

## Guinea pig의 알레르기성 접촉 피부염에서 Lectin 변동에 관한 면역 조직화학적 연구

고려대학교 의과대학 부속병원 병리과 및 피부과\*

한정호 · 남은숙 · 계영철\* · 김한겸 · 백승룡

### A Study of Lectin Histochemistry in Allergic Contact Dermatitis of Guinea Pig

Joungho Han, M.D., Eun Sook Nam, M.D., Young Chul Kye, M.D.\*

Han Kyeom Kim, M.D., and Seung Yong Paik, M.D.

*Department of Pathology and Dermatology\*, Korea University Hospital*

The alterations in the localization of keratinocyte membrane glycoconjugates in allergic contact dermatitis were investigated in guinea pig skin treated with topical application of 2,4-dinitro-chlorobenzene. We employed the avidin-biotin complex(ABC) method for the detection of localization of 10 commercially available lectins labelled with biotin: Con-A, SBA, WGA, DBA, UEA-1, RCA-1, PNA, HP, MPA, and ECA. Staining with WGA showed a remarkably decreased intensity in basal and spinous layers of the allergic skin in comparison to those of the control skin, suggesting loss of terminal sialic acids in cell membrane glycoconjugates. The other lectins showed no remarkable difference in the staining patterns between the normal and the allergic skin. The results suggest that epidermal cell membrane glycoconjugates undergoes selective perturbations in acute allergic contact dermatitis, and that the keratinocytes might be an active part of the cutaneous immune system.

**Key Words:** Allergic contact dermatitis, Lectin, Epidermis

#### 서 론

인체를 구성하는 모든 세포의 세포막은 특징적인 탄수화물기를 가지고 있으며, 세포의 외부에 노출되어 있는 탄수화물기는 단백질 또는 인지질과 결합하여 배당체(glycoconjugate)를 이루고 세포의 정상적인 성장과 분화, 수용체 기능 및 외부환경과의 상호작용에 중요한 역할을 한다는 것을 잘 알려진 사실이다<sup>1-4)</sup>.

그러나 이들에 대한 분자생물화학적 연구는 실험방법의 제약으로 아직 미비한 단계이다<sup>3,5)</sup>.

근래에 식물계 및 하등동물의 추출물로서 세포막의 특정 탄수화물기와 특이하게 결합하는 여러 lectin<sup>6,7)</sup>들이 발견된 이후 이 lectin들을 세포막 및 조직학적 구조상 glycosyl moieties의 여러 상이한 형을 검사하는 수단으로 이용하여 발생학적 고찰<sup>1,3,8)</sup>, 정상조직 및 백혈구등의 표식자<sup>2,4,6,8)</sup>, 건선<sup>10-12)</sup>, 종양조직<sup>10,13-15)</sup> 등에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔다. 방법으로는 형광물질인 fluorescein isothiocyanate와 결합시키거나<sup>16)</sup> horse-radish peroxidase<sup>17)</sup>에 결합시켜 발색반응을 관찰하기도 하는데 근래에는 avidin-bio-

접 수 : 1990년 11월 22일, 게재승인 : 1991년 4월 27일  
주 소 : 서울시 성북구 안암동 5가 126-1번지, 우편번호 : 136-750  
고려대학교 부속병원 병리과, 김 한 겸

tin complex(ABC) 방법<sup>18,19)</sup>이 결과의 우수성으로 많이 사용되고 있다.

최근까지 피부면역반응의 조절에 있어서 표피의 역할에 대하여 많은 이해와 진보가 있어 왔는데, 피부조직의 가장 중요한 기능 하나는 피부가 단순히 면역매개성 손상의 피동적 목표물이 아니라 중요한 면역장기로서 역할을 한다는 사실이 알려지게 되었다<sup>20,22)</sup>. 표피는 주로 각질세포로 구성되어 있으며 소수의 Langerhans 세포와 함께 면역매개성 피부질환에 중요한 역할을 한다<sup>21,22)</sup>. 즉 각질세포는 지연성 과민반응이나 알레르기성 접촉피부염등에서 표피세포 기원성 흉선림프구 촉진인자(Epidermal cell-derived thymocyte-activating factor, ETAF)와 같은 면역조절성 cytokine들을 분비하거나 Ia 항원을 표현하며, 이들의 피부염증을 강화시키는 것으로 보여진다.

본 논문은 알레르기성 접촉피부염의 진행에 따른 상피세포 표면배당체의 변화를 보기위하여 2,4-dinitrochlorobenzene(DNCB)<sup>23)</sup>을 사용하여 guinea pig에 실험적으로 알레르기성 접촉피부염을 발생시킨 후 ABC법을 사용하여 각질세포의 세포막의 탄수화물기와 lectin 결합양상을 관찰 함으로써 알레르기성 접촉

피부염의 발생기전을 확인하고자 본 실험을 시행하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

1) 조직: 체중 250 mg 내외의 guinea pig 5 마리를 사용하여 좌측 배부 3곳에 실험적으로 알레르기성 접촉 피부염을 유발시킨 후 12시간에 생검한 5개의 피부조직을 1군, 24시간에 생검한 5개의 피부조직을 2군, 48시간에 생검한 5개의 피부조직을 3군, 72시간에 생검한 5개의 피부조직을 4군으로하여 이를 실험 대상으로 하였으며, DNCB로 처리하지 않은 3마리의 정상 guinea pig의 좌측 배부에서 각 실험군에서 시행한 실험부위와 동일한 부위에서 생검한 9개의 피부조직을 대조군으로 하였다. 얻어진 조직절편은 10% 포르말린 용액에 고정하고 파라핀 포매하였다.

