

Ricin의 독성이 생쥐의 간, 비장, 흉선, 폐 및 심장에 미치는 영향에 관한 조직학적 연구

윤명희* · 김지혜 · 김재호

경성대학교 자연과학부

Histological effects of ricin on liver, spleen, thymus, lung and heart of mouse

Myung-Hee Yoon, Ji-Hye Kim and Jae-Ho Kim

Division of Natural Sciences, College of Sciences, KyungSung University, Pusan 608-736, Korea

Abstract

The pathological aspects of purified ricin from the seeds of the castor oil plant, *Ricinus communis*, were examined, using light and transmission electron microscopy. ICR mice were exposed to ricin by peritoneal injection with 100 ng/1 ml PBS(pH 7.0)/mouse and histological observations on the liver, spleen, thymus, lung and heart were carried out at intervals up to 48 h after exposure. All the organs examined were damaged by ricin. Among the organs, the spleen and thymus; immune organs were the most sensitive to ricin, whereas the effect was delayed in the liver, lung and heart. Furthermore, the immune cells in each organ were the most sensitive to ricin. Accordingly, the effect of ricin on the organs seems to be affected by the immune cells existed in each organ. In each organ, the immune cells showed apoptotic changes, while the capillary endothelial and parenchymal cells showed necrotic changes.

Key words -- Ricin, *Ricinus communis*, mouse, histology, apoptosis

서 론

Ricin은 피마자(*Ricinus communis*)씨에서 추출한 식물성 단백질로서 disulfide bond로 연결된 2개의 polypeptide chain으로 구성되어있다. 그 중 B-chain은 lectin으로써 세포 표면인지에 관여하고 A-chain은 glycosidase으로써 세포 내에 침투하여 60S ribosomal subunit의 28S RNA를 불활성화시켜 단백질 합성을 저지함으로써[6,17] 조직에 영향을

미치는 것으로 알려져 있다. 즉, ricin은 특정 carbohydrate 잔기에 대한 특이성을 가지고 있으므로 단일 항체의 발달과 더불어 암세포에 대한 화학치료제로서 주목받고 있으며 [4,5,7,10,19,21,23], ricin에 대한 연구는 주로 세포 수준의 수용체에 대한 연구가 매우 활발하다[1,10,15]. 한편, ricin 투여에 의해서 손상된 조직의 초미세구조에 대한 조직학적 연구는 흰쥐(rat)의 간[1,9,15], 비장[12], 폐[2,16], 토끼의 심장[3,13,14]에 대한 연구가 있을 뿐, 그리 활발하지 않다.

이 연구에서는 생쥐(mouse)의 복강 내에 ricin을 주사하여 야기되는 간, 비장, 흉선, 폐 및 심장 조직의 시간 경과에 따른 손상 정도를 광학현미경과 전자현미경으로 관찰하

*To whom all correspondence should be addressed

Tel : (051) 620-4642, Fax : (051) 620-4642

E-mail : yhyun@star.kyungsung.ac.kr

여 각 조직의 병리학적 변화를 밝히고자 한다.

재료 및 방법

Ricin은 Jang & Kim[8]의 방법으로 한국산 피마자씨에서 분리한 것을 사용하였는데, 이 ricin은 생쥐에게 60 ng을 투여했을 때 4일 후에 50%의 치사율을 보이는 것으로 알려져 있다[8]. 실험 동물로써, 3-4주된 무게 25-30 g의 ICR 계 생쥐를 사용했으며 대조군 3마리에게는 복강 내에 PBS (pH 7.0) 용액 1 ml씩을 주사하였다. 실험군 12마리에게는 각 개체 당 100 ng ricin/1 ml PBS(pH 7.0)을 주사하였고, 6시간, 12시간, 24시간 및 48시간이 경과한 후 각각 3마리씩 에테르로 마취하여 간, 비장, 흉선, 폐 및 심장을 적출하였다.

적출한 각각의 조직을 예리한 면도칼로 1×1×1 mm 크기로 세절한 후, 2% paraformaldehyde와 25% glutaraldehyde의 혼합 고정액에서 24시간 고정하였다. 1.3% OsO₄로 1시간 30분간 후고정한 후, 알콜 탈수와 아세톤 치환을 거쳐 epon 812 혼합액으로 포매 중합하였다. 포매 된 조직을 ultramicrotome(LKB2088)으로 0.5-1 μm의 두께로 자른 후 0.5% toluidine blue로 염색하여 광학현미경으로 관찰하였고, 60-90 nm의 두께로 자른 후 uranyl acetate 와 lead citrate로 이중 염색하여 투과전자현미경(TEM, JEOL 100S)으로 관찰하였다.

결 과

Ricin에 의한 조직 상해의 광학현미경 및 전자현미경 관찰에 의한 조직학적 소견은 다음과 같으며, Table 1에 이 연구의 결과를 종합하였다.

간

광학현미경상에 의하면 ricin 투여 6시간 실험군부터 점차 동양모세혈관의 내강이 확대되었고, 24시간 실험군부터 혈관 내부에는 방울 모양의 구조물이 증가했다. 한편 간세포에서는 핵막의 형태가 6시간 이후의 실험군부터 점차 거치상으로 변형되어 48시간군에서는 대부분의 간세포의 핵막이 거치상을 나타내었다(Fig. 1). 또한 6시간군부터 간세포의 세포질 전반에 걸쳐 소포상의 구조물이 밀집되어 있

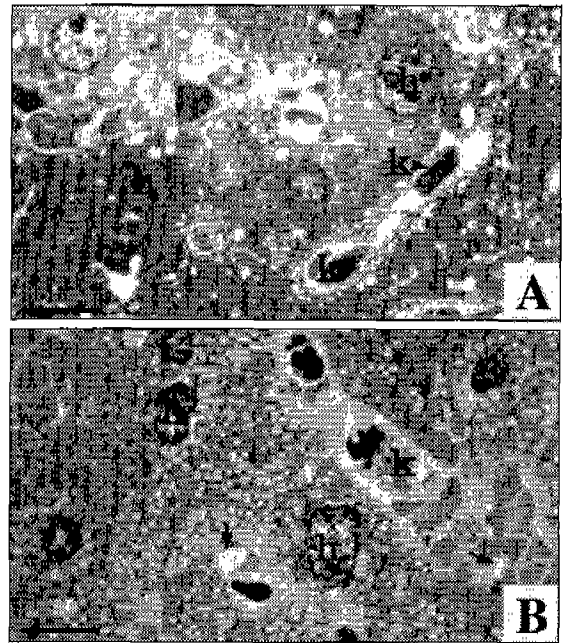


Fig. 1. Light micrographs showing the liver tissue in the control(A) and the ricin treated group at 48 h after exposure(B).

