

## 마렉병 바이러스 강독주의 실험 접종에 의해 유발된 닭 피부병변에 침윤한 림프구 표현형의 변화

조 경 오

전남대학교 의과학연구소  
(2001년 7월 10일 게재승인)

### Phenotypical changes of lymphocyte subsets infiltrated in the skin lesions induced experimentally by very virulent strain of Marek's disease virus in chickens

Kyoung-Oh Cho

The Research Institute of Medical Sciences, Chonnam National University, Kwangju 501-190, Korea  
(Accepted by July 10, 2001)

**Abstract :** Marek's disease virus (MDV) can cause skin lesions including inflammatory to tumorous. The phenotypical changes of lymphocytes infiltrating in the skin lesions induced by MDV were not clear. Therefore, the skin biopsies taken at weekly intervals for 8 weeks from the same specific-pathogen free chickens inoculated with Md/5 MDV were examined to analysis the phenotypical changes of lymphocytes. Histologically skin lesions progressed from initial inflammatory to late tumorous. Sequentially CD4+ T lymphocytes increased gradually in number from initial skin lesions and were major composition cells in the tumor lesions. Regardless of inflammatory or tumor lesions, CD8+ T cells and  $\gamma\delta$  T cells infiltrated particularly in the dermis and subcutaneous on which MDV was actively replicated in the feather follicle epithelium (FFE). In addition, IgG bearing B lymphocytes in considerable number infiltrated in the dermis and subcutaneous tissues. From these results, the development of MDV-induced skin lesions was inflammatory following tumorous. In addition, each CD8+,  $\gamma\delta$  and CD4+ T cells and B cell might act to protect MDV replication in the FFE or tumor cells which turned on lytic cycle.

**Key words :** chicken, Marek's disease virus, phenotypical changes, skin

## 서 론

조류의 alphaherpesvirus 인 Marek's disease virus (MDV) 는 종양원성 herpesvirus 중 가장 강력한 종양원성 바이러스로서 닭에 전염성이 강한 악성 CD3+CD4+CD8- T 세포 림프종을 내부장기, 근육 및 피부 등에 유발한다<sup>1,4</sup>. MDV는 또한 중추신경계 및 말초신경계에도 염증성에서 종양성의 병변을 일으킨다<sup>5-7</sup>. MDV는 혈청학적으로 3가지 혈청형으로 분류되는데, 혈청형 1은 종양원

성 바이러스와 종양원성 바이러스의 계대배양에 의한 약독주이며, 혈청형 2는 자연적으로 발생하는 비 종양원성 닭의 MDV이고, 혈청형 3은 비 종양원성 칠면조 herpesvirus 이다<sup>8-10</sup>.

혈청학적 방법에 의해 MDV는 3가지 혈청형으로 구분되지만 이들 MDV 혈청형에 속하는 바이러스들은 많은 공통항원을 보유하여 Marek's disease (MD) 백신에 의한 항바이러스성 면역을 유발할 것으로 추측되고 있다<sup>11,12</sup>. MD에 대한 백신으로는 혈청형 2와 3이 주로 사

본 연구를 수행하도록 실험실과 재료를 제공하여 주신 일본 북해도대학의 Drs. M. Onuma, K. Ohashi, C. Itakura, M. Morimura에게 감사드립니다. 또한 본 연구에 필요한 항체를 제공하여 주신 미국 알라바마 대학의 Dr. C.-L.H. Chen과 일본 가축위생시험장의 Dr. Y. Hirota에게 감사드립니다.

Address reprint requests to Dr. Kyoung-oh Cho, The Research Institute of Medical Sciences, Chonnam National University, Kwangju 501-190, Korea (E-mail: chokoosuvet@hanmail.net)

용되었으나, 최근 혈청형 3이나 2에 의한 백신에도 불구하고 MD를 유발할 수 있는 혈청형 1 MDV 중 강독주가 출현하여 혈청형 1 MDV 중 약독주를 백신으로 사용하기도 한다<sup>13</sup>. 이러한 백신에 의한 MD의 방어기전은 아직까지 많은 점이 불투명하다. 백신에 의한 MD의 방어기전 중에 MDV의 외막을 형성하는 구조단백질인 glycoprotein B가 가장 강력한 체액성 및 세포성 면역을 유발한다고 한다<sup>14-16</sup>. 백신에 의한 MD의 방어는 세포 매개성 면역이 체액성 면역보다 중요한데, 이는 F 낭의 수술적 제거나 X 선 조사에 의해서 B 세포를 실험적으로 제거한 상태에서도 백신에 의해 MD의 발생이 억제되었기 때문이다<sup>17,18</sup>.

감염성 질병이나 종양에 대한 방어기전 중 T 림프구의 작용에 대하여 많은 연구가 되었는데, 특히 CD8+ T 림프구가 크게 관여하고 있다고 한다<sup>11,12,19-22</sup>. 백신에 의한 MD의 방어기전에서도 CD8+ T 림프구가 CD4+ T 림프구보다 더 중요한 역할을 한다고 보고되었다<sup>17-19,23,24</sup>. 이러한 이유중의 하나는 백신을 투여한 후에 CD8+ T 림프구를 제거한 병아리에서 CD4+ T 림프구를 제거한 병아리보다 더욱 많은 MDV의 증식이 관찰되어, MDV의 증식억제는 역설적으로 CD8+ T 림프구가 더 중요하게 관여하고 있다고 생각되기 때문이다<sup>19</sup>. 하지만, CD4+ T 림프구나 CD8+ T 림프구는 종양의 발생을 억제하지 못한다고 한다<sup>19</sup>.

