

면역시킨 마우스의 비장세포, 혈청 또는 모유를 통해 얻을 수 있는 *Naegleria fowleri* 감염에 대한 방어 능력

한양대학교 의과대학 기생충학교실

안 명 희 · 민 득 영

요 약 : *Naegleria fowleri*로 면역시킨 마우스의 혈청이나 비장세포를 다른 마우스에 주입시켜 *N. fowleri* 감염에 대한 면역효과가 나타나는지 살펴보았다. 또 어미 마우스를 *N. fowleri*로 면역시킨 다음 면역시키지 않은 어미에서 태어난 새끼 마우스에게 면역시킨 마우스의 모유를 먹게 한 뒤 모유를 통한 면역 효과의 전달 여부를 관찰하였다. 면역시킨 마우스의 비장세포나 정상 마우스의 혈청을 다른 마우스에 주입시킨 경우 감염 후 사망률이 감소하였으나 혈중 IgG는 증가되지 않았다. 한편, 면역시킨 마우스의 혈청이나 정상 마우스의 비장세포를 준 경우 혈중 IgG가 증가되고 감염 후 생존 기간은 연장되었으나 결국은 모든 마우스가 사망하였다. 즉 면역시킨 마우스 또는 정상 마우스의 혈청이나 비장세포를 다른 마우스에 주입시키면 사망률이 감소되거나 생존 기간이 연장됨을 알 수 있었다. 또 면역시킨 어미 마우스의 혈청, 모유 내, 또는 그 모유를 먹은 새끼 마우스의 혈청에서, *N. fowleri*에 대한 IgG는 증가되었으나 IgA는 증가하지 않았으며 증가된 항체도 감염 후의 사망률이나 생존 기간에는 큰 영향을 주지 않았다.

Key words: *Naegleria fowleri*, amoebic meningoencephalitis, mice, transfer of immunity

서 론

*Naegleria fowleri*는 병원성이 강한 자유생활 아메바의 한 종류로서 인체나 실험 동물에 감염되었을 경우 급성으로 원발성 아메바성 수뇌막염(primary amoebic meningoencephalitis)을 일으키며 발병하면 거의 모두 사망한다. Fowler and Carter(1965)가 처음으로 인체 감염례를 보고하였고, 현재로서는 이 질병을 완전히 치료할 수 있는 방법은 없으며 예방이나 치료의 목적으로 실험 동물에서 면역학적 연구가 시도되고 있다. Lallinger *et al.* (1987)은 항-*Naegleria* 면역 혈청, 면역 글로블린(IgG) 및 단세포군 항체를 토끼에게 intracisternal로 주입시켜 일시적인 방어 효과를 관찰하였다. 또 같은 원충류인 이질아메바나 질트리코모나스의 경우 감염된 림프구나 증성구가 *in vitro*에서 원충을 사멸시키기도 한다. 이와 같은 수동 면역에는 면역된 다른 동물의 항혈청이나 세포를 받아 인위적으로 면역능을 얻을 수 있는 경우와 출산 전후에 태반이나 모유를 통해 항체 등을 자연히 얻게 되는 두가지 방법이 있으나 전자는 실제로 임상에서 그다지 이용되지는 않는다.

본 실험에서는 면역 후 비장세포나 항혈청을 다른 마우스에 주입하였을 때 면역효과가 나타나는가 또는 *N. fowleri*로 면역시킨 어미로부터 모유를 통해 방어 면역의 효과가 새끼 마우스에게 전달되는가에 대하여 알아보았다. 이런 수동 면역은 그 효력이 장기간 지속될 수는 없으나 시기적으로 능동 면역을 시행할 수 없는 경우 이용할 수도 있겠다.

실험 재료 및 방법

1. *N. fowleri*의 배양

본 실험에 사용한 *N. fowleri*(ITMAP 0359, Jardin *et al.*, 1971)는 환자로부터 분리된 병원성이 강한 자유생활 아메바의 한 종류로 CGVS(casitone-glucose-vitamins-serum)배지, 37°C에서 무균 배양하였으며 1주에 2번씩 계대하였다.

CGVS 배지의 처방은 다음과 같다.

Bactocasitone 10 g,	Folic acid 1 mg
Biotin 10 mg,	Glucose 0.5 g
Penicillin 25×10 ⁴ unit	
Streptomycin 2.5×10 ⁴ mcg	
Fetal calf serum 25 ml,	중류수 500 ml

2. 실험 동물

생후 3~4주 된 건강한 BALB/c 마우스와 임신한 어미 마우스 및 그 새끼 마우스를 사용하였다.

* 본 연구는 1988년도 산학협동재단 학술연구비의 지원으로 이루어졌음.

3. 면역 방법

1) 항혈청 또는 비장세포를 주입시킨 경우

무균 배양된 *N. fowleri* 0359를 생리식염수로 3회 세척하고 1ml당 2~3×10⁶ 영양형이 되게 한 뒤 BALB/c 마우스의 복강 내로 주사하여 면역시켰으며 1주 간격으로 두 차례 시행하였다. 2차 면역 후 1주에 마우스의 우측 안와 정맥총에서 pasteur pipette으로 채혈하여 혈청을 얻었고 복강 내에서 비장을 떼어낸 후 생리식염수를 넣은 culture plate에서 비장을 잘게 부수고 같은 다음, 적혈구를 용혈시킨 뒤 여러 번 세척한 후 원침시켰다. 면역 혈청은 0.25ml씩 recipient 마우스의 뒷 다리에 근육 주사하였고 비장세포는 3~7×10⁷/ml씩 복강 내에 주사하였다. 또 면역시키지 않은 마우스의 혈청 및 비장세포도 다른 마우스에 주입시켰다.

