

## 인체 무릎관절 윤활세포에 관한 면역전자현미경적 연구

황덕호 · 장가용 · 이왕재 · 박경한 · 이종범  
서울대학교 의과대학 해부학교실

### An Immuno-Electronmicroscopic Study on the Synoviocytes in the Knee Joint of the Human

Douk Ho Hwang, Ka Young Chang, Wang Jae Lee  
Kyung Han Park and Jong Bum Lee  
Dept. of Anatomy, Seoul National University College of Medicine  
(Received November 25, 1995)

#### ABSTRACT

This study was designed to observe the ultrastructure of synoviocytes which are concerned with phagocytic function in the knee joint of the human.

The synovia were dissected and were fixed for two hours in 0.2% glutaraldehyde and 4% paraformaldehyde solution and processed and finally infused in 2.3 M sucrose and 20% PVP solution. The tissues were cut with the cryoultramicrotome and labelled with primary antibodies (anti-tubulin, anti-vimentin) and secondary antibody-6 nm colloidal gold particles. The tissues were observed under transmission electronmicroscope. The results were followings.

1. In phagocytic synovial cells, the distributions of tubulin were cytoplasm, especially around vacuoles.
2. In phagocytic synovial cells, the distributions of vimentin were cytoplasm.
3. Both tubulin and vimentin were not located inside of vacuoles.

On the basis of above findings, it is obvious that the phagocytic functions are concerned with tubulin, and the phagocytic synovial cells contain vimentin.

**Key words** : Knee joint, Synoviocyte, Human, Immuno-Electronmicrography, Tubulin, Vimentin

---

\* 본 연구는 1994년도 교육부 기초의학연구비에 의해 이루어졌고 일부는 1993년도 서울의대 신진연구비에 의하여 이루어 졌음

## 서 론

관절의 윤활층에 위치하는 윤활세포 (synoviocyte)는 통상 조직염색에 의한 광학현미경으로 두 종류의 세포를 구별할 수 없다. 그러므로 Barland 등 (1962)이 투과전자현미경을 사용하여 사람에서 윤활포식세포 (phagocytic synovial cell)와 윤활분비세포 (secretory synovial cell)의 2종 세포가 존재함을 처음으로 관찰하였고 Ghadially와 Roy (1966)는 토끼에서, Roy와 Ghadially (1967) 그리고 Graaback (1984)은 흰쥐에서, Linck와 Porte (1978)는 생쥐에서도 각각 전자현미경으로 2종의 세포가 존재함을 확인하였다. 이중 윤활포식세포는 세포질내에 많은 공포 (vacuole)와 용해소체 (lysosome)를 갖고 있어 큰포식세포 (macrophage)의 일종이라고 간주하고 일명 M세포 (macrophage-like cell) 또는 A세포라고도 하며 윤활분비세포는 세포질내 많은 과립형질내세망 (rough endoplasmic reticulum)을 갖고 있어 단백질 합성 및 분비기능을 하므로 S세포 (secretory cell) 또는 섬유모세포 (fibroblast)와 유사 형태를 가지므로 F세포 (fibroblast-like cell)라고도 한다. 그리고 윤활포식세포를 A세포라고 함에 대응하여 윤활분비세포를 B세포라고 한다.

최근 면역조직화학 기법으로 윤활포식세포가 큰포식세포 (macrophage)의 주요 표지물 (major marker)인 리조짐 (lysozyme) (일명 muramidase)에 양성으로 (Geiler & Riedel, 1985; Mapp & Revell, 1987) 그리고 생쥐에서 일부의 윤활세포가 큰포식세포 표지물 중 하나인 Ia 항원에 대하여 양성으로 반응함이 관찰되어 (Klareskog, 1982) 기능적으로 큰포식세포의 역할을 함이 알려져 오고 있다. 한편 윤활분비세포는 파이브로넥틴 (fibronectin)을 분비하는 것이 (Mapp & Revell, 1985; Lavietes *et al.*, 1985) 면역조직화학 기법으로 밝혀진 바 있다.

한편 튜블린 (tubulin)은 미세소관 (microtubule)의 구성단위로 세포내 성분을 재배치에 관계되는 물질로 포식세포의 포식작용시 세포의 형태변화에 관여하며 비멘틴 (vimentin)은 중배엽에서 기원하는 세포에서 발현되는 중간세사 (intermediate filament)의 일종으로 세포의 형태 유지에 관여하는 물질이다.

