

## 클로람페니콜의 免疫毒性에 미치는 食餌脂肪의 影響

安 榮 根 · 金 周 永

圓光大學校 藥學大學

(Received April 15, 1985)

Effect of Dietary Fat on the Immunotoxicity of Chloramphenicol

Young Keun Ahn and Joo Young Kim

College of Pharmacy, Won Kwang University, Iri 510, Korea

**Abstract**—The effect of dietary fat on the immunotoxicity of chloramphenicol was investigated in mice, sensitized and challenged with sheep red blood cells. Chloramphenicol suppressed more cell-mediated immunity than humoral immunity. The saturated fat diet elevated humoral and cell-mediated immunotoxicity, whereas the unsaturated fat diet decreased humoral immunotoxicity, but elevated cell-mediated immunotoxicity of chloramphenicol. Especially, the normal diet in saturated and unsaturated fat restored immunosuppressive effect of chloramphenicol compared to the saturated fat diet and the unsaturated fat diet.

Chloramphenicol은 靜菌 및 殺菌作用을 갖는 抗生物質로서 骨髓의 毒性에 의하여 再生不良性貧血, 血液異混和症 및 汗血球減少症을 일으키며 이는 直接的인 毒作用에 의하거나 人體內에서 hapten으로 作用하여 自家免疫反應을 誘發함에 기인하며<sup>1~3)</sup>, 免疫形成에도 약간의 影響을 미친다고 報告되어 있다.<sup>4~7)</sup>

한편 不飽和脂肪酸은 prostaglandin E<sub>1</sub> 및 E<sub>2</sub>의 合成을 增加시키어 淋巴球의 免疫機能을 抑制하며, 설치류의 皮膚同種移植生存率을 延長시키고 腎臟移植時 免疫抑制劑의 補助劑로 使用할 수 있으며, 淋巴球幼若化反應을 *in vitro*에서 抑制한다.<sup>8~11)</sup> Weyman 등<sup>12)</sup>은 phytohemagglutinin(이하 PHA)에 의한 淋巴球의 uridine incorporation이 飽和 및 不飽和脂肪酸에 의해서 抑制되나 飽和 및 不飽和脂肪酸의 적절한 混合에 의하여 그 抑制作用을 減少시킬 수 있다고 하였으며, Kollmorgen 등<sup>13)</sup>은 高脂肪食餌는 mitogen의 作用을 抑制한다고 하였으며, Fernandes 등<sup>14~15)</sup> 및 Ibrahim 등<sup>16)</sup>은 高脂肪食餌는 自家免疫疾患을 顯著하게 發顯시킨다고 하였다.

따라서 著者は 클로람페니콜의 免疫毒性을 究明함과 아울러, 이러한 毒性이 食餌脂肪의 種類 및 量에 의하여 影響을 받을 것으로 예측되어 近來 食生活에서 섭취가 增加하고 있는 쇠기름(포화지방) 및 들기름(불포화지방)을 各種組成으로 紿與하여 마우스를 飼育하며 클로람페니콜을 投與한 후 細胞性 및 體液性免疫反應을 羚羊赤血球抗原을 이용, 檢查하여 有意한 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

### 實驗方法

實驗動物—體重 25g 전후의 雄性 ICR 마우스 7~8 마리를 1群으로 하여 6群은 2週, 6群은 4週間 實驗食餌로 飼育하였다.

클로람페니콜의 調製 및 投與—Chloramphenicol (Chong Gun Pharmaceutical Co.) 0.75g을

Table I—Composition of experimental diet.

Dietary ingredients Group	Carbohydrate: Protein:			Fat:		
	Rice powder	Casein	Beef fat <sup>a</sup>	Perilla oil <sup>b</sup>	Salt mixture <sup>c</sup>	Vitamin <sup>d</sup>
1. Normal diet	68	20	2.4	4.6	4	1
2. 7% Beef fat	68	20	7.0	—	4	1
3. 15% Beef fat	60	20	15.0	—	4	1
4. 7% Perilla oil	68	20	—	7.0	4	1
5. 15% Perilla oil	60	20	—	15.0	4	1
a. Beef fat p/s value=0.06 Linolenic acid=None Iodine value=40.0	b. Perilla oil p/s value=9.0 Linolenic acid=58.3 Iodine value=120.0	c. Salt mixture : Ref. 19 d. Vitamin mixture : Ref. 19				

注射用 중류수에 懸濁시키어 75mg/kg을 每日 1回 같은 時間に 各 2週 및 4週間 腹腔内 投與하였다.

