

리포포리사카라이드의 세포성 면역반응에 미치는 스왐인소닌의 영향

채병숙* · 안영근* · 김정훈*

우석대학교 환경공학과, *원광대학교 식품약품안전성연구소

(Received October 2, 1997)

Effects of Swainsonine on the Cell-mediated Immune Responses of Lipopolysaccharide

Byeong Suk Chae*, Young Keun Ahn* and Joung Hoon Kim*

Department of Environmental Engineering, Woosuk University, Samrae-Up 565-800, Korea and

*Center for Food and Drug Safety, Wonkwang University, Iksan, Korea

Abstract—Effects of swainsonine (SW : 8 α , β -indolizidine-1 α , 2 α , 8 β -triol from Locoweed) on the cellular and nonspecific immune responses of lipopolysaccharide (LPS) were studied in ICR mice. Mice were divided into 4 groups (10 mice/group), and LPS was given to each mouse 1 hr after *i.p.* injection with 3.7 mg/kg of SW by *i.p.* injection twice a week for 14 days at a dose of 2 mg/kg. Immune responses of the delayed-type hypersensitivity response (DTH) to sheep red blood cells (s-RBC), phagocytic activity and natural killer (NK) cell activity were evaluated. LPS treatment didn't affect NK cell activity, phagocytic activity, DTH to s-RBC compared with those in controls, and phagocytic activity of sarcoma 180 tumor bearing mice. However, circulating leukocytes were significantly decreased. Combinator of LPS and SW increased circulating leukocytes significantly compared with that in LPS alone, and DTH to s-RBC. NK cell activity and phagocytic activities of normal and sarcoma tumor bearing mice were not affected. These findings indicate that SW didn't affected the cellular immune responses suppressed by LPS but significantly increased circulating leukocytes.

Keywords □ Lipopolysaccharide, swainsonine, delayed-type hypersensitivity, phagocytic activity, NK cell activity, circulating leukocyte.

Lipopolysaccharide(LPS)는 그람음성세균의 외측 세포벽에 있는 열에 안정한 독소로써,¹⁾ 많은 병태생리학적인 작용이 있음에도 불구하고 그의 면역증강작용에 대한 연구가 활발히 진행되어 왔다.²⁻⁴⁾

LPS에 대한 세포성 면역, 비특이적 면역 및 암에 대한 보고로써, Uchiyama 등⁵⁾은 LPS가 *in vitro*에서 trinitrophenyl-sRBC에 대한 helper T세포의 활성을 억제하였다고 보고하였고, McGhee 등⁶⁾은 *in vitro*에서 T세포와 macrophage가 LPS로 유도되는 B세포의 반응 증진을 억제시켰다고 보고하였고, Raziuddin 등⁷⁾은

흰쥐에서 LPS의 전처리로 세포성 면역가 억제되어 중추신경계의 T 세포가 관여하는 자가면역질환인 뇌척수염을 방지하였다고 보고하였다. 그러나 Moore 등⁸⁾은 LPS와 tumor necrosis factor(TNF) 등이 *in vitro*에서 서로 다른 경로로 호중구를 활성화시켰다고 보고하였고, Pohlman 등⁹⁾은 *in vitro*에서 LPS에 의해 유도된 interleukin(IL)-1과 TNF- α 는 호중구의 부착을 증가시켰다고 보고하였고, Mowat 등¹⁰⁾과 Claman 등¹¹⁾은 C3H/HeOla 생쥐에서 LPS가 ovalbumin으로 유도된 혈청 IgG 항체에 대한 관용을 저해하였으나 지연형 과민반응에 대한 관용에는 변화를 주지 않았으며, 반면에 C3H/HeJ 생쥐에서는 세포성 면역에 대해 완전하게 관용을 일으켰다고 보고하였다. 또한 *in vitro*에서 LPS는

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 0652-290-1674 (팩스) 0652-291-9312

macrophage의 증양저지작용을 촉진하며 TNF를 유리시켜 항암효과를 갖는다고 Mannel 등¹²⁾이 보고하였고, 고농도의 LPS는 macrophage의 항암작용을 촉진하며 이런 항암작용은 interferon- γ 의 존재하에서 현저하게 강화되었다고 Taffet 등¹³⁾이 보고하였고, *in vivo*와 *in vitro*에서 LPS에 의해 유도된 TNF가 종양에 대하여 용혈성 피사를 일으켰다고 Carswell 등⁴⁾이 보고하였다.

