J. Fd Hyg. Safety 20(2), 118-122 (2005)

면역기능증강성 동암 바이오스 신물질에 대한 3개월간의 마우스 투여후의 면역학적 및 혈액학적 변화

정지윤 · 안남식 · 박준석 · 조은혜 · 황재웅 · 이성훈 · 박정란 · 김선중 · 이영건 · 정윤혁 · 정지혜 · 이수진 · 이상범[1] · 구영숙[1] · 강경선 · 이영순†

서울대학교 수의과대학 공중 보건학 교실, [1](주)동암바이오스

Immunostimulatory Effects of Immu-Forte at 3 Months Post-Treatment in Mice

Ji-Youn Jung, Nam-Shik Ahn, Joon-Suk Park, Eun-Hye Jo, Jae-Woong Hwang, Seoung-Hun Lee, Jung-Ran Park, Sun-Jung Kim, Yong-Geon Lee, Yun-Hyeok Jeong, Ji-Hye Chung, Soo-Jin Lee, Sang-Bum Lee[1], Young-Sook Goo[1], Kyung-Sun Kang, and Yong-Soon Lee†

Department of Veterinary Public Health, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seoul, Korea

[1]Dong Ahm Bio's Co., Ltd, Cheong-won gun, Chung buk 363-920, Korea

(Received March 4, 2005; Accepted April 10, 2005)

ABSTRACT – Immu-Forte (Dong-Ahm Bio's. Corp., Korea) was evaluated for its effectiveness as a nonspecific immunostimulator in mice. The effects of Immu-Forte were determined by analysis of cytokines using ELISA and phenotype of leukocyte subpopulations using monoclonal antibodies specific to mouse leukocyte differentiation antigens and flow cytometry. CD4 T cells, CD8 T cells, macrophages, IL-12 and IFN-r in Immu-Forte EX-treated middle dose group increased in 3 months posttreatment and were significantly higher ($p<0.05$) than that of control at 3 months posttreatment. All T cells, all B cells, macrophages, IL-2, IL-4 and IL-12 in Immu-Forte EX-treated low dose group increased in 3 months posttreatment and were significantly higher ($p<0.05$) than that of control at 3 months posttreatment. In the Immu-Forte soy-treated group, CD4 T cells, IL-2, IL-4 and IL-12 were significantly higher in high dose-treated group, and CD 4 T cell, macrophages, IL-2, IL-4 and IL-12 were significantly higher in middle dose-treated group, and all T cell, IL-2, IL-4 and IL-12 were significantly higher in low dose-treated group. In the Immu-Forte A-treated group, macrophages, NK cells and IL-12 in high dose-treated group and all T cells, macrophages, NK cells, IL-2, IL-4 and IL-12 in middle dose-treated group and NK cells in low dose-treated group were significantly higher ($p<0.05$) than that of control at 3 months posttreatment. In the Immu-Forte F-treated group, all B cells, IL-4 and IL-12 in high dose-treated group and all T cells, all B cells, CD 4 T cells, CD8 T cells, macrophage, IL-2, IL-4, IL-12 and IFN-r in middle dose-treated group and NK cells and IL-12 in low dose-treated group were significantly higher ($p<0.05$) than that of control at 3 months posttreatment. In conclusion, the study has demonstrated that Immu-Forte had an immunostimulatory effect on mice through proliferation and activation of mouse immune cells.

Key words: Immu-Forte, nonspecific immunostimulator, cytokines, leukocyte

최근 축산업이 집단사육형태로 발전 되어 감에 따라 효율성이 증대된 반면 질병에 대한 노출 및 질병전파의 위험성은 더욱 높아지게 되었으며 이러한 질병을 예방, 치료하기 위한 약제의 사용이 증가하고 있다. 이러한 질병감염의 위험성을 제거하기 위하여 백신의 개발 및 백신 치료제에 대한 프로그램의 개발, 항균제의 사료첨가에 의한 사전 감염 차단 등의 다양한 방법이 이용되고 있다(Anadon and Martinez-Larranaga, 1999). 그러나 이러한 질병 예방과 치료를 위한 방법 중에서 백신의 이용은 포괄적인 질병 방어보다는 제한적인 특정 질병원인체에 대해서만 효과를 거둘수 있을뿐만 아니라 병원성이 높은 미생물의 감염시에는 그나마도 기대에 미치지 못하는 결과를 가져오게 된다(Bonneau and Laarveld, 1999). 또한, 최근에는 사료첨가용이나 치료약제로 이용되고 있는 항균제의 무절제한 사용과 휴약기간의 미준

†Author to whom correspondence should be addressed.

