대한수의사회지 제25권 제6호
J. Korean Vet. Med. Assoc.
Vol. 25, No. 6, June, 1989

綜 說

淋巴球循環에 관한 免疫病理學考察

鄭 雲 翼*

머리말

免疫應答에 관여하는 세포에는 淋巴系細胞와 單核食細胞系인 macrophage가 있다. 임파계세포는 균일한 세포군이 아니고 그 由來와 機能에 따라서 T-lymphocyte와 B-lymphocyte로 대별하고 있으며 이 以外에 natural killer세포도 있다.

이런 임파구세포는 태생기에 卵黃囊에 출현한 幹細胞가 혈류를 통해 간장, 비장을 경유한 다음 골수에 정착하고 여기서 分裂, 分化한 후에 포유동물에서는 胸腺 그리고 bursa fabricious에 해당되는 기관(편도선, 腸관련임파조직, 골수)으로, 鳥類에서는 胸腺과 bursa fabricious로 이동한다. 그후에 그곳에 微細環境下에서 여러가지 factor의 영향을 받아 가면서 독자적인 성숙process를 걸쳐 면역적성격을 획득한다.

이들 임파계세포들은 포유동물에서는 비장과 말초임파절에, 조류에서는 비장, 맹장, 임파절에 이행하여 각기조직장소에서 황원자극에 응답하여 항체생성세포인 形質細胞로 분화된다.

생체에 있어 면역응답세포군의 공급원 또는 기능적분화를 유도하는 흉선 및 bursa fabricious를 中樞淋巴系器官이라 하고 이 세포가 생체내에 순환하면서 최종적으로 정착하는 조직기관을 末稍淋巴系器官이라고 한다.

*味元畜產科學硏究所

淋巴球의 循環現象

말초임파계기관에 있는 임파구가 중추임파계기관으로 왕래하는데는 血管系와 淋巴管系를 경유해서 순환하는 것이다. 혈액속에서 순환중인 임파구는 말초임파계기관인 임파절에서 血管外로 나와 淋巴節實質로 빠져 나온 다음에 淋巴管경로를 통해 輸出淋巴管으로 이행한 다음 胸管을 거쳐서 左鎖骨下靜脈을 경유한 후에 大靜脈으로 들어가 결국은 血管內로 다시 돌아오는 임파구 특유의 순환로를 보유하고 있다. 그러므로 임파구는 2개의 순환로 즉, 血管系路와 淋巴管系路를 반복 왕래하면서 순환하는 것이다(그림 1).

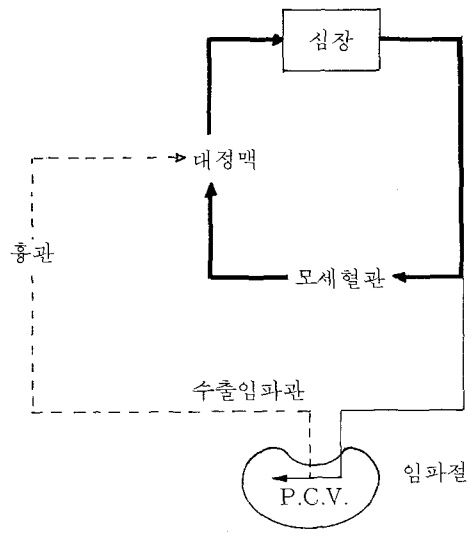

그림 1. 임파구의 순환로.

그런데 문제는 임파구가 혈액속에서 순환하다가 말초임파구조직내에 있는 血管에서 나올때 어떤 구조의 혈관에서 임파구의 血管外離脫現象이 일어나는가 하는것이 중요하다.

Bennet에 의하면 포유동물의 微小循環의 구조는 각종장기에 따라 차이가 있고 장기특유의 혈관구조가 있으며 또한 血管透過의 barrier가 되는 內皮細胞와 基底膜의 구조에 따라 세가지 基本型으로 분류하고 있다.

1. 내피세포, 기저막 다같이 완전히 연결하는 層으로 형성되었으며 내피상호간은 tight junction으로 연결하는 contineous type. 이 型은 血管透過能이 至難함 :
(피하조직, 횡문근, 중추신경조직, 폐장, 소화관평활근, 지방조직, 성기 등)

2. 내피세포와 연속되는 기저막은 없지만 내피세포벽을 관통하는 小孔을 지닌 fenestrated type. 이 型은 물질통과가 용이함 :
(내분비선기관, 신사구체 등.)

