

닭순환임과구내에 출현하는 Azurophil 과립의 동태에 관한 전자현미경적 연구

김 화 식

경북대학교 농과대학 수의학과

서 론

인체 및 포유동물과 닭의 임과구에 azurophil 과립이 출현한다는 사실은 Bessis,^(1,2) Clemencon,⁽³⁾ Canizares,⁽⁴⁾ Schalm⁽¹⁷⁾ 및 Biester⁽³⁾ 등이 이미 보고한 바 있다. 1959년 Clemencon⁽³⁾은 azurophil 과립을 가진 임과구는 herpes zoster, infectious mononucleosis, typhoid fever 및 infectious hepatitis 등의 제종 감염증시에 증가함을 관찰하고 본과립은 면역기전과 관련된 구조물이라고 보고하였고, 그후 Canizares⁽⁴⁾ 등은 과립의 화학적 본태와 면역학적 기전과의 관련성을 규명할 목적으로 trypsin 소화법과 인체 및 실험동물에 대한 면역학적 실험을 통해 azurophil 과립은 단백질성물질이고 항원성 물질을 주사할때 증가하는 특수항체라고 주장한 바 있다. azurophil 과립의 형태학적 분야의 연구로는 Bessis^(1,2) 및 Oscar⁽¹⁷⁾ 등이 인체 및 포유동물에 대해 광학현미경으로 관찰한바 본 과립의 형태는 원형 및 부정형이고 크기는 0.3~0.6 μm 이었으며 Azur 및 Giemsa 염색에 청색 및 청자색으로 염색된다고 하였다.

최근에 Novikoff^(15,16) 및 Huhn⁽¹¹⁾ 등은 인체 임과구의 전자현미경적 관찰에서 세포질내에 lysosome의 일종인 multivesicular body (Novikoff)⁽¹⁵⁾와 cytosome (Huhn 등)⁽¹¹⁾이 광학현미경상에서 보는 azurophil 과립에 해당할 것이라고 추측한 바 있고 또 Kriesten⁽¹²⁾은 닭의 임과구의 전자현미경적 관찰에서 세포질내의 출현하는 osmiophil 과립이 광학현미경상에서 보는 azurophil 과립에 해당할 것이라고 시사하였다. 그의 Low⁽¹⁴⁾는 임과구에 출현하는 azurophil 과립을 odd 과립이라고 명명하였고, 森⁽¹⁸⁾은 이를 임과구소체라 불렀다. 이와 같이 현재까지 보고된 문헌을 통람해 볼때 순환임과구에 출현하는 azurophil 과립은 lysosome의 일종으로 생각되고 있으나 이것의 기능 및 형태에 대해서는 아직

철저히 구명되어 있지는 않다. 다만 이것은 lysosome의 일종으로 lysosome의 고유의 기능인 탐식기능과 연관이 있는 것으로 생각되나 임과구가 관련하고 있는 면역기전과 어떠한 관계가 있는지 혹은 백혈구내의 특수 과립인 lysosome의 한 기능인 이물의 처리와는 어떠한 연관이 있는지에 대해서는 확실하지 않다. 또한 이것의 형태에 있어서도 전자현미경상에서 나타나는 여러가지 다른 형태의 과립들과 서로 어떤 연관을 가지고 있는지에 대해서도 의문의 여지가 많다.

이렇게 형태학적으로 다른 과립들이 한 계열의 과립이 변화해 나가는 과정인지 혹은 그것을 자기의 다른 기능을 맡고 있는 각기 다른 계열인지에 대해서도 아직 알려진 바 없다. 특히 닭을 대상으로한 전자현미경적 연구는 현재까지 철저히 구명되지 않고 있으며, 광학현미경상 닭에서는 본 과립이 혈유내 임과구에서 비교적 자주 관찰되고 또 어떤 때는 이것이 고율로 나타나는 경우를 흔히 볼 수 있다.

그래서 저자는 닭의 순환임과구에 출현하는 azurophil 과립의 본태의 일면을 구명할 목적으로 과립의 생리적 소장과, 과립의 전자현미경적 조건, 그리고 이물에 대한 태도를 관찰하고 그 성적을 보고하는 바이다.

재료 및 방법

실험동물: 실험에 제공된 동물은 백색 레구혼 32수(우10, ♂22)였는데, 부화직후 부터 5개월간 사육하면서 계속 실험에 제공하였으며 실험기간 동안은 전염병에 대한 예방접종도 하지 않았다.

실험 방법:

1) azurophil 과립의 생리적 및 연령적 출현을 볼 목적으로 닭 10수(우5, ♂5)에 대해서는 혈액도말을 매수당 임과구 200개 이상을 검사하여 이때 출현하는

azurophil 과립을 함유한 임파구를 산정하여 그 백분비를 구하였다.

2) 전자현미경적 관찰을 하기 위하여는 azurophil 과립이 고율로 출현하는 성계 5마리로부터 혈액을 각각 15 ml 채취하여 이에 응고 방지제로 heparin 0.1 ml를 첨가한 후 원심분리하여 적혈구와 백혈구를 분리시켜 상층을 spoid로 적혈구가 혼입되지 않도록 주의 깊게 뽑아내어 이것을 즉시 고정액에다가 0.2 M 이 되도록 sucrose를 가하여 0~4°C에서 30분간 고정시켰다. 그리고 탈수에 들어가기 전에 원심하여 상층액 즉 고정액을 버리고 1.5% agar에 포매하여 일반조직의 고정시와 같이 1 mm³의 크기로 끊어서 탈수하였다. 탈수는 50%, 70%, 80%, 90% ethanol에 각각 10분, 무수 ethanol에 30분간 2회 처리한 후 propylen oxide로 penetration을 하고 포매는 Luft의 방법에 의한 epoxy resin으로 하였다. 다음에 Porter-Blum ultramicrotome MT2-B type로 glass knife를 사용하여 400~500 Å으로 박절하여 uranyl acetate 용액에 1시간, lead citrate 용액에 20분간 이중염색을 한 후 Hitachi HU-II E 전자현미경으로 관찰하였다.

