

## 에타놀투여가 마우스의 면역반응에 미치는 영향에 관한 실험적 연구

김 금 재\*

### I. 서 론

#### 1. 연구의 필요성

알콜과소비와 알콜중독은 중요한 공중보건문제가 오랫동안 되어 왔으며 현재도 알콜은 여러가지 사연으로 가장 흔히 사용되고 남용되고 있고 더욱 근래에 와서는 청소년의 알콜음주도 증가 일로에 있으며 사회문제화 되고 있다.

알콜은 정신활동성 물질이며, 알콜을 남용하면 알콜성간염, 알콜성 간경변증, 암, 심내막염 및 미생물감염 등 질병발생 빈도가 높다고 알려져 있다(MacGregor, 1986 ; Grossman등, 1988). 최근에는 알콜 다량 섭취로 인한 간장질환의 증가와, 미생물감염에 대한 감수성의 증가는 알콜에 의한 면역계(immune system) 변화 때문에 초래된다고 보고 되고 있으며(Jerrells등, 1986 ; Watson등, 1985 ; Watson, 1988 ; MacGregor등, 1986), 또한 알콜이 면역반응에 관여하는 림프구의 mitogen에 대한 blast transformation, 백혈구의 유주(migration) 그리고 체액성 및 세포성 면역반응을 억제(Jerrells등, 1986 ; Kaplan, 1986 ; Vingan등, 1986)하고, HLA Class I의 항원표현(Antigen expression)을 증가시켜(Parent등, 1987) 간질환의 발생기전에 기여한다고 보고 되고 있다. 최근 Ewald등(1987 및 1988)은

알콜이 면역반응을 억제할 뿐만 아니라 기형발생원(teratogen)으로도 작용함을 보고 하고 있다. 더욱 알콜과 관련하여 심각한 의학적 및 간호학적 및 사회적문제는, Ewald등(1988 및 1989) Johnson등(1981) 및 Dow-Edwards등(1989)이 기술했던 것처럼, 태아기에 알콜에 빈번히 폭로될 경우나, 태아의 어머니가 알콜중독환자(maternal alcoholism)일 경우, B세포와 T세포 결핍이 있고, 자궁내 성장지연, 체중감소, 뇌신경 이상, 심장결손 및 정신박약 그리고 <그림 1>에서 보는 바와같이 두개안면이상(Craniofacial anomalies), 뇌소소증(microcephaly)등을 특징으로 하는 태아성알콜증(fetal alcohol syndrome, FAS) 아이를 분만 한다는 것이다. FAS의 발생빈도는 대단히 심각하며 전 세계적으로 출생아 1,000명당 약 2명의 비교적 높은 발생빈도이며(Dow-Edwards등, 1989), 특히 FAS 어린이의 평균지능지수는 65-82밖에 되지 않아, 이들에 대한 특별한 간호가 필요하며 정신박약증이 없어도 학습결핍(learning deficiencies)과 인식(cognition) 및 언어장애가 있어 의학적인 견지에서 뿐만 아니라 이들에 대한 특별한 간호가 필요하며 태아기의 알콜폭로는 서구에서는 정신박약의 중요한 원인이 되고 있다(Miller등, 1988).

그러나 알콜이 B및 T세포중개성 면역 반응에 관한 연구보고는 드물다. 그리고 알콜을 과량 섭취하면 숙주방어 능력이 감소되어 결핵균, 폐렴균, Bacteroides fra-

\*전북대학교 의과대학 간호학과

gilis 및 Listeria 등에 대한 감수성이 증가한다는 보고 (Adams 등, 1984)는 있지만 *Cryptococcus neoformans*에 관한 연구는 하등(1990)의 보고 이외에는 찾아 볼 수 없었다.

*Cryptococcus neoformans*는 다당질 협막을 특징으로 하는 효모양 진균으로 기도를 통해 사람에게 전파되어 Cryptococcosis를 일으키며(Eng 등, 1986 ; 1990a) 면역기능 결핍환자 특히 AIDS 환자나 악성종양환자, 또는 Steroid를 비롯한 각종 면역억제요법을 받는 경우 *C. neoformans*에 의한 기회감염(opportunistic infection)이 잘 일어난다. (Kovac 등, 1985) 따라서 알콜투여가 *C. neoformans*에 대한 마우스의 감수성에 미치는 영향과, 알콜투여가 체액성 및 세포성 면역반응에 미치는 영향에 관한 연구가 필요하리라 사료되고, 앞서 기술한 바와 같이 모체의 알콜 중독으로 인한 여러가지 현상과, 성인에서의 알콜성간장질환에 대해서는 이미 산전건강관리 및 영양관리에 대한 간호관리를 지역사회 임산부관리나, 모자보건, 성인간호에서 교육하고 있다. 그러나 알콜중독이 모체의 면역반응이나, FAS, 알콜성간장질환의 성인에서의 면역반응에는 여하이 영향을 미치고 있는가에 대해서는 회소함을 확인하고 그에 대한 면역반응을 연구하여 산전간호관리 및 FAS, 알콜성간장질환에 대한 간호교육에 일조가 되고자 일차적인 기초연구(Basic Research)로서 본 연구를 시도하였다.

## 2. 연구의 목적

본 실험에서는 마우스에 여러농도의 에타놀(ethanol)을 투여한 후 마우스를 흉선 의존성항원(thymus-dependent antigen)과 흉선비의존성항원(thymus-independent antigen)으로 면역하여 Arthus반응, 지연성 과민반응(DTH), 접촉성 과민반응(Contact hypersensitivity) 및 항체 반응을 측정하여 알콜이 이들 면역반응에 미치는 영향을 구명하고, 나아가서 마우스를 *C. neoformans*로 감염시키고, 간장, 비장, 신장 및 뇌로부터 감염균을 검출하여 에타놀 투여가 *C. neoformans* 감염에 대한 마우스의 감수성에 미치는 영향을 밝히고자 한다.

