

알코올중독자의 백혈구탐식능, 림프구아형 및 증식능

인제대학교 임상병리학과, 부산백병원 임상병리과*, 인제대학교 신경정신과학연구소**

김용호† · 서병배* · 이정녀* · 김영훈**

국문초록: 알코올 중독자의 폐렴관리와 같은 건강관리에 필요한 비특이 면역력, 면역기능을 측정하기 위하여 알코올 중독 의존형으로 입원한 신,구환자군에 대하여 다음과 같은 결과를 얻었다. 대조군에 대한 알코올 중독증은 MCV, 혈당, γ GTP를 이용한 생물학적 측정 결과에 의하여 확인 하였으며, 기타 측정 항목은 대조군과 유사한 결과를 나타내었다. 림프구 아형 분석 결과 대조군은 한국인 참고치와 매우 유사하였으며, 실험군 CD4+를 제외한 CD3+, CD8+, CD19+이 감소되었고, CD4+/CD8+ 비율은 통계적으로 유의하게 증가되어 있음을 알 수 있었다. 따라서 실험군의 면역기능과 림프구 증식능은 대조군에 비하여 현저하게 저하되었으며, 탐식세포 탐식능 및 유주능도 대조군에 비하여 현저하게 감소되었다. 탐식세포의 유주능과 CD4+의 증가, CD4+/CD8+ 비율의 증가와 PHA에 의한 림프구 증식능의 감소 및 CD3+, CD19+ 감소등은 상호관련성을 가지고 일치된 결과를 보여 대조군에 비하여 현저하게 저하된 탐식세포의 탐식기능과 함께 알코올 중독자의 비특이 면역계, 면역기능이 현저하게 저하되어 있음을 알 수 있었다. 그러나 알코올 중독 의존형으로 입원한 신,구환자간의 비교 분석 결과 총단백질, 혈색소, 림프구 증식능, 탐식세포 탐식능, 유주능에서 신환자군에 비하여 구환자군이 대조군에 다소 근접되어가는 결과로부터 치료에 따라 숙주의 세포성, 체액성 면역기능이 회복되어가고 있음을 알 수 있었다. 또한 결과 알코올중독자의 비특이적 면역능의 측정을 위한 탐식세포 탐식능, 유주능은 숙주, 미생물측의 활성화 자극인자가 모두 포함된 phagocytic plaque film법에 의하여 측정함이 의의 있는 평가를 할 수 있을 것으로 보며, CD4+/CD8+ 림프구 아형 비율을 이용한 면역기능의 측정은 알코올 중독자의 건강 관리를 위한 면역력 측정에 유용한 방법이라고 생각된다.

서 론

알코올은 섭취된후 10% 미만은 대사과정을 거치지 않고 땀, 소변, 호흡작용을 통하여 배출되고, 나머지는 간에서 alcohol dehydrogenase나 산화계에 의하여 분해되어 배출된다. 그러나 장기적이고 심한 알코올 섭취는 생체내 축적이 증가되어 알코올이나 대사 부산물인 acetaldehyde, 수소 등이 직접적으로 건강에 영향을 미칠 뿐만 아니라 영양 불량, 면역력 저하 등을 초래할 수 있다⁹⁾. Kolb의 연구에 의하면 알코올 중독자는

비알코올 중독자에 비하여 폐렴에 걸릴 확률이 2배나 높다고 한다⁹⁾. 미생물 침입에 대한 초기 생체 저항은 주로 비특이적 방어작용에 의하고, 비특이적인 생체 방어계는 이물질의 탐식 제거 기능에 의하여 좌우된다⁹⁾. 따라서, 알코올 중독자의 폐렴과 같은 감염증에 대한 감수성의 평가는 탐식세포에 의한 이물질 탐식작용, 식균작용이 중요한 지표가 될 수 있으나 지금까지 보고된 연구 결과에 의하면 알코올 중독자의 탐식세포에 대한 탐식능력은 정상, 변화 없음, 기능 저하와 같이 서로 다른 결과를 보이고 있다^{12,17,19)}. 또한, Kim 등¹⁾에 의하여 여러가지 질환의 면역기능을 평가하는데 유용성이 있다고 보고된 림프구 아형 분석을 이용한 알코올 중독자의 면역기능을 측정하여 보고된 바가 없다.