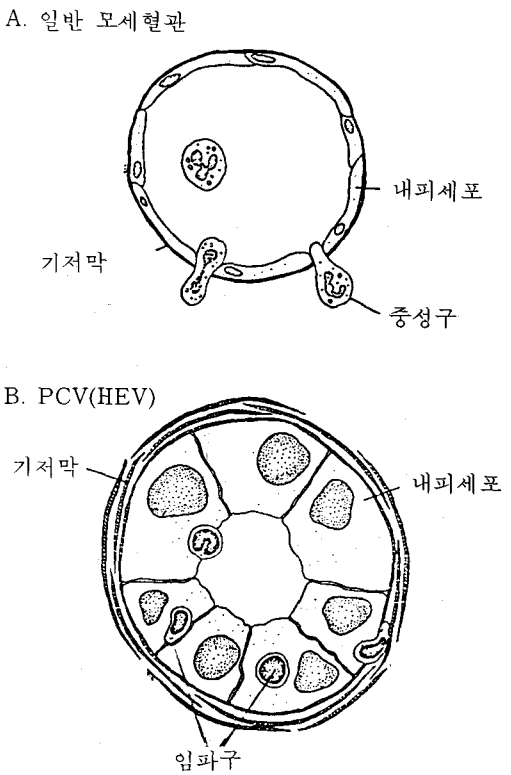

그림 2. PCV(HEV)의 구조.

3. 내피세포와 기저막과의 연속층이 형성되어 있지 않고 내피세포벽에 커다란 間隔이 있는 sinusoid type, 이 型도 물질통과 용이함 : (골수, 비장, 간장, 흉선, 임파절 등)

淋巴節은 이들 기본형중 제3형에 속하는 post capillary venule(PCV)이라고 하는 키가 큰 內皮細胞와 基底膜을 지닌 細靜脈性毛細血管으로서 일명 high endothelial venule(HEV) (그림 2)이 존재한다. 혈액을 통해 임파절에 들어온 임파구 이 HEV인 PCV의 내피세포에 鉤着한 다음 내피세포의 cytoplasm 또는 intercellular space를 통과하여 임파절의 실질로 빠져 나온다.

淋巴球循環의 特異性

임파구가 임파관계에서 혈관계로 流入하였다가 임파관계로 다시 回流하는 현상을 송아지에서 관찰하여 보면 송아지의 흉관으로 흐르는 임파액은 시간당 500ml가 된다고 추정하고 있으며 이 임파액 1.0ml속에는 임파구가 10^{-8}개가 들어 있다고한다.

이 흉관에 catheter를 넣어 임파액을 제거하면 수시간내에 임파구감소증이 일어난다. 이런 송아지의 임파조직을 검사하여 보면 임파절의 paracortical zone의 임파구가 소실되고 있었다. 이것은 흉관의 임파구가 임파조직으로 재순환(recircling)되고 있음을 조직학적으로 입증하고 있는 것이다. 임파구는 흉관에서 vena cava로 들어갔다가 임파조직으로 다시 돌아오는데 2~12시간밖에 소요되지 않는다.

임파구의 혈관외이탈은 임파절의 paracortical zone에 있는 high endothelial venule인 post capillary venule에서 일어난다.

또한 recirculation하는 임파구의 대부분은 T-lymphocyte인데(표 1) 이 T-lymphocyte의 일부는 임파절에 돌아오지 않고 폐장 및 intestine에 머물기도 한다. 이 임파구가 다니는 길 즉, 재순환로는 대단히 선택적이어서 임파구가 혈관에서 빠져 나가는데는 아무 혈관에서 나갈수 있는

것이 아니고 통상적으로 전술한 HEV에 한정되고 있다. 그리고 이 임파구의 走行도 一方向性 즉, 血管外에서 淋巴管內로 走行하는 것이 원칙이며 그 반대방향으로는 절대로 주행하지 못한다(그림 1. 참조). 이 HEV를 통한 임파구주행은 대단한 규모에서 1.0g상당의 송아지 임파절조직을 통과하는 임파구수는 매초 10^{-5}개로 추정되며 항원자극을 받은 임파절인 경우에는 매초 10^{-8}개에 이른다고 한다.