한편, swainsonine(SW : 8 α , β -indolizidine-1 α , 2 α , 8 β -triol from Locoweed)은 indolizidine alkaloid로,¹⁴⁾ 암의 전이와 성장에 대한 저지효과와 같은 면역계의 항암작용 및 골수세포증식효과 등을 갖으므로써 최근에 항암 및 면역조절제로 많은 관심을 끌고 있다.¹⁵⁻¹⁸⁾

SW의 면역활성과 암에 대한 보고에 의하면, Hino 등¹⁹⁾은 *in vitro*에서 concanavalin A의 임파구증식작용이 억제된 상태에서 SW이 이를 정상 수준으로 회복시켰다고 보고하였고, Humphries 등²⁰⁾은 생쥐에서 SW 투여 2일 후에 비장세포의 수가 32.0%로 증가되었으며 비장세포의 natural killer(NK) cell의 활성도는 2~3배 정도로 동시에 증가하였다고 보고하였고, White 등²¹⁾은 SW을 42~72 시간 동안 투여한 동물에서 colony stimulating factor의 많은 생물학적 작용과 흡사한 골수세포 증식을 유도하였다고 보고하였다. 또한 Grzegorzewski 등²²⁾은 SW이 *in vivo*와 *in vitro*에서 종양저지작용을 유도하거나 활성화시켰다고 보고하였고, Kino 등²³⁾은 SW을 생쥐의 복강 또는 피하주사로 투여시 sarcoma 180의 성장이 저해되었으며 폐로의 전이가 감소되었다고 보고하였고, Humphries 등²⁴⁾은 C57BL/6 생쥐에서 B16-F10 murine melanoma 세포에 SW을 처리하므로써 폐로의 전이가 감소되었으나, *in vitro*에서 SW으로 처리하였을 때는 생존율이나 발암성에 어떤 영향도 없었다고 보고하였다.

이상과 같이 LPS는 특히 림포카인을 유리시켜 종양 피사작용을 갖음이 보고되었고, SW은 T 임파구증식작용, 골수증식작용, NK cell 활성화증진작용 및 항암작용 등이 있음이 보고되었다. 따라서 LPS와 SW 각각의 항암효과를 이용하여 암을 치료하는데 응용하려는 노력이 많이 진행되어왔다. 그런데 LPS는 T helper cell의 활성을 억제시키는 것으로 보고되어 있으므로 LPS 단독투여에 비해 T세포의 활성증진작용과 항암작용을 갖는 SW과 병용투여 시 유의한 세포성 면역반응을 보일 것으로 사료되어 본 실험을 실시한 바 유의한 지견을 얻

었기에 이를 보고한다.

실험재료 및 방법

실험동물 - 생후 6주령 체중 17~21 g의 수컷 ICR 생쥐를 대한실험동물센터(충북 음성 소재)에서 분양받아 시판사료(제일사료 제품 : 조단백질 22.5%이상, 조지방 35%이상, 조섬유 7.5%이하, 조회분 10.0%이하, 칼슘 0.7%이상)로 1주간 급식시켜 적응시킨 후 10마리를 1군으로 하고 전체를 4군으로 나누어 온도 23 \pm 2°C, 습도 50~60%로 유지되는 항온, 항습 사육실에서 14일간 사육하였다. Sarcoma 180을 이식시킨 생쥐에서도 같은 방법으로 실시하였다.

Lipopolysaccharide(LPS) 용액의 조제 및 투여 - LPS(Escherichia coli Serotype 0127: B8, Sigma Co., Ltd., U.S.A.)를 주사용 생리식염수에 용해시켜 체중 kg당 2 mg을 14일간 1주일에 2회 일정한 시각에 복강내 주사하였다.

Swainsonine(SW) 용액의 조제 및 투여 - SW(8 α , β -indolizidine-1 α , 2 α , 8 β -triol from Locoweed, Sigma Co., Ltd., U.S.A.)을 주사용 생리식염수에 용해시켜 체중 kg당 3.7 mg을 14일간 1주일에 2회 LPS 투여 1시간 전 일정한 시각에 복강내 주사하였다.