MDV의 감염은 4개의 과정을 숙주의 체내에서 유발시킨다. 즉 초기 세포 용해성 감염, 잠복 감염, 후기 세포 용해성 감염, 마지막으로 종양화로 나눌 수 있다<sup>1,25</sup>. MDV의 후기 세포 용해성 감염은 다양한 상피세포에서 일어나는데, 단지 피부의 모낭 상피세포에서만 cell free 바이러스가 복제되며 복제된 성숙 바이러스가 자연 전염원으로 작용한다<sup>12</sup>. 후기 세포 용해성 감염이 피부의 모낭 상피 세포에서 일어나는 시기를 전후로 모낭 상피 세포 주위에는 염증성 림프구가 침윤한다<sup>4</sup>. 이러한 초기의 염증성 병변은 점점 진행하여서 후에 종양성 병변으로 변한다<sup>4</sup>. 하지만 MDV에 유발된 피부병변에 침윤한 림프구 아형의 분석에 대한 연구는 되어 있지 않다. 본 저자는 강독주인 Md/5 MDV를 실험적으로 닭에 접종하여 살아 있는 상태에서 8주간 매주 피부조직을 생검하여 피부에 침윤한 림프구 아형의 변화를 연구하였다.

## 재료 및 방법

### 공시동물

MD에 감수성이 높은 Specific-pathogen-free White Leghorn 병아리를 본 연구에 사용하였다<sup>45</sup>. 병아리들은 격리 사육실에서 사료와 물을 자유롭게 급여하면서 사

육하였으며, 피부의 종양 발생 여부 등 임상증상의 발현 유무를 매주 검사하였다.

### 시험바이러스

닭 배아 섬유모세포(chicken embryo fibroblast)에서 증식 시킨 MDV 강독주(very virulent strain)인 Md/5 주<sup>26</sup>를 접종전에 감염 역가를 검사한 후 본 실험에 사용하였다.

### 시험설계

1일령 병아리 70마리를 접종군 60마리와 음성 대조군 10마리로 분리한 후 격리 사육하였다. 접종군의 병아리는 1주일령 때 강독주인 Md/5 주 7,200 focus-forming units를 복강 내에 접종한 후, 목과 등의 피부조직을 깃털이 포함되게 하여 8주간 1주일 간격으로 생검하였다.

### 병리학적 검사

깃털을 포함한 피부의 일부 생검조직은 Bouin's solution에서 고정한 후, 상술에 따라 파라핀 포매를 하였다. 파라핀블록으로부터 4 µm 두께의 조직 절편을 만들어 Hematoxylin & Eosin 염색하여 광학현미경으로 검정하였다<sup>4</sup>.

### 면역조직화학적염색

면역조직화학적염색은 Cho *et al*<sup>4,27-29</sup> 방법을 약간 변형하여서 수행하였다. 즉, 생검한 피부조직을 OCT compound 내에 넣은 후 액체질소에서 포매하였다. 냉동절편기로 4 µm 두께의 조직 절편을 만들어 슬라이드 위에 부착시킨 후, 실온에서 30분간 건조하였다. 조직의 고정은 cold acetone에서 15분간 하였다. 내인성 peroxidase을 불활화시키기 위해서 절편을 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 용액에서 15분 처리하고, 항체의 비특이적 결합을 막기 위해서 토끼 정상 혈청으로 10분간 실온에서 작용시켰다. 조직내 T 림프구 아형을 검출하기 위해서 사용한 항체는 닭 CD4 항원 검출을 위한 CT4 단클론항체<sup>30</sup>, 닭 Vβ1-αβT 림프구 항원 검출을 위한 TCR 2 단클론항체<sup>31</sup>, 그리고 닭 γδ TCR 1 T 림프구 항원 검출을 위한 TCR 1 단클론항체<sup>31</sup>였으며, 이들 항체는 미국 알라바마 대학의 Dr. C.-L. H. Chen이 제공하여 주었다. 닭 CD8 항원 검출을 위한 11-39 단클론항체<sup>32</sup>는 일본 가축위생시험장의 Dr. Y. Hirota가 제공하여 주었다. 닭 B 림프구의 IgG 항원 검출을 위해서는 peroxidase-conjugated rabbit anti-chicken IgG 단클론항체(SIGMA, MI, USA)를 사용하였다. 이러한 항체 등은 적당히 희석하여 조직이 부착된 슬라이드 위에 분주한 후, 4 C에서 12시간 반응시켰다.

T 림프구 아형을 검출하기 위한 단클론항체는 Histofine SAB-PO kit (Nichirei Corp., Tokyo)을 이용하여 peroxidase-labeled streptavidin-biotin-complex 염색법에 따라 염색하였다. T 및 B 림프구 표면 항원의 분포는 3, 3'-diaminobenzidine-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 발색반응에 의해서 확인하였으며, 대조염색은 hematoxylin을 이용하였다.