In the ricin treated group, the nuclei of hepatocytes are crenated, spherical organelles in the cytoplasm are significant, and phagocytic Kupffer cells and some droplets in the enlarged sinusoids are increased. h, hepatocyte; k, Kupffer cell; →, droplets. Scale bars=10 μm.

는 것처럼 보였다.

전자현미경상에 의하면 대조군(Fig. 2A)에서는 간세포의 핵이 구형인데 비해서, 6시간군 부터 거치상을 나타내기 시작하여 48시간군(Fig. 2B)에서는 거의 모든 핵이 거치상을 나타내었다. 간세포질 내의 조면소포체도 6시간군부터 48시간군에 이르기까지 대조군(Fig. 2A의 inset a)에 비해서 내강이 매우 좁아져 있었고(Fig. 2B inset b), 이렇게 내강이 좁아진 소포체가 mitochondria를 둘러싸고 있어, 광학현미경상에서는 마치 밀집된 소포상의 구조물처럼 관찰된 것으로 생각되었다(Fig. 1B). 한편 소포체 주변의 ribosome은 대조군과 다름없이 잔존해 있었다. Kupffer cell과 내피세포는 12시간군까지 큰 변화를 보이지 않았으나, 24시간군부터 상해되는 모습이 관찰되어, Kupffer cell의 핵이 세포소멸(apoptosis)을 일으켰으며(Fig. 2C), 내피세포가 혈관벽에서 분리되어 괴사(necrosis)를 일으킨 것이 관찰되었다(Fig. 2C의 inset c). 24시간군부터 48시간군에 걸쳐서

Table 1. Comparisons of degree of damage induced by ricin in immunocytes, endothelial cells and the other parenchymal cells of five organs examined

immunocytes	liver (Kupffer cell)	spleen (lymphocyte & macrophage)		thymus (lymphocyte & macrophage)	lung (alveolar macrophage)	heart (lymphocyte-like cell in blood vessel)
		white pulp	red pulp			
control	-	-	-	-	-	-
6 h	-	-	+++ ¹	+++ ¹	*	-
12 h	-	++ ¹	+++ ¹	+++ ¹	*	-
24 h	+++ ¹	+++ ¹	+++ ¹	+++ ¹	+++ ¹	++ ¹
48 h	++++ ¹	++++ ¹	++++ ¹	++++ ¹	++++ ¹	++++ ¹

endothelial cell	liver (endothelial cell)	spleen (rod cell)	thymus (endothelial cell)	lung (endothelial cell)	heart (endothelial cell)
control	-	-	-	-	-
6 h	-	-	-	-	-
12 h	-	-	**	-	-
24 h	+++ ²	-	++ ²	++ ²	-
48 h	++++ ²	++++ ²	++++ ²	++++ ²	++++ ²

parenchymal cells	liver (hepatic cell)	spleen (reticular epithelial cell)	thymus (reticular epithelial cell)	lung (alveolar epithelial cell)	heart (cardiac muscle fiber)
control	-	-	-	-	-
6 h	+	-	-	-	-
12 h	+	-	-	-	-
24 h	+	-	+	+	+
48 h	+	++++ ²	++++ ²	++++ ²	++++ ²

- no change in shape, + minor change in shape, ++ slight apoptotic or necrotic change, +++ apoptotic death or necrosis in small number of cells, ++++ apoptotic death or necrosis in larger number of cells, 1 apoptotic change, 2 necrotic change.

* increase in macrophages in number.

** endothelial cells were not found in the sections observed.

광학현미경 상에서 혈관 내강내의 방울 형태로 관찰되었던 구조물들은 Kupffer cell 등이 붕괴되거나 또는 Kupffer cell 등에 의해 포식된 세포들의 잔유물들이 밝혀졌다.

비장

광학현미경상에 의하면 백비수에서는 12시간군부터, 적비수에서는 6시간군부터 각각 검게 응축된 세포들이 관찰되기 시작하며, 48시간이 경과했을 때는 백비수와 적비수 모두에서 염색질이 응축된 세포들이 증가하였다(Fig. 3). 특히 백비수(비소절)에서는 거의 모든 세포의 핵 염색질이 응축되어 있었다.

전자현미경상에 의하면, ricin 투여 6시간이 경과했을 때

백비수는 대조군(Fig. 4A)과 큰 차이를 보이지 않았으나, 12시간군에서는 임파구의 핵막부근에 염색질이 응축되는 현상을 보였다. 한편 적비수의 비동에서는 6시간군부터 대조군(Fig. 4B)에 비해 백혈구가 증가하고 이미 세포소멸이 일어나 핵 전체의 염색질이 농축된 세포들이 관찰되었으나 세망상피세포와 간상세포에는 큰 변화가 없었다. 이러한 변화는 12시간이 경과했을 때도 유사하게 나타났다. 한편 24시간이 경과했을 때는 백비수와 적비수 모두에서 세포소멸이 일어난 임파구들이 증가하였다. 즉, 백비수에서는 임파구의 핵염색질이 핵막 부근부터 내부로 응축되고 핵의 형태가 구형으로 변한 후 세포질 성분이 거의 파괴되는 현상을 보였고, 적비수에서도 세포소멸을 일으킨 세포들이

