

## 리포폴리사카라이드의 면역생물학적 반응에 미치는 염화아연의 영향

채 병 숙

우석대학교 환경공학과

(Received October 9, 1998)

### Effects of Zinc chloride on the Immunobiological Responses of Lipopolysaccharide

Byeong Suk Chae

Department of Environmental Engineering, Woosuk University, Samrae-Up 565-701, Korea

**Abstract**—Effects of zinc chloride (Zn) on the immune responses of lipopolysaccharide (LPS) were studied by using ICR mice. Mice were divided into 4 groups (10 mice/group), and Zn was given to the mice with *i.p.* injection at 0.3 mg/kg 5 times a week for 14 days, and 1 hr after Zn administration, LPS was given with *i.p.* injection at 5 mg/kg twice a week. Mice were immunized and challenged with sheep red blood cells (SRBC). Immunobiological responses were evaluated by humoral, cellular and non-specific immunity. LPS treatment significantly increased the relative weights of spleen and thymus, hemagglutination titer (HA) and proliferation of splenocytes compared with those in controls, but significantly decreased the body weight gain. Zn treatment significantly increased proliferation of splenocytes and circulating leukocytes compared with those in controls. Combination of Zn and LPS significantly decreased the body weight gain and proliferation of splenocytes compared with those in controls. Combination of Zn and LPS significantly decreased HA and proliferation of splenocytes than in LPS alone. These findings indicate that zinc lowered the humoral immune responses of LPS.

**Keywords** □ Lipopolysaccharide, zinc, hemagglutination titer, proliferation of splenocyte, phagocytic activity, circulating leukocyte.

아연은 동·식물 및 인체의 생명을 유지하는데 필수 미량원소<sup>1,2)</sup>로서, 특히 면역 조절에 있어서 매우 중요한 역할을 하고 있으며 아연결핍 및 과량투여에 따른 면역 기능의 저하에 대하여 많이 연구되어왔다.<sup>3-5)</sup> 아연에 대한 면역학적 보고에 의하면, 아연이 interleukin(IL)-1 $\beta$ , IL-6, tumor necrosis factor(TNF)- $\alpha$  및 interferon(IFN)- $\gamma$  등의 유리를 유도하므로써 면역조절에 관여하고 있다고 보고되었고,<sup>6-8)</sup> Nakajima 등<sup>9)</sup>은 *in vitro*에서 아연이 농도의존적으로 IFN- $\gamma$ 와 IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ 의 유리를 증가시켰다고 보고하였다.

Lipopolysaccharide(LPS)는 macrophage를 자극하여 IL-1 $\beta$ , IL-6 및 TNF- $\alpha$  등 cytokine의 유리를 촉진시키므로써 그람 음성균의 감염이나 septicemia로 오랫동안 고생하는 환자에게 근본적인 병리현상의 원인이 되고 있으나<sup>10,11)</sup> 또한 유리되는 림포카인의 상호 작용에 의하여 종양의 용혈성 괴사와 강력한 B cell mitogen 및 T-independent antigen으로써 면역증강 작용 등을 가지고 있다고 보고되었다.<sup>12-14)</sup>

LPS와 아연과의 관련성에 대한 연구에 의하면, LPS에 대한 아연의 보호작용에 대한 보고로 Singh 등<sup>15)</sup>은 아연이 LPS의 anaphylaxis에 대한 저항성을 가지므로써 생쥐의 생존율을 월등히 상승시켰다고 보고하였고, Pekarek 등<sup>16)</sup>은 여러 감염성 질환과 endotoxemia를

\* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로  
(전화) 0652-290-1426 (팩스) 0652-291-9312

