

등줄쥐에서 면역관련 장기의 특성연구

장동덕¹, 이원규¹, 김대중¹, 신동환¹, 홍충만¹,
윤창용¹, 박진수¹, 조재천¹, 배종희²

¹식품의약품안전청 국립독성연구소 병리부

²제주대학교 수의학과

The morphological and functional studies of lymphoid organs in *Apodemus agrarius Pallas*

Dong-Deuk Jang¹, Won-Kyu Lee¹, Dae-Jung Kim¹, Dong-Whan Shin¹,
Choong-Man Hong¹, Chang-Yong Yoon¹, Jin-Soo Park¹,
Jae-Chon Cho¹, Jong-Hee Bae²

¹Department of Pathology, National Institute of Toxicological Research, KFDA

²Department of Veterinary Medicine, Cheju National University

Abstract. *Apodemus agrarius Pallas* has been known to be a reservoir of Hanta virus. But there was no report of immune organs. So, this study was performed to clarify the relation between Structure and function of immune organ. In the present investigation, an immunocytochemistry procedure was used to examine the distribution of T and B cell and macrophage populations in the thymus, spleen and lymph nodes. Most of lymphoid organ showed decreased pattern of Lyl positive T and IgM positive B cells. Macrophage positive cells were decreased in vivo. The present study gives an overview on the immune organ structure and function of *Apodemus agrarius Pallas*.

Key words: *Apodemus agrarius Pallas*, B cells, lymphoid organ, macrophage, T cells

서론

등줄쥐(Striped field mouse, *Apodemus agrarius Pallas*)는 분류상으로 Mammalia(짐승강), Rodentia(쥐목), Muridae(쥐과), Murinae(쥐아과)의 *Apodemus* (붉은쥐속)에 속하는 야생 설치류이며,¹ 서독과 북부 이태리로부터 바이칼 호수까지와 남쪽으로는 만주, 대만 및 제주도를 포함한 한반도 전역에 분포되어 있다.² 등줄쥐는 야생설치류의 분포중 90%를 차지할 정도로 한국에서 가장 많이 서식하는 야생설치

류이다.³ 외국에서의 등줄쥐는 낙엽수와 활엽수가 풍부한 산림에 서식하여 해발 800m이하의 경작지, 숲의 변두리에서 주로 발견되었으며² 한국에서는 계곡과 구릉의 초지, 숲, 논두렁에서 주로 발견되었다.⁴

생명과학연구에는 적절한 실험동물의 사용이 중요시 되어왔다. 그러나 동물실험에 대한 많은 연구에도 불구하고 일반적으로 사용되는 실험동물들은 질환연구에 적절치 않아 해당 질환에 적절한 실험동물의 개발에 많은 노력들이 기울여져 왔다. 코튼

랫트(Cotton rat)의 경우 멕시코와 중앙아프리카 및 미국남부에 가장 많이 분포하는 설치류로서 인체병 원소에 대하여 감수성때문에 최근 50여년 동안 실험동물로 연구되어 왔다.⁵ 1984년에 Pacini등⁶에 의하여 코튼랫트가 인체아데노바이러스의 네가지 혈청형에 감염될 수 있다고 보고된 이래 형태학적인 검사외에도 분자병리학적인 연구까지 진행되었다. 코튼랫트는 아데노바이러스의 숙주뿐만 아니라 래쉬마니아 도노바니(*Leishmania donovani*)⁶, *Echinococcus multilocularis*⁷, 인체면역결핍바이러스⁸에 대한 감수성이 조사되어왔다. 코튼랫트는 Lyme disease¹⁰, Hantavirus pulmonary syndrome¹¹의 보균 가능성에 대하여도 조사되어 왔다. 또한 충치연구의 동물모델로서 생후 치아탈락연구에도 사용될 정도로 큰 성과를 보이고 있다.¹²