3) 이물에 대한 과립의 반응을 보기 위하여서는 각각 5마리 및 4마리의 성계로 구성된 2군에 gentian violet 0.5% 수용액과 methylene blue 0.5% 수용액 0.5 ml를 각각 익하정맥내에 주사하고 주사직전 혈액도말을 작성하고 5, 15, 24 및 48시간 그리고 그후 14일째에 각각 혈액도말표본을 작성하여 검사하였다. 이에 대조로서는 동수로 구성된 대조군에 생리적 식염수 0.5 ml를

익하정맥내에 주사하고 실험군과 동일 시간에 과립의 출현상황을 조사하였다. 그리고 상기한 각 실험군은 이물주사 직전에 혈액도말표본을 작성하여 역시 대조로 하였다.

Centian vio'et를 주사한 군은 부화 20일째에 Newcastle 病예방을 위하여 B₁ vaccine으로 일차면역을 하였고 그후 또 2개월, 4개월째에 ND 不活化 gel vaccine을 2회 추가면역을 행한 후 최종면역일로부터 20일째에 시험에 공하였다. methylene blue 주사군은 부화후 20일째에 B₁ vaccine으로 초회 면역을 행하였고 그후 2개월째에 ND 不活化 gel vaccine으로 1회 추가면역한 후 최종면역일로부터 3개월 후에 시험에 공하였다.

결 과

1. 정상닭의 성장과 azurophil 과립성 임파구의 동태

표 1은 한 도말표본에서 헤아릴 수 있었던 총 임파구수와 이에 대한 azurophil 과립을 가진 임파구수와의 백분율을 나타낸 것이다. 이표에서 보는바와 같이 부화 제 1일째에는 10마리중 3마리에서만 각각 0.020%, 0.005% 및 0.013%가 출현하였는데 이를 평균하면 0.004%라는 수치가 나오나 통계학상으로 보아 의의가 적은 것으로 생각된다.

그러나 부화 제 10일 이후부터는 각군에서 평균적으로 점차 증가하는 경향을 나타낸다. 그리고 같은 연령에서도 개체별 차이가 다소 있으며 또 같은 개체일지

Table 1. Changes of Total and Azurophil Granule-Containing Lymphocytes in Peripheral Blood of Growing Chickens

Days after hatching	1	10	30	60	90	120	150
Chick No.							
1(♀)	*305: 0 (0)	420: 5(0.012)	285: 2(0.007)	390: 6(1.54)	390: 3(0.77)	390: 7(1.75)	340: 4(1.18)
2 "	360: 0 (0)	510: 4(0.008)	265: 1(0.004)	390: 4(1.03)	390: 1(0.26)	390: 2(0.05)	393: 4(1.02)
3 "	310: 0 (0)	570: 6(0.011)	276: 2(0.007)	390: 5(1.28)	390: 5(1.28)	533: 4(0.75)	386: 5(1.30)
4 "	375: 0 (0)	410: 1(0.002)	287: 9(0.031)	390: 7(1.79)	390: 2(0.51)	337: 8(2.37)	320: 11(3.40)
5 "	405: 9(0.020)	515: 8(0.014)	435: 5(0.011)	390: 5(1.23)	390: 3(0.77)	351: 12(3.44)	461: 7(1.52)
6(♂)	390: 2(0.005)	734: 4(0.005)	265: 3(0.011)	390: 3(0.77)	390: 0 (0)	300: 1(0.33)	374: 11(2.97)
7 "	295: 4(0.013)	527: 1(0.002)	204: 8(0.039)	390: 4(1.03)	488: 6(1.26)	320: 6(1.88)	388: 7(1.33)
8 "	301: 0 (0)	528: 3(0.006)	475: 10(0.021)	390: 4(1.03)	388: 2(0.52)	322: 1(0.31)	388: 8(2.06)
9 "	315: 0 (0)	611: 2(0.003)	270: 4(0.015)	390: 3(0.77)	400: 13(3.25)	300: 7(2.33)	388: 16(4.15)
10 "	350: 0 (0)	385: 2(0.005)	347: 4(0.012)	390: 6(1.54)	390: 4(1.03)	320: 3(0.96)	320: 2(0.52)
Mean	(0.004)	(0.006)	(0.016)	(1.206)	(0.965)	(1.464)	(1.895)

* Total lymphocytes : Lymphocytes containing azurophil granule (percentage of azurophil to total lymphocytes)

라도 성숙함에 따라 차츰 증가하는 경향을 볼 수 있다 그러나 성별로는 의의있는 차이를 찾아 볼 수 없다.

2. 임파구의 광학현미경적 소견

Giemsa 염색으로 본 임파구는 대체로 세포체는 적고 핵은 둥글며 진하게 염색되는 경향이다. 이들 임파구 중에서 azurophil 과립을 가진 임파구의 세포질은 일반적으로 많고 핵은 진하게 염색되며 또 이 핵은 세포질의 한쪽으로 치우치는 경향이 있다. 그리고 과립의 색은 보통 푸른색을 나타내나 때로는 보라색으로 나타나는 경우도 있었다. 그 모양은 대체로 둥근 편이며 크기는 미세 내지 조대과립상을 나타내었다. 이와같은 azurophil 과립을 가진 임파구의 세포체 내에는 때때로 공포가 출현하기도 하였다(사진 1, 2 참조).