## 3. 용어의 정의

체액성면역반응(humoral immune response) : 항원

에 대한 혈청항체반응이며, 흉선의존성항원에 대해서는 T세포의 협조를 받아, 항원의 자극에 의해서 B세포가 형질세포(plasma cell)로 분화되어 항체를 생산한다. 흉선비의존성 항원에 대해서는 T세포의 협조작용 없이도 B세포에 의해서 항체를 생산한다.

세포성면역반응(Cellular immune response) : 주로 T세포가 관여하기 때문에 T세포 중개성 면역반응이라고도 한다. 이 반응은 지연성과민반응 또는 접촉성과민반응으로 측정한다.

흉선의존성항원 : T세포의 보조작용 없이는 B세포에 의한 항체생산을 유도할 수 없는 항원이다.

흉선비의존성항원 : T세포의 협조작용 없이도 B세포에 작용하며 항체생산을 야기시킬 수 있는 항원이다.

Arthus 반응 : 항원으로 면역된 동물의 피내에 면역할 때 사용한 특이 항원을 주사하였을 때 항원이 항체와 결합하여 면역복합체가 만들어져 보체계를 활성화 하여 면역복합체 주변에 부종, 발적이 발생하고, 혈류장애 때문에 괴사를 일으킨 때도 있다. 이 반응을 Arthus반응이라고 하며 이는 즉시형과민반응보다는 늦게 일어나고 세포매개성반응보다는 빠르게 일어난다.

## 4. 연구의 제한점

- 1) 실험동물을 마우스만을 사용하였고
- 2) 알콜중독 환자나 알콜남용자를 실험대상으로 실험하지 않았다는 점을 들 수 있겠다.

## 5. 문헌고찰

이호영등(1989)이 강화지역에서 조사한바에 의하면, 알콜의존이 10.29%, 알콜남용이 25.64%로서 주정 사용장애 전체로서는 26.77%를 보여 전체검사대상 4명중 1명 이상이 이환되어 있어 각종 정신질환 중 가장 높은 유병율을 나타내었다. 이정균등(1985)은 우리나라 사람을 대상으로 전국규모로 역학조사를 하고 알콜성 장애로 인한 유병율이 22.4%로 매우 높았다고 보고 하고, 이러한 높은 알콜중독의 유병율에도 불구하고 가장 사회에서 무시되고 있는 매우 심각한 공중보건문제라고 지적하고 있다.

Berenyi등(1974) 및 Snyder등(1978)은 만성 알콜중독환자에서 Streptokinase-Streptodornase, Thychophyton, Candida albicans항원, 이하선염바이러스

항원 및 dinitrochlorobenzene 등에 대한 피부반응이 감소됨을 관찰 하였다. Lundy 등(1975)은 대주가(heavy drinker)에서는 T세포기능이 시험관내에서는 억제되어 있었으나 dinitrofluorobenzene(DNFB)와 투버크린에 대한 피부반응은 정상인의 그것들과 비슷하였다고 보고하였다.

Johnson 등(1981)은 FAS 환자에 있어서는 E-rose-tte, EAC-rose-tte 반응의 감소, Phytohemagglutinin (PHA), Pokeweed mitogen(PWM) 및 Concanavalin A(Con A) 등의 mitogen에 대한 blast transformation의 감소 그리고 세균 감염의 증가가 관찰 되었지만 Candida albicans와 파상풍균의 toxoid에 대한 피부반응은 정상대조와 비슷하였다고 보고 하였다. Dehne 등(1987) 및 Mendenhall 등(1989)은 Sprague-Dawley rat에 5일간 매일 에타놀을 투여하면 PHA에 대한 피부반응이 현저히 감소되었다고 보고 하였다. 하 등(1990b)은 면역적혈구(SRBC)로 마우스를 면역하기전 5일간 여러농도의 에타놀을 복강주사하면 SRBC에 대한 Art-hus반응 및 DTH가 대조에 비하여 억제되고 그 SRBC에 대한 혈구응집소반응도 억제됨을 보고 하였으나 흉선비의존성항원에 대한 항체반응 그리고 DNFB에 대한

접촉성과민반응에 관해서는 실험하지 않았으며 알콜투여경로도 복강을 통하여 비교적 단기간(5일간)이었다. Stolen 등(1985)은 물고기에 알콜을 소량 투여하면 대장균에 대한 항체반응이 현저하게 억제되었다고 보고 하였다.

알콜과 미생물감염과의 관계에 대한 연구보고를 살펴 보면 알콜과 *C. neoformans*에 관한 연구보고는 하 등(1990b)의 보고밖에 찾아 볼 수 없었으나, Adams 등(1984), Grossman 등(1988)은 알콜투여가 결핵균, 폐렴구균, 대장균, Klebsiella Pneumonia, Bacteroides fragilis, Listeria monocytogenes, Hemophilus influenza 그리고 여러가지 바이러스 등에 대한 감염의 빈도를 증가 시킨다고 보고 하였고, Watson 등(1988)은 알콜은 식균작용(Phagocytosis) 및 세균의 세포내살해(intra-cellular killing)를 억제하며 뿐만 아니라 알콜이 면역반응을 억제하며 알콜과 소비자 및 남용자에 있어서 암(Cancer)의 발생을 증가시킨다고 보고 하였다. MacGregor 등(1986)은 급성알콜중독은 폐와 망상내피계(RES)로부터의 세균제거(bacterial Clearance)를 억제한다고 보고한 바 있다.