수로 인한 항균제 다제 내성균의 출현을 초래하게 되었고 이에 따른 항균제의 축산물내 잔류로 인한 인체에의 영향이 크게 우려되고 있는 실정이다(Anadon and Martinez-Larranaga, 1999; Bonneau and Laarveld, 1999).

따라서, 이러한 질병에 대한 예방제 및 치료제로서의 대체물질 개발에 대한 연구가 전 세계적으로 활발히 이루어지고 있으며, 이러한 연구 분야중에 동물생체에 잔류하지 않고 인체에 영향을 주지 않는 항균성 약제, 생리활성물질, 생균제 또는 생체면역 증강제에 대한 연구가 활발히 이루어 지고 있다. 특히 생체면역을 종합적으로 증강시킴으로써 백신 접종 효과의 증진을 가져오거나, 야외에서 침입하는 질병 원인체에 대한 생체방어능 항진을 유도하는 비특이면역증강제(Nonspecific Immunostimulator; NIS)는 이미 미국을 비롯한 여러 국가에서 연구되고 있으며 물고기 양식등에 이미 실용화를 위한 시험이 실시되어 효과적인 질병의 예방의 한 방법으로 그 효용성이 발표되고 있으며(Dunier 등, 1995; Siwickie 등 1989, 1998a) 소, 말, 돼지등의 가축에 적용하는 연구도 활발히 진행되고 있다(Krakowski 등, 1999; Bonneau and Laarveld, 1999). 그러나 이 분야는 아직까지 국내에서는 연구가 활성화 되어있지 않은 분야이다.

본 연구에서 사용된 동암 Bios 제품은 이러한 면역기능을 증강시키는 생물제제(NIS)로서 동암 Bios 제품에 의한 면역체계활성화에 따른 실험동물 생체내에서의 혈액학적 면역학적인 변화를 알아보고자 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

시험 동물

면역기능 증강성 물질 투여에 의한 마우스에서의 면역학적 세포 및 사이토카인의 변화 및 혈액학적 변화를 알아보기 위하여 5주령의 암컷 Balb/c 마우스 70마리를 오리엔트㈜에서 구입하였다. 본 시험에 사용될 마우스는 면역기능 시험에 있어서 지금까지 많이 사용되어 왔기 때문에 비교할 많은 기초자료가 있어서 선택하였다.

실험실에 순화시키는 기간을 약 1주일간 두었으며, 그 기간 중에 일반증상을 관찰하여 건강한 동물만을 시험에 제공하였다. 본 시험은 온도 22±3°C, 상대습도 50±10%, 환기회수 10-12회/hr, 조명시간 12시간 (07:00-19:00), 조도 150-300Lux로 설정된 서울대학교 수의과대학 동물사육장 동물실험 실 5호실에서 실시하였다.

시험 면역증강제

본 실험에 제공된 시험물질은 Immu-Forte EX, Immu-Forte 된장고추장, Immu-Forte A 및 Immu-Forte F로서 면역기능 증강성 키토산, 베타-글루칸, 키토올리고당이 함유되어있는 물질이다. 각각의 물질은 사람에게 적용하는 용량을 중간그룹의 용량으로 설정하고 그 용량의 2배수를 고용량으로, 절반을 저용량으로 두고 실험을 실시하였다. 동암 EX는 성인 65 kg을 기준으로 하였을때 1일 섭취용량이 75 ml이었으며, Immu-Forte 된장고추장은 5 g, Immu-Forte A는 0.5 g, 사료 첨가제로 개발되어진 Immu-Forte F는 톤당 2 kg을 1일 섭취량으로 기준을 삼았다.