항원조제 - 면양적혈구(sheep red blood cell: sRBC)를 사용하였는데, 그 방법은 웅성면양의 경동맥으로부터 heparin처리 주사기로 취한 후 동량의 Al-server's 완충액(pH 6.1)을 가하여 4°C에서 보존하여 2주일 이내에 사용하였다. 보존중인 sRBC를 사용할 때에는 사용 직전 phosphate-buffered saline(이하 PBS: Gibco Co., Grand Island, N.Y., U.S.A.)로 3회 원심 세척한 후 적절한 농도로 Hanks' balanced salt solution(이하 HBSS: Gibco Co., Grand Island, N.Y., U.S.A.)에 부유시켜 사용하였다.

면역 - 원심 세척한 sRBC를 Reed 등²⁵⁾의 방법을 참고하여 HBSS에 1×10^8 cells/ml의 농도로 부유시키고, 그 부유액 0.1 ml(1×10^7 cells)를 생쥐의 꼬리 정맥에 주사하여 면역을 유도하였다.

혈청의 분리 및 불활성화 - 생쥐의 경동맥을 절단하여 혈액을 채혈하여 응고시킨 후, 원심분리하여 혈청을 분리하고 56°C에서 30분간 불활성화시킨 후 4°C에서 보존하여 사용하였다.

비장세포 부유액의 조제²⁶⁾ - 비장을 생쥐로부터 무

균적으로 적출하여 minimum essential medium (MEM; Gibco Co., Grand Island, N.Y., U.S.A.)으로 조심스럽게 분쇄한 후 nylon mesh로 여과하여 큰 세포덩어리를 제거하였으며, 한냉 MEM으로 4°C에서 3회 원심 세척한 후, 비장세포수가 2×10^7 cells/ml가 되도록 HBSS에 부유시켰다. 매 실험때마다 비장세포의 생존을 검사를 trypan blue exclusion method로 다음과 같이 실시하였다. 시험관에 0.3 ml의 세포 부유액을 넣은 후, 0.1 ml의 trypan blue dye 용액을 가하여 5분 경과 후 백혈구 계산판에서 무색인 생세포와 적색으로 염색된 사세포 수를 측정한 후, 그 백분율을 계산하였다.

족저종창반응의 측정(footpad swelling test) - 지연형 과민반응(delayed-type hypersensitivity reaction; DTH)을 측정하기 위하여 Yoshikai 등²⁶⁾이 기술한 방법에 준하여 다음과 같이 실시하였다. 즉 면역 4일 후에 sRBC 0.05 ml(1×10^8 cells)를 생쥐의 좌측후지 족척에 피내주사하였다. 주사 후 일정시간 경과한 후 종창의 두께를 0.01 mm 눈금 microcaliper(Mitutoyo Mfg. Co., Ltd., Japan)로 측정하였으며, 측정에 따른 오차를 피하기 위하여 2회 측정된 수치를 평균하였다. 판독기준은 Sugimoto 등²⁷⁾의 판독기준에 따라, 다음과 같이 24시간 경과 후의 반응을 DTH로 간주하였다.

Footpad swelling index =

$$\frac{\text{종창두께} - \text{정상두께}}{\text{정상두께}} \times 100$$

대식세포 활성도의 측정 - 대식세포의 탐식능력을 측정하고자, 본 실험에서는 Biozzi 등²⁸⁾이 기술한 방법에 준하여 다음과 같이 실시하였다. 즉, 최종 약물투여 2일 후에 Rotring ink를 1% gelatin 수용액으로 6배 희석한 현탁액을 조제하여 37°C에 보관하였다. 위와 같이 조제한 colloid상 탄소현탁액을 흰쥐 체중 g당 0.01 ml씩 꼬리정맥내로 주사하였다. 그 후 생쥐의 안와후부 정맥혈관총(retro-orbital plexus)을 calibrated heparinized capillary tube(20 μ l; microhematocrit)로 천자하여 20 μ l의 혈액을 10, 20 및 30분 간격으로 취하여 0.1% sodium carbonate용액 2 ml가 든 test tube에 넣어서 적혈구가 용해되도록 잘 혼합하였다. 이어서 흡광도를 600 nm에서 측정하고 다음 공식에 따라 계산하였다. 실험동물의 체중, 간장 및 비장의 무게를 측정하고, 이들로부터 phagocytic coefficient와 cor-

rected phagocytic index를 계산하였다.

$$\text{Corrected phagocytic index} = [B(L+S)] \times \sqrt[3]{K}$$

B : Body weight

L : Liver weight

S : Spleen weight

K : Phagocytic coefficient

(측정농도의 10배수를 log로 전환하고 시간에 대하여 도면에 표시한 그래프 곡선)

말초순환 백혈구수의 측정 - 생쥐의 안구정맥총으로부터 말초혈액을 취하고 Turk액으로 희석하여 혈구계산판상에 적정한 후, 백혈구 총수를 측정하였다.