2) Lectins: Concanavalin-A(Con-A), soybean agglutinin(SBA), wheat germ agglutinin(WGA), Dolichos biflorus agglutinin(DBA), Ulex europaeus agglutinin I(UEA-I), Ricinus

Table 1. Sugar specificity of Lectins used in this study

Lectin	Sygar specificity
Wheat germ agglutinin (WGA)	( $\beta$ -N-acetyl galactosaminyl)n Sialic acid
Ricinus communis agglutinin I (RCAI)	D-galactosyl-
Concanavalin A (Con-A)	$\alpha$ -D-mannosyl-
	$\alpha$ -D-glucosyl-
Peanut agglutinin (PNA)	$\beta$ -D-gal-(1.3)-D-gal NAC.
	$\beta$ -D-galactosyl-
Ulex europaeus agglutinin (UEA I)	L-fucosyl-
	Blood Group O (H)
Dolichos biflorus agglutinin (DBA)	N-acetyl galactosaminyl-
	Blood Group A
Soybean ternata agglutinin (SBA)	N-acetyl galactosaminyl-
Helix pomatia agglutinin (HPA)	N-acetyl-D-galactosamine
	N-acetyl-D-glucosamine
	Blood Group A
Maclura pomifera agglutinin (MPA)	methyl $\alpha$ -D-mannopyranoside
	D(+)-melibiose
	N-acetyl-D-galactosamine
Erythrina cristagalli agglutinin (ECA)	Unknown

communis agglutinin I(RCA-I), peanut agglutinin(PNA), Helix pomatia agglutinin(HP), Maclura pomifera agglutinin(MPA) 및 Erythrina cristagalli agglutinin(ECA) 등 10종의 lectin에 관한 Vectastain ABC kit(Vector Lab., Inc., Burlingame, California, U.S.A.)를 사용하였다. 각 lectin의 특성은 Table 1에 요약하였다.

## 2. 방법

1) 알레르기성 접촉 피부염 유발: 5마리의 guinea pig에서 털을 제거한 후 우측배부에 0.3% DNCB 0.5 ml를 직경 1 inch pad에 점적한후 hypoallergic tape를 이용하여 6시간 closed patch를 시행하여 감작시켰다. 2주 후 좌측 3배부에 0.05% DNCB로 감작시와 같은 방법으로 closed patch를 시행하였다.

2) 염색방법: 파라핀 포매블럭을 5~6 micron의 두께로 박절하고, 56°C에서 30분간 처리후 xylol로 3회 2분씩 처리하여, 탈 파라핀 후 등급 알코올로 함수시킨 다음, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-methanol액으로 내인성 과산화수소의 활성을 차단시켰다. Phosphate saline buffer, pH 7.4(PBS)용액으로 15분간씩 2회 처리하여 실험 조건으로 만든 후, 습윤상자에 옮겨 실온에서 biotin이 결합된 각 lectin으로 90분간 재세척하였다. PBS 용액으로 15분간 3회 세척 후, biotinylated peroxidase와 avidin 복합체 용액으로 30분간 반응시키고, Tris 완충 용액으로 5분간 세척한후 3'-3'-diaminobenzidine 용액으로 발색시킨 후 Meyer hematoxylin으로 대조염색하였다. 또 다른 각각의 절편에서 hematoxylin-eosin 염색을 시행하였다.

3) 현미경적 관찰: 상기 benzidin으로 발색한 조직 표본을 광학현미경 하에서 관찰하여 담갈색의 반응을 보이는 경우 양성반응으로 판독하였다. 양성반응은 그 반응형태에 따라 세포막에 대한 반응과 세포질의 과립에 관한 반응으로 구별할 수 있었으며, 조직에서의 표피세포층을 기저세포층, 유극세포층, 과립세포층 및 각질층으로 대별하여 세포막의 표면이나 세포질에 담갈색을 보인경우 lectin 결합 반응으로 판정하였다.

## 결 과

### 1. 표피 관찰 소견

개체에 따른 차이는 없었고, 실험부위 모두에서 경

질화된 홍반 및 부종을 관찰할 수 있었다. 시간이 경과함에 따라 경결만이 심하여 졌다.

### 2. 광학 현미경적 소견

알레르기성 접촉 피부염이 발생된 부위에서 채취한 조직의 병리조직검사는 개체에 따라 조금씩 차이를 보였지만 일반적으로 다음과 같았다.

I 군: 표피의 변화는 거의 없었으며, 진피에서 혈관 주위로 소수의 단핵구의 침윤을 관찰할 수 있었다.

II 군: 표피 상층에서 호중구의 침윤을 보이는 가피가 관찰되었고, 진피의 염증세포는 대다수가 호중구였으며, 소수의 호산구, 림프구, 및 조직구의 침윤도 간혹 볼 수 있었다.

III 군: 표피의 각질층의 이상 각화증, 기저층의 공포화 현상 및 유사분열이 관찰되었다(Fig. 1). 진피소견으로 부종, 혈관 확장 및 호중구가 관찰되었으며, II 군에 비하여 침윤된 호중구의 수는 감소한 반면 림프구, 조직구의 상대적인 증가가 관찰되었다.

IV 군: 표피에서는 유극세포층 이외에는 특이 소견 없었으나 간혹 기저층에서 공포화 현상이 관찰되기도 하였다. 진피소견으로 III군 보다 심한 혈관확장 및 부종을 보였으나, III군에 비하여 전체적으로 염증세포의 침윤은 감소되었다. 침윤세포는 림프구와 조직구가 대부분이었으며 소수의 호중구와 호산구의 침윤도 관찰되었다.

