

백일해 예방약의 백혈구 증가 인자에 관한 연구

서울대학교 의과대학 미생물학교실

최 성 배

= Abstract =

Leucocyte Promoting Factor of B. Pertussis Vaccine

Sung-Bae, Choi

Department of Microbiology, College of Medicine, Seoul National University

It was well known that *B. pertussis* cells possess protective antigen, histamine sensitizing factor, heat-stable and labile toxin, hemagglutinin, agglutinin and the others. Previous reports involving above antigenic properties of *B. pertussis* have been carried out for several years. However, leucocyte promoting property was not yet investigated.

In this report, the results of studies on the leucocytosis, particularly the lymphocytosis, produced in mice by injecting pertussis vaccine were presented.

Especially leucocyte promoting property and histamine sensitizing property of *B. pertussis* vaccine treated at various temperatures were compared.

The relationship between the leucocyte promoting property and histamine sensitizing property was investigated.

Results were as follows.

1. Although leucocytosis was significantly risen in both 0.5ml injection and 0.1ml injection of pertussis vaccine than in control, at the higher dose (0.5ml injection) an elevation in white cell count was more significant. The leucocyte response to pertussis vaccine was greater following 0.5 ml injection than following 0.1ml injection.
2. Lymphocytosis was significantly risen in both 0.5ml injection and 0.1ml injection of pertussis vaccine than in control. At higher dose (0.5ml injection), an elevation in lymphocyte count was more significant.
3. Order of elevation in differential leucocyte counts was lymphocyte, polymorphonuclear leucocyte and monocyte.
4. The leucocyte response to pertussis vaccine was 2 fold greater following intravenous injection than following subcutaneous injection.
5. Decrease leucocyte promoting activity and histamine sensitizing activity resulted from exposure to temperature above 56°C. Histamine sensitizing activity of pertussis vaccine treated at various temperatures paralleled leucocyte promoting activity.

서 론

백일해 예방약의 효과가 있음이 여러 학자들에 의하여 보고되어 왔다^{1,2,3)}.

그러나 전혀 무해하지 않고 접종후 경련성 반응을 나타냈으며 사망한 보고가 있었다^{4,5,6)}.

그리하여 여러 연구자들이 예방약의 독성을 제거하고 방어성을 유지할 수 있는 예방약을 제조코저 백일해균의 항원성을 연구하여 왔다^{7,8,9)}.

백일해균의 복잡한 항원성중 그 대표적인 것이 방어성항원 Histamine감작인자, 독성, 혈구응집소, 응집원, 피부괴사 인자 등이다.

저자는 이상의 성상의 대부분을 연구 보고 하여

왔다^{10, 11)}.

그러나 중요성상의 하나인 백혈구 증가인자(leucocyte promoting factor)에 대한 연구는 보고되지 못하였다. 따라서 본보에서는 백혈구증가인자(L.P.F.)를 연구 검토하고 Histamine감작성 인자(H.S.F)와의 관계도 아울러 연구 검토하였다.

재료 및 방법

1) 균 주 : 18380, M 95, M 85, 10536, 18323 등을 사용하였다.

2) 동 물 : 체중 약 20 gm의 마우스를 사용하였다.

3) 배 지 : BG배지(Bordet Gengou sheep blood Agar)를 사용하였다.

4) 예방약 가열처리: 전 방법¹⁰⁾ (Choi, 1971)과 같이 제조된 복합균주 예방약을 30분간 수저(water bath)에서 각각 다른 온도로 처리하여 백혈구 증가인자나 Histamine감작성인자를 연구 검토하였다.

5) 감작시험: 전 방법¹⁰⁾ (Choi, 1971)을 따라서 예방약들을 5단계 희석하여 마우스에 면역한후 4일에 Histamine dihydrochloride(base로 0.5 mg)로 복강으로 공격하여 24시간 관찰하였다.

6) 백혈구(수) 측정

백혈구 산정 파이펫트(0.5 white blood cell counting pipette)로 혈액을 0.5 mark 까지 채운후 3% acetic acid로 11 mark 까지 채운다. 3분간 흔들어 3~5방울을 떨어뜨려 counting chamber 를 채운후 현미경으로 4~5 sqmm의 평균산정(average count)을 하였다.

7) 백혈구 감별산정(WBC Differential count)

혈액을 도말, 건조후 wright 염색상에서 시행하였다.

성 적

1) 예방약 접종후 백혈구 수의 변화(반응)

백일해 예방약을 0.1 ml, 0.5 ml로 양을 변화시켜 마우스의 정맥내로 접종한 후 대조와 비교하여 백혈구수를 관찰하였다.