3. 非azurophil 과립성 임파구의 전자현미경적 소견

크기는 대체로 $6\mu\text{m}$ 전후로서 Huhn 및 Stich⁽¹¹⁾의 분류에 따르면 소임파구에 속하는 크기였다. 핵은 대체로 둥근편이며 한군데 내지 두군데에 indentation 이 있다. 핵소체는 작고 세포질 내에는 소수의 mitochondria, rough-surfaced endoplasmic reticulum, Golgi complex 등이 있고 free ribosome은 비교적 많은 편이다. 세포막은 대체로 평활한 편이나 때로는 pseudocyttoplasmic process의 모양을 나타내는 수도 있었다(사진 7 참조).

4. azurophil 과립성 임파구의 전자현미경적 소견

크기는 대체로 $5\sim 8\mu\text{m}$ 으로서 Huhn 및 Stich⁽¹²⁾의 분류에 따르면 소임파구의 크기에 지나지 않는다. 핵은 대체로 원형 내지 타원형을 띠우며 핵 변연은 평활하나 때로는 indentation 을 볼 수도 있었다. 핵내에 chromatin 은 대체로 등질성인 euchromatin 의 양상을 나타내나 세포에 따라서는 핵막 주위에 뭉쳐 있는 양상도 볼 수 있었다. 핵소체는 일반적으로 뚜렷하지 않았다. 세포질은 heterochromatin 과립을 가지지 않은 임파구에 비해서 펍 많은 편이었다. 이와같은 세포의 세포질 내에는 크고 작은 과립들이 적게 혹은 많이 있는데 이것이 출현하는 부위는 핵의 counter-part 에 해당되는 세포질내이며 이들 구조물을 자세히 보면 어떤 것은 그안에 전자밀도가 비교적 낮은 등질성인 물질만이 들어있는 것도 있고 또 어떤 것은 상기한 등질성 물질내에 전자밀도가 아주 높은 물질을 함유하고 있는 것도 있고, 또 어떤 것들은 등질성인 물질 속에 전자밀도가 아주 높은 과립성인 물질 내지는 myelin 과 같은 구조물이 있는 것도 있었다. 또 이들 가운데 어떤 것은 표면

에 돌기가 생겨서 마치 유두와 같은 성상을 보이는 것들도 있었다. 이와같이 이들의 내용물은 다르나 이들에서 볼 수 있는 공통적인 소견은 한층의 한계막으로서 싸여있고 또 그 크기가 $0.2\sim 1.5\mu\text{m}$ 을 나타내었다(사진 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 참조).

그리고 이 세포의 세포질내에는 $100\sim 250\text{\AA}$ 의 수많은 소포들이 존재하는데 이들은 한층의 한계막으로 싸여있고 그 내용물이 투명한 것으로 보아 pinocytosis에 의해 형성된 pinocytotic vesicle로 생각되었다. 그밖에 rough-surfaced endoplasmic reticulum 중등도로 발달되어 있고 그 강내에는 전자밀도가 낮은 등질성인 물질이 들어있었다. mitochondria는 수가 적은 편이며 그 윤곽이나 cristae의 배열에 별 이상을 발견할 수 없었다. ribosome은 비교적 많은 편이며 그 크기는 $150\sim 200\text{\AA}$ 을 보였다. Golgi complex의 발달은 아주 미약하다. 이와같은 세포내 소기관의 사이에는 전자밀도가 낮은 cytoplasmic matrix로 차있었다. 세포막은 unit membrane으로 싸여있으며 이들은 대체로 pseudocyttoplasmic process를 가졌다.

5. 이물에 대한 azurophil 과립의 동태

표 2는 0.5% gentian violet 수용액을 주입한 군에서의 총 임파구수에 대한 azurophil 과립을 가진 임파구를 백분율로 나타낸 것인데 실험군에 있어서는 주사전처에 비해서 주사후 5시간 쯤부터 azurophil 과립의 출현율이 증가하기 시작하여 14시간 쯤에 최고에 달하고 그후 차차 감소하여 14일 쯤에는 주사전치 이하로 내려갔다. 이에 비해서 0.5 ml 식염수만을 주사한 대조군에 있어서는 주사전이나 주사후에 있어서 약간의 변동은 있으나 의의있는 차이는 없는 것 같았다.

표 3은 0.5% methylene blue 수용액을 주사한 후에 볼 수 있었던 총 임파구 수에 대한 azurophil 과립을 가진 임파구를 백분율로 나타낸 것인데 주사전처에 비해서 주사후 5시간 쯤부터 증가하기 시작하여 24시간 쯤에 최고에 달하고 그후 점차 감소하나 실험 최종일인 14일 쯤에 이르러서도 주사전처에 비해서 훨씬 높은치를 나타내었다. 이에비해서 생리식염수만을 주사한 대조군에 있어서는 약간의 경시적 변동은 있으나 의의있는 차이는 발견할 수 없었다.