### 3. Lectin 염색 양상

실험군에서는 시간의 경과와 염증반응 정도에 따라

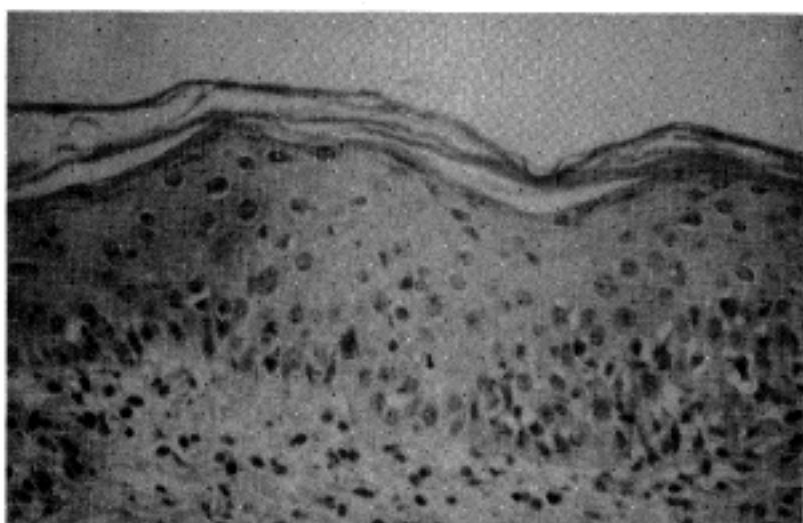


Fig. 1. Epidermis in group 3(48 hours) shows vacuolization and mitoses of basal layer and neutrophilic migration

**Table 2-1.** Lectin immunohistologic reaction in normal epidermis and allergic contact dermatitis in time sequence

		Lectin				
		EC	MP	UEA-I	PNA	RCA-I
Control (9)	Basal	-/+	++	-	-	-
	Spinous	-/+	++	-	-	-/+
	Granular	+	++	-/+	+	+
	Cornified	-/+	++	-/+	-/+	-/+
G 1 (5)	Basal	-	++	-	-	-/+
	Spinous	-/+	++	-	-	-/+
	Granular	+	++	+	+	++
	Cornified	-/+	++	-/+	-/+	+
G 2 (5)	Basal	-	++	-	-	-/+
	Spinous	-/+	++	-	-	-/+
	Granular	+ / + +	++	+	+	++
	Cornified	-/+	++	-/+	-/+	+
G 3 (5)	Basal	-	++	-	-	-/+
	Spinous	-/+	++	-/+	-	-/+
	Granular	+ / + +	++	+	+	++
	Cornified	-/+	++	-/+	-/+	+
G 4 (5)	Basal	-	++	-	-	-/+
	Spinous	-/+	++	-/+	-	-/+
	Granular	+	++	+	+	++
	Cornified	-/+	++	-/+	-/+	+

( ) : number of case, G: group, EC: Erythrina cristagalli agglutinin, MP: Macula pomifera agglutinin, UEA: Ulex europaeus agglutinin, PNA: peanut agglutinin, RCA: Ricinus communis agglutinin

Lectin 결합반응이 다소간의 차이를 보였으나 대조군에서의 반응양상의 차이는 거의 관찰하기 힘들었다. 이들의 반응 양상은 Table 2에 요약하였다.

**1) EC:** 실험군과 대조군 사이에서의 커다란 차이는 보이지 않았으며, 기저층에서는 음성이었으나, 유극세포층과 각질층에서는 때때로 약하게 염색되었고, 과립층에서는 강한 세포막 염색성을 보였고 약하게 세포질과 핵주변의 과립에 염색되었다.

**2) MP:** 실험군과 대조군 모두에서 세포막에 강한 양성 반응을 보였고 과립층의 과립에도 양성 반응을 보였다(Fig. 2).

**3) UEA-I:** 염증 반응의 정도에 따라 약간의 염색성의 차이는 관찰되었으나 실험군과 대조군에서의 차

이는 찾아볼 수 없었다. 주로 과립층의 세포막과 과립에서 양성반응이 관찰되었고, 기저층, 유극세포층 및 각질층에서는 약하게 염색되거나 음성이었다(Fig. 3).

**4) PNA:** 실험군과 대조군 모두에서 기저층과 유극세포층에서는 음성이었으나, 과립층의 세포막에 양성을 보였다.

**5) RCA-I:** 실험군과 대조군 모두에서 세포막에 양성 반응을 보였으나, 과립층에서 가장 진하게 염색되었다.

**6) Con A:** 염증반응에 약간의 차이는 있었으나 모든 조직에서 세포막과 과립에 강한 염색성을 보여주었다(Fig. 4).

**7) WGA:** 대조군과 실험군에서 염증반응의 정도에

Table 2-2. (Continue from table 2-1)

Group	Layer	Lectin				
		WGA	Con-A	HPA	DBA	SBA
Control (9)	Basal	++	++	-/+	-	-
	Spinous	+	++	-/+	-	-
	Granular	-/+	++	-/+	-	-
	Cornified	-	++	-/+	-	-
G 1 (5)	Basal	++	++	-/+	-	-
	Spinous	+	++	-/+	-	-
	Granular	+	++	-/+	-	-
	Cornified	-/+	++	-/+	-	-
G 2 (5)	Basal	++	++	-/+	-	-
	Spinous	+	++	-/+	-	-
	Granular	+	++	-/+	-	-
	Cornified	-/+	++	-/+	-	-
G 3 (5)	Basal	-/+	++	-/+	-	-
	Spinous	+	++	-/+	-	-
	Granular	+	++	-/+	-	-
	Cornified	-/+	++	-/+	-	-
G 4 (5)	Basal	-	++	-/+	-	-
	Spinous	-/+	++	-/+	-	-
	Granular	+	++	-/+	-	-
	Cornified	-/+	++	-/+	-	-

( ) : Number of case, G; Group, WGA:wheat germ agglutinin, Con-A: concanavalin A, HPA: Helix pomatia agglutinin, DBA: Dolichos biflorus agglutinin, SBA: Soybean ternata agglutinin

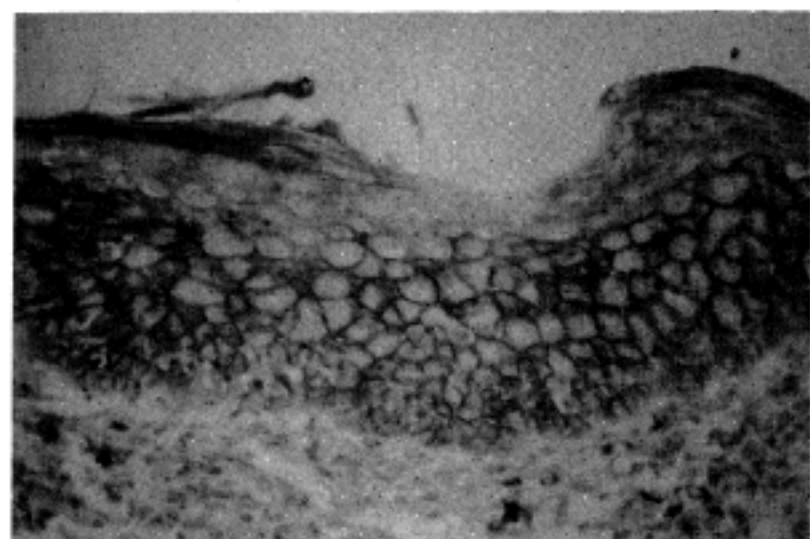


Fig. 2. Immunohistochemical stain for MP showing positive membrane staining in whole layers (ABC stain).

