

폐렴우와 *Klebsiella pneumoniae* 실험적 감염 랫드의 기관 및 기관지 점막층에서 Globule leukocyte의 출현양상

박상준 · 이차수* · 정규식

KIST 생명공학 연구소
경북대학교 수의과대학*
(1997년 9월 5일 접수)

Appearance of globule leukocytes in tracheal and broncheal mucosa in Korean native cattle with pneumonia and rats experimentally infected with *Klebsiella pneumoniae*

Sang-joon Park, Cha-soo Lee* , Kyu-shik Jeong

Genetic Resources Center, Korea Research Institute of Bioscience & Biotechnology, KIST, Taejeon
College of Veterinary Medicine, Kyungpook National University*

(Received Sep 5, 1997)

Abstracts : The study was aimed at identifying the globule leukocytes (GL) of tracheal mucosa layer of Korean native cattle showing symptom of pneumonia which have died as enterotoxemia and normal Korean native cattle in Kyungpook local area. In another set of experiment, Isolated *Klebsiella pneumoniae* from suddenly died cattle specimens was subjected to rat for a determining globule leukocyte appearance by using histochemical and immunohistochemical method. In histochemical study, globule leukocytes generally was existed in all the case of postmortem of Korean native cattle and 3 heads of slaughtered cattle which showing symptoms of pneumonia and it showed significant increase in tracheal mucosa of rats experimentally infected with *Klebsiella pneumoniae*. These increased number of globule leukocytes was moderately remained on early infection stage and gradually decreased in time-dependent manner after infection. The granule patterns were also determined as an acid-mucopolysaccharide. In immunohistochemical study, serotonin intensity in the treacheal mucosa-epithelial cells of rat experimentally infected observed a strong immunoreactivity during early infection and gradually decreased in dependent of infection stage while no IgE immunoreactivity observed. These data show that globule leukocytes were increased in a pneumonia, therefore it was considered as a valuable cell that was associated with early stage of inflammatory response.

Key words : globule leukocyte, *Klebsiella pneumoniae*, Korean native cattle, pneumonia, immunohistochemistry.

서 론

Globule leukocyte(GL)는 주로 장점막상피세포간에 출현하는 세포질내 호산성의 과립을 가진 비상피성 세포로써 핵은 주로 원형내지 난원형으로 나타나고^{1,2}, 특히 기생충 감염시 현저히 증가한다고 보고되어 있으나³⁻⁶ 기원이나 기능에 대하여서는 잘 알려져 있지 않다. Mjassojedoff⁷는 반추수의 십이지장 선상피세포간에서 Rogosina⁸는 어류의 소화기점막상피세포간에서 Toner⁹는 조류의 소장점막상피세포간에서 GL을 각각 보고한 바 있다. 또한 Dawson¹⁰과 Hole¹¹는 고양이의 방광점막상피세포층과 양의 담관점막상피세포층에서 각각 보고한 바 있으며, Toro¹²는 이들 포유류 뿐만 아니라 파충류와 양서류에서도 보고한 바 있다. Taliaferro와 Sarles¹³는 랫드에 *Nippostrongylus muris*를 감염시킴에 의해서 GL이 소장점막상피층에서 증가하였다고 보고하였다. Kirkman¹⁴은 방광에 *Trichosomoides crassicaudatus*를 감염시킨 랫드의 방광이행상피세포간에서 이들 세포를 보고하였으며 Rahko¹⁵는 *Fasciola hepatica*에 감염된 소와 양의 담관상피세포간에서 GL이 출현한다고 하였다.

기생충 감염이외의 보고로는 Bruyn¹⁶이 신결석 유발사료를 투여한 비비(baboon)의 신장곡세뇨관상피세포간에서 GL이 출현한 것을 보고하였으며 Cantin과 Veilleux^{17,18}는 마그네슘결핍 사료를 투여한 랫드의 요관상피세포간에서 사료급여후 15일에서 30일 사이에 GL이 현저히 증가하였다고 하였다. Robert *et al*¹⁹은 사람에게 있어서 만성 사구체신염과 신우신염시 신세뇨관상피세포에서 이들 세포가 출현한다고 하였다. 한편 Heine과 Schaege²⁰는 정상 마우스 태반의 탈락막 및 인간의 점막상피와 진피의 종양에서 이들 세포를 관찰하였으며 Vandenberghe와 Baert²¹는 랫드의 소장점막상피세포간에서 정상적으로 이들 세포가 출현한다고 하였으나 4주령이하 랫드의 기관점막상피세포간에서는 GL이 나타나지 않으며 외부항원에 노출시 GL이 출현한다고 생각하였다. 한편 Ike-da와 Yamashina³⁸는 정상 랫드의 기관점막상피세포간에서 GL의 serotonin과 IgE 산생여부를 알아보기 위해 면역조직화학적 방법으로 추구하였던 바 정상 랫드에서 serotonin 양성세포인 것은 밝혔으나 IgE 산생여부에 대해서는 음성을 나타내었다.