본 연구는 알코올 중독자의 백혈구의 탐식 및

*논문접수 1996년 10월 4일, 재접수 1996년 11월 30일
*본 논문은 재단법인 인제연구장학재단의 연구비 보조에 의한 것임.
†별책요청저자

유주능에 대한 평가와 림프구 표면 항원에 대한 monoclonal antibody를 이용한 면역기능 및 림프구 증식능을 측정하여 비특이 면역력 및 면역기능을 평가하고자 한다.

대상 및 방법

1. 대상

실험군: 부산, 경남 지역에 소재하고 있는 2개 종합병원에 입원한 알코올 중독자 중에서 환자 병력, 이화학적 검사 결과를 참조로 하여 신경정신과 전문의사가 알코올 중독 의존형으로 진단한 98명의 알코올 중독으로 입원중인 환자.

실험자군: 알코올 중독 의존형으로 처음 입원한 후 1주일 이 경과되지 않은 자.

구환자군: 알코올 중독 의존형으로 입원하여 치료를 받은 후 2주일 이상 경과된 자.

대조군: 헌혈자 판정에 필요한 이화학적 검사와 의사의 진찰에 의하여 공혈 적격자로 판정 받은 건강한 헌혈자 35명.

2. 방법

1) 혈액학적 분석.

EDTA 항응고제를 이용하여 채혈된 정맥혈을 Sysmax-NE 8000(DOA, Japan) 자동혈액분석기와 전용 시약을 이용하여 총 백혈구수, 혈색소량 및 적혈구 평균 용적을 측정하였다.

2) 림프구 아형 분석

유핵세포는 FACScan(Becton Dickinson Co., USA)을 이용하여 이색분석법 Concert 30 computer program에 의하여 분석하였다¹³⁾. EDTA 항응고제로 채혈한 정맥혈을 anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8 및 anti-CD19의 Simultest kit(Becton Dickinson Co., USA)을 이용하여 말초혈액 50 μ l와 20 μ l의 monoclonal 항체를 반응시켜 FACScan의 488nm와 530nm의 필터에서 분석하여 전체 림프구에 대한 아세포의 비율을 백분율로 환산하였다.

3) 림프구 증식능 측정.

Heparin으로 채혈한 정맥혈을 Ficoll-Hypaque (F-H)밀도 경사 용액(Ficoll type 400, 5.7g/dl, sodium diatrizoate 9.8g/dl, Pharmacia, USA)을 이용하여 단핵세포로부터 분리시킨 순수한 림프구를 1×10^6 cells/ml이 되도록 RPMI 1640에 부유시켜 0.4% Trypan blue를 이용하여 세포 생존율을 측정하였다. 세포 부유액을 Phytohemagglutinin

type P(PHA-P) 2 μ g/ml의 농도로 자극시켜 flat bottomed 96-well microculture plate(Corning Co., USA)의 각 well에 180 μ l씩 분주시킨 다음 IL-2 (Cetus, Emeryville, USA)을 20 μ l씩 가하여 37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 배양기에서 72시간 동안 배양시켰다. 세포를 회수하기 16-18시간 전에 methyl[³H] thymidine/ μ ci/10 μ l)을 첨가시켜 cell harvester (Flow Lab., USA)로 회수하여 Liquid scintillation counter(TRI-CARB[®]4000, Packard Lab., USA)에서 count per minute(cpm)으로 측정하였다.

4) 백혈구 탐식 및 유주능 측정

Staphylococcus aureus Cowan I 균주를 Brain heart infusion(BHI, BBL, USA)에 배양하여 1×10^9 CFU/ml로 조정하여 조직 배양용 평판접시에 phagocytic plaque film을 만들었다⁷⁾. 10units의 Heparine에 채혈한 정맥혈액 2.0ml을 준비한 phagocytic plaque film에 가해준 다음, 30분 동안 반응시킨후 미반응 혈액을 제거시켰다. 건조시킨후 phagocytic plaque film을 methanol로 고정시켜 Giemsa 염색을 하여 현미경을 이용하여 관찰하거나 사진을 촬영하여 탐식 면적, 탐식 특성을 측정하였다.

