

장기간 알콜투여가 생쥐 비장의 세포성 면역 저해에 미치는
면역조직화학적 연구

: T 림프구, IL-2 수용기 및 NK세포의 변화를 중심으로

김진택 · 박인식 · 안상현

Immunohistochemical study on the inhibition of cell mediated immunity in spleen
of mouse by chronic alcohol administration

: Based on the change of T lymphocytes, IL-2 receptors, and NK cells

Jin Taek Kim · In Sick Park · Sang Hyun Ahn

Department of Anatomy, Oriental medicine college, Dongguk University.

ABSTRACT

As a mood-altering drug, long-term alcohol consumption have significant harmful effects on the human body and people's mental functioning. This study observed that the suppression of cell mediated immunity induced in spleen of ICR mouse by long-term alcohol administration. After 8% alcohol voluntary administered for 120 days, the splenic tissue immunohistochemically stained by following ABC method that used monoclonal antibody including L3T4(CD4), Ly-2(CD8), IL-2 receptor(CD25R) and NK-1.1(CD56) after embedding with paraffin.

The results were as follows.

1. The size of marginal zone in splenic white pulp was diminished and the number of macrophage in marginal zone was decreased in test group than control group.
2. After alcohol administration, the number of Helper T lymphocyte, cytotoxic T lymphocyte, and IL-2 receptor were decreased in periarterial lymphatic sheaths of white pulp and penicilla artery of red pulp and the degree of CD4, CD8, and CD25R positive reaction were soften.
3. In test group, the number of NK cell were decreased.

These results indicated that the secretion of lymphokine as IL-2 was inhibited by long-term alcohol administration and subsequently prevent to activate and proliferate splenic T lymphocytes and NK cells as cell mediated immunity component.

I. 서론

가장 폭 넓게 사용되는 신경전환성 약물인 알콜은 때론 남용되어 건강상의 문제를 일으키는 것으로 알려져 있으며 특히 기형발생원(teratogen)인 알콜을 과음한 임신모가 분만한 정신박약, 뇌왜소증, 면역결핍된 태아성 알콜증(fetal alcohol syndrome, FAS)아이는 심각한 사회문제로 대두되고 있는 실정이다.

알콜을 과량섭취하면 일시적으로 중추신경계가 손상되며 장기적으로는 체중 손실, 위궤양, 지방간, 알콜성 간염, 알콜성 간경변, 호흡곤란, 내분비계 손상에 의한 남성의 여성화(feminization) 등 인체의 거의 모든 부분에서 손상이 일어나는 것으로 알려져 있다.

특히 알콜이 면역계에 미치는 손상으로 Adams와 Jordan(1984)는 알콜에 의한 결핵균, 폐렴구균, 폐렴간균, *Hemophilus influenzae*, *Bacteroides fragilis* 및 *Listeria* 등에 대한 숙주 감수성이 증가한다는 보고를 하였으며, 장기간 알콜 투여된 실험동물과 알콜리즘 환자의 경우 비장과 흉선의 무게 감소와 여러 가지 면역이상 즉, 순환 백혈구수의 감소, 항체반응성의 장애, 마이토젠(mitogen)에 대한 림프구 증식반응의 감소, recall antigen에 대한 지연성 과민(delayed-type hypersensitivity)반응으로 측정된 세포성 면역반응 억제, 그리고 자연살해(natural killer, NK)세포의 기능을 억제하여 마우스에 있어서 종양발생을 촉진한다고 Dehne 들(1987), Kaplan(1986) 그리고 Mac Gregor(1986) 등이 보고하였다. 특히 *in vitro*에서 행해진 하들(1991)의 연구에 의해 알콜은 면역계의 조절을 담당하는 여러 가지 사이토카인(cytokine)의 분비를 억제하는 것으로 알려져 세포성 면역에 영향을 미치는 것으로 보고되었다.