**實驗食餌의 調製**—實驗食餌의 組成 및 實驗動物의 分類는 Table I과 같다. 正常食餌 中의 脂肪의 量 및 饱和, 不飽和脂肪의 比率은 李 등<sup>17~18)</sup>의 報告를 參考하였으며, 饱和脂肪은 쇠기름, 不飽和脂肪은 들기름으로 하였다.

**抗原의 調製 및 免疫**—1) 抗原; 雄性緬羊의 頸靜脈으로 부터 heparin을 加한 注射器로 採血한 後 同量의 Alsevers'液(pH 6.1)을 加하여 4°C에 保存, 2週日 以內에 使用하였으며 使用 直前 phosphate buffer saline (이하 PBS : Gibco Lab. Co.)으로 3回 遠心洗滌한 後 摘切한 濃度로 Hank's balanced salt solution (이하 HBSS : Gibco Lab. Co.)에 浮遊하여 이를 緬羊赤血球(이하 S-RBC) 抗原으로 하였다.

2) 免疫; 遠心洗滌한 S-RBC를 Makarness 등<sup>20)</sup> 및 河 등<sup>21)</sup>의 報告를 參考하여 HBSS에 10<sup>7</sup> S-RBC/ml의 농도로 浮遊하고 浮遊液 0.1ml(10<sup>6</sup> S-RBC)를 尾靜脈에 注射하여 1次 免疫시키고 그 後 4日 後에 흰쥐의 左側後肢足蹠皮內에 2×10<sup>9</sup> S-RBC/ml 부유액 0.05ml를 注射하여 免疫시켰다.

**血清의 分離 및 非動化**—흰쥐의 頸動脈을 切斷하여 血液을 採取 凝固시킨 後 遠心分離하여 血清을 分離, 56°C에서 30分間 非動化시킨 後 4°C에서 保存, 使用하였다.

**脾臟細胞 浮遊液의 調製**—各 흰쥐의 脾臟을 無菌的으로 摘出하여 minimum essential medium (이하 MEM : Gibco Lab. Co.)에 조심스럽게 壓搾(teasing)한 後 nylon mesh로 여과하여 死細胞塊를 제거하였으며 이를 寒冷 MEM으로 4°C에서 3回 遠心洗滌한 後 必要한 濃度가 되도록 HBSS에 再浮遊시켰다. 使用直前에 trypan blue dye exclusion 方法으로 脾臟細胞의 生存率을 檢查하였다.<sup>22~24)</sup>

**脾臟細胞의 溶血班 形成細胞(Splenic Plaque Forming Cell : 이하 PFC)의 檢出**—Jerne 등<sup>23)</sup> 및 河<sup>25)</sup>가 記述한 直接 PFC法에 準하여 다음과 같이 實施하였다. 1) 基底層 平板培地의 調製; 2.8% agarose 液을 45°C로 유지하며 2倍濃度의 MEM을 同量混合하여 1.4% agarose 溶液을 만든 後 petri dish에 分注하여 薄層을 만든 다음 水分을 蒸발시킨 後 4°C에서 保管 後 使用하였다. 2) plating; 1.4% agarose液 1ml를 45°C의 水浴上에서 시험판에 넣은 後 미리 45°C로 加溫한 2倍 농도 MEM 1ml를 넣고, MEM에 부유한 S-RBC 0.1ml (2×10<sup>8</sup> S-RBC) 및 脾臟細胞 부

유액 0.1ml( $10^6$  cell)를 加하여 즉시 混和한 後 기저층 평판배지에 分注하여 박층을 만든다. 37°C에서 1時間 靜置시킨 後 MEM으로 10배 희석한 guinea pig serum (Gibco Lab. Co.) 2ml를 加하여 확산시킨 다음 37°C에서 30分 靜置한 後 확대경으로 PFC를 檢查하였다.