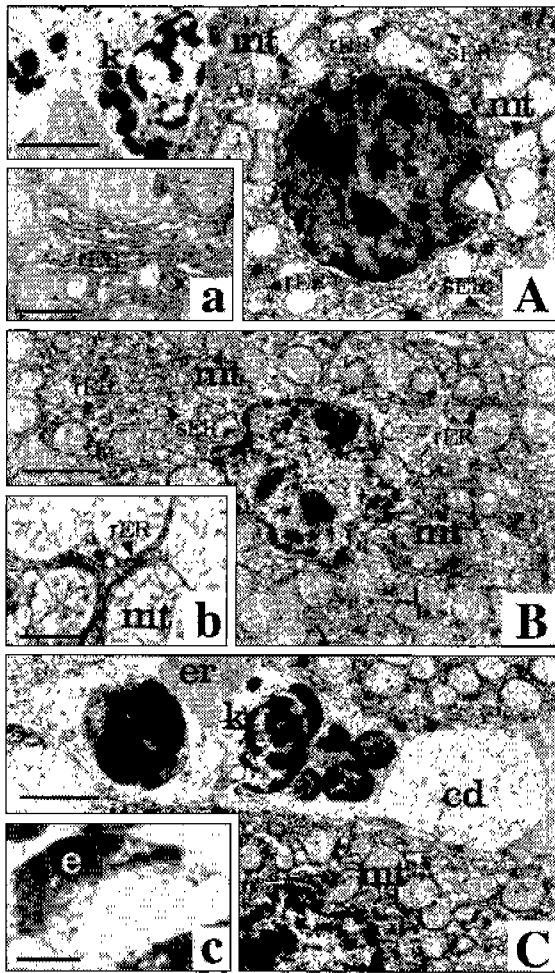


Fig. 2. Electron micrographs showing the hepatocytes and sinusoidal cells in the control(A) and the ricin treated group at 48 h after exposure(B and C). In the ricin treated group the hepatocyte with a crenated nucleus contains numerous mitochondria surrounded by rER with narrower lumen(inset b) than in the control(inset a), and relatively small number of sER(B). Sinusoids are filled with apoptotic Kupffer cells, cellular debris, erythrocytes, and necrotic endothelial cells(C and inset c). cd, cellular debris; e, endothelial cell; er, erythrocyte; k, Kupffer cell; mt, mitochondria; rER, rough endoplasmic reticulum; sER, smooth endoplasmic reticulum. Scale bars=3 μm and 1 μm(inset).

관찰되었다. 한편 이때까지도 세망상피세포와 간상세포에는 큰 변화가 보이지 않았다.

Ricin 투여 48시간 후, 백비수에서는 거의 모든 임파구에서 세포소멸이 상당히 진행되어 핵이 응축됨과 함께 핵막은 분리되고, 세포질도 파괴되었다(Fig. 4C). 적비수에서

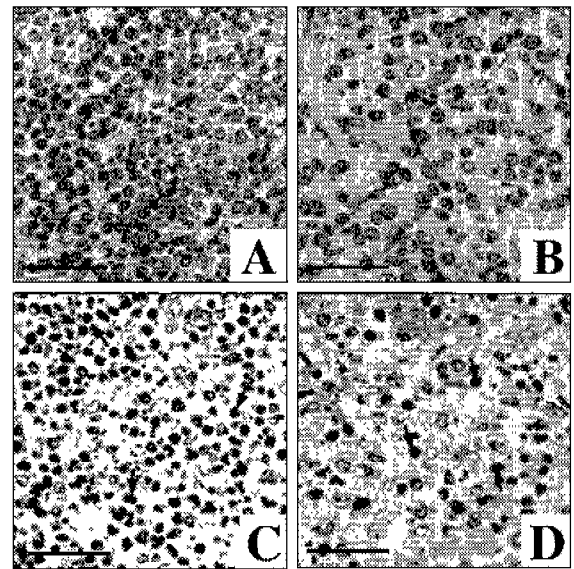


Fig. 3. Light micrographs showing the white(A and C) and red(B and D) pulps of the spleen in the control(A and B) and the ricin treated group at 48 h after exposure(C and D). Note that cells with high electron density (apoptotic bodies) are densely packed in both pulps of the spleen in the ricin treated group. →, apoptotic bodies. Scale bars=20 μm.

도 임파구는 거의 파괴되었고, 비동 내에는 파괴된 세포들의 잔해와 적혈구가 보이고, 세망상피세포(Fig. 4D의 inset)와 간상세포에서도 핵막 부근의 염색질이 응축되고 세포막이 붕괴되는 괴사 현상을 일으키고 있었다(Fig. 4D).

홍선

광학현미경상에 의하면 ricin 투여 12시간 이후부터 홍선 전체에 걸쳐 임파구가 검게 변성되기 시작하여 48시간군에서는 거의 모든 임파구가 검게 변하여 사멸된 것으로 생각되었으며, 대식세포의 수는 시간 경과에 따라 점차 증가하였다(Fig. 5).

전자현미경상에 의하면 ricin 투여 6시간군부터 홍선 실질에서 핵질이 매우 응축된 임파구가 관찰되었다. 이들 임파구들은 12시간군부터 전형적인 세포소멸 현상을 보여 핵막이 거치상으로 변한 세포, 핵막 주위의 염색질이 응축된 세포, 핵질 전체가 매우 응축된 세포들이 모두 관찰되었다. 48시간군에서는 거의 모든 임파구들이 사멸되어 있었다(Fig. 6). 한편 혈관 내피세포와 홍선 상피세포는 12시간군