5) 통계적 분석

모든 측정자료는 SPSS를 이용하여 전산 통계 처리 하였으며, 측정값은 means \pm S.D로 나타내었다. 측정군 사이의 관계는 X² 검정을 하였으며, 유의수준 0.05 이하로 검증하였다.

결 과

1. 생화학적 방법을 이용한 대상자의 알코올 중독 판정.

알코올 중독은 생물학적, 심리학적, 기타 다변적인 방법에 의하여 진단하나, 실험군은 신경정신과 전문의사에 의하여 이미 알코올 중독 의존형으로 판정된 예를 대상으로 하였으므로 생물학적 방법으로만 확인하였다. 알코올 중독자의 생물학적 측정방법으로는 혈당, gamma glutamyl transferase(γ -GTP), alanine aminotransferase(ALT), aspartate aminotransferase(AST), 총단백질, 혈청단백질 전기영동, 총 콜레스테롤, triglyceride(TG) 및 적혈구 평균 용적(MCV) 등을 이용하였다⁸⁾. γ -GTP는 대조군 44.7 \pm 24.5U/L, 실험자군에서는 133.5 \pm 60.5U/L, 구환자군에서는 62.7 \pm 30.2U/L이었으며, 혈당은 대조군에서 95.3 \pm 8.6mg/dl, 신

환자군 159.2±23.0mg/dl, 구환자군 104.9±22.4mg/dl 이었다(표1). 그리고 MCV는 대조군 86.3±3.2mg/dl, 신환자군 98.6±8.6mg/dl, 구환자군 98.6±7.0mg/dl로서 이들의 분석 결과는 알코올 중독자를 확인하는데 모두 일치하였으며, 기타 측정 항목은 대조군과 매우 유사했으며 의의가 없었다(표 2).

2. 림프구 아형 측정

생체의 면역기능을 담당하고 있는 중요한 요소 중의 하나인 림프구는 개체 발생, 표면 항원의 기능에 따라 T, B 및 null 세포로 나뉘고, T 세포는 다시 T_{HELPER} 및 T_{SUPPRESSOR} 세포로 나뉜다. 실험군과 대조군의 림프구 아형을 분석한 결과 대조군은 한국인의 참고치로 분석하여 발표한 다른 연구자들의 분석 결과¹⁾와 유사한 CD3+ 69.9±9.2%, CD19+ 16.2±4.1% 이었으며, 신환자군

은 CD3+ 63.9±13.0% 및 CD19+ 10.4±6.0%로서 통계적 유의성은 있었다(P<0.05). 그러나 구환자군은 CD3+ 64.8±8.2%, CD19+ 15.6±6.1%로써 신환자군과 같이 대조군과는 통계적인 유의성이 있었으나(P<0.05) 신환자군과의 통계적 유의성은 없었다.

CD4+는 대조군에 비하여 림프구 아형은 측정 항목 중 유일하게 다소 증가된 결과를 보였으나, 통계적 유의성은 없으며, CD8+ 및 CD4+/CD8+ 비율은 모두 대조군에 비하여 신, 구환자군에서 저하되었다. 그러나 구환자군의 CD4+/CD8+ 비율은 1.4±0.5로써 신환자군의 1.6±0.8에 비하여 다소 낮았으며 대조군의 1.3±0.5에 근접하는 경향을 보여, 면역기능이 회복되어감을 보였다.

3. 림프구 증식능 측정

림프구는 특이 항원에 의한 자극 이외에도 mi-

Table 1. Biochemical analysis of alcoholics and Healthy blood donors

Groups	Items (unit)				
	Glucose(mg/dl)	AST(U/L)	ALT(U/L)	γ-GTP(U/L)	LDH(U/L)
Healthy blood donors	95.3±8.6	24.8±13.0	26.8±17.0	44.7±24.5	287.0±42
Newly hosp.alcoholics	159.2±23.0**	41.7±27.5*	27.1±21.0*	133.4±60.5**	408.9±395*
Old hosp. alcoholics	104.9±22.4	33.4±16.5*	29.9±20.1*	62.7±30.2	386.0±286

AST: Aspartate aminotransferase, ALP: Alanine aminotransferase.
γ-GTP: gamma-Glutamyl transferase, LDH: Lactate dehydrogenase.

