

마우스에 있어서 食餌들기름이 免疫反應에 미치는 影響

안 영 근·김 정 훈·김 도 훈

圓光大學校 藥學大學

Effect of Perilla Oil Diet on the Immune Response in Mice

Young Keun Ahn, Jung Hoon Kim and Do Hoon Kim

College of Pharmacy, Won Kwang University

ABSTRACT

The effects of perilla oil diet on the immune response in mice have been studied.

ICR male mice were divided into 4 groups and were fed on the experimental diet for 4 weeks. Mice were sensitized and challenged with sheep red blood cell (S-RBC).

Immune response were evaluated by antibody production, Arthus reaction, delayed type hypersensitivity (DTH), Rosette forming cell (RFC) and macrophage activity.

The weight of body, liver, thymus and spleen were measured. The body weight was increased but thymus weight was not altered by them. The perilla oil diet decreased the weight of liver and spleen in mice.

It reduced antibody production, Arthus reaction, DTH and RFC, macrophage activity.

These results showed that the high perilla oil diet decreased more humoral and cellular immune response than the low perilla oil diet.

It decreased the phagocytic activity on the reticuloendothelial system in mice.

緒 論

우리나라 全 地域에 널리 栽培되고 있는 들깨는 食生活의 變遷으로 因해 健康食品으로서 들기름 攝

取가 날로 增加되고 있으며, 옛부터 들깨는 民間療法으로서 高血壓, 기침, 衫痰, 便秘 및 健胃 等に 效果가 있어서 널리 利用하였으며, 東醫寶鑑 및 和漢藥 等에서는 下氣, 補髓, 止嗽, 止渴 및 潤肺 等の 治療藥으로서 收載되어 있다.

들깨의 成分으로는 앞에는 精油가 0.12%, 씨에

脂肪油 약 46.9%로서 주로 oleic acid, linoleic acid, linolenic acid 등의 glyceride와少量的 palmitic acid를 함유하고 있다고 하였다¹⁾.

Mo는 들개의 지방산組成에 대해서 研究한 바 palmitic acid 6.9%, palmitoleic acid 0.8%, stearic acid 1.7%, oleic acid 15.9%, linoleic acid 14.1%, linolenic acid 58%로서 다른 食物油에 比해서 不飽和도가 훨씬 높다고 하였으며²⁾, Lee 등은 polyunsaturated fatty acid/saturated fatty acid ratio(P/S Ratio)가 높은 들기름 含有飼料 投與動物群에 있어서 tocopherol의 不足으로 因한 症狀를 報告한 바 있다³⁾. 尾崎는 各種·지방산의 營養價에 대해서 調査 研究한 바에 의하면 高度不飽和脂肪酸는 多數의 二重結合을 가지고 있기 때문에 毒性이 나타난다고 하였으며⁴⁾, Matsuo 에 의하면 高度不飽和脂肪酸 ethyl ester는 空氣中에서 放置하면 自動酸化되어 胃, 腸 및 肝臟에 毒性의 出現을 報告하였다^{5,6)}.

Rat의 高度不飽和脂肪酸를 投與하면 血清 cholesterol의 血中値가 低下되나 肝臟에는 脂肪의 蓄積이 增加되어 肝肥大症 및 肝臟壞疽가 생기며, 肝障害로 因해 血清의 glutamate pyruvate transaminase의 活性도가 增加되며, 脂肪酸에 3, 4-dimethoxyphenylethylamine을 添加하여 投與하면 高度不飽和脂肪酸를 含有하는 動物群에서는 肝의 tyrosine aminotransferase의 活性도가 增加되며 erythrocyte와 lysosome membrane의 障害를 일으키고 動脈硬化를 일으킨다고 報告되어 있다^{7~13)}. 또한 Lim은 들기름을 投與했을 때 들기름의 短期毒性에 대하여 研究한 바에 의하면 肝의 cytochrome P-450의 增加와 肝肥大症狀과 肝靜脈血管 周圍의 變化를 報告한 바 있다¹⁴⁾.

癌에 관한 報告에서 Carroll 등은 脂肪에 7, 12-dimethylbenzanthracene을 添加하여 動物의 乳房癌 發生을 試驗한 바 低脂肪食에 比하여 高脂肪食 즉 飽和脂肪添加群에 比해서 不飽和脂肪添加群에서 그 發生率이 높았으며, 國家別 乳房癌을 比較調査한 結果 같은 量을 攝取하였을 때 植物性 脂肪의 境遇보다 그 發生率이 높았다고 報告한 바 있으며¹⁵⁾,

Hopkins 등은 脂肪中 特히 不飽和脂肪이 tumor의 發生率을 높인다고 하였고¹⁶⁾, Mertin 등은 不飽和脂肪酸의 食餌 增加로 因하여 化學적으로 誘發된 tumor의 發生率을 높인다고 報告하였다^{17~20)}. 또한 Berenblum은 脂肪이 cocarcinogen으로 作用한다고 하였으며²¹⁾, Sugai 등은 加熱 處理한 油에 2-acylaminofurene을 添加하면 新鮮한 油에 比해서 cocarcinogenic activity를 強하게 하는 作用이 있다고 報告하였다²²⁾.