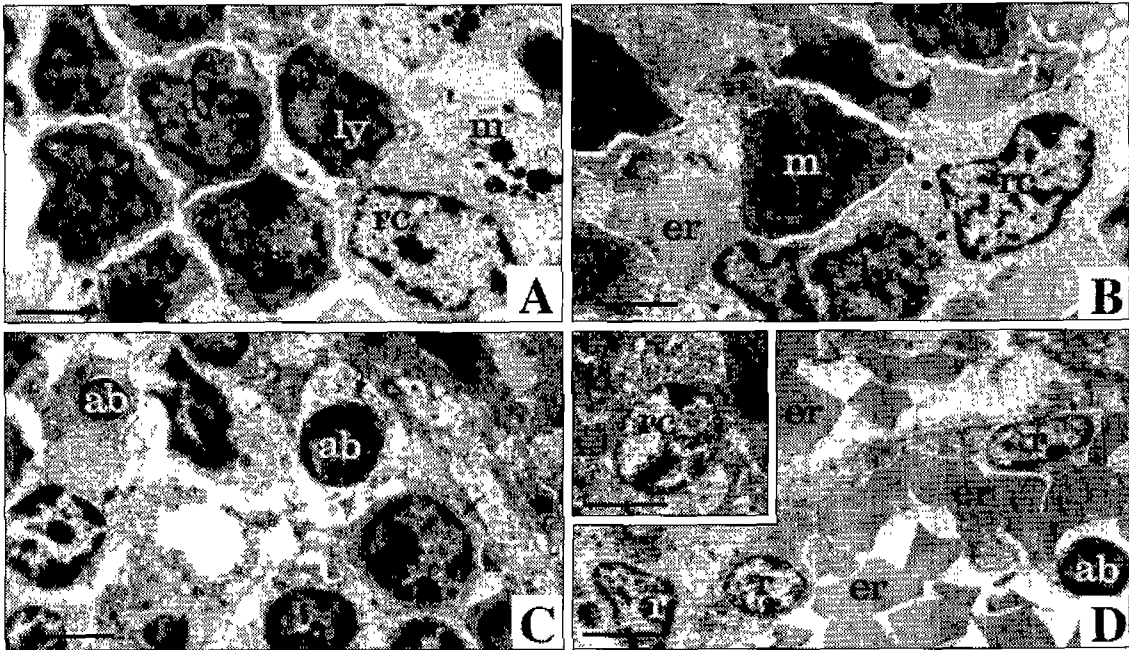


Fig. 4. Electron micrographs showing the white and red pulps in the control(A and B) and the ricin treated group at 48 h after exposure(C and D).

In the ricin treated group, both pulps are entirely damaged. Inset, a damaged reticular epithelial cell found in the red pulp at 48 h after ricin exposure. ab, apoptotic body; er, erythrocyte; ly, lymphocyte; m, macrophage; r, rod cell; rc, reticular epithelial cell; →, degradation of the nuclear membrane. Scale bars=3 μ m and 5 μ m(inset).

까지는 대조군(Fig. 6A, inset a)에 비해서 큰 변화를 보이지 않았으나, 24시간군에서는 혈관내피세포의 세포질이 부분적으로 파괴되었고 핵막부근의 염색질이 응축되어 있었다. 또한, 흉선 상피세포에서는 핵막부근의 염색질이 응축되어 있었다. 48시간군에서는 혈관내피세포의 세포질과 세포막이 거의 붕괴되었으며, 핵막이 손상되고 거치상으로 변한 흉선 상피세포가 소수 관찰되었다(Fig. 6B의 inset b).

폐

광학현미경상에 의하면 ricin 투여 6시간군부터 점차 폐포벽이 두꺼워졌으며, 48시간군에서는 폐포벽내의 세포들이 사멸되었고 혈관의 내강도 매우 확대되어 있었다(Fig. 7).

전자현미경상에 의하면 ricin 투여 6시간군에서는 대조군(Fig. 8A)에 비해서 대식세포가 약간 증가했을 뿐 혈관내피세포와 폐포상피세포에는 큰 변화가 없었다. 그러나, 24시간군에서는 세포소멸에 의한 세포들의 잔해들이 모세혈관 내에서 관찰되었고, 두꺼워진 폐포벽내의 모세혈관 내에서는 괴사된 내피세포와 세포소멸을 일으켜서 핵질이 응

축된 수많은 대식세포가 관찰되었다(Fig. 8B). 48시간군에서는 모세혈관의 내피세포가 대부분 파괴되었고, 폐포 벽에는 괴사중의 폐포상피세포, 사멸된 세포들의 잔해 및 응집된 적혈구로 채워져 있었다(Fig. 8C).

심장

광학현미경상에 의하면 ricin 투여 12시간군까지는 심근 조직에 큰 변화가 보이지 않았으나, 24시간군부터 심근 섬유막이 해리되기 시작하고 심근섬유 주위의 모세혈관 내강이 넓어졌다. 48시간군에서는 내강이 매우 확장된 모세혈관 내에 괴사된 내피세포와 다수의 대식세포가 관찰되었다(Fig. 9).

전자현미경상에 의하면 ricin 투여 12시간군까지는 대조군(Fig. 10A)과 큰 차이를 보이지 않았으나, 24시간군에서는 대조군에서는 거치상(Fig. 10A의 inset a)이었던 핵막의 형태가 조금 평활한 모습으로 변했으며, 핵 주위의 세포내 소기관이 손상되어 있었다. 또한 부분적으로 근원섬유들이 해리되어 있었고 확장된 혈관내에는 세포소멸을 일으킨 것

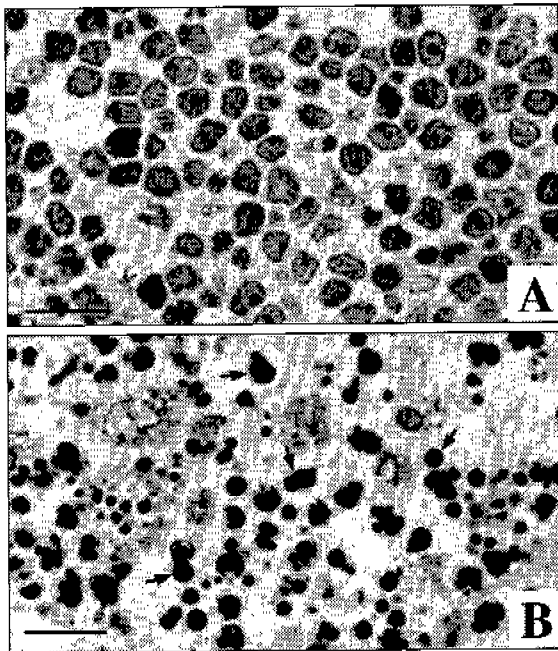


Fig. 5. Light micrographs showing the thymic tissue in the control(A) and the ricin treated group at 48 h after exposure(B).

Note that apoptotic lymphocytes and macrophages are increased in the ricin treated group. →, apoptotic body. Scale bars=10 μm.

으로 생각되는, 둥근 핵을 가진 임파구처럼 생각되는 세포들이 소수 관찰되었다. 48시간군에서는 대부분의 심근섬유의 막이 괴사에 의해 손상되어 심근섬유들이 해리 되었고 괴사된 혈관 내피세포가 기저막에서 분리되어 있었다(Fig. 10B). 또한, 확장된 혈관 내강에는 염색질이 농축된 핵을 가진 세포, 사멸된 세포 및 적혈구 등이 관찰되었다(Fig. 10B의 inset b). 심근세포의 핵막은 완전히 평활 해지고, 핵주위의 세포질내 소기관이 거의 손상되어 mitochondria는 대부분 원형으로 변했고, 일부 mitochondria의 막은 손상되어 있었다(Fig. 10B의 inset c).