## 결 과

### 임상증상 및 병리조직학적 소견

MDV 접종군 및 무접종 대조군에서 깃털을 포함한 피부조직을 경시적으로 8주간 매주 채취하였다. MDV 접종 후 3일에서 1주일 사이에 심한 의기소침과 식욕부진이 관찰되었으며, 접종 1~2주 후부터 다리 및 날개에서 부전마비 증상이 접종군에서 나타나기 시작하였다. 육안적으로 식별이 가능한 종양성의 피부결절은 MDV 접종 후 4~5주부터 8마리의 MDV 접종 병아리에서 관찰되었다. 병리조직학적 소견과 T 림프구 아형 및 B 림프구 분포를 검사하기 위한 면역조직학적 검사에는 피부에 종양성 결절이 형성된 8마리에서 8주간 채취한 피부조직을 사용하였다.

병리조직학적으로 접종 후 1주일에 채취한 피부에서 소수의 소형 림프구가 진피 및 피하조직에 침윤하였다. 이러한 림프구는 주로 피하조직의 혈관 주위와 진피의 치밀한 교원질 사이에 불규칙한 형태로 침윤되어 있었다. MDV의 증식에 기인한 핵내봉입체가 깃털의 모낭 상피세포에서 드물게 관찰되었다. 접종 후 2주에는 진피 및 피하조직에서 소형 림프구의 침윤이 증가되어 있었고, 종양성의 림프모세포(lymphoblast)도 관찰되기 시작하였다(Fig 1a). MDV 핵내 봉입체는 깃털 모낭 상피세포에서 자주 관찰되었다(Fig 1a). 진피 및 피하조직에 침윤한 림프구 결절은 접종 시간이 경과함에 따라 커졌으며, 림프구 결절을 구성하는 소형 림프구 및 종양성의 림프모세포의 비율도 증가되었다. 접종 5주 이후에 채취한 피부조직에는 림프구의 결절이 종양성의 림프모세포만으로 형성된 것도 있었으며, 접종 7~8주에 채취한 피부조직의 림프구 결절성 병변은 종양성의 림프모세포만으로 구성되어 있었다(Fig 1b). 종양성의 병변이 관찰된 피부조직에서도 모낭 상피세포 밑의 진피 및 근접한 피하조직에서 소형의 림프구 침윤이 관찰되었다. MDV 핵내 봉입체는 접종 초기 뿐만 아니라 접종 후기에 채취한 피부의 모낭 상피세포에서도 관찰되었다.

음성 대조군에서 생검한 피부 조직에서는 염증세포의 침윤이 진피 및 피하 조직에서 관찰되지 않았다. 또한, MDV의 증식에 의한 핵내 봉입체도 모낭 상피세포에서 관찰되지 않았다.

### MD 피부병변에서의 림프구 아형의 경시적 변화

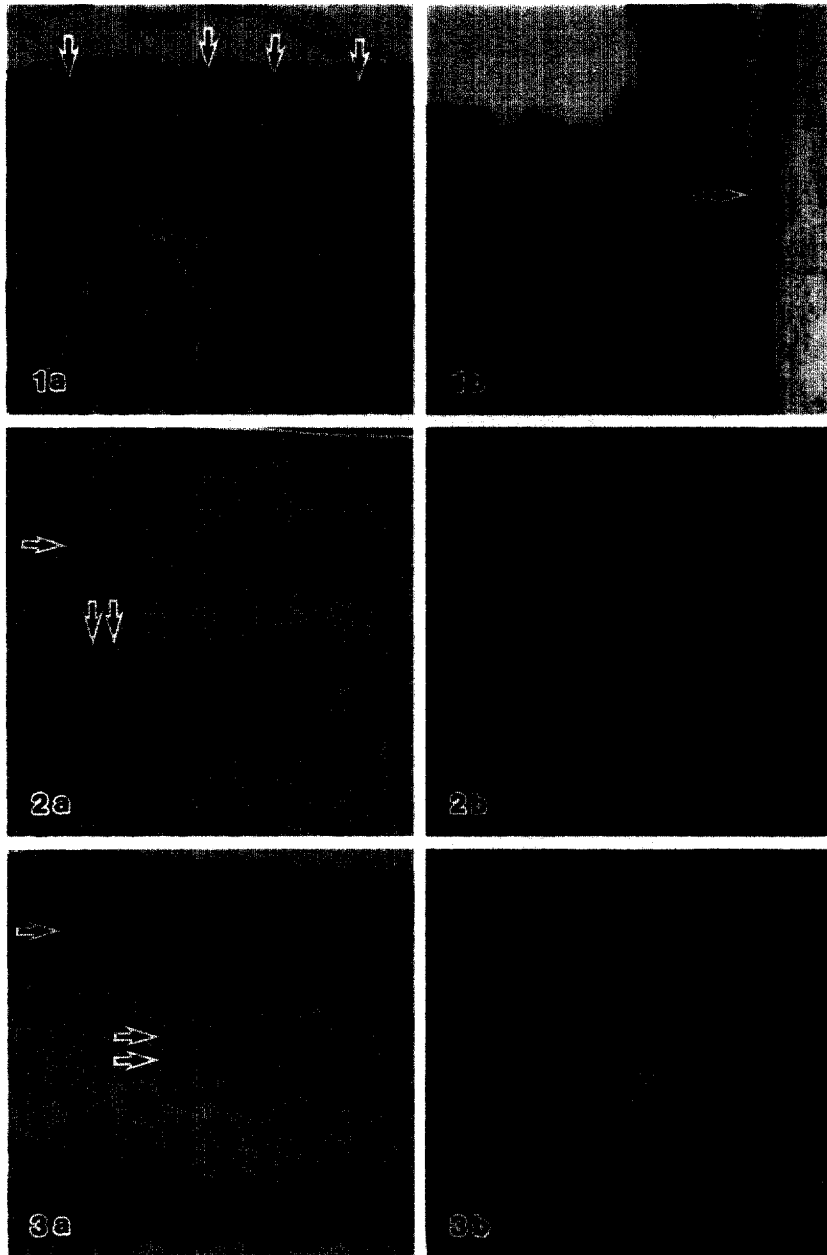
닭에서 MDV에 의해 유발된 피부병변을 경시적으로 채취하여 CD4+ T 림프구의 변화를 단클론항체를 이용하여 검사하였다. CD4+ T 림프구는 MDV에 의해 유발된 초기 병변에서 진피 및 피하의 혈관주위에 침윤된 여러 세포 중에서 비교적 높은 비율을 차지하고 있었다. CD4+ T 림프구는 접종 시간이 경과함에 따라서 증가하기 시작하였으며, 특히 혈관주위에 침윤된 림프구 결절의 가장자리를 구성하는 주된 세포였다(Fig 2a). 특징적으로 모낭 상피 세포 바로 밑의 진피에서는 CD4+ T 림프구가 다수 관찰되었다(Fig 2a). 병리조직학적으로 종양성으로 관찰된 MDV 접종 후기 병변은 거의 대부분 CD4+ T 림프구에 의해서 구성되어 있었다(Fig 2b). 또한 모낭 상피세포 주위의 진피 조직에서도 CD4+ T 림프구가 자주 관찰되었다.

