大韓病理學會誌 : 第17卷 第4號
K.J. Path., Vol. 17(4): 399, 1983

Immunopotentiator (OK-432)가 비장의 조직학적 변화에 미치는 영향

전북대학교 의과대학 병리학교실

이 혜 수·이 신 웅·최 호 열

서 론

Picibanil(OK-432)는 streptococcus의 Su 주이며 처음에는 항암제로서 개발되었으나 그 작용 기전에 있어서 암세포를 직접 파괴시키는 것보다는 숙주의 여러 기능을 부활시킴으로서 종양에 대한 저항성을 높이게 하는 비특이적 면역 자극제로 알려져 있다.

Okamoto등[1,2]은 이 약물이 주로 세포개재성 면역반응에 관여하며, 망상 내피계의 기능을 항진시킴으로서 생체의 방어능력을 증가시킨다고 하였으며, Kimura등[3]과 Yasuhara등[4]은 이러한 OK-432의 작용기전을 이용하여 OK-432를 타항암제와 병용함으로써 그 효과를 높일 수 있음을 실험적으로 입증하였고 임상에서도 이의 효과가 평가된 바 있다[2,3,5-7].

그러나 Aoki등[8]은 OK-432의 면역성 작용기전이 세포 표면 항원에 대한 항체생성을 촉진시키는 작용, 즉 체액성 면역에도 관여한다 하여 Okamoto등과는 상반된 견해를 발표하기도 하였다.

면역 기관이나 조직은 기능적인 변화와 형태학적인 변화가 밀접한 연관성을 가지고 있음은 잘 알려진 사실이나, OK-432에 의한 면역계조직의 형태학적 변화에 대한 보고는 찾아보기 어렵다.

따라서 저자는 OK-432에 의한 망상 내피계 장기의 형태학적 변화를 관찰할 목적으로, 면양 적혈구로 면역시킨 마우스와 면역시키지 않은 마우스에 각각 OK-432를 주입한 후 경시적으로 비장의 조직학적 변화를 검사하여 유의한 지견을 얻었기에 보고하는 바이다.

접 수 : 1983년 10월 20일

실험재료 및 방법

실험동물은 일정 기간 동일조건하에서 사육한 체중 30g 내외의 ICR 계 마우스를 자웅 구별없이 사용하였으며, 다음과 같은 실험군으로 구분하였다.

대조군 : 면양 적혈구만을 투여한 군

실험군

Ⅰ군 : OK-432(Picibanil, 중외제약, 일본). 단독투여군

Ⅰ-A군 : 단회 투여군

Ⅰ-B군 : 연3회 투여군

Ⅱ군 : 면양 적혈구 투여후 5일에 OK-432 투여군

Ⅱ-A군 : 단회 투여군

Ⅱ-B군 : 연3회 투여군

Ⅰ-A군과 Ⅱ-A군에는 체중 100g당 0.1KE의 OK-432를 단회 투여하였으며, Ⅰ-B군과 Ⅱ-B군에는 체중 100g당 OK-432를 1일째에 0.01KE, 2일째에 0.025KE, 그리고 3일째에 0.05KE를 투여하였다. OK-432는 각각의 투여량을 0.2ml의 생리적 식염수에 용해하여 마우스 미정맥에 주사하였다.

면양 적혈구(SRBC)는 호주산 메리노종 면양의 경정맥에서 2.8% sodium citrate가 포함된 주사기로 채혈한 후, 혈액과 Alsever's액(pH 6.1)을 1 : 1.2의 비율로 혼합하여 4℃에 보존하였으며, 채혈후 2주 이내의 것을 사용하였다. 보존중인 SRBC를 사용할 때는 Dulbecco phosphate buffered saline(PBS, pH 7.2)에 3회 원심수세하여 5×10^9세포/ml의 농도로 PBS에 부유하여 부유액 0.2ml(1×10^9세포)를 미정맥내로 주입하여 면역시켰다[9,10,11].

면역후 대조군은 제5일에, 실험군은 각각 1, 3, 5, 7, 10일에 도살하여 비장을 적출하였다. 적출된 조직은 10% 중생 완충 formalin에 고정한 후 paraffin 포매를 거쳐

통상 H-E 염색, methylgreen pyronin염색(MGP) 및 reticulin 염색을 시행하여 광학현미경하에서 비교 관찰하였으며, MGP 염색은 Kurnick법[12]의 변법을 그리고 reticulin 염색은 Gridley법[13]을 사용하였다.

실 험 성 적

1) 대조군

중심동맥은 다수의 소림파구로 둘러싸인 비후된 세포층을 형성하고 있었으며, 중심동맥에 인접된 부위에 존재하는 세포들은 소림파구, 또는 형질세포와 유사한 형태를 가진 세포들로서 pyronin 호염성 세포질(pyroninophilic cytoplasm)을 가지고 있었다.

비후된 동맥주위 임파구초에 연결되어 원형 또는 타원형의 임파소절의 형성이 관찰되었으며, 임파소절내에는 배아중심이 나타나 이차소포의 형태를 취하였으나, 외투대(mantle zone)는 뚜렷하지 않았다(Fig 1). 배아중심은 구성세포의 종류 및 분포에 따라 대체로 두 부위로 세분할 수 있었다. 즉 다량의 세포질과 염색질이 거의 없는 큰 핵을 가진 망상세포와 소수의 거식세포 및 극소수의 소림파구로 구성되어 있는 light zone과, pyronin 양성 세포질을 가진 다수의 중등도 크기의 임파구 및 분열 세포로 구성되어 있는 dark zone으로 구분할 수 있었으며, dark zone은 항상 중심동맥으로 부터 가까운 쪽에서 관찰되었다.