세포성 면역(cell-mediated immunity)의 면역연쇄(immune cascade)는 항원제공세포

(antigen presenting cell)가 분비한 여러 가지 사이토카인에 의해 활성화된 도움 T 림프구(helper T lymphocyte)가 IL-2를 분비하여 세포독성 T 림프구(cytotoxic T lymphocyte), NK세포 등을 활성화, 증식시켜 외부 이물질에 효과적인 방어기전을 하는 것으로 IL-2가 중요한 역할을 담당하게 된다고 하(1991), Minami 들(1993) 그리고 Smith(1988) 등에 의해서 보고되었다. 특히 김들(1995)은 복수암 세포로 인한 세포성 면역활성시 비장에서 나타나는 T 림프구와 IL-2 수용기 및 NK 세포의 증가를 분포지역에 따라 보고하였으며 김 들(1994)은 면역억제제인 Cyclosporin A에 의한 IL-2 분비 억제시 나타난 비장에서의 면역염색된 T 림프구와 NK 세포의 반응수와 반응성이 감소된다고 보고하였다.

본 실험은 장기간 알콜 투여로 생긴 생쥐 비장의 T 림프구, NK세포 그리고 IL-2 receptor의 변화를 통한 세포성 면역의 저해를 조사하기 위해서 행해진 것으로 알콜이 120일 동안 투여된 ICR계 생쥐의 비장을 면역조직화학적으로 염색하여 관찰하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물

태령 4주된 건강한 ICR계 숫컷 생쥐를 무균동물사육장차내에서 2주간 사육하여 적응시킨 후, 체중 30g정도인 생쥐를 선별하여 대조군과 alcohol을 투여한 실험군으로 구분하였다. 대조군과 실험군 각 군에 30마리씩 배정하여 사용하였다.

2. 투여 Alcohol의 제조 및 투여

ethanol를 증류수로 희석하여 8% ethanol을 만들어 120일동안 음료수로써 공급하여 마음

대로 마시도록 하였다.

3. 사용항체

본 실험에서 사용된 항체는 normal rabbit serum(Vector LAB, USA), normal goat serum(Vector LAB, USA), rat anti-mouse L3T4(CD 4; Caltag LAB, USA), rat anti-mouse Ly-2(CD 8; Caltag LAB, USA), rat anti-mouse IL-2 receptor(CD25R- β Chain; Caltag LAB, USA), mouse anti-mouse NK-1.1(CD56; Caltag LAB, USA), biotinylated rabbit anti-rat IgG(Vector LAB, USA), biotinylated goat anti-mouse IgG(Vector LAB, USA), Avidin Biotin Complex(ABC; Vector LAB, USA) 등이다.

4. 조직표본 작성

알콜을 120일 동안 투여한 후 경추탈구로 생쥐를 희생시켜 비장을 적출한 후 10% 중성 포르말린 용액에 실온에서 24시간 동안 고정하였다. 고정된 조직을 통상적인 방법으로 paraffin에 포매하고 5 m두께로 연속절편을 만들었다.

5. 면역조직화학 염색

조직절편은 proteolysis를 위해 0.05% pepsin이 포함된 0.01N HCl 용액(pH2.0)에 5분간 처리한 후, 1:500으로 희석된 blocking serum인 normal rabbit serum에 30분동안 반응시킨 후 PBS로 수세하고, 1:500으로 희석한 1차 항체인 rat anti-mouse L3T4, rat anti-mouse Ly-2 그리고 rat anti-mouse IL-2 receptor에 실온에서 4시간동안 반응시킨 후 PBS로 수세하였다. 그런 다음 1:250으로 희석된 2차 항체인 biotinylated rabbit anti-rat IgG에 실온에서 1시간동안 반응시킨 후 PBS로 수세하고, Avidin biotin complex(ABC)에 30분간 반응시켰다. 0.

0.125% 3,3'-diaminobenzidine 과 0.01% Hydrogen peroxide이 포함된 0.05M tris-HCl 완충용액(pH7.4)에서 발색시킨 후, hematoxylin으로 대조염색하여 광학현미경(BH2, Olympus, Japan)으로 관찰하였다. 한편 NK세포의 면역조직화학적 염색은 위와 동일한 방법으로 시행되었는데 다만 blocking serum으로 normal goat serum, 1차 항체는 mouse anti-mouse NK-1.1 그리고 2차 항체는 biotinylated goat anti-mouse IgG가 사용되었다.

