욱 증가하여 서로 교합하여 벌집 모양을 나타내고, 또 그 강내에는 단백질성 물질의 형성이 왕성하여 intracisternal granule이 다량 저류하고

3. 10 일째에는 7 일째의 소견보다 약간 감퇴되는 경향을 나타내고

4. 13 일째부터는 숫적으로 현저히 감소하고 그 모양은 공포상으로 나타나고, 그강내에 단백질성 물질의 저류도 보이지 않고

5. 실험 종료일인 20 일째에는 거의 모든 rER이 확장된 낭상내지 편평낭상으로 되어간다는 경향이 있다.

이미 알려진 바와 같이 rER은 ribosome 과 ER의 복합체로서 수출 단백을 합성내지 수송하는 세포내 소기관 임에는 틀림없다. 그러기 때문에 이 소기관은 소화효소를 합성하는 취장의 외분비세포, 혈장단백을 합성하는 간세포, 그리고 항체 단백을 합성하는 형질세포등 단백을 왕성히 합성하는 세포들에 특히 잘 발달되어 있으나, 그 형태는 세포의 기능상태에 따라 다양하며, 그 내용물의 성장도 일정치 않다.

이들에 대한 연구보고들의 중요한 것을 추려 보면 Yatanabe²⁾는 guinea pig에 pilocarpin을 주사하고 취장의 외분비선을 검사하였던 바, 주사 전에는 편평낭상을 정하던 rER이 주사후에도 소포상→공포상→확장낭상의 형태로 이행해 갔었는데, 이는 주사후 8 시간이 되면 주사전의 상태로 복귀하는데, 이때 소포상 내지 공포상을 정하는 시기에는 rER상호간에 교합을 다수 볼 수 있고, 또 그 강내에는 다수의 intracisternal granule이 출현하며, 이와같은 변화들은 단백질의 합성이 왕성해진 결과 나타난 변화라고 설명하였다.

이와같은 결과는 Palade⁷⁾ 및 Yamada²⁵⁾에 의한 생화학적 및 ferritin항체법에 의해서도 증명되었지만, 이들은 intracisternal granule은 guinea pig이나 소 이외의 동물에서는 잘 출현하지 않는 점으로 보아 그들은 intracisternal granule의 출현이 단백질합성의 정도를 나타내는 형태학적 표적물의 유일한 것인지 아닌지 문제가 된다고 말하였다. 또 최근에 de Petris와 Karlsbad¹⁷⁾은 ferritin혹은 apo ferritin으로서 면역한 guinea pig의 임파절내의 형질세포에 대한 조사에 의하면 maker로 사용한 상기 두 물질이 항체생산의 극기에 이르러 rER의 강내에 intracisternal granule의 상태로 다량 존재한다는 것을 관찰하고, 이것은 합성된 항체 단

백의 rER 강내의 축적현상이라고 말하였다. 그러나 rER의 ribosome상에서 합성된 단백질이 모두 rER의 강내로 축적되는지에 대해서는 검토할 여지가 많다고 덧붙이고 있다.

이상의 실험들을 종합해보면 지금으로서는 인공적으로 단백질합성을 촉진시키면 편평낭상을 정하는 rER의 모양이 소포상을 거쳐 공포상으로 되고, 이 공포상은 확장낭상으로 되었다가 종내는 편평낭상으로 되며 또 이때에 합성이 많아지면 rER의 강내에 축적되어 intracisternal granule의 상태로 나타나고, 또 단백질합성이 왕성해지면 ER들의 교합상이 형태학적으로도 많이 인지된다는 것들에 대해서는 별 이의가 없는 것으로 생각된다.

이와같은 소견들을 저자의 실험과 거의 일치하는 소견이다. 따라서 저자도 단백질합성을 촉진시키는 물질을 동물에 주입하면 단백질합성 세포내의 rER은 편평낭상→소포상→공포상→확장낭상으로 되었다가 다시 처음의 상태인 편평낭상으로 된다는 선현들의 보고에 동의한다. 그러나 이들 현상 중 Palade⁷⁾와 Yamada²⁸⁾는 단백질합성의 정도를 표현하는 intracisternal granule이 guinea pig나 소 이외의 다른 동물에서는 극히 보기 드물다고 하나 본 실험에서 실험동물로 사용한 가토의 임파절내의 형질세포 내에도 항체합성을 촉진하는 물질 즉 BGG와 IFA의 emulsion을 주입하면 거의 모든 경우에 출현할 수 있다는 것을 첨가해 두고저 한다. 왜냐하면 본 실험에서는 30필의 실험동물중 실험군에서는 모두 intracisternal granule이 출현하였기 때문에 가토에 있어서는 단백질 특히 항체합성의 합성이 왕성한 형질세포의 rER에서 언제나 볼 수 있을 것으로 생각해도 무리가 아닐것으로 생각하기 때문이다. 어쨌든 본 실험에서는 상기한 연구자들의 성적을 재확인 하였을 뿐아니라 가토에도 항원을 투여하면, 그 항체 단백질합성의 극기에 형질세포내에 intracisternal granule이 출현한다는 것을 첨가해 둔다. 끝으로 Petris와 Karlsbad¹⁷⁾의 보고에서의 의문점 즉 형질세포 내의 rER표면에 부착한 ribosome에서 합성된 단백질이 모두 ER의 강내로 들어가 거기서 축적되는지 그렇지 않는지에 대해서는 본 실험방법 및 성적으로서는 전혀 언급할 수 없음을 유감으로 생각한다.