*P<0.05 **P<0.01

Table 2. Hematological analysis of alcoholics and healthy blood donors

Group	Items (unit)	
	WBC (×10 ⁹ /L)	MCV(fl)
Healthy blood donors	7.7±1.2	86.3±3.2
Newly hospitalized alcoholics	7.9±5.4	98.6±8.6*
Old hospitalized alcoholics	8.2±2.4	98.6±7.0*

WBC: White Blood Cell, MCV: Mean Corpuscular Volume of Red blood cells.

*P<0.05

Table 3. Comparison of T,B,Th/Ts cells in healthy blood donors and alcoholics

Group	Lymphocyte subtypes (unit :%)				
	CD3+	CD19+	CD4+	CD8+	CD4+/CD8+
Healthy blood donors	69.9±9.2	16.2±4.1	41.9±9.9	35.7±7.8	1.3±0.5
Newly hosp.alcoholics	63.9±13.0*	10.4±6.0*	42.3±9.9	30.9±9.3*	1.6±0.8*
Old hosp. alcoholics	64.8±8.2*	15.6±6.1*	38.2±6.7	30.4±6.6*	1.4±0.5*

CD: Clusters of Differentiation.

*P<0.05

Table 4. In vitro proliferative response to mitogen PHA of T-lymphocytes

Groups	[H ³] Thymidine uptake
	Phytohemagglutinine (unit: cpm)
Healthy blood donor	29.9 ± 14.5
Newly hospitalized alcoholics	19.4 ± 8.5 *
Old hospitalized alcoholics	20.3 ± 15.9*

PHA: Phytohemagglutinine, cpm: count per minute.

*P<0.05

Table 5. A mean phagocytic area and distance of migration of the leukocytes on the bacterial film

Groups	Leukocytes function (unit)	
	Phagocytic area(%)	Distance of migration(mm)
Healthy blood donors	25.1 ± 12.9	4.6 ± 1.1
Newly hospitalized alcoholics	17.0 ± 7.9*	2.3 ± 0.8*
Old hospitalized alcoholics	20.2 ± 9.5	3.2 ± 0.9

*P<0.05

togen과 반응하여 증식하며, 종류에 따라서 T, B 또는 T, B세포 양측에 선택적으로 반응하여 증식할 수 있다.

본 실험에서 림프구와 선택적으로 반응 증식할 수 있는 PHA를 반응시켜 T 림프구 활성화 및 세포성 면역력을 간접적으로 측정된 결과, 대조군 29.9±14.5cpm, 신환자군 19.4±8.5cpm 및 구환자군 20.3±15.9cpm으로 신, 구환자군 사이의 통계적 유의성은 없으나, 대조군과 실험군 사이는 통계적으로 유의하게 감소하였다(P<0.05) (표4).

4. 백혈구 탐식능 측정

각각의 실험군 사이의 대조군의 전혈을 반응시켜 형성된 phagocytic plaque 형성력은 현미경의 저배율에서 서로 다른 부위를 5회 이상 촬영하여 총면적 중의 식균 면적을 측정하여 백분율로 표시하였으며, 각 부위별, 백혈구 수 차이에 대한 허용 오차를 ±10% 이내로 하였다.

현미경의 저배율에서 관찰한 결과에서도 대조군과 실험군 사이의 식균 면적은 현저하게 차이가 있음을 알 수 있었다. 모든 실험군 및 대조군에 대하여 측정값을 통계 처리한 결과, 대조군의 평균 식균 면적은 사진상의 전체 배경 면적을 100%로 할때 25.1±12.9%, 신환자군은 17.0±7.9%, 구환자군은 20.2±9.5%로 신, 구환자 사이의

통계적 유의성은 없으나 (표 5), 대조군과 실험군 사이는 통계적인 유의성이 있었다 (P<0.05). 또한 phagocytic plaque의 형태도 대조군의 탐식세포는 모두 독립적으로 분리되어 전형적인 phagocytic plaque을 형성하고 있는데 비하여 알코올 중독군에서는 여러 특이한 형태의 phagocytic plaque가 전체 실험군 중 71%나 관찰되어 대조군에 비하여 탐식력이 현저하게 저하되었고 알코올 중독에 따른 특이한 형태의 phagocytic plaque도 관찰할 수 있었다(그림 1).