임파구의 재순환교통은 임파구에 있어서 특이적인 것이어서 임파구이외의 백혈구는 HEV를 관통하지 못한다. 임파구중의 T-lymphocyte, B-lymphocyte 다같이 HEV를 관통하지만 전술한바와 같이 T-lymphocyte가 주이다. 이 현상은 한정된 수의 임파구 clone을 생체내에서 항상 재순환시켜서 어느때 어느곳에서든지 외래성항원에 대응하는데 필요한 clone을 조달하여 최대한으로 활용할 수 있도록 한 免疫機構의 한 현상이다.

Miyasaka에 의하면 대동물에서는 이미 태생기에서 이런 현상이 증명되고 있으며 면역학적으로 대단히 중요한 역할을 하고 있음을 시사하고 있다. 면양을 사용한 실험에서 나타난 성적을 보면 재순환현상에는 모종의 규칙성이 있는데 腸管系의 임파조직을 통과한 임파구는 장관계로(intestinal pool), 그 이외의 임파조직을 통과한 임파구는 장관계이외의 임파조직(nodal pool)으로 순환하고 있다(그림 3).

표 1. 각종 동물의 말초 혈액속에 있는 T임파구와 B임파구 출현비율

동물종	T임파구	B임파구
소	30%	20%
양	검출불능	20
돼지	32	12
개	35	50
고양이	30	30
닭	57	40
사람	80	20
마우스	90	10

淋巴球의 Recirculation mechanism

임파구재순환특이성에 있어 임파구가 HEV를 경유하는 대규모 그리고 특이적인 교통을 임파구와 HEV의 내피세포표면에 존재하는 receptor와 ligand에 의해서 일어나는 현상이라는 것이 New York대학의 Woodruff학파와 Standford대학의 Butcher, Weisman학파들에 의해서 명확하게 밝혀져 가고 있다.

Woodruff학파의 Chin 등은 임파구재순환현상

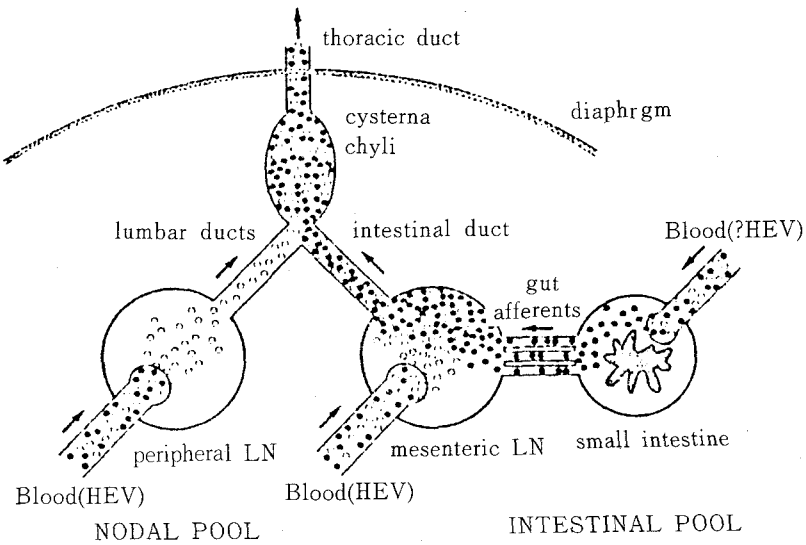

그림 3. 임파구재순환의 2개 pool.