마우스 비장에서의 면역세포 분석검사

시험물질들을 1개월간 매일 투여한 후 마우스에서 비장을 적출하여 면역세포의 증가 유무 및 사이토카인의 변화를 Flow cytometry를 이용하여 분석하였다. 분석한 세포 및 사이토카인은T cell, B cell, CD4 T cell, CD8 T cell, IL-2, IL-4, IL-12, IFN-r, IgG, IgM, macrophage, NK cell이다.이러한 세포 및 사이토카인의 변화를 측정하기 위하여 세포는 1개 또는 2개의 형광색소 (FITC, PE)를 이용하여 표식이 되어 있도록 실험을 설계하였으며, 염색이 완료된 재료는 flow cytometry를 이용하여 총 2000개 이상의 세포들을 검사하여 세포수를 측정하였으며 측정과 자료분석은 FACS Calibur 및 CellQuest program을 이용하여 실시 하였다.사이토카인 변화의 측정은 Sandwich ELISA 방법을 이용하여 측정하였다.

혈액학적 변화 분석

시험물질에 의한 생체내에서의 혈액학적 변화를 측정하기 위하여 3개월 투여후 마우스의 안와에서 혈액을 채취하였으며, 혈청을 분리 후 혈액학적 분석을 실시하였다.

통계학적인 처리

대조군을 비롯한 Immu-Forte EX, Immu-Forte 된장고추장, Immu-Forte A 및 Immu-Forte F 간의 평균치 유의성을 검정하기 위하여 분석치에 대하여 Microcal Origin 6.0 (Microcal Software, Inc., USA)을 사용하여 ANOVA test를 실시하였으며, 동일시험 기간에서의 대조군과 시험물질 처리군들의 비교를 위하여 Student's t-test를 실시하여 유의성을 검증하였다.

결 과

면역증강

체내 면역 증강성을 관찰하기 위하여 3개월간 의뢰한 물질인 Immu-Forte EX, Immu-Forte 된장고추장, Immu-Forte A, Immu-Forte F를 투여한 후 체내 임파구의 활성 및 증가 여부를 flowcytometry를 이용하여 측정하였다.

a) 비장에서의 면역세포들의 숫적 변화

세포수($\times 10^5$)		Immu-Forte EX		Immu-Forte 된장고추장			Immu-Forte A	Immu-Forte F		
용량	대조군	Middle	Low	High	Middle	Low	Middle	High	Middle	Low
전체 T 임파구	21.3	-	75.7	27.7	31.8	250.3	145.0	25.8	58.8	-
전체 B 임파구	39.5	-	52.6	-	-	-	-	79.2	125.6	49.2
CD4 T 임파구	12.1	20.1	33.2	19.2	21.9	98.9	104.4	14.4	37.3	-
CD8 T 임파구	2.5	11.0	-	-	-	-	-	3.6	7.2	3.2

-: 대조군과 비교시 유의적인 변화를 나타내지 않음

b) 대식세포(macrophage)와 자연살해세포(NK cell)

비율(%)		Immu-Forte EX			Immu-Forte 된장고추장	Immu-Forte A			Immu-Forte F	
용량	대조군	High	Middle	Low	Middle	High	Middle	Low	Middle	Low
대식세포	0.27	0.72	0.65	0.81	2.28	0.51	1.01	0.39	27.59	-
자연살해세포	0.08	-	-	-	-	0.29	1.93	0.62	-	0.41

-: 대조군과 비교시 유의적인 변화를 나타내지 않음

c) cytokine의 변화

ng/ml		Immu-Forte EX			Immu-Forte 된장고추장			Immu-Forte A			Immu-Forte F		
용량	대조군	High	Middle	Low	High	Middle	Low	High	Middle	Low	High	Middle	Low
IL-2	0.327	0.04	0.26	0.58	1.72	1.40	11.3	0.31	0.53	0.25	0.28	6.32	0.23
IL-4	0.16	0.05	0.13	0.40	1.00	1.21	6.53	0.09	0.91	0.13	0.34	0.32	0.12
IL-12	0.23	0.21	5.61	0.73	1.01	1.06	4.18	4.30	22.6	0.37	3.78	1.87	0.76
IFN-r	0.24	0.29	0.57	0.08	0.01	0.01	0.27	-	-	-	0.19	1.43	0.35