등줄쥐는 한국형출혈열(Korean hemorrhagic fever)의 원인인 한타바이러스(Hanta virus)의 숙주로서^{13,14} 최근에는 쭈쭈가무쉬질환 (tsutsugamushi disease),^{15, 16} 리켓치아¹⁶ 및 랩토스피라¹⁷의 숙주로도 알려져 왔다. 근래에는 위장관점막에 있는 장크롬친화성세포(enterochromaffin cell)나 그 전구세포에서 유래하는 종양인 유암종(carcinoid tumor)의 일종인 위유암종(gastric carcinoid)이 135마리의 등줄쥐중 7마리에서 발견되었다고 Oh등¹⁸이 보고하였다. 또한 국립보건안전연구원에서는 등줄쥐에 대한 연구를 진행한 결과 형매교배에 의하여 F5세대까지 유지시킬 수 있었고, 임의교배에 의하여서도 생산유지가 가능하였으며, 또한 등줄쥐의 유전형질이 마우스와 다르다는 보고와 생물학적인 보고를 통해 지속적인 등줄쥐의 실험동물화의 필요성을 제기하였다.¹⁹

본 연구진은 등줄쥐가 바이러스등에 감수성이 높은 점에 착안하여 등줄쥐의 실험동물화 연구의 일환으로 등줄쥐의 면역기관인 가슴샘, 비장 및 림프절의 조직학적인 구조와 면역세포의 분포 및 면역기능을 보고하여 실험동물화의 필요성을 제기하고 있는지를 평가하였다

재료 및 방법

실험동물

식품의약품안전본부 실험동물관리실에서 일정한 온도를 유지한 동일한 환경하에서 사육한 8주령의

수컷 등줄쥐와 Sprague-Dawley(SD) 랫트와 C₅₇BL/6, ICR 및 Balb/c계 마우스를 사용하였다. 각 실험군당 6마리 이상을 배정하였다.

면역조직화학적 검사

조직처리. 적출한 림프절과 비장 및 가슴샘들은 냉동박절을 위해 25% sucrose-phosphate buffered saline(0.05M, pH 7.4)용액에 넣어 4°C 냉장상태에서 반응시켰다. 처리된 조직은 주변의 지방조직을 제거한 후 포매하여 -20°C로 3시간 동안 냉동시킨 후 8μm의 두께로 냉동박절기(American Optical, USA)를 이용하여 연속절편으로 박절하였다. 냉동절편은 냉아세톤으로 전고정한 후 H-E 염색을 시행하여 림프절과 비장의 전체적인 구조가 잘 관찰되는 부위를 선정하여 면역조직화학염색을 시행하였다.

Ig M 양성 B세포. 슬라이드기를 IgM을 함유하는 세포를 염색하기 위하여 PBS에 1:50으로 희석한 biotin이 붙어있는 goat anti-mouse IgM(μ chain specific, Vector, USA) 및 anti-rat IgM(Biosource, USA)을 100μl씩 점적하였다. 점적한 조직표본은 실온에서 30분간 반응시킨 후에 내인성 peroxidase를 제거하기 위하여 0.5% periodic acid로 3분간 반응시켰다. 반응시킨 다음 avidin-biotin-peroxidase(Vector, USA)를 100μl씩 점적하여 30분간 반응시켰다. 발색을 위하여 20mg의 3,3'-diaminobenzidine(DAB)와 nickel chloride 40mg을 100ml PBS용액에 넣고, H₂O₂를 0.006%되게 희석한 용액에 8분간 반응시켰다. 발색반응이 끝난 후 관찰하였다.

활성 B세포 및 혈관염색. B세포의 활성화시 세포막에서 나타나는 alkaline phosphatase의 활성을 보기위해 2mg의 naphthol AS-MX-phosphate sodium salt(3-hydroxy-2-naphthoic acid 2,4-dimethyl-anilide phosphate, Sigma, USA)에 발색제인 Fast red TR (4-chloro-2-methylbenzene-diazonium salt, Sigma, USA) 10mg을 Tris buffered saline(0.05M, pH 8.2,TBS)10ml에 섞어 완전히 녹인 후 여과하여 조직절편위에 충분히 점적하였다. 조직을 15분정도 반응시킨 후 PBS로 3분간 2회 세척하였다.