의 제일단계인 임파구의 HEV接着을 *in vitro*에서 재현할 수 있는 實驗방법을 개발하는데 성공하였다. 즉, HEV가 함유한 임파조직의 凍結切片과 신선한 임파구를 혼합한 후에 incubate하여 임파구가 HEV에 특이적접착이 일어나느냐 하는것을 증명하는 방법인데 그들은 이방법으로 Rat에 있어서 임파구와 HEV와의 상호작용을 특이적으로 阻害하는 因子가 임파액속에 존재하고 있음을 증명하였다. 그리고 이 인자는 複數의 인자로 되고 있는데 그 하나는 임파구가 임파절내의 HEV에 접착을 방해하나, 장관임파조직 특히 payer板의 HEV에 접착을 방해하지 않은 인자이고 다른 하나는 이와 반대로 intestinal pool인 payer板의 임파조직내의 HEV에 대한 임파구접착을 방해하면서 node pool인 임파절내 HEV에 대한 임파구접착을 방해하지 않은 인자인데 이 두가지 인자가 임파액속의 glycoprotein속에 함유되고 있음을 보고 하였다. 그들은 이 방해인자를 정제한 다음 각 인자에 대한 monoclonal antibody를 만들었다. 그리고 이 인자의 monoclonal antibody가 임파구의 HEV접착을 특이적으로 방해하고 있음을 입증함과 동시에 임파절내 HEV접착에 필요한 임파구의 세포막표면 물질(high endothelial binding factor, HEBF-LN)은 S-S결합으로 연결되지 않고 있는 분자량 각각 135, 63, 40kd을 지닌 세가지 polypeptide로 구성되어 있고 腸管 payer板의 HEV에 접착하는 임파구의 세포막표면 물질(HEBF-PP)은 분자량 80 kd 의 glycoprotein임을 밝혀 냈다. 그래서 Woodruff학파들은 이런 사실로 해서 전술한바와 같이 조직특이성을 지닌 임파구의 재순환현상을 조직특이성의 HEV의존재와 이 HEV의 내피세포표면에 나타나고 있는 항원과 이를 認知하는 임파구세포표면에 있는 binding receptor의 상호작용의 결과로 나타난다고 설명하고 있다.

Duijvestijn 및 Butcher를 비롯한 Weisman학파들은 mouse임파구로 rat를 면역시켜서 mouse lymphocyte세포표면항원에대한 monoclonal antibody의 pannel를 작성하고 그 중에서 Woodruff학파들이 개발한 assay법을 이용하여 mouse lymphocyte의 임파절 HEV(HEV, LN) 접착을 방해하는 반면에 Payer板HEV(HEV, PP) 접착을 방해하지 않은 monoclonal antibody, MEL-14를 발견하였다. 이 MEL-14를 인지하는 인자는 재순환현상을 나타내지 않는 흉선임파구, 골수내임파구의 세포표면에는 없고 또한 임파조직내 있는 항원자극을 받은 活性化 B-lymphocyte나 HEV에도 나타나지 않고 있다. 오로지 말초혈액속에 있는 임파구에만 강하게 나타나고 있다.

또 MEL-14로 인지되는 항원을 지니고 있지 않은 clone化된 임파구는 마우스에 정맥주사하였을때 임파구재순환현상이 일어나지 않은 사실로서 MEL-14로 검출된 항원분자(접착인자, 분자량 85-90kd, 당단백)를 lymphocyte homing receptor로 命名하고 이것이 임파구가 조직특이적 HEV를 인지하고서 접착할때 필요한 receptor라고 주장하고 있다.

그들은 더욱이 λgt 11, bacteriophage library를 MEL-14로 screening하므로서 3종의 cDNA clone을 單離하는데 성공하였는데 이것은 ubiquitin을 code한 단백질이었던 것이다. 또 MEL-14의 처리로 얻어진 정제항원의 아미노산분석결과도 이를 지지하는 물질이라는 것이다. 이 물질은 2개의 N末端을 지니고 있는데 그중의 하나가 ubiquitin의 N末端과 동일한 물질이었다. 그리고 또 하나는 MEL-14는 單離된 ubiquitin 또는 임파구이외의 다른 세포표면의 ubiquitin과는 결합하지 않는다. 그러나 단백분해를 받은 ubiquitine의 여러가지 fragment과의 반응으로 보아 ubiquitin의 c末端에 있는 13개의 아미노산을 인지하는 물질임이 밝혀 졌다. ubiquitin은 송아지 흉선에서 최초로 주출되어 발견된 것인데 아미노산 76개로 형성된 분자량 845/dalton의 작은 polypeptide이며 생체내에 있는 단백질의 수명에 관계하는 물질로 알려지고 있으나 아직도 생체내에서의 역할이 잘 파악되지 않고 있는 물질인데 그렇다 해도 각가지 조직의 세포내에 보편적으로 존재하고 있을뿐만 아니라 細胞種을 초월하여 그 구조를 세