免疫에 관한 報告에서 Hughes 등은 linoleic acid의 投與에 依하여 齧齒類의 皮膚同種移植生存率을 延長시킬 수 있다고 하였으며²³⁾, Mchugh 등은 linoleic acid 등의 高度不飽和脂肪酸에 依한 reticuloendothelial system의 直接障害로 因하여 腎臟移植時 免疫抑制劑의 補助劑로 使用할 수 있다고 하였고²⁴⁾, Mertin 등은 in vitro에서 飽和 및 不飽和脂肪酸의 存在에 依하여 PHA와 purified derivate of tubercule 등에 依한 淋巴球幼若化 反應이 抑制된다고 하였으며, in vivo에서 皮膚移植 反應 拒否와 tumor의 廢棄物을 誘發시킨다고 報告하였다^{18,25~27)}. 또한 Kollmorgen 등은 高脂肪食餌에 依하여 飼育한 흰쥐의 血清이 低脂肪食餌로 飼育한 흰쥐의 血清에 比하여 in vitro에서 mitogen의 作用을 顯著히 抑制한다고 하였으며²⁸⁾, Ibrahim 등은 高脂肪含有 低熱量 食餌群이 低脂肪含有 高熱量 食餌群에 比하여 顯著하게 自家免疫疾患이 發現한다고 하였고²⁹⁾, 吉田과 大石誠子 등은 過酸化脂質과 flavin을 同時에 投與하면 血清凝集價는 增加되어 毒性의 增加를 報告하였으며^{30,31)}, DeWille 등은 必須脂肪酸缺乏飼料의 攝取는 體液性 免疫反應인 脾臟細胞의 溶血斑形成細胞數를 低下시키으나 熱量 2~70%인 高度不飽和脂肪酸의 含量은 體液性 免疫反應에 有害하게 作用하지 아니하였으며³²⁾, 또한 Park 등은 酸敗들기름은 新鮮油에 比해서 全般的으로 體液性 免疫과 細胞性 免疫의 抑制가 있음을 報告하였다³³⁾.

따라서 高度不飽和脂肪酸는 免疫低下를 誘發함이 밝혀진 바 있으며, 特히 不飽和도가 높은 들기름의 使用이 늘어남에 따라 豫想되는 食餌들기름의 免疫

毒性이 期待되어 本 實驗을 實施한 結果 有意性있는 結論을 얻었기에 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗動物

生後 5~6 週齡, 體重 20 g 前後의 ICR male mouse를 경기도 화성 實驗動物 飼育所로부터 分讓 받아 市販飼料로 1 週間 給食시켜 適應시킨 後에 20 마리를 1 群으로 하고 全體를 4 群으로 分類하여 室內 溫度 23±2°C, 濕度 50~60%로 維持한 恒溫恒濕 飼育室에서 4 週間 實驗食餌로 飼育하였다.

2. 食餌들기름의 調製 및 投與

食餌들기름은 바로 搾 것을 使用하고 過酸化物價 (P.O.V.)는 4로 하였으며, 요오드價(I.V.)는 204로 하여 實驗食餌에 混合하여 調製하였다. 各各의 實驗食餌와 물은 任意로 먹거나 마시게 하였다.

3. 實驗食餌의 調製^{34,35)}

實驗食餌의 組成은 Table 1과 같다. 正常食餌의 比率는 Takuji等의 報告를 參考로 하였다³⁶⁾.

Table 1. Composition of the experimental diet. (100 g diet, unit : g)

Dietary ingredients	Experimental animal group			
	Normal	(I)	(II)	(III)
Carbohydrate rice power	65	65	55	45
Protein casein	20	20	20	20
Fat corn oil	10	—	—	—
Fat corn oil	—	10	—	—
Fat corn oil	—	—	20	—
Fat corn oil	—	—	—	30
Salt mixtur ²⁾	4	4	4	4
Vitamin mixture ³⁾	1	1	1	1

1) Fat :

Corn oil : Peroxide value 4, Iodine value 204

Perilla oil : Peroxide value 4, Iodine value 204

2) Salt mixture used had composition of Rogers and Harpers³⁷⁾.

3) Vitamin mixture (Per 1 gm)

Vitamin A (USP XIX)	5,000 IU	Choline citrate (KP III)	5 mg
D (KP III)	400 IU	Folic acid (KP III)	0.5 mg
B ₁ (KP III)	5 mg	Calcium pathotenate (KP III)	5 mg
B ₂ (KP III)	5 mg	DL-methionine (KP III)	2.5 mg
B ₆ (KP III)	0.5 mg	Lysine HCl (KP III)	1 mg
B ₁₂ (KP III)	0.2 mg	Glycine (KP III)	1 mg
C (KP III)	5.0 mg	Glutamic acid HCl (KP III)	1 mg
K (IP III)	0.2 mg	Minerals	75 mg
Nicotinic acid (KP III)	30 mg		

4. 體重 및 臟器의 重量 計測

1) 體重 : 實驗動物의 體重은 實驗 開始日과 最終 日에 測定하였다.

2) 臟器의 重量 : 實驗動物의 頸動脈을 切斷 採血

한 脾臟, 肝臟 및 胸腺을 各各 摘出하여 그 外觀을 觀察하고 그 重量을 測定하여 對體重百分比를 求하였다.

5. 抗原의 調製 및 免疫

1) 抗原: 본 實驗에서는 緬羊赤血球(Sheep red blood cell: 以下 S-RBC)를 使用하였다. 그 方法은 緬羊의 頸動脈으로부터 heparin으로 처리한 注射器로 採血한 後 同量의 Alserver氏液(pH:6.1)을 加하여 4°C에서 保存하여 2週日 以內에 使用하였다. 保存中인 S-RBC를 使用할 때에는 使用 直前 phosphate buffered saline(以下: PBS)으로 3回 遠心洗滌한 後 ml當 S-RBC가 1×10^8 S-RBC/ml로 Hank's balanced salt solution(以下: HBSS)에 浮遊시켜 使用하였다.