III. 결 과

알콜을 120일 투여한 실험군은 대조군에 비해 외형적으로는 체중 손실과 비장 크기의 감소가 관찰되었다. 특히 알콜 투여 후 비장 백색수질(white pulp)의 가장자리구역(marginal zone)이 좁아져 실험군은 전반적으로 비장 수질은 대조군에서 비해 위축된 양상으로 나타났으며 가장자리구역에 존재하는 대식세포(macrophage)의 수도 대조군에 비해 줄어들었다(Fig. 1). 그러나 적색수질(red pulp)의 대식세포수는 대조군과 별 차이가 없었다.

도움 T 림프구는 대조군에서 주로 백색 수질의 림프성 동맥주위집(periarterial lymphatic sheaths; PALS)과 적색수질의 붓털소동맥(penicilla artery)주변부에 존재했으며 가장자리구역에서는 나타나지 않았다(Fig. 2). 대조군에서 나타난 도움 T 림프구에서는 주로 세포 가장자리부분에서 CD4 양성반응으로 생긴 짙은 갈색(brown color)의 원반형 띠를 관찰할 수 있었으며 중심정맥 주변부에서 좀 더 강한 반응성을 보였고 가장자리구역으로 갈수록 반응성이 약해지는 양상을 보였다. 실험군에서는 이러한 도움 T 림프구의 반응성과 분포 양상이 알콜 투여 후 CD4 양성 반응성은 약해졌으며

CD4 양성반응 세포수도 줄어든 경향을 보였다 (Fig. 3).

IL-2R 양성반응세포는 대조군에서 PALS과 붓털소동맥주위집에서 관찰되었으며 특히 PALS에서 폭 넓게 분포하였다(Fig. 4). IL-2 receptor에 의해 형성된 얇은 원반형 띠를 IL-2R 양성반응세포에서 볼 수 있었다. 실험군에서는 이러한 IL-2R 양성반응세포의 반응성과 분포세포수는 대조군에 비해 반응성 저하와 반응세포수의 감소가 나타났다(Fig. 5). 아울러 실험군에서는 대조군에서 볼 수 있었던 원반형 띠는 볼 수 없었고 다만 얇은 갈색의 입자만 나타났다.

세포독성 T 림프구는 대조군에서 도움 T 림프구와 같이 PALS과 붓털소동맥주변부에서 관찰되었고 가장자리구역에서는 발견되지 않았다(Fig. 6). 아울러 CD8 양성반응으로 형성된 뚜렷한 원반형 띠가 세포독성 T 림프구에서 나타났으며 반응성도 도움 T 림프구와 유사한 양상을 보였다. 그러나 실험군에서 이런 반응성과 반응세포수는 더 약한 양성 반응성과 적은 반응세포수를 보였다(Fig. 7). CD8 양성반응으로 나타난 원반형의 띠는 대신에 약한 갈색의 입자를 일부 반응지역에서 관찰할 수 있었다.

NK세포는 적색수질의 큰 혈관 주변뿐만 아니라 백색 수질내의 중심동맥 주변부에서 강한 반응성을 보이며 많은 수가 관찰되었으나 가장자리구역에서는 발견되지 않았다(Fig. 8). 실험군에서 NK-1.1의 양성반응은 약해졌고 그 반응세포수도 감소된 것이 관찰되었다(Fig. 9).