고 찰

Ricin을 흰쥐에 정맥 주사하면(5 μg ricin/rat) 15분 후 간(40%), 혈류(19%), 비장(3%), 폐(0.4%), 흉선(0.2%)의 순으로 ricin이 많이 분포된다고 보고되어 있어, 간에 가장 많은 양의 ricin이 잔류함을 알 수 있다[20]. 또한, ricin(0.1 μg ricin/

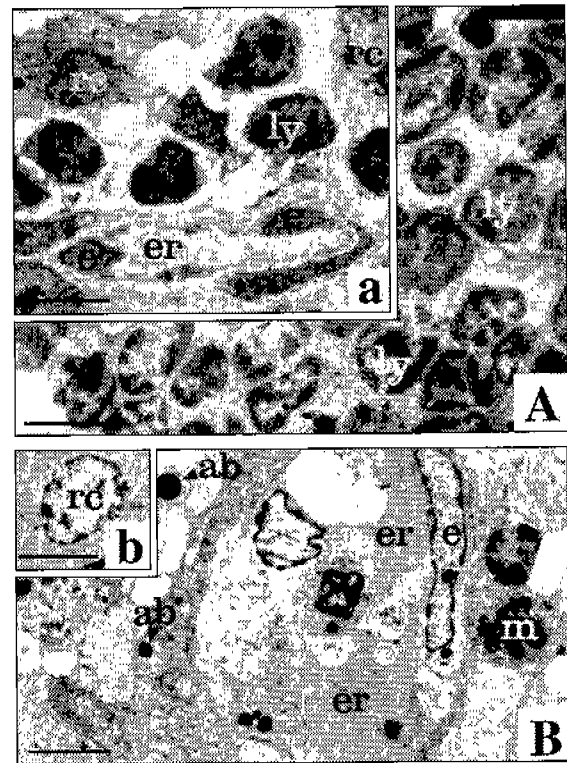


Fig. 6. Electron micrographs showing the thymic tissue including a blood vessel in the control(A and inset a) and the ricin treated group at 48 h after ricin exposure(B).

In the ricin treated group, the thymic tissue is filled with apoptotic lymphocytes with condensed nucleoplasm, phagocytic macrophages, necrotic endothelial cells of the blood vessel and reticular epithelial cells with condensed heterochromatin in the nuclear periphery (inset b). ab, apoptotic body; e, endothelial cell; er, erythrocyte; ly, lymphocyte; m, macrophage; rc, reticular epithelial cell. Scale bars=5μm.

g)을 흰쥐에 정맥주사 했을 때 18시간이 경과 한 후에는 간의 내피세포, 비장의 적비수 및 폐에서 상해가 관찰되었으나, 이자, 신장, 부신, 정소, 대동맥 주변 림프절, 흉선, 심장, 좌뇌 반구 및 소장에서는 별다른 상해가 없음이 관찰된 바 있다[20]. 그러나, 본 연구에서는 ricin에 의한 상해가 생쥐의 비장과 흉선에서 가장 크고, 간, 폐 및 심장에서는 그 상해가 비교적 지연되어 나타났으나 48시간 경과 후에는 모든 조직이 큰 상해를 입어(Table 1), 흰쥐와는 다른 경향을 보임을 알 수 있다.

생쥐의 간의 경우, 전술한대로 세포소멸을 일으킨 Kupffer

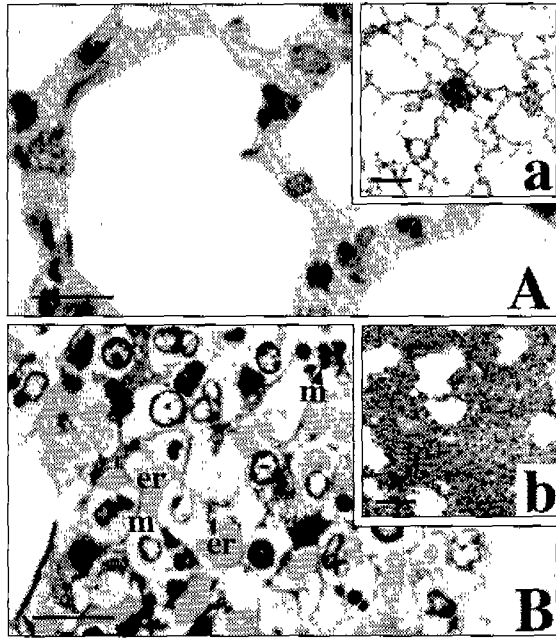


Fig. 7. Light micrographs at high($\times 1000$) and low($\times 100$, inset) magnifications showing the lung tissue in the control(A) and the ricin treated group at 48 h after exposure(B).

In the ricin treated group, the blood/air barrier has changed due to the edema of alveolar wall which is filled with a number of apoptotic macrophages, cell debris, and enlarged capillaries owing to the destruction of capillary endothelial cells. er, erythrocyte; m, macrophage. Scale bars= $10\ \mu\text{m}$ and $50\ \mu\text{m}$ (inset).

cell이나 괴사를 일으키는 혈관내피세포(비실질조직세포)는 간세포(실질조직세포)보다 지연되어(24 h) 상해를 입기 시작했다. 그 손상의 정도는 매우 컸으며(Table 1), 이러한 경향은 흰쥐[1,11] 에서도 일치하였다. 이러한 비실질조직세포와 실질조직세포 간의 조직 손상의 차이를 Skilleter 등 [18]은 간의 비실질조직세포가 실질조직세포에 비해 6배나 많은 ricin을 축적하는 것과 전자의 ricin에 대한 지나친 감수성으로 인한 단백질 합성을 감소($10^2\sim 10^3$) 때문에 초래된 것이라고 추측하고 있다. 한편 Magnusson & Berg[15]에 의하면, 투여된 ricin의 대부분을 간 동양 모세혈관 내피가 섭취하며, 실질조직세포나 Kupffer cell은 소량만을 섭취한다고 한다. 또한, 세포별 ricin 섭취량과 ricin에 의한 조직 손상의 정도에 차이가 나는 것은 Kupffer cell이 내피세포보다 ricin에 더 민감하기 때문에, 내피세포에 비해 ricin을 덜 섭취해도 더 빨리 사멸되는 것으로 추측하고 있