T세포 및 큰포식세포에 관한 염색. 일차항체로 전반적인 T세포를 관찰하고자 할때는 rat

anti-mouse Ly-1(CD5, rat IgG2a, Pharmingen, USA)과 mouse anti-rat pan T cells(OX52, mouse IgG2a, Biosource, USA)를 억제 또는 세포독성 T 세포를 염색하고자 할 때는 rat anti-mouse Ly-2 (CD8a, rat IgG2a, Pharmingen, USA)와 mouse anti-rat T suppressor/cytotoxic cells (OX-8, mouse IgG1, Biosource, USA) 단클론성항체를 사용하였으며, 조력T세포를 관찰할 때는 rat anti-mouse L3T4(rat IgG2a, Pharmingen, USA)와 mouse anti-rat T helper cells(W3/25, mouse IgG1, Biosource, USA) 단클론성 항체를 사용하였으며, 큰포식세포에 대한 항체로서 rat anti-mouse Mac-1(CD11b, rat IgG2b, Pharmingen, USA) 및 mouse anti-rat macrophages and dendritic cells (OX-42, mouse IgG2a, biosource, USA) 단클론성 항체를 사용하였다. 일차항체의 농도는 1:50으로 점적하였으며, 이차항체로는 biotinylated goat anti-rat-IgG(Sigma, USA) 또는 biotinylated rat anti-mouse-IgG(Biosource, USA)를 1:100으로 희석하여 점적한 후 30분간 실온에서 반응시켰다. 반응한 슬라이드는 avidin-biotin-peroxidase(Vector, USA)를 점적하여 30분간 반응시켰다. 20mg의 3,3'-diaminobenzidine(DAB)와 nickel chloride 40mg을 100ml PBS용액에 넣고, H₂O₂를 0.006%되게 희석한 용액에 8분간 반응시켰다. 반응이 끝난 슬라이드표본은 대조염색이 필요한 경우 2% methyl green용액으로 대조염색을 시행하여 관찰하였다. 현미경을 이용한 관찰시 면역세포의 양성세포가 많이 관찰되며 서로 중첩되어 있으므로 단위면적당 세포의 수를 세는 것이 불가능하였고 또한 가양성을 보이는 artifact를 제외하고 관찰하여야 하므로 영상분석기를 이용한 측정도 불가능하여 조직학적인 부위별로 양성세포의 수를 실험군간에 많고 적음으로 비교하였다.

면양적혈구에 대한 응집소 역가측정. 식품의약품안전본부실험동물실에서 채취한 면양적혈구를 PBS로 3회 세척한 후 1x10⁸ cells/ml농도로 부유시킨후 이 부유액 0.2ml를 마우스 복강내로 주사하여 면역시켰다. 혈청응집소역가측정은 microtitration법 24으로 하였다. 면역후 4일에 각 마우스로부터 얻은 혈청을 56℃에 30분간 비동화시킨 후 microtitration plate의 각 well에 PBS로 2배 계열희석한 혈청 0.25ml와 PBS에 부유한 1% 면양적혈구부유

액 0.25ml를 잘 혼합하여 37℃에서 2시간 방치한 다음 적혈구의 응집양상을 판독하였으며, 응집을 일으키는 혈청의 최고희석 농도를 그 혈청의 항체가 판정하였다.

Rosette형성율(rosette forming rate, RFR) 측정. 무균적으로 비장을 적출하여 HBSS에 넣어 조심스럽게 teasing하고 Lenspaper에 거른 후 1.2x10⁷ cells/ml농도가 되도록 HBSS에 부유시켰다. 비장세포의 생존율은 trypan blue dye exclusion 법으로 조사하였다. 비장세포의 rosette형성세포검사는 Hong과 Lee²⁴의 방법에 준하여 실험하였는데, 3회 원심세척하여 HBSS에 부유한 비장세포부유액 0.5ml(6x10⁶ cells/ml)와 면양적혈구 부유액 0.5ml(1.8x10⁸ cells/ml)를 혼합하여 37℃수조에서 30분간 정치시킨 다음 200g(800rpm)로 10분간 원심한 후 4℃에서 16시간 방치하였으며, 그 후 0.3% methylene blue 1방울을 첨가하고 조심스럽게 흔들어서 계 부유하였다. 그 후 그 부유액 1방울을 혈구 계산판에 떨어뜨리고 rosette형성세포를 판정하였으며, rosette형성율은 다음식에 의하여 산출하였다.

$$RFR(\%) = \frac{\text{No. of rosette forming cells} \times 100}{\text{No. of total cells}}$$

결과 및 고찰

가슴샘은 일차면역기관으로서 겉질과 속질로 나뉘며 주 구성세포는 상피세망세포와 가슴샘세포로 구성되어 있다.²⁵ 겉질에는 미성숙된 T세포가 위치하며 이는 상피세망세포의 자극에 의하여 T세포가 성숙되는 장소이며 성숙된 T세포는 속질로 이동하여 속질에서 혈관을 통해 이차면역기관으로 이동하게 되고 이동한 T세포는 세포성면역반응에서 중요한 역할을 담당하게 된다.²⁶ 가슴샘의 구조를 관찰한 결과 겉질에는 림프구와 상피세망세포가 분포하였으며 겉질과 속질의 경계부위에 혈관이 발달되어있는 양상 및 속질의 림프구의 분포상은 마우스와 랫트의 가슴샘과 유사하였다.