脾臟細胞의 Rosette 形成細胞(이하 RFC)의 檢出<sup>25)</sup>—脾臟細胞 부유액 0.25ml ( $5 \times 10^6$  cell)와 S-RBC부유액 0.25ml ( $5 \times 10^7$  S-RBC)를 混合, 200g로 12分間 遠心한 다음 4°C에서 2時間 放置後 조심스럽게 혼들어 再浮遊시킨 다음 그 1通을 血球計算板에 적하, 脾臟細胞에 S-RBC가 3個以上 부착한 細胞를 RFC로 判定하였으며 다음 式에 準하여 計算하였다.

$$\% \text{ of rosette} = \frac{\text{No. of rosette forming cell}}{\text{total cell counted} \times \text{viability}} \times 100$$

赤血球 凝集素價 및 溶血素價의 測定<sup>24~25)</sup>—1) 赤血球凝集素價(hemagglutination titer : 이하 HA titer)의 測定; microtitration tray(Nunclon Chemical Co.)를 利用, 各 實驗動物로 부터 分離한 個個의 非動化 血清 0.025ml를 HBSS로 2倍 系列稀釋하고, 여기에 HBSS에 浮遊한 0.5% S-RBC 0.025ml를 잘 混合하여 37°C에 18時間 放置한 다음, 凝集을 일으킨 血清의 最高稀釋度를 그 血清의 赤血球凝集素價로 하였다.

2) 赤血球溶血素價(hemolysin titer : 이하 HY titer)의 測定; 血清의稀釋 및 S-RBC는 위와 同一하게 하였으며, 各 well에 20倍稀釋한 補體(guinea pig complement) 0.025ml를 加한 다음 37°C에 1時間 放置하여 溶血如否를 觀察하고, 이를 4°C에 하룻밤 放置하여 最終判讀하였으며, 이 때 完全溶血을 일으키는 血清의 最高稀釋度를 그 血清의 溶血素價로 하였다.

足蹠腫脹反應 測定—S-RBC抗原에 對한 Arthus 및 遲延型過敏反應(delayed type hypersensitivity; 이하 DTH)은 河 등<sup>24)</sup>의 方法에 따라 足蹠腫脹反應(foot pad swelling test) 程度를 計測하였다. 즉 S-RBC 感作 4日 後에 흰쥐의 左側後肢足蹠의 皮內에 PBS에 浮遊한 20% S-RBC 0.05ml( $1 \times 10^8$  S-RBC/mouse)를 起惹して 注射하여 3時間 後에 Arthus 反應을, 24時間 後에 DTH反應을 microcaliper(0.01mm)로 測定하고 起惹 注射 前後의 足蹠의 두께를 比較, 다음과 같이 表示하였다<sup>26~27)</sup>

$$\text{足蹠腫脹指數(foot pad swelling index)} = \frac{\text{注射後두께} - \text{注射前두께}}{\text{注射前두께}} \times 100$$

### 實驗結果 및 考察

脾臟細胞의 溶血班 形成 細胞에 미치는 影響—脾臟細胞의 S-RBC에 對한 溶血班 形成은 細胞水準에서 IgM 溶血素生產 細胞數를 算定, *afferent limb*에서 體液性免疫을 評價하는 方法으로 本 實驗에서는 Table II에서 보는 바와 같이 正常食餌群에 比하여 飽和脂肪食餌群은 2週에서는 큰 差가 없으나 4週에서 有意하게 減少하여 投與期間이 增加함에 따라 chloramphenicol의 免疫otoxicity를 增加시켰으며, 不飽和脂肪食餌群은 2週에서는 增加하였으나 4週는 큰 差異가 없음으로 미루어 不飽和脂肪이 suppressor T cell의 作用을 억제하여 投與期間이 增加함에 따라 helper T cell의 作用도 抑制하여 chloramphenicol의 體液性免疫otoxicity를 약간 減少시킨 것으로 料된다.

脾臟細胞의 Rosette形成 細胞에 미치는 影響—脾臟細胞의 rosette形成은 Back 등<sup>28)</sup> 및 河 등<sup>27)</sup>에 依하면 T cell 및 B cell, 大食細胞가 모두 rosette를 形成 할 수 있으나 正常 흰쥐의 S-RBC와의 rosette는 約 66%가 T cell이고 나머지는 B cell 및 大食細胞라고 하였다. 따라서 흰쥐의 rosette形成 細胞의 測定은 T細胞 뿐 아니라 免疫에 關與하는 大食細胞의 測定方法이 될 수도 있다. 本 實驗에서는 Table III에서 보는 바와 같이 chloramphenicol 投與群이 正常食餌群에 比하