최근들어 개발된 냉동초미세박절법은 액체질소를 사용하여 초저온으로 조직표본 제작을 함으로 기존의 Epon이나 Lowicryl과 같은 플라스틱에 포매하여 면역조직화학 표지를 하는 기법에 비해 열을 가하지 않고 수행함으로써 항원 보존율을 50배 가량 증가시켜 면역조직화학 성공률을 높힐 수 있는 장점을 갖는다 (Tokuyasu, 1984, 1986, 1989).

그러므로 본 실험에서는 정상적인 사람의 생검으로 채취된 무릎관절 윤활세포들을 냉동초미세박절법을 이용한 면역조직화학 기법으로 튜블린과 비멘틴에 대한 금표지하여 투과전자현미경으로 관찰하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험재료

모병원 정형외과에서 외상 환자 수술시 생검한 윤활막을 병리학적 진단이 정상인 것을 5례를 사용하였다.

### 2. 조직처리 과정

윤활막에서 조직을 채취하여 4°C의 0.2% glutaraldehyde와 4%의 paraformaldehyde pH 7.2 0.125 M HEPES 완충용액에서 2시간 고정하고 3회 pH 7.2 0.125 M HEPES 완충용액에서 15분씩 수세한 후 2.3 M sucrose와 20% PVP (polyvinyl pyrrolidone, 분자량 10,000)를 냉동보호제로 사용하여 1차로 Freon gas로 얼린 다음 2차로 액체질소에 냉각시켜 냉동시험관에 보관하고 -130°C에서 80 nm의 두께로 초미세박절을 하여 탄소로 도포된 구리격자에 부착시켜 면역금표지를 시행하였다.

### 3. 면역금 표지

Monoclonal mouse anti-tubulin (Sigma Co., USA)과 monoclonal mouse anti-vimentin (Sigma Co., USA) 혈청을 1차 항체로 1:100으로 희석하여 1시간 실온에 반응 후 5회, pH 7.2, 0.125 M HEPES 완충용액으로 5분씩 수세한 다음 면역금 (6 nm)이 표지된 Goat IgG anti-Mouse IgG (Jackson ImmunoResearch Lab., USA) 혈청을 2차 항체로 1:50으로 희석하여 1시간 실온에 반응 후 5회, pH 7.2, 0.125 M HEPES 완충용액으로 5분씩 수세한 차례로 표지한 후

0.003% uranyl acetate와 2% polyvinyl alcohol (분자량 30,000~70,000)로 중급속 염색 및 도포를 하여 JEOL 1200 EX-II 투과전자현미경으로 관찰하였다.

## 결 과

### 1. 일반적인 구조

유허포식세포와 유허분비세포가 관찰강에 인접하여 위

치하며 부위에 따라 수층의 세포로 나타났다. 유허포식 세포는 세포의 모양이 불규칙적이며 세포질의 돌기를 가지며 다양한 크기의 많은 공포 (직경 200~800 nm)와 다수의 용해소체를 가지며 관찰강을 면하여서는 많은 유허포식세포의 세포질 일부만이 산재하여 있었다. 한편 유허분비세포의 핵은 진정염색질 (euchromatin)이 풍부하였으며 불규칙한 모습이었으며 유허분비세포는 많은 과립형질내세망을 갖고 있었다 (Fig. 1).

