

기니픽에 있어서 實驗的 過敏性 接觸性 皮膚炎

李採瑢 · 李政吉 · 李周默*

全南大學校 農科大學 獸醫學科 · 全北大學校 農科大學 獸醫學科*

(1984. 8. 29 接受)

Experimental Allergic Contact Dermatitis in the Guinea Pig

Chai-yong Lee, Chung-gil Lee and Ju-mook Lee*

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Chonnam National University

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Chonbuk National University*

(Received August 29, 1984)

Abstract: An experiment was carried out to measure the cellular immune response in guinea pigs by sensitizing the animals with 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB). The guinea pigs could be sensitised with one application of DNCB. The sensitizing and challenge dose was standardized. The histological response was characteristic of a delayed hypersensitivity reaction.

緒

論

實驗的으로 過敏性 接觸性 皮膚炎을 惹起시키는 많은 方法이 있으나 오늘날 여러 學者들에 의해 使用되고 있는 方法은 分子量이 작은 化學物質을 使用하는 것이다. 그 중에서도 使用이 簡便하여 쉽게 應用할 수 있는 物質은 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)으로 이 物質에 의한 遲延型 過敏性 皮膚炎은 患畜의 免疫狀態를 測定할 수 있게 해주며 惡性疾病을 가진 患畜의 豫後判定에 指針이 되는 것이다. 소⁸⁾의 경우 細胞性 免疫反應系가 침해를 받는 疾病은 結核, 呑氏病, 眞菌病 그리고 腫瘍 등이다.

이 DNCB가 사람에 있어서는 正常人⁹⁾과 癌患者^{2,4)} 그리고 結核患者 등¹¹⁾에 適用되었고 動物에서는 소^{3,6)}를 비롯하여 돼지⁵⁾, 기니픽^{8,10)}, 닭¹⁾ 그리고 고양이 등⁷⁾에 適用되었는데 대상동물은 모두가 正常的인 것이었다.

本 研究에서는 疾病狀態에서 DNCB를 適用하는 研究를 위한 기초실험으로 기니픽에 DNCB를 사용하여 過敏性 接觸性 皮膚炎을 誘發시킨 다음 그 肉眼的 및 病理組織學的 變化를 관찰하였다.

材料 및 方法

抗原: 2,4-dinitrochlorobenzene (日本 東京化成工業株)을 아세톤에 溶解하여 使用하였다.

實驗動物: 4~8個月齡의 健康한 Hartley guinea pig 12마리를 使用했다.

感作: 右側 肩胛上端을 剪毛한 다음 直徑 30mm의 금속 ring을 붙이고 25G의 針을 부착한 1ml 주사기로 1% DNCB 0.4ml를 點滴시키면서 입으로 붙여 아세톤이 빠르게 증발되도록 했다.

攻撃: 感作 後 14일에 左側 肩胛上端에 感作시킬 때와 同一한 方法으로 同量의 DNCB를 適用하였고 對照群 2마리에는 아세톤만을 使用하였다.

皮膚檢査: 皮膚의 測定은 攻擊시킨 24時間과 48時間後에 Caliper(日本 MITU-TOYO VENIER)를 사용하여 두께와 直徑을 測定하였으며 皮膚의 發赤은 肉眼的으로 觀察하였다.

病理組織學的 檢査: Thoday의 方法⁹⁾에 의하여 皮膚를 適出한 다음 10% 中性 포르마린에 固定하고 파라핀으로 포매했다. 조직절편(6 μ m)은 Hematoxylin-eosin으로 染色하여 鏡檢하였다.

結 果

기니피그를 DNCB로 感作시키고 14일 後에 攻撃한 다음 皮膚의 反應을 檢査한 結果 對照群에서는 反應이 나타나지 않은 反面 實驗群 10마리에서는 모두 測定이 가능한 反應이 나타났다(Table 1). 反應의 형태는 모든 動物에서 유사하게 나타났는데, 주위의 正常皮膚보다 약간 부어오른 모양이었으며 發赤現象도 觀察되었다. 攻撃당한 部位의 皮膚直徑 증가는 平均 22.14mm (24時間後)와 16.58mm(48時間後)이었으며, 두께의 증가는 平均 0.77mm(24時間後)와 0.57mm(48時間後)이

었다. 이러한 反應은 3日後 까지 계속되다가 점차 소멸되기 시작하여 6~7日後에 正常으로 복귀되었고, 痛症은 느끼지 않았으나 가려움症이 觀察되었다.