Natural killer cell 활성도의 측정 - 실험 최종일에 생쥐를 치사시켜 전술한 방법으로 비장세포를 분리하여 RPMI 1640배지에 2×10^7 cells/ml의 농도로 현탁시켜 작동세포로써 이용하였다. 표지세포로는 YAC-1 cell을 이용하였으며, Kiesseling 등의 방법²⁹⁾으로 방사선 동위원소 sodium chromate(새한산업주식회사)를 labeling한 후, 2×10^5 cells/ml의 농도로 부유시켜 사용하였다. 이때 세포생존율이 95%이상 되게하였다. 작동세포(임파구)와 표지세포의 비율은 100 : 1로 하였다. ⁵¹Cr이 표지된 표지세포(2×10^5 cells/ml) 100 μ l와 작동세포(1×10^7 cells/ml) 100 μ l를 96 well tissue culture plate(Flow Lab., U.S.A.)의 각 well에 혼합한 후, 37°C 5% CO₂ incubator(Forma, U.S.A.)에서 5시간 배양하였다. 이 tissue culture plate를 500 \times g에서 10분간 원심분리한 후, 상층액 100 μ l씩을 취하여 gamma counter(Beckman, U.S.A.)로 radioactivity를 측정하였다. 각 실험은 3배수로 실시하였으며, percent specific lysis를 다음의 식에 의하여 산출하였다.

Specific Lysis(%) =

$$\frac{\text{c.p.m. in experiment} - \text{c.p.m. spontaneous release}}{\text{c.p.m. maximal release} - \text{c.p.m. spontaneous release}} \times 100$$

여기에서 c.p.m. spontaneous는 실험군의 상정액 100 μ l의 방사선량, c.p.m. spontaneous release는 작동세포가 들어있지 않고 표지세포만 들어있는 대조군의 상정액 100 μ l의 방사선량이고, c.p.m. maximal release는 표지세포(10^4 cells in 100 μ l) triton X-100 1% 용액 100 μ l를 가하여 얻었으며 표시된 방사능의

95% 이상이 되게 하였다. c.p.m. spontaneous release는 c.p.m. maximal release의 10% 이내가 되게 하였다.

Sarcoma 180으로 이식한 생쥐에서 대식세포 활성화도의 측정 - 조제한 sarcoma 180 cell 용액을 생쥐에 0.1 ml(1.0×10^6 cells/mouse)씩을 복강내에 이식한 뒤 24시간 후부터 14일간 각각의 실험약물을 투여하여 위의 정상생쥐에서의 대식세포 활성화도와 동일한 방법으로 측정하였다.

통계학적 분석 - 모든 자료는 mean \pm standard error(S.E.)로 나타냈으며, 유의성 검사는 Student's *t*-test로 행하였다.

실험결과

생쥐에 있어서 lipopolysaccharide의 세포성 면역반응에 미치는 swainsonine의 영향에 대한 실험결과는 다음과 같다.

지연형 과민반응에 미치는 영향 - 지연형 과민반응의 결과는 Table I에서 보는 바와 같이, 대조군이

Table I—Effects of swainsonine on delayed type hypersensitivity, the number of circulating leukocyte and natural killer cells activity of lipopolysaccharide in ICR mice

Group	FPSI ¹⁾	Number of circulating leukocyte (/mm ³) ²⁾	NK activity (E:T=100:1) ³⁾
Control	35.06 \pm 7.70	7.017 \pm 241	8.40 \pm 0.17
LPS	26.98 \pm 6.46	5.317 \pm 533*	8.91 \pm 0.96
SW+LPS	29.42 \pm 6.63	7.375 \pm 672 ¹⁾	12.32 \pm 2.37
SW	40.23 \pm 6.03	6.033 \pm 515	18.27 \pm 2.68**

