

Picibanil이 緬羊赤血球 感作마우스의 免疫反應에 미치는 影響

蔡 孝 錫 · 宋 熹 鍾
全北大學校 農科大學 獸醫學科
(1987. 1. 30 接受)

Effects of Picibanil on the Immune Responses of Mice Sensitized with Sheep Erythrocytes

Hyo-seok Chai and Hee-jong Song

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

(Received January 30th, 1987)

Abstract: This experiment was performed on mice to investigate the effects of an immunopotentiator, picibanil(PC), on the immune responses such as phagocytic activity of reticuloendothelial(RE) system, E rosette formation rate of splenic lymphocytes and morphological changes of lymph node tissue. Groups of mice were treated with a single(1KE/kg BW) or sequential(0.1, 0.25 and 0.5KE/kg BW for successive 3 days) intravenous injections of PC. PC treated and untreated control mice were sensitized with 50% sheep erythrocyte suspension(0.2ml/mouse) at 1, 3, 5, 7 and 10 days after PC treatment. Functional and morphological examinations were carried out 5 days after sensitization.

The following results were obtained:

The phagocytic activity of RE system and the weight of liver and spleen were increased significantly at 3rd, 5th and 7th day. The peripheral polymorphonuclear leukocyte and percent of lymphocyte and monocyte were slightly increased. The rates of E rosette formation of splenic lymphocytes, sequential PC treated groups were more increased at 3rd and 5th day in sequential PC treated groups than in single treated groups. Thereafter it returned gradually to the control level by the time of 10th day.

Microscopically primary lymph follicles with indistinct germinal center (GC) were partially disrupted and the parafollicular areas were consisted of the pyroninophilic cells in control group. In PC treated group, the parafollicular areas were markedly proliferated and developments of secondary lymph follicles with enlarged and prominent GC were more pronounced in the sequential injected groups compared to single injected groups.

These results indicate that PC affected not only parafollicular area of the T-cell area, but also GC of the B-cell area.

It suggests that PC may potentiate both cell mediated immunity and humoral immunity.

緒 論

宿主의 免疫系는 體液性 및 細胞介在性 免疫反應으로 大別되며, 免疫系에 機能障礙가 오면 宿主는 各種 感染에 대한 感受性이 增加하게 된다. 이와 같은 免疫反應에 關與하는 細胞들을 免疫作動細胞(immune effector cells)라고 하며(Knight, 1982; Snyderman 등, 1975; Wilson, 1973), 여기에는 多型核白血球, 大食細胞 및 淋巴球 등이 있다. 免疫作動細胞는 宿主의 體内に 存在하면서 自己(self)와 非自己(nonself)를 鑑別할 수 있는 能力을 가지고 있기 때문에 異物質이 侵入하게 되면 이를 食食 處理함으로써 生體를 保存하게 한다(Schaffner, 1986). 또한 免疫作動細胞는 細網內皮系에 固定되어 있거나 또는 循環器內에서 循環하면서 細菌 및 바이러스가 分泌하는 化學物質에 敏感한 反應을 보여 이들의 感染을 받거나 혹은 腫瘍이 發生되면 이들 細胞의 化學的 遊走運動이 增加하여 防禦機轉에 關與하게 된다(Pike 등, 1977; Hill 등, 1976; Kleinerman, 1974).

近來에 各種 抗生物質과 化學療法劑가 開發됨에 따라 細菌性 疾患이나 癌腫의 治療에 至대한 貢獻을 하게 되었다. 그러나 各種 細菌이 이들 藥劑에 耐性を 獲得함으로써 이의 根絶에 어려움이 있고(Neu, 1984), 癌腫에 있어서도 投與藥劑의 毒性 때문에 治療效果 以外の 副作用이 問題點으로 指摘되고 있다.

따라서 最近에는 免疫刺戟劑를 利用하여 特異的 또는 非特異的으로 宿主의 免疫機能을 活性化시킬 수 있어 醫學界에서는 目的에 따라 이들 藥劑를 活用하고 있으며(Goodnight와 Morton, 1978), 새로운 免疫充進劑의 開發과 그 作用機轉에 대한 研究가 활발히 進行되고 있다.

本 實驗에 使用한 picibanil(PC)은 *Streptococcus pyogenes* Su株 type 3을 培養, 凍結乾燥 處理하여 얻은 生物學的 製劑로서 一種의 非特異的 免疫刺戟劑이며, BCG에 비해 使用範圍에 制限이 없고, 骨髓機能抑制 등 他 免疫療法劑 使用時 招來되는 副作用이 없다고 한다(Kimura, 1976). 그러나 PC가 宿主의 免疫機能을 充進시키는 機轉에 있어서 細胞介在性 免疫反應(Uchida와 Micksche, 1983; Ishii 등, 1976; Kimura 등, 1976)에 依하는지, 體液性 免疫反應(Aoki, 1976)에 依하는 지에 대해서는 研究者마다 各各 相異한 報告를 하고 있다.