표면에 CD3을 표지하는 TCR 2인  $\alpha\beta$  TCR T 림프구는 CD4+ 및 CD8+ T 림프구로 구성되어 있는데, 이 세포들은 MDV에 의해 유발된 피부의 초기 염증부위에서는 상대적으로 많은 수가 관찰되었다. 즉, 접종 1주째부터 진피 및 피하의 혈관주위에서 관찰되기 시작하였으며(Fig 3a), 접종 시간이 경과함에 따라서 점점 증가하여 종양병변에서는 거의 대부분의 림프모세포가 이 세포로 구성되어 있었다(Fig 3b). 이들 세포의 염증성 및 종양성 병변에서의 분포는 CD4+ T 림프구 및 CD8+ T 림프구가 침윤한 부위와 동일하였다.

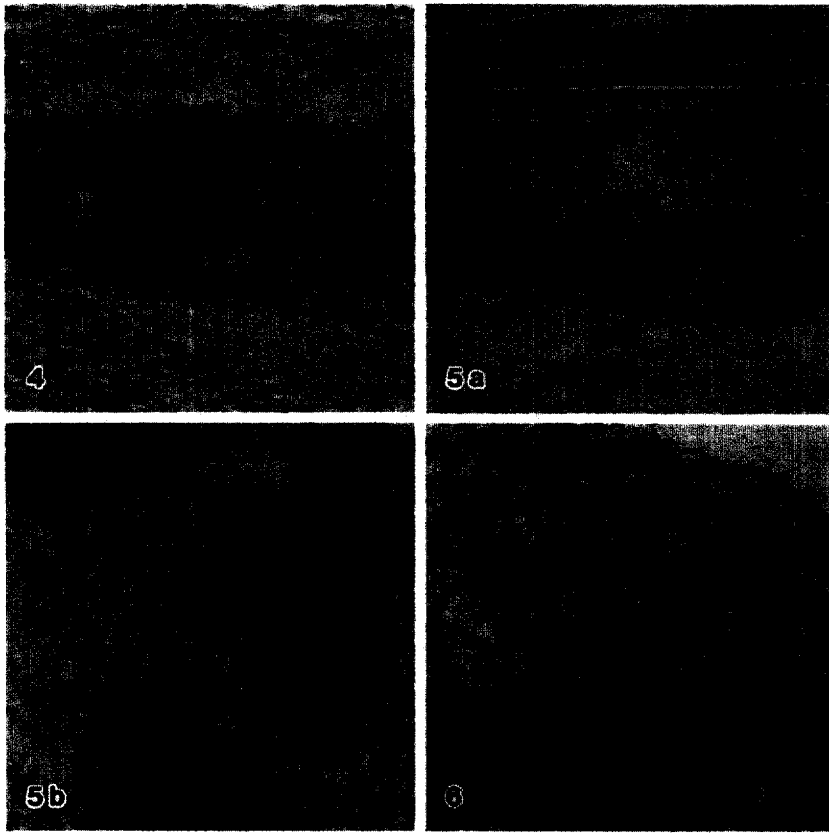
CD8+ T 림프구는 MDV에 의해 유발된 초기 피부병변에서 진피 및 피하조직에서 관찰되었다. CD8+ T 림프구는 초기 피부병변에서 관찰되는 피하의 림프구성 결절내에서도 자주 관찰되었으며(Fig 4), 병변이 심화되어 종양화될 수록 피부병변에 침윤한 세포의 총 수에 대한 구성비율은 감소하였으나 수적으로는 증가하였다. CD8+ T 림프구는 종양병변내에서도 다수 관찰되었다.