2) 免疫: 上記 抗原 浮遊液 0.1ml(1×10^7 S-RBC)를 Reed等の 報告를 參考하여 mouse를 尾靜脈에 注射하여 1차免疫을 實施하였다³⁸⁾. 2차免疫은 亦是 Reed等の 報告를 參考하여 1차免疫을 實施한 4日 後에 mouse의 左側後肢足蹠皮內에 2×10^8 S-RBC/ml 浮遊液 0.05 ml(1×10^8 S-RBC)를 注射하여 추가 免疫하였다.

6. 赤血球 凝集素價 및 溶血素價의 測定³⁹⁾

1) 血清의 分離 및 非動化

Mouse의 頸動脈을 切斷하여 溶液을 凝固시킨 後에 遠心分離하여 血清을 分離하고 56°C에서 30分間 非動化시킨 後 4°C에서 保存하여 使用하였다.

2) 赤血球 凝集素價(Hemagglutination: 以下 HA titer)의 測定

S-RBC의 凝集素價를 microtitration tray (Nunclon micro test tray)를 使用하여 다음과 같이 實施하였다. 즉 各 實驗動物로부터 얻은 個個의 非動化 血清을 各 69 well culture plate (Linbro sci. co.)에 HBSS로 2倍 系列로 稀釋한 後 HBSS에 浮遊한 0.5% S-RBC 0.025 ml를 잘 混合한 다음 37°C에서 18시간 放置하여 赤血球의 凝集素價로 하였다.

3) 赤血球 溶血素價(Hemolysin titer: 以下 HY titer)의 測定

S-RBC의 量 및 血清의 稀釋은 凝集素價測定時와 同一하게 實驗하였으며 S-RBC와 稀釋血清이 들어

있는 各 well에 guinea pig complement를 20倍로 稀釋하여 0.025 ml씩 加한 다음 37°C에서 1시간 放置하여 溶血 여부를 觀察하였다. 이때에 完全 溶血을 일으키는 血清의 最高稀釋度를 그 力價로 判讀하였다.

7. 足蹠腫脹反應 測定(Foot pad swelling test)

Arthus反應(immediated type hypersensitivity) 및 遲延型 過敏反應(delayed type hypersensitivity: 以下 DTH)을 測定하기 爲하여 Reed 등이 記述한 方法에 準하여 다음과 같이 實施하였다³⁸⁾. 즉 1차免疫 4日 後에 S-RBC 0.05 ml(1×10^8 S-RBC)를 mouse의 左側肢足蹠에 皮下注射하였다. 注射 後 一定 時間이 經過한 後에 腫脹의 두께를 눈금 0.01 mm microcaliper로 測定하였으며 腫脹程度의 測定價는 測定에 따른 誤差를 避하기 爲하여 3回 測定한 數值를 平均하였다. 判讀의 基準은 Sugimoto 등의 判讀基準에 따라⁴⁰⁾ 3時間의 反應을 Arthus反應 24時間 經過 後의 反應을 遲延型 過敏反應(DTH)으로 有做하였다. 足蹠腫脹指數는 다음과 같이 表示하였다.

$$\text{Foot pad swelling index} = \frac{\text{腫脹 두께} \cdot \text{正常 두께}}{\text{正常 두께}} \times 100$$

8. 脾臟細胞 浮遊液의 調製

脾臟을 mouse로부터 無菌의으로 摘出하여 Minimum essential medium(以下 MEM)에 조심스럽게 粉碎한 後 nylon mesh로 濾過하여 死細胞를 除去하였고 寒冷 MEM으로 4°C에서 3回 遠心分離한 後 脾臟細胞가 2×10^7 cell/ml가 되도록 PBS에 浮遊하였다. 每 實驗마다 이 檢査는 trypan dye exclusion method으로 다음과 같이 하였다. 즉 試驗管에 0.3 ml의 細胞浮遊液을 넣은 後 0.1 ml의 trypan blue dye solution을 加하여 5分間 經過 후 血球 計算板에서 無色의 生細胞와 青色으로 染色된 死細胞의 數를 센 後 그 百分率로 計算하였다³⁹⁾.

9. 脾臟細胞의 Rosette形成細胞(RFC)의 檢出

脾臟細胞의 Rosette形成細胞의 檢査는 Garvey 등 및 Elliot 등이 記述한 方法에 準하여 다음과 같이 實施하였다^{41,42}. 즉 脾臟細胞浮遊液 0.25 ml (5×10^6 cell)와 S-RBC浮遊液 0.25 ml (5×10^7 cell)를 試驗管에 넣고 混合하여 200×g에서 12分間 遠心分離한 後 이 再生遊液 1滴을 血球計算板에 떨어뜨리고 RFC를 檢鏡 觀察하였다. 檢鏡時 脾臟細胞에 S-RBC가 3個以上 부착한 細胞를 RFC로 判定하여 다음 公式에 準하여 計算하였다.

$$RFC = \frac{\text{Number of Rosette forming cell}}{\text{Total counted} \times \% \text{ Viability}} \times 100$$

