

Cyclosporin A로 유도된 생쥐 림프절의 세포성 면역억제에 관한 면역조직화학적 연구

-T 림프구, IL-2 수용기 및 NK세포의 변화를 중심으로-

김진택, 박인식, 안상현, 최난희, 김동환*

동국대학교 한의과대학 해부학교실, 연세대학교 의과대학 해부학교실*

【초록】 본 실험은 cyclosporin A(CsA)에 의한 시간의 경과에 따른 림프절에서의 세포성 면역억제를 조사하기 위해서 시행된 것으로 BALB/C계 생쥐에 10일동안 CsA(45mg/kg/day) 투여 후 림프절에서의 T 림프구, IL-2 수용기 그리고 자연살해(NK)세포의 분포 변화를 관찰하였다. 대조군의 림프절에서는 L3T4(CD4)에 양성반응을 보이는 도움 T림프구, Ly2(CD8)에 양성반응을 보이는 세포독성 T 림프구 그리고 CD25R에 양성반응을 보이는 IL-2 수용기를 가진 세포는 결피질(paracortex)과 수질동(medullary sinus)에서 분포하였다. CsA 투여 후 처음 3일까지는 이들 양성반응세포의 분포 변화는 없었으며 양성반응성의 변화도 없었다. 그러나 CsA 투여 7일부터 양성반응 세포수의 감소와 양성반응성의 약화가 관찰되기 시작하였으며 이러한 변화는 시간이 경과하여 14일에 이르렀을 때 가장 큰 감소추세로 나타났다. 한편 NK1.1(CD56)에 양성반응을 보이는 자연살해세포는 피질과 수질에 분포하였으며 CsA 투여 후 시간의 경과에 따라 양성반응 세포수가 감소하였으며, 이러한 감소는 14일에서 가장 큰 것으로 나타났다. 이상의 결과로 미루어보아 CsA 투여는 림프절에서의 IL-2 분비저해를 통해 T 림프구와 NK세포의 활성을 차단하여 선택적이면서 효과적인 세포성 면역억제작용을 하고 있는 것으로 사료된다.

중심낱말 : Cyclosporin A, 림프절, 면역억제, T 림프구, IL-2 수용기, 자연살해세포

I. 서론

Cyclosporin A(CsA)는 *Tolypocladium inflatum*과 *Cyclindrocarpon lucidum*에서 추출한 cyclic polypeptide(MW.1203)로서 (Wenger, 1986; Kahan, 1989) B 림프구보다는 T 림프구에 대한 선택적인 면역억제제로써 장기이식과 자가면역질환에 널리 사용되고 있다고

Prud'homme와 Vanier(1993), Parfrey와 Prud'homme(1990), Yee 들(1984) 그리고 Fischer 들(1989) 등에 의해서 보고되었다. CsA는 면역적혈구에 대한 과민반응, oxazolone, picryl chloride 그리고 dinitrofluorobenzene (DNFB) 등에 대한 접촉성 과민반응, 이식편대숙주(GVH) 피부거부반응, 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis) 등에서 과도한 T 림프구

기능을 억제하여 치료효과를 거두고 있는 것으로 Braida와 Knop(1986)와 Altmann과 Blyth(1985)에 의해 보고되었다.

이러한 면역억제력은 CsA의 활성이 세포주기 G0부터 G1시기의 항원 감수성 T 림프구에 선택적으로 작용하여 유전자의 활성경로 중 Calcium 의존 대사경로를 방해하여 도움 T 림프구의 mRNA전사를 선택적으로 저해하는 것으로 Roit(1993)와 Baldari 등(1991)에 의해서 보고되었다. 이러한 CsA는 Shevach(1985), Havele와 Paetkau(1988), Kosugi 등(1989), Pereira 등(1990) 그리고 Prud'homme와 Vanier(1993)의 보고에 의하면 도움 T 림프구에서 인터루킨 2(interleukin 2; IL-2)의 생산과 IL-2 수용체를 선택적으로 저해하여 T 림프구의 활성을 억제하여 분열, 성숙을 감소시켜 항원제공 세포 또는 항원에 대한 반응을 떨어지게 한다. 이러한 이유때문에 동종항원(alloantigen)에 대한 세포독성을 효과적으로 차단하는 능력을 가지게 되므로 조직이식이나 자가면역 치료에 사용되는 것이다. 특히 CsA는 IL-2 분비저해를 통해 T 림프구에 대해 선택적으로 작용하게 되며 B 림프구에는 영향을 미치지 않도록 고안되어 있어, 알킬화 약물로 윤(1989)과 김 등(1993)에 의해 보고된 바로 비장에서 B 림프구과 T 림프구에 함께 영향을 미치는 cyclophosphamide(Cytoxan; CP)와는 많은 차이점을 나타내게 된다.