$\gamma\delta$  TCR 양성인 T 림프구는 접종 1주부터 피부의 모낭 상피세포 밑의 진피 조직에서 소수 관찰되었으며, 접종 2주 및 3주에서는 접종 1주에 비해 진피에서 저명하게 증가되어 있었다(Fig 5a). 그 후, 병변이 염증성에서 종양성으로 진행함에 따라서  $\gamma\delta$  TCR 양성인 T 림프구는 거의 수적으로는 변하지 않았으나, 침윤한 림프구 총 수에 대한 비율의 많은 감소가 관찰되었다.  $\gamma\delta$  TCR 양성인 T 림프구는 종양병변내에서도 산발적으로 분포하고 있었다(Fig 5b).

IgG 양성인 B 림프구는 초기 염증성 피부병변에서는 혈관주위에서 관찰되었는데, 이때 IgG 양성 B 림프구는 림프소절을 형성하고 있었다. 시간의 경과에 따라서 IgG 양성 B 림프구의 수적인 변화는 거의 없었다. B 림프구는 또한 종양병변내에서도 산발적으로 관찰되었



- Fig 1.** (a) Marek's disease inflammatory skin lesions consist mainly of inflammatory small lymphocytes. Note viral intranuclear inclusion bodies (arrows) in feather follicle epithelium. H&E, x1200. (b) Marek's disease skin tumor exhibits diffuse infiltration of tumorous lymphoblasts. Note feather (arrow). H&E, x120.
- Fig 2.** (a) CD4+ T lymphocytes infiltrate in the dermis (arrow) and perivascules (double arrows) of subcutaneous in the Marek's disease inflammatory skin lesions. SAB-PO method, Mayer's hematoxylin counter stain, x1200. (b) Marek's disease tumor lesions consist mainly of CD4+ T lymphocytes. SAB-PO method, Mayer's hematoxylin counter stain, x1200.
- Fig 3.** (a) Marek's disease inflammatory skin lesions show scattered infiltration of CD3+ T lymphocytes in the dermis (arrow) and perivascular (double arrows) of subcutaneous. SAB-PO method, Mayer's hematoxylin counter stain, x1200. (b) Marek's disease tumor lesions consist mainly of CD3+ T lymphoblasts. SAB-PO method, Mayer's hematoxylin counter stain, x1200.



**Fig 4.** Lymphoid cell aggregate in the Marek's disease inflammatory skin lesions contains scattered CD8+ lymphocytes. SAB-PO method, Mayer's hematoxylin counter stain, x1200.  
**Fig 5.** (a) Marek's disease inflammatory lesions exhibit scattered  $\gamma\delta$  T lymphocytes in the dermis (arrow) and subcutaneous (double arrows). SAB-PO method, Mayer's hematoxylin counter stain, x1200. (b)  $\gamma\delta$  T lymphocytes are scattered in the Marek's disease tumor lesions. SAB-PO method, Mayer's hematoxylin counter stain, x1200.  
**Fig 6.** Scattered IgG bearing B lymphocytes are observed in the Marek's disease tumor lesions. SAB-PO method, Mayer's hematoxylin counter stain, x1200.

다(Fig 6).

## 고 찰

MDV의 실험접종에 의해 유발된 병변에서 림프구 아형의 변화를 경시적으로 연구한 보고는 지금까지 없다. 본 연구에서 CD4+ T 림프구는 초기 염증성 병변에서 상당한 수가 침윤하고 있었으며, 후기 종양성 병변을 주로 구성하는 세포였다. CD4+ T 림프구의 이러한 특징적인 경시적인 변화는 MDV에 의해 유발된 병변형성의 병리기전을 이해하는데 중요한 단서를 제공한다. MD 병변 발생에 대한 병리기전은 아직 확실하지는 않지만, 지금까지 대표적으로 받아들여졌던 학설은 초기의 종양성 병변이 후기 염증성 병변으로 진행된다는 Payne

*et al*<sup>33</sup>에 의한 것이다. 하지만 이 학설은 MDV에 의해 유발된 말초신경계 병변의 분석에 의한 것으로서 내부 장기 등에 발생하는 MD 병변은 반영하지 못하고 있다. 실제 MDV에 의해 유발된 진행성의 후기 병변은 전부 종양병변이기 때문이다<sup>24</sup>. Cho *et al*<sup>4</sup>은 살아 있는 닭에서 생검을 통하여 MDV에 의해 유발된 피부병변을 분석한 결과 병변은 초기 염증성에서 시작하여 점진적으로 종양세포의 증가에 의해 후기 종양성 병변으로 진행된다고 보고하였다. 이러한 결과는 본 연구에 의해서 뒷받침할 수 있다. 즉, 지금까지 여러 장기에 발생한 종양 병변의 구성세포와 마찬가지로 MD 피부 종양병변을 구성하는 림프구도 CD3+ CD4+ CD8- T 림프구였으며, 또한 CD3+ CD4+ CD8- T 림프구는 초기 염증성 병변에서부터 점진적으로 증가한다는 것이다.