이에 著者들은 PC에 대한 여러 學者들의 異見을 綜合함은 물론, 앞으로 動物에서의 利用성과 研究開發되는 免疫刺戟劑들의 動物實驗의 實驗技法 등에 活用할

目的으로 마우스에 PC를 投與하고 緬羊赤血球로 感作시킨 다음, 細網內皮系 細胞의 食食機能의 活性度, 脾臟細胞의 erythrocyte(E) rosette 形成能 및 淋巴節의 組織學的 變化 등을 調査하여 免疫機能의 充進 與否를 觀察하였다.

材料 및 方法

實驗動物 및 實驗群: 實驗動物은 本 大學 傳染病學 敎室에서 繁殖 飼育한 體重 30g內외의 健康한 ICR系 마우스를 雌雄 區別없이 使用하였다.

實驗群은 免疫刺戟劑 投與 計劃에 따라 體重 kg當 1KE(KE: Klinische Einheit, 0.1mg of dried Streptococci)를 單回 投與한 것을 第I群, 體重 kg當 1日에 0.1KE, 2日에 0.25KE, 3日에 0.5KE를 連續投與한 것을 第II群으로 하였으며, 緬羊赤血球(SRBC)만을 投與한 것을 對照群으로 삼았다. 各 群의 마우스는 實驗計劃에 따라 免疫刺戟劑를 投與한 後 1, 3, 5, 7 및 10日 째에 5首는 細網內皮系 食食細胞들의 活性檢査用으로, 나머지 5首는 末梢循環血液內 白血球數 및 이의 百分比 分布 그리고 脾臟細胞의 E rosette 形成能 및 組織標本 製作用으로 各各 供試하였다.

免疫刺戟劑 및 投與: 實驗에 使用한 免疫刺戟劑는 picibanil(PC, 中外製藥, 東京)이며, 最終 投與量이 生理食鹽水 0.2ml에 含有되도록 稀釋하여 尾靜脈內로 注入하였다.

抗原 및 感作: PC投與에 따른 生體의 免疫機能의 活性를 確認하기 위한 抗原으로는 SRBC를 使用하였다(Mendes 등, 1974). SRBC는 緬羊의 頸靜脈에서 採血한 後 同量의 Alsever's液(pH 6.1)에 加하여 4°C에 保存하면서 採血 後 2週 以內의 것을 使用 直前に Dulbecco phosphate buffered saline(PBS, pH 7.2)으로 400×g에서 20分씩 3回 遠心洗滌하였으며, 5×10⁸SRBC/ml 濃度로 PBS에 再浮遊하여 그 液의 0.2ml(1×10⁹SRBC)를 檢査 5日前에 各群 마우스의 尾靜脈內로 注入 感作시켰다.

細網內皮系 食食細胞의 食食能 檢査: 各 實驗群 마우스의 細網內皮系 食食細胞의 食食能은 前報(金明雄 등, 1985)와 같이 Biozzi 등(1953)의 carbon clearance 方法을 利用하여 實驗하였다.

末梢血液內 白血球數 및 百分比: 各 群의 마우스에 대한 白血球數와 이의 百分比는 마우스의 尾靜脈을 切斷하여 血球計算盤 및 슬라이드 그라스에 塗沫한 後 常法에 따라 計算하였다.

脾臟細胞의 E rosette 形成能 檢査: 脾臟細胞 浮遊液 및 E rosette 形成技法은 Felsburg 등(1976)의 方法

을 다소 補完한 前報(宋熹鍾 등, 1986)의 方法에 따라 實驗하였다.

淋巴節의 組織學的 檢索: PC投與에 따른 淋巴節의 組織學的 變化를 觀察하기 위해 上記한 機能檢査가 끝난 마우스에서 腋窩淋巴節을 摘出하여 10% 中性緩衝 포르말린에 固定한 후 常法에 따라 과라핀 包埋를 거쳐 H-E, methylgreen-pyronine(MGP, Elias, 1969) 및 reticulin(Gridley, 1951) 染色을 한 후 觀察하였다.

結 果

細網內皮系 細胞의 貪食能: 對照群의 carbon 貪食指數(K)는 0.038, 補正 貪食指數(α)는 5.87 ± 0.06 인데 比하여 第 I 群에서는 PC投與後 3日째 부터 增加하기 시작하여 5日에 最高에 이르고($p < 0.05$), 그 後 점차 減少되어 對照值와 類似하게 되어 結果의 으로 貪食能 이 다소 充進됨을 알 수 있었다(Table 1).