CsA의 가슴샘에서의 선택적인 면역억제효과는 IL-2 분비저해로 인한 apoptosis 증가로 인해 가슴샘세포(thymocytes)의 성숙분열이 억제된다는 cohen 등(1994)의 최근 보고를 미루어 보아 IL-2 분비를 매개로 하는 T 림프구 주도의 세포성 면역반응의 면역연쇄(immune cascade)를 억제하는 것으로 생각되며 그 결과 Eeschomer 등(1987), Eric 등(1993), Fabien 등(1992)에 의하면 형태학적으로는 수질의 퇴축과 활성 T 림프구의 감소가 관찰된다고 보고되었다. 또한 비장에서는 백색수질의 크기도 줄어들었으며 림프성동맥주위집과 붓털소동맥주변에서 분포하는 도움 T 림프구, 세포독성 T 림프

구, IL-2 수용기 그리고 NK 세포의 감소가 이미 김 등(1994)에 의해서 보고되었다. 그러나 CsA 투여로 일어나는 림프절의 형태학적 변화는 아직까지 보고된 바가 없었다. 한편 림프절과 관계된 세포성 면역연쇄를 보면 외부항원을 인지한 항원제공세포는 외부항원의 내재화(internalization)를 거친 후 항원제공을 위해 항원노출 주변림프절의 paracortex까지 이동(migration)하게되며, 그 결과 제공된 항원은 림프절내의 도움 T 림프구의 T cell receptor (TCR)에 의해 인식되어 autocrine interleukin 2(IL-2)를 비롯한 cytokine 분비를 통한 면역활성이 일어난다. cytokine 분비에 의해 면역활성된 세포독성 T 림프구, 항원 특이성 기억 T 림프구(TCR⁺CD4⁻IL-2R⁻DR⁻T lymphocyte)는 혈관계를 통해 항원 노출지역으로 이동(homing)하여 세포성 면역반응을 일으킨다고 roit 등(1993)은 보고하였다.

본 실험은 아직까지 보고된 바 없는 림프절에서 CsA 투여 후 나타나는 세포성 면역억제로 인한 형태학적 변화를 면역조직화학적으로 관찰한 것으로 도움 T 림프구의 표지인자인 항 CD4항체와 세포독성 T 림프구의 표지인자인 항 CD8항체를 이용하여 T 림프구의 분포와 변화를 조사하기위하여, 세포성 면역활성의 매개물질인 IL-2 수용기의 변화는 CD25R항체를, 자연살해세포의 변화는 CD56(NK1.1)항체를 이용하여 조사하였다. 실험 결과 유의한 변화가 인정되어 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물

태령 4주된 건강한 BALB/C계 웅성 생쥐를 무균동물사육장치내에서 2주간 사육하여 적응시킨 후 체중 30g정도인 생쥐를 선별하여 대조군과 CsA를 투여한 실험군으로 구분하였다. 대조군과 실험군은 각각 3, 7, 그리고 14일의 3개 군으로 나누었으며 각 군에 7마리씩 배정하여 사용하였다.

2. CsA의 투여

Sandoz사의 Sandimmun(CsA 50 mg/ml in olive oil)을 생리식염수에 10배로 희석시켰다. 신선함을 유지하기 위해서 용액은 투여 직전에 제조하여 실험군에 CsA(45mg/kg/day)을 10일 동안 경구투여하였다.