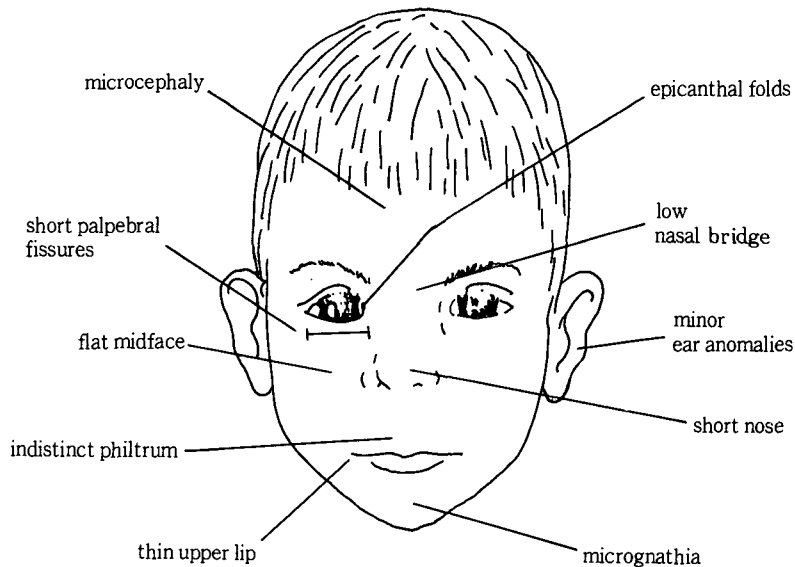


Figure 1. Facial abnormalities in fetal alcohol syndrome.(From Dr. Diana L. Dow-Edwards, Res. Resources Reporter, August 1987)

## II. 연구가설

본 연구목적은 성공적으로 달성하기 위하여 다음과 같은 가설을 설정하였다.

제1가설 : 마우스에 에타놀을 투여하면 대조군에 비해서 흉선의존성항원인 SRBC 및 흉선비의존성항원인 PVP에 대한 항체반응이 억제될 것이다.

제2가설 : 알콜이 SRBC 및 PVP에 대한 항체반응을 억제한다면 혈청항체가 주로 관여하는 Arthus 반응도 억제할 것이다.

제3가설 : 알콜이 T세포반응을 억제한다면 DTH 반응으로 측정된 세포중개성 면역반응을 억제할 것이며, 만일 이런 결과가 초래된다면 DNFB에 대한 접촉성과민반응도 주로 T세포가 관여하기 때문에 이 반응도 같은 Pattern으로 억제될 것이다.

제4가설 : *C. neoformans*는 세포내재성진균(intracellular organism)이기 때문에 보호면역에 세포성면역반응이 주로 관여하므로, 만일에 알콜이 세포성면역반응을 분명히 억제한다면, 알콜투여군의 마우스에서 검출된 진균수는 대조에 비해 유의하게 많을 것이다. 다시 말하면 알콜투여는 *C. neoformans* 감염에 대한 마우스의 감수성을 유의하게 증가시킬 것이다.

## III. 연구방법

### 1. 실험재료 및 방법

1) 실험동물 : 생후 8-10주된 ICR 마우스를 암수구별 없이 사용하였으며 실험군 및 대조군은 동성(sex-matched)의 동물을 사용하였다. 모든 실험동물은 외견상 건강하였으며, 이들 동물은 수도물과, Pellet 사료(삼양유지사료주식회사, 서울)를 공급하고 Polycarbonate Cage에 5마리씩 넣어 사육하였다. 이때 가능한한 스트레스를 받지 않도록 주의하여 조용한 분위기에서 사육하였다.

2) 약제 : 알콜은 에타놀(Ethanol, E. Merck, Darmstadt, Germany)을 사용하였다. 에타놀은 Hanks' balanced salt solution(HBSS) 또는 멸균생리식염수에 실험목적에 따라 필요한 농도로 희석하여 사용하였다. 에타놀은 마우스복강 또는 구강을 통하여 투여하였는데, 복강투여시는 20%, 10% 또는 5%에타놀 수용액 0.5ml를 매일 15일간 투여 하였으며, 구강투여시는

에타놀을 수도물에 10%농도가 되도록 희석하여 feeding tube를 통하여 50일간 유일한 물 공급원으로 투여하였다. 대조동물에는 멸균생리식염수 또는 수도물만을 각각 공급하였다.

3) 항원 : 흉선의존성항원으로는 면양적혈구(SRB-C)를 흉선비의존성항원으로는 Polyvinylpyrrolidone(PVP, PVPK<sub>90</sub>, 분자량 360Kd; GAF Corporation, N. Y.)을 사용하였다. 접촉성과민반응(Contact hypersensitivity) 분석을 위해서는 2,4-dinitro-1-fluorobenzene(DNFB, Sigma Chemical Company, St. Louis, Mo)을 사용하였다.

4) 에타놀이 마우스의 생존에 미치는 영향 : 여러가지 농도의 에타놀 즉 20%, 10% 및 5%의 에타놀수용액 각 0.5ml를 마우스 복강에 1회 주사하여 마우스의 생사를 매일 15일까지 관찰하였다. 대조군에는 멸균식염수 0.5ml를 복강주사 하였다. 실험에 사용한 마우스의 수는 각 마우스군당 10 또는 20마리였다.

5) SRBC에 대한 Arthus 및 DTH반응 검사 : 김(1989)이 기술한바와 같이 실시하였다. 즉 DTH반응은 SRBC에 대한 족척종창반응(footpad swelling reaction)으로 측정하였는데 그 측정은 하등(1989) 및 김(1989)이 기술한 방법을 다소 수정하여 실시 하였다. 간기하면 실험목적에 따라  $1 \times 10^7$  세포가 포함된 0.03ml SRBC 부유액으로 후지좌측족척(Left hind footpad)에 피하주사하여 면역하고, 면역후 4일에 20%SRBC 부유액 0.03ml를 마우스의 후지우측족척피하에 야기 조치한 다음 Mitutoyo engineer's micrometer를 사용하여 야기초치 직전( $T_0$ ), 3시간( $T_3$ ), 24시간( $T_{24}$ ) 및 48시간( $T_{48}$ ) 후에 족척종창 정도를 측정하였으며, 그 종창증가의 정도는 다음 공식에 따라 %증가로 표시하였다.

$$\text{Increase} = \{(T_3, T_{24} \text{ or } T_{48} - T_0) / T_0\} \times 100$$

6) SRBC에 대한 적혈구응집소 : SRBC로 면역한 후 7일에 안와후정맥등으로부터 파스퇴르피펫을 이용하여 채혈하고, 혈청을 분리하여 김(1989)이 기술한 방법에 준하여 적혈구응집소가를 측정하였다. 간기하면 총항체가를 측정하기 위해서는 microtitration tray(Limbro chemical Co, Inc, New Haven, CT)의 각 혈에 56°C에서 30분간 비동화시킨 혈청에 동량의 0.5%

SRBC부유액을 혼합하여 37℃에서 1시간 방치후 응집을 일으킨 혈청의 최고 희석도를 항체가로 판독하였다.