배아중심에 분포된 혈관은 적은 수의 모세혈관이었으며 때때로 이 모세혈관들이 변연동(marginal sinus)에 연결되어 있는 것이 관찰되었다. 그리고 reticulin 염색을 한 조직표본상에서 보면 배아중심부의 망상섬유는 동맥주위 임파구초에 비해 굵기는 비슷하나 그 짜임새가 매우 성글게 분포되어 있었다.

한편 비백수의 임파소절과 동맥주위 임파구초를 함께 둘러싸서 백수와 적수 사이에 경계를 이루는 부위, 즉 변연대(marginal zone)의 세포는 pyronin에 강한 양성을 보이는 소량의 세포질과, 염색질이 거의없는 핵 및 1-2개의 핵소체를 가진 특이한 세포 즉 변연대 세포(marginal zone cell)로서 임파소절의 임파구층에 있는 소임파구나 망상세포와는 용이하게 구별되었고(Fig. 2), 이런 세포를 적수에서는 볼수 없었다. 그리고 변연대는 망상섬유막에 의해 백수와 면하고 있는 내층(inner layer)과 적수와 면하고 있는 외층(outer layer)으로 구분되었으며, 망상섬유막에는 다수의 변연동(mar-

Fig. 1. Control(sheep red blood cell-treated) group. Secondary lymph follicle with indistinct mantle zone is composed of two cell populations, which are lightly stained reticular cells and medium-sized lymphocytes, respectively. (H&E, × 400)

Fig. 2. Control(sheep red blood cell-treated) group. In the marginal zone, lightly stained reticular cells, marginal zone cells, and a few small-lymphocytes and plasma cells are noted. (H&E, × 400)

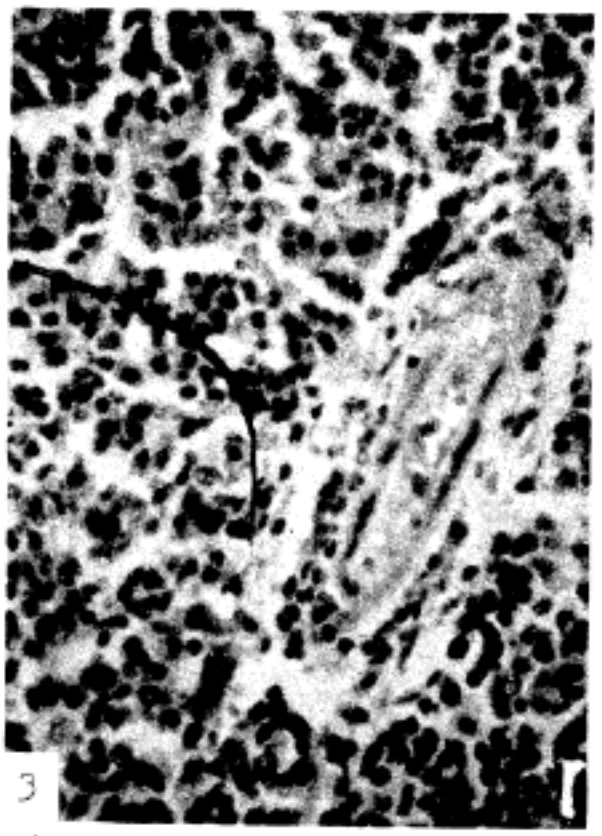

Fig. 3. One to 7 days after OK-432-treatment (0.1 KE/100g of body weight).
Most of the cells surrounding central arteriole are composed of plasma cells. (H&E, × 400)

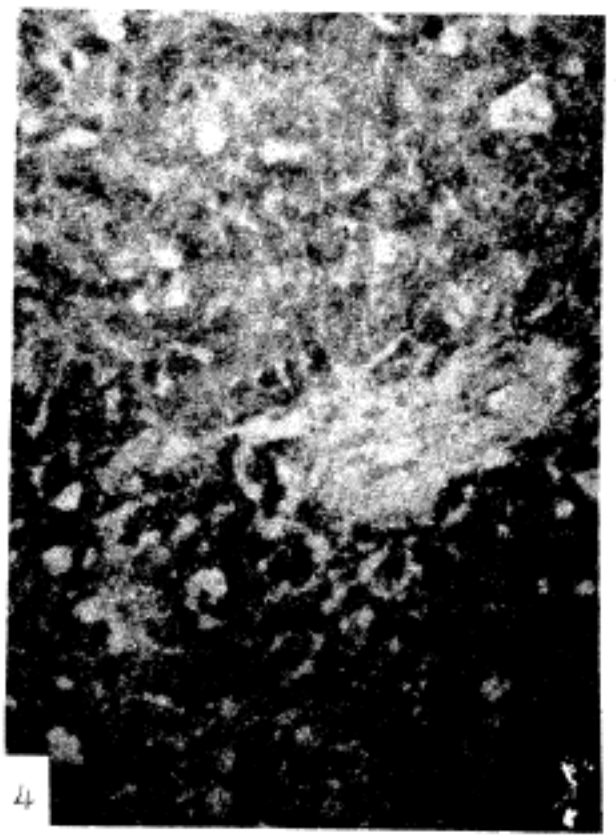

Fig. 4. Same experimental group as in Fig. 3.
Most of the cells surrounding central arteriole are pyroninophilic. (MGP stain, × 400)

ginal sinus) 및 모세혈관이 포함되어 있었다.

적수내에서는 다수의 조혈세포, 거대모세포 및 형질세포가 관찰되었고 적수동은 많은 적혈구를 함유하고 있었다.