포속에 잘 보조하고 있다는 사실로서도 생체에 매우 중요한 polypeptide임에 틀림없다. 또한 ubiquitin에 대한 MEL-14 이외의 monoclonal antibody도 각가지 세포의 표면에 결합하는 점으로 보아 ubiquitin은 세포내부뿐만 아니라 세포표면에도 보편적으로 분포하고 있는 것이며 MEL-14를 인지하는 분자와 같은것이 또 다른 ubiquitin化된 機能分子가 다수 존재할 가능성이 있다고 보아야 한다.

lymphocyte homing receptor를 구성하는 ubiquitin이외에 다른 polypeptide에 관해서는 아직 불명상태이며 그리고 ubiquitin의 어떤 분자가 어떻게 결합하고 있는지도 불명상태이다. MEL-14는 이 polypeptide와도 결합하지 않고 있다. 전술한바와 같이 ubiquitin은 생체조직에 보편적으로 존재하는 물질임에 불구하고 MEL-14가 인지하는 것은 마우스의 임파구표면에 존재하는 ubiquitin이 함유한 glycoprotein에 한하는 점으로 미루워 보아 MEL-14가 인지하는 분자의 항원성을 confirmation의 변화에 따라 조절되고 있다.

따라서 MEL-14는 lymphocyte homing receptor의 HEV접착에 관여하는 Domain에 존재하는 ubiquitin을 인지하는 monoclonal antiboey인데 아직도 그 本體에 대해서 불명한 점이 많다.

또 이들 receptor에 대응하는 HEV의 ligand에 대한 지견도 아직 부족한 형편이다. 최근 Standford대학의 Butcher 등은 Mouse의 HEV에 대한 특이적인 monoclonal antibody인 MECA-325, 제조에 성공하였는데 이 항체가 임파구의 homing receptor와 동일한 기능구조를 지닌 인자를 recognition하고 있음을 보고하였는데 그들은 *in vitro*에서 株化된 폐장 및 골수유래내피세포가 γ-interferon과 같이 배양하면 HEV에 특이적인 monoclonal antibody MECA-325에 인지되는 항원이 출현한다고 하였다(표 2).

또한 그들은 사람의 HEV에 대한 monoclonal antibody인 HECA-452를 제조하였고 이 HECA-452는 사람의 임파조직내의 paracortical

표 2. IFN로 처리된 배양한 내피세포에 나타난 MECA-325인지된 항원

세포주	항 체	HEV출현			
		미처리	IFN-B	IFN-γ	IL_1
LE-Ⅱ	MECA-20	+	+	+	+
LE-Ⅱ	MECA-325	−	−	+++	−
LE-Ⅱ	대 조	−	−	−	−
MCC	MECA-20	+	NT	+	−
MCC	MECA-325	−	NT	+++	−
MCC	대 조	−	NT	−	−
L-929	MECA-325	−	NT	−	−

표 3. 임파조직내의 HECA-452에 인지된 HEV

조직	검사수	내피세포	기 타
Lymph node	8	HEV	Monocytic cells
Tonsil	8	HEV	Monocytic cells
Appendix	3	HEV	Monocytic cells
Spleen	3	None	Monocytic cells, mainly in red pulp
Thymus	3	None	None
Cerebullum	2	None	None
Lung	2	None	Alveolar monocytic cells
Thyroid	3	None	None
Liver	2	None	Bile ducts, canuliculi, Sinusoids
Pancreas	2	None	Duct epithelium
Muscle	2	None	None
Skin	2	None	Monocytic/dendritic cells
Umbilical vein	2	None	None

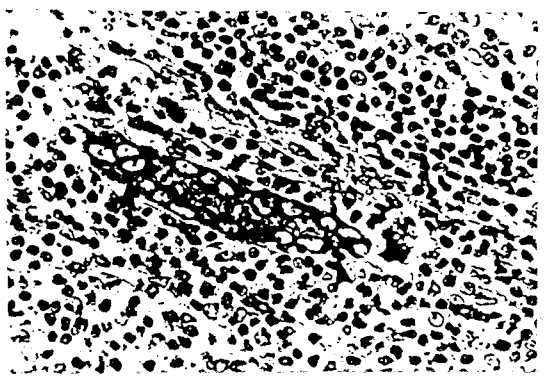

그림 4. HECA-452 항체에 반응한 임파절내의 HEV

zone에 나타나는 HEV(그림 4)의 ligand에 특이적으로 반응한다는 사실을 발표하였다(표 3).