10. 大食細胞의 活性檢査

大食細胞의 貧食能力을 測定하고자 본 實驗에서는 Biozzi 등이 記述한 方法에 準하여 다음과 같이 實施하였다⁴³. 즉 最終 實驗食餌 投與 2日 後에 carbon 즉 rotring ink를 滅菌蒸溜水에 녹인 1% gelatin 液으로 6倍 稀釋하고 懸濁液을 調製하여 本 實驗期間동안 密栓하여 37°C에 保管하였다. 위와같이 調製한 colloid狀 炭素懸濁液을 mouse 體重 g當 0.01 ml씩 mouse의 尾靜脈內로 注射하였다. 그 後 mouse의 眼窩後倍靜脈血叢 (retro-orbital plexus)을 calibrated heparinized capillary tube (20 μl : microtemacrit)로 穿刺하여 20 μl의 溶液을 10分, 20分, 30分間隔으로 採取하여 0.1% sodium carbonate (蒸溜水에 溶解한 液) 溶液 2 ml가 든 vial에 各各 넣어서 赤血球가 溶解되도록 잘 混和하였다. 이어서 吸光度를 600 nm에서 測定하고 다음의 公式에 準하여 計算하였다.

$$\text{Corrected phagocytic index} = \frac{W_B}{W_S + W_L} \times \sqrt[3]{K}$$

W_B : 體重

W_S : 脾臟의 重量

W_L : 肝臟의 重量

K: Phagocytic coefficient (測定濃度의 10 倍數를 log로 轉換하고 時間에 對하여 plot한 graph 曲線)

11. 統計學的 分析

모든 자료는 mean ± standard deviation로 나타내었으며 有意性 檢定은 Student's t-test로 行하였다.

實驗 結果

Mouse에 있어서 免疫反應에 미치는 食餌들기름의 影響을 究明하고자 實施한 本 實驗의 結果는 다음과 같다.

1. 들기름 實驗食餌의 攝取量

들기름 食餌를 各各 任意로 攝取케 하거나 마시게 한 結果 攝取量은 Table 2와 같다.

即 攝取量은 正常對照群이 20.46 ± 6.09인데 比하여 perilla oil 10, 20 및 30을 投與한 群은 各各 20.16 ± 4.07, 17.65 ± 4.59 및 13.40 ± 2.04로서 全群이 減少를 보였으며, 특히 perilla oil 30 食餌 投與群에서는 13.40 ± 2.04으로 顯著히 減少하였다.

Table 2. Exposure schedule and food intakes of perilla oil diet administered 4 weeks in mice.

Group	Food intake (g/mouse/day)
Control	20.46 ± 6.09
Perilla oil 10	20.16 ± 4.07
Perilla oil 20	17.65 ± 4.59
Perilla oil 30	13.40 ± 2.04**

Each value is the mean ± S.D.

Significantly different from control treated.

(**p < 0.01)

2. 體重, 肝臟, 脾臟 및 胸腺의 重量變化

1) 體重의 變化

實驗食餌로 4週間 飼育한 後 考察한 바 各 群의 實驗開始 및 最終日의 體重變化는 Table 3과 같다.

正常對照群이 30.26 ± 8.69%의 體重增加를 보이는데 比하여 perilla oil 10, 20 및 30을 投與한 群은 各各 44.72 ± 9.80%, 41.04 ± 10.24% 및 32.34 ± 8.69%로서 全群의 體重在 正常對照群에 比하여 크며, 특히 perilla oil 10 및 20을 投與한 群에서는 有意性

Table 3. Effects of perilla oil diet on the body weight increased rate of mice.

Groups	Initial wt. (gm)	Final wt. (gm)	Increasing rate (%)
Control	13.73±0.78	20.01±2.79	30.26±8.69
Perilla oil 10	13.76±1.00	25.49±3.86	44.72±9.80**
Perilla oil 20	13.85±0.67	23.71±3.87	41.04±10.24*
Perilla oil 30	13.79±0.77	20.69±2.68	32.34±8.69

Each value is the mean±S.D. of 18~20 mice.

Significant difference from control group. (*p<0.05, **p<0.01)

있는 증가를 보였다.

2) 脾臟의 重量變化

脾臟對 體重重量比는 Table 4에서 보는 바와 같이 正常對照群이 6.70±1.94%인데 比하여 perilla oil 10, 20 및 30을 投與한 群은 各各 4.37±0.86%, 5.13±1.69% 및 4.16±1.14%로서 有意性있는 差異를 보였으며, 특히 perilla oil 30을 投與한 群에서는 顯著한 差異를 보였다.

Table 4. Effects of perilla oil diet liver weight of mice.

Group	Liver wt. (mg)	$\frac{\text{Liver wt.}}{\text{Body wt.}} \times 100(\%)$
Control	1.30±0.28	6.70±0.94
Perilla oil 10	1.13±0.22	4.37±0.86
Perilla oil 20	1.23±0.39	5.13±1.69
Perilla oil 30	0.97±0.12**	4.16±1.14**

Perilla oil was fed for 4 weeks.

Each value is the mean±S.D. of 18~20 mice.

Significant difference from control group.

(**p<0.01)

3) 脾臟의 重量變化

脾臟對 體重重量比는 Table 5에서 보는 바와 같이 正常對照群이 1.63±0.84%인데 比하여 perilla oil 10, 20 및 30을 投與한 群은 各各 0.82±0.30%, 1.37±1.03% 및 0.73±0.25%로서 增渡이 있었으며, 특히 perilla oil 10 및 30을 投與한 群에서는 顯著한 差異가 있음을 볼 수 있었다.

4) 胸腺의 重量變化

胸腺對 體重重量比는 Table 6에서 보는 바와 같이 正常對照群이 0.21±0.05%인데 比하여 perilla oil 10, 20 및 30을 投與한 群은 各各 0.21±0.08%,

Table 5. Effects of perilla oil diet on spleen weight of mice.

Group	Spleen wt. (mg)	$\frac{\text{Spleen wt.}}{\text{Body wt.}} \times 100(\%)$
Control	314.70±153.19	1.63±0.84
Perilla oil 10	208.55±68.76	0.82±0.30*
Perilla oil 20	260.91±166.11	1.37±1.33
Perilla oil 30	160.64±59.80**	0.73±0.25**

Perilla oil was fed for 4 weeks.