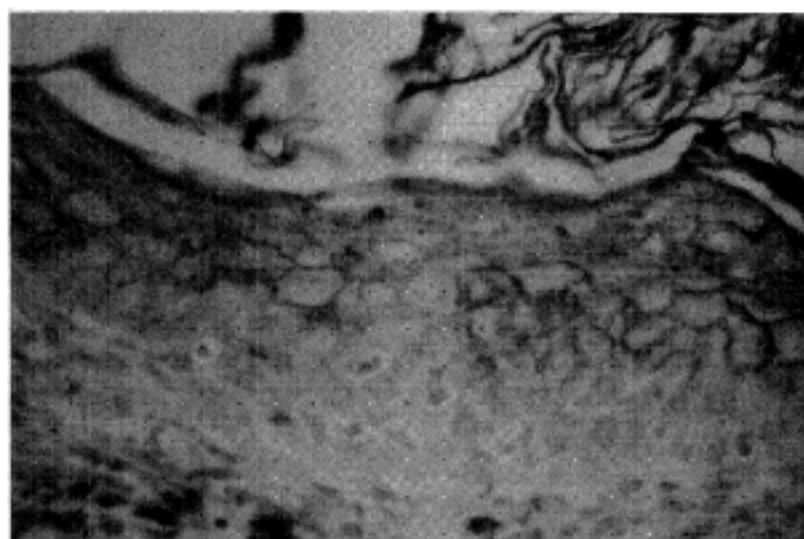


Fig. 3. Immunohistochemical stain for UEA-I showing positive membrane staining in granular layer (ABC stain).

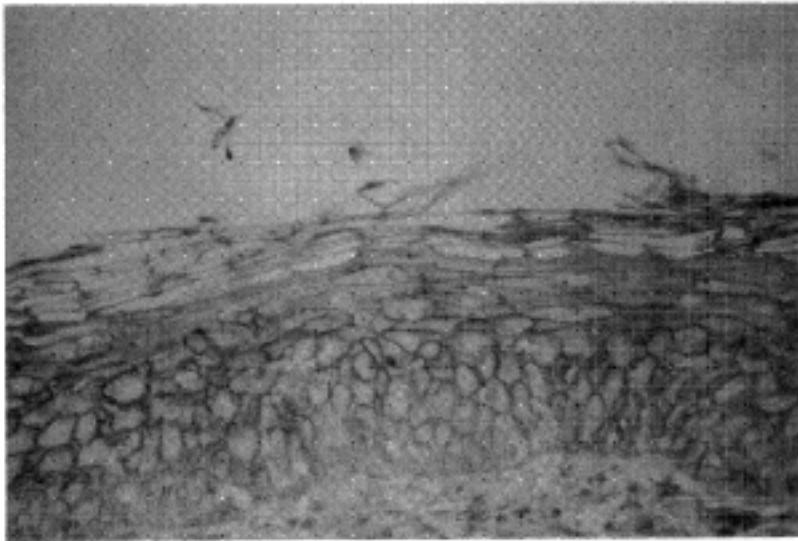


Fig. 4. Immunohistochemical stain for Con-A showing positive reaction of whole layers(ABC stain).

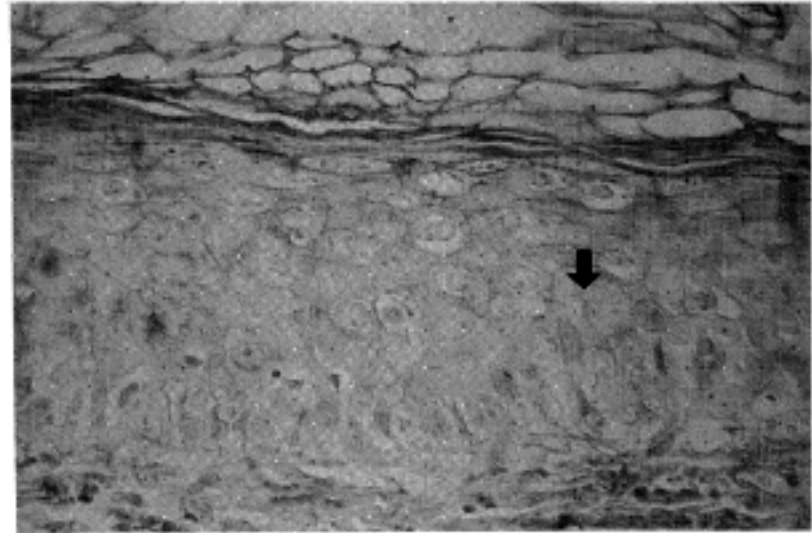


Fig. 6. Immunohistochemical staining for WGA in group 4(72 hours) showing negative staining in basal and spinous layer(arrow, ABC stain).