고 찰

알코올은 강력한 면역 억제제로 알려져 있고, 알코올 중독자는 영양 결핍, 면역기능이 저하되어 비알코올 중독자에 비하여 미생물 감염에 대한 감수성이 높다¹⁾. 한편, 미국에서 발표된 통계 자료에 의하면 세계 인구의 7 - 8%가 알코올 중독자라고 하며, 우리나라에서 조사된 통계적 자료는 없으나 체질적으로 술에는 약하지만 자주 마신다고 하여, 조사자의 1/3정도가 소위 "애주가"라고 하였다. 따라서 우리나라도 특유의 여러 음주 형태로 보아 알코올 중독자는 상당수에 이르는 것으로 생각된다²⁾. 알코올 중독자의 건강 관리에 우선적으로 고려되어야 할 사항은 면역

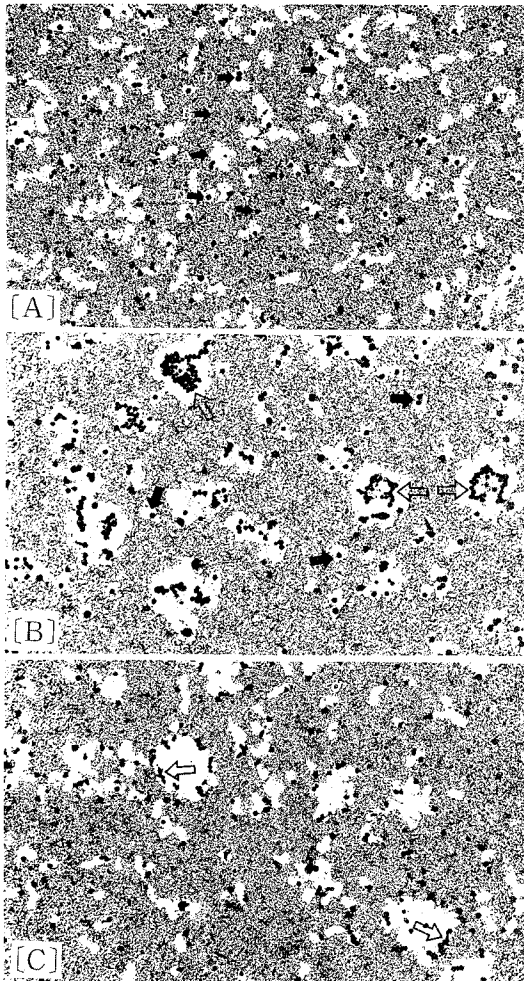


Fig.1. Phagocytic plaques on *staphylococcus aureus* layer formed by leukocytes of the alcoholics and Healthy blood donors. $\times 100$, ASA200.

Figs. 1-(A) Representative picture of Phagocytic plaques by leukocytes from a healthy blood donors.

Figs. 1-(B) Representative picture of Phagocytic plaques by leukocytes from a newly hospitalized alcoholics.

Figs. 1-(C) Representative picture of Phagocytic plaques by leukocytes from a old hospitalized alcoholics.

Cluster or single dark dot-like bodies (A→) were represented a Phagocytic plaques on the heat killed parental *staphylococcus aureus* Cowan I strain layer (B→), also showed non phagocytic leukocytes (C→) and distance of migration by leukocytes (D→). ;→ Represented a unusual Phagocytic plaque bodies (Cluster, Chain and Pair →) Represented a single Phagocytic plaque. [A] showed a large number of elongated and large single Phagocytic plaques compared to [B] and [C] in which showed unusual, small single Phagocytic plaque, means decreased migration and Phagocytosis by leukocytes.

력을 측정 평가하여 폐렴과 같은 미생물에 감염되지 않도록 하는 것이 중요하다.