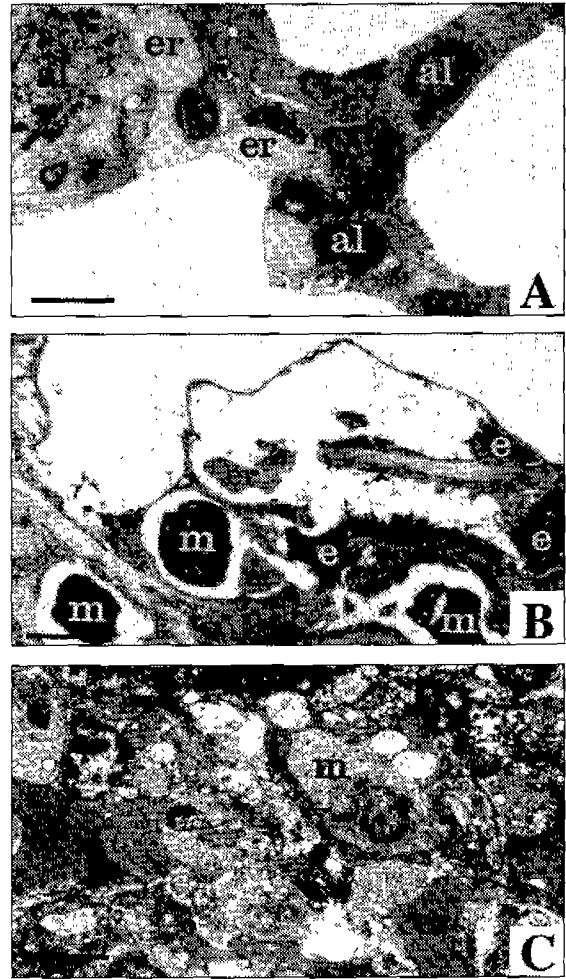


Fig. 8. Electron micrographs showing the alveolar wall in the control(A) and the ricin treated groups at 24 h(B) and 48 h(C) after exposure.

The lung at 24 h after ricin exposure shows increased macrophages in number compared to the control. Some macrophages and the endothelial cells show apoptotic and necrotic changes, respectively. By 48 h(C) after ricin exposure, the edematous alveolar wall is packed with erythrocytes and cellular debris. al, alveolar endothelial cell; e, endothelial cell; er, erythrocyte; m, macrophage. Scale bars= $5\ \mu\text{m}$.

으며, 이러한 민감도의 차이는 세포들간의 단백질 합성 기전 자체의 차이 등에 기인하는 것으로 생각되고 있다.

가장 빠르고 큰 상해를 보인 비장과 흉선의 경우, 본 연구에서는 6시간군부터 양 조직의 임파구들이 세포소멸에 의한 변화를 보이며 크게 손상됨이 밝혀졌다($0.1\ \mu\text{g}$ ricin/mouse, Table 1). 그러나 흰쥐에서는, $0.1\ \mu\text{g}$ ricin/g을 정맥주사 하여 18시간 경과 후 흉선과 비장의 백비수에서는

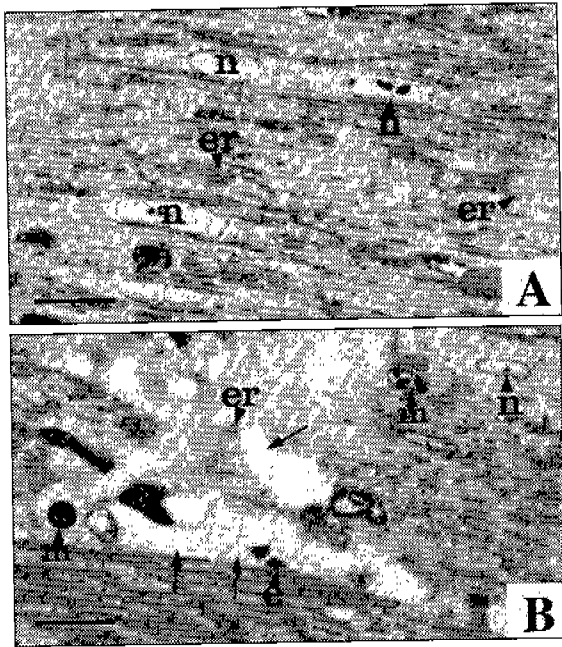


Fig. 9. Light micrographs showing the heart tissue in the control(A) and the ricin treated group at 48 h after exposure(B).

In the ricin treated group, erythrocytes, phagocytic macrophages and cellular debris are increased in the enlarged blood vessels and culminated in destruction of blood vessels. As for the cardiac muscle, the shapes of nuclear membrane changed from the crenated form in the control into the smooth form in the experimental groups. e, endothelial cell; er, erythrocyte; m, macrophage; n, nucleus; →, cellular debri. Scale bars=10 μ m.

별다른 상해를 보이지 않았고, 적비수 부위에서 큰 상해가 관찰된 바 있으며[20], 또한, 5 μ g ricin/rat를 근육주사 했을 때는 24시간 경과군부터 비장 임파구들의 세포소멸이 관찰된 바 있다[12]. 즉, 생쥐의 경우 흰쥐에서 보다 낮은 농도의 ricin을 투여했음에도 불구하고 비장에서 더 빨리 상해가 나타났고 흉선에서도 큰 상해가 관찰되어, 흰쥐에 비해서 ricin에 의한 손상정도가 큰 것을 알 수 있다. 한편, 혈관이 풍부한 생쥐의 적비수(6 h)에서 백비수(12 h)보다 손상이 더 빠르고 심하게 나타난 점과(Table 1), 흰쥐에서 중심동맥 부근의 비수조직에서 더 큰 손상이 관찰되는 점은[12], 혈류에 비교적 많은 양(흰쥐에서 19%)의 ricin이 분포하는 것과 관련이 있는 것으로 생각되었다[20].