3. 사용항체

본 실험에서 사용된 항체는 normal rabbit serum(Vector LAB, USA), normal goat serum(Vector LAB, USA), rat anti-mouse L3T4(CD4; Caltag LAB, USA), rat anti-mouse Ly-2(CD8; Caltag LAB, USA), rat anti-mouse IL-2 receptor(CD25R-B Chain; Caltag LAB, USA), mouse anti-mouse NK-1.1(CD56; Caltag LAB, USA), biotinylated rabbit anti-rat IgG(Vector LAB, USA), biotinylated goat anti-mouse IgG(Vector LAB, USA), Avidin Biotin Complex(ABC; Vector LAB, USA) 등이다.

4. 조직표본 작성

CsA를 투여한 후 3, 7 그리고 14일 경과 후 경추탈구로 생쥐를 희생시켜 온영당(common iliac lymphnode) 림프절을 적출한 후 10% 중성포르말린 용액에 실온에서 24시간 동안 고정하였다. 고정된 조직을 통상적인 방법으로 paraffin에 포매하고 5 μ m두께로 연속절편을 만들었다.

5. 면역조직화학 염색

조직절편은 proteolysis를 위해 0.05% pepsin이 포함된 0.01N HCl 용액(pH2.0)에 5분간 처리한 후, 1:500으로 희석된 blocking serum인 normal rabbit serum에 30분동안 반응시킨 후 PBS로 수세하고, 1:500으로 희석한 1차 항체인 rat anti-mouse L3T4, rat anti-mouse Ly-2 그리고 rat anti-mouse IL-2 receptor에 실온에서 4시간동안 반응시킨 후 PBS로 수세하였다. 그런 다음 1:250으로 희석된 2차 항체인 biotinylated rabbit anti-rat IgG에 실온에서 1시간동안

반응시킨 후 PBS로 수세하고, ABC에 30분간 반응시켰다. 0.0125% 3,3'-diaminobenzidine과 0.01% Hydrogen peroxide가 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액(pH7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조염색하여 광학현미경(BH2, Olympus, Japan)으로 관찰하였다. 한편 NK세포의 면역조직화학적 염색은 위와 동일한 방법으로 시행되었는데 다만 blocking serum으로 normal goat serum, 1차 항체는 mouse anti-mouse NK-1.1 그리고 2차 항체는 biotinylated goat anti-mouse IgG가 사용되었다.

III. 실험결과

CsA 투여 후 3일까지는 대조군과 비교했을 때 피질과 수질사이에서는 아무런 변화가 관찰되지 않았다. 그러나 CsA 투여 7일부터는 대조군에 비해 수질의 크기가 감소되기 시작하였으며, 시간이 경과되어 14일에 이르러서는 가장 많은 감소를 관찰할 수 있었다. 한편 실험기간 동안 피질 크기의 변화는 관찰되지 않았다.

대조군에서 CD4에 양성반응을 보이는 도움 T 림프구는 결피질(paracortical area)과 수질동(medullary sinus)에서 관찰되었다(Fig.1.). CD4 양성반응 세포의 반응양상은 세포질 가장자리에서 양성 반응을 보여 원형의 띠를 형성하고 있는 것으로 관찰되었으며 그 띠의 두께는 세포마다 차이가 있었으며, 한세포내에서도 달랐다. CsA 투여 후 3일까지는 대조군에 비해 별다른 양상은 관찰되지 않았으나 시간이 경과하여 7일째에 이르러서는 CD4 양성반응 세포수의 일부 감소를 관찰할 수 있었으며 또한 양성반응성도 약화된 것으로 나타났다. 이러한 양성반응 세포수의 감소와 양성반응성의 약화는 실험 14일에 이르러서는 점점 심해졌으며(Fig.2.) 일부 결피질과 수질동에서만 관찰되었다. 그러나 이러한 변화는 피질에서는 관찰되지 않았다.

CD8에 양성반응을 보이는 세포독성 T 림프구는 대조군에서는 도움 T 림프구와 마찬가지로 결피질과 수질동에서 관찰되었다(Fig.3.).