본 연구에서 대조군에 대한 알코올 중독자의 생물학적 측정법에 의하여 확인한 결과에 의하면 혈당은 대조군에 비하여 치료받지 않은 신환자군에서 1.66배가 증가하여 음주후 간장내 glycogen의 소모로 혈당이 증가된다고한 West와 Todd 등²⁰⁾의 연구 보고와 일치하였으며, γ -GPT, MCV 및 혈당⁷⁾ 측정결과는 알코올 중독 진단에 대한 Salaspuro의 연구 보고와 일치하였다¹⁹⁾. 항원 특이 monoclonal antibody와 유핵세포 분석기 이용한 림프구 아형 분석은 림프구 아형 사이에는 세포표면 항원성이 다른 것을 이용하였다. 여러 세포 표면항원 중 숙주의 면역기능을 평가하기 위한 측정항목의 선택은 Moon 등¹⁰⁾에 의하여 연구 보고된 세포성면역과 관련된 총 림프구를 측정하기 위한 Cluster of Differentiation (CD)3+ immunoglobulin 생성과 체액성면역을 담당하는 총 B-림프구와 관련된 CD19+, 면역반응을 증가시키는 작용과 지연형 반응에 관여하는 CD4+ 및 항상성을 유지 조절하기 위하여 면역반응을 저지, 억제시키는 CD8+ 및 CD4+/CD8+의 비를 측정하였다. 실험군에 대한 측정 결과는 대조군에 비하여 CD3+, CD19+가 현저하게 감소되어 세포성, 체액성 면역기능의 저하가 예상되며, 이는 알코올 중독자의 면역기능이 저하된다고 한 Watson 등²⁰⁾의 연구 보고와 일치한다고 생각된다. 그러나 생화학적 측정에서 총단백질, 알부민의 측정값은 신환자군이 대조군에 비하여 다소 감소하였으며 실험군의 탐식세포 탐식기능은 현저하게 감소되었다. 이러한 결과는 탐식세포 기능을 후천적으로 저하시키는 여러 요인중 알코올 중독과 관련된 영양 결핍에 의한 탐식세포 기능 저하가 초래되는 것으로 생각된다. 그러나 실험관 내에서 알코올을 반응시킨 탐식세포 기능 및 알코올 투여군으로부터 분리시킨 polymorpho nuclear cell의 탐식능 측정이 정상 혹은 영향이 없다고 한 Gluckman 등⁹⁾, Robert 등¹⁴⁾의 연구 결과와는 상반되게 본 실험군인 알코올 중독자에서는 모두 현저한 탐식기능의 저하를 나타내었다. 그러나 Watson 등²⁰⁾의 알코올 중독에 따라 탐식세포 탐식 기능이 저하한다고 한 연구 결과와는 일치하였다. 본 실험에 이용된 Phagocytic plaque 형성법¹⁰⁾은 탐식세포의 탐식기능에 관여하는 숙주, 미생물 측의 여러 활성화 자극인자가

포함된 실험조건에서 측정가능한 방법으로 지금까지 보고된 측정법에 비하여 생체의 탐식기능에 관련된 여러인자의 상호작용을 실험실 내에서 거의 유사하게 반영시킬 수 있는 방법이다. 탐식세포 기능을 측정하는 다른 방법으로 알려진 탐식세포의 유주능도 관찰할 수 있는데, 대조군에 비하여 실험군의 탐식세포 유주능이 현저하게 저하되어 있음을 알 수 있었다. 이는 림프구 아형 측정 결과에서 다른 림프구 아형 측정군은 대조군에 비하여 감소되어 있는데 비하여 CD4+가 다소 증가되었고, CD4+는 탐식세포 유주능을 저지시킬 수 있는 mitogen inhibition factor(MIF)의 기능을 나타내는 사실을 감안하면 탐식세포 유주능 감소와 CD4+ 증가와는 상호관련성이 있다고 볼 수 있다.

