

구개편도 및 인두편도에서 혈관내피성 접착분자의 발현에 관한 연구

가톨릭대학교 의과대학 이비인후과학교실

조진희 · 장한성 · 원유성 · 이수진 · 윤희로 · 서병도

=Abstract=

The Study on the Expression of Vascular Endothelial Adhesion Molecule in Palatine and Pharyngeal Tonsil

Jin-Hee Cho, MD, Han-Sung Jang, MD, Yu-Sung Won, MD, Soo-Jin Lee,
MD, He-Ro Yoon, MD, Byung-Do Suh, MD

*Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery,
College of Medicine, The Catholic University of Korea, Seoul, Korea*

The palatine tonsils(tonsils) and pharyngeal tonsils(adenoids) are situated at the entrance of the respiratory and alimentary tracts and represent the first site of contact with a variety of microorganisms and other antigens present in food and inhaled air. They are known as lymphoid organs carrying out the function of cellular and humoral immunity, and so they form a local protective barrier. And the expression of the vascular endothelial adhesion molecules is known to play an important role for the inflammatory reaction in tonsils and adenoids as well as in other inflammatory tissues, by binding with the receptors on the surface of leukocytes. But although several scientific hypotheses on the role of these lymphoid tissues have been suggested, their complete functions have remained unknown. The purpose of this study is to present an basic data of the knowledge on the immunologic physiology of the tonsils and adenoids and their role as active immunologic organs that reinforce the mucosal immunity of the entire upper

교신 저자 : 조진희(Jin-Hee Cho, MD)

137-040 서울 서초구 반포동 505번지 가톨릭대학교 의과대학 강남성모병원 이비인후과

Tel : (02) 590-1512, 2764 Fax : (02) 595-1354 E-mail : entcho@cmc.cuk.ac.kr

aerodigestive tract. We examined 16 human tonsils and adenoids and the expression of three endothelial adhesion molecules, vascular endothelial adhesion molecule-1(VCAM-1), intracellular adhesion molecule-1(ICAM-1), and E-selectin, in tissue sections using immunohistochemistry. We used the inferior turbinate mucosa obtained from 9 patients getting septal surgery as a control group. The expressions of vascular endothelial adhesion molecule-1 (VCAM-1) and intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) were significantly higher in the tonsils and adenoids. But respectively, there were no significant differences between the tonsils and adenoids. The expression of E-selectin was significant higher in the tonsils, but not in the adenoids. We observed that tonsils and adenoids showed significantly higher expressions of vascular endothelial adhesion molecule-1 (VCAM-1), intracellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), and E-selectin (in the case of E-selectin, only in the tonsils). We propose that these adhesion molecules play an important role for the immunologic reaction by the transendothelial migration of lymphocytes and binding with the receptors on the surface of leukocytes.

Key Words : Palatine tonsil · Pharyngeal tonsil · Vascular endothelial adhesion molecule

I. 서 론

구개편도와 인두편도를 포함하는 인두의 림프 조직은 인체의 면역기능에 중요한 역할을 담당하며 소화호흡기를 통해 유입되는 여러 가지 항원에 대해 1차적인 방어기전을 담당하고 주로 항체 생성에 의한 체액면역반응에 관여한다고 생각된다¹⁾²⁾. 그러나 이들의 국소적 및 전신적인 면역학적 기능은 많은 연구에도 불구하고 정확하게 규명되어 있지 않다. 다만 Immunoglobulin을 생산하고, memory B lymphocyte를 다른 점막조직으로 이동 시키는데 관여하는 것으로 알려져 있다³⁾. 구개편도와 인두편도에는 면역학적으로 활성화된 T 림프구와 B 림프구들이 많이 침윤되어 있고, 이들의 활성화를 위해서는 항원제공세포가 필요하며, 이러한 항원제공세포에는 수지상세포와 대식세포, 상피세포, B 림프구들이 있고 특히 수지상세포는 매우 강력한 항원제공세포로서 1차 면역반응에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다⁴⁾⁵⁾. 한편 림프구의 이동이나 축적 등 일련의