CD8 양성반응양상은 CD4와의 양성반응양상과 유사하게 나타났다. CsA 투여 후 3일까지는 대조군에 비해 별 다른 양상은 관찰되지 않았으나 시간이 경과하여 7일째에 이르러서는 CD8 양성반응 세포수의 일부 감소를 관찰할 수 있었으며 또한 양성반응성도 약화된 것으로 나타났다. 이러한 양성반응 세포수의 감소와 양성반응성의 약화는 실험 14일에 이르러 점점 심한 것으로 관찰되었다(Fig.4).

CD25R에 양성반응을 보이는 IL-2 수용기 양성반응세포는 대조군에서는 결피질에서 관찰되었다(Fig.5.). CsA 투여 후 3일까지는 대조군에 비해 별 다른 양상은 관찰되지 않았으나 시간이 경과하여 7일째에 이르러서는 CD25R 양성반응 세포수의 일부 감소를 관찰할 수 있었으며 또한 양성반응성도 약화된 것으로 나타났다. 이러한 양성반응 세포수의 감소와 양성반응성의 약화는 실험 14일에 이르러 급격하게 나타났다(Fig.6.).

한편 NK세포는 대조군에서는 CD56(NK1.1)에 강한 양성반응성을 보이면서 일부 피질과 수질동에서 관찰되었다(Fig.7.). 그러나 CsA 투여 7일째부터 급격하게 양성반응 세포수와 양성반응성이 감소하기 시작하여 14일에 이르러서는 가장 큰 감소경향을 나타냈다(Fig.8.).

IV. 고 찰

T 림프구의 활성화는 대식세포를 비롯한 여러 세포에서 분비된 Interleukin 1(IL-1)에 의해서 도움 T 림프구가 IL-2를 합성, 분비하여 T 림프구를 분열, 성숙하게 만드는 면역연쇄(immunocascade)반응의 중요한 일부분인 것으로 Roit(1993)가 보고하였다. 그러나 Baldari 들(1991)에 의하면 장기이식이나 자가면역 치료를 위한 면역억제는 IL-2의 분비를 차단하여 림프구의 활성을 저해하면서 이루어지는데 이는 IL-2를 항원의 표지인자로 하여 작동되는 T 림프구의 활성화를 막아주기 때문인 것이다. 이런 기전을 이용한 효과적인 면역억제제로서 CsA

가 개발되었다. CsA는 도움 T 림프구의 mRNA의 전사를 억제하여 IL-2의 생성을 저해하게 되는데 이는 T 림프구가 외부의 항원에 대해 효과적으로 작용하지 못하게 하여 장기이식이나 자가면역질환의 치료 성공률을 높이는 데 기여하게 된다고 Pereira 들(1990)이 보고하였다.

CsA는 골수에서 성숙중인 T 림프구에는 전혀 작용하지 않고 성숙한 T 림프구의 활성화에만 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 이러한 경우 성숙한 T 림프구를 인지할 수 있는 표면 단백질인자는 CD4와 CD8 그리고 TCR복합체(T-cell antigen receptor-CD3 complex)로써 T 림프구의 15%는 TCR-1⁺CD4⁺CD8⁻와 TCR-1⁺CD8⁻로 나타나는데 TCR-1은 두개의 폴리펩타이드(γ 및 δ 사슬)가 디설파이드에 의해서 결합된 이종이합체이며 나머지 85-90%는 α 와 β 폴리펩타이드로 구성된 TCR-2를 발현하는 T 림프구로서 대부분의 도움 T 림프구에서 나타나고 있는 TCR-2⁺CD4⁺와 세포독성 T 림프구에서 나타나는 TCR-2⁺CD8⁺로 구성되어 있다고 Kosugi 들(1989)과 Klausner 들(1990)이 보고하였다.

CsA에 의해 분비저해되는 IL-2는 활성화된 도움 T 림프구에서 분비하는 세포성 면역의 중추역할을 하는 림포카인으로 세포독성 T 림프구, B 림프구, NK세포, 림포카인활성살해(lymphokine activated killer, LAK)세포와 단핵구를 활성화하는 것으로 하(1991)에 의해 보고되었으며, 최근에는 LAK세포와 더불어 암치료를 위한 면역요법으로 사용되고 있는 실정이다.