IV. 고 찰

정신활동성 화학물질로 애용되는 알콜의 일시·장기적 과다섭취는 건강상의 문제를 야기

시키는데 신경계의 경우, 혈관-뇌 장벽(blood-brain barrier)을 통과한 알콜이 대뇌피질의 활동을 조절하는 뇌간부(brain stem) 상단의 망상형성부(reticular formation)에 작용함으로써 중추신경계의 기능을 억제한다고 Lee(1979), Taylor(1982) 그리고 Torvik 들(1982) 등이 보고하였다. 아울러 Cohen 들(1980)은 혈중알콜농도(blood alcohol level)의 증가가 연수의 기능을 억제하여 호흡기능을 마비시키는 것으로 보고하였고, Mile Cox와 Wei-jen(1991)은 알콜이 노에피네프린의 분비를 억제하여 그로 인해 우울 효과(depressant effect)를 일으킨다고 하였다. 알콜에 의한 내분비계의 손상은 Gordon 들(1976), Kley 들(1979) 그리고 Van Thiel (1981) 등에 의해 보고되었는데 남성의 경우 testosterone의 분비중단과 androgen이 estrogen으로의 전환이 증가되어 여성화(feminization)—성불능증(sexual impotence), 가슴확대, 수염소실 그리고 고환축소 등—를 들 수가 있다. Chanarin(1982), Kikuchi와 Kako(1970) 그리고 Lox(1982) 등은 알콜에 의한 심근증(cardiomyopathy), 심부정맥(cardiac arrhythmias) 그리고 고혈압(hypertention) 등의 심맥관계 손상을 보고하였다. 한편 알콜을 흡수하는 소화기관의 경우 가장 직접적인 손상을 입는 부위인데 특히 위는 점막층을 파괴시키는 심한 구토(vomiting)와 점막층 탈락 부위의 위산에 의한 상해로 생긴 위궤양(gastric ulcer) 등을 일으키는 것으로 Geall 들(1970)과 Ivey(1980)가 보고하였다. 알콜은 여러단계의 대사 과정을 통해서 간에서 제거되는데, 우선 알콜은 간에서 아세트알데하이드로 전환되며 이러한 아세트알데하이드는 중추신경계의 발생과 성장에 직접적인 영향을 미치는 것으로 Truitt와 Walsh (1971)가 보고하였다. 또한 아세트알데하이드는 초산(acetic acid)으로 전환되며 이렇게 생긴 초산은 얼굴의 홍조, 맥박수 증가, 근 무기력,

구역질이나 구토 그리고 혈압강하 등과 같은 증상을 유발시키는 것으로 알려져 있다. Lieber (1980), Nakano와 Lieber(1982) 그리고 Orrego 들(1981) 등은 간에서 대사되는 알콜에 의해 야기된 지방산(fatty acid) 축적에 의한 지방간(fatty liver), 염증에 의해 생긴 간염(hapatitis) 그리고 간세포가 섬유성 조직으로 바뀐 간경변(hapato-cirrhosis) 등의 간기능 저하를 보고하였다. 한편 알콜은 외부 이중항원에 대해 신체를 방어하는 면역계에도 영향을 미쳐서 숙주의 보호능력 감소에 의한 미생물 감염에 대한 감수성 증가, 면역감시기전의 약화로 인한 여러가지 암의 발생빈도의 증가, NK 세포의 활성화 및 면역반응을 조절하는 사이토카인의 분비억제 등의 손상을 입힌다고 하(1990), Dehne 들(1987), Kaplan(1986), Mac Gregor(1986) 그리고 Mufti 들(1988) 등이 보고하였다.

세포성 면역반응은 종양세포를 비롯한 이식항원에 대한 감시 및 파괴 등과 같은 중요한 역할을 담당하게되며 이러한 세포성 면역반응은 세포독성반응을 일으키는 효과세포(effector cell)에 의해서 이루어진다. 이런 효과세포로는 세포독성 T 림프구, 항체의존성 세포매개성 세포독성반응에 관여하는 K세포, 활성화된 대식세포 그리고 NK세포로 알려져 있으며 특히, NK세포는 항종양보호면역, 항바이러스 보호면역, 항균보호면역 뿐만 아니라 자가면역 및 간장질환 면역병인에도 주용한 역할을 하는 세포로 Driver와 Swann(1987), Saxene 들(1980) 그리고 Watson(1988)로 보고하였다. 이러한 세포성 면역의 조절에는 여러 가지의 lymphokine이 작동하는데 그 중에서 가장 중요한 역할을 하는 것은 활성화된 도움 T 림프구에서 분비한 IL-2로서 autocrine작용을 가지고 있을 뿐만 아니라 세포독성 T림프구, B 림프구, NK세포, 림포카인활성살해(lymphokine activated killer, LAK)세포와 단핵구를 활성화하는

것으로 하(1991), Minami 들(1993) 그리고 Smith(1988)가 보고하였으며, 최근에는 IL-2와 LAK세포가 암치료를 위한 면역요법으로 사용되고 있는 실정이다.