따라서 본 실험에서는 병적상태시 GL의 출현양상을

알아보기 위하여 경북 모지역에서 발생되고 있는 급성 폐사 한우중 폐렴소견을 보이는 한우의 기관지점막상피세포간에서 GL을 동정한 바 이들 폐사한우를 비롯한 도축한우의 기관지점막층에 출현하는 GL의 출현양상과 급성폐사우 발생지역의 한우에서 분리된 *Klebsiella pneumoniae*를 랫드에 실험적으로 감염시킨 후 랫드의 기관 및 기관지점막층에서 염증시 GL의 출현빈도와 이들을 조직화학적 및 면역조직화학적으로 관찰하여 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

공시동물 : 경북 모지역에서 장독혈증으로 폐사된 한우 18두와 도축한우 20두 및 4~5주령의 암컷 SPF Wistar 랫드 45두를 생명공학연구소(KIST)에서 분양받아 실험에 공하였다.

실험균주 : 본 실험에 사용된 균주는 급성으로 폐사된 한우가 발생한 경북 모지역의 소의 비강으로부터 분리된 *Klebsiella pneumoniae* (*K pneumoniae*)로서 경북대학교수의과대학 전염병학교실에서 분양받아 Brain heart infusion broth(Difco)에 접종하여 37°C에 24시간 배양한 것을 사용하였으며 균수는 8.8×10^6 /ml이다.

실험방법 : *K pneumoniae* 감염실험에 사용된 랫드는 체중이 150g 내외의 SPF Wistar 랫드로서 *K pneumoniae*를 투여한 랫드실험군을 5개군으로 나누어 균배양액 0.3ml씩 기관내로 주입한 후 감염 1일(group 1), 3일(group 2), 6일(group 3), 10일(group 4), 21일(group 5)로 나누어 임상증상을 관찰하였고, 대조군은 동일한 방법으로 생리식염수를 기관내로 처치한 후 실험군과 동일한 시기별로 실험에 공하였다. 실험군은 각각 5두씩 두었고 대조군은 각각 4두씩을 두어 polycarbonate cage에서 실험동물용 방사선 멸균사료(생명공학연구소)와 수돗물을 고압멸균한 음수(생명공학연구소)를 자유섭식케 하였으며 대조군은 별도로 분리사육하였다.

병리조직학적 관찰 : 한우의 폐와 실험계획에 따라 랫드를 ether 마취하에 방혈시켜 도살해체한 후 기관과 폐조직을 육안적으로 관찰하고, 이들 조직을 절취하여 Bouin액 및 10% 중성 포르말린에 고정된 후 통상적인 방법에 따라 파라핀 포매를 실시한 후 toluidine blue(TB), alcian blue/safranin O(AB/SO), phosphotungstic acid hematoxylin(PTAH), periodic acid-Schiff(PAS) 및 hematoxylin-eosin

(H-E)염색을 실시한 후 광학현미경으로 관찰하였다. 랫드의 기관에 대해서는 Kent *et al*²²의 방법에 따라 기관관강 중간부위를 5부분으로 나누어 절취된 면이 중복되지 않도록 각각 2-3mm 크기로 조직절편을 만들어 기관점막상피세포간에서 출현하는 GL의 수를 산정하여 평균치와 표준편차를 구한 후 모든 통계는 *t*-test로 처리하여 실험군과 대조군간에 비교 관찰하였고, 소와 랫드의 폐조직에 대해서는 개체간 동일한 크기의 기관지점막상피공간에서 나타나는 GL의 출현양상을 관찰하였다.

면역조직화학적 관찰 : *K pneumoniae*를 감염시킨 랫드의 기관 및 폐조직에 출현하는 GL의 serotonin과 IgE에 대한 면역조직화학적 특성을 알아보기 위하여 파라핀포매 및 동결절편 조직에 대해 Hsu *et al*²⁴의 방법에 따라 avidin-biotin peroxidase complex(ABC)법을 적용하여 면역조직화학적으로 추구하고 있다. 일차항체는 rabbit anti-rat serotonin(Vector, USA)과 mouse anti-rat IgE(Zymed, USA)를 각각 사용하였으며 이차항체로는 biotin-labeled goat anti-rabbit IgG(Vectastain ABC kit, USA)와 biotin-labeled rat anti-mouse IgG(Vectastain ABC kit, USA)를 사용하였다. 면역조직화학적 염색을 위해서는 각 절편조직에 대해서 내인성 peroxidase를 제거하기 위해 0.03% H₂O₂를 40분간 처리하였다. 또한 moist chamber에서 비특이적 반응을 줄이기 위해 normal goat serum을 1:20으로 희석하여 40분간 처리한 후 일차항체와 이차항체를 각각 1:200으로 희석하여 순차적으로 반응시킨 후 avidin biotin peroxidase complex(Vectastain ABC kit, USA)로 실온에서 40분간 반응시켜 diaminobenzidine으로 발색시켜 hematoxylin에 대비염색을 실시한 후 광학현미경하에서 관찰하였다.