7) PVP면역 및 항체가 분석 : 하등(1984 & 1985) 및 김(1989)이 기술한 방법에 따라 PVP K<sub>90</sub> 0.25 $\mu$ g을 마우스에 정맥주사여 면역하였다. PVP에 대한 항체가는 김(1989)이 기술한 방법에 따라 수동적혈구 응집반응으로 측정하였다. PVP에 대한 SRBC감작은 5% SRBC부유액 40ml와 PBS에 0.1mg/ml농도로 용해한 tannic acid(Malinckrodt Chemical Works, St. Louis, MO) 용액 40ml를 혼합하여 15분간 약 25℃에 방치한 후 처리된 SRBC를 PBS로 3회 원심세척하여 5%SRBC부유액을 만들고, 이 부유액과 PBS에 용해한 0.1mg/ml농도의 PVP K<sub>30</sub>(분자량 40Kd. K & K Laboratories, plainview, N.Y.)용액동량을 혼합하여 실온에 15분간 방치하였다. 이렇게 준비한 PVP감작 SRBC(PVP-SRBC)PBS로 3회 원심세척하여 0.4% gelatin 함유 PBS(PBS-gelatin)에 0.25% PVP-SRBC부유액을 만들었다. 그후 V형 microtitration tray(Limbrochemical Co., Inc., New Haven, CT.)의 제1혈(Well)에 56℃ 30분간 비동화시킨 0.025ml의 혈청을 적하하고 PBS-gelatin 0.025ml로 제11혈까지 2배계열 희석하고 각 희석혈청에 동량의 0.25%PVP-SRBC부유액 0.025ml를 적하하여 실온에 4-18시간방치후 응집을 일으킨 혈청의 최고 희석도를 PVP항체가로 정하였다. 제12혈에는 PVP-SRBC만 적하하여 대조로 하였다.

8) 접촉성 과민반응 : 접촉성 과민반응의 유발을 위한 감작원으로 DNFB를 사용하여 하등(1989)이 기술한 방법에 따라 DNFB에 대한 접촉성 과민반응을 실험하였다. 간기하면 4 : 1, 아세톤 : 올리브유(V/V)에 용해한 0.5% DNFB용액 25 $\mu$ l씩을 실험제 1일과 2일에 마우스 복부피부에 도말하여 감작하고, 실험 제5일에 0.2%DNFB용액 10 $\mu$ l씩 귀(耳) 내외면에 각각 도말하여 야기조치하였다. 귀중창 증가의 정도는 Mitutoyo engineer's micrometer를 사용하여 야기조치 직전(T<sub>0</sub>), 4(T<sub>4</sub>), 24(T<sub>24</sub>), 48(T<sub>48</sub>), 및 72(T<sub>72</sub>) 시간후에 귀의 두께를 측정하여 중창증가의 정도를 다음의 공식에 의하여 계산하였다.

$$\text{Increase} = \{(T_4, T_{24}, T_{48} \text{ or } T_{72} - T_0) / T_0\} \times 100$$

9) 공시균주 및 배양 : 미국 Oklahoma대학교 의과대학 미생물학교실의 J. W. Murphy교수로부터 분양받은 *Cryptococcus neoformans* 184(혈청형 A)주를 공시하였다. 이 균주는 하등(1990a)이 실시 하였던 것처럼 Sabouraud dextrose agar slant(Difco Laboratories, Detroit, Mich)에 계대배양하면서, 실험에 사용하였으며 실험하기 수일전에 Sabouraud dextrose broth에 접종배양하여 사용하였다.

10) 실험적으로 감염시킨 에타놀투여 마우스의 여러 장기로부터의 *C. neoformans*검출 : 각 장기 즉 간장, 비장, 신장 및 뇌로부터의 진균검출은 하등(1985), Ha등(1985) 및 박등(1989) 등이 기술한 방법을 다소 수정하여 다음과 같이 실시 하였다. 간기하면, Sabouraud dextrose agar배지에 계대배양하면서 보관중인 *C. neoformans*를 Sabouraud dextrose broth에 2회 계대배양하여 멸균생리식염수로 3회 원심세척한 다음  $2 \times 10^4$ CFU를 마우스에 정맥주사하여 감염시켰다. 에타놀투여 마우스도 10%에타놀 수용액을 50일간 매일 식수에 섞어 투여하였고 감염후 9일에 각 장기를 마우스로부터 무균적으로 적출하여 멸균된 유발에 넣고 마쇄하여 Sabouraud dextrose broth로 적절히 희석한 다음 Sabouraud dextrose agar 평판배지에 접종하여 35℃에 약 48시간 배양후 나타난 집락수를 계산하였다.

11) 자료의 통계처리 : 각 실험군마다 5마리 이상의 마우스를 사용하여 실험하였으며 이렇게 얻은 수치의 평균치와 표준오차(S.D.)를 구하고 Student-t분석을 하여 p치가 0.05이하일때 통계학적으로 유의하다고 평가하였고, p치가 0.05이상일 때는 통계학적으로 무의하다고 판정하였다.

#### IV. 실험성적

1) 에타놀투여가 마우스의 생존에 미치는 영향 : 20%, 10% 또는 5%농도의 에타놀을 마우스에 투여하여 마우스의 생존율을 15일간 관찰하였던바 <표 1>에서 보는 바와같이 에타놀투여군 및 생리적 식염수가 투여된 대조군 모두 생존하였다.

**Table 1. Effect of various concentrations of ethanol on survival of mice**

Group	Ethanol concentration administered <sup>a)</sup>	No. survived /No tested <sup>b)</sup>
I	20%	20 / 20
II	10%	20 / 20
III	5%	10 / 10
IV	Saline (Control)	10 / 10

a) A single intraperitoneal injection of 0.5ml of indicated concentration of ethanol.

b) Mice were observed until 15 days after ethanol injection.