장기간 알콜 투여로 인한 생쥐 비장의 세포성 면역저해를 조사하기 위해서 행해진 본 연구는 ICR계 생쥐에게 알콜을 120일 동안 투여한 후 비장내의 도움 T 림프구, 세포독성 T 림프구, IL-2 receptor 그리고 NK세포의 분포양상과 반응성의 변화를 면역조직화학적 염색하여 관찰하였다.

알콜 120일 투여 후 실험군은 대조군에 비해 체중손실이 나타났는데 이는 Mile Cox와 Wei-Jen(1991)이 보고한 것과 일치하는 결과로 알콜 섭취로 인한 불충분한 영양공급의 결과로 생각된다. 실험군은 대조군에 비해 알콜 투여 후 비장의 크기가 감소된 것으로 나타났고 혈액항원(blood antigen)이 풍부하고 면역활성의 중요한 역할을 하는 가장자리구역의 감소에 의한 백색수질의 크기도 줄어든 양상을 보였다. 이러한 결과는 김 들(1994)과 Shevach(1985)이 보고한 면역억제제인 cyclosporin A의 투여시 비장에서 나타난 결과와 일치하는 것이며 김(1995)과 Old와 Boyse(1984)이 보고한 복수암 세포 접종에 의한 면역반응 항진시 나타나는 비장 백색수질의 가장자리구역의 크기 확장과는 반대양상이다. 그래서 본 실험의 결과는 알콜이 비장의 면역반응 저해하여 나타난 것으로 사료된다. 한편 항원제공세포(antigen presenting cell, APC)로의 대식세포는 백색수질의 가장자리구역에서는 그 수가 가장자리구역의 크기 감소와 더불어 줄어드는 양상이었으나 그 외 적색수질에서는 별 다른 변화가 나타나지 않는 것으로 관찰되었다. 이러한 가장자리 구역의 대식세포의 감소는 IL-1의 분비의 저해로 유도하여 도움 T 림프구의 활성화과 증식에 영향을 미치는 것으로 사료된다.

IL-2를 분비하여 세포성 면역을 조절하는 도움 T 림프구는 대조군에서는 백색수질의 PALS과 적색수질의 붓털소동맥에서 나타나며 가장자리구역에서는 발견되지 않았다. 알콜 투여후 나타나는 도움 T 림프구의 분포지역은 대조군과 일치하지만 CD4 양성반응세포의 수는 줄었으며 양성반응성도 떨어졌다. 특히 양성반응세포의 세포질 가장자리에서 볼 수 있었던 짙은 갈색(dark brown)의 원반형의 띠는 거의 나타나지 않고 일부 얇은 갈색(light brown)과립이 나타났다. 이러한 결과는 김 들(1994)이 보고한 면역억제시 도움 T 림프구에서 나타나는 결과와 같으며 이것은 알콜이 도움 T 림프구의 활성, 분열을 조절하는 가장자리구역에서의 대식세포가 분비하는 IL-1을 비롯한 여러 가지 cytokine의 생성억제의 결과로서 생긴 성숙한 도움 T 림프구의 결핍으로 사료되며 이는 Wahl 들(1988)의 결과와도 일치하였다. 이러한 알콜의 도움 T 림프구에 대한 활성, 분열 억제와 면역연쇄(immune cascade)에 있어 심각한 원인으로 IL-2의 분비억제를 유도하게 되며 본 실험에서도 IL-2R 양성반응을 보인 세포수와 양성반응성이 대조군에 비해 실험군에서 현저하게 줄어드는 양상을 보였다. 그러나 이러한 IL-2 receptor의 감소는 가슴샘에서 면역 항진시 thymocytes의 성숙, 분열을 촉진시키는 IL-2의 역할을 규명한 김 들(1995)의 보고와는 일치되나 알콜이 비장세포의 IL-2 생산에 영향을 미치지 않는다는 *in vitro*에서의 하 들(1991)의 실험과는 차이가 있었다. 그러나 이러한 의견 차이에도 불구하고 본 실험의 결론은 알콜에 의한 도움 T 림프구의 IL-2의 생산, 분비억제로 내렸는데 그 이유는 알콜 투여 후 나타나는 세포독성 T 림프구의 변화로서 도움 T 림프구 뿐만 아니라 세포독성 T 림프구와 NK세포 등과 같은 세포성면역의 효과세포들의 분포양상과 양성반응을 보인 세포

수가 감소하였다는 것이다. 이러한 세포독성 T 림프구와 NK세포의 변화는 IL-2의 분비를 억제하는 면역억제제인 cyclosporin A를 투여로 나타난 김 들(1994), Auchincloss와 Winn(1989) 그리고 Braida와 Knop(1986)의 면역억제 결과와 일치하였다.