닭의 CD3+ CD4+ CD8- T 림프구는 MDV의 증식 억제 효과는 없다고 보고되었다<sup>11,19</sup>. 하지만 MD 초기 피부병변에서 상당수의 CD3+ CD4+ CD8- T 림프구가 MDV 핵내봉입체가 형성하고 있는 모낭 상피세포 주위에 침윤하는 것으로 보아 어느 정도 MDV의 증식을 직접 혹은 간접적으로 억제하고 있을 가능성이 있다고 추측된다. 왜냐하면 naive CD3+ CD4+ CD8- T helper 림프구는 대식세포에서 분비하는 IL12의 자극이 있으면 Th1 계로 분화하여 세포 매개성 면역을 유발하는 반면, 비만세포 혹은 자연살해세포라고 추측되는 세포에서 IL4의 분비에 의해서 자극을 받으면 Th2 계로 분화하여 B 림프구의 형질구로의 분화를 유발하여 항체생산을 증가하게 하는 체액성 면역계를 활성화시키기 때문이다<sup>34</sup>. 닭에서는 아직 CD3+ CD4+ CD8- T 림프구의 Th1 혹은 Th2로의 분화에 대한 보고는 없어서 확실하게 알 수 없지만, MDV가 증식하는 모낭 상피세포 주위에 CD3+ CD4+ CD8- T 림프구가 침윤하고 있다는 것은 Th1 T 림프구와 같이 MDV가 증식하고 있는 모낭 상피세포를 세포 매개성 면역을 유발하여 용해하든가 아니면 Th2 T 림프구와 같이 체액성 면역계를 활성화시켜서 MDV의 방출을 억제할 수 있을 것으로 추측된다<sup>34</sup>.

본 연구에서 CD4+ T 림프구가 MDV 감염 1주부터 관찰되기 시작하여 접종 시간의 경과에 따라 증가하는 경향이 있었다. MDV 접종 후기의 결절성 종양병변은 대부분 CD4+ T 림프구로 구성되어 있었으며, 그 외 모낭 상피세포 주변부의 진피 및 피하조직에서 산발적으로 분포하고 있었다. 흥미 있는 것은 MDV 접종 후 피부에 침윤한 CD4+ T 림프구가 전부 종양성은 아니라는 것이다. 즉, MDV 감염 1주에 관찰된 CD4+ T 림프구는 염증성으로 추측된다. 일반적으로 종양세포가 출현되는 시기는 숙주의 연령 및 MDV에 대한 감수성, 백신상황 등에 의해서 다양하여 MDV 감염 후 몇 주에서 몇 달 후에 출현할 수도 있다고 한다<sup>12</sup>. 하지만, MDV에 의해 유발된 병변에서 종양세포인 CD3+ CD4+ CD8- T 림프구는 감염 12~14일 경부터 출현할 수 있다고 한다<sup>12</sup>. Cho *et al*<sup>4</sup>은 본 연구에서도 사용한 같은 종의 병아리에 똑같은 바이러스를 똑같은 시기에 접종한 닭에서 종양성의 림프구는 전자현미경적으로 비교적 드물게 감염 2주부터 관찰되었다고 한다<sup>35</sup>. 따라서 특히 염증 초기에 관찰되는 CD4+ T 림프구는 전부 종양세포가 아니라는 것을 알 수 있다.

$\alpha\beta$  TCR 림프구인 CD8+ T 림프구는 세포내 기생충인 바이러스, 원충 그리고 세균이 감염된 표적세포를 인식하여 용해시키는 작용을 한다<sup>20-22</sup>. 보고에 의하면 MDV 백신에 의한 MDV 감염억제는 CD4+ T 림프구보다 CD8+ T 림프구가 중요하게 작용한다고 한다<sup>11,19</sup>. 본 연

구에서도 세포독성 T 림프구인 CD8+ T 림프구는 염증성의 초기 피부병변 및 종양성의 후기 병변에서 관찰되었다. 특히 이 세포는 MDV의 증식이 있는 상피세포 주변에서 자주 관찰되었으며, 종양병변내에서도 관찰되었다. 따라서, CD8+ T 림프구는 MDV의 증식을 억제하기 위해서 침윤하고 있다고 생각된다. MDV의 접종에 의해 유발된 피부 종양병변내에 침윤한 CD8+ T 림프구의 기능은 알 수 없다. 왜냐하면 MDV 감염에서 CD8+ T 림프구는 항바이러스성 기능을 가지고 있지만, 항종양 기능은 없다고 알려져 있기 때문이다<sup>11,12,19</sup>.

TCR 1인  $\gamma\delta$  T 림프구는 포유류 뿐만 아니라 조류의 호흡기 및 장관 점막에서  $\alpha\beta$  T 림프구보다 더 많이 분포하고 있다<sup>31,36,37</sup>. 비록  $\gamma\delta$  T 림프구의 기능에 대해서는 많은 부분이 불분명하지만, 이 세포가 분포하고 있는 부분이 외부와 직접 통하는 점막에 많이 있다는 특성상 점막의 방어기전에 중요하게 작용할 것으로 추정되고 있다<sup>36</sup>. 본 연구에서도  $\gamma\delta$  T 림프구는 염증성이나 종양성 병변에 관계없이 MDV의 증식이 있는 모낭 상피세포 주위를 따라서 침윤하고 있는 경향이 있었다. 따라서,  $\gamma\delta$  T 림프구는 MDV의 증식을 억제하는 기능이 있을 것으로 추정된다. 이러한 추론은 실제로 포유류에서는  $\gamma\delta$  T 림프구가 원충이나 세균 감염 뿐만 아니라 바이러스의 증식을 억제한다는 것에 의해서도 뒷받침될 수 있다<sup>38-42</sup>.