**Table II**—Effect of dietary fat on PFC of cells.

Group	2 weeks		4 weeks	
	PFC/ $10^6$ spleen cell	PFC( $\times 10^3$ )/spleen	PFC/ $10^6$ spleen cell	PFC( $\times 10^3$ )/spleen
Normal diet only	707±205	89±14	780±210	103±18
CM+Normal diet	405±98	69±13	324±83	48±12
CM+7% Beef fat	371±78	73±15	75±14**	17±2**
CM+15% Beef fat	360±83	55±12	136±29**	18±3**
CM+7% Perilla oil	600±110**	119±21**	320±79	47±11
CM+15% Perilla oil	595±180*	106±31*	341±100	43±12

Each value represents the mean±s.e of 7~8 mice. Significant difference from the CM+Normal diet group. (\*, p<0.05 and \*\*, p<0.01)

**Table III**—Effect of dietary fat on RFC of spleen cells.

Group	2 weeks R F C (%)	4 weeks R F C (%)
Normal diet only	21.2±5.6	19.5±3.9
CM+Normal diet	15.5±3.1	11.5±1.7
CM+7% Beef fat	10.1±2.2**	9.1±2.3
CM+15% Beef fat	10.4±2.7**	8.4±0.4*
CM+7% Perilla oil	12.3±2.8	13.9±3.7
CM+15% Perilla oil	14.4±2.9	11.2±3.1

Mice were intracutaneously challenged with  $10^8$  S-RBC 4 days after sensitization. On day 5, the RFC assay was performed.

$$\text{RFC\%} = \frac{\text{No. of rosette forming cell}}{\text{Total cell counted} \times \% \text{ viability}} \times 100$$

Each value represents the mean±s.e of 7~8 mice. Significant difference from the CM + Normal diet group. (\*, p<0.05 and \*\*, p<0.01)

여 顯著한 減少를 보여 chloramphenicol이 T細胞 및 大食細胞의 作用을 抑制한 것으로 여겨지며, 한편 飽和脂肪 食餌群은 正常食餌群에 比하여 投與 期間에 상관 없이 有意하게 減少하여 그 毒性을 亢進시켰으며, 不飽和脂肪 食餌群은 有意한 差가 없는 것으로 미루어 chloramphenicol이 S-RBC와 結合할 수 있는 淋巴球膜에 直接 또는 間接的으로 作用하여 helper T cell과의 協力作用을 減少시킨 結果라고 思料된다.

赤血球 凝集素價 및 溶血素價에 미치는 影響—血清의 凝集 抗體 및 溶血抗體는 感作 抗原에 對한 特異 抗體와 抗原과의 直接 또는 間接的인 反應으로 凝集 또는 溶血을 일으키는 現象이며, 抗原—抗體 反應을 簡便히 判讀할 수 있는 간편한 方法으로써 血中 免疫 抗體의 消長을 測定하는 데 널리 利用되고 있다. Table IV에서 보는 바와 같이 本 實驗에서는 飽和脂肪 食餌群은 그 投與量 및 期間이 增加함에 따라 減少하여, 이는 溶血班 形成 細胞數의 減少와 부합 되는 것으로 抗體 生產 細胞數의 減少에 따른 抗體 生產의 減少에 起因한 것으로 생각되며, 한편 不飽和脂肪 食餌群은 2週에서는 약간 增加하였는데 이는 suppressor T cell의 抑制에 의한 抗體 生產 細胞數의 增加에 따른 것으로 思料된다.

**Table IV—Effect of dietary fat on hemagglutinin and hemolysin production.**

Group	2 weeks		4 weeks	
	HA titer	HY titer	HA titer	HY titer <sup>log<sub>2</sub></sup>
Normal diet only	4.67±0.47	6.33±0.47	4.25±0.50	6.00±0.51
CM+Normal diet	4.67±0.47	5.83±0.89	4.63±0.38	5.25±0.50
CM+7% Beef fat	4.50±0.50	5.17±0.89	5.00±0.25	4.38±0.13
CM+15% Beef fat	4.00±0.63*	5.17±0.86	3.75±0.10**	3.75±0.10**
CM+7% Perilla oil	4.33±0.94	5.50±1.25	4.88±0.13	5.38±0.38
CM+15% Perilla oil	6.00±0.75**	7.00±1.19*	4.25±0.75	4.75±0.25

Each value represents the mean±s.e (log<sub>2</sub>) of 7~8 mice. Significant difference from the CM+Normal diet group. (\*, p<0.05 and \*\*, p<0.01)