실험군과 대조군은 다음과 같이 나누었다.

- 실험 I군 I-A: 면역시킨 마우스의 혈청 주입
 I-B: 면역시킨 마우스의 비장세포 주입
 I-C: 면역 마우스의 혈청/비장세포 주입
 실험 II군 II-A: 정상 마우스의 혈청 주입
 II-B: 정상 마우스의 비장세포 주입
 II-C: 정상 마우스의 혈청/비장세포 주입

실험 III군: 대조군으로, 아무 처치없이 감염만 시행

2) 면역시킨 어미의 모유를 먹인 경우

임신 2~3주된 마우스에 *N. fowleri* 영양형을 생리식염수로 3회 세척한 후 2~3×10⁶/ml씩 복강 내에 주사하였고 출산 후 면역을 계속하였으며 1주 간격으로 3회 시행하였다. 분만 직후 실험 I, II군은 어미와 새끼를 서로 교환하여 수유시켰다.

실험 I군: 면역시키지 않은 어미에서 태어났으나 면역시킨 어미의 모유를 먹인 군

실험 II군: 면역시킨 어미에서 태어났으나 면역시키

지 않은 어미의 모유를 먹인 군

실험 III군: 대조군으로, 면역시키지 않은 어미에서 태어나 그 모유를 먹인 군

4. 마우스의 감염 및 관찰

면역 혈청이나 비장세포를 주입하고 3~4일 후, 그리고 모유를 수유시키고 3주 후에 *N. fowleri*를 마우스에 각각 감염시켰다. Secobarbital(100mg/50ml)을 마우스 체중 g당 25μl씩 복강 내에 주사하여 마취시킨 뒤, *N. fowleri*를 생리식염수로 세척하여 10μl당 10×10⁴ 영양형이 되게 하였으며 micropipette을 사용하여 비강 내로 감염시켰다. 감염 후 마우스가 사망하였거나 사망 직전에 있을 때 부검하여 뇌조직 일부를 떼어 내어 CGVS배지에 배양한 뒤 감염을 확인하였다.

5. 혈청 또는 모유의 채취

혈청 및 모유(새끼의 위 내용물에서 측정)에서 *N. fowleri*에 대한 항체를 측정하기 위하여 검체를 다음과 같이 채취하였다. 즉, donor 마우스에서는 2차 면역 후 1주에, recipient 마우스에서는 항혈청이나 비장세포를 주입시키고 3~4일 후에, 감염 후 1주일에 각각 채혈하였다. 또 모유를 통한 면역에서는 새끼 마우스를 3주간 수유시킨 뒤 어미 마우스와 새끼 마우스에서 각각 채혈하였고 새끼 마우스는 복부를 열고 위(stomach)를 잘라내어 그 내용물을 1.5ml의 증류수에 넣어 잘 섞어 실온에서 방치한 뒤 각각 2,000~6,000 r.p.m.에서 10~20분간 원심 침전시켜 상청액을 취하였고 실험 전까지 -70°C에 보관하였다.

6. 항체가 측정

효소표식 면역검사법(enzyme-linked immunosorbent assay: ELISA, Voller et al., 1976)으로 혈청 및 위 내용물(milk) 내의 *N. fowleri*에 대한 IgG 및 IgA 항체를 측정하였다. *N. fowleri*는 생리식염수로 세

Table 1. Mortality and survival time of BALB/c mice injected with immunized mouse serum, spleen cells, normal mouse serum, or spleen cells before *N. fowleri* infection

Group	Cumulative No. of death											Mortality (%)	Mean survival time (±S.D.) (Day)								
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21			23	24	25	26	27	30	31	33 (day)
I-A		1	2	2	3	5	5	8	8	8					9					100	17.8±3.8(p<0.05)
I-B		1	3	3	4	4	7	8	9	9					10			11		78.6	18.5±5.1(p<0.1)
I-C	2	2	2	2	3	3	3	3	3	3	3				4					80	15.5±6.6(p>0.1)
II-A		1	1	1	2	3	3	3	4	5										80.3	17.4±3.2(p<0.1)
II-B	2	3	5	6	7	9	9	9	10	10	11	12	13	14						100	17.5±5.9(p<0.01)
II-C			1	2	2	2	4	4	4	4					5				6	100	20.8±7.5(p<0.05)
III	2	3	6	9	12	14	14	17	18											100	14.7±2.4

* I-A: injection of immunized serum before infection, I-B: injection of immunized spleen cells before infection, I-C: injection of immunized serum and spleen cells before infection, II-A: injection of normal serum before infection, II-B: injection of normal spleen cells before infection, II-C: injection of normal serum and spleen cells before infection, III: control group, no treatment before infection