이상의 결과로 볼 때 장기간 알콜투여된 생쥐의 이차면역기관인 비장에서 백색수질 가장자리구역에 있는 소수 대식세포의 IL-1 분비억제와 동시 PALS과 붓털소동맥주변부에 나타나는 도움 T 림프구의 IL-2의 생산, 분비억제로 인해 도움 T 림프구는 물론 세포독성 T 림프구와 NK세포의 분열, 성숙, 활성를 억제함으로써 세포성 면역의 저해를 유도하는 것으로 사료된다.

V. 결 론

정신전환성 약물로서 과용되었을 때 인체의 거의 모든 부분에서 건강상의 문제를 야기시키는 알콜이 장기간투여되었을 때 일어나는 이차면역기관인 비장에서의 세포성 면역억제를 조사하기 위해 알콜을 120일동안 ICR계 생쥐에게 투여한 후 비장을 적출하여 항 CD4(L3T4)항체, 항 CD8(Ly-2)항체, 항 CD25(IL-2R β Chain) 그리고 항 CD56(NK-1.1)항체 등의 monoclonal antibody를 사용한 ABC법으로 면역조직화학적 염색을 한 후 광학현미경으로 관찰하였다.

그 결과 알콜 투여 후 실험군에서 비장의 가장자리구역의 감소에 의한 백색수질의 크기가 줄어들었으며 가장자리구역에 존재하는 대식세포수의 감소도 관찰하였다. 실험군의 도움 T 림프구, 세포독성 T 림프구, IL-2R 양성반응세포는 반응성과 반응세포수의 감소로 관찰되었으며 이러한 변화는 림프소동맥주위집과

붓털소동맥주변부에서 나타났다. 아울러 NK세포도 실험군에서 그 수가 감소하였으며 이것은 적색수질의 큰혈관 주변과 백색수질의 중심동맥에서 관찰되었다. 실험군에서의 이러한 NK세포의 변화는 *in vitro*에서 고농도의 알콜이 NK세포의 활성을 억제한다는 Mufti 들(1988)의 보고와 일치하였다.

이상의 결과로 볼 때 생쥐의 장기간 알콜투여는 비장 백색수질 가장자리구역의 소수 대식세포의 IL-1 분비억제와 동시에 도움 T 림프구의 IL-2의 생산, 분비 억제로 인해 도움 T 림프구는 물론 세포독성 T 림프구와 NK세포의 분열, 성숙, 활성을 억제함으로써 세포성 면역 저해를 유도하는 것으로 사료된다.

VI. 참 고 문 헌

1. 김진택, 김동환, 안상현, 윤식 : 인삼추출물이 cyclophamide에 의해 손상된 흰쥐 비장 조직의 회복에 미치는 영향. 동국대학교 한의학연구소. 2(1) : 177, 1993.
2. 김진택, 김동환, 안상현 : Cyclosporin A가 생쥐 비장에 미치는 영향에 관한 면역조직화학적 연구. 대한해부학회지. 27(4) : 490, 1994.
3. 김진택, 김동환, 안상현 : Sarcoma 180 cell 이 생쥐 가슴샘의 T 림프구와 IL-2 수용기의 변화에 미치는 면역조직화학적인 연구. 동국논집. 14 : 303. 1995.
4. 하대유, 박병숙, 황희성 : 알콜이 IL-2 및 IL-6 생산과 체액성 및 세포성 면역반응에 미치는 영향. 대한면역학회지. 13 : 17, 1991.
5. 하대유, 박상민, 전상남, 이정호, 이현구, 김정수 : 알콜이 면역반응에 미치는 영향. 대한미생물학회지. 25 : 265, 1990.
6. 하대유 : Lymphokine을 중심으로 면역반응