LPS: Lipopolysaccharide. SW: Swainsonine. LPS was given to each mouse 1 hr after *i.p.* injection with 3.7 mg/kg of swainsonine by *i.p.* injection twice a week for 14 days at a dose of 2 mg/kg. ¹⁾Mice were challenged *s.c.* with 10^8 sRBC on left hind footpad day 4 after immunization. Footpad swelling index (FPSI) = $[(T_{24}-T_0)/T_0] \times 100$, where T_0 is the left hind footpad thickness immediately before challenge and T_{24} is the left hind footpad thickness 24 hr after challenge. ²⁾Blood samples for measuring leukocytes in mice were collected from the retro-orbital plexus immediately before assay. ³⁾The % lysis was determined by a standard 4 hrs ⁵¹Cr release assay and effector to target ratio was 100:1. Each value represents the mean \pm S.E. of 10 mice. Asterisks denote a significant difference compared with control group (* $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$). Section marks denote a significant between LPS and LPS plus SW groups (¹⁾ $p < 0.05$).

35.06 \pm 7.70%인데 비해 LPS 단독투여군과 LPS와 SW 병용투여군에서는 유의성이 없게 감소되었으며, LPS와 SW 병용투여군에서는 LPS 단독투여군에 비해 증가되었으나 유의성은 없었다.

말초순환 백혈구수에 미치는 영향 - 말초순환 백혈구수에 대한 결과는 Table I에서 보는 바와 같이, 대조군의 백혈구수가 7,017 \pm 241 WBC/mm³인데 비해 LPS 단독투여군에서는 5,317 \pm 533 WBC/mm³으로 유의성 있게 감소되었으며, LPS와 SW 병용투여군에서는 7,375 \pm 672 WBC/mm³로 거의 변화가 없었으나 LPS 단독투여군에 비해 유의성 있게 증가되었다.

Natural killer(NK) 세포의 활성화에 미치는 영향 - NK 세포의 활성화에 대한 실험은 Table I에서 보는 바와 같이, effector cell : target cell의 비율이 100:1일때, 대조군의 NK 세포의 활성이 8.40 \pm 0.17인데 비해 SW 단독투여군 및 LPS와 SW 병용투여군에서 증가되었으나 LPS 단독투여군에서는 변화가 거의 없었으며, LPS와 SW 병용투여군은 LPS 단독투여군에 비해 유의성은 없는 증가를 보였다.

대식세포의 활성화에 미치는 영향 - 대식세포의 탐식능을 측정하여 corrected phagocytic index로 환산한 결과는 Table II에서 보는 바와 같이, 정상생쥐에서는 대조군의 대식세포 활성이 4.10 \pm 0.39인데 비해 LPS 단독투여군과 LPS와 SW 병용투여군에서는 변화가 거의 없었으며, LPS와 SW 병용투여군은 LPS 단독투여군에 비해 유의성 없게 감소되었다. Sarcoma 180을 복강내에 이식한 생쥐에서는 대조군의 대식세포 활성이 4.18 \pm 0.46인데 비해 SW 단독투여군에서 5.64 \pm 0.21로 유의성 있게 증가되었으나, LPS 단독투여군에서 유

Table II—Effects of swainsonine on phagocytic activity of lipopolysaccharide in normal¹⁾ and sarcoma 180 bearing²⁾ mice

Group	Corrected phagocytic index ¹⁾	Corrected phagocytic index ²⁾
Control	4.10 \pm 0.39	4.18 \pm 0.46
LPS	4.21 \pm 0.62	3.12 \pm 0.62
SW+LPS	3.91 \pm 0.48	2.90 \pm 0.18*
SW	4.96 \pm 0.50	5.64 \pm 0.21*

LPS: Lipopolysaccharide. SW: Swainsonine. ^{1,2)}Corrected phagocytic index is a constant obtained from a formula relating the cube root of K to the ratio of body weight to the weights of the liver and spleen. Each value represents the mean \pm S.E. of 10 mice. Other legends and methods are the same as in Table I (* $p < 0.05$).

의성 없게 감소되었고, LPS와 SW 병용투여군에서는 2.90 ± 0.18 로 유의성 있게 감소되었으며 LPS 단독투여군에 비해서도 유의성 없게 감소되었다.

고 찰

LPS의 세포성 면역반응에 미치는 SW의 영향이 기대되어 실시한 본 실험결과에 대한 고찰은 다음과 같다.