2) 에타놀투여가 마우스의 SRBC에 대한 Arthus 및 DTH반응에 미치는 영향 : 마우스에 20%, 10% 또는 5%에타놀을 5일간 매일 복강주사한 후 SRBC로 야기 주사하여 Arthus반응과 DTH반응을 평가하였던바 <표

2>에서 보는 바와같이 대조마우스군의 반응에 비하여 20% 또는 10%에타놀 투여마우스군의 Arthus 및 DTH 반응은 유의하게 감소되었으나 5%에타놀 투여마우스군의 반응은 대조의 반응과 비슷하였다.

**Table 2. Effect of administration of various concentrations of ethanol on Arthus and delayed-typed hypersensitivity reactions(DTH) to sheep red blood cells(SRBC) in mice**

Group	Ethanol conc injected <sup>a)</sup>	% Increase in footpad thickness <sup>b)</sup> (Mean+SD)		
		Arthus(3h)	DTH(24h)	DTH(48h)
I	20%	22.1+2.4*	22.2+2.3*	10.0+2.1*
II	10%	23.6+3.2	24.1+2.2*	16.5+3.1*
III	5%	32.9+2.7	29.9+4.2	19.7+3.4
IV	Saline (Control)	33.7+3.2	38.1+3.2	21.5+3.5

a) Mice were given daily i.p. with 0.5ml of indicated concentration of ethanol or sterile saline alone for 5 consecutive days before SRBC immunization. The footpad was quantified with micrometer before challenge and again at 3h, 24h and 48h after challenge.

b) % Increase was calculated using formula : % Increase=(T24 or T48-To /To) × 100, where To is thickness before challenge, T3, T24 and T48 are thickness of 3h, 24h and 48h, respectively, after challenge. Each figure represents mean value of 5 mice+SD.

\* p<0.05 as compared with control.

3) 에타놀투여가 마우스의 DNFB에 대한 접촉성과민 반응에 미치는 영향 : 마우스를 20%, 10%, 또는 5% 에타놀수용액 0.5ml를 5일간 매일주사한후 DNFB에 대한 접촉성과민반응을 측정하였다. 그 결과 <표 3>에서 보는 바와같이 20%에타놀을 투여하였을 때의 4시간, 24

시간, 48시간 및 72시간, 접촉성과민반응은 대조마우스의 그것들에 비하여 유의하게 감소됨을 관찰하였다. 그러나 10%에타놀을 투여하였을 때는 4시간 접촉성과민 반응만이 대조에 비하여 억제되었으며 5%에타놀투여시는 접촉성과민반응에 유의한영향을 미치지못하였

**Table 3. Effect of administration of various concentrations of ethanol on contact hypersensitivity reactions(CS) to dinitrofluorobenzene(DNFB) in mice**

Group	Ethanol conc injected <sup>a)</sup>	% Increase in ear thickness (Mean+SD)			
		4h	24h	48h	72h
I	20%	14.2+2.7*	31.0+2.8*	43.4+4.7	47.8+3.3*
II	10%	12.9+2.5*	39.2+2.7	43.3+3.5	64.3+3.6
III	5%	26.9+3.5	38.5+4.2	56.2+3.7	65.2+4.7
IV	Saline (Control)	27.2+4.2	42.1+3.5	44.6+4.7	64.3+7.4

a) Mice were given daily i.p. as in footnote<sup>a)</sup> of Table 2.

b) % Increase in ear thickness was calculated using formula as in footnote<sup>b)</sup> of Table 2.

\* p<0.05 as compared with control.

4) 에타놀투여가 SRBC에 대한 혈구응집항체형성에 미치는 영향 : 마우스를 SRBC로 면역조치하기전 5일간 매일 20%, 10% 또는 5%에타놀수용액 0.5ml를 복강 주사한 후 SRBC에 대한 혈구응집항체를 측정하였던바 <표 4>에서 보는 바와같이 20% 에타놀투여마우스군의

항체반응은 식염수만을 투여한 대조군에 비하여 유의하게 감소되었고, 10%에타놀투여마우스군의 항체가는 다소 억제 되었으며 5%에타놀투여 마우스군의 항체반응은 대조의 항체반응과 비슷 하였다

Table 4. Effect of administration of various concentrations of ethanol on hemagglutinin(HA) formation to sheep red blood cells(SRBC) in mice.

Group	Ethanol conc injected <sup>a)</sup>	HA titers(Log <sub>2</sub> ) <sup>b)</sup>
I	20%	4.0+0.5*
II	10%	5.0+0.8
III	5%	5.6+0.6
IV	Saline (Control)	5.6+0.6

a) Mice were given daily i.p. as in footnote <sup>a)</sup> of Table 2.

b) All mice were immunized i.p. with 0.5ml of 0.2% SRBC suspension and were assayed for HA titers at 7 days after immunization. Each figure represents mean+SD of individual serum from 5 mice.

\* p<0.05 as compared with control.

5) 에타놀투여가 PVP에 대한 항체반응에 미치는 영향 : 마우스에 10%에타놀수용액을 유일한 음료원으로 50일간 계속투여한 후 흉선비의존성항원으로 면역조치한 다음 1주일, 2주일 및 3주일후에 PVP에 대한 항체가 각 각 측정하였다. 그 결과 <표 5>에서 보는 바와같이 PVP면역조치 1주일후의 PVP에 대한 항체반응은 물만을 투여한 대조군에 비하여 유의하게 억제되어 있음을 관찰하였고, PVP면역조치 2주일후의 PVP에 대한 항체 반응은 알콜투여군에 있어 다소 감소되어 있었으며 3주일후의 PVP에 대한 항체반응은 실험군과 대조군이 비슷하였다.