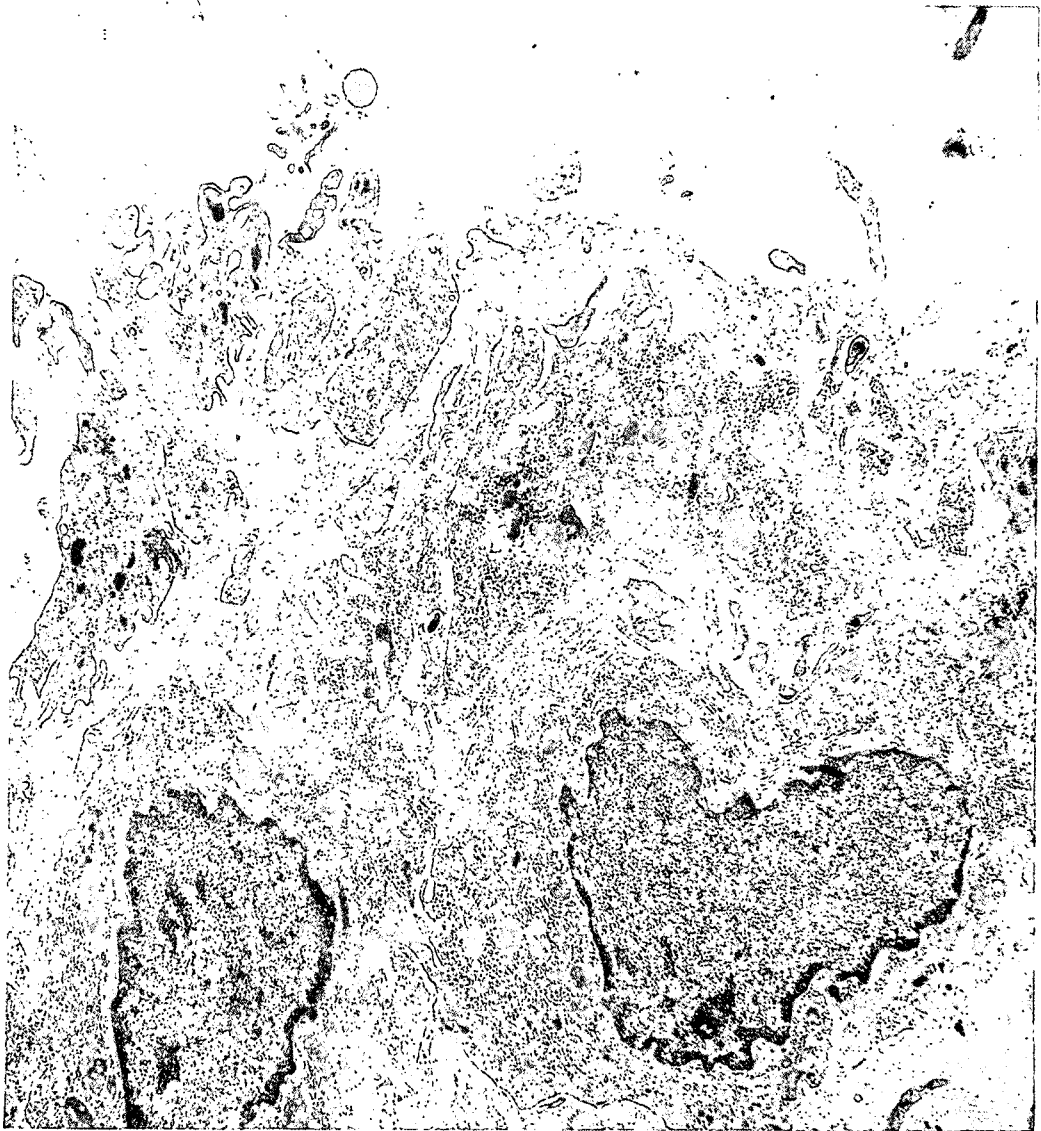


Fig. 1. Electronphotomicrography of synovial membrane.  $\times 5,000$ .

2. 면역금 표지

윤활포식세포의 세포질에서 튜블린 (tubulin)이 표지되었으며 특히 공포 주변부에 많이 표지되었으며 세포질내 공포내에서는 튜블린 (tubulin)이 표지되지 않았다 (Fig. 2).

윤활포식세포의 세포질에서 고르게 비멘틴 (vimentin)



Fig. 2. Electronphotomicrography of synovial membrane. The higher magnification of the phagocytic synovial cell. Immunolabeling of tubulin.  $\times 25,000$



Fig. 3. Electronphotomicrography of synovial membrane. The higher magnification of the phagocytic synovial cell. Immunolabeling of vimentin.  $\times 25,000$

이 표지되었으며 세포질내 공포내에서는 비멘틴 (vimentin)이 표지되지 않았다 (Fig. 3).