V. 요약

토끼의 족서부 피하로 Bovine Gamma Globulin과 Incomplete Freud's Adjuvant를 주입한 후 국소 임파절내의 항체생산 세포인 형질세포의 rER을 경시적으로 관찰한 결과를 요약하면 다음과 같다.

① 항원투여전의 형질세포의 rER은 일반적으로 편평낭상(flattened sac)을 정하고, 항원 투여 후 3일째에는 일반적으로 소포상(vesicular)를 그리고 7일내지 10일째에는 공포상(vacuolar)를 정하고 그 강내에는 intracisternal granule이 다수 출현하며 20일째에는 다시 확장낭상 내지는 편평낭상을 정하게 된다.

이상의 연구성적으로 보아 편평낭상을 정하는 형질세포의 rER에 항원성 자극을 가하면 처음에는 소포상으로 되었다가 공포상으로 변화하며, 항원성 자극이 소퇴하면 다시 편평낭상으로 복귀된다고 생각된다.

REFERENCES

1. K. R. Porter, A. Claude and E. F. Fullam(1945) : J. Exper. Med., 81 : 233.
2. Yonosuke Watanabe(1969) : The Cell, 1(5) : 4.
3. K. R. Porter(1954) : J. Histochem. Cytochem., 2 : 346.
4. M. I. Watson(1955) : J. Biophys. Biochem. Cytol., 1 : 257.
5. 今井嘉朗(1965) : 蛋白質, 核酸, 酵素, 10 : 170
6. V. C. Manganiello, and A. H. Phillips(1965) : J. Biol. Chem., 240 : 3951.
7. G. E. Palade, P. Siedevitz and L. G. Caro (1962) : Ciba Foundation Symposium on the Exocrine Pancreas, P. P. 23.
8. T. Peters(1962) : J. Biol. Chem., 237 : 1186.
9. D. D. Sabatini, Y. Tashiro and G. E. Palade (1966) : J. Mol. Biol., 19 : 503.
10. D. D. Sa atani and Y. Tashiro(1964) : IV Internat. Symo. Biochem., abstract P. 84.
11. Y. Tashiro, S. Nagata, T. Morimoto and S. Matsuurra(1966) : 6th International Congress for Electren Microscopy, Abstract Vol. 2.
12. G. A. Ackerman(1968) : Lab. Invest., 19 : 290.
13. D. F. Bainton and M. G. Farquhar(1968) : J. Cell Biol., 39 : 286.
14. D. F. Bainton and M. G. Farquhar(1968) : J. Cell Biol., 39 : 299.
15. D. F. Bainton and M. G. Farquhar(1966) : J. cell Biol., 28 : 277.
16. 염우권, 손태중(1972) : 경대의대잡지, 13(2) : 147.

17. S. de Petris and G. Karlsaad(1965): J. Cell Biol., 26 :795.
18. I. Suzuki, H. Kamei and M. Takahashi(1969) : Exo. Mol. Path., 11 :2.
19. J. HH. Luft (1961) :J. Biophys. Biochem. Cytol., 9 :409.
20. R. G. Moe(1964) :Amer. J. Anat., 114 :341.
21. 백관철 (1971) : 경대의대잡지, 13(1) : 61.
22. S. S. Han(1961) :Amer. J. Anat., 109 :183.
23. 정철용 (1972) : 경대의대잡지, 13(2) : 171, .
24. K. B. Rabert (1970) :General Pathology(H. W. Florey edited), pp 998.
25. E. Yamada and T. M. Ishikawa(1960) : Kyushu j. Med. Sci., 11 :235.

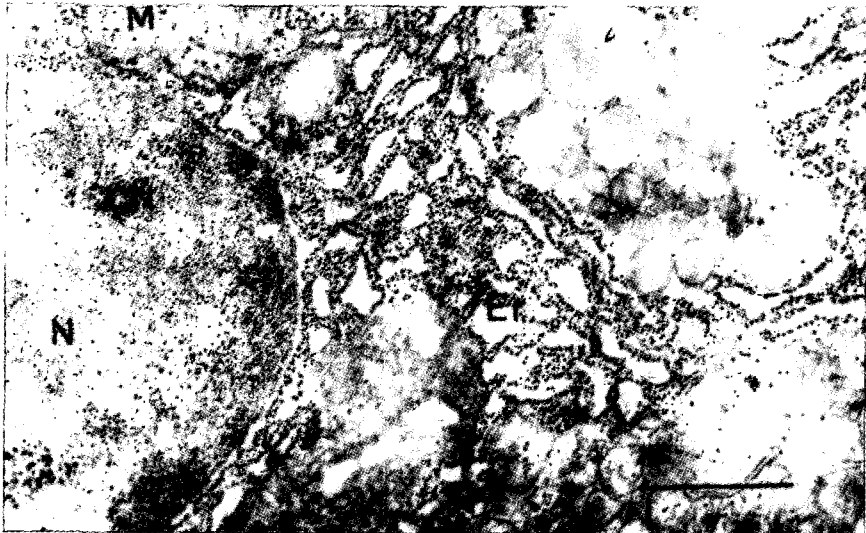


Fig. 1. A part of plasma cell, lymph node, rabbit, control. Flattened cisternae of endoplasmic reticulum are well developed. Their lumina are filled with less electron dense deposits. x 20,000

Fig. 2. A part of plasma cell, lymph node, rabbit, 7 days after antigenic stimuli. Rough ER are mostly saccular or vesicular in shape. Some of them are fused and filled with moderate electron dense materials and they form "intracisternal granule" xx 20,000