2) OK—432 단독 투여군(제Ⅰ군) :

Ⅰ—A군(0.1KE/100g 투여군): 1일군에서는 대조군에 비해 비백수가 비대되어 있었으며, 백수내의 배아중심도 발달되어 있었다. 배아중심은 주로 망상세포로 구성되어 있었고, light zone과 dark zone은 경계가 분명치 않았으며, 망상세포 사이사이에는 tingible body macrophage(TBM) 즉 많은 탐식물질을 포함하고 있는 거식세포가 분포되어 있어 마치 starry-sky appearance를 정하고 있었다.

동파주위 임파구초를 이루는 세포들은 대조군에 비해 증식되어 있었고 특히 중심동맥에 인접한 세포들은 대부분이 소임파구이었다.

변연대는 주로 소임파구로 구성되어 있었으며 간혹 변연대세포도 관찰되었다.

한편 적수의 조직소견은 대조군과 유사하였다.

3일군의 비백수는 비대되어 있었으나 1일군에 비하여 배아중심이 뚜렷하지 않았으며 중심동맥 주위와 변독대에서는 다수의 형질세포침윤을 관찰할 수 있었다(부도 3).

5일군에서도 비백수의 비대는 관찰되었으나 배아중심은 뚜렷하지 않았으며, 단지 중심동맥 주위 임파구초가 다소 비대되어 있었다.

변연대와 적수에는 다수의 형질세포가 출현하였으며, 적수에서 거대모세포는 그 수가 1일, 3일군에 비해 다소 감소되는 경향이었다.

7일군에서는 무정형의 호산성 물질들이 변연대를 따라 침윤되어 있었으며, 중심동맥 주위 임파구초의 세포배열이 cord상으로 분포되어 있었으며, 특히 중심동맥에 인접된 세포들은 주로 형질세포와 조직구로 구성되어 있었다(부도 4).

비백수의 증식상과 배아중심이 뚜렷치 않은 것은 전술한 3일 및 5일군에서와 유사한 소견이었다.

10일군에서도 비백수의 비대를 볼 수 있었으나 역시 배아중심은 뚜렷치 않으므로 이는 중심동맥 주위 임파구초의 증식에 의한 것으로 생각되었다.

Ⅰ—B군(1일, 2일, 3일에 체중 100g당 0.1, 0.025및 0.05KE를 투여한 군): 1일군에서는 Ⅰ—A군에 비하여 비백수는 더욱 심히 비대되어 있었으며, 배아중심도 훨씬 뚜렷이 발달된 소견이었고, 배아중심은 주로 망상세포

Fig. 5. In the marginal zone, many histiocytes with active phagocytic function are evident by means of carbon injection. (H&E, × 100)

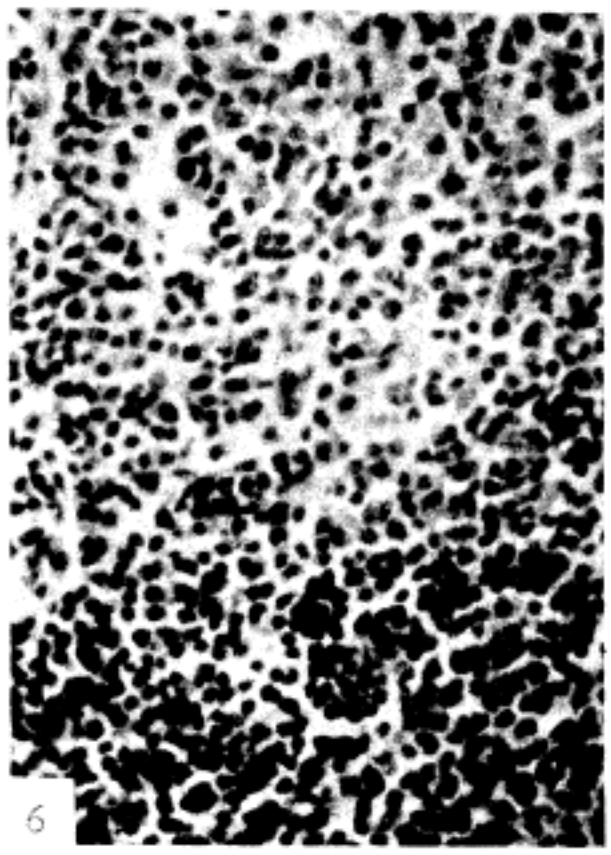

Fig. 6. One day after OK-432 treatment (0.1 KE/100g of body weight) following sheep erythrocyte treatment.
Germinal centers of the lymphoid follicle are prominent and the cells in the germinal center are reticular cells, lymphoblasts and histiocytes. (H&E, × 400)

와 TBM로 구성되어 있었다. 중심동맥 주위 임파구초도 역시 증식된 양상을 보였으며 그 구성세포는 주로 소임파구였다. 변연대에서는 많은 조직구의 증식을 볼 수 있었으며, 이들은 활발한 탐식능을 가지고 있었는데 이는 carbon을 주입한 조직표본에서 볼수 있었다(부도 5). 그러나 적수의 소견은 대조군이나 Ⅰ-A군과 유사하며, 다수의 거대 모세포와 조혈세포들이 관찰되었다.

3일군에서는 1일군에서와는 달리 배아중심은 뚜렷하지 않았으나 비백수의 비대는 관찰되며, 백수의 비대는 대부분 동맥 주위 임파구초를 이룬 소임파구의 증식에 의한 것임을 알 수 있었다.

또한 변연대에서는 많은 조직구들이 관찰되어 1일군에서와 유사한 소견이었고, 적수에서는 거대모세포의 수가 다소 감소된 것 이외에는 대조군과 유사한 소견이었다.

5일군에서는 현저한 비백수의 비대를 볼 수 있었으나 배아중심은 뚜렷하지 않았고, 변연대의 조직구 증식은 매우 저명하였으며 중심동맥 주위 임파구초에서는 소임파구 증식이 관찰되었다.