고 찰

윤활세포의 미세구조는 실험동물보다 사람에서 먼저 밝혀져 오고 있다. 이는 사람의 류마치스성 관절염에 대한 흥미 때문이고 1962년에 Barland 등이 처음으로 투과전자현미경으로 2종의 윤활세포가 존재함을 기술하였다. 특히 사람에서 류마치스성 관절염에서는 윤활막에 위치한 윤활세포의 수가 증가된다 (Hogg *et al.*, 1985) 고 보고하였고 이 중 특히 리조짐 (lysozyme) 양성세포가 유의하게 증가한다고 보고하였는데 (Geiler & Reidel, 1985), 리조짐은 뮤코펩타이드 (mucopetide)로 분자량이 약 12,000 정도인데 큰포식세포 (macrophage)의 표지물로서 (Speece, 1965; Mason & Tayler, 1975; Reitamo, 1978; Klareskog *et al.*, 1982; Mapp & Revell, 1987; Franken *et al.*, 1989) 윤활포식세포의 증가를 관찰한 것이다. 동시에 윤활포식세포는 사람에서 HLA-D 항원과 큰포식세포 특이항체 항원에 양성으로 나타나며 (Hogg *et al.*, 1985; Palmer *et al.*, 1985) 생쥐에서 Ia 항원에 양성으로 나타나 (Klareskog *et al.*, 1982; Burmester *et al.*, 1983) 기능적으로 형태학적으로 큰포식세포로 간주되고 있다. Graabaek (1984)은 흰쥐에서 윤활포식세포와 윤활분비세포의 형태학적 기준을 다음과 같이 정하고 있다. 잘 발달된 공포, 발달이 안 된 과립형질내세막, 그리고 외투소포 (coated vesicle) 3가지 중 최소 한가지를 동반한 소견이면 윤활포식세포이며 동시에 크고 창백한 사립체, 수조가 넓은 과립형질내세막을 갖는다.

윤활분비세포는 풍부한 과립형질내세막을 갖고 최소한 표면소포 (superficial caveola), 가늘고 길게 나타나는 사립체, 부분적으로 팽창된 과립형질내세막 3가지 중 한가지를 동반하는 소견이며 이 기준 이외에 윤활포식세포는 돌출된 세포질돌기와 이질염색질이 풍부한 핵을 갖고 윤활분비세포는 분비과립과 진정염색질이 풍부한 핵 등이다. 본 실험에서도 윤활포식세포가 용해소체와 많은 가는 세포질돌기와 공포를 갖는 전형적인 큰포식세포와 같은 소견이다 (Graabaek, 1984).

튜블린 (tubulin)은 미세소관 (microtubule)의 구성

단위로 세포내 성분을 재배치에 관계되는 물질로 윤활포식세포의 포식작용시 포식한 공포 주변부에 위치하여 세포의 형태변화에 관여한 것으로 사료되며 비멘틴(vimentin)은 중배엽에서 기원하는 세포에서 발현되는 중간세포(intermediate filament)의 일종이므로 윤활포식세포의 기원을 일반적인 포식세포와 같은 것으로 사료된다.

윤활포식세포가 관절강을 불완전하게 덮고 있는데 주사전자현미경으로 관찰을 하면 윤활포식세포의 윤활액 포식작용을 밝힐 수 있을 것이며 윤활세포가 분비하는 물질에 대해서도 면역전자현미경 기법으로 계속 밝혀져야 하겠다.

## 결 론

무릎관절에서 윤활세포의 분비 기능에 대한 형태학적 초미세구조를 규명하기 위하여 사람의 무릎관절에서 윤활세포들을 냉동초미세박절법을 이용한 면역조직화학 기법으로 튜블린과 비멘틴을 금표지하여 투과전자현미경으로 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 윤활포식세포의 세포질에서 튜블린(tubulin)이 표지되었으며 특히 공포 주변부에 많이 표지되었으며 세포질내 공포내에서는 튜블린(tubulin)이 표지되지 않았다.
2. 윤활포식세포의 세포질에서 고르게 비멘틴(vimentin)이 표지되었으며 세포질내 공포내에서는 비멘틴(vimentin)이 표지되지 않았다.

이상의 결과로 보아 사람 무릎관절에 위치한 윤활포식세포의 포식기능은 공포에 튜블린이 부착하여 이동함을 시사하며 윤활포식세포가 비멘틴을 함유한다.