第 II 群에서는 檢査 1日째 부터 그 機能이 充進되기 시작하여 5日째에 最高에 이르고($p < 0.05$), 그 後 점차 減少되어 對照值에 가까웠으며, 充進 程度는 I 群에 比해 좀더 顯著하였다.

肝 및 脾臟의 重量 變化: 對照群 마우스의 肝 및 脾臟의 平均 重量은 各各 1.55g 및 0.18g인데 比해 第 I 및 II 群 모두 對照群보다 腫大되어 있었다. 特히 5日째에는 肝 및 脾臟의 重量이 1.21倍와 1.78倍(I 群) 그리고 1.33倍와 2.33倍(II 群)로 各各 增加되어 있었

다.

末梢血液內 白血球 數 및 百分比의 比較: 對照群의 白血球 數(10^3 細胞/mm³)는 12.8 ± 0.7 인데 比해 PC投與群은 다소 增加된 傾向이었다. 白血球의 百分比도 對照群에 比하며 單核球와 淋巴球가 白血球 數의 增減에 따라 다소의 增減을 보일 뿐 血液學的 所見에서는 統計學的 有意性은 없었다(Table 2).

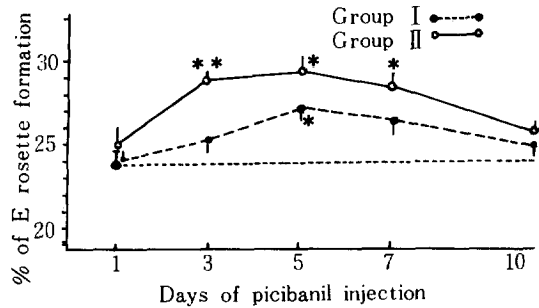


Fig. 1. Effects of picibanil on E rosette formation of spleen cells in mice

Mice were injected iv with a single(1KE/Kg BW, Group I) or sequential(0.1, 0.25, and 0.5KE/Kg BW for successive 3 days, Group II) on indicated day, and sensitized iv with 0.2ml of 50% SRBC. Rosette formation test was carried out at 5 days after sensitization. Responses are expressed as mean \pm S.E. values from at least 5 animals. Horizontal dotted line indicates the mean values of control group. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Table 1. Comparisons of Phagocytic Index(K) and Corrected Phagocytic Index(α) among the Experimental Groups

Experimental Group	Days	Phagocytic index		Weight(g)*		
		K	α^{**}	Body	Liver	Spleen
I	1	0.048	5.44 ± 0.31	28.1	1.64	0.24
	3	0.055	5.92 ± 0.41	30.0	1.68	0.27
	5	0.088	$6.12 \pm 0.17^*$	29.4	1.77	0.32
	7	0.084	6.03 ± 0.11	29.4	1.87	0.37
	10	0.078	5.90 ± 0.20	29.1	1.87	0.23
II	1	0.072	5.95 ± 0.23	29.2	1.76	0.28
	3	0.014	6.62 ± 0.09	30.4	1.81	0.35
	5	0.024	$6.77 \pm 0.11^*$	28.6	2.05	0.42
	7	0.127	6.76 ± 0.14	30.3	1.84	0.41
	10	0.072	6.02 ± 0.12	29.5	1.72	0.28
Control		0.038	5.87 ± 0.06	30.2	1.55	0.18

* Average values of animals examined.

** The results were expressed as mean \pm S.D. values from at least 5 animals.

* $P < 0.05$

E rosette 形成率의 比較: 細胞性 免疫機能의 充進與否를 알아보기 위하여 實施한 脾臟細胞의 E rosette 形成 結果는 Fig. 1과 같다. 즉, 脾臟 淋巴球의 E rosette 形成率은 對照群에서 23.7 ± 0.9 인데 비해 I群과 II群에서 모두 時間이 經過함에 따라서 增加되었다. 즉, I群에서는 投與 後 3日째 (24.8 ± 1.1)부터 增加하기 시작하여 5日째 (27.3 ± 0.6 , $p < 0.05$)에 最高에 達한 後 점차 감소되어 10日째에는 對照值와 類似하였다. 第II群에서는 投與 後 1日째 (25.1 ± 0.5)부터 增加되기 시작하여 3日째 (28.9 ± 0.4) ($p < 0.01$), 5日째 (29.5 ± 1.2) ($p < 0.05$)에 達한 後 점차 감소되었다.

淋巴節의 組織學的 所見: 對照群 腋窩淋巴節의 組織所見은 皮質部에서 一次淋巴小胞의 形態는 一部 消失되었고 胚芽中心(germinal center, GC)는 明確하지 않았으며, 傍皮質帶(paracortical zone)는 主로 pyronine 好性 細胞質을 갖는 形質細胞로 構成되어 있었다. 髓質部는 다소 그 範圍가 넓어져 있고 形質細胞가 密集되어 分布하였으며, 때로 組織球가 混在되어 있었다.