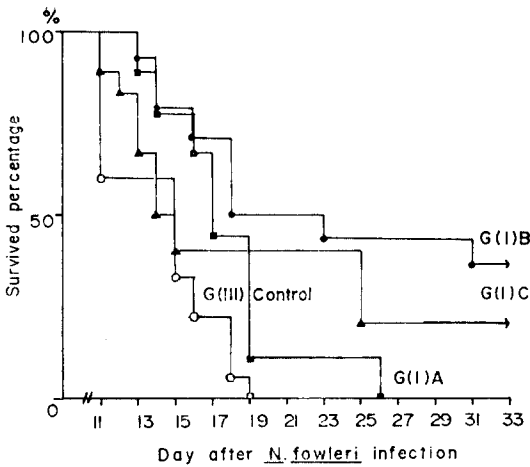


Fig. 1. Survival rate of BALB/c mice injected with immunized serum or spleen cells. [G(1)A: immunized serum injection, G(1)B: immunized spleen cell injection, G(1)C: immunized serum and spleen cell injection]

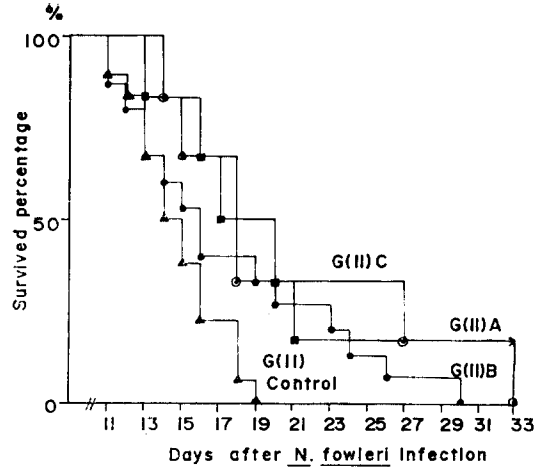


Fig. 2. Survival rate of BALB/c mice injected with normal serum or spleen cells. [G(2)A: normal serum injection, G(2)B: normal spleen cell injection, G(2)C: normal serum and spleen cell injection]

척한 뒤 냉동 후 녹여 sonicator로 분쇄하였고 10,000 r.p.m.에서 1시간 원심시켜 상침액을 항원으로 사용하였다. 항원은 carbonate-bicarbonate buffer로 5µg/ml 되도록 희석시켜 200µl씩 micro-well plate에 분주하여 4°C에서 overnight시켰다. 마우스 혈청은 희석 완충액으로 1:200으로, peroxidase-conjugated goat anti-mouse IgG(Cooper, U.S.A.)는 1:2,000으로 anti-mouse IgA(Cappel)는 1:1,000으로 각각 희석하여 사용하였다. 각 단계에서 항원, 마우스 혈청, conjugate를 각각 부착시킨 후에는 세척 용액으로 well을 3회씩 세척하였으며 마우스 혈청과 conjugate를 넣은 후에는 37°C에서 1시간씩 각각 반응시켰다. 기질액은 o-phenylenediamine(OPD)을 용해시켜 사용하였고 정지액을 첨가한 후 ELISA reader(Dynatech Co.)로 492 nm에서 흡광도(optical density)를 측정하였다.

실험 결과

1. 감염 마우스의 사망률 및 생존 기간

1) 항혈청 또는 비장세포를 주입시킨 경우

*N. fowleri*로 면역시킨 마우스에서 얻은 항혈청, 비장세포 그리고 항혈청과 세포를 동시에 주입시켰을 때 사망률은 각각 100%, 78.6% 및 80%였고 평균 생존 기간은 17.8±3.8일, 18.5±5.1일, 그리고 15.5±6.6일로 대조군(사망률 100%, 평균 생존기간 14.7±2.4일)보다 사망률이 저하되거나 평균 생존 기간이 연장되어 항혈청이나 비장세포를 다른 마우스에 주입하였을 때 *N. fowleri*에 대한 면역 효과가 전달됨을 알 수 있었다(Table 1, Fig. 1).

또 면역시키지 않은 마우스에서 얻은 정상 혈청, 비장세포 그리고 혈청과 세포를 동시에 주입시켰을 때 사망률은 각각 83.3%, 100% 및 100%였고 평균 생존 기간은 17.4±3.2일, 17.5±5.9일, 그리고 20.8±7.5

Table 2. Mortality and survival time of *N. fowleri*-infected mice that were fed immunized or non-immunized milk

Exp* group	No. of mice	Cumulative No. of death																				Mortality (%)	Mean survival time (±S.D.) of dead mice (day)						
		9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28			29	30	31	32	33	
G-I	17	1	4	6	6	10	10	11	12	14	14	15															16	94.1	13.8±3.9(p>0.1)
G-II	15		1	4	4	5	7	8	10	11	12	13															14	93.3	15.4±5.3(p>0.1)
G-III	15			2	4	4	6	10	11	13	13	14	14														14	93.3	14.1±3.5

* Group I: Born of non-immunized mother, but fed from immunized mother, Group II: Born of immunized mother, but fed from non-immunized mother, Group III: Born of non-immunized mother, and fed from non-immunized mother

일로 대조군보다 사망률의 저하 또는 평균 생존 기간의 연장을 보여 정상 마우스의 혈청이나 비장세포를 주입 하여도 *N. fowleri* 감염에 대한 방어효과가 있는 것으로 나타났다(Table 1, Fig. 2).