않고 있는 malignancy 환자의 아연 혈중농도가 빠르고 유의성 있게 감소되었다고 보고하였고, Nakajima 등<sup>9)</sup>은 metallothionein(MT)농도가 낮은 아연결핍 흰쥐의 골수에서 LPS가 골수세포의 감소와 adipocyte의 증가를 가져왔으나 정상식을 한 흰쥐에서는 LPS에 의해 어떤 상해도 유도되지 않았다고 보고하였고, Flieger 등<sup>17)</sup>은 *in vitro*에서 TNF- $\alpha$ 의 세포독성에 대하여 아연이나 카드뮴으로 유도된 MT이 보호효과가 있다고 보고하였고, Malave 등<sup>18)</sup>은 *in vitro*에서 아연이 trinitrophenyl-LPS, sheep erythrocyte 및 LPS에 의한 항체반응을 증가시켰다고 보고하였다. 그러나 이와 상반된 보고로서, Driessen 등<sup>19)</sup>은 human peripheral blood mononuclear cell과 whole blood에서 LPS와 아연의 병용투여로 IL-1 $\beta$ 분비가 증가되었다고 보고하였고, Wellinghausen 등<sup>20)</sup>은 아연이 LPS의 유도상태 변화를 유도하므로써 LPS에 의한 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$ 의 유도를 증가시켰다고 보고하므로써 그람 음성균에 감염된 환자에게 치료목적으로 아연을 투여하는 것은 잠재적 위험성을 지닌다고 주장하였다.

따라서 그람 음성균에 감염되었을 때 아연이 LPS의 면역생물학적 반응에 영향을 미칠 것으로 사료되었으며 이에 대하여 연구된 바가 없고 LPS에 대한 아연의 보호작용에 대한 연구가 상반되어 있어 본 실험을 실시한 바 유의한 지견을 얻었기에 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 $^{\circ}$ C, 습도 50~60%로 유지되는 항온, 항습 사육실에서 14일간 사육하였다.

**Lipopolysaccharide(LPS) 용액의 조제 및 투여** - Lipopolysaccharide(*Escherichia coli* Serotype 0127: B8 Sigma Co., Ltd., U.S.A.)를 주사용 생리식염수에 용해시켜 체중 kg당 5 mg을 14일간 1주일에 2회 일정한 시각에 복강내 주사하였다.

**Zinc chloride(Zn) 용액의 조제 및 투여** - Zinc chloride(Sigma Co., Ltd., U.S.A.)을 주사용 생리식

염수에 용해시켜 체중 kg당 0.3 mg을 14일간 1주일에 5회 LPS 투여 1 시간 전에 복강내 주사하였다.

**체중 및 장기의 중량계측** - 실험동물의 체중은 실험 개시일과 최종일 약 24시간 전에 절식시킨 후 동일한 시간에 측정하였다. 실험 최종일에 실험동물의 경동맥을 절단하고 혈액을 취한 후, 간장, 비장 및 흉선을 각각 적출하고 그 중량을 측정하여 대체중 백분비를 구하였다.

**항원조제** - 면양적혈구(sheep red blood cell: SRBC)를 사용하였는데, 그 방법은 음성면양의 경동맥으로부터 heparin처리 주사기로 혈액을 취한 후 동량의 Alserver's 완충액(pH 6.1)을 가하여 4 $^{\circ}$ 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 등의 방법<sup>21)</sup>을 참고하여 HBSS에 1 $\times 10^8$  cells/ml의 농도로 부유시키고, 그 부유액 0.1 ml(1 $\times 10^7$  cells)를 생쥐의 꼬리 정맥에 주사하여 면역을 유도하였다.

**혈청의 분리 및 불활성화** - 생쥐의 경동맥을 절단하여 혈액을 취하여 응고시킨 후 원심분리하여 혈청을 분리하고, 56 $^{\circ}$ C에서 30분간 불활성화시킨 후 4 $^{\circ}$ C에서 보존하여 사용하였다.

**적혈구응집소(Hemagglutination titer; HA)의 측정<sup>22,23)</sup>** - SRBC의 응집소가를 microtitration trays (Limbro Chemical Co., Inc. New Haven, C. T., U.S.A.)를 사용하여 다음과 같이 실시하였다. 즉, 각 실험동물로부터 얻은 각 불활성화된 혈청을 각 well에 HBSS로 2배 계열로 희석한 후, HBSS에 부유한 0.5% SRBC 0.025 ml를 잘 혼합한 다음 37 $^{\circ}$ C에서 18시간 정치하여 적혈구의 응집유형을 관찰 판독하였으며, 응집을 일으키는 혈청의 최고 희석도를 그 혈청의 응집소가로 하였다.