비장은 혈액으로 유입되는 항원에 반응을 하는 기관으로서 비장의 크기 및 세포의 수는 면역반응과 밀접한 관련이 있다.²⁶ 김²⁷은 한타바이러스에 감

염된 등줄쥐 비장의 증량이 비감염된 동물보다 10 배이상 된다고 하여 이의 중요성을 제시한 바 있다. 또한 김²⁷은 등줄쥐의 장기중량을 보고하면서 비장은 수컷의 경우 0.10g/100g body weight, 암컷은 0.10g/100g body weight 이라서 ICR이 수컷은 0.30g/100g body weight, 암컷은 0.40g/100g body weight인 것에 비하면 현저히 낮다고 보고하였다. 본 실험에서 등줄쥐와 체중의 차이가 큰 랫트를 제외하고, 체중이 비슷한 등줄쥐와 C₅₇BL/6계 마우스의 비장세포수를 조사한 결과 C₅₇BL/6계 마우스는 $9.21 \pm 2.8 \times 10^7$ 인 반면 등줄쥐는 $2.3 \pm 0.3 \times 10^7$ 으로 세포의 수도 등줄쥐가 현저히 적음을 나타내어 김²⁷의 보고와 일치하는 소견을 보였다. 따라서 다른 동물종에 비하여 상대적으로 면역장기의 크기와 면역세포수가 적음은 면역성의 저하를 나타낸다고 추측할 수 있는데 비장에서 면역염색에서 랫트의 항체를 사용한 결과 양성반응이 나타나지 않고 마우스에 대한 항체에 대해서만이 양성세포가 나타나서 마우스에 대한 염색결과를 판독하였다.

랫트와 마우스의 림프기관의 T 및 B세포의 분포는 이미 Gutman 과 Weissman²⁸에 의해 1972년부터 알려지기 시작해서, T세포는 비장에서는 백색속질인 동맥주위림프구집에, 림프절에서는 속결질에 분포한다고 하였고, B세포는 비장의 가장자리구역 및 림프절내 림프소절과 종자중심모자(corona)에 분포한다고 1980년대에 이르기까지 많은 연구결과^{28,29,30}에 의해 알려져 왔다. 그러나 1980년대에

는 단클론성 항체를 이용하여 성숙림프기관의 세포의 분포에 대한 연구^{31,32,33,34,35}의 진행으로 T세포는 안동맥주위림프구집에, B세포는 바깥동맥주위림프구집에 및 가장자리구역에 분포하며 큰포식세포는 가장자리구역 및 적혈구가 존재하는 적색속질에 분포하는 것으로 알려져 왔다.

등줄쥐의 비장은 H-E염색상 피막으로 둘러싸여 있으며 적혈구가 분포하는 적색속질과 림프구가 분포하는 백색속질의 구별이 뚜렷하여 C₅₇BL/6계 마우스 및 랫트와 같은 조직학적 형태를 보였다. 면역조직화학염색의 결과 적색속질에는 적혈구와 이 적혈구를 제거하는 Mac1양성세포인 큰포식세포가 주로 분포하며, 등줄쥐는 IgM양성B세포가 바깥동맥주위림프구집에 분포하고 Ly1양성T세포가 동맥주위림프구집의 안쪽에 분포하여 마우스 및 랫트와 같은 소견을 보였으나 랫트와 마우스에 비하여 안동맥주위림프구집의 대한 바깥동맥주위림프구집의 크기가 적어서 동맥주위림프구집내에 상대적으로 B세포의 수가 적음을 알 수 있었다. 본 연구진은 IgM항체역가의 실험을 시행하였는데 등줄쥐의 항체역가가 $4.46 \pm 0.61 \log_2$ 인 반면 C₅₇BL/6계 마우스는 $5.28 \pm 0.59 \log_2$ 로서 이는 등줄쥐의 IgM항체역가가 낮음이 IgM양성세포 수가 적음과 관계가 있음을 추측하게 한다. 세포독성T세포를 나타내는 Ly2양성T세포는 안동맥주위림프구집에 분포하며 양성세포의 수가 안동맥주위림프구집당 5-10개 분포하여 마우스 및 랫트와 비슷한 양상으로 관찰되

→

Fig. 1. Micrograph of *Apodemus agrarius* spleen. Microscopically, as seen in micrograph, the white pulp is seen to consist of lymphoid aggregations and the red pulp, making up the bulk of the organ, to be a highly vascular tissue. H-E stain. $\times 50$.