2) 면역시킨 어미의 모유를 먹인 경우

*N. fowleri*를 감염시킨 후 마우스의 사망률은 면역시킨 어미의 모유를 먹인 실험 I군에서 94.1%로, 면역시키지 않은 어미의 모유를 먹인 실험 II, III군의 93.3%, 93.3%와 비교할 때 큰 차이가 없었다. 또 사망한 마우스의 평균 생존 기간도 실험 I군에서 13.8±3.9일로, 실험 II군의 15.4±5.3일, 실험 III군(대조군)의 14.1±3.5일과 뚜렷한 차이를 보이지 않았다(Table 2).

2. ELISA법에 의한 혈청 또는 모유 내 항체가 측정

1) 항혈청 또는 비장세포를 주입시킨 경우

마우스를 *N. fowleri*로 2차 면역시킨 후 1주에 혈청 내 IgG 항체가는 1.35±0.07로 정상 대조군(0.48±0.17)보다 유의하게 증가되어 있어 복강 내 면역이 효과가 있음을 알 수 있었다(Table 3). 면역시킨 마우스의 항혈청이나 비장세포를 다른 마우스에게 근육 내 또는 복강 내에 주사한 후 4일 후에 recipient 마우스의 혈청 IgG 항체가는 각각 0.75±0.23, 0.45±0.06으로 면역 혈청을 준 경우 대조군(0.48±0.17)에 비해 유의하게 증가하였으며 면역시킨 마우스의 비장세포를 준 경우에는 IgG 항체가의 증가가 없음을 알 수 있었다.

면역시키지 않은 마우스의 혈청이나 비장세포를 준 경우에는 *N. fowleri*에 대한 IgG 항체가가 0.46±0, 0.98±0.49로 대조군과 비교할 때 비장세포를 준 경우에만 유의하게 증가하였다(Table 3). 또 *N. fowleri*를 감염시킨 뒤 1주 후 혈청 내 IgG 항체가가도 혈청이나 비장세포를 주고 3~4일 후 관찰한 경우와 비교할 때 큰 차이가 없었다(Table 3).

2) 면역시킨 어미의 모유를 먹인 경우

Table 3. Anti-*N. fowleri* antibody (IgG) levels in the sera of donor or recipient mice as measured by ELISA technique

Group	Immunization or infection**	Antibody level(Mean±S.D.)	
		Exp. 1	Exp. 2
Donor	before	0.48±0.17	0.04±0.02
	after	1.35±0.07	0.65±0.14 (0.61±0.18)***
Recipient*			
I-A	4ds after	0.75±0.23	0.13±0.08
	1wk after	(0.71±0.32)**	
I-B	4ds after	0.45±0.06	0.07
	1wk after	(0.39±0.07)**	
II-A	4ds after	0.46±0	0.06±0.01
	1wk after	(0.57±0.12)**	
II-B	4ds after	0.98±0.49	0.14±0.06
	1wk after	(1.06±0.48)**	
III	4ds after	(0.47±0.01)*	survivors†
	1wk after		0.35±0.19

* I-A: injection of immunized serum before infection, I-B: injection of immunized spleen cells before infection, II-A: injection of normal serum before infection, II-B: injection of normal spleen cells before infection, III: control group, no treatment before infection

** Antibody levels at 1 week after infection

*** Antibody levels at 3 weeks after immunization

† Antibody levels of survived mice after infection

어미를 *N. fowleri* 영양형으로 세차례 복강 내에 주사하고 2주 후 측정된 혈청 내 IgG 항체가는 1.44±0.001, IgA 항체가는 0.26±0.05로, 대조군(IgG 0.48±0.05, IgA 0.38±0.18)과 비교할 때 IgG 항체가는 높아졌으나 IgA 항체가는 큰 변동이 없었다(Table 4).

Table 4. Anti-*N. fowleri* IgG and IgA antibody titers in serum and milk by ELISA technique (mean±S.E.)

Group	Serum		Milk	
	IgG	IgA	IgG	IgA
I Mother	1.44±0.001	0.26±0.05	—	—
	Offspring†	1.13±0.03*	0.24±0.03**	0.75±0.08*
II Mother	0.48±0.09	0.32±0.01	—	—
	Offspring†	0.38±0.02**	0.18±0.01*	0.31±0.03*
III Mother	0.48±0.05	0.38±0.18	—	—
	Offspring†	0.28±0.01	0.21±0.001	0.49±0.07

† Offspring Group(I): Born of non-immunized mother, but fed from immunized mother