-: 대조군과 비교시 유의적인 변화를 나타내지 않음

3개월간 장기 투여시 Immu-Forte EX, Immu-Forte 된장고추장, Immu-Forte A과 Immu-Forte F의 모든 물질은 전반적으로 면역세포와 사이토카인의 수치를 유의적으로 증가시켰다. 그러나 그 증가된 항목은 일치하지는 않았다.

혈액학적 분석

혈액학적인 검사에서 Alkaline phosphatase, T protein, Albumin, Creatine, ALT, AST, Total bilirubin, Potasium을 검사해 본 결과 대조군과 비교했을때 투여군 전군에서 정상적인 범위내 수치를 나타내는 것으로 나타났다.

	Alkaline phosphatase (U/L)	Total Protein (g/dL)	Albumin (g/dL)	Creatinine (mg/dL)	Alanine transferase (U/L)	Aspartate transferase (U/L)	Total Bilirubin (mg/dL)	K^+ (mmol/L)	Total Cholesterol (mg/dL)
대조군	78.1±17.2	5.4±1.1	2.4±0.5	0.2±0.1	58.8±33.8	94.1±39.3	0.6±0.2	5.4±1.1	118.1±24.4
Immu-Forte EX(High)	72.6± 4.0	5.6±0.2	2.5±0.0	0.2±0.1	100.2±48.2	104.2±42.7	0.5±0.1	5.5±0.5	126.6±7.7
Immu-Forte EX(Middle)	68.3± 2.1	5.4±0.3	2.4±0.1	0.2±0.1	125.5±82.3	120.8±56.4	0.5±0.1	5.5±0.4	121.0±8.4
Immu-Forte EX(Low)	86.8±12.2	5.5±0.3	2.5±0.1	0.2±0.1	144.8±18.5	158.8±80.9	0.6±0.2	5.6±0.8	109.8±24.5
된장코지(High)	85.2± 6.8	5.9±0.2	2.4±0.1	0.3±0.1	86.4±64.3	132.2±57.9	0.3±0.1	5.6±11	129.6±9.6
된장코지(Middle)	83.6± 4.9	5.6±0.3	2.6±0.1	0.2±0.0	44.8±16.4	119.2±107.4	0.3±0.0	5.7±0.9	136.2±12.5
된장코지(Low)	93.8± 8.5	5.8±0.1	2.7±0.1	0.3±0.1	42.8±9.7	86.3±26.5	0.3±0.1	5.1±10	121.3±5.3
Immu-Forte A(High)	81.0± 7.4	5.4±0.2	2.5±0.0	0.2±0.0	38.8±7.5	84.4±34.7	0.3±0.1	4.2±0.3	124.2±9.3
Immu-Forte A(Middle)	84.0± 2.8	5.6±0.1	2.6±0.1	0.3±0.2	39.5±4.9	75.0±25.5	0.3±0.0	4.7±0.7	129.0±14.1
Immu-Forte A(Low)	84.5±10.0	5.5±0.1	2.5±0.1	0.2±0.0	43.5±9.8	62.5±6.4	0.2±0.1	4.1±0.3	128.8±5.9

콜레스테롤

3개월간 Immu-Forte EX를 투여 후 혈중콜레스테롤수치를 검사해 본 결과 대조군(118±24.4 mg/dL)과 비교하였을때, 고용량(126±7.7 mg/dL), 중간용량(121±8.4 mg/dL), 저용량(109±24.5 mg/dL)으로서 통계학적인 유의적 감소로는 보이지 않는다.