고 찰

일반적으로 말초혈액의 도말표본을 Romanowsky, Giemsa 및 Wright 등 염색을 하여 광학현미경으로 관

Table 2. Changes of Ratio Between Total and Azurophil Granule-Containing Lymphocytes after Injection of Gentian Violet Solution

Chick No.	Time Before injection	Time after injection				
		5 hours	15 hours	24 hours	48 hours	14 days
Test 1	*330 : 13(3.90)	330:34(10.30)	330:36(10.80)	330:32 (9.60)	330 : 13(3.90)	330 : 13(3.96)
2	330 : 20(6.00)	330:13 (3.90)	330:23 (7.00)	330:15 (4.50)	330 : 32(9.60)	330 : 10(3.03)
3	330 : 21(6.33)	330:31 (9.40)	330:36(10.80)	330:33(10.00)	330 : 30(9.00)	330 : 25(7.57)
4	330 : 14(4.20)	330:15 (4.54)	330:21 (6.40)	330:11 (3.30)	330 : 2(0.60)	330 : 5(1.50)
5	330 : 8(2.40)	330:10 (3.03)	330:17 (4.10)	330:10 (3.00)	330 : 2(0.60)	330 : 4(1.21)
Mean	(4.56)	(6.23)	(7.82)	(6.08)	(4.74)	(3.45)
Control 1	330 : 32(9.60)	330 : 22(6.60)	330 : 21(6.40)	330 : 29(8.70)	330 : 31(9.40)	330 : 23(6.96)
2	330 : 20(6.00)	330 : 10(3.30)	330 : 22(6.60)	330 : 18(5.40)	330 : 21(6.30)	330 : 10(3.03)
3	330 : 8(2.40)	330 : 10(3.03)	330 : 17(4.10)	330 : 18(5.40)	330 : 8(2.40)	330 : 6(1.81)
4	330 : 4(1.20)	330 : 10(3.03)	330 : 13(3.90)	330 : 15(4.50)	330 : 4(1.20)	330 : 32(9.69)
5	330 : 10(3.03)	330 : 5(1.50)	330 : 10(3.03)	330 : 8(2.40)	330 : 8(2.40)	330 : 17(5.15)
Mean	(4.45)	(3.44)	(4.81)	(5.28)	(4.34)	(5.33)

* Total lymphocytes : Lymphocytes containing azurophil granule (percentage)

찰하면 그 크기에는 차이가 있으나 푸른색 내지 자주색을 정하는 과립이 임파구의 세포질내에서 가끔 발견된다. 그러나 이 과립은 지금까지의 문헌을 통틀어 보면 인체나 포유동물에서는 그 출현율은 극히 낮지만 이과립이 출현한다는 보고는 있다.^(8,7,9) 그러나 닭에 있어서 관찰된 연구는 단지 Biester¹⁰⁾의 보고 뿐인 것 같다. 그래서 인체나 포유동물에서는 상기한바와 같이 이과립의 출현도가 극히 낮기 때문에 과립의 형태학적 및 기능에 대한 연구가 심히 부진한 상태이다. 그러나

저자의 실험에 의하면 닭에 있어서는 그래도 이러한 과립을 함유한 임파구가 비교적 많은편이고 또 그 출현율도 닭이 성장함에 따라 차츰 증가하여 성체가 되면 1.895%에 이른다는 사실은 이 방면의 연구에 닭이 좋은 실험재료가 될 것이라고 믿어진다. 즉 본 실험적에 의하면 부화직후에는 이러한 과립을 함유치 않은 임파구만을 가진 개체도 있으나 부화후 시일이 경과함에 따라 차츰 증가하여 성체에 이르러서는 전술한 바와같이 1.895%라는 다소 고율을 나타내었다. 반면에

Table 3. Changes of Ratio Between Total and Azurophil Granule-Containing Lymphocytes after Injection of Metyhlene Blue Solution

Chick No.	Time Before injection	Time after injection				
		5 hours	15 hours	24 hours	48 hours	14 days
Test 1	*330 : 1(0.33)	330 : 12(3.63)	330 : 11(3.33)	330 : 9(2.72)	330 : 5(1.51)	330 : 11(3.33)
2	330 : 4(1.21)	330 : 5(1.51)	330 : 6(1.81)	330 : 4(1.21)	330 : 9(2.72)	330 : 4(1.21)
3	330 : 7(2.12)	330 : 9(2.72)	330 : 19(5.75)	330 : 16(4.84)	330 : 22(6.36)	330 : 15(4.54)
4	330 : 12(3.63)	330 : 27(8.18)	330 : 20(6.06)	330 : 16(4.84)	330 : 11(3.33)	330 : 7(2.12)
Mean	(1.82)	(4.01)	(4.24)	(4.42)	(3.48)	(2.80)
Control 1	330 : 3(0.99)	330 : 3(0.99)	330 : 4(1.21)	330 : 2(0.69)	330 : 2(0.66)	330 : 3(0.99)
2	330 : 2(0.66)	330 : 7(2.12)	330 : 7(2.12)	330 : 7(2.12)	330 : 6(1.81)	330 : 11(3.33)
3	330 : 14(4.24)	330 : 4(1.21)	330 : 8(2.42)	330 : 12(3.63)	330 : 7(2.12)	330 : 9(2.72)
Mean	(1.96)	(1.41)	(1.92)	(2.24)	(1.53)	(2.34)

* Total lymphocytes : Lymphocytes containing azurophil granule (percentage)