면역반응에는 혈관내피성 접착분자가 중요한 역할을 담당할 것으로 알려져 있으며 구개편도와 인두편도에서 T 림프구를 활성화시키는데 꼭 필요하며 이들은 항원제공세포와 T 림프구의 결합력을 안정화시켜 T 림프구를 활성화시키게 된다⁵⁾⁶⁾. 이에 저자들은 1996년 12월부터 1997년 2월 사이에 구개 및 인두편도 적출술 후 얻어진 각각의 조직 16예와 비중격 만곡증으로 비중격성형술을 시행 받은 환자의 하비갑개 점막조직 9예를 면역조직화학법으로 염색하고, 각 조직에서 혈관내피성 접착분자의 표현 정도를 비교 분석함으로써 인두림프조직의 면역학적 역할을 규명하는데 도움을 주고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 연구 대상

1996년 12월부터 1997년 2월 사이에 만성적인 편도 비대를 주소로 강남성모병원을 방문하여 인두 및 구개편도적출술을 시행 받은 4세에

서 13세까지의 환자의 조직표본 16예를 대상으로 하였다. 대상환자 모두 수술전 4주동안 상기도감염의 증상이 없었던 경우로 제한하였다. 대조군으로는 같은 기간 동안 비중격만곡증으로 비중격성형술을 시행 받은 환자에서 채취한 하비갑개 비점막 조직 9예를 이용하였다.

2. 방 법

1) 시 약

1차 항체는 흰쥐에서 얻어진 항인체 단클론항체 (anti-human monoclonal antibody)로서 anti-intracellular adhesion molecule-1 antibody (anti-ICAM-1 Ab), anti-vascular endothelial adhesion molecule-1 antibody (anti-VCAM-1 Ab), anti-E-selectin antibody 를 이용하였으며, 조직 내 모든 혈관을 염색 시킬 수 있는 것으로 anti-von Willibrand factor (anti-vWF Ab)를 사용하였다. 면역조직화학적 염색은 Avidin biotinylated enzyme complex-alkaline phosphatase (ABC-AP)법을 사용하였고, 대조 염색으로 Mayer's hematoxylin 용액을 사용하였다.

2) 조직염색

실험군 및 대조군 조직을 각각 3x3x2 mm 정도 크기로 절제한 뒤 10% formalin에 고정시킨 후 파라핀 포매절편을 만들었으며 5 µm 절편을 만든 후 xylene과 alcohol을 이용하여 탈 파라핀과 함수화를 시켰다. 1차항체가 비특이적으로 콜라겐이나 결합조직에 붙는 것을 막기 위해 pepsin을 사용하여 5분간 항온반응시켰다. TBS (Tris-buffered solution)로 수세 시킨 다음 1차항체로 vWF, ICAM-1, VCAM-1, E-selectin에 대한 흰쥐의 항인체 단클론항체를 이용하였으며 각각 TBS에 적절히 희석하였다 (vWF 1:5000, ICAM-1 1:100, VCAM-1 1:100, E-selectin 1:50). 45°C에서 40분간 반응시킨 후 TBS로 수세하고 2차항체는 biotinylated rabbit anti-mouse immunoglo-

bulin으로 20분간 항온반응시켰다. 그 후 TBS로 수세하고 chromogen-용액에 15분간 배양한 후 다시 TBS로 수세한 뒤 hematoxylin으로 대조염색하였다.