**비장세포 부유액의 조제<sup>21)</sup>** - 비장을 생쥐로부터 무균적으로 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 $^{\circ}$ C에서 3회 원심 세척한 후, 비장세포수가 2 $\times 10^7$  cells/ml가 되도록 HBSS에 부유시켰다. 매 실험 때마다 비장세포

의 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 측정하여 그 백분율을 계산하였다.

**비장세포 성장률의 측정** - Tetrazolium-based colorimetric 검색법<sup>24)</sup>을 참고하여 96 well plate의 각 well에 RPMI 1640(Gifco Co., Grand Island, N.Y., U.S.A.) 배지로 희석한 비장세포 부유액 100  $\mu$ l( $2 \times 10^4$  cells/well)를 넣고 37°C의 CO<sub>2</sub> incubator에서 48시간 배양하였다. 배양 종료 4시간 전에 5 mg/ml 농도로 희석된 MTT 시약(Sigma Co., Ltd., U.S.A.) 20  $\mu$ l를 각 well에 첨가하고 배양종료 시 0.1N HCl에 용해시킨 10% sodium dodecyl sulfate(Sigma Co., Ltd., U.S.A.) 100  $\mu$ l를 각 well에 첨가한 후, 차광 상태에서 18시간 더 배양한 다음 발색된 각 well의 흡광도를 ELISA reader(Molecular Devices Co., U.S.A.S.)로 540 nm에서 측정하여 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산하여 세포성장률로 산정하였다.

$$\frac{\text{mean optical density in test well}}{\text{mean optical density in control well}} \times 100$$

**대식세포 활성도의 측정** - 본 실험에서는 Biozzi 등<sup>25)</sup>이 기술한 방법에 준하여 대식세포의 탐식능력 측정을 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 꼬리 정맥내로 주사하였다. 그 후 생쥐의 안와후부정맥혈관총(retro-orbital plexus)을 calibrated heparinized capillary tube(20  $\mu$ l : microhematocrit)로 천자하여 20  $\mu$ l의 혈액을 10, 20 및 30분 간격으로 혈액을 취하여 0.1% sodium carbonate용액 2 ml가 든 test tube에 넣어서 적혈구가 용해되도록 잘 흔화하였다. 이어서 흡광도를 600 nm에서 측정하고 다음 공식에 따라 계산하였다. 실험동물의 체중, 간장 및 비장의 무게를 측정하고, 이들로부터 phagocytic coefficient와 corrected phagocytic index를 계산하였다.

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

B: Body weight

L: Liver weight

S: Spleen weight

K: Phagocytic coefficient(측정농도의 10배수를 log로 전환하고 시간에 대하여 도면에 표시한 그 래프 곡선)

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

**통계학적 분석**<sup>26)</sup> - 모든 자료는 mean  $\pm$  standard error(S.E.)로 나타냈으며 유의성 검사는 Student's t-test로 행하였다.

## 실험결과

생쥐에 있어서 LPS의 면역생물학적 반응에 미치는 zinc chloride의 영향에 대한 실험결과는 다음과 같다.

**체중 및 장기의 변화** - 각 군의 체중변화는 Table I에서 보는 바와 같이, 대조군의 체중 증가율이 24.60  $\pm$  2.87%인데 비해 LPS 단독투여군과 Zn와 LPS 병용투여군에서 각각 15.49  $\pm$  2.97% 및 10.90  $\pm$  4.21%로 유의성 있게 감소되었으며, LPS 단독투여군에 비해 Zn와 LPS 병용투여군에서도 유의성 없는 감소가 있었다.

흉선의 중량 변화는 Table I에서 보는 바와 같이, 대조군이 0.24  $\pm$  0.03%인데 비해 LPS 단독투여군 및 Zn와 LPS 병용투여군에서 각각 0.30  $\pm$  0.06% 및 0.29  $\pm$  0.06%로 증가되었고 LPS 단독투여군에서 유의성이 있었으며, LPS 단독투여군에 비해 Zn와 LPS 병용투여군에서는 거의 변화가 없었다.