Group(II): Born of immunized mother, but fed from non-immunized mother

Group(III): Born of non-immunized mother, and fed from non-immunized mother

* p<0.05, ** p>0.1, *** 0.05<p<0.1

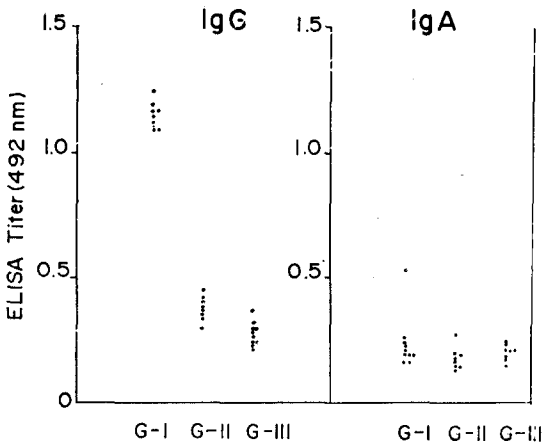


Fig. 3. Anti-*N. fowleri* IgG and IgA antibodies in the sera of 3-week old offspring mice. [Group I : Born of non-immunized mother, but fed from immunized mother, Group II : Born of immunized mother, but fed from non-immunized mother, Group III : Born of non-immunized mother, and fed from non-immunized mother]

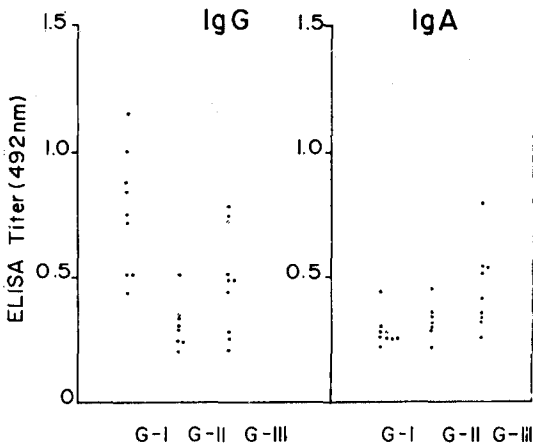


Fig. 4. Anti-*N. fowleri* IgG and IgA antibodies in the stomach content (milk) of 3-week old offspring mice. [Group I : Born of non-immunized mother, but fed from immunized mother, Group II : Born of immunized mother, but fed from non-immunized mother, Group III : Born of non-immunized mother, and fed from non-immunized mother]

또 면역시킨 어미 마우스의 모유를 먹인 새끼 마우스의 혈청 내 IgG 항체가는 1.13 ± 0.03 , IgA 항체가는 0.24 ± 0.03 으로 대조군과 비교할 때 IgG 항체가는 증가되어 있었으며, 새끼 마우스의 위 내용물을 채취

하여 측정된 모유 내 *N. fowleri*에 대한 항체가는 면역시킨 어미의 모유에서의 IgG 항체가가 0.75 ± 0.08 , IgA 항체가가 0.28 ± 0.02 로 대조군(IgG 0.49 ± 0.07 , IgA 0.45 ± 0.06)에 비해 역시 IgG 항체만 증가되어 있었다(Table 4, Fig. 3 & 4). 따라서 어미 마우스를 *N. fowleri*로 복강 내 면역시키면 IgG 항체가 증가되고 모유를 통해 새끼에게 전달될 수 있으나 IgA 항체는 증가되지 않음을 알 수 있었다.

고 찰

*N. fowleri*를 포함한 기생충성 감염에는 체액성 면역과 세포성 면역가 함께 관여한다고 알려져 있으나 아직까지 정확한 면역학적 기전은 설명할 수 없다. *N. fowleri* 감염은 면역학적으로 이상이 없는 건강한 젊은이에게서 갑자기 발병하는 경우가 대부분으로 이는 *Naegleria* 항원에 대한 노출이 적어 충분한 저항력이 없기 때문이다. 그러나 *N. fowleri*의 영양형이나 항원을 여러 방법으로 실험동물에게 면역시킨 후 아메바를 감염시키면, 대조군에 비해 사망률이 저하되거나 생존기간이 연장되지만 완전한 면역효과는 나타나지 않는다.

본 실험은 *N. fowleri*의 영양형을 직접 마우스에게 주입하지 않고 면역받은 마우스의 혈청이나 비장세포를 recipient 마우스에 주사하여 *N. fowleri*에 대한 면역 효과가 전달되는가 또는 어느 정도의 면역 효과를 나타내는가를 관찰하여 보았는데, 능동 면역에서와 같이 감염 후 사망률의 저하 또는 생존 기간이 연장되는 것을 관찰하였다. 면역시킨 마우스의 비장세포, 항혈청과 비장세포를 동시에, 또는 정상 마우스의 혈청을 주었을 때 4일 후 관찰한 recipient 마우스의 *N. fowleri*에 대한 혈중 IgG는 증가되지 않았으나 감염 후 사망률의 저하를 보여주었다. 반면에 면역시킨 마우스의 혈청, 정상 마우스의 비장세포, 또는 정상 혈청과 비장세포를 동시에 주었을 때 4일 후 recipient 마우스의 혈중 항체는 증가되어 있었고 감염 후 생존 기간도 대조군에 비해 연장되기는 하였으나 모든 마우스는 사망하였다. 따라서 면역 혈청을 준 경우는 그 효과가 차차 낮아져 마우스가 모두 사망하였으나 생존 기간은 연장시킬 수 있었으며 면역시킨 마우스의 비장세포를 준 경우는 생존한 마우스의 혈중에서 관찰되었듯이 항체가 서서히 나타나나 마우스의 사망률을 감소시킬 수 있다고 본다.