7일군에서도 비백수의 비대는 관찰되었으며 Ⅰ-A군에서와 달리 배아중심은 매우 뚜렷하게 발달된 양상이었다. 변연대에는 역시 탐식능을 갖는 조직구의 증식을 볼 수 있었다.

10일군에서는 더욱 저명한 비백수의 비대과 더불어 뚜렷한 배아중심이 관찰되었으며, 외투대와 변연대에서는 다수의 형질세포 침윤을 볼 수 있었고, 적수내에서도 많은 임파구의 침윤을 볼 수 있었으나 적수의 일부에서는 섬유화의 진행이 관찰되었다.

3) 면양 적혈구 투여후 5일에 OK-432를 투여한 군 (제Ⅱ군)

Ⅱ-A군 : 1일군에서는 제Ⅰ군에 비하여 더욱 잘 발달된 배아중심을 관찰할 수 있었으며, 배아중심은 망상세포, 임파아세포 및 다수의 탐식물질을 포함한 조직구로 구성되어 있었다(부도 6). 배아중심의 외투대와 변연대에서는 다수의 형질세포가 출현하고 있었다.

3일군에서도 1일군에서와 마찬가지로 뚜렷한 배아중심이 관찰되었으며 배아중심을 이루는 세포들에서 간혹 세포분열을 관찰할 수 있었다. Reticulin염색상 동맥

주위 임파구초에서는 섬세한 reticulin fiber의 분포를 볼 수 있었으며, 변연대를 이루는 세포는 대부분 형질세포였고, 일부 조직구가 관찰되었다.

5일군에서는 비백수와 비적수의 경계가 불명해졌으며, 비백수 주위에는 「비정형의」 호산성 물질의 침윤을 보이고, 변연대라고 생각되는 부위에서는 다수의 형질세포가 관찰되었다. Reticulin fibers는 백수와 적수에 다소 증가되고 굵어지는 양상을 보였다.

7일군에서는 비백수에서 배아중심만 잔존해 있고 나머지 부분은 비적수와 경계를 지울 수 없는 소견이었으며, 적수에는 많은 조직구와 거대모세포가 침윤되어 있었다.

또한 MGP염색상 다수의 호 pyronin성 세포질을 갖는 세포들이 적수에 출현하였다.

10일군에서는 배아중심도 찾아볼 수 없으며, 비백수와 적수의 경계는 더욱 불분명하게 되었으며, 임파아세포의 증식이 현저하였고, 이들은 거대모세포와 혼재되어 있었으며 다수의 호 pyronin성 세포들이 관찰되었다.

Ⅲ－B군 : 1일군에서는 Ⅱ－A군에 비하여 비백수의 비대와 뚜렷한 배아중심을 보였으며, 배아중심에서 조직구의 증식도 관찰되었다(부도 7). 중심동맥 주위의 세포들은 대부분 형질세포로 구성되어 있었고, 적수에서는 거대모세포를 볼 수 있었다.

MGP염색 소견에서 더욱 뚜렷한 배아중심을 관찰할 수 있었고, 배아중심을 이루는 세포들은 호 pyronin성 세포질을 포함하고 있었으며 부식물질을 함유하고 있는 조직구도 뚜렷히 나타났다(부도 8).

3일군에서는 비백수 비대는 1일군에 비하여 더욱 현저하였으나 배아중심은 1일군에서 처럼 뚜렷하지 않았다. 변연대에서는 형질세포와 거대 모세포가 관찰되었고, 적수에서도 거대모세포를 볼 수 있었다.

5일군에서도 비백수의 비대는 볼수 있었으나 3일군에서와 달리 배아중심이 다시 뚜렷해지는 것을 볼수 있었으며, 배아중심에는 조직구가 증식되어 starry-sky appearance를 보였다. 한편 중심동맥 주위의 세포들은 대부분 형질세포였으며 변연대에서도 다수의 형질세포가 관찰되었다. MGP염색상 배아중심 세포와 형질세포

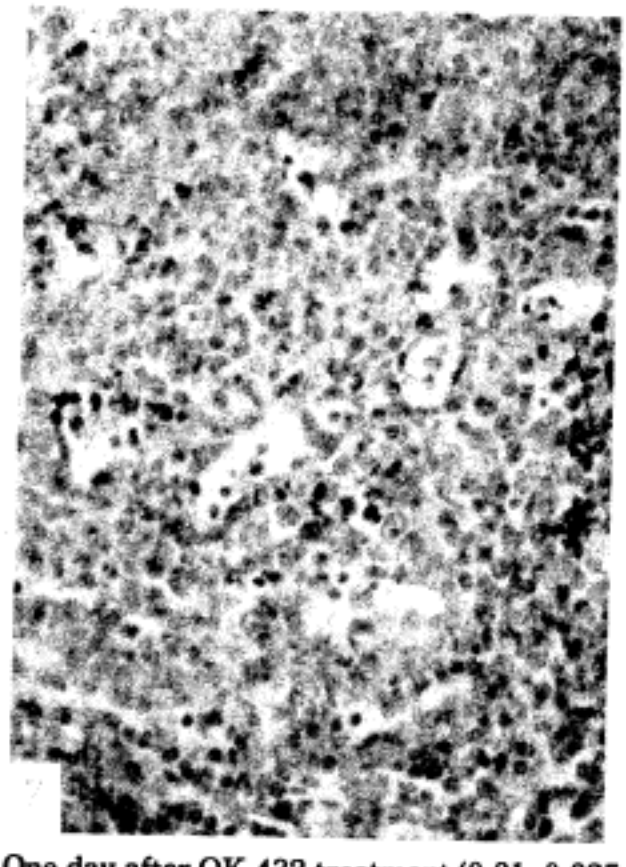

Fig. 7. One day after OK-432 treatment (0.01, 0.025 and 0.05 KE/100g of body eight for successive 3 days) following sheep erythrocyte treatment.
In the germinal center, many tingible body macrophages(TBM) and histiocytes are noted. (H&E, × 400)