비장의 중량 변화는 Table I에서 보는 바와 같이, 대조군의 비장 중량비가 0.60  $\pm$  0.05%인데 비해 LPS 단독투여군 및 Zn와 LPS 병용투여군에서 각각 0.93  $\pm$  0.10% 및 0.91  $\pm$  0.15로 증가를 보였고 LPS 단독투여군에서 유의성이 있었으며, LPS 단독투여군에 비해 Zn와 LPS 병용투여군에서는 거의 변화가 없었다.

간장변화는 Table I에서 보는 바와 같이, 대조군의 간장 중량비가 4.04  $\pm$  0.43%인데 비해 LPS 단독투여군과 Zn와 LPS 병용투여군에서 각각 5.00  $\pm$  0.36% 및 5.10  $\pm$  0.35%로 거의 변화가 없었다.

**적혈구응집소** - 각군의 적혈구응집소가는 Table II에서 보는 바와 같이, 대조군이 3.60  $\pm$  0.69인데 비해

**Table I**— Effects of zinc chloride on the thymus, spleen and liver weights in lipopolysaccharide-treated ICR mice

Group	Body weight gain (%)	Percentage of body weight			× 100
		Thymus	Spleen	Liver	
Control	24.60±2.87	0.24±0.03	0.60±0.05	4.04±0.43	
LPS	15.49±2.97*	0.30±0.06*	0.93±0.10**	5.00±0.36	
Zn+LPS	10.90±4.21*	0.29±0.06	0.91±0.15	5.10±0.35	
Zn	23.49±3.71	0.23±0.05	0.58±0.06	3.75±0.67	

LPS: Lipopolysaccharide. Zn: Zinc chloride. Zn was given with *i.p.* injection at 0.3 mg/kg 5 times a week for 14 days, and 1 hr after Zn administration. LPS was given with *i.p.* injection at 5 mg/kg twice a week. Each value represents the mean±S.E. of 10 mice. Asterisks denote a significant difference compared with control group (\* $p<0.05$  and \*\* $p<0.01$ ).

**Table II**— Effects of zinc chloride on the proliferation of splenocytes and antibody production in lipopolysaccharide-treated ICR mice

Group	HA titer ( $\log_2$ )	Proliferation of splenocytes (%)
Control	3.60±0.69	100.00±0.00
LPS	6.80±0.61**	113.54±4.24**
Zn+LPS	4.60±0.72 <sup>§</sup>	65.34±4.66** <sup>§§</sup>
Zn	5.00±1.03	114.34±4.75*

HA: Hemagglutination. Each value represents the mean±S.E. of 10 mice. Other legends and methods are the same as in Table I (\* $p<0.05$  and \*\* $p<0.01$ ). Section marks denote a significant between LPS and Zn plus LPS groups (<sup>§</sup> $p<0.05$  and <sup>§§</sup> $p<0.01$ ).

Zn 단독투여군, LPS 단독투여군 및 Zn와 LPS 병용투여군에서 각각 5.00±1.03, 6.80±0.61 및 4.60±0.72로 유의성 있게 증가되었으며, LPS 단독투여군에 비해 Zn와 LPS 병용투여군에서는 유의성 있게 감소되었다.

**비장세포의 세포성장률** - 대조군의 흡광도에 대한 실험군의 흡광도를 백분율로 환산한 비장세포의 성장률은 Table II에서 보는 바와 같이, 대조군 100%에 비해 Zn 단독투여군 및 LPS 단독투여군은 각각 114.34±4.75% 및 113.54±4.24%로 유의성 있는 증가를 보였고 Zn와 LPS 병용투여군에서 65.34±4.66%로 유의성 있는 감소를 보였으며, LPS 단독투여군에 비해 Zn와 LPS 병용투여군에서는 유의성 있는 감소를 보였다.