고 찰

일반적으로 사람과 동물의 방어기전은 marcrophages 등의 항원전달세포와 T 림프구를 중심으로 한 일련의 면역반응에 의해서 이루어 진다(Dutton 등 1998; Gonser 등 1999). 최근 각종 동물의 백혈구 특이 단클론 항체가 만들어 짐에 따라서 Flowcytometry를 이용한 동물별 면역 시스템에 관련된 세포의 분석이 가능해 졌으며 이러한 분석은 질병발생 기전은 물론 백신이나 면역증강제 등 약제에 대한 숙주 반응여부를 확인하는 중요한 단서가 되고있다(Creemers, 1987; Erf 등; 1998; Higgins, 1981).

숙주면역체계중 면역반응의 중추적인 역할을 하는 림프구는 항원을 인식하는표면구조에 따라 T 및 B 림프구로 나누어 지며 T 림프구는 세포성면역, B 림프구는 체액성면역을 담당한다. T 림프구는 CD4와 CD8의 표면항원에 의해서 감염시 감염원의 인식과 면역세포의 증식을 돕는 $CD4^+$인 T helper cell과 감염된 세포등을 사멸시키는 물질을 분비하는 $CD8^+$ cytotoxic T lymphocytes (CTLs)로 구별할수있다. 이러한 면역세포의 증식과 분화를 유도하는 물질을 일반적으로 사이토카인(cytokine)이라고 부르는데 이들은 여러 면역세포에 의해서 만들어지며, 여러 가지 면역세포의 활성화, 성장, 분화등에 영향을 미친다. 이중 대표적인 몇가지를 살펴보면 IL-2 (interleukin-2)는 T cell을 G1 상태에서 S phase로 전환시키는 T cell growth factor로서, CD4 T cell에 의해 생산된다며 NK cell에 작용하여 성장을 촉진하거나 그것의 살해능력을 강화하며 (lymphokine activated killer, LAK), B cell에 작용하여 그 성장을 촉진하기도 한다. IL-4 (interleukin 4)는 CD4 T cell과 activated mast cell에 의해 만들어지는 단백질로서, B cell growth factor의 작용을 하며 CD4 T cell, mast cell, macrophage등을 활성화하기도 한다. IL12(Interleukin-12)는 marcrophage에 의해서 분비되는 사이토카인으로 감염시 세포성 면역의 활성화를 유도한다. IFN-γ (gamma interferon)는 type II interferon이라고도 부르며, CD4 T cell이나 CD8 T cells에 의해 만들어져 면역반응을 조절하기 때문에 immune interferon이라고도 부른다. IFN-γ는 T cell, B cell, neutrophils, NK cells, vascular endothelial cell에 작용하여 그들을 활성화시킬 수 있으며, macrophage activating factor로 작용하여 Class I and II MHC expression을 증가시키기도 한다. IFN-γ도 다른 interferon처럼 바이러스의 증식을 억제할 수 있다. 이러한 생체면역관련 인자들을 비특이적으로 증강시키는 비특이 면역증강제(Nonspecific Immunostimulator; NIS)는 이론적으로 예방제 및 치료제의 대체물질로 사용될수있을뿐 아니라 기존의 사료첨가물로 쓰이는 항생제의 부작용인 동물생체잔류 및 인체에 미칠 수 있는 여러 가지 부작용을 해소할 수 있어 세계각국의 연구가 활발히 진행되고 있다. 본실험에서는 이러한 비특이 면역증강제로 동암 Bios가 개발한 물질을 가지고 이들의 혈액학적 면역학적 변화를 살펴보았는데 각각의 물질투여군의 혈액검사 결과 전군이 정상적인 범위내에 위치하며 이는 이들 실험동물이 질병이나 외부감염에 노출되지 않았다는 사실을 말해준다.또한 혈중 콜레스테롤 농도도 유의적인 변화는 나타나지 않았다. 각각의 물질의 면역학적인 변화양상을 살펴보면 물질 동암 EX는 중간 농도군에서는 CD4 T 림파구, CD8 림파구, 대식세포, IL-12, IFN-r가 대조군에 비해서 유의적으로 증가했으며 l저농도에서는 전체 T 임파구, 전체 B 임파구, CD4 T 임파구, 대식세포, IL-2, IL4, IL-12가 대조군에 비해서 유의적으로 증가했다. 물질 Immu-Forte 된장고추장에서는 고농도에서는 CD4 T 임파구, IL-2, IL-4, IL-12가 유의적으로 증가했으며, 중간농도에서는 CD4 임파구, 대식세포, IL-2, IL-4, IL-12 가유의적으로 증가했고, 저농도에서는 전체 T 임파구, CD4 T 임파구, IL-2, IL-4, IL-12가 유의적으로 증가했다. 물질 Immu-Forte A의 경우 고농도에서 대식세포, 자연살해세포, IL-12가 중간농도에서는 전체 T 임파구, CD4 T 임파구, 대식세포, 자연살해세포, IL-2, IL-4, IL-12가 저농도에서는 자연살해세포가 유의적으로 증가했다. 물질 Immuno-Forte F의 경우 고농도에서 전체 B 임파구, IL-4가 중간농도에서 전체 B임파구, Il-12가 중간농도에서 전체 T임파구, 전체 B임파구, CD4 T 임파구, CD8 T 임파구, 대식세포, IL-2, IL-4, IL-12, IFN-r가 저농도에서는 자연살해세포, IL-12가 유의적으로 증가하였다. 이상과 같이 각각의 물질은 전반적으로 면역증강 효과가 있는 것으로 나타났으나 그 면역증강을 유도하는 세포나 사이토카인은 서로 정확히 일치하지 않는 것으로 보아 각각의 물질이 다른 기전을 통해서 면역증강을 유도하는 것으로 생각된다.