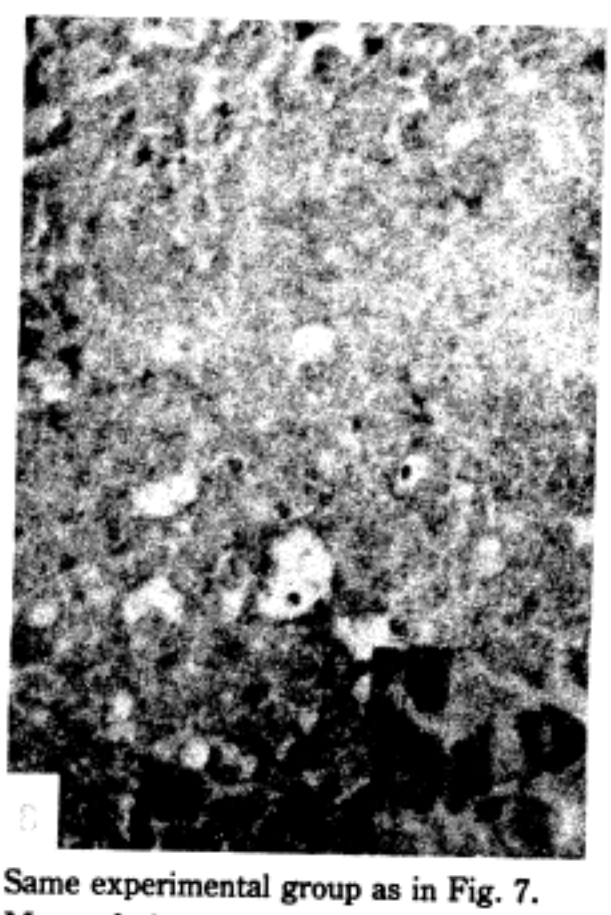

Fig. 8. Same experimental group as in Fig. 7.
Most of the cells in the germinal center are pyroninophilic. (MGP stain, × 400)
Inset: Higher magnification of pyroninophilic cells. (MGP stain, × 1,000)

들은 모두 호 pyronin성 세포질을 가지고 있었다.

7일군에서는 3일군에서와 비슷하게 현저한 비백수의 비대를 볼수 있었고, 배아중심은 뚜렷하였으며, 동맥주위 임파구초와 변연대에서는 다수의 형질세포를 볼 수 있었다.

10일군에서도 백수의 비대 및 배아중심의 발달등의 소견은 관찰되었고, 동맥주위 임파구초에서는 다수의 형질세포가 출현하였으며, 적수내에서도 많은 수의 임파구와 거대모세포 및 조혈세포들이 관찰되었다.

고 안

악성종양의 화학요법은 많은 항암제의 개발과 항암제의 상호병용, 그리고 방사선 조사나 외과적 요법과의 병용등에 의하여 큰 발전을 보게 되었다. 그러나 암세포만을 선택적으로 파괴시키는 약물은 아직까지도 개발되지 못하여 항암제의 정상세포에 대한 독성은 항상 문제시 되고 있다. 즉, 항암화학 요법제의 작용은 강도나 그 기전에 있어 정도의 차이는 있을지라도 대부분이 세포내 핵산의 합성 저해로 세포분열 및 단백합성을 억제하여 세포증식이 왕성한 종양세포에 강하게 작용[18-22]하나, 한편으로는 정상 조직 특히 재생 활동이 계속되는 조혈장기 및 단백합성이 왕성한 조직 등에 적지 않은 독성을 나타내고 있다. 따라서 근래에는 이들 항암요법제의 단점을 보완하기 위한 방법으로 면역 요법이 크게 발전되고 있다. 면역요법은 고도의 선택적인 작용에 의해 숙주의 방어기능을 항진시키거나 특정 세포와의 면역반응으로 인하여 종양세포의 증식을 억제 또는 파괴시키는데 목적을 두고 있으며[15,23-29], 일반적으로 면역요법의 기본원리는 특이적 또는 비특이적 면역반응에 의한 항암효과를 기대하는 것이다. BCG나 Corynebacterium parvum 등에 의한 요법은 비특이적 요법의 예로서 이들은 숙주의 저항력을 증진시켜 줌으로서 항암효과를 기대하는 것이며[30-34] 특이적 면역요법은 종양세포 또는 종양세포에서 얻은 단백질로 면역시켜 줌으로써 선택된 조직세포와의 면역반응에 의한 항암효과를 기대하는 것이다[35,36]. 그러나 헤아릴 수 없는 많은 종류의 종양마다 면역학적인 특이성을 가지고 있기 때문에 여기에도 많은 어려움이 있다.

본실험에 사용된 OK-432는 Streptococcus pyogenes Su 주 type 3를 배양 동결건조 처리시켜 얻은 생물제로서 일종의 비특이적 면역요법제라고 한다[1,2] 본 제제는 BCG에 비하여 투여방법이 용이하며[14], 골수기능억제에 따른 부작용등 타 화학요법제를 사용했을때 초래되는 부작용을 볼수 없다고 한다[3-8,14,37].