**대식세포의 활성에 미치는 영향** - 대식세포의 탐식능을 측정하여 corrected phagocytic index로 환산한 결과는 Table III에서 보는 바와 같이, 대조군의 대식세포 활성이 4.32±0.56인데 비해 Zn 단독투여군에서 4.73±0.20로 유의성 없게 증가되었으나, LPS 단독투여군에서는 4.35±0.85로 거의 변화가 없었고, Zn와 LPS 병용투여군에서는 4.08±0.37로 약간 감소되었으며, LPS 단독투여군에 비해 Zn와 LPS 병용투여군에서는 유의성

**Table III**— Effects of zinc chloride on phagocytic activity and the number of circulating leukocyte in lipopolysaccharide-treated ICR mice

Group	Corrected phagocytic index <sup>1)</sup>	Number of circulating leukocyte (/mm <sup>3</sup> )
Control	4.32±0.56	7,510±1,132
LPS	4.35±0.85	7,640±1,660
Zn+LPS	4.08±0.37	7,640±2,187
Zn	4.73±0.20	12,160±2,347**

<sup>1)</sup> 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.

<sup>2)</sup> Blood samples for measuring leukocytes in mice were collected from the retro-orbital plexus immediately before assay. Each value represents the mean±S.E. of 10 mice. Other legends and methods are the same as in Table I (\*\* $p<0.01$ ).

없게 감소되었다.

**말초순환 백혈구수에 미치는 영향** - 말초순환 백혈구수에 대한 결과는 Table III에서 보는 바와 같이 대조군의 백혈구수가 7,510±1,132 WBC/mm<sup>3</sup> 인데 비해 LPS 단독투여군에서는 12,160±2,347 WBC/mm<sup>3</sup>로 유의성 있게 증가되었으나 LPS 단독투여군과 Zn와 LPS 병용투여군에서는 각각 7,640±1,660 WBC/mm<sup>3</sup> 및 7,640±2,187 WBC/mm<sup>3</sup>로 약간 증가되었으며, LPS 단독투여군에 비해 Zn와 LPS 병용투여군에서는 거의 변화가 없었다.

## 고 찰

본 실험에서 Zn의 용량설정은 ICR 생쥐에서 염화아연의 경구 투여로 얻어진 용량에 따른 면역반응에 대한 Ahn 등<sup>27)</sup>의 보고를 참고로 하여 면역반응을 증강시켰던 0.3 mg/kg을 염화아연의 실험용량으로 정하였고,

LPS의 용량 설정은 그람 음성균의 감염에 비추어 LPS에 의한 cytokine의 작용을 알기 위하여 ICR 생쥐의 LD<sub>50</sub>(복강주사)이 25.50 mg/kg이었던 Chae 등<sup>28)</sup>의 보고에 의해 LD<sub>50</sub>의 약 5분의 1 용량인 5 mg/kg으로 하였다.

본 실험에서 정상대조군에 비해 LPS 단독투여군과 Zn와 LPS 병용투여군에서 체중증가율은 유의성 있는 감소를 가져왔으나 흉선, 비장 및 간장대 체중비는 증가되었다. 또한 LPS 단독투여군에 비해 Zn와 LPS 병용투여군에서 체중가율, 흉선 및 비장대 체중비 등이 약간 감소되었다(Table I). 체중증가율에 있어서는, LPS로 인해 유리되는 IL-1, TNF- $\alpha$  및 IL-6 등 cytokine으로 고열과 함께 섭취량 감소, 기초대사량 증가 및 당신생작용 증가 등의 작용을 일으켰다는 Klasing<sup>29)</sup>의 보고와 아연이 LPS의 유통상태 변화를 유도하므로써 LPS에 의한 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$  등의 유도를 증가시켰다는 Wellinghausen 등<sup>27)</sup>의 보고로 미루어, LPS가 IL-1 $\beta$  및 TNF- $\alpha$  등의 유리를 증가시키므로써 섭취량의 감소 및 에너지 소비를 증가시켜 체중을 감소시켰으며, 아연이 LPS의 IL-1 $\beta$  및 TNF- $\alpha$  유리를 더욱 증가시켜 Zn와 LPS 병용투여군이 LPS 단독투여군보다 체중증가율이 더욱 감소되었고 이로인하여 흉선 및 비장대 체중비가 상대적으로 증가된 것으로 생각되며, LPS 단독투여군에 비해 Zn와 LPS 병용투여군의 흉선 및 비장대 체중비가 약간 감소된 것으로 보아 LPS에 의해 유리된 림포카인의 흉선 및 비장 세포 증식이 아연에 의하여 길항작용을 갖는 것으로 사료된다.