Fig. 2. Micrograph of *Apodemus agrarius* lymph node. The interstitial compartment of the lymph node has three functional domains, cortex, paracortex and medulla. H-E stain. $\times 50$.

Fig. 3. Immunocytochemical pattern of IgM positive B cells(dark color) in *Apodemus agrarius* spleen. $\times 200$.

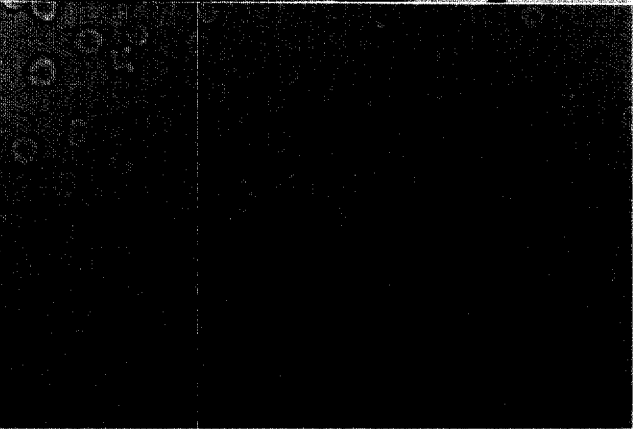
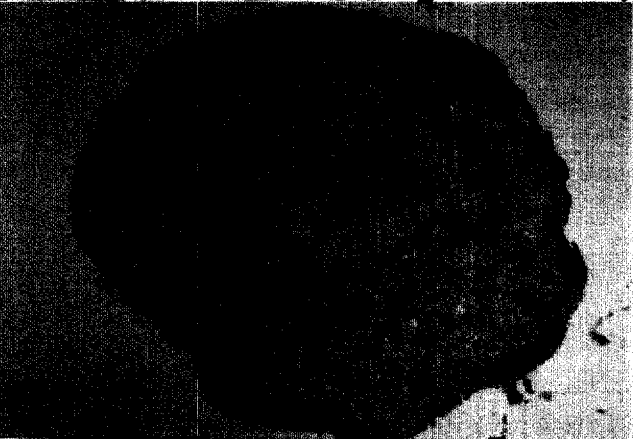
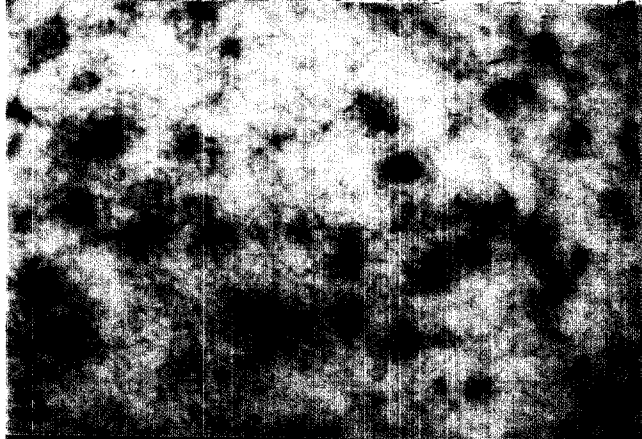
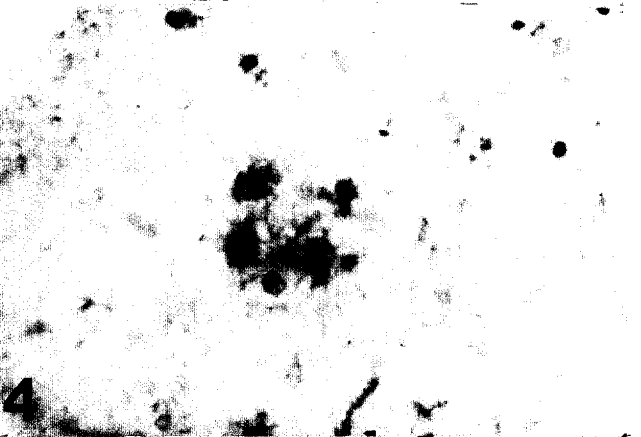
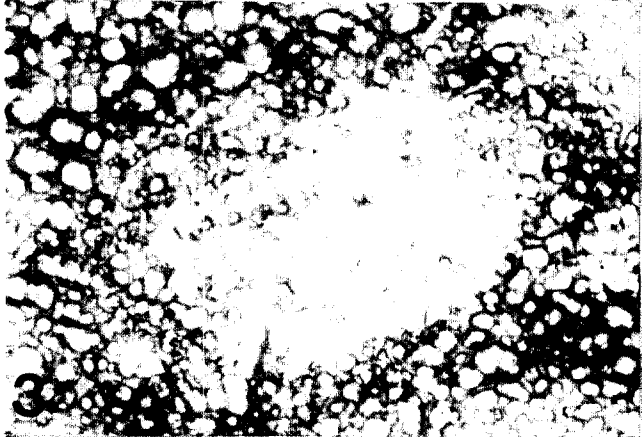
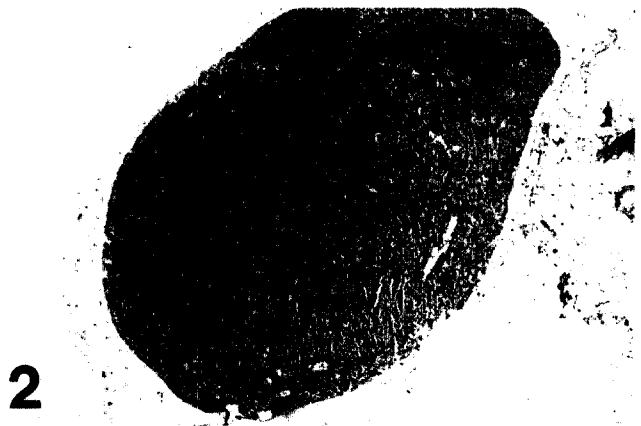
Fig. 4. Immunocytochemical pattern of IgM positive B cells(dark color) in *Apodemus agrarius* lymph node. $\times 200$.