6) 에타놀투여가 마우스의 C. neoformans에 대한 저항에 미치는 영향 : 마우스에 10%에타놀을 50일간 구강투여하고 C. neoformans를 감염시킨다음 9일후에 마우스의 간장, 비장, 신장 및 뇌를 적출하여 각 장기당 CFU를 측정하여 마우스의 진균에 대한 저항을 평가하였다. 대조군은 에타놀을 투여하지 않고 수도물만 공급한 마우스를 사용하여 균검출을 실시하였다. 그 결과 <표 6>에서 보는 바와같이 에타놀투여군의 각 장기로부터의 균검출수는 에타놀을 투여하지 않았던 대조군의 균수에 비하여 모두 약10배 유의하게 많았다.

Table 5. Effect of ethanol feeding on antibody response to polyvinylpyrrolidone(PVP) in mice

Group	Anti-PVP titers(Log <sub>2</sub> )		
	1 wk	2 wk	3 wk
Ethanol - fed mice <sup>a)</sup> (50 days)	0 <sup>c</sup>	6.2+0.9	6.3+0.6
Water - fed mice <sup>b)</sup> (Control)	0.75+0.5	7.0	6.0+0.8

a) Mice were fed 10%(V/V) ethanol as the only source of drinking water in feeding tubes for periods of 50 days. Laboratory pellet show was fed *ad lib*.

b) Laboratory pellet chow as fed *ad lib* with drinking water.

\* p<0.05 as compared with control.

Table 6. Effect of ethanol administration on recovery of *Cryptococcus neoformans* in mice

Organs	CFU (Log <sub>10</sub> ) <sup>a)</sup>	
	Water - fed control <sup>b)</sup>	Ethanol - fed(50 days) <sup>c)</sup>
Liver	4.6±0.2	5.5±0.3*
Spleen	3.2±0.1	4.2±0.2*
Kidney	2.0±0.3	3.1±0.5*
Brain	4.4±0.3	5.5±0.4*

a) All mice were infected i. v. with  $2 \times 10^4$  organisms on day 0 and the number of *C. neoformans* was determined by colony forming units(CFU) at 9 days postinfection. Each figure represents the mean  $\times$  SD from 3 mice.

b) Laboratory pellet chow was fed *ad lib* with drinking water.

c) Mice were fed 10%(v/v) for 50 days as in footnote<sup>a)</sup> of Table 5.

\*  $p < 0.01$  as compared with corresponding control.

## V. 고 찰

본 실험에서 에타놀 투여는 SRBC에 대한 Arthus반응과 DTH반응, 그리고 DNFB에 대한 접촉성과민반응을 억제함을 알 수 있었는데, 알콜투여가 SRBC에 대한 세포성면역반응을 억제시켰다는 하등(1990)의 보고와 일치하였으며, DNFB에 대한 접촉성과민반응에 대한 연구보고는 찾아 볼 수 없어 비교할 수 없었으나 Johnson등(1981)은 FAS어린이에 있어서 E-rosette 및 EAC-rosette형성반응감소와 여러가지 mitogen 즉 phytohemagglutinin, Concana Valin A 및 Pokeweed 등에 대한 림프구의 증식반응 등이 감소됨을 관찰하였지만, *Candida albicans*와 파상풍균의 toxoid에 대한 피부반응은 정상어린이와 비슷하였다고 보고 하였으며 Lundy등(1975)은 술을 많이 마시는 사람에 있어서는 시험관내에서의 T림프구기능이 감소되었으나 DNFB와 tuberculin에 대한 피부반응은 정상대조와 큰 차이가 없었다고 보고 하였다. 그러나 Berenyi등(1974) 및 Snyder등(1978)은 만성알콜중독자에서 streptokinase-streptodornase항원, 이하선염바이러스항원, trychophyton, *C. albicans* 그리고 dinitrochlorobenzene 등에 대한 피부반응이 감소되었다고 보고 하였다. 뿐만 아니라 Thompson등(1986) 및 Dehne등(1987)은 알콜 투여 sprague-Dawley rat에서의 Phytohemagglutinin에 대한 피부반응이 현저히 억제 되었다고 보고 하였으며 최근 Mendenhall등(1989)도 이와 비슷한 실험결과를 보고 하였다.

에타놀이 체액성 면역반응에 미치는 영향을 알아보고자 흉선의존성항원인 SRBC와 흉선비의존성항원인 PVP를 항원으로 사용하여 T세포와 B세포의 기능을 본 실험에서 검사하였던바 에타놀 투여는 SRBC에 대

한 항체반응은 비교적 현저히, 그리고 PVP에 대한 항체반응은 항원면역후 초기에 다소 감소 되었다. 이와같은 저자의 실험결과는 에타놀을 SRBC로 면역전 또는 면역후 투여하면 SRBC에 대한 항체형성이 억제되었다는 Jerrells등(1986)의 보고와 일치 하였으며 알콜과 관련된 PVP에 대한 항체반응에 관한 실험보고는 찾아 볼 수 없어 비교 고찰할 수 없었었지만 소량의 알콜을 Summer flounder란 가자미에 투여하면 대장균(*E. coli*)에 대한 항체반응이 억제되었음을 관찰한 Stolen등(1985)의 보고와 비슷하였다. 그러나 Wands등(1981)은 알콜성간경변증 및 알콜성간염환자에 있어서 빈번히 IgG, IgM 및 IgA항체의 증가를 관찰하였는데 이는 아마도 급성 및 만성염증 때문에 간장에서 많은 항원이 유리되어 B세포를 지나치게 자극하여 항체를 생산하기 때문일것이라고 보고 하였다. Watson등(1985 및 1988)은 알콜성간경변증 및 알콜성간염환자에 있어서 IgG, IgM 및 IgA항체의 증가는, B세포증식에 미치는 Suppressor cell의 조절기능의 감소때문일것이라고 보고 하였다.