**Table V—Effect of dietary fat on Arthus reaction and DTH.**

Group	2 weeks		4 weeks	
	Arthus	DTH	Arthus	DTH
Normal diet only	22.04±3.2	17.08±4.2	20.81±4.2	18.50±3.8
CM+Normal diet	18.47±3.3	15.84±3.1	18.81±2.5	16.81±3.8
CM+7% Beef fat	13.34±2.7*	12.15±3.4	14.28±2.2*	11.56±4.0**
CM+15% Beef fat	13.65±3.9*	11.07±2.7*	15.18±0.2*	13.50±1.7*
CM+7% Perilla oil	13.08±3.2**	12.47±1.9*	11.75±4.2**	12.62±1.7**
CM+15% Perilla oil	13.04±2.0**	12.82±2.8	11.50±4.5**	10.01±3.7**

Mice were intravenously sensitized with 10<sup>6</sup> S-RBC and given a challenge injection with 10<sup>8</sup> S-RBC into the left hind foot pad 4 days after the sensitizations. Foot pad swelling was measured at 4 hours and 24 hours after the challenge.

$$\text{FPSI} = \frac{\text{thickness of foot pad : after challenge} - \text{thickness of foot pad before challenge}}{\text{thickness of foot pad before challenge}} \times 100$$

At 4 hour FPSI was the Arthus reaction and 24 hour FPSI was DTH.

Each value represents the mean±s.e of 7~8 mice. Significant difference from the CM+Normal diet group. (\*, p<0.05 and \*\*, p<0.01)

**足蹠腫脹反應에 미치는 影響—Arthus 反應은** 感作宿主에 있어서 起起注射部位로 移走해온 多形核白血球가 抗原—抗體複合體와 補體등이 結合된 巨大分子들의 貪食으로 遊離되는 lysosomal enzymes에 의한 末梢血管壁에서 脈管炎이 誘發되어 出血性壞死, 點狀出血등이 나타나는 抗體媒介性過敏反應現象으로, 本實驗에서는 Table V에서 보는 바와 같이 正常食餌群에 比하여 全群에서 減少하였으며 이는 白血球의 減少에 起因한 것으로 料料된다. 한편 DTH는 *afferent limb*과 *efferent limb*에서 T淋巴球 및 大食細胞가 관여하며 lymphokines 등의 化學的傳達因子의 遊離에 의한 것으로 細胞性免疫에 좋은 指標로 利用되고 있다. 이러한 觀點에서 本實驗結果는 Table V에서 보는 바와 같이 全群에서 正常食餌群에 比하여 有意한 減少가 있었으며 特히 4週에서 顯著하게 減少하여 飽和 및 不飽和脂肪의 投與期間이 增加함에 따라 免疫otoxicity를 增加시켰다. 이러한 結果로 보아 高 飽和 및 不飽和脂肪酸이 細胞性免疫을 抑制하며, 飽和 및 不飽和脂

肪酸의併用投與에依하여 그作用을減少시킬수있다는 Weyman<sup>12)</sup>의報告와一致하며, 高脂肪食餌에의한細胞性免疫抑制의 Kollmorgen<sup>13)</sup>의報告와도一致한다. 또한不飽和脂肪食餌群에서의強한抑制作用은 Mertin<sup>11)</sup>등의報告로미루어不飽和脂肪酸에의하여增加된 cyclic AMP의作用에의한것으로思料된다.

本實驗結果로미루어볼때抗生素,抗癌劑로利用되는藥物의免疫抑制作用,적절한食餌脂肪의投與및感染症또는癌의치료에미치는影響등에 대하여 더욱광범위하고계속적인研究가遂行되어야할것으로생각된다.

### 結論

회주의免疫形成에影響을미치는chloramphenicol의量은50mg/kg/day(i.p.)以上이었으며, 특히細胞性免疫을抑制하였다. chloramphenicol의免疫otoxicity에飽和및不飽和脂肪併用食餌에比하여投與期間및投與量의增加에따라飽和脂肪食餌는體液性免疫toxicity를顯著히抗進시켰으며,細胞性免疫toxicity을약간抗進시켰다. 不飽和脂肪食餌는體液性immune有毒性을抑制하였으나,細胞性immune有毒性을抗進시켰다.