Fig. 5. Immunocytochemical pattern of Ly1 positive T cells(dark color) in *Apodemus agrarius* spleen. $\times 200$.

Fig. 6. Immunocytochemical pattern of Ly1 positive T cells(dark color) in *Apodemus agrarius* lymph node. $\times 50$.

Fig. 7. Immunocytochemical pattern of Mac1 positive cells(dark color) in *Apodemus agrarius* spleen. $\times 100$.

Fig. 8. Rosette forming cells of *Apodemus agrarius* splenocyte with SRBC. $\times 400$.



었다. 그러나 조력T세포인 L3T4양성T세포는 양성세포의 수가 적고 동맥주위림프구집에 고르게 분포하여, 안동맥주위림프구집에만 분포하는 랫트와 마우스와는 다른 분포양상을 보였다. 그러나 등줄쥐에서 조직학적으로 양성면역세포의 수가 적은 이와 같은 결과들은 rosette형성율 결과와는 다른 소견이다. 왜냐하면 등줄쥐는 $8.2 \pm 1.0\%$ 의 rosette형성율을, C57BL/6계 마우스는 $8.3 \pm 0.7\%$ 의 형성율을

보여서 T세포의 수에 유의한 차이를 보이지 않았기 때문이다. 이러한 결과는 각 동물종에 따른 CD항원의 구조적인 차이로 인하여 마우스항체가 등줄쥐의 CD항원에 결합하지만 구조상의 차이로 인하여 적은 수가 반응할 수도 있다는 추측을 하게 된다. Mac1양성세포는 큰포식세포의 분포를 보여주는데 등줄쥐에서도 다른 동물종과 같이 적색속질에 주로 많이 분포하며 가장자리구역내 많이 분포함을 보였다. 그러나 가장자리구역의 크기가 마우스 및 랫트보다 좁고 Mac1양성세포의 수가 적게 나타났다.