감사의 글

본 연구는 2004년도 중소기업기술혁신개발사업 연구비 지원으로 진행되었습니다. 아울러, 2005년도 한국학술진흥재단의 지원에 의해 이루어진 연구결과이며 이에 감사드립니다 (KRF-005-E00076).

국문요약

체내 면역 증강성을 관찰하기 위하여 체내 임파구의 활성 및 증가 여부를 3개월간 의뢰한 물질인 Immu-Forte EX, Immu-Forte 된장고추장, Immu-Forte A, Immu-Forte F를 투여한 후, flowcytometry 및 sandwitch ELISA 를 이용하여 측정하였다. 본 실험의 실험 기간 중에 동물의 질병이나 감염에 의한 면역학적인 변화가 있었는지를 확인하기 위하여 혈액학적인 검사를 실시하였으며, 혈액학적인 검사에서 Alkaline phosphatase, T protein, Albumin, Creatine, ALT, AST, Total bilirubin, Potasium 을 검사해 본 결과 대조군과 비교 했을때 투여군 전군에서 정상적인 범위내 수치를 나타내는 것으로 나타났다. 이러한 결과로부터 본 실험에서 나온 결과는 질병이나 감염에 의한 것이 아닌 생체내에서의 면역성 증강에 의한 것으로 판단할수 있는 근거를 제공한다고 판단되어진다. 한편, 3개월간 장기 투여시 Immu-Forte EX, Immu-Forte 된장고추장, Immu-Forte A과 Immu-Forte F의 모든 물질은 전반적으로 면역세포와 사이토카인의 수치를 유의적으로 증가시켰다. 그러나, 3개월간 Immu-Forte EX를 투여 후 혈중콜레스테롤수치를 검사해 본 결과 대조군(118±24.4 mg/dL)과 비교하였을때, 고용량(126±7.7 mg/dL), 중간용량(121±8.4 mg/dL), 저용량(109±24.5 mg/dL)으로서 통계학적인 유의적 감소로는 보이지 않는다. 각각의 물질의 면역학적인 변화양상을 살펴보면 물질 동암 EX는 중간 농도군에서는 CD4 T 림파구, CD8 림파구, 대식세포, IL-12, IFN-r가 대조군에 비해서 유의적으로 증가했으며 l저농도에서는 전체 T 임파구, 전체 B 임파구, CD4 T 임파구, 대식세포, IL-2, IL4, IL-12가 대조군에 비해서 유의적으로 증가했다. 물질 Immu-Forte 된장고추장에서는 고농도에서는 CD4 T 임파구, IL-2, IL-4, IL-12가 유의적으로 증가했으며, 중간농도에서는 CD4 임파구, 대식세포, IL-2,IL-4,IL-12 가유의적으로 증가했고, 저농도에서는 전체 T 임파구, CD4 T 임파구, IL-2, IL-4, IL-12가 유의적으로 증가했다. 물질 Immu-Forte A의 경우 고농도에서 대식세포, 자연살해세포, IL-12가 중간농도에서는 전체 T 임파구, CD4 T 임파구, 대식세포, 자연살해세포, IL-2, IL-4, IL-12가 저농도에서는 자연살해세포가 유의적으로 증가했다. 물질 Immuno-Forte F의 경우 고농도에서 전체 B 임파구, IL-4, IL-12가 중간농도에서 전체 T임파구, 전체 B임파구, CD4 T 임파구, CD8 T 임파구, 대식세포, IL-2, IL-4, IL-12, IFN-r가 저농도에서는 자연살해세포, IL-12가 유의적으로 증가하였다. 이상과 같이 각각의 물질은 전반적으로 면역증강 효과가 있는 것으로 나타났으며 그 면역증강을 유도하는 세포나 사이토카인은 서로 정확히 일치하지 않는 것으로 보아 각각의 물질이 다른 기전을 통해서 면역증강을 유도하는 것으로 생각된다.