MDV 감염의 방어에는 체액성 면역보다는 세포 매개성 면역이 중요하게 작용한다고 한다<sup>17,18,19,23,24</sup>. 특히, 숙주의 체내에서 MDV는 cell-associated infection을 하기 때문에 질병이 진행된 상황에서는 체액성 면역은 크게 작용할 수 없다고 한다<sup>2,12</sup>. 따라서 MDV에 대한 체액성 면역은 MDV가 세포 용해성으로 증식하고 있는 곳에서 중요하게 작용한다고 한다. 본 연구에서도 B 림프구는 MDV에 의해 유발된 피부의 염증성 병변부터 종양성 병변에 이르기까지 비교적 많이 침윤하고 있었다. 이는 MDV가 모낭 상피세포에서 세포 용해성으로 증식하고 있어서, 이들 cell-free infection을 할 수 있는 바이러스를 제거하기 위한 것으로 추정된다.

## 결 론

강독주인 MDV를 MD에 감수성이 높은 병아리에 실험 접종하여 유발된 피부병변을 생검을 통하여 경시적으로 관찰하였다. 그 결과 병리조직학적으로 초기 염증성 병변이 점진적으로 종양세포의 증가에 기인하여 후기에는 완전한 종양성 병변으로 대체되었다. 이러한 병변에 침윤한 림프구 아형중에서 종양세포인 CD4+ T 림프구는 초기 염증성 병변에서부터 점진적으로 증가하여 후기 종양성 병변에서는 종양세포의 거의 대부분이 이

세포로 대체되어 있었다. 따라서, 본 연구에 의해서 MDV에 의해 유발된 피부병변은 초기 염증성 병변에서 시작하여 점진적인 종양세포의 증가에 의해서 완전히 종양성으로 대체된다는 것을 알 수 있었다. CD8+ T 세포와  $\gamma\delta$  T 세포 뿐만 아니라 IgG bearing B 림프구는 MDV에 의해 유발된 피부병변이 염증성에서 종양성으로 진행되는 과정에서 수적으로 증가하였으나 전체 세포비율에서는 감소하였다. 이들 세포들은 특히 MDV의 복제가 일어나고 있는 모낭 상피세포 주위에 주로 침윤하는 경향이 있었다. 따라서, CD8+ T 세포와  $\gamma\delta$  T 세포 뿐만 아니라 IgG bearing B 림프구는 모낭 상피세포에서 복제하고 있는 MDV의 방어에 관여하고 있을 것으로 생각된다.

**참고문헌**

1. Calnek BW. Pathogenesis of Marek's disease virus infection. *Curr Top Microbiol Immunol*, 255:25-55, 2001.
2. Calnek BW, Witter RL. Marek's disease. In: Diseases of poultry, 9th ed. Ames: Iowa State University Press. 1991:342-385.
3. Cho K-O, Ochiai K, Fujikawa Y, et al. Cutaneous lesions in broiler chickens spontaneously affected with Marek's disease. *Avian Pathol*, 26:277-291, 1997.
4. Cho K-O, Mubarak M, Kimura T, et al. Sequential skin lesions in chickens experimentally infected with Marek's disease virus. *Avian Pathol*, 25:325-343, 1996.
5. Cho K-O, Endoh D, Qian JF, et al. Central nervous system lesions induced experimentally by very virulent strain of Marek's disease virus in Marek's disease-resistant chickens. *Avian Pathol*, 27:512-517, 1998.
6. Wight PAL. The ultrastructure of sciatic nerves affected by fowl paralysis (Marek's disease). *J Comp Pathol*, 79:563-570, 1969.
7. Wight PAL. The histopathology of the central nervous system in fowl paralysis. *J Comp Pathol*, 72:348-359, 1962.
8. Izumiya Y, Jang H-K, Ono M, et al. A complete genomic DNA sequence of Marek's disease virus type 2, strain HPRS24. *Curr Top Microbiol Immunol*, 255:191-221, 2001.
9. von Bülow V, Biggs PM. Differentiation between strains of Marek's disease viruses and turkey herpesvirus by immunofluorescence assays. *Avian Pathol*, 4:133-146, 1975.
10. von Bülow V, Biggs PM. Precipitating antigens associated with Marek's disease viruses and a herpesvirus of turkeys. *Avian Pathol*, 4:147-162, 1975.
11. Morimura T, Ohashi K, Sugimoto C, et al. Pathogenesis of Marek's disease (MD) and possible mechanisms of immunity induced by MD vaccine. *J Vet Med Sci*, 60:1-8, 1998.
12. Schat KA, Markowski-Grimsrud CJ. Immune responses to Marek's disease virus infection. *Curr Top Microbiol Immunol*, 255:25-55, 2001.
13. Witter RL. Protective efficacy of Marek's disease vaccines. *Curr Top Microbiol Immunol*, 255:25-55, 2001.
14. Nazerian K, Witter RL, Lee LF, et al. Protection and synergism by recombinant fowl pox vaccines expressing genes from Marek's disease virus. *Avian Dis*, 40:368-376, 1996.
15. Nazerian K, Lee LF, Yanagida N, et al. Protectin against Marek's disease by a fowlpox virus recombinant expressing the glycoprotein B of Marek's disease virus. *J Virol*, 66:1409-1413, 1992.
16. Yanagida N, Ogawa R, Lee LF, et al. Recombinant fowlpox viruses expressing glycoprotein B homolog and the pp38 gene of Marek's disease virus. *J Virol*, 66:1402-1408, 1992.
17. Else RW. Vaccinal immunity to Marek's disease in bursectomized chickens. *Vet Rec*, 95:182-187, 1974.
18. Sharma JM, Witter RL. The effect of B-cell immunosuppression on age-related resistance of chickens to Marek's disease. *Cancer Res*, 35:711-717, 1975.
19. Morimura T, Cho K-O, Kudo Y, et al. Anti-viral and anti-tumor effects induced by an attenuated marek's disease virus in CD4- or CD8-deficient chickens. *Arch Virol*, 144:1809-1818, 1999.
20. Plata F, Langlade-Demoyen P, Abastado JP. Retrovirus antigens recognized by cytolytic T lymphocytes activate tumor rejection in vivo. *Cell*, 48:231-240, 1987.
21. van Pel A, van der Bruggen P, Coulie PC, et al. Genes coding for tumor antigens recognized by cytotoxic T lymphocytes. *Immunol Rev*, 145:229-250, 1995.
22. Yasutomi Y, Reimann KA, Lord CI, et al. Simian immunodeficiency virus-specific CD8+ lymphocyte response in acutely infected rhesus monkeys. *J Virol*, 37:1707-1711, 1993.
23. Omar AR, Schat KA. Characterization of Marek's disease herpesvirus-specific cytotoxic T lymphocytes in chickens inoculated with a non-oncogenic vaccine strain of MDV. *Immunology*, 90:579-585, 1997.
24. Omar AR, Schat KA. Syngenic Marek's disease virus (MDV)-specific cell-mediated immune response against immediate early, late and unique MDV proteins. *Virology*, 222:87-99, 1996.
25. Morgan RW, Xie Q, Cantello JL, et al. Marek's disease virus latency. *Curr Top Microbiol Immunol*. 255:223-243, 2001.
26. Witter RL, Sharma JM, Fadly AM. Pathogenicity of variant Marek's disease virus isolants in vaccinated and unvaccinated chickens. *Avian Dis*, 24:210-232, 1980.
27. Cho K-O, Ohashi K, Onuma M. Electron microscopic and immunohistochemical localization of Marek's disease (MD) herpesvirus particles in MD skin lymphomas. *Vet Pathol*, 36:314-320, 1999.
28. Cho K-O, Endoh D, Onuma M, et al. Analysis of