항원에 대한 비장의 반응은 항체를 가지고 있지 않은 개체에서는 비장 적수동이나 변연대에 있는 대식세포가 항원을 포획하여 비백수의 1차소포(primary follicle)로 이동하고, 몇일 후에 항체 생산 세포가 변연대와 적수로 이동하여 처음으로 항체를 생산한다고 한다[38]. 순환항체를 가지고 있는 경우에는 2차소포 즉 뚜렷한 배아중심을 가지고 있는 소포에 존재하는 수지상 세포에 의하여 항원이 포획되고 항체 생산세포는 항체생산이 가장 잘 되는 변연대와 적수로 이동하여 항체를 생산하며, 일부 항체는 이차소포 자체에서도 생산된다고 한다[38]. 이와같은 견지에서 볼 때 본 실험의 관찰 소견, 즉 면양 적혈구로 감작시킨 대조군에서 비교적 비백수가 비대되어 있고 비교적 잘 발달된 배아중심이 출현함은 Tizard[38]의 견해를 뒷받침하는 소견이 되겠다.

또한 본 실험에서 다수의 소임파구들이 비백수, 특히 중심동맥 주위로 부터 출현하여 변연대까지 나타나는 소견을 관찰할 수 있었다.

본 실험에서 OK-432를 반복 투여함으로써 변연대에서 많은 조직구의 증식을 보이고 배아중심에서도 TBM(tingible body macrophage)을 관찰할 수 있는바, OK-432의 작용 기전은 대내등[23]에 의하여 주장되고 있는 면역부활제인 BCG가 면역상승효과를 나타내는 기전과 동일할 것으로 생각된다. 즉 T임파구에서 생산되는 여러가지 lymphokine중 macrophage 유주저지인자(MIF)에 의해서 macrophage가 국소에 집적되며, 동시에 innocent bystander로 종양세포를 비특이적으로 파괴하고, 이는 macrophage에 대한 종양 특이항원의 처리로 인식되어 결국 종양 특이적 T임파구가 증식하고 그에 의해 종양세포의 특이적 파괴가 일어난다고 하며, 이 때 macrophage의 활성은 면역부활제의 직접 작용에 의하거나, lymphokine의 일종인 macrophage 활성인자(macrophage activating factor)를 중개함으로써 이루어진다고 한다. 활성화 macrophage와 종양세포가 접촉하면 macrophage의 2차 lysosome의 내용물이 exocytosis에 의해 종양세포내에 들어가게 되어 lysosome내의 가수분해 효소의 작용으로 종양세포의 비특이적인 파괴가 일어나면 종양 감작 임파구에서 생산된 macrophage 친화성 IgG(macrophage cytophilic IgG)라고 생각되는 특이적 macrophage 무장인자(specific mac-

rophage arming factor)에 의해 macrophage표면이 덮혀 특이적 세포상해성 macrophage(specific cytotoxic macrophage)가 되고, 이것은 종양세포의 막항원과 항원을 치환함으로서 종양세포와 결합하고 그 후에는 비특이적인 활성화 macrophage와 같은 기전으로 종양세포가 처리되는 것이라 한다.

본 실험에서 변연대에 조직구와 형질세포의 증식이 현저하고, 이러한 소견은 면양 적혈구로 감작시킨 후 OK-432를 투여한 군에서 뿐 아니라 면양 적혈구로 감작시키지 않고 OK-432를 반복 투여한 군에서도 관찰되는 것으로 보아, OK-432는 단순히 T임파구 중개하에 macrophage의 작용에 의한 세포 개재성 면역에만 관여하는 것이 아니고, 다수의 형질세포 증식을 통하여 면역 글로불린을 생산함으로써 체액성 면역에도 관여하는 것으로 사료된다. 이는 OK-432가 세포중개성 면역에만 관여하고 체액성 면역에는 전혀 관여치 않는다고 주장한 Okamoto등[1,2]의 견해와는 상반되나 항체생산을 촉진시키는 체액성 면역에도 관여한다고 주장한 Aoki등[8]의 견해와는 대체로 일치되는 견해라 하겠다.

경시적으로 관찰한 소견에서, 면양 적혈구로 감작시키지 않은 실험군에서는 변연대의 조직구 출현이 대체로 1일부터 관찰되었으나, 형질세포가 침윤되어 있으며 특히 OK-432를 반복 투여한 군에서는 시일이 경과할수록 많은 수의 형질세포 침윤이 관찰되었다.

이러한 소견에 의거하여 보면 OK-432는 세포개재성 면역 증진과 체액성 면역 증진에 모두 관여하지만 이들이 나타나는 시기는 약물의 투여방법이나 실험동물의 항원 노출 여부 등 여러가지 조건에 따라 차이가 있을 것으로 사료되나, 이들 상호간의 출현시기에 관한 것은 앞으로 추구해 볼 가치가 있는 것으로 생각된다.

한편 비백수의 임파소포내의 배아중심의 출현과 그 구성 세포를 관찰한 소견에서 면양 적혈구로 감작시킨 군에서는 비교적 명확한 배아중심을 볼 수 있고 그 구성세포들도 dark zone과 light zone으로 뚜렷이 구별된데 비하여, 감작시키지 않고 OK-432를 단회 투여한 군에서는 1일에는 뚜렷한 배아중심을 볼 수 있으며 그 구성세포도 망상세포와 TBM이었으나 3일부터는 그 경계가 불명확하고 대부분 중등도 크기의 임파구, 임파아세포, 소임파구 그리고 호 pyronin성 세포질을 갖는 세포들로 구성되어 있었다. 이러한 호 pyronin성 세포질을 갖는 세포가 출현한 후 변연대와 동맥 주위 임파구초에서는 다수의 호 pyronin성 세포질을 갖는 형질세포의 침윤을 볼 수 있어서, 비백수 임파소포에서 보이는 pyronin 호성 세포가 형질세포로 이행하였을 가능성을 생각할 수 있으며 이는 Tizard[38]가 주장한 바 있는 일부의 항체생산이 이차소포에서 이루어 진다는 설과도 관계 지을 수 있는 것이라 하겠다.