Each value is the mean±S.D. of 18~20 mice.

Significant difference from control group.

(*p<0.05, **p<0.01)

Table 6. Effects of perilla oil diet on thymus weight of mice.

Group	Thymus wt. (mg)	$\frac{\text{Thymus wt.}}{\text{Body wt.}} \times 100(\%)$
Control	44.14±14.47	0.21±0.05
Perilla oil 10	53.75±17.23	0.21±0.08
Perilla oil 20	51.63±19.79	0.20±0.05
Perilla oil 30	49.25±15.81	0.18±0.05

Perilla oil was fed for 4 weeks.

Each value is the mean±S.D. of 18~20 mice.

Significant difference from control group.

0.20±0.05% 및 0.18±0.05%로서 약간의 增減이 있었으나 有意性있는 變化는 볼 수 없었다.

3. 體液性 免疫反應에 미치는 影響

1) 赤血球 凝集素價 및 赤血球 溶血素價

적혈구 凝集素價 및 赤血球 溶血素價는 Table 7에서 보는 바와 같다. 赤血球 凝集素價(HA titer)는 體液性 抗體의 消長을 나타내는 指標로서 正常對照群이 5.63±2.34인데 比하여 perilla oil 10, 20 및 30을 投與한 群은 各各 4.88±0.78, 3.89±0.88 및 2.

Table 7. Effects of perilla oil diet on antibody production in mice.

Group	HA titer (log ₂)	HY titer (log ₂)
Control	5.63±2.34	4.13±0.60
Perilla oil 10	4.88±0.78	3.22±0.79**
Perilla oil 20	3.89±0.88**	3.70±1.01
Perilla oil 30	2.50±0.65**	2.40±0.66**

Mice were challenged with 10⁸ S-RBC/ml 4 days after sensitization.

On the 5th day, the HA titer and HY titer were assayed.

Each value is the mean±S.D. (log₂) of 18~20 mice.

Significant difference from control group.

(*p<0.05, **p<0.01)

50±0.65로서 減少를 보였으며, 특히 perilla oil 20 및 30을 投與한 群에서는 有意性있는 抑制效果를 보였다.

赤血球 溶血素價(HY titer)는 血清속에 생기는 赤血球를 溶解하는 成分을 나타내는 指標로서 正常 對照群이 4.13±0.60인데 比하여 perilla oil 10, 20 및 30을 投與한 群은 3.22±0.79, 3.70±1.01 및 2.40±0.66로서 減少를 보였으며 특히 perilla oil 10 및 30을 投與한 群에서는 有意性있는 抑制效果를 보였다.

2) Arthus反應

Arthus反應은 感作 宿主의 惹起 部位로 移住해 온 多型核 白血球가 抗原-抗體 複合體와 補體 等の 大分子들의 貧食으로 遊離되는 lysosomal enzyme

Table 8. Effects of perilla oil diet on the Arthus reaction in mice.

Groups	Arthus reaction
Control	17.05±5.68
Perilla oil 10	14.90±4.27
Perilla oil 20	14.39±2.69
Perilla oil 30	12.80±1.35*

Foot pad swelling was measured after intradermal. Challenge of 10⁸ S-RBC/ml

Foot pad swelling index = $\frac{\text{swelling of foot pad}}{\text{thickness of foot pad}} \times 100$

At 3 hours FPSI was Arthus reaction.

Each value is the mean±S.D. of 18~20 mice.

Significant difference from control group. (*p<0.05)

에 의한 抗體 媒介型 過敏反應 現象으로 그 結果는 Table 8과 같다. 卽 正常對照群의 足趾腫脹의 두께는 17.05±5.68인데 比하여 perilla oil 10, 20 및 30을 投與한 群은 各各 14.90±4.27, 13.93±2.69 및 12.80±1.35으로서 全群이 抑制效果를 나타냈으며, 特히 perilla oil 30을 投與한 群에 있어서는 有意性 있는 抑制效果를 보였다.

4. 細胞性 免疫에 미치는 影響

1) 遲延型 過敏反應

遲延型 過敏反應은 感作 淋巴球에 依한 lymphokine 等に 依하여 惹起된 過敏反應으로서 그 結果는 Table 9에서 보는 바와 같다. 卽 正常對照群이 10.39±3.43인데 比하여 perilla oil 10, 20 및 30을 投與한 群은 各各 8.26±4.91, 6.38±3.93 및 5.31±3.07으로서 全群이 全般的으로 抑制되었으며, 特히 perilla oil 20 및 30을 投與한 群에서는 有意性있는 抑制效果를 보였다.

Table 9. Effects of perilla oil diet on the delayed type hypersensitivity reaction.

Groups	DTH
Control	10.39±3.43
Perilla oil 10	8.26±4.91
Perilla oil 20	6.38±3.93*
Perilla oil 30	5.31±3.07**

Foot pad swelling was measured after intradermal. Challenge of 10⁸ S-RBC/ml

Foot pad swelling index = $\frac{\text{swelling of foot pad}}{\text{thickness of foot pad}} \times 100$

At 24 hours FPSI was DTH.

Each value is the mean±S.D of 10~20 mice.

Significant difference from control group.

(*p<0.05, **p<0.01)

2) 脾臟細胞의 Rosette 形成能

各 群에서 觀察한 RFC를 %로 換算한 結果는 Table 10에서 보는 바와 같다. 卽 正常對照群이 7.61±2.53%인데 比하여 perilla oil 10, 20 및 30을 投與한 群은 各各 7.60±3.52%, 5.18±1.30% 및 4.37±0.71%으로서 抑制效果를 보였으며, 特히 perilla oil 20 및 30을 投與한 群에 있어서는 顯著한 抑

制效果를 보였다.