*N. fowleri*에 대한 방어 면역 작용의 실패는 아메바가 혈중의 항체를 흡수하여 제거할 수 있고 뇌조직이 다른 면역기관들과 분리되어 있기 때문이다(Lallinger et al., 1987). 또 사람의 척수액 내에는 혈청보다 IgM 이나 보체의 양이 적어 *in vitro*상 척수액에서는 *N. fowleri*가 사멸하지 않는다(Holbrook et al., 1980). Bush et al. (1988)은 마우스에 *N. fowleri*를 2, 3차 면

역 후 혈청 내 면역 글로블린은 IgG가 가장 많이 증가하고 IgA, IgM도 증가를 보이나 이런 뚜렷한 체액성 면역 반응에도 불구하고 감염시 방어 자체에는 큰 효과가 없다고 하였다. 그러나 마우스에서 면역 혈청을 주입시키고 *N. fowleri*를 비강 내로 감염시키면 어느 정도 방어가 가능한 것은 항체가 아메바를 opsonization, 비동화, 응집 등을 일으키기 때문이다(Curson *et al.*, 1980). Whiteman *et al.* (1987)은 보체가 결핍된 마우스에서 쉽게 *N. fowleri*의 감염이 이루어지며 따라서 건강한 사람의 혈청이 아메바를 죽일 수 있는 것은 보체가 중요한 역할을 하기 때문이나 병원성이 강한 아메바의 경우 이를 사멸시키지는 못한다고 하였다. 또 최근에는 *N. fowleri* 감염시 중성구의 역할에 대한 보고가 많다. 마우스를 *N. fowleri*로 면역시켰을때 항체 및 보체는 아메바를 opsonization시키고 감각된 림프구 등에서 림프킨 또는 monokine 등이 나와 중성구를 활성화시키므로 이 두 작용에 의해 아메바가 사멸되며 중성구에서는 myeloperoxidase-H₂O₂-halide system 이 항아메바 작용에 중요하다고 한다(Ferrante *et al.*, 1987 & 1988). Thong *et al.* (1983)도 마우스를 아메바 배양액으로 면역시킨 후 감염시키면 비강 점막에서 중성구가 아메바를 죽이고 괴사된 상피층이 탈락되어 방어 작용을 나타낸다고 하였다.

이질아메바(Ghadirian *et al.*, 1982), 주혈흡충(Moloney *et al.*, 1987; Oshman *et al.*, 1986), 리슈마니아(Jarecki-Black *et al.*, 1985), *Strongyloides* sp. (Haddow *et al.*, 1984) 등에서도 면역시킨 동물의 혈청 및 세포를 recipient에게 주어 그 효과를 관찰하였다. 이와 같이 면역시킨 동물의 비장세포를 다른 동물에게 주입하였을 때 얻을 수 있는 효과에 대해서는 현재 논란이 많으나 Haddow *et al.* (1984)은 매우 많은 수의 비장세포(>1×10⁸)를 투여할 때만 면역 효과가 나타난다고 하였다. 또 Jarecki-Black *et al.* (1985)은 *Leishmania*로 면역시킨 후 비장세포나 T-림프구를 다른 동물에 주면 감염 후 방어가 가능하나 면역 혈청이나 B-림프구만 준 경우는 감염을 저하시킬 수 없으며 또 이런 수동 면역 방법은 recipient가 죽는 것을 방지하지 못한다고 하였다. Chadee *et al.* (1984)은 이질아메바에 의한 간농양 생성시 농양이 커지면서 총체 항원, 독소, 대사물질 등이 계속 분비되어 림프구나 비장 등 면역세포에 변화가 생긴다고 하였다.

초유나 모유를 통해 모체에서 새끼로의 면역의 전달은 여러 기생충 감염에서 증명되었다(Duckett *et al.*, 1972; Andrews and Hewlett, 1981). 모유를 먹이는 것이 감염에 대한 완전한 방어는 될 수 없으나 면역시킨 어미의 모유를 먹인 경우 새끼는 어느 정도 저항력을 가지게 된다. 본 실험에서는 어미 마우스를 *N. fowleri*로 면역시키고 3주 동안 새끼에게 그 모유를 먹인 후 항체가를 측정하였는데, 새끼 마우스의 혈청이나 모유 내 IgG 항체는 어미를 면역시키지 않은 다

른 실험군에 비해 유의있게(p<0.05) 증가되었지만 IgA 항체는 증가되지 않았다.

N. fowleri 감염시 면역 방법에 따라 약간의 차이는 있으나 대체로 혈중 IgG 항체가 증가한다(John, 1982; 安 등, 1986). Haggerty and John(1982)은 마우스에서 *N. fowleri*로 면역시키면 IgG가 가장 많이 증가하고 IgM이나 IgA는 증가하나 보다 빨리 떨어진다고 하였고 *N. fowleri*의 주입 방법이 정맥주사인 경우 IgG나 IgM이, 비강을 통한 경우는 IgA가 유의있게 증가한다고 하였다.