본 실험 결과 CsA의 투여 후 림프질의 결피질과 수질동 크기 감소는 CsA 투여 후 가슴샘의 수질 크기 감소(Eeschomer et al, 1987; Shevach, 1985), 비장의 백색수질 크기의 감소(김 들, 1994)와 같은 현상으로 이해될 수 있는 결과로, 이는 활성화 T 림프구 수의 감소로 인해 일어나는 것으로 사료된다.

결피질과 수질동에 존재하는 도움 T 림프구와 세포독성 T 림프구의 분포변화는 CsA 투여 후 7일부터 감소되기 시작하여 14일에 감소가

제일 큰 것으로 나타났으며, 아울러 결피질에 존재하는 IL-2 수용기 양성반응세포의 분포 양상도 유사한 결과를 나타내었다. 이러한 결과와 같은 IL-2의 분비저해와 세포성 면역반응 억제와의 관련성에 관한 여러 가지 보고가 있는데, 우선 cohen 들(1994)과 김 들(1996)의 보고를 통합해보면, 장기 알콜투여로 인한 IL-2 분비저해는 가슴샘세포의 apoptosis 증가를 유도하여 가슴샘세포의 분화와 성숙이 완료되어 혈관을 통해 순환하는 T 림프구가 있는 지역인 corticomedullary junction 부위에서의 성숙된 T 림프구의 감소가 나타난다는 것이었다. 또한 김 들(1994)은 CsA 투여로 비장에서 백색수질의 림프성동맥주위집 주변과 적색수질의 분절소동맥주변에서 분포하는 IL-2 수용기 양성반응세포와 T 림프구가 감소한다고 보고하였으며, 한편으로 김 들(1995)은 암세포로 유도된 세포성 면역증강에 의한 IL-2 분비 증가는 T 림프구의 성숙, 활성, 분열을 촉진시킨다는 결과를 발표했다. 이상의 이전 보고로 미루어 보아 IL-2 분비는 세포성 면역에서 중요한 매개로 인식되며, 또한 이러한 IL-2 분비 양상의 변화는 세포성 면역반응의 감소, 증가를 좌우하게 된다고 생각된다. 결피질과 수질동에서 일어나는 도움 T 림프구와 세포독성 T 림프구의 감소 변화는 IL-2 분비의 저해로 인해 일어나는 것으로서 이는 IL-2 수용기 양성반응세포수의 감소로 설명할 수가 있다. 이러한 이유 때문에 결피질과 수질동에서 immunoblast 형태 즉, 세포질의 비율이 핵보다 큰 T 림프구의 수가 CsA 투여후 감소된 것으로 관찰되었다. 또한 IL-2의 분비저해는 NK양성반응 세포수를 감소시키는 결과를 나타내 NK세포와 IL-2 사이의 연관성에 대한 하(1992)의 발표와 일치하였다.

이와 같은 분 실험으로 미루어 보아 CsA는 IL-2 분비 저해를 통해 림프절의 결피질과 수질동에 있는 T 림프구의 성숙, 분열, 활성을 저해할 뿐만 아니라, 가슴샘과 비장에서도 동시에 면역 억제작용을 하게된다. 결과적으로는 세포성 면역반응을 저해하는 것으로 사료되어 선택적 면역억제제로서의 기능을 수행하는 것으로

사료된다.