림프절은 림프관을 통하여 들어온 항원에 반응하는 기관으로서 피막내에 외측의 B세포가 주로 분포하는 겉질과 내측에 타원형으로 T세포가 분포하는 속겉질로 나눌 수 있으며 활성화B세포와 형질세포가 분포하는 속질로 나눌 수 있다.^{25, 26, 36} 림프절에서는 H-E염색표본에서 겉질과 속겉질 및 속질의 양상이 다른 실험동물종과 같은 모양을 보였고 겉질과 속겉질 그리고 속질이 구분되었으며 속겉질은 한 개만을 가지고 있는 것이 관찰되었다. 또한 종자중심을 가지고 있는 이차림프소절이 관찰되지 않았다. 면역조직화학염색에서 Ly1양성T세포 및 L3T4양성T세포가 T세포영역인 속겉질에 분포되었으나 양성세포의 수가 마우스 및 랫트에 비해 현저히 감소되어있는 양상을 보였다. Ly2양성T세포는 속겉질에 분포하였으나 마우스와 랫트와의 다른 점이 발견되지 않았고 IgM양성B세포는 겉질과 속질에 분포하였는데 양성세포의 수가 적음을 발견할 수 있었다. 또한 활성화B세포의 염색에서 활성화B세포가 관찰되지 않았다.

이차면역기관 또는 말초면역기관인 림프절과 비장³⁶은 그 구조면에서는 상이하나 외래적으로 유입된 항원에 대한 초기면역반응을 담당하고 있는 기관으로서 또한 중앙의 발생시 암세포전이의 중간장

기로서 그 중요성이 큰 기관으로 외래항원에 대한 세포성면역반응과 체액성면역반응에 동시에 관여하는 중요한 기관이다. 그러나 실험동물화가 활발히 진행되는 등줄쥐는 한국형출혈열의 원인인 한타바이러스의 숙주^{13,14}와 쭈쭈가무쉬질환,^{15,16} 리켓치아¹⁶ 및 렙토스피라¹⁷의 숙주동물로서 면역기관에 대한 연구가 전혀 이루어지지 않았다. 따라서 이와 같은 면역기관에 대한 상세한 연구결과는 등줄쥐의 실험동물화 및 한타바이러스등의 연구에 중요한 형태학적 및 기능적 자료를 제공하리라 생각된다.

참 고 문 헌

- 1 조정식. 한국에 서식하는 야생등줄쥐(*Apodemus agrarius Pallas*)의 실험동물화에 관한 연구(III). 과학기술처, 1993.
- 2 Corbet GB, Hill JE. A world list of mammalian species and British museum(natural history). p.235. Facts on File Publication, New York, USA, 1986.
- 3 Hong HK, Lee UY. Studies on the biology of *Apodemus agrarius* in Korea. Incheon Univ 6:417-439. 1984.
- 4 Jones KK, Johnson DH. Synopsis of the lagomorphs and rodents of Korea. Univ Kansas Publ Mus Nat Hist 16:357-407. 1965.
- 5 Faith RE, Montgomery CA, et al. The cotton rat in biomedical research. Lab Animal Sci 47:337-345. 1997.
- 6 Pacini DL, Dubovi EJ, et al. A new animal model of human respiratory tract disease due to adenovirus. J Infect Dis 150:92-97. 1984.
- 7 Azazy AA, Devaney E, et al. A PEG-ELISA for the detection of *Leishmania donovani* antigen in circulation immune complexes. Trans Royal Soc Trop Med Hyg 88:62-66. 1994.
- 8 Kroeze WK, Tanner CE. *Echinococcus multilocularis*: responses to infection in cottonrat(*Sigmodon hispidus*). Int J Parasitol 15:233-238. 1985.
- 9 Rytik PG, Kucherov II, et al. The use of the