Table 10. Effects of perilla oil diet on Rosette forming cell in mice.

Groups	RFC(%)
Control	7.61±2.53
Perilla oil 10	7.60±3.52
Perilla oil 20	5.18±1.30*
Perilla oil 30	4.37±0.71**

Mice were challenged with 1×10^8 S-RBC/ml 4 days after sensitization.

On the 5th RFC were assayed.

$$\text{RFC}(\%) = \frac{\text{No. on Rosete forming cell}}{\text{Total cell counted} \times \% \text{ Viability}} \times 100$$

Each value is the mean±S.D. of 18~20 mice.

Significant difference from control group.

(*p<0.05, **p<0.01)

5. 大食細胞의 活性에 미치는 影響

大食細胞의 活性은 抗原에 의한 免疫能의 發顯 및 Interleukine의 指標로서 그 結果는 Table 11과 같다. 卽 正常對照群의 phagocytic index는 5.59 ± 0.97 인데 비하여 perilla oil 10, 20 및 30을 投與한 群은 各各 6.08 ± 1.75 , 4.2 ± 0.93 및 4.56 ± 0.36 으로서 全群이 減少를 보였으며, 특히 perilla oil 30을 投與한 群에 있어서는 有意性 있는 減少를 보였다.

Table 11. Effects of perilla oil diet on phagocyte activity in mice.

Groups	Phagocytic index
Control	5.59±0.97
Perilla oil 10	6.08±1.75
Perilla oil 20	4.82±0.93
Perilla oil 30	4.56±0.36**

Phagocyte activity index is a constant from formula relating the cube root of K to the ratio of body weight to the weight of the liver and spleen.

Each value is the mean±S.D. of 18~20 mice.

Significant difference from control group.

(**p<0.01)

考 察

最近에 와서 生體防禦機能에 관한 關心이 增加되

면서 脂肪酸이 免疫에 미치는 影響에 대하여 많은 研究가 되어있다. Offner 等은 linolenic acid 等の 不飽和脂肪酸은 prostaglandin E₁ (P.G.E₁) 및 P. G. E₂의 合成을 增加시키며, 增加된 P. G. E₁, P. G. E₂에 依하여 淋巴球의 免疫反應이 抑制된다고 하였으며⁴⁴⁾, Weymann 等은 in vitro에서 淋巴球의 幼化反應이 脂肪酸의 量보다는 飽和, 不飽和脂肪酸의 比率에 依해서 지배되며, 不飽和脂肪酸이 飽和脂肪酸보다 抑制作用이 强하나 飽和脂肪酸의 混合에 依해서 抑制를 減少시킬 수 있다고 報告되어 있는 바⁴⁵⁾, 이러한 影響은 人體의 防禦機能의 수식에 起因할 것으로 思料되어 食餌 perilla oil의 投與量에 따른 免疫反應에 미치는 影響을 調査하였다.

本 實驗에서 實驗動物의 體重의 變化는 perilla oil을 投與한 群에서는 正常對照群에 比하여 體重의 增加가 觀察되었으며, 肝臟의 重量 變化가 有意性 있게 減少되었음은 perilla oil의 毒性에 의한 肝毒性의 效果에 起因하는 것으로 思料된다.

胸腺의 重量變化는 正常對照群에 比하여 perilla oil을 投與한 全群에서 增加하는 傾向은 있었으나 有意性있는 차이는 볼 수 없었으며, 重要한 免疫臟器인 脾臟의 重量變化는 Simonsen에 依하여 免疫反應의 程度를 測定하는 方法으로 認定되고 있는 바⁴⁶⁾, 本 實驗에서는 正常對照群에 比하여 perilla oil을 投與한 群에서 顯著한 減少를 보인 것은 免疫機能에 影響을 미칠 것으로 思料되었다.

食餌들기름과 體液性 免疫反應인 赤血球 凝集素價 및 溶血素價는 感作抗原에 대한 特異抗體와 抗原과의 直接 또는 間接的인 反應으로 凝集 및 溶血을 일으키는 現象으로서 血中 免疫抗體의 消長을 測定하는데 널리 利用되고 있으며⁴⁷⁾, 本 實驗結果 赤血球 凝集素價 및 溶血素價는 正常對照群에 比하여 perilla oil의 投與量이 많을수록 抑制되는 傾向을 보였다. 이는 perilla oil의 投與量이 많을수록 perilla oil이 supressor T cell의 作用을 더욱 充進시켜 體液性 免疫 抗體의 減少에 起因한 것으로 思料된다.

한편, Arthus 反應은 感作宿主에 注射된 抗原이 抗原-抗體 免疫複合體를 形成하여 組織에 沈着하

고 補體를 活性化시키며 抗原에 의해 刺戟된 mast cell로부터 遊離된 histamine 및 leukotriene은 多型核 白血球로부터 lysosomal enzyme을 遊離하여 炎症反應을 促進시키는 現象으로 正常對照群에 比하여 perilla oil을 投與한 全群에서 減少를 볼 수 있었으며, 特히 perilla oil의 投與量이 많을수록 顯著하였다.