Fig. 1에서 보는 바와 같이 대조보다 0.1ml 접종시 접종 후 일수경과에 따라서 백혈구 수가 증가되어 4일에 절정에 이르렀고 점차 감소되었다.

0.5ml에서는 대조에 비하여 4일까지 현저히 증가되었고 0.1ml보다 더 증가되었다.

2) 예방약 접종후 림파구(lymphocyte)의 반응

백일해 예방약을 0.1 ml, 0.5 ml로 양적변화를 시

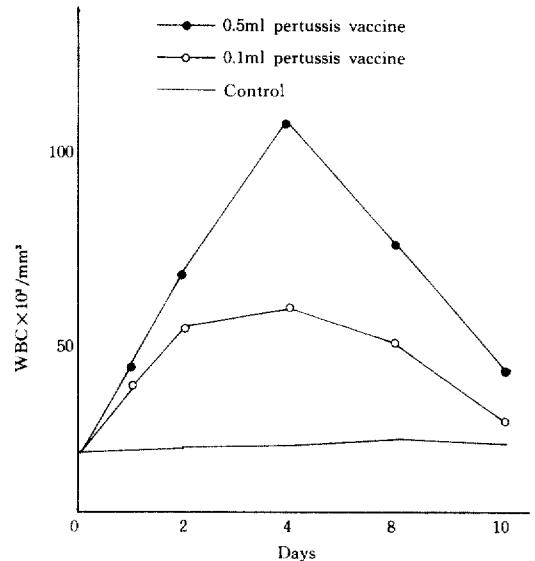


Fig. 1. The number of total leucocyte in peripheral blood from vaccinated and control mice.

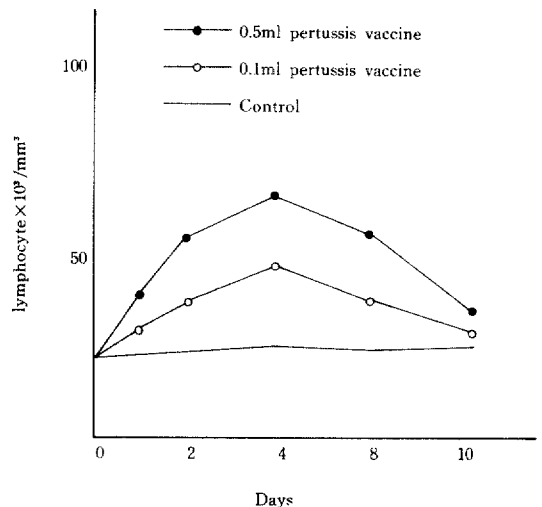


Fig. 2. Lymphocyte counts of mice receiving 0.5ml and 0.1ml of pertussis vaccine by intra-venous route.

켜 대조와 비교하여 림파구(lymphocyte)를 세운 것으로 Fig. 2에서 보는 바와 같이 대조보다 0.1ml접종시 시간경과에 따라 4일까지 림파구(lymphocyte)가 증가하였다.

0.5ml에서는 대조보다 시간 경과에 따라 4일까지 현저히 증가되었다.

3) 예방약 접종후 여러종류의 백혈구수의 변화

Fig. 3는 백일해 예방약을 0.5 ml씩 마우스의 정맥내로 접종후 혈액을 말초혈관으로부터 채취하여 감별산정(differential count)한 성적으로 전체 백혈구수가 접종후 4일에 절정(peak)에 이르러서는 시

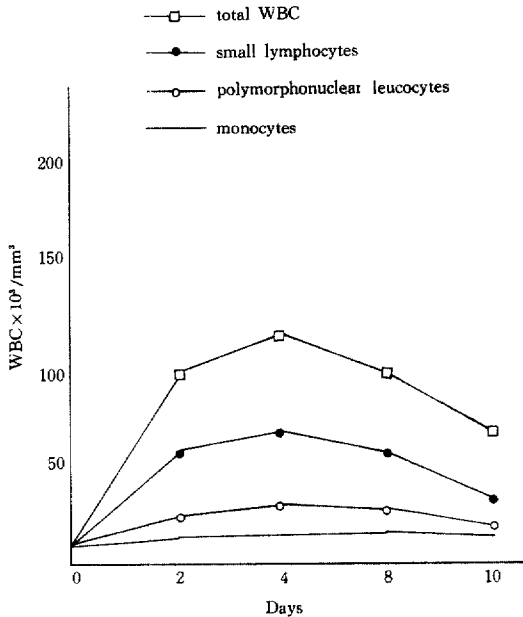


Fig. 3. Changes in the differential leucocyte counts of mice after the intravenous injection of 0.5ml of pertussis vaccine.