3) 염색된 조직의 관찰

염색된 표본은 서로 다른 두 명의 관찰자가 슬라이드 표식을 가린 상태에서 관찰하였으며, 격자가 표시된 대안렌즈하에서 100배 시야에서 관찰하였다. 측정부위는 비교적 상피층이 잘 보존되어 조직손상이 거의 없는 한 곳을 선택하여 상피하층 2x0.5 mm (1 mm²)에 해당하는 부위에 대해 단클론항체에 의해 염색된 혈관수를 관찰하였다. 양성반응은 내피세포가 붉게 염색된 혈관으로 확실한 관강(lumen)을 가진 것만 측정하였다. 각 접착분자의 표현은 vWf에 대한 단클론항체에 의해 염색된 혈관수에 대한 백분율로 구하였다. 실험군과 대조군의 비교를 위해 unpaired T-test를 시행하였고 각 접착분자간의 상관관계를 알아보고자 Pearson correlation analysis를 시행하였다. 통계학적 검정의 유의수준은 0.05 미만으로 정하였다.

III. 결 과

1) 접착분자의 표현정도 (Table 1)

ICAM-1은 구개편도 내 혈관의 12~84%(median: 39%), 인두편도 내 혈관의 26~73% (median: 46%)에서 표현되어 접착분자중 가장 강하게 표현되었으며 대조군에 비해 유의한 차이를 보였으나 구개편도와 인두편도간에는 유의한 차이가 없었다($p=0.77$)(Fig. 1). VCAM-1은 구개편도 내 혈관의 3~40% (median: 19%), 인두편도 내 혈관의 0~31% (median: 19%)에서 표현되어 대조군과 유의한 차이를 보였으나 구개편도와 인두편도간에는 유의한 차이가 없었다 ($p=0.42$)(Fig. 2). E-

Table 1. Expression of vascular endothelial adhesion molecules

		Tonsil (n=16)	Adenoid (n=16)	Nasal mucosa (n=9)
ICAM-1	percent expression	11.9~83.7	26.2~73	16~50
	median	39.1	46.25	29
	mean	44.98±20.3	46.77±14.5	29±13.1
VCAM-1	percent expression	3~39.5	0~30.8	0~4
	median	19.05	18.7	0
	mean	20.58±9.5	17.82±9.3	1.18±1.54
E-selectin	percent expression	0~13.6	0~7.4	0~5
	median	1.5	0	0
	mean	3.67±4.2	1.78±2.4	0.94±1.7

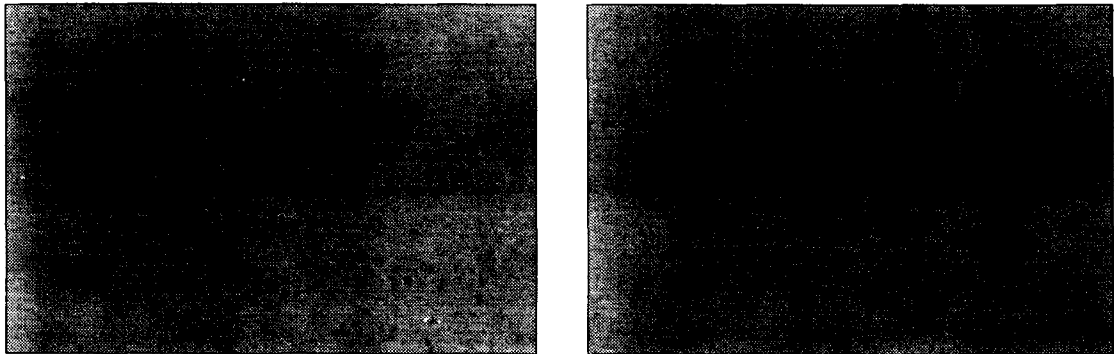


Fig. 1. ICAM-1 expression on the endothelial cells of (A) palatine tonsil and (B) pharyngeal tonsils (ABC-AP, ×200). ICAM-1 was more intensely stained than any other adhesion molecules.

selectin은 구개편도 내 혈관의 0~13%(median: 1.5%), 인두편도 내 혈관의 0~7%(median: 0%)에서 표현되어 구개편도에서 좀더 강하게 표현되었으나 구개편도와 인두편도간에는 유의한 차이가 없었다 ($p=0.16$)(Fig. 3)(Table 2).