炎症組織內의 淋巴球浸潤

모종의 염증조직 예를 들자면 拒絶되어 가는 移殖組織이라든가 Rheumatism 성관절염환자의 관절조직에는 淋巴球의 대규모 集積이 나타나고 있는데 이런 염증조직내의 淋巴球浸潤는 염증부위에 생성된 모종의 물질이 局所에 존재하는 小靜脈을 HEV化시키므로 임파구가 선택적으로 염증局所에 동원되는 것이라고 Butcher 등은 면역병리학적으로 해석하고 있다. 전술한바와 같이 株化된 마우스의 폐장유래 및 골수유래의 내피세포가 interferone과 같이 *in vitro*에 배양하면 그 내피세포표면에 HECA-452항체에 인지되는 항원이 나타난다는 실험성적을 보아도 알 수 있다. 또 *in vivo*로 Freund adjuvant에 誘起된 염증조직에 통상적으로 임파조직에서만 존재하는 MECA-325 陽性의 小靜脈(HEV)이 發現한 사실를 발표하였다. 이런 사실로 보아 염증조직내의 소정맥에 임파구접착한후 임파구의 血管外遊出를 야기하는 HEV의 성질을 유도하는 인자가 염증극소에 생성되어 나타난 현상이라고 하였다. 또 그들은 표 4에서 보는바와 같이 1988년에 HECA-425항체의 특이성에 관한 일련의 실험과정에서 thyroditis, Graves氏病, Hashimoto氏病, Crohn氏病 같은 自家免疫疾病 그리고 pseudolymphona에서 임파조직이 아닌 다른 장기조직에서 HECA-452陽性의 小靜脈이 출현하는데 염증과정에서 소정맥이 모종인자로 인해서 HEV化되어 염증극소에 임파구를 대량 침윤시킬 수 있음을 입증하고 있다.

표4. 염증조직내의 HECA-425 양성소정맥 출현상황

질병	양성수/검사수	혈관
Autoimmune thyroiditis:		
Grave's disease	3/3	HEV
Hashimoto's disease	2/3	HEV
Crohn's disease	2/2	HEV
Lupus erythematosus	0/8	–
Pseudo lymphoma benigna cutis	2/2	HEV
Lichen planus	0/10	–
Acute detmatitist	0/2	–
Chronic dermatitis	0/7	–
Peptic ulcers	0/2	–

이 假說은 前述의 염증조직, 多發性硬化症患者의 염증조직 및 髓液속에 다수 침윤하는 임파구의 동원 그리고 가축에 있어서 Mycoplasma synoviae 감염닭의 관절부극소에 Rheumatis인자가 생성된 후에 임파구가 집적되는 사실, Mycoplasma hyoneumoniae에 감염된 돼지에서 macrophage내에 있는 mycoplasma antigen이 세포면역반응을 지속적으로 자극하여 Cuffing pneumonia를 유발하고 이곳에 T-lymphocyte를 동원시키고 그리고 이 T-lymphacyte의 blast化 등을 야기 시키면서 때로는 自家免疫疾病의 組織表現를 나타나는 현상을 해명하는데 매우 유익한 것이다. 물론 이것만 가지고 病的상태에 있는 모든 임파구침윤을 다 설명할 수는 없으나 免疫病理學的으로 매우 중요한 사실이며 앞으로 HEV化를 유도하는 因子의 本體를 규명하여야 할것이다.

淋巴球의 Homing receptor 이냐 또는 Binding receptor이냐

Weisman 학파들이 임파구의 재순환현상을 보고 임파구의 homing receptor라는 표현으로 발표하였는데 "homing"이라는 말의 뜻은 임파구에는 定住할수 있는 집이 있고 그 집을 떠난후에 다시 집으로 돌아 온다는 뜻이 된다. 그러나 임파구의 재순환현상에는 일정한 규칙성은 있으나 임파구의 특정한 집이 있다는 증거는 없다.

임파구는 中樞性淋巴器官에서 생성되어 末稍淋巴器官으로 移住하는데 이 移住 과정에서 무엇인가의 Priming을 받은 후로 부터 일정한 규칙성을 갖고 재순환하는 것으로 보여진다. 그러나 이 규칙성이 일단 결정되면 不變性이 되는것인지 또

한 항원자극에 의해서 변화할수 있는 것인지 아직 분명치 않다. 따라서 현시점에서 볼때 임파구의 HEV접착에 필요한 인자를 "homing receptor"로 부르기 보다는 Woodruff학파들이 주장한 대로 "HEV binding receptor"로 부르는 것이 타당하며 또한 오해의 소리도 없앨수 있을 것이라고 Miyasaka는 말하고 있다.