개체 차이가 심하였는데 이것은 이 과립이 조그마한 조건의 변동에서도 민감하게 반응한다는 것을 암시하는 것이 아닌가 생각된다. 그리고 이 과립의 광학현미경적 소견을 보면 Giemsa 염색으로 푸른색 혹은 보라색을 띠우고, 모양은 대체로 둥글고 크기는 일정치 않았는데, 이와같은 염색성 및 형태로 보아 Bessis,^(1,2) Canizares⁽⁴⁾, Clemencin⁽⁵⁾ 및 Schalm⁽¹⁷⁾에 의해서 피력된 azurophil 과립과 동일한 것이라 믿어진다. 즉 그들은 이 과립은 임파구내에 출현하며, Giemsa 및 azur 염색으로 푸르게 혹은 보라색으로 염색되는 적은 과립이라 보고하고 있다. 또 이 과립은 Romanowsky 염색하에서 밝은 자주색으로 나타나는 과립과도 일치한다고 생각된다. 다음으로 이 과립은 전자현미경 상에서 크기가 0.2~1.5 μm 이었으며 과립의 미세구조는 그 안에 전자밀도가 낮은 혹은 높은 균질성인 물질을 함유하는 것 혹은 myelin 과 같은 물질을 함유하는 것등 내용물에는 여러가지 차이가 있으나 모두가 단층의 한계막으로 싸여 있는데 이와같은 형태를 지닌 것이 과연 광학현미경 상에서 본 azurophil 과립과 동일한 것인지 아닌지는 단정적으로 언급할 수는 없다. 왜냐하면 이 과립의 전자현미경적 연구에 대해서는 임파구 자체가 그렇듯이 별로 보고된 바가 없으며 특히 조류에 관해서는 더욱 드물다. 그러나 이와같은 형태적 특징을 지닌 소체에 대해서 타 동물에서 관찰한 선인들의 그것과 비교해볼때 Novikoff^(15,16)의 multivesicular body(MVB), Huhn 및 Stich⁽¹¹⁾의 cytosome, Kriesten⁽¹²⁾의 osmiophil 과립, Low⁽¹⁴⁾의 odd 과립, 森⁽¹⁸⁾의 임파구소체, de Duve^(6,8)의 lysosome, Kurtz⁽¹³⁾의 peribiliary dense body, Novikoff^(15,16)의 acid phosphatase rich body 등과 거의 일치하는 소견이 아닌가 생각된다. 즉 Novikoff^(15,16)와 Huhn 및 Stich⁽¹¹⁾는 전자현미경상 인체 임파구에 출현하는 electron dense 한 과립이 광학현미경하에서 관찰되는 azurophil 과립에 해당할 것이라 하였고, 또 Kriesten⁽¹²⁾은 닭의 임파구의 전자현미경적 관찰에서 이와같은 특징을 지닌 과립을 osmiophil 과립이라 명명하고 이것은 광학현미경에서 관찰되는 azurophil 과립에 일치할 것이라고 보았다.

상기한 바와같이 형태 특히 그 내용물의 전자밀도로 보아서는 타 보고자들과 거의 일치하는 소견을 나타내나 과립의 크기와 수에 있어서는 인체나 포유동물에서 관찰된 것과는 다소 차이가 있다. 즉 Bessis⁽³⁾와 Schalm⁽¹⁷⁾는 한 세포체내에 2~3개이며, 크기는 0.3~0.6 μm 이라고하고, Huhn 및 Stich⁽¹¹⁾는 수에 대한 언급은 없고 크기는 0.5~0.8 μm 이라고 보고하고 있다. 그러나 저자

의 관찰에서는 한 세포체내에 가장 적게 나타난 것은 1개, 가장 많이 나타난 것은 30개, 또 그 크기는 0.2에서 1.5 μm 이었는데, 이와같은 숫적 및 크기의 차이는 실험동물의 차이에서 오는 것이지 그 본질적 차이는 아닌 것으로 생각된다. 그것은 이 과립의 형태 특히 그 내용물이 인체나 포유동물에서 관찰된 것과 거의 같고, 또 이것을 둘러싸는 막이 단층의 한계막으로 되어 있다는 것 때문이다. 즉 숫적 및 크기에는 다소간 차이가 있어도 그 구성성분이 본질적으로 같기 때문이란 것이다. 그리고 이와같은 내용물에 차이가 있는 것은 de Duve^(6,8)가 설명했듯이 lysosome 의 형성시기에 따르는 것이라 생각된다. 즉 그는 전자밀도가 낮은 등질성 과립은 primary lysosome 에 해당하는 것이고, 등질성인 물질내에 전자밀도가 높은 물질을 함유하거나 혹은 과립성인 물질이 들어있는 것은 secondary lysosome 에 또 그 내용물에 myelin 과 같은 구조물물 함유한 것은 residual body 혹은 post-lysosome 에 해당한다고 하였다. 또 이들 과립중에서 둥글고 등질성이기는 하나 주변부에 밀도가 더 높고 막이 다소 불규칙한 것은 Huhn 및 Stich⁽¹¹⁾의 Gall body 에 해당하는 것이 아닌가 생각된다. 즉 그들의 설명에 의하면 이것은 지방성 함유물에 유사한 소체로써 임파구에 출현하며 대체로 둥근편이고 전자밀도가 과립의 주변부는 비교적 높고 중심부는 낮은 편이며 또 막의 변연부는 약간 불규칙하다고 말하고 있는데 이와같은 형태의 과립은 저자의 실험에서도 관찰되었다.

이와같은 것은 de Duve^(6,8)의 분류에 따르면 secondary lysosome 에 일치한다. 또한 본실험에서 유두모양의 돌기를 가진 형태가 발견되었는데 이는 primary lysosome 이 phagosome 에 부착하는 상태 즉 phagolysosome, 혹은 lyso-phagosome 에 해당하며 또 그 초기에 있는 상태로 생각된다. 이와같은 de Duve^(6,8)의 분류 즉 1) 가수분해 효소를 많이 함유하고 있는 enzyme pocket 즉 1차 lysosome 혹은 저장과립과 2) 이러한 저장과립이 phagosome 과 결합한 상태인 phago-lysosome, 혹은 lyso-phagosome, 3) 세포내 자가용해에 의해 형성되는 autophagic vacuole 및 4) 이러한 효소작용이 충분하지 못하여 소화되지 못한채로 남아있는 residual body 혹은 post-lysosome 은 일반적으로 대부분의 학자들은 동의하고 있으나⁽¹⁸⁾ 이 형태적 특징과 기능과의 관계에 대해서는 아직까지 충분한 설명은 할 수 없다. 그러기 때문에 이 lysosome 이라고 이름지워 있는 세포내 소화기관에 대해서는 아직까지 확실한 정의조차도 되어있지 않다. 예를들면 Fawcett⁽⁹⁾는 lysosome 을 정의