2) 점착분자간의 상관관계

각 점착분자간의 상관관계를 조사한 결과 구개편도에서 ICAM-1과 VCAM-1의 표현정도가 유의한 상관관계를 보였고 ($p=0.0001$) 그 외의 조직 내에서는 각 점착분자간의 유의한 상관관계를 보이지 않았다 (Table 3).

구개편도와 인두편도는 말초림프구에 속하는 것으로서 상피조직과 면역반응에 관여하는 세포들이 조직학적으로 또한 기능적으로도 밀접한 관계를 맺고있는 상피림프조직 (lymphoepithelial tissue)의 하나이다. 즉 구개 및 인두편도는 점막상피와 연관되어 존재하는 대표적인 점막면역조직 (mucosa-associated lymphoid tissue: MALT)이며, 인체에는 이외에도 gut-associated lymphoid tissue (GALT), bronchus-associated lymphoid tissue (BALT)등의 점막하 조직들이 존재한다⁷⁾⁸⁾. 구개편도와 인두편도를 포함하는 인두의 림프조직은 인체의 면역기능에 중요한 역할을 담당하며 소화호흡기를 통해 유입되는 여러가지 항원에 대한 1차적 방어기전을 담당하는데 매우 중요한 역

IV. 고 찰

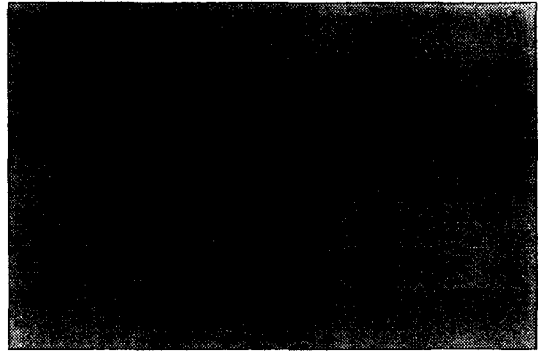
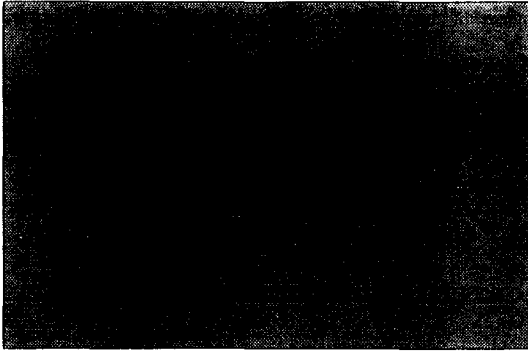


Fig. 2. VCAM-1 expression on the endothelial cells of (A) palatine tonsil and (B) pharyngeal tonsils (ABC-AP, $\times 200$). The expression of VCAM-1 was significantly higher in the palatine tonsils and pharyngeal tonsils.



Fig. 3. E-selectin expression on the endothelial cells of (A) palatine tonsil and (B) pharyngeal tonsils (ABC-AP, $\times 200$). The expression of E-selectin was significant higher in the palatine tonsils, but not in the pharyngeal tonsils.

할을 하고 있다는 것은 잘 알려진 사실이나 현재 까지 그 정확한 면역학적 기전은 밝혀지지 않고 있다. 지금까지 편도의 면역기능에 대한 연구들은 정상대조군과 만성편도염군 및 편도적출술 전후의 혈청 면역글로블린의 변화를 비교 분석하거나, 적출된 편도의 조직병리학적 연구가 많이 시행되었으나 면역학적 변화를 객관적으로 증명하지는 못하였다⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾. 구개편도는 림프절이나 말초혈액에 비해 훨씬 많은 B 림프구로 구성되어 있으며, 세포성 면역 기전에 관계하는 T 림프구도 역시 존재한다²⁾. 일반적으로 T 림프구는 소절간부위 (interfollicular area)에 존재하고 종종 림프절 내에서도 존재하는 것으로 알려져 있다. 소절간부위에 존재하는 T 림프구의 약 65%는 조력