폐의 경우, ricin 투여 6시간군부터 생쥐의 폐에서 부종 현상이 보이고 대식세포가 증가하였으며, 세포 종류별로는

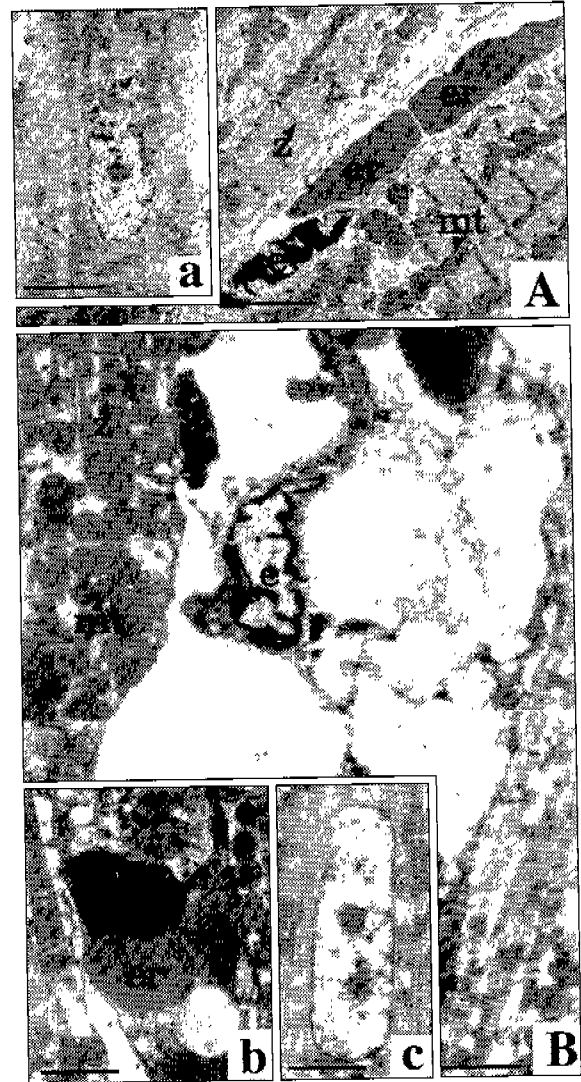


Fig. 10. Electron micrographs showing the cardiac muscle and the blood vessel in the heart tissue in the control(A) and the ricin treated group at 48 h after exposure(B).

In the ricin treated group, the entirely damaged endothelial cell is separated from the vessel which is filled with cell debris(inset b). Furthermore, the cardiac muscle fibers are isolated from each other due to damaged cell membrane, and the cytoplasm contains a nucleus with smooth membrane(inset c) which is rough in the control(inset a), less mitochondria with damaged membrane, and dissociated myofibrils. e, endothelial cell; er, erythrocyte; mt, mitochondria; Z, Z-line. Scale bars=5 μ m and 2 μ m(inset a and c).

세포소멸을 일으키는 폐포 대식세포, 괴사를 일으키는 혈관내피세포와 폐포 상피세포의 순으로 손상의 정도가 심해

(Table 1), 전술한 간, 비장 및 흉선에서처럼 면역계 세포의 손상이 다른 세포들에 비해 더 큰 것을 알 수 있다. 이와 유사한 경향은 ricin을 흡입시켜 손상시킨 흰쥐의 폐에서도 보고된 바 있다[2]. 즉, 흰쥐에서는 전술한대로 극소량의 ricin(0.4%)이 폐에 축적되는 것으로 알려져 있으나[20], ricin 흡입 6시간군부터 폐포 대식세포가 세포소멸을 일으키며 12시간군부터는 폐포 상피세포와 혈관 내피세포가 괴사를 일으킨다고 보고되어 있어[2], 생쥐의 복강 주사에 의한 조직 손상의 정도는 흰쥐의 흡기를 통한 조직 손상의 정도와 큰 차이가 없음을 알 수 있다. 단지 흰쥐의 경우, 48시간 경과 실험군에서는 type II 폐포 상피가 과도 증식되는 경향을 보이지만 본 연구에서는 이러한 경향을 보이지 않았다.

심장의 경우, ricin에 의한 상해가 비교적 늦게 나타나 24시간군부터 생쥐의 심근섬유막이 괴사에 의해서 해리되기 시작하며(Table 1), 48시간 경과 후에는 심혈관계가 붕괴되어 심장조직 전체가 상해를 받음이 밝혀졌다(Fig. 10B). 이와 같이, 심혈관계가 괴사에 의해서 붕괴되는 현상은 0.22 µg/kg의 ricin을 정맥주사 한 토끼에서도 관찰된 바 있다[24]. 한편, 흰쥐의 경우 0.1 µg/g의 ricin을 흰쥐에 정맥주사했을 때 심장에서는 상해가 일어나지 않아[20], ricin의 독성에 대한 민감도가 비교적 낮은 것으로 생각되었다.

결론적으로, 실험한 생쥐의 모든 조직은 ricin의 독성에 의해서 크게 손상되었으며, 각 조직을 구성하는 면역계 세포들은 세포소멸을 일으키는 반면 혈관내피세포들과 실질조직세포들은 괴사를 일으키지 않았다. 한편, 손상이 가장 빠르고 크게 나타난 조직은 면역계 조직인 비장과 흉선이었고, 또한 실험한 대부분의 조직에서 가장 민감하게 상해를 받은 세포들은 면역계 세포들로서 ricin의 독성에 의한 각 조직의 손상정도는 조직내의 면역계 세포의 존재여부에 의해서 크게 영향을 받는 것으로 생각되었다.

요 약

피마자(*Ricinus communis*)의 씨로부터 추출한 ricin 100 ng/PBS(pH 7.0) 1 ml/mouse를 ICR계 생쥐에 복강 주사하여 간, 비장, 흉선, 폐 및 심장에 대한 시간 경과에 따른 손상정도를 광학현미경과 전자현미경으로 관찰하였다.

실험한 모든 조직은 ricin의 독성에 의해 크게 손상되었으며, 면역계 조직인 비장과 흉선에서 손상이 가장 빠르고 크게 나타났고(6 h), 간, 폐 및 심장에서는 조금 지연되어(24 h) 나타났다. 또한 대부분의 조직에서 가장 민감하게 상해를 받은 세포들은 면역계 세포들로서 ricin의 독성에 의한 각 조직의 손상정도는 조직내의 면역계 세포의 존재여부에 의해서 크게 영향을 받는 것으로 생각되었다. 한편, 각 조직을 구성하는 면역계 세포들은 세포소멸을, 혈관 내피세포와 실질조직세포들은 괴사를 일으키고 있음이 관찰되었다.