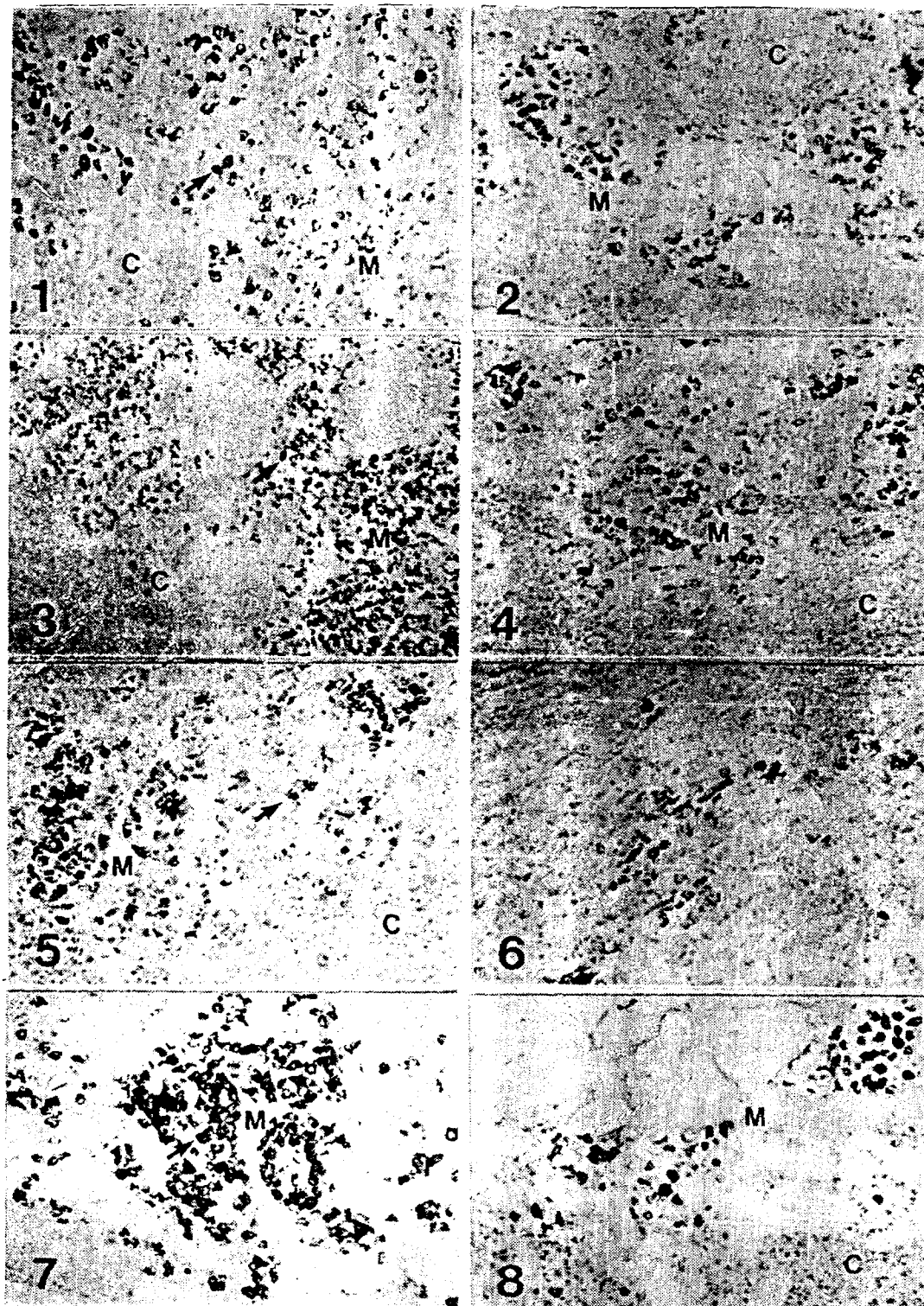
V. 참고문헌

1. 김진택, 김동환, 안상현, 윤식 : 인삼추출물이 cyclophosphamide에 의해 손상된 흰쥐 비장 조직의 회복에 미치는 영향. 동국대학교 한의학연구소, 2(1): 177-182, 1993.
2. 김진택, 김동환, 안상현 : cyclosporin A가 생쥐 비장에 미치는 영향에 관한 면역조직화학적 연구. 대한해부학회지. 27(4): 490-496, 1994.
3. 김진택, 김동환, 안상현 : Sarcoma 180 cell이 생쥐 가슴샘의 T 림프구와 IL-2 수용기의 변화에 미치는 면역조직화학적 연구. 동국논집. 14: 303-316, 1995.
4. 김진택, 박인식, 안상현 : 장기간 알콜투여가 생쥐 가슴샘에서 T 림프구의 분화와 IL-2 분비 저해에 미치는 면역조직화학적 연구. 동국대학교 한의학연구소 논문집. 5: 187-196, 1996.
5. 윤 식: Cyclophosphamide가 흰쥐 비장에 미치는 영향에 대한 조직화학적 연구. 부산대학교 대학원. 1989.
6. 하대유: lymphokine을 중심으로 면역반응조직에 대하여. 녹십자지보. 5:232-246, 1991.
7. Altmann, D. D. and Blyth, W. A. : The effects of cyclosporin A on the induction, expression and regulation of the immune response to helpers simplex virus. Clin. Exp Immunol. 59: 17-22, 1985.
8. Baldari, C. T., Macchia, G., Heguy, A., Melli, M., and Telford, J. L. : Cyclosporin A blocks calcium-dependent pathways of gene activation. J Biol. Chem. 266: 19103-19108, 1991.
9. Braida, M. and Knop, J. : Effect of cyclosporin A on the T-effector and T-suppressor cell response in contact sensitivity. Immunology. 59: 503-511, 1986.

10. Cohen, J. J., Duke, R. C., Fadok, V. A., and Sellins, K. S. : Apoptosis and programmed cell death in immunity. *Annu. Rev. Immunol.* 10: 267-296, 1992.
11. Eeschorner, W. E., Namoum, J. D., Hess, A. D., Shinn, C. A., and Santos, G. W. : Cyclosporin A and thymus. *Am. J. Pathol.* 126: 487-496, 1987.
12. Eric, J. de Waaal, Louk, H. P. M. Rademarkers, Henk-Jan Schuurman, and Henk, van Loveren : Ultrastructure of interdigitating vells in the rat thymus during cyclosporin A treatment. *Clin. Immunol.* 153-157, 1993.
13. Fabien, N. H., Auger, C., Moreira, A., and Monier, J. C. : Effects of cyclosporin A on mouse thymus: immunochemical and ultrastructural studies. *Thymus.* 20:153-162, 1992.
14. Fisher, A. C., Laulis, M. K., Horwitz, L., Beschorner, W. E., and Hess, A. : Host resistance to cyclosporine induced syngeneic graft-versus-host disease: *J Immunol.* 143: 827-832, 1989.