이러한 髓質의 細胞들은 reticulin 染色上 纖細한 結合組織 纖維에 의해 區分되고, 形質細胞들은 MGP 染色上 pyronine 好性으로 觀察되었다.

第I群은 1日째에 皮質의 淋巴小胞는 增殖像을 보였고, GC도 뚜렷하였으며, 그 構成細胞는 中間크기의 淋巴球, 淋巴芽細胞 및 形質細胞 그리고 貪食能이 있는 組織球들 이었다. 傍皮質帶는 대부분 小淋巴球로 構成되어 있었으며, 髓質部는 그 領域이 減少되어 있었다.



Fig. 2. Five days after sequential doses of picibanil
Parafollicular area is markedly proliferated, development of secondary lymph follicles with enlarged and prominent germinal center are noted. H-E, $\times 40$.

3日째에는 淋巴小胞의 構造가 一部 消失되어 있었으며, 1日째에 觀察되었던 GC內 大食細胞는 그 數가 顯著히 감소되었고, 傍皮質帶와 髓質은 形質細胞와 組織球로 構成되어 있었다. 5日째에서도 一部の 淋巴小胞가 消

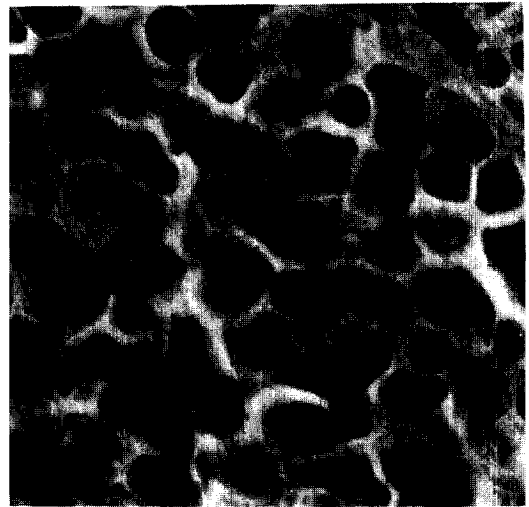


Fig. 3. Five days after sequential dose of picibanil
Parafollicular area and germinal center consist of mainly plasma cells and a few of histiocytes and lymphocytes. H-E, $\times 400$.

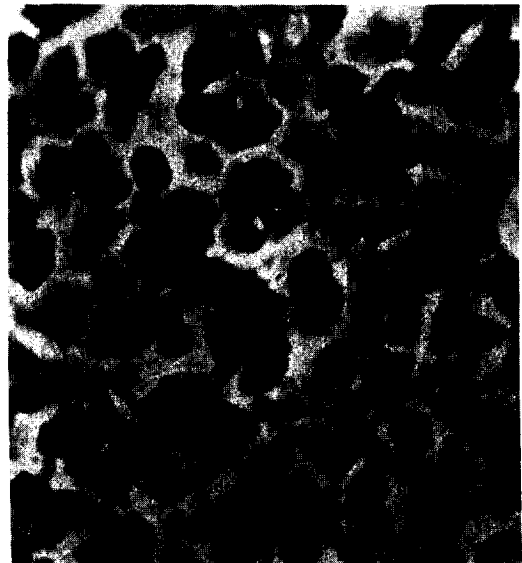


Fig. 4. Three days after sequential dose of picibanil
In the most of the experimental group, parafollicular area and medullary region of the lymph node have numerous pyroninophilic cells. MGP, $\times 200$.

Table 2. Changes of the Leukocytes Counts of Peripheral Blood and Its Differential Counts Ratio among the Experimental Groups

Experimental		Total WBC*	Diferential counts(%)**		
Group	Days	10 ⁸ cell/mm ³	Neutrophil	Lymphocyte	Monocyte
I	1	13.5±0.6	25.2	70.3	3.2
	3	14.2±0.5	24.7	71.1	3.2
	5	14.8±0.9	20.5	74.4	3.9
	7	13.7±0.7	21.5	73.5	2.9
	10	13.1±0.6	23.1	72.0	2.3
II	1	15.3±0.4	22.8	72.3	3.3
	3	15.2±0.5	20.1	75.1	3.6
	5	14.8±0.4	19.5	76.3	3.3
	7	14.6±0.6	21.8	74.5	2.7
	10	12.5±0.7	22.7	73.8	2.5
Control		12.8±0.7	22.6	73.9	2.3

* The results were expressed as mean±S.D. values from at least 5 animals.