攻撃 24時間後의 病理組織學的 所見을 보면 上部 眞皮層에 심한 炎症細胞의 浸潤이 觀察되었는데(Fig. 1), 單核球와 多型核白血球가 거의 같은 數로 存在했다. 部位에 따라서는 이러한 심한 細胞浸潤과 함께 表皮層이 脫落되기도 했으며, 表皮에서는 輕도의 細胞內 水腫이 인정되었다. 攻撃 48時間後의 組織學的 所見은 24時間後의 所見과 크게 다르지는 않았으나(Fig. 2),

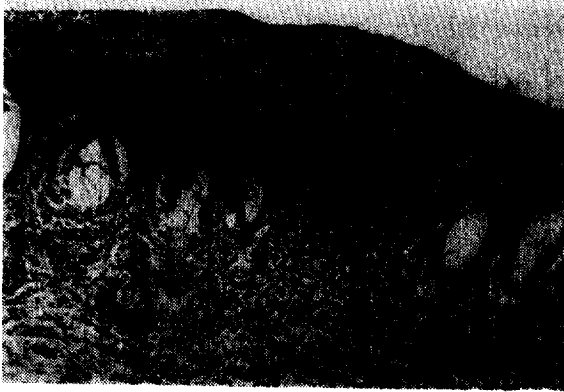


Fig. 1. The skin of the guinea-pigs challenged with DNCB shows massive infiltration of inflammatory cells in the dermis 24 hours after challenge. H. E. x100.



Fig. 2. Guinea pig skin 48 hours after challenge with DNCB. Cell infiltrations are less severe than those noted at 24 hrs after challenge. In the epidermis there is intracellular oedema, H & E. x100.

Table 1. Biometry of the skin reaction in the guinea pigs sensitized with DNCB

Guinea pig number	Before challenge		24 hours after challenge		48 hours after challenge	
	Diameter(mm)*	Thickness(mm)*	Diameter(mm)	Thickness(mm)	Diameter(mm)	Thickness(mm)
1	30	1.25	53.28	2.06	49.08	1.94
2	30	1.31	50.54	1.69	45.76	1.62
3	30	1.18	48.56	2.12	48.25	1.79
4	30	1.24	57.84	1.87	51.04	1.76
5	30	1.16	51.71	1.90	38.80	1.62
6	30	1.17	52.25	2.13	44.30	1.94
7	30	1.24	51.80	2.12	48.34	2.00
8	30	1.21	50.78	1.93	45.08	1.76
9	30	1.18	53.14	1.91	48.12	1.66
10	30	1.22	51.48	2.15	46.98	1.81
			22.14±	0.77±	16.58±	0.57±
			0.73	0.05	1.02	0.04
Control						
1	30	1.25	29.75	1.25	30.00	1.24
2	30	1.26	29.90	1.26	30.00	1.24

* The size shows diameter of the skin area applied with DNCB.

細胞浸潤의 감소가 인정되었고 表皮의 細胞內 水腫이 더욱 현저했다.

考 察

本 實驗에서는 健康한 기니픽에 DNCB를 適用하여 アレルギー性 皮膚炎을 유발시키고 그 病變을 肉眼的 및 病理組織學的으로 觀察했다. 實驗의 結果를 綜合하면, 나타난 病變은 遲延型 アレルギー性 皮膚炎이었으며, 方法上的 差異는 있으나 같은 藥劑를 適用한 소^{3,6)}나 고양이⁷⁾ 그리고 돼지⁵⁾에서 나타난 病變과 一致하고 있었다.

DNCB를 기니픽에 適用한 例는 극히 드물어서 1965 年에 Willoughby 등¹⁰⁾이 發表한 것을 보면 週 3回 2週間 感作시키고 그 후 2週만에 다시 攻擊量을 適用하고 있다. 그밖에 소⁶⁾나 고양이⁷⁾에 적용한 例에서도 感作回數가 많았으며 돼지⁵⁾에는 適用量이 相異한點 등에 비추어 기니픽에 있어 感作回數나 適用量을 決定할 필요성이 인정되었다. 그래서 著者 등은 豫備實驗을 실시했던 바, 1% DNCB 0.4ml로 單 1回 感作시키고 14 日後에 同量으로 攻擊하여 가장 만족스러운 結果를 얻을 수 있었다. 따라서 기니픽에 DNCB를 적용할 경우 單 1回의 感作으로 充分했으며 고양이⁷⁾에 적용할 때와 같은 마취 등의 필요가 없는 利點이 있었다.