림프구로서 이는 B 림프구 활성화 및 분화에 있어서 조력림프구가 결정적인 역할을 하고 있다고 볼 때 매우 중요한 소견이다²⁾¹²⁾. 이렇게 면역학적으로 활성화된 B 림프구들은 노년기가 되어감에 따라 수가 감소하게 되나 상당부분의 B 림프구 기능은 남아있게 된다¹³⁾. 이러한 B 림프구 수의 감소는 반복된 구개편도염을 앓은 경우에도 관찰되므로 연령의 증가에 따른 조절기전의 유무에 대해서는 결론을 내릴 수 없다. 림프구의 활성화를 위해서는 항원제공세포가 필요하며, 이러한 항원제공세포에는 수지상세포와 대식세포, 상피세포들이 있고 특히 수지상세포는 매우 강력한 항원제공세포로서 1차 면역반응에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다⁴⁾⁵⁾.

Table 2. Correlation of expression of vascular endothelial adhesion molecules

	Tonsil / Adenoid	Tonsil / Nasal mucosa	Adenoid / Nasal mucosa
ICAM-1	$p=0.7759$	$p=0.0456$	$p=0.0060$
VCAM-1	$p=0.4215$	$p=0.0001$	$p=0.0001$
E-selectin	$p=0.1605$	$p=0.0001$	$p=0.3629$

Table 3. Correlation between adhesion molecules in palatine tonsils and pharyngeal tonsils

correlation coefficient <i>p</i> value	Tonsil (n=16)	Adenoid (n=16)
ICAM-1 / VCAM-1	0.88614 $p=0.0001$	0.16558 $p=0.54$
ICAM-1 / E-selectin	0.033 $p=0.9034$	-0.20953 $p=0.436$
VCAM-1 / E-selectin	0.2154 $p=0.4229$	0.1017 $p=0.707$

혈관의 내피세포 표면에는 ICAM-1, VCAM-1, E-selectin을 포함하는 중요한 접착분자들이 있다. ICAM-1과 VCAM-1은 일종의 면역글로블린이며 이의 natural ligand는 각각 lymphocyte functional antigen-1 (LFA-1)과 VLA-4이다. 이들은 혈관의 내피세포, 림프구 및 항원제공세포등의 표면에 표현되어 각각의 수용체와 결합하여 세포간의 접착, 정보전달과정에 중요한 역할을 한다. E-selectin은 P-selectin, L-selectin과 함께 selectin family에 속하고 혈관내피세포에만 특이적으로 존재하여 백혈구 표면의 탄수화물 수용체인 sialyl-Lewis X (sLex)와 결합하여 염증반응의 초기단계에서 중성구 등의 혈관외유출에 관여한다¹⁴⁾¹⁵⁾¹⁶⁾. ICAM-1과 VCAM-1은 염증 자극 후 서서히 증가하여 수일간 그 표현이 유지되며 E-selectin은 염증 자극 후 30분만에 증가하여 24시간 후면 원래의 상태로 회복될 만큼 그의 표현과 소멸이 빨라서 호중구와 같이 급성 염증에 관여하는 백혈구의 이동에 주로 관여한다. 또한 ICAM-1은 대부분의 백혈구-혈관내피세포의 접착을 매개하는

데 비하여 VCAM-1은 림프구, 단핵구 및 호산구에 대하여 선택적으로 작용하는 것으로 알려져 있다¹⁷⁾.