이외에도 PHA를 이용한 림프구 증식능 측정에서도 대조군에 비하여 실험군의 림프구 증식능이 현저하게 감소된 결과를 보였다. 또한 CD4+/CD8+ 비율을 이용한 면역기능이 저하된 결과는 Tisman 등¹⁶⁾, Johnson 등⁶⁾의 알코올 중독자 림프구 증식능이 저하되었다고 보고한 연구 결과와도 일치 되었다. 이상의 실험 결과들로 부터 알코올 중독자의 건강관리를 위한 탐식세포 탐식, 유주능과 같은 비특이 생체방어계에 대한 기능 측정은 숙주, 미생물의 탐식 활성화 자극인자가 모두 포함된 실험계인 phagocytic plaque film 법에 의하여 평가하여야 생체내의 상태를 제대로 반영할 수 있다고 생각되며, 면역기능을 측정하기 위하여는 유세포 분석기를 이용하여 림프구 아형중 CD4+/CD8+ 비율의 측정이 면역력을 평가하는데 유용한 방법으로 생각된다. CD4+의 세포와 CD8+세포의 상호작용은 면역반응의 유도과 억제에 주된 역할을 하는 기능집단이며 생체내 면역반응의 중추적인 역할을 하기 때문에 개체의 면역기능을 측정할 수 있는 지표로 이용되고 있다. 따라서 CD4+/CD8+ 세포는 T_{HELPER} / T_{SUPPRESSOR}로 표현되며, 이 비율이 대조군 1.3±0.5%보다 높은 경우 면역 억제 반응이 높은 것으로 볼 수 있기 때문에 신환자군 1.6±0.8%, 구환자군 1.4±0.5%에서 알 수 있듯이 실험군은 모두 면역기능이 억제된 결과를 보였다. 이는 알코올은 면역 억제 기능을 가진다고 한 Kaplan의 연구보고와 일치한다⁹⁾. CD4+/CD8+ 비율이 정상보다 역전되면 기회 감염 위험성이 증가된다는 신호이며, 이러한 현상은 AIDS환자의 CD4+/CD8+ 비

율 측정에서 잘 나타나 있다. 따라서 CD4+/CD8+ 비율의 지속적인 측정은 알코올 중독자의 면역기능을 평가할 수 있는 좋은 지표가 된다고 생각된다. 신환자군에 비하여 구환자군에서 다소 대조군에 근접된 CD4+/CD8+ 비율의 결과로 보아 치료에 따라서 숙주의 면역기능이 회복되어가고 있음을 알 수 있다.

참 고 문 헌

1. Eun Suk Kim, Think You Kim, Tae Yeal Choi, Wha Soon Chung (1991): Determination of human T&B cells and Th/Ts cells tests in various disorders, *KJC*, P, 11: 171-182.
2. Gluckman SJ, Dvorark VC, MacGregor RR (1977): Host defence during prolonged alcohol consumption in a controlled environment. *Arch Intern Med*, 137: 1537-1543.
3. Ho Cheal Cho, Jung Whee Kim, Si Hyung Lee (1975): Drinking patterns of Korean. *J Neuro Psycho*, 14: 1-12.
4. Ivan Roitt, Jonathan Brostoff, David Male (1996): Immunology 4th ed. Mosby, 1.9-1.10.
5. Jerrells TR, Maritta CA, Eckardt MJ (1986): Effect of ethanol administration on parameter of immunocompetency in rats. *J Leukocyte Biol*, 39: 499.
6. Johnson WD, Stokes P, Kaye D (1969): The effect of intravenous ethanol on the bactericidal activity of human serum. *Yale J Biol Med*, 42: 71-85.
7. Jonadan Chick, Norman Kreitman (1981): Mean cell volume and Gamma Glutamyl transpertasid as markers of drinking in working man, *The Lancet* 6: 1249-1251.
8. Kaplan DR (1986): A novel mechanism of immunosuppression mediated by ethanol. *Cell Immunol*, 102: 1.
9. Kolb D, Gunderson EKE (1986): Alcohol-related morbidity among older career Navy men. *Drug alcohol Depend*, 9: 181-189...
10. Koon Sik Moon, Shee Ne Kim, Han Chul Son, Soon Ho Kim, Ki Hong Kim (1993): Reference values of peripheral blood lymphocyte subsets in healthy adults by flow cytometry, *Korean J*