皮膚에 나타난 組織學的인 變化는 Willoughby 등¹⁰⁾의 報告와 一致하고 있었다. 즉, 심한 炎症細胞의 浸潤이 觀察되었는데 單核球과 多型核 白血球가 거의 같은 비율로 存在하고 있었다. 이러한 病理組織學的 所見은 病變이 主로 單核球과 淋巴球로 구성되어 있으며 드물게 中好性 白血球가 存在하고 있었다는 다른 動物⁵⁻⁷⁾에서의 結果와는 相異한 것으로 畜種이 다르기 때문에 나타난 現상으로 생각된다. 이와 관련하여 닭¹⁾에서는 主로 酸好性 白血球가 많이 나타나고 있어 細胞性 免疫에 關여하는 細胞의 型이 어떤 것인가에 대한 研究가 수행되어야 하리라는 전망이다. 아울러 本 實驗에서 나타난 多型核 白血球에 關해서도 연구가 수행되어 그 型이 決定되어야 하겠다.

本 研究에서 얻어진 結果로 보아 기니픽에 있어 細胞性 免疫을 測定하는 方法으로 DNCB 試驗法이 적합함을 알 수 있었다. 따라서 앞으로는 몇가지 疾病狀態에서 DNCB 試驗法의 效用에 關한 研究가 수행되어 家畜의 臨床에 指針이 되도록 하는 것이 바람직하다.

結 論

細胞性 免疫反應을 測定하기 위하여 기니픽에 DNCB를 適用했다. 動物은 1회 感作되었으며 同一한 量으로 攻擊하여 두드러진 反應을 일으킬 수 있었다. 나타난

肉眼的 및 組織學的 反應은 特徵인 遲延型 皮膚反應이었다.

參 考 文 獻

1. Awadhya, R. P., Vegad, J. L. and Kolte, G. N. : Eosinophil leukocytic response in dinitrochlorobenzene skin hypersensitivity reaction in the chicken. *Avian Path.* (1982) 11 : 187.
2. Catalona, W. J. and Chretien, P. B. : Abnormalities of quantitative dinitrochlorobenzene sensitization in cancer patients: Correlation with tumor stage and histology. *Cancer*(1973) 31 : 353.
3. Jennings, P. A. : Leucocyte adherence inhibition: A microassay demonstrating antigen recognition in cattle. *Res. Vet. Sci.* (1979) 26 : 111.
4. Lee, Y. N., Sparks, F. C., Eilber, F. R. and Morton, D. L. : Delayed cutaneous hypersensitivity and peripheral lymphocyte counts in patients with advanced cancer. *Cancer*(1975) 35 : 748.
5. Rajan, A., Vikranreddy, M., Sreekumaran, T., Valsala, K. V. and Vijayan, N. : Evaluation of the cell mediated immune response in pigs using 2,4-dinitrochlorobenzene. *Vet. Rec.* (1982) 110 : 173.
6. Reddi, M. V., Rajan, A. and Sulochana, S. : Evaluation of the cell mediated immune response in cattle induced by 2,4-dinitrochlorobenzene. *Vet. Immunol. Immunopath.* (1981) 2 : 483.
7. Schultz, K. T. and Maguire, H. C. : Chemically-induced delayed hypersensitivity in the cat. *Vet. Immunol. Immunopath.* (1982) 3 : 585.
8. Silberberg, I., Baer, R. L. and Rosenthal, S. A. : The role of Langerhans cells in allergic contact hypersensitivity: A review of findings in man and guinea pig. *Invest. Dermatol.* (1976)66 : 210.
9. Thoday, L. L. : Modern diagnostic methods in practice: Investigative techniques in small animal clinical dermatology. *Br. Vet. J.* (1981) 137 : 133.
10. Willoughby, D. A., Walters, M. N. I. and Spector, W. G. : Lymph node permeability factor in the dinitrochlorobenzene skin hypersensitivity reaction in guinea-pigs. *Immunol.* (1965) 8 : 578.
- 11) 이용구 : 악성종양, 폐결핵, 늑막결핵환자간의 세포성 면역 비교. *전북의대 논문집*(1982) 11 : 189.