체액성 면역반응인 적혈구 응집소가 반응에 대한 본 실험 결과 정상대조군에 비해 다른 모든 약물 투여군에서 증가되었고 LPS 단독투여군에서 유의성이 있었으며 또한 LPS 단독투여군에 비해 Zn와 LPS 병용투여군에서 유의성 있는 감소를 가져왔다. 또한 비장세포의 성장률은 대조군에 비해 Zn 단독투여군 및 LPS 단독투여군에서 유의성 있게 증가되었으나 Zn과 LPS 병용투여군에서 유의성 있게 감소되었으며 LPS 단독투여군에 비해 Zn과 LPS 병용투여군에서 유의성 있는 감소를 보였다(Table II). 이는 LPS가 강력한 B-cell mitogen이며 polyclonal B cell activator 및 T-independent antigen<sup>12)</sup>이 잘 알려져 있고, LPS가 흉선의존적인 항원에 대한 반응에서 정상 비장세포를 차단하는 suppressor cell을 유도한다는 Persson<sup>29)</sup>의 보고와, 아연결핍이 미성숙 B cell을 성숙하게 하는 trinitrophenylated-

lipopolysaccharide(TNP-LPS) 활성을 억제시켰다는 Fraker 등<sup>3)</sup>의 보고와, 여러 감염질환과 endotoxemia를 앓고 있는 malignancy 환자에서 아연의 혈중농도가 빠르고 유의성 있게 감소되었다는 Pekarek 등<sup>16)</sup>의 보고로 미루어, LPS로 인한 혈중 아연의 농도가 저하되는데도 불구하고 LPS 단독투여로 적혈구 응집소가 및 비장세포 증식률이 증가되었으나 Zn와 LPS 병용투여시 감소된 것으로 보아 T-independent antigen인 LPS가 흉선의존적 체액성면역반응을 억제시키는 림포카인을 유리시켜 흉선의존성인 아연의 체액성면역반응이 저하된 것으로 사료되며 그 기전에 대한 많은 연구가 행해져야 할 것이다.

대식세포의 활성은 항원에 의한 면역능의 발현 및 interleukin의 분비에 중요한 역할을 하며 그 탐식능이 망상조직내피계에 대한 영향의 측정지표로써 이용되고 있는 바, 정상대조군에 비해 Zn 단독투여군에서 약간 증가되었으며 LPS 단독투여군에 비하여 Zn과 LPS 병용투여군은 유의성 없는 감소를 보였다(Table III). 이는 T 세포 부재중인 마크로파지가 LPS에 의해 면역반응을 증가시키지 못했다는 McGhee 등<sup>30)</sup>의 보고와 아연이 IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  및 IFN- $\gamma$  등의 유리를 유도하므로써 단핵구의 활성과 monokine 유리로 면역반응이 이루어진다는 Driessen 등<sup>7)</sup>의 보고와, 아연이 LPS에 의한 TNF- $\alpha$ 와 IL-1 $\beta$  등의 유도를 증가시켰다는 Wellinghausen 등<sup>27)</sup>과 Klasing<sup>29)</sup>의 보고로 미루어, LPS에 의해 T 세포의 활성을 억제시키는 많은 림포카인의 유리가 아연에 의해 증가되므로써 LPS 단독투여군에 비하여 Zn과 LPS 병용투여군에서 약간 감소된 것으로 사료되며 이 기전에 대한 연구가 요구된다.