결 과

Globule leukocyte(GL)의 조직화학적 소견 : 폐렴 소견을 나타낸 한우 및 랫드에서 출현한 GL은 H-E염색에서 세포질내에 대소부동한 호산성 과립을 가지고 있으며 핵은 원형내지 난원형으로 나타났고 기관 및 기관지점막내의 다른 세포들과는 쉽게 구별할 수 있었다(Fig 1, 2). toluidine blue(TB), alcian blue/safranin O(AB/SO) 그리고 periodic acid Schiff(PAS)염색시 GL의 세포질내 과립이 각각 보라색, 청색 및 홍색(Fig 3)으로 나타났다. Phosphotungstic acid hematoxylin(PTAH) 염색상에서는 보

라색의 과립으로 관찰되었다. 한우와 랫드의 기관 및 기관지점막상피공간에서 출현한 이들은 동물종간에 따른 차이는 인정되지 않고 동일한 염색성을 나타냈다.

한우의 실험군 : 급성폐사 한우 18두 전예에서 경도내지 중등도의 간질성 및 기관지성 폐렴이 인정되었으며 도축한우에 있어서는 20두중 3두에서만 경도의 간질성 폐렴소견이 인정되었다. 이러한 폐렴소견을 보이는 기관지점막상피세포간에서 호산성의 대소부동한 과립을 가진 GL을 다수 관찰할 수 있었다(Fig 1), (Table 1).

Table 1. The appearance of globule leukocyte(GL) in bronchial mucosa of Korean native cattle

	No. of cattle examined	No. of cattle with GL	Remarks
Sudden death cattle	18	18*	Focal pneumonia (mild, moderate)
Slaughtered cattle	20	3*	Focal pneumonia (mild)
Total	38	21	

* GL appeared in all cattle with pneumonia.

이러한 GL들은 세포에 따라 세포질내에 소수의 큰 과립을 가지거나 핵이 농축된 과사상으로 관찰되기도 하였다. 폐렴을 보이지 않는 기관지에서는 GL이 거의 관찰되지 않았으며 기관지 폐렴이 현저한 보다 큰 기관지에서 많은 GL의 출현이 인정되었다.

한우의 기관지점막상피세포간에 출현한 GL은 TB염색상에서는 세포질내 자주색의 과립들을 가지고 있었으며 pH 4.0의 TB염색에서는 GL의 과립들이 점막하의 비만세포와 동일한 강한 염색성을 나타내었으나 pH 0.3에서는 GL의 과립이 비만세포과립보다는 약한 염색성을 나타내었다. 또한 AB/SO염색(pH 2.5)에서는 GL의 과립이 청색으로 나타났다(Fig 4). 한편 PTAH염색상에서는 GL의 과립들이 자주색의 양성과립을 나타낸 반면 비만세포들은 잘 관찰되지 않았다(Fig 5).

랫드 실험군 : *K pneumoniae*를 기관내로 접종한 랫드의 소견으로는 기관지성 폐렴이 주로 나타났으며 호중구와 대식세포가 주로 출현하였고 접종후 시간경과에 따라 간질의 증식을 볼 수 있었다. *K pneumoniae*를 기관내로 접종한 랫드 실험군에서 출현한 GL은 한우의 기관지점막상피층에서 출현한 GL과 크기에 있어서는 약간의 차이를 보였으나 동일한 형태와 염색성을 나타냈으며 또한 랫드 실험군간의 감염일령에 따른 GL의 염색성

Table 2. Staining property of globule leukocyte(GL) and subepithelial mast cell(SEMC) in trachea of rat infected with *Klebsiella pneumoniae* and bronchus of Korean native cattle with pneumonia

	Infected cattle		Normal rats		Infected rats							
	GL	SMC	GL	SMC	Day 1		Day 3		Day 6		Day 10	
					GL	SMC	GL	SMC	GL	SMC	GL	SMC
Toluidine blue												
pH 0.3	B ⁺	P ⁺⁺⁺	B ⁺	P ⁺⁺⁺	B ⁺	P ⁺⁺⁺	B ⁺	P ⁺⁺⁺	B ⁺	P ⁺⁺⁺	B ⁺	P ⁺⁺⁺
pH 4.0	P ⁺⁺	P ⁺⁺⁺	P ⁺⁺	P ⁺⁺⁺	P ⁺⁺	P ⁺⁺⁺	P ⁺⁺	P ⁺⁺⁺	P ⁺⁺	P ⁺⁺⁺	P ⁺⁺	P ⁺⁺⁺
Alcian blue/safranin O	B ⁺⁺	B ⁺	B ⁺⁺	B ⁺	B ⁺⁺	B ⁺	B ⁺⁺	B ⁺	B ⁺⁺	B ⁺	B ⁺⁺	B ⁺
PAS	R ⁺⁺	R ⁺	R ⁺⁺	R ⁺	R ⁺⁺	R ⁺	R ⁺⁺	R ⁺	R ⁺⁺	R ⁺	R ⁺⁺	R ⁺⁺
PTAH	P ⁺⁺⁺	—	P ⁺⁺⁺	—	P ⁺⁺⁺	—	P ⁺⁺⁺	—	P ⁺⁺⁺	—	P ⁺⁺⁺	—

B ; blue, R ; red, P ; purple, + ; weak, ++ ; moderate, +++ ; strong, — ; negative.