食餌들기름과 細胞性 免疫反應인 遲延型 過敏反應은 感作淋巴球에 의한 lymphokines의 遊離에 의해서 成立되며, 特히 大食細胞가 깊이 関여하는 것으로 알려져 있다. 本 實驗에서 遲延型 過敏反應은 正常對照群에 比하여 perilla oil의 投與量이 많을수록 顯著한 減少를 보인 것은 perilla oil이 강한 毒性이 있음을 나타내며, 이는 Mertine 等の 報告로 미루어²⁷⁾ perilla oil에 의하여 增加된 cyclic AMP의 作用에 의한 것으로 思料된다.

脾臟細胞의 Rosette 形成細胞數는 Back 等에 의하면⁴⁸⁾ T cell 및 大食細胞가 모두 Rosette를 形成할 수 있으나 正常 mouse의 脾臟細胞의 S-RBC와 Rosette 形成은 약 66%가 T-cell이고 나머지 34%가 B-cell이었다는 것으로 미루어 脾臟細胞의 Rosette는 T-cell이 더 깊이 関여한다고 볼 수 있다. 이러한 觀點에서 正常對照群에 比해서 perilla oil의 投與量이 많을수록 脾臟細胞의 rosette 形成細胞數가 減少하였는데, 이는 Wybran 等の 報告內容으로 보아⁴⁹⁾ perilla oil이 helper T-cell의 機能을 選擇적으로 抑制하였거나 suppressor T-cell의 機能을 亢進시킨 것으로 思料된다.

非特異的 免疫反應인 大食細胞의 活性은 macrophage 機能의 parameter로서 抗原에 대한 免疫能의 發顯 및 Interleukine의 分泌에 重要한 役割을 하며, 그 貧食能은 網狀組織內皮系에 影響을 끼치는가를 測定하는 重要한 群에서는 用量에 대하여 反比例하였으며, 이는 Kollmorgen 等の 報告로 미루어²⁸⁾ 大食細胞 活性의 低下는 高食餌들기름의 脂質이 毒性에 影響을 받은 것으로 思料된다.

結 論

Mouse에 있어서 食餌들기름 投與量이 免疫反應에 미치는 影響은 다음과 같다.

1. 食餌들기름은 體重을 顯著하게 增加시켰으나 肝臟과 脾臟의 重量變化는 有意性있게 減少시켰다.
2. 食餌들기름은 體液性 免疫反應을 低下시켰다.
3. 食餌들기름은 細胞性 免疫反應을 低下시켰다.
4. 食餌들기름은 大食細胞의 活性能을 低下시켰다.

以下の 結果에서 高食餌들기름은 低食餌들기름보다 體液性 및 細胞性 免疫과 大食細胞의 活性能을 더욱 低下시켰다.

REFERENCES

1. 陸昌洙 : 韓國藥品植物資源圖鑑, 進明出版社, 347 (1981)
2. Mo, Sumi.: Fatty acid compositions of varying seed oils of Korean Origin. *Korean J. Nutr.*, 8, 19 (1975)
3. Lee, Y.C., Kwak, T.K. and Lee, K.Y.: Relationship between vitamin E and polyunsaturated fat-18 comparative animal study emphasizing perilla seed oil as a fat constituent. *Korean J. Nutr.*, 9, 19 (1976)
4. 尾崎, 農化 : 油脂化學協會誌, 2, 10, 845 (1926); 3, 977, 1201 (1927); 8, 1286 (1932)
5. Matsuo, N.: Studies on the toxicity of fish oil. *J. Biochem.*, 41, 481 (1954)
6. Matsuo, N.: Studies on the toxicity of fish oil. *J. Biochem.*, 41, 647(1954)
7. Terpsta, A.H.M., van Tintelen, G. & West. C.E.; The hypocholesterolemic effect of dietary soy protein in rats. *J. Nutr.*, 112, 810 (1981)
8. Hevia, P. & Visek, W.J.: Dietary protein and plasma cholesterol in chickens. *J. Nutr.*, 109, 32 (1979)
9. Century. B.: Effect of Dietary Lipid on various