** Average values of animals examined.

尖되어 있는 所見이었으며, 傍皮質帶와 髓質의 構成細胞 역시 3日째와 類似하였고, reticulin fiber가 髓質內에서 다소 增加된 所見이었다. 7日째에는 皮質의 淋巴小胞는 그 構造가 거의 消失되었고, 傍皮質帶와 髓質은 주로 pyronine 好性細胞質을 갖는 細胞로 構成되어 있었다. 10日째에도 7日째의 所見과 大同小異하였다.

第II群은 1日째에 皮質內 淋巴小胞의 構造가 뚜렷이 認定되었고, 髓索은 增殖되어 있었으며, 대부분 形質細胞로 構成되고 髓質洞은 擴張되어 있었다. 3日째에도 1日째에서와 같이 傍皮質帶와 髓質에는 주로 pyronine 好性細胞質의 形質細胞를 갖는 GC(Fig. 4)가 淋巴小胞의 構造內에 잘 維持되고 있었다. 5日째에는 淋巴小胞는 다소 增殖像이며, GC가 뚜렷하였고(Fig. 2), 傍皮質帶와 髓質에서는 形質細胞와 組織球가 주로 觀察되었다(Fig. 3). 7日째에는 GC가 增大되어 있으며, 傍皮質帶와 髓質의 構成細胞는 5日째에서와 驗似하였다. 10日째에서도 역시 淋巴小胞가 增大되어 있었고, 뚜렷한 GC가 觀察되었으며, 髓質洞은 다소 擴張되어 있으며, 髓質을 構成하는 細胞 중 組織球가 다소 增加된 所見이었다.

考 察

最近에 藥劑耐性菌 特히 多劑耐性菌이 增加됨에 따라 各種 抗菌療法에 어려움이 있고(Neu, 1984), 또한 癌腫에 있어서도 抗癌劑의 毒性때문에 全身의 免疫機

能의 亢進에 主眼을 둔 免疫機能 活性劑의 開發과 이의 應用性에 대한 研究가 活發히 進行되고 있음은 周知의 事實이다(Goodnight와 Morton, 1978).

免疫療法은 高度의 選擇의인 作用에 의해 宿主의 防禦能力을 亢進시키거나 特定細胞와의 免疫反應으로 因하여 感染性 疾患의 治療效果를 期待하거나, 腫瘍細胞의 增殖抑制 또는 破壞 등에 目的을 두고 있다(Uchida와 Micksche, 1983; Aoki 등, 1976; Ishii 등, 1976; Morton 등, 1974; 大內 등, 1978). 免疫療法劑의 作用에 대한 基本原理는 一般의으로 特異的 또는 非特異的 免疫反應에 依한 宿主의 免疫機能 作動細胞들의 活性化를 期待하는 것이다. 特異的 免疫療法은 細菌, 바이러스, 腫瘍細胞 또는 이들로 부터 分離한 蛋白質로 免疫시켜 줌으로써 選擇된 細胞 또는 組織細胞와의 免疫反應에 의한 特異的인 效果를 期待하는 것(Morton 등, 1974)이나 헤아릴 수 없이 많은 種類의 疾病마다 免疫學的 特異성이 있기 때문에 이들 藥劑의 開發에는 어려움이 많다. 그러나 BCG(Morton 등, 1974; Sparks 등, 1973)나 *Corynebacterium parvum*(Fisher 등, 1976; Oettgen 등, 1976), levamisole(Hoebeke와 Franchi, 1973) 등에 의한 療法은 非特異的 療法의 좋은 예이며, 이들은 宿主의 抵抗力을 增進시켜 줌으로써 抗菌 및 抗癌效果를 期待하는 것이다(Godnight, 1978).

本 實驗에 使用한 picibanil(PC)은 非特異的인 免疫機能 賦活劑로서 現在 臨床 癌醫學에서 主로 使用되고

있으며, 最近에 Uchida와 Micksche(1983)는 試驗管內 및 生體內에서 本劑를 作用시킨 淋巴球가 腫瘍細胞를 破壞시킨다고 報告하여 PC의 活用 範圍를 넓혀가고 있다.

한편, 本 實驗의 結果 PC의 投與로서 細網內皮系 細胞의 食食能의 增加, 末梢白血球 數의 增加 및 臟器의 重量이 增加되었다. 이러한 結果는 大內 등(1978)이 家兎에 PC를 投與한 實驗에서 末梢白血球 및 單核球의 增加, 마우스에서 PC投與 後 臟器의 重量 增加, 細網內皮系 細胞의 食食能의 增加 등의 結果와 대체로 一致하는 成績이다. 따라서 全身에 散在하고 있는 細網內皮系 細胞가 chemotaxis, opsonization, ingestion, killing 및 細胞介在性 免疫(食細胞-淋巴球의 相互作用) 등에 關與한다는 點(Xoshikai 등, 1979; Wooles와 Di Luzio, 1963; 金明雄 등, 1985)을 勘案한다면, PC가 細胞性 免疫機能을 充進시켜 주고 있음을 示唆한다 하겠다.