에 있어서도 큰 차이를 보이지 않았으나 숫적 감소가 GL의 탈과립과 관계있는 듯 하였다(Table 2). Table 3에서 보는 바와 같이 *K pneumoniae* 를 접종한 후 1일째 실험군에서는 기관과 기관지점막상피세포간에 출현한 GL이 대조군에 비해서 유의성(p<0.01) 있는 증가를 보였다(Fig 6). 접종후 3일째는 1일째와 비슷한 소견으로 병변부위 근연의 폐포강내에 호산성의 삼출액이 저류되었으며 여전히 GL이 유의성(p<0.01) 있는 증가를 나타내었다. 동시에 점막하의 비만세포도 감염 3일째부터 증가하는 것을 관찰할 수 있었다(Fig 7). 접종후 6일째에도 여전히 GL은 증가하였으나 GL의 과립은 약간 감소된 경향을 나타내었으며 또한 GL이 기관점막상피세포간에서 기관관강쪽으로 다수 출현한 것을 관찰할 수 있었다(Fig 2). 접종후 10일째에는 증가된 GL의 수가 약간 감소하기 시작했으며 점막하의 비만세포도 감소되어 나타났다. 기관점막상피간에는 농축된 핵소견을 보이는 변성된 GL과 호산성의 과립들도 기관관강내에서 다수 관찰할 수 있었다. 접종 10일 이후에서는 기관이나 기관지점

Table 3. The number of globule leukocyte(GL) and subepithelial mast cell(SEMC) in the trachea of rat infected with *K pneumoniae*

Experimental group	Number of animal	Days sacrificed	Mean±S.D. No. GL/section	Mean±S.D. No. SEMC/section
Group 1	5	1	118.0±15.8*	18.7±3.4
Control	4	1	31.5±1.4	17.3±2.7
Group 2	5	3	125.6±26.7*	44.3±5.6
Control	4	3	26.5±0.7	14.2±1.6
Group 3	5	6	149.8±47.2*	22.2±0.8
Control	4	6	38.8±18.3	12.6±1.8
Group 4	5	10	102.8±13.8*	20.4±6.4
Control	4	10	36.2±3.5	16.4±2.8
Group 5	5	21	5.2±0.8	14.5±4.3
Control	4	21	39.0±6.2	10.7±2.5

The number of globule leucocytes in the lining epithelium was counted in 5 well-spaced sections and averaged for each animal. Results are expressed as mean±S.D.

* Value significantly different(p < 0.01) from control.

Table 4. Immunocytochemistry of globule leukocyte(GL) and subepithelial mast cell(SEMC) during the infection of *Klebsiella pneumoniae*

	Normal rats		Infected rats									
	GL	SMC	Day 1		Day3		Day 6		Day 10		Day 21	
			GL	SMC	GL	SMC	GL	SMC	GL	SMC	GL	SMC
Serotonin	++	++	++	+++	++	+++	+	+++	+	++	—	++
IgE	—	+	—	++	—	++	—	++	—	++	—	+

+ ; weak, ++ ; moderate, +++ ; strong, — ; negative.

막상피층에서 GL이 감소하거나 거의 소실되는 경향을 나타내었다.

면역조직화학적 소견 : 감염일령에 따라 면역조직화학적 염색을 실시해본 결과 GL은 serotonin에 대하여서는 접종후 1일, 3일, 6일까지는 강한 양성반응을 나타내었으나(Fig 8) 그 이후에 있어서는 미약한 양성반응을 나타내었다. 또한 점막하의 비만세포도 강한 양성반응을 나타내었다. 반면에 GL이 IgE에 대하여서는 어떠한 반응도 하지 않았으나 점막하의 비만세포는 serotonin과 IgE 양쪽다 양성반응을 나타내었으며 특히 serotonin에 강한 양성반응을 나타내었다(Table 4).