## 참 고 문 헌

Alberts B, Bray D, Lewis J, et al., Molecular biology of the cell, 3rd ed. Garland Publishing, Inc., Newyork & London pp.787-861  
 Barland P, Novikoff AB, Hammerman D, 1962. Electron microscopy of the human synovial membrane, J. Cell Biology 14, 207-220  
 Burmester GR, Dimitriu-Bona A, Waters SJ, et

al., 1989. Identification of three major synovial lining cell populations by monoclonal antibodies directed to Ia antigens and antigens associated with monocytes/macrophages and fibroblasts, Scand. J. Immunol. 17, 69-82  
 Franken C, Meijer CJLM, Dijkman JH, 1989. Tissue distribution of anti-leukoprotease and lysozyme in humans, J. Histochem. Cytochem. 37, 493-498  
 Geiler G, Riedel V, 1985. Detection by the PAP technique of lysozyme-containing synoviocytes and their quantity in rheumatoid arthritis and osteoarthritis, Histochemical J. 15, 562-563  
 Ghadially FN, Roy S, 1966. Ultrastructure of rabbit synovial membrane, Ann. Rheum. Dis. 25, 318-326  
 Graaback PM, 1984. Characteristics of the two types of synoviocytes in rat synovial membrane. An ultrastructural study, Laboratory Investigation 50, 690-702  
 Hogg N, Palmer DG, Revell PA, 1985. Mononuclear phagocytes of normal and rheumatoid synovial membrane identified by monoclonal antibodies, Immunology 56, 673-681  
 Klareskog L, Forsum V, Wigzell H, 1982. Murine synovial intima contain I-A-, I-E/C- positive bone-marrow-derived cells, Scand. J. Immunol. 15, 509-514  
 Klockars M, Reitamo S, 1975. Tissue distribution of lysozyme in man, J. Histochem. Cytochem. 23, 932-940  
 Lavietes BB, Carsons S, Diamond HS, et al., 1985. Synthesis, secretion, and deposition of fibronectin in cultured human synovium, Arthritis Rheum. 28, 1016-1026  
 Linck G, Porte A, 1978. B-cells of the synovial membrane. I. A comparative ultrastructural study in some mammals, Cell Tiss. Res. 187, 251-261  
 Mapp PI, Revell PA, 1985. Fibronectin production by synovial intimal cells, Rheumatol. Int. 5, 229-237  
 Mapp PI, Revell PA, 1987. Ultrastructural localization of muramidase in the human synovial

- membrane, *Ann. Rheum. Dis.* 46, 30-37
- Mason DY, Taylor CR, 1975. The distribution of muramidase (lysozyme) in human tissues, *J. Clin. Path.* 28, 124-132
- Murnane TW, Feagans WM, 1970. Fine structure of synovial lining cells in the squamosal-mandibular joint of the rat, *J. Dent. Res.* 49, 1068-1073
- Palmer DG, Selvendran Y, Allen C, *et al.*, 1985. Features of synovial membrane identified with monoclonal antibodies, *Clin. Exp. Immunol.* 59, 529-538
- Reitamo S, 1978. Lysozyme antigenicity and tissue fixation, *Histochemistry* 55, 197-207
- Roy S, Ghadially FN, 1967. Ultrastructure of normal rat synovial membrane, *Ann. Rheum. Dis.* 26, 26-37
- Shannon SL, Graham RCJ, 1971. Protein uptake by synovial cells. I. Ultrastructural study of the fate of intraarticularly, injected peroxidases, *J. Histochem. Cytochem.* 19, 29-42
- Speece AJ, 1964. Histochemical distribution of lysozyme activity in organs of normal mice and radiation chimeras, *J. Histochem. Cytochem.* 12, 384-391
- Tokuyasu KT, 1984. *Immunocyoultramicrotomy. Immunolabelling for electron microscopy*, Elsevier, Amsterdam, pp.71-82
- Tokuyasu KT, 1986. Application of cryoultramicrotomy to immunocyto-chemistry, *J. Microscopy* 143, 139-149
- Tokuyasu KT, 1989. Use of polyvinylpyrrolidone and polyvinyl alcohol for cryoultramicrotomy, *Histochemical J.* 21, 163-171
- Villiger B, Kelly DG, Kuhn C, *et al.*, 1980. Human alveolar macrophage fibronectin: synthesis and ultrastructural localisation, *Clin. Res.* 28, 745A