- polymerase chain reaction in modeling HIV infection in animals. Zh Microbiol Epidemiol Immunobiol 3:86-89. 1996.
- 10 Oliver Jr JH, Chandler Jr FW, et al. Natural occurrence and characterization of the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*, in cotton rats(*Sigmodon hispidus*) from Georgia and Florida. J Parasito 81:30-36. 1995.
 - 11 Rollin PE, Ksiazek TG, et al. Isolation of black creek canal virus, an new hantavirus from Sigmodon hispidus in Florida. J Med Virol 46:35-39. 1995.
 - 12 Madson KO, Edmonds EJ. Use of twelve-day-old cotton rats for dental caries studies. J Dent Res 42:867-873. 1963.
 - 13 Lee HW, Baek LJ, et al. Isolation of Hantaan virus, the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever, from wild urban rats. J Infect Dis 146:638-644. 1982.
 - 14 Yamanishi K, Dantas JR Jr, et al. Antigenic differences between two viruses, isolated in Japan and Korea, that cause hemorrhagic fever with renal syndrome. J virol 52:231-237. 1984.
 - 15 Ree HI, Lee IY, et al. Geographical distribution of vectors and sero-strains of tsutsugamushi disease at mid-south inland of Korea. Korean J Parasitol 35:171-179. 1997.
 - 16 Ree HI, Lee HS, et al. Epidemiological studies on host animals of tsutsugamushi disease in Korea. Korean J Parasitol 29:181-188. 1991.
 - 17 오희복, 박경석, et al. 한국에서 분리된 Leptospira균의 항원구조 분석에 관한 연구. 국립보건원보 24:301-314. 1987.
 - 18 Oh SW, Chae CH, et al. Spontaneous gastric carcinoid tumors in the Striped Field Mouse(*Apodemus agrarius*). J Vet Med Sci 59:703-706. 1997.
 - 19 조정식. 한국에 서식하는 야생등줄쥐(*Apodemus agrarius Pallas*)의 실험동물화에 관한 연구 (II). 과학기술처, pp.18-27. 1992.
 - 20 강태봉. 가열탈지한 한국산 겨우살이 추출물이 Macrophage의 Tumor Necrosis Factor- α 생산에 미치는 영향, 건국대학교 축산 가공학과 석사학위논문 Feb. 1995.
 - 21 Barsch MJ, Wannemuehler MJ, et al. Detection of tumor necrosis factor α from porcine alveolar macrophages using an L929 fibroblast bioassay. J Immunol Method 140:15-22. 1991.
 - 22 Krammer SM, Carver ME. Serum-free in vitro bioassay for the detection of tumor necrosis factor, J Immunol Methods 93:201-206. 1986.
 - 23 Denizot F, Lang R. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. J Immunol Methods 89:271-277. 1986.
 - 24 Ha TY, Lee JH. Effect of varying dose of sheep red blood cells on delayed hypersensitivity and antibody production in mice. Junbuk University Medical Journal 3:95. 1979.
 - 25 Junqueira LC, Carneiro J, et al. Basic histology. 8th ed. pp.247-268. Appleton & Lange. Connecticut, USA. 1995.
 - 26 Weiss L. Cell and Tissue Biology, 6th ed. pp.481-538. Urban & Schwarzenberg, Baltimore, USA, 1988.
 - 27 김재연. 한국에 서식하는 야생등줄쥐(*Apodemus agrarius Pallas*)의 실험동물화에 관한 연구(I). 과학기술처 pp.34-44. 1991
 - 28 Gutman GA, Weissman IL. Lymphoid tissue architecture. Experimental analysis of the origin and distribution of T cells and B cells. Immunol 23:465-479. 1972.
 - 29 Goldschneider I, McGregor DD. Anatomical distribution of T and B lymphocytes in the rat. Development of lymphocyte-specific antisera. J Exp Med 138:1443-1465. 1973.
 - 30 Hoffmann-Fezer G, Rodt H, et al. Immunohistochemical identification of T- and B-lymphocytes delineated by the unlabeled antibody enzyme method. I. Anatomical

- distribution of θ -positive and Ig-positive cells in lymphoid organs of mice. *J Immunol Method* **13**:261-270. 1976.
- 31 White RAH, Mason DW, et al. T lymphocyte heterogeneity in the rat. separation of functional subpopulations using a monoclonal antibody. *J Exp Med* **148**:664-673. 1978.
- 32 McMaster WR, Williams AF. Identification of Ia glycoproteins in rat thymus and purification from rat spleen. *Eur J Immunol* **9**:426-438. 1979.
- 33 Brideau RJ, Carter PB, et al. Two subsets of rat T-lymphocytes defined with monoclonal antibodies. *Eur J Immunol* **10**:609-615. 1980.
- 34 Barclay AN. The localization of populations of lymphocytes defined by monoclonal antibodies in rat lymphoid tissues. *Immunology* **42**:593-600. 1981.
- 35 Barclay AN, Mayhofer G. The bone marrow origin of Ia positive cells in the medulla of rat thymus. *J Exp Med* **153**:1666-1671. 1981.
- 36 Roitt IM, Brostoff J, Male DK. *Immunology*, 2nd ed. p.1.1-3.10. Churchill Livingstone, London, England, 1989.