하기를 가수분해효소를 함유하는 한층의 한계막으로 둘러 싸여있는 소체로서 구조상 여러가지 모양이기 때문에 형태학적인 기재는 일률적으로 하기 곤란하다고 하고 간 실질세포, 신 곡세노관상피세포, 호산구, 호중구, 대식세포 및 신경세포에 많이 나타난다고 하였으나 그의 이와같은 정의는 대체로 de Duve^{6,8)}의 1차 lysosome 을 이야기하는 것 같다. 또 lysosome 의 범주에 들어가는 구조물의 기준에 대해서도 많은 학자들의 의견이 서로 엇갈리고 있는데, 이것은 초기의 연구가 생화학자인 de Duve⁸⁾에 의해서 세포 분획적 방법으로 이루어졌고, 다음으로 형태학자들이 전자 현미경적 소견을 기술하였으며, 그후 여러가지 고정방법에 따라 기술내용이 달라졌고, 또 실험방법에 따라이 과립의 형태적 변화가 심하기 때문이라 생각된다.

임파구내의 azurophil 과립의 생물학적 의의에 관해서는 과거 Canizares⁴⁾와 Clemenson⁵⁾은 이 과립은 면역기전과 관계가 있다고 지적하였다. 즉 Canizares⁴⁾는 인체에 tuberculin 및 B.C.G.를 접종하거나 실험동물에 이종혈청을 주사하면 주사후 1일(tuberculin) 3일(이종혈청) 및 22일(B.C.G.)째에 azurophil 과립을 가진 임파구수가 증가하는데 이는 trypsin 에 소화되는 단백질이므로 이 과립을 특수항체라고 주장하였다. 또 Clemenson⁵⁾은 제종감염증에 azurophil 과립을 가진 임파구가 증가한다고 하였다. 이리하여 이들은 이 과립의 기능을 면역기전과 상당한 관계가 있을뿐 아니라 그 본태를 항체라고까지 주장한 바 있다. 최근에 알려진 바와 같이 간 실질세포, 신 곡세노관상피세포 및 호중구등에서 발견된 lysosome 내에는 산성 가수분해효소를 많이 함유하고 있어서 탐식된 이물을 소화시키는데 그 기능이 있다는 것은 확실하다. 그러나 면역기전에 있어서 많은 관계를 하고 있는 세포로 알려진 임파구에서는 그 역할이 분명하지 않다. 특히 임파구는 호중구처럼 능동적인 이물의 처리를 위한 탐식작용은 하지 않는 세포로 알려져 있는 만큼 이 세포에 있어서의 lysosome 의 역할은 의문의 여지가 많다고 생각이 된다. 상기한 여러 실험의 결과와 본 실험에서 행한 비항원성 물질인 gentian violet 과 methylene blue 를 주사하였을 때 역시 azurophil 과립을 함유한 임파구가 증가한다는 사실로 미루어 볼때 면역기전과의 관계로 설명하기는 곤란하다. 즉 이 문제는 단순히 임파구가 면역기전에 관계한다는 사실만으로 해결하기는 불가능한 일이며 임파구가 면역기전에 어떤 부분을 맡고 있으며 더우기 나아가서는 세포내 소기관들이 비교적 적은편인 임파구내의 소기관들이 이 기전에 어떻게 작용하고 있

는지에 대해서는 더우기 알려진바 없다. 다만 이때까지의 관찰결과와 또 본 실험의 결과 여러가지 조건하에서 이 과립을 함유한 임파구가 증가한다는 것은 확실하며 더우기 본 실험에서 비항원성물질을 주사했을 때 증가한 사실등은 이 과립이 이물처리와 깊은 관계를 가지는 것이라고 생각한다. 그러나 현재까지의 보고에 의하면 임파구는 면역학적 기억과 세포항체와 관계가 있는것은 분명하나 항체생산에 관한 문제는 아직 분명치 않다.

본 실험에서 나타난 세포질내에 작은 vesicle 의 의의에 대해서는 과거의 문헌이 거의 없으며 또 닭의 임파구에서는 정상적으로 이러한 vesicle 이 많이 나타나는지에 관해서도 거의 문헌들이 없다. 다만 Huhn 과 Stich¹¹⁾의 저서에서 인체의 임파구에 이러한 vesicle 이 많이 나타난다고 보고하고 있을 뿐이다. 닭에서 관찰된 이것의 크기는 실험성적에서 밝힌 바와같이 100~250Å 정도로서 단위막으로 싸이고 내용물은 대체로 투명한 것으로 보아 pinocytosis 란 과정에 의해서 형성된 pinocytotic vesicle 이라 생각한다.

결 론

닭의 순환임파구에 출현하는 azurophil 과립의 본태의 일면을 규명할 목적으로 이 과립의 연령에 따른 소장과 그 출현율을 조사하고, 나아가서 이 과립의 전자현미경적 특성과 이물에 대한 태도를 관찰하고 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. azurophil 과립을 가진 임파구는 부화적후 부터 말초혈액내에 약간 출현(0.004%)하기 시작하며, 그후 점차 증가하여 성계에 이르면 포유동물에서 보다 고투율로 나타난다.
2. 이 과립은 전자현미경상 크기와 내용물에 여러가지 차이가 있으나, 그 특성은 모두가 de Duve 의 lysosome 의 범주에 들어간다.
3. gentian violet 및 methylene blue 등 비항원성 물질을 정맥내로 주입하면 이 과립을 가진 임파구가 순환혈액내에 증가한다.
4. 이상의 연구결과로 보아 이 방면의 연구자료로는 닭이 좋은 실험동물이며, 비항원성 물질의 주입으로 인하여 이것이 증가하는 것으로 보아 이 과립은 세포내 이물처리와 밀접한 관계가 있다고 생각된다.