- 조절에 대하여. 녹십자의보. 5 : 232, 1991.
7. Adam, H. G. and Jordan, C. : Infections in the alcohol. Med. Clin. North. Am. 68 : 179, 1984.
8. Auchincloss, H. and Winn, H. J. : Murine CD8⁺ T-cell helper function is particularly sensitive to cyclosporin suppression *in vivo*. J. Immunol. 143 : 3940, 1989.
9. Braida, C. T. and Knop, J. : Effect of cyclosporin A on the T-effector and T-suppressor cell response in contact sensitivity. Immunology. 59 : 503, 1986.
10. Carlen, P. L., Wilkinson, D. A., and Wortzman, G. : Cerebral atrophy and functional deficits in alcoholics without clinically apparent liver disease. Neurology. 31 : 377, 1981.
11. Chanarin, I. : Haemopoiesis and alcohol. Br. Med. Bull. 38 : 81, 1982.
12. Cohen, B. H., Celentano, D. D., and Chase, G. A. : Alcohol consumption and air way obstruction. Am. Rev. Respir. Dis. 121 : 205, 1980.
13. Dehne, N., Mendenhall, C., Roselle, G.A., and Ghosn, S. : The effect of acute ethanol consumption on *in vivo* cellular immune function. Fedn. Proc. Am. Socs. Exp. Biol. 46 : Abstract 223, 1987.
14. Driver, H. E. and Swann, P. F. : Alcohol and human cancer. Anticancer Res. 7 : 309, 1987.
15. Geall, M. G., Phillips, S. F., and Summerskill, W. H. J. : Profile of gastric mucosal difference in man. Effects of aspirin, alcohol, bile, and endogenous acid. Gastroenterology, 58 : 437, 1970.
16. Gorden, G. G., Southren, A. L., and Altman,

- K. : The effect of alcohol administration on sex hormone metabolism in normal men. *N. Engl. J. Med.* 295 : 793, 1976.
17. Ivey, K. J., Tarnawski, A., and Stachura, J. : The induction of gastric mucosal tolerance to alcohol by chronic administration. *J. Lab. Clin. Med.* 96 : 922, 1980.
18. Kaplan, D. R. : A novel mechanism of immuno-suppression mediated by ethanol. *Cell. Immunol.* 102 : 1, 1986.
19. Kikuchi, T. and Kako, K. J. : Metabolic effects of ethanol on the rabbit heart. *Circ. Res.* 26 : 625, 1970.
20. Kley, H. K., Strohmeyer, G., and Kruskemper, H. L. : Effect testosterone application on hormone concentrations of androgens and estrogens in male patients with cirrhosis of liver. *Gastroenterology.* 76 : 235, 1981.
21. Lee, K. : Alcoholism and cerebrovascular thrombosis in the young. *Acta Neurol. Scand.* 59 : 270, 1979.
22. Lieber, C. S. : Alcohol, protein metabolism, and liver injury. *Gastroenterology.* 79 : 373, 1980
23. Lox, C. D. : Effects of short-term ethanol consumption in blood coagulation in the rat. *Gen. Pharmacol.* 13 : 57, 1982.
24. Mac Gregor, R. R. : Alcohol and immune defense. *JAMA.* 256 : 1474, 1986.
25. Mile Cox, W. and Wei-Jen W. Huang. : Alcohol Toxicology. *Encyclo. Human. Bil.* pp 165, 1991.
26. Minami, Y., Kono, T., Miyazaki, T., and Taniguchi, T. : The IL-2 receptor complex ; Its structure, function and target genes. *Ann. Rev. Immunol.* 11 : 245, 1993.
27. Mufti, S. I., Prabhala, R., Moriguchi, S., Sipes, I. G., and Watson, R. R. : Functional and numerical alterations induced by ethanol in the cellular immune system. *Immunopharmacology.* 15 : 85, 1988.
28. Nakano, M. and Lieber, C. S. : Ultrastructure of initial stages of perivenular fibrosis in alcohol-fed baboons. *Am. J. Pathol.* 106 : 145, 1982.
29. Old, L. J. and Boyse, E. A. : Immunology of experimental tumor. *Ann. Rev. Med.* 15 : 167, 1984.
30. Orrego, H., Israel, Y. and Blendis, L. M. : Alcoholic liver disease ; information in search of knowledge. *Hepatology.* 1 : 267, 1981.
31. Ron, M. A., Acker, W., and Shaw. G. K. : Computerized tomography of the brain in the chronic alcoholism. *Brain.* 105 : 497, 1982.
32. Saxene, Q. B., Mezey, E., and Alder, W. H. : Regulation of natural killer activity in vivo II. The effect of alcohol consumption on human peripheral blood natural killer activity. *Int. J. Cancer.* 26 : 413, 1980.
33. Shevach, E. M. : The effects of cyclosporin A on the immune system. *Ann. Rev. Immunol.* 3 : 397, 1985.
34. Smith, K. L. : Interleukin-2 ; inception, impact and implications. *Science.* 240 : 1169, 1988.
35. Taylor. J.R. : Alcohol and strokes. *N. Engl. J. Med.* 306 : 1111, 1982.
36. Torvik, A., Lindboe, C. F., and Rogde, S. : Brain lesions in alcoholics. *J. Neurol. Sci.* 56 : 233, 1982.
37. Truitt, E. B. and Walsh, M. J. : The role acetaldehyde in the action of ethanol. *The*