일반적으로 혈관의 내피세포는 접착분자를 표현하기 위해서 cytokine과 같은 다른 인자에 의한 자극이 있어야 한다. 염증반응동안 TNF- α 혹은 IL-1은 ICAM-1, VCAM-1, E-selectin 모두의 표현을 증가시키고 IL-6도 ICAM-1의 발현에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있으며, 조력림프구에서 생성, 분비되는 IL-4가 E-selectin의 표현을 억제하는 반면에 VCAM-1의 표현 증가를 특이적으로 가속화시키는 것으로 알려져 있다¹⁷⁾. 정 등은 편도 내에서 ICAM-1의 발현 정도가 IL-6의 발현 정도에 따라 증가하여 상호 비례적인 상관관계를 갖고 있으며 편도의 비대에 따라 ICAM-1이 높게 발현된다고 보고하였다¹⁸⁾. 이 같은 접착분자들은 인두림프조직내에서 백혈구의 경혈관 이동에 관여할 뿐만 아니라 림프구의 활성화에 꼭 필요한 costimulator로 작용한다. 즉 림프구의 활성화에 필요한 항원제공세포의 표면에 높게 표현되어 T 림프구와의 결합을 안정화시켜 활성화를 일으키게 된다⁵⁾. Perry 등은 high endothelial venules (HEVs)가 구개편도에서 순환 림프구의 혈관외유출을 조절하는 주된 곳이며, LFA-1과 ICAM-1의 결합이 림프구의 경혈관이주에 중요하다고 하였다. ICAM-1은 HEVs의 혈관내피세포에서 특징적으로 높게 나타난다고 하였다¹⁹⁾. 또한 이들은 인두편도에서도 역시 같은 결과를 보고하였다³⁾. 그러나 VCAM-1의 경우 혈관내피세포에서는 미약하게 발현되고 수지상세포에서 강

하게 표현된다고 하여, ICAM-1 과 유사한 표현을 나타내고 ICAM-1과 유의한 상관관계를 보인 본 연구결과와 차이를 보였다. 이는 이들의 발현을 공통적으로 유발시키는 IL-1등 어떤 cytokine에 의한 것이라 추측되나 이에 대해서는 더 많은 연구가 필요하리라 사료된다. E-selectin은 염증의 초기단계에 나타나 일찍 소실되며, 편도조직에서는 미약하게 표현되는 것으로 보고되고 있으며 본 연구에서도 같은 결과를 얻었다. 조직은 채취 4주전부터 상기도 감염의 기왕력이 없는 개체로 국한시켰으나 인두편도의 E-selectin을 제외한 모든 접착분자가 정상 비점막조직의 접착분자의 표현율에 대해 통계적으로 유의하게 높게 나타난 것은 구개편도와 인두편도가 면역기능을 담당하고 있다는 것을 간접적으로 시사한다고 하겠다.

V. 결 론

구개편도와 인두편도를 포함하는 인두의 림프조직은 인체에서 중요한 면역기능을 담당하고 있으나 아직까지 정확한 면역학적 기전은 밝혀지지 않고 있다. 현재까지, 접착분자는 편도조직내에서 항원제세포와 림프구의 결합을 안정화 시키고 백혈구의 혈관외이동에 관여함으로써 편도의 면역학적 기능에 꼭 필요한 역할을 담당하고 있다고 알려져 있다. 편도조직의 면역학적 기능을 밝히는데 있어 접착분자의 역할은 매우 중요하리라 생각되고 향후 접착분자의 정량분석이나 각 접착분자의 표현을 유발하는 cytokine에 대한 연구가 필요하리라 사료되며 이 연구가 그 기초자료가 될 수 있으리라 생각된다.