일반적으로 모유 내 IgA 항체는 secretory IgA로 균체 또는 총체의 항원이 장점막을 통해 흡수되면 유방에서 이에 대한 IgA를 분비하게 된다. 본 실험에서는 어미 마우스에게 *N. fowleri* 영양형으로 복강 내에 주사하여 면역시켰으며 따라서 어미 마우스의 혈중 IgG는 증가한 반면 IgA는 증가되지 않았다. 실제로 secretory IgA와 혈중 IgA는 서로 여러 가지 면에서 다르지만 구강 면역이 시도되어 항원이 장점막을 통과하였다면 모유 내의 IgA가 증가되었을 수도 있겠다. 또 섭취된 IgA도 secretory IgA 만큼 효과가 있어 유아에서 초유를 줌으로써 대장균에 의한 설사를 치료할 수 있으며(Merson *et al.*, 1980; Welsh and May, 1979), 이러한 소화관 내의 항체 흡수는 공장(jejunum) 부위에서 세포 흡수 작용(pinocytosis)에 의해 이루어진다(Kraehenbuhl *et al.*, 1969). 본 실험에서도 면역시킨 어미 마우스의 모유를 먹인 실험군에서 *N. fowleri*에 대한 혈중 IgG가 증가되어 있어 항체의 장내 흡수가 타당하다고 본다.

초유나 모유에는 IgA, IgM, IgG 등의 면역 글로블린과 T와 B림프구, 대식세포 등 면역에 관여하는 여러 가지 세포가 포함되어 있으며, 정상인의 모유가 *in vitro*상에서 람블편모충이나 이질아메바를 죽이기도 한다(Gillin and Reiner, 1983). Andrew and Hewlett (1981)도 *Giardia muris*로 면역시킨 어미 마우스의 모유 내에는 *Giardia*에 대한 IgA와 IgG 항체가 있으며 그 모유를 먹인 새끼는 감염을 예방할 수 있으나 수유기가 지나면 다시 감염이 일어난다고 하였다. 본 실험에서는 면역시킨 어미의 모유를 먹인 새끼의 혈중에서 항-*N. fowleri* IgG는 증가되어 있었으나 감염 후 사망률이나 생존 기간이 대조군에 비해 큰 차이가 없었다. Moon *et al.* (1988)도 *Cryptosporidium parvum*으로 면역시킨 어미의 모유를 먹인 새끼의 위 내용물에서 anti-cryptosporidia IgG와 IgA는 증가되었으나 *Cryptosporidium parvum*으로 감염이 이루어져 항체보다 세포성 면역이 더 중요하다고 하였다.

결론적으로, *N. fowleri*로 면역시킨 마우스의 항혈청이나 비장세포를 다른 마우스에 주입시키면 감염 후 사망률의 저하 또는 혈중 IgG의 증가, 감염 후 생존기간의 연장 등이 나타나므로 *N. fowleri*로 면역시킨 동물의 비장세포나 항혈청을 통해서도 면역이 가능함

을 알 수 있었다. 또 면역시킨 어미 마우스의 모유를 통해서도 항-*N. fowleri* 항체(IgG)가 새끼 마우스에게 전달될 수 있음을 관찰하였다.