말초순환 백혈구수는 정상대조군에 비해 Zn의 단독투여군에서 유의성 있는 증가를 보였으나 LPS 단독투여군과 Zn와 LPS 병용투여군에서는 유의성 없는 증가가 있었으며 LPS 단독투여군에 비해 Zn와 LPS 병용투여군은 거의 변화가 없었다(Table III). 이는 *in vitro*에서 LPS가 호중구를 활성화시켰다는 Moore 등<sup>31)</sup>의 보고와 아연이 골수의 lipid peroxidation 확대를 감소시켰으며 감소된 백혈구수를 회복시켰다는 Thomas 등<sup>32)</sup>의 보고로 미루어, LPS와 아연이 둘 다 각각 백혈구수를 증가시키지만 LPS의 작용에 Zn이 크게 영향을 미치지 못한 것은 LPS와 아연의 병용투여로 림포카인의 작용이 서로 길항작용을 갖는 것으로 사료되며 이에 따른 명확한 기전에 대한 많은 연구가 요구된다.

## 결 론

ICR 생쥐에서 lipopolysaccharide(LPS; 5 mg/kg, 복강주사)의 면역생물학적 반응에 미치는 zinc chloride(Zn; 0.3 mg/kg, 복강주사)의 영향에 관하여 실험한 결론은 다음과 같다.

1. LPS 단독투여군은 정상대조군에 비해 흉선 및 비장의 중량비, 적혈구응집소가, 비장세포의 성장률 등이 유의성 있게 증가되었으나 체중증가율은 유의성 있게 감소되었다.

2. Zn 단독투여군은 정상대조군에 비해 비장세포의 성장률 및 말초순환 백혈구수 등이 유의성 있게 증가되었다.

3. Zn와 LPS 병용투여군은 정상대조군에 비해 체중증가율 및 비장세포의 성장률 등이 유의성 있게 감소되었다.

4. Zn와 LPS 병용투여군은 LPS 단독투여군에 비해 적혈구응집소가 및 비장세포의 성장률 등이 유의성 있게 감소되었다.

이상의 결과로 아연은 LPS의 체액성 면역반응을 유의성 있게 감소시켰다.

## 감사의 말씀

본 연구는 1998년도 우석대학교 학술연구비에 의하여 수행된 것으로 지원에 감사드립니다.

## 문 헌

- 1) Miller, W. J. : Zinc nutrition of cattle: A review. *J. Dairy Sci.* **53**, 1123 (1970).
- 2) Elcoate, P. V., Fischer, M. I., Mawscon, C. A. and Millar, M. J. : The effect of zinc deficiency on the male genital system. *J. Physiol.* **129**, 53 (1955).
- 3) Fraker, P. J., Gershwin, M. E., Good, R. A. and Prasad, A. : Interrelationships between zinc and immune function. *Fed. Proc.* **45**, 1474 (1986).
- 4) Carlomagno, M. A. and McMurray, D. N. : Chronic zinc deficiency in rat: Its influence on some parameters of humoral and cell-mediated immunity. *Nutrition Research*. **3**, 69 (1983).
- 5) Fosmire, G. J. : Zinc toxicity. *Am. J. Nutr.* **51**, 225 (1990).
- 6) Allan, J. I., Korchik, W., Kay, N. E. and McClain, C. J. : Zinc and T-lymphocyte function in hemodialysis patients. *Am. J. Clin. Nutr.* **35**, 410 (1982).
- 7) Driessen, C., Hirv, K. and Kirchner, H. : Induction of cytokines by zinc ions in human peripheral blood mononuclear cells and separated monocytes. *Lymphokine Cytokine Res.* **13**, 15 (1994).
- 8) Driessen, C., Hirv, K., Kirchner, H. and Rink, L. : Zinc regulates cytokine induction by superantigens and lipopolysaccharide. *Immunology* **84**, 272 (1995).
- 9) Nakajima, K. and Suzuki, K. : The cytotoxic effect of endotoxin on bone marrow cells in zinc deficient rats. *Tohoku J. Exp. Med.* **179**, 183 (1996).
- 10) Bone, R. C. : The pathogenesis of sepsis. *Ann. Intern. Med.* **115**, 457 (1991).
- 11) Lynn, W. A. and Golenbock, D. T. : Lipopolysaccharide antagonists. *Immunol. Today* **13**, 271 (1992).
- 12) Coutinho, A., Gronowitz, E., Bullock, W. W. and Mller, G. : Mechanism of thymus-independent immunocyte triggering: Mitogenic activation of B cells results in specific immune responses. *J. Exp. Med.* **139**, 74 (1974).
- 13) Friedman, H., Specter, S. and Butler, R. C., in Nowotny, A. (Ed.) : Beneficial effects of endotoxins. *Plenum, Press, New York* 273, (1983).
- 14) 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).
- 15) Singh, K. P., Zaidi, S. I. A., Raisuddin, S., Saxena, A. K., Murthy, R. C. and Ray, P. K. : Effect of zinc on immune functions and host resistance against infection and tumor challenge. *Immunopharmacology and immunotoxicology* **14**(4), 813 (1992).
- 16) Pekarek, R. S. and Beisel, W. R. : Effect of endotoxin on serum zinc concentrations in the rat. *Appl. Microbiol.* **18**, 482 (1969).
- 17) Fliieger, D., Riethmuller, G. and Ziegler-Heitbrock, W. L. II : Zn inhibits both tumor necrosis