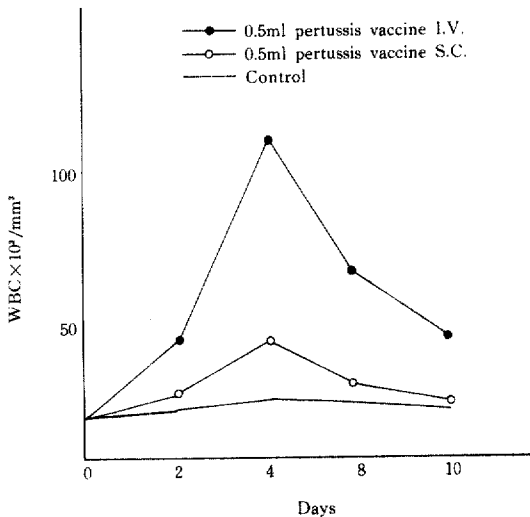


Fig. 4. Leucocyte counts of mice receiving 0.5 ml of pertussis vaccine by the intravenous, subcutaneous route.

간 경과에 따라서 점차 감소되었다. 백혈구 수중 임파구(lymphocyte)가 제일 높았고 다음이 다형핵백혈구(PMNS)이고 최하가 단핵구(monocyte)이다.

4) 예방약 접종 route에 따르는 백혈구 수의 변화 예방약을 정맥내, 피하로 접종후 백혈구 수의 변화를 비교 검토하였다.

Fig. 4에서 보는 바와 같이 정맥내 접종한 혈구수가 피하접종 혈구수보다 현저히 증가하였다.

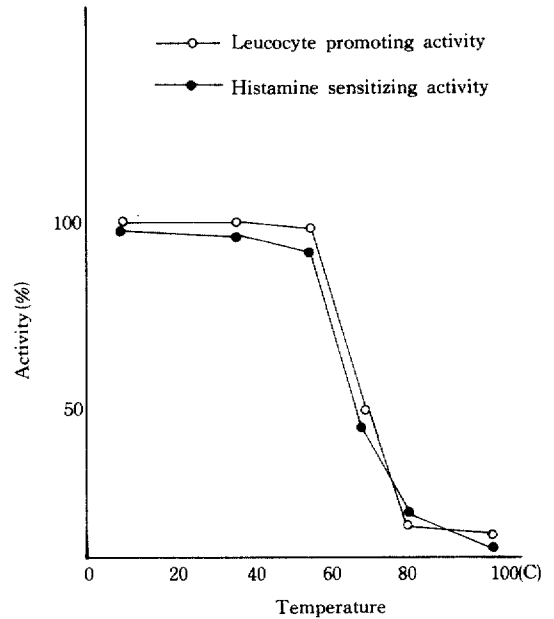


Fig. 5. Leucocyte promoting activity and Histamine sensitizing activity of *B. pertussis* vaccine treated at different temperatures.

5) 가열 처리한 예방약의 백혈구 증가성 및 히스타민 감작성

5°C~7°C에 보존된 예방약의 활성도(activity)를 기준(100%)으로 하여 여러온도(37°C, 56°C, 70°C, 80°C, 100°C)로 가열처리한 예방약의 LPF와 HSF를 검토하였다. Fig. 5에서 보는 바와 같이 37°C, 56°C까지는 LPF와 HSF 모두 거의 수평적으로 병행하여 하락되지 아니하였으나 56°C 이상에서는 차차 감소되어 70°C에서는 상당히 감소되었으며 80°C, 100°C에서는 거의 완전히 활성도(activity)가 저하되었다.

고찰

백일해 예방약의 효과와 독성들에 대하여 여러학자들에 의하여 거듭 연구되어 왔다. 특히 영국에서 실시한 야외 실험²¹⁾을 통하여 백일해균의 제일 상균으로 제조된 예방약이 발병율을 현저히 저하시킨다는 것이 보고되었다.

그러나 백일해 예방약이 무해하지 않고 심한 경련성 반응을 나타냈으며 상당한 보고가 있었다. 그리하여 최근 의학계에서 예방약의 접종을 기피하는 현상까지 이르렀다. 백일해 예방약의 부작용에 대하여 국내 국외의 연구가 진행되어 왔다.

현재까지 완전 해소될 만한 연구결과나 해결 방안이 출현하지 못하고 있다.

현재 알려진 백일해 균의 대표적 생물학적 성상이 Histamine감작인자, 방어성 항원, 응집원, 혈구 응집소, 피부파사 인자, 이열성독소, 내열성독소등으로 그간의 연구들^{10, 11, 12}에서 대부분 보고되었다.

본 연구에서는 백혈구 증가인자를 보고하게 되었다.