참 고 문 헌

- 安明姬·閔得映·任敬一·李根泰(1986) 마우스에서 모체를 통해 얻은 *Naegleria fowleri* 면역에 관한 연구. 연세의대 논문집, 19(1):102-110.
- Andrews, J.S. and Hewlett, E.L. (1981) Protection against infection with *Giardia muris* by milk containing antibody to *Giardia*. *J. Infect. Dis.*, 143(2):242-246.
- Bush, L.E. and John, D.T. (1988) Intranasal immunization of mice against *Naegleria fowleri*. *J. Protozool.*, 35(1):172-176.
- Chadee, K. and Meerovitch, E. (1984) *Entamoeba histolytica*: antibody responses and lymphoreticular changes in gerbils (*Meriones unguiculatus*) in response to experimental liver abscess and amebic extract injection. *Z. Parasitenkd.*, 70:781-795.
- Cursons, R.T.M., Brown, T.J., Keys, E.A., Moriaty, K.M. and Till, D. (1980) Immunity to pathogenic free-living amoebae: Role of humoral antibody. *Infect. Immun.*, 29(2):401-407.
- Duckett, M.G., Demham, D.A. and Nelson, G.S. (1972) Immunity to *Trichinella spiralis* V. Transfer of immunity against the intestinal phase from mother to baby mice. *J. Parasitol.*, 58(3):550-554.
- Ferrante, A., Hill, N.L., Abell, T.J. and Pruul, H. (1987) Role of myeloperoxidase in the killing of *Naegleria fowleri* by lymphokine-altered human neutrophils. *Infect. Immun.*, 55(5):1047-1050.
- Ferrante, A., Carter, R.F., Lopez, A.F., Rowan-kelly, B., Hill, N.L. and Vadas, M.A. (1988) Depression of immunity to *Naegleria fowleri* in mice by selective depletion of neutrophils with a monoclonal antibody. *Infect. Immun.*, 56(9):2286-2291.
- Fowler, M. and Carter, R.F. (1965) Acute pyogenic meningitis probably due to *Acanthamoeba* sp.: A Preliminary report. *Br. Med. J.*, 2:740-724.
- Ghadirian, E. and Meerovitch, E. (1982) *In vitro* amoebicidal activity of immune cells. *Infect. Immun.*, 36(1):243-246.
- Gillin, F.D. and Reiner, D.S. (1983) Human milk kills parasitic intestinal protozoa. *Science*, 221: 1290-1291.
- Haddow, W.J., Moqbel, R. and Wakelin, D. (1984) Transfer of immunity against *Strongyloides ratti* (Nematoda) using immune spleen cells. *J. Parasitol.*, 70(1):187-189.
- Haggerty, R.M. and John, D.T. (1982) Serum agglutination and immunoglobulin levels of mice infected with *Naegleria fowleri*. *J. Protozool.*, 29(1): 117-122.
- Holbrook, T.W., Boackle, R.J., Parker, B.W. and Vesely, J. (1980) Activation of the alternative complement pathway by *Naegleria fowleri*. *Infect. Immun.*, 30(1):58-61.
- Jarecki-Black, J.C., Glassman, A.B. and James, E.R. (1985) Adoptive transfer of vaccine-induced resistance to *Leishmania donovani*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 34(6):1095-1097.
- John, D.T. (1982) Primary amebic meningoencephalitis and the biology of *Naegleria fowleri*. *Ann. Rev. Microbiol.*, 36:101-123.
- Kraehenbuhl, J.P. and Campich, M.A. (1969) Early stages of intestinal absorption of specific antibodies in the newborn. An ultrastructural cytochemical and immunological study in the pig, rat and rabbit. *J. Cell Biol.*, 42:345-365.
- Lallinger, G.J., Reiner, S.L., Cooke, D.W., Toffaletti, D.L., Perfect, J.R., Granger, D.L. and Durock, D.T. (1987) Efficacy of immune therapy in early experimental *Naegleria fowleri* meningitis. *Infect. Immun.*, 55(5):1289-1293.
- Merson, M.H., Black, R.E., Sack, D.A., Svenerholm, A.M. and Holmgren, J. (1980) Maternal cholera immunization and secretory IgA in breast milk. *Lancet*, 931-932.
- Moloney, N.A., Hinchcliffe, P. and Webbe, G. (1987) Passive transfer of resistance to mice with sera from rabbits, rats or mice vaccinated with ultraviolet-attenuated cercariae of *Schistosoma japonicus*. *Parasitology*, 94:497-508.
- Moon, H.W., Woodmansee, D.B., Harp, J.A., Abel, S. and Ungar, B.L.P. (1988) Lactal immunity to enteric cryptosporidiosis in mice. Immune dams do not protect their suckling pups. *Infect. Immun.*, 56(3):649-653.
- Oshman, R., Knopf, P.M., Lichtenberg, F. and Byram, J.E. (1986) Effects of protective immune serum on the yields of parasites and pulmonary cell reactions in schistosome-infected rats. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 35(3):523-530.
- Thong, Y.H., Carter, R.F., Ferrante, A. and Rowan-kelly, B. (1983) Site of expression of immunity to *Naegleria fowleri* in immunized mice. *Parasite*

- Immunol.*, 5:67-76.
- Voller, A., Bidwell, D.E. and Bartlett, A. (1976) Enzyme immunoassays in diagnostic medicine. Theory and Practice. *Bull. WHO*, 53:55-65.
- Welsh, J.K. and May, J.T. (1979) Anti-infective properties of breast milk. *J. Pediatrics*, 94(1):1-9.
- Whiteman, L.Y. and Marciano-Cabral, F. (1987) Susceptibility of pathogenic and nonpathogenic *Naegleria* spp. to complement-mediated lysis. *Infect. Immun.*, 55(10):2442-2447.

=Abstract=

Resistance to *Naegleria fowleri* infection passively acquired from immunized splenocyte, serum or milk

Myoung-Hee Ahn and Duk-Young Min

Department of Parasitology, College of Medicine, Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

A pathogenic free-living amoeba, *Naegleria fowleri*, causes primary amoebic meningoencephalitis to human and experimental animals. This infection is rare, but the mortality is very high. Nowadays, drug treatment or active immunization of human or mice are being tried with partial effectiveness.

This study shows passive immunization effect by transfer of immunized spleen cells, serum, or milk from immunized mother in mouse experimental model. Young BALB/c mice were immunized intraperitoneally with $2\sim 3 \times 10^6$ trophozoites of *N. fowleri*, and spleen cells and sera were collected for injection to recipient mice. There were seven transfer groups, *i.e.*, immunized mouse serum, spleen cells, serum and spleen cells, normal mouse serum, spleen cells, serum and spleen cells, and control group. Three days later, BALB/c mice were inoculated with 1×10^4 trophozoites of *N. fowleri* intranasally. After infection, decreased mortality and prolonged survival time of mice were noted in immunized groups compared with non-immunized control group. The groups injected with immunized spleen cells or normal serum showed lower mortality than that of controls but showed no changes of serum IgG level. The groups injected with immunized serum or normal spleen cells showed increased serum IgG level after immunization but hundred percent mortality was observed.

Mother mice were immunized intraperitoneally with $2\sim 3 \times 10^6$ trophozoites of *N. fowleri* at the end of pregnancy and weaning period. Soon after the delivery, litters born of non-immunized mother were matched with immunized mother for feeding immune milk. After three weeks, the litters were infected with 1×10^4 trophozoites of *N. fowleri* or sacrificed for serum collection to measure the IgG levels. The results show that anti-*N. fowleri* IgG from mother was transferred to litter through milk but this IgG did not influence the mortality or survival time of the infected mice.