본 실험에서 즉각중창반응에 의해 측정된 지연형 과민반응에서 LPS와 SW 병용투여군에서는 LPS 단독투여군보다 유의성 없는 증가를 보였다(Table I). 이는 LPS가 *in vitro*에서 trinitrophenyl-sRBC에 대한 helper T 세포의 활성을 억제하였다는 Uchiyama 등⁵⁾의 보고와, C3H/HeOla 생쥐에서 LPS가 ovalbumin에 의해 유도된 혈청 IgG 항체에 대한 반응은 저해하였으나 지연형 과민반응에 대한 반응에는 변화를 주지 않았다는 Mowat 등¹⁰⁾과 Claman 등¹¹⁾의 보고와, *in vitro*에서 임파구증식억제반응에서 concanavalin A의 작용을 SW이 정상 수준으로 회복시켰다는 Hino 등¹⁹⁾의 보고로 미루어, LPS가 helper T cell의 활성을 억제하는데, SW이 T 임파구증식작용에 영향을 미쳐 LPS 단독투여보다 SW 병용투여 시 지연형 과민반응이 증가된 것으로 사료되나 SW의 영향에 따른 유의성은 없었다.

말초순환 백혈구수는 LPS 단독투여군에 비해 LPS와 SW 병용투여군에서 유의성 있게 증가되었다(Table I). 이는 흰쥐에서 LPS 투여 후 말초순환 백혈구수가 감소되었다는 Smedegard 등³⁰⁾의 보고와, *in vitro*에서 SW이 골수세포 증식을 촉진한다는 Olden 등¹⁶⁾의 보고로 미루어, LPS에 의해 감소된 말초순환 백혈구수가 SW의 강력한 골수세포 증식작용에 의하여 정상으로 회복된 것으로 사료된다.

Natural killer cell의 활성은 대조군에 비해 LPS 단독투여군에서 변화가 거의 없었으며, LPS와 SW 병용투여군에서는 LPS 단독투여군에 비해 유의성 없게 증가되었다(Table I). 이는 IL-1이 NK cell을 활성화시켰다는 Dinarello 등³¹⁾의 보고와, TNF가 human natural killer cell의 활성을 증진시켰다는 Ostensen 등³²⁾의 보고와, SW을 투여한 생쥐에서 NK cell 활성이 2~3배 증가되었다는 Humphries²⁰⁾ 등의 보고로 미루어, NK cell에 영향을 주는 LPS의 림포카인 분비작용에 SW이 상승적으로 작용하여 NK cell 활성을 증가시

킨 것으로 사료되나 대체로 SW의 영향에 따른 유의성은 없었다.

대식세포의 활성은 항원에 의한 면역능의 발현 및 interleukin의 분비에 중요한 역할을 하며 그 탐식능이 망상조직내피계에 대한 영향의 측정지표로써 이용되고 있는 바, 정상 생쥐 및 sarcoma 180을 복강내에 이식한 생쥐에서 대식세포 활성은 LPS와 SW 병용투여군에서는 LPS 단독투여군에 비해 각각 유의성 없게 감소되었다(Table II). 이상의 결과들은 LPS가 macrophage와 mononuclear cell을 자극하여 많은 mediator를 유리한다는 Morrison 등³³⁾의 보고와, SW이 *in vivo*와 *in vitro*에서 생쥐의 macrophage를 활성화시킨다는 Fidler 등³⁴⁾의 보고로 미루어, 정상 생쥐 및 sarcoma 180을 이식한 생쥐에서 SW이 T세포의 증식과 림포카인 등의 분비를 촉진하므로써 대식세포 활성을 더욱 증가시키는 것으로 사료되나, LPS 단독투여보다 SW 병용투여시 대식세포의 활성이 억제된 것으로 보아 대식세포 활성과 관련된 림포카인의 분비 등에 상호 길항작용이 있는 것 같으나, 이에 대한 정확한 기전을 구명하기 위해서는 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 생각된다.

LPS 단독투여에 비해 LPS와 SW 병용투여시 세포성 면역반응이 영향을 받지 않았으나 말초순환 백혈구수는 유의성 있게 증가되었다. 따라서 이에 대한 정확한 기전을 구명하기 위해서는 더 많은 연구가 진행되어야 할 것으로 사료된다.

결 론

Lipopolysaccharide(LPS)의 생쥐의 세포성 면역반응에 미치는 swainsonine(SW)의 영향에 관하여 실험한 결론은 다음과 같다.