참 고 문 헌

1. Brech, A., S. Magnusson, E. Stang, T. Berg and N. Roos. 1993. Receptor-mediated endocytosis of ricin in rat liver endothelial cells. An immunocytochemical study. *Eur. J. Cell Biol.* **60**(1), 154-162.
2. Brown, R. F. and D. E. White. 1997. Ultrastructure of rat lung following inhalation of ricin aerosol. *Int. J. Exp. Pathol.* **78**(4), 267-276.
3. Christiansen, V. J., C. H. Hsu, K. J. Dormer and C. P. Robinson. 1994. The cardiovascular effects of ricin in rabbits. *Pharmacol. Toxicol.* **74**(3), 148-152.
4. Derbyshire, E. J., R. V. Henry, R. A. Stahel and E. J. Wawrzynczak. 1992. Potent cytotoxic action of the immunotoxin SWA11-ricin A chain against human small cell lung cancer cell lines. *Br. J. Cancer* **66**, 444-451.
5. Engert, A., V. Diehl, R. Schnell, A. Radszuhn, M. T. Hatwig, S. Drillich, G. Schön, H. Bohlen, H. Tesch, M. L. Hansmann, S. Barth, J. Schindler, V. Ghetie, J. Uhr and E. Vitetta. 1997. A Phase-I study of an anti-CD25 ricin A-chain immunotoxin (RFT5-SMPT-dgA) in patients with refractory hodgkin's lymphoma. *Blood* **89**(2), 403-410.
6. Fodstad, Ø. and S. Olsnes. 1977. Studies on the accessibility of ribosomes to inactivation by the toxic lectins abrin and Ricin. *Eur. J. Biochem.* **74**, 209-215.
7. Godal, A., S. Olsnes and A. Pihl. 1981. Radioimmunoassays of abrin and ricin in blood. *J. Toxicol. Environ. Health* **8**, 409-417.
8. Jang, H. Y. and J. H. Kim. 1993. Isolation and biochemical properties of ricin from *Ricinus communis*. *Korean Biochem. J.* **26**(1), 98-104.

9. Jo, U. B., B. T. Choi, G. J. Jo, Y. G. Gil, J. H. Kim and H. Y. Jang. 1997. Histological and histochemical study on the toxicity of ricin in the rat liver. *J. Korean Env. Sci. Soc.* **6**(1), 53-60.
10. Kanellos, J., I. F. C. Mackenzie and G. A. Pietersz. 1988. *In vivo* studies of whole ricin monoclonal antibody immunoconjugates for the treatment of murine tumours. *Immunol. Cell Biol.* **66**, 403-415.
11. Knight, B. 1979. Ricin-a potent homicidal poison. *Br. Med. J.* **1**, 350-351.
12. Leek, M. D., G. D. Griffiths and M. A. Green. 1990. Pathological aspects of ricin toxicity in mammalian lymph node and spleen. *Med. Sci. Law.* **30**(2), 141-148.
13. Ma, L., C. H. Hsu, R. Fugate, E. Patterson, U. Thadani and C. P. Robinson. 1995. Ricin disturbs calcium homeostasis in the rabbit heart. *J. Biochem. Toxicol.* **10**(6), 323-328.
14. Ma, L., C. H. Hsu, E. Patterson, U. Thadani and C. P. Robinson. 1996. Ricin depresses cardiac function in the rabbit heart. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **138**(1), 72-76.
15. Magnusson, S. and T. Berg. 1993. Endocytosis of ricin by rat liver cells *in vivo* and *in vitro* is mainly mediated by mannose receptors on sinusoidal endothelial cells. *Biochem. J.* **291**, 749-755.
16. Poli, M. A., V. R. Rivera, M. L. Pitt and P. Vogel. 1996. Aerosolized specific antibody protects mice from lung injury associated with aerosolized ricin exposure. *Toxicon* **34**(9), 1037-1044.
17. Simeral, L. S., W. Kapmeyer, W. P. Macconnell and N. O. Kaplan. 1980. On the role of the covalent carbohydrate in the action of ricin. *J. Biol. Chem.* **255**(23), 11098-11101.
18. Skilleter, A. N., A. J. Paine and F. Stirpe. 1981. A comparison of the accumulation of ricin by hepatic parenchymal and nonparenchymal cells and its inhibition of protein synthesis. *Biochem. Biophys. Acta.* **677**, 495-500.
19. Soler-Rodriguez, A. M., M. A. Ghetie, N. Oppenheimer-Marks, J. W. Uhr and E. S. Vitetta. 1993. Ricin A-chain and ricin A-chain immunotoxins rapidly damage human endothelial cell: implications for vascular leak syndrome. *Experimental Cell Research* **206**, 227-234.
20. Thorpe, P. E., S. I. Detre, B. M. J. Foxell, A. N. F. Brown, D. N. Skilleter, G. Wilson, J. A. Forrester and F. Stirpe. 1985. Modification of the carbohydrate in ricin with metaperiodate-cyanoborohydride mixtures. *Eur. J. Biochem.* **147**, 197-206.
21. Vallera, D. A., P. A. Taylor, A. Panoskaltis-Mortari and B. R. Blazar. 1995. Therapy for ongoing graft-versus-host disease induced across the major or minor histocompatibility barrier in mice with anti-CD3F(ab')₂-Ricin toxin a chain immunotoxin. *Blood* **86**(11), 4376-4375.
22. Waller, G. R., K. E. Ebner and R. A. Scroggs, B. R. D. Gupta and J. B. Corcoran. 1966. Studies on the toxic action of ricin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **121**, 685-691.
23. Winkler, U., C. Gottstein, G. Schön, U. Kapp, J. Wolf, M. L. Hansmann, H. Bohlen, P. Thorpe, V. Diehl and A. Engert. 1994. Successful treatment of disseminated human hodgkin's disease in SCID mice with deglycosylated ricin A-chain immunotoxins. *Blood* **83**(2), 466-475.
24. Zhang, L., C. H. Hsu and C. P. Robinson. 1994. Effects of ricin administration to rabbits on the ability of their coronary arteries to contract and relax *in vitro*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **129**(1), 16-22.

(Received January 5, 2001; Accepted February 28, 2001)