15. Havele, C. and Paetkau. : Cyclosporine blocks the activation of antigendependent cytotoxic T lymphocytes directly by an IL-2-independent mechanism. *J Immunol.* 140: 3303-3308, 1988.
16. Kahan, B. D. : Medical intelligence : Cyclosporin A. *New England J Medicine.* 321(25): 1725-1738, 1989.
17. Klausner, R. D., Schwartz, J. L., and Bonifacino, J. S. : The T-cell antigen receptor : Insights into organelle. *Ann. Rev. Cell. Biol.* 6: 403-432, 1990.
18. Kosugi, A., Sharrow, S. O., and Shearer, G. M. : Effect of cyclosporin A on lymphopoiesis. I. Absence of Mature T-cell in thymus and periphery of bone marrow transplanted mice treated with cyclosporin. *Am. J. Immunol.* 142:3026-3032, 1989.
19. Parfrey, N. A. and Prud'homme, G. J. : Patterns of MHC antigenic modulation in cyclosporin-induced autoimmunity. *Am J Pathol.* 136: 479-486, 1990.
20. Pereira, G. M. B., Miller, J. F and Shevach, E. M. : Mechanism of action of cyclosporin A in vivo II. T cell priming in vivo to alloantigen can be mediated by an IL-2-Independent cyclosporin A-Resistant pathway. *J Immunol.* 144: 2109-2116, 1990.
21. Prud'homme, G. J. and Vanier, L. E. : Short analytical review Cyclosporin, Tolerance, and Autoimmunity. *Clin. Immunol Immunopatho.* 66: 185-192, 1993.
22. Roit, I. M. : *Essential Immunology* 6th ed. Oxford, Black Scientific Publications, pp 264-266, 1993.
23. Shevach, E. M. : The effects of cyclosporin A on the immune system. *Ann. Rev Immunol.* 3: 397-423, 1985.
24. Var, L. E. and Prud'homme, G. J. : Cyclosporin A markedly enhances super-antigen-induced peripheral T cell deletion and inhibits anergy induction. *J Exp Med.* 176: 37-46, 1992.
25. Wenger, R. M. : Cyclosporin; Conformation and analogues as tools for studying its mechanism of action. *Transplant Proc.* 20: 313-318, 1986.
26. Yee, G. C., Kennedy, M. S., Storb, R., and Thomas, E. D. : Effect of Hepatic dysfunction on oral cyclosporine pharmacokinetics in marrow transplant patients. *Blood.* 64:1277-1279, 1984.