- factor-mediated DNA fragmentation and cytotoxicity. *Int. J. Cancer* **44**, 315 (1989).
- 18) Malave, I., Claverie-Benureau, S. and Benaim I. R. : Modulation by zinc of the *in vitro* antibody response to T-dependent and T-independent antigens. *Immunol. Commun. (GH4)* **12**(4), 397 (1983).
  - 19) Driessen, C., Hirv, K., Kirchner, H. and Rink, L. : Divergent effects of zinc on different bacterial pathogenic agents. *J. Infectious Diseases* **171**, 486 (1995).
  - 20) Wellinghausen, N., Schromm, A. B., Seydel, U., Brandenburg, K., Luhm, J., Kirchner, H. and Rink, L. : Zinc enhances lipopolysaccharide-induced monokine secretion by alteration of fluidity state of lipopolysaccharide. *J. Immunol.* **157**(7), 3139 (1996).
  - 21) 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. Sordetted. Karger Baselip. 184 (1984).
  - 22) Coombs, R. R. A. and Fiset, M. L. : Detection of complete antibodies to egg albumin by means of a sheep red cell egg albumin antigen unit. *Brit. J. Exp. Path.* **35**, 472 (1954).
  - 23) Stavitsky, A. B. : Micro methods for the study of proteins and antibiotics. *J. Immunol.* **72**, 360 (1954).
  - 24) Carmichael, J., DeGraff, W. G., Gazdar, A. F., Minna, J. D. and Mitchell, J. B. : Evaluation of tetrazolium-based semiautomated colorimetric assay: Assessment of chemosensitivity testing. *Cancer Res.* **47**, 936 (1987).
  - 25) Biozzi, G., Benacerraf, B., Stoffel, C. and Halpern, B. N. : Etude quantitative de l'activite granulopexique du systeme reticuloentherial chez la souris. *C. R. Soc. Biol. Paris* **148**, 431 (1954).
  - 26) Snedecor, G. W. and Cochran, W. G. : Statistical methods. Iowa State University Press. Iowa 6, 1 (1967).
  - 27) Ahn, Y. K., Kim, J. H., Chae, B. S. and Cha, K. J. : Effects of zinc chloride on the immune response in ICR mice. *Yakhak Hoeji* **36**(4), 291 (1992).
  - 28) Chae, B. S., Ahn, Y. K. and Kim, J. H. : Effects of swainsonine on the humoral immune response of lipopolysaccharide. *Arch. Pharm. Res.* **20**(6), 545 (1997).
  - 29) Persson, U. : Lipopolysaccharide-induced suppression of the primary immune response to a thymus-dependent antigen. *J. Immunol.* **118**(3), 789 (1977).
  - 30) 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).
  - 31) 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).
  - 32) Thomas, J. P., Bachawski, G. J. and Girotti, A. W. : Inhibition of cell membrane lipid peroxidation by cadmium- and zinc-metallothioneins. *Biochem. Biophys. Acta.* **884**, 448 (1986).