謝辭:

이 논문을 처음부터 끝까지 지도 및 격려하여 주신

하 성진 교수님과 손태중 교수님, 그리고 특히 전자현
미경적 실험에 적극 협조해주신 홍순덕 교수님께 심

심한 사의를 표하며, 본 연구를 시종 협조한 이재현
조교에게 감사하는 바이다.

Figures

Photomicrographs (Fig. 1—2) were prepared from blood smears stained with giemsa solution.

Electron micrographs (Fig. 3—9) were prepared from sections of lymphocytes stained with uranyl acetate and lead citrate.

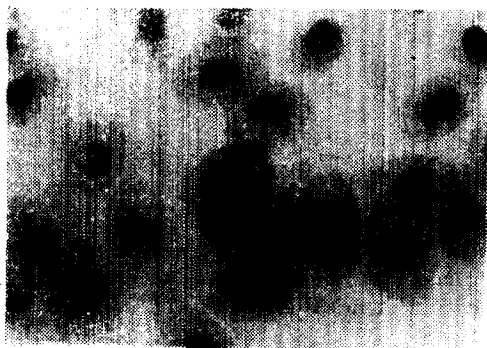


Fig. 1. Smear of chicken peripheral blood showing lymphocytes. Nucleus show coarse chromatin patterns and few irregular-shaped granules are aggregated in one pole of the cytoplasm. $\times 820$

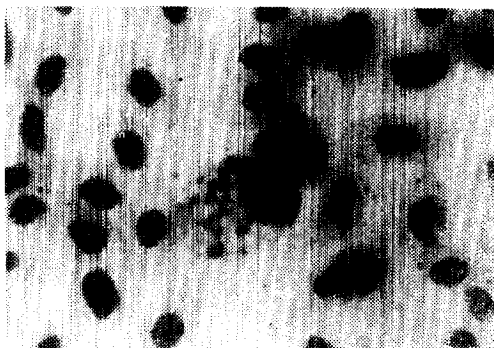


Fig. 2. Smear of chicken peripheral blood showing lymphocytes. Oval shaped nucleus with coarse chromatin pattern is eccentrically located. In the cytoplasm, larger granules and few vacuoles are shown. $\times 820$

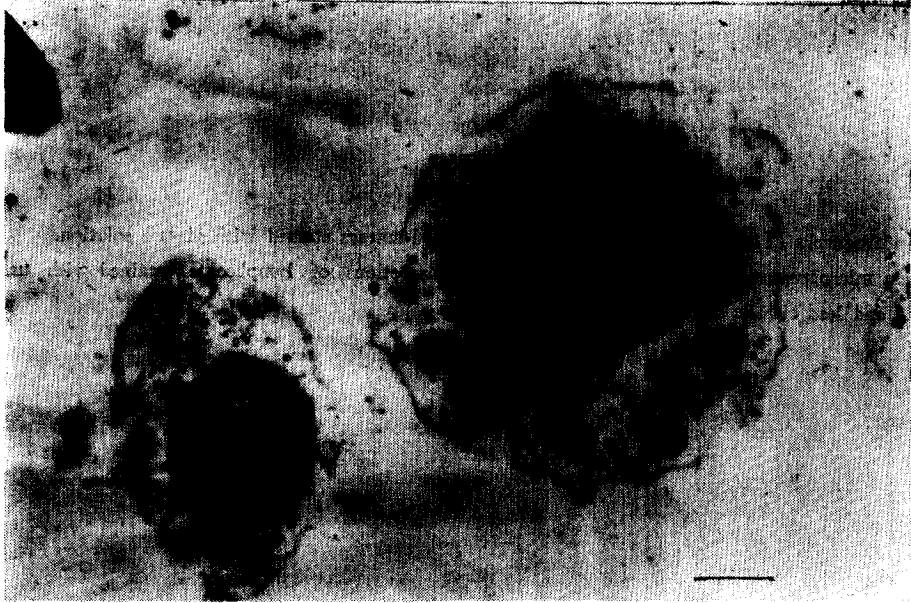


Fig. 3. Lymphocytes, chicken peripheral blood. Round nucleus (N) with few condensation of chromatin especially near the nuclear envelope: Few dense granules (Ly), with homogenous, electron dense and granular contents, are considered as azurophil granules. Numerous small vesicles and grains throughout cytoplasm are also noted. $\times 11,000$



Fig. 4. Lymphocyte, chicken peripheral blood. Oval nucleus shows relatively homogenous chromatin patterns. Cytoplasm contains few organelles; dilated cisternae of endoplasmic reticulum, mitochondria, and numerous small vesicles; few lysosomes show marked variation in size and density and the largest one shows nipple like projection in its surface and contains few lighter vacuoles so that it is considered as autophagic vacuole. $\times 15,000$



Fig. 5. Lymphocyte, chicken peripheral blood. Nucleus shows few condensation of chromatin pattern. Other features are closely similar to Fig. 4, but large lysosome contains less homogenous content. X11,000