고 찰

Globule leukocyte(GL)는 각종 동물의 소화기, 담관, 요관, 신장, 방광 및 자궁 등의 점막상피세포간에서 보고된 바 있으며¹⁻²¹ 호흡기에서 출현한 GL에 관해서는 Zipper²⁵가 사슴의 기관점막상피세포층에서 보고한 바 있고 Frasca *et al*²⁶은 개의 기관지점막상피층에서 관찰한 바 있다. 한편 소의 호흡기에서의 출현에 대한 보고로서 Lawrence²⁷는 *Schistosoma matthei*에 감염된 소의 폐에서 감염초기시 GL의 출현을 보고하였다. Sommerville²⁸은 기생충성 기관지염시 GL이 출현한다고하였으며 Breeze *et al*²⁹은 성우에 있어서 호흡기질병시 기관 및 기관지점막상피층에서 출현한다고 보고한 바 있으며 Pirie *et al*³⁰은 3-methylindole에 의해 폐포염을 유발한 소의 기관지점막상피층에서 GL이 출현한다고 보고하였다. Wilkie³¹는 *Microspora faeni* 흡입에 의한 과민성 폐렴시 GL이 출현한다고 하였다. 본 실험에서는 한우의 정상 폐에서는 GL이 관찰되지 않았으나 경도내지 중등도의 폐렴소견을 나타내는 한우의 기관지점막상피층에서는 다수의 GL이 인정되었다. 한편 GL이 정상적으로도 랫드의 호흡기에서 소수 출현한다고 여러 연구자들에 의해 보고된 바 있으나³²⁻³⁵, Vandenberghe와 Baert²¹는 4주령이하 랫드의 기관점막상피세포간에서는 GL이 출현하지 않는다고 하였다. 본 연구에서도 4주령이하의 랫드에서는 출현하지 않았으나 4주령이상 랫드의 기관 및 기관지 점막상피층에서는 GL이 소수로 관찰되었으며 *K pneumoniae*를 감염시킨 랫드에 있어서는 기관 및 기관지점막상피층에서 GL이 감염 1일째부터 유의성($p<0.01$) 있는 증가를 보였고 점막하의 비만세포에 비해 빨리 증가되는 경

향을 나타내었다. 이는 Ruitenbergh와 Elgersma³⁶가 *Trichinella spiralis*를 감염시킨 마우스의 소장점막상피세포간에서 GL이 감염 3일째부터 증가하기 시작하여 감염 7일까지 증가를 보인 후 서서히 감소한다는 보고와 증가된 시기에 있어서는 약간의 차이가 있었으나 그에 일치된 소견이었고 또한 GL이 장점막하의 비만세포에 비해 빨리 증가된다는 것은 본 실험과 동일하였다. 본 실험에 있어서는 감염 10일 이후에 GL이 점차 감소하는 경향을 나타내었으며 기관관강내에 변성된 GL과 호산성의 과립들이 출현하는 것으로 보아 GL의 숫적 감소와 관계있는 것으로 추측되었고 이러한 GL의 숫적 감소는 염증반응에 의한 기관점막상피세포층에서 GL의 탈과립에 의한 변성때문인 것으로 사료되었다. 이는 Kent *et al*³⁷이 소장의 염증시 소장점막상피세포간에서 GL이 감소한다는 보고와도 일치하였다. 한편 GL에 영향을 미치는 다른 요인으로서 호르몬이 관계되어 있으며 Kent *et al*²²은 부신피질호르몬과 그 제제에 의해서 GL이 숫적으로 감소한다고 하였으며 부신피질호르몬이나 그 제제를 장기간 과량투여한 실험에서는 GL이 완전히 사라진 것으로 보고되어 있다. Carriere와 Buschke³⁸는 감상선 절제술과 고환 적출술을 실시한 후 감상선 호르몬을 투여한 군에서는 감상선 절제로 인해 증가된 GL이 정상으로 돌아왔으나 남성 호르몬을 투여한 군에서는 아무런 변화를 일으키지 않는 것으로 보아 감상선 호르몬이 GL의 출현과 관련이 있다고 보았으며 또한 IgE의 분비에 영향을 줄지도 모른다고 하였다. Ikeda와 Yamashina²³는 정상 랫드의 기관점막상피세포간에서 GL이 IgE에 대해 음성으로 보고한 바 있으며 또한 Le Roy Landurie와 Fournier³⁹도 정상 랫드에서 음성으로 보고한 바 있다. 본 실험에서는 감염경과에 따라 GL의 IgE에 대한 면역조직화학적 염색에서 음성으로 관찰되었으나 반면에 기관점막하의 비만세포는 강한 양성반응을 나타내었다. 따라서 GL의 IgE에 대한 면역반응에 대해서는 앞으로 더 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

GL의 기원에 관하여서는 주로 형태학적 유사성에 근거하여 논쟁이 되어 왔으며 Weill⁴⁰이 각종 동물의 장점막상피세포간에서 호산성의 큰 과립을 가진 다양한 형태의 세포라고 보고한 이래 Casely-Smith⁴¹는 호산구의 변형된 형태일 것으로 생각하였다. Dobson *et al*^{42,43}은 형질세포의 전구세포라고 간주하였고 Toner⁹와 Kent²²는 임파구 유래세포라고 보았다. 그러나 Ruitenbergh와 Elg-