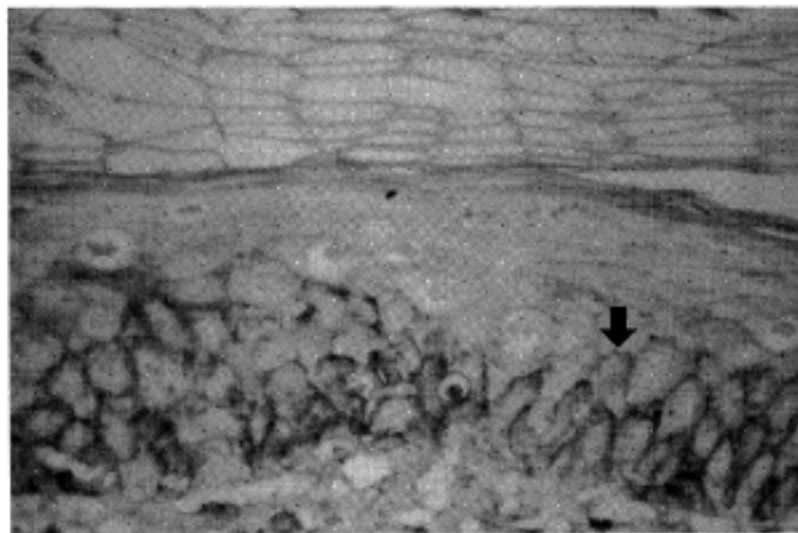


Fig. 5. Immunohistochemical stain for WGA in group 1(12 hours) showing prominent membrane staining in basal and spinous layer(arrow, ABC stain).

따라 많은 차이를 보였다. 대조군과 1군에서는 기저층과 유극세포층에서 양성이었으며 과립층에서는 약하게 염색되었다(Fig. 5). 그러나 3군과 4군에서는 대조군과 1군에 비해 기저층과 유극세포층에서 뚜렷한 염색성의 감소가 모든 조직에서 관찰되었다(Fig. 6).

8) HPA: 대조군과 실험군 모두에서 모든층에 약하게 염색되었다.

9) DBA: 대조군과 실험군 모두에서 음성반응을 보였다.

10) SBA: 대조군과 실험군 모두에서 음성반응을 보였다.

### 고 안

최근까지 피부면역반응의 조절에 있어서 표피의 역할에 관한 많은 이해와 진보가 있어왔으며, 피부조직의 가장 중요한 기능 중 하나는 피부가 단순히 면역매개성 손상에 대한 피동적인 목표물이 아니라 능동적인 면역기관으로서의 역할을 한다는 사실이 알려졌다<sup>20</sup>. 즉 각질세포, Langerhans 세포, epidermotrophic T-림프구 및 주변림프절등이 표피 연관성 림프조직 (skin associated lymphoid tissue, SALT)을 이루면서 피부면역반응을 매개하는 총체적인 조절기관으로 알려졌다<sup>20</sup>. 세포매개성 면역반응은 주로 림프구에 의하여 2가지 방법으로 진행된다. 즉 림프구의 직접적인 작용과 수용성 림프구기원인자 즉 lymphokine에 의하여 이루어 지는데, 전자는 T세포 매개 세포독성 (lymphocyte-dependent cytotoxicity)에 국한되어 나타나고 주로 후자의 역할이 염증반응의 대부분을 차지한다<sup>30~37,39</sup>.

표피의 대부분을 차지하는 각질세포는 골수에서 기원한 Langerhans 세포(2 to 8 percent)와 함께 면역매개성 피부손상에 중요한 역할을 한다<sup>20,22,38</sup>. Langerhans 세포는 면역반응 연관항원(Ia 또는 HLA-DR항원)을 표현하고, Fc와 C<sub>3</sub> 수용체 및 Mac-1, Mac-2와 Mac-3 항원을 표현하며, 항원특이적 T-림프구를 활성화 시킨다. 각질세포는 지연성 과민반응인 알레르기성 접촉피부염에서 표피유래의 흥선세포 촉진

인자(epidermal cell-derived thymocyte activating factor, ETAF)와 같은 면역조절성 cytokine을 분비하거나 Ia 항원을 표현하는데, 이와같은 Ia 항원을 함유한 각질세포와 ETAF가 표피염증반응을 강화하는 것으로 보인다<sup>20)</sup>.

근래 여러종류의 lectin이 생화학적으로 순수하게 분리되고, 관찰방법으로 형광물질인 fluorescein isothiocyanate<sup>16)</sup>와 결합시키거나, horse-radish peroxidase<sup>17)</sup>와 결합하는 방법 이외에, avidin-biotin 결합을 이용한 면역조직화학적 방법(avidin-biotin-complex, ABC방법)이 개발됨에 따라 조직 표본을 이용하여 lectin의 결합반응을 연구하는데 많은 발전을 가져왔고<sup>18,19)</sup>, 따라서 각종 정상세포에 대한 lectin 수용체에 대한 연구<sup>2,4,8,26,27)</sup>, 악성화된 세포의 lectin 수용체의 변화<sup>13~15)</sup>, 세포의 발생과정에 따른 lectin 수용체의 변화<sup>1,3,8,25)</sup> 및 장거나 동물의 종속에 따른 lectin 결합양상의 차이<sup>6)</sup> 등에 대한 많은 연구가 이루어 졌다.

Lectin은 glycoprotein 및 glycosaminoglycan을 함유하고 있는 특정 탄수화물기와 특이적으로 결합하는 성질을 갖는 일종의 단백질 복합체인데, Stillmark<sup>42)</sup>가 Ricinus communis 열매에 강독성 단백질이 존재하고 이 물질이 인체 및 동물의 혈액을 응집시키는 것을 보고한 이래 수백여종의 lectin들이 발견되었다<sup>6,23)</sup>. 그리고 이와같은 lectin들이 탄수화물기와 가역적 비공유결합을 하는것이 밝혀짐에 따라 여러 lectin에 대한 탄수화물 특이성이 알려지게 되었다<sup>24)</sup>. 즉 wheat germ agglutinin(WGA)은  $\beta$ -N-acetyl galactosaminyl) n sialic acid에, Ricinus communis agglutinin I(RCA I)은 D-galactosyl기에, concanavalin A(Con-A)는  $\alpha$ -D-mannosyl기와  $\alpha$ -D-glucosyl기에, peanut agglutinin(PNA)은  $\beta$ -D-gal-(1.3)-D-gal NAC와  $\beta$ -D-galactosyl기에, Ulex europaeus agglutinin(UEA)은 L-fucosyl기와 O형 혈액군에, Dolichos biflorus agglutinin(DBA)은 N-acetyl galactosaminyl기와 A형 혈액군에, Soybean ternata agglutinin(SBA)은 N-acetyl galactosaminyl기에, Helix pomatia agglutinin(HPA)은 N-acetyl-D-galactosamine, N-acetyl-D-glucosamine 및 A형 혈액군에, Maclura pomifera agglutinin(MPA)은

methyl  $\alpha$ -D-mannopyranoside, D(+)-melibiose 및 N-acetyl-D-galactosamine에 특이하게 반응함이 규명 되었다<sup>6,7)</sup>.