Adams등(1984) 및 Grossman등(1988)은 알콜소모가 결핵균, 폐렴구균, 대장균, *Klebsiella pneumoniae*, *Hemophilus influenzae*, *Bacteroides fragilis*, *Listeria monocytogenes* 그리고 바이러스등 미생물의 감염빈도를 증가시킨다고 보고 하였고 Watson등(1988)은 알콜이 식균작용 및 세포내살해(intracellular killing)를 억제한다고 보고 하였으며 MacGregor(1986)는 급성 알콜중독은 폐와 망상내피계로 부터의 세균제거(Clearance)를 억제한다고 보고 하였다. 그러나 세포내 재성진균이며, 최근 AIDS가 전세계적으로 심각한 보건 문제로 대두되고 또 AIDS 환자에서 빈번히 기회감염의 원인이 된다고 해서 *C. neoformans*에 관한 관심이 점점



증가되고 있고 또한 *C. neoformans* 감염과 알콜투여에 관한 실험 보고는 하등(1990)의 보고 밖에 찾아볼 수 없어 이에 관하여 알아 보고자 알콜을 음료수에 포함시켜 (10%) 장기간 (50일간) 투여한후 *C. neoformans*를 감염시키고 각 장기로부터 감염진균을 배양하였던바 20% 알콜 0.5ml를 진균감염시킨후 7, 14 또는 21일간 복강주사하면 *C. neoformans*검출이 증가되었다는 하등(1990)의 보고처럼 에타놀투여 마우스의 각장기로부터의 진균검출이 대조에 비하여 유의하게(약10배) 많았다. 알콜투여에 의한 *C. neoformans*에 대한 마우스의 저항의 감소기전은 본 실험만으로 확실히 알 수 없으나 Adams등(1984)은 혈청살균작용감소, 면역항체의 생산이상, 보체합성감소, 항원처리장애, T세포기능감소, 다형핵백혈구동원(recruitment)과 화학주성(chemotaxis) 장애가 복합적으로 관여한다고 기술한 바, 있다.

## VI. 결 론

저자는 일차적인 기초 연구로서 알콜이 면역반응에 미치는 영향을 알아보고자 마우스에 여러농도의 에타놀을 투여하여 마우스의 생존율, 면양적혈구(SRBC)에 대한 Arthus 및 지연성 과민반응(DTH), 그리고 SRBC와 Polyvinylpyrrolidone(PVP)에 대한 항체형성반응에 미치는 영향에 관하여 실험하였으며, 아울러 에타놀투여가 dinitrofluorobenzene(DNFB)에 대한 마우스의 접촉성과민반응과 진균인 *Cryptococcus neoformans*에 대한 저항에 미치는 영향에 관하여 실험하였다. 20%, 10% 및 5% 에타놀투여는 관찰기간동안(15일 또는 50일간) 마우스의 생존율에는 영향을 미치지 않았다. 그러나 에타놀투여는 대체적으로 SRBC에 대한 Arthus 및 DTH반응, DNFB에 대한 접촉성과민반응, 그리고 PVP와 SRBC에 대한 항체반응을 억제하였으며, *C. neoformans*에 대한 마우스 저항을 감소시켰다. 이상의 결과 에타놀 투여는 본 실험조건하에서는 체액성 및 세포성 면역반응을 분명히 억제함을 알 수 있었다.

이로써 알콜이 일반적으로 체내의 저항력(면역기능)을 떨어뜨리는 물론, AIDS환자의 기회감염에 잘 이환될 수 있는 조건의 또 하나의 요인이 된다고 볼때 알콜이 AIDS와 관련됨에 대한 국민보건 및 간호교육에 일조가 될 수 있으리라 사료되며, 이와같은 기초연구를 통해 알콜성모체 및 FAS 성인알콜성간장질환자에 대한 간호관리 및 교육에 있어서의 기초지식(basic knowledge)을 제공할 수 있으리라 본다.

## 참고문헌

- 김금재, 소음스트레스가 면역반응에 미치는 영향에 관한 실험적 연구, 간호학회지, 1989, 19(2), 135-146.
- 박영민, 김보완, 하대유, Cyclosporin A가 *Cryptococcus neoformans*의 시험관내 및 생체내 증식에 미치는 억제작용, 대한미생물학회지, 1989, 24(3), 299-309.
- 이정균, 광영숙, 이 회, 김용식, 한진희, 최진욱, 이영호, 한국정신장애의 역학적 조사연구-도시 및 시골지역의 평생유병율, 대한의학협회지, 1985, 28(12), 1223-1244.
- 이호영, 남궁기, 민성길, 김수영, 송동호, 이은설, Roberts, R., 강화도 정신과 역학연구(Ⅲ)-주요 정신질환의 평생유병율, 신경정신의학, 1989, 28(6), 984-999.
- 하대유, 김용관, 한경임, 청각 스트레스가 면역반응에 미치는 영향, 대한 면역학회지, 1986, 7(1), 11-25.
- 하대유, 박영민, 전상남, 이정호, 이현구, 김정수, 알콜이 면역반응에 미치는 영향, 대한미생물학회지, 1990, 25(3), 265-281.
- 하대유, 박영민, 최기철, 박종욱, 이현구, *Cryptococcus neoformans* 감염에 있어서의 세포성 면역반응 조절 II *Cryptococcus neoformans*에 대한 세포성면역반응의 특성, 대한면역학회지, 1990, 12(1), 65-74.
- 하대유, 박영민, 최태훈, 이정호, Naloxone에 의한 면역반응 변조, 대한 면역학회지, 1989, 11(2), 129-145.
- 하대유, 임선영, 서영호, Cyclosporin A가 세균, 진균 및 기생충감염에 대한 마우스의 저항에 미치는 영향, 대한면역학회지, 1985, 7(1), 27-41.
- Adams, H. G., and Jordan, C. Infections in the alcoholic, Med. Clin North. Am., 1984, 68, 179-200.
- Berenyi, M.R., Straus, B., and Cruz, D. In Vitro and in vivo studies of cellular immunity in alcoholic cirrhosis, AM. J. Dig. Dis., 1974, 19, 199-205.
- Dow-Edwards, D.I., Trachtman, H., Riley, E.P., Frid, L.A., and Milhorat, T.H., Arginine Vasopressin and body fluid homeostasis in the fetal alcohol exposed rat, Alcohol, 1989, 6, 193-198.