### 文獻

- Yunis, A.A., Bloomberg, G.R., Chloramphenicol Toxicity: Clinical features and pathogenesis, *Progress in Hematology*, New York G. & S. 138 (1964).
- Rondanelli, E.G., Gorini, P. and Magaliulo, Chloramphenicol and erythropoiesis, *Acta Haemat.* 34, 321 (1965).
- Watson, A.D.J., Further observations on chloramphenicol toxicosis in cats. *Am. J. Vet. Res.* 41, 293 (1980).
- Pisciotta, A.V., Deprey, C., Inhibition of mitosis by chloramphenicol in PHA stimulated lymphocytes, *Blood*, 30, 457 (1967).
- Goran Banck, Arne Forsgren, Antibiotics and suppression of lymphocyte function *in vivo*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 16, 554 (1979).
- Damerts, G.J., Sohnle, P.G., Effect of chloramphenicol on *in vivo* function of lymphocytes, *The Journal of Infectious Diseases*, 139, 220 (1979).
- Rasmussen, L. and Arvin Ann., Chomotherapy induced immunosuppression, *Environmental Health Perspectives*, 43, 21 (1982).
- Offner, H., Clausen, T., Inhibition of lymphocyte response to stimulants induced by unsaturated fatty acids and prostaglandins, *Lancet*. 17, 400 (1974).
- Hughes, D., Caspary, E.A., Wisniewski, H.M., Immunosuppression by linoleic acid, *Lancet*. 2, 501 (1975).
- Mchugh, M.I., Wilkinson, R., Elliott, R.W., Field, E.J., etc., Immunosuppression with polyunsaturated fatty acids in renal transplantation, *Transplantation*, 24-4, 263 (1977).
- Mertin, J., Hughes, D., Specific inhibitory action of polyunsaturated fatty acids in lymphocyte transformation by PHA and PPD, *Int. Atchs. Allergy Appl. Immun.* 48, 203 (1975).
- Wey Man, G., Belin, J., Smith, A.D., Thompson, R.H.S., Linoleic acid as a immunosuppressive agent, *Lancet*. 2, 33 (1975).
- Kollmorgen, G.M., Inhibition of lymphocyte function in rats fed high-fat diet, *Cancer Research*, 39, 3458 (1979).
- Fernandes, G., Yunis, E.J., Good, R.A., Dietary influence on antinuclear antibodies and cell mediated immunity in NZB mice, *Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 44, 770 (1973).
- Fernandes, G., Yunis, E.J., Smith, J., Good, R.A., Dietary influence on breeding behavior, hemolytic anemia, and longevity in NZB mice, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 139, 1189 (1972).

16. Ibrahim, A.B., Gardner, M.B., Levy, J.A., Influence of dietary fat on immune complex disease and immunologic function, *Fed. Proc.* 39, 4554 (1980).
17. Lee, Y.C., Kwak, T.K., Lee, K.Y., Relationship between vitamin E and polyunsaturated fat, *Kor. J. Nutrition*, 12, 99 (1979).
18. Leem, J.P., Influence of phenobarbital on the toxicity of the perilla seed oil in rats, 원광대학교 박사 학위 논문, (1982).
19. Mackness, G.R., Lagrange, P.H., and Ishibashi, T., The modifying effect of BCG on the immunological induction of T cells, *J. Exp. Med.* 139, 1540 (1974).
20. 河大有, 緬羊赤血球 感作量이 자연성 파인반응과 항체 생산에 미치는 영향, 全北 醫大論文集, 3, 95 (1979).
21. Ha, T.Y., and Kim, H.J., Depression of immune response by newcastle disease virus infection, *J. Kor. Soc. Microbiol.* 14-1, 79 (1979).
22. Jerne, N.K., Nordin, Å.A., Plaque formation in agar by singl antibody-producing cells, *Science*, 140, 405 (1963).
23. Ha, T.Y. and Rhee, H.K., Effect of inosiplex on cellular and humoral immune response, *J. Kor. Soc. Microbiol.* 16-1, 57 (1981).
24. Ha, T.Y., and Kim, K.K., Effect of cyclophosphamide administration after stimulation with PHA on immune response in mice, *J. Kore. Soc. Microbiol.* 14-1, 71 (1979).
25. Sugimoto, Kojima, A.M., Yaginuma, K. and Gashira, Y.E., Cell mediated and humoral immunity in mice, *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* 28, 23 (1975).
26. Ha, T.Y., Lee, H.K., Song, Y.K., Modulation of immune response by cimetidine, *J. Kor. Soc. Microbiol.* 16, 49 (1981).
27. Back, J.F., and Dardenne, M., Antigen recognition by T lymphocytes, *Cell Immunol.* 3, 1 (1972).