세포막은 단백질, 지질, 탄수화물의 복합체로 구성되어 있으며, 세포막을 구성하는 당의 대부분은 단당류 형태보다는 다당류 형태로 존재한다. 즉, D-glucose, D-galactose, D-mannose, L-arabinoside, D-xylose, N-acetyl-D-galactosamine, N-acetyl-neuraminic acid 및 sialic acid등 9가지 단당류의 조합으로 이루어진다<sup>6,13~15)</sup>. Lectin과 세포와의 결합은 주로 대응하는 세포 표면의 수용체를 구성하는 단당류의 말단 mannose, glucose 또는 fructose등의 잔기와 의 반응으로 이루어진다.

표피에서 Lectin을 이용한 연구는 다양하게 진행되어 왔다. Schaumburg Lever<sup>26)</sup>과 Holt<sup>2)</sup>은 lectin을 이용하여 정상표피에서의 탄수화물기의 분포를 연구하면서, 세포가 분화되어 감에 따라 세포막의 탄수화물기가 변화함을 확인하였으며, Nemanic<sup>11)</sup>도 발생학적 연구를 통해 표피의 분화에 따른 lectin의 변화를 기술하였다. Rittman<sup>7)</sup>도 생쥐에서의 lectin의 결합반응을 관찰하면서 세포의 기능적 변화를 연구하는 방법으로 lectin 면역효소방법의 우수성을 강조하였으며, Lewis<sup>27)</sup>은 표피종양에서, Hyun<sup>11)</sup>은 각질화 병변과 악성종양에서 세포 표면의 변화를 민감하게 나타내는 수종의 lectin을 발견하고 악성종양세포의 변형을 확인하는 방법으로 이용될 수 있다고 하였다. Lectin을 이용한 표피에 대한 연구는 특히 건선(psoriasis) 환자에서 활발한데, Gommans<sup>10)</sup>은 건선 환자의 병변부위와 정상부위의 각질세포에서 세포막내 glucose와 mannose의 증가와 함께 fucose를 함유한 다당류의 구조적인 이상을 확인함으로써 세포표면의 탄수화물기 대사의 이상을 보고하였다. Danno<sup>12)</sup>은 건선환자에게 8-methoxypsoralen과 긴 파장의 자외선 치료후 시간이 경과함에 따른 lectin 결합의 변화가 있음을 보고하였으며, 각질세포의 현탁액과 병적 각질세포에서의 lectin반응양상을 기술하였다<sup>8)</sup>.

그러나 알레르기성 접촉피부염을 대상으로한 lectin을 이용한 연구는 많지 않으며, 있다해도 소수의 lectin을 사용한 경우가 대부분이고<sup>28,29)</sup>, 한국에서의 보고는 찾아보기 힘들다.

본 실험에서는 DNCB<sup>22)</sup>를 사용하여 실험적으로 유발시킨 알레르기성 접촉피부염에 10가지의 lectin을 시간적으로 반응시켜 상피세포 표면 배당체를 관찰하였다. 본 실험에서의 UEA-1과 RCA-1은 실험군과 대조군 모두에서 주로 과립층의 세포막과 과립에서 양성반응을 보여주었고, 기저층과 유극세포층 및 각질층에는 약하게 염색되었는데(Fig. 3), 이는 Schaumberg Lever<sup>9)</sup>과 Hyun<sup>11)</sup>의 실험결과와 유사하였다. 즉 알레르기성 접촉피부염에 따른 fucosyl기와 galactosyl기의 변화는 찾아볼 수 없었다. 그런데 김<sup>5)</sup>은 정상조직과 건선에서의 UEA-1의 음성을 보고하였으며, Gomman 등<sup>10)</sup>은 UEA-1에 대해 정상조직에서 약하게 양성으로 반응함을 보고하였다. 이러한 차이는 사용한 lectin의 활동성의 차이, 동결조직과 포르말린 고정의 차이, 개체 부위에 따른 차이 및 면역형광법이나 면역효소법의 방법에 따른 차이 등으로 설명할 수 있겠다.

대조군과 실험군 모두에서 Con-A는 세포막과 과립에 강한 염색성을 보여주었고(Fig. 4), DBA와 SBA는 모든 조직에서 음성반응을 보였는데 Schaumberg Lever<sup>9)</sup>이나 김<sup>5)</sup>도 이와 비슷한 결과를 보고한 바 있다. EC 및 MP에 대한 염색시 대조군과 실험군 모두에서 과립층과 과립에서 가장 강하게 염색되었고(Fig. 2), HPA는 양군의 모든 층에서 약하게 염색되었다. 이와 같은 결과를 토대로 하여 볼때 본 실험에서는 알레르기성 접촉 피부염의 진행에 따른 mannosyl기, glucosyl기, galactosamine기 및 glucosamine기들의 변화는 찾아볼 수 없으며, galactosaminyl기는 정상표피조직에서 소량으로 존재하거나 존재하지 않으며, 있다해도 알레르기성 접촉피부염에 따른 변화는 없는 것으로 보인다. 본 실험에서는 PNA의 변화는 뚜렷하지는 않았지만 대조군과 실험군 모두에서 과립층에 양성이었다고, 염증 반응에 따른 약간의 차이를 확인 할 수 있었다. Wollina<sup>28)</sup>은 염증 반응의 진행에 따른 PNA의 염색성의 감소를 확인한 바 있다.