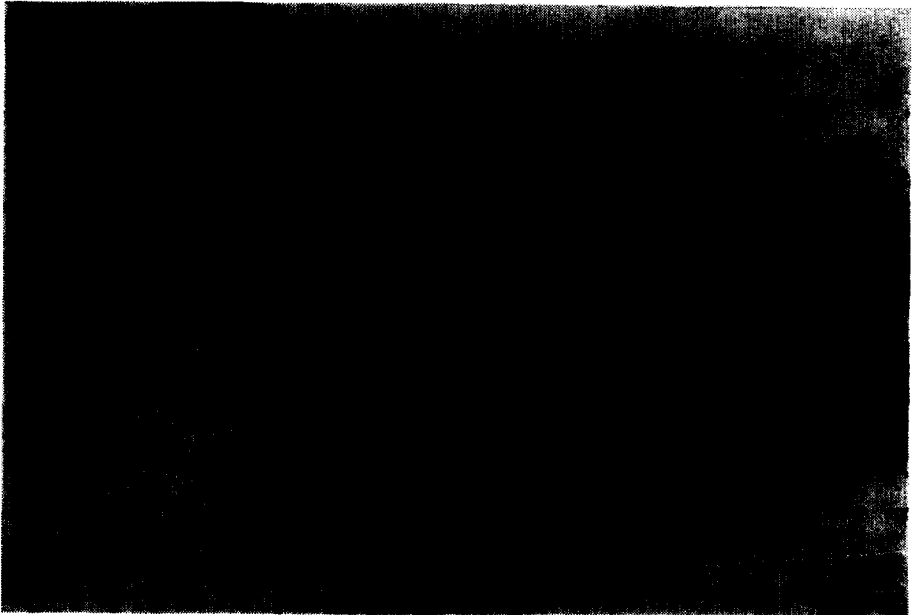


Fig. 6. Lymphocyte, chicken peripheral blood. Features are same as Fig. 7, but the largest one hosws few vacuoles and considered as autophagic vacuole. Another lysosome (upper left) shows myelin-figure like structures. X11,000



Fig. 7. Lymphocyte, chicken peripheral blood. Large nucleus occupies almost all cytoplasm. Few lysosomes and small vesicles are present. $\times 11,000$



Fig. 8. Lymphocyte, chicken peripheral blood. Oval shaped nucleus with condensation of chromatin; few lysosomes show multivesicular or myelin-figure like structures. $\times 11,000$



Fig. 9. Lymphocyte, chicken peripheral blood. Round nucleus; few lysosomes contain myelin-figure like structures; few dilated sacs of endoplasmic reticulum. $\times 11,000$

참 고 문 헌

1. Bessis, M.: Cytology of the blood forming organs. Grune-Stratton, New York. 1956.
2. Bessis, M. and Kurtz, S.M.: Electron microscopic anatomy. Acad. Press, New York. 1964.
3. Biester, H.E. and Schwarte, L.H.: Diseases of Poultry. The Iowa State college press. 3rd. Ed. 1952.
4. Canizares, P.C., Velez, D.A.: Estudio De las granulaciones azurofilas linfocitarias. Bol. Inst. Med. Biol. Mex., 1962. 20: 1.
5. Clemencon, G.: Lymphocytes with azurophilic granules, their relationship to infectious hepatitis. Germ. Med. Monthly, 1959. 4: 82.
6. de Duve, C.: From cytosomes to lysosomes. Fed. Proc., 1964. 23: 1045.
7. de Duve, C. and Wattiaux, R.: Functions of lysosomes. Ann. Rev. Physiol., 1966. 18: 435.
8. de Duve, C.: The lysosome concept. Symp. Lysosomes. Ciba Found. 1963.
9. Fawcett, D.W.: An atlas of fine structures. The cell, its organelles and inclusion. W.B. Saunders Co., Philadelphia. 1966.
10. Gordon, G.B., Miller, L.R. and Bensch, K.G.: Studies on the intracellular digestive process in mammalian tissue cells. J. Cell Biol., 1965. 41.
11. Huhn, D. and Stich, W.: Fine structure of blood and Bone marrow. J.F. Lehmanns Verlage Munchen, 1969.
12. Kriesten, K. and Enbergs, H.: Zur Ultrastruktur der Lymphozyten des Haushuhns. Blut. Eand. Seite. 1970. 299.
13. Kurtz, S.M.: Electron microscopic anatomy. Academic Press, New York. 1964.
14. Low, E.H. and Freeman, J.A.: Electron microscopic atlas of normal and leukemic human blood. McGraw-Hill Book Co., New York. 1958.
15. Novikoff, A.B.: Lysosomes and related particles. The cells. 1961. 2: 423.
16. Novikoff, A.B.: Lysosomes in the physiology and pathology of cells. Contribution of staining methods. Symp. Lysosomes. Ciba Found. 1963. 36.
17. Schalm, O.W.: Veterinary hematology. Lea and Febiger. 2nd Ed. 1965.
18. 森 善美: 電子顕微鏡による 淋巴腺内 細胞の研究. 第一編: 電子顕微鏡による 正常人 淋巴腺内細胞の研究. 九州血液研究同好會誌, 1960. 10: 221.

An Electron Microscopic Study on the Azurophil Granules Occurred in the Lymphocytes of the Chicken Peripheral Blood

Hwa Sik Kim, D.V.M., M.S., Ph. D.

Department of Veterinary Medicine, College of Agriculture, Kyungpook National University

Abstract

With an effort to clarify the nature of the azurophil granules which occasionally occur in the circulating lymphocytes, these granules were investigated by examining smear of the peripheral blood of the chickens in various stage of the individual growth and after injection of methylene blue and gentian violet. In addition, the fine structure of these granules were also investigated. The results were:

1. These granules were first occurred in the lymphocytes just after their hatching (0.004%). The proportion of lymphocytes containing these granules were increased with their growth and in adult chicken its occurrence was higher than mammals.
2. Marked variations in its fine structure, particularly in its size and contents, were noted but they were believed to belong to categories of lysosome of de Duve.
3. Lymphocytes containing azurophil granule were increased after injection of the non-immunogenic substances, such as gentian violet and methylene blue.
4. From the above results, chicken is better animal to study these granules because of its higher occurrence. They are believed to have intimate relationship with bodily cellular reaction against the foreign materials because they are increased after non-immunogenic stimuli.