결 론

ersma³⁶는 이들 세포가 기원이 전혀 다른 세포라고 하였으며 Finn과 Schwartz⁴⁴도 고양이의 회장에서 자연발생적으로 생겨난 GL의 종양에서 이들 세포가 전혀 다른 기원을 가진다고 하였다. 최근에 Huntley et al⁴⁵은 *Ostertagia circumcincta*를 감염시킨 양의 4위로부터 GL을 분리하여 조직화학적 및 전자현미경적 관찰을 통하여 비만세포유래라고 보고한 바 있다. 본 실험에서는 조직화학적 및 면역조직화학적으로 GL을 관찰한 결과 GL과 림성분이 acid-mucopolysaccharide로 이루어진 것을 알 수 있었으며 이는 점막하의 비만세포와 거의 동일한 염색성을 나타내는 것으로 보아 같은 과립성분들로 이루어진 것을 알 수 있었으며 GL의 serotonin에 대한 면역조직화학적 염색결과 정상 랫드와 *K pneumoniae*를 감염시킨 랫드 실험군에서 양쪽다 serotonin 양성으로 관찰되었으며 감염경과에 따라 초기에는 강한 양성을 나타내었으나 점차 염색성이 약하게 관찰되었다. 또한 기관점막하의 비만세포도 전 실험기간동안 동일하게 양성으로 나타났다. 이는 Le Roy Landurie와 Fournier³⁹가 serotonin에 대해 음성을 나타낸다는 보고와는 일치하지 않았으나 Ikeda와 Yamashina²³가 정상 랫드에서 serotonin에 대해 양성세포라는 보고와는 일치하였다.

본 실험에서 염증시 GL의 출현시기와 조직화학적 및 면역조직화학적 염색에 있어 비만세포와 어느정도 일치 여부를 보이나 이 세포의 기원에 대해서는 앞으로 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 생각되었다.

이러한 결과를 종합해볼 때 GL은 기관 및 기관지점막 상피세포간에서 염증시 유의성 있는 증가를 보였고 특히 염증초기에 관여하는 세포로서 미생물같은 외부항원에 쉽게 노출될 수 있는 개방된 장기에 있어서 방어적인 기능을 가지는 것으로 사료되는 바이다.

본 연구는 경북 모지역에서 발생된 바 있는 급성 폐사 한우를 비롯한 도축한우의 기관지점막층내에 출현하는 GL의 동정 및 출현양상 그리고 급성 폐사한우 발병지역의 사육한우로부터 분리된 *K pneumoniae*를 랫드에 실험적으로 감염시킨 후 랫드의 기관 및 기관지점막층에서의 GL의 출현빈도와 이들 세포에 대한 조직화학적 및 면역조직화학적으로 추구하고 있던 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

급성 폐사한우의 전예와 도축한우중 3두에서 기관지점막상피세포간에 GL이 많이 관찰되었으며 이들 GL양성우들은 경도내지 중등도의 한국성 폐렴소견을 나타냈다. *K pneumoniae*를 실험적으로 기관내 접종한 랫드의 기관 및 기관지점막상피세포간에 출현하는 GL의 각종 염색에 있어서 대조군과 차이는 없었으나 정상 랫드에 비해 GL이 유의성 있는 증가를 보였다. 접종후 감염경과에 따라 GL의 수가 증가를 보인후 감염 10일 이후에 있어서는 점차 감소하는 것으로 나타났으며, 감염 21일째에는 점막상피세포간에서 거의 사라졌다. 또한 조직화학적 방법에 의해서 GL의 과립이 acid-mucopolysaccharide로 구성되어 있는 것을 알 수 있었으며 serotonin에 대한 면역조직화학적 소견에 있어서는 염증경과에 따라 차이를 보였으며 특히 염증초기에 강한 면역반응을 나타냈고 염증이 진행되어감에 따라 점차 면역반응이 약하게 나타났다. 반면에 IgE에 대하여서는 어떠한 면역반응도 나타나지 않았다.

이상의 결과를 종합해볼 때 GL은 폐렴시에 증가함을 알 수 있었고 폐와 같이 외부와 개방된 장기에 있어서는 염증초기에 관여하는 중요한 세포로서 사료되는 바이다.

Legends for figures

Fig 1. Globule leukocytes with numerous large eosinophilic granules (arrows) are seen within the broncheal epithelium of Korean native cattle with pneumonia. H-E. $\times 200$

Fig 2. Degradated eosinophilic granules and globule leukocytes are seen within lumen of trachea of rat 10 days after infection with *Klebsiella pneumoniae*. H-E. $\times 400$

- Fig 3. Numerous globule leukocytes appeared in broncheal epithelium of Korean native cattle with pneumonia. PAS. ×200
- Fig 4. Numerous globule leukocytes (arrows) appeared in broncheal epithelium of Korean native cattle with pneumonia. AB/SO. ×200
- Fig 5. Globule leukocytes (arrows) with many small intracytoplasmic granules stained intensely but subepithelial mast cell is not stained with this staining. PTAH. ×400
- Fig 6. Globule leukocytes increased in the tracheal epithelium of rat day 1 after infection with *Klebsiella pneumoniae*. H-E, ×200
- Fig 7. Globule leukocytes (small arrow) increased in the tracheal epithelium of rat day 3 after infection with *Klebsiella pneumoniae*. As does a subepithelial mast cell (large arrows) from day 3 after infection with *Klebsiella pneumoniae*. TB. ×200
- Fig 8. Immunostaining of GL for serotonin in rat day 1 after infection with *Klebsiella pneumoniae* through the avidin-biotin peroxidase complex method. As does a subepithelial mast cell. ABC Immunostaining for serotonin ×400