- transcriptional and translational activities of Marek's disease (MD) virus genes in MD central nervous system lesions in chickens. *Avian Pathol*, 28:47-53, 1999.
29. Cho K-O, Endoh D, Ochiai K, *et al.* Significance of Marek's disease virus serotype 1-specific phosphorylated proteins in Marek's disease skin lesions. *Avian Pathol*, 26:707-720, 1997.
  30. Chan MM, Chen C-LH, Ager LL, *et al.* Identification of the avian homologues of mammalian CD4 and CD8 antigens. *J Immunol*, 140:2133-2138, 1988.
  31. Chen CLH, Cihak J, Loch U, *et al.* Differential expression of two T cell receptors, Tcr1 and Tcr2, on chicken lymphocytes. *Eur J Immunol*, 18:539-543, 1988.
  32. Luhtala M, Salmonsens J, Hirota Y, *et al.* Analysis of chicken CD4 by monoclonal antibodies indicates evolutionary conservation between avian and mammalian species. *Hybridoma*, 12:633-646, 1993.
  33. Payne LN, Biggs PM. Studies on Marek's disease. II. Pathogenesis. *J Natl Cancer Inst*, 39:281-302, 1967.
  34. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, *et al.* Cellular and Molecular Immunology. 4<sup>th</sup> ed. W. B. Saunders Co. London, UK.
  35. 조경오. 마렉병 바이러스 강독주의 실험 집종에 의해 유발된 닭의 초기 피부 병변에 대한 면역조직화학적 및 전자현미경적 연구. 한국임상수의학회지, 18:55-60, 2001.
  36. Hass W, Pereira P, Tonegawa S. Gamma/delta cells. *Annual Rev Immunol*, 11:637-685, 1993.
  37. Tregaskes CA, Kong FK, Paramithiotis E, *et al.* Identification and analysis of the expression of CD8  $\alpha\beta$  and CD8 $\alpha\alpha$  isoforms in chickens reveals a major TCR- $\gamma\delta$  CD8 $\alpha\beta$ , subset of intestinal intraepithelial lymphocytes. *J Immunol*, 154:4485-4494, 1995.
  38. de Palio P, Basaglia G, Gennari D, *et al.* Phenotypic profile and functional characteristics of human gamma and delta T cells during acute toxoplasmosis. *J Clin Microbiol*, 30:729-731, 1992.
  39. Gan YH, Pauza CD, Malkvsky M.  $\gamma\delta$  T cells in rhesus monkey and their response to simian immunodeficiency virus (SIV) infection. *Clin Exp Med*, 102:251-255, 1995.
  40. Hisaeda H, Sasaki T, Nagasawa H, *et al.* Contribution of extrathymic gamma delta T cells to the expression of heat-shock protein and to protective immunity in mice infected with *Toxoplasma gondii*. *Immunology*, 88:551-557, 1996.
  41. Ho M, Tongtawa P, Kriangkum J, *et al.* Polyclonal expansion of peripheral gamma delta T cells in human *Plasmodium falciparum* malaria. *Infect Immun*, 62:855-862, 1994.
  42. Sciammas R, Kodukula P, Tang Q, *et al.* T cell receptor-gamma/delta cells protect mice from herpes simplex virus type 1-induced lethal encephalitis. *J Exp Med*, 185:1969-1975, 1997.