Legends for Figure

- Fig. 1. The distribution of helper T lymphocytes(arrow) in the control lymph node. The CD4 positive cells appeared in paracortical area. M: medulla, C: cortex. Immunohistochemical stain. x200
- Fig. 2. The presence of helper T lymphocytes in lymph nodes at day 14 after cyclosporin A administration. The number of CD4 positive cell conspicuously decreased in paracortical area. Immunohistochemical stain. x200
- Fig. 3. The distribution of cytotoxic T lymphocytes(arrow) in the control lymph node. The CD8 positive cells appeared in paracortical area. M: medulla, C: cortex. Immunohistochemical stain. x100
- Fig. 4. The presence of cytotoxic T lymphocytes in lymph nodes at day 14 after cyclosporin A administration. The number of CD8 positive cell conspicuously decreased in paracortical area and the degree of positive reaction declined than control lymph node. Immunohistochemical stain. x200
- Fig. 5. The distribution of IL-2 receptor in the control lymph node. The CD25R positive cells(arrow) appeared mostly in paracortical area. M: medulla, C: cortex. Immunohistochemical stain. x200
- Fig. 6. The presence of IL-2 receptors in lymph nodes at day 14 after cyclosporin A administration. The number of CD25R positive cell conspicuously decreased in T-cell area and the degree of positive reaction declined than control lymph node. Immunohistochemical stain. x200
- Fig. 7. The distribution of NK cells in the control lymph node. The CD56 positive cells(arrow) appeared mostly in paracortical area. M: medulla, C: cortex. Immunohistochemical stain. x200
- Fig. 8. The presence of NK cells in lymph nodes at day 14 after cyclosporin A administration. The number of CD56 positive cell noticeably decreased and the degree of positive reaction declined than control lymph node. Immunohistochemical stain. x200



=Abstract=

Immunohistochemical Study on the Suppression of Cell mediated immunity in Lymph node of mouse by Cyclosporin A

-Based on the change of T lymphocytes, IL-2 receptors, and NK cells-

Jin-Taek kim · In-Sick Park · Sang-Hyun Ahn · Nan-Hee Choi · Dong-Hoan Kim*

Department of Anatomy, College of Oriental Medicine, Dongguk University.,

*Department of Anatomy, Medical College, Yonsei University.**

Cyclosporin A(CsA) is a selective immunosuppressive agent that has been credited with improved survival of solid organ allografts. Lymph node of BALB/C mouse administered CsA immunohistochemically observed to understand immunosuppressive effects of CsA on T lymphocytes, IL-2 receptors, and natural killer NK cells in lymph node. CsA orally administered daily for 10days at the dose 45mg/kg/day/. The lymph node were obtained at day 3, 7, and 14 after CsA administration and embedded with paraffin, and then stained by following ABC method that used monoclonal antibody including L3T4(CD4), Ly2(CD8), IL-2R(CD25), and NK-1.1(CD56). There were little changes of reactive degree and number of helper T lymphocytes, cytotoxic T lymphocytes, IL-2 receptors, and NK cells at day 3 after CsA administration, but they began to decrease at day 7. These decrease were greatest at day 14. The helper T lymphocytes, cytotoxic T lymphocytes, IL-2 receptors, and NK cells distributed in paracortex and medullary sinus. These results indicated that the secretion of IL-2 began to decrease at day 7 after CsA administration and subsequently to suppress T lymphocytes and NK cell as components of cell-mediated immunity.

Key Word : Cyclosporin A, Lymph node, immune-suppression, T lymphocyte, IL-2 receptor, NK cell