1. LPS 단독투여는 대조군에 비해 대식세포의 활성과 NK cell의 활성을 거의 변화시키지 않았으며, 지연형과민반응과 sarcoma 180으로 이식시킨 대식세포의 활성을 유의성 없게 감소시켰고, 특히 말초순환백혈구수를 유의하게 감소시켰다.

2. LPS와 SW 병용투여는 LPS 단독투여에 비해 말초순환 백혈구수를 유의성 있게 증가시켰으며, 정상생쥐와 sarcoma 180으로 이식시킨 생쥐의 대식세포의 활성은 유의성 없게 감소시켰다.

이상의 결과로 보아 SW은 LPS에 의해 저하된 세포

성 면역반응에 영향을 주지 않았으나 말초순환 백혈구 수는 유의성있게 증가시켰다.

문 헌

- 1) Zarowitz, B. J. : Human monoclonal antibody against endotoxin. *DICP, Ann. Pharmacother.* **25**, 778 (1991).
- 2) Morrison, D. C. and Ryan, J. L. : Bacterial endotoxins and host immune responses. *Adv. Immunol.* **28**, 293 (1979).
- 3) Friedman, H., Specter, S. and Butler, R. C. : Beneficial effects of endotoxins. *Plenum Press. New York* 273 (1983).
- 4) Carswell, E. A., Old, L. J., Kassel, R. L., Green, S., Fiore, N. and Williamson, B. : An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **72**, 3666 (1975).
- 5) Uchiyama, T. and Jacobs, D. M. : Modulation of immune response by bacterial lipopolysaccharide (LPS): Multifocal effects of LPS-induced suppression of the primary antibody response to a T-dependent antigen. *J. Immunol. U.S.A.* **121**, 2340 (1978).
- 6) McGhee, J. R., Farrar, J. J., Michalek, S. M., Mergenhagen, S. E. and Rosenstreich, D. L. : Cellular requirements for lipopolysaccharide adjuvanticity: A role for both T lymphocytes and macrophages for *in vitro* responses to particulate antigens. *J. Exp. Med.* **149**, 793 (1979).
- 7) Raziuddin, S., Kibler, R. F. and Morrison, D. C. : Prevention of experimental allergic encephalomyelitis by bacterial lipopolysaccharides: Inhibition of cell-mediated immunity. *J. Immunol.* **127**, 13 (1981).
- 8) Moore F. D., Socher, S. H. and Davis, C. : Tumor necrosis factor and endotoxin can cause neutrophil activation through separate pathways. *Arch. Surg.* **126**, 70 (1991).
- 9) Pohlman, T. H., Stanness, K. A., Beatty, P. G., Ochs, H. D. and Harlan, J. M. : An endothelial cell surface factor (S) induced *in vitro* by lipopolysaccharide, interleukine 1 and tumor necrosis factor- α increase neutrophil adherence by a CDw18-dependent mechanism. *J. Immunol.* **136**, 4548 (1986).
- 10) Mowat, A. McI, Thomas, M. J., Mackenzie, S. and Parrott, D. V. : Divergent effects of bacterial lipopolysaccharide on immunity to orally administered protein and particulate antigens in mice. *J. Immunol.* **58**, 677 (1986).
- 11) Claman, H. N. : Tolerance to a protein antigen in adult mice and the effect of non-specific factors. *J. Immunol.* **91**, 833 (1963).
- 12) Mannel, D. N., Moore, R. N. and Mergenhagen, S. E. : Macrophages as a source of tumoricidal activity (tumor necrotizing factor). *Infect. Immunol.* **30**, 523 (1980).
- 13) Taffet, S. M. and Russell, S. W. : Macrophage-mediated tumor cell killing: Regulation of expression of cytotoxic activity by prostaglandin E. *J. Immunol.* **126**, 424 (1980).
- 14) Broquist, H. P. : The indolizidine alkaloids, slaframine and swainsonine: Contaminants in animal forages. *Ann. Rev. Nutr.* **5**, 391 (1985).
- 15) Myc, A., Kunicka, J. E., Melamed, M. R. and Darzynkiewicz, A. : Effect of swainsonine on stimulation of cell cycle progression of human lymphocytes. *Cancer Res.* **49**, 2879 (1989).
- 16) Olden, K., Breton, P., Grzegorzewski, K., Yasuda, Y., Gause, B. L., Oredipe, O. A., Newton, S. A. and White, S. L. : The potential importance of swainsonine in therapy for cancers and immunology. *Pharmac. Ther.* **50**, 285 (1991).
- 17) Dennis, J. W., Koch, K. and Beckner, D. : Inhibition of human Hi 29 colon carcinoma growth *in vitro* and *in vivo* by swainsonine and human interferon- α_2 . *J. Natl. Cancer Inst.* **81**, 1028 (1989).
- 18) Humphries, M. J., Matsumoto, K., White, S. L., Molyneux, R. T. and Olden, K. : An assessment of the effects of swainsonine on survival of mice injected with B16-F10 melanoma cells. *Clin. Exp. Metast.* **8**, 89 (1990).
- 19) Hino, M., Nakayama, O., Tsurumi, Y., Adachi, K., Shibata, T., Terano, H., Kohsaka, M., Aoki, H. and Imanaki, H. : Studies of an immunomodulator, swainsonine I: Enhancement of immune response by swainsonine *in vitro*. *J. Antibiot.* **38**, 926 (1985).
- 20) Humphries, M. J., Matsumoto, K. and White, S. L. : Augmentation of murine natural killer cell activity by swainsonine, a new antimetastatic im-