WGA는 알레르기성 접촉피부염의 진행에 따라 대조군과 실험군 사이에 뚜렷한 염색성의 차이를 보였는데, 특히 48시간과 72시간에 생검한 조직에서 기저층과 유극세포층에서 뚜렷한 염색성의 감소가 관찰되었다(Fig. 5, 6). 이런 소견은 Wollina<sup>28)</sup>의 실험에서

도 관찰되었다. Wollina<sup>28)</sup>은 5% nikel sulphate (NiSO<sub>4</sub>·6H<sub>2</sub>O)등의 allergen과 sodium lauryl-sulfate 등의 자극제를 사용하여 인체에 유발시킨 급성 접촉성 피부염을 동결절편에서 fluorescein isothiocyanate labelled lectin을 사용하여 관찰하였는데, 양쪽 모두에서 정상 부위에 비하여 WGA 결합의 뚜렷한 감소를 확인하였으며, 이러한 소견은 접촉성 피부염에서 상피세포의 세포막 변성은 원인에 관계없이 어떤 동일한 결과를 겪는 것으로 생각하였으며, 상피세포의 변형의 정도는 반응의 종류보다는 염증의 강도와 밀접한 관계가 있는 것으로 추측하였다. 본 실험과 Wollina<sup>28)</sup>의 연구결과를 토대로 하여 볼때, 상피세포막 배당체는 접촉성 피부염의 진행과정에 있어서 세포막 배당체의 선택적인 변화를 겪는 것 같으며, 더 나아가 이들 세포들의 면역조직화학적 소견들은 피부면역반응에서 능동적인 역할을 수행하고 있다는 형태학적 증거를 제시하고 있다고 사료된다. 본 실험에서와 같이 WGA의 염색성의 감소는 terminal sialic acid residue의 감소를 의미하여 이에 따른 분자 생물학적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

이와같이 lectin을 이용한 면역조직화학적 연구는 세포의 기능적인 변화를 연구하는데 좋은 도구가 될 것으로 사료되며, 세포막에 대한 세포의 부착이나 인식, 호르몬이나 독소(toxin)의 수용체로서 탄수화물기의 역할에 관한 연구에도 유용하고, 종양이나 건선과같은 여러질환에서 특정 탄수화물기의 변화를 연구함으로써 상기 질환의 생물학적 변화를 예측하는데 도움을 주리라 생각된다.

## 결 론

Guinea pig 피부에 DNCB로 closed patch를 시행하여 실험적으로 알레르기성 접촉피부염을 유발시킨 후, 병변조직에서 12시간, 24시간, 48시간, 및 72시간에 조직생검하였고, 10종의 lectin을 사용하여 ABC 방법으로 각질세포의 세포막의 탄수화물기와 lectin의 결합양상을 관찰한 결과는 다음과 같았다.

1) 실험군 모두에서 알레르기성 접촉피부염이 발생하였으며, 경결화된 홍반 및 부종을 관찰할 수 있었고, 시간이 경과함에 따라 경결만이 심하여졌다.

2) 24시간과 48시간의 실험군에서는 표피 기저층의



공포화, 상부 진피의 부종, 여러 염증세포의 침윤 및 혈관의 확장등이 관찰되었고, 72시간의 조직에서는 표피의 착각화증과 극세포증, 상부 진피의 부종등의 소견이 보였고, 침윤된 염증세포의 수는 약간 감소되었다.

3) 10종의 lectin중 대조군과 실험군 모두에서 WGA, UEA-I, MP, EC, PNA, Con-A, RCA-I 및 HP는 양성반응을 보였지만 SBA와 DBA 는 음성이었다.

4) 실험군과 대조군 모두에서 EC, UEA-I, PNA, RCA-I, 및 HP는 과립층에 염색이 잘 되었고, Con-A 와 MP는 모든층에서 진한 염색성을 보였다.

5) WGA는 대조군과 12시간에 생검한 실험군에서는 기저세포층과 유극세포층에 잘 염색되었다. 그러나 48시간과 72시간에 생검한 실험군에서는 뚜렷이 다른 결합양상을 보였는데, 기저층과 유극세포층에서 WGA의 감소가 두드러졌다. 이와 같은 결과는 알레르기성 접촉피부염에서 세포막의 선택적인 terminal sialic acid기의 감소를 의미한다.