免疫動物에서 Wilson(1973)과 Biozzi 등(1967)은 E rosette 形成細胞(RFC)는 T細胞 및 大食細胞라 하였고, Bach와 Darderne(1972)은 正常마우스의 脾臟細胞에서 SRBC와 rosette를 이룬 細胞는 約 66%가 T細胞였다고 報告한 點 등은 脾臟細胞內的 RFC檢査는 어느 정도 活性化된 T細胞 數의 測定方法이라고 볼 수 있다. 또한 RFC의 測定에 있어서 SRBC의 投與量이 많을수록 RFC의 數가 增加되고, effector T cell이 RFC이라는 報告(Felsburg 등, 1976), 感作 抗原量이 많을수록 effector T cell의 數가 增加된다는 물론 SRBC에 대한 細胞膜 受容體의 親和性을 높여 준다는 報告(Knight, 1982; Reinherz 등, 1980; Wilson, 1973) 등을 참작하여 本 實驗에서는 rosette 形成能의 比較를 위한 目的으로 比較의 多量인 1×10^8 SRBC로 免疫시켰다. 그 結果 RFC는 對照群에 비해 PC 投與群에서 모두 增加되었으며, 單回 投與群에서 보다는 連續 投與群에서 더욱 增加되었다. 이러한 結果는 PC를 連續 投與함으로써 effector T cell의 細胞膜 受容體와의 結合力의 增進에 의한 것으로 思料되나 本 實驗의 結果만으로는 알 수 없고, 앞으로 receptor 抗體의 製作 등 一聯의 螢光 抗體나 標識物質에 의한 證明이 要求된다.

免疫反應에 主役을 담당하고 있는 淋巴節은 構造上 皮質과 髓質로 區分되며 그 사이를 傍皮質帶라고 한다. 抗原의 刺戟을 받지 않은 皮質은 대부분 體液性 免疫에 關여하는 B淋巴球로 構成되어 있으며, 이 때의 淋巴小胞를 一次 淋巴小胞라고 한다. 抗原의 刺戟을 받은 後에는 二次 淋巴小胞인 胚芽中心(germinal center, GC)이 出現하며, GC周圍의 皮質에는 主로 細胞介在性

免疫反應에 關여하는 T淋巴球가 存在한다. 또한 傍皮質帶에도 主로 T細胞로 構成되어 있으며, 胸腺을 除去하거나 先天의으로 胸腺이 缺損된(nude) 動物에서는 이 部圍의 細胞가 減少되기 때문에 thymus-dependent area라고 한다. 髓質은 構成하는 細胞들은 B淋巴球, 大食細胞, 細網內皮系 細胞 및 形質細胞 등이며, 이 細胞들은 髓質洞 사이에서 cord像으로 配列하고 있다 (Tizard, 1982).

本 實驗의 結果 PC를 投與한 群에서 對照群의 것보다도 더욱 많은 pyronine好性 細胞들이 髓質과 傍皮質帶에 出現한 點은 PC가 細胞性 免疫反應에 關여하고 있으며 또한 GC의 增加 所見은 體液性免疫反應에도 關與하고 있음을 組織學的으로 證明한 結果라 하겠다.

以上の 文獻의 考察과 아울러 本 實驗의 結果를 綜合해 보면 PC는 ① 細網內皮系 細胞들의 食食機能을 活性化시키고, ② 脾臟內 T淋巴球의 E rosette 形成能을 增加시켜 結果의으로 細胞性 免疫反應을 調節하는 細胞들의 活性化에 關與함을 알 수 있고, 더우기 淋巴節의 組織學的 所見에서 髓質과 傍皮質帶 등의 T淋巴球 領域과 第1次 및 2次 GC의 增殖을 招來하며, MGP 染色上 pyronine 好性 細胞의 增加는 淋巴球들이 活性化되었음을 나타내어 PC가 細胞性 및 體液性 免疫機能에 동시에 關與하고 있음을 指摘해 준다.

그러나 이러한 結果가 나타나는 機轉을 밝히기 위해서는 最近에 單크론성 抗體의 開發技術 向上에 의해 研究開發되고 있는 T淋巴球 subsets에 대한 OKT series의 單크론 抗體의 利用 및 B淋巴球에 대한 特異抗體들을 利用하여 本 實驗에 適用했던 方法을 併行함과 동시에 淋巴組織에 分布된 免疫擔當細胞들의 特性을 抗體의 種類마다 確認하여 免疫機能의 發現에 따른 組織學的 檢討方法이 併行되어야 할 것으로 생각된다.