- munomodulator. *Cancer Res.* **48**, 1410 (1988).
- 21) White, S. L., Nagai, T., Akiyama, S. K., Reeves, E. J., Grzegorzewski, K. and Olden, K. : Swainsonine stimulation of the proliferation and colony forming activity of murine bone marrow. *Cancer Commun.* **3**, 83 (1991).
 - 22) Grzegorzewski, K., Newton, S. A., Akiyama, S. K., Sharrow, S., Olden, K. and White, S. L. : Induction of macrophage tumoricidal activity, major histocompatibility complex class II antigen (I g^b) expression and interleukin-1 production by swainsonine. *Cancer Commun.* **1**, 373 (1989).
 - 23) Kino, T., Inamura, N., Nakahara, K., Kiyoto, S., Goto, T., Terano, H., Kohasaka, M., Aoki, H. and Imanaka, H. : Studies of an immunomodulator, swainsonine II: Effect of swainsonine on mouse immunodeficient system and experimental murine tumor. *J. Antibiot.* **38**, 936 (1985).
 - 24) Humphries, M. J., Matsumoto, K., White, S. L. and Olden, K. : Oligosaccharide modification by swainsonine treatment inhibits pulmonary colonization of B16-F10 murine melanoma cells. *Proc. Natn. Acad. Sci. U.S.A.* **83**, 1752 (1986).
 - 25) 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. Sordeted. Karger Baselip.* 184 (1984).
 - 26) Yoshikai, Y., Maie, S., Matsumoto, T., Nomoto, K. and Takeya, K. : Effect of stimulation and blockade of mononuclear phagocyte system on the delayed foot pad reation to SRBC in mice. *J. Immunol.* **38**, 577 (1979).
 - 27) Sugimoto, M., Kojima, A. M., Yaginuma, K. and Gashira, Y. E. : Cell mediated and humoral immunity in mice. *Jpn. J. Med. Sci. Biol.* **28**, 32 (1975).
 - 28) Biozzi, G., Benacerraf, B., Stiffel, C. and Halpern, B. N. : Etude quantitative du l' acivite granulopexique du system reticuloentherial chez la souris. *C. R. Soc. Biol. Paris* **148**, 431 (1954).
 - 29) Kiesseling, R., Kleing, E. and Wigzell, H. : Natural killer cell in mouse. *Eur. J. Immunol.* **5**, 112 (1975).
 - 30) Smedegard, G., Cui, L. and Hugli, T. E. : Endotoxin-induced shock in the rat: A role for C 5a. *Am. J. Pathol.* **135**, 489 (1989).
 - 31) Dinarello, C. A. : Biology of interleukin-1. *FASEB J.* **2**, 108 (1988).
 - 32) Ostensen, M. E., Thiele, D. L. and Lipsky, P. E. : Tumor necrosis factor enhances cytolytic activity of human natural killer cells. *J. Immunol.* **138**, 4185 (1987).
 - 33) Morrison, D. C. and Ryan, J. L. : Endotoxins and disease mechanisms. *Ann. Rev. Med.* **38**, 417 (1987).
 - 34) Fidler, I. J. and Poste, G. : Macrophage-mediated destruction of malignant tumor cells and new strategies for the therapy of metastatic disease. *Springer, Semin. Immunopath.* **5**, 161 (1982).