그리고 실험군 중 5일 이후, 즉 비교적 후기에 변연대와 비백수주위에 비정형 호산성 물질의 침윤을 관찰할 수 있는 바 이는 변연대에 있는 망상 섬유들의 변성에 기인하리라 생각되나 이러한 소견이 면역 기전과 어떠한 관련이 있는지는 더욱 연구해 보아야 할 과제라 하겠다.

결 론

Immunopotentiator의 일종인 OK-432(Picibanil)가 마우스 비장의 조직학적 변화에 미치는 영향을 토대로 면역 기능에 관여하는 기전을 추구하기 위해 면양적혈구로 감작시킨 군과 시키지 않은 군에 각각 체중 100g당 OK-432 0.1KE를 단회, 또는 1,2,3일에 각각 0.01, 0.025 및 0.05KE를 미정맥내로 주입한 후 1일, 3일, 5일, 7일 및 10일에 비장을 적출하여 H-E. methylgreen-pyronin(MGP) 및 reticulin 염색을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1) 비백수의 동맥주위 임파구초는 대조군에 비해 OK-432 투여군에서 전반적으로 증식되어 있었으며 특히 3회 반복 투여한 군에서 더욱 현저하였고, 그 구성세포는 주로 소임파구였던 것이(중심동맥에 인접된 부위의 세포들로 부터) 점차 형질세포로 대치되는 소견이었다.

2) 비백수의 배아중심은 OK-432 단독 투여 군에서 1일에는 뚜렷하였다가 3일 이후에는 불명확해지며 그 구성세포도 망상세포와 tingible body macrophage이었던 것이 중등도 크기의 임파구, 임파아세포, 소임파구 및 Pyronin 호성 세포들로 대치되는 것을 볼수 있으며, OK-432 반복투여군에서는 배아중심이 3일에 다소 불분명해졌다가 5일부터 다시 뚜렷해졌으며 다수의 Pyronin 호성 세포로 구성되어 있었다.

3) 변연대의 구성세포는 특히 OK-432 반복투여군에서 다수의 조직구와 형질세포였다.

4) 비적수는 대조군과 실험군사이에 뚜렷한 변화를 찾아볼 수 없었다.

이상의 결과를 종합해 보면 OK-432는 비백수중, T임

과구 영역으로 알려진 동과주위 임과구초 뿐만 아니라 B임과구 영역인 임과소포의 배아중심과 변연대에도 영향을 미쳐서 세포개재성 면역뿐 아니라 체액성 면역에도 관여함을 알수 있었다.

REFERENCES

1) Okamato H, Shoin S, Koshimura S, and Shimizu R: *Studies on the anticancer and streptolysin S-forming abilities of hemolytic streptococci. Jap J Microbiol 11:323, 1967*
2) Okamoto H: *Uber die hochgradige Steingerung des Haemolysinbildungsvermogens des Streptococcus haemolyticus durch Nuckleinsaure. Jap J Med Sci IV, Pharmacology, 12:167, 1940*
3) Kimura I, Kitajima K, Onoshi T, et al: *Effect of Streptococcal preparation on leukemia. Med Treat 5:131, 1972 (in Japanese)*
4) Yasuhara S, Kimura I, Onoshi T, Sugiyama M and Watanabe T: *Antitumor activity of peritoneal exudate cells of the mouse administered with OK-432. Med Biol 89:375, 1974 (in Japanese)*
5) Kimura I: *Combination therapy with anticancer agent and streptococcal preparation. Saishin-igaku 28:941, 1973 (in Japanese)*
6) Kimura I, Onoshi T, Yasuhara S, Watanabe T, Sugiyama M and Hiraki K: *Studies on the host-mediated action of the streptococcal preparation, OK-432, in cancer chemotherapy. Act Med Okayama 28:423, 1974*
7) Kimura I, Onoshi T, Takano J, et al: *Combination chemotherapy with anticancer agents and PC-B-45. Jap J Cancer Clinics 18:886, 1972 (in Japanese)*
8) Aoki T, Kvedar J, Kudo T, Plata E, Sendo F and Hollis V: *Enhancement of host immune response to cell surface antigens by the extract of streptococcus hemolyticus. VIth International Symposium on Comparative Leukemia Research 66, 1973*
9) 河大有, 李正鎬：緬羊赤血球 感作量이 mice의 遲延性 過敏反應과 抗體生産에 미치는 影響. 全北醫大 論文集 *3:95, 1979*
10) Garvey JS, Cremer NE and Sussdorf DH: *Methods in immunology, A laboratory text for instruction and research, 3rd ed, WA Benjamin Inc, p 443, 1980*
11) Ford WL: *The Preparation and labelling of lymphocytes, In Weir, DM Ed, Handbook of experimental immunology, 3rd ed, Blackwell scientific Publications, Oxford, Section 23: 1, 1979*
12) Kurnick NB: *Pyronin Y in the methyl-green pyronin histological stain Stain Technol 30:213, 1955*
13) Gridley MF: *A modification of the silver impregnation method of staining reticular fibers. Am J Clin Patho 21:897, 1951*
14) Kimura I, Ohnoshi T, Yasuhara S, Sugiyama M, Urabe Y, Fujii M and Machida KI: *Immunochemotherapy in human lung cancer using the streptococcal agent OK-432. Cancer 37:2201, 1976*
15) Ishii Y, Yamaoka H, Toh K and Kikuchi K: *Inhibition of tumor growth in vivo and in vitro by macrophages from rats treated with a streptococcal preparation, OK-432 Gann 67:115, 1976*
16) 小川一誠, 後藤達彦, 太田和雄：ヒシバニルの抗腫瘍作用に關しての 臨床的 研究. 癌の臨床 *22:735, 1976*
17) 星野孝, 内田温士, 高縞隆幸, 堀内徹郎, 高島昭佳, 中山志郎：癌の免疫刺激剤にある免疫療法. 臨床免疫 *5:1105, 1976*
18) Sladex NE: *Evidence for an aldehyde possessing alkylating activity as the primary metabolite of cyclophosphamide. Cancer Res 33:651, 1973*
19) Werkheiser WC: *Specific binding of 4-aminofolic acid analogues by folic acid reductase. J Biol Chem 236:888, 1961*
20) Bortine JR: *Folate antagonists, antineoplastic and immunosuppressive agents, In Sartorelli; AC and Johns DC ed, Handbook of experimental phamacology, Vol 38, part 2, Springer-verlag, p 468, 1974*
21) Sartorelli AC and Creasey WA: *Cancer chemotherapy. Ann Rev Pharmacol 14:157, 1974*
22) Caeter SK and Slavik M: *Chemotherapy of cancer. Ann Rev Pharmacol 14:157, 1974*
23) 大内 榮悅, 佐藤 讓, 渡部 茂, 野村暢郎, 清治邦夫, 熊谷勝男：Immunopotentiator の リンパ網内系 機能 に及ほす 役響 (I). 日本網内系學會誌 18：121, 1678.
24) Morton DL, Eilber FR, Malmgren RA and Wood WL: *Immunological factors which influence response to im-*