結 論

免疫刺戟劑의 一種인 picibanil(PC)이 生體의 免疫機能에 미치는 效果를 알아보기 위하여 마우스에 PC를 單回(IKE/kg BW)(I群) 또는 連續 3回(1日劑 0.1KE, 2日劑 0.25KE, 3日劑 0.5KE)(II群) 投與한 後 緬羊 赤血球로 感作시킨 다음 經時的(1.3.5.7.9.10日)으로 carbon을 利用한 細網內皮系 細胞의 食食能, 肝 및 脾臟의 重量變化, 末梢血液內 白血球 數와 이의 百分比, 脾臟內 T淋巴球의 E rosette 形成能 등을 測定함과 아울러 淋巴節의 組織學的 變化를 觀察하여 아래의 結果를 얻었다.

PC 투여군은 대조군에 비하여 機能的으로 細網內皮系 細胞의 食食能和 肝 및 脾臟의 重量이 3.5. 및 7日

제에 增加되었으며, 血中 白血球와 淋巴球는 다소 增加되었으나 有意性은 없었다. E rosette 形成率은 PC 投與群에서 3日제와 5日제에 顯著히 增加되었으며 이러한 結果는 I群에서 보다 II群에서 더욱 顯著하였다.

組織學的으로 對照群에서는 不分明한 胚芽中心(GC)을 갖는 一次 淋巴濾胞가 部分的으로 破壞되어 있고 傍皮質帶는 pyronine好性 細胞로 構成되어 있었다. 한편, PC投與群에서는 傍皮質帶가 顯著하게 增殖되었으며, 腫大되고 뚜렷한 GC를 갖는 2次 濾胞의 增殖이 I群에서 보다는 II群에서 顯著하였다. 이러한 組織所見은 PC投與가 T cell領域인 傍皮質帶뿐 아니라 B cell領域인 GC에도 影響을 미치고 있음을 말해 준다.

以上의 機能的 및 組織學的 結果는 PC가 T細胞는 물론 B細胞의 活性에도 關係하여 結果的으로 細胞介在性 및 體液性 免疫機能의 亢進에 共히 作用함을 指摘한다.

參 考 文 獻

- Aoki, T., Kveder, J.P., Hollis, V.M. Jr. and Bushar, G.S. (1976) Brief communication: *Streptococcus pyogenes* orepARATION (OK-432). Immunoprophylactic and immunotherapeutic effects on the incidence of spontaneous leukemia in AKR mice. J. N. C. I., 56:687~690.
- Bach, J.F. and Dardene, M. (1972) Antigen recognition by T lymphocyte. I. Thymus and marrow dependence of spontaneous rosette forming cells in the mouse. Cell. Immunol., 3: 1~10.
- Biozzi, G., Benacerraf, B. and Halpern, B.N. (1953) Quantitative study of the granulopoietic activity of the reticulo-endothelial system. II. A study of the kinetic of the granulopoietic activity of the R.E.S. in relation to the dose of the carbon injected. Relationship between the weight of the organs and their activity. J. Brit. Exp. Pathol., 34:441~457.
- Biozzi, G., Stiffel, C. and Mouton, D. (1967) A study of antibody-containing cells in the course of immunization. In E. Minnich ed, Immunity, Cancer and Chemotherapy: basic relationships on the cellular level. Academic Press Inc., New York. pp.103~109.
- Elias, J. (1969) Effects of temperature, poststaining rinse and ethanol butanol dehydrating mixtures on methylgreen-pyronine staining. Stain. Technol., 44:201~204.
- Felsburg, P.J., Edelman, R. and Gilman, R.H. (1976) The active E rosette test: Correlation with delayed cutaneous hypersensitivity. J. Immunol., 116:1110~1114.
- Fisher, B., Rubin, H., Sartiano, G., Ennis, L. and Wolmark, N. (1976) Observations following *Corynebacterium parvum* administration to patient with advanced malignancy: a phase I study. Cancer, 38:119~130.
- Goodnight, J.E. JR. and Morton, D.L. (1978) Immunotherapy for malignant disease. Ann. Rev. Med., 29:231~283.
- Gridley, M.F. (1951) A modification of the silver impregnation method of staining reticular fibers. Am. J. Clin. Pathol., 21:897~899.
- Hill, H.R., Williams, P.B., Krueger, G.G. and Jains, B. (1976) Recurrent staphylococcal abscesses associated with defective neutrophil chemotaxis and allergy rhinitis. Ann. Int. Med., 85:39~43.
- Hoebeke, J. and Franchi, G. (1973) Influence of tetramisole and its optical isomers on the mononuclear phagocytic system. Effect on carbon clearance in mice. J. Reticuloendothelial Soc., 14:317~323.
- Ishii, Y., Yamaoka, H., Toh, K. and Kiuchi, K. (1976) Inhibition of tumor growth *in vivo* and *in vitro* by macrophages from rats treated with a streptococcal preparation, OK-432. Gann., 67:115~119.
- Kimura, I., Onoshi, T., Yasuhara, S., Sugiyama, M., Urabe, Y., Fujii, M. and Machida, K. I. (1976) Immunochemotherapy in human lung cancer using the streptococcal agent OK-432. Cancer, 37:2201~2203.
- Kleinerman, E.S., Snyderman, R. and Daniele, C. A. (1974) Depression of human monocyte chemotaxis by herpes simplex and influenza viruses. J. Immunol., 113:1562~1567.
- Knigat, S.C. (1982) Control of lymphocytes stimulation *in vitro*: 'help' and 'suppression' in the light of lymphoid population dynamics. J. Immunol. Methods, 50:R51~R63.