임파구이외의 세포도 胚기관에 있어서 生殖細胞나 신경세포가 각자 原基로의 遊走現象에서 보듯이 규칙적인 遊走와 세포접착이 일어나고 있는 사실은 좋은 사례가 된다. 異細胞사이에 접착을 통한 상호작용은 생체유지를 위한 기본적이고 중요한 mechanism의 하나인 것을 생각할때 긍정되는 사실이다. 최근 임파구에는 세포상호작용에 중요한 역할을 하는 LFA항원 등 세포 상호작용 분자의 존재가 있음을 밝혀져 가고 있고 이 분자와 HEV binding receptor의 관계 등도 검토하고 있다.

맺은 말

임파구는 두개의 순환로 즉, 혈관계로와 임파관계로를 반복 왕래하면서 순환하는데 혈관계로에서 임파관계로 이행하는 과정에서 임파구가 血管外離脫이 임파조직의 소정맥인 high endothelial venule에서 이루워진다.

혈류에 있는 임파구에는 HEV를 인지하는 接着因子(*homing receptor, binding receptor*)가 있어 이 인자로 인하여 임파구가 HEV에 접착함으로써 혈관밖으로 유주하여 임파관계로 들어간다. HEV내피세포에 대한 monoclonal antibody인 MECA-325와 HECA-452를 이용하여 임파구의 재순환로를 검토한 결과 임파구의 재순환에 있어서 두개의 pootl이 있는데 그 하나는 장관계임파조직을 통과한 임파구는 장관계임파조직으로 回流하는 intestinal pool 이고 다른 하나는 다른 임파조직을 통과하는 nodal pool이다. 이들 두개의 pool로 왕래하는 임파구는 규칙성이 있게 하나의 pool를 선정해서 재순환한다.

그리고 염증조직에 나타나는 임파구의 침윤현상은 염증극소에서 생성된 모종의 액체인자가 PCV를 HEV화 시키므로서 임파구를 集積케한 결과로 나타난 것임이 입증되었다.

임파구의 순환에 관한 면역병리적연구는 임파구의 세포표면에 있는 receptor에 대한 본체를 파악하고 이것의 기능이 더 구체적으로 밝혀야 virus성 병변에 동원되는 임파구의 기능이 해명될 것이다.

참 고 문 헌

1. Bennet, H. S. *et. al*: Am. J. Physiol, 196: 381~390, 1958.
2. Butcher, E. C. *et al*: Curr, Top. Microbiol. Immunol., (1986). 128: 85~89.
3. Chin, H. E. *et al*: J. Immunol. 139: 2556~2561, 1986.
4. Duijvestijn, A. M., *et al*: Proc. Matl. Acad. sci., 83: (1986). 9114~9118.
5. Duijvestijn, A. M., *et al*: J. Immunol, (1987). 138: 713~719.
6. Duijvestijn, A, M., *et al*:Am, J. Pathol. (198). 130: 147~155.
7. Finley, D., *et al*: Cell. (1984). 37:43~45.
8. Gallatin, M.; *et al*: Cell. (1980). 44: 673~680.
9. Jalkanen, S. T.; Science. (1986). 16: 1195~1202.
10. Jalkanen, S. T.; Science. (1986). 556~558.
11. Miyasaka, M.*et al*: Immunol. Rev. (1986). 91: 87~1114.
12. Miyasaka, M.; Expt. Med. (1988). 5: 83~85.
13. Picker, L. T., *et al*: Am, J. Immunol. (1985). 130: 496~504.
14. Rasmussen, R. A., *et al*: J. Immunol. (1985). 135: 19~24.
15. Siegelman, M., *et al*: Science. (1986) 233: 845~840.
16. St John, T., *et al*: Science. (1986). 221: 823~849.
17. Tizard, I.,: Veteriuary Immunology 65~69, Saunder Co. New York, 1982.
18. Weisman, I. L., *et al*: Eur. J. Immunol. (1980). 10: 556~559.
19. Weisman, I. L., *et al*: Nature. (1983). 304: 30~39.