본 실험에서 백일해 예방약 접종후 백혈구(leucocyte)가 증가하였다. 특히 임파구(lymphocyte)가 증가하게 되었는데 그 기전은 확실히 알려지지 않았으나 백일해 예방약의 백혈구 증가 인자가 백혈구 특히 임파구 생성을 증가하게 하거나, 임파성 조직이나 다른 조직으로 부터 세포를 동원한 결과로 사료되며 또한 백혈구 증가인자가 임파구의 표면에 흡착이 되어 소혈관으로 부터 임파구 이동에 방해되었거나 혈관내로 임파구를 유인시킨 결과로 사료된다.

이상의 본 실험에서 가열 처리한 예방약의 백혈구 증가인자와 Histamine감작인자가 같이 감소되었다. 따라서 두인자가 상호 관련성이 있다고 사료되었다.

본 연구는 전 연구들¹⁰⁻¹²에 이어서 아직 미해결의 문제인 백일해 예방약의 독성문제 해결의 일환으로 중요성상인 백혈구 증가인자와 히스타민 감작성의 상호 관련성을 연구 검토한 것이다.

결 론

백일해 예방약의 접종후 백혈구 수의 증가를 가져오는 백혈구 증가인자(leucocyte promoting factor)를 연구키 위하여 예방약을 마우스에 면역한 후 대조와 비교하여 접종량의 변화에 따르는 백혈구(lymphocyte, monocyte, polymorphonuclear leucocyte등)의 수적변화를 검토하였고 백혈구 증가인자와 Histamine감작인자(Histamine sensitizing factor)와의 관계를 비교 검토하였다.

그간의 결과를 요약하면

1) 백일해 예방약의 접종후 백혈구(leucocyte) 수는 접종군(0.5 ml, 0.1 ml)에서 대조군보다 증가되었고, 접종량의 증가에 따라 백혈구 수도 증가되었다.

2) 백일해 예방약 접종후 임파구(lymphocyte) 수는 대조에 비하여 증가되었고 접종량 증가에 따라 증가되었다.

3) 백일해 예방약 접종후 백혈구를 감별 계산하여 산출된 혈구들은 예방약 접종 4일에 총백혈구 수가 절정에 이르렀고 그중에서 임파구(lymphocyte)가 제일 높았고 다형핵구(polymorphonuclearleucocyte)가 다음이고 끝으로 단핵구(monocyte)의 순서

로 나타났으며 시간 경과에 따라 세세포들이 점차 감소되었다.

4) 백혈구 증가성은 정맥내 접종한 세포수가 피하접종보다 현저히 증가되었고 피하 접종이 대조보다 더 세포가 증가되었다.

5) 가열처리한 예방약의 백혈구 증가인자및 Histamine감작인자는 가열 온도의 상승에 따라 점차 같이 감소되었다.

참 고 문 헌

- 1) Kendrick PL and Eldeing GA: A study on the active immunization against pertussis. *Amer. J. Hyg.*, **29**: 133, 1939.
- 2) British Medical Association: Vaccination against whooping cough, *Brit. Med. J.*, **2**: 454, 1956.
- 3) Medical Research Council: The prevention of whooping cough by vaccination, *Brit. J.*, **1**: 1464, 1951.
- 4) Toomey JA: Reaction to pertussis vaccine, *J. A.M.A.* **139**: 4, 1949.
- 5) Kendrick PL: Mouse protection test in the study of pertussis vaccine. A comparative series using the intracerebral route for challenge. *Amer. J. Pub. Health* **37**: 303, 1947.
- 6) Pittman M: Variability of pertussis vaccine in relation to the number of bacteria. *J. Pediatrics* **45**: 57, 1954.
- 7) Parfentijev IA and Goodiline A: Histamine shock in mice sensitized with Hemophilus pertussis vaccine. *J. Pharmacol. and Exp. Therapy* **92**: 411, 1948.
- 8) Pittman M: Comparison of the histamine sensitizing property with the protective activity of pertussis vaccine for mice. *J. Inf. Dis.* **89**: 300, 1951.
- 9) Munoz J, Ribic E and Larson CL: Antigen of Bordetella pertussis. *J. Immunol.* **38**: 501, 1959.
- 10) Choi SB: A study on the antigenicities of Bordetella pertussis strains, *J. Int. Med. (Korea)* **14**: 9, 1971.
- 11) Choi SB: A study on the Antigenic Activities of Cell Wall and Protoplasm of Bordetella pertussis, *The Seoul J. Med.* **17**: 1, 1976.
- 12) Choi SB: A study on the soluble antigen of

Bordetella pertussis. *The Seoul J. Med.* 18:
1, 1977.
13) Choi SB: Influence of preservative on the pr-

otective activity and toxicity of pertussis va-
ccine. *The New Medical Journal(Korea)* 22:
73, 1979.