- Dehne, N., Mendenhall, C., Grossman, C., Roselle, G., and Ghosn, S. The effect of acute ethanol consumption on in vivo cellular immune function, *Fedn. Proc. Fedn. Am. socs. exp. Biol.*, 1987, 46, Abstract, 2313.
- Eng, R.H.K., Blshburg, E., semith, S.M., and Kaplla, R. Cryptococcal infections in patients with acquired immune deficiency syndrome, *Am. J. Med.*, 1986, 81, 19–24.
- Ewald, S. and Frost, W.W. Effect of prenatal exposure to ethanol on development of the thymus, *Thymus*, 1987, 9, 211–215.
- Grossman, C.J., Mendenhall, C.L. and Roselle, G.A. Alcohol and immune regulation. I. In vivo effect of ethanol on Concanavalin A Sensitive thymic lymphocyte function, *Int. J. Immunopharmac.*, 1988, 10, 187–195.
- Ha, T.Y., Im, S.Y. and Suh, Y.H. Effect of cyclosporin A on the resistance of mice to candida albicans, salmonella typhimurium, *J. Leukocyte biology*, 1985, 30, 182.
- Johnson, S., Knight, R., Marmer, D.J. and Steele, R.W. Immune deficiency in fetal alcohol syndrome, *Pediatr. Res.*, 1981, 15, 908–911.
- Jerrells, T.R., Marietta, C.A., Eckardt, M.J., Majchrowicz, E. and weight, F.F. Effect of ethanol administration on parameters of immuno competency in rats, *J. Leukocyte Biol.*, 1986, 39, 499–510.
- Kaplan, D.R., A novel mechanism of immunosuppression mediated by ethanol, *cell. Immunol.*, 1986, 102, 1–9.
- Kovac, J.A., Kovace, A.A., Dolis, M. et al., Cryptococcosis in the immunodeficiency syndrome, *Ann. Intern. Med.*, 1985, 103, 533–539.
- Lundy, J., Raof, J.H., Deakins, S., Wanebo, H.J., Jacobs, D.A., Lee, T.D., Jacobowilz, D., Spear, C. and Oetgen, H.F. The acute and chronic effects of alcohol on the human immune system, *Surg. Gynec. Obstet.*, 1975, 141, 212–218.
- MacGregor, R.R. alcohol and immune defense, *JAMA*, 1986, 256, 1474–1479.
- Mendenhall, C.L., Grossman, C.J., Roselle, G.A., Ghosn, S.J., Coyt, T.Y., Thompson, S. and Dehne, N.E. Phytohemagglutinin skin test response to evaluate in vivo cellular immune function in rats, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1989, 190, 117–120.
- Miller, M.W. and Dow–Edwards, D.L., Structural and metabolic alterations in rat cerebral cortex induced by Prenatal exposure to ethanol, *Brain Reserch*, 1988, 474, 316–326.
- Parent, L.J., Ehrlich, R., Matis, L. and Singer, D.S. Ethanol : A enhancer of major histocompatibility complex antigen expression, *FASEB J*, 1987, 1, 469–473.
- Roselle, G.A. and Mendenhall, C.L. Ethanol–induced alterations in lymphocyte function in guinea pig alcoholism, *Clin. Exp. Res.*, 1984, 8, 62–67.
- Snyder, N., Bessoff, J., Dwyer, J.M. et al. Depressed delayed cutaneous hypersensitivity in alcoholic hepatitis, *Am. J. Dig. Dis.*, 1978, 23, 353–357.
- Stolen, J. S., Draxleo, S. and Nagle, J.J. Alcohol–induce suppression of humoral immune response, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1985, 34, 106–209.
- Thompson, S., Coyt, T., Mendenhall, C.L., Rouster, S., Roselle, G., Grossman, C. and Ghosn, S. An in vivo rat model for the study of immune status : its application to chronic alcoholism, *Gastroenterology*, 1986, 90, Abstract 1799.
- Vingan, R.D., Dow–Edwards, D.L. and Riley, E.P., Cerebral metabolic alteration in rats following prenatal alcohol Exposure : A deoxyglucose study. Alcoholism : *Clinical Exp. Res.*, 1986, 10, 22–26.
- Watson, R.R., Jackson, J.C., Hartman, B., Sampliner, R., Mobley, D. and Eskelson, C., Cellular immune functions, endorphins, and alcohol consumption in males, *Alcoholism : Clin. Exp. Res.*, 1985, 9, 248–252.
- Watson, R.R., Ethanol, immunomodulation and cancer, *Prog. Food nutr. Sci.*, 1988, 12, 189–194.
- Wands, J.R., Dienstag, J.L., Weake, J.R. and Koff,

R.S., In vivo studies of enhanced IgG synthesis in severe alcoholic liver disease, *Clin, Exp. Immunol.*, 1981, 44, 396-399.

- Abstract -

### The Effect of Ethanol Administration on The Immune Response of Mice

Kim, Keum Jae\*

The present study was undertaken in an effort to investigate the effects of alcohol on survival of mice and on their humoral and cellular immune responses. The immune responses examined were Arthus and delayed-type hypersensitivity(DTH) reactions to

sheep red blood cells(SRBC), contact hypersensitivity to dinitrofluorobenzene(DNFB), antibody response to thymus-dependent SRBC and to thymus-independent polyvinylpyrrolidone(PVP), and the recovery of *Cryptococcus neoformans* from the liver, spleen, kidney and brain of experimentally infected mice. The administration of ethanol concentrations of 20% or less did not cause any change in survival rates as compared with saline injected control group. In general, ethanol administration inhibited the Arthus and DTH reactions to SRBC, contact hypersensitivity to DNFB, and antibody response to both SRBC and PVP and it also decreased the resistance of mice to *C. neoformans* infection. Taken together, the present study strongly suggested that ethanol inhibits immune response and decreases the resistance of mice to *C. neoformans* infections.

---

\*Department of Nursing, Chonbuk National University Medical School, Chonju, Chonbuk 560-182, Korea