- Clin Patho*, **13**: 483-489.
11. MacGregor RR (1986): Alcohol and immune defence. *JAMA*, **256** (3): 1474-1479.
 12. MacGregor RR, Gluckman SJ, Senior JR (1978): Granulocyte function and levels of immunoglobulins and complement in patients admitted for withdrawal from alcohol. *J infection Dis*, **138**: 747-753.
 13. Parks DR, Hardy RR, Herzenberg LA (1983): Dual immunofluorescence-New frontiers in cell analysis and sorting. *Immunol Today*. **4**, **5**: 145-150
 14. Robert G, Ayton BR, Petere (1970): Effect of alcohol and various disease on leukocyte mobilization, phagocytosis and intracellular bacterial killing. *Eng J med*, **282**(3): 123-129.
 15. Salaspuro M (1970): Conventional and coming laboratory markers of alcoholism and heavy drinking alcoholism. *Alcoholism Clin Exp Res*, **10**: 5s-12s.
 16. Seki K, Murai M, Sakurada J, Shirahige A, Kobayashi N, Hwang SM and Masuda S (1989): A Simple method for observation of phagocytosis on bacterial thin-layer, *Microbiol Immunol*, **33**: 81-85.
 17. Suskind RM (1976): Malnutrition and the immune response, Raven press, New York: 199-220
 18. Tisman G, Herbert V (1973): In Vitro myelosuppression and immunosuppression by ethanol. *J. Clin Invest*, **51**: 1410-1414.
 19. Van Epps DE, Strickland RG (1975): Inhibitors of leukocyte chemotaxis in alcoholic liver disease *Ann Intern Med*, **59**: 200-207.
 20. Watson RR, Jackson JC, Hartman B (1985): Cellular immune functions, endorphins, and alcohol consumption in males. *Alcoholism Clin Exp Res*, **9**: 248.
 21. West ES, Todd WR (1983): textbook of biochemistry. 3rd, New York, McMillan Co., 985.

=Abstract=

**Lymphocyte Subpopulations and Proliferation of T cells,
Phagocytic Activity of Leukocytes on Alcoholics**

Yong-Ho Kim¹⁾, Byoung-Bae Soe²⁾, Chung-Yee Lee²⁾, Young-Hoon Kim³⁾

¹⁾ *Department of Medical Laboratory Science, Inje University, Kimhae 621-749, Korea*

²⁾ *Department of Clinical Pathology, Pusan Paik Hospital, Inje University, Pusan, 614-735, Korea*

³⁾ *Institute of Neuro Science, Inje University, Pusan, 614-735, Korea*

Alcoholics increased susceptibility to microbial infection that is associated with decreased immunity. but there has been little experimental evidence to support alcoholics-induced increase of microbial infection directly in non-specific immunity.

Therefore, we were used the method of phagocytic-plaque including all the stimulating factors for the phagocytosis, subtypes of lymphocytes and T-lymphocyte proliferation.

The experimental groups were divided into 3 groups: (1) alcoholics who were hospitalized less than 1 week (newly hospitalized alcoholics), (2) alcoholics who were hospitalized more than 2 weeks (old hospitalized alcoholics), (3) healthy blood donors.

We have studied 98 alcoholics and 35 healthy blood donors and control groups.

A physician has checked the biological markers and diagnosed the body-condition alcoholics.

The immunity and non-specific immunity on the alcoholics were analyzed by using the simlestest kit and flow cytometry.

Proliferation of the lymphocytes was analyzed by the phytohemmagglutinine mitogen. Phagocytosis and migration properties of leukocytes were identified on the layer formed by *Staphylococcus aureus* Cowan I strain.

Biological markers of alcoholics and control groups, by such as blood glucose, γ -glutamyl transpeptidase and mean corpuscular volumes of red blood cells, were determined by biochemical and hematological methods.

Compared with control groups, cluster of differentiation (CD)3+, CD8+ and CD19+ in alcoholic were more decreased except CD4+/CD8+ ratio.

Proliferation of the T-lymphocytes, phagocytosis and migration properties of the leukocytes in alcoholics were decreased compared with those of control groups.

According to the results observed in our experiment, they can be summerized as follows:

1. Cellular, humoral and non-specific immunities, are markedly decreased in alcoholics than those in control groups.
2. It is inferred that Phagocytic plaque formation is a very useful method to evaluate phagocytosis and migration properties of the alcoholic leukocytes
3. It is thought that the subtypes of lymphocytes, especially CD4+/CD8+ ratio, are essential methods to analyzed the alcoholic immunity.
4. Specific and non-specific immunity on the old hospitalized alcoholics was slightly increased, which depends upon the alcoholic medication.

Key Words: Lymphocyte Subsets, CD4+T, CD8+T, Alcoholics, T cells, Leukocyte, phagocytosis

[Korean J. Biomed. Lab. Sci. 2(2): 167-174, December 1996]

[†]Corresponding author