munotherapy in malignant melanoma. Surgery 68:158, 1970

25) Oettegen HF, Pinsky CM and Delmonte L: *Treatment of cancer with immunomodulator. Med Clin N Am 60:511, 1976*

26) Hoebeke J and Franchi G: *Influence of tetramisole and its optical isomers on the mononuclear phagocytic system. Effect on carbon clearance in mice. J Reticuloendothelial Soc 14:317, 1973*

27) Alexander P: *The function of the macrophages in malignant disease. Ann Rev Med 27:207, 1976*

28) Hibbs JB Jr: *Role of activated macrophages in nonspecific resistance to neoplasia. J Reticuloendothelial Soc 20:223, 1976*

29) Goodnight JE Jr and Morton DL: *Immunotherapy for malignant disease. Ann Rev Med 29:231, 1978*

30) Nathanson L: *Use of BCG in the treatment of human neoplasms: a review, Semin. Oncol 1:337, 1974*

31) Nocol T, McKelvie P and Druce CG: *Phogocytic activity of the reticuloendothelial system. Effect of BCG, Nature 190:418, 1961*

32) Woodruff MFA, Dunbar N and Chaffer A: *The growth of tumors in T-cell deprived mice and their response to treatment with corynebacterium parvum. Proc Roy Soc London Ser B 184:97, 1973*

33) Prevot AR, Levaditi JC and Nazimoff O: *Circonstances dapparition et evolution de la reticulose plasmodiale qui caracterise certaines formed de la corynebacteriase experimentale du lapin. Ann Inst Pasteur 94:405, 1958*

34) Halpern BN, Prevot AR and Biozzi C: *Stimulation de la activite phagocytaire du systeme reticuloendothelial provoques par Corynebacterium Parvum. J Reticuloendothel Soc 1:77, 1964*

35) Morton DC: *Horizons in tumor immunology. Surgery 74:69, 1973*

36) Wright PW, Hellstrom KE, Hellstrom I and Bernstein ID: *Serotherapy of malignant disease. Med Clin N Am 60:607, 1976*

37) Kurokawa T, Hattori T et al: *Clinical experience with PC-B-45. Jap J Cancer Clinics 15:1056, 1969*

38) Tizard IR: *An introduction to verterinary immunology. WB Saunder Co, 1977, p 51-68*

= **Abstract** =

Effects of Immunopotentiator (OK-432) on the Histological Changes of the Spleen

Hye Soo Lee, M.D., **Shin Woong Lee**, M.D. and **Ho Yeul Choi**, M.D.

Department of Pathology, College of Medicine Jeonbug National University

To investigate the mechanism of function of the OK-432 as a immunopotentiator, morphological studies of the spleen was carried out.

OK-432 was administered by intravenous injection in single (0.1 KE/100g of body weight) or sequential (0.01, 0.025, and 0.05 KE/100g of body weight for successive 3 days) doses to sensitized with sheep red blood cell (SRBC) and nonsensitized mice. One, 3, 5, 7 and 10 days after OK-432 administration, histological examination was performed by H&E, methylgreen-pyronin(MGP), and reticulin stains.

1) In OK-432 administered group, especially in sequentially administered group, proliferation of periarteriolar lymphatic sheath with altered cellular composition from small lymphocytes to plasma cells were prominent.

2) In groups with single administration of OK-432, germinal center of the secondary lymphoid follicle was distinct in 1st day, but becomes indistinct in 3rd day, and reticular cells and tingible body macrophages(TBM) of the secondary follicle were replaced by small- and medium-sized lymphocytes, lymphoblasts and pyroninophilic cells. In the sequential doses of OK-432 administered group, germinal center composed of pyroninophilic cells was indistinct at 3rd day, but became distinct after 5 days.

3) In sequentially group, large numbers of histiocytes and plasma cells were in the marginal zone of the white pulp.

4) Splenic red pulp was not altered morphologically in experimental groups.

These results showed that OK-432 affected not only the periarteriolar lymphatic sheath, but the germinal center of the secondary lymphoid follicle and marginal zone. It suggests that OK-432 may be related to humoral immunity as well as to cell-mediated immunity.