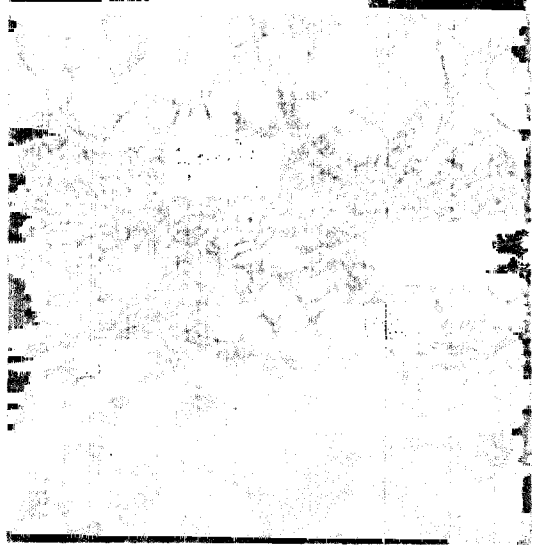
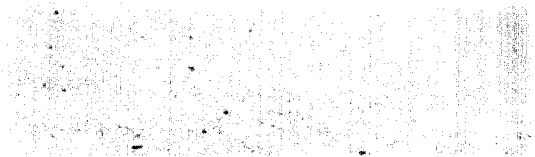
참 고 문 헌

1. Miller HRP, Murray M, Jarrett WFH. Globule leukocytes and mast cells. In "The reaction of the host to parasitism". edited by E.J.H. soulsby, *Academic Press*, new york pp.198~210, 1968.
2. Murry M, Miller HRP, Jarrett WFH. The globule leukocytes and its derivation from the subepithelial mast cell. *Lab Invest*, 19:222-234, 1968.
3. Kent JF. The origin, fate and cytochemistry of the globule leukocyte of the sheep. *Anat Rec*, 112:91~115, 1952.
4. Jarrett WFH, Miller HRP, Murray M. The relationship between mast cells and globule leukocytes in parasitic infection. *Vet Rec*, 80:505~506, 1967.
5. Whur P. Mast cell and globule leukocytes to *Nippostrongylus brasiliensis* infection and to induced anaphylaxis. *Int Arch Allergy*, 30:351~359, 1966.
6. Michels NA. The mast cells. Ann NY, *Acad Sci*, 103: section IV, 235, 1963.
7. Mjassojedoff SW. Die Zellformen des Bindegewebes und Blutes und die Blutbildung beim erwachsenen Huhn. *Folia haemat*, Lpz. 32:263~296, 1926.
8. Rogosina M. Beitrage zur Kenntnis des Verdauungskanals der Fische. I. Uber den Magens von *Acipenser ruthenus* LZ mikrosk. *Anat Forsch*, 14:333~372, 1928.
9. Toner PG. The fine structure of the globule leukocyte in the fowl intestine. *Acta Anat*, 61:321~330, 1965.
10. Dawson HL. A study of certain cells observed in the gall bladder mucosa of cats. *Anat Rec*, 85:135~155, 1943.
11. Hole NH. "Russell bodies", or hyaline droplet degeneration of plasma cells in the portal canals of the sheep's liver. *J comp Path*, 50:299~302, 1937.
12. Toro E. Bedeutung und Entstehung der Zellgranula in der Darmresorption. *Z Anat EntwGesch*, 94:1~38, 1931.
13. Taliaferro WH, Sarles MP. The cellular reactions in the skin, lungs and intestine of normal and immune rats after infection with *Nippostrongylus muris*. *J infect Dis*, 64:157~188, 1939.
14. Kirkman H. A comparative morphological and cytochemical study of globule leukocytes (Schollenleukocyten) of the urinary tract and of possibly related cells. *Am J Anat*, 91:86~87, 1950.
15. Rahko T. The pathology of natural *Fasciola hepatica* infection in cattle. *Path Vet*, 6:244~256, 1969a.
16. Bruyn DB. The role of globule leukocytes in the initiation of nephrocalcinosis in the baboon (*Papio ursinus*). *S Afr J Sci*, 70:249~251, 1974.
17. Cantin MD, Veilleux R. Globule leukocytes and mast cells of the urinary tract in magnesium-deficient rats.