- Biology of Alcoholism. New York. Plenum Press. Vol. 1, pp.161, 1971.
38. Van Theil, D. H. : Hypothalamic-pituitary-gonadal function in liver disease. Prog. Biochem. Pharmacol. 18 : 24, 1981.
39. Wahl, S. M., Hunt, D. A., Wong, H. L., Dougherty, S., Wahl, L. M., Ellingsworth, L., Schmidt, J. A., Hall, G., Roberts, A. B., and Sporn, M. B. : Transforming Growth Factor- β is a potent immunosuppressive agent that inhibits IL-1-dependent lymphocyte proliferation. J. Immunol. 140 : 3026-3032. 1988.
40. Watson, D. R. : Ethanol, immunomodulation and cancer. Prog. Food Nutr. Sci. 12 : 189, 1988.

Legends for figure

- Fig. 1. The spleen in mouse administered alcohol for 120 days. The size of marginal zone(M) in white pulp(WP) were diminished than control mouse's. The number of macrophage in WP is decreased, but there were little changes of macrophage(arrow) in red pulp(RP). H & E. $\times 100$.
- Fig. 2. The periarterial lymphatic sheath(PALS : P) of splenic WP in control mouse. The helper T lymphocyte(arrow) were appeared in PALS. Immunohistochemical staining. $\times 200$.
- Fig. 3. The PLAS of WP in mouse administered alcohol for 120 days. The number of helper T lymphocyte and degree of CD4 positive reaction were remarkably decreased than control mouse. Immunohistochemical staining. $\times 200$.
- Fig. 4. The PALS of splenic WP in control mouse. The interleukin 2 recetor(IL-2R : arrow) positive reacted cell were appeared in PALS. Immunohistochemical staining. $\times 200$.
- Fig. 5. The PLAS of WP in mouse administered alcohol for 120 days. The number of IL-2R postive reacted cell and degree of IL-2R positive reaction were decreased than control mouse. Immunohistochemical staining. $\times 200$.
- Fig. 6. The PALS of splenic WP in control mouse. The cytotoxic T lymphocyte(arrow) were appeared in PALS. Immunohistochemical staining. $\times 200$.
- Fig. 7. The PLAS of WP in mouse administered alcohol for 120 days. The number of cytotoxic T lymphocyte and degree of CD8 positive reaction were noticeably decreased than control mouse. Immunohistochemical staining. $\times 200$.
- Fig. 8. The central artery of splenic WP in control mouse. The natural killer(NK) cell(arrow) were appeared in PALS. Immunohistochemical staining. $\times 200$.
- Fig. 9. The PLAS of WP in mouse administered alcohol for 120 days. The number of NKcell were decreased than control mouse. Immunohistochemical staining. $\times 200$.