참고문헌

Dunier, M., Vergnet, C., Siwicki, A.K., Verlhac, V.: Effect of lindane exposure on rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) immunity. IV. Prevention of nonspecific and specific immunosuppression by dietary vitamin C (ascorbate-2-polyphosphate). *Ecotoxicol Environ Saf Apr*; **30**(3): 259-68 (1995).

Siwicki, A.K., Anderson, D.P., Dixon, O.W.: Comparisons of nonspecific and specific immunomodulation by oxolinic acid, oxytetracycline and levamisole in salmonids. *Vet Immunol Immunopathol.* Nov 30; **23**(1-2): 195-200 (1989).

Siwicki, A.K., Klein, P., Morand, M., Kiczka, W., Studnicka, M.: Immunostimulatory effects of dimerized lysozyme (KLP-602) on the nonspecific defense mechanisms and protection against furunculosis in salmonids. *Vet Immunol Immunopathol.* Feb 27; **61**(2-4): 369-78 (1998).

Krakowski, L., Krzyzanowski, J., Wrona, Z., Siwicki, A.K.: The effect of nonspecific immunostimulation of pregnant mares with 1,3/1,6 glucan and levamisole on the immunoglobulins levels in colostrum, selected indices of nonspecific cellular and humoral immunity in foals in neonatal and postnatal period. *Vet Immunol Immunopathol.* Mar 29; **68**(1): 1-11 (1999).

Laurent, A., Durussel, J.J., Dufaux, J., Penhouet, L., Bailly, A.L., Bonneau, M., Merland, J.J.: Effects of contrast media on blood rheology: comparison in humans, pigs, and sheep. *Cardiovasc Intervent Radiol.* Jan; **22**(1): 62-6 (1999).

Dutton, R.W., Bradley, L.M., Swain, S.L.: T cell memory. *Annu Rev Immunol.* **16**: 201-23 (1998).

Gonser, S., Stalder, J., Folkers, G. : Vaccines and their transfection potency. *Vaccine.* Apr 23; **17**(17): 2113-6 (1999).

Creemers, P.C. : Determination of co-expression of activation antigens on proliferating $CD4^+$, $CD4^+$ $CD8^+$ and $CD8^+$ lymphocyte subsets by dual parameter flow cytometry. *J Immunol Methods.* Mar 12; **97**(2): 165-71 (1987).

Erf, G.F., Bottje, W.G., Bersi, T.K.. : CD4, CD8 and TCR defined T-cell subsets in thymus and spleen of 2- and 7-week old commercial broiler chickens. *Vet Immunol Immunopathol.* Apr 30; **62**(4): 339-48 (1998).

Higgins, R., Hoquet, F., Marsolais, G., Montpetit, C., Elazhary, Y., Morin, M., Bois, J.M., Ethier, R.: Diagnosis of septic abortion in dairy cows. *Can J Comp Med.* Apr; **45**(2): 159-66 (1981).