[Redacted]

[Redacted]

[Redacted]



- A cytochemical deficiency in the rat urinary tract. *Am J Path* , 66:69a, 1972.
18. Cantin M. Relationship of juxtaglomerular apparatus and adrenal cortex to biochemical and extracellular fluid volume changes in magnesium deficiency. *Lab Invest*, 22:558, 1970.
 19. Robert BC, Ann MD, Harold FD. Mast cell in the cortical tubular epithelium and interstitium in human renal disease. *Human Pathology* , 5:315~326, 1974.
 20. Heine H, Schaeg J. Herkunft und Funktion des gloubularen Leukozyten, *Acta Anat* , 98:275~280, 1977.
 21. Vandenberghe MP, Baert J. Globule leucocytes in the tracheal epithelium of rats. *Acta Anat* , 111:268~276, 1981.
 22. Kent JF, Baker BL, Inngle DJ, *et al.* Effect of corticotropin and cortisone on globule leucocytes of rat. *Proc Soc Exp Biol Med* , 85:635~637, 1954.
 23. Yayoi Ikeda, Shohei Yamashina. Developmental changes in intestinal globule leukocytes of normal rats. *Cell Tissue Res* , 273:447~455, 1993.
 24. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidine-biotin peroxidase complex(ABC) in immunoperoxidase techniques: comparison between ABC and unlabelled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* , 29: 577~580, 1981.
 25. Zipper J. Beitrag zur Frage der sogenannten Schollenleukozyten. I. Vorkommen und Morphologie. *Zentbl Vet Med* , 13A:329~336, 1966.
 26. Frasca JM, Auerbach O, Parks VR, *et al.* Electron microscopic observation of the bronchial epithelium of dogs, 1. Control dogs. *Expl Molec Path* , 9:363~379, 1968.
 27. Lawrence JA. The globule leucocyte in bovine Schistosomiasis. *Res Vet Sci* , 23:239~240, 1977.
 28. Sommerville RI. The histology of the ovine abomasum, and the relation of the globule leucocyte to nematode infestations. *Aust Vet J* , 32:237~240, 1956.
 29. Breeze RG, Pirie HM, Dawson CO, *et al.* The pathology of the respiratory diseases of adult cattle in Britain. *Folia Vet Latina* , 5:95~128, 1975.
 30. Pirie HM, Breeze RG, Selman IE, *et al.* Indoleacetic acid, 3-methylindole and type 2 pneumocyte hyperplasia in a proliferative alveolitis of cattle. *Vet Rec*, 98:259~260, 1976.
 31. Wilkie BN. Bovine allergic pneumonitis : An acute outbreak associated with mouldy hay. *Can J Comp Med*, 42:10~15, 1978.
 32. Spicer SS, Mochizuki I, Setser ME, *et al.* Complex carbohydrates of rat tracheobronchial surface epithelium visualized ultrastructurally. *Am J Anat* , 158: 93~109, 1980.
 33. Kent JF. Ultrastructure of the globule leucocyte of the globule leucocyte of the rat. *Anat Rec* , 154:367~368, 1966.
 34. Pearsall AD, Echt R, Roth RA, *et al.* Morphologic and cytochemical characteristics of amine-containing globule leukocytes in rat tracheal epithelium. *Am J Anat* , 170:83~99, 1984.
 35. Kent JF. Distribution and Fine Structure of Globule Leucocytes in Respiratory and Digestive Tracts of the Laboratory Rats. *Anat Rec* , 156:439~454, 1966.
 36. Ruitenbergh EJ, Elgersma A. Response of intestinal globule leucocytes in the mouse during a *Trichinella spiralis* infection and its independence of intestinal mast cells. *Br J exp Path*, 60:246~251, 1979.
 37. Kent JF, Baker BL, Pliske EC, *et al.* Effect of X-irradiation and hypophysectomy on globule leucocytes in rat intestine. *Proc Soc Exp Biol and Med* , 91:152~155, 1956.
 38. Carriere R, Buschke M. The influence of Thyroid and Testicular Hormones on Globule Leucocytes in the Rat Duodenal Crypt Epithelium. *Anat Rec* , 192:407~422, 1978.
 39. Le Roy Ladurie F, Fournier M. Tracheal globule leucocytes and subepithelial mast cells : A comparative study in the rat. *Ann Inst Pasteur/Immunol* , 137D: 273~280, 1986.
 40. Weill P. Ueber die leukocytaren Elemente der Darmschleimhaut der Säugetiere. Ein Beitrag zur Beurteilung der Granulatinen in Leukocten. *Arch Mikrosk*

Anat, 93:1, 1919.

41. Casely-Smith JR. Transformation of the Granules of Intestinal Eosinophil Polymorphonuclear Leucocytes by Helminthic Infestation. *J Path Bact*, 95:299, 1968.
 42. Dobson C. Studies on the immunity of sheep to oesophagostomum columbianum : The nature and fate of the globule leucocyte. *Aust J Agric Res*, 17:955~966, 1966b.
 43. Dobson C. Immunofluorescent staining of globule leucocytes in the colon of sheep. *Nature*, 211:875, 1966a.
 44. Finn JP, Schwartz LW. A neoplasm of globule leucocytes in the intestine of a cat. *J Comp Pathol*, 82:323~326, 1972.
 45. Huntley JF, Newlands G, Miller HRP. The isolation and characterization of globule leucocytes : their derivation from mucosal mast cell in parasitized sheep. *Parasite Immunology*, 6:371~390, 1984.
-