#### 참 고 문 헌

- 1) Nemanic MK, Whitehead JS, Elias PM: *Alteration in membrane sugars during epidermal differentiation: Visualization with lectins & role of glycosidases. J Histochem Cytochem* 31: 887-897, 1983
- 2) Holt PJA, Hill Anglin JRJ, Nordquist RE: *Localization of specific carbohydrate configurations in human skin using fluorescein-labelled lectins. Br J Dermatol* 100: 237-245, 1979
- 3) Raya B, Warren WKMS, Isadore AB: *Changes in lectin binding by differentiating cutaneous keratinocytes from the newborn rat. J Invest Dermatol* 88: 719-726, 1987
- 4) Breathnach AS: *Embryology of human skin. J Invest Dermatol* 57: 133-143, 1971
- 5) 김만길, 김수남: 전선 및 표피과형성을 보이는 수종피부병변에서 lectin 결합에 관한 면역효소조직학적 연구. 고대의대 논문집 23: 1-23, 1986
- 6) Brown JC, Hunt RC: *Lectins. International review Cytol* 52: 276-337, 1978
- 7) Sharon N, Lis H: *Lectins: cell-agglutinating and sugar-specific protein. Science* 177: 949-959, 1972
- 8) Gommans JM, Van Den Hurk JJMA: *Lectin binding studies on suspensions of isolated epidermal keratinocytes. Br J Dermatol* 104: 641-648, 1981
- 9) Schaumburg-Lever G, Alroy J, Cucci A, Lever WF: *Distribution of carbohydrate residues in normal skin. Arch Dermatol Res* 276: 216-223, 1984
- 10) Gommans JM, Van Den Hurk JJMA, Bergers M, Van Erp P, Mier PD, Roelfzema H: *Studies on the plasma membrane of normal and psoriatic keratinocytes. 5. Lectin binding. Br J Dermatol* 106: 317-322, 1982
- 11) Hyun KH, Nakai M, Kawamura K, Mori M: *Histochemical studies of lectin binding patterns in keratinized lesions, including malignancy. Virchows Arch[Pathol Anat]* 402: 337-351, 1984
- 12) Danno K, Takigawa M, Horio T: *Alterations in lectin binding to the epidermis following treatment with 8-methoxypsoralen plus long-wave ultraviolet radiation. J Invest Dermatol* 82: 176-179, 1984
- 13) 윤석웅, 최종상, 백승룡: 정상 및 종양성 골조직의 lectin에 관한 면역 효소조직화학적 연구. 고대의대논문집 23: 309-316, 1986
- 14) 강대웅, 최종상, 이대일: 정상 및 종양성 결장선상피의 lectin 수용체 분포에 관한 연구. 고대의대논문집 25: 429-437, 1988
- 15) 주원식, 최종상, 이대일: 자궁경부 및 자궁내막암 조직의 lectin 결합에 관한 연구. 고대의대논문집 26: 525-531, 1989
- 16) Virtanen I, Kariniem AL, Holthofer H, Lehto VP: *Fluorochrome-coupled lectins reveal distinct cellular domains in human epidermis. J Histochem Cytochem* 34: 307-315, 1986
- 17) Ronald AD, Ludwig AS, Risa BM, Peter MB, Paul KN: *Immunoperoxidase technics in diagnostic pathology. Am J Clin Pathol* 71: 483-488, 1979
- 18) Su-Ming Hsu, Raine L, Fanger H: *Use of avidin-biotin-peroxidase complex(ABC) in immunoperoxidase techniques. J Histochem cytochem* 29: 577-580, 1981
- 19) Jena-Luc G, Theress T, Stratis A: *The use of avidin-biotin interaction in immunoenzymatic techniques. J Histochem Cytochem* 27: 113]

- 1139, 1979
- 20) Breathnach SM, Katz SI: *Cell-mediated immunity in cutaneous disease. Human Pathol 17: 161-167, 1986*
- 21) Urmacher C: *Histology of normal skin. Am J Surg Pathol 14: 671-686, 1990*
- 22) Stingl G: *The functional role of Langerhans cells. J Invest Dermatol 74: 315-318, 1980*
- 23) Bell CM, Skerrow CJ: *Factors affecting the binding of lectin to normal human skin. Br J Dermatol 111: 517-526, 1984*
- 24) Schuler G, Pohlin G, Fritsch PO: *Differences of cell surface label distribution and redistribution pattern between mammalian keratinocytes and melanocytes in culture. J Invest Dermatol 77: 347-352, 1981*
- 25) Breathnach AS: *Development and differentiation of dermal cells in man. J Invest Dermatol 71: 2-8, 1978*
- 26) Rittman BR, Mackenzie LC, Rittman GA: *Lectin binding to murin oral mucosa and skin. Arch Oral Biol 27: 1013-1019, 1982*
- 27) Louis CJ, Wyllie RG, Chou ST, Szytynda T: *Lectin-binding affinities of human epidermal tumors and related conditions. Am J Clin Pathol 75: 642-647, 1981*
- 28) Wollina U, Funfstuck V, Hipler C, Knopf B: *Alteration of epidermal lectin binding sites in acute contact dermatitis. Contact Dermatitis 19: 109-115, 1988*
- 29) Wollina U, Funfstuck V, Hipler C, Knopf B: *Selective perturbation of epidermal cell membranes in human acute contact dermatitis. Contact Dermatitis 20: 531-533, 1988(Correspondence)*
- 30) Willis CM, Young E, Brandon DR, Wilkinson JD: *Immunopathological and ultrastructural finding in human allergic and irritant contact dermatitis. Br J Dermatol 115: 305-316, 1986*
- 31) Hamminga L, Hermans J, Noordijk EM, Meijer CJLM, Scheffer E, Van Vloten WA: *Cutaneous T-cell lymphoma: clinicopathological relationships, therapy and survival in ninety-two patients. Br J Dermatol 107: 145-156, 1982*
- 32) Unanue ER: *Secretory function of mononuclear phagocytes. Am J Pathol 83: 396-415, 1976*
- 33) Goetzl EJ, Pickett WC: *The human PMN leukocyte chemotactic activity of complex hydroxy-eicosatetraenoic acids(HETEs). J Immunol 125: 1789-1791, 1980*
- 34) Kato K, Askenase PW: *Reconstitution of an inactive antigen-specific T cell suppressor factor by incubation of the factor with prostaglandins. J Immunol 133: 2025-2031, 1984*
- 35) Cohen S: *Physiologic and pathologic manifestations of lymphokine action. Hum Pathol 17: 112-121, 1986*
- 36) Ruzicka T, Ring J: *Enhanced releasability of prostaglandin E<sub>2</sub> and leukotrienes B<sub>4</sub> and C<sub>4</sub> from leukocytes of patients with atopic eczema. Acta Derm Venereol(Stockh) 67: 469-475, 1987*
- 37) Hamberg M, Jonsson CE: *Increased synthesis of prostaglandins in the guinea pig following scalding injury. Acta Physiol Scand 87: 240-245, 1973*
- 38) Davies P: *The role of macrophage secretory products in chronic inflammatory processes. J Invest Dermatol 74: 292-296, 1980*
- 39) Dvorak HF, Mihm MC, Dvorak AM: *Morphology of delayed-type hypersensitivity reactions in man. J Invest Dermatol 67: 391-401, 1976*
- 40) Cohen S: *The role of cell-mediated immunity in the induction of inflammatory response. Am J Pathol 88: 502-528, 1977*
- 41) Elliott ST, Hanifin JM: *Delayed cutaneous hypersensitivity and lymphocyte transformation. Arch Dermatol 115: 36-39, 1979*
- 42) Stillmark H: *Über Rizin, ein fiftiges ferment aus dem samen von Ricinus Communis L. and einigen anderen Euphrbiaceen, Inaug. Dis Dorpart, 1988(Cited from Ref. 13)*