중심단어 : 구개편도 · 인두편도 · 혈관내피성 접착분자

References

1. Gates GA, Muntz HR, Gaylis B: *Adhesiodectomy and otitis media. Ann Otol Rhinol Laryngol Suppl.* 1992; 155: 24-32
2. Richtsmeier WJ, Shikhani AH: *The physiology and immunology of the pharyngeal lymphoid tissue. Otolaryngol Clin North Am.* 1987; 20(2): 219-228
3. Perry ME, Kirkpatrick WN, Happerfield LC, Gleeson MJ: *Expression of adhesion molecules on the microvasculature of the pharyngeal tonsil (adenoid). Acta Otolaryngol Suppl (Stockh).* 1996; 523: 47-51
4. van Nieuwkerk EB, van der Baan S, Hoefsmit EC, Kamperdijk EW. *Localization and morphology of antigen-presenting cells in the adenoid of children with otitis media with effusion. Clin Immunol Immunopathol.* 1995; 74(1): 59-69
5. Prickett TC, McKenzie JL, Hart DN: *Adhesion molecules on human tonsil dendritic cells. Transplantation.* 1992; 53(2): 483-90
6. Hart DN, Prickett TC: *Intercellular adhesion molecule-2 (ICAM-2) expression on human dendritic cells. Cell Immunol.* 1993; 148(2): 447-454
7. Bloom W, Fawcette DW: *A textbook of histology, 10th ed. Philadelphia, WB Saunders Company, 1975.*
8. Surjan L Jr: *Reduced lymphocyte activation in repeatedly inflamed human tonsils. Acta Otolaryngol (Stockh).* 1980; 89(3-4): 187-194
9. Bussi M, Carlevato MT, Galeazzi E, Morra B: *Immunological investigations on tonsillar*

- and peripheral blood lymphocytes after adeno-tonsillectomy. Possible suggestions for phenotypical and functional differences. *Acta Otolaryngol (Stockh)*. 1991; 111(2): 379-383
10. Lee BH, Kim CD, Lee CG, Yu TH, Lee JD: Studies for serum and secretory immunoglobulin between pre- and post- tonsillectomy. *Korean J Otolaryngol*. 1990; 33(5): 899-907
 11. Sung MW, Lee CH, Song BH, Lee ES, Kim JY: Immunohistochemical comparison on palatine tonsils in children and adults. *Korean J Otolaryngol*. 1993; 36(3): 361-371
 12. Sprinkle PM, Veltri RW: Recurrent adeno-tonsillitis: A new concept. *Laryngoscope*. 1976; 86: 58-63
 13. Brandtzaeg P, Surjan L, Berdal P: Immunoglobulin systems of human tonsils. I. Control subjects of various ages: quantification of Ig-producing cells, tonsillar morphology and serum Ig concentration. *Clin Exp Immunol*. 1978; 31(3): 367-381
 14. Bevilacqua MP, Nelson RM: Selectins. *J Clin Invest* 1993; 91(2): 379-387
 15. Albelda SM, Buck CA: Integrins and other cell adhesion molecules. *FASEB J*. 1990; 4(11): 2868-2880
 16. Lo SK, Lee S, Ramos RA, Lobb R, Rosa M, Chi-Rosso G, Wright SD: Endothelial-leukocyte adhesion molecule 1 stimulates the adhesive activity of leukocyte integrin CR3 (CD11b/CD18, Mac-1, $\alpha_m\beta_2$) on human neutrophils. *J Exp Med*. 1991; 173(6): 1493-1500
 17. Schleimer RP, Sterbinsky SA, Kaiser J, Bickel CA, Klunk DA, Tomioka K, et al: IL-4 induces adherence of human eosinophils and basophils but not neutrophils to endothelium. Association with expression of VCAM-1. *J Immunol*. 1992; 148(4): 1086-1092
 18. Chung SM, Lee JA, Jung OK, Kim SS: The study on the expression of IL-6 and ICAM-1 in chronic tonsillitis. *Korean J Otolaryngol*. 1996; 39(5): 814-824
 19. Perry ME, Brown KA, von Gaudecker B: Ultrastructural identification and distribution of the adhesion molecules ICAM-1 and LFA-1 in the vascular and extravascular compartments of the human palatine tonsil. *Cell Tissue Res*. 1992; 268(2): 317-326