- liver enzymes and on in vivo removal of 3, 5-dimethoxyphenylethylamine, 3, 4-dihydroxyphenylamine and 5-hydroxytryptophan in rats. *J. Nutr.*, **102**, 1067 (1972)
10. Century, B., L.A. Witting, C.C. Harvey and M. K. Horwitt: Dietary alterations of fatty acids of erythrocytes and mitochondria of brain and liver. *J. Lipid Res.*, **2**, 412 (1961)
 11. 左藤文代, 水沼俊美, 岸野泰雄, 奥田拓道: 營養と食量, **30**, 313 (1977)
 12. K.S. Kanata and K. Shii: Bulletin of the Japanese society of scientific Fishers (1953)
 13. Wade, A.B., Wu, B., and Caster, W.O.: Relationship of dietary essential fatty Acid consumption to hepatic drug hydroxylation. *Pharmacol.*, **7**, 305 (1972)
 14. 林鍾弼: 圓光大學校 大學院 學位論文集, 2輯, 145 (1979)
 15. Carroll, K.K. Khor., H.: *Lipids*, **6**, 415 (1971)
 16. Hopkins, G.J., and West C.E.: *Life Sci.*, **19**, 1103 (1979)
 17. Mertin, J. & Hunt, R.: Influence of polyunsaturated fatty acids on survival of skin allografts and tumor incidence in mice. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **73**, 928 (1976)
 18. Gammal, E.B., Carroll, K.K. & Plunkett, E.R.: Effects of dietary fat on mammary carcinogenesis by 7, 12-dimethylbenz 0 (α)-anthracene in rats. *Canc. Res.*, **27**, 1737 (1976)
 19. Hopkins, G.J. & West. C.E.: Effect of dietary polysaturated fat on growth of a transplantable adenocarcinoma in C₃ HA FB mice. *J. Nat. Cancer Inst.*, **58**, 753 (1973)
 20. Hopkins, G.J., Hard, G. C. & West, C.E.: *J. Nat. Canc. Inst.*, **60**, 849 (1978)
 21. Berenblum, I.: In progress in experimental tumor research (F. Homburger Ed.), Vol. II Karger, Basel 21 (1969)
 22. M. Sugai, L.A. Witting, Tsuchiyama, and F.A. Kummerow.: The effects of heated fat on the carcinogenic activity of 2-acetylaminofurene. *Cancer Research*, **22**, 510 (1962)
 23. Hughes. D., Caspary E.A., Wisniewski, H.M.: Immunosuppression by linoleic acid. *Lancet*, **2**, 501 (1975)
 24. Mchugh. M.I., Wilkinson, R., Elliott, R.W., Field, E.J., etc: Immunosuppression with polyunsaturated fatty acids in renal transplantation. *Transplantation*, **24**(4), 203 (1975)
 25. Mertin, J., Mead, C.J., Hunt, R. & Sheena, J.: Importance of the spleen for the immunoinhibitory action of Linoleic acid in mice. *Int. Arch. Appl. Immun.*, **53**, 569 (1977)
 26. Meade, C.J. & Mertin, J.: The mechanism of immuno inhibitic by arachidonic acid and linoleic acid: Effects on the lymphoid and reticuloendothelial system. *Int. Arch. Immun.*, **51**, 2 (1976)
 27. Mertin, T. Hughes, D.: Specific inhibitory action of polyunsaturated fatty acids in lymphocyte transformation by PHA and PPD. *Int. Atchs. Allgray Appl. Immun.*, **48**, 203 (1977)
 28. Kollmorgen, G.M.: Inhibition of lymphocyte function in rats fed highfat dies. *Cancer Reasurch*, **39**, 3458 (1979)
 29. Ibrahim, A.B., Gardner, J., Smith, A.D., Thompson, R.H.S.: Linoleic acid as a immunosuppressive agent. *Lancet*, **2**, 33 (1975)
 30. 吉田. 農化: 油脂化學協會誌, **13**, 120 (1937)
 31. 大石誠子: 過酸化地質投與と ビタミンの関係, *Vitamins (Japan)*, **53**, 12, 563 (1979).
 32. James. W. DeWille, Pamela, J. Farker and Dale R. Romsos: Effects of essential fatty acid deficiency, and various levels of dietary polyunsaturated fatty acids on hmoral immunity in mice. *J. Nutr.*, **109**, 1018 (1978)
 33. 朴榮吉: 圓光大學校 大學院 學位論集 (1987)
 34. Hans Kaunitz C.A., Slanetz, R.E.: *J. Amer. oil Chemist. Sco.*, **38**, 301 (1961)
 35. Minocher. C. Reporter and Robert. S. Harris: *The Journal of the American oil chemist's Sco.*, **38**, 47 (1961)

36. Takuji Tanka, H. Mori, M. Fuji, M. Takahashi and Iwao Hirono: Carcinogenicity examination of betal quid II. Effect of vitamin A deficiency on rats fed semipurified diet containing betal nut and calcium hydroxide. *Nutri. and Cancer*, **4**, 1260 (1983)
37. Rogers, Q.R., Harper, A.E.: Amino acid diets and maximal growth in the rats. *J. Nutr.*, **87**, 267 (1965)
38. Reed, N.D., Crowle, P.K, and Ha, T.: Use of mast cell deficient mice to study host parasite relationships in immuno—deficient animals, B, ssorted ed. Kargen Baselip, 1984 (1984)
39. Ha, T.Y. and Rhee, H.K.: Effect of inosiplex on cellular and humoral immune response. *J. Kor Soc, Microbiol.*, **1**, 57 (1981)
40. Sugimoto, Kojima, A.M., Yuginuma, K, and Gashira, Y.E.: Cell mediated and humoral immunity in mice. *J. Med. Sci. Biol.*, **28**, 23 (1975)
41. Garvey, J.S., Cremer, M.E., Sussclorf, D.H.: Methods in immunology, 3rd, 449 (1980)
42. Elliott, B.E., J.S. Haskill: Characteristics of thymus-derived bone-marrow-derived Rosette forming lymphocytes. *Eur. J. Immunol.*, **3**, 68 (1973)
43. Biozzi, G., Benacerraf, B., Stiffel, C., and Halpern, B.N.: Etude quantitative du lactivite granuloplexique du system reticuloendothelial chezla souris. *C.R. Soc. Biol. Paris*, **148**, 431 (1954)
44. Offner, H. Clausen, T.: Inhibition of lymphocyte response to stimulants induced by unsaturated fatty acids and prostaglanhdins. *Lancet*, **17**, 400 (1974)
45. Weyman, G. Belin, J, Smith, A.D., Thompson, R.H.S.: Linoleic acid as a immunosuppressive agent. *Lancet*, **2**, 33 (1975)
46. Simonsen, M.: Graft versus host reaction. Their natural history and applicability as tools of research. *Prog. Allergy*, **6**, 349 (1961)
47. Kim, J.H: Immunobiological studies in mice treated' with chemical carcinogen 3-methyl cholanthrene. Dept. of vet. Med. Jeonbuk Natnl. Univ. Graduated School (1983)
48. Back, J.F. and Dardenne, M.: Antigen recognition by T lymphocytes. *Cell Immunol.*, **3**, 1 (1972)
49. Wybran, J., Garr, M.C., and Fudenberg, H.H: The human Rosette forming cell as a marker of population of thymus derived cells. *J Clin. Invest.*, **51**, 2537 (1972)