- Mendes, N.F., Miki, S.S. and Peixinho, Z.F. (1974) Combined detection of human T and B lymphocytes by rosette formation with sheep erythrocytes and zymosan-C₃ complexes. *J. Immunol.*, 113:531~536.
- Morton, D.L., Eilber, F.R., Holmes, E.C., Hunt, J.S., Ketcham, A.S., Silverstein, M.J. and Sparks, F.C. (1974) BCG immunotherapy of malignant melanoma: Summary of a seven-year expression. *Ann. Surg.*, 180:635~643.
- Neu, H.C. (1984) Changing mechanisms and bacterial resistance. *Am. J. Med.*, 76:11~23.
- Oettgen, H.F., Pinsky, C.M. and Delmonte, L. (1976) Treatment of cancer with immunomodulator. *Med. Clin. North Am.*, 60:511~537.
- Pike, M.C., Daniels, C.A. and Snyderman, R. (1977) Influenza-induced depression of monocyte chemotaxis. Reversal by levamisole. *Cell. Immunol.*, 32:234~238.
- Reinherz, E.L., Moretta, L., Roper, M., Breard, J.M., Mingari, M.C., Cooper, M.D. and Schlossman, S.F. (1980) Human T lymphocyte subpopulations defined by Fc receptors and monoclonal antibodies. A comparison. *J. Exp. Med.*, 151:969~974.
- Schaffner, A., Davis, C.E., Schffner, T., Markert, M., Douglas, H. and Braude, A.I. (1986) *In vitro* susceptibility of fungi to killing by neutrophil granulocytes discriminates between primary pathogenicity and opportunism. *J. Clin. Invest.*, 78:511~524.
- Snyderman, R., Pike, M.G. and Altman, L.C. (1975) Abnormalities of leukocyte chemotaxis in human disease. *Ann. New York Acad. Sci.*, 256:386~400.
- Sparks, F.C., Silverstein, M.J., Hunt, J.S., Haskell, C.M., Pilch, Y.H. and Morton, D.L. (1973) Complications of BCG immunotherapy in patients with cancer. *N. Engl. J. Med.*, 289:827~830.
- Tizard, I. (1982) An introduction to veterinary immunology. 2ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, pp.56~73.
- Uchida, A. and Micksche, M. (1983) Lysis of fresh human tumor cells by autologous peripheral blood lymphocytes and pleural effusion lymphocytes activated by OK-432. *J.N. C.I.*, 71:673~680.
- Wilson, J.D. (1973) The functions of immune T and B rosette forming cells. *Immunol.*, 25:185~196.
- Wooles, W.R. and Di Luzio, N.R. (1963) Reticulo-endothelial function and the immune response. *Science*, 142:1078~1080.
- Yoshikai, Y., Miake, S., Matsumoto, T., Nomoto, K. and Takeya, K. (1979) Effect of stimulation and blockade of mononuclear phagocyte system on the delayed footpad reaction to SRBC in mice. *Immunol.*, 38:577~583.
- 金明雄, 金象皓, 宋熹鍾 (1985) Cimetidine의 白鼠網內系 食能에 미치는 影響. 全北醫大論文集, 9:347~352.
- 宋熹鍾, 金象皓, 金鍾冕 (1986) 發癌劑 3-Methylcholanthrene 投與마우스에 대한 免疫生物學的 研究. II. 脾臟細胞의 Rosette 形成能 및 NK細胞의 活性. 大韓獸醫學會誌, 26:117~124.
- 大內榮悅, 佐藤 讓, 渡部 茂, 野村暢郎, 清治邦夫, 熊谷勝男 (1978) Immunopotentiator의 림바 網內系機能に及ぼす影